

2024 年度（第 49 回）
学 術 研 究 振 興 資 金
The Science Research Promotion Fund
学 術 研 究 報 告

令和 7 年 10 月

はじめに

この報告書は、2024 年度（第 49 回）学術研究振興資金を配付した研究課題について、その研究成果を取りまとめたものです。掲載した研究成果には、この年度に初めて資金を受けたもの、前年度から 2 年目、3 年目と継続して資金を受けたものなどがあり、すべての研究が完了しているわけではありません。したがって現在も進行中の研究については、その進捗状況を記してあります。

「学術研究振興資金」は、私立の大学、短期大学、高等専門学校の学術研究の振興のために、私学事業団が広く一般から寄付を集めて、これを「学術研究振興基金」として運用し、その運用益から私立大学等における社会的要請の強い学術研究に対して助成を行っているものです。

昭和 51 年度に配付を開始して以来、令和 7 年 5 月末までに配付した資金総額は、3,564 件、83 億 5,198 万円にのぼっております。これも、深いご理解を示された経済界をはじめとする多くの方々のご協力の賜物と心から感謝し、ご寄付くださった皆様に研究者の方々とともに御礼申し上げる次第でございます。

お蔭をもちまして、本基金の保有額は、令和 7 年 9 月末で、54 億 1,650 万円に達しました。本事業団では私立大学等における学術研究の発展を願い、さらに本基金を充実させたいと考えております。本基金の趣旨をご理解のうえ、一層のご支援とご協力を賜りますようお願い申し上げます。

おわりに、研究に携わる皆様におかれましては、この貴重な資金を有効にご活用いただき、特色ある学術研究の充実発展に寄与し、社会の要請に応えられますことを心からお祈りいたします。

令和 7 年 10 月

日本私立学校振興・共済事業団

理事長 福 原 紀 彦

目 次

- I 2024 年度学術研究振興資金 応募状況及び採択状況
- II 学術研究振興基金 年度別受領状況
- III 学術研究振興資金 研究分野別配付状況
- IV 2024 年度学術研究振興資金 研究課題一覧
- V 2024 年度（第 49 回）学術研究振興資金 学術研究報告

I 2024年度学術研究振興資金 応募状況及び採択状況

区 分		件数（件）		採択率 （％）	金額（千円）	
		応募件数	採択件数		応募金額	採択金額
新規・継続別	新 規	92	14	15.2%	190,700	32,000
	継 続 2 年 目	14	11	78.6%	46,500	27,300
	継 続 3 年 目	13	9	69.2%	38,400	21,900
学校種別	大 学	116	33	28.4%	272,400	80,500
	短 期 大 学	3	1	33.3%	3,200	700
	高 等 専 門 学 校	0	0	0.0%	0	0
研究区分別	人文・社会科学系	31	9	29.0%	34,000	8,600
	理工系、農学系	27	8	29.6%	70,200	20,800
	生物学系、医学系	61	17	27.9%	171,400	51,800
合 計		119	34	28.6%	275,600	81,200

Ⅱ 学術研究振興基金 年度別受領状況

(単位：千円)

年度 区分	1976(昭和51)～ 2018(平成30)年度	2019年度 (令和元年度)	2020年度 (令和2年度)	2021年度 (令和3年度)	2022年度 (令和4年度)	2023年度 (令和5年度)	2024年度 (令和6年度)	合 計
経済団体	2,132,328	0	0	0	0	0	0	2,132,328
個別会社	1,622,000	0	0	0	0	0	0	1,622,000
学校法人	1,460,833	0	0	0	0	0	0	1,460,833
個人	199,677	270	3	129	404	254	451	201,188
合 計	5,414,838	270	3	129	404	254	451	5,416,349
基金保有額	5,414,838	5,415,108	5,415,111	5,415,240	5,415,644	5,415,898	5,416,349	—

Ⅲ 学術研究振興資金 研究分野別配付状況

年度 研究分野	1976(昭和51)～ 2018(平成30)年度	2019年度 (令和元年度)	2020年度 (令和2年度)	2021年度 (令和3年度)	2022年度 (令和4年度)	2023年度 (令和5年度)	2024年度 (令和6年度)	合 計
医 学	2,935,180	29,100	38,800	39,300	47,800	45,600	51,100	3,186,880
環 境 科 学	227,740	0	0	0	0	2,100	4,300	234,140
理 学	955,510	20,900	11,300	5,500	5,200	11,500	6,600	1,016,510
工 学	1,650,760	12,400	16,300	21,000	8,900	700	2,100	1,712,160
農 学	328,900	9,900	4,400	5,300	6,000	8,400	8,500	371,400
文 学	751,460	4,100	2,500	1,400	3,500	7,300	7,100	777,360
法 学	107,420	0	2,500	0	0	0	0	109,920
経 済 学	241,680	1,400	2,600	2,800	3,700	1,800	900	254,880
家 政 学	223,460	0	0	0	2,000	0	0	225,460
体 育 学	31,800	0	0	3,000	2,800	2,800	0	40,400
教 育 学	192,970	3,300	2,000	2,900	800	400	600	202,970
小 計	7,646,880	81,100	80,400	81,200	80,700	80,600	81,200	8,132,080
若手研究者 奨励金	139,300	—	—	—	—	—	—	139,300
合 計	7,786,180	81,100	80,400	81,200	80,700	80,600	81,200	8,271,380

(注1) 研究分野の「医学」には薬学、歯学を、「理学」には生物学、生物科学、生理人類学（生物系理学）を、「工学」には情報科学、原子力学を、「文学」には哲学、心理学、社会学、文化人類学、史学を、「法学」には政治学をそれぞれ含む。

(注2) 学術研究振興資金としての「若手研究者奨励金」の配付は、平成20年度から平成29年度までである。

IV 2024年度学術研究振興資金 研究課題一覧

	学校名	研究分野	研究課題	配付額(千円)
1	北海商科大学	経済学	農産物の安定的輸送力確保にむけたパレット運用方法・制度の設計	600
2	宮城学院女子大学	教育学	命の大切さを学ぶ防災・減災教育プログラムの開発と評価	300
3	青山学院大学	理学(理工系)	見えそうで見えない核酸微小環境を可視化する	4,300
4	北里大学	医学	神経成長因子による疼痛の新規制御機構としてのArf6小胞輸送	1,600
5	慶應義塾大学	医学	CLiP細胞由来の細胞外小胞による新規肝線維化修復治療の開発	4,300
6	東京慈恵会医科大学	医学	多次元分析から観た病態へ至る副甲状腺細胞の立ち居振る舞い	2,100
7	順天堂大学	医学	UFMIシステムが駆動する小胞体ホメオスターシス:その破綻と遺伝性脳症	4,300
8	昭和女子大学	文学	モンゴルのシルクロード遺跡に関する学際的研究	2,000
9	成城大学	文学	「山村・海村・離島調査」の創造的継承と発展に向けた基礎的研究	300
10	創価大学	農学	難培養性微細藻類の成長促進物質の特定と新規成長培地の研究開発	4,300
11	帝京大学	医学	網膜の機能と構造を重量したレチナマップの作成	2,500
12	東海大学	医学	THAラットの高学習能力の解明と次世代影響評価法への応用	4,300
13	東京女子医科大学	医学	関節リウマチ発症高リスク個体の免疫異常の探索	4,300
14	東京農業大学	農学	アフリカの農業を救うストリゴラクトン高活性類縁体の創出	2,100
15	東邦大学	医学	新規性差マーカーを用いた性差ニューロンの機能解剖学的研究	2,800
16	日本獣医生命科学大学	農学	獣医てんかん外科の発展に資する包括研究	2,100
17	日本医科大学	医学	新規バイオバンクによる老化実態解明のための疾患横断的基盤研究	3,500
18	法政大学	文学	日本資本主義と女性の社会的環境に関する総合的研究	700
19	星薬科大学	医学	標的タンパク質分解誘導を促進・高効率化する新規複合分子の創製	2,100
20	自治医科大学	医学	侵襲的脳活動計測・介入によるヒト情動・共感の神経機序の解明	2,100
21	桐蔭横浜大学	工学	宇宙用途に向けた高効率・高信頼性ペロブスカイト太陽電池の作製	1,400
22	藤田医科大学	医学	骨軟部腫瘍細胞と腫瘍微小環境を標的としたCAR-T細胞の開発	4,300
23	中部大学	理学(生物学系)	染色体異常の高精度な修復を目指した新規ゲノム編集法の開発	700
24	京都女子大学	文学	認知症予防を目的とした遠隔健康サポートプログラムの構築	2,100
25	大阪工業大学	環境科学	排CO2ゼロのバイオエネルギー生産システムの構築	4,300
26	大阪歯科大学	医学	iPS細胞からの歯根膜幹細胞分化誘導と新規歯周組織再生戦略	1,300
27	大阪成蹊短期大学	工学	動物繊維由来の機能性ナノファイバーを利用した骨格筋組織の再生	700
28	関西学院大学	理学(理工系)	X線自由電子レーザーによるX線誘起フェムト秒磁気ダイナミクス	1,600
29	園田学園女子大学	経済学	労働者のワーク・エンゲイジメント向上に関するメカニズムの解明	300
30	兵庫医科大学	医学	MHC class II制御異常による炎症性疾患の探索	4,300

IV 2024年度学術研究振興資金 研究課題一覧

	学校名	研究分野	研 究 課 題	配付額 (千円)
31	天理大学	文学	東地中海地域における鉄器時代の始まりと地域社会の変容	2,000
32	徳島文理大学	医学	金属トランスポーターZIP14の制御に基づく創薬研究	4,300
33	福岡歯科大学	医学	腸内環境が引き起こす歯周病の病態の解明	3,000
34	志學館大学	教育学	地方における就学时健康診断後の支援状況に関する追跡調査	300
			配付額計	81,200

(注) 研究分野の「医学」には薬学、歯学を、「理学」には生物学、生物科学、生理人類学(生物系理学)を、「工学」には情報科学、原子力学を、「文学」には哲学、心理学、社会学、文化人類学、史学を、「法学」には政治学をそれぞれ含みます。

V 2024 年度（第 49 回）

學術研究振興資金 學術研究報告

2024年度（第49回）学術研究振興資金 学術研究報告

学 校 名	北 海 商 科 大 学	研究所名等	
研 究 課 題	農産物の安定的輸送力確保にむけたパレット運用方法・制度の設計 ーパレット一貫輸送が齎す経済価値と各主体の便益・負担の観点からー	研 究 分 野	経 済 学
キ ー ワ ー ド	①パレット化推進、②物流効率化、③農産物輸送		

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
相 浦 宣 徳	北 海 商 科 大 学 大 学 院 商 学 研 究 科	教 授	全体総括, 取り纏め, フレームワークの構築, データ分析, パレット運用シミュレーションモデルの構築, 各プレイヤーの受益と負担意の分析, パレット使用による一貫流通システムの運用方法の検討

○研究分担者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
伊 藤 寛 幸	北 海 商 科 大 学 大 学 院 商 学 研 究 科	教 授	CVM調査の実施と経済的価値の評価, 「パレット使用による一貫流通システム」の制度設計・支援策の検討, 各プレイヤーの受益と負担意の分析, CVM調査の実施と経済的価値の評価
深 澤 史 樹	北 海 商 科 大 学 商 学 部	准 教 授	各プレイヤーの受益と負担意の分析, CVM調査の実施と経済的価値の評価
澤 内 大 輔	北 海 商 科 大 学 大 学 院 商 学 研 究 科	准 教 授	「パレット使用による一貫流通システム」の基礎データ収集, 不確実性を考慮したシミュレーション分析

農産物の安定的輸送力確保にむけたパレット運用方法・制度の設計 ーパレット一貫輸送が齎す経済価値と各主体の便益・負担の観点からー

1. 研究の目的

(1) 研究の背景

近年の世界情勢の不安定さから、全ての国民が安定的に食料を入手できるよう、食の安全保障の担保が危機感をもって強く報じられている。加えて、深刻化する「トラックドライバー不足」や、2024年4月から発動された「働き方改革による労働時間の制約」等により、ここ数年の間に、農産品輸送に関わる労働力不足がさらに進行し、輸送力低下に起因する農産品供給力の弱まり、ひいては食の安全保障が脅かされる事態となる恐れが非常に強い。

本研究で対象とする「農産物流通におけるパレット輸送の推進」は、輸送力低下に対する最も有力な施策として、2016年の「農産品物流対策関係省庁連絡会議(農林水産省・経済産業省・国土交通省)」を皮切りとして、盛んに議論され、生産者から消費者までを結ぶ「一貫パレチゼーション(荷物をパレットに載せたまま出発地から到着地まで輸送する仕組み)」が目指されている。しかしながら、後述する課題から、農産物流通における一貫パレチゼーションへの転換は他の分野と比べて大きく遅れており、「農産物のパレット先進地域」と称される北海道地域でさえも使用率は約27%に留まっている(ホクレン農業協同組合連合会2019年度実績)。

多くの実証実験等で有効性が確認されているにも関わらず、農産物流通において一貫パレチゼーションが進まない原因・課題は、研究代表者が登壇した「農林水産省シンポジウム・サステナブルな食品輸送の実現へ(2020.11)」での議論によると、以下の3点に帰結される。「運用・マネジメントの困難さ」、「費用負担に対する抵抗」、「危機意識の欠落」である。

(2) 目的

以上から、本研究では「農産物流通における一貫パレチゼーションは、各プレイヤー(①生産地の集出荷団体(農協など)、②農産物の輸送に係る物流事業者、③北海道外の卸売市場など)が単独で成し得るものではなく、サプライチェーン全体(一貫した物流システム全体)でなされるべきである」と考え、次のテーマ1~3を明らかにすることを目的とする。

(テーマ1) 農産物サプライチェーンにおいて、パレットの回収率の向上、運用効率・利便性の向上を達成する運用・マネジメント方法の在り方

(テーマ2) パレット化に伴う費用増分をサプライチェーン全体に係る共通経費と捉えたパレット導入・運用のための支援策・制度の在り方

(テーマ3) プレイヤ間の危機感の共有・連携認識の醸成にむけた啓蒙活動の在り方

2. 研究の計画

研究2年目にあたる2024年度では、過年度の成果に基づき、主に(テーマ2)を対象として、次の(1)(2)を実施した。

(1) パレット化の進捗状況・一貫パレチゼーションがもたらす便益などの整理

物流効率化や一貫パレチゼーションの実現にむけて重要とする取組み、各々の進捗度合い、パレット使用に関するプレイヤーの支払意思額、経済的価値、などの整理・検討を行う。その際に、本事業の前身となるアンケート調査の結果(2020年度実施)~研究期間

内で実施したアンケート2回分をあわせて再分析し、実務者に対し分析結果の妥当性に関するヒアリング調査を実施した。

(2) パレット使用による一貫流通システムの運営・支援に係る施策の検討

「パレット使用による一貫流通システム」の運営・支援に係る施策の検討を行う。分析には、原因条件とアウトカムの因果関係を分析する統計手法であるQCA（質的比較分析: Qualitative Comparative Analysis）を行う。

3. 研究の成果

(1) パレット化の進捗状況・一貫パレチゼーションがもたらす便益などの整理

下表に、各プレイヤー(①生産地の集出荷団体(農協など)、②農産物の輸送に係る物流事業者、③北海道外の卸売市場など)の、「(a)パレット化の実施状況」、「(b)パレット化が齎す効果についての認識」、「(c)パレット化の価値(1使用あたりの支払意思額(円/枚))」を示す。なお、「(c)パレット化の価値」は、CVM(仮想的市場評価法)により求めている。

表：プレイヤーの取り組みの進捗状況など

	①生産地の集出荷団体(農協など)	②農産物の輸送に係る物流事業者	③北海道外の卸売市場など
(a)パレット化の実施状況	35.4% (n=53)	56.3% (n=56)	79.5% (n=45)
(b)最も効果の高い施策はパレット化	15.4% (n=53)	52.5% (n=56)	45.2% (n=45)
(c)パレット化の価値 (1使用あたりの支払意思額(円/枚))	666円 (n=39)	328円 (n=32)	198円 (n=23)

分析結果に対する実務家へのヒアリング調査により、妥当性は確認されている。一方、これまでの研究では、サプライチェーンの川上(産地側)ではパレットの導入に関する意識が高く、川下(消費側)にいくつれ低くなるとされてきたが、これに相反する結果も含まれる。例えば、「(a)パレット化の実施状況」では、③市場・大卸がプレイヤーの中で最も高い値となっている。これは、関東近郊地域などから首都圏の市場への納品に「雑パレ」と称される持ち主不在のパレットが流通していることによる。この「雑パレ」は減少傾向にあり、「雑パレの使用」＝「パレット化の実施」という認識は、危険である。また、「(b)パレット化が齎す効果についての認識」では、①集出荷団体はパレットの使用を最も効果のある施策としてはとらえていない。これは、集出荷施設では既に庫内荷役用のパレットが普及しており、輸送用のパレットには高い効果を感じてないことによる。

(2) パレット使用による一貫流通システムの運営・支援に係る施策の検討

パレット化を推進する要因について、筆者らが2023年度に実施したアンケート調査結果に基づき、QCA(質的比較分析: Qualitative Comparative Analysis)を行った。QCAとは、原因条件とアウトカムの因果関係を分析する統計手法であり、原因条件がアウトカムに対して、十分条件となるかなどを測定するものである。また、比較的サンプル数が少なくても有意な結果が得られる手法とされている⁽¹⁾。ここでは、「パレット導入の理由・きっかけ」をアウトカムとし、次の(あ)強制的圧力、(い)規範的圧力、(う)模倣的圧力に大別される原因条件との因果関係を分析した。なお、QCAの分析は「fsQCA 4.1 Windows」を用いた。氏家他(2019)等の先行研究⁽¹⁾に倣い、十分条件を判断する整合度の閾値を0.80とした。

- (あ)強制的圧力
 - ・取引先からの要請
 - ・助成金などの公的資金、認証・認定
 - ・認証・認定
- (い)規範的圧力
 - ・同業団体・事業者との協働
 - ・自主的な取組
- (う)模倣的圧力
 - ・パレット化の導入時期

分析により求められた結果を次に総括する。これらは、令和6年6月に、官民物流標準化懇談会によりまとめられた「パレット標準化推進分科会 最終とりまとめ⁽²⁾」の「IV. パレット標準化の実現に向けて関係者に求める取組」に概ね沿った結果と判断できる。

- ・ ②物流事業者、③市場・大卸は、取引先からの要請に影響を受けやすいことから、パレット化の活用を積極的に働きかけていくことが有効である。
- ・ ③市場・大卸は、助成金などの公的資金、認証・認定に影響を受けやすいため、それらのパレットの導入支援策を講じていくことが有効である。
- ・ また、③市場・大卸は、同業団体・事業者との協働に影響を受けやすいことから、パレットの導入提案の協議を進めていくことが有効である。
- ・ 他社追随インセンティブは取組にそれほど影響しないことから、パレット化の実現に向けては、各プレイヤーが、サプライチェーンの全体最適を考え、各々の責務を認識することが肝要である。

4. 研究の反省・考察

(1) 2024年度について

本年度は主に、上記(3. (2))について研究を進め、おおむね計画通り遂行できた。

(2) 研究年度全体について

当初の調査対象として、①生産地の集出荷団体(農協など)、②農産物の輸送に係る物流事業者、③北海道外の卸売市場、に加え、④北海道外の食品製造業者をあげていたが、回答数の少なさを原因に省かざるをえなかった。プレイヤーによるサンプル数のばらつきの解消、サンプル数の確保が大きな課題であった。また、得られた成果は、官民物流標準化懇談会によりまとめられた「パレット標準化推進分科会 最終とりまとめ」の域にとどまるものであった。今後も研究を進め、より具体的な施策、パレット化の推進に関する複数の方策の効果的な組み合わせを提言していきたい。

5. 研究発表

(1) 学会誌等

なし

(2) 口頭発表

- ①伊藤寛幸：一貫パレチゼーションによる費用と便益の計測、日本物流学会中部部会研究報告会、2024年6月
- ②平出 渉、澤内 大輔、深澤 史樹、伊藤 寛幸、相浦 宣徳：農産品物流におけるパレット化推進に対する原因条件(圧力)の分析～QCA(質的比較分析)を用いて～、第41回日本物流学会全国大会、2024年9月
- ③相浦宣徳：北海道からみた昨今の物流問題と物流システムのあり方、日本流通学会第38回

全国大会、2024年10月

- ④北海道、各地の産業と生活の存続に向けて～物流を考えることは「次世代にどのような地域を残すか」を考えること～相浦宣徳：北海道からみた昨今の物流問題と物流システムのあり方、農林水産省、北海道農産物・物流バランスアップセミナー、2025年2月
- ⑤伊藤寛幸、平出渉、澤内大輔、深澤史樹、相浦宣徳：農産物物流におけるパレット導入の評価と経済的含意、第 142 回北海道農業経済学会例会、2025年3月

(3) 出版物

- ①相浦宣徳：農産物物流に関する今日的課題、現代流通における食品卸の役割と将来展望に関する調査研究、8章、pp. 76-87、一般社団法人北海道農産物協会、2025年3月

参考文献

- (1) 氏家慶介他：「ODA 事業における質的比較分析(QCA)の応用可能性：JICA インド森林事業の事例」、日本評価学会春季第 16 回全国大会研究報告集、2019. 4
- (2) 『官民物流標準化懇談会 パレット標準化推進分科会 最終とりまとめ』、国土交通省、2024. 6
- (3) 木島豊希：「トラック予約受付システムの導入の要因に関する研究：質的比較分析（QCA）アプローチ」、日本物流学会誌、NO. 31、2023

学 校 名	宮 城 学 院 女 子 大 学	研究所名等		
研 究 課 題	命の大切さを学ぶ防災・減災教育プログラムの開発と評価 —東日本大震災における幼児・保育施設の事例を通して—		研 究 分 野	教 育 学
キ ー ワ ー ド	①防災教育プログラム、②東日本大震災、③命の大切さ、④保育者養成、⑤幼児教育			

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
西 浦 和 樹	宮城学院女子大学 教育学部教育専攻 幼児教育	教 授	研究の統括(防災教育プログラムの開発と評価)

○研究分担者

[illegible]

命の大切さを学ぶ防災・減災教育プログラムの開発と評価 —東日本大震災における幼児・保育施設の事例を通して—

1. 研究の目的

我が国の防災・減災教育プログラムに関する研究は、小中学生を対象としたものが大半を占め、保育学生を対象とした研究は極めて少ない。本研究では、保育学生を対象とした被災地研修プログラムを実施し、学生の意識変化と学習効果を分析することを目的とした。

西浦ら（2023）の研究では、被災地研修を通じて「命の大切さ」や「保育者としての防災意識」の向上が期待されることが示された。しかしながら、研修参加者の属性（実践知や動機づけ）による学びの深さの違いについての詳細な分析は不十分であった。そこで、本研究では、災害発生時における保育者の適切な対応に焦点を当て、被災地研修による学生の意識変化と学習効果を検討した。

2. 研究の計画

本研究では、幼児教育専攻の3年生47名を対象に、事前研修および被災地研修を実施した。事前研修では、子どもの生命を守るための危機管理体制構築について講義を行った後、2023年7月1日に石巻市震災遺構門脇小学校において被災地研修を実施した。研修では、元小学校教員および現役保育士による講話を聴講し、現場の実情を学んだ。学習効果の測定のため、研修前後にアンケートを実施し、「被災地研修に興味があるかどうか」を二択で回答させた。また、研修後の自由記述データを生成AI（ChatGPT3.5-turbo）を用いて分析し、学習内容の傾向を明らかにした。

3. 研究の成果

アンケート結果では、「興味あり→興味あり（35名）」「興味なし→興味あり（8名）」のデータを使用し、「興味なし→興味なし（3名）」「興味あり→興味なし（1名）」は除外した。自由記述データの分析結果により、参加学生の学びの内容を以下の2つのグループに分類した。

- ・ **興味分類1（研修によって興味を持ったグループ）**
 - 日常生活から防災への意識を高めることの重要性
 - 避難訓練や防災教育の実施の重要性
 - 異年齢間の交流による防災意識の向上
 - 保育者としての災害時対応の理解
- ・ **興味分類2（もともと興味が高く、深い学びを得たグループ）**
 - 二次避難・三次避難の計画の重要性
 - 地域の協力による避難の実施
 - 判断力と迅速な行動の必要性
 - 避難所の事前決定と確保
 - 教師の指導力と防災意識の醸成
 - 地域との連携強化

この結果から、被災地研修を通じて、新たに興味を持った学生（興味分類1）は、探索行動を通じて学びを深めるプロセスにあった。一方、もともと興味が高かった学生（興味分類2）は、認識行動を通じてより専門的で実践的な理解を深めたことが示唆された。

4. 研究の反省・考察

本研究では、被災地研修が保育学生の意識変化と学習効果に与える影響を分析した。その結果、動機づけの高さによって学びの深さが異なることが明らかとなり、学習プロセスを好奇心の探索行動と認識行動の観点から説明できることが示された。今後の防災教育では、事前学習の充実や学習者の興味関心を高める工夫が求められる。

キーワード：好奇心、内発的動機づけ、社会的学習理論

5. 研究発表

(1) 学会誌等

- ① 兪幃蘭・西浦和樹・伊藤哲章・守渉・平川久美子（2024）保育者養成における防災教育プログラム開発と教育評価に関する研究：学生の参加意欲が研修効果に及ぼす影響 宮城学院女子大学研究論文集，138，67-77.

(2) 口頭発表

- ① 西浦和樹・伊藤哲章・守渉・平川久美子・兪幃蘭 被災地研修による学生の意識変化と学習効果：教育心理学理論に基づく分析 国際力動的心理療法学会（IADP）第28回年次大会（郡山 2024年9月21日）
- ② 西浦和樹・伊藤哲章・守渉・平川久美子・兪幃蘭 防災教育プログラム開発と教育評価に関する研究：生成AIによる自由記述データの分析 日本教育心理学会第66回総会（アクトシティ浜松 2024年9月15日）

(3) 出版物

なし

2024年度（第49回）學術研究振興資金 學術研究報告

学 校 名	青 山 学 院 大 学	研究所名等	
研 究 課 題	見えそうで見えない核酸微小環境を可視化する		理 学 (理工系)
キ ー ワ ー ド	①プロトン化 ②核酸高次構造 ③ラマン分光法 ④修飾核酸塩基 ⑤核酸医薬品 ⑥核酸構造イメージング		

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
田 邊 一 仁	理 工 学 部	教 授	研究代表者 統括、核酸合成、生化学実験、論文作成

○研究分担者

[illegible]

見えそうで見えない核酸微小環境を可視化する

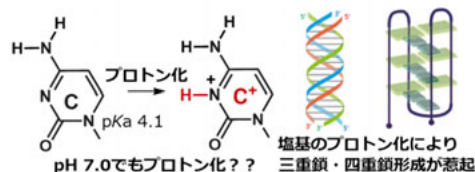
1. 研究の目的

DNA や RNA といった核酸は、多様な高次構造を形作り、機能を発現する。しかし、この高次構造の形成過程は、分かっているようでわかっていない。その最たるものが核酸塩基上で生じるプロトン化である。一般的にプロトン化は、化合物が示す pKa よりも、化合物周囲の液性 (pH) が酸性側にあるときに生じる。例えば、シトシン塩基の pKa は約 4.1 であるため、pH が 4 より小さい時にプロトン化される。しかし、DNA オリゴマー中のシトシン塩基は、pH6 や 7 といった中性に近い条件であってもプロトン化されるものとされ、同塩基のプロトン化に関わる高次構造 (三重鎖形成や四重鎖形成) に関わる。

しかし、本当に中性条件下でシトシン塩基はプロトン化しているのか？という疑問は尽きない。というのは、実際にそのプロトン化は直接観測されたわけではなく、高次構造を形成しているという事実から、プロトン化の発生を推測しているにすぎないからである。一般に有機化合物のプロトン化は、NMR や吸収スペクトル等の分光学的計測を用いて追跡されてきた。しかし、DNA オリゴマーのように巨大な分子では、既存の分光学的手法では得られるスペクトルが煩雑になり、特定塩基のプロトン化を直接観測することは不可能である。ましてや、細胞内などの混在系ではさらにスペクトルは解析が困難となり、プロトン化のような小さな化学反応の可視化は現状できない。

こうした現状を打破するため、本研究では、プロトン化の詳細を追跡可能なラマン散乱光計測による核酸構造解析システムを開発することを目指した。

具体的には、ラマンタグを備えたシトシン塩基を開発し、DNA オリゴマー上でのプロトン化を調査する。まずは、in vitro でのプロトン化検出を実現した後に、生きた細胞内での核酸上のプロトン化を原子レベルの精密さで直接観測することを最終的な目的とした。

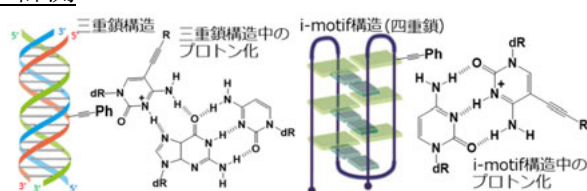


2. 研究の計画

本研究 1 年目 (2024 年度) は、ラマンタグ (置換アセチレン基) で修飾したシトシン塩基を開発するとともに、DNA 鎖 (オリゴマー) へと導入することとした。アセチレン基は 2200cm^{-1} 付近に混在系でも強く識別し易いシグナルを与える。また、シグナル増強に向けた化学修飾を進め、高感度にプロトン化を検出するシステムを確立することを目指した。具体的な研究項目を以下に示した。

1 ラマンタグ修飾 DNA オリゴマーの合成とラマン計測

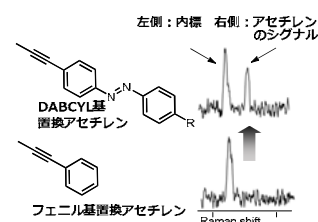
アセチレン基 (ラマンタグ) を備えた核酸塩基を高収率で合成する手法を確立することを検討した。続いて、ホスホロアミダイト法を用いて同官能基を備えた核酸塩基を DNA 鎖内に導入することを試みた。以下の核酸塩基および DNA 鎖の合成を検討した。①ラマンタグを備えた核酸塩基を鎖中



②プロトン化が関与する DNA 高次構造形成鎖のシトシン塩基 この他に、関連する DNA オリゴマーの塩基部に必要に応じてラマンタグを導入することとした。まずは、合成を行い、合成が完了した核酸塩基および DNA オリゴマーについてラマンスペクトルを計測し、プロトン化を追跡可能か調べた。

2 シグナル増強官能基の開発：

ラマン散乱光を計測する際に、シグナル受信を妨害する現象は化合物の蛍光発光である。ラマン散乱光は微弱であり、蛍光発光が少し生じるだけで、散乱光は観測しづらい。そこで、蛍光の消光色素にラマンタグを導入した機能性官能基を設計・合成することを計画した。特に、可視光領域に吸収帯をもつ消光色素は、前期共鳴ラマン散乱を誘起するた



め、強いシグナル発信を実現可能である事実に基づき、DABCYL 基を導入したラマンタグを開発することとした。

3. 研究の成果

2024 年度は研究計画に基づき、以下の 2 つのテーマを進め、それぞれ成果を得た。

1 ラマンタグ修飾 DNA オリゴマーの合成とラマン計測

本テーマでは、ラマン分光顕微鏡によって明瞭に観察可能なアセチレン基をラマンタグとして備えたシトシン誘導体 (Methoxy phenyl acetylene cytosine; MP^AC) を設計した。 MP^AC の合成は、ヨードシチジン誘導体を出発物質とし、菌頭反応と続く保護基の除去によって進めた。次に、合成した MP^AC からのラマン散乱光を計測し、pH に対するスペクトル変化を調べた。532nm の励起光を用いて MP^AC のラマンスペクトルを測定したところ、 2218 cm^{-1} にアセチレンに由来するシグナルが観測された。次に、酸性条件下 (pH 2.0) で同様に MP^AC のスペクトルを測定したところ、シグナルが 2225 cm^{-1} にシフトした。また、同じ条件で吸収スペクトルを測定したところ、pH 変化に応じてスペクトルが変化した。これらの結果は、 MP^AC のプロトン化をラマンスペクトルで追跡できたことを示している。

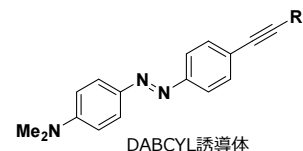
次に、ホスホロアミダイト法を用いて、 MP^AC を DNA オリゴマーに導入した。DNA 鎖の同定は MALDI-TOF MS を用いて行った。得られた DNA オリゴマーについて、ラマンスペクトルを測定したところ、酸性環境下で単量体の場合と同様のシグナルシフトが確認されたことから、 MP^AC を含む DNA でのプロトン化追跡が可能であることが示唆された。そこで次に、三重鎖を形成する DNA オリゴマー (MP^AC -T-CG6) に MP^AC を導入し、三重鎖形成に伴うラマンスペクトルの変化を追跡した (下図参照)。 MP^AC -T-CG6 に三重鎖を形成するヘアピン型 DNA (HP-CG6) を添加し、ラマンスペクトルを測定したところ、pH 7.0 の条件では三重鎖を形成しない結果、シグナルは 2217.6 cm^{-1} に現れた。一方、pH 5.0 の酸性条件にし、ラマンスペクトルを測定したところ、2 本の鎖は三重鎖を形成し、ラマンシグナルが 2220.3 cm^{-1} へと約 3 cm^{-1} シフトした。これらの結果から、 MP^AC を含む DNA はラマンスペクトルを用いることでプロトン化を経由した三重鎖形成を追跡可能であることがわかった。



(a) MP^AC の化学構造 (b) MP^AC を含む DNA 鎖の配列および三重鎖構造 (c) MP^AC 含有 DNA 三重鎖のラマンスペクトル (中性条件：青線、酸性条件：赤線)

2 シグナル増強官能基の開発：

ラマン散乱光の強度は極めて弱く、プローブの高感度化が不可欠であることから、高感度化を目的として、アセチレンを備えた DABCYL 誘導体を設計し、ラマンタグとして活用することを検討した。3 段階の合成過程を経て、アセチレン基を導入した DABCYL 誘導体を合成し、ラマンスペクトルを計測した。532 nm の励起光を用いてラマン散乱光を測定した結果、アセチレン由来の強いシグナルが 2200 cm^{-1} 付近に観察された。このシグナルは、シグナル強度は DABCYL 基を導入していない参照化合物と比較すると、約 4.4 倍増強した。この結果は、DABCYL 誘導体がアセチレン基のラマン信号の高感度化に有効であることを示している。



4. 研究の反省・考察

2024 年度はラマンタグとなる新たな候補化合物が見つかった。しかし、上記 2 に示したシグナルの高感度化については、4 倍程度とあまり大きな感度増強は見られなかったため、改善を進めていく。現時点では、金ナノ粒子等の DNA 鎖への導入によるさらなる高感度化を目指す予定であ

る。チオール基を備えた人工 DNA を合成し、金ナノ粒子表面に DNA 鎖を導入したいと考えている。また、三重鎖におけるプロトン化が検出し得ることが示されたので、次に、i-motif といった四重鎖構造のプロトン化検出を進めていく予定である。

5. 研究発表

(1) 学会誌等

なし

(2) 口頭発表

①ジメトキシフェニルアセチレン基をラマンタグとして備えた人工核酸の合成とpH環境応答性 渡邊 理央・石田 るな・板谷 亮汰・西原 達哉・田邊 一仁 第105日本化学会春季年会 関西大学

②標的依存性i-motifを備えた四面体DNAの開発と応用 黒住結生・西原達哉・田邊一仁 第105日本化学会春季年会 関西大学

(3) 出版物

なし

2024年度（第49回）學術研究振興資金 學術研究報告

学 校 名	北 里 大 学	研究所名等		
研 究 課 題	神経成長因子による疼痛の新規制御機構としてのArf6 小胞輸送 ー小胞輸送経路を標的とした慢性疼痛の治療戦略の 創出に向けてー		研 究 分 野	医 学
キ ー ワ ー ド	①神経成長因子、②慢性疼痛、③末梢感作、④ニューロトロフィン受容体、⑤メンブラントラフィック			

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
阪 上 洋 行	北 里 大 学 ・ 医 学 部	教 授	研究の総括

○研究分担者

[illegible]

神経成長因子による疼痛の新規制御機構としての Arf6 小胞輸送

—小胞輸送経路を標的とした慢性疼痛の治療戦略の創出に向けて—

1. 研究の目的

慢性疼痛の発症機序のひとつとして、組織の炎症や神経の損傷により組織局所から分泌された神経栄養因子(NGF)などの様々な液性因子が感覚神経終末に作用し、痛覚の感受性の持続的な亢進が考えられているが、その詳細な分子機構は不明である。また、抗 NGF 抗体を用いた難治性疼痛に対する臨床治験は一定の緩和効果を示したが、副作用のため治療薬として未だ認可されておらず、NGF 疼痛シグナルの制御機構のさらなる解明が求められる。申請者らは、神経内分泌細胞株 PC12 細胞の NGF 依存的な突起形成における低分子量 G タンパク質 Arf6 経路の機能解析の過程で、Arf6 とその活性化因子 EFA6A が NGF 受容体 TrkA の小胞輸送を介して NGF 応答性を調節する新たな制御経路であることを見出しつつある。本研究は自己所見を発展させて、『一次感覚ニューロンにおいて、EFA6A-Arf6 経路が、TrkA の小胞輸送を介した NGF 疼痛シグナルの新たな制御経路である可能性』を個体レベルで検証することを目的とする。本研究により、NGF 疼痛シグナルの新たな分子機構と慢性疼痛の治療法的としての小胞輸送経路の可能性が明らかになることが期待される。

2. 研究の計画

- (1) PC12 細胞における EFA6A-Arf6 小胞輸送の NGF シグナルにおける機能解析
PC12 細胞において EFA6A-Arf6 経路が NGF 依存的な突起形成に関与する結果を既に明らかにしている。その分子機序を明らかにするために、PC12 細胞を用いて、NGF 刺激に伴う TrkA の細胞内小胞輸送における EFA6A-Arf6 の役割に着目して細胞生物学的に検討する。
- (2) 脊髄後角におけるサイトヘジン 2 発現局在に関する免疫組織学的解析
EFA6A と Arf 6 の脊髄神経節感覚ニューロンでの発現局在を明確にするため、特異抗体を用いて免疫組織学的に検討する。
- (3) EFA6A 遺伝子欠損マウスを用いた NGF 依存的な痛覚過敏に関する行動学的解析
全身型 EFA6A 遺伝子欠損マウスを用いて NGF 投与による機械的刺激、熱刺激およびカプサイシンなどの化学的刺激に対する疼痛感受性閾値の変化を検討する。
- (4) EFA6A-Arf6 小胞輸送による NGF 疼痛シグナルの制御機構の解明
NGF 刺激に伴う TrkA 下流シグナル経路の活性化と痛覚関連分子(BDNF, CGRP, substance P, TRPV1, など)の遺伝子発現の調節に関して、EFA6A 遺伝子欠損型と野生型間で比較検討する。さらに一次感覚ニューロンにおいて EFA6A-Arf6 経路が TrkA と TRPV1 の小胞輸送を制御する可能性を検証するために、脊髄神経節ニューロンの初代培養を作製し、NGF 刺激後の TrkA と TRPV1 の細胞膜発現量の変化と細胞内動態を経時的に検討する。

