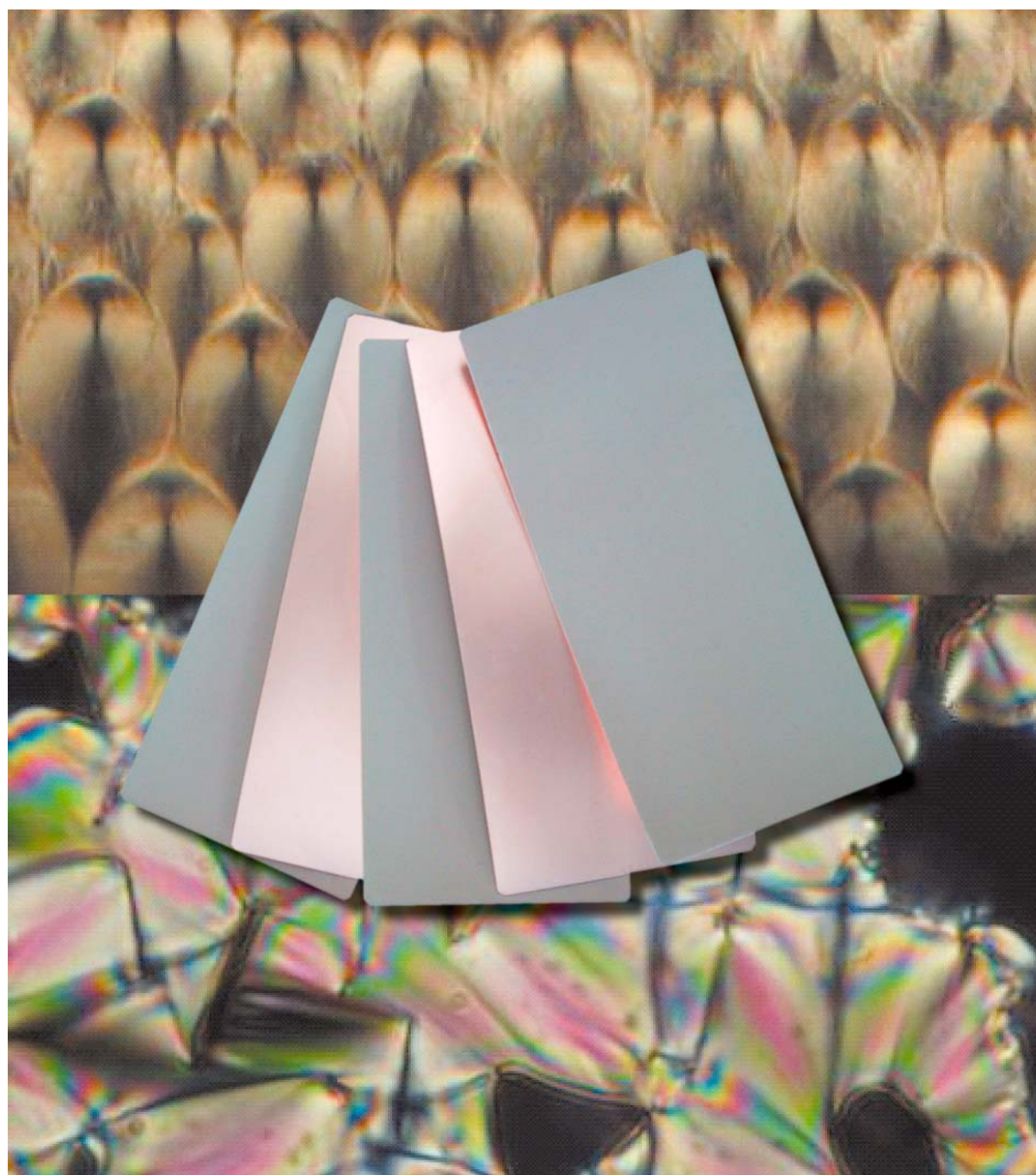
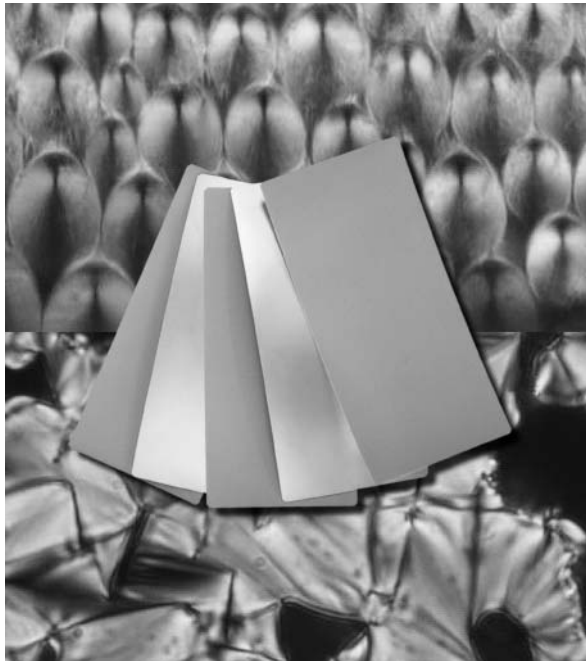


日立化成

テクニカルレポート

Hitachi Chemical Technical Report





■自己配列によって高次構造を制御した
高熱伝導エポキシ樹脂

高熱伝導性を発現するハイセット原料のメソゲン骨格含有エポキシ樹脂が呈する秩序性の高いスメクチック相の偏光顕微鏡による干渉像の写真(直交ニコル下)。メソゲン骨格構造の違いで観察される干渉像にも違いが見られる。中央は片面銅貼りハイセットの硬化物シート外観。

総説

- 自己配列によって高次構造を制御した高熱伝導エポキシ樹脂 ————— 5
絶縁性と高熱伝導性を両立したコンポジット材料と放熱材料テクノロジー
竹澤 由高

論文

- 黒鉛粒子配向制御によるフレキシブル高熱伝導シート ————— 11
山本 礼・吉田 優香・吉川 徹・矢嶋 倫明・関 智憲
- パターンめっき転写法による導電性微細パターン形成技術 ————— 17
上原 寿茂・登坂 実・鈴木 恭介・直之 進・根岸 正実・菊原 得仁
- 選択分解反応を利用したポリマーのキャラクタリゼーション ————— 23
上野 勝利・平井 修・竹内 一雅・増田 克之・江尻 貴子
- 製薬開発を支援する新しいツール開発 mRNA測定に基づくオーダーメイド医療用検査 ————— 27
井筒 浩・三橋 将人

Contents

High Thermal Conductive Epoxy Resin Composites with Controlled Higher Order Structures	5
Yoshitaka Takezawa	
Novel Thermally Conductive Sheet Applying Orientation Control of Graphite Particles	11
Rei Yamamoto • Yuka Yoshida • Toru Yoshikawa • Michiaki Yajima • Tomonori Seki	
Technology for Preparing Fine Conductive Patterns Using Transfer of Pattern Plating	17
Hisashige Kanbara • Minoru Tosaka • Kyosuke Suzuki • Susumu Naoyuki Masami Negishi • Yoshihito Kikuhara	
Characterization of Polymers Using Selective Degradation Reactions	23
Katsutoshi Ueno • Osamu Hirai • Kazumasa Takeuchi • Katsuyuki Masuda • Takako Ejiri	
New Tools for Drug Research: Tailored Medicine Diagnostics Based on mRNA Expression	27
Hiroshi Izutsu • Masato Mitsuhashi	

自己配列によって高次構造を制御した高熱伝導エポキシ樹脂 絶縁性と高熱伝導性を両立したコンポジット材料と放熱材料テクノロジー

High Thermal Conductive Epoxy Resin Composites with Controlled Higher Order Structures

研究開発本部 筑波総合研究所 竹澤由高 Yoshitaka Takezawa



メソゲン骨格を有するエポキシ樹脂は、硬化時にメソゲンの自己配列による高次構造が形成されるため、汎用のエポキシ樹脂に比べて高熱伝導化できる。このコンセプトを用いて開発した樹脂は最高で従来の5倍の熱伝導率を示した。しかし、樹脂単独での熱伝導率は高々1W/m・K未満と低く、高放熱を要求される電子機器部材に適用するためにはセラミックフィラーとのコンポジット化が必須である。そこで、開発樹脂を用いて新規に高熱伝導コンポジットを作製した結果、熱伝導率が10W/m・Kとアルミナをベースとした絶縁素材として高い値を有することが確認できた。ハイブリッド車に使用されるインバータなどの電装品、モーター、ならびに家電品、LED照明などに幅広く適用できると考える。

Epoxy resins with higher order structures have higher thermal conductivity. Thermal conductivities are up to five times higher than those of conventional epoxy resins because the molecular groups, mesogens, form highly ordered crystal-like structures that suppress phonon scattering. Although the thermal conductivities of these epoxy resins are up to 1.0W/m・K, this is not high enough for these resins to be applied to electric and electronic devices which require high heat dissipation efficiency. We have developed epoxy resin ceramic-filler, composites that have both high isotropic thermal conductivity (10W/m・K) and good electrical insulation. These composites are well suited for thermal management of electric and electronic devices.

〔1〕 緒言

季節を問わず快適な室内空間を提供するエアコン、食物を新鮮な状態で保管する冷蔵庫、マルチメディアエンターテインメントを提供する大型テレビ、夜間でも街を明るくカラフルに照らす照明、そして小回りの利く移動手段としての自動車などは、これらのない生活をもはや想像できない存在である。しかし一方で、CO₂増加に伴う地球温暖化、石油資源の枯渇が全世界的な問題となっている。現状の生活の快適性を維持しながら、地球環境問題に対応するための一つの手段としては、省エネ型電化製品やハイブリッド車、電気自動車に必須のインバータやモーターの高効率化があげられる¹⁾。さらに照明系においては高効率の高輝度LEDを用いた省エネ化が期待されている。これらの製品に共通して要求される材料として、回路の絶縁を確保しながら機器内部で発生した熱を効率良く外部に伝えるという高放熱コンポジット材料がある。これには、高い絶縁性と高熱伝導性の両立が必要であるが、トレードオフとなる特性であり両立が難しい。さらに最終製品に高温下、長期に使われる耐久製品が多く、優れた接着性、耐熱信頼性も合わせて要求される。

図1に示すように、絶縁材として用いられる樹脂の熱伝導率は一般に金属やセラミックスに比べて1~3桁低い²⁾ため、熱放散のボトルネックになっている。樹脂はその成形加工性の良さ、高絶縁性、軽量性などから欠くことのできない存在で

ある。したがって、コンポジット材料の熱伝導率をセラミックス代替可能なレベルにまで高めることが、地球環境問題を解決する次世代の機器の低コスト化、普及の鍵を握っているといっても過言でない。

本稿では、特に高い絶縁性と高熱伝導性とを両立できる新材料として日立製作所と共同開発した、自己配列によってナノレベルで高次構造を制御した高熱伝導エポキシ樹脂^{3) 4)}と、日立化成独自の硬化剤技術、セラミックス系フィラーとのコンポジット化技術を融合した高放熱コンポジット材料について説明する。

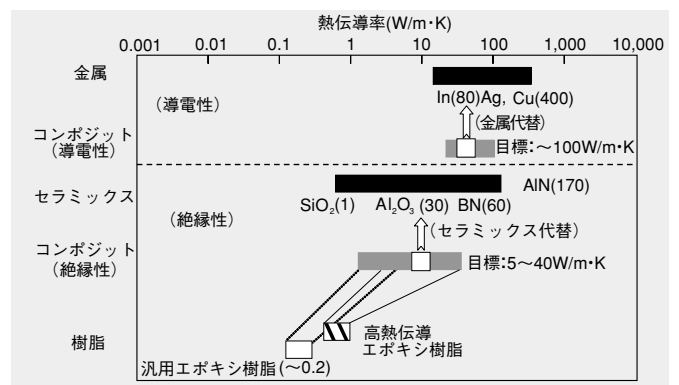


図1 材料の熱伝導率と開発材の位置付け

Fig. 1 Thermal conductivities of various materials and developed resins.

総 説

[2] コンポジット材料の高熱伝導化手法

2.1 高熱伝導性フィラーを高充填する手法

高熱伝導性を得るための広く一般に用いられている手法は、球(丸み)状のセラミックス系フィラーを樹脂中に均一に分散、高充填するコンポジット化である⁹⁾。半導体用封止材の技術が該当する。これは、熱伝導の問題を伝熱路(パーコレーション)の確保で解決する方法として最も重要で実用的な技術である。熱伝導性フィラーとしては、アルミナ(Al_2O_3 :熱伝導率 $30\text{W/m}\cdot\text{K}$)、窒化ホウ素(BN:熱伝導率 $60\text{W/m}\cdot\text{K}$)、窒化アルミニウム(AlN :熱伝導率 $170\text{W/m}\cdot\text{K}$)などが代表的であり、粒径や形状、分布などがさまざまに検討されており、加工性、価格、要求物性値のバランスを考慮して選定されている。ただし、 AlN は耐湿性が悪く電子機器に使用するには信頼性に乏しく、BNはりん片状であるため横に並びやすく、肝心な厚さ方向の熱伝導率が低いことが欠点である。高熱伝導を得る手段としてフィラーを高充填する方法があるが、粘度が著しく増大して製造工程における作業性(注入性、混練性)が悪くなることや、接着シートとして用いる場合にはBステージ(半硬化)状態のプリプレグ、あるいは硬化後の材料が硬く脆くなりやすい、ポイドが入り絶縁信頼性が低下するなどの問題が起こる。そのため、フィラーの添加量が制限される場合が多く、一般的には $5\text{W/m}\cdot\text{K}$ にも満たない熱伝導率レベルである。また、図2(a)に金成の経験式⁹⁾に基づいた熱伝導率の予測結果を示したが、より高い熱伝導率のフィラーを用いても、それに応じて熱伝導率が飛躍的に高まることはなく、わずかな増大に留まることがわかる。これは界面に存在する樹脂の熱抵抗が想像以上に大きいためであり、図2(b)に示すように樹脂を高熱伝導化した方が効果的であるといえる。最近では特殊な高熱伝導フィラーを高充填化することで $10\text{W/m}\cdot\text{K}$ 級のコンポジット材料も一部報告されてきているが、 $60\sim 170\text{W/m}\cdot\text{K}$ という高い熱伝導率を有するフィラーを90重量%以上使用しているにもかかわらず、フィラーの効果を十分に発揮できていないといえる。

球(丸み)状のセラミックス系フィラーを樹脂中に均一に分

散、高充填するのでなく、あえてBNのようなアスペクト比の高いフィラーを分散制御して厚さ方向など特定方向にのみ熱伝導率を飛躍的に高めたコンポジット材料も提案されている。異方性を有するコンポジット材料は方向によって悪化する特性が出てくる(例えば接着性や強度等)が、特定の用途には十分に役立つ放熱技術と考えられる。当社もそのようなBN系異方性放熱シートを09/06に発表⁶⁾したが、本レポートの「黒鉛粒子配向制御によるフレキシブル高熱伝導シート」中で報告されているので本論文での説明は省略する。

次にコンポジット材料のベース樹脂で分類すると、シリコーン系と非シリコーン系に分けられる。シリコーンゴムはその柔軟性をいかし、発熱体や放熱部品表面に存在する微細な凸凹を埋め密着させることで両者の間の熱抵抗を低減させる目的で使用される。それ自体に接着性は無いため用途は限定される。また、耐熱性に優れるが低分子シロキサンが揮散する問題点もある。これに対し、非シリコーン系はアクリル、エポキシなどの樹脂が用いられ、面圧に依存せずそれ自体が高い接着性を有するのが特長である。

2.2 高次構造制御による樹脂自身の高熱伝導化手法

2.1項の図2(b)の説明で述べたように、コンポジット材料の高熱伝導化には樹脂自身の高熱伝導化が効果的である。樹脂自身の高熱伝導化に関する報告例としてはポリエチレンの延伸倍率に対する熱伝導率の方向依存性^{7)~9)}、結晶化度(密度)依存性¹⁰⁾などの研究事例があるのみだったが、近年、ラビング¹¹⁾、磁場などの強制外場を与えた異方性材料としての高熱伝導材料^{12)~14)}が報告されてきている。このような異方性を有する材料は、分子が並んだ方向には高い熱伝導率を示すが、それと垂直の方向の熱伝導率が等方性の材料よりも低く、さらに接着性が弱い、分子が並んだ方向に割れ易い(強度が低い)等、悪化する特性が多い。一方で、前述の欠点の無い等方的な樹脂自身の高熱伝導化を検討した事例は以下に説明する当社のコンセプトのみである。

自由電子を持たない絶縁樹脂における熱伝導現象はフォノン

(音子)が支配する¹⁵⁾ため、そのフォノン散乱を低減することができれば樹脂自身を高熱伝導化できる。フォノンが起こす散乱には、フォノン同士の衝突による動的な散乱と、材料の幾何学構造による静的な散乱とがある。動的な散乱は分子および格子振動の非調和性、静的な散乱は材料中の欠陥、非晶部、結晶との境界などが原因で起きる。通常樹脂は結晶化度が小さく、分子や格子振動の非調和性も大きいため、一般的に熱伝導率が低い。もし樹脂を単結晶化できれば熱伝導率は飛躍的に高められると考えられるが、現実的には難しい。厳密には現象論と理論とを簡単な分子設計に結

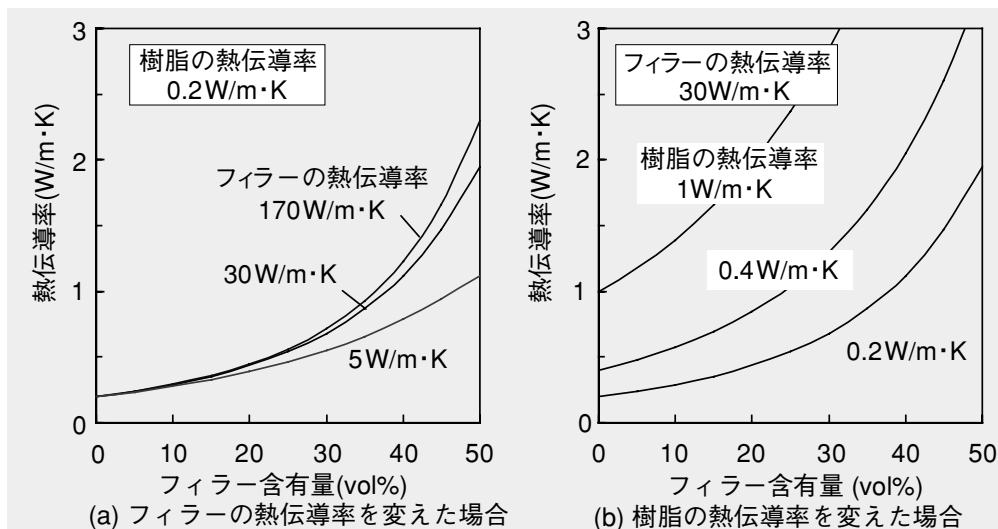


図2 コンポジット材料の熱伝導率のフィラー充填量依存性

Fig. 2 Dependence of resin thermal conductivity on filler content.

びつけることはできないが、これらのフォノンの散乱が樹脂の内部構造の不均一性に大きく関係していることに着目して、樹脂内部にフォノンを伝わりやすくする高い秩序性を有する高次構造を形成させることにより、配向や延伸などの物理的処理を施さずとも高熱伝導化できると考えた。

このような高次構造制御には、ビフェニル基のような自己配列しやすい構造であるメソゲン骨格を分子内に有するエポキシ樹脂などが効果的であり、図3に示すようなコンセプト

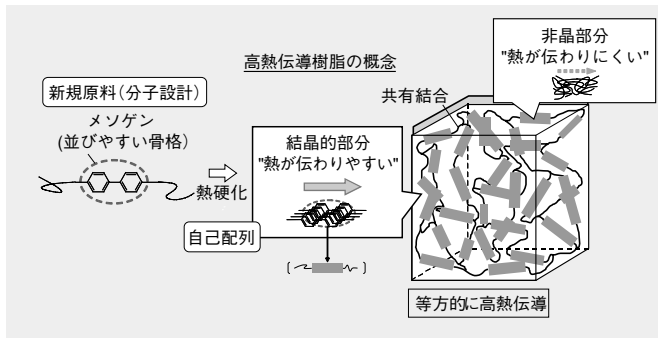


図3 高次構造制御による樹脂自身の高熱伝導化コンセプト

Fig. 3 Concept of high thermal conductive epoxy resin.

で高次構造を容易に形成させることができる。図3ではメソゲンの自己配列によってミクロ的には異方性で秩序性の高い多数の結晶的構造を有し、その構造体をマクロ的にはランダムな状態のまま熱硬化反応させ固定安定化した状態を模式的に示してある。なお、結晶的構造のドメインはそれぞれ独立して存在するのではなく、互いに共有結合性の化学結合で結ばれているために、界面でのフォノン散乱を低減できる。このことが高熱伝導化するために重要なポイントである。

〔3〕 高次構造を制御した高熱伝導エポキシ樹脂の開発

メソゲン骨格の中で最も簡単な構造のモノメソゲン型のビフェニル基を有するエポキシ樹脂誘導体を用いると、その自己配列によって硬化物の熱伝導率を最大で1.7倍程度まで高めることができる。さらに高い熱伝導率を達成するためには、より大きなドメインとなる秩序性をもった高次構造を形成させる必要がある。ただし、大きなメソゲン骨格を分子内に導入すると融点が上昇し、コンポジット材料として使いにくくなるため、構造の最適化が重要である。図4に示すようにメソゲン構造を最適化したエポキシ樹脂は汎用エポキシ樹脂やビフェニル型エポキシ樹脂に比べ大幅に熱伝導率が高く、最高

で0.96W/m・Kと、従来の汎用エポキシ樹脂0.19W/m・Kよりも5倍の熱伝導率を示した。このような考え方にに基づき、特性のバランスを満足する高熱伝導エポキシ樹脂の開発を継続している。

熱伝導率が0.4W/m・K程度以上のエポキシ樹脂は硬化後いず

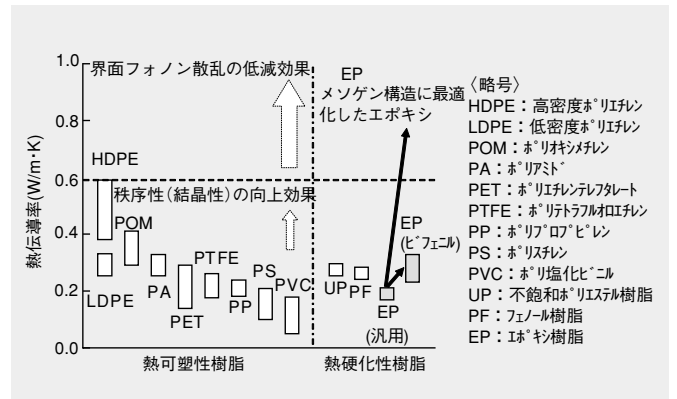


図4 各種樹脂材料の熱伝導率¹⁶⁾と開発樹脂の比較

Fig. 4 Thermal conductivities of various conventional resins and developed ones.

