

令和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号：32657

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K04667

研究課題名（和文）銅ドーピング炭素薄膜の抗ウイルス性および抗菌性発現の創製

研究課題名（英文）Antibacterial and antiviral properties of copper doped carbon film

研究代表者

平栗 健二（HIRAKURI, KENJI）

東京電機大学・工学部・教授

研究者番号：60225505

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：亜鉛（Zn）、銅（Cu）、ケイ素（Si）、チタン（Ti）、フッ素（F）などの第三元素を含有させることで、ダイヤモンド状炭素（DLC）膜に新たな特性を付与する研究が行われている。この中で、銅（Cu）は酵素の阻害や細菌活性の制限、細菌の代謝に影響を与えることが報告され、その抗菌効果が知られている。本研究では、高周波プラズマCVD法を用いて銅含有のDLC（Cu-DLC）膜を形成し、抗菌性と膜の特性との関連性を調査した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで、国内外でDLCの研究開発が競争的に行われており、摺動部品や超硬工具への応用が進み、日本の技術力は世界をリードしていることから国際標準化機構（ISO）規格の取得に大きな貢献をしている。特に、表面平滑性、低摩擦係数、撥水性などの特徴から、抗菌性能を有するDLCの研究が進んでいる。新型ウイルス対策や衛生的生活習慣の向上から、生活用品へ活性元素（銅：Cu）をドーピングしたCu-DLCコーティング技術が求められ、その技術的課題を解決した製品開発が期待されている。

研究成果の概要（英文）： Impart new properties to diamond-like carbon (DLC) films by incorporating third elements such as zinc (Zn), copper (Cu), silicon (Si), titanium (Ti), and fluorine (F) is developed. Among these, copper (Cu) has been reported to inhibit enzymes, restrict bacterial activity, and influence bacterial metabolism, thereby exhibiting known antibacterial effects. In this study, copper-doped DLC (Cu-DLC) films were formed using high-frequency plasma-enhanced chemical vapor deposition (PECVD), and the relationship between antimicrobial properties and film characteristics was investigated.

研究分野：工学

キーワード：DLCコーティング 元素ドーピング 抗ウイルス性 抗菌性

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、新型コロナウイルス (COVID-19) による感染者の抑制を目的として、医療現場では抗ウイルス性および抗菌性を有した医療器具が求められている。その中でも、カテーテルやメスなどの手術器具は、患者の血液などに含まれる病原菌が付着するため、使用後に十分な洗浄や滅菌処理の必要性がある。銅 (Cu) は抗菌性を有することで知られているが、高い反応性を有することから空気中の酸素と結びつくことで表面酸化が進むため、安全性や耐久性に課題がある。そこで、生体適合性や化学的安定性の特長を持つダイヤモンド状炭素 (DLC) 膜に着目した。DLC 膜は、ダイヤモンド構造 (sp^3) とグラファイト構造 (sp^2)、で構成されたドライコーティング材料の 1 つであり、 sp^2/sp^3 比率や水素含有量を制御することで様々な特性が付与可能である。炭素膜に Cu を含有させることで、両者の特長を保有した医療デバイスの表面処理技術が期待できる。本研究では、Cu を導入した炭素膜を作製し、抗菌性や耐久性を有する医療デバイス表面処理技術を目指した。具体的には、Cu と C の含有量比率を変化させた膜を調整し、元素濃度に対する耐久性と抗菌性の関係性を評価した。

2. 研究の目的

これまでの研究にて JIS Z-2801 法を用いた黄色ブドウ球菌に対する抗菌性は、通常の DLC よりも Cu-DLC で抗菌活性値が高くなり、抗菌効果が示唆されている。Cu-DLC の効果は明示されたが、Cu-DLC に含まれる Cu 濃度や内部構造は未解明の点が多い。このため、DLC 膜中に含有させる Cu 量や構造による抗菌、抗ウイルス効果の情報が重要になる。Cu-DLC 作製に混合ターゲットスパッタ (**Mixture sputtering target**) 法を新規創造することで Cu 量を正確に制御し、Cu と DLC の相乗効果を明確にし、抗菌性や抗ウイルス性の発現機序を明らかにすることが学術的目的である。