3. 研究の成果

- (1) PC12 細胞における EFA6A-Arf6 小胞輸送の NGF シグナルにおける機能解析
TrkA の細胞外領域を認識する抗体を用いて、PC12 細胞の細胞表面に発現する TrkA を標識し、NGF 刺激後の TrkA の細胞内動態を検討した結果、コントロール細胞では、TrkA は NGF 刺激後すみやかに細胞内にエンドサイトーシスされ、刺激後 30 分後には細胞表面での TrkA の発現量が刺激前の 40%程度に減少する。その後、取り込まれた TrkA は早期エンドソームに移行し、刺激後 3 時間後には刺激前の 75%まで回復する。一方、EFA6A ノックダウン細胞では刺激前と刺激後 30 分での TrkA の細胞表面の発現量には差はないものの、刺激後 3 時間後の TrkA 細胞表面発現量の回復は認められない。さらに NGF 刺激前に TrkA 抗体を細胞表面の TrkA に結合させた後、NGF で刺激し、固定する直前に蛍光標識した二次抗体と反応させることにより、処理過程を通して細胞膜に残っていた TrkA および細胞表面にリサイクリングされた TrkA の発現量の経時的な変化を検討した結果、コントロールでは刺激後 30 分で、刺激前に

存在した細胞膜上の TrkA は、細胞内に取り込まれて約 55%程度に減少し、取り込まれた TrkA の約 50%が 3 時間後に細胞膜へリサイクリングされるのに対して、EFA6A ノックダウン細胞では、刺激前と刺激 30 分後にエンドサイトーシスされる TrkA は、コントロールと同程度であるのに対して、3 時間後に細胞膜へリサイクリングされる TrkA が著明に低下していた。以上の結果から、EFA6A は、NGF 刺激後に細胞内に取り込まれた TrkA の細胞膜へのリサイクリングを制御する可能性が明らかになった。

(2) 脊髄神経節における EFA6A の発現局在に関する免疫組織学的解析

脊髄神経節を用いたウエスタンブロット解析により、脊髄神経節において EFA6A は 2 つのアイソフォームのうち、約 110kDa の Sec7 領域を含む EFA6A の発現が検出される一方、Sec7 領域が欠落する短い EFA6As の発現は認められなかった。次に EFA6A 特異抗体を用いてマウス脊髄神経節の発現を免疫組織化学的に検討した結果、EFA6A は小型から中型の一次感覚ニューロンの一部に発現が検出された。さらに一次感覚ニューロンのサブタイプマーカーとの二重染色により、EFA6A 陽性細胞の約 45%が CGRP 陽性ニューロンに、約 20%が IB4 陽性ニューロンと共存した。また、CGRP 陽性ニューロンの約 40%が、IB4 陽性ニューロンの約 15%が EFA6A 陽性であった。また、EFA6A は一次感覚ニューロンの細胞体のみならず、足底部の皮膚の自由終末においても発現が認められた。また、TrkA 陽性細胞の約 50%が EFA6A 陽性を示した。さらに免疫電子顕微鏡解析により、EFA6A は一次感覚ニューロンの主に細胞膜直下に局在する一方、外套細胞には免疫陽性反応は認められなかった。

(3) EFA6A 遺伝子欠損マウスを用いた NGF 依存的な痛覚過敏に関する行動学的解析

全身型 EFA6A ノックアウトマウスを用いて、足底部に NGF を投与し、機械的刺激に対する疼痛感受性閾値を von Frey 法により検討した。その結果、野生型マウスでは NGF 投与側の足底における機械的刺激に対する疼痛感受性閾値が 4 時間後から低下し、1 週間後も持続的に低下が認められるのに対して、ノックアウトマウスでは 4 時間後に低下が認められるものの野生型と比較して有意に閾値は高く、4 日後には投与前の閾値に戻った。

4. 研究の反省・考察

本研究により、PC12 細胞において EFA6A-Arf6 は NGF 刺激に伴いエンドサイトーシスされた TrkA の細胞表面へのリサイクリングする新たな経路であることを見出した。次に脊髄神経節において免疫組織学的検討の結果、Arf6 の活性化因子である EFA6A は脊髄神経節において TrkA 陽性の一次侵害受容ニューロンの一部に発現することが明らかになった。さらに EFA6A 遺伝子欠損マウスは NGF 依存的な疼痛感受性の低下を示すことを明らかにした。これらの結果から、EFA6A-Arf6 経路は NGF シグナルの新たな制御経路であることが示唆された。

しかしながら、今回用いた EFA6A ノックアウトマウスは、全身型ノックアウトマウスであり、脊髄神経節以外の EFA6A の欠損により NGF 依存的な疼痛感受性の低下を引き起こしている可能性は否定できない。今後、脊髄神経節特異的なノックアウトマウスや脊髄神経節での EFA6A の発現によるレスキュー実験などによる確認が必要である。また、実験計画(3)に関しては、実験に十分なマウス数を得ることができずやや計画が遅れている。しかしながら、EFA6A ノックアウトマウス由来の一次ニューロンの初代培養において、PC12 細胞で観察されて所見と同様に、EFA6A が NGF 刺激に伴う TrkA の細胞膜へのリサイクリングに関与することを明らかにしつつある。今後、残された実験計画を完遂する予定である。

5. 研究発表

(1) 学会誌等

- ① Fukaya M, Ibuchi K, Itakura M, Shiroshima T, Hara Y, Sugawara T, Frédéric Luton, Sakagami H. (2024) EFA6A, an exchange factor for Arf6, regulates NGF-dependent TrkA recycling from early endosomes and neurite outgrowth in PC12 cells, *Traffic* 25: e12936.
- ② Nakashima M, Shiroshima T, Fukaya M, Sugawara T, Sakagami H, Yamazawa K, (2024) C-terminal truncations in IQSEC2: implications for synaptic localization, guanine nucleotide exchange factor activity, and neurological manifestations. *J. Hum. Genet.* 69: 119-123.
- ③ Ratchatasunthorn A, Sakagami H, Kondo H, Hipkaseo W, Chomphoo, S, (2024) Temporal

involvement of phosphatidylinositol 4-phosphate 5-kinase γ in differentiation of Z-bands and myofilament bundles as well as intercalated discs in mouse heart at mid-gestation. *J. Anatomy* 244: 1030-1039.

④ Chomphoo S, Sakagami H, Kondo, H, Hipkaeo, W. (2024) Localization of EFA6A, an exchange factor for Arf6, in Z-lines and sarcoplasmic reticulum membranes in addition to myofilaments in I-domains of skeletal myofibers of peri-natal mice. *Acta Histochem.* 126: 152187.

⑤ Ohtsuka S, Miyai Y, Mima H, Magari M, Chiba Y, Suizu F, Sakagami H, Ueno M, Tokumitsu H, (2024) Transcriptional, biochemical, and immunohistochemical analyses of CaMKK13/2 splice variants that co-localize with CaMKIV in spermatids. *Cell Calcium* 117: 102820.

(2) 口頭発表

① 阪上 洋行「ADPリボシル化因子(Arf6)による小胞輸送を介した神経成長因子シグナルの制御と生体機能」第42回日本生化学会北陸支部大会 2024年6月1日

(3) 出版物

該当なし

2024年度（第49回）學術研究振興資金 學術研究報告

学 校 名	慶 應 義 塾 大 学	研究所名等	
研 究 課 題	CLiP細胞由来の細胞外小胞による新規肝線維化修復治療の開発	研 究 分 野	医 学
キ ー ワ ー ド	①ケミカルダイレクトリプログラミング ②肝線維化 ③細胞外小胞 ④エクソソーム ⑤マイクロRNA ⑥空間トランスクリプトーム ⑦生体イメージング		

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
松 崎 潤 太 郎	慶應義塾大学 薬学部	准 教 授	研究代表者 総括

○研究分担者

[illegible]

CLiP 細胞由来の細胞外小胞による新規肝線維化修復治療の開発

1. 研究の目的

(1) 背景

① 肝線維化治療薬開発の重要性

肥満、飲酒、喫煙など生活習慣に起因する臓器の慢性炎症は、慢性腎臓病、慢性閉塞性肺疾患、脂肪性肝炎・肝硬変、慢性膵炎など、罹患臓器の線維化が特徴として挙げられる。人類は未だこの臓器の線維化を制御する効果的な手段を有しておらず、この解決は医療に飛躍的な進歩をもたらすものと期待できる。

② 低分子化合物誘導性肝前駆細胞 (Chemically-induced Liver Progenitors: CLiPs)

我々の研究グループでは、低分子化合物 (A-83-01, CHIR99021) を用いたケミカルダイレクトリプログラミングによって、成熟肝細胞から肝前駆細胞 (CLiPs) へ誘導しうることを見出した (Cell Stem Cell 20:41, 2017)。CLiPs は自己複製能および肝細胞と胆管細胞のいずれの細胞にも分化しうる多分化能を有する。さらにヒト成熟肝細胞より樹立した human CLiPs (hCLiPs) を、急性肝障害モデルマウス (TK-NOG マウス) に経脾的肝移植すると、肝障害によって脱落したマウス肝細胞が hCLiPs より分化したヒト肝細胞に効率よく置換され、マウス血清より高濃度のヒトアルブミンを検出することができた (eLife 8:4, 2019)。

③ human CLiPs (hCLiPs) による肝線維化抑制効果

hCLiPs の肝線維化改善効果の有無を調べるため、四塩化炭素 (CCl₄) の少量長期投与による肝線維化モデルマウスに移植したところ、hCLiPs の肝内生着はほとんど起こらないにも関わらず肝線維化改善効果がみられることを見出した。

(2) 細胞外小胞 (extracellular vesicle; EV) 治療の創出

① EV 治療の潮流

全身のあらゆる細胞は、エクソソームなど細胞外小胞 (extracellular vesicle; EV) と呼ばれる脂質二重膜構造の小胞を分泌している。これには蛋白質や miRNA などが内包されており、細胞間情報伝達の役割を担う機能性微粒子である。新潟大学の寺井崇二教授らの研究グループでは肝硬変を対象とした他家脂肪組織由来幹細胞製剤 ADR-001 の治験を進めており、研究分担者の落谷孝広も分担した共同研究で、脂肪由来間葉系幹細胞が分泌する EV が肝硬変改善活性の本態であることを実証した (NPJ Regen Med 6:19, 2021)。EV 治療は、細胞移植治療と異なり、免疫抑制下でなくとも投与可能と想定される点や、ドナー不足の問題が少ない点など多くの利点を有していると考えられ、新たな創薬モダリティとして世界的に研究開発が加速している。

② 3年以内に何をどこまで明らかにしようとするのか

ア. hCLiP-EV 投与によって肝線維化が改善することを in vivo で実証する。

イ. 肝内の線維芽細胞である肝星細胞に対して、hCLiP の共培養および hCLiP-EV の曝露が及ぼす影響を解明する。

ウ. hCLiP-EV の内包物の分析から、EV が標的細胞へ与える影響を説明しうる分子群を同定し、いかにして肝線維化改善に寄与するのか、そのメカニズムを解明する。

エ. 空間トランスクリプトーム解析を用いて、hCLiP-EV が影響を及ぼす細胞を in vivo で同定する。

オ. hCLiP および EV の品質を簡便に評価するためのレポーターシステムを構築する。

本研究を通じて、非臨床試験への移行に必要な Proof of Concept を取得し、社会実装を目指す。

2. 研究の計画

in vivoでのEVの薬理試験の成功に伴い、その肝組織を活用することでhCLiP-EVの生理活性を解き明かすことができると考えた。具体的には、1細胞レベルでの高解像度空間トランスクリプトーム解析を実施する。肝組織中の各細胞種における遺伝子発現を、hCLiP-EV投与群と非投与群間で比較することにより、hCLiP-EVが肝組織全体へ与える影響を統合解析する。hCLiP-EVによる肝線維化メカニズムを説明する特徴的な遺伝子群を同定した後、その遺伝子のノックアウトマウス等を用いて因果関係を証明する。

またPMDAとの事前面談を経て、EV治療の実用化に向けた課題として、hCLiPの維持培養過程における継続的な品質評価、およびhCLiP-EV製造後の保存期間を定義するための、経時的な品質評価を如何に実施するか、安定したin vitroでの評価系の構築が必要と考えられた。そこで α SMAの発現量依存的に蛍光が変化する肝星細胞株を樹立し、hCLiPとの共培養やhCLiP-EV曝露下での α SMA発現を、蛍光強度から随時定量できるアッセイ系を構築する。

3. 研究の成果

高脂肪コリン欠乏メチオニン減量飼料(CDAHFD)を用いた代謝異常関連脂肪肝炎(MASH)モデルマウス、および胆汁うっ滞性肝線維症モデルマウスであるMdr2欠損マウス、CDAHFDとは別のMASHモデルである高脂肪高コレステロール食(GAN-diet)を摂餌したモデルマウスにhCLiP-EVを経静脈投与したところ、再現性をもって用量依存的な肝線維化改善効果が認められた。

CDAHFDマウスの実験で得られた肝臓組織を用いて空間トランスクリプトーム解析(Visium解析)を実施した。肝星細胞クラスターにおける α SMAの低下に加えて、肝臓内の広い範囲でのCol1a1の発現低下やマクロファージのマーカー遺伝子であるCd68の発現低下が見られており、線維化や炎症細胞浸潤の低下に矛盾しない結果が得られており、hCLiP-EVの作用機序を深掘りするための基盤データが得られた。

EV中に含まれる機能的RNAとして最もよく知られているものはmicroRNA(miRNA)であるが、不死化前と不死化後でhCLiP-EVに内包されるRNAが概ね一致していた。hCLiP-EVよりtotal RNAを抽出し、トランスフェクション試薬を用いてそのtotal RNAを肝星細胞内に導入すると、やはり α SMA遺伝子の低下作用を再現できた。すなわち、hCLiP-EVの肝線維化抑制作用の有効成分はhCLiP-EVに内包されるRNAであると言える。

hCLiP-EVの構成分子のうち、他の細胞由来のEVとは決定的に異なる分子として、miR-122-5pが挙げられる。miR-122-5pは肝細胞特異的なmiRNAであり、肝臓において抗炎症・抗腫瘍効果を持つ重要なmiRNAである(Nat Commun 9:5321, 2018; J Clin Invest 122:2871, 2012)。肝線維化の進行に伴って、肝内ではmiR-122-5p発現が低下することや、肝星細胞においてmiR-122-5pの発現を上昇させると線維化マーカー遺伝子発現が低下することも知られている(J Hepatol 58:522, 2013)。実際、肝星細胞にmiR-122-5p inhibitorを導入しておく、hCLiP-EV曝露でみられる活性化抑制効果が減弱した。同様に、肝線維化抑制作用が知られているmiR-29a-3pもhCLiP-EVに含まれており、肝星細胞の実験系においてCOL1A1の低下を説明するmiRNAであることを、miR-29a-3p inhibitorを用いて明らかにした。よってhCLiP-EVの機能活性中心としてmiRNAが重要であり、特にmiR-122-5pやmiR-20a-3pが重要な役割を果たしていると考えられた。

4. 研究の反省・考察

現在、EVの生理活性に注目して治療薬としての臨床応用を目指す取り組みが世界的に活性化しており、本邦では2023年1月に医薬品医療機器総合機構(PMDA)で「エクソソームを含む細胞外小胞(EV)を利用した治療用製剤に関する報告書」が公表され、2024年4月に日本再生医療学会(協力:日本細胞外小胞学会)より「細胞外小胞等の臨床応用に関するガイドス(第1版)」が公開されるなど、実用化への枠組みの策定が進んでいる。

本研究はこの潮流において本邦のパイオニア的研究の一つであり、2026年度からはAMEDより再生・細胞医療・遺伝子治療実現加速化プログラム(非臨床PoC取得研究課題)の支援の下で実用化に向けた継続が決定している。当該プログラム採択に至る基板データを得ることができたという点で、極めて有意義な研究であったといえる。

一方、空間トランスクリプトーム解析の結果から、hCLiP-EVの線維化抑制効果は、肝星

細胞への効果のみならず、肝マクロファージ（クッパー細胞）にも発現変化を与えていることが明らかになった。現在、その分子機構解明のためのin vitroアッセイ系の構築も進めている。

5. 研究発表

(1) 学会誌等

- ①Tan Y, **Matsuzaki J**, Saito Y, Suzuki H. Environmental factors in gastric carcinogenesis and preventive intervention strategies. *Genes Environ* 47:5 (2025)
- ②Uehara T, **Matsuzaki J**, Yoshida H, Ogawa Y, Miura J, Fujimiya H, Yamamoto Y, Kawauchi J, Takizawa S, Yonemori K, Sakamoto H, Kato K, Ishikawa M, **Ochiya T**. Potential utility of pretreatment serum miRNAs for optimal treatment selection in advanced high-grade serous ovarian cancer. *Jpn J Clin Oncol* 54:917-925 (2024)
- ③Suzuki K, Yokoi A, **Matsuzaki J**, Yoshida K, Yamamoto Y, Kato T, Ishikawa M, **Ochiya T**, Kajiyama H. Circulating serum miRNAs predict response to platinum chemotherapy in high-grade serous ovarian cancer. *Cancer Med* 13:e70251 (2024)
- ④Tsugawa H, Tsubaki S, Nashimoto S, Tanaka R, **Matsuzaki J**, Hozumi K. Macrophage-depleted young mice are beneficial in vivo models to assess the translocation of Klebsiella pneumonia from the gastrointestinal tract to the liver in the elderly. *Microbes Infect* 105371 (2024)
- ⑤Ando H, Mori H, Takabayashi K, Matsuura N, Masaoka T, **Matsuzaki J**, Saito Y, Kato M, Kosaki K, Kanai T. Upper gastrointestinal triple stenosis in a patient with trisomy 17p syndrome: case report and literature review. *DEN Open* 5:e70043 (2024)

(2) 口頭発表

- ①**Matsuzaki J**, Frontiers of Next-Generation Cancer Testing Technology Using microRNAs. Symposium “Current Status and New Stage in Cancer Liquid Biopsy” 第83回日本癌学会学術総会. 福岡. 2024年9月
- ②**Matsuzaki J**, Checklist for blood sample collection when developing clinical application of blood EV biomarkers. ISEV Workshop:Blood EVs. ソウル. 2024年9月
- ③Yamaguchi T, **Matsuzaki J**, Katsuda T, Tokuda N, Tan Y, Kimura M, **Ochiya T**, Saito Y. Small extracellular vesicles derived from human chemically induced liver progenitors (hCLiPs) improve liver fibrosis via inactivation of hepatic stellate cells. International Society for Extracellular Vesicles (ISEV) 2024. Melbourne, Australia. 2024年5月

(3) 出版物

なし

学 校 名	東 京 慈 恵 会 医 科 大 学	研究所名等	
研 究 課 題	多次元分析から観た病態へ至る副甲状腺細胞の立ち居振る舞いー遺伝子発現プロファイルと細胞系譜解析による細胞変化の検討ー		研 究 分 野 医 学
キ ー ワ ー ド	①副甲状腺、②内分泌、③マウス、④遺伝子発現、⑤組織構築、⑥細胞分化、⑦細胞系譜		

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
岡 部 正 隆	東京慈恵会医科大学 医学部	教 授	研究代表者 統括

○研究分担者

[illegible]

多次元分析から観た病態へ至る副甲状腺細胞の立ち居振る舞い — 遺伝子発現プロファイルと細胞系譜解析による細胞変化の検討 —

1. 研究の目的

本研究計画では、慢性腎不全モデルマウス（CKD マウス）を用いて、二次性副甲状腺機能亢進症（SHPT）が発症する過程において、副甲状腺細胞がどのように変遷していくのかを検討するものである。これにより、SHPT の発症過程における副甲状腺細胞の時間的および空間的な変化を明らかにするとともに、その成果を医学と生物学の両分野に貢献させることを本研究計画の目的とする。

2. 研究の計画

SHPTに至る過程でどのように副甲状腺細胞が変遷していくのかを検討する以下の研究計画を行う。

①SHPT 副甲状腺の各種構成細胞の分布解析

昨年度実施したCKDマウスのSHPT副甲状腺single cell (sc)RNA-seqデータと、既に実施済みの正常副甲状腺scRNA-seqデータとの詳細な比較解析を行う。これにより、CKDによるSHPT発症過程における副甲状腺細胞の変遷を明らかにする。また、正常副甲状腺とSHPT副甲状腺細胞間で変化の大きい遺伝子に着目し、その遺伝子の発現分布を組織化学的に解析することで、各構成細胞の分布・配置を明らかにする。さらに、Trajectory解析によって時系列的な変化も解析し、細胞がどのような位置で、形態的・機能的な変化を生じながら変遷していくのかを解明する。

②カルシウム受容体作動薬投与によるSHPT副甲状腺細胞種の変化解析

カルシウム感受性受容体（CaSR）は血中カルシウム濃度をモニタリングし、低カルシウム状態を感知すると副甲状腺の増殖やPTH分泌を促進する。CKDでは低カルシウム血症が生じやすく、それに伴い副甲状腺の異常増殖およびPTH分泌が亢進し、SHPTが引き起こされる。これに対して、CaSR作動薬はCaSRに結合し、血中カルシウム濃度の上昇を模倣する細胞内シグナルを活性化することで、副甲状腺の増殖やPTHの産生・分泌を抑制する。

しかし、CKD患者へのCaSR作動薬治療においては、薬剤に対する抵抗性を示す細胞が出現し、PTHの過剰分泌が制御不能となり、三次性副甲状腺機能亢進症（THPT）に移行することがある。このような抵抗性獲得のメカニズム解明のため、CKDマウスモデルにCaSR作動薬を投与し、副甲状腺を対象としたscRNA-seq解析を実施する。これにより、PTH分泌が持続するCaSR作動薬抵抗性細胞の特定を試み、その分子特性やシグナル伝達経路を明らかにすることで、将来的な治療標的としての可能性を検討する。

③SHPT の発症過程を解明

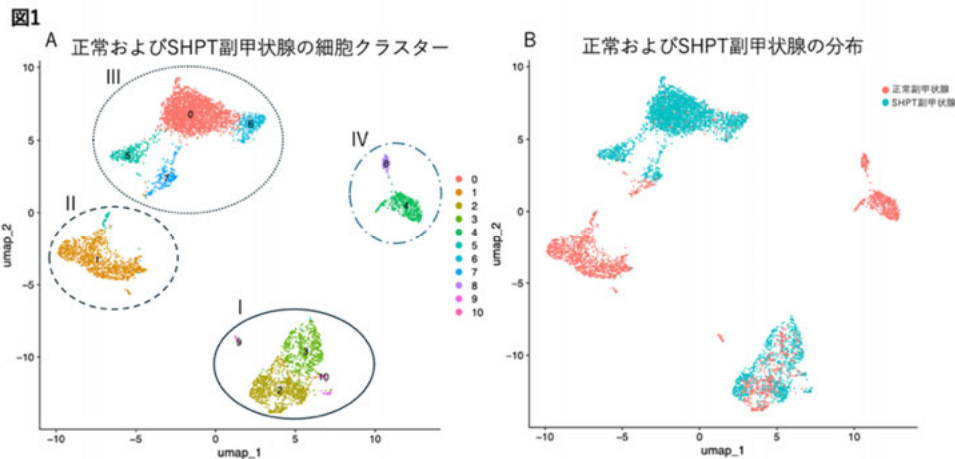
これまでの全ての解析結果を踏まえ、正常な副甲状腺がSHPTに至る過程で各構成細胞がどのような変化を示すかを包括的にまとめる。正常な副甲状腺構成細胞の細胞系譜と分布を含め、これまでにない副甲状腺の詳細な高次機能形態アトラスを完成させる。

3. 研究の成果

(1) SHPT 副甲状腺の各種構成細胞の分布解析

正常副甲状腺およびSHPT副甲状腺のscRNA-seq解析で、副甲状腺細胞のみを抽出しクラスター解析を行った結果、4つの大きな細胞群（クラスターⅠ～Ⅳ）に大別され、10のサブクラスターに分類された（図1A）。正常副甲状腺細胞とSHPT副甲状腺細胞の分布には明らかな相違が認められた（図1B）。これまでの我々の正常副甲状腺のscRNA-seqの解析から、主に3つのクラスターが同定されており、それぞれ遺伝子発現プロファイルから主細胞（クラスターⅠ）、酸好性細胞（クラスターⅣ）、および、高活性型主細胞（クラスターⅡ：我々が「第三の細胞群」と命名）がある。SHPT副甲状腺ではクラスターⅡおよびⅣがほとんど認められず、正常とは異なる

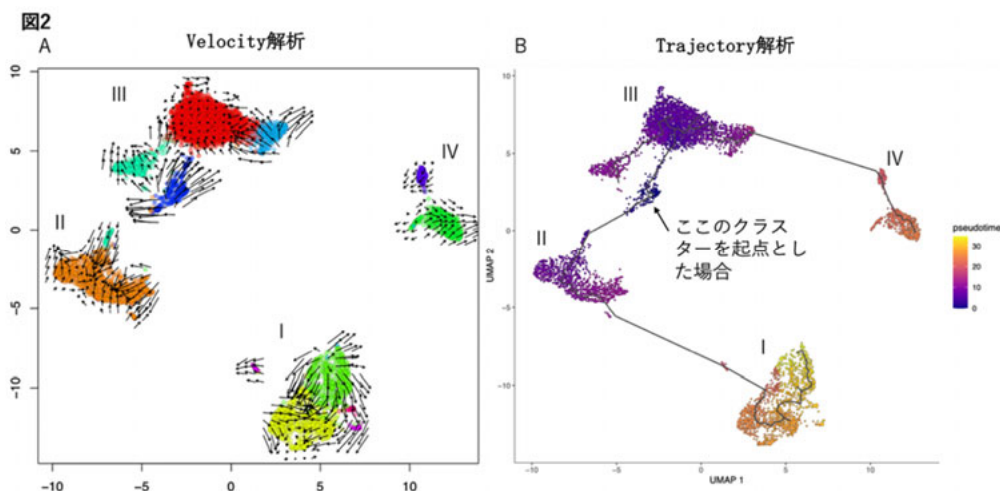
新たなクラスター（クラスターⅢ）が顕著に形成されていることが明らかになった（図1A, B）。このクラスターⅢは主にSHPT由来の細胞で構成されており、副甲状腺過形成に関与する可能性が示唆された。さらに、クラスターⅢはPTH遺伝子の発現が最も高く、細胞活性も著しく亢進しており、過形成の中心的役割を担う細胞群であることが示唆された。



このクラスターⅢの性質を明らかにするため、各クラスター間の分化関係を解析すべく、細胞の発展方向と速度を予測する Velocity 解析および細胞の遷移パターンを明らかにする Trajectory 解析を実施した（図2A, B）。

その結果、主細胞に相当するクラスターⅠはサブクラスター3から2へと分化していく様子が観察され、正常副甲状腺とSHPT副甲状腺細胞間で大きな違いは認められなかった（図2A-Ⅰ）。酸好性細胞に相当するクラスターⅣでは2方向に分化矢印が確認され、異なる分化段階の細胞群が存在する可能性が示された。クラスターⅡ（第三の細胞群）は、クラスターⅢ内のサブクラスター7から分化していることが推測され、クラスターⅡはクラスターⅠとは独立した**新規の副甲状腺細胞群**である可能性が高いと考えられた（図2A-Ⅲ）。さらに、SHPT副甲状腺特異的に観察されたクラスターⅢは、サブクラスター7や6からサブクラスター0の方向へと分化する経路が示唆されたが、サブクラスター0の矢印は短く、分化が進行していないことから、クラスターⅢの細胞はクラスター0へと分化する**SHPT特異的な細胞**であると考えられた。これらの細胞は**Identified SHPT Hyperplastic Cell: iSHyC**と名付けた。Trajectory解析の結果では、各クラスターの変遷パターン予測を行い、クラスターⅡ、Ⅲが比較的類似しており、そこからクラスターⅠやⅣへと変遷する可能性を示唆した。

以上の結果から、SHPT副甲状腺においては、正常副甲状腺に存在する高活性主細胞（クラスターⅡ）や酸好性細胞（クラスターⅣ）が消失し、変わって細胞活性が著しく亢進したSHPT特異的な異常細胞群（iSHyC, クラスターⅢ）が出現することが明らかとなった。



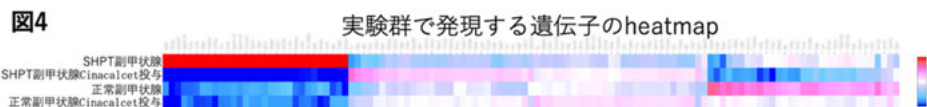
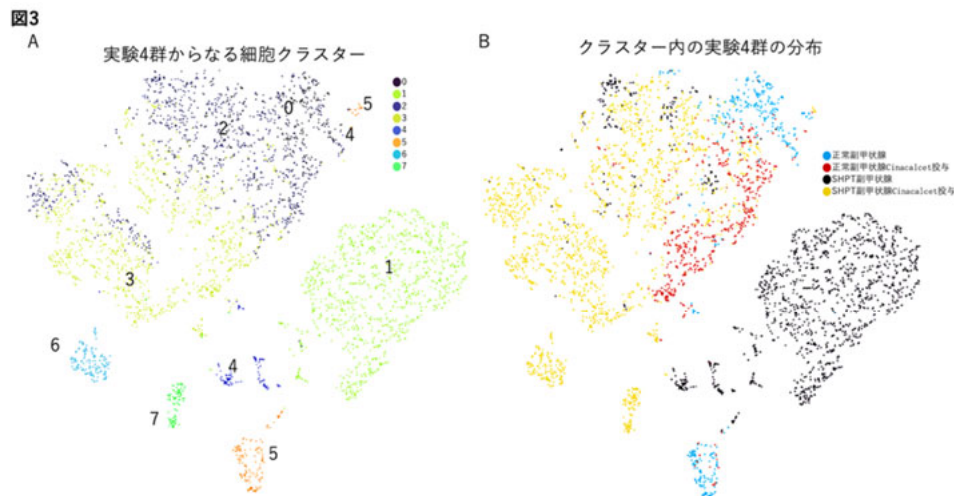
(2) カルシウム受容体作動薬投与によるSHPT副甲状腺細胞種の変化解析

SHPTの治療薬として使用されるカルシウム受容体作動薬 Cinacalcet をCKDモデルマウスに投与し、その細胞構成の変化をscRNA-seqにより検証した。本解析では、以下の4群（①正常マウ

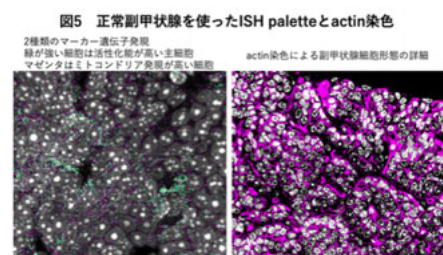
ス、②正常マウス+Cinacalcet 投与、③CKD マウス、④CKD マウス+Cinacalcet 投与) を対象とし、すべての群を同時に解析する必要があることから、従来の scRNA-seq 法ではなく、単離核由来の mRNA を解析する Gem-X 法を用いた。各群には約 15 匹のマウスを使用し、CKD モデルはアデニン食を 2 か月間投与して SHPT を誘導した。Cinacalcet (30 mg/kg) はサンプリング 2 時間前に投与し、副甲状腺を摘出して解析を行った (図 3)。その結果、得られた細胞は 7 つのクラスターに分類された (図 3A, B)。正常副甲状腺では、クラスター 0 および 2 が主細胞、クラスター 5 が酸好性細胞に相当すると考えられた。SHPT 副甲状腺では、ほとんどの細胞が独立したクラスター 1 を形成しており、一部が主細胞クラスター (0 および 2) にも存在していた。クラスター 1 は先に定義した SHPT 特異的細胞群 iSHyC に対応すると考えられる。

Cinacalcet を投与した正常マウスでは、主細胞がクラスター 0 および 2 に加えてクラスター 3 にも分布し、酸好性細胞 (クラスター 5) は減少していた。SHPT 副甲状腺 Cinacalcet 投与群では、クラスター 1 に相当する iSHyC が消失し、主細胞であるクラスター 0 および 2 に細胞が再分布していた。また、この群ではクラスター 3 の細胞数が増加し、新たに独立したクラスター 6 および 7 にも細胞が分布していたことが確認された (図 3A, B)。

これらの結果から、カルシウム受容体作動薬は、SHPT に特異的な過形成関連細胞 (iSHyC) を効果的に減少させることが明らかとなった。一方で、正常な主細胞に隣接するクラスター 3 や、Cinacalcet 投与後の SHPT 副甲状腺で特異的に出現したクラスター 6 および 7 の細胞群が確認され、これらは Cinacalcet の投与によって新たに生じた細胞群である可能性に加え、SHPT により変化した細胞が本来の主細胞や酸好性細胞へと戻れなくなった状態を示している可能性も考えられた。さらに、Cinacalcet を投与した正常副甲状腺においても、遺伝子発現パターンに変化が見られ、薬剤が正常組織にも影響を及ぼす可能性が示唆された。遺伝子発現の変化を heatmap で解析した結果、SHPT 副甲状腺で高発現していた遺伝子群 (赤色) は Cinacalcet 投与により著明に減少し、治療効果の高さが示された (図 4)。しかし、正常副甲状腺の発現パターンと完全には一致せず、一部の細胞は Cinacalcet に対する薬剤抵抗性を示している可能性も示唆された。これらの結果から、カルシウム受容体作動薬 Cinacalcet は、異常に活性化した SHPT 特異的細胞群 (iSHyC) を速やかに減少させる一方で、薬剤投与後の副甲状腺には正常とは異なる新たな細胞群が出現しうることが明らかとなった。

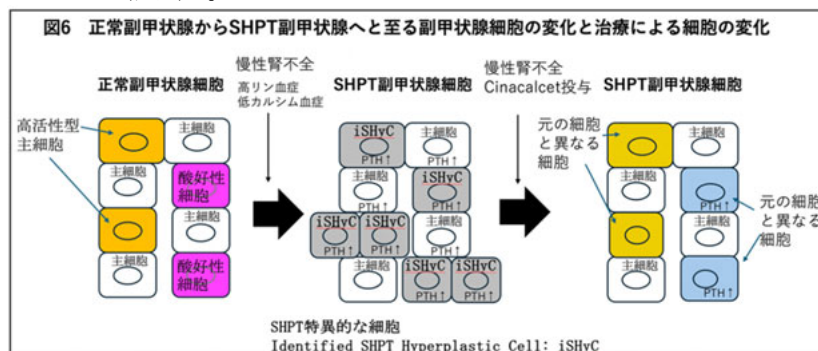


変化が顕著であった遺伝子Xおよびミトコンドリア関連遺伝子について、ISH paletteを用いて遺伝子発現の局在を観察した。その結果、正常副甲状腺においてこれらの遺伝子の発現が確認され、遺伝子Xおよびミトコンドリア遺伝子の発現が高い細胞が存在することが明らかとなった。さらに、副甲状腺細胞の組織形態を詳細に評価するため、actin染色を行ったところ、本染色法が形態観察に有用であることが確認された。



(3) SHPTの発症過程を解明

上述の2つの結果から、SHPTの発症には、CKDが副甲状腺細胞の性質（分化）を大きく変化させることが主たる要因であることが明らかとなった。今回の解析では、副甲状腺における幹細胞の同定には至らなかったものの、CKDによる高リン血症や低カルシウム血症が副甲状腺細胞を刺激し、主細胞以外の細胞の性質が変化することで、SHPTに特異的な細胞群（iSHyC）が形成される可能性が示唆された。iSHyCはミトコンドリア遺伝子の発現が高く、HE染色においても酸好性を示すことが予想されることから、SHPTで観察される酸好性細胞の過形成結節を構成する主要な細胞であると考えられる。一方で、iSHyCはカルシウム受容体作動薬Cinacalcetの投与により減少するため、不可逆的な細胞ではない可能性も示唆された。ただし、Cinacalcet投与後にiSHyCが元の酸好性細胞や高活性型主細胞に完全に戻るのではなく、別の細胞状態に移行している可能性も考慮する必要がある。また、CKDがiSHyCの形成を引き起こす主因であると考えられるが、その誘導には低カルシウム血症だけでなく、高リン血症やその他の病態要因も関与していることが示唆された（図5）。



4. 研究の反省・考察

本研究は2年計画で立案され、初年度はCKD副甲状腺におけるsingle-cell transcriptome解析と組織解析手法の開発に重点を置き、2年目にはそれを発展させるかたちでSHPTの発症機序や治療薬の影響に関する解析を実施し、一定の成果を得ることができた。

反省点としては、解析により同定されたマーカー遺伝子を用いて、副甲状腺構成細胞を組織上で可視化・分類することを予定していたが、カルシウム受容体作動薬の投与実験に多くのマウスを使用したため、組織解析用のSHPT副甲状腺試料が十分に確保できなかった。また、SHPTへと変化する機構の詳細な検討のために、副甲状腺由来培養細胞PT-rを用いた解析も予定していたが、最適な培養条件の確立には至らなかった。

今後はこれらの反省点を踏まえて解析を継続し、得られた成果をもとに論文作成や学会発表へとつなげていきたいと考えている。

本研究は、解析準備や技術確立に多くの時間を要したものの、計画した内容を遂行し、重要な知見を得ることができたと判断している。今年度の成果は非常に意義深いため、あえて学会発表を控えてきたが、今後は速やかに成果を発信し、社会への還元を図っていく予定である。

5. 研究発表

(1) 学会誌等

- ①なし
- ②

(2) 口頭発表

- ①なし
- ②

(3) 出版物

- ①なし
- ②

学 校 名	順 天 堂 大 学	研究所名等	
研 究 課 題	UFM1システムが駆動する小胞体ホメオスターシス:その破綻と遺伝性脳症 ーUFM1システムの包括的研究ー		研 究 分 野 医 学
キ ー ワ ー ド	① UFM1 ② 小胞体翻訳品質管理 ③ 遺伝性小児脳症 ④ ユビキチン様修飾システム ⑤ AlphaFold 3		