れも乳白色で不透明となった。このことから高熱伝導エポキシ樹脂には波長のオーダー以上の屈折率異方性ドメイン(秩序性を有する結晶的構造)が存在していることがわかる。そこでメゾスコピックレベル、ならびにナノレベルでの高次構造観察をそれぞれ原子間力顕微鏡(AFM)、透過型電子顕微鏡(TEM)の両方を用いて行った。図5にはAFMの表面硬さ像を観察した結果と熱伝導率の関係を示す。ドメインサイズが大きいかほど熱伝導率が向上しているといえる。

図5(b)の樹脂ではAFM画像としてはドメインと考えられる構造は確認されなかったが、偏光顕微鏡での直交ニコル下での観察ではネマチック的の干渉像が確認されていることから、ナノオーダーのドメインの存在で熱伝導率が向上していると考えられる。図6には、図5(d)の樹脂についてのTEM画像を示す。

TEM画像より明瞭な格子構造が確認され、約4 nm周期の規則的な層構造が観察された。これは、微小角X線回折によって見積もられているスメクチック液晶型構造の面間隔4.1 nmとほぼ一致し、ドメイン部分にはスメクチック液晶型構造が形成されていることが裏付けられた。さらに、電子線回折パターンを視野内でスキャンした結果、図7に示すように結晶的構造部と考えられる一方向性のパターンとアモルファス部と考えられるハローパターンだけでなく、その間に中間的な

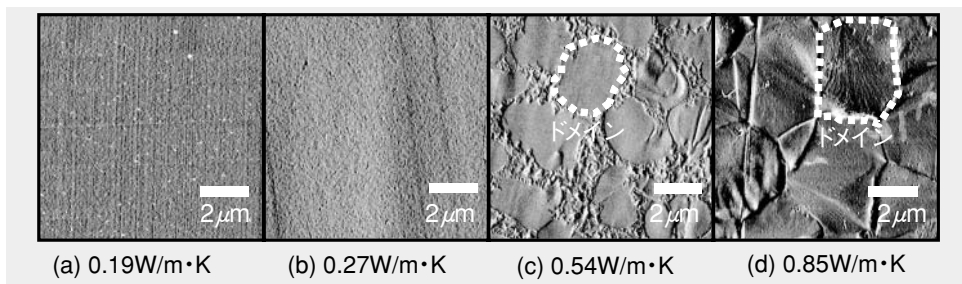


図5 原子間力顕微鏡(AFM)観察によるドメインサイズと熱伝導率の関係

Fig. 5 Atomic force microscope (AFM) images of higher order structures.

総 説

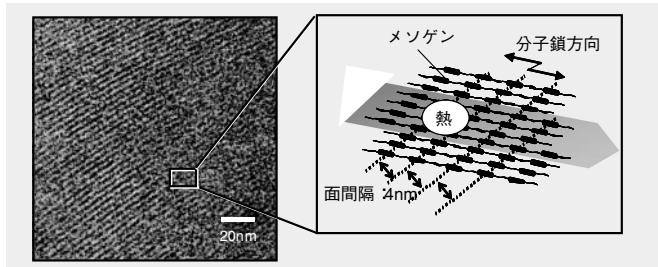


図 6 透過型電子顕微鏡(TEM)によるナノレベルでの高次構造直接観察

Fig. 6 Higher order structure of high thermal conductive epoxy in nanoscale.

パターンも観察された。これは結晶的構造とアモルファスの境界が共有結合性の化学結合で結ばれているためと考えられた。

以上、高次構造を制御することで熱伝導率を高めた自己配

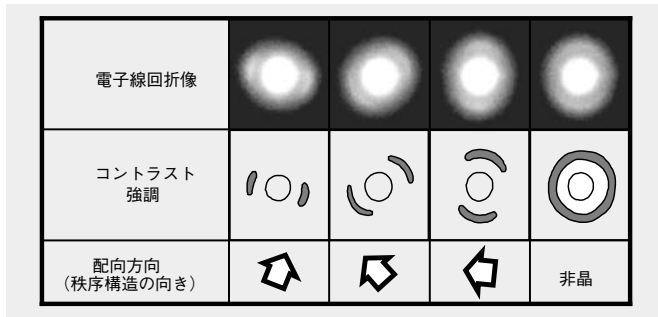


図 7 電子線回折パターンのスキャン時の変化

Fig. 7 Scanning patterns of electron diffraction of high thermal conductive epoxy resin.

列型のメソゲン含有エポキシ樹脂を開発できた。

〔4〕 コンポジット材料の開発とその応用

開発したエポキシ樹脂は、樹脂としては従来にない高い熱伝導率を有しているが、それでも樹脂単体ではmax.1W/m・K未満であり、それだけでは電気、電子機器に対して十分な放熱効果があるとはいえない。放熱に十分に寄与できるレベル、すなわち、熱伝導率の絶対値を一けた以上上げるためにはセラミックス系フィラーの混合が不可欠である。そこで、以下に開発樹脂を用いたコンポジット材料の試作検討結果¹⁷⁾を紹介する。

4.1 高熱伝導成形材

ビフェニル型エポキシ樹脂、硬化剤およびアルミナをベースとしたフィラーを用いて図 8 (a)に示すようなトランスファー成形用の粉状ペレットをロール混練により調製した。これをタブレット化し、試験用金型を用いて180℃でトランスファー成形した結果、良好な成形・流動性を有し、原理的には熱伝導率5W/m・Kの成形材となり得ることを確認できた。また、モーターのロータコイル部を試作開発材を用いてトランスファーモールド成形した結果を図 8 (b)に示す。成形材がエナメル素線間にも良好に充填されていることがわかる。なお、表 1 に開発した高熱伝導成形材の代表特性を示す。

4.2 高熱伝導絶縁シート

ベースとなる高熱伝導エポキシ樹脂としてビフェニル型エ



図 8 高熱伝導成形材への適用可能性検討

Fig. 8 Application to thermal conductive molding compounds.

表 1 高熱伝導成形材の代表特性

Table 1 Typical properties of molding compounds.

分類	特性	測定法	単位	値
成形時	成形品比重	JIS-K6911	—	3.1
	ゲルタイム Δ at180℃	JIS-K6910-D	sec	120
	スパイラルフロー-at180℃	SPI-EMMI-1-66	cm	102
	成形収縮率	JIS-K6911	%	0.18
機械的特性	引張り強さ	JIS-K6911	MPa	70
	曲げ強さ	JIS-K6911	MPa	120
	曲げ弾性率	JIS-K6911	GPa	30
	シャルピー衝撃強さ	JIS-K6911	kJ/m ²	3.8
熱的特性	熱伝導率	定常比較法	W/m・K	5
	線膨張係数	JIS-K6911	10 ⁻⁶ /℃	16
	ガラス転移温度	TMA	℃	160
		DMA	℃	190
電気特性	耐電圧	JIS-K6911	k V/mm	45
	耐アーク	JIS-K6911	sec	330
吸水率	煮沸吸水率	JIS-K6911	%	0.03

*この数値は実験データの一例であり、品質を保証した値ではありません。

ポキシ樹脂、メソゲン構造を最適化したエポキシ樹脂を用い、硬化剤、アルミナフィラー、溶媒を十分に混合した後、バーコーターにてワニス塗工後、温風乾燥して厚さ約200 μ mのBステージ(半硬化)シートを得た。作製したBステージシートの外観と断面写真を図 9 に示す。図 9 (c)に示すようにBステージ状態のシートは自重で垂れるほど柔軟な可とう性を有する

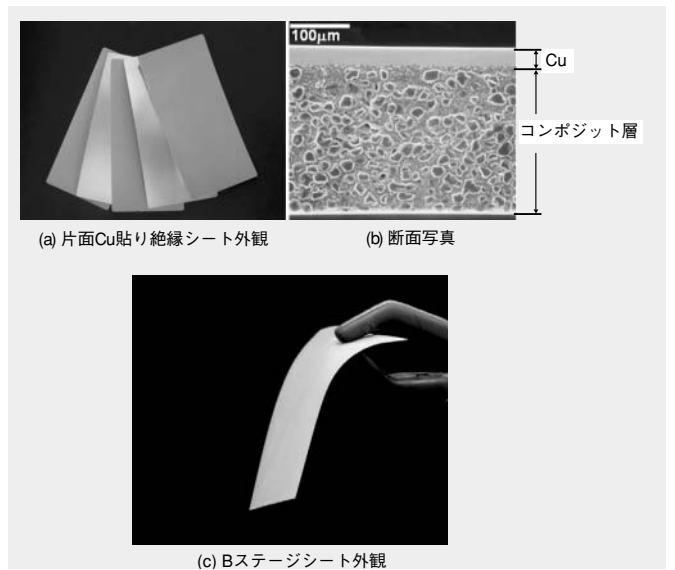


図 9 高熱伝導絶縁シートへの適用可能性検討

Fig. 9 Application to thermal conductive insulating sheets.

項目	アルミ基板	銅箔貼り合わせ基板	金属板貼り合わせワーク
接着構成	<p>プレス 銅箔 樹脂シート アルミ板</p>	<p>プレス 銅箔 樹脂シート 樹脂板</p>	<p>プレス 銅板 樹脂シート ヒートシンク</p>
使用例			
代表的な用途	<ul style="list-style-type: none"> 各種素材に圧着して回路形成が可能 産業機器、PCなどの発熱密度の高い個所 		<ul style="list-style-type: none"> 産業機器など発熱量が大きい個所

図10 高熱伝導絶縁シートの適用形態例

Fig. 10 Application model of insulating sheets.

表2 高熱伝導絶縁シートの代表特性

Table 2 Typical properties of insulating sheets.

項目	5Wグレード	10Wグレード (開発段階)
熱伝導率 (Xe-フラッシュ法) [W/m・K]	4.5~5.0	9.0~10.0
ガラス転移温度[°C]	170~180	190~200
線膨張係数 α_1 [ppm/°C]	25~30	20~25
ベース樹脂5%減量[°C]	290~300	290~300
ハンダ耐熱性	>280°C5分	>280°C5分
耐電圧[kV/200 μ m]	5	4
弾性率[MPa]	9~10	40
せん断接着力[MPa]	6~8	4
硬化条件	150°C/2hr+ 180°C2hr	140°C/2hr+ 190°C2hr

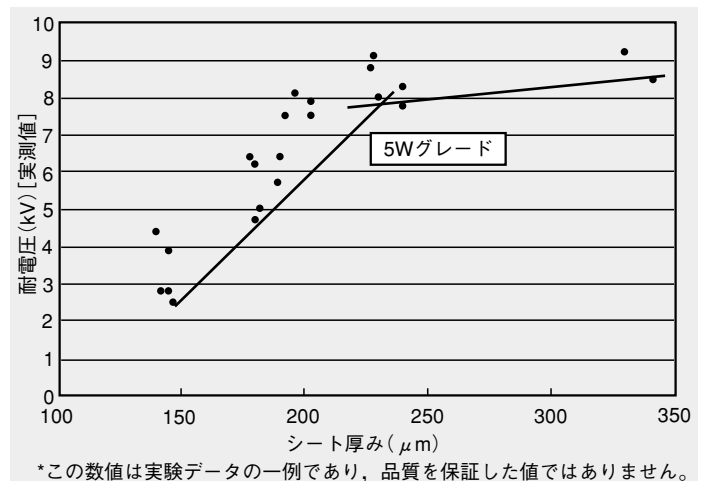
*この数値は実験データの一例であり、品質を保証した値ではありません。

のが特長である。

得られたBステージシートを所定の条件にて図10に示すようなアルミ基板、銅箔貼り合わせ基板、金属板貼り合わせワークとして作製、真空プレス接着し、140°C~190°Cで2時間硬化することで評価用サンプルとした。

次に熱特性、接着特性および電気特性など各種物性を測定した。ビフェニル型エポキシ樹脂コンポジットを用いたシートの熱伝導率は5W/m・K、多環式のエポキシ樹脂を用いたコンポジットシートの熱伝導率は10W/m・Kとアルミナをベースとした絶縁性の接着シートとして十分な高い値を有している。銅箔との接着強度を示すピール強度や絶縁破壊強度も良好であり、どちらの樹脂を用いてもシートとしての基礎的な特性は満足していると考えられる。そのほか、開発した絶縁シートの代表特性を表2、図11にまとめた。

初期物性が良好であったことから、長期劣化試験での物性値の変化を高温高湿試験にて評価した。代表的な特性として、熱伝導率や絶縁破壊電圧、ピール強度を評価した結果、1,000時間までの高温高湿劣化試験ではピール強度と熱伝導率の顕著な低下は見られなかった。また、耐電圧に関しても安定し



*この数値は実験データの一例であり、品質を保証した値ではありません。

図11 シート厚さと耐電圧特性

Fig. 11 Electric breakdown voltage vs thickness of insulating sheet.

た値を示した。現在、この高熱伝導絶縁シートは「ハイセット」として評価用サンプル提供を開始している¹⁸⁾。

4.3 高熱伝導積層板、そのほか

ガラスクロスや不織布を基材に用いた高熱伝導積層板も開発中である¹⁹⁾。試作した積層板の放熱効果を検証するために、図12中に記載した評価系を使用して、ペルチェ素子を用いた加熱~冷却時の表面温度の変化を測定した。試料表面を15秒間隔で交互に加熱、冷却した際に積層板試料の表面温度の変化を実測した結果を図12中に示す。ここで、 T_1 と T_2 はそれぞれ積層板の上面側、および下面側温度、そして ΔT は2つの間の温度差を示す。高熱伝導性の試作積層板(熱伝導率 ≈ 4.5 W/m・K)の ΔT は、従来汎用品(熱伝導率 ≈ 0.43 W/m・K)のそれよりはるかに小さく、熱応答特性に優れていることが実証できた。

現在、高放熱基板用材料として3W/m・K、6W/m・K品が新神戸電機(株)より発表されている²⁰⁾。メタルベース基板では不可能な多層化可能な高放熱配線板材料として期待されている。

そのほかの応用展開としては、半導体用封止材や導電性ファイラーとのコンポジット材料などが考えられる。実用化のた

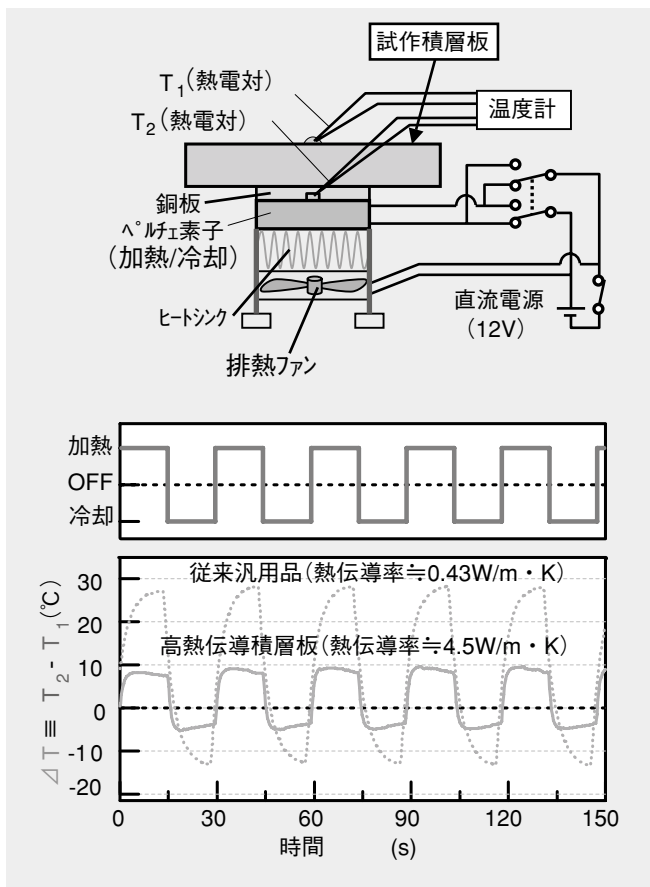


図12 試作積層板の加熱～冷却応答特性

Fig. 12 Change of surface temperature of typical laminate samples during alternate heating cooling.

めの量産化プロセス技術，そしてコストとのバランスを取りながら開発を進めている。

[5] 結 言

本論文では，特に高い絶縁性と高熱伝導性とを両立できる新材料として開発した，自己配列によってナノレベルで高次構造を制御した高熱伝導エポキシ樹脂と，それを用いたセラミックス系フィラーとのコンポジット材料について説明した。開発したコンポジット材料は，エレクトロニクス材料への応用には必須特性である低熱膨張性，低吸水性，高い高温弾性率特長も兼ね備えていることが特長である。これら特性のほか，接着性や長期絶縁信頼性に関しても従来の汎用エポキシ樹脂コンポジット材料と同等以上の性能を示す。今後，モーターを搭載する電気自動車，燃料電池自動車，エンジンとモーターの両方を持つハイブリッド車に使用される電装品，モーター，ならびに家電品，LED照明などに幅広く適用されることを期待したい。

参考文献

- 1) 電気学会：世界を動かすパワー半導体—IGBTがなければ電車も自動車も動かない，(オーム社，2009)
- 2) 技術情報協会編：「電子機器・部品用放熱材料の高熱伝導化およ

び熱伝導性の測定・評価技術」，(2003)

- 3) 赤塚正樹，竹澤由高，C.Farren，"放熱性の優れた高次構造制御エポキシ樹脂の開発"，電気学会論文誌A，123(7)，687-692(2003)
- 4) M. Akatsuka and Y. Takezawa, "Study of high thermal conductive epoxy resins containing controlled high-order structures", J. Appl. Polym. Sci., 89(9), 2464-2467(2003)
- 5) 金成，"複合系の熱伝導率"，高分子，26，557-561(1977).
- 6) 日立化成プレスリリース2009年6月23日
- 7) C.L.Choy, W.H.Luk, and F.C.Chen, "Thermal conductivity of high oriented polyethylene", POLYMER, 19, 155-162(1978)
- 8) C.L.Choy, and K.Young, "Thermal conductivity of semicrystalline polymers - a model", POLYMER, 18, 769-776(1977)
- 9) C.L.Choy, S.P.Wong, and K.Young, "Model calculation of the thermal conductivity of polymer crystals", J. Polym. Sci. Polym. Phys. Ed., 23, 1495-1504(1985)
- 10) D.Hansen and G.A.Bernier, "Thermal conductivity of polyethylene: the effect of crystal size, density and orientation on the thermal conductivity", Polym. Eng. Sci., 12, 204-208(1972)
- 11) K.Geibel, A.Hammerschmidt, and F.Strohmer, "In situ photopolymerized, oriented liquid-crystalline diacrylates with high thermal conductivities", Adv. Mater., 5, 107-109(1993)
- 12) 原田，岡本，住友，越智，丸山，"ドメイン径及び相構造の制御による液晶性エポキシ樹脂の高性能化"，高分子学会予稿集，55(1)，1785(2006)
- 13) 青木，石垣，下山，木村，飛田，山登，木村，"磁場配向液晶高分子の異方特性"，高分子学会予稿集，52(3)，591(2003)
- 14) 青木，下山，木村，飛田，"熱液晶性高分子の磁場配向による高性能化"，高分子学会予稿集，54(2)，3716-3717(2005)
- 15) 宇野良清ら共訳：キッテル固体物理学入門(上)，第6版，(丸善，1988)
- 16) J. A. Dean: Lange's Handbook of Chemistry, 15th ed., New York, NY, USA: McGraw Hill (1999)
- 17) 宮崎靖夫，福島敬二，片桐純一，西山智雄，高橋裕之，竹澤由高，"高次構造制御エポキシ樹脂を用いた高熱伝導コンポジット"，ネットワークポリマー，29(4)，216-221(2008)
- 18) 日立化成プレスリリース2009年7月14日
- 19) K. Fukushima, H. Takahashi, Y. Takezawa, T. Kawahira, M. Itoh, and J. Kanai, "High Thermal Conductive Resin Composites with Controlled Nanostructures for Electric Devices, IEEJ Trans. FM(電気学会論文誌A)，126(11)，1167-1172(2006)
- 20) 山仲浩之，伊藤 玄，川平哲也，高橋義人，金井 淳，福島敬二，竹澤由高，"大電流用高放熱積層板の開発"，新神戸テクニカルレポート，No.17(2007-2)，27-34(2007) .

黒鉛粒子配向制御によるフレキシブル高熱伝導シート

Novel Thermally Conductive Sheet Applying Orientation Control of Graphite Particles

山本 礼* *Rei Yamamoto* 吉田優香* *Yuka Yoshida* 吉川 徹* *Toru Yoshikawa*
矢嶋倫明** *Michiaki Yajima* 関 智憲** *Tomonori Seki*

CPUなど半導体素子の発熱量増大に対応するため、より柔軟で熱伝導性に優れる接続材料が求められている。しかし、熱伝導粒子を樹脂中にランダムに分散した従来の熱伝導材料では、柔軟性、熱伝導性ともに限界に達していた。そこで当社は、コンポジット材料の構造制御により柔軟性と高熱伝導性の両立を図ることを試みた。その結果、当社独自の高熱伝導黒鉛粒子をアクリルポリマー中で膜厚方向に配向、かつ貫通させることにより、従来品の10倍以上の熱伝導率と優れた柔軟性を示すシートを開発した。さらにこのシートの実使用条件での特性を調査した結果、圧縮応力下での黒鉛粒子の配向維持による高い復元性と優れた耐熱性、耐熱衝撃性を示すことを確認した。この熱伝導シートはCPUだけでなく、LED、パワーモジュールなどの電子機器に幅広く適用可能である。

The excellent thermally conductive and flexible sheet has been required for the heat dissipation of CPU packages. However it is difficult for an ordinary thermal conductive sheet to have both high conductivity and flexibility. To solve this problem, we developed the thermally conductive sheet with vertically oriented particles and thermosetting resins. The sheet shows the excellent flexibility and thermal conductivity which is 10 times higher than ordinary materials. The sheet also shows the enough restoration property under the compression stress applied for CPU packages and excellent reliabilities.

〔1〕 緒 言

国際半導体技術ロードマップ(ITRS)2007年版¹⁾が指摘するように、現在、電子機器の放熱能力の向上が極めて重要な課題になっている。例えば、1994年にはわずか5 Wであったマイクロプロセッサの発熱は、配線微細化に伴い130 Wに増大している²⁾。それに伴いCPUの能力を充分発現させるためには、放熱性能を数十倍改善し、CPUの温度上昇を抑制することが必要になっている。

図1にデスクトップPC用CPUパッケージの断面構造を示す。CPUから発生する熱は、チップからヒートスプレッダ、

ヒートシンクを介して大気中に放散される。これら部材間の熱伝達を高めるために熱伝達材料(Thermal Interface Material, 以下TIMと略す)が必ず使用される。放熱性能はTIMとヒートスプレッダ、ヒートシンクの熱抵抗に依存する。ヒートシンクに使用される銅などの金属は、結晶構造や自由電子密度に由来する固有の熱伝導率をもち、原理的に改善は望めないため、TIMの伝熱性能の改善が必要になっている。

TIMの必要特性は、①発熱体から放熱部材へ熱を伝えること、②両者の熱変形に柔軟に追従することの二つである。フォノン伝導性に優れるダイヤモンド、黒鉛、AINなどの結晶性無機物材料は非常に硬く、②を満足できない。電子伝導性に優れる金、銀などの金属も同様である。一方、柔軟性に優れる高分子材料は、フォノン散乱が大きく、熱伝導性が劣る。

単一材料で①、②をともに満足することは原理的に極めて困難であることから、当社はコンポジット材料の構造制御によりこれら二つの特性の両立を試みた。その結果、当社の創業時からの技術である黒鉛材料と熱硬化性樹脂を高度に構造制御することによって、高い熱伝導性と柔軟性を両立したTIM材を開発することができた。以下にその検討結果を報告する。

〔2〕 実験方法

2.1 試料

りん片状の黒鉛粒子と架橋性アクリルポリマー、エポキシ樹脂、および添加剤などを混練し、熱伝導シートを作製した。

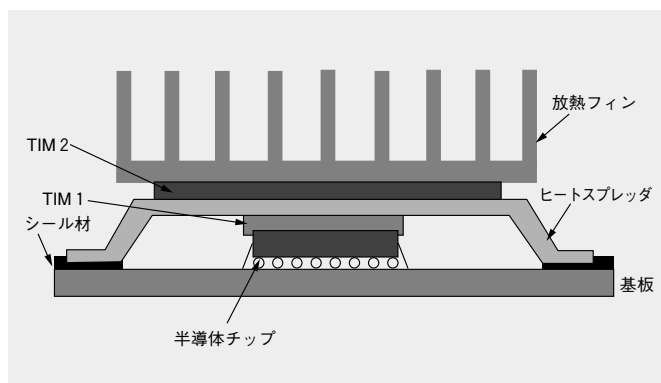


図1 CPU断面の模式図 TIMの機能は、部材間の熱伝達である。

Fig. 1 Cross sectional structure of CPU

Thermal interface material (TIM) is placed between members and transfers heat.