3. 研究の方法

Cu-DLC は、当初の計画通り混合ターゲットを用いた Mist 法により成膜した。Fig. 1 に本研究で使用した Cu-DLC 製造装置図を示す。スパッタガスは、希ガスの 100% Ar を導入し、ターゲットに対向したアノード電極側に基板を設置した。混合ターゲットの Cu:C 比率は、Ar イオンに対するスパッタ率や成膜時の元素濃度比率を考慮して決定した。DLC に含まれる Cu 量を変化させるために、Cu:C 割合について 3 種類の混合ターゲットを用意した。成膜後の Cu-DLC 膜の物性評価については、X 線光電子分光分析 (XPS : SHIMADZU ESCA-3400) により膜表面構造を解析した。一般的な DLC 評価装置として使用されている Ramann 分光分析 (Raman : レニショー : inVia Qontor TDO) も活用した。試料表面のトポロジーを観察するために、元素解析機能が付属されている走査型電子顕微鏡 (SEM : JEOL JSM-7100F) 等を用いた。試料の抗菌性および抗ウイルス性については、国際基準を参考にした。成膜した Cu-DLC の試料サイズや形状に合わせて、試験方法の若干の修正を行った。抗菌性及び抗ウイルス性の数値評価については、基準に基づいた指数公式の活性値を算出した。

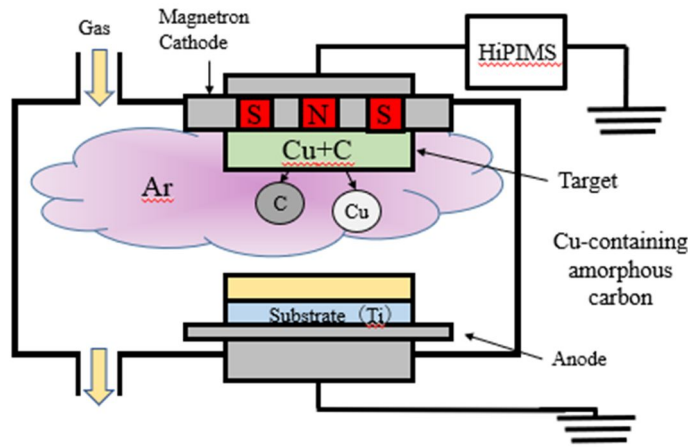


Figure 1 Schematic diagram of sputtering system with mixed target.

4. 研究成果

国際規格 ISO22196(日本産業企画 JIS Z2801)に準拠して試験を実施した。試験菌種は、試験結果の汎用性を考慮して黄色ブドウ球菌を選択した。表1に典型的な Cu-DLC 試料の抗菌性能評価結果を示す。35℃の温度下にて 24 時間培養後、専用培地 (SCDLP) に菌を洗い出し、コロニー数をカウントした。また、本実験では抗菌活性値を用いることで試料の抗菌効果を判定した。対象試料 Control は基板として用いた SUS304 を用いた。Control の培養後生菌数を A とし、対象試料 Cu-DLC の培養後生菌数を B とすると、抗菌活性値 R は以下の式で表される。抗菌活性値 R ≥ 2.0 で抗菌効果があると判断される。Control の 24h 後の培養菌数は 3.4×10^4 である。一方、Cu-DLC 試料では計測限界値である 0.63 以下の観測となり、培養後の菌種増大が大いに抑制された。この数値を抗菌活性値の式に代入して求めると、 $R=4.6$ となり、抗菌性能の指標である 2.0 以上となった。

$$\text{抗菌活性値 } R = \log_{10}(A-B)$$

表1 試料の抗菌活性値

Sample	Bacteria count [cfu/cm ²]		Antibacterial activity value R
	0 [h]	24 [h]	
SUS304 substrate	1.2×10^4	3.4×10^4	—
② Cu:C = 40:60	—	<0.63	4.6

※ <0.63:検出せず ※抗菌活性値R≥2.0で抗菌効果あり

表2 試料の抗ウイルス性活性値 (A型インフルエンザ株)

Sample	Virus infection [TCID ₅₀ /mL]		Antiviral activity value R
	0 [h]	5 [h]	
SUS304 substrate	4.0×10^5	4.0×10^5	—
② Cu:C=40:60	—	3.2×10^2	3.1
③ Cu:C=30:70	—	1.0×10^5	0.6

※抗ウイルス活性値R≥2.0で抗ウイルス効果あり

ウイルス不活性試験 (フィルム密着法) に準拠して抗ウイルス性試験を実施した (表2)。試験結果の有用性および適応性を鑑みて、試験ウイルス株には A 型インフルエンザ株を使用した。抗ウイルス性についても培養前後での数値を用いて活性値を算出した。Control は

SUS304 基板であり 5h 後のウイルス数は、 4.0×10^5 個が観測された。一方、Cu-DLC については、含有 Cu 量によって性能が異なり、Cu 量が多い Cu:C=40:60 のターゲットで作製した Cu-DLC では、 3.2×10^2 個であり活性値 $R=3.1$ となった。この結果から、Cu-DLC (Cu:C=40:60) の試料には抗ウイルス性があると判定される。