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
小 松 雅 明	順 天 堂 大 学 大 学 院 医 学 系 研 究 科	主 任 教 授	研究統括、分子細胞生物学の解析、マウス遺伝学の解析

○研究分担者

[illegible]

UFM1 システムが駆動する小胞体ホメオスターシス：その破綻と遺伝性脳症

—UFM1 システムの包括的研究—

1. 研究の目的

我々は、学術研究振興資金の支援のもと、UFM1 システムによる ER-phagy (Ishimura et al., Nat Commun 2022) および ER-RQC (Ishimura et al., Sci Adv 2023) の制御機構の一端を解明してきた (Komatsu et al., Mol Cell Review)。しかし、小胞体上で UFM1 システムが多様な細胞機能をどのように制御するかは依然として不明であり、同システムの異常が関与する遺伝性小児脳症の発症機構についてはまったく未解明である。

本研究では次の 3 点を目的とする。

1. 構造レベルの機序解明 - AlphaFold3 (AF3) による構造予測とクライオ電子顕微鏡解析を組み合わせ、UFM1 化・脱 UFM1 化の作動原理と小胞体における UFM1 システムの役割を明らかにする。
2. 個体レベルでの生理機能解析 - 作製中または作製済みの遺伝子改変マウスを駆使し、UFM1 システムが生体で担う生理機能を解明する。
3. 疾患モデルでの機能検証 - 遺伝性脳症患者 iPS 細胞から分化させた神経細胞を用い、UFM1 システム遺伝子変異が小胞体機能に及ぼす影響を検証する。

本研究は基礎医学にとどまらず、臨床遺伝学や神経学など臨床医学分野にも波及効果をもたらすことが期待される。

2. 研究の計画

1. 分子機構の解明
 - ・ UFSP2-ODR4 脱修飾複合体および UFM1 E3 複合体-脱修飾複合体の相互作用に基づく RPL26 の UFM1 化/脱 UFM1 化メカニズムを、構造予測と生化学解析から解明する。
2. 個体モデルの解析
 - ・ 増産が完了した条件付き *Ufsp2* ノックアウトマウスの表現型を詳細に解析し、UFM1 システムの組織・個体レベルでの機能を明らかにする。
3. 疾患関連変異の機能検証
 - ・ 新たに同定した UFM1 E2 酵素 (*UFC1*) 遺伝子変異 (小児脳症患者由来) の機能を解析するとともに、患者皮膚由来 iPS 細胞を神経系へ分化させ、ER-RQC への影響を評価する。

3. 研究の成果

AlphaFold 3 (AF3) による構造予測解析から、脱 UFM1 化酵素 UFSP2 は小胞体 (ER) 膜タンパク質 ODR4 と結合することで ER 膜に局在することを明らかにした。UFSP2-ODR4 結合を阻害すると、リボソームタンパク質 RPL26 の脱 UFM1 化と ER リボソーム品質管理 (ER-RQC) がいずれも抑制された。両タンパク質は高親和性の安定複合体を形成するものの、この複合体だけでは反応制御を十分に説明できないことから、さらなる調節因子の存在が示唆された。

追加の AF3 解析により、UFSP2-ODR4 複合体が UFM1 E3 リガーゼ複合体 (UFL1-UFBP1-CDK5RAP3) と集合して巨大な超複合体を形成することが判明した。この二つの複合体間の結合を阻害すると、RPL26 の脱 UFM1 化が著しく低下した。

Cre リコンビナーゼ依存的に神経系で野生型 UFSP2 を触媒活性欠損型へ置換するマウスを樹立したところ、UFM1 や E3 酵素 (UFL1、UFBP1) の神経特異的欠損マウスと同様に小頭症を呈し、生後 1 日以内に致死となった。組織学的解析では脳全域で神経細胞死の亢進が確認された。

さらに、小児遺伝性脳症患者で同定した UFM1 E2 酵素 UFC1 変異体を HEK293T 細胞で解析したところ、E1 酵素 UBA5 との結合は低下し、E3 リガーゼ UFL1 との結合は逆に増強していた。患

者由来線維芽細胞から作製した iPS 細胞を神経系へ分化させると、対照細胞に比べ RPL26 の UFM1 化体が顕著に蓄積した。この蓄積は、患者型 UFC1 変異体を発現させた *UFC1* ノックアウト HEK293T 細胞でも再現された。

4. 研究の反省・考察

RPL26 が UFM1 化酵素複合体と結合したのち、同部位に脱 UFM1 化酵素複合体がリクルートされることで、RPL26 の UFM1 が迅速に除去され、ER-RQC が終結段階へ移行することが示唆された。脳で可逆的 UFM1 化が阻害されると、UFM1 化自体に障害がある場合と同様に神経細胞死と小頭症が誘発されることを明らかにした。さらに、RPL26 の高度な UFM1 化を蓄積するヒト遺伝性脳症患者も同定した。

以上より、小胞体における翻訳品質管理には可逆的 UFM1 化修飾が不可欠であり、その破綻、つまり UFM1 化 RPL26 の蓄積でも脳症の発症機構に直結することが明らかとなった。

これらをまとめ現在論文を作成中である。また、Nature Review Molecular Biology 誌より UFM1 に関わる包括的総説依頼があり、現在リバイス中である。

5. 研究発表

(1) 学会誌等
なし

(2) 口頭発表
なし

(3) 出版物

① 野田展生、小松雅明 AlphaFold Multimerを用いたユビキチン様タンパク質の複合体構造予測と機能の解明 実験医学 2025年 9月増刊号 印刷中

2024年度（第49回）学術研究振興資金 学術研究報告

学 校 名	昭 和 女 子 大 学	研究所名等	
研 究 課 題	モンゴルのシルクロード遺跡に関する学際的研究 ードグシヒーン・バルガスを中心にー	研 究 分 野	文 学
キ ー ワ ー ド	①シルクロード ②ドグシヒーン・バルガス遺跡 ③学際的研究 ④モンゴル ⑤文化遺産 ⑥復元 ⑦保護 ⑧アーカイブ		

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
ボルジギン・フスレ	昭和女子大学国際学部	教 授	研究代表者・総括

○研究分担者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
二 木 博 史	東 京 外 国 語 大 学	名 誉 教 授	歴史学的研究・評価
松 川 節	大 社 谷 会 大 学 学 部	教 授	文献的研究・評価
友 田 博 通	昭 和 女 子 大 学 国 際 文 化 研 究 所	元特任教授	データ分析、メタバース化
U. エルデネバト	モ ン ゴ ル 国 立 大 学 社 会 学 部	教 授	発掘調査
J. オランゴア	モ ン ゴ ル 国 立 大 学 社 会 学 部	教 授	アーカイブ構築
Ch. アマルビレグ	モ ン ゴ ル 国 立 大 学 社 会 学 部	非常勤講師	実践、データ分析
黒 龍	大 連 民 族 大 学 民 族 史 研 究 所	教 授	歴史学的研究・データ整理
烏 敦	内 モ ン ゴ ル 師 範 大 学 地 理 科 学 学 院	教 授	歴史学的研究
E. ビルグーン	モンゴル国チンギス・ハーン 文 化 遺 産 研 究 所	研 究 員	実践、データ分析

モンゴルのシルクロード遺跡に関する学際的研究 ー ドグシヒーン・バルガスを中心にー

1. 研究の目的

本研究は、日本の研究者を中心に、多国、多分野にわたる豊かな経験を有する専門家の協力の下に、歴史資料の収集と分析、現地での遺構の発掘調査の成果及び地理情報システム (GIS) と衛星リモートセンシングにより得られたビッグデータを基礎に、多様な要素によって構成されたモンゴル国ウムヌゴビ県ドグシヒーン・バルガス遺跡の歴史的・社会的・文化的空間および現代史的表象を、歴史、考古、文化遺産の研究者が学融合的研究を行って解明し、再構築しようとするものである。主に、同遺跡を対象に現地調査を行い、その全貌を明らかにする。その上で、モンゴル帝国の遺跡ドグシヒーン・バルガスの文化遺産としての位置づけを試み、その保護と復元に努め、モンゴル国における歴史的文化遺産の研究と持続可能な保護の基盤を創成する。

今回の研究は、歴史学、考古学、文化遺産学の分野に分断されてきた調査・研究を一つの展望の下に生産的に統合することに特別の意義がある。具体的には以下の四つの柱を基本にして行う。

1. モンゴル国ウムヌゴビ県ドグシヒーン・バルガス遺跡を対象に現地調査を行い、同遺構の歴史像を時間軸と空間軸の双方から考察、検討し、その全貌を明らかにする。
2. モンゴル、中国、日本、台湾等の国と地域の諸図書館、文書館に所蔵される歴史的記録等の史料に対する分析の成果と上記遺構の発掘調査の成果及び地理情報システムと衛星リモートセンシングにより得られたビッグデータに基づいて、ドグシヒーン・バルガス遺跡の歴史的・民俗的・文化的景観、その時代ごとの特徴と性格、及び現代史的表象を解き明かす。
3. 「ドグシヒーン・バルガス遺跡アーカイブ」(資料・地図・映像・GIS・3D データ) を構築し、メタバース化する。
4. 同遺跡の保護と復元に向けて、同遺構の歴史学・考古学・文化遺産学等様々な分野の課題を明確にし、その文化遺産学的価値と位置づけを試みる。

2. 研究の計画

プロジェクト前期、すなわち 2024 年には、研究代表者と研究分担者が研究基盤の強化に努める。まず、研究代表者と研究分担者の二木博史、松川節、友田博通はモンゴル、中国の研究分担者と打ち合わせを行い、研究課題を再確認し、2024 年調査のスケジュール、発掘調査のための手続きなどを行う。その後、研究代表者と研究分担者が、上記の四つの柱に基づき、5～7 月には、モンゴル、中国、日本、台湾の諸図書館、文書館でドグシヒーン・バルガス遺跡に関わる諸史料を収集、分析する。8～9 月には、モンゴルで基礎的現地調査を実施し、発掘調査を行う。現地調査においては、モンゴルの若手研究者、大学院生、学生も参加する。

モンゴル国の現地調査には、考古学研究の実績を蓄積してきた U. エルデネバトを中心とする研究チームがドグシヒーン・バルガス遺跡の初歩的発掘を行うが、研究代表者ボルジギン・フスレがこれを統括し、研究分担者の二木博史、松川節も加わり、その実態を明らかにする。10～12 月には、史料、発掘調査の成果、出土遺物の C14 放射性元素による年代測定、3D デジタルアーカイブの結果などを基に多角的視点で分析する。シルクロードの重要な拠点であった西夏王国～モンゴル帝国の都城カラホト (中国国家文化財)、モンゴル帝国の初期の首都カラコルム (世界遺産) と比較しながら、ドグシヒーン・バルガス遺跡の歴史的・社会的・文化的空間を読み解く。

12 月には東京で国際シンポジウム「モンゴル帝国時代のユーラシア世界」を開催し、当該年度の研究成果を公表する。その成果は論集『モンゴルと東北アジア研究』Vol. 10 に収録する (2025 年 3 月)。

プロジェクトの中盤、すなわち 2025 年度には、研究代表者と研究分担者が、引き続き上記の四つの基本コンセプトに基づき、モンゴル、中国で現地調査を実施し、研究を深め、中間成果をまとめ、モンゴル帝国のシルクロード遺跡ドグシヒーン・バルガスの歴史的・民俗的景観

を明らかにし、その復元と保護に努める。

具体的には、ドグシヒーン・バルガス遺跡で再調査を行い、史料、発掘調査の成果、出土遺物の C14 放射性元素による年代測定、地理情報処理と衛星リモートセンシングにより得られたビッグデータなどを基に総合的に分析する。そのうえで、ドグシヒーン・バルガス遺跡の時代ごとの特徴と性格を明らかにするとともに現代史的表象について検討する。同時に海のシルクロード・ホイアンを経済の大きな基盤となっている観光、住民の生活とのバランスを取りながら文化財の保存が成功した経験を活かし、陸のシルクロード・ドグシヒーン・バルガスのメタバース化を試みる。また、ドグシヒーン・バルガス遺跡の復元と保護に向けて、同遺構が文化遺産としてどのように位置づけ可能であるかについて検証する。さらに、在モンゴル日本大使館とモンゴル国自然環境・観光省、文化省、日本モンゴル学会の協力を得て、ウランバートルで国際シンポジウムを開催し、これまでの研究成果を公表する。その成果は論集『モンゴルと東北アジア研究』Vol. 11（2026 年 3 月）に収録する。

プロジェクト後期、すなわち 2026 年度には、発掘調査と史料分析の成果、及び地理情報処理と衛星リモートセンシングにより得られた解析データを基礎に、モンゴルのシルクロード遺跡ドグシヒーン・バルガスの全貌を、学融合的研究を行って解明し、モンゴル国における歴史的文化遺産の研究と持続可能な保護の基盤を創成する。

具体的には、以下に挙げる 4 つを予定している。

(1) 論集『モンゴルのシルクロード遺跡ドグシヒーン・バルガス』の出版などを行う。

(2) 「ドグシヒーン・バルガス遺跡アーカイブ」(資料・地図・映像・GIS・3D データ) を構築する。同研究成果を公開し、研究成果の共有化を図る。

(3) ドグシヒーン・バルガス遺跡の歴史学・考古学・文化遺産学等さまざまな分野の課題を明確にし、その文化遺産学的価値と位置づけを試み、持続可能な歴史的文化遺産の保護と活用モデルをつくる。モンゴル国文化省の協力を得て、ドグシヒーン・バルガス遺跡を保護・復元し、その成果(模型、出土品の一部)はチンギス・ハーン博物館、ウムヌゴビ県博物館に展示する。

(4) 昭和女子大学、東京外国語大学、モンゴル国立大学の協力を得て、2026 年 12 月に東京で国際シンポジウム「モンゴルのシルクロード遺跡ドグシヒーン・バルガスに関する研究と保存・保護」を開催し、成果を公表する。こうした歴史学・考古学ビッグデータの統合に基づき、モンゴルにおけるシルクロードの遺跡を研究することにより、歴史学・人文地理学・博物館学分野の学問の進展に寄与し、シルクロードにおける歴史遺構、草原帝国の文明史の研究に新しい糸口が得られると期待される。

3. 研究の成果

2024 年度、研究代表者は研究目的に沿って、日本の国会図書館やモンゴルの国立中央文書館、台湾の国史館などの諸文書館、図書館で資料調査を実施し、モンゴルのシルクロードと関係する資料を収集し、整理した。

モンゴル国立大学科学カレッジと昭和女子大学の共同現地調査隊は、2024 年 8 月 28 日から 9 月 5 日までウムヌゴビ県ツォグトオボー郡のボル・テグ村にあるドグシヒーン・バルガス遺跡で考古学探査と発掘調査を行った。二木博史は 9 月 1 日から、松川節は 9 月 4 日から調査に加わった。

ドグシヒーン・バルガス遺跡の古代都市があった場所を探査し、計 6 か所で試験的発掘を行い、出土品を収集した。ドグシヒーン・バルガス遺跡は、丘によって隔てられた 3 つの部分から成っていた。それぞれの部分を貫く一本の大通りがあり、その両側に軒を並べて小さな建物があつた。これらの建物は小規模で床暖房があつたことが、試掘坑 3、5 から明らかになった。建物の外には塀や家畜小屋があつたらしく、家畜囲いのあつた跡の裸地や白っぽい色の石を並べて囲った石組のようなものが残っている。特に、石の家畜囲いの遺物は、風上側に石を積んで風よけとし、隊商のらくだが横になれそうなひさしのある囲いがあつたらしい。発掘調査をしたドグシヒーン・バルガス遺跡からは、白っぽい色の石を積んだ小規模の構造物以外には、埋葬に関連する遺物は発見されなかった。出土品の点でドグシヒーン・バルガス遺跡は非常に豊富だ。中国製陶磁器の破片や中国貨幣がとて多く発見された。完全なものと破損したものを合わせ計 39 点の貨幣を発見したが、唐、宋、金代から中華民国時代初期までの貨幣であつた。さらに、鍛冶屋等の存在を確認でき、鉄製品、鋳物の鍋の破片、車の軸受の破片が数多く

見つかり、この町が商業交易の往来が盛んな、一時期活気のある宿場町であったことが分かる。出土品は、その多くが 13 世紀から 14 世紀のモンゴルの首都カラコルムからの出土物と同様で、共通の時代のものと言える。

このように、ドグシヒーン・バルガス遺跡がモンゴル帝国時代とそれに続く時代カラコルムへ旅する旅商たちが行きかう交易路の重要な中継点であったという、土地の住民の言い伝えにも真実味がある。

2024 年の発掘で発見された出土品は、処理されて 3 点の有機体サンプルが日本に送られ、C14 による年代測定が行われた。3 か所で採集された動物の骨による C14 による放射性炭素年代測定の結果は、いずれもモンゴル帝国時代のものであることを示している。出土した陶器、磁器、土器、鉄器、銅器及び貨幣等からみると、この遺跡はモンゴル帝国時代には繁栄した商業の町であったし、その後もある程度利用されたことは間違いない。

4. 研究の反省・考察

ドグシヒーン・バルガス遺跡からは、それ以降の時代の中国陶磁器の破片、硬貨が発見されていることから、この昔の交易路をモンゴル帝国時代以降も長きに渡って使用していたと考えられる。もちろん、これを完全に証明するためには、さらに長期の調査と多くの証拠の収集・研究が必要である。

ドグシヒーン・バルガス遺跡の北部にはドグシヒーン水道が設けられており、かつて農業が行われていたと判断できる。これはモンゴル帝国時代、大元ウルスの嶺北行中書省が和寧路（ドグシヒーン・バルガスは地理的に当時の和寧路の南東部に位置する）で実施した屯田制度とも関連すると考えられる。

以上のように、研究代表者と研究分担者は、所期の成果を得ることができ、ドグシヒーン・バルガス研究の今後の課題をさらに明確した。

2024 年、モンゴル国は全国的に大雨により水災が起き、ウムヌゴビ県を含む、複数の県で通行止めが実施された。そのため、ドグシヒーン・バルガスでの発掘調査はやむを得ず、予定より 5 日間ほど短縮し、9 日間のみ実施した。2025 年度の研究において、モンゴル国の「通行止」令の発出にともなうウムヌゴビ県への通行が制限される場合、本研究は研究環境を整備し、万全の対策をとる。

5. 研究発表

(1) 学会誌等

① U. エルデネバト、ボルジギン・フスレ、A. ゴルジャルガル、B. ダシドルジ、二木博史、J. オランゴア「“モンゴルのシルクロード遺跡に関する学際的研究——ドグシヒーン・バルガスを中心に”プロジェクト2024年度現地調査隊報告」（『モンゴルと東北アジア研究』Vol. 10、pp. 1-48、2025年3月）

② У. Эрдэнэбат, Боржигин Хүсэл, А. Золжаргал, Б. Дашдорж, Х. Футаки, Ж. Урангуа. “Дугшихын балгасанд ажилласан Монгол-Японы хамтарсан экспедицийн 2024 оны хээрийн шинжилгээний тайлан”, *Монголын археологи-2024*, 80-82, 2024. (U. Erdenebat, Husel Borjigin, A. Zoljargal, B. Dashdorj, Hiroshi Futaki, J. Urangua. “Interdisciplinary Research on the Remains of the Silk Road in Mongolia: With a Focus on Dugshikhyn Balgas: Survey Report of the Field Survey Team in Mongolia (2024)” . *Mongolian Archaeology* 2024, 241-243, 2024.)

③ 黒龍、喬航「マルコ・ポーロの中国領内の進行ルート及び古今地名考略」（『モンゴルと東北アジア研究』Vol. 10、pp. 155-166、2025年3月）

④ J. オランゴア「ジュチ・ハーン国を通過する通商路とシルクロード（13～15世紀）」（『モンゴルと東北アジア研究』Vol. 10、pp. 167-172、2025年3月）

⑤ 烏敦、劉雨婷「2012年から2024年までの中国の学界における“黒水城” 関連研究総述」（『モンゴルと東北アジア研究』Vol. 10、pp. 173-190、2025年3月）

(2) 口頭発表

① U. エルデネバト、ボルジギン・フスレ、A. ゴルジャルガル、B. ダシドルジ、二木博史、

J. オランゴア 「“モンゴルのシルクロード遺跡に関する学際的研究——ドグシヒーン・バルガスを中心に” プロジェクト2024年度現地調査隊報告」 (国際シンポジウム「モンゴル帝国時代のユーラシア世界」、昭和女子大学、2024年12月7日)

②黒龍、喬航「マルコ・ポーロの中国領内の進行ルート及び古今地名考略」 (国際シンポジウム「モンゴル帝国時代のユーラシア世界」、昭和女子大学、2024年12月7日)

③J. オランゴア「ジュチ・ハーン国を通過する通商路とシルクロード (13～15世紀)」 (国際シンポジウム「モンゴル帝国時代のユーラシア世界」、昭和女子大学、2024年12月7日)

④烏敦、劉雨婷「2012年から2024年までの中国の学界における“黒水城” 関連研究総述」 (国際シンポジウム「モンゴル帝国時代のユーラシア世界」、昭和女子大学、2024年12月7日)

(3) 出版物

なし

(4) その他

映像資料『モンゴル高原におけるシルクロード遺跡 (1) 』 (2024年12月)

学 校 名	成 城 大 学	研究所名等	成城大学民俗学研究所	
研 究 課 題	「山村・海村・離島調査」の創造的継承と発展に向けた基礎的研究 —新たなるOポイントの構築に向けて—		研 究 分 野	文 学
キ ー ワ ー ド	①山村調査 ②海村調査 ③離島調査 ④追跡調査 ⑤柳田國男 ⑥採集手帖 ⑦現代民俗学 ⑧『山村生活50年』			

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
小 澤 正 人	文 芸 学 部 成城大学民俗学研究所	教 主 授 事	総括

○研究分担者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
及 川 祥 平	文 芸 学 部 成城大学民俗学研究所	准 教 授 員	山村調査
川 田 牧 人	文 芸 学 部 成城大学民俗学研究所	教 所 授 員	海村・離島調査
小 島 孝 夫	文 芸 学 部 成城大学民俗学研究所	教 所 授 長	海村・離島調査
俵 木 悟	文 芸 学 部 成城大学民俗学研究所	教 所 授 員	山村調査
加 藤 秀 雄	滋賀県立琵琶湖博物館 成城大学民俗学研究所	学 芸 員 研 究 員	山村調査
荒 井 浩 幸	成城大学民俗学研究所	研 究 員	山村調査
山 口 拡	福 島 県 立 博 物 館 成城大学民俗学研究所	学 芸 員 研 究 員	山村調査

「山村・海村・離島調査」の創造的継承と発展に向けた 基礎的研究

ー新たな「0ポイント」の構築に向けてー

1. 研究の目的

(1) 研究の背景

①これまでの取り組み

民俗学の創始者・柳田國男は1930年代後半に「日本僻陬諸村に於ける郷党生活の資料蒐集調査」（通称「山村調査」）を実施し、日本の民俗学史上はじめての同一規格による組織的全国調査を実現させた。続く「離島及び沿海諸村に於ける郷党生活の調査資料蒐集」（通称「海村調査」）、1950年代の「本邦離島村落の調査研究」（通称「離島調査」）をあわせて、これらの初期民俗学の系統立った調査の成果は、日本における庶民生活の変遷に関する資料として高く評価されている。

成城大学民俗学研究所では以上の調査票である「採集手帖」を収蔵し、DVDとしてデジタル公開しているのみならず、「山村調査」「海村調査」「離島調査」を「0ポイント」としてその追跡調査を実施してきた。すなわち、1980年代には「山村生活50年 その文化変化の研究」、1990年代には「沿海諸地域の文化変化の研究—柳田國男主導『海村調査』『離島調査』の追跡調査研究—」等を実施し、その後も追跡調査をベースとするプロジェクトが継続されてきた。ただし、これらの追跡調査は限定的なものであり、また、未刊行の一次資料が研究所内に多く集積されている。2022年度からは「民俗学研究所による山村・海村・離島調査資料の再整理」を始動させ、資料の再整理を行ないつつ、今後の追跡調査の方向性について検討を進めている。

②問題の所在

以上の蓄積からは、日本の戦後生活のドラスティックな変容が明らかにされてきた。近年の調査から確認されるのは、生活変化の速度の加速である。そのような高速度化する変容に加え、毎年のように襲来する災害やこのたびのコロナ禍は、各種の暴力的断絶を地域生活にもたらしている。来たるべき「山村調査」100周年にむけては、より短いタイムスパンでの定点記録の集積が求められる。他方、インターネット元年から30年近くが経過し、デジタルデバイスは僻陬諸地域の高齢者の手にもわたっている。情報化社会の生活インフラの激変は、「追跡」調査のみならず、新たな焦点を定めたうえでの総合的調査を要請する。すなわち、「追跡」に終始することでは見えない「現在の生活」が厳然としてあるのであり、現代の社会文化動態に見合った視点の確立が急務となっている。2023年を以て開設50周年を迎えた民俗学研究所としては、調査研究のネクストステージに向けて、長期的な調査継続を前提とする新たな「0ポイント」の構築が求められていると言えよう。

(2) なにをどこまで明らかにするか

①長期的定点調査の基礎を構築

本研究では民俗調査および人類学的調査・歴史学的調査の経験をもち、かつ、民俗学の今日の社会状況への対応を重視する現代民俗学の視野をもつ研究所員が連携し、成城大学民俗学研究所の「山村・海村・離島調査」の追跡調査の成果を継承しつつ、今日の地域課題に即応した調査を実施することで、持続可能な長期的定点調査の基礎を構築することを目指す。

②民俗の衰退論をこえる

具体的には「山村・海村・離島調査」の対象地から調査地をピックアップし、当該地域の生活事象の調査研究を3ヶ年にわたって行なうことで「山村調査」以後の生活変容を総括し、あわせて、いわゆる「民俗」に拘泥することなく調査地の暮らしの「いま」を観察することで、次の100年に向けた継続的な定点調査の焦点とすべき論点を明らかにする。これにより、消滅や断絶、崩壊や変容を数え上げる定点調査を乗り越え、地域のクリエイティビティをも考慮した調査を行なうことで新たな「0ポイント」を構築し、民俗学研究所の将来の基幹事業のプロトタイプを構築する。

2. 研究の計画

(1) 2024 年度の計画

①山村調査班の活動

青森県鯉ヶ沢町、福島県昭和村、岡山県新見市、島根県奥出雲町での調査。

②海村・離島調査班の活動

宮城県気仙沼市、長崎県小値賀町、鹿児島県薩摩川内市での調査。

(2) 調査成果の整理と共有

①調査成果の整理

上記調査の成果を速やかに整理し、かつ山村・海村・離島調査およびそれらの追跡調査の成果と照合可能にするための統合作業をアルバイトスタッフに依頼。

②調査成果の共有

上で述べた①の成果はクラウド上に保存し、ネット環境があれば調査地で随時閲覧可能な状態として共有する。これにより、各班の連携的な調査が期待される。

3. 研究の成果

(1) 追跡調査の進展

①山村調査班

岡山県新見市、島根県奥出雲町での調査により、既往の調査以降の生活変化の様相を把握する作業を進めた。鯉ヶ沢町、昭和村については担当者の都合により調査を実施せず、討議地域の情報収集にあたった。

②海村・離島調査班

宮城県気仙沼市、鹿児島県薩摩川内市での調査を実施し、既往の調査以降の生活変化の様相を把握する作業を進めた。長崎県小値賀町については担当者の都合により調査を実施せず、討議地域の情報収集にあたった。また、前年に引き続き、東京都青ヶ島村での調査を継続した。

(2) 新たな調査地の検討

前年度調査から、従来の調査地ではなかった地域への調査を実施している。本年度は既往の調査地を軸に、周辺地域も視野においた調査を実施することが多くなったが、調査地を広域の文化・社会状況のもとで把握するすべを模索した。

4. 研究の反省・考察

(1) 2024 年度の反省

①調査者拡充の必要

2024年度は研究分担者を増員して調査を実施したが、引き続き調査効率の課題を痛感している。前年度の実績報告書に記した課題である「ひとつの調査地に複数名の調査者で臨み、かつ、より広域の調査を平行して実施できる体制を構築する」には、より大規模な予算と大学院生等のアシスタントスタッフが必要であり、2025年度の課題としたい。

②インテンシブな調査の必要

検討の結果、本年度は新規の調査地に足を運ぶことを優先し、前年から引き続き調査を実施したのは東京都青ヶ島村のみとなった。2023年度の事業成果にも記したように、個々の地域により深く入り込む調査が構想されるべきである。この点は、本事業で「0ポイント」を構築したのち、調査地ごとに年度をわけてプロジェクトを立ち上げ、長い時間をかけて実施すべきものと考えられる。引き続き検討していきたい。

(2) 2024 年度調査成果からの考察

①組織化の必要

上記「2024年度の反省」に記したように、本事業で構築しようとしている調査の「0ポイント」をふまえ、以後、継続的に、かつ有効なたちで調査を継続する場合、多くのスタッフとその調査を組織的に支える体制が必要となる。本事業においては、そのような調査プロジェクトをバックアップする体制として、どのようなものが必要であり、またそれはどのように可能であるか、といったシステムないしメソッドの部分についても検討する必要

があるだろう。また、それらを検討するためのデータも獲得しつつある。さしあたり、2025年度には事業をサポートするリサーチアシスタントを雇用する予定であり、彼らが業務を通して得た実感なども参考にしつつ、この点を考えていきたい。

また、同様に組織化の問題として、調査に資するような資料コレクションやアーカイブの構築についても、来たる100年の調査継続のために必須と考える。

②連携体制の必要

本年度、研究分担者に公立博物館の学芸員が加わった。今年度の調査ではそのような属性を活かした調査は実施されていないが、ディスカッションや情報交換の席においては職務上の経験と専門知識を活かして大きく貢献した。そのなかで、各地の博物館でも組織的な調査の必要を感じつつ実現できない状況があるとの情報を得た。成城大学で民俗学を学んだ人材は各所で学芸員として活躍しており、民俗学研究所とも日常の業務において相互に協力することが多い。上記「組織化の必要」との関係で、民俗学研究所が各地博物館とネットワークを結ぶことにより、民俗学研究所の調査事業を各地博物館の事業と連携させることが可能ではないかと考えている。この点については、2025年度も引き続き検討していきたい。

5. 研究発表

(1) 学会誌等

調査継続中につき、なし

(2) 口頭発表

調査継続中につき、なし

(3) 出版物

調査継続中につき、なし

2024年度（第49回）学術研究振興資金 学術研究報告

学 校 名	創 価 大 学	研究所名等	
研 究 課 題	難培養性微細藻類の成長促進物質の特定と新規成長培地の研究開発		研 究 分 野 農 学
キ ー ワ ー ド	① 土壌抽出液、② 有価物生産、③ 分子量分布、④ 有機物画分、⑤ 大量培養		

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
戸 田 龍 樹	創 価 大 学 理工学部 / プランクトン工学研究所	教 授	研究代表者・総括（実験計画の策定と評価、ならびに新規微細藻類培地の開発）

○研究分担者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
古 谷 研	創 価 大 学 プランクトン工学研究所	教 授	実験計画の策定と有用微細藻類の増殖能・有価物生産能の評価
高 山 佳 樹	横 浜 国 立 大 学 大学院環境情報研究院	助 教	有用微細藻類の培養と増殖能の測定
関 根 睦 実	創 価 大 学 プランクトン工学研究所	研 究 員	有用微細藻類の培養と増殖能の測定
小 松 一 弘	信 州 大 学 工学部	教 授	溶存有機物の分子量・化学特性の推定
今 井 章 雄	国 立 環 境 研 究 所	フ ェ ロ ー	実験計画の策定と溶存有機物の化学特性の推定

難培養性微細藻類の成長促進物質の特定と 新規成長培地の研究開発

1. 研究の目的

(1) 微細藻類の大量培養における新規培地開発の必要性

微細藻類は、医薬品や化粧品の原料となる様々な高付加価値物質を有していることから、大量培養の試みが世界各地で行われている。ところが残念なことに、これまでに大量培養され産業利用に至っている微細藻類は、自然界に生息する数十万種もの多様な藻類の中でも、わずか30種（株）程度にすぎない。微細藻類の大量培養には、有価物生産に有用な微細藻類種や各種の最適培養条件の探索が不可欠である。培養条件の最適化は、長年の研究課題であり、中でも増殖のための栄養源となる「培地」の開発が不可欠である。現在の微細藻類の大量培養において主流となっている「人工培地」には、微細藻類の増殖に最低限必要な無機栄養塩やビタミンなどの栄養素が含まれ、世界の藻類生産量のほぼ100%を占めるスピルリナやクロレラの大量培養に使用されている。これらの培地では、未だに多くの微細藻類種の大量培養が困難であり、難培養な微細藻類種に最適な培地の開発が重要な課題となっている。

(2) 土壌抽出液による微細藻類の増殖促進効果

難培養な微細藻類の増殖促進には、必須栄養素だけでなく通常の人工培地に含まれない微量元素や有機物などの微量栄養素の供給が重要であると推察される。元来、降雨による土壌からの浸出水が沿岸域に流れると、赤潮（微細藻類の大増殖）が誘発されることが経験的に知られていることから、ESM培地の添加成分には「土壌抽出液」が含まれている。ラボスケールの藻類培養に土壌抽出液を利用する試みは未だ限定的であるが、微細藻類の増殖が促進されるという知見は1950年代から断片的に報告されている。土壌抽出液は溶存有機物（DOM: Dissolved organic matter）を豊富に含有し、そのキレート作用により形成される金属錯体が微細藻類の必須微量元素の利用能を高める効果や成長ホルモンに類似した作用が報告されている。このことから、土壌抽出液に含まれるDOMは、微細藻類の増殖に深く関与している物質であると考えられ、土壌抽出液の添加は、微細藻類の増殖促進に極めて高い可能性を秘めている。DOMはヒューミン、フミン酸、フルボ酸と呼ばれる物理化学的特性の異なる腐植物質を含有し、個々の腐植物質は藻類の増殖への異なる影響が報告されている。土壌抽出液由来の腐植物質画分とその分子量に着目し、藻類の増殖促進作用との関連性を調べることは、土壌抽出液による増殖促進効果の解明につながる。本研究は微細藻類の大量培養にブレイクスルーをもたらす萌芽性がある。加えて、微細藻類の大量培養を目指す上で、培養環境の制御や微細藻類株の有価物生産性を高めることも重要である。土壌抽出液の添加により微細藻類種の有価物生産性を高めることができれば、土壌抽出液の微細藻類培養への有用性が高まり、新たな有用物質回収システムの構築が期待できる。

(3) 本研究の目的

本研究では、①土壌抽出液中の成長因子である有機物特性を分析し、②その添加が微細藻類の増殖と有価物生産に与える影響を明らかにするとともに、③難培養な微細藻類種の増殖促進のための新規培地の研究開発を行う。土壌抽出液の添加条件下における微細藻類の有価物生産性は、未だフラスコやマイクロプレートによる簡易的な手法での評価に限られている。そこで最終年度には、大量培養への応用に不可欠な長期連続運転下における影響を評価する。

初年度にあたる2023年度は、難培養性微細藻類株の増殖に効果的な土壌を特定した。また、27種の土壌抽出液を作成し、DOMの性状分析の一環として、土壌抽出液の蛍光腐植物質を定量化するため、Excitation emission matrix-Parallel factor（EEM-PARAFAC）解析を前倒しで実施した。その結果、4つの蛍光物質が特定され、その抽出量は、土壌の種類にかかわらず、抽出温度の上昇に伴い増加した。さらに、土壌抽出液を再加熱した条件におい

ても増加が確認され、微細藻類の成長促進因子候補に挙げられた。

2024年度は、最終年度の3年目（来年度）に実施予定である10 mL試験管実験からベンチ実験へのスケールアップに向け、60 mL試験管を用いて、微細藻類の培養方法を検討した。大量培養に向け、土壌抽出液の抽出条件ならびに添加量の改変を試みた。同時に、大量培養リアクターの設計・設置を行い、試運転によって改良点を確認した。また、土壌抽出液の微量金属の組成を分析し、EEM-PARAFAC解析結果と合わせてデータ解析中である。

2. 研究の計画

(1) 微細藻類の大量培養条件の最適化

本年度は、微細藻類の大量培養への利用を見据え、昨年の研究条件である10 mL試験管を60 mL試験管に変え、土壌抽出溶媒を海水から、扱いが容易な淡水に変え、そして、土壌抽出液の添加量を半量に減らした際の効果を検証した。また、培養液への連続通気やpH調整による増殖促進効果を検証した。

初年度の研究で難培養性微細藻類の増殖促進効果が特定された土壌（黄色土（国頭村与那覇岳）または赤色土（国頭村奥））と抽出法（105℃または121℃抽出、再加熱0-1時間）によって土壌抽出液を作製した。加熱にはオートクレーブを用いた。抽出液の再加熱は、抽出液をガラス繊維フィルターでろ過した後、オートクレーブを用いてろ液を121℃で再加熱し、抽出成分の低分子化を図った。土壌抽出液の溶媒には超純水または海水を用いた。

土壌抽出液を添加した培地にて、難培養性微細藻類 *Oocystis heteromucosa* を培養し、最大比増殖速度と最大吸光度を測定することで土壌抽出液による増殖促進効果を評価した。*Oocystis* はEPA含量が高く、大量培養が期待される有用微細藻類である。土壌抽出液は溶存有機炭素（DOC）濃度が5 mg/Lまたは10 mg/Lとなるように培地に添加した。培養容器は60 mL試験管とし、培養環境は温度30℃、光強度300 $\mu\text{mol-photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 、12時間毎の明暗周期とした。微細藻類への二酸化炭素供給、培地からの溶存酸素除去、そして光照射効率を上げるための攪拌を目的として、連続的に通気する系列、そして培養過程で変動するpHを毎日調整する系列を設けた。680 nmにおける吸光度を測定した。

(2) 難培養性微細藻類の培養に効果のある画分の推定

土壌抽出液は、抽出液中のDOMと金属が、DOMのキレート作用によって錯体を形成することで、微細藻類の必須微量金属の利用能を高め、微細藻類の増殖を促進する可能性が示唆されている。今年度は27種の土壌抽出液について、各種金属濃度をICPで分析し、その結果を昨年度の分析項目に加えてデータを再解析している。