* 当社 研究開発本部 筑波総合研究所

**当社 機能性材料事業部 無機材料部門

2.2 評価方法

(1) 熱伝導率, 熱抵抗

TIM材のように発熱体と放熱部材間の熱伝達を目的とする熱伝導シートでは、シート単体とシート界面での伝熱効率を含めた熱抵抗で評価することが重要である。図2に示す構成のトランジスタ装置を用いて、熱伝導シートに圧縮応力を負荷し、加圧下での熱抵抗を測定した。さらに測定した熱抵抗Rとシート厚みtを用いて熱伝導率λを $\lambda = t/R$ の式から算出した。また長期信頼性試験での熱抵抗は、厚さ250 μmのシートを銅板で挟んだ3層構造品についてキセノンフラッシュ法熱拡散率計(NETZSCH社製 LFA447)を用いて測定し、熱拡散率αを用いて $R = t / (\alpha \cdot C_p \cdot \rho)$ の式から算出した。ここでCpは定圧比熱、ρは密度である。

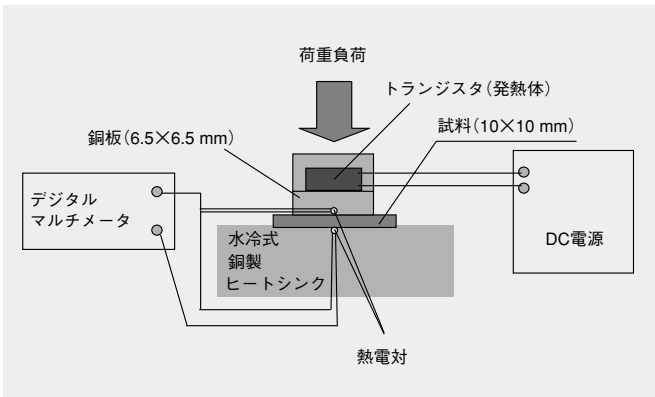


図2 トランジスタ法の装置構成 トランジスタを発熱体として、試料を加圧しながら測定できる。

Fig. 2 Equipment used to measure thermal resistance of TIM sample The thermal resistance of TIM sample is measured, pressing a transistor on TIM as a heat source.

(2) 柔軟性

厚み10 mmの熱伝導シートを作製し、シート表面に軟質ゴムの評価に使用するアスカ-C硬度計の触針部を押し当て測定した。なお、アスカ-C硬度の値が小さいほど、柔軟で追従性に優れる。

(3) 変位量, 復元率

厚さ250 μmの熱伝導シート表面にφ22.6 mmのヘッドを1 mm/minの速度で押付けて、厚さの変位量を測定した。復元率は、ヘッドを荷重が0.6 MPaになるまで押しつけ、その後0 MPaまで戻した時の変位量Δhと0.6 MPa時の変位量t₁を用いて式①から求めた。

$$\text{復元率} = (t_1 - \Delta h) / t_1 \times 100 \dots\dots\dots \text{①}$$

[3] 結果と考察

3.1 TIM材の構造設計

樹脂中に高熱伝導性粒子を分散した熱伝導コンポジットとして、図3に示すいくつかの構造が考えられる。従来の熱伝導シートは構造Aのように樹脂中に高熱伝導粒子をランダムに分散したものである^{3) 4)}。熱は主に粒子内部のフォノン伝導と粒子同士の接触を介して伝わる。高熱伝導化には、粒子を増量し、粒子の接触面積を増やす必要があるが、粒子間に介在する樹脂により熱伝導は大きく阻害される上、粒子の高充填化によって柔軟性が不足する問題が発生する。

次に構造Bのように、繊維状またはりん片状の粒子が横に配向した構造を考える。シート押し出し法などの従来の製造方法では、粒子は横方向に配向しやすい。この構造では、粒

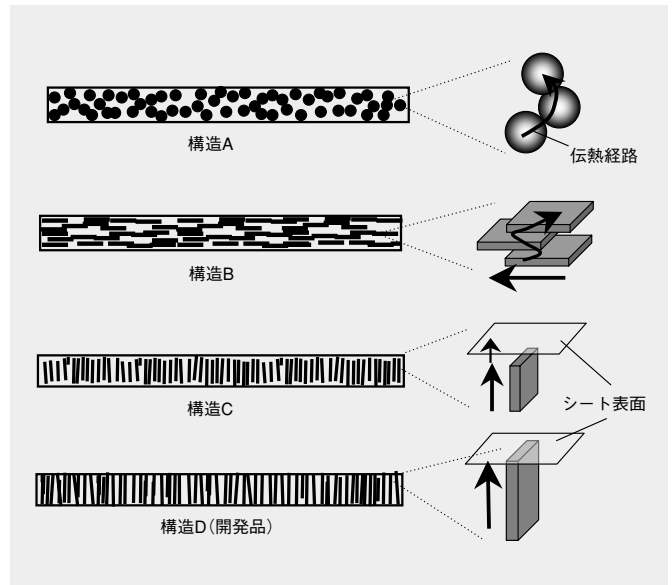


図3 開発品と従来のシート断面構造 粒子形状, 配向, 分散状態によって伝熱経路が異なる。

Fig. 3 Schematic diagram of cross-sectional structure of the developed composite sheet and the conventional sheets Heat is transmitted through different pathways depending on the shapes, orientation and dispersion of heat conductive particles.

子が長手方向に高い熱伝導を有する場合、横方向の熱伝導性は改善されるものの、構造Aと比べ粒子/樹脂界面がより多くなるため、肝心の縦方向(膜厚方向)の熱伝導性はむしろ低下する。

粒子を膜厚方向に配向した構造Cでは、シートの厚み方向の熱伝導性の大幅な向上が期待できる。このような配向制御は磁場、電場配向などの研究例^{5) 6)}がある。しかし、構造Cの場合シート表面が樹脂で多く覆われ、接触抵抗が大きくなる可能性がある。

そこで、高熱伝導率化には、構造Dのように粒子が縦に配向し、さらにシート上下面を貫通し、粒子のフォノン伝導または電子伝導をダイレクトにいかせる構造が最も理想的であると考えた。さらに粒子を薄く、屈曲しやすくすることで、全体が圧縮変形しやすく、柔軟性が向上すると考えた。問題はどのように形成するかである。当社は、構造Dの形成技術について検討し、独自の材料と構造形成技術により、精密かつ高効率に粒子の縦配向と貫通構造を得ることができていることを見いだした。以下に、材料面とその放熱特性について述べる。

3.2 材料設計

(1) 熱伝導粒子

構造Dを実現するには繊維状、りん片状のように形状の異方性を有し、貫通方向への高い熱伝導性を有する粒子が必要になる。そこで当社の保有材料である黒鉛に着目した。黒鉛は図4に示すように、六方晶の層状結晶がファンデルワールス力で結合した構造を有し、結晶面内では自由電子による熱伝導により200 W/mK以上の高い熱伝導性を持つ。当社独自の粒径制御技術によって薄く柔軟なりん片状結晶を作製することで、熱伝導性と柔軟性を高いレベルで両立することができた。

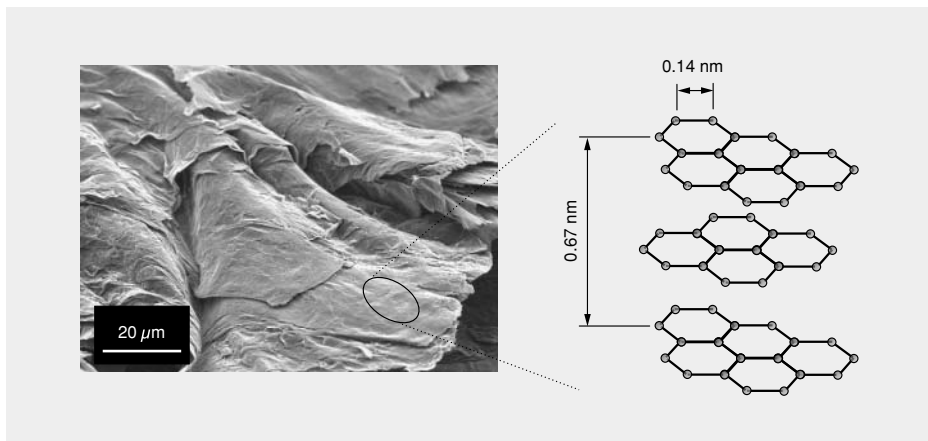


図4 黒鉛粒子の外観と一般構造 黒鉛粒子は結晶面内方向に高い熱伝導性を持つ。

Fig. 4 SEM photograph and crystal structure of graphite particle
Graphite has high thermal conductivity within crystal plane.

(2) 樹脂

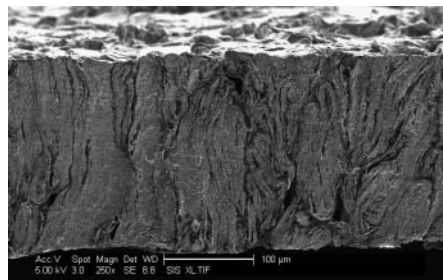
バインダーの主成分には柔軟で耐熱性に優れたアクリルポリマーを用いた。耐熱性と復元率を向上するためアクリルポリマーには熱架橋性の官能基を付与したほか、黒鉛との密着性向上のための極性基、高分子鎖の絡み合いに由来する擬似架橋点を多く含むように分子量、構造を最適化した。アクリルポリマーを適用することで、従来のシリコン樹脂に見られたシロキサンオリゴマの揮発による接点汚染などの課題を解決できた。

3.3 シートの構造と放熱特性

得られた構造D(黒鉛粒子垂直配向)のシート断面のSEM写真と外観を図5に示す。黒鉛粒子が垂直に配向し、かつシートを貫通していることがわかる。図6に構造B, C, Dの種々の膜厚における熱伝導率測定結果を示す。黒鉛が垂直配向した構造Dのシートの熱伝導率は、面内配向の構造Bと比べて10倍以上向上しており、かつ、膜厚が薄くなるにしたがい向上している。黒鉛粒子の垂直配向では、膜厚が黒鉛粒子の最大長さよりも薄くなるとシート上下を貫通する粒子の比率が増大する、つまり構造Cから構造Dに変化するため粒子を媒体とする熱伝導が効率的に行われ熱伝導が向上したと考える。



(a) シート外観



(b) シート断面

図5 開発品の外観と断面 黒鉛粒子がシート厚み方向に配向している。

Fig. 5 Appearance and cross-sectional structure of the developed sheet
Graphite particles are placed in vertical orientation.

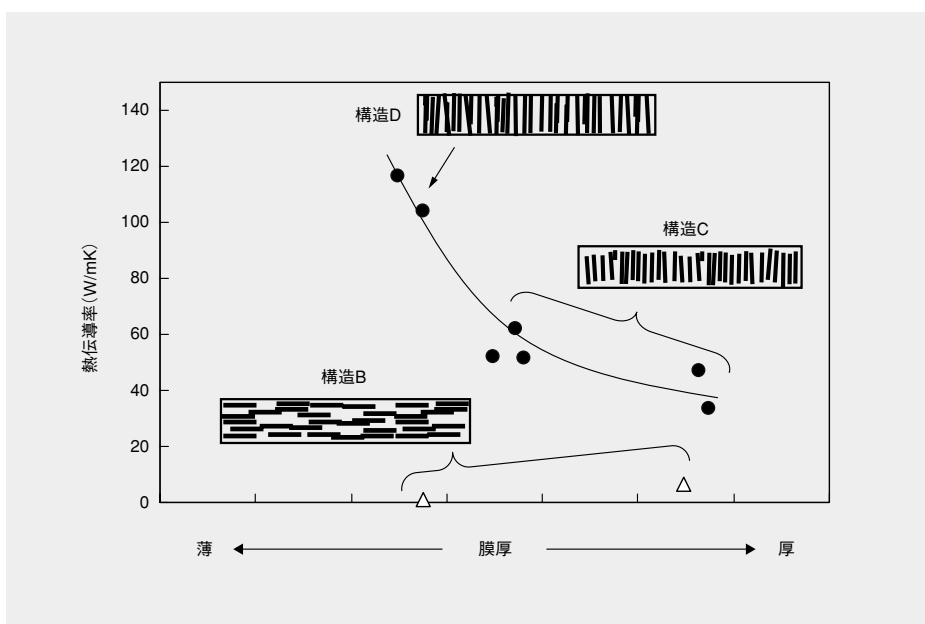


図6 熱伝導率の膜厚依存性 粒子の垂直配向構造では、粒子の貫通効果が影響するため熱伝導率の膜厚依存性が大きく、面内配向では小さい。

Fig. 6 Thickness dependence of thermal conductivity
The thermal conductivity depends on the thickness of the developed sheet because the extent of penetration of vertically oriented particles influences the property, but the dependence is small in the case of the horizontally oriented particle.

表1 開発品および従来材の一般特性 開発品は一般的にはコンポジット材に比べ低い熱抵抗を示す。

Table 1 General properties of the developed sheet and the ordinary materials
The developed sheet shows lower thermal resistance compared with the ordinary materials.

項目	開発品	インジウム	シリコングリース	フェイズチェンジシート
熱抵抗 (K・cm ² /W)	0.07~0.07	0.07	0.16	0.18
厚さ (μm)	170~300	200	30	20
アスカ-C硬度	50	>100	20	20
融点 (°C)	なし	160	<-50	50

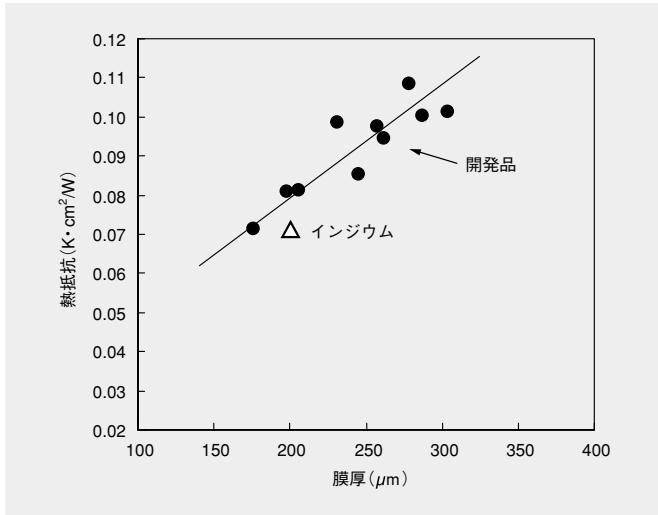


図7 膜厚と熱抵抗の関係 膜厚を薄くすることでインジウム同等の熱抵抗を得ることができる。

Fig. 7 Relationship between thickness and thermal resistance
Thermal resistance of equal to indium can be obtained by thinning the thickness of sheet.

3.4 従来材との特性比較

開発品と従来材の一般特性を表1に示す。従来材としては、現在TIM用途で使用されているインジウム、シリコングリース、フェイズチェンジシートを取り上げた。まずインジウムと比較とする。開発品は、アスカ-C硬度がインジウムの半分以下と、優れた柔軟性を有することがわかる。熱抵抗は図7に示すように膜厚に依存するが、シートの薄膜化によってインジウムと同等程度の値となる。さらに、インジウムの融点は160°Cであり、はんだリフロー工程(260°C)で溶融、流動してしまうのに対して、開発品は樹脂が架橋構造を有するため、260°Cでも流動しない。そのため、はんだリフロー工程を経ることが可能であるほか、160°C以上に温度上昇した場合でも、性能に大きな変化がない。一方、シリコングリースやフェイズチェンジシートはアスカ-C硬度が低く、柔軟であるメリットはあるが、通常使用する20-30 μmの厚さでも、熱抵抗が開発品に比べて6-8割大きい。さらに、インジウムと同様に高温で流動するため、高温下での長期間使用には懸念が残る。

以上の結果から、開発品は従来品では両立できなかった放熱性、柔軟性、耐熱性を満足するものであることがわかった。

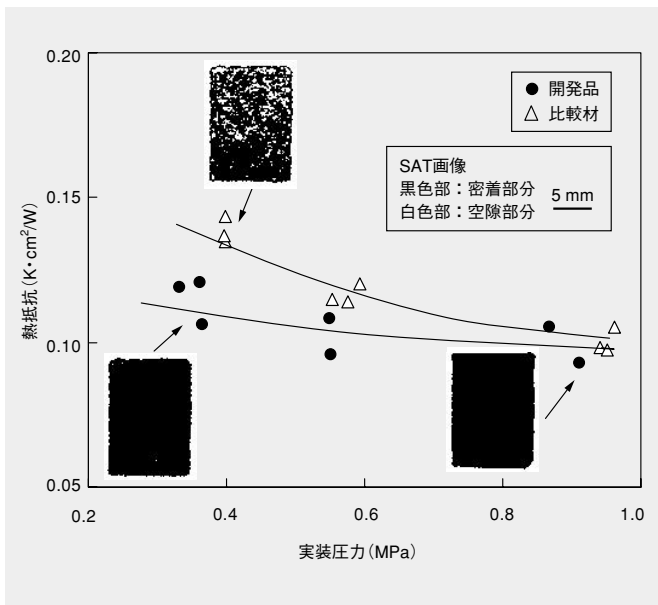


図8 実装圧力と熱抵抗の関係 柔軟性のある開発品は熱抵抗の圧力依存性が小さい。

Fig. 8 Relationship between pressure and thermal resistance
As the flexibility of the developed sheet is excellent, the dependence of the thermal resistance on pressure is small.

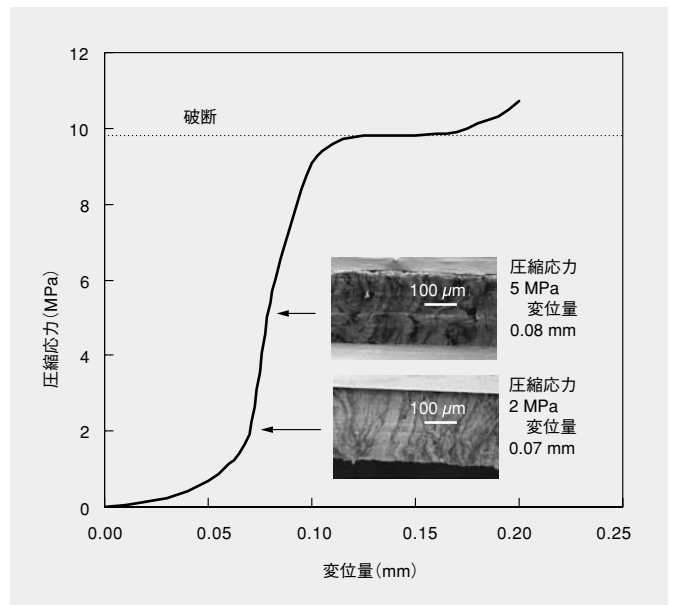


図9 圧縮応力と変位量の関係 5 MPaの圧縮応力において粒子の垂直配向は崩れていない。

Fig. 9 Relationship between compression stress and displacement
The vertical orientation of the particles is still kept under the compression stress of 5 MPa.

3.5 開発品の実使用条件での特性

図1に示すCPUの放熱材料に適用することを念頭に、実使用条件での放熱特性、信頼性などを評価した。CPU上のTIMの実装は0.6 MPa以下の低圧圧着が必須である。そこでまず、0.6 MPa周辺での熱抵抗と圧力依存性を調べた。結果を図8に示す。開発品の熱抵抗は、架橋密度を増大し硬くした比較材と比べ、0.6 MPa以下において熱抵抗が低く、圧力依存性も小さいことがわかった。比較材は、超音波映像装置(Scanning Acoustic Tomograph, SAT)画像の白色部分(空隙部分)が多く観察されたのに対し、開発品は低圧においてもシート全面が被着体と密着していることが確認された。

実使用時の圧縮応力によるシート厚みの変位は、黒鉛粒子の配向状態に影響を与えることが考えられる。圧縮したシー

ト厚みの変位量と黒鉛粒子の配向状態を調べた。結果を図9に示す。圧縮応力とともに変位量は増し、10 MPa近辺で破断した。しかし、2 MPa(変位量0.07 mm)、5 MPa(変位量0.08 mm)の圧力下でも垂直配向性は維持されており、開発品が高い圧縮強度を示すことを確認できた。

圧縮したシートの復元率は、界面での密着に関わるため放熱特性に影響を及ぼす。またCPUは動作時に80℃近辺まで上昇するため、チップや基板の熱変形によって圧縮応力が緩和する場合も想定される。そこで、80℃と25℃における圧縮過程での変位量の変化を調べた。結果を図10に示す。変位量は高温(80℃)の方が大きくなっている。これは樹脂の弾性率が減少し、より柔軟になったためと考える。一方で復元率はCPU動作時の温度(80℃)においても高い値を維持しているこ

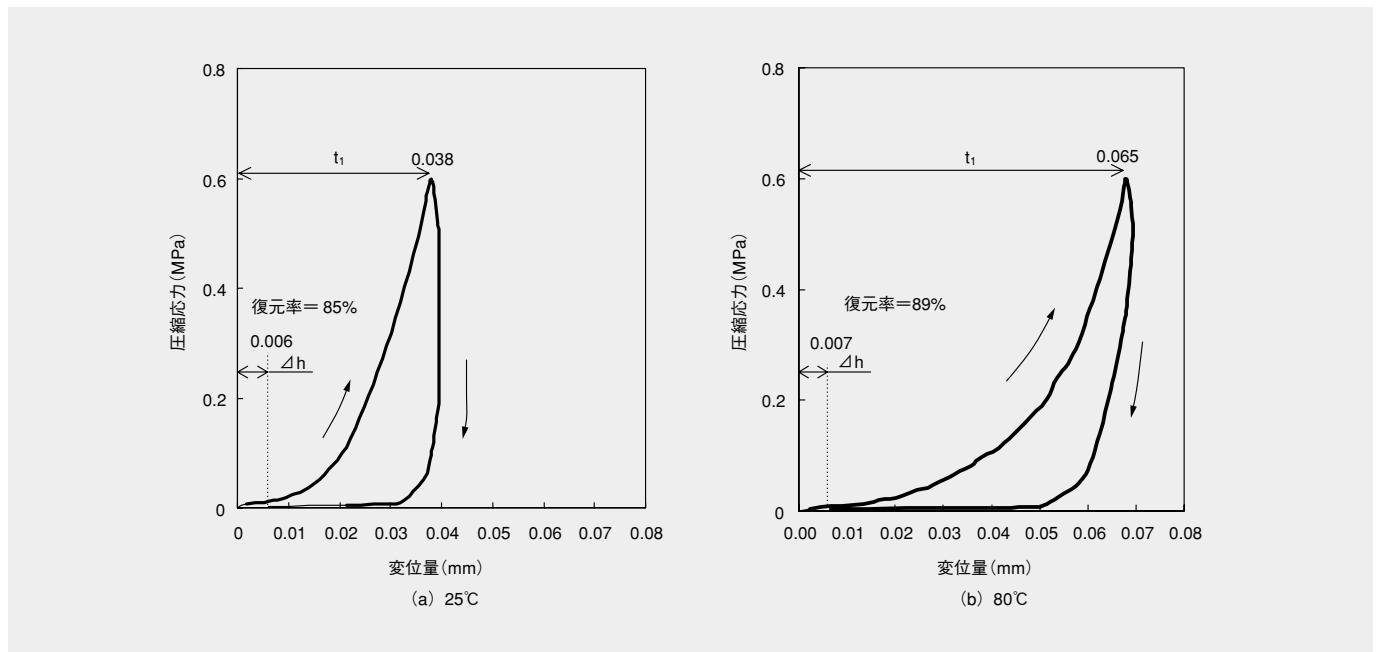


図10 温度の違いによる復元性の変化 変位量は温度に応じて大きくなるが、復元性には変化がない。

Fig.10 Restoring characteristic of the developed sheet at the temperature of 25°C and 80°C
The restoration is changeless though the magnitude of displacement increases with the temperature.