抗菌性および抗ウイルス性を有する試料の物性を調査するために XPS を使用した。Fig. 2 に典型的な Cu-DLC (Cu:C=40:60) の XPS スペクトルを示す。Cu-DLC に含まれる元素の結合状態を解析するために各構造に相当するピークを波形分離した。Cu に由来するピークが観測され、Cu-DLC には、Cu 元素が含まれていることが判明した。XPS スペクトルから Cu の含有量を変化させた各試料の元素濃度を算出した。表 3 に Cu 含有量の異なるターゲットで作製した試料の元素濃度を表す。ターゲット内の Cu 量に依存して作製した試料内の Cu 量が変化した。最も多い Cu:C=50:50 ターゲットで作製した試料では最大 55% の Cu 量が含まれていることが分かったが、酸素濃度も高くなり、酸化による抗菌性および抗ウイルス性の低下が懸念される。

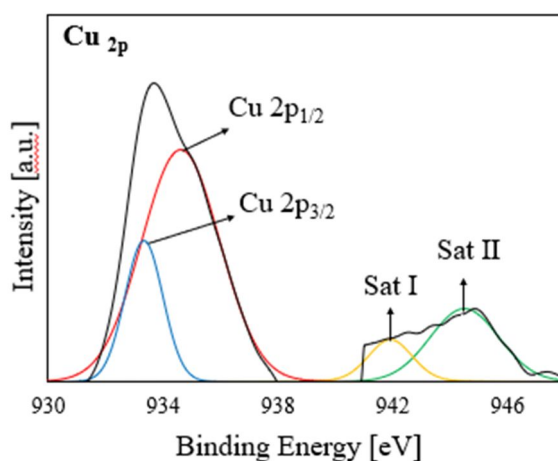


Figure 2 Typical XPS spectrum of Cu-DLC (Cu:C = 40:60).

Table 3 Chemical component of each sample.

Sample	Cu : C Target	Cu/C	Chemical composition [at.%]		
			Cu	C	O
①	50 : 50	1.71	55.4836	32.4263	12.0900
②	40 : 60	1.10	51.4240	46.9411	1.6349
③	30 : 70	0.73	38.9041	53.2695	7.8264

作製した試料の安定性を評価するために、液体中での浸漬試験を実施した。用いた溶液は、純水、エタノール (C_2H_6O) およびオートクレーブ内での高温水蒸気とした。浸漬試験前後の Cu-DLC 試料のマクロな構造変化を観測するためにレーザ Raman 分光分析法を利用した。各種溶液に浸漬した試料の Raman スペクトルを Fig. 3 に示す。参考にデフォルトの Cu-DLC 試料 (Cu:C=40:60) を図中に記載している。Raman スペクトルの結果からは、各種溶液に浸漬した後も構造の変化は観測されず、溶液浸漬に対する安定性を有することが認められた。

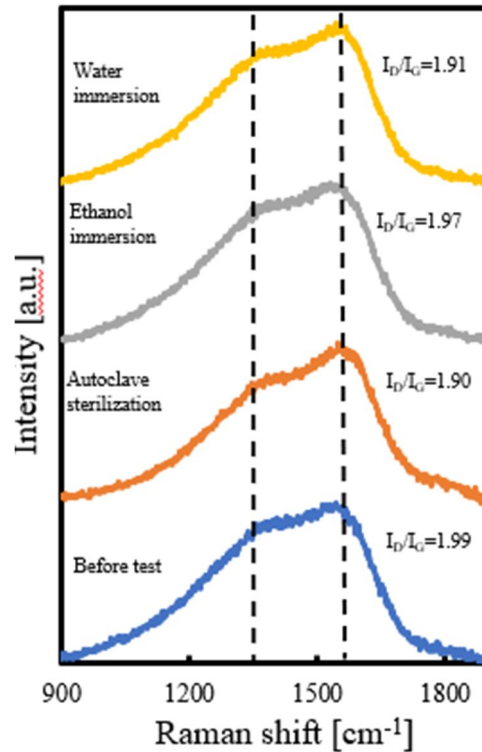


Figure 3 Raman spectra of Cu-DLC before and after stability test.