3. 研究の成果

(1) 微細藻類の大量培養条件の最適化

淡水で抽出した土壌抽出液を、DOCが5 mg/Lとなるように海水培地に添加し、60 mL試験管にて *O. heteromucosa* を培養した。微細藻類を大量培養する際には、培養液への連続的な通気が一般的であるため、この試験でも連続通気システムを導入した。

培養の結果、土壌抽出液無添加の対象区も含め、10 mL試験管で通気なしで実施した過去の実験データと比較し、最大吸光度が3-5倍増加した。これは、培養液の連続通気によって、微細藻類の光利用ならびに気液ガス交換が促進されたためであると考えられた。その上で、黄色土由来抽出液の添加区では、対象区と比較し、最大比増殖速度が最大1.2倍、培養期間における最大吸光度が最大1.4倍に向上した。赤色土では、比増殖速度が1.2倍に向上したものの、最大吸光度は増加せず、例えば、赤色土の105℃の抽出液を添加した条件では最大22%の減少が確認された。微細藻類が成長すると、培地中のCO₂が消費され、培養液のpHが上がる。試験では、連続通気に加え、土壌抽出液の添加によってさらに微細藻類の増殖が促進されたことで、培地中のpHが大きく変化し、最大吸光度の低下を招いた可能性が考えられた。

つづいて、赤色土を121℃で抽出した土壌抽出液を用い、個々のパラメータ（抽出溶媒・抽出液添加量）の変化が微細藻類の増殖促進効果に与える影響を評価した。また、先の実験の結果を受け、pH調整をする系を設けた。比増殖速度は、海水の土壌抽出液を10 mg-DOC/Lで添加した系で最も高い値を示した（図1）。一方で、淡水の土壌抽出液を5 mg-DOC/Lの添

加であっても、その74%の増殖促進効果が示された。培養過程で培養液のpHを調整し、一定に維持した試験では、対象区と比較し、土壌抽出液を添加した条件で、比増殖速度と最大吸光度の両方で、それぞれ1.4倍と1.2倍の増殖促進効果が得られた。同条件で、pHを調整しなかった試験では、土壌抽出液の添加によって比増殖速度が1.2倍向上したものの、最大吸光度に変化はなかった。以上より、難培養性微細藻類の大量培養に向けて、淡水による土壌抽出液の作成、5 mg-DOC/Lの抽出液添加濃度（昨年度の半量）、ならびにpH調整の有効性が確認され、本年度の研究成果をもって、新規微細藻類培養培地とその使用法が確立した。来年度は、本新規培地を用いて難培養性微細藻類の大量培養を実施する。

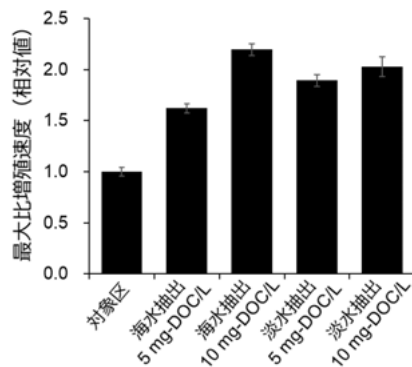


図1. 異なる溶媒の黄色土抽出液（121℃抽出、再加熱なし）を異なる濃度で添加した際の *O. heteromucosa* の最大比増殖速度。

4. 研究の反省・考察

- (1) 昨年度の研究を経て、105℃や 121℃の高温で土壌を抽出することで、溶存有機物の抽出効率が向上し、一定の微細藻類の増殖促進効果も得られることが明らかとなった。25℃で作成した土壌抽出液中の DOC 濃度は 37～56 mg-C/L と低濃度であるため、コストの観点から、培地への土壌抽出液の添加量を少なくするためには 105℃や 121℃での抽出が望まれる。しかし一方で、難培養性微細藻類の中には、25℃で抽出した土壌抽出液で高い増殖促進効果を示した種類もあり、これらの微細藻類については腐食物質などの DOC 以外の増殖促進物質の特定を行う必要があるかもしれない。微細藻類の種類によって増殖促進機序が異なることは十分に考えられることである。
- (2) 微細藻類の種類によって増殖促進機序が異なるという観点は、主成分分析や重回帰分析などの統計解析からも示された。比増殖速度が DOC と正の関係をもつ微細藻類と、全く関係を示さない微細藻類が存在することが明らかとなった。

5. 研究発表

(1) 学会誌等

- ① A novel stepwise salinity acclimation method to improve the survival of freshwater microalgae *Haematococcus lacustris* in seawater salinity
<http://dx.doi.org/https://doi.org/10.1007/s00449-024-03092-3>
 Gu, Q., Y. Takayama, N. Natori, M. Hirahara, A.K. Chowdhary and T. Toda.
 Bioprocess and Biosystems Engineering, 48, 43-52.
- ② Astaxanthin induction in *Chromochloris zofingiensis* by transition of nutritional modes.
<https://doi.org/10.1007/s10811-025-03497-x>
 Anupreet Kaur Chowdhary, Masatoshi Kishi, Tatsuki Toda
 Journal of Applied Phycology. (オンライン印刷)

(2) 口頭発表

- ① Effect of biomass phase on astaxanthin production in *Chromochloris zofingiensis* by multiple cultivation steps.
 Chowdhary A.K., 戸田龍樹
 Water and Environment Technology Conference (WET2024) (岡山大学), July 21st-

22nd (口頭発表)

- ② Astaxanthin accumulation by transition of nutritional modes in *Chromochloris zofingiensis*.
Chowdhary, K. A., M. Kishi and T. Toda
1st International Conference on Novel Photorefineries for Resource Recovery, Valladolid, 09-11 2024 September, Spain.
- ③ 海産ハプト藻 *Isochrysis galbana* の屋外培養における 浮遊型フォトバイオリアクターの揺動攪拌によるフコキサンチン生産
藤井正志, 岸波秀美, 佐野華秀, 高山佳樹, 戸松千秋, R. Harun, F.M. Yusoff, 古谷研, 戸田龍樹
2024年日本プランクトン学会・日本ベントス学会合同大会(島根大学松江キャンパス), 9月13日~9月16日 (口頭発表)
- ④ 難培養性微細藻類の大量培養に向けた土壌抽出液添加による増殖促進
林 香苗, A. K. Chowdhary, 関根 睦実, 戸田 龍樹
令和6年度日本水産増殖学会第22会大会(沖縄タイムズビル) 11/29-30要旨集p22, 0-43.
- ⑤ 水産養殖産業から排出される有機性汚泥の微細藻類を利用した循環利用プロセスの構築と経済的インセンティブ創出の試み
戸田龍樹
令和6年度日本水産増殖学会第22会大会 (沖縄タイムズビル) 11/29-30要旨集

(3) 出版物

なし

2024年度（第49回）學術研究振興資金 學術研究報告

学 校 名	帝 京 大 学	研究所名等	
研 究 課 題	網膜の機能と構造を重畳したレチナマップの作成 ー近視進行機序の解明ー		研 究 分 野 医 学
キ ー ワ ー ド	①多局所網膜電図、②網膜走査、③MEMS、④視覚電気生理、⑤アイトラッキング、⑥眼科		

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
広 田 雅 和	帝京大学医療技術学部 視能矯正学科	准 教 授	研究代表者・研究統括・機器開発・実験実施・ データ解析・論文執筆

○研究分担者

[illegible]

網膜の機能と構造を重畳したレチナマップの作成 —近視進行機序の解明—

1. 研究の目的

本研究の目的は、①100 度以上の広範囲における局所網膜の機能を評価できる網膜走査型多局所網膜電図 (mfERG) を開発し、②アイトラッキングシステムの実装により、網膜刺激の精緻な制御を実現する。そして、③網膜の機能と構造を重畳した、レチナマップを作成し、近視の進行機序の解明に挑戦することである。

近視の進行は不可逆的であり、強度近視は網膜疾患や緑内障などの失明リスクを増加させる (Flitcroft DI, Prog Retin Eye Res, 2012)。近視人口は世界的に増加しており (Dolgin E, Nature, 2015)、2050 年には世界人口の約 50% が近視、失明リスクが高い強度近視は世界人口の約 10% (9.7 億人) に達すると試算されている (Holden BA et al., Ophthalmology, 2016)。

近視の進行は、周辺網膜におけるピント位置が原因である軸外収差論 (Smith EL 3rd et al., Invest Ophthalmol Vis Sci, 2005) が支持されており、Atchison らのグループは、磁気共鳴画像 (MRI) を使用し、周辺網膜における視細胞の配列と近視度数の間に相関があることを明らかにした (Atchison DA et al., Invest Ophthalmol Vis Sci, 2005)。近視が進行すると周辺網膜の機能および構造に変化が起こることは確実である。しかし、近視の進行による周辺網膜の構造変化は、100 度以上の広範囲における網膜形状を撮影可能な広角 OCT の登場によって調査が進んでいるが (Breher K et al., Sci Rep, 2020)、近視の進行による周辺網膜の機能変化は、測定機器が存在せず、未知のまま放置されている。

局所網膜の機能を評価する手法として、mfERG がある (図 1)。周辺網膜の機能を評価するには、mfERG の測定範囲を拡大すれば良いが、周辺網膜では、眼内に入射した光が屈折・散乱することで網膜上に到達する光量が減少し、網膜機能を適切に評価できない、屈折異常に依存した課題を抱えている (図 2)。この課題を解決するため、我々のグループは、網膜走査型 RGB 半導体レーザ光 (RGB レーザ光) に注目して、RGB レーザ光は光線束が細く、屈折異常の影響を受けにくいことを証明し (図 3)、その結果を基に、網膜走査型 mfERG の試作機を世界で初めて開発した (図 4)。近視の進行機序の解明は、失明リスクを抱える世界人口の約 10% もの人々を救うことができるため、健康寿命延伸や医療費削減をはじめとした、絶大な社会経済的波及効果がある。

2. 研究の計画

本研究では、MEMS ミラーを用いた網膜走査型 RGB 半導体レーザ光 (RGB レーザ光) で網膜を直接光刺激する網膜走査型 mfERG の測定範囲を拡大する。我々のグループは網膜走査型 mfERG を開発しており (図 4)、網膜走査型 mfERG では従来機で問題だった、周辺網膜における mfERG 波形の振幅低減を大幅に抑制できることを確認している (図 5)。しかし、近視に伴う眼球形状の伸展により、周辺網膜の刺激強度は低下することが予想される。そこで、本研究では、網膜中心部の mfERG 波

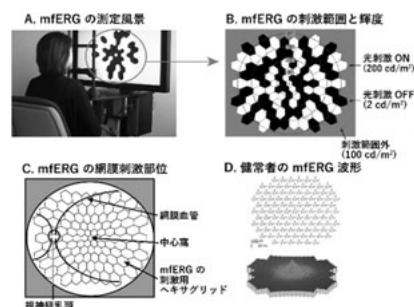


図 1. mfERG の概要

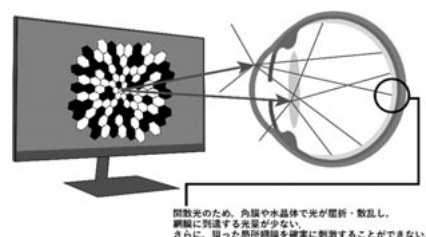


図 2. 従来の mfERG の問題点

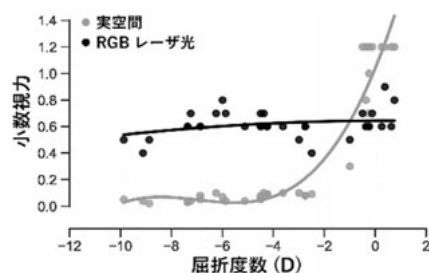


図 3. 屈折異常の影響評価

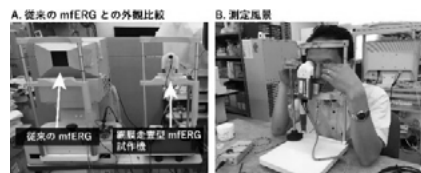


図 4. 従来機と網膜走査型 mfERG

形を基準として、周辺部の mfERG 波形が減衰していた場合、光刺激の強度を自動調整する人工知能（AI）センシングを開発することで屈折異常の影響を除外した、真の mfERG 波形を全ての被験者で測定可能とする。周辺網膜の機能を評価する際は、被験者の視線位置（眼位）を監視する必要がある。そこで、RGB レーザ光を出力するモジュール（RGB レーザモジュール）の光軸上に前眼部観察用の近赤外線カメラを増設し、角膜反射と瞳孔重心から眼位を計測するアイトラッキングシステムを開発する。網膜走査型 mfERG 測定中の被験者の眼位を監視し、広角 OCT で撮影した網膜の構造と網膜機能の位置合わせを実現させる。

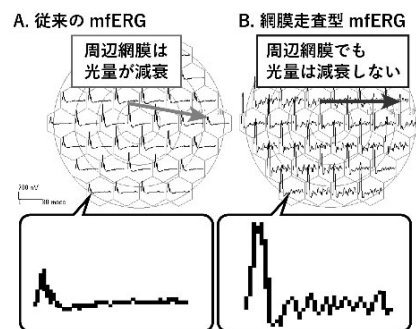


図 5. mfERG 波形の振幅比較

・RGB レーザ光の波長および刺激強度の最適化 [R6 年度、担当：広田、三橋、佐々木、加藤]

図 5 に示した通り、網膜走査型 mfERG は周辺網膜における光量の減衰が従来機よりも低いことが示されている。しかし、錐体視細胞（錐体）は、長波長の光感受性が高い L 錐体、中波長の光感受性が高い M 錐体、短波長の光感受性が高い S 錐体の 3 種類が存在し、全錐体の 90% を占める L 錐体と M 錐体の割合は、屈折異常との関係が予想されている (Hagen LA et al., Vis Res, 2019)。そこで、健常者 200 名を対象として、同一輝度（光刺激 ON: 200 cd/m²、OFF: 2 cd/m²）で RGB レーザ光の波長を短波長（500 nm）から長波長（600 nm）へ 5 nm 刻みで変更したときの網膜活動電位を記録する（設備関係支出 1、教育研究経費支出 1、人件費支出 1-2）。並行して、各被験者の他覚的屈折度をオートレフラクトメータ（TONOREFⅢ、ニデック）、眼軸長を光学式眼軸長測定機（OA-2000、トーメー）で測定する。取得したデータを基に、被験者の屈折異常によって RGB レーザ光の波長および刺激強度を自動変更するアルゴリズムを追加する。mfERG の刺激強度はグリッド毎に調整する必要があるため、代表者の広田が AI 技術の一つであるディープラーニングを用い、各グリッドで得られた mfERG の波形から、AI が自動で刺激強度を最適化するソフトウェア（AI センシング）を開発する（図 6）。

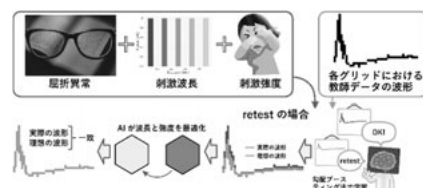


図 6. AI センシングの概要

・アイトラッキングシステムの実装 [R7 年度、担当：広田、三橋、佐々木、加藤]

網膜走査型 mfERG に被験者の固視監視用近赤外線カメラを増設し、前眼部画像から被験者の眼位を計測するアイトラッキングシステムを開発する。既に我々のグループはアイトラッキングシステムの基礎技術を開発している（図 7）。

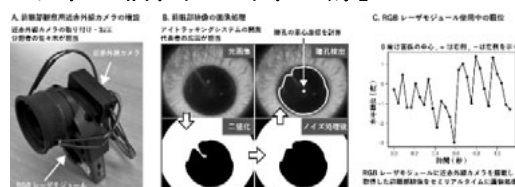


図 7. アイトラッキングシステムの試作

本研究では、アイトラッキングシステムを実用化するため、近赤外線カメラの視野角を広角化し、精度を向上させる。RGB レーザモジュールの光軸上に近赤外線カメラを増設するための光学シミュレーションは分担者の三橋が担当し（図 8）、カメラの増設に伴うカスタマイズの部品開発は分担者の佐々木が担当する。

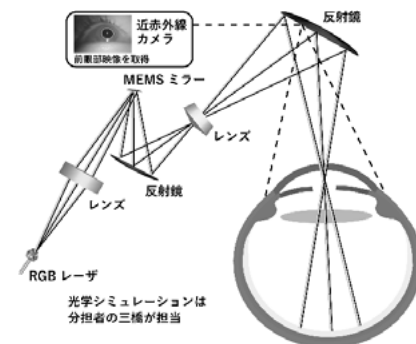


図 8. 視野角拡大のための光学調整

その後、健常者 50 名をリクルートし、アイトラッキングの精度を検証する。アイトラッキングの精度検証では、被験者に動く視標を 300 秒間追従させ、ゲイン（視標の位置と眼位の比）と瞳孔検出エラー率を主要評価項目とする。健常者のゲインは 0.7-1.1 が正常範囲とされている。瞳孔検出エラー率は市販されているアイトラッカーの水準が 10% を基準としている。従って、ゲインが 0.7-1.1 の範囲内かつ瞳孔検出エラー率 10% 以下を目標とする。アイトラッキングの精度を担保できたあと、アイトラッキングシステム ON 時と OFF 時における、網膜活動電位のばらつきを比較する。

3. 研究の成果

・RGB レーザ光の波長および刺激強度の最適化

本研究において、AI センシングの開発に成功した。本研究開発では、波長と光刺激の強度の二つをパラメータとしたが、AI モデルの寄与率を確認すると光刺激の強度のみでモデルを作成したほうが、精度が高いことが判明した。網膜中心部の mfERG 波形と比較して、網膜周辺部の mfERG 波形は振幅が小さくなる。網膜中心部に対する網膜周辺部の振幅減衰率は屈折異常の強さに依存する。従来機が約 80%減衰していたのに対し、AI センシングを活用した網膜走査型 mfERG の減衰率は約 68%と、従来機で課題だった網膜周辺部の振幅減衰を有意に改善できた。当初は、従来機が約 80%の振幅減衰率であったため、60%以下を目標としたが、視細胞（錐体細胞）密度からの概算値であったため、誤差の許容範囲であると考えている。

・アイトラッキングシステムの実装

近赤外線カメラの視野角拡大およびアイトラッキングシステムの開発に成功した。これにより、被検者の視線動揺を確実に捉えることができるようになった。中間目標では水平画角 25mm 以上を目標にしており、達成できたが、眼周囲が多く映り込んだ場合、後述するアイトラッキングの精度に影響を与えることから、視野角 80 度の範囲でトリミングし、解析からは除外した。アイトラッキングシステムは、瞳孔検出エラー率約 5%、サンプリングレート 30Hz でのリアルタイム解析を実現した。

4. 研究の反省・考察

本研究は、1 年目で 2 年目までに予定していた研究内容を完遂することができた。以上のことから、進捗状況は非常に良好だったと考えている。研究成果の一つである AI センシングは、AI の予想よりも振幅が低い/高いで網膜刺激の強度を変更するアルゴリズムを実装することに成功したが、患者を対象とした場合、AI の予測が疾患で悪くなっているのかを健常者データしか手元にない現段階では確定することができないことや、これまでに視覚電気生理の世界で AI センシングを実装した前例がないため、学会のコンセンサスを得る必要があり、今後の mfERG に AI センシングはデフォルト装備として搭載せず、医学的なエビデンスが確立した後に、実装する方向を考えている。

5. 研究発表

(1) 学会誌等

1. **Masakazu Hirota (corresponding author, CA)**, Kakeru Sasaki, Kanako Kato, Ryota Nakagomi, Ryusei Takigawa, Chinatsu Kageyama, Seiji Morino, Makoto Suzuki, Toshifumi Mihashi, Atsushi Mizota, Takao Hayashi. Ocular Accommodative and Pupillary Responses During Fixation on Augmented Reality With a Maxwellian Display. Investigative Ophthalmology & Visual Science 65(11) 30 2024年9月.
2. Megumi Fukushima, **Masakazu Hirota (CA)**, Takafumi Yukimori, Akio Hayashi, Yoko Hirohara, Makoto Saika, Kumiko Matsuoka. Evaluation of objective and subjective binocular ocular refraction with looking in type. BMC Ophthalmology 24 170 2024年4月.

(2) 口頭発表

1. 今 綾香、行森 隆史、境原 学、広原 陽子、雑賀 誠、**広田 雅和**、不二門 尚。Chronosを用いた眼優位性テスト3種の比較評価。第3回 日本老視学会 2025年1月。
2. 奥村 雄一、**広田 雅和**、猪俣 武範、柳野 健、藤尾 謙太、猪俣 明恵、黄 天翔、諸岡 裕城、中尾 新太郎。眼画像および質問紙票を用いた眼疲労予測機械学習モデルの検討。第3回 日本老視学会 2025年1月。
3. 橋爪 くれあ、渡辺 真生、新井 慎司、瀧川 流星、加藤 可奈子、池田 結佳、**広田 雅和**。COメジャーを用いた水平眼球偏位量の評価。第 65 回 日本視能矯正学会 2024年11月。
4. Shiho Kunimatsu-Sanuki, Takeo Fukuchi, Masayo Takahashi, Makoto Itoh, Junpei

- Kuwana, **Masakazu Hirota**, Kenji Inoue, Atsushi Mizota. Characteristics of Older Drivers With Glaucoma in Driving Assessment Clinic. American Academy of Ophthalmology 2024 2024年10月.
5. **広田 雅和**. 視覚障害のメカニズムと日常生活について。厚生労働省 令和 5 年度 自立支援機器イノベーション人材育成事業 2024年9月。
 6. 橋爪 くれあ、加藤 可奈子、瀧川 流星、渡辺 真生、行森 隆史、今 綾香、境原 学、広原 陽子、雑賀 誠、**広田 雅和**。Chronosを使用した立体視検査の評価。第 60 回 日本眼光学学会 2024年8月。
 7. 渡辺 真生、瀧川 流星、**広田 雅和**、新井 慎司、橋爪 くれあ、池田 結佳。imo Plus CSによるコントラスト感度測定の検討。第 60 回 日本眼光学学会 2024年8月。
 8. **広田 雅和**。Cheer up! Revisiting Eye Exams 眼科検査を見直す：他覚的屈折検査を見直そう。第 60 回 日本眼光学学会 2024年8月。
 9. **広田 雅和**、佐々木 翔、加藤 可奈子、中込 亮太、新井 慎司、瀧川 流星、渡辺 真生、橋爪 くれあ、森野 誠治、鈴木 誠、三橋 俊文、井上 裕治、林 孝雄。Maxwellian光学系によるAR映像注視時の眼球屈折度変化：明るさの影響。第 60 回 日本眼光学学会 2024年8月。
 10. **広田 雅和**、渡辺 真生、渡部 維、佐々木 翔、加藤 可奈子、臼井 千恵、林 孝雄、井上 裕治。アンサンブル学習を用いた 眼底写真の回旋偏位量推定。第 80 回 日本弱視斜視学会 2024年6月。
 11. 渡辺 真生、**広田 雅和**、新井 慎司、池田 結佳。ホットアイマスク着用による眼疲労緩和効果の検討。第 80 回 日本弱視斜視学会 2024年6月。
 12. **広田 雅和**。視野障害患者の運転時における視線の動き。第 13 回 日本視野画像学会 学術集会 2024年6月。
 13. **Masakazu Hirota**, Kakeru Sasaki, Kanako Kato, Ryota Nakagomi, Ryusei Takigawa, Chinatsu Kageyama, Morino Seiji, Makoto Suzuki, Toshifumi Mihashi, Atsushi Mizota, Yuji Inoue, Takao Hayashi. Accommodative response while viewing augmented reality images in real settings using Maxwellian display. The Association for Research in Vision and Ophthalmology 2024 2024年5月。
 14. Maki Watanabe, **Masakazu Hirota**, Ryusei Takigawa, Kanako Kato, Yuka Ikeda. The relationship between tear film stability and visual fatigue in smartphone use. The Association for Research in Vision and Ophthalmology 2024 2024年5月。
 15. Takafumi Yukimori, Ryoka Kon, Manabu Sakaiharu, Yoko Hirohara, Makoto Saika, **Masakazu Hirota**, Takashi Fujikado. Comparison of accommodative response between binocular and monocular visions and between open and closed Badal-lens viewings. The Association for Research in Vision and Ophthalmology 2024 2024年5月。
 16. Ryusei Takigawa, **Masakazu Hirota**, Kakeru Sasaki, Chinatsu Kageyama, Takao Hayashi. Effect of Aniseikonia on Visual Fatigue Using Head Mounted Display for Virtual Reality. The Association for Research in Vision and Ophthalmology 2024 2024年5月。
 17. Yuichi Okumura, **Masakazu Hirota**, Akie Midorikawa-Inomata, Ken Nagino, Takashi Negishi, Eiji Ogawa, Shintaro Nakao, Takenori Inomata. The visual fatigue and visually induced motion sickness of a Virtual Reality application for periatric amblyopia therapy. The Association for Research in Vision and Ophthalmology 2024 2024年5月。

他 4 報

(3) 出版物

1. **広田 雅和**。臨床研究における人工知能の活用。眼科手術 37(3) 283-287 2024年7月。
2. **広田 雅和** (担当:分担執筆、 範囲:複視の検査)。眼科診療エクレー4: 最新 弱視・斜視診療エキスパートガイド。中山書店 2024年4月。

2024年度（第49回）學術研究振興資金 學術研究報告

学 校 名	東 海 大 学	研究所名等		
研 究 課 題	THAラットの高学習能力の解明と次世代影響評価法への応用		研 究 分 野	医 学
キ ー ワ ー ド	①THAラット、②次世代影響、③学習・記憶、④リスク評価、⑤化学物質			

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
遠 藤 整	東海大学 医学部医学科	准 教 授	研究統括、学習行動試験、分子生物学の解析

○研究分担者

[illegible]

THA ラットの高学習能力の解明と次世代影響評価法への応用

1. 研究の目的

発生および発育過程における化学物質への曝露において、特に中枢神経系は感受性が高く、学習機能に障害として残存する可能性が高い。しかし、次世代における学習能力への影響は、*in vivo* で評価することは不可能であった。動物個体ごとの知能は個体差が大きく、知能の低下が生まれつきなのか、化学物質の影響であるのか、を判別できないためである。そのため、この課題を乗り越えるような、次世代の学習能力への影響を評価できるモデル動物は存在しなかった。

申請者らが開発した Tokai High Avoider (THA) ラットは、Wistar ラット（一般的な市販のラット）をもとに、頭の良い個体をかけ合わせ続けて系統化した、ユニークな高学習能モデル動物である。THA ラットは、生まれながらに高学習能力が担保され、かつ強固な記憶能力を示し、個体差が極めて小さい実験動物である。この特徴は、次世代の学習能力への影響評価において乗り越えられなかった課題を全て克服し、周産期における仔への影響を鋭敏に検出することができると考えた。

本研究の目的は、化学物質曝露による次世代の学習能力への影響を高感度に捉えるバイオマーカーの確立、全く新しい次世代影響評価法の開発と提供、である。そのため、独自の実験動物 Tokai High Avoider (THA) ラットをフル活用し、実装可能な次世代影響評価系の開発を行う。本研究では、THA ラットの高学習能を規定する分子機構を包括的に理解するとともに、その分子が次世代影響評価法につながるバイオマーカーになり得るのか、次世代影響が懸念されている化学物質の安全性について再評価を行うこととした。

2. 研究の計画

本年度の研究計画は、THA ラットの表現型を規定する因子とその制御機構を包括的に解析することに焦点を当て、学習能を制御する分子の同定を試みた。さらには、学習能を規定する分子を標的とした遺伝子改変THAラットの作成を目指し、ラットでの遺伝子改変動物作製に向けた基盤構築に着手した。以下に取り組んだ項目を示す。

- ① 学習試験の結果から高学習能を示した個体を選別し、THAラットの維持を行った。THAラットは、回避率が95%以上の個体を兄妹交配することで維持されてきた系統であるが、表現型のさらなる均一化を図るため、選抜基準をより明確にして系統維持を行った。レバー押し回避学習行動試験（以下、学習試験）は、一定間隔で発生する電気ショックに対し、レバー押しにより回避する内容である。これは、5秒に1回の間隔で電気刺激が発生し、飼育ボックス内のレバーを押すことで30秒間の回避時間が与えられる。この試験は、1日1時間10回行い、電気ショックの回避率により学習能力を評価した。
- ② WistarラットとTHAラットを用いて学習試験の前後において海馬の遺伝子発現を網羅的に検討した。遺伝子発現のクラスター解析およびネットワーク解析を行い、高学習能を規定する分子動態を把握した。その遺伝子群を中心に、学習や記憶が成立する過程を時系列に沿って遺伝子発現を検討した。
- ③ THAラットに特徴的な代謝産物の解析を行うため、網羅的に代謝物を比較するメタボローム解析を行った。WistarラットとTHAラットの海馬由来の代謝物の定量を行い、表現型を説明できる代謝物の抽出を試みた。
- ④ 卵管内の胚に直接遺伝子を導入する（胚の体外操作を必要としない）画期的なゲノム編集技術「*i*-GONAD法」により、短期間で遺伝子改変THAラットを作成するプロトコルの確立を目指した。

3. 研究の成果

(1) THA ラットの系統維持と表現型のさらなる純化

THA ラットは、Wistar ラットをもとに高学習能を示した個体を選別し兄妹交配を繰り返し行うことで確立した、高学習能モデル動物である。学習能力は、学習試験によって得られた回避率から客観的に評価することができる。THA ラットの表現型の均一化を目指すため、選抜交配の基準をより明確にして系統維持を行った。学習成績の選抜基準は、10 回の学習試験で 5 回目の回避率が 90%以上、6 回目以降から 95%以上の回避率を示すものとした。現在では、ほぼ全ての個体でその選択基準を満たし、学習効率が良く、Wistar ラットのような大きなバラツキは全くない系統であることが示された。

(2) Wistar ラットと THA ラットの表現型と海馬における遺伝子発現の比較

学習や記憶を担う遺伝子を調べるため、学習試験の成績をもとに、低学習能 Wistar ラット (Wistar-L)、高学習能 Wistar ラット (Wistar-H)、THA ラット (THA) の 3 グループに分けた。学習試験 5 日後、3 つのグループの脳組織 (海馬) から RNA を抽出し、マイクロアレイ (Agilent technologies 社) による網羅的な遺伝子発現解析を行った。Wistar-L に比べ Wistar-H で 2 倍以上発現が上昇した遺伝子数は 404 個、2 倍以上発現が低下した遺伝子数は 374 個であった。一方で、Wistar-L に比べ THA で 2 倍以上発現が上昇した遺伝子数は 988 個、2 倍以上発現が低下した遺伝子数は 634 個であった。次に、Wistar-L と比較し Wistar-H と THA で共通して遺伝子発現が 2 倍以上の上昇または低下したものは、olfactory 遺伝子群、G タンパク質共役受容体 (GPCR) 遺伝子群、MHC class I 遺伝子群に属する遺伝子であった。これらの遺伝子には多数のサブファミリーが存在し、学習・記憶を司る高次脳機能のみならず、多様な生理機能に関与することが報告されている。系統が異なる Wistar と THA における共通遺伝子群の同定から、学習行動に関わる普遍的な分子の存在が示唆されたものの、学習や記憶に関わる分子の複雑性も示された結果となった。

(3) THA ラットの学習行動に連動する遺伝子発現の特徴

THA ラットの表現型の特徴を分子レベルで捉えるため、学習試験の時系列に沿って海馬組織を採材し、網羅的に遺伝子発現を検討した。THA ラットにおける学習試験成績の特徴は、試験開始後 5 回目までにほぼ全固体が約 95%の回避率を示し、10 回目までその記憶が維持されていることが挙げられる。そこで、THA ラットの学習行動に関わる共通の遺伝子を探索するため、学習試験開始前 (Day 0)、学習試験 5 回目終了時 (Day 5)、学習試験終了時 (Day 10) において海馬を採材し、マイクロアレイにより遺伝子発現の網羅的解析を行った。Day 0 と比較し、Day 5 と Day 10 が 2 倍以上発現変動した遺伝子のうち、発現が上昇した共通の遺伝子は 125 個、減少した共通の遺伝子は 590 個あった。すなわち、上昇した 125 個の遺伝子発現の中には、学習の立ち上がりに関わり、かつ記憶の固定に重要な役割を担う遺伝子が含まれていることが示唆された。続いて、Day 5 と Day 10 に共通して発現が上昇した遺伝子において、Gene Ontology 解析を行い遺伝子のグループ分けを行った。その結果、平滑筋細胞の挙動や増殖に関わる遺伝子群、学習や記憶の制御に重要な γ -アミノ酪酸 (GABA) のシグナル伝達に関わる遺伝子群などが共通していた。

(4) THA ラットに特徴的な代謝産物の解析

THA ラットの高学習能を支える因子を探索するため、代謝物に着目し解析を行った。代謝物は表現型に最も近い因子であるため、高学習能力を表現型とする代謝物の中には、THA ラットに特徴的な因子が含まれていると予想した。これまでの先行研究において、Wistar-L、Wistar-H、および THA ラットの海馬を用いたメタボローム解析の結果から、分岐鎖アミノ酸 BCAA (Branched Chain Amino Acids) が THA ラットに特徴的な代謝物であることを明らかにしてきた。海馬の代謝物について主成分分析による特徴付けを行ったところ、Wistar-L、Wistar-H、および THA ラットのクラスターは、全く異なる位置にグループ化されることが分かった。この結果から、THA ラットは Wistar ラットをもとに系統化されてきたものの、THA ラットの表現型のみならず代謝物の全体像は Wistar ラットと異なるため、独立した別系統であることが明らかとなった。

BCAA は神経系や脳組織において、BCAT1 によって代謝される。また、BCAA 代謝の活性化により代謝経路に関わるキナーゼ BCKDK のリン酸化は抑制される。そこで、海馬における BCAT1 のタンパク発現と BCKDK のリン酸化を検討したところ、Wistar ラットと比較し THA ラットは BCAT1 の発現亢進と BCKDK のリン酸化低下を示し、BCAA 代謝が促進していることが分かった。このことから、BCAA 量が多いことと、その代謝活性化が THA ラットを特徴付ける 1 つであることが分かった。

(5) THA ラットを用いた遺伝子改変動物作製に向けた基盤構築

THA ラットにおける学習や記憶に関わる候補遺伝子を決定するためには、THA ラットを基にして、学習や記憶に関わる候補遺伝子を欠失させ、個体レベルで遺伝子の機能解析を行うことが必要不可欠となる。THA ラットの遺伝子改変動物を作製するため、卵管内の胚に直接遺伝子を導入する（胚の体外操作を必要としない）ゲノム編集技術「*i*-GONAD 法」に着手した。THA ラットでの *i*-GONAD 法の至適条件を決定するため、マウス系統で適応されている条件でラットのゲノム編集個体が得られるかを検討した。雌雄の THA ラットを 1 対 1 で同居させ、陰栓確認日に両側の卵管を摘出し、実体顕微鏡下でターゲット遺伝子 X に対する sgRNA、Cas9 タンパクの混合液を膨大部上部（卵巣側）に注入後、100 V、100 mA の条件下でエレクトロポレーションを行った。しかしながら、効率的なゲノム編集個体の作出は困難であったため、エレクトロポレーションの電流値を変更し条件の再検討を行った。その結果、効率よくゲノム編集された個体を得る電流値を決定することができた。今後はより洗練された *i*-GONAD プロトコルを確立するため、過排卵処置など様々な条件検討に取り組む予定である。

4. 研究の反省・考察

THA ラットの系統維持は、申請者が管理する飼養施設内で自家繁殖しているため、研究に用いるための使用匹数を確保するだけで多大な時間と労力が必要であった。また、学習能力という高次脳機能を評価する上で、飼育条件や行動試験を行う場所の環境を一定にコントロールすることが最重要課題であることを改めて認識した。本研究では、それらの課題を踏まえつつ、THA ラットの高学習能を規定する因子について包括的に解析できたため、得られた研究結果は科学的妥当性が担保された意義のある成果であると考えた。引き続き、THA ラットの高学習能を規定する分子が化学物質曝露による学習能力への影響を評価するバイオマーカーとなり得るのかについて、研究を進めていくことを予定している。

5. 研究発表

(1) 学会誌等

- ① Keiji Mochida, Kohtaro Morita, Yoshio Sasaoka, Kento Morita, Hitoshi Endo, Ayumi Hasegawa, Masahide Asano, Atsuo Ogura. Superovulation with an anti-inhibin monoclonal antibody improves the reproductive performance of rat strains by increasing the pregnancy rate and the litter size. Scientific reports, 14, 8294, 2024.