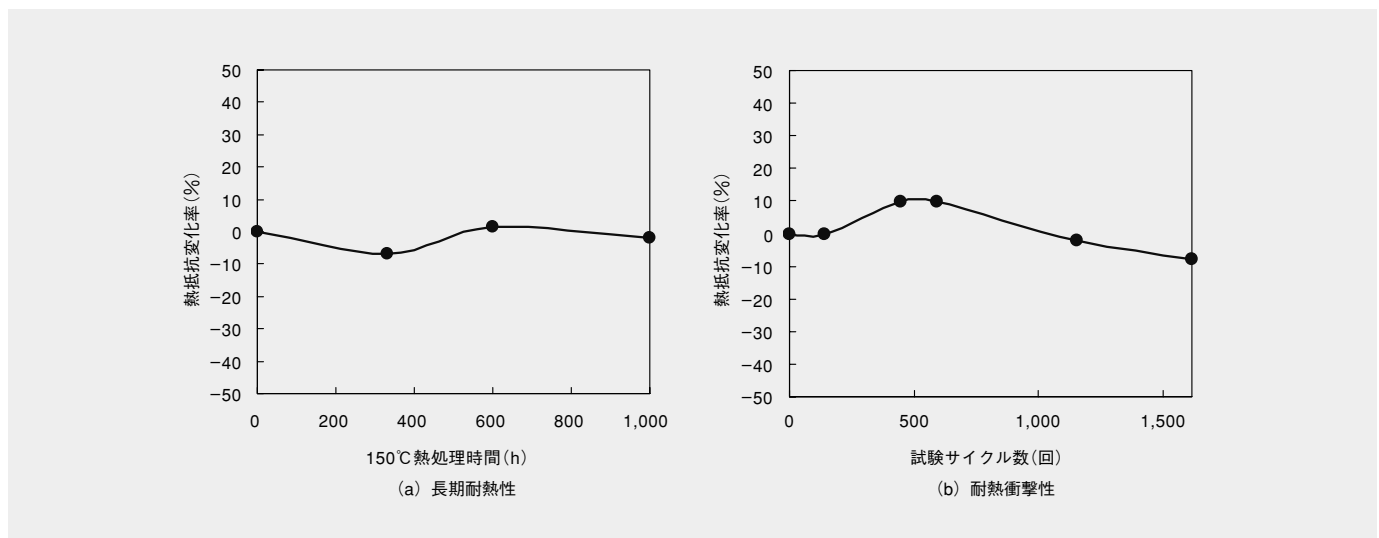


図11 信頼性の評価結果 長期耐熱、耐熱衝撃試験後も熱抵抗変化は10%以下である。

Fig.11 Results of reliability tests
The change of the thermal resistance of the developed sheet is less than 10% after 1,000 h heat treatment at 150°C or 1,000 cycles of the thermal shock test.

とがわかった。以上の結果から、開発品は部材の熱変形に追従し界面の接触抵抗の増大を抑制することができると思われる。

本開発品の各種信頼性の結果を図11に示す。耐熱性は150℃で1,000時間での熱抵抗の変化を測定し、1,000時間後において熱抵抗が10%以内であることを確認した。アレニウス則に基づく、時間・温度換算則より、100℃で、32,000時間の負荷と同等と考えることができる。初期状態に比べ、150℃放置によって熱抵抗が低減した要因は、温度上昇により樹脂の弾性率が減少し、シートがより柔軟になり界面への密着性が向上したためと考える。熱衝撃試験では-40℃から100℃の範囲で1,500サイクル実施し、熱抵抗変化率が10%以内と良好であることを確認できた。

以上の結果から、開発品はCPU動作条件において、長期間にわたり安定した熱抵抗を維持することができると思われる。

3.6 まとめ

以上の結果から、開発したTIMは金属並みの熱伝導性を有することがわかった。TIMの放熱特性向上には①界面の接触抵抗抑制、②シートの高熱伝導化、③シート薄膜化が有効であることが知られている⁷⁾。本開発品では、柔軟性のあるアクリルポリマーをバインダーに採用したことにより密着性を上げ、さらに粒子の貫通構造によってシート表層に熱伝導材である黒鉛が直接露出することで界面の接触抵抗を抑えた。なお、構造C、Dの熱伝導率の差は、界面に露出する黒鉛粒子の有無が影響していると考えられる。シートの熱伝導率は、黒鉛粒子を垂直配向させ貫通させることで向上することがわかった。さらに薄膜化を行うことで、金属並みの熱抵抗まで下げることができた。

低熱抵抗化には、①の界面状態の制御が最も重要であると考えられる。高いバルクの熱伝導率を有したコンポジット材料では、薄膜化による熱抵抗低減(伝熱経路短縮効果)よりも、界

面におけるポリマーの接触抵抗増大効果の方が大きい、と想定されるためである。これには、シート作製プロセスと新規ポリマーの設計の両面からシート表面の平滑化や樹脂の柔軟化を図ることで接触抵抗と相関のある密着性を向上する検討が必要であると考えられる。

〔4〕 結 言

熱伝導性に優れる黒鉛粒子とアクリルポリマーを用い、フィルム内で黒鉛を垂直配向かつ上下貫通させることにより、高い熱伝導性と柔軟性を両立することができた。高い熱伝導性には粒子の配向に加えて、黒鉛粒子がシート上下間を貫通し界面での接触抵抗を抑えることが有効であることを実証した。また、開発品が部材の変形に追従する復元率と5 MPaに圧力に対しても配向維持する圧縮強度を有することを確認した。現在、この熱伝導シートの量産設備を構築し、サンプルワークを進めている。また、今回開発した熱伝導シートのプロセスをいかし絶縁粒子(窒化ホウ素系)を使用したシートの試作検証も進めている。今後、CPUだけでなくLED、カメラやモニターなどの民生用電子機器、電源、インバータモジュールをはじめとする自動車・産業機器用途など、顧客のさまざまなニーズに対応していきたい。

参考文献

- 1) 国際半導体技術ロードマップ(ITRS)2007年版
http://www.itrs.net/Links/2008ITRS/Update/2008_Update.pdf
- 2) 放熱材料MDB市場情報レポート、日本能率協会総合研究所、2 (2007)
- 3) D. A. G. Bruggeman: Annals of Physics, vol.417, pp.645-672 (1936)
- 4) 金成: 高分子, 26, 557-561 (1977)
- 5) 青木, ほか: 高分子学会予稿集, 54 (2), 3716-3717 (2005)
- 6) 木村: 第57回ネットワークポリマー講演討論会講演要旨集, 129-132 (2007)
- 7) Eric C.Samson, et al.: Intel Technology Journal, vol.9, pp.76-78 (2005)

パターンめっき転写法による導電性微細パターン形成技術

Technology for Preparing Fine Conductive Patterns Using Transfer of Pattern Plating

上原寿茂* Hisashige Kanbara 登坂 実* Minoru Tosaka 鈴木恭介* Kyosuke Suzuki
直之 進** Susumu Naoyuki 根岸正実** Masami Negishi 菊原得仁** Yoshihito Kikuhara

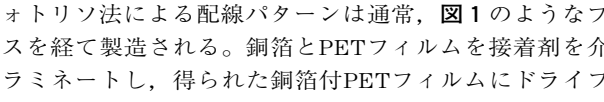
フォトリソ法にかわる新たな導電性の微細パターン形成方法として、パターンめっき転写法を開発した。(1)キー材料である版に関して、1,000ショットの耐久性試験で劣化は見られなかった。またライン幅の微細化に対して、目標の10 μm を達成できる見通しを得た。(2)めっき液のコントロールにより、直線性のある銅パターン形成条件を見いだした。また黒化処理プロセスの検討を行い、黒色スズ-ニッケル-銅合金めっきが最も耐食性に優れていることがわかった。(3)一方、転写樹脂には粘着性と高凝集性の相反する特性の両立が必要であり、樹脂の高分子量化と低弾性率化が有効であった。また導体と樹脂を密着させるためには、導体を転写樹脂中に埋設させることが効果的であり、モノマを導入し樹脂の流動性を向上させることで達成できた。

本製法は微細パターンの形成プロセスを簡略化できることを最大の特長としているが、そのほかにも透明化工程なしで平坦な導体表面が得られること、転写フィルムの基材や樹脂選択の自由度が大きいことなど、従来製法にはない特長も有している。

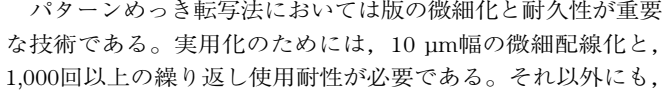
A novel method has been developed for preparing fine conductive patterns, by means of transfer of pattern plating, which is a candidate for replacing the conventional photolithographic process. As a result of our study three major conclusions are obtained. (1) Electroforming master had a durability of 1,000 uses. The conductive patterns are 10 microns width. (2) Fine copper patterns are obtained by controlling the plating conditions. Tin-nickel-copper plating for copper surface blackening was found to be the most resistant to corrosion. (3) The stickiness and cohesion of the adhesive film, which have a trade-off relationship, must be satisfied simultaneously. Increasing the molecular weight of the resin polymer effectively reduces its elasticity. For the tight bonding to the adhesive film, the plated copper must be buried into the adhesive layer completely. The addition of a monomer to the resin effectively increases the fluidity of the resin.

Use of this method simplifies the patterning process and enables the formation of conductive layer with a flat surface. Moreover, it can be used for a wide variety of substrate materials and adhesive film resins.

〔1〕 緒 言

フォトリソ法による配線パターンは通常、のようなプロセスを経て製造される。銅箔とPETフィルムを接着剤を介してラミネートし、得られた銅箔付PETフィルムにドライフィルムフォトレジスト(以下DFRと略す)をラミネートしてフォトリソグラフィック工程で現像する。その後、エッチングにより回路形成を行う。この状態では接着剤表面が銅箔の粗化面形状を反映して粗化されて不透明なため、必要に応じて表面に透明平坦化のための樹脂をコーティングする。これらの工程中では、パターンニング工程であるフォトリソグラフィック工程が最もコスト高である。当社は、技術的な魅力度と、事業としての波及効果を勘案し、パターンめっき転写法がフォトリソ法に取ってかわる手法の一つになり得ると考え、その実用化のための技術を開発した。

〔2〕 パターンめっき転写法

パターンめっき転写法は、導電性の基材に絶縁層を任意の回路にパターンニングし、電気めっきにより露出した基材上のみ銅を析出させ、そのまま転写フィルムに転写して配線パターンを得る方法である¹⁾²⁾。この方法は回路の形成から転写までをロールツーロールで行うことができるため、フォトリソ法に比べてプロセスの簡略化が可能である。また、フォトリソ法のような透明化工程を経ることなしに平滑な導体表面が得られること、さらには転写フィルムの基材や樹脂の選択肢が広い、といった特長もあわせ持つ。本法を利用した製造プロセスをに示す。

パターンめっき転写法においては版の微細化と耐久性が重要な技術である。実用化のためには、10 μm 幅の微細配線化と、1,000回以上の繰り返し使用耐性が必要である。それ以外にも、

* 当社 研究開発本部 筑波総合研究所

**当社 生産革新本部

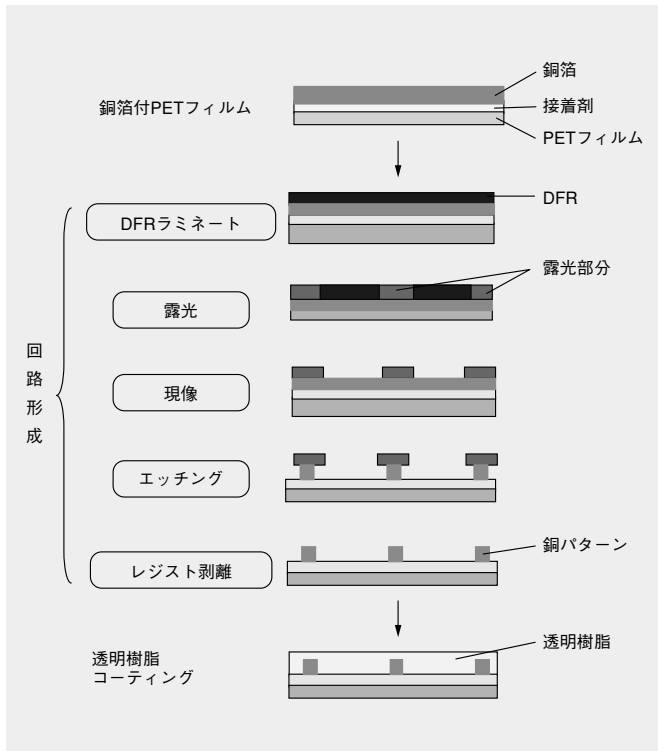


図1 フォトリソ法による配線パターンの形成プロセス
Fig. 1 Formation of fine conductive patterns using photolithographic process

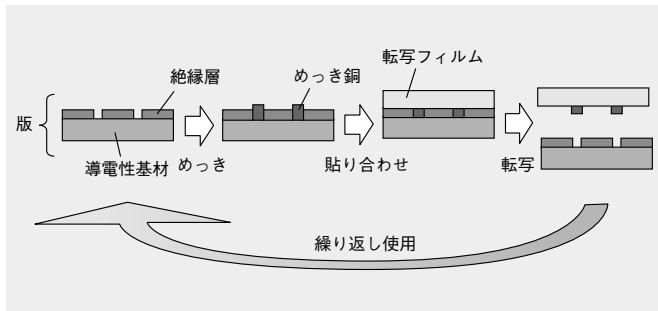


図2 パターンめっき転写法による製造プロセス
Fig. 2 Formation of fine conductive patterns using transfer of pattern plating

表1 開発目標
Table 1 Objectives

項目	特性	試験法	目標値
めっき銅	表面抵抗率	四端子抵抗測定法	0.1Ω/□以下
	ライン幅	顕微鏡観察	10μm
版	耐久性	—	めっき→転写試験 1,000ショット以上
転写フィルム	転写性	—	転写不良無きこと
	透明性	分光光度計	80%以上
	ヘイズ	ヘイズメータ	3以下

(1) 転写時に粘着剤が絶縁層に付着する。
(2) 絶縁層と導電性基材の密着性が弱いと転写不良が発生する。などの課題が予想される。一方、高電流密度で銅めっき析出が可能のため、短時間の回路形成が期待できる。開発目標を表1に示す。

〔3〕 要素技術の開発

3.1 版

版は、導電性基材上のめっきを析出させたくない個所に、絶縁物を形成させることによって作製される。絶縁層が形成されていない溝部分にめっきを析出させ、次いで転写フィルムをラミネートし、転写フィルム側に析出しためっきを転写することによって得られる。銅めっきを析出させるための導電性基材としては、一般にチタンやステンレスなどが用いられる³⁾。図3に、転写フィルムに転写する直前のめっき銅の断面写真を示す。めっきが析出する際に絶縁層より上にオーバーハングするため、断面はきのこ形状になる。そのため、めっき太りによりライン幅が溝部分より太くなり、その分を考慮した版のパターン設計が必要になる。

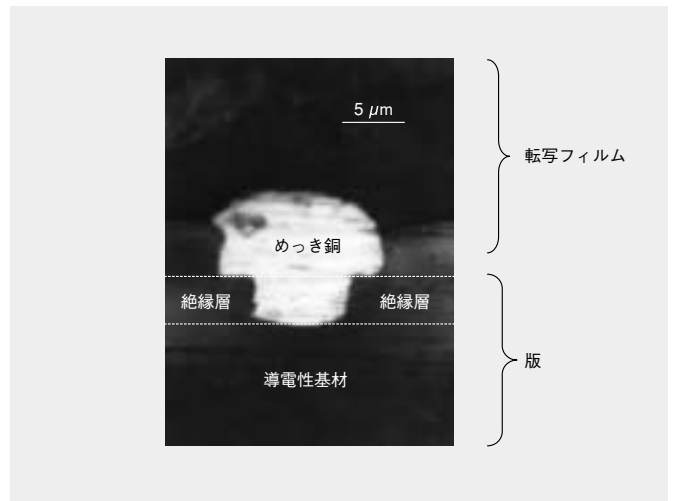


図3 パターンめっき転写銅の断面SEM写真
Fig. 3 SEM image of fine conductive patterns formed using transfer of pattern plating

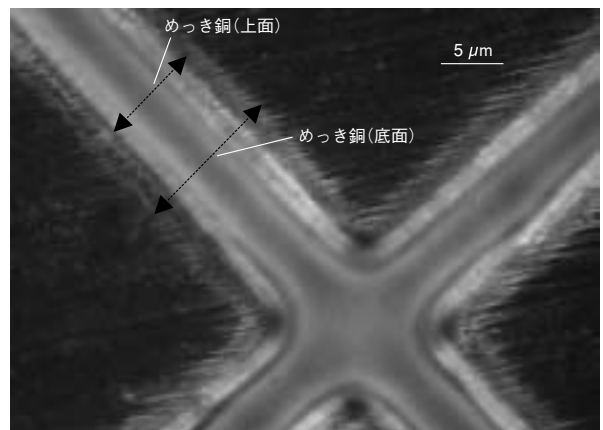


図4 転写不良発生部の顕微鏡写真
Fig. 4 Microscope image of defect area created by transfer of pattern plating

このようにして得られた版を用いて、めっき析出、転写に対する版の実用的な耐性を調べた。その結果、版の繰り返し使用に伴い、析出しためっき銅の転写不良発生の頻度が高くなっていった。転写不良の個所を顕微鏡で観察した(図4)。

図4によると、めっき銅の断面は前述したようなきのこ形状をしているため、底面側は本来上面よりも狭幅であるはずなのに、上面よりもさらに広幅になっていた。そこで、図5の推定機構に示すように、絶縁層の下部に析出しためっきがアンカー効果を発現し、めっき銅の転写を阻害しているためである、と考えた。従って本方式では、耐久性に優れた絶縁材料もさることながら、絶縁層と良好な密着性を示す導電性基材の選定が重要である。

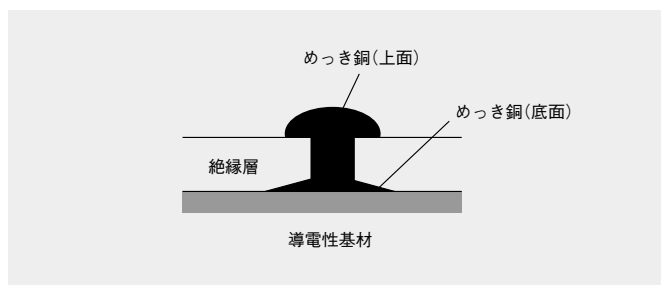


図5 転写不良発生原因の推定機構

Fig. 5 Possible mechanism for creation of defect area

これらの知見をもとに、版の耐久性を向上させるための絶縁層の検討を行った。絶縁層として電着塗料^{4) 5)}を利用した場合には、繰り返し転写30回で電着塗料が基材から剥離したのに対し、無機系の絶縁層3では1,000回まで耐久性を向上させることがわかった。

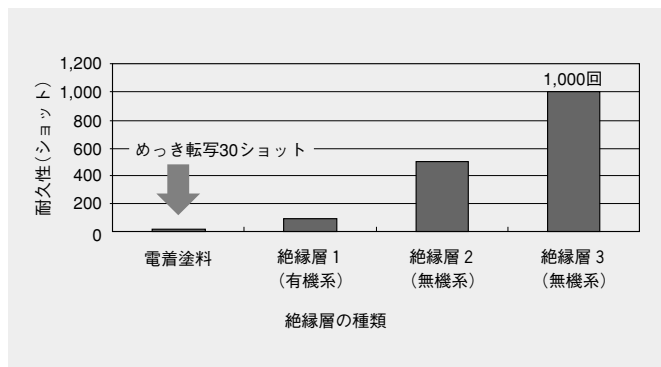


図6 絶縁層による版の耐久性向上

Fig. 6 Durability of electroforming masters of various insulators

3.2 めっきプロセス⁶⁾

めっき銅の表面変色の防止とコントラスト向上を目的として、めっき銅の黒化処理の検討を行った。黒化処理法として、ニッケル/錫または、錫/ニッケル/イオウ系の黒色ニッケルめっき^{7) 8)}を試みた。これらのめっきではいずれも、初期特性において、図7に示すような黒色で直線性を有するライン幅10数 μm の銅パターンが得られた。

次にこれら4種類のサンプルについて、65 $^{\circ}\text{C}$ 95%RH恒温恒湿槽での明度Yの変化を図8に示す。

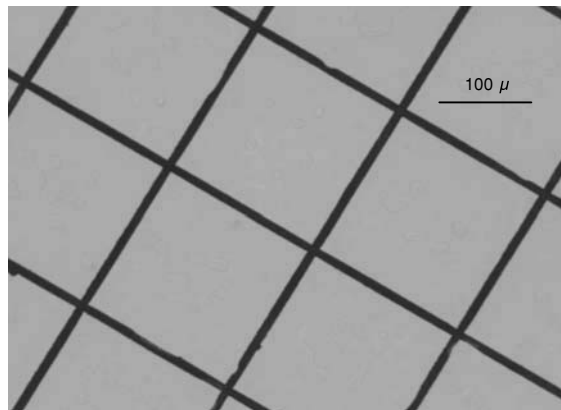


図7 Ni-Snで黒色化した転写フィルムの外観

Fig. 7 Appearance of film blackened by Ni-Sn treatment during transfer of pattern plating

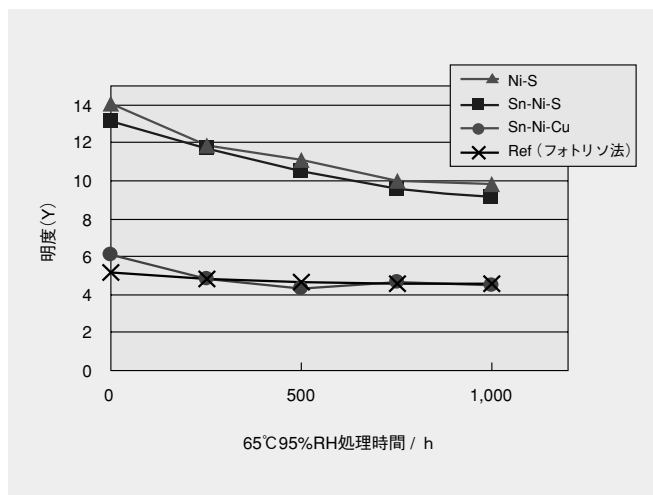
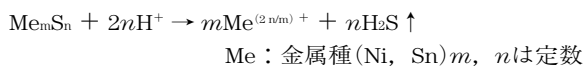


図8 高温・高湿処理による黒色皮膜の明度Yの変化

Fig. 8 Change in Y of blackened layer over time under hot and humid conditions for various structures

Ni-SとSn-Ni-Sは500~1,000時間後の信頼性試験で変色した。一方、Sn-Ni-Cuでは1,000時間後も変色なく良好な結果を示した。変色したNi-S、Sn-Ni-S皮膜には硫黄分が含まれ、これは皮膜中の亜鉛や錫、ニッケルと塩として存在する。転写樹脂中には酸性基が多く含まれるため、水の存在下で下記の反応が進行し、硫化金属が溶解したものと考えられる。



硫化金属の溶解により黒色金属層の厚みが小さくなり、高温高湿下で干渉縞や金属銅の露出が発生したものと考える。一方Sn-Ni-Cuには硫黄は含まれないために変色しなかったと考えられる。これらの推定を検証するため、Ni-S黒色めっきに変色対策として酸性基を減らす、もしくは完全に無くした転写樹脂を使って明度Yの変化を調べた。

酸性基を減らした転写樹脂の明度変化は小さかったが、酸性基を全く含まない樹脂系では明度変化は見られず、硫化金属の溶解による変色の機構を支持するものであった。

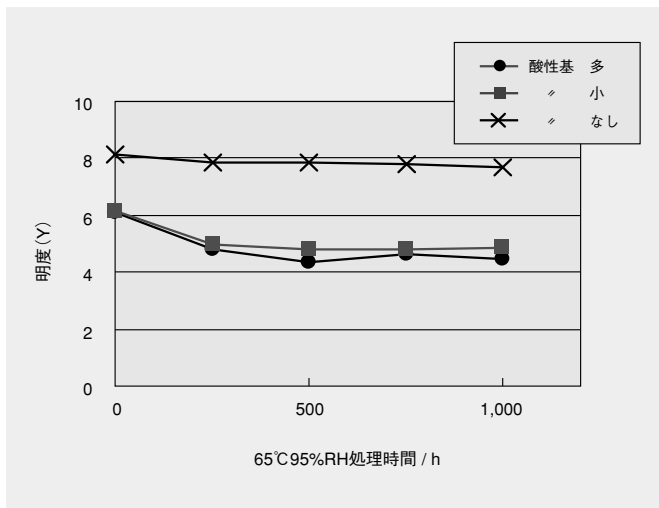


図9 酸性基量の異なる転写樹脂を使ったNi-S皮膜の明度変化
Fig. 9 Change in Y of Ni-S layer over time under hot and humid conditions for various resin acidities

3.3 転写フィルム

転写フィルムの樹脂設計にあたって重要なポイントは、粘着性と凝集性の相反する物性を満足させることである。めっき銅の転写性は樹脂の粘着性(タック力)が強いほど良好である(図10)が、粘着性が強すぎると、一般的には、樹脂の凝集力が低下するため、版上への樹脂残渣が増大することになる。樹脂残渣は版の繰り返し使用耐性の低下を招くため、極力低減する必要がある。そこで当社は、樹脂の高分子量化によって凝集力を維持させながら、同時に低弾性率化を図ることによって、粘着性の低下を最小限に抑制させることとした。