本研究「銅ドーブ炭素薄膜の抗ウイルス性および抗菌性発現の創製」についての成果として、実験計画で提案した内容と対応させて以下にまとめる。

- ・銅ドーブ炭素薄膜（Cu-DLC）創製プロセスの開発と抗ウイルスおよび抗菌性検証
Mist 法による Cu-DLC の作製が実現でき、試料の抗菌 & 抗ウイルス性を評価した。
- ・抗ウイルスおよび抗菌効果を有する Cu 安定性保持のための DLC 割合の同定
XPS による構造解析から Cu-DLC 内の Cu 量調整が可能であることを示唆した。
- ・安定化 Cu-DLC の創製および抗ウイルス性発現の機序の解明
Cu-DLC 安定性を検証し、酸素結合量がウイルス性に起因する可能性を示した。

DLC 内に Cu を含有させる技術開発を行い、Cu-DLC 作成手法を確立した。その Cu-DLC は抗ウイルス性および抗菌性を有し、衛生製品や医療現場における機器への応用の可能性が高まった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 K. Kanasugi, K. Arimura, A. Alanazi, Y. Ohgoe, Y. Manome, M. Hiratsuka, K. Hirakuri	4. 巻 9
2. 論文標題 UV sterilization effects and osteoblast proliferation on amorphous carbon films classified based on optical constants	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bioengineering	6. 最初と最後の頁 1-16
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/bioengineering9100505.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 K. Kanasugi, H. Eguchi, Y. Ohgoe, Y. Manome, A. Alanazi, K. Hirakuri	4. 巻 15
2. 論文標題 Correlation of cell proliferation with surface properties of polymer-like carbon films of different thicknesses prepared by a radio-frequency plasma CVD process	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Materials	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ma15134466	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 平栗健二、三原伊織	4. 巻 1
2. 論文標題 製品利用に向けたバイオマテリアル開発の基本事項と注意点 ~材料の特徴・材料劣化・表面解析・安全性試験・ニーズ収集~	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 情報機構	6. 最初と最後の頁 71-73
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 大越康晴、平栗健二	4. 巻 38
2. 論文標題 DLC標準化：細胞増殖性と分光エリプソメトリーの応用	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ニューダイヤモンド	6. 最初と最後の頁 19-23
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 K. Kanasugi, Y. Ohgoe, M. Hiratsuka, H. Nakamori, A. Homma, K. Hirakuri	4. 巻 113
2. 論文標題 Classification of DLC films for cell proliferation based on optical constants	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Diamond and related Materials	6. 最初と最後の頁 1-7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.diamond.2021.108266	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Y. Manome, T. Tachibana, M. Hiratsuka, K. Sato, Y. Ohgoe, K. Hirakuri	4. 巻 38
2. 論文標題 Osteoblastic MC3T3-E1 Cells on Diamond-Like Carbon-Coated Silicon Plates: Field Emission Scanning Electron Microscopy Data	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Data in brief	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.dib.2021.107385	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 K. Saito, M. Hiratsuka, Y. Manome, K. Fujioka, Y. Ohgoe, H. Honda, K. Hirakuri	4. 巻 119
2. 論文標題 Effects of zinc-containing diamond-like carbon coated splints on the healing of fractures in mice: A pilot study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Diamond and Related Materials	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.diamond.2021.108574	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 1.Nurul Shakirah Binti Jamel, Kenji Hirakuri, Yasuharu Ohgoe, Akira Nakamura, Takashi Komatsu
2. 発表標題 Plasma optical emission measurements using machine learning for biocompatible N-DLC film depositions
3. 学会等名 15th International Conference on New Diamond and Nano Carbon 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Y. Ohgoe, T. Fukuhara, S. Tunmee, U. Rittihong, C. Euaruksakul, H. Nakajima, M. Hiratsuka, H. Nakamori, T. Yaguchi, A. Homma, and K. Hirakuri
2. 発表標題 Relationship between optical property and surface functionalities in various types of DLC films for biological response
3. 学会等名 The 14th International Conference on New Diamonds and Nano Carbons 2020/2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 熊谷颯天、馬目佳信、平塚傑工、大越 康晴、平栗 健二
2. 発表標題 Zn-DLCのZn溶出特性と石灰化促進効果
3. 学会等名 第82回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 ヌルルシャキラ ピンティジャメル、若山明梨、中村聡、小松隆、平栗健二、大越康晴
2. 発表標題 生体適合性N-DLC成膜のための機械学習を用いたプラズマ発光観察
3. 学会等名 第35回ダイヤモンドシンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 加賀洋行、平塚傑工、馬目佳信、大越康晴、平栗健二
2. 発表標題 Cu含有DLCの作製と抗菌性評価および滅菌処理に対する膜耐久性評価
3. 学会等名 第34回ダイヤモンドシンポジウム
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 銅を含有する非晶質炭素膜	発明者 平栗健二、熊谷颯天、中森秀樹、平塚傑工	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、TPJ0467NTC	出願年 2023年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	馬目 佳信 (MANOME YOSHINOBU) (30219539)	東京慈恵会医科大学・医学部・教授 (32651)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------