(2) 口頭発表

なし

(3) 出版物

なし

学 校 名	東 京 女 子 医 科 大 学	研究所名等		
研 究 課 題	関節リウマチ発症高リスク個体の免疫異常の探索 ー関節炎発症に対する遺伝的要因とDysbiosisの 関与ー		研 究 分 野	医 学
キ ー ワ ー ド	①関節リウマチ ②Pre-clinical ③Shared epitope ④Dysbiosis			

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
岡 本 祐 子	東京女子医科大学 医学部	講 師	研究の統括、臨床検体の収集、測定、解析の実施

○研究分担者

[illegible]

関節リウマチ発症高リスク個体の免疫異常の探索

－関節炎発症に対する遺伝的要因と Dysbiosis の関与－

1. 研究の目的

抗 CCP (cyclic citrullinated peptide) 抗体は、シトルリン化抗原を認識する自己抗体である。全人口の約 1%が罹患する関節リウマチ (RA) 患者においては、関節炎を発症する 5 年以上前から血中に抗 CCP 抗体が検出される前関節炎期を経て、関節炎が発症する。欧米では、抗 CCP 抗体陽性だが関節炎のない将来的な RA 発症高リスク者 (At-risk 者) を対象に、抗リウマチ薬を用いて、RA 発症予防を目的とする介入試験が行われているが、抗 CCP 抗体が産生される過程と、関節痛、関節炎発症に至る過程では、免疫学的メカニズムが異なる可能性が考えられる。安全性が高く、前関節炎期の免疫異常を特異的に制御する、新規の発症予防方法の開発が望まれている。

本研究では介入研究の前段階として、抗 CCP 抗体陽性だが関節炎のない At-risk 者の免疫異常の探索を目的とする。抗 CCP 抗体陽性 At-risk 者の観察開始時における、唾液と糞便の細菌叢と赤血球膜と血漿の ω -3/ ω -6 脂肪酸バランスが、At-risk 者の免疫機能と、その後の関節炎発症に関連し、さらにその関連は遺伝背景により異なると仮説を立て、以下の 2 つの目的を設定した。

- (1) 抗 CCP 抗体陽性 At-risk 者に特徴的な免疫異常を探索する。特に RA 発症との関連が推察される、遺伝的要因、口腔と腸管の細菌叢、末梢血リンパ球のフェノタイプと T 細胞受容体レパトア、血清サイトカインと可溶性免疫チェックポイント分子プロファイルに着目した解析を実施する。
- (2) 抗 CCP 抗体陽性 At-risk 者における、RA 発症予測モデルを構築する。

2. 研究の計画

- (1) 患者の登録と検体収集
 - ①当施設で実施中の RA 発症高リスク者の前向き観察研究に同意した抗 CCP 抗体陽性 At-risk 者、対照群として、抗 CCP 抗体陽性早期 RA 患者、健常人 (各群 50 人) から、臨床情報と検体の収集を実施する。
 - ②末梢血リンパ球、血清、血漿、DNA、糞便と唾液を、研究用検体とする。
 - ③At-risk 者は、登録時、RA 発症時、RA を発症しない場合は年に 1 回の検体採取を実施する。
- (2) 収集した検体を用いて以下の測定を実施する。
 - ①遺伝解析 (HLA の同定、Polygenic risk score の算出)
 - ②唾液と糞便の 16S rRNA 遺伝子解析、糞便のメタゲノム解析
 - ③赤血球膜と血漿の ω -3/ ω -6 脂肪酸測定
 - ④末梢血リンパ球のフェノタイピングと T 細胞受容体レパトア解析
 - ⑤血清サイトカインと可溶性免疫チェックポイント分子の測定
- (3) 臨床情報、上記の測定結果と、At-risk 者の予後 (RA 発症有無) との統合解析を実施する。

3. 研究の成果

(1) At-risk 者の登録と検体採取

当施設を初診した関節痛患者のうち、抗 CCP 抗体陽性で臨床的な関節炎を認めなかった患者を At-risk 者として登録した。また、健診受診時に本研究に参加し抗 CCP 抗体を測定し、陽性であった無症状者も At-risk 者として登録した。At-risk 者は登録時に研究用検体を採取し、関節炎発症の有無につき経過観察した。臨床的な関節炎を発症し、米国リウマチ学会/欧州リウマチ学会が作成した 2010 年 RA 分類基準を満たした患者を RA と診断した。2025 年度末までに 65 例の At-risk 者を登録し、検体採取を完了した。また、対照群として早期 RA 患者 34 例、健常人 32 例を登録し、検体採取を完了した。

(2) 自己抗体プロファイルと RA 発症の関連

経過観察した At-risk 者からの RA 発症は 21 例 (32%) であった。RA 発症は全例関節痛受診

患者であり、健診抗 CCP 抗体陽性者からの RA 発症はなかった。関節痛患者中の RA 発症は 46% であった。登録時の抗 CCP 抗体とリウマトイド因子 (RF) の抗体価と、RA 発症との関連を解析し、**登録時の RF 高力価陽性 (カットオフ値の 3 倍以上) が、RA 発症リスクである**ことを見出し、学会発表した (口頭発表①)。また、現在日本の臨床で使用される第 2 世代抗 CCP 抗体と、米国で新規開発され日本未導入である第 3 世代抗 CCP 抗体の差異について検討、報告した (口頭発表⑦)。

(3) 末梢血リンパ球のマスサイトメトリー解析

At-risk 者の、その後の RA 発症と関連した末梢血リンパ球サブセットを探索するため、本コホートの末梢血単核細胞 (PBMC) を用いたマスサイトメトリー解析を実施した。T 細胞において、自己抗体産生に重要な役割を果たす循環濾胞ヘルパー T 細胞 (cTfh) と循環末梢ヘルパー T 細胞 (cTph 細胞)、制御性 T 細胞 (Treg) に着目し、機能分子の発現を測定した。cTph 細胞は、細胞膜上に、T 細胞の活性化を抑制的に調整する免疫チェック分子である、Programmed cell death 1 (PD-1) を高発現する。At-risk 者、早期 RA 患者、健常人の PBMC を用いた測定を行い、非バイアスのアルゴリズムを用いた網羅的解析を実施した。結果、At-risk 者と、早期 RA 患者の PBMC 中に、活性化分子である HLA-DR を高発現する cTph (HLA-DR⁺ cTph) 細胞、ICOS と HLA-DR を高発現する Treg の増加を認めた。特に、HLA-DR⁺ cTph 細胞は、検体採取から 1 年以内に RA を発症した At-risk 者の登録時において、有意な増加を認めた。臨床的な関節炎のない At-risk 者および早期 RA 患者に認められた cTph 細胞の増加および活性化は、抗 CCP 抗体産生から関節炎発症の過程に cTph 細胞が関与する可能性を示唆すると考えられた。本知見について、米国コロラド大学との共同研究を実施し、米国 At-risk 者コホートでも同様に、HLA-DR⁺ cTph 細胞の増加が確認された (発表論文①、口頭発表②)。

(4) 可溶性免疫チェックポイント分子の測定

cTph 細胞が RA 発症前から増加している点および、cTph 細胞の細胞膜上に高発現する PD-1 が可溶性分子 (sPD-1) として血清中に同定される点に着目し、本コホートの血清中の、sPD-1 を含む 10 の可溶性チェックポイント分子を Meso Scale Discovery assay を用いて測定した。At-risk 者において、血清中の sPD-1 の上昇を認め、sPD-1 の上昇は、その後の RA 発症のリスク因子であった。また、At-risk 者の登録時と RA 発症時、RA に進展しなかった At-risk 者は登録時と登録 1 年後の 2 点の経時評価を行った。RA に進展した At-risk 者では、持続的に sPD-1 が上昇していたのに対し、RA 非進展 At-risk 者では sPD-1 が経時的に低下しており、sPD-1 が RA 発症に関与している可能性が示唆された (口頭発表③⑤⑥、論文投稿準備中)。

(5) 糞便メタゲノム解析

本コホート登録者の糞便 DNA のショットガンメタゲノムシーケンスを実施した。現在、得られた配列データをもとに、細菌の分類学的構成および代謝経路についての解析を実施中である。

(6) 遺伝解析

本コホート登録者の DNA を用いてシーケンスを実施しており、今後、HLA 推定、多遺伝子性リスクスコア (Polygenic risk score; PRS) の算出を行う。

4. 研究の反省・考察

(1) 2024 年度は計画通りに対象者の登録と検体収集を実施した。2025 年度も引き続き対象者の登録と検体収集を進める。

(2) 計画した測定は、概ね予定通りに実施できている。2025 年度は解析を糞便メタゲノム解析、遺伝解析を進め、統合解析を完了する見込みである。

5. 研究発表

(1) 学会誌等

① Takada H, Demoruelle MK, Deane KD, Nakamura S, Katsumata Y, Ikari K, Buckner JH, Robinson WH, Seifert JA, Feser ML, Moss L, Norris JM, Harigai M, Hsieh EWY, Holers VM, Okamoto Y. Expansion of HLA-DR Positive Peripheral Helper T and Naive B Cells in Anticitrullinated Protein Antibody-Positive Individuals At Risk for Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheumatol.* 2024 Jul;76(7):1023-1035.

(2) 口頭発表

- ①「抗CCP抗体陽性関節リウマチ発症ハイリスク者における、自己抗体と関節リウマチ発症の関連の前向き検討」 本山亮、岡本祐子、中村昌平、勝又康弘、針谷正祥、第67回 日本リウマチ学会総会・学術集会、福岡、2023年4月26日
- ②「Expansion of circulating HLA-DR⁺ peripheral helper T cells and CXCR5⁺CD38⁺ mature naïve B cells in ACPA-positive individuals at-risk for and with classified RA」 H. Takada, M. Kristen Demoruelle, Kevin D. Deane, Shohei Nakamura, Yasuhiro Katsumata, Katsunori Ikari, Jane H. Buckner, William H. Robinson, Jennifer A. Seifert, Marie L. Feser, LauraKay Moss, Jill M. Norris, Masayoshi Harigai, Elena W.Y. Hsieh, V. Michael Holers, Yuko Okamoto, 2023年11月15日、米国リウマチ学会総会、San Diego, USA
- ③「抗CCP抗体陽性関節リウマチ発症ハイリスク者における、血清可溶性PD-1と関節リウマチ発症の関連に関する検討」 本山 亮、岡本 祐子、中村 昌平、勝又 康弘、針谷 正祥、第68回 日本リウマチ学会総会・学術集会、福岡、2024年4月18日
- ④「Jak阻害薬内服中関節リウマチ患者の末梢血免疫細胞における、サイトカインシグナル抑制の検討」 中村 昌平、岡本 祐子、針谷 正祥、第68回 日本リウマチ学会総会・学術集会、福岡、2024年4月18日
- ⑤「Association of Soluble Immune Checkpoint Proteins with the Risk of Developing RA in ACPA-positive At-risk Individuals」 Ryo Motoyama, Shohei Nakamura, Eisuke Inoue, Hideto Takada, Masayoshi Harigai, Yuko Okamoto, 2024年11月16日、米国リウマチ学会総会、Washington DC, USA
- ⑥「Sustained Elevation of Soluble Immune Checkpoint Proteins during Development of ACPA-positive rheumatoid arthritis」 Ryo Motoyama, Shohei Nakamura, Eisuke Inoue, Hideto Takada, Masayoshi Harigai, Yuko Okamoto, The 69th Annual General Assembly and Scientific Meeting of the Japan College of Rheumatology, Fukuoka, 2025年4月26日
- ⑦「早期関節リウマチ患者と健診受診者における抗CCP2抗体と抗CCP3抗体の検討」 中村昌平、本山亮、高田秀人、針谷正祥、岡本祐子、第69回 日本リウマチ学会総会・学術集会、2025年4月24日

(3) 出版物

- ①「関節リウマチにおける末梢ヘルパーT細胞」 岡本祐子、高田秀人、リウマチ科、科学評論社、2025、Jan;73(1):67-73
- ②「関節リウマチ発症前個体における末梢ヘルパーT細胞」 高田秀人、岡本祐子、中村昌平、森山倫奈、本山亮、菊池華恵、伊能綾子、勝又康弘、針谷正祥、総合医科学研究所紀要44、東京女子医科大学総合医科学研究所、2025年3月

2024年度（第49回）學術研究振興資金 學術研究報告

学 校 名	東 京 農 業 大 学	研究所名等	
研 究 課 題	アフリカの農業を救うストリゴラクトン高活性類縁体の創出	研 究 分 野	農 学
キ ー ワ ー ド	①ストリゴラクトン ②根寄生雑草 ③アフリカ農業支援 ④生合成工学 ⑤光合成		

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
渡 辺 智	生 命 科 学 部	准 教 授	研究代表者 総括

○研究分担者

[illegible]

アフリカの農業を救うストリゴラクトン高活性類縁体の創出

1. 研究の目的

根寄生雑草ストライガは、アフリカ全域で主要作物に寄生し、生育不良、収量の減少を引き起こす。被害額は100億ドルと試算されており、エイズやマラリアと並ぶアフリカの重要問題として認識されている。植物ホルモンであるストリゴラクトン（SL）はストライガの自殺発芽誘導物質として知られており、スーダンでは圃場試験でストライガ駆除に一定の効果が認められている（Kountche, 2019）。一方、気候や土壌条件も多様なアフリカでは地域により天然SLの安定性や効果にばらつきがあり駆除効果が認められない場合も多い。加えて、実験室レベルでも天然SLは分解されやすく、土壌散布するには合成コストが高いという問題も挙げられる。広大なアフリカにおいてSLによる根寄生雑草の防除を実装するには安価かつ大量にSLを生産する系の確立及び、地域特性に適合した活性と安定性を有するSLを創出する必要がある。

申請者らは、SL化合物を大量に生産するためのホストとして光合成微生物「藍藻」と真核微生物「酵母」に着目した。植物におけるSL生産の場合は葉緑体と細胞質でありβカロテンを出発物質として前駆体カーラクトン（CL）まで葉緑体で生産され、細胞質に局在するP450酵素MAX1により合成される（Zhang, 2014）。葉緑体の起源生物である藍藻はβカロテンを豊富に含み葉緑体と同様の代謝活性を有する。一方、酵母の細胞内環境は植物細胞質と類似しておりMAX1を機能的に発現させることができる。これまでに藍藻シネコッカス種において植物由来SL代謝系遺伝子（D27、CCD7、CCD8）を導入し、CLを高生産することに成功した（特願2020-22999）。さらにこれをイネのMAX1ホモログを導入した酵母と共培養することで、作物の5000倍以上の高効率でのSL生産を達成した（特願2021-164871）。

本研究では、これまでに構築した藍藻-酵母によるSL生産系を改良し、SL生産システムの更なる効率化を図るとともに、多様な根寄生雑草に高い活性を持ち、アフリカ土壌においても安定なSL類縁体（High active-and stable-SL: H-SL）を創製する。アフリカにおけるSLの社会実装に向けて、スーダンとは異なる気候、土壌条件の地域を対象としてストライガ被害および分布状況、土壌環境の調査を行うと共にアフリカでのSLによるストライガ防除法の実装可能性を検討する。主な研究実施項目は以下の通りである。

- (1) SL生産システム効率化
- (2) 新規SL類縁体H-SLのスクリーニング
- (3) アフリカにおけるストライガ汚染状況、土壌性質の調査
- (4) H-SLの性能評価と構造決定
- (5) H-SLのアフリカ土壌での安定性、ストライガ防除効果の検証

2. 研究の計画

2024年度は以下の計画に沿って実施した。

- (1) SL生産システムの効率化：藍藻CL生産株の代謝ボトルネック解除に向けて高い活性をもつCL合成酵素を探索するとともに、合成酵素の改変を進め経路を強化する。
- (2) 新規SL類縁体H-SLスクリーニング系の構築：アスパラガス、ラッカセイ等のMAX1ホモログを酵母へと組み込みSL合成への効果を調べる。
- (3) アフリカにおけるストライガ汚染状況、土壌性質の調査：ジブチにおいて土壌の成分を分析すると共に、根寄生植物の汚染調査を実施する。シーケンスによりジブチ土壌の菌叢を明らかにする。
- (4) H-SLの性能評価・構造解析：藍藻-酵母を用いて生産したSLについてストライガ等、根寄生植物の発芽を指標に生理活性を評価する。研究の進展によりH-SLが得られた場合、現状のSLと効果を比較する。

3. 研究の成果

(1) SL生産システムの効率化

- ① 藍藻CL生産株の代謝酵素の検討：新たに三種の藍藻（*Geminocystis* NIES-3709、*Synechococcus* PCC 7335、*Leptolyngbya* PCC 7375）にD27と相同な遺伝子を見出したため、被子植物タルウマゴヤシのD27とともに、それぞれCL合成プラスミドに組み込み、これを形質転換した組換え藍藻を得た。CL生産について調べた結果、すべてのコンストラクトでCL生産を確認した。CL合成量は当初から用いてきた緑藻D27用いたCL生産藍藻より増加した。構築した8種のコンストラクトの中では藍藻*Acaryochloris* D27 (AmD27)を用いたCL生産プラスミドがもっとも多くCLが生産されたため、以後の実験にはAmD27を用いることとした。D27の次の反応を担うCCD7およびCCD8について、ホスト藍藻に最適化した人工遺伝子をデザインし、これをCL生産系に組み込んで生産量への影響を比較したがCL生産量はコドン改変前と同程度であった。
- ② CL生産ホスト藍藻の検討：これまでホストとして用いてきた藍藻*Synechococcus* PCC 7942の近縁種であり、増殖が早いと言われている*Synechococcus* UTEX 2973にCL生産プラスミドを形質転換し、CL生産量を比較した。予想に反し、CL生産量は20分の1にまで減少した。
- ③ SL生産量の最適化：上記のCL生産藍藻とMAX1発現酵母を混ぜて培養し、培養液中に含まれるSL（4-デオキシオロバンコール、4D0）の生産量を比較した。CL生産量に比例して4D0生産量も増加すると期待したが、予想に反し、4D0生産量はCL生産量に依らず一定であった。

(2) 新規SL類縁体H-SLスクリーニング系の構築

多様な天然型MAX1の導入とスクリーニング：自然界では多様なSLが存在しており、植物ごとにそれぞれのSLに対する感度が異なることが知られている。これまで研究に用いてきたイネMAX1が生産する4D0は、典型型のSLに分類される。一方、アスパラガスやラッカセイのMAX1ホモログ（AoMAX1, AhMAX1）は、骨格が異なる非典型型SLブリオシンビオール（BSB）を生成する。そこで、AoMAX1, AhMAX1を発現する酵母をそれぞれ取得し、CL生産藍藻と共培養することでSLを生産させた。期待通り、BSBとBSB異性体をえることができ、酵母で発現させるMAX1を変えることで多様なSLを効率よく生産できることがわかった。

(3) アフリカにおけるストライガ汚染状況、土壌性質の調査

ジブチの圃場より抽出したDNAについて、アンプリコンシーケンスにより菌叢を解析した。施肥の有無で比較すると、施肥した土壌ではDNAの回収率が向上し、菌叢が多様化することがわかった。また、ある圃場では硝酸細菌群に分類される*Mesorhizobium*が施肥された農地で有意に増えていることが明らかとなった。

(4) H-SLの性能評価・構造解析

藍藻-酵母を用いて生産したSL（4D0）の生理活性について、根寄生植物であるストライガおよびオロバンキの種子の発芽を指標に確認した。今後、これまでに得られた藍藻、酵母株や培養の条件を検討することで、より大規模なスケールでの研究を実施したい。

尚、上記の研究を進めるにあたり、無菌操作を行うための卓上式クリーンベンチ、作成した株を凍結保存するためのフリーズ超低温槽、およびデータ解析のためのパソコンを新規に購入した。

4. 研究の反省・考察

本研究から、利用する酵素や培養条件、ホストとする藍藻種など、CL生産の条件を検討できた。特に初発酵素のD27については、藍藻がD27ホモログをもつことを新たに発見し、これを利用することでCL生産量を増産できた。一方、酵母との共培養による4D0生産量はCL生産量に依らず一定であったことから、SL生産量を増加させるためには、MAX1発現酵母の条件の検討が必要であることがわかった。

酵母において発現させるMAX1ホモログを変更することで、非典型SLであるBSBを生産させることに成功した。根寄生植物は植物ごとに感知するSLが異なることが知られている。本発見は多様なSLを大量に生産できる可能性を示した画期的な成果であり、今後、実用化に向けてさらなる生産経路の強化や大量培養にむけた条件の検討が必要である。

アフリカ、ジブチでの調査を実施し、土壌の性質や菌叢を明らかにした。ジブチ土壌はアルカリ性であり窒素、リン、カリウム等の作物の栽培に必要な栄養塩が不足していることが

わかった。施肥によって一部改善が見られたが、リンが不足する傾向が認められた。家畜の糞などリンを多く含む肥料を多く施肥することで土壌の性質改善が期待できる。また、菌叢解析からも、ジブチの圃場の土壌が農業に適していないことが明らかとなった。施肥により、菌叢が多様化することが確認でき、土壌微生物の観点からも土壌の質を評価できることがわかった。また、当初の予想に反し、ジブチで実施した生物試験（根寄生植物感受性イネを用いた試験）では根寄生植物が検出されなかった。ジブチの土壌は栄養に乏しく農地としてほとんど利用されてこなかったこと、根寄生植物が蔓延している中央アフリカから離れていることから、現状では根寄生植物に汚染されていないと考えられる。今後、より感度の高い解析方法などで、より詳細に調べる必要がある。

5. 研究発表

(1) 学会誌等

- ① Abdel-Hady GN, Hino T, Murakami H, Miwa A, Thi Thuy Cao L, Kuroki T, Nimura-Matsune K, Ikeda T, Ishida T, Funabashi H, Watanabe S, Kuroda A, Hirota R. Laboratory evolution and characterization of nitrate-resistant phosphite dehydrogenase (PtxD) for enhanced cyanobacterial cultivation. *J Biotechnol.* **402** 59-68 (2025)
- ② Schmidt N, Stappert N, Nimura-Matsune K, Watanabe S, Sobotka R, Hagemann M, Hess WR. Epigenetic control of tetrapyrrole biosynthesis by m4C DNA methylation in a cyanobacterium. *DNA Res.* **31**(6):dsae035 (2024)
- ③ Sato M, Kawaguchi T, Maeda K, Watanabe M, Ikeuchi M, Narikawa R, Watanabe S. Functional Modification of Cyanobacterial Phycobiliprotein and Phycobilisomes through Bilin Metabolism Control. *ACS Synth Biol.* **13**(8):2391-2401 (2024)
- ④ Toda N, Inoue-Kashino N, Fujita H, Yoshida R, Nimura-Matsune K, Watanabe S, Kuroda A, Kashino Y, Hirota R. Cell morphology engineering enhances grazing resistance of *Synechococcus elongatus* PCC 7942 for non-sterile large-scale cultivation. *J Biosci Bioeng.* **137**(4):245-253 (2024)

(2) 口頭発表

- ① 渡辺智、シアノバクテリアにおける遺伝子工学技術開発～新規複製タンパク質の発見とその利用～日本農芸化学会2025年度大会（2025年3月）
- ② 岩田みさき、佐藤瑞穂、川口毅、前田海成、渡辺麻衣、池内昌彦、成川礼、渡辺智、ベリン合成制御によるシアノバクテリアのフィコビリソームの機能改変、第66回日本植物生理学会年会（2025年3月）

(3) 出版物

なし

2024年度（第49回）學術研究振興資金 學術研究報告

学 校 名	東 邦 大 学	研究所名等	
研 究 課 題	新規性差マーカーを用いた性差ニューロンの機能解剖学的研究		研 究 分 野 医 学
キ ー ワ ー ド	①視床下部 ②ニューロン ③性的二型 ④本能行動 ⑤光遺伝学 ⑥単一シナプスラベル ⑦薬理遺伝学		

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
船 戸 弘 正	東 邦 大 学 医 学 部	教 授	研究統括とデータ解析

○研究分担者

[illegible]

新規性差マーカーを用いた性差ニューロンの機能解剖学的研究

1. 研究の目的

人口の高齢化や社会の高度情報化を背景に、アルツハイマー病に代表される神経変性疾患患者や、うつ病に代表される精神科疾患患者が激増している。これらの発症には明瞭な性差がある。脳の構造や機能には明瞭な性差があり、このことが生理的機能や疾患発症リスクをもたらしている。この脳の構造的機能的性差がどのように形成され、どのように生理的な性差を生み出しているのかを明らかにすることは、生物学的にも医学的にも重要な課題である。

古典的な染色方法によってサイズやニューロン数に雌雄差のある脳部位が、視床下部や扁桃体に見出されてきた。雌雄差のあるニューロンがどのような役割を果たしているかを明らかにするためには、そのニューロン集団のみを薬理遺伝学的手法によって人為的に活性化したり、細胞内カルシウムセンサーによってニューロン活動を可視化したり、順行性もしくは逆行性とレーザー蛍光蛋白質によって軸索の投射先や投射元を同定することが必要になる。これらの手法はすべ標的ニューロンのみに発現するマーカー遺伝子の利用が前提になっている。そのマーカー遺伝子座に DNA 組み換え酵素 Cre を挿入することによって、標的遺伝子のみに DNA 組み換え酵素 Cre を発現させることが可能となる。この Cre 依存的なシステムが使えるかどうか、研究の進展がかかっている。

これまで、脳の構造的な性差は精細な観察によって報告されていたものの、その機能的な意義については明らかにされてこなかった。その理由は性差ニューロン特異的なマーカーが存在しなかったためである。我々は、明瞭な性差を示す視床下部視索前野、分界条床核、腹内側扁桃核のニューロン特異的に発現する Moxd1 を見出した。すでに Moxd1 特異的に DNA 組み換え酵素 Cre を発現する Moxd1-Cre マウスを作成し、期待通りに性差ニューロン特異的な DNA 組み換えができることを確認済みである。

目標は、我々が独自に見出し作成した性差ニューロン特異的 Cre マウスを用いた機能解剖学な検討により、脳の構造的性差が機能的な性差や性行動等の性特異的行動を制御しているのかを解明することである。

2. 研究の計画

性差ニューロンの光遺伝学的操作による行動変容観察視床下部腹内側核、分界条床核、腹内側扁桃核に存在する性差ニューロン (Moxd1発現ニューロン) の機能的役割を明らかにするために、アデノ随伴ウイルスをMoxd1-Creマウスの視床下部腹内側核、分界条床核または腹内側扁桃核に局所投与する。アデノ随伴ウイルスには、DIO-ChR2 (光刺激による脱分極) もしくはDIO-ArchT (光刺激による活動抑制) が組み込まれているため、Moxd1発現ニューロンのみがチャネルロドプシン (ChR2) もしくはArchTを発現する。光ファイバーと高輝度LED (Cree社) を用いた光刺激により、ChR2を発現させた場合は神経活動が促進し、ArchTを発現させた場合は神経活動が抑制される。観察する行動は、性行動、養育行動、攻撃行動、営巣行動である。光刺激による急性の行動変容効果を検討するとともに、光刺激を1時間断続的に実施する亜急性刺激を行うことで、行動モチベーションの加算的效果を検討する。睡眠覚醒行動は脳波筋電図に基づいて判定する。

光遺伝学的操作は高い時間分解能で秒単位から分単位の行動変容を検討できるが、多くの行動は数時間の経過で変化する。また、睡眠覚醒のように恒常性を持って制御されている行動も時間単位、もしくはそれ以上の観察が必要になる。性差ニューロン (Moxd1発現ニューロン) を薬理遺伝学的に操作することにより、時間単位で活性化もしくは抑制した際の行動変容を検討する。アデノ随伴ウイルスをMoxd1-Creマウスの視床下部腹内側核、分界条床核または腹内側扁桃核に局所投与する。

アデノ随伴ウイルスには、DIO-hM3Dq (CNOまたはDCZの腹腔内投与により活性化する) もしくはDIO-hM4Di (CNOまたはDCZの腹腔内投与により活動抑制) が組み込まれている。観察する行動は、性行動、養育行動、攻撃行動、営巣行動である。

性差ニューロンの薬理遺伝学的操作による行動変容観察 研究計画 1 の光遺伝学的操

作は高い時間分解能で秒単位から分単位の行動変容を検討できるが、多くの行動は数時間の経過で変化する。また、睡眠覚醒のように恒常性を持って制御されている行動も時間単位、もしくはそれ以上の観察が必要になる。性差ニューロン（Moxd1発現ニューロン）を薬理遺伝学的に操作することにより、時間単位で活性化もしくは抑制した際の行動変容を検討する。アデノ随伴ウイルスをMoxd1-Creマウスの視床下部腹内側核、分界条床核または腹内側扁桃核に局所投与する。アデノ随伴ウイルスには、DIO-hM3Dq (CNOまたはDCZの腹腔内投与により活性化する) もしくはDIO-hM4Di (CNOまたはDCZの腹腔内投与により活動抑制) が組み込まれている。観察する行動は、社会行動、性行動、養育行動、攻撃行動、営巣行動である。

性差ニューロン操作による変化が確認された行動に、生理的な条件で性差ニューロンが関与しているかを検討する。Moxd1-Creマウス脳へのアデノ随伴ウイルス局所投与により細胞内カルシウムセンサーGCaMP6をMoxd1発現ニューロンに発現させる。ファイバーフォトメトリや超小型蛍光内視鏡をマウス脳に埋め込みMoxd1発現ニューロンの活動を可視化する。薬理遺伝学に基づく予備的検討から、性行動、攻撃行動、営巣行動および摂食行動時のニューロン活動の変動を検討する計画である。

3. 研究の成果

(1) 性差ニューロンの薬理遺伝学的操作による行動変容観察

内側視索前野のMoxd1陽性細胞の薬理学的な神経活動亢進を行ったところ、オスマウスの性行動が強く抑制された。オスマウスはメスマウスに対して近づき、匂いを嗅ぐ行動の頻度は変化が無かったものの、その後に引き続くマウント行動や挿入行動がほとんど見られなくなった。また、オスマウスからメスマウスへの求愛発声については変化が無かった。一方、オスマウスからオスマウスへの攻撃行動については匂い嗅ぎ行動の回数と潜時、攻撃行動の回数と潜時、およびそれらのトータル時間について差が見られなかった。

同様に、内側視索前野のPenk陽性細胞の薬理学的な神経活動亢進を行った結果、オスマウスの性行動が促進した。Moxd1の操作の結果と同様に、オスマウスがメスマウスの匂いを嗅ぐ行動の頻度に差は見られず、求愛発声についても変化はなかった。一方で、オスマウスのマウント潜時と回数、挿入行動の潜時と回数、マウント行動から挿入行動までの潜時の全てにおいて性行動の亢進が見られた。オスマウスからオスマウスへの攻撃行動については変化が無かった。一方、Penk陽性細胞の薬理学的な神経活動抑制を行った結果、概ね神経活動亢進実験と逆の結果となり、オスマウスの性行動が抑制された。ただし、オスマウスがメスマウスの匂いを嗅いだ回数、オスマウスによる求愛発声の回数には変化が無かった。一方でオスマウスのマウント回数や挿入行動の回数は大きく減少し、行動の潜時は延長された。また、オスマウスからオスマウスへの攻撃行動に変化は見られなかった。

(2) 性差ニューロンの光遺伝学的操作による行動変容観察

①内側視索前野における性差ニューロンの光遺伝学的操作

内側視索前野のPenk陽性ニューロンの光遺伝学的な活動亢進を行ったところ、光刺激に即時的に応答した行動変容は見られなかった。ただし、光刺激を行った場合にはマウント行動の開始から挿入行動の開始までの時間の短縮が顕著に見られた。特に実験開始前にあらかじめ光刺激を行っておいた場合にはマウント行動の潜時と挿入行動の潜時が短縮し、それらの行動の回数が増加した。

②性差ニューロンの軸索末端の光遺伝学的操作

内側視索前野のPenkニューロンの投射先の一つである腹側被蓋野の軸索末端の光遺伝学的刺激を行ったところ、マウント行動の潜時が短縮し行動の回数が増加した。挿入行動に関しては増加傾向にあったものの、差はなかった。また、内側視索前野の刺激で観察されたマウント行動の開始から挿入行動の開始までの時間の短縮は見られなかった。一方、Penkニューロンのもう一つの投射先である中脳水道灰白質の軸索末端の光遺伝学的刺激を行った場合には、マウント行動の潜時と挿入行動の潜時が短縮し、それらの行動の回数が増加するとともに、マウント行動の開始から挿入行動の開始までの時間の短縮が見られた。

4. 研究の反省・考察

概ね計画通りに研究を遂行することで、性差のある *Moxd1* 陽性細胞等の内側視索前野に存在する多様なニューロン群の本能行動、特に攻撃行動や性行動における役割の解明を推進することができた。今回得られた知見をもとにさらに検討を進めていきたい。

5. 研究発表

(1) 学会誌等

- ① Shinya Nakata, Tomoyuki Fujiyama, Fuyuki Asano, Haruna Komiya, Noriko Hotta-Hirashima, Motoki Juichi, Daiki Komine, Miyo Kakizaki, Aya Ikkyu, Seiya Mizuno, Satoru Takahashi, Chika Miyoshi, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa. Partial activation of SIK3 delays the onset of wakefulness and alleviates hypersomnia due to the lack of protein kinase A-phosphorylation site. *SLEEP* 48(2) zsa279, 1-14, 2025
- ② Deependra Kumar, Masashi Yanagisawa, Hiromasa Funato. Sleep-dependent memory consolidation in young and aged brains. *Aging Brain* 6:100124, 2024
- ③ Natsuki Tagawa, Keita Mori, Michinori Koebis, Atsu Aiba, Yuichi Iino, Yousuke Tsuneoka, Hiromasa Funato. Activation of lateral preoptic neurons is associated with nest-building in male mice. *Scientific Reports* 14, 8346, 2024
- ④ Shinya Nakata, Kanako Iwasaki, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa, Haruka Ozaki. Neuronal subtype-specific transcriptomic changes in the cerebral neocortex associated with sleep pressure. *Neuroscience Research* 207:13-25, 2024
- ⑤ Ayaka Nakai, Mitsuaki Kashiwagi, Tomoyuki Fujiyama, Kanako Iwasaki, Arisa Hirano, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa, Takeshi Sakurai, Yu Hayashi. Crucial role of TFAP2B in the nervous system for regulating NREM sleep. *Mol Brain* 17(1):13, 2024
- ⑥ Yousuke Tsuneoka, Hiromasa Funato. Whole brain mapping of orexin receptor mRNA expression visualized by branched in situ hybridization chain reaction. *eNeuro* ENEURO.0474-23.2024

(2) 口頭発表

- ① 吉田 さちね, 船戸 弘正 Alterations in activity levels induced by somatosensory stimulation in mouse pups. APPW 2025 解剖生理薬理合同 幕張メッセ Mar 19, 2025
- ② Hiromasa Funato. Different SIK3 isoforms regulate sleep. Cold Spring Harbor Asia Suzhou, China, September 11, 2024
- ③ Hiromasa Funato. Hypothalamic neurons regulate sleep, metabolism and innate behaviors. Sleep minisymposium at the National Institute of the Biological Science, Beijing September, 6, 2024
- ④ 恒岡 洋右 高感度マルチプレックス蛍光 in situ hybridization によって明らかになったマウス性行動の神経メカニズム. 第 47 回分子生物学会, 福岡, Nov 28, 2024

(3) 出版物

なし

2024年度（第49回）學術研究振興資金 學術研究報告

学 校 名	日 本 獣 医 生 命 科 学 大 学	研究所名等	
研 究 課 題	獣医てんかん外科の発展に資する包括研究 ー臨床に則した基礎的研究とてんかん外科症例の予後調査ー	研 究 分 野	農 学
キ ー ワ ー ド	①てんかん ②てんかん外科 ③犬 ④猫 ⑤脳波 ⑥MRI		

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
長 谷 川 大 輔	日 本 獣 医 生 命 科 学 大 学 大 獣 医 学 部	教 授	総括, 実験, 成果発表

○研究分担者

[illegible]

獣医てんかん外科の発展に資する包括研究

―臨床に則した基礎的研究とてんかん外科症例の予後調査―

1. 研究の目的

申請者が過去 20 年に渡る長期の研究実績の果てに、遂に実現可能となった難治性てんかんの犬および猫に対するてんかん外科をさらに発展、そして獣医臨床に定着化させるため、下記 2. の研究計画に基づくより精度の高い基礎実験と、実際の臨床例におけるてんかん外科手術およびその長期的予後調査を遂行する。

2. 研究の計画

2024 年度は以下の研究計画の下に行われた。

- ① 家族性側頭葉てんかん猫 (FSEC) における海馬切除術とその発作転帰、合併症の検討
前年度からの継続で、今年度に2頭での海馬切除術を実施する。
- ② 非侵襲的てんかん原性領域同定のための脳波-機能的MRI同時計測 (EEG-fMRI) ; FSECを用いた半臨床的実用化の検討
前年度に確立した麻酔プロトコルを用い、FSECに対しEEG-fMRIを行い、頭皮上脳波との一致性・相違性などについて検討する。
- ③ 獣医臨床例における実践的なてんかん外科および追跡調査
既にてんかん外科を実施した症例の追跡調査および新規症例でのてんかん外科の実施とその追跡調査を継続して行う。
- ④ 獣医療における定位温熱凝固術の確立 (科研費基盤研究Bとの連携)
上記①のこれまでの経過から、犬猫の海馬切除術の成功には多大な熟練が必要であり、我々は実施できるようになったとしても、一般の獣医療で容易に普及できるほどの汎用性はないと考えられた。我々の最終目標はてんかん外科を臨床獣医療に定着させ、多くの難治性てんかん患者を救済できるような治療法の確立である。従って、我々だけが手術できてもこの術式の普及は困難であることから、より容易にかつ非侵襲的にてんかん外科が実施できることを鑑みた結果、定位温熱凝固術の導入がその解決法になりうると考えた。この考えを科研費研究として申請したところ採択されたため、これまでの我々の研究内容、特に②のEEG-fMRIをリンクさせ研究に臨むこととした。

3. 研究の成果

- ① 家族性側頭葉てんかん猫 (FSEC) における海馬切除術とその発作転帰、合併症の検討
前年度から引き続き、FSECに対する海馬切除術を2頭で実施した。猫の（肉眼的にはほぼ正常な）片側海馬の切除が可能であった。術後、対側の視覚障害および一時的な顔面麻痺を見るものの、その他に明らかな神経学的異常は認められず、脳波上も切除側のてんかん性異常波の減少が認められた。現在経過観察中であり、観察期間の1年が経過した時点（2025年6月）で安楽殺を行い、病理組織学的評価を実施する予定である。この病理学的評価の後、猫における海馬切除術として学術誌に投稿し公表する計画である。
- ② 非侵襲的てんかん原性領域同定のための脳波-機能的MRI同時計測 (EEG-fMRI) ; FSECを用いた半臨床的実用化の検討
前年度に確立したEEG-fMRI用の鎮静・麻酔プロトコル（メデトミジン・ロクロニウム・セボフルラン）にて、10頭のFSECでEEG-fMRIを各3回ずつ実施した（合計30撮影）。MRI撮像中も安定した脳波記録が可能であり、撮影後の後処理にてMRIによるパルスアーチファクト除去することでSpikeの検出が可能であった。12分間の撮影・記録中に出現したSpikeを含む時相（各3秒）とその他の時相との事象関連fMRI解析を実施したところ、BOLD信号のp値（ <0.05 ）およびクラスター（3ボクセル以上）が大腦領域に位置したものは67%（20/30回）であった。MRI撮影前の頭皮上脳波の結果（電極単位-概ね脳葉単位）と一致する場合、およそ半数（55% ; 6/11回）は海馬・扁桃体領域にBOLD活性を認

めた。FSEC全体の群解析では、これまでのFSECにおける脳波解析の結果 (Hasegawa et al. 2014) と同様、最大 p 値 (<0.001) は左頭頂皮質および最大クラスター (K=17) は左海馬領域に位置していた。この結果は2025年6月の獣医神経病学会にて公表予定である。

③ 獣医臨床例における実践的なてんかん外科および追跡調査

2024年度には2例の新規症例 (2024年7月と2025年2月；いずれも脳梁離断術) および過去施術例5例 (死亡例を除く) の追跡調査を実施した。今年度の2例で犬の脳梁離断術が10例となり (第1例、第2例は既に術後5年を超え、現在発作なく生存している)、これら2例が術後1年を超えた時点 (2026年2月) で、犬の薬剤抵抗性てんかんにおける脳梁離断術10例の長期予後として学術誌にて公表予定である。

④ 獣医療における定位温熱凝固術の確立 (科研費基盤研究Bとの連携)

2024年度に新たに採択された科研費基盤研究B「犬猫の薬剤抵抗性てんかんに対する定位温熱凝固術の確立」は本研究、特に①海馬切除術、②EEG-fMRIとの関連が深い。すなわち、頭蓋内脳波あるいはEEG-fMRIでてんかん原性焦点を同定し、その領域を温熱凝固するという流れである。2024年度の科研費予算は全て温熱凝固装置の購入で支出してしまったため、本研究の予算の一部を用いて予備研究 (非生体実験) に必要となる経費を捻出し、非生体実験 (3Dプリンタで作成した犬猫の頭蓋モデルを利用し、定位電極刺入シミュレーション) および深部脳波同時測定温熱凝固電極の開発を行った。

⑤ 犬猫におけるてんかん発作に関連した事故の調査

当初の研究計画には無かったが、てんかん外科の啓発活動の一環として (人のてんかんでは発作による転倒事故の多さ・重篤度がてんかん外科を早期実施する理由の1つに挙げられている)、犬猫のてんかん発作に関連して生じる事故 (患者犬・患者猫自身に生じる怪我や事故、飼い主家族や周囲環境に与える外傷や破損など) についててんかんの犬猫を飼育する飼い主へのアンケート調査を実施した (回答数229件)。その結果、犬よりも猫での事故が多いこと、難治例 (多剤併用例) で事故が多いこと、全般発作での事故が多いことが判明した。この結果は2025年6月の獣医神経病学会で公表した後、アンケート回答者にも結果報告を行う予定である。

4. 研究の反省・考察

本来は2022年度から始まった本研究計画では、本年度 (2024年度) に上記①、②、③の研究成果を取り纏め、年度内に学会あるいは学術誌に公表する計画であったが、2022年度には共同研究者の異動、2023年には本研究の実働を予定していた大学院生の退学、2024年度にはポストドクターの異動といった予定外のマンパワー不足および代表者本人の学内業務の増加による研究時間不足により、全ての計画が少しずつ遅れ遅れとなり、研究自体は確実に進んでいたものの、年度内での公表という目標は果たせなかった (③の部分的な内容については学術誌に2024年度内に投稿済、2025年4月現在審査中である)。しかしながら、実質的な研究は終了しており、残すは観察期間終了を待ち、最終的評価を行って公表する段階まで進めたことは非常に大きく、また本年度から始まった科研費研究に上手くバトンタッチできる研究年度であったと自負している。特に、世界で初めて生体での猫海馬切除術の成功 (①)、世界で初めての犬猫でのEEG-fMRIの撮影 (②) は今後公表することで、国際的な獣医神経学領域に大きなインパクトを与えることになると考えている。また、本研究に伴ったてんかん外科の啓発活動が実を結びつつあり、海外からの講演招聘や我々の研究およびてんかん外科手術の見学といった獣医てんかん外科の国際的な拡がりを見せており、本報告書の執筆現在 (2025年4月)、3つの国際的な共同研究が決定、また書類ベースであるものの話し合いが進んでいる。今後、我々の研究を基に、世界的に犬猫のてんかん外科が展開されていくものと期待できる。

5. 研究発表

(1) 学会誌等

- ① James FK, Wrzoseck M, Hasegawa D. Electroencephalography and other neuroelectrophysiologic studies in post-MRI generation veterinary medicine [Editorial]. *Frontiers in Veterinary Science* 11: 1396967, 2024.