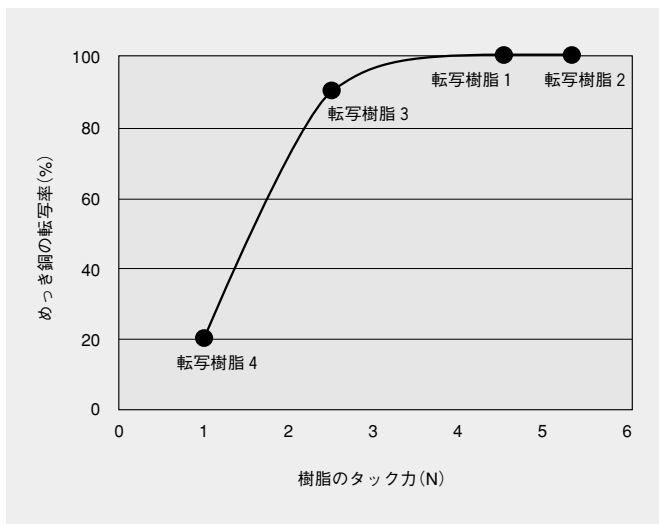


図10 めっき銅の転写率と転写樹脂のタック力の関係
Fig. 10 Relationship between ratio of transferred plated copper and tackiness of resin

一方、ベースポリマーの重量平均分子量と版への樹脂の残渣について調べたところ、重量平均分子量が高いほど版への樹脂残渣率が低減し、重量平均分子量が約20万のベースポリマーでは、樹脂残渣は全く見られないことがわかった。

これらの知見をもとに、転写樹脂中のベースポリマーの重量平均分子量を維持(20万以上)しつつ、樹脂中のモノマや架

橋剤などの組成調整により、低弾性化を図った。室温付近の貯蔵弾性率で比較すると、転写樹脂4に対し、転写樹脂6, 7ではほぼ10分の1程度に低下させることができた。これらは良好なめっき銅の転写性と、版上への樹脂残渣がないことが確認できた。

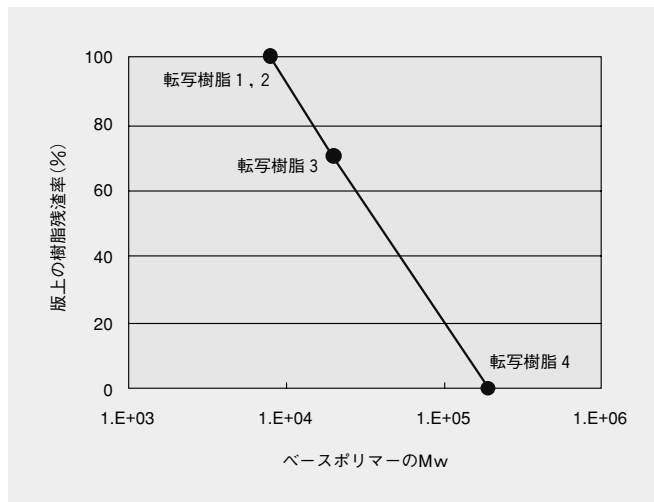


図11 転写樹脂中のポリマーの重量平均分子量(Mw)と版上の樹脂残渣率
Fig. 11 Relationship between molecular weight of resin, and ratio of resin transferred to electroforming master

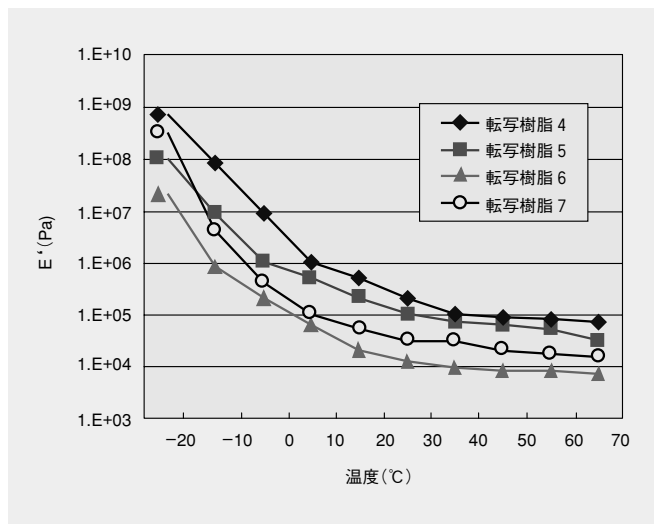


図12 転写樹脂貯蔵弾性率の温度依存性
Fig. 12 Temperature dependence of resin elasticity

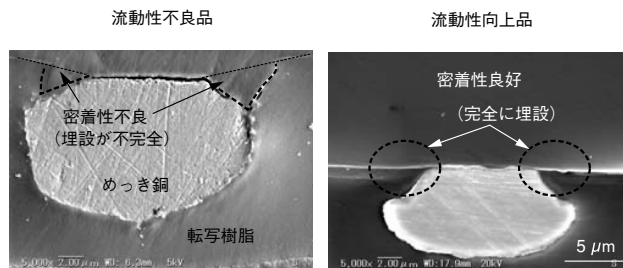


図13 樹脂の流動性向上による密着性向上
Fig. 13 Increase in adhesion due to using higher fluidity resin

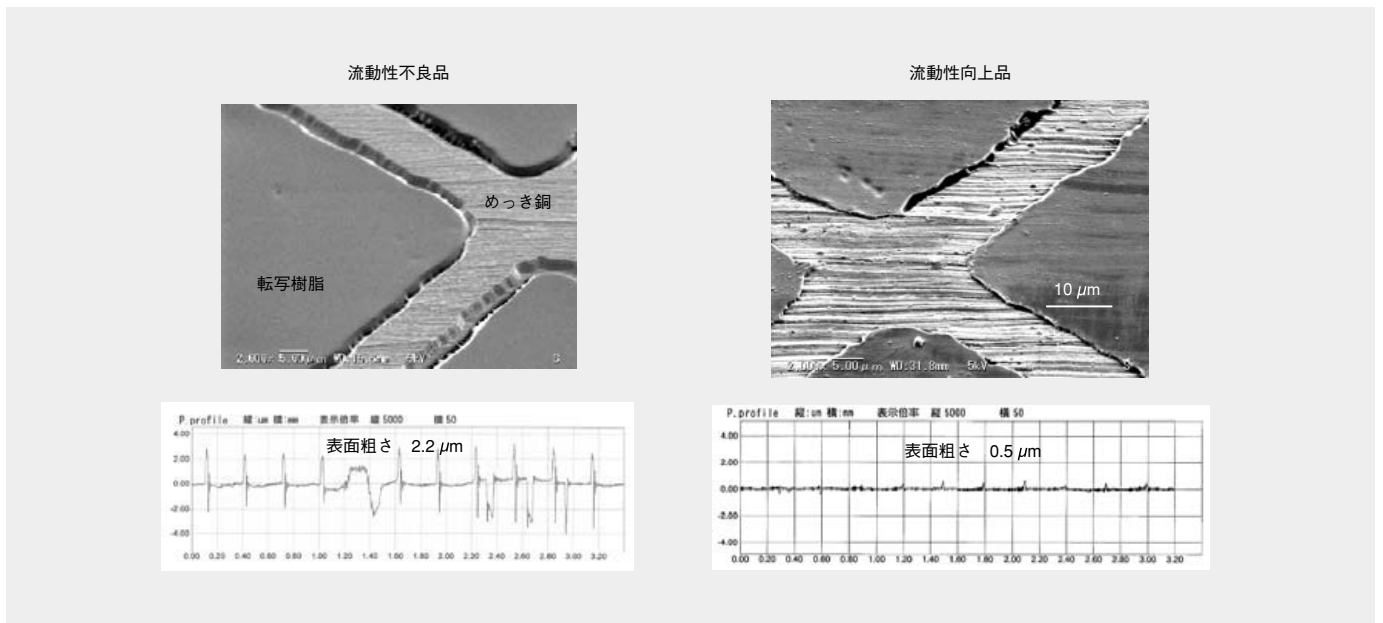


図14 樹脂の流動性向上による表面平滑化

Fig. 14 Increase in surface flatness of conductive layer due to using higher fluidity resin

表2 他方式との比較

Table 2 Comparison with other methods

方式	グラビア印刷法		銀塩写真法		パターンめっき転写法		
メーカー	A社		B社		当社		
方式概略	① 銀ペースト グラビア印刷 ② 無電解銅めっき →電気銅めっき		① ハロゲン化銀 エマルジョン全面塗布 ② レーザー直描・現像により パターンニング		① 版上に連続的にパターンめっきし、転写フィルムに転写		
特性	表面抵抗	○	0.1Ω/□	○	0.2Ω/□	◎	0.1Ω/□以下
	透明性	△	70~76%	○	80%	○	80%以上
	ライン幅	△	20μm	○	10μm	○	10μm
			視認性不十分		視認性良		視認性良
	平坦性	×	5~10μm(導体厚)	×	5~10μm(導体厚)	◎	0.5μm以下
密着性	×	テープ試験で剥離	○	良好	◎	強度に密着	

次にめっき銅が転写されたフィルムにおける、導体と樹脂の密着性について検討した。導体が転写樹脂中へ十分埋設されていない場合、導体と樹脂の密着性は不十分であるが、導体が完全に樹脂中に埋設された場合には十分な密着性が得られた(図13)。これらは、高流動性のモノマ添加により達成することができた。このようにして得られた流動性向上品は、導体が樹脂中に完全に埋設されているため、転写樹脂と導体界面の凹凸がほとんどなく、表面粗さは0.5 μmと平坦であった(図14)。

[4] 開発品の特長

表2にパターンめっき転写法とほかの微細配線形成方法を比較した。グラビア印刷法では、銀ペーストや無電解めっきの触媒をグラビア印刷した後、無電解めっきおよび電気銅めっきを施しパターンを形成する⁹⁾。ライン幅は、グラビアロールのライン幅の限界から、20 μm以下は困難とされている。また導体と基材PETの密着性が低いなどの課題がある。銀塩

写真法は、写真技術を応用しており、ハロゲン化銀のエマルジョンを基材フィルムに全面塗布した後、レーザー露光および現像することで、銀のパターンを形成する^{10) 11)}方法である。さらに抵抗を低下させるため、別工程で銅めっきを施すことも可能である。ライン幅はエマルジョンの解像度から10~20 μm程度とされている。またPET基材上に形成した微細な導体に通電するため、別工程でめっき処理する場合は導体からの発熱が大きくなるため、高速のめっきは困難である。

これらの方式に対して、パターンめっき転写法では、原理的に10 μm幅の導体を形成することができるため、透明性が高く、視認性も向上することが期待できる。フォトリソ法の場合は、透明平坦化のための樹脂を塗布する必要があったが、パターンめっき転写法ではこれらの工程は一切不要である。さらに、基材が導電性の金属であるため、高速めっきが可能であり、短時間でパターン化されためっき導体をフィルム上に形成させることができる製法である。

〔5〕 結 言

フォトリソ法にかわる新たな導電性の微細パターンを形成する方法として、パターンめっき転写法の実用化のための技術を開発した。版の耐久性とパターンの微細化を達成できる見通しを得た。まためっき液や黒化処理プロセスを開発し、めっきを精度よく転写させるための転写樹脂や信頼性を維持するための構成を示した。本製法は回路の形成から転写までをロールツーロールで行うことができるなど、フォトリソ法に比べてプロセスの簡略化が図れることが特長であるが、そのほかにも、透明化工程なしで、平坦な導体表面が得られること、さらには転写フィルムの基材が自由に選択できるため、耐候性や耐熱性、あるいは熱伝導性や薄型化の観点から、基材が不要な用途では、剥離性の基材を使って除去することも可能である。転写樹脂についても粘着剤をはじめ、熱硬化性樹脂や光硬化性樹脂と選択肢が広く、これらの特長をいかした用途に展開していきたい。

謝辞

版およびめっきの開発において、丁寧なご指導をしてくださった当社元下館研究所長の岡村寿郎様に感謝致します。

参考文献

- 1) 池永知加雄ほか：微細パターンの形成方法，特開平6-49679，1994
- 2) 最新表面処理技術総覧編集委員会編：最新表面技術総覧，重版，東京，産業技術サービスセンター，1988，pp.489-499
- 3) 長谷川正義監修：ステンレス鋼便覧，日刊工業新聞社，1973，pp.220-227
- 4) 平木忠義：カチオン電着塗料の鉛フリー化技術，表面技術，53(5)，p.28(2002)
- 5) 西村茂文，ほか：装飾電着塗装の最近の動向，表面技術，53(5)，p.35(2002)
- 6) 電気鍍金研究会編：めっき教本，日刊工業新聞社，1986，p.186
- 7) 榎本英彦：表面処理による黒色化技術，表面技術 vol.49(11)，pp.1140-1146(1998)
- 8) 丸田正敏：黒色スズ系合金めっきの原理と応用，表面技術 vol.49(11)，pp.1153-1157(1998)
- 9) 石川真章：PDPへの湿式コーティング・パターン印刷技術講演会資料，情報機構，(2006.6)
- 10) 佐々木博友：銀塩方式PDP用電磁波シールドフィルム「シールドレックス」の開発，富士写真フィルム研究報告書，No.51，pp.63-66(2006)
- 11) 佐々木，ほか：特開2008-149681

選択分解反応を利用したポリマーのキャラクタリゼーション

Characterization of Polymers Using Selective Degradation Reactions

上野勝利* *Katsutoshi Ueno* 平井 修* *Osamu Hirai* 竹内一雅* *Kazumasa Takeuchi*
増田克之* *Katsuyuki Masuda* 江尻貴子* *Takako Ejiri*

ポリマーの機能を理解するためには、共重合組成のみならずモノマの配列様式(シーケンス)を理解することが重要となる。また、ポリマー中の特定の官能基量を把握することも製品の機能を理解するうえで重要となる。当社はこのようなポリマーのキャラクタリゼーションに選択分解反応の利用を検討した。その結果、共鳴安定化構造に着目したイミド結合の選択分解を利用して、ポリアミドイミド中の微量尿素結合の定量が可能なこと、シロキサン結合の選択的分解反応を利用して、シロキサン変性ポリアミドイミドの芳香族ブロック鎖長の評価が可能であることがわかった。

We used selective degradation reactions to characterize copolymers in order to determine the amount and distribution of specific functional groups, which greatly affect the performance of the polymer composites comprising the final product. We estimated the trace contents of the urea bonds in polyamideimide by selectively cleaving the imide bonds, the stability of which is affected by the resonant structure. We also investigated the effectiveness of selectively cleaving siloxane bonds for characterizing the length of the aromatic blocks within siloxane-modified polyamideimides and found that it affects the coefficient of thermal expansion. These results indicate that selective degradation reactions are useful for characterization of polymers.

〔1〕 緒 言

機能性ポリマーを得るためには、構造的付与モノマと機能性付与モノマをひとつの材料中に取り込み共重合する方法が取られる場合がある¹⁾。したがって、ポリマーの機能を理解するためには、共重合組成のみならずモノマの配列様式(シーケンス)を理解することが重要となる。また、当社の接着性フィルム製品ではフィルム形成性のあるバインダポリマーを熱硬化性のエポキシ樹脂およびその硬化剤と混合したものを使用することが多い。このフィルムを硬化させる際にバインダポリマー中の一部の官能基がエポキシ樹脂と反応する場合もあり²⁾、これらの官能基量を把握することも製品の機能を理解するうえで重要となる。ポリマーのシーケンス解析には核磁気共鳴(NMR)法が最も広く用いられ、縮合系ポリマーにおいては、エチレングリコール、トリメチレングリコール、テレフタル酸および2,6-ナフタレンジオールからなる共重合ポリマーのシーケンス解析が行われた例はある³⁾。しかし、この手法はモノマが比較的小さい場合には有効であるが、モノマ分子が大きい場合には、NMRスペクトルにモノマ連鎖の影響がでにくく、当社で扱っているようなポリアミド系樹脂への応用は難しい。官能基分析は一般には赤外吸収法が用いられるが⁴⁾、微量の官能基分析にはあまり適さない。生化学の分野では、タンパク質などの構造解析において、酵素を用いて特定の結合だけを分解する方法が利用される⁵⁾。合成ポリマーにおいても特定の結合を分解することができれば、シーケンス解析や微量の官能基分析が可能となる。以下に、当社が検討した結果を報告する。

〔2〕 ポリ(アミドイミド)中の尿素結合の分析

2.1 カルボニル基を含む化学結合の選択分解⁶⁾

当社製品には、ポリアミドやポリアミドイミドなど縮合系ポリマーを使用しているものが多い。縮合系ポリマーに存在する結合の選択的な分解検討を、友井らの反応画像形成法⁷⁾を参考に行った。反応画像形成法の基本原理は、ヘテロ原子に隣接するカルボニル炭素と求核試薬である1級アミンとの求核置換反応による分解である。ヘテロ原子に隣接するカルボニル基と求核試薬との反応性を比較すると、酸塩化物>酸無水物>イミド>カーボネート>エステル>ウレタン>アミドの順に減少するといわれている⁸⁾。1級アミンとしてヒドラジンを選び、ヘテロ原子に隣接するカルボニル基を有するモデル化合物の分解反応を行った結果を表1に示す。イミド化合物、アミック酸化合物、および α -ヒドロキシアミド化合物は分解したが、単純な脂肪族アミド化合物、芳香族アミド化合物および尿素化合物は分解できなかった。ヒドラジン分解反応性の違いは以下のように共鳴安定化で説明できる。単純なアミド結合は図1に示すように共鳴安定化構造を形成し、カルボニルの求核性反応性は著しく低下する^{9) 10)}。アミド基と水素結合を起しやすい位置に官能基を持つ場合には、その水素結合の影響で共鳴安定化構造を形成しにくくなり、ヒドラジンの求核攻撃を受けやすくなったため、分解したものと考えた。一方、尿素結合については、図2に示すようにアミド結合と同様に共鳴安定化するので分解しなかったと考えた。

* 当社 研究開発本部 筑波総合研究所

表1 モデル化合物のヒドラジン分解反応性 化合物によってヒドラジン分解反応性は異なる。

Table 1 Hydrazinolysis reactivity of model compounds
Hydrazinolysis Reactivity depends on compound.

構造式	化合物分類	ヒドラジン分解反応性
	イミド化合物	あり
	アミック酸化合物	あり
	o-ヒドロキシアミド化合物	あり
	芳香族アミド化合物	なし
	脂肪族アミド化合物	なし
	尿素化合物	なし

ヒドラジン分解反応条件：モデル化合物50 mg, イオン交換水2 ml, ヒドラジン-水和物1 mlを50 mlバイアル瓶に密閉し, 100°C, 1時間放置。反応物をGC-MSで分析して分解性を確認

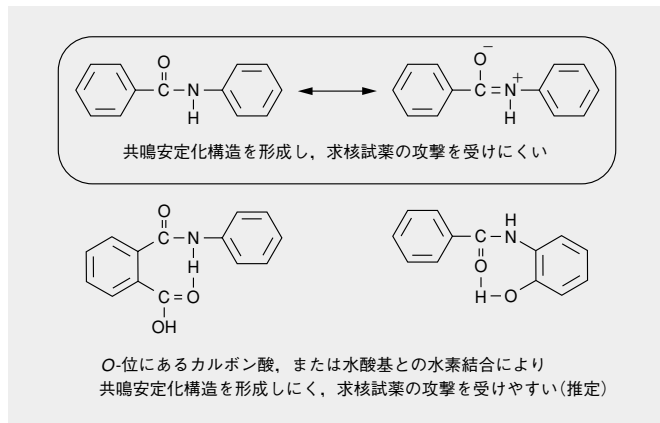


図1 アミド化合物の共鳴安定化構造 アミド化合物は共鳴安定化構造を形成しているので求核試薬の攻撃を受けにくい。

Fig. 1 Resonance stabilization structure of amide compound
Amide compound tends not to be attacked by nucleophiles because of its resonance stabilization structure.

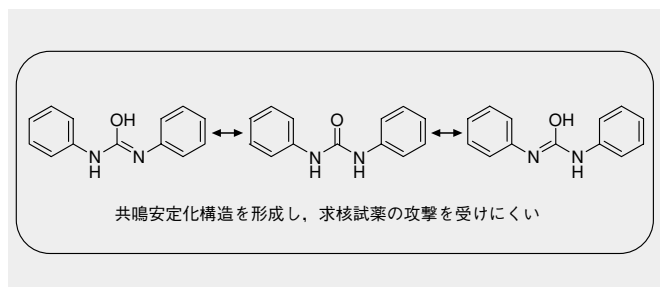


図2 尿素化合物の共鳴安定化構造(推定) 尿素化合物は共鳴安定化構造を形成しているので求核試薬の攻撃を受けにくい。

Fig. 2 Resonance stabilization structure of urea compound (estimated)
Urea compound tends not to be attacked by nucleophiles because of its resonance stabilization structure.

2.2 選択分解とNMRによる尿素結合の分析¹¹⁾

ジイソシアナートを用いて合成したポリアミドイミド(PAI)は, 合成系中に水が存在するとイソシアナート基と水との反応で生成したアミノ基とさらにイソシアナート基が反応することにより尿素結合を生成する。この尿素結合量を把握することは, ポリアミドイミド樹脂の諸機能発現機構を考察するうえで重要ではあるが, これまでほとんど検討されていなかった。

NMRスペクトルによるPAI中の尿素結合検出の可能性を検討した。¹³C-NMRスペクトルでの尿素結合カルボニル炭素のシグナルは $\delta_c 152.5$ ppm付近に現れる。また, そのほかのカルボニル炭素(イミド結合およびアミド結合)のシグナルは $\delta_c 165 \sim 170$ ppmに, さらに芳香環炭素のシグナルは $\delta_c 115 \sim 145$ ppmに出現する。そのため, 尿素結合カルボニル炭素のシグナルは他シグナルと重ならず検出可能と考えられる。図3に示す水を0.2%含有させた溶媒で合成したPAIの¹³C-NMRスペクトルにおいて, $\delta_c 152.5$ ppm付近に, 尿素結合カルボニル炭素のシグナルを観察できた。この結果から, ¹³C-NMRスペクトルによる試料PAI中の尿素結合の検出が可能であることを確認した。しかし, そのシグナルは小さく, このままでは定量に用いることは不可能であり, PAI中の尿素結合カルボニル炭素の検出感度を高める必要がある。

図4にPAI中のヒドラジン分解反応のスキームを示す。ヒドラジンはイミド結合カルボニルに求核置換反応しヒドラジド

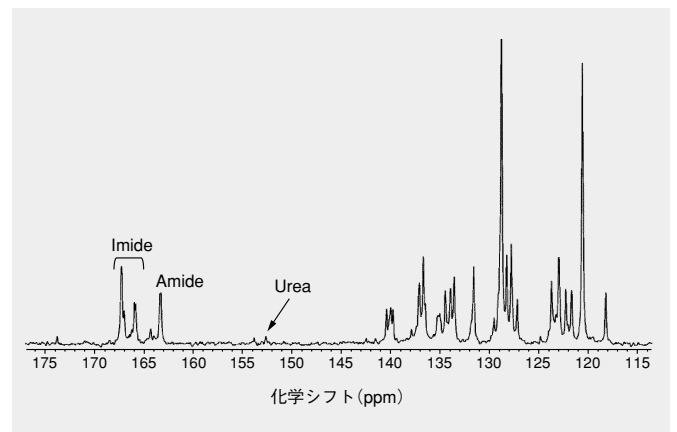


図3 水を0.2%含有する溶媒で合成したPAIの¹³C-NMRスペクトル 尿素カルボニルが観測できる。

Fig. 3 ¹³C-NMR spectrum of PAI polymerized in solvent containing 0.2% water
Signal of urea carbonyl could be detected.

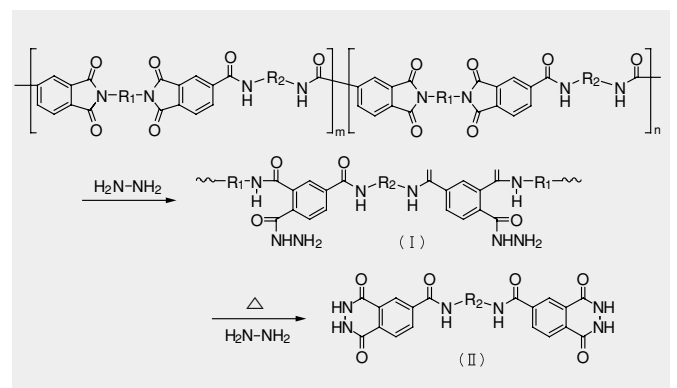


図4 PAIのヒドラジン分解 アミド結合を残して, イミド結合のみ分解できる。

Fig. 4 Hydrazinolysis of PAI
Imide bonds can be degraded without degradation of amide bonds.

化合物(I)を形成する。次いで、ヒドラジド基から見てo-位にあるアミド結合カルボニルにヒドラジンが反応し、その後、閉環したヒドラジド化合物(III)を形成すると推定している。この反応の間、R₂ユニット両端のアミド結合は共鳴安定化構造を形成し、求核試薬に対して安定に存在している。その結果として、アミド結合を分解せずイミド結合のみの分解が可能となる。尿素結合の生成は図5に示したようにイソシアネートに起因しているため、尿素結合は図中のR₂部分に存在する。尿素結合およびアミド結合を分解せずイミド結合のみ分解できれば、尿素結合を含むユニットのみ回収されるため、尿素結合濃度を高めることができる。また、分解処理により測定対象物質は分子量分布を持たない単一分子種となる。ポリマーのような分子量分布を有する物質のNMRスペクトルはシグナルが分裂およびブロード化するが、分解処理により単一分子種にすることで、シャープなシグナルが得られると推測した。モデル化合物を用い、尿素結合の分解性の確認を行った。反応条件を検討した結果、反応温度80℃、反応時間4時間で、尿素結合およびアミド結合を分解せずイミド結合のみを選択的に分解できることを確認した。水を0.2%含有する溶媒で合成したPAIをヒドラジン分解したものの逆ゲート付きプロトン・デカップリング法¹³C-NMRスペクトルを図6に示す。逆ゲート付きプロトン・デカップリング法ではシグナル強度が炭素原子数に比例するので、このスペクトル

ルからアミド結合と尿素結合の存在比の算出が可能であることがわかる。

[3] シロキサン変性ポリアミドイミドのシーケンス解析^{12) 13)}

当社で開発したシロキサン変性ポリアミドイミド(SPAI)は図7に示すように低弾性、低誘電率および可とう性を付与するソフトセグメントと高弾性および高耐熱性を付与するのはハードセグメントからなる²⁾。それぞれのブロック長を把握することは、SPAIの諸特性を理解するうえで重要となる。アミド結合を残してイミド結合のみ分解してもブロック鎖長に関する情報は得られないので、別な方法を考えた。ソフトセグメントのみに存在するシロキサン結合は、三フッ化ホウ素反応させると図8に示すような分解反応を起こすことが知られている¹⁴⁾。三フッ化ホウ素がアミド結合およびイミド結合を分解しなければ、この分解反応はハードセグメントブロック鎖長の評価に应用可能と考えられる。表2に示すモデル化合物を用いて反応性を調べた。その結果、TACHAは変化せず、アミド結合およびイミド結合は分解反応に対して安定であることがわかった。一方、KFPACは分解し、シロキサン結合が分解していると予想できる。図9に示すようにモデルポリマーIを分解したところシロキサン結合だけが分解した予想どおりの化合物が回収できた。したがって本法は、シロキサン

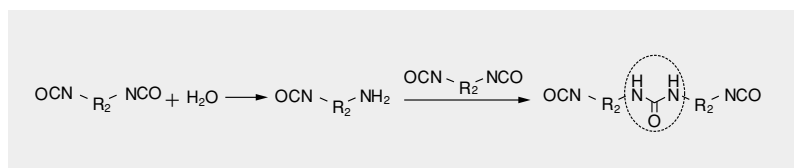


図5 イソシアネートから尿素結合の生成 イソシアネートと水からアミンが生成し、アミンとイソシアネートから尿素結合ができる。

Fig. 5 Urea bond derived from isocyanate

Urea bond is derived from isocyanate and amine which is derived from isocyanate and water.

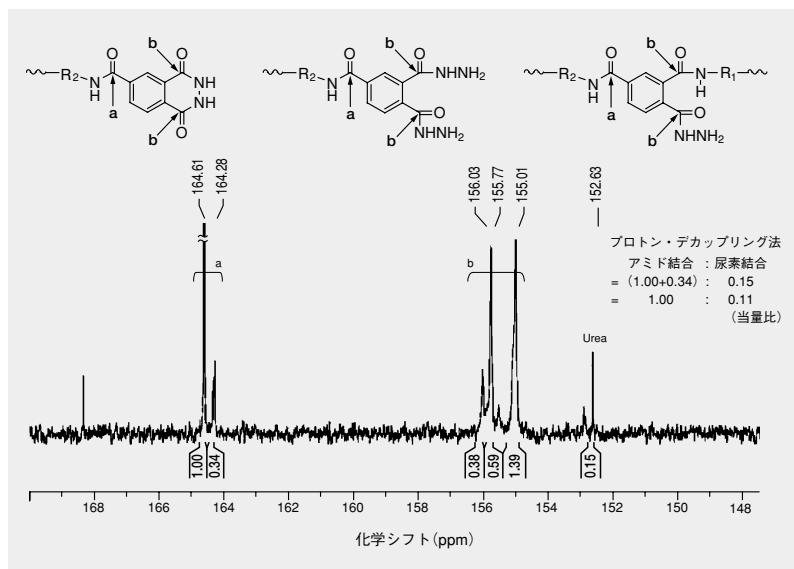
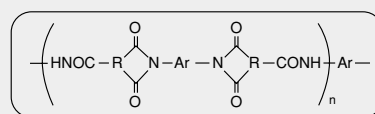


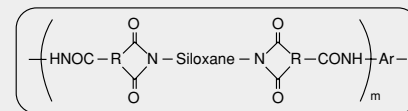
図6 水を0.2%含有する溶媒で合成したPAIのヒドラジン分解物の¹³C-NMRスペクトル(逆ゲート付きプロトン・デカップリング法) 尿素カルボニルのシグナルが明確になり、アミド結合との存在比が算出できる。

Fig. 6 ¹³C-NMR(inverse-gated decoupling method) spectrum of hydrazinolysis product of PAI polymerized in solvent containing 0.2% water

Signal of urea carbonyl could be detected clearly and ratio of urea bond to amide bond could be calculated.



ハードセグメント：高弾性、高耐熱



ソフトセグメント：低弾性、低誘電率、可とう性

図7 シロキサン変性ポリアミドイミド(SPAI)の基本構造 広範囲にシロキサン変性量を制御し、フィルム性に優れたポリマーを合成する技術を確立した。

Fig. 7 Structure of siloxane-modified polyamideimide(SPAI)

Amount of siloxane in polymer can be controlled over a wide range; amount can be optimized to obtain sturdy films.

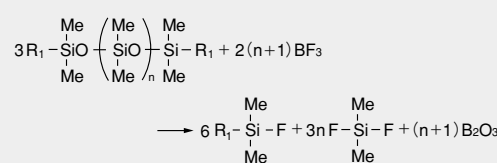


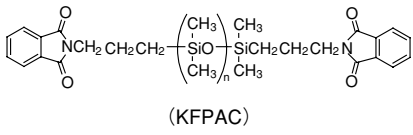
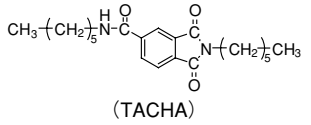
図8 BF₃によるシロキサン結合の分解 BF₃でシロキサン結合を分解できる。

Fig. 8 Degradation of siloxane bond with BF₃ Siloxane bond can be degraded with BF₃.

表2 モデル化合物のBF₃分解反応性 BF₃はアミド結合およびイミド結合には作用せずシロキサン結合を分解する。

Table 2 BF₃ reactivity with model compounds

Siloxane bond can be degraded without degradation of amide and imide bonds.

構造式	BF ₃ 分解反応性
 <p>(KFPAC)</p>	あり
 <p>(TACHA)</p>	なし

BF₃分解反応条件：5 mLバイアル瓶にモデル化合物約5 mgおよび20%のBF₃・Et₂O-テトラリン溶液0.5 mLを仕込み密封後、100℃で1時間放置。反応物をHPLCで分析して分解性を確認。

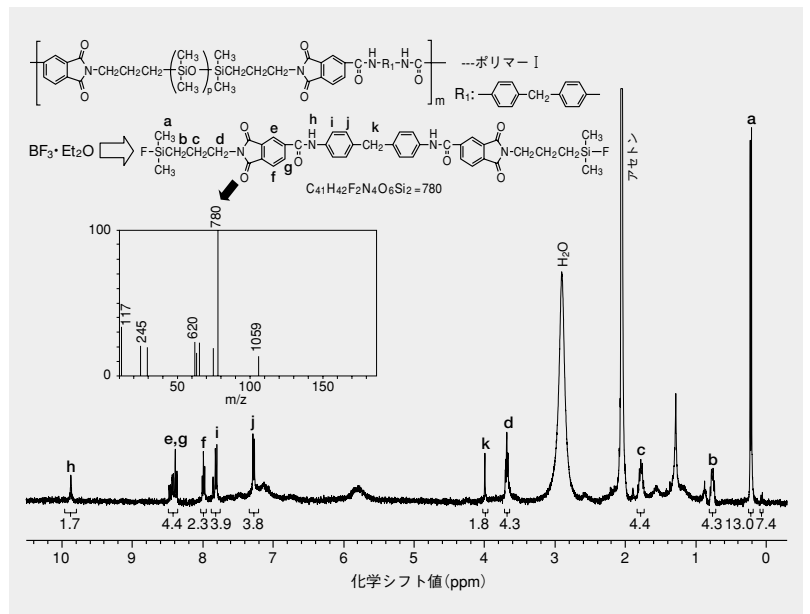


図9 SPAlモデルポリマーのBF₃分解物の¹H-NMRスペクトルとFD-MSスペクトル シロキサン結合のみ分解した生成物が得られた。

Fig. 9 ¹H-NMR spectrum and FD-MS spectrum of degradation product of SPAl model polymer with BF₃

Product in which only siloxane bonds are degraded can be obtained.

変性ポリアミド樹脂のシロキサン結合の選択的分解に有効であり、芳香族ブロック鎖長の解析に応用できるものと考えた。

芳香族ブロックを先に合成し、その後にシロキサンプロックで芳香族ブロックを連結するようにして合成したシロキサン変性ポリアミド樹脂(B-SPAl)と芳香族成分とシロキサン成分がランダムに連結するようにして合成したシロキサン変性ポリアミド樹脂(R-SPAl)を合成し、その平均芳香族ブロック鎖長を求めた結果とポリマーフィルムの線熱膨張係数を測定した結果をまとめて表3に示す。シーケンス解析手法により、芳香族ブロック鎖長がポリマーフィルムの線熱膨張率に影響を及ぼすことが確認できた例である¹⁵⁾。

表3 SPAlのシーケンスと諸特性 芳香族ブロック鎖長がポリマーフィルムの線熱膨張率に影響を及ぼす。

Table 3 Sequence and properties of SPAl

Length of aromatic block chain affects coefficient of thermal expansion.

SPIの種類	タイプ	平均芳香族ブロック鎖長(n)	重量平均分子量*	線熱膨張率(ppm/℃)
B-SPAl	芳香族ブロック	31	1.6×10 ⁵	79
R-SPAl	ランダム	4	1.0×10 ⁵	109

*SECで求めたポリスチレン換算値

[4] 結 言

カルボニル基を含む結合およびシロキサン結合の選択的分解法を検討し、PAI中の微量尿素結合の定量およびシロキサン変性ポリアミド樹脂の芳香族ブロック鎖長の評価に応用できることを示した。高性能の機能性ポリマーを開発するには、構造-機能相関解析を十分に行い、高性能化の指針を得ることが重要となる。当社は他社にはない分析評価技術を開発して構造-機能相関解析に適用して材料開発を支援するため、選択的分解反応技術に着目したポリマーのキャラクタリゼ

ーションでまず独自の技術を確認しようとしている。引き続き、分析の前処理に工夫を凝らした独自の分析評価技術を確認し、当社独自の機能性ポリマーの開発を積極的に支援して、より良い製品を市場に送り出していく予定である。

参考文献

- 1) プラスチック・機能性高分子材料辞典編集委員会編, プラスチック・機能性高分子材料辞典, 産業調査会辞典出版センタ, 2004, p.402.
- 2) 竹内一雅, 田中裕子, 伊藤敏彦, 田中勝, 七海憲, 日立化成テクニカルレポート, 39, 29 (2002)
- 3) H. Matsuda, T. Asakura, *Macromolecules*, 2004, 37, 2163-2170
- 4) 日本分析化学会高分子分析研究懇談会編, 高分子分析ハンドブック, 朝倉書店, 2008, p. 12.
- 5) 田宮信雄, 八木達彦 訳, コーン・スタンプ生化学, 東京化学同人, p.68 (1988) .
- 6) 上野勝利, 平井修: 第7回高分子分析討論会講演要旨集, p.17 (2002)
- 7) T. Fukushima, T. Oyama, T. Iijima, T. Tomoi, H. Itatani, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.*, 2001, 39, 3451.
- 8) 福島尊史, 大山俊幸, 友井正男, 機能材料, Vol.22, No.5, p.24 (2002)
- 9) 山口良平, 山本行男, 田村類 著, ベーシック有機化学, 化学同人, p.151 (2002)
- 10) 伊藤椒, 吉越昭 訳, アリンジヤ有機化学(上), 東京化学同人, p.240 (1985)
- 11) 上野勝利, 平井修, 江尻貴子: 第14回高分子分析討論会講演要旨集, p. II-23 (2009)
- 12) 上野勝利, 増田克之, 竹内一雅, 平井修: 第8回高分子分析討論会講演要旨集, p.75 (2003)
- 13) 平井修, 上野勝利, 増田克之, 竹内一雅: 第53回ネットワークポリマー講演討論会講演要旨集, p.93 (2003)
- 14) G. W. Heymun, *J. Gas Chromatogr.*, 1965, 3, 266.
- 15) 日立化成工業株式会社: ポリアミドイミドの製造方法, これにより得られるポリアミドイミドおよびポリアミドイミドワニス. 特開2005-146118.

製薬開発を支援する新しいツール開発 mRNA測定に基づくオーダーメイド医療用検査

New Tools for Drug Research: Tailored Medicine Diagnostics Based on mRNA Expression

井筒 浩* Hiroshi Izutsu 三橋将人** Masato Mitsuhashi

患者の個人差を考慮したオーダーメイド医療という新しいトレンドは、医療の幅広い分野に広がっている。それは、製薬の分野にもあてはまり、開発の初期段階からポストマーケティングまでの幅広い領域において影響を及ぼしはじめている。このオーダーメイド医療を実現するためには、個人差を客観的に把握する検査法の開発が必須であり、このような検査開発競争が始まっている。当社は遺伝子発現の量的変化を鋭敏にとらえることができる独自技術(Hem(A)⁺法)を開発し、オーダーメイド医療に直結する*ex vivo* simulationという新しいプラットフォームを構築した。このシステムは治療効果の予測、レスポンスの同定、投与量の決定、薬剤相互反応の有無とその程度、モニタリングなどに応用することができる。また、顕微鏡下で病理標本から癌細胞だけを取り出し、そこに含まれる遺伝子の発現量を分析する技術(Danenbergs Tumor Profile(DTP)法)を米国Response Genetics社(RGI)から技術導入し、固形癌に対するオーダーメイド医療用検査ができる体制を整えた。本論文では、それらの概要と応用例について報告する。

Tailored medicine (also known as personalized or individualized medicine), the latest trend in a wide field of medical practice, focuses more on individual variation/the differences between individuals. It is expected to play a crucial role in all stages of drug development from early research to clinical trials and subsequent post-marketing evaluation. The first step toward tailored medicine is to develop new types of diagnostic tests for characterizing individual variations, and many such technologies and products are coming to market at a rapid pace. We have established a unique platform technology of *ex vivo* simulation, which quantifies a minute change of drug-induced mRNA using our own Hem(A)⁺ technology. *Ex vivo* simulation is applicable for the prediction of clinical outcome, identification of responders, determination of optimal drug doses, assessment of drug-to-drug interaction, and monitoring. We also acquired a license to use the Danenberg tumor profile method from Response Genetics Inc. in the U.S., and established a service facility for analyzing mRNA expression in excised cancer lesions fixed in formalin and embedded in paraffin. In this article, we describe our efforts in developing tailored medicine diagnostic development and present some examples.

〔1〕 緒 言

1.1 はじめに

ゲノム研究に基づく新薬開発のブームが一段落した現在、製薬企業は大きな危機に直面している。思ったほど臨床の現場に新薬を出せていない現状に加え、2010年ごろから大型品の特許期限が續々と切れ、ジェネリック薬が参入してくることが予想されている。副作用も薬害として大きく取り上げられ、集団訴訟にまで発展することも珍しくはない。さらに日本では薬価引き下げの問題も存在する。そのような中、製薬企業は生き残りをかけて新薬開発に注力している。この新薬開発の世界で今注目されているのがオーダーメイド医療である。

オーダーメイド医療とは、患者毎に各薬剤の効果を予測し、その効果を期待できる患者(レスポンス)にのみ薬剤を使用

する医療のことである。このオーダーメイド医療は患者にとって非常に重要であるものの、製薬企業の立場で考えると、従来より行って来た臨床開発の手法を大幅に変革する事を意味している。そのためには、臨床治験の際にレスポンスだけをリクルートする必要がある。もしこのことが可能になれば、必要患者数を減らしながら、同時に成功率を高めることができ、大幅な経費削減が可能となる。しかも、効かない患者に投与しないことで副作用の発生を抑え、訴訟の可能性を低減するなどの効用もある。また米国Food and Drug Administration(FDA)も積極的にオーダーメイド医療の考え方を取り入れるようになってきた。すなわち、オーダーメイド医療的な考え方は医師や患者に適應されるばかりでなく、製薬企業にとっても避けて通れない状況になってきた。

オーダーメイド医療の世界では診断が重要な因子となり、

* 当社 機能性材料事業部 ライフサイエンス部門

**Hitachi Chemical Research Center, Inc.

診断diagnosticsと治療therapyをあわせたtheranosticsという造語や、診断と薬開発をパッケージとして一緒に開発するcompanion diagnosticsという新語が生まれてきた。また診断も、いわゆる病名を決定するという側面ばかりでなく、薬剤効果の予測、最適薬剤の選択、効果のモニタリングなど、幅広い方面に展開されるようになってきた。当社が今まで開発、導入してきたmRNA測定法はオーダーメイド医療を実現するための基盤技術であり、いわゆる診断検査キットを開発するばかりでなく、製薬開発を支援する有力なツールになる。本論文では、当社が精力的に推進している製薬開発支援ビジネスのための技術と具体例を報告する。

1.2 オーダーメイド医療用検査の現状と当社の立場

ヒトゲノム計画によってすべてのDNA情報が解読されるようになると、個人間にはわずかな塩基配列の相違があることがわかってきた(single nucleotide polymorphism, SNP)。このSNPの違いが薬剤の反応性と関係する場合があることがわかり、注目されるようになってきた。特に薬剤代謝に関係する遺伝子の、その機能に直結する重要なDNA部位にSNPが存在すると、薬剤代謝機能が大きく変化し、その結果、薬剤効果が消失したり、反対に副作用が強くなることもある。代表的な例として、経口抗凝固剤として汎用されるワーファリンの代謝にチトクロームC系のCYP2C9という酵素が大きく関与し、このSNPがワーファリンの効き方の個人差と関係する。これが現在のオーダーメイド医療用検査の一つの原点である。しかし、この方法では効果のない患者を予測することはできても、レスポンスを予測するのは容易ではない。またヒトゲノムには30億対もの塩基があり、その中から各薬剤に対応するSNPを探索することは容易ではない。また、ほかの部位にSNPが存在することが、第1のSNPの効果を減弱したり、増強する可能性もあり、状況を指数関数的に複雑にしている。またDNAがまったく同一である一卵性双生児にも個人差が存在するように、ヒトの体はDNAですべてコントロールされているわけではない。

一方、薬剤に対する効果があった患者とそうでない患者の検体を用いて、多数のmRNAの発現パターンを解析すること(gene expression profilingと称する)で、オーダーメイド医療用検査を開発しようとする試みも見られる。DNAは30億対も存在するが、そこから作られるmRNAは3万種類弱と少ないのが、この方法の大きな利点で、DNAマイクロアレイ法や遺伝子増幅法(PCR)などの技術が使われる。しかし、数百から数万種類のmRNAを扱うため、検査対象となる検体が単一細胞に由来するのではなく、複数の異なった種類の細胞が混在するとデータ解析が複雑になり、特定な発現パターンを見出すことが困難になる。そこで、当社は後述べるように、Response Genetics Inc.(RGI)社から技術導入を行い、組織切片から標的細胞(主に癌細胞)を取り出し、その細胞のmRNA

発現解析ができる体制を構築した。

さらに上記のSNPやgene expression profilingとはまったく異なる第3の方法として、当社は*ex vivo* simulationというユニークなシステムを提唱している。SNPやgene expression profilingばかりでなく、いわゆる血液検査(血糖値やコレステロール値の測定など)を含めて、今までの臨床検査においては、臨床検体の採取された時点における測定値(DNAやmRNA、蛋白質など)を得るものであり、その検体を試験管内でインキュベートして測定値の変化を追うような手間のかかることは想定していない。しかし、例えば末梢血に存在し全身を駆け巡っている白血球は基本的に活性化されておらず、炎症や癌などの病変部位に到達し、そこで特殊な刺激を受けることで初めて活性化され、本来の機能を達成する。すなわち、採血時点での白血球をどんなに詳細に調べても、最終的な機能を把握することはできない。そこで、白血球に試験管内で炎症や癌などに準じた刺激を行い、白血球がこれらの病変部において炎症を惹起したり、癌細胞を殺傷したりする能力を発揮することができるのかどうかをシミュレーションするという方法が考えられる。ただしこの方法では、細胞分離や培養などの複雑な操作が加わるために、技術的なバラツキが個人差を上回ったり、実験条件が生理的ではなくなるなどの問題があり、臨床検査としては確立していない。その点の解決策となるのが、当社が対象としている白血球のmRNAの量的変動を追う方法である。mRNAに着目した理由は、蛋白量的変化や細胞の生理的变化(細胞死など)と比べてmRNAは早期に変動するためである。早期であればあるほど細胞の2次反応を回避でき、実験条件に起因する人為的な影響を受けにくく、生理的条件に近くなる。さらに下記で述べるように、当社が開発したHem(A)⁺法を使うと、微量の全血から白血球を分離することなく、わずかなmRNAの変動を鋭敏にとらえることができる。そこで、全血を薬剤と2-4時間反応させ、薬剤機能や副作用に直結する各種mRNAの量的変動を測定するというシステムを構築した。この実験条件は極めて生理的であり、*in vitro*ではなく、*ex vivo*と判断できる。これが*ex vivo* simulationである。このシステムは下記で述べるように、オーダーメイド医療用製薬開発のさまざまな局面に威力を発揮する、当社独自の方法である。

オーダーメイド医療の成功例として、癌マーカーであるHER2/neu陽性乳癌に対するハーセプチンや、bcr-abl陽性の慢性骨髄性白血病に対するグリーベックなどの分子標的薬の登場もあげられる。この場合の診断検査は単に癌細胞に分子標的物質が存在するかどうかを判断する比較的単純なものだが、このような分子標的物質を持っていても薬が効かない場合がかなりの割合で存在する。そこで、*ex vivo* simulationを2次検査として使うことによって、さらに正確な効果予測をすることが期待できる。