- ② Saito M, Nomura A, Hasegawa D, et al. Clinical efficacy and tolerability of zonisamide monotherapy in dogs with newly diagnosed idiopathic epilepsy: Prospective open-label uncontrolled multicenter trial. Journal of Veterinary Internal Medicine. JVIM 38 : 2228-2236, 2024.

(2) 口頭発表

- ① 長谷川大輔. てんかん診療の基本原則；分類と診断. 獣医神経病学会2024 (2024. 6. 9, 那覇) .
- ② 長谷川大輔. 難治性てんかんに対する外科治療-てんかん外科：獣医療におけるてんかん外科 1 -術前評価と頭蓋内手術. 第108回日本獣医麻酔外科学会 (2024. 6. 23, 大宮)
- ③ 長谷川大輔. 犬猫の癲癇・脳腫瘍の診断治療. 2024台湾獣医外科専科医学会 (2024. 7. 27-28, 台中)

(3) 出版物

- ①長谷川大輔. てんかん発作とその類症鑑別. In: 伊藤大介, 長谷川大輔監修. エッセンシャル犬と猫の神経病診療, pp. 74-100, 2004, 緑書房.

学 校 名	日 本 医 科 大 学	研究所名等	
研 究 課 題	新規バイオバンクによる老化実態解明のための疾患横断的基盤研究 ーゲノム疫学研究を用いた老化による疾患発症機序の解明ー	研 究 分 野	医 学
キ ー ワ ー ド	①老化、②ゲノム解析、③疫学研究、④疾患関連遺伝子多型、⑤遺伝子変異		

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
山 口 博 樹	日本医科大学大学院 医学研究科	大学院教授	研究代表者・研究統括

○研究分担者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
桑 名 正 隆	日本医科大学大学院 医学研究科	大学院教授	研究分担者・検体収集・個別研究責任者
木 村 和 美	日本医科大学大学院 医学研究科	大学院教授	研究分担者・検体収集・個別研究責任者
岩 切 勝 彦	日本医科大学大学院 医学研究科	大学院教授	研究分担者・検体収集・個別研究責任者
清 家 正 博	日本医科大学大学院 医学研究科	大学院教授	研究分担者・検体収集・個別研究責任者
岩 崎 雄 樹	日本医科大学医学部	准 教 授	研究分担者・検体収集・個別研究責任者
酒 井 行 直	日本医科大学医学部	准 教 授	研究分担者・検体収集・個別研究責任者
長 尾 元 嗣	日本医科大学医学部	准 教 授	研究分担者・検体収集・個別研究責任者
舘 野 周	日本医科大学大学院 医学研究科	大学院教授	研究分担者・検体収集・個別研究責任者
村 井 保 夫	日本医科大学大学院 医学研究科	大学院教授	研究分担者・検体収集・個別研究責任者
吉 田 寛	日本医科大学大学院 医学研究科	大学院教授	研究分担者・検体収集・個別研究責任者
山 田 岳 史	日本医科大学医学部	准 教 授	研究分担者・検体収集・個別研究責任者
小 川 令	日本医科大学大学院 医学研究科	大学院教授	研究分担者・検体収集・個別研究責任者

武 井 寛 幸	日 本 医 科 大 学 大 学 院 科 医 学 研 究 科	大 学 院 教 授	研究分担者・検体収集・個別研究責任者
岡 本 史 樹	日 本 医 科 大 学 大 学 院 科 医 学 研 究 科	大 学 院 教 授	研究分担者・検体収集・個別研究責任者
眞 島 任 史	日 本 医 科 大 学 大 学 院 科 医 学 研 究 科	大 学 院 教 授	研究分担者・検体収集・個別研究責任者
佐 伯 秀 久	日 本 医 科 大 学 大 学 院 科 医 学 研 究 科	大 学 院 教 授	研究分担者・検体収集・個別研究責任者
近 藤 幸 尋	日 本 医 科 大 学 大 学 院 科 医 学 研 究 科	大 学 院 教 授	研究分担者・検体収集・個別研究責任者
杉 谷 巖	日 本 医 科 大 学 大 学 院 科 医 学 研 究 科	大 学 院 教 授	研究分担者・検体収集・個別研究責任者
臼 田 実 男	日 本 医 科 大 学 大 学 院 科 医 学 研 究 科	大 学 院 教 授	研究分担者・検体収集・個別研究責任者
大 久 保 公 裕	日 本 医 科 大 学 大 学 院 科 医 学 研 究 科	大 学 院 教 授	研究分担者・検体収集・個別研究責任者
鈴 木 俊 治	日 本 医 科 大 学 大 学 院 科 医 学 研 究 科	大 学 院 教 授	研究分担者・検体収集・個別研究責任者
仁 藤 智 香 子	日 本 医 科 大 学 医 学 部	教 授	研究分担者・検体収集・個別研究責任者
森 田 林 平	日 本 医 科 大 学 大 学 院 科 医 学 研 究 科	大 学 院 教 授	研究分担者・検体収集・個別研究責任者
本 田 一 文	日 本 医 科 大 学 大 学 院 科 医 学 研 究 科	大 学 院 教 授	研究分担者・検体収集・個別研究責任者
福 田 い ず み	日 本 医 科 大 学 医 学 部	教 授	研究分担者・検体収集・個別研究責任者
石 井 庸 介	日 本 医 科 大 学 大 学 院 科 医 学 研 究 科	大 学 院 教 授	研究分担者・検体収集・個別研究責任者
汲 田 伸 一 郎	日 本 医 科 大 学 大 学 院 科 医 学 研 究 科	大 学 院 教 授	研究分担者・検体収集・個別研究責任者
岩 部 真 人	日 本 医 科 大 学 大 学 院 科 医 学 研 究 科	大 学 院 教 授	研究分担者・検体収集・個別研究責任者
浅 井 邦 也	日 本 医 科 大 学 大 学 院 科 医 学 研 究 科	大 学 院 教 授	研究分担者・検体収集・個別研究責任者
松 田 浩 一	東 京 大 学 大 学 院 新 領 域 創 成 科 学 研 究 科	教 授	研究分担者・検体収集・個別研究責任者

新規バイオバンクによる老化実態解明のための疾患横断的基盤研究 ーゲノム疫学研究を用いた老化による疾患発症機序の解明ー

1. 研究の目的

我が国の高齢化は、先進国の中でもっとも進んでおり、世界一の健康長寿国である。この世界一の健康長寿国であることを生かして医療や介護の分野の革新、いわゆる「ライフ・イノベーション」を強力に推し進めることで「高齢化の先進モデル」を構築していく必要がある。「高齢化の先進モデル」を構築するためには「老化」の実態を解明する必要があるが、この解明には疫学とゲノム研究が融合したゲノム疫学は大きな役割を果たしてきた。例えば Genome-Wide Association Studies (GWAS) などのよって高血圧などの加齢によって発症する疾患の危険因子が同定され、これらは「老化」の遺伝因子の一つの要因であることも明らかにされつつある。

しかしこうしたゲノム疫学研究の成果は、1 回の検体採取の解析結果より得られたものがほとんどで、体細胞変異の蓄積やエピゲノム変化、ミトコンドリアの機能不全などといった後天的な因子を解析するには、同一研究対象者において経時的な検体採取によるゲノム疫学研究を行う必要がある。

我々は、2003 年より「ゲノム研究バイオバンク事業-利活用を目的とした日本疾患バイオバンクの運営・管理-」の共同研究施設として検体バンキングを行ってきた。これまでに日本医科大学グループ全体で 2003 年からの第一コホートでは 47 疾患 33,081 人を、2013 年からの第二コホートでは 38 疾患 18,289 人を登録し収集した。そこで、本研究は、以下の 4 つのことを目的としている。

- (1) 疾患横断的な同一研究対象者からの 5-20 年の間隔で検体と臨床情報を再収集し、「老化」の実態を解明する新たなバイオバンクを構築する。
- (2) ゲノム研究バイオバンク事業などで明らかになった疾患関連遺伝的変異を有する研究対象者が 5-20 年の経過でそれぞれの疾患をどの程度発症するのかを明らかにする。
- (3) 「老化」によって体細胞モザイクや後天性遺伝子変異などのゲノム変化がどのように発生しているのかを明らかにする。
- (4) 「老化」が「がん」「自己免疫疾患」「生活習慣病」の発症にどのようにかかわっているのかを明らかにする。

2. 研究の計画

(1) 「老化」の実態を解明する新たなバイオバンクを構築

ゲノム研究バイオバンク事業に登録をして現在も日本医科大学グループの 4 病院を受診している約 7,500 人の研究対象者に関して、経時的な検体採取を目的に検体の再収集を行う。

(2) 登録時のゲノム解析データを用いたゲノム疫学研究

ゲノム研究バイオバンク事業では 2018 年度を最後に臨床情報の更新が行われていない。そこで日本医科大学グループから登録をした 51,370 人に関しては 2022 年 3 月 31 日までの臨床情報の更新を行う。

ゲノム研究バイオバンク事業に日本医科大学が登録をした 51,370 症例に関しては、全症例で SNP 解析が、約 35%程度の症例で全ゲノム解析が終了している。現在通院をしていない症例の臨床情報の更新をおこない下記研究をすすめる。

- ① 体細胞モザイクと白血病の病的特徴に関わる研究(血液内科)
- ② 新たな遺伝学的異常を用いた造血器腫瘍発症メカニズムの探索(血液内科)
- ③ 日本人脳梗塞関連遺伝子座と臨床的意義(脳神経内科)
- ④ 家族性大腸腫瘍症の遺伝子変異解析(消化器外科)
- ⑤ 糖尿病合併症における発症リスク遺伝子変異の探索(糖尿病内分泌代謝内科)

(3) 再収集した検体のゲノム解析データを用いたゲノム変化の解析

「ゲノム研究バイオバンク事業」にて収集した検体と今回「橘桜プロジェクト」で収集した検体のペア検体として、全ゲノムシーケンシングを開始する。また収集したペア検体に関して、血清解析で成果が見込まれる NASH/NAFLD、自己免疫・アレルギー疾患、認知症、心血管疾患、感染症の 1000 症例を解析対象としてオミックス解析を行う。また自己免疫疾患

100 症例に関してはシングルセルマルチオーム解析を行う。これらの解析で体細胞モザイクの進展のがん化や自己免疫疾患への関与、2 型糖尿病発症、 β 細胞機能低下を予測するジェネティックリスクスコアを開発する。

3. 研究の成果

(1) 「老化」の実態を解明する新たなバイオバンクを構築

2022 年 7 月に日本医科大学中央倫理審査委員会にて日本医科大学グループ 4 病院での検体の再収集の承認が得られた (M-2022-046)。8 月に生命科学研究センター BF1 に検体再収集の核酸抽出や細胞保存のための実験室と学術振興資金にて超低温冷凍庫と液体窒素タンク 2 台を購入し整備をした。各病院の診療科の検体再収集の研究対象者の抽出や、電子カルテによるオーダーシステムも構築が終了し、2022 年 11 月より付属病院、2023 年 2 月より千葉北総病院、3 月より武蔵小杉病院、5 月より多摩永山病院にて検体の再収集が開始された。2025 年 3 月 31 日時点で、**付属病院 3,181 検体、千葉北総病院 1,288 検体、武蔵小杉病院 1022 検体、多摩永山病院 501 検体の合計 5992 検体(目標 6,000 検体の約 99%)が収集できた。**

(2) 登録時のゲノム解析データを用いたゲノム疫学研究

① 日本医科大学グループから登録をした 51,370 人についての臨床情報の更新をすることに関して倫理審査の承認が得られ(日本医科大学大学倫理審査委員会 A-2019-017)、**すべての症例の臨床情報の更新が終了した。また SNP アレイで解析されていない頻度が低い遺伝子多型も下記研究をするうえで解析する必要性があり、連鎖解析法にてこれらの遺伝子多型の判定もすべて終了をした。**

② 新たな遺伝学的異常を用いた造血器腫瘍発症メカニズムの探索(血液内科)

日本医科大学グループから登録され全 exon 解析を行った 11,090 症例を対象に、これまでに造血器腫瘍の発症に関与をしている胚細胞由来変異 25 遺伝子に関して、症例登録時からの造血器関連腫瘍の発症割合、化学療法の奏功性、予後の解析を行った。25 遺伝子の中でも遺伝子 A と B は他の遺伝子と比較して、若年で高率に造血器関連腫瘍を発症させ、予後不良であることが明らかになった(現在投稿中)。

③ 日本人脳梗塞関連遺伝子座と臨床的意義(脳神経内科)

19,702 人の日本人虚血性脳卒中患者における悪性腫瘍の危険因子と性特異的相違に関する検討を行い、男性の虚血性脳卒中患者は有意に悪性腫瘍の発症が多いことや(現在 Stroke 投稿中)、日本人脳梗塞症例において MEGASTROKE で特定された 32 の脳卒中関連遺伝子セットのうち 19 の有意な関連遺伝子を使用して作成したポリジェニックリスクスコアは心房細動、心原性脳塞栓症、脳卒中および心血管死亡と有意に関連をしていることを明らかにした(現在投稿中)。

④ 体細胞モザイクと白血病の病的特徴に関わる研究(血液内科)、家族性大腸腫瘍症の遺伝子変異解析(消化器外科)、糖尿病合併症における発症リスク遺伝子変異の探索(糖尿病内分泌代謝内科)に関しては現在解析を行っている。これらの研究以外にも ALDH2 遺伝子多型による飲酒と心房細動との関連(循環器内科)、心房細動リスク遺伝子と心房細動発症および持続化との関係(循環器内科)、循環器疾患罹患者の遺伝子型と表現型との相関に関する研究(循環器内科)、HCV 排除後の C 型慢性肝炎患者における TLL1 SNP のリスクアレル別の肝発癌の検討(消化器内科)、消化器癌リスク遺伝子多型とその発症率(消化器内科)、骨粗しょう症における発症リスク SNP の探索(整形外科)、変形性膝関節症の発症および人工膝関節手術後の静脈血栓塞栓症発生の大規模疫学調査(整形外科)、脳動脈瘤と甲状腺機能障害における RNF213 の機能解析(脳神経外科)、放射線画像検査による発がんリスク SNP の探索(放射線科)、薬疹発症に関与するリスク SNP の探索(皮膚科)など 20 の個別研究が立案され解析を行っている。

(3) 再収集した検体のゲノム解析データを用いたゲノム変化の解析

「ゲノム研究バイオバンク事業」にて収集した検体と今回「橘桜プロジェクト」で収集した検体をペアー検体として、ゲノム研究バイオバンク事業との共同研究として血清も含めたオミックス解析を開始した(AMED 令和 5 年度「ゲノム医療実現バイオバンク利活用プログラム(ゲノム研究バイオバンク)」利活用を目的とした日本疾患バイオバンクの運営・管理(令和 5 年度～令和 9 年度)研究分担者)。収集したペアー検体に関して、血清解析で成果が見込まれる NASH/NAFLD、自己免疫・アレルギー疾患、認知症、心血管疾患、感染症の 1,000 症例

を解析対象としてオミックス解析を行っている。また自己免疫疾患 100 症例に関してはシングルセルマルチオーム解析を行っている。本研究で収集した凍結細胞検体に関してシングルセル解析を行ったところ、一部の検体において生細胞が少なく解析に不適格であることが判明した。そこで検体採取後の保存を室温にする、採血後の処理時間の短縮、凍結保存剤の変更など細胞凍結保存のプロトコルを変更することで凍結細胞検体の生細胞の割合の増加が認められた。現在新たな細胞凍結保存プロトコルで保存された検体をシングルセル解析することをすすめている。

4. 研究の反省・考察

(1) 「老化」の実態を解明する新たなバイオバンクを構築

計画より約 1 年程度遅れたが目標であった 6000 検体の収集が完了した。すべての検体の臨床情報の更新も終了し「老化」の実態を解明する新たなバイオバンクを構築することが出来た。

(2) 登録時のゲノム解析データを用いたゲノム疫学研究

登録時のゲノム解析データを用いたゲノム疫学研究に関しては、SNPアレイで解析されていない頻度が低い遺伝子多型も解析する必要であった。連鎖解析法にてこれらの遺伝子多型の判定をするため時間を要した。このため各個別研究の開始が遅れ、学会発表や論文発表も遅れている。現在各個別研究が進捗しており今後学会発表や論文発表が行われる予定である。

(3) 再収集した検体のゲノム解析データを用いたゲノム変化の解析

自己免疫疾患100症例に関しては、シングルセルマルチオーム解析に関して一部の検体において生細胞が少なく解析に不適格であることが判明した。新たに細胞凍結保存のプロトコルを変更する必要があったため研究の進捗が遅くなった。また新たな細胞凍結保存プロトコルで保存された検体は解析に問題はないが、これまで保存をした検体に関しては、検体の再収集も含めて検討をする。

5. 研究発表

(1) 学会誌等

①Takashi Shimoyama, Koichi Matsuda, Yoichiro Kamatani, Hiroki Yamaguchi, Kazumi Kimura. Genetic risk impacts stroke mortality and pathogenesis in patients with ischaemic stroke: a cohort study of BioBank Japan participants. 投稿中.

② Takashi Shimoyama, Koichi Matsuda, Yoichiro Kamatani, Yasunobu Nagata, Hiroki Yamaguchi, Kazumi Kimura. Sex differences in subtypes and risk profile for cancer among 19,702 Japanese patients with ischemic stroke: a cohort of the BioBank Japan. JAMA投稿中.

(2) 口頭発表

①下山 隆、松田浩一、鎌谷洋一郎、山口博樹、木村和美：日本人脳梗塞患者におけるPITX2遺伝子と心房細動および心原性脳塞栓症との関連性。第65回日本神経学会学術大会。2024年5月。東京。国内。口頭

②下山 隆、松田浩一、鎌谷洋一郎、山口博樹、青木淳哉、木村和美：日本人脳梗塞患者におけるゲノム及びAI頭部画像解析による病態解明への試み：バイオバンクジャパン登録事業。第50回日本脳卒中学会学術集会 STROKE2025。2025年3月。大阪。国内。口頭

(3) 出版物

なし

2024年度（第49回）学術研究振興資金 学術研究報告

学 校 名	法 政 大 学	研究所名等	法 政 大 学 大 原 社 会 問 題 研 究 所	
研 究 課 題	日本資本主義と女性の社会的環境に関する総合的研究 ー「平塚らいてう資料」のデジタルアーカイブ構築を中心ー		研 究 分 野	文 学
キ ー ワ ー ド	①デジタルアーカイブズ ②ジェンダー ③史料研究 ④近現代史 ⑤社会運動			

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
榎 一 江	大 原 社 会 問 題 研 究 所	教 授	近代日本の女性労働に関する実証研究の推進

○研究分担者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
差 波 亜 紀 子	日 本 女 子 大 学 文 学 部	教 授	女性知識人、平塚らいてうに関する研究の推進
北 口 由 望	法 政 大 学 HOSEI ミ ュ ー ジ ア ム	准 教 授	デジタルアーカイブ、展示に関する研究担当
堀 川 祐 里	新 潟 国 際 情 報 大 学 国 際 学 部	講 師	女性労働をめぐる運動と思想に関する研究担当
ファヨル入江容子	甲 南 大 学 文 学 部	講 師	女性間の階級問題に関する日仏比較研究担当
古 俣 達 郎	明治大学学術・社会連携部 博 物 館 事 務 室	特 別 嘱 託	デジタルアーカイブ、展示に関する研究
井 上 直 子	法 政 大 学 大 原 社 会 問 題 研 究 所	兼任研究員	らいてう研究および展示・シンポジウム担当
堀 内 暢 行	法 政 大 学 大 原 社 会 問 題 研 究 所	研究補助員 (RA)	目録、デジタルアーカイブの構築に関する研究

日本資本主義と女性の社会的環境に関する総合的研究 —「平塚らいてう資料」のデジタルアーカイブ構築を中心に—

1. 研究の目的

本研究は、近代日本における女性の社会的環境を総合的に把握することを目的とする。具体的には、女性解放・平和運動など社会運動に邁進した平塚らいてう（奥村明 1886-1971）に焦点を当て、没後 50 年を機として 2021 年度に法政大学大原社会問題研究所が受贈した「平塚らいてう資料」デジタルアーカイブの構築・公開を通して、実証研究を推進する。

(1) 「平塚らいてう資料」デジタルアーカイブの構築

「平塚らいてう資料」とは、NPO 法人「平塚らいてうの会」所蔵資料と孫の奥村直史家所蔵資料を統合したものである。前者はらいてう自伝の編纂に従事した小林登美枝が保管していた資料を会が引き継いだものであり、もともと奥村家にあったものをらいてうの了解をえて帯出したものと推定される。会では『平塚らいてうの会紀要』などでその一部を紹介してきたが、十分な研究がなされてきたわけではない。後者は、奥村家に残された資料で、奥村直史は孫の立場から『平塚らいてう——その思想と孫から見た素顔』平凡社、2021 年を刊行し、らいてう研究を行ってきたが、一般には公開されていない。もともと一体であったこれらの資料をあわせて整理・公開し、広く学術研究の基盤を整備することが本研究の課題である。

(2) 日本資本主義の成り立ちが女性の社会的環境に与えた影響についての研究

そのうえで本研究が追究するのは、日本資本主義の成り立ちが女性の社会的環境にどのような影響を与えたのかという問題である。従来、近代日本の女性史は女性解放運動の担い手に焦点を当て、平塚ら知識人の論考を分析対象としてきた。一方、日本資本主義の発展を底辺で支えた女性労働者は、ほとんど資料を残さず、ストライキ等の行動が記録されるのみであった。しかしながら、平塚らが女性だけの手による文芸誌『青鞥』を創刊したのは女性工場労働者の保護を目的とする工場法が公布された 1911 年であり、国家による母性保護は両者に共通する重要なテーマであった。この知識人層と労働者層との関係に焦点を当てるのが、本研究の特徴である。

1918 年から 19 年にかけて、国家による母性保護を訴えたらいてうに対し、女性の経済的自立を主張する与謝野晶子が批判し、のちに山川菊栄らも加わって「母性保護論争」が展開されたことはよく知られている。実際、らいてうは、1919 年に名古屋の紡績工場を視察し、その「悲惨な光景」に直面して「これが地獄でなくて何であろう」と記し、また、市川房枝らと新婦人協会を 1920 年に設立して婦人参政権運動を展開する際、その機関誌『女性同盟』の創刊にあたって、「将来母となるべき多くの娘たちが工場において資本家の利己心の犠牲となって、彼女の若々しさと愛情の豊かさと彼女にとって何より大切な母性とを破壊されねばなりません」と嘆き、女性の地位向上を訴えた。このように、女性解放を目指す女性知識人の多くは、悲惨な境遇にある女性として工場労働者に言及し、彼女らの言説が女性の声として流布するとともに政策に一定の影響を与えたと考えられる。こうした女性知識人の言説と女性労働者の現実とを切り結び、近代日本の知識人層と労働者層とを包括した女性の社会的環境に関する学術的な研究を推進するのが本研究の目的である。

2. 研究の計画

本年度は、平塚らいてうが生きた時代を通して日本資本主義と女性の社会的環境について検討してきた本研究の成果をまとめる。具体的には、以下のとおりである。

- ① デジタルアーカイブの公開：公開後のメンテナンスを含めた運用方法を確立する。
- ② 展示会：厳選した貴重な原資料を展示会で紹介し、一般に公開する。その際、日英両語の解題付き図録を作成して国内外の関係機関に配布する。
- ③ シンポジウム：「日本資本主義と女性の社会的環境」について、平塚らいてう関係資料を通

して考えるシンポジウムを開催し、ゲストスピーカーを招聘して議論を行う。この議論を踏まえ、『大原社会問題研究所雑誌』で特集を組む。

④国際会議：フランス・パリで開催される 2024 年度労働史研究機関国際協会（IALHI：International Association of Labour History Institutions）の年次大会で「平塚らいてう関係資料」を紹介し、その意義について議論を深める。

3. 研究の成果

本研究は、知識人層と労働者層との関係に焦点を当て、「平塚らいてう資料」を通して、日本資本主義の成り立ちが女性の社会的環境に与えた影響を明らかにした。とりわけ差波亜紀子は、らいてうが記した手紙を分析し、自身が雇用する女中の健康問題を通して、彼女らが従事した工場労働の労働環境に関心を寄せたことを解明した。知識人層と労働者層との結節点となった女中の存在に着目した貴重な研究成果と言えよう。加えて、以下の成果を得た。

①デジタルアーカイブの公開

本研究は、貴重な資料の利用を促進するために、デジタルアーカイブを構築することをめざした。総撮影コマ数 34,322 点の資料をどのように公開するかを検討し、デジタルアーカイブアプリケーションとして AtoM (Access to Memory) を採用することとした。目録データの検索は研究所ウェブサイトで可能だが、諸般の事情により、デジタルアーカイブについては研究所内 PC での公開とした。

②展示会

法政大学大原社会問題研究所所蔵平塚らいてう関係資料公開記念展示「らいてうと婦人運動の時代」を 2024 年 8 月 21 日から 10 月 31 日まで、法政大学多摩キャンパス（図書館・研究所棟 5 階）大原社会問題研究所展示コーナーで開催した。また、日英両語の解題付き図録を作成して、来場者や国内外の関係機関に配布することができた。

③シンポジウム

法政大学大原社会問題研究所所蔵平塚らいてう関係資料公開記念シンポジウム「らいてうと婦人運動の時代」を 2024 年 10 月 12 日（土）に法政大学市ヶ谷キャンパス大内山校舎 Y406 で開催した。第 1 部の基調講演では、湯澤規子法政大学人間環境学部教授に『『焼き芋とドーナツ——日米シスターフッド交流秘史』をめぐって』と題して講演していただいた。第 2 部の平塚らいてう資料研究会報告では、メンバーの井上直子、堀内暢行、差波亜紀子が報告を行い、北口由望が司会を担当した。この議論を踏まえ、『大原社会問題研究所雑誌』797 号、2025 年 3 月で特集「平塚らいてう関係資料」を組むことができた。ここでは、資料整理とデジタルアーカイブ構築に関する論考に加え、資料に即した分析を発表することができた。

④国際会議

法政大学大原社会問題研究所は日本で唯一、労働史研究機関国際協会（IALHI: International Association of Labour History Institutions）に加盟している。これは、各国の労働史に関するリサーチャー、ライブラリアン、アーキビストが集まる団体で、フランスで開催された第 54 回の年次大会のテーマが「活動家の遺物」であったため、平塚らいてうの活動と残された史料について報告を行うとともに英語版の展示図録を配布することができた（9 月 12 日、於パリ・ナンテール大学）。

4. 研究の反省・考察

(1) デジタルアーカイブの公開

本研究は、当初からデジタルアーカイブの構築を目指し、広く学術研究の基盤を整備することを目指した。しかしながら、サーバ確保の問題に加え、資料の権利関係について寄贈者の許諾のみで公開することができない記事や私信等の取扱いに懸念が残るため、まずは研究所内の PC 上で公開することとした。研究所ウェブサイトでは資料目録の検索は可能なので、関心を持った方は

ひ研究所に来所して閲覧していただければと思う。

(2) シンポジウム

本研究は、2023 年度より共同研究のメンバーを増員することによって、日仏比較など国際比較の視点を取り入れて共同研究を進めてきた。その成果をシンポジウムで報告し、『大原社会問題研究所雑誌』の特集でも論考を掲載する予定であったが、やむを得ない事情により、シンポジウム当日の登壇がかなわず、その論稿を掲載することもできなかった。

5. 研究発表

(1) 学会誌等

- ①榎一江「特集にあたって（特集平塚らいてう関係資料）」『大原社会問題研究所雑誌』797号、2025年3月、1-3頁。
- ②堀内暢行「現代個人アーカイブズの整理・公開方法に関する一試論——平塚らいてう関係資料の場合」『大原社会問題研究所雑誌』797号、2025年3月、4-13頁。
- ③北口由望「『平塚定二郎聞き書き』について」『大原社会問題研究所雑誌』797号、2025年3月、14-23頁。
- ④差波亜紀子「女中を通して見出された女工労働環境問題」『大原社会問題研究所雑誌』797号、2025年3月、24-32頁。
- ⑤井上直子「『我等の家』での消費組合運動と平塚らいてう——平塚らいてう関係資料を用いて」『大原社会問題研究所雑誌』797号、2025年3月、33-48頁。

(2) 口頭発表

- ①ENOKI Kazue, Archiving Artifacts Related to the Japanese Feminist Activist Hiratsuka Raicho, The International Association of Labour History Institutions (IALHI) 第54回大会（9月12日、於パリ・ナンテール大学）
- ②榎一江「趣旨説明」（「法政大学大原社会問題研究所所蔵平塚らいてう関係資料公開記念シンポジウム」10月12日、於法政大学市ヶ谷キャンパス大内山校舎Y406）
- ③井上直子「平塚らいてう関係資料公開記念展示「らいてうと婦人運動の時代」のご紹介」（同上）
- ④堀内暢行「関係資料の整理とデジタルアーカイブの構築について」（同上）
- ⑤差波亜紀子「らいてうと家事労働」（同上）

(3) 出版物

- ①法政大学大原社会問題研究所平塚らいてう資料研究会編『法政大学大原社会問題研究所平塚らいてう関係資料公開記念展示 らいてうと婦人運動の時代』（展示図録日本語版、英語版）2024年。
- ②榎一江「史料散歩——らいてうと婦人運動の時代」『日本歴史』（掲載予定）。

2024年度（第49回）学術研究振興資金 学術研究報告

学 校 名	星 薬 科 大 学	研究所名等	医 薬 品 化 学 研 究 所	
研 究 課 題	標的タンパク質分解誘導を促進・高効率化する 新規複合分子の創製		研 究 分 野	医 学
キ ー ワ ー ド	① 標的タンパク質分解誘導薬、② PROTAC、③ 作用機序、④ 複合分子			

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
叶 直 樹	星薬科大学・薬学部・ 医薬品化学研究所	教 授	研究代表者・研究統括

○研究分担者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
大 竹 史 明	星薬科大学・薬学部・ 先端生命科学研究所	准 教 授	細胞生物学実験・データ整理・論文作成
横 江 弘 雅	横浜薬科大学 薬学部	准 教 授	有機合成化学実験・データ整理・論文作成
成 田 年	星薬科大学・薬学部・ 先端生命科学研究所	教 授	薬剤評価実験・データ整理・論文作成
森 田 博 史	星 薬 科 大 学 ・ 薬 学 部	教 授	新規複合分子の分離精製・データ整理・論文作成
平 澤 祐 介	星 薬 科 大 学 ・ 薬 学 部	講 師	新規複合分子の分離精製・データ整理・論文作成

標的タンパク質分解誘導を促進・高効率化する 新規複合分子の創製

1. 研究の目的

(1) 標的タンパク質分解誘導薬に係る未知の作用機序の解明

- ① 標的タンパク質分解誘導薬 (PROTAC) 特有の細胞内への送達過程と作用機序の解明: 本研究の第一の目的は、細胞内でのPROTACの活性発現における未知の作用機序の解明である。PROTACは中分子（従来型の低分子医薬と比べて分子量が大きい分子）であることから、PROTAC特有の細胞内への送達過程と、タンパク質分解誘導活性の相関を明らかにする。
- ② PROTACの作用機序に関わる未同定重要因子の探索とその役割の解明: PROTACの作用機序にはまだ不明な点が残されている。2021年に本研究組織の研究分担者は、ある種のPROTACが介するユビキチン鎖の伸長には、PROTAC分子設計時に想定したE3ユビキチンリガーゼとは異なるE3ユビキチンリガーゼの働きが重要であることを報告した。更なる未同定重要因子の存在も考えられるため、これら未同定重要因子を探索し、その役割の解明を行う。

(2) 新規重要因子を制御する原理や PROTAC 特有の作用機序を組み込んだ新規複合分子の創製

- ① PROTAC特有の作用機序を考慮した分子設計法の確立: 本研究の第二の目的は、上記の研究で解明した重要因子や作用機序を制御する原理を薬剤設計に応用し、標的タンパク質分解を促進・高効率化する新規複合分子を創製することである。そこでまず、中分子であるPROTAC特有の作用機序を考慮した分子設計手法を確立する。
- ② 重要因子の活性を制御する機能を組み込んだ複合分子の創製: 前述の通り、我々は既に標的タンパク質分解誘導を亢進する重要因子と、その重要因子の分解を担う因子（分解因子）を同定しているため、これらの活性を制御する機能を組み込んだ複合分子を創製する。また、上記の目的（1）②項で新たな重要因子が同定できた場合にも、これらの活性を制御する機能を組み込んだ複合分子を創製する。
- ③ E3ユビキチンリガーゼ結合型コバレントPROTACの創製: 近年、がん治療領域で標的タンパク質と共有結合を形成する医薬品が注目を集めている。そこで、このコンセプトを本研究に応用したE3ユビキチンリガーゼ結合型コバレントPROTACを創製する。

2. 研究の計画

(1) 三価 PROTAC テンプレートを用いた標的タンパク質分解誘導薬に係る未知の作用機序の解明

- ① PROTACの細胞内への送達過程と作用機序を解析するプローブの作成: 昨年度までに創製した30種類以上のPROTACの構造と活性、および物理化学的性質の相関を、国立研究開発法人 日本医療研究開発機構 創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム (AMED-BINDS) の支援を受けて解析した。そこで得られた結果を活用して近接駆動型標識転移基などを有する作用機序解析用プローブを作成する。
- ② PROTACテンプレートと標的タンパク質とE3ユビキチンリガーゼからなる三者複合体の評価: 4種のPROTACテンプレートと標的タンパク質およびE3ユビキチンリガーゼとの三

者複合体の安定性を精査する。

- ③ 三価PROTAC由来複合型プローブを用いた重要因子の探索と同定：近接すると標識を転移する官能基（近接駆動型標識転移基）を連結した複合型プローブなどを合成し、これを活用して三者複合体にリクルートされる重要因子の探索と同定、および役割の解明を行う。

(2) PROTAC 特有の作用機序と重要因子の制御法を組み込んだ複合分子の創製

- ① PROTAC特有の作用機序と重要因子の制御法を三価PROTACテンプレートに組み込んだ複合分子の創製：上記の計画（1）①～②項などで確立した分子設計の方針を用いて、③項などで解明した重要因子の制御法を三価PROTACテンプレートに組み込んだ複合分子を創製する。
- ② 重要因子の制御法を組み込んだ複合分子の創製：上記の計画（1）③項で解明した重要因子の活性を制御する分子を創製し、PROTACの機能を向上させる複合分子を創製する。

3. 研究の成果

(1) 三価 PROTAC テンプレートをを用いた標的タンパク質分解誘導薬に係る未知の作用機序の解明

- ① PROTAC の細胞内への送達過程と作用機序を解析するプローブの作成：近接駆動型標識転移基として *o*-nitrobenzoxadiazole (*o*-NBD) ユニットを持つ複数のPROTACプローブを、昨年度得た構造—活性—物理化学的相関情報をもとに設計・合成した。本プローブの標的タンパク質分解誘導活性を評価し、テンプレートと同様な活性を保持していることが確認できた。よって、標的タンパク質分解誘導活性を持つ近接駆動型標識プローブの創製に成功した。また、PROTACの細胞内動態解析に使うことができる、標的タンパク質分解誘導活性を保持した蛍光PROTACの創製にも成功した。
- ② PROTACテンプレートと標的タンパク質とE3ユビキチンリガーゼからなる三者複合体の評価：4種のPROTACテンプレートから作成した、標的タンパク質分解誘導活性を保持したビオチン化PROTACと表面プラズモン共鳴（SPR）法を用いることで、標的タンパク質またはE3ユビキチンリガーゼとビオチン化PROTACとの二者複合体の結合安定性、およびこれら三者から成る三者複合体の結合安定性評価が可能となった。
- ③ 三価PROTAC由来複合型プローブを用いた重要因子の探索と同定：上記の成果（1）①項にて創製した近接駆動型標識プローブは、近傍に存在するタンパク質のリジン残基にNBD基を転移させ、結果的にそのタンパク質を蛍光性のNBD基で標識できるプローブである。本プローブをヒト培養細胞に添加した結果、添加時間依存的に標識される複数のタンパク質の検出に成功した。