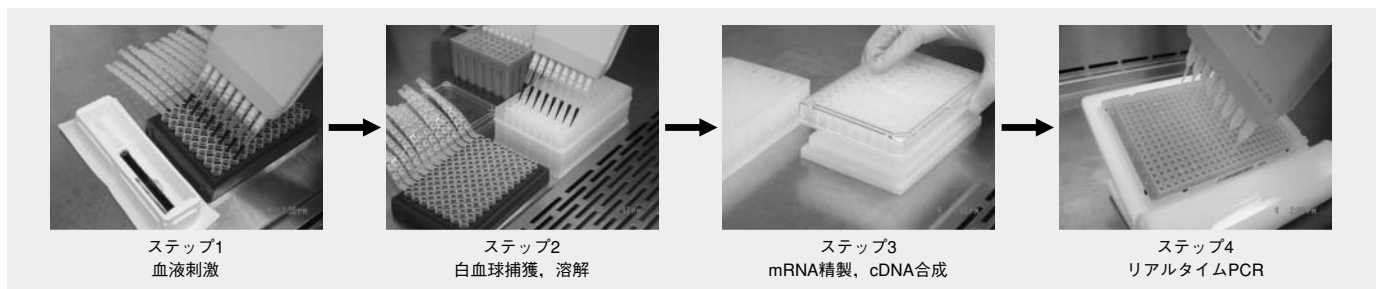


図1 Hem(A)⁺法を用いた*ex vivo* simulationの全工程

Fig. 1 Steps in Hem(A)⁺-based *ex vivo* simulation

表1 TrastuzumabによるIL8 mRNAの誘導

Table 1 Trastuzumab-induced IL8 mRNA

	ACTB				IL8			
	PBS	Ab #1	Ab #2	HAG	PBS	Ab #1	Ab #2	HAG
Ct #1	20.4	20.7	20.2	20.3	24.2	24.7	22.6	18.8
Ct #2	20.1	20.5	20.4	20.1	25.0	23.8	22.2	18.5
Ct #3	20.2	20.6	20.0	19.8	25.0	24.6	22.0	18.0
average	20.2	20.6	20.2	20.1	24.8	24.4	22.3	18.5
s.d.	0.1	0.1	0.2	0.3	0.5	0.5	0.3	0.4
CV%	0.6	0.5	0.9	1.3	1.8	2.0	1.3	2.2
t-test		0.02	0.73	0.38		0.35	1.E-03	6.E-05
Δ Ct #1		0.5	-0.1	0.1		-0.1	-2.2	-5.9
Δ Ct #2		0.3	0.1	-0.2		-1.0	-2.5	-6.2
Δ Ct #3		0.3	-0.2	-0.4		-0.2	-2.8	-6.7
Fold Increase		0.7	1.0	0.9		1.0	4.6	61
		0.8	0.9	1.1		2.0	5.7	74
		0.8	1.2	1.3		1.1	6.9	108
average		0.8	1.0	1.1		1.4	5.7	81
s.d.		0.1	0.1	0.2		0.5	1.1	24
CV%		7	13	18		36	20	30

Ab #1:Rituximab (100 mg/ml), Ab #2:Trastuzumab (50 mg/ml), 4 h
HAG:heat aggregated IgG (Immune complex)

[2] Ex vivo simulationの紹介

2.1 Hem(A)⁺法の概要

Hemとは血液を意味し、(A)⁺はpoly(A)⁺RNA(=mRNA)を意味する造語で、当社が開発した全血からmRNAを測定するシステムの名称である²⁾。全血からmRNAを測定するためには、①白血球の単離、②RNAの精製、③cDNA合成、そして④PCRまたはほかの遺伝子増幅法による塩基配列特異的なcDNA検出の計4工程が必要で、③と④の工程を単に融合したRT-PCR法のキットがあればできるというものではない。特に④ではcDNAが指数関数的に増幅されるため、①-③の各ステップのわずかなバラツキが最終的に非常に大きなバラツキとなって強調されてしまう。Ex vivo simulationのような薬剤刺激によるmRNAの量的変動を検討する場合、薬剤刺激の有無それぞれに対して3検体(triplicate)を用意し、その2群間の平均値の差を統計的に解析する。この場合、triplicate間のバラツキが小さい程わずかな変化を検出することができる。すなわち、PCR法自体が1個のDNA検出ができる究極の感度を有していても、刺激による量的変動という観点から考えると感度はtriplicateの検体間のバラツキに依存する。そこで、Hem(A)⁺法では、バラツキを減らす工夫とともに工程数も最小限度に抑えた(図1)。また、1検体が最低6検体(刺激の有無それぞれがtriplicate)になってしまうため、大量検体処理能を持つシステムを構築した(図1)。

具体的には、全血mRNA測定の対象となるのは核を持つ白血球だが、白血球の1,000倍も大量に含まれる無核の赤血球を除去するか、白血球を単離しないと、後工程でいろいろな障害を生じる。そこで、全血から白血球だけを捕獲する96ウェルのフィルタープレートを開発した(特長1)(図1, ステップ2)。ここに細胞溶解液を加え、膜上で細胞を溶解する。白血球は膜の3次元構造の中に塊を作らずバラバラで存在するために、物理的な攪拌操作が不要で再現性良く溶解する(特長2)。また白血球分画に含まれる好酸球の顆粒には大量のRNA分解酵素が含まれているので、その活性を完全に抑制しながら、次工程のオリゴ(dT)とポリ(A)とのハイブリダイゼーションの最適条件を満たす特殊な細胞溶解液を開発した(特長3)。この細胞溶解液をフィルタープレートに加え細胞を溶解した後、遠心操作で96ウェルのオリゴ(dT)プレートに移し、poly

(A)⁺RNA(=mRNA)を精製する(特長4)(図1, ステップ3)。オリゴ(dT)プレートは当社が世界に先駆けて最初に開発したもので³⁾、その製造に当たっては96ウェル間やプレート間のバラツキを最小限度に抑えるように留意してある(特長5)。また細胞溶解液には測定対象となるmRNAのアンチセンスプライマーが含まれているので、オリゴ(dT)とRNAのポリ(A)部分とのハイブリダイゼーションと同時にアンチプライマーもmRNAの特定部位にハイブリダイゼーションする(特長6)。吸引ノズルで洗浄することによって、各ウェルにmRNAを精製した後、そこに直接逆転写酵素とdNTP(プライマーは不要)を加えると、すでにmRNAにハイブリダイゼーションしているオリゴ(dT)とアンチセンスプライマーを起点として、2個所から同時にcDNAが合成される。この時、オリゴ(dT)を起点とするcDNA合成がアンチセンスプライマーがハイブリダイゼーションしている部位に到達すると、アンチセンスプライマーおよびそこを起点に合成されているcDNAを剥がしながらcDNA合成を続ける。その結果、反応終了後にはアンチセンスプライマー由来のcDNAが液相に遊離される(特長7)。通常のcDNA合成は反応液自体がPCRを抑制し、さらに大量のプライマーが残るために、PCRを行う場合にcDNAを希釈する。しかしHem(A)⁺法の場合はこれらの問題がなくcDNA液を希釈せずに直接PCRに使うことができるので、発現量の少ないmRNAも感度良く検出することができる(特長8)。さらに、液相のcDNAはリアルタイムPCR法(従来のPCRよりも定量性が格段に向上した新技術)に使い(図1, ステップ4)、固相のオリゴ(dT)由来のcDNAはcDNAバンクとして永久保存ができるのも、本法の大きな特長の一つである(特長9)⁴⁾。

このように、Hem(A)⁺法は現行の標準法であるトータルRNAを介さずに、直接mRNAを精製する。トータルRNAを精製することが標準法になっている理由は、トータルRNAにはmRNAばかりでなくrRNAとtRNAが含まれるために量が多く、その結果精製しやすく、RNA分解酵素の影響も受けにくく、さらにトータルRNAの8割程度を占めるrRNAは電気泳動で2個のバンドとして検出することができるので、このバンドの検出をもってRNAの品質を評価することができるためである。しかし、トータルRNAに含まれるmRNA量は1-5%に過ぎず、トータルRNA量を基準に後工程を行うと、かえってバラツキを助長してしまう⁵⁾、(図3)。またトータルRNAの精製

表2 抗白血病薬の薬剤感受性検査

Table 2 Results of sensitivity test for anti-leukemia drugs

Drugs		Dose CDKN1A (cytostatic)				BBC3 (cytotoxic)				ACTB (reference)		
		(μ M)	mean	s.d.	p value	mean	s.d.	p value	mean	s.d.	p value	
6-mercaptopurine	6MP	10	1.1	0.0	0.29	1.1	0.1	0.49	1.8	0.6	0.06	
		2	1.3	0.2	0.09	1.2	0.3	0.35	1.5	0.3	0.02	
6-thioguanine	6TG	10	1.4	0.2	0.03	1.2	0.2	0.15	1.6	0.1	0.01	
		2	1.3	0.3	0.12	1.2	0.1	0.10	1.8	0.2	0.00	
cladribine	CdA	1	5.2	0.4	0.00	2.3	0.4	0.00	2.1	0.1	0.00	
		0.2	3.2	0.2	0.00	1.5	0.2	0.01	1.5	0.1	0.01	
etoposide	VP16	100	35.2	1.8	0.00	9.5	0.6	0.00	1.0	0.2	0.88	
		20	11.3	1.3	0.00	4.3	1.1	0.00	1.4	0.4	0.11	
cyclophosphamide	CPA	100	0.9	0.1	0.19	1.2	0.1	0.19	1.1	0.2	0.39	
		20	0.9	0.1	0.06	1.1	0.1	0.75	1.0	0.1	0.70	
cytarabine	AraC	100	1.4	0.6	0.15	2.0	0.3	0.01	0.9	0.3	0.53	
		20	1.4	0.1	0.00	1.7	0.1	0.02	1.1	0.3	0.56	
daunorubicin	DNR	10	4.3	0.3	0.00	18.9	1.0	0.00	0.9	0.2	0.44	
		2	4.1	0.7	0.00	14.1	4.3	0.00	0.9	0.2	0.28	
doxorubicin	DXR	10	3.4	0.6	0.00	11.5	2.1	0.00	0.6	0.1	0.02	
		2	1.4	0.2	0.00	2.1	0.6	0.02	0.8	0.1	0.12	
fludarabine	FDR	10	2.0	0.2	0.00	1.3	0.1	0.04	1.2	0.1	0.14	
		2	1.7	0.4	0.02	1.0	0.0	0.75	0.8	0.1	0.07	
methotrexate	MTX	50	1.0	0.1	0.68	1.2	0.1	0.18	0.8	0.1	0.06	
		10	0.8	0.3	0.26	0.8	0.2	0.25	0.7	0.1	0.04	
mitoxantrone	MIT	1	3.9	0.7	0.00	12.4	1.7	0.00	0.6	0.1	0.01	
		0.2	1.0	0.1	0.70	1.7	0.2	0.03	0.7	0.1	0.04	
vincristine	VCR	50	1.3	0.1	0.01	1.2	0.1	0.24	0.8	0.2	0.16	
		10	1.7	0.4	0.02	1.1	0.1	0.47	1.3	0.2	0.12	

>1.8+p<0.05

法では発現量の多いmRNAや長いmRNAの方がそうでないmRNAよりも回収率が良くなるため、精製効率がmRNAの種類によって一定ではないという隠れた問題がある。またmRNAからcDNAへの変換効率も、すべて一定であるという前提で実験結果が解釈されているが、それも確認されていない。この問題はACTB(ベータアクチン)などの標準遺伝子との差(relative quantification)を使ったとしても理論的に解消できるものではない。一方、文献2で示したように、Hem(A)⁺法ではmRNAの種類、発現量、刺激後のmRNA誘導の有無に関わらず、すべて一定であることが確認されている。これがHem(A)⁺法の大きな強みである。

2.2 Ex vivo simulationの具体例

表1には実際の実験結果の一部を具体例として提示した⁶⁾。すなわち、健常人へパリン血0.07 mlをtriplicateでそれぞれPBS(コントロール)、100 mg/mlのrituximab抗体治療薬(リツキサン)、50 mg/mlのtrastuzumab抗体治療薬(ハーセプチン)(ともに想定血中濃度範囲内)、熱処理IgG(陽性コントロール)としての免疫複合体刺激剤、HAG)を加え、37°Cで4時間反応させた後に、コントロールとしてのACTBとインターロイキン8(IL8)のmRNAをHem(A)⁺法にて測定した。遺伝子増幅法としては、SYBRグリーン試薬を使ったリアルタイムPCR法(dual hybridization probes法)を用い、専用の解析ソフトウェアを使ってCt値(ある蛍光量に達するまでのPCR回数)を算出した。その結果、triplicate間のCt値のバラツキは非常に小さく分散率は最大で2.2%であった(表1)。リアルタイムPCR法自体の再現性は非常に良いので、この程度の分散は当たり前のように思われがちだが、表1の3個のCt値はそれぞれ全血由来であり、白血球の単離、mRNAの精製、cDNA合成の各ステップの総和であることを勘案すると、この分散の小ささが理解できる。また、これらのCt値を使ってt検定を行うと、分散が小さいために、trastuzumabによるわずかなACTBのCt値の変化(20.2対20.6)でも有意差が見られた。すなわち発現量

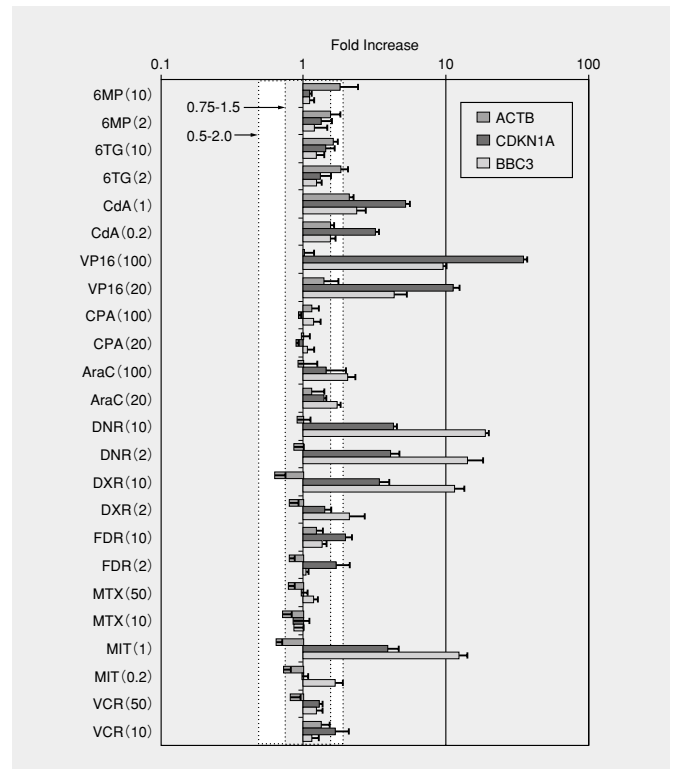


図2 抗白血病薬の薬剤感受性検査(表2をグラフ化)

Fig. 2 Results of sensitivity test for anti-leukemia drugs in Table 2

の20%低下(Fold increase = 0.8)を有意と捉えることができた。さらに、trastuzumabと陽性コントロールHAGともにIL8を有意に誘導することが確認できた。通常は検体間のバラツキが大きいので、ACTBのデータで補正した値を提示するが、Hem(A)⁺では表1のように、両方のデータを同時に提示することができる。

表3 特異的に刺激された白血球の各種mRNAの発現データ

Table 3 Expression of mRNAs in whole blood stimulated with various specific ligands

		Fold Increase														
		PHA			anti-TCR Ab			HAG			LPS			Zymosan		
		T-cells			TCR			FcγR			TLR4			TLR2		
	mean	s.d.	p value	mean	s.d.	p value	mean	s.d.	p value	mean	s.d.	p value	mean	s.d.	p value	
Control	ACTB	0.9	0.2	n.s.	1.1	0.1	n.s.	1.1	0.1	n.s.	0.6	0.1	0.001	0.6	0.0	0.000
Effectors	TNFSF2(=TNFα)	3.3	0.8	0.004	1.4	0.4	n.s.	1.5	0.2	n.s.	9.4	1.8	0.000	11.0	0.9	0.000
	TNFSF5(=CD40L)	33.9	10.2	0.000	1.2	0.3	n.s.	1.8	0.1	0.002	1.1	0.1	n.s.	1.1	0.3	n.s.
	TNFSF8	0.7	0.0	0.020	1.3	0.3	n.s.	1.1	0.2	n.s.	0.5	0.0	0.002	0.3	0.0	0.001
	TNFSF15	1.1	0.2	n.s.	1.5	0.6	n.s.	5.4	0.2	0.000	0.7	0.1	0.018	7.4	0.9	0.000
Chemotactic factors	IL1B	2.0	0.1	0.019	0.9	0.4	n.s.	2.0	0.1	0.021	4.8	0.9	0.002	4.4	1.1	0.004
	IL6	2.3	0.8	0.025	1.4	0.4	n.s.	1.6	0.6	n.s.	10.2	3.1	0.000	3.0	0.6	0.002
	IL8	1.5	0.0	0.003	2.1	0.4	0.006	4.8	0.5	0.000	5.8	1.5	0.000	36.5	2.8	0.000
	CCL2	2.1	1.2	n.s.	1.1	0.5	n.s.	2.3	0.6	0.011	0.7	0.1	0.034	0.1	0.0	0.001
	CCL3	2.1	0.5	0.007	1.0	0.3	n.s.	1.7	0.1	0.003	5.1	0.9	0.000	4.9	0.6	0.000
	CCL4	3.4	1.4	0.008	2.1	1.3	n.s.	1.2	0.4	n.s.	5.9	2.4	0.002	4.4	3.0	0.030
	CCL8	2.2	0.4	0.010	1.0	0.2	n.s.	0.7	0.2	n.s.	1.4	0.3	n.s.	0.0	0.0	0.013
	CCL11	1.6	1.2	n.s.	1.2	0.3	n.s.	1.2	0.3	n.s.	1.7	0.3	0.013	0.4	0.0	0.001
	CCL20	2.4	0.7	0.014	1.5	0.5	n.s.	3.1	1.2	0.024	4.9	0.3	0.000	9.0	0.6	0.000
	CXCL1	1.1	0.4	n.s.	1.7	0.2	0.025	6.0	0.6	0.000	1.2	0.2	n.s.	3.3	1.3	0.013
	CXCL2	1.5	0.8	n.s.	1.8	0.6	n.s.	5.9	0.5	0.001	5.1	2.2	0.008	32.1	10.2	0.000
	CXCL3	1.5	0.7	n.s.	1.4	0.8	n.s.	6.4	0.8	0.001	3.5	0.9	0.005	20.3	2.2	0.000
	CXCL10(=IP10)	4.6	1.5	0.002	0.9	0.2	n.s.	1.0	0.4	n.s.	1.8	0.6	n.s.	0.0	0.0	0.000
Angiogenesis	VEGF	1.0	0.3	n.s.	1.3	0.3	n.s.	1.7	0.5	n.s.	0.9	0.1	n.s.	13.4	1.1	0.000
Immune modifier	GMCSF	529.9	108.5	0.000	7.2	4.8	0.024	11.4	5.7	0.002	52.8	19.3	0.000	583.1	443.7	0.000
	IFNγ	639.5	663.5	0.002	5.8	4.1	n.s.	1.5	0.9	n.s.	100.6	74.2	0.005	5.9	7.0	n.s.
	IL10	8.5	4.1	0.002	0.8	0.2	n.s.	1.0	0.3	n.s.	2.0	0.8	n.s.	1.2	0.2	n.s.
PMN	ALP	19.2	4.8	0.001	4.1	2.3	n.s.	5.5	2.7	0.030	2.1	1.0	n.s.	4.5	1.8	n.s.

■ Fold increase>2, p<0.05
 ■ Fold increase<0.7, p<0.05

2.3 Ex vivo simulation の製薬開発への応用

2.3.1 直接刺激の場合

刺激の方法によって、2つのタイプに分けられる。すなわち、試験薬剤を血液に直接投与し、試験薬剤によるmRNAの量的変動を測定する場合(直接刺激法)と、あらかじめ特異的に刺激された白血球において変動するmRNAを確認しておき、その変動が試験薬剤の前処理でどう変化するかを調べる場合(間接刺激法)がある。直接刺激法は新規薬剤の白血球系ないし炎症系の副作用予測や^{7) 8)}、抗白血病薬の効果判定⁹⁾(表2, 図2), 白血球が有する膜表面蛋白や各種受容体(FcγR, TLR, LXR, ステロイド受容体)¹⁰⁾などを直接刺激するようなアゴニストとしての薬剤が評価対象となる。表2, 図2では直接刺激法の実例を示した。すなわち、全血に12種類の薬剤をそれぞれ想定最高血中濃度とその1/5の濃度の2種類で4時間間刺激した後、細胞回転を止めるマーカーであるcyclin-dependent kinase inhibitor 1A(CDKN1A)とアポトーシスマーカーであるBCL2 binding component 3(BBC3), およびコントロールとしてACTBの各mRNAをHem(A)+法にて測定した。遺伝子増幅法としてはTaqManプローブを使ったリアルタイムPCR法(hydrolysis probes法)を採用した。その結果、反応する薬剤としない薬剤を明瞭に区別することができた。このデータを算出するために必要な血液量は、0.07 ml/well×3(triplicate)×26(12薬剤×2濃度+2(溶媒コントロールとしてPBSとDMSO))=5.5 mlに過ぎなかった。

2.3.2 間接刺激法の場合

表3には間接刺激法のための基礎条件として、特異的に刺激された白血球の各種mRNAの発現データを示した。すなわち、T細胞刺激剤としてphytohemagglutinin(PHA)と抗T細胞受容体モノクローナル抗体(TCR), Fc受容体刺激剤として表1で使ったHAG, 自然免疫としてToll-like receptor(TLR)のタイプ2と4の刺激剤であるzymosanとlipopolysaccharide(LPS), およびコントロールとして溶媒のPBSとコントロールIgGを用い、それぞれ全血0.06 mlを37℃で4時間刺激した後、Hem

Cell death: p21 BAX NOXA PUMA Bcl2 Granzyme B Perforin	Growth factors: VEGF GMCSF	HSP: HSP127-1 HSP60 HSP70-8 HSP90
Interleukins: IL1B IL2 IL4 IL6 IL8 IL10 IL12B IL23	Vascularin: Bradykinin ACE KLK1 KLK4	WBC factors: CD11A ALP ELA CAMP SELE IFNγ
Receptors: CD16 CD23A CD23B CD64 IL1Ra TNFRSF1A TNFRSF1B TNFRSF3 TNFRSF14 TNFRSF25 InsulinR	Prostaglandins: ALOX5 LTC4S COX2	AP1: junB c-jun junD B-fos c-fos fra-1 fra-2
	TNFSF: TNFSF2 TNFSF5 TNFSF6 TNFSF14 TNFSF15	Cytokeratins: CK19 MUC
	CCL: CCL2 CCL3 CCL4 CCL8 CCL20	Housekeeping: β-actin CD4
	CXCL: CXCL1 CXCL2 CXCL3 CXCL10	

表4 Ex vivo simulation測定対象mRNAの一部

Table 4 mRNA for ex vivo simulation

(A)+法にて各種mRNAの発現変化(fold increase)を測定した。遺伝子増幅法としては、表1同様、SYBRグリーン試薬を使ったリアルタイムPCR法を用いた。表3のデータを得るために必要な血液量は0.06 ml/well×7刺激×3(triplicate)=1.3 mlに過ぎなかった。この膨大なデータがコントロールであり、抑制剤や増強剤などの各試験薬剤毎に1.3 mlの血液を使い、同様のデータが算出される。DNAマイクロアレイとは違った意味での、膨大なデータである。この表3の各mRNAの意味づけに関しては文献10を参照されたい。また全血をzymosanで刺激するとvascular endothelial growth factor(VEGF)mRNAが誘導されるが(表3), VEGFは血管新生因子として癌の増

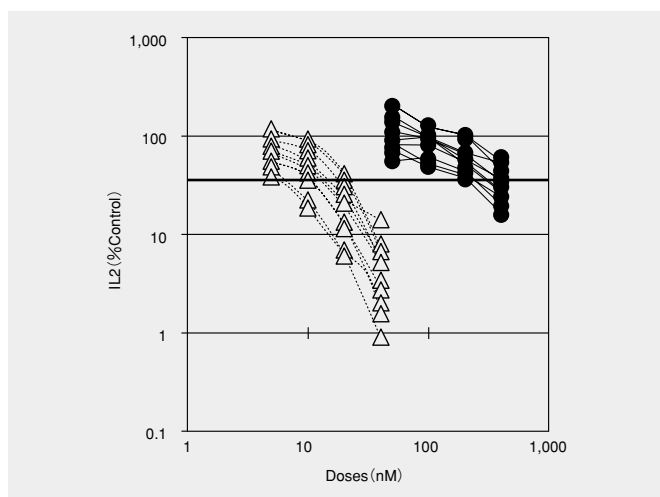


図3 PHA刺激によるIL2 mRNAの誘導とtacrolimus(△)およびcyclosporin A(●)の前処理による抑制。各データが一人の健康人を示す。文献6, 図3と同様のデータをlogで表示。太実線は50%。

Fig. 3 Inhibition of PHA-induced IL2 mRNA by preincubation with tacrolimus (△) and cyclosporin A (●). Each line represents a single individual. Data previously reported [6, Fig.3] were transformed to log scale in y-axis. Thick horizontal line indicates 50%.