(2) PROTAC 特有の作用機序と重要因子の制御法を組み込んだ複合分子の創製

- ① PROTAC特有の作用機序と重要因子の制御法を三価PROTACテンプレートに組み込んだ複合分子の創製：創製したPROTAC類はどれも膜透過性が低いことが判明したため、新たに三価PROTACテンプレートを抗体に組み込んだ複合分子を設計し、その合成に成功した。

4. 研究の反省・考察

(1) 三価 PROTAC テンプレートをを用いた標的タンパク質分解誘導薬に係る未知の作用機序の解明

- ① 研究期間中に新規因子を解明するには至らなかったが、上記の成果 (1) ①項および③項で得られた結果は今後の新しい展開が期待できるものであり、本課題の研究期間終了後も研究を進めていく予定である。ところでごく最近、本研究と同様な三価PROTACのコンセプトを使ってタンパク質分解誘導薬の新しい細胞内送達機構を明らかにした論文が *Cell* 誌に報告された (Z. Wang *et al.* *Cell*, **2025**, *in press*, DOI: 10.1016/j.cell.2025.03.036)。ビオチンプローブや蛍光プローブなど、いずれも本研究で我々が創製したものとコンセプトが同じであるため、先を越された感は拭えないが、今後はこの論文の結果の検証も含めて研究を進める予定である。

(2) PROTAC 特有の作用機序と重要因子の制御法を組み込んだ複合分子の創製

- ① こちらも、研究期間中に担がんマウスで *in vivo* 活性を持つ複合分子の創製には至らなかったが、抗体複合体や、E3リガーゼと共有結合を形成するコバレントPROTACなどのプロトタイプの創製には成功しているため、これらの研究を今後も継続する予定である。

5. 研究発表

- (1) 学会誌等
なし

(2) 口頭発表

- ① 第 24 回フロンティア生命化学研究会一次世代を巡る生命化学研究の最前線― (ホテル鬼怒川御苑、12 月 16 日)
タンパク質分解誘導剤と多能性天然物に関する最近の話題
叶 直樹

(3) 出版物

- ① タンパク質分解医薬の実用化に向けた基盤技術と評価
Development and Evaluation of Protein Degraders: Technologies and Methods
(株)シーエムシー・リサーチ、2025年5月30日発行予定、ISBN 978-4-910581-65-1
第V編 タンパク質分解医薬品の実用化を後押しする支援技術
5.1キメラ型タンパク質分解医薬と周辺技術の研究動向 (2024年に報告されたPROTAC論文の統計学的調査と考察)

学 校 名	自 治 医 科 大 学	研究所名等		
研 究 課 題	侵襲的脳活動計測・介入によるヒト情動・共感の神経機序の解明 —ECoG・DBSを駆使し「いいね」を生み出す脳の仕組みに迫る—		研 究 分 野	医 学
キ ー ワ ー ド	①情動、②共感、③侵襲的脳活動計測、④電気刺激、⑤脳深部刺激療法、⑥経皮的耳介迷走神経刺激			

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
川 合 謙 介	自 治 医 科 大 学 脳 神 経 外 科 学 講 座	教 授	研究代表者・総括・手術

○研究分担者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
中 嶋 剛	自 治 医 科 大 学 脳 神 経 外 科 学 講 座	准 教 授	手術・実験・論文作成
石 下 洋 平	自 治 医 科 大 学 脳 神 経 外 科 学 講 座	講 師	手術・実験・論文作成
井 林 賢 志	自 治 医 科 大 学 脳 神 経 外 科 学 講 座	講 師	手術・実験・論文作成
大 谷 啓 介	自 治 医 科 大 学 脳 神 経 外 科 学 講 座	講 師	手術・実験・論文作成
佐 藤 信	自 治 医 科 大 学 脳 神 経 外 科 学 講 座	助 教	手術・実験・論文作成
大 貫 良 幸	自 治 医 科 大 学 脳 神 経 外 科 学 講 座	講 師	実験・論文作成・データ整理

侵襲的脳活動計測・介入によるヒト情動・共感の神経機序の解明 — ECoG・DBS を駆使し「いいね」を生み出す脳の仕組みに迫る —

1. 研究の目的

現代社会において、映画や小説といった物語的コンテンツを鑑賞する際、我々は登場人物の情動に共感し、ときに自身の内にも類似の情動が喚起される。このような共感性は、他者の感情状態を理解・共有する社会的認知の基盤とされている。さらに、ソーシャル・ネットワーキング・サービス（SNS）の普及により、「いいね」やリツイートなどの共感的反応が社会的報酬として機能するようになり、著名人の社会的地位や影響力を可視化する指標としても重要性を増している。近年では、情動や共感が契機となる情報拡散行動が、社会的価値の創出に寄与するプロセスとして注目されている。本研究では、このような情動および共感性を介した情報拡散行動の神経基盤を明らかにすることを目的とする。令和6年度は、昨年度より継続して実施している「視床下核における共感性および情動情報処理への関与の検証」および「侵襲的・非侵襲的電気刺激による神経活動変調を通じた情動・共感性の変容の検証」に加え、新たに「侵襲的・非侵襲的電気刺激による情報拡散行動の変容」に関する調査を実施した。

2. 研究の計画

(1) 視床下核における共感性および情動情報処理への関与の検証

①他者の痛み推定課題時の視床下核活動の有無、視床下核活動に同期する脳領域、および痛みの度合いに対応した脳領域の探索を目的として、パーキンソン病患者と同年代の健常成人（昨年度からの累計20名）を被験者とした非侵襲的脳活動計測法である機能的磁気共鳴画像法（functional Magnetic Resonance Imaging：fMRI）を用いて計測した。

(2) 侵襲的・非侵襲的電気刺激による神経活動変調を通じた情動・共感性の変容の検証

①脳深部刺激療法のため、脳深部電極を留置したパーキンソン病患者に対して、電気刺激提示中に他者の痛み推定課題を実施した。電気刺激の変数は、前年度の視床下核活動解析結果に基づき設定した。電気刺激による神経活動の一時的な変調により、行動に一過的な変化が生じるかを検証した。

②情報記憶の強化効果(Ventura-Bort et al. 2021, *The Journal of Neuroscience*) など、情動情報処理への効果が報告されている経皮的耳介迷走神経刺激装置（taVNS）を健常成人（昨年度からの累計20名）に適用し、他者の痛み推定課題における行動の一過性の変化を比較した。taVNSとsham-taVNSの2条件を2日間に分けて実施した。

(3) 侵襲的・非侵襲的電気刺激による情報拡散行動の変容

①前年度の研究により示唆された「共感性を反映する視床下核活動に基づく電気刺激」が情報拡散行動を誘発する可能性を検証した。雑学的知識に対する感嘆度と、それを他者と共有したくなる欲求（情報拡散行動）を評価する認知課題を新たに作成した。脳深部電極を留置したパーキンソン病患者に本課題を実施し、電気刺激による神経活動の一時的な変調が行動に一過的な変化をもたらすかを検証した。

②上記と同様の課題を用い、経皮的耳介迷走神経刺激装置（taVNS）を健常成人に適用し、雑学的知識に対する感嘆度および情報拡散行動の一過性の変化を比較した。taVNSとsham-taVNSの2条件を2日間に分けて実施した。

3. 研究の成果

(1) 視床下核における共感性および情動情報処理への関与の検証

①健常成人（昨年度からの累計20名）を対象に他者の痛み推定課題時のfMRI計測を実施し

た。その結果、他者の痛みを認識している際、とくに苦痛によって顔が歪む映像を呈示した場面で、視床下核における有意なクラスター活動が確認された。一方で、視床下核の活動は痛みの強度とは有意な相関を示さず、また同期的に賦活する他の脳領域も検出されなかった。痛みの度合いと有意な相関を示した領域としては、小脳、舌状回、上頭頂小葉、補足運動野、上前頭回が同定されたが、視床下核は含まれなかった。

(2) 侵襲的・非侵襲的電気刺激による神経活動変調を通じた情動・共感性の変容の検証

①他者の痛み推定課題を用いて、電気刺激による一過性の共感性の変化を評価した。脳深部電極を留置したパーキンソン病患者を対象に、130Hz（前年からの累計8名）または30Hz（前年からの累計7名）の周波数で視床下核への電気刺激を行った。結果として、130Hz刺激では他者の手の痛みに対する共感性が低下する傾向が認められ、一方、30Hz刺激では他者の痛みの表情に対する共感性が上昇する傾向が見られた。

②パーキンソン病患者と同年代の健常成人（前年からの累計20名）を対象に、「他者の痛み推定課題」を2日間実施し、いずれか一方に経皮的耳介迷走神経刺激（taVNS）を適用した。被験者は、他者の手や顔の痛みに対する共感性の評価を行い、呈示刺激との線形回帰から傾きと切片を算出した。その結果、顔刺激においてtaVNS条件下で評価の傾きが有意に低下し、痛みを一貫して低く見積もる傾向が示された。一方、手刺激や切片には有意差は見られなかった。さらに、1日目にtaVNSを受けた群でのみ、顔刺激の傾きの有意な低下が確認された。

(3) 侵襲的・非侵襲的電気刺激による情報拡散行動の変容

①本課題は、脳深部電極を留置したパーキンソン病患者を対象に電気刺激を提示し、雑学知識に対する感嘆度および情報拡散行動の変化の有無を検証することを目的として実施した。今年度は課題を遂行できた患者が1名のみであったため、得られた結果は限定的なものにとどまる。刺激前後の比較では、雑学への感嘆度に顕著な変化は見られなかった。一方で、「雑学知識を他者と共有したい」と回答した割合は65%から85%に上昇し、情報拡散行動の促進が示唆された。

②健常成人19名を対象に、経皮的耳介迷走神経刺激（taVNS）の効果を検証する目的で、雑学知識に対する感嘆度と、それを他者に共有したくなる情報拡散行動の変化を測定した。実験は2日間にわたって実施され、刺激の提示タイミングによって、行動変容の傾向に差が認められた。1日目にtaVNSを受けた群では、情報拡散率（「他者に共有したい」と回答した割合）はsham条件下で56.9%、taVNS条件下で54.6%とほぼ変化が見られず、感嘆度についてもsham条件下で4.9からtaVNS条件下で4.4へと低下傾向を示した。一方、2日目にtaVNSを受けた群では、情報拡散率がsham条件下の50.6%からtaVNS条件下には57.2%へと上昇し、感嘆度についても5.2から5.8へと有意な上昇が見られた。

4. 研究の反省・考察

(1) 共感性を反映する視床下核活動から他者の痛みの推定

①昨年には、脳深部刺激療法のために電極を留置したパーキンソン病患者の視床下核活動から、他者が痛みを感じ始めた時に視床下核のβ帯域活動が上昇することを示したが、昨年度から継続した本fMRI計測の成果から、健常成人においても他者の痛みに対する共感性に視床下核が関与していることを示すことができた。その一方、視床下核活動は痛みの度合いとの相関性は認められず、また、この視床下核活動と同期する脳領域も認められなかった。この結果から、視床下核は痛みに対する共感性に関わるが、「感覚的な痛みの強さ」そのものを符号化する領域ではない可能性が示唆される。現在、今回のfMRI結果と昨年に得られた視床下核活動の結果をまとめた論文を作成中である。

(2) 侵襲的・非侵襲的電気刺激による神経活動変調を通じた情動・共感性の変容の検証

①今年度は本研究に参加可能な患者数が少なく、目標サンプルサイズまでまだ到達できていないため限定的な結論にとどまる。しかし、視床下核への130Hzおよび30Hzの電気刺激は、

それぞれ異なる方向の行動変容を引き起こす傾向が示された。具体的には、130Hzでは他者の手の痛みに対する共感性が低下する傾向が見られ、30Hzでは他者の痛みを反映する表情に対する共感性が上昇する傾向が確認された。視床下核は扁桃体や帯状回などの辺縁系と結合していることが知られており (Emmi et al., 2020, *Frontiers in Neuroanatomy*)、30Hz刺激によってこれらの情動関連ネットワークが賦活された可能性が考えられる。さらに、本結果は視床下核の活動が周波数依存的に共感情報処理に関与している可能性を示唆するものである。

②先行研究では、本研究と同様の周波数帯域による迷走神経刺激が視床下核の β 帯域活動を低下させる可能性が示唆されており (Marano et al., 2024, *Movement Disorder*)、本研究の結果も迷走神経を介した視床下核活動の変調に関与している可能性を支持するものである。上記に示したように、30Hzの視床下核への直接的な電気刺激により他者の痛みを反映した表情に対する共感性が上昇することが確認された一方、30Hzを含む β 帯域の活動を低下させる可能性のある迷走神経刺激では、同様の刺激に対する共感性の低下が観察された。これらの結果は、視床下核における β 帯域活動が「他者の痛みに対する共感性」において周波数依存的な役割を果たす可能性を示唆している。現在、本成果をまとめた論文の作成を進めている。

(3) 侵襲的・非侵襲的電気刺激による情報拡散行動の変容

①本研究は1症例のみの結果であり、一般化には限界がある。しかし、30Hzの脳深部刺激により情報拡散行動が増加し、一方で感嘆度には明確な変化は見られなかった。情報拡散は、社会的関与を反映する動機づけ行動と捉えることができる。30Hz刺激が他者の表情から痛みを読み取る共感性を高めることを示した申請者の先行研究と照らし合わせると、今回の結果は、電気刺激による共感性の向上が、情報の内在的価値(感嘆)には影響を及ぼさなかった一方で、他者と感情を共有しようとする社会的動機を強化し、それが拡散行動の促進につながった可能性が示唆される。

②taVNS刺激は全体として有意な効果を示さなかったが、刺激の提示タイミングによって行動変容の傾向が異なり、特に2日目にtaVNSを受けた群では、感嘆度と情報拡散率の上昇傾向が認められた。これは、taVNSが特定の文脈やタイミングにおいて、行動変容を促進または抑制する可能性を示唆している。また、taVNS刺激を伴う他者の痛みの評価課題においても、社会的手がかりである顔刺激に対する感受性が、刺激の提示タイミングによって変化することが確認されており、本研究における「taVNSの効果は文脈に依存する」という知見を支持する結果となった。これらの知見は、taVNSが共感性や社会的動機づけが関与する情報拡散行動、ならびに情報の内在的価値(感嘆)に関する情報処理に対して、選択的かつ状況依存的に影響を及ぼす可能性を示唆している。

5. 研究発表

(1) 学会誌等

なし

(2) 口頭発表

Yoshiyuki Onuki, Lkhagvasuren Amarsanaa, Takeshi Nakajima, Efe Soyman, Kensuke Kawai, Valeria Gazzola, Christian Keysers. A The human subthalamic nucleus encodes the pain perception of others. Human Brain Mapping, Brisbane, Australia, June 24-29, 2025. (ポスター発表)

(3) 出版物

なし

2024年度（第49回）學術研究振興資金 學術研究報告

学 校 名	桐 蔭 横 浜 大 学	研究所名等	
研 究 課 題	宇宙用途に向けた高効率・高信頼性ペロブスカイト太陽電池の作製	研 究 分 野	工 学
キ ー ワ ー ド	①太陽電池、②結晶工学、③デバイス工学		

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
柴 山 直 之	桐 蔭 横 浜 大 学 学 部 医 用 工 学 部	専 任 講 師	研究代表

○研究分担者

[illegible]

宇宙用途に向けた高効率・高信頼性ペロブスカイト太陽電池の作製

1. 研究の目的

- 人工衛星に向けた高信頼性、高効率な宇宙用ペロブスカイト太陽電池を開発する。
 - ペロブスカイト太陽電池を宇宙用に再開発し、宇宙空間での太陽光スペクトル下において、変換効率20%を達成する。
 - 放射線耐久性試験および熱衝撃試験を行い、変換効率維持率95%を達成する。
 - 高耐久性かつ高効率なペロブスカイト太陽電池モジュールを実現する。

2. 研究の計画

- 放射線に対する耐久性の評価
宇宙放射線に対するデバイス耐久性を確認するため、大型放射光施設 S P r i n g - 8 を用いた X 線照射試験および、総合科学研究機構 C r o s s を用いた中性子照射試験を実施する。
- 熱衝撃耐久性の評価
宇宙空間におけるデバイスの信頼性を確保のためには、極低温から高温までの温度変化に対応した駆動が可能である必要がある。そのため、封止デバイスを作製し、冷却から加熱までの熱衝撃試験を行い、特性変化を評価する。
- ペロブスカイト太陽電池の作製条件の最適化と高効率化
耐久性試験の結果を踏まえて、ペロブスカイト太陽電池の作製条件を最適化する。これにより、高効率化および耐久性の向上を図る。また、モジュール全体としての高効率化を目指す。

3. 研究の成果

- 放射線に対する耐久性の評価
大型放射光施設 S P r i n g - 8 を用いた X 線照射試験の結果、ペロブスカイト結晶や電荷輸送に用いられる各種材料は、想定される強度に対して X 線照射によって劣化しないことが明らかとなった。
一方で、総合科学研究機構 Cross を用いた中性子照射試験を行うことを予定していたが、中性子照射試験装置の調整がついており、現時点では未実施である。
- 熱衝撃に対する耐久性の評価とデバイスの最適化
熱衝撃試験を実施するために封止デバイスを設計し、加熱および冷却条件下での特性劣化の有無を調査した。低温側は特性に影響がないことを確認できた。低温条件下では特性に影響がないことが確認されたが、高温側では約 90℃ 付近で特性が低下し、不可逆的な劣化が生じることが判明した。この劣化の原因は、正孔輸送材料として使用している spiro-OMeTAD にあることを突き止めた (Chem. Asian J., 2024: 学術誌①)。
この結果を踏まえ、現在は熱耐久性向上を目的とした材料設計の見直しを進めている。

4. 研究の反省・考察

- 放射線に対する耐久性の評価
X 線照射試験については、今後も継続して評価を行っていく予定である。一方、総合科学研究機構 CROSS における中性子照射試験は、施設側での装置調整が継続していたため実施できなかった。このため、必要な実験環境の整備を進め、試験の早期実施を目指す。

(2) 熱衝撃に対する耐久性の評価とデバイスの最適化

正孔輸送層に用いる材料の熱耐久性に課題があることが明らかとなり、新たな材料の探索が必要であると判断した。今後は、より高い熱安定性を有する材料の選定を進めていく予定であり、2025年度には高分子系材料を中心とした候補の探索を実施する。

5. 研究発表

(1) 学会誌等

- ①Tomoyuki Tobe, Naoyuki Shibayama*, Yuiga Nakamura, Masashi Ikegami, Hiroyuki Kanda, and Tsutomu Miyasaka*, *Chemistry-An Asian Journal*, **2024**, 19(19), e202400686.
- ②Shun Tian, Xiao-Xin Gao*, David Reyes, Olga A. Syzgantseva, Milorad M. Baytemirov, Naoyuki Shibayama, Hiroyuki Kanda, Pascal A. Schouwink, Zhaofu Fei, Liping Zhong, Farzaneh Fadaei Tiranito, Yanyan Fang, Paul J. Dyson*, and Mohammad Khaja Nazeeruddin*, *Small*, **2024**, 20(47), 2406929.
- ③Jaekeun Lim, Alwani Imanah Rafieh, Naoyuki Shibayama, Jianxing Xia, Jean-Nicolas Audinot, Tom Wirtz, Sachin Kinge, Stefan W. Glunz, Yong Ding, Bin Ding, Hobeom Kim, Michael Saliba*, Zhaofu Fei*, Paul J. Dyson*, Mohammad Khaja Nazeeruddin* and Hiroyuki Kanda*, *Energy & Environmental Science*, **2024**, 17, 8209-8218.
- ④Yuiga Nakamura*, Naoyuki Shibayama*, Hideki Hayashida, Kunihiisa Sugimoto, and Tsutomu Miyasaka, *European Journal of Inorganic Chemistry*, **2025**, 28(5) e202400682.
- ⑤Natalia Belen Correa Guerrero, M. Dolores Perez*, Naoyuki Shibayama*, and Tsutomu Miyasaka*, *Chemical Science*, **2025**, 16(14) 5807-5818.

(2) 口頭発表

- ①柴山直之 “ペロブスカイト太陽電池の最新動向 ～結晶化過程に焦点を当てて～”，一般社団法人日本オプトメカトロニクス協会第4回フォトンテクノロジー技術部会，2025年2月25日（招待講演）
- ②柴山直之 “フタロシアニンをパッシベーション層に用いたペロブスカイト太陽電池”，2025年応用物理学会春季学術講演会，2025年3月15日

(3) 出版物

- ①柴山直之 ” ペロブスカイト太陽電池の最新動向”， *光技術コンタクト*, **2024**, 62, 4-11.
- ②柴山直之 ” 有機無機ハライドペロブスカイト結晶に対する水／光の同時暴露下による劣化過程の観察”， *応用物理学会 有機分子・バイオエレクトロニクス分科会 会誌*, **2024**, 35(2), 57-60.
- ③柴山直之 ” 有機無機鉛ハライドペロブスカイト結晶の結晶化過程と劣化過程のダイナミクス”， *月刊 マテリアルステージ*, **2024**, 6(24), 68-74.
- ④柴山直之 ” ペロブスカイト結晶層の成膜技術と表面パッシベーション技術の開発(第3章 第1節 第7項)”， *ペロブスカイト太陽電池の高性能化に向けた部材開発と要求性能*, **2024**. 出版社：株式会社情報機構.

2024年度（第49回）學術研究振興資金 學術研究報告

学 校 名	藤 田 医 科 大 学	研究所名等	国際再生医療センター	
研 究 課 題	骨軟部腫瘍細胞と腫瘍微小環境を標的としたCAR-T細胞の開発 ー2標的3作用機序を持つiPS応用Off-the-shelf化ー		研 究 分 野	医 学
キ ー ワ ー ド	①免疫療法、②細胞療法、③がん微小環境、④CAR-T、⑤骨軟部腫瘍、⑥希少がん、⑦iPS			

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
三 原 圭 一 朗	藤 田 医 科 大 学 国 際 再 生 医 療 セ ン タ ー	教 授	研究代表者・総括

○研究分担者

[illegible]

骨軟部腫瘍細胞と腫瘍微小環境を標的とした CAR-T 細胞の開発 ー 2 標的 3 作用機序を持つ iPS 応用 Off-the-shelf 化 ー

1. 研究の目的

キメラ型抗原レセプターT 細胞(CAR-T 細胞)療法は B 細胞に発現する CD19 に対する抗 CD19-CAR-T 細胞療法により再発難治急性 B 細胞リンパ性白血病患者および再発難治 B 細胞性リンパ腫患者に対し、寛解率はそれぞれ 70-90%以上、30-50%以上という画期的な結果をもたらした。しかし、固形がん患者において、CAR-T 細胞療法の効果は限定的である。これは主に以下の原因と考えられている。1) 固形がんにおいて腫瘍微小環境(TME) にはがん関連線維芽細胞(CAF)が極めておおく、血管が乏しく、CAR-T 細胞の腫瘍細胞へのアクセスが限られている。2) TME には制御性 T 細胞(Treg)が非常に多い。3) TME には腫瘍関連マクロファージ(TAM)が極めて多く、これは免疫抑制機能を有する M2 マクロファージであり、一方で抗腫瘍効果を示す M1 マクロファージの数は著減している。近年、この M2 マクロファージを低下させると担癌マウスの生存延長がみられたとの報告もある。さらに、4) CAR の scFv(single chain Fv)はマウス由来であり、患者の持つ免疫によって排除されやすく、CAR-T 細胞が長期に生存できない。また、5) CAR に対する抗原の発現低下がみられ、耐性化しやすく、また、そもそもクローンの数が血液腫瘍よりも多いと考えられている。これに対し、2 つ以上の抗原に対する、dual targeting CAR-T 細胞療法は予後を明らかに改善するとの報告が蓄積されつつある。

以上より、まず、我々は希少癌と考えられる骨軟部腫瘍細胞に発現し、CAF にも発現する Meflin 抗原に着目し、CAR-T 細胞を作成した。予備実験では抗 Meflin-CAR-T 細胞は効果的に骨肉腫細胞、横紋筋肉腫細胞に対し、抗腫瘍効果を示した。次に、我々はマクロファージの SIRP α と結合し、悪性腫瘍細胞に高発現する don't eat me signal(DEMS)に関与する CD47 に着目した。これまで抗 CD47 抗体はヒトおよびマウスにおいて M2 マクロファージの貪食作用へのシフトのみならず M1 マクロファージの貪食作用の促進などの効果も報告されている。CD47 遺伝子はヒト遺伝子プロファイリングにおいて悪性腫瘍細胞に特に発現が高く、抗 CD47 抗体療法では臨床的に特に固形がん患者の予後を改善したばかりでなく、副作用は許容範囲である。この分子に対し、我々は抗 CD47-CAR-T 細胞(scFv はマウス由来)を作成した。白血病細胞などの CD47 陽性細胞に対し、高効率で腫瘍細胞を障害した。我々はさらに、ヒト由来抗 CD47-CAR-T 細胞(scFv はヒト由来)を作成し、今後抗腫瘍効果を確認予定である。

そこで、CD47 および Meflin の発現が高く、特に再発難治ではさらなる治療に難渋する骨軟部腫瘍患者を対象とし、ヒト由来抗 CD47-抗 Meflin-CAR-T 細胞を開発する。この細胞は CD47 および Meflin を発現する骨軟部腫瘍細胞に対し、直接的な抗腫瘍作用と TME における M2 マクロファージの貪食機能を活性化させ、さらに CAF も抑制するという”dual あるいは triple targeting effect”を期待している。ヒト由来抗 CD47-CAR ベクターは固形腫瘍のバックボーンベクターとしても利用できる可能性があり、さらに同時に off-the-shelf を考えた便宜性の高い killer 活性を有する iPS 由来再生 CTL にこのベクターを挿入することも考えている。

2. 研究の計画

1) マウス由来およびヒト由来抗 CD47-CAR-T 細胞の作製および解析

CD47 蛋白をマウスに移植し、脾臓を摘出し、ファージライブラリースクリーニングによって得られた重鎖および軽鎖の可変領域の遺伝子情報を基にして作成されたマウス由来抗 CD47-CAR レトロウイルスベクターを作成した。共刺激分子は特許に関与しない CD28 を選択した。このマウス由来抗 CD47-CAR レトロウイルスベクターをヒト T 細胞株(Hut78)に遺伝子導入し、まず、細胞表面にある CAR の発現を定法に従い確認した。Goat-anti-mouse-IgG-APC(PerCP, PE)および抗リンカー抗体-APC にて CAR の発現が細胞表面に確認された。また、このマウス由来抗 CD47-CAR-T 細胞との共培養において CD47 高発現急性リンパ性白血病細胞株(NALM6)に対し、明らかな抗腫瘍効果を確認した。CD47 高発現骨軟部腫瘍細胞株および患者由来腫瘍細胞に対し、マウス由来抗 CD47-CAR-T 細胞との共培養により in vitro でその解析を行う。解析はリアルタイム細胞アナライザー(xCELLigence)で行う。また、ヒト由来抗 CD47-CAR-T 細胞おい

て、CAR の発現は Goat-anti-human-IgG-APC (PerCP, PE) および抗リンカー抗体-APC にて CAR の発現を確認する。さらにマウス由来抗 CD47-CAR-T 細胞と同様に CD47 高発現骨軟部腫瘍細胞株および患者由来腫瘍細胞との共培養による抗腫瘍効果を in vitro にて確認する。患者由来単球/マクロファージの活性化・抗腫瘍効果への影響も重ねて解析を行い、マウス由来抗 CD47-CAR-T 細胞とヒト由来抗 CD47-CAR-T 細胞の比較も行う。

2) 抗 Meflin-CAR-T 細胞の作製および解析

抗 Meflin 抗体を産生するハイブリドーマより得られた重鎖および軽鎖の可変領域の遺伝子情報(共同研究者・榎本より提供)から抗 Meflin-CAR レトロウイルスベクターを作成した。ヒト T 細胞株 Jurkat に遺伝子導入したあと、Goat-anti-mouse-IgG 抗体および抗リンカー抗体にて抗 Meflin-CAR-T 細胞の発現が細胞表面に確認された。また、Meflin 高発現骨軟部腫瘍細胞株(HS-OS-1 骨肉腫細胞株および KYM-1 横紋筋肉腫細胞株)に対し、抗 Meflin-CAR-T 細胞は予備的実験にてこれらの細胞に対し、抗腫瘍効果を示した。以後は、Meflin 高発現骨軟部腫瘍細胞株および患者由来腫瘍細胞を用い、さらにリアルタイム細胞アナライザーを利用し、この CAR-T 細胞の抗腫瘍効果を in vitro で詳しく解析する。

3) マウス由来/ヒト由来抗 Meflin-CAR-T 細胞およびマウス由来/ヒト由来抗 CD47-CAR-T 細胞の in vivo 解析

luciferase 遺伝子を導入した骨軟部腫瘍細胞株(すでに作成済み)を移植した NOG マウスを用いて、マウス由来/ヒト由来抗 Meflin-CAR-T 細胞およびマウス由来/ヒト由来抗 CD47-CAR-T 細胞の抗腫瘍効果を in vivo で確認する。

3. 研究の成果

1) マウス由来およびヒト由来抗 CD47-CAR-T 細胞の作製および解析

2025 年 4 月までに以下の成果があった。ヒトファージライブラリスクリーニングによってヒト抗 CD47 抗体をクローニングし、ヒト由来抗 CD47-CAR-T 細胞作成した。ヒト由来抗 CD47-CAR の発現は Goat-anti-human-IgG-APC (PerCP, PE) および抗リンカー抗体-APC にて CAR の発現を確認した。CAR 遺伝子導入時の T 細胞刺激時に CD47 を発現し、fratricide により効果が減弱するため、それを避けるために iPS-rCTL 細胞および $\gamma\delta$ T 細胞を使用し、ヒト由来抗 CD47-CAR-iPS-rCTL 細胞および $\gamma\delta$ T 細胞を作成し、以後はこれらの細胞を使用した。ヒト由来抗 CD47-CAR-iPS-rCTL 細胞、ヒト由来抗 CD47-CAR- $\gamma\delta$ T 細胞それぞれとの共培養において CD47 を高発現する急性リンパ性白血病細胞株(NALM6)および骨髄腫細胞株(KMM1)に対し、明らかな抗腫瘍効果を確認した。また、急性骨髄性白血病細胞株でも同様に抗腫瘍効果を認めた。

2) 抗 Meflin-CAR-T 細胞の作製および解析

2025 年 4 月までに以下の成果があった。ヒト抗 Meflin 抗体をヒトファージライブラリスクリーニングによってクローニングし、得られた重鎖および軽鎖の可変領域の遺伝子情報を基にしてヒト由来抗 Meflin-CAR-T 細胞を 3 種類(low, middle, high affinity)作成した。ヒト由来抗 Meflin-CAR-T 細胞と骨軟部腫瘍細胞株の共培養系を用いてリアルタイム細胞アナライザーにより骨肉腫細胞株(HS-OS1)および横紋筋肉腫細胞株(KYM)に対する抗腫瘍効果を確認した(middle および high affinity)。

3) マウス由来/ヒト由来抗 Meflin-CAR-T 細胞およびマウス由来/ヒト由来抗 CD47-CAR-T 細胞の in vivo 解析

ヒト由来抗 CD47-CAR- $\gamma\delta$ T 細胞は KMM1-Luc 細胞を移植した xenograft マウスモデルにおいて明らかな抗腫瘍効果を示し、副作用・副反応はほとんど発生しなかった。

4. 研究の反省・考察

ヒト由来 CD47-CAR-rCTL 細胞および $\gamma\delta$ T 細胞は効果的に急性リンパ性白血病細胞および骨髄腫細胞に対し、明らかな抗腫瘍効果を示した。昨年、抗 CD47 抗体である magrolimab がマクロファージを強く活性化し、CAR-T 細胞を含む T 細胞を貪食することが報告された。それは magrolimab のもつ Fc がマクロファージを活性化することによって起こったものであり、抑制

性の Fc をもつ evorpacept ではそのような貪食作用は見られず、第 2 相試験までにおいて明らかな副作用・副反応は見られず、有効性も示された。つまり、CD47 は明らかに抗腫瘍の標的分子であり、Fc を持たない抗 CD47-CAR-iPS-rCTL および $\gamma\delta$ T 細胞は最適な治療モダリティーと考えられる。また、抗 Meflin-CAR-T 細胞においても腫瘍微小環境を変えると考えられ、膀胱癌細胞（Meflin を持たない）などでも in vivo で研究をすすめる。また、これらの標的に対する dual-CAR- $\gamma\delta$ T 細胞を作成し、POC を確認する。昨年度の進行度は良好であったが、iPS-rCTL 細胞は iPS の質に極めて強く依存し、安定性のある CAR-iPS-rCTL 細胞が作成されなかったことから、安定的な結果を示した $\gamma\delta$ T 細胞を主に使用し、実験をすすめる。

5. 研究発表

(1) 学会誌等

なし

(2) 口頭発表

第50回日本骨髓腫細胞学会 優秀演題に採択

(3) 出版物

なし

2024年度（第49回）學術研究振興資金 學術研究報告

学 校 名	中 部 大 学	研究所名等	
研 究 課 題	染色体異常の高精度な修復を目指した新規ゲノム編集法の開発		研 究 分 野 理 学 (生物学系)
キ ー ワ ー ド	①ゲノム編集 ②染色体再編成 ③染色体逆位 ④遺伝子改変マウス ⑤相同組み換え ⑥がん ⑦RecQヘリカーゼ		

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
岩 田 悟	中 部 大 学 実験動物教育研究センター	講 師	研究の総括・受精卵ゲノム編集による遺伝子改変 マウスの作成・系統維持および解析

○研究分担者

[illegible]

染色体異常の高精度な修復を目指した新規ゲノム編集法の開発

1. 研究の目的

がんや先天性疾患の原因となる染色体再編成を正確に誘導する技術開発は、疾患モデル動物の作製だけでなく、染色体異常の治療に展開するうえでも社会的ニーズが見こまれる。しかしながら、従来のゲノム編集技術による染色体再編成マウスの誘導法では、予期せぬ構造をとるケースがあり、多くは胎生致死となることが課題であった。

そこで我々は相同組換え効率が向上する目的でゲノム安定性制御分子 *Recq15* を遺伝的に改変した *Recq15^{em1Cu}* を樹立し、そのマウス受精卵を用いたゲノム編集によりゲノム編集による手段として既存の報告では最長の逆位変異マウスを作成することに成功した。更に複雑な染色体再編成 (CCRs) を複数誘導することにも成功した (Iwata et al. *Genetics*, 2024)。以上を踏まえて本研究では大きく以下の二つに注力して研究を進める。

1) ゲノム編集技術の進歩により、生体の *ex vivo* で遺伝子異常を修復して癌を治療しようとする試みは主に血球で、更に肺や肝臓等の臓器でも進行している。これらの遺伝子の delivery にはウイルスベクターが主として使われているが、ウイルスベクターには予期せぬ insertional mutagenesis や過剰免疫応答等のリスクもあり、より安全な核酸 delivery システムの開発が必要と考える。子宮体がん、特に子宮内膜がんはリンチ症候群のような DNA ミスマッチ修復遺伝子異常による遺伝性染色体異常の関与が明らかにされている。そこで本研究では子宮内膜上皮に *ex vivo* で効率よくゲノム編集を行う技術確立し、子宮体がんの遺伝子治療の基盤形成を目指す。

2) 現在までのところ *Recq15^{em1Cu}* マウスに癌等の異常はみられていない。しかしながらこの系統のマウスを用いた研究では *Recq15* 変異による予期せぬ表現型の異常の関与を全くは否定することは出来ない。そこで本研究では、ゲノム編集時に *Recq15* の siRNA あるいは dominant negative *Recq15* を導入することにより一時的にのみ *Recq15* 遺伝子発現を抑えてゲノム編集効率を高めることが出来ないかを検討する。

2. 研究の計画

1) 子宮内膜上皮への *ex vivo* でのゲノム編集技術の開発

- ① C57BL/6N系統のマウス子宮にCRISPR-Cas9 ribonucleoprotein (RNP) をガラスキャピラリーを用いて送達し、電気穿孔法により染色体編集を実施した。
- ② 標的は、3箇所の染色体領域が同時に二本鎖切断 (DSB) されるように設計したguide RNAを使用した。DNA配列編集ソフトApEを用いて相同組換え修復 (HR) によって3つの染色体断片が互いに所定の方法に連結するように、必要な接着配列として一本鎖オリ