大に関係するので、薬剤開発としてはおもしろい標的である。さらに、固形癌を標的としたkinaseやproteasome, methylation, histone deacetylase(HDAC)などの最近話題の各種抑制剤の場合、また糖尿病や高コレステロール血症などの代謝疾患におけるPPAR, LXR, ステロイド受容体などのアゴニストやアンタゴニストの場合に、白血球を代用として(surrogate marker)表3に準じた実験をする場合も想定される¹¹⁾。すなわち、間接刺激法では刺激薬の種類や測定対象となるmRNAの種類を代えることで、多彩な薬剤に対応することができる。表4は、測定対象としているmRNAのリストの一部を示した。当社は以前、ハイブリダイゼーションをコンピュータ上でシミュレーションするソフトウェアを開発し¹²⁾、PCRプライマー設計の基本コンセプトを提供した経験^{13) 14)}があるので、基本的にどんなmRNAにも対応することができる。通常Hem(A)⁺法では、0.05 mlの全血から同量のcDNAを合成し、発現量の少ないmRNAの場合はその原液を0.008 mlづつ0.02 mlのPCRに使うことができるが、通常は4倍以上に希釈して0.004 mlづつ0.01 mlのPCRに使うので、1検体から50種類のmRNAを測定することができる。

2.3.3 製薬開発の各段階での応用

Ex vivo simulationは製薬開発の各段階によって、化合物スクリーニング、濃度勾配によるEC₅₀やIC₅₀の測定およびこれらのデータの個人差や人種差の有無、他剤との相互関係の把握、安全性試験、臨床治験、そして承認後のcompanion diagnosticsの開発など、幅広く活用できる。中でも臨床治験に関しては、オーダーメイド医療として表2や図2や文献8-9で示したような他剤との比較や、文献6-8, 10で提示したように、薬剤の効果および副作用予測(レスポナー患者の同定)に応用できるばかりでなく、治療のモニタリングも可能である¹⁵⁾。また、EC₅₀やIC₅₀の算出は培養細胞を使った基礎検討では当たり前でも、患者個人毎に算出することができるのは有用である。そこで、IC₅₀測定の具体例として、図3では免疫抑制剤であるtacrolimusとcyclosporin AがPHA刺激後のインターロイキン2(IL2)mRNA誘導を濃度依存的に抑制するデータを示した。各ラインが一人を意味しているので、低い濃

度で強い抑制を示す人とそうでない人がいることがわかる。

研究開発の段階で見つかった新薬候補の中から臨床治験に移行する薬剤を選択するのは容易なことではない。その点、*ex vivo* simulationは試験管内でヒト血液と反応させるので安全であり、臨床治験の前にすべての候補薬を試すことが可能な検査である。また動物や培養細胞では得られない、ヒト特有のデータを得ることができる。例えば、Aという薬剤は10名中3名にしか効果がなかったが、Bという候補は10例全例に効果が見られるといったような、薬剤間のレスポナーの比率の違いという貴重なデータを得ることができる。*Ex vivo* という特殊な条件であるものの、意味のある情報である。また、第1相臨床試験を請け負う医療機関は実験的な薬剤を最初にヒトに投与するという危険を冒さなければならない。いくら動物実験で安全性が確認してあっても、ヒトと動物は同一ではなく、重篤な副作用を起こす危険性は常に存在する。特に最近話題の分子特異的薬剤の場合、ヒトに特異的な薬剤が動物実験で正確に評価できるとは限らない。事実、一般的に安全だと信じられてきた抗体治療薬も、数年前に第1相臨床試験の際に対象者全員が重篤な多臓器不全を起こしてしまったという重大事件があった⁷⁾。文献6は第1相臨床試験を請け負う医療機関の懸念から生まれた、彼らとの共同研究の成果である。

Hem(A)⁺法は本論文で示したように全血を扱うのが基本であるが、刺激の有無を含めて最低6個の同一検体があれば*ex vivo* simulationは可能である。すなわち腹水や胸水、髄液、リンパ節から得られたリンパ球遊離液なども対象となる。もちろん培養細胞や動物の血液も適応になる。最近では脳死ドナーから得られる膵島islet 1個からmRNAが測定できるようにもなった¹⁶⁾。これらの検体も製薬開発に応用できるが、それらに関しては別の機会に託すこととする。

[3] DTP法の紹介

抗癌剤は、副作用が強く、価格も高いため、投与前に抗癌剤の効果予測ができれば、患者にとっても、また、医療経済の面からも有用であり、オーダーメイド医療が応用される分野として有望である。このような抗癌剤の効果予測を行うために、抗癌剤の薬理作用や代謝に関連する遺伝子のmRNA発現量を調べることが行われている¹⁷⁾⁻¹⁹⁾。従来このようなmRNAの発現分析は、生検や切除手術によって得られた癌の生鮮組織検体やその凍結組織検体で行われ、その分析値は癌細胞と正常細胞が混在する検体としての結果であり、癌細胞におけるmRNAの発現量を正確に表したものではなかった。一方、このような検体は、癌の病理学的診断のため、ホルマリン固定パラフィン包埋して薄切し、スライドグラスに載せた検体(FFPE検体)とした後、種々の染色をすることが一般的に行われている。FFPE検体を、抗癌剤の感受性試験に用いることができれば、染色により正常/癌の区別が容易にでき、癌細胞のみからのmRNA分析ができる利点があるが、従来技術では、FFPE検体から効率よくmRNAを抽出することができず、利用されるに至っていなかった。米国Response Genetics社(RGI社)は、FFPE検体から効率よくmRNAを抽出し、その発現量を再現良く分析・評価する技術を開発した(Danenberg Tumor Profile法(DTP法))^{20) 21)}。当社は、DTP法は、mRNA発現分析によるオーダーメイド医療用検査技術として、また、オーダーメイド医療を想定した抗癌剤の開発を行っている製薬会社の支援技術として有用であると考え、技術導入を行ったので、本方法の概要・特長を紹介する。

3.1 DTP法の概要

DTP法の概要を以下に示す(図4)。

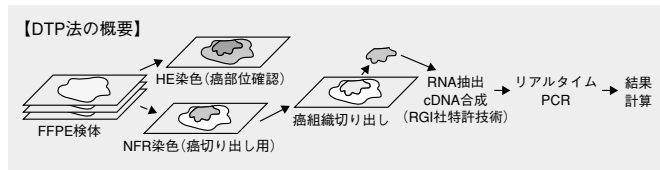


図4 DTP法の概要

Fig. 4 Flow of DTP method

1) FFPE検体の染色：

癌部位観察のために、5 μm厚のFFPE検体をヘマトキシリン・エオジン(Hematoxylin and eosin)染色(HE染色)し、病理医により癌部位の同定・マーキングを行う。また、RNA抽出用に、10 μm厚のFFPE検体を、ヌクレアファストレッド(Nuclear fast red)染色(NFR染色)を行う。

2) 癌組織の切り出し：

NFR染色した検体から、実体顕微鏡観察下で病理医が指定した癌部位内の癌組織を、剃刀刃、メス刃、または、レーザーマイクロダイセクタを用いて削りとり、RNA抽出用緩衝液に入れる。通常50 mm²以上の面積を削り、癌細胞の含有率を80%以上となるようにする。癌細胞は、正常細胞に比べて、NFR染色で赤く染まるので、これを目安にし、HE染色像も参考にして切り出しを行う。

3) RNA抽出・cDNA合成：

癌細胞浮遊液に、タンパク質分解酵素を加えて加熱し、細胞を溶解する。簡易カラム法、または、フェノール抽出・エタノール沈殿法を用いて、RNAを精製し、ランダムヘキサマーをプライマとしたcDNA合成を行う。

4) リアルタイムPCRによる分析：

TaqManプローブ法を用いたリアルタイムPCRで、目的遺伝子のmRNAと、どのような細胞でも常に一定量発現していると考えられるβアクチンのmRNAを測定する。TaqManプローブ法では、増幅された遺伝子量に応じた蛍光が測定され、ある一定の蛍光が得られるのに必要なPCRサイクル数が(Ct値)データとして出力される。

5) 結果(DTP値)の計算方法：

PCRは、サイクルごとに、遺伝子が2倍に増幅されるので、各検体の遺伝子発現量比は 2^{-Ct} で計算される。検体ごとに切り出した癌細胞量が異なるので、βアクチンの発現量との比とすることで細胞量の差を補正し、さらに既知濃度の目的遺伝子を含む標準検体の分析結果から補正係数を算出して乗じ、その値をDTP値(Danenberg Tumor Profile値)と呼び、目的遺伝子の発現量を表す量とする。目的遺伝子のCt値からβアクチンのCt値を引いた値をdCt、補正係数をKとすると、DTP値は次の式で計算できる。 $DTP = K \cdot 2^{-dCt}$

当社は、RGI社からの技術導入を終えた時点で、20検体のFFPE検体を用いて3遺伝子(dihydropyrimidine dehydrogenase(DPD), thymidylate synthase(TS), excision repair cross-complementation group 1(ERCC1))のmRNAのDTP値を分析し、RGI社で得られた結果とほぼ同一の結果が得られることを確認した(図5)。

3.2 DTP法の特長

DTP法は、FFPE検体を用いてmRNAの発現分析を行うもので、抗癌剤のオーダーメイド医療用検査に適した以下の特長を持つ。

①NFR染色したFFPE検体から癌組織を切り出して分析を行

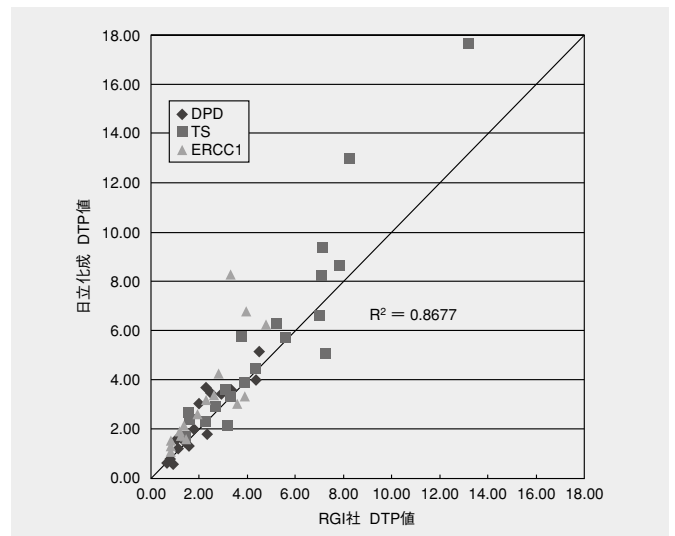


図5 日立化成とRGI社のDTP値分析結果比較

Fig. 5 Danenberg tumor profile values obtained at Hitachi Chemical against those obtained at Response Genetics Inc.

うので、癌に特有の遺伝子発現分析ができ、より正確な検査が可能。

- ②FFPE検体は、病理検体としてルーチンで作成されるので、病院などの出検者に特別な検体処理を要求しない。
- ③FFPE検体は、ホルマリン処理によりmRNAが安定化されているので、常温での長期保管、運搬が可能。
- ④FFPE検体は、ホルマリン処理により、細菌やウイルスの感染性が失われるので、バイオハザードの危険がない。
- ⑤保管検体を用いたレトロスペクティブな調査・研究に応用可能。

3.3 DTP法の応用例

当社が分析したものではないが、DTP法は、RGI社においてさまざまな薬剤の効果と遺伝子発現の関連の研究に応用され、その結果が論文発表されている。その主な例を紹介する。肺癌に対する白金製剤の効果とERCC1遺伝子²²⁾、大腸癌の化学療法とCOX-2遺伝子²³⁾、食道癌の化学療法とCOX-2, TS, GSTP, ERCC1遺伝子²⁴⁾、口腔癌の化学療法とTS, TP, ORPT遺伝子²⁵⁾、などである。また、大腸癌の肝臓転移とVEGF遺伝子²⁶⁾、胆嚢癌の血管形成とTP遺伝子²⁷⁾のように、癌の性質や予後の予測に関連する研究にも応用されている。

3.4 今後の展開

現在のところ、日本では、抗癌剤の適応可否をmRNAの発現分析で行うことに関して保険適用された例はなく、一般の癌患者のオーダーメイド医療にDTP法が応用されてはいない。大学や製薬会社などの開発研究、臨床治験などの検体のmRNA発現分析の受託試験を行い、薬剤の開発に貢献している。今後は、これらの研究段階の受託分析を通して、抗癌剤の効果予測に有効な遺伝子の同定、分析や評価方法のノウハウを蓄積し、オーダーメイド医療用検査に貢献できる受託ビジネスの構築、検査キットの開発につなげていきたい。

〔4〕 結 言

オーダーメイド医療用の検査開発は、当社が今まで扱ってきたアレルギー診断やクラミジア診断のような診断キット開発につながるばかりでなく、製薬企業の製薬開発と一緒に行動し、感受性検査として臨床治験に協力し、その薬剤が承認された後は診断キットとして成立するようなcompanion

diagnosticsの開発,そして,本論文で紹介したような製薬開発の各段階における支援といった3通りの分野に応用展開することができる。当社は第1の分野には精通しているものの,第2-3の分野に関しては経験が浅い。このことは当社に特有のことではなく,一般的に今までは製薬企業と診断企業の接点は強くなかった。本論文を通して,当社の有する技術やノウハウを製薬企業に理解してもらい,オーダーメイド医療を旗印に新しい連携を構築していきたい。

参考文献

- 1) Xie H-G, Frueb FW. Pharmacogenomics steps toward personalized medicine. *Personalized Medicine* 2:325-337, 2005.
- 2) Mitsuhashi M, Tomozawa S, Endo K, Shinagawa A. Quantification of mRNA in whole blood by assessing recovery of RNA and efficiency of cDNA synthesis. *Clin. Chem.* 52:634-642, 2006.
- 3) Mitsuhashi, M., Keller, C., and Akitaya T. Gene manipulation on plastic plates. *Nature* 1357:519-520, 1992.
- 4) Ishikawa, T., Ichikawa, Y., Miura, Y., Momiyama, N., Keller, C., Koo, K., Akitaya, T., Shimada, H., and Mitsuhashi, M. Construction of cDNA bank from biopsy specimens for multiple gene analysis of cancer. *Clin. Chem.* 43: 764-770, 1997.
- 5) Mitsuhashi M, Endo K, Obara K, Izutsu H, Ishida T, Chikatsu N, Shinagawa A. Quantification of drug-induced mRNA in human whole blood ex vivo. *Clinical Medicine: Blood Disorders* 2008:1:1-11.
- 6) Hasegawa S, Kato H, Yamaguchi H, Yohda M, Obara K, Izutsu H, Ogura M, Mitsuhashi M. Trastuzumab-induced CCL20 and interleukin-8 mRNA in human whole blood ex vivo. *Invest New Drugs*. 2009 Feb 10. [Epub ahead of print]
- 7) Mitsuhashi M. Ex vivo simulation of drug action: Quantification of drug-induced mRNA as a bridge between preclinical and clinical trials. *Clin. Chem.* 53:148-149, 2007.
- 8) Mitsuhashi M, Ogura M, Endo K, Obara K, Izutsu H, Targan SR, Maemura M, Tachikawa D, Shinagawa A. Ex vivo induction of mRNA in human whole blood as a new platform of drug and dietary supplement development. *Pharm Res.* 25:1116-1124, 2008.
- 9) Mitsuhashi M, Endo K, Obara K, Izutsu H, Ishida T, Chikatsu N, et al. Ex vivo simulation of the action of antileukemia drugs by measuring apoptosis-related mRNA in blood. *Clin Chem.* 54:673-681, 2008.
- 10) Mitsuhashi M, Targan SR. Ex vivo simulation of IgG Fc and T-cell receptor functions: an application to inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 14:1061-1067, 2008.
- 11) Mitsuhashi M. Ex vivo model of drug screening, toxicology, and tailored medicine. Cambridge Healthtech Institute's Second annual kinase inhibitors: Moving forward into clinical studies. October 21-22, 2008, Boston, MA (招待講演).
- 12) Mitsuhashi, M., Cooper, A, Ogura, M., Shinagawa, T., Yano, K. Oligonucleotide probe design - a new approach. *Nature* 367:759-761, 1994.
- 13) Hyndman DL, Mitsuhashi M. PCR primer design. In *PCR Protocols* 2nd ed. (ed. John Bartlett/eds. Barlett, J and Stirling, D)*, Humana Press, Totowa, NJ. pp.81-88, 2003.
- 14) Mitsuhashi M. Method of determining optimal PCR primers. *蛋白質核酸酵素*, 41:439-445, 1996.
- 15) Mizutani K, Hattori R, Kato M, Kinukawa T, Obara K, Ueda T, Izutsu H, Mitsuhashi M, Gotho M. Phytohemagglutinin-induced IL2 and TNFSF2 mRNA as a marker of immunosuppressive drugs. 14th Congress of the European Society for Organ Transplantation. August 30-September 2, 2009, Paris, France (ポスター発表).
- 16) Omori K, Mitsuhashi M, Todorov I, Rawson J, shiang K-D, Kandeel F, Mullen Y. Microassay for glucose-induced preproinsulin mRNA expression to assess islet functional potency for islet transplantation. *Transplantation*, inpress.
- 17) Salonga D, Danenberg KD, Johnson M, Metzger R, Groshen S, Tsao-Wei DD, Lenz H-J, Leichman CG, Leichma L, Diasio RB, Danenberg PV: Colorectal tumors responding to 5-fluorouracil have low gene expression levels of dihydropyrimidine dehydrogenase, thymidylate synthase, and thymidine phosphorylase. *Clin. Cancer Res.* 6, 1322-1327, 2006.
- 18) Ichikawa W, Uetake H, Shirota Y, Yamada H, Takahashi T, Nihei Z, Sugihara K, Sasaki Y, Hirayama R: Both gene expression for orotate phosphoribosyltransferase and its ratio to dihydropyrimidine dehydrogenase influence outcome following fluoropyrimidine-based chemotherapy for metastatic colorectal cancer. *Br. J. Cancer*, 89, 1486-1492, 2003.
- 19) Kornmann M, Schwabe W, Sander S, Kron M, Strater J, Polat S, Kettner E, Weiser HF, Baumann W, Shramm H, Hausler P, Ott K, Behnke D, Staib L, Beger HG, Link KH: Thymidylate synthase and dihydropyrimidine dehydrogenase mRNA expression levels: Predictors for survival in colorectal cancer patients receiving adjuvant 5-fluorouracil. *Clin. Cancer Res.*, 9, 4116-4124, 2003.
- 20) Schneider S, Uchida K, Brabender J, Baldus SE, Yochim J, Danenberg KD, Salonga D, Chen P, Tsao-Wei D, Groshen S, Hoelscher AH, Schneider PM, Danenberg PV: Downregulation of TS, DPD, ERCC1, GST-Pi, EGFR, and HER2 gene expression after neoadjuvant three-modality treatment in patients with esophageal cancer. *J. Am Coll. Surg.* 200, 336-344, 2005.
- 21) Ichikawa W, Takahashi T, Suto K, Nihei Z, Shirota Y, Shimizu M, Sasaki Y, Hirayama R: Thymidylate synthase and dihydropyrimidine dehydrogenase gene expression in relation to differentiation of gastric cancer. *Int. J. Cancer*, 112, 967-973, 2004.
- 22) Cobo M, Isla D, Massuti B, Montes A, Sanchez JM, Provencio M, Vinolas N, Paz-Ares L, Lopez-Vivance G, Munoz MA, Felip E, Alberola V, Camps C, Domine M, Sanchez JJ, Sanchez-Ronco M, Danenberg K, Taron M, Gandara D, Rosell R: Customizing cisplatin based on quantitative excision repair cross-complementing 1 mRNA expression: A Phase III trial in non-small-cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.*, 25, 2747-2754, 2007.
- 23) Uchida K, Schneide S, Yochim JM, Kuramochi H, Hayashi K, Takasaki K, Yang D, Danenberg KD, Danenberg PV: Intratumoral COX-2 gene expression is a predictive factor for colorectal cancer response to fluoropyrimidine-based chemotherapy. *Clin. Cancer Res.*, 11, 3363-3368, 2005.
- 24) Theisen J, Danenberg K, Ott K, Becker K, Danenberg P, Stein HJ, Siewert JR: Predictors of response and survival for neoadjuvant treated patients with esophageal adenocarcinoma. *Clin. Cancer Res.*, 21, 601-606, 2008.
- 25) Ogiuchi Y, Maruoka Y, Ando T, Kobayashi M, Ogiuchi H: Thymidylate synthase, thymidine phosphorylase and orotate phosphoribosyl transferase levels as predictive factors of chemotherapy in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Acta Histochem. Cytochem.*, 41, 39-46, 2008.
- 26) Kuramochi H, Hayashi K, Uchida K, Miyakura S, Shimizu D, Vallbohmer D, Park S, Danenberg KD, Takasaki K, Danenberg PV: Vascular endothelial growth factor messenger RNA expression level is preserved in liver metastases compared with corresponding primary colorectal cancer. *Clin. Cancer Res.*, 12, 29-33, 2006.
- 27) Harino Y, Imura S, Kanemura H, Morine Y, Fujii M, Ikegami T, Uehara H, Shimada M: Role of tumor angiogenesis in gallbladder carcinoma: with special reference to thymidine phosphorylase. *Int. J. Clin. Oncol.* 13, 452-457, 2008.

編集後記

本号には、10年以上を費やしてようやく市場に送り出した開発製品が幾つかある。いずれも、当初は荒削りだったコンセプトを漸進的に純化し、具現化した製品である。情熱と意思、さらには忍耐力をあわせ持った研究開発者が、相補的な技術を取り込みながら、「山の頂」に登った軌跡を辿ることができる。当社グループ内に留まらず、日立グループ内での協創の効果も見逃せない。戦略的に、計画的に、そして、迅速にイノベーションを実現する方法はないものだろうかと思うが、研究開発においても、個々人のダイナミックなぶつかり合いを通じて、本当に価値あるものが生み出されていくのだろう。

MK

お問い合わせ先

・掲載事項に関するお問い合わせにつきましては、弊社インターネットホームページの下記アドレスのお問い合わせフォームをご利用くださるか、または下記事務局までお問い合わせください。

お問い合わせページアドレス：

<https://www.hitachi-chem.co.jp/cgi-bin/contact/other/toiawase.cgi>

編集委員

沼田 俊一	相原 章雄	片寄 光雄	中山 憲一	市村 茂樹	前川 麦
高水 洋次郎	篠崎 明	小野 学	南沢 寛	安 克彦	児嶋 充雅
板橋 雅彦	中村 吉宏	正岡 和隆	横家 泰彦	荻野 晴夫	長谷川 雅之
関 泰幸	山口 正憲	青柳 壽和			

日立化成テクニカルレポート 第53号

発行 2009年10月 / 2010年9月 第3刷発行

発行元 日立化成工業株式会社

〒163-0449 東京都新宿区西新宿二丁目1番1号(新宿三井ビル) 電話 (03)3346-3111(大代表)

事務局 新事業本部 電話(03)5381-2388

編集・発行人 金 文錫

印刷所 日立インターメディックス株式会社

〒101-0054 東京都千代田区神田錦町二丁目1番地5 電話 (03)5281-5001(ダイヤルイン案内)

©2009 by Hitachi Chemical Co., Ltd. Printed in Japan(禁無断転載)

本資料に掲載している物性値は保証値ではありません。参考値です。実際の使用に当たりましては事前に十分なチェックをお願いいたします。

この印刷物は再生紙を使用しています。



印刷インキは大豆油インキを使用しております。

*このSOY INKマークは米国大豆協会承認マークです。