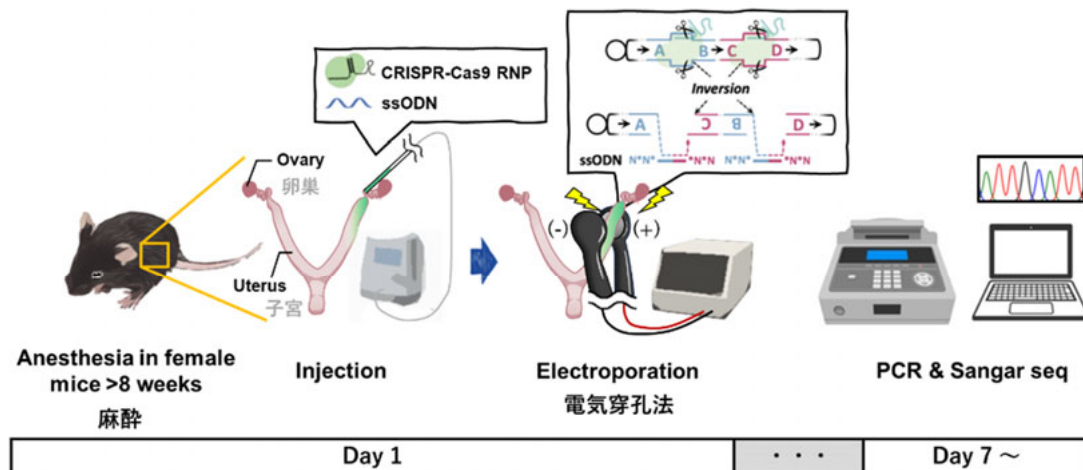


図1 マウス子宮の染色体再編成の誘導手順

ゴ (ssODN) を設計した。

- ③ *Recql15^{em1Cu}*マウスを使用して染色体編集効率を野生型と比較した。

2) 一時的な*Recql15*遺伝子の発現低下によるゲノム編集効率の改善手法の確立

- ① 将来的に遺伝子治療を目指す場合 受精卵より臓器の*ex vivo*遺伝子導入の方が倫理的観点からより実用化しやすいと考え、標的をマウス受精卵から子宮内膜上皮に変更した。
- ② 体細胞への遺伝子導入の場合、モザイク状に導入される可能性が高く、組織をバルクで解析するより、子宮内膜の個々の細胞レベルでの発現解析を目指すことが出来れば望ましい。その為に、容易に顕微鏡下で一細胞レベルで*Recql15*遺伝子の発現低下が確認出来る系を開発する事を計画した。
- ③ *Recql15*遺伝子の第19エクソン下流にin frameにGFPよりも圧倒的に蛍光強度の強いmNeonGreen遺伝子をノックインで導入し、*Recql15*遺伝子の発現をmNeonGreenの発光強度で解析出来るマウスの樹立を計画した。
- ④ 具体的にはmNeonGreen遺伝子711塩基の両側にマウス*Recql15*基遺伝子に相補的な150塩基をつないだ塩基配列をプラスミドベクターに挿入し、Guide-it Long ssDNA Strandase Kitを用いてmNeonGreen長鎖一本鎖DNA (ssDNA)を調製し、CRISPR/Cas9のノックインドナー用DNAとして使用した。

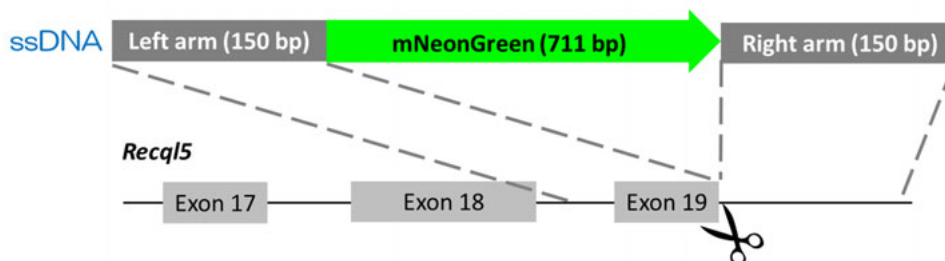


図2 一本鎖DNA (ssDNA) を用いた長鎖遺伝子ノックインマウスの作製

3. 研究の成果

1) 子宮内膜上皮への*ex vivo*でのゲノム編集結果

- ① 10番染色体のがんドライバー遺伝子を標的とした染色体再編成 (CCRs) の誘導。具体的な改変染色体を図3に示す。マウス受精卵を用いた同じ実験では、*Recql15^{em1Cu}*マウスを用いた場合の方が有意に効率が良かったが、子宮内膜上皮での実験では*Recql15^{em1Cu}*マウスと野生型マウスともに、最大40%程度の確率で両端の breakpoints が確認されて CCRs の誘導に成功した事が確認された。ただ、両者の間で有意な差は認められなかった。また、各連結部位のサンガーシーケンスの結果、非相同末端結合 (NHEJ), マイクロホモロジー媒介末端結合 (MMEJ), 相同組み換え (HR) が認められたが、初期胚の実験で高頻度に観察された FosTes/MMBIR のような不規則なゲノムイベントは殆ど検出されなかった。

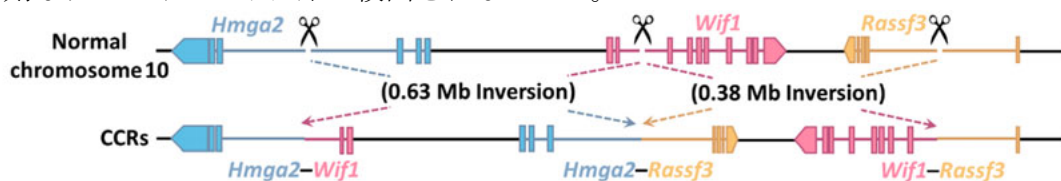


図3 がんドライバー遺伝子を標的とした複雑な染色体再編成 (CCRs) の誘導

- ② 現在まで我々はマウス受精卵では染色体転座の誘導に成功していない。本研究では核内でRNAクラウドを形成するFirre遺伝子座による染色体間結合に関与している

染色体 9 と染色体 15 は転座を起こしやすいと考え、それら二つを標的として転座の誘導を試みた。その結果、*Recql15^{em1Cu}* マウスと野生型マウスともに最大 60%程度で成功した。

- ③ 将来的な染色体異常の修復に応用すべく、In(6)1J と呼ばれる、2006 年に C3H/HeJ 系統で確認され、2021 年に我々がブレイクポイントを同定した 57.8 Mb の巨大な逆位修復を試みた。その結果、両系統において逆位の修復が見られたが、意外なことに、*Recql15^{em1Cu}* マウスでは野生型に比べて低かった。

2) mNeoGreen 遺伝子ノックインマウスの作成

精製した mNeoGreen 遺伝子のセンス鎖およびアンチセンス鎖を Gonad 法でマウス受精卵に導入したが、現在までのところノックインマウスが得られていない。

4. 研究の反省・考察

1) 子宮内膜上皮への *ex vivo* でのゲノム編集技術の確立

我々はマウス受精卵において CCRs を誘導することに成功してきたが、今回、子宮内膜上皮においても CCRs を誘導することに成功した。また、マウス受精卵において成功していなかった転座についても成功した。更に、57.8 Mb の巨大な逆位の修復についても成功し、将来的な子宮体がんでの遺伝子治療のための染色体改変技術の基礎固めになったと考えている。

しかし、今まで報告してきたマウス受精卵での染色体再編成と比較すると色々な点で異なっていて、ゲノム編集による染色体改変が生体の組織や発生過程で大きく条件が異なることが示唆された。まず、受精卵で見られた FosTes/MMBIR のような不規則な遺伝子の修復は両系統とも殆ど見られなかった。また、野生型マウスでも高いゲノム編集効率が得られて、染色体転座も成功し、*Recql15^{em1Cu}* マウスとの間に明らかな差は認められなかった。逆に、巨大逆位の修復効率では野生型の方が *Recql15^{em1Cu}* マウスより効率が高かった。これらの結果の一部は、プレプリント論文として *bioRxiv* で公開すると同時に (Iwata et al. *bioRxiv* 2025)、現在国際学術誌に投稿中である。

これらの受精卵との違いの原因は現時点では推測の域を出ないが、一つは組織でのゲノム編集は対象とする細胞数が多いので、単純に染色体改変が成功する確率が上がることを考えられる。また、体細胞では細胞周期が長く、十分な修復時間を確保できるため、意図した染色体再編が効率的に進行する可能性がある。また、FosTes/MMBIR が殆ど確認出来なかった理由としては S 期が短く、チェックポイントが厳密に制御されている可能性を考えている。

今回の研究結果を踏まえ、今後、他の臓器においても検討し、各臓器の各発育段階における *ex vivo* の染色体改変の効率の検討や分子メカニズムの解明をする必要がある。

しかしながら、体細胞における電気穿孔法で高い効率で染色体改変が行えたことは、将来的なヒトのがん治療への応用へむけた第一歩になると考えられる。

2) 一時的な *Recql15* 遺伝子の発現低下によるゲノム編集効率の改善手法の確立

Recql15 遺伝子の発現低下を容易にモニター出来るノックインマウスの樹立を試みたが、現時点で成功していない。現在、導入する ssDNA の量を増加してトライしている。これらの試みで解決されない場合は、guideRNA のデザインを再設計する、あるいはノックインのデザインを変更することを検討している。

5. 研究発表

(1) 学会誌等

Iwata S, Miura Y, Iwamoto T. Development of an *in vivo* electroporation-based chromosomal engineering technique in the murine uterine epithelium. *bioRxiv* 2025. 02. 25. 640089, 2025

(2) 口頭発表

- ① 岩田 悟、長原美樹、岩本隆司、*Recql15* 変異マウスを用いた染色体再編成時の DSB 修復機構

の*ex vivo*解析、日本遺伝学会第96回大会、2024年9月4日
ポスター発表

- ① **岩田悟**、井戸理沙子、岩本隆司、*Recql5*遺伝子を活用したマウス前立腺/子宮の効率的な染色体編集、第71回日本実験動物学会総会、2024年5月29日
- ② **岩田悟**、井戸理沙子、岩本隆司、マウス前立腺/子宮の効率的な染色体編集、日本ゲノム編集学会 第9回大会、2024年6月17日
- ③ **岩田悟**、長原美樹、岩本隆司、*Ex vivo*解析によるマウス子宮の染色体再編成とDSB修復動態、第47回日本分子生物学会年会、2024年11月27日

(3) 出版物

なし

(4) その他

理研BRC「今月のマウス」 2025年4月 *Recql5*遺伝子変異マウスを用いた染色体断片化後再合成の誘発 (https://mus.brc.riken.jp/ja/mouse_of_month/apr_2025_mm)

学 校 名	京 都 女 子 大 学	研究所名等	
研 究 課 題	認知症予防を目的とした遠隔健康サポートプログラムの構築 —京都・東山研究にポジティブヘルス理論を活用して—	研 究 分 野	文 学
キ ー ワ ー ド	①認知症予防 ②ポジティブ心理学 ③健康増進 ④健康教育 ⑤オンライン介入		

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
岩 原 昭 彦	京 都 女 子 大 学 心 理 共 生 学 部	教 授	研究の統括、心理社会的指標の測定、介入手法の開発、認知機能の測定

○研究分担者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
中 山 玲 子	京 都 女 子 大 学 栄 養 ク リ ニ ッ ク	副 学 長	生活習慣の測定、介入手法の開発
宮 脇 尚 志	京 都 女 子 大 学 家 政 学 部	教 授	医学的指標の測定、介入手法の開発
坂 手 誠 治	京 都 女 子 大 学 家 政 学 部	教 授	生活習慣の測定、介入手法の開発
下 津 咲 絵	京 都 女 子 大 学 発 達 教 育 学 部	教 授	ストレスマネジメント、介入手法の開発
八 田 武 俊	京 都 女 子 大 学 発 達 教 育 学 部	教 授	心理社会的指標の測定、ウェルビーイングの測定
須 賀 英 道	龍 谷 大 学 短 期 大 学 社 会 福 祉 学 部	教 授	ポジティブ心理学的介入法の開発
藤 原 和 美	東 邦 大 学 看 護 学 部	教 授	心理社会的指標の測定、アドヒアランスの測定
重 森 健 太	関 西 福 祉 科 学 大 学 保 健 医 療 学 部	教 授	生活習慣の測定、医学的指標の測定

認知症予防を目的とした遠隔健康サポートプログラムの構築 ー京都・東山研究にポジティブヘルス理論を活用してー

1. 研究の目的

【本研究の背景】

高齢社会の進行により認知症の予防が重要視され、教育歴や身体・知的活動が神経病理の進行に対する予備力となることが示されている。また、心血管リスクの管理や地中海食が認知症予防に有効であるという知見も蓄積されている (Lourida et al., 2013)。加えて、社会的活動やつながりも認知機能の維持に寄与することが示されており (Liao & Scholes, 2017)、近年ではポジティブ心理特性——楽観性や目的意識など——が脳の健康の保護因子として注目されている (Wilson & Bennett, 2017)。こうした知見は健康行動の変容を促す健康教育の必要性を示唆するが、国内では十分に実装されていない。また、対面での活動が困難な高齢者の増加や孤立の懸念に対し、ICTを活用した社会的つながりの維持が求められている (WHO, 2020)。

本研究では、他者との関わりがもたらす動機づけや支援機能に注目し、交流が制限される状況下でも健康行動を促す介入法の開発を目的とする。特に、①ポジティブ心理特性の強化が行動変容に与える効果と、②ICTを用いた介入が認知機能の維持に寄与するかを検証する。2024年度は、地域健診を基盤とした関連要因の分析と、アプリを用いた介入の効果検証を行い、欧米で実践されているポジティブ心理学に基づく認知症予防の国内応用を目指す。

2. 研究の計画

(1) 研究方法

本研究は、オンラインをベースとした高齢者の認知機能の維持を目的とした介入手法の有効性を検証することを目的としている。具体的には、①情報通信機器を活用することで、自力で健康教育の場に来ることが難しい高齢者を対象とする、②健康増進行動に関心が低い高齢者の行動を変容する仕組みを構築する、というものである。第一段階としては、これらの生活習慣要因および心理社会的要因を調整したうえでも、ポジティブ心理学的要因が健康行動や認知機能と関連するかを検証する。第二段階では第一段階で関連性が認められたポジティブ心理学的要因を従来型の対面式の健康教育に組み込むことで介入効果を検証する。第三段階として、情報通信機器を用いたオンライン介入でも効果が得られるかを検証する。

＜令和6年度＞

【住民健診】

生活習慣（食習慣・運動習慣）、医学的要因（動脈硬化・サルコペニア・フレイル）、心理社会的要因（知的活動、社会的つながり、ポジティブ心理学的要因）と認知機能との関連を横断的に検証すること、および、介入研究の対象者をスクリーニングすることを目的として住民健診を実施する。

＜対象者＞

地域在住の高齢者（65～85歳）150名

＜認知機能の測定＞

全般的認知機能（S-MMSE）、記憶（論理的記憶検査）、注意（D-CAT）、遂行機能（ストループ検査）に関する個別検査（NU-CAB）を実施する。

＜生活習慣・医学的指標の測定＞

①動脈硬化リスク因子および MCI リスク因子に関わるマーカーを血液検査によって測定する。また、骨格筋量や健脚度といった筋骨格因子を測定する。

②食事摂取調査および運動習慣調査を実施する。

＜心理社会的指標の測定＞

①社会的つながりの範囲と程度に関する質問紙調査を実施する。

②ポジティブ心理学的要因として、欧米の先行研究で関連性が報告されている「人生の意味」「加齢の自己知覚」について標準化された尺度を用いて測定する。

③知的活動の程度を測定し調整変数として使用する。

【介入研究の準備】

＜介入プログラムの作成＞

従来の健康教育にポジティブ心理学的な支援法を組み合わせることで健康行動の増進を図ることを目的とする。

①認知機能の低下防止に対する効果が検証されている介入法（栄養・運動）を自宅で独力でも実施できるように改変する。

②アドヒアランスやウェルビーイングを向上させる可能性が高いポジティブ心理学的要因を住民健診の結果を基に選定し、それらを向上させる課題を組み込む。

＜ポジティブ心理学的介入の有効性の検討＞

住民健診に参加した高齢者を対象に健康教室を実施し、ポジティブ心理学的介入が、認知機能、精神機能、健康行動の各側面にどのような影響があるかを検討する。

＜オンライン介入プログラムの作成＞

タブレット型端末やスマートフォンで使えるアプリケーションを完成させる。最終的には、アプリケーションの使用法の説明動画、および運動、栄養、認知の健康教育講座の動画を撮影し、アプリケーションと連動させることで、地域住民に活用していただく予定である。

(2) 令和 6 年度の研究計画の履行状況

本研究の目的を達成するためには介入研究に参加する対象者を厳密に選定することが重要となる。令和 5 年度の住民健診参加者は 140 名となったが、令和 6 年度の研究で新規対象者を募集することにより目標とする 300 名に近づけていく予定をしていた。本年度は、再検査を希望した者が約 100 名、新規希望者が約 50 名となった。介入研究の対象者と対照群の対象者を一定数確保する必要があったため、再検査を受けて頂く住民を約 100 名確保した。本研究の目標とする 300 名という対象者に近づけられるように令和 7 年度でも新規対象者を募集していく予定である。

ポジティブ心理学的要因を健康教育に組み込むことが、認知症予防に効果をもたらすのかを検証することが本研究の第二段階の目的であった。令和 6 年度には認知症予防を目的としたポジティブ心理学的介入を計画通り実施した。また、令和 7 年度に実施するアプリケーションを用いた介入研究の準備として、これまでの研究成果や欧米で実施された研究成果をもとに、アプリケーションを作成した。本研究の第三段階ではオンラインによる介入を計画しているために、作成したアプリケーションを用いた介入研究を令和 7 年度に実施する予定である。

3. 研究の成果

(1) BMI と遂行機能との関連性に対する加齢の自己知覚の調整効果

本研究では、高齢者 521 名を対象に、BMI と遂行機能（D-CAT3）の関連性に対して、加齢に対する自己の態度（ATOA）がどのような調整効果を持つかを検討した。線形回帰分析の結果、若年高齢者において、ATOA が低い群では BMI が高いほど遂行機能が低下する傾向が見られたが、ATOA が高い群ではこの関連は観察されなかった。この結果は、肯定的な加齢観が BMI に起因する認知機能低下を緩和する可能性を示唆している。

(2) 運動と精神的健康との関連性に対する社会的つながりの調整効果

住民健診に参加した高齢者 134 名を対象に、運動習慣や運動機能と精神的健康（うつ・幸福感）の関連を検討し、社会的つながりの調整効果を分析した。重回帰分析により、軽い運動と社会的つながりの交互作用が有意であり、社会的つながりが低い群では運動量が少ないと抑うつが高くなる一方、つながりが高い群では運動の有無に関係なく抑うつが低いことが示された。社会的つながりが精神的健康を維持する上での緩衝因子となる可能性が示唆された。

(3) ポジティブ心理学的介入が認知機能、心理社会的要因に及ぼす影響

ポジティブ心理学的介入の効果を、介入群・通常教育群・非介入群（最終的な分析対象者 78

名)で比較した。介入では、感謝・楽観・ノスタルジア・人生の意味を題材としたワークを実施し、肯定的な老いの態度形成を図った。分散分析の結果、カテゴリ流暢性において介入群のみ遂行機能の改善傾向が見られた。また、「加齢によるネガティブな帰属」「ポジティブなコントロール感」では、介入群において事後得点が有意に上昇した。その他の測定項目では有意な変化はなかったが、ポジティブ心理学的介入が特定の心理的側面と認知機能の改善に寄与する可能性が示された。

4. 研究の反省・考察

(1) BMIと遂行機能に対する加齢の自己知覚の調整効果

肯定的な加齢観 (SPA) は、健康的な加齢や長寿と関連し、将来志向の目標や健康行動への動機づけを高める。SPAが高い高齢者は、運動や社会的交流など健康を支える行動に積極的であり、加齢に対する楽観的な態度や目的意識が、心理的レジリエンスを高めると考えられる。本研究では、SPAが高い高齢者では、BMIと遂行機能の関連が弱まることが示され、生理指標と認知機能の関連を検討する際、心理社会的要因の考慮が重要であると示唆された。

(2) 運動と精神的健康に対する社会的つながりの調整効果

社会的つながりは、高齢者の身体的・精神的健康の維持に不可欠であり、孤立や孤独感は心疾患や抑うつといったリスクと関連する。本研究では、運動量が少なくても、社会的つながりが強い高齢者では抑うつが低く保たれていた。これは社会的つながりが心理的保護因子として作用し、精神的健康を支えることを示している。今後の公衆衛生政策では、身体的介入だけでなく、対人交流の促進が不可欠である。

(3) ポジティブ心理学的介入の効果に関する考察

感謝や楽観性、人生の意味を扱ったポジティブ心理学的介入は、加齢に対する自己知覚や遂行機能を改善させた。その効果は、①ストレス反応や神経可塑性を通じた生物学的経路、②健康行動や社会参加を通じた行動学的経路、③精神的健康の維持を通じた心理学的経路により説明できる。これらの経路を通じて、内面的な意味意識の醸成が認知機能の維持に寄与する可能性が高く、認知症予防には心理的側面への介入が重要であることが明らかになった。

(4) 研究実施における反省

本研究の当初計画では、集団健診だけでなく個別訪問による健診を実施することでサンプリングの幅を広げることを目標とし、集団健診に参加できない対象者については、保健センターや社会福祉協議会と連携して、家庭を訪問して健診を実施するとしていた。しかしながら、新型コロナウイルス感染症流行の影響が残っており、令和6年度の研究では、研究対象者を大きく広げることが不可能であった。集団健診に参加できない対象者を標本に加えることができなかったことについては反省している。サンプリングの幅を広げることは科学的実証の価値を高めるためには重要なことであるため、個別訪問等も実施できるような段取りを考えていきたい。

また、介入試験の精度にも反省すべき点が多い。介入研究の対象者の選定においては、住民健診に参加した者の中から健康教室へ参加することを希望する者を対象者としたことや参加者同士の交友関係等を考慮する必要があったことによる問題がある。次年度に実施する介入試験では、対象者を住民健診に参加していない者を対象としたうえで、本研究の住民健診と同じ検査内容を実施することで、問題を解決していきたい。

5. 研究発表

(1) 学会誌等

① Takeshi Hatta・Takatoshi Hatta・Kimiko Kato・Takahiko Kimura・Junko Hatta・Yukiharu Hasegawa・Mariko Horii・Kazumi Fujiwara・Akihiko Iwahara. (2024). Can feel young elderly adults maintain cognitive and physical function nine years later? Journal of Human Environmental Studies, 22, 2, 137-142.

② 八田武志・八田武俊・堀井まりこ・山岡由美・前田紗彩・加藤公子・木村貴彦・八田純

子・藤原和美・岩原昭彦. (2024). 高齢者の主観的年齢知覚における地域および時代の影響について—東山研究と八雲研究からの報告. 人間環境学研究, 22, 2, 169-174.

- ③藤原和美・岩原昭彦・八田武俊・八田純子・加藤公子・成澤 明・八田武志. (2024). 地域在住高齢者のオーラルフレイルと栄養および認知機能との関連. 人間環境学研究, 22, 2, 175-179.

(2) 口頭発表

なし

(3) 出版物

なし

2024年度（第49回）學術研究振興資金 學術研究報告

学 校 名	大 阪 工 業 大 学	研究所名等	環 境 バイオリソース 研 究 セ ン タ ー	
研 究 課 題	排CO ₂ ゼロのバイオエネルギー生産システムの構築		研 究 分 野	環 境 科 学
キ ー ワ ー ド	①バイオ燃料、②微生物、③低炭素技術、④リサイクル、⑤微細藻類、⑥メタン発酵			

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
河 村 耕 史	大阪工業大学 工学部		研究総括・微細藻類の実験

○研究分担者

[illegible]

排 CO₂ ゼロのバイオエネルギー生産システムの構築

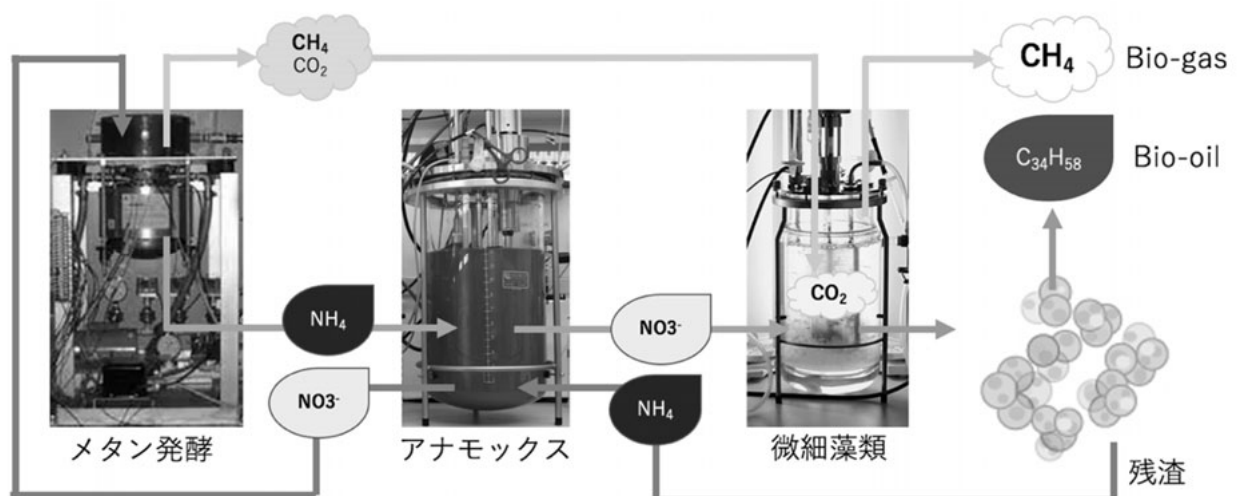
1. 研究の目的

日本の岸田総理は、COP26 において、これから 2030 年までの期間を勝負の 10 年と位置づけ、2050 年までに CO₂ 排出量を実質ゼロとする「チャレンジ・ゼロ」構想を国際公約として発表した。これを受けて経産省が「2050 年カーボンニュートラルに伴うグリーン成長戦略」を策定し（独）NEDO に 2 兆円の基金を設立した。コロナ禍が収束した後の世界経済において、CO₂ の排出削減技術はこれまで以上に大きな期待と役割を担うことが予測される。本研究は、「藻類バイオ燃料」「メタン発酵」「アナモックス」という 3 つの環境バイオ技術を統合し、CO₂ 排出量ゼロのバイオエネルギー生産システムの構築を目指す。

「藻類バイオ燃料」とは、微細藻類の光合成を利用し、CO₂ をオイル（油脂や炭化水素など）に変換する技術である。電気や水素に比べ、エネルギー密度が高く、輸送・貯蔵性に優れた液体燃料を創り出す点で優れている。藻類バイオ燃料は、持続可能な航空燃料（SAF）としての利用が特に期待されているが、現状、その生産コストは、化石燃料に比べて 5-10 倍高い（Energies 2019, 12: 1920）。SAF の技術開発は世界的に発展途上段階であり、2020 年時点の SAF 供給量は、全ジェット燃料の 0.03% に過ぎない。巨大な SAF 市場（2050 年に 22 兆円）獲得に向け、藻類バイオ燃料の研究をさらに加速させる必要がある。

「メタン発酵」技術は、有機性廃棄物を発酵させてメタンを生成する技術であり、すでに実用化されている。国内のメタン発酵発電事業は、2030 年時点のエネルギー需要の 5% を担うという目標が設定され、着実に導入数が増加している（環境バイオテクノロジー学会誌 2022, 22: 53-59）。しかし、メタン発酵によって生じるバイオガスには、約 60% を占めるメタンの他に約 40% の CO₂ が含まれる。天然ガスの代替燃料として利用するためには、メタン濃度を 90-95% まで精製する必要がある。薬品の化学吸収やアルカリの湿式吸着が導入されているが、高温高压と大量の水が必要であるため、エネルギーコストの増大と設備の大型化が避けられない（J. Renew. Energy Smart Grid Tech. 2022, 17: 29-38.）。

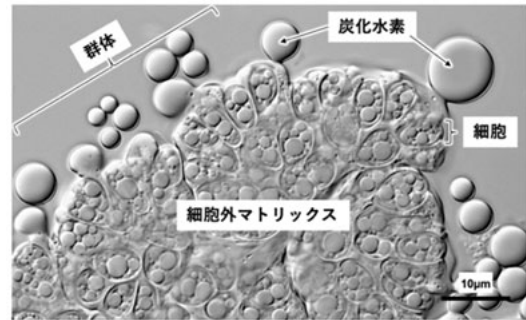
本研究は、メタン発酵槽のバイオガスを藻類培養槽に通気して CO₂ を除去すると同時にオイルを生産するシステムの構築を行う。このとき、オイル抽出後の藻類残渣をメタン発酵槽に返送するループ構造を作る。これにより、理論的には全てのバイオマスをメタンかオイルに変換できる。さらに、有害なアンモニア態窒素を、無毒な硝酸態窒素に変換するための「変換プラグ」として、「アナモックス（嫌気性アンモニア酸化）」プロセスを利用する。これにより、異質な培養槽（メタン発酵/藻類培養）を機能的に連結し、全体システムの物質循環構造を構築することを目指す。



2. 研究の計画

微細藻類株の選抜と育種、集積培養化

メタン発酵ガスと消化液の処理に適した微細藻類株の選抜と育種、集積培養化を行った。微細藻類は重油相当の炭化水素 ($C_{34}H_{58}$) を高蓄積する緑藻 *Botryococcus braunii* である。*B. braunii* は他のオイル産生藻類には見られないユニークな特質を持つ微細藻類である：(1) 炭化水素は、発熱量が高く、既存の石油精製施設を使って燃料化できる、(2) 群体を形成し、細胞内ではなく細胞外に炭化水素を蓄積する、(3) 対数増殖期に炭化水素の生産速度が最大化する(河村 2021 アグリバイオ 5: 49-52)。



B. braunii 顕微鏡画像。群体をカバーガラスで押しつぶすと、細胞外マトリックスに蓄積していた炭化水素がしみだす様子

このような他に類をみない特質から、バイオ燃料の生産者として、*B. braunii* は最も有望な生物種の 1 つである。しかし、自然環境中では生息数が少なく発見が難しい。そこで、河村は、*B. braunii* を特異的に検出する環境 DNA 分析によって生息地を解明 (Hirano, Kawamura et al. 2019. Sci.Rep. 9: 16974)、野生株の効率的な濃縮単離法を開発 (Kawamura et al. 2020. J. Ecosyst. Ecogra. 10: 274)、これまで 1000 株に及ぶ野生株を国内外の自然湖沼から単離し、増殖速度の世界最速記録を更新する株 (OIT-678 株) を発見した (Kawamura et al. 2021 Sci.Rep. 11: 7368)。本研究はこの野生株の大規模コレクションと高増殖株を使い、以下の方法で研究を行った。

2023 年度にメタン発酵ガスを模した高濃度 CO_2 (40%) 条件下でスクリーニングを行った結果、高増殖株 OIT-678 株を含む熱帯産株から高い耐性を持つ株が見つかった。これらの株は、未分解性有機物によって pH4 前後になるインドネシア熱帯泥炭湿地に由来する株であり、40% CO_2 曝気条件で起こる培地酸性化に耐性があった。集積培養を試みた結果、1L 以上スケールでは世界で初めて 10g/L を超える高密度化に成功し、0.5g/L/day のバイオマス生産速度を達成した (Hashimoto, Kawamura 2023 ABBB, USA, P2. 045)。

2023 年度の成果から、10g/L の高密度状態で、これまで微細藻類で報告された中でもトップクラスの高いオイル生産性 (250mg/L/day) を実現できることがわかった。2024 年度は高密度状態を維持しながら連続培養するためのリアクタ (送液ポンプ、外部水循環装置、pH モニター等から構成) を製作し、培養槽の安定化とさらなる性能向上を目指す。そして、メタン発酵槽からのバイオガス供給速度と、藻類培養槽による CO_2 の除去速度とのバランスを定量的に評価する。また、高密度状態では光が増殖を制限する要因になっているため、2023 年度に作出した低クロロフィル変異株や巨大群体形成変異株が高密度化に有用かどうか検証する。

メタン発酵の高負荷運転

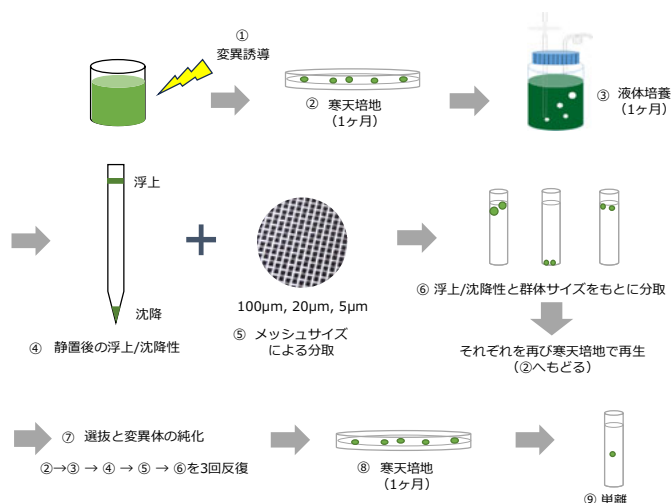
2023 年度に集積培養した *B. braunii* を使い、オイル抽出後の残渣をメタン発酵させてバイオガスを創る方法を検討する。このとき、研究分担者である古崎が開発した「エタノール化前処理」による高負荷運転を実施し、それを実現する生物学的なメカニズムの解明を行う。

メタン発酵は、有機物の加水分解→酸生成→メタン生成の順に多種多様な微生物が段階的に作用して起こる複雑な反応である。一般的に、最初の加水分解プロセスが全体の律速段階になることが多く、様々な物理化学的前処理技術が検討されてきた。これに対し、古崎は、酵母を使った「エタノール化前処理」の有効性を世界に先駆けて示した (Sun, Kosaki, Kawamura et al. 2021. Ener. Conv. Manag. 249 : 114840.)。それまで、メタン発酵で有機物を大量投入する高負荷運転を行うと、酸生成段階に揮発性脂肪酸 (VFA) が大量発生して pH を下げ、メタン生成反応を阻害する問題が知られていた (Environ. Sci. Technol., 2019, 53:9572)。ところが、古崎らは酵母を使ったエタノール化前処理を施すだけで、VFA の生成量が激減し、これまでにない高負荷運転が実現できることを示した (古崎ら特願 2021-152456)。本研究の藻類バイオマス残渣へのエタノール化前処理の効果を検証する。

3. 研究の成果

微細藻類株の選抜と育種、集積培養化

若狭湾エネルギー研究センターにおいて、*Botryococcus braunii*にイオンビームを照射し、ビーム種と線量に対する致死率の関係を調べた。一般的に、致死率が50%以上となる程度に変異誘導を行うことで、有用な変異体が得られやすいとされているため、これを目安とし、その後の変異体の選抜に有用なビーム種と線量を特定した。変異誘導したサンプルを材料に、群体の物理特性に着目して変異体を選抜した。通常野生株は、複数の細胞が集合した群体を形成するため、静置すると水面に浮上する。この性質を利用し、浮上性を喪失した変異細胞を選抜しようと考えた。さらに、ナイロンメッシュフィルターによって群体のサイズ分画を行った。そして、沈降性があり、かつ、シングルセル状態の未熟な群体 ($< 5 \mu\text{m}$) を選抜した。これにより群体形成に異常をきたした変異体を選抜できると考えた。具体的な実験手順の概略図を以下に示した。この選抜の重要なポイントは、最初の選抜で採取した細胞を再増殖させたのち、再び、同じ操作によって浮上/沈降性と群体サイズによる選抜を行う「純化」を3回繰り返した点である。これにより、目的とする変異を保有する細胞だけに純化するとともに、増殖性を保持した変異体だけを選抜する効果を狙った。



上記の方法で選抜、単離した変異体について、群体形成、増殖性と炭化水素含量の評価を行った。試験管にて単離増殖させた変異株を96ウェルプレートにて培養しながら、継続的に群体サイズとクロロフィル蛍光を測定し、増殖が飽和した段階で炭化水素をナイルレッド染色し、蛍光を測定する方法（業績⑧）を開発し炭化水素含量を評価した。変異株の多くは、群体構造の異常性にもかかわらず、元株と同等かそれ以上の増殖速度を保持していた。また、変異株間に数倍の差が見られ、元株に比べて炭化水素含量が低下した変異株もあれば、増加している株もあった（業績⑩）。同様な手法でNaCl添加培地への耐性株（業績③⑦）とpHを下げた酸性培養液への耐性株（業績④⑤）とを作出した。

メタン発酵の高負荷運転

自作したメタン発酵リアクタを使い、高負荷状態でのメタン発酵の性能向上をはかる実験を進めた。加圧式（業績⑩⑥）、泡沫充填型とトリクルベッド型（業績⑩⑦）、さらにマイクロバブルエジェクタ（業績⑩⑨）を使ったバイオメタネーションの効果を検証した。これによりバイオメタネーションを取り入れることでメタン発酵ガス中の CH_4 濃度を高める方法の有効性を検証した。

メタン発酵の高負荷運転

メタン発酵の高負荷運転

4. 研究の反省・考察

藻類バイオ燃料の研究に関して、有用野生株の選抜や突然変異育種を進めたことで、各種のストレス耐性や高密度連続培養への適合性が期待できる株の発見・作出ができた。中でも、突然変異株については、ゲノム解析を進めることで、原因遺伝子の特定に向けた基礎研究の良い材料となることが期待される。一方で、これらの野生株や変異株を利用した高密度集積培養については、10g/L以上の高密度状態まで増殖させることには成功したが、それを安定的に連続培養することはできなかった。高密度状態では培養状態が不安定化すると考えられ、pH調整などの機能を付与し高密度培養リアクターの安定化をはかる必要がある。藻類バイオマスが実験に十分な量が確保できなかったため、代わりに組成に近いと考えられる食品廃棄物を利用したメタン発酵の高負荷運転の実験を進めた。藻類培養槽を安定化させたうえで、メタン発酵ガスを通気して CH_4 濃度を高める方法とバイオメタネーションの有効性を比較検証する必要があるだろう。

5. 研究発表

(1) 国内学会発表

- ① 河村耕史・磯部祥子・白澤健太：炭化水素産生藻 *Botryococcus braunii* の野生個体群のゲノム解析による有性生殖の存否推定. 第24回マリンバイオテクノロジー学会大会, 筑波大学春日キャンパスOB-8 (2024. 5. 26)
- ② 吉川雅登・河村耕史：貧栄養条件下で高い増殖能を持つ*Botryococcus braunii*野生株の選抜. 環境バイオテクノロジー学会 2024 年度大会, 宮崎市KITENコンベンションホールP-30 (2024. 5. 30)
- ③ 横山るみ・河村耕史：石油を作る微細藻類*Botryococcus*の固体と液体培地の増殖比較実験. 環境バイオテクノロジー学会 2024 年度大会, 宮崎市KITENコンベンションホールP-53 (2024. 5. 30)
- ④ 越智裕斗・河村耕史：炭化水素産生藻*Botryococcus braunii*酸性耐性野生株のスクリーニング. 環境バイオテクノロジー学会 2024 年度大会, 宮崎市KITENコンベンションホールP-51 (2024. 5. 30)
- ⑤ 越智裕斗・河村耕史：炭化水素産生藻*Botryococcus braunii*酸性耐性野生株の選抜と突然変異育種. 第59回日本水環境学会, 北海道大学P-H-02 (2025. 3. 17)
- ⑥ 都 隆成・吉川雅登・河村耕史：緑藻*Botryococcus*のゲノム解読用の高品質 DNA 抽出法の開発. 第59回日本水環境学会, 北海道大学P-H-03 (2025. 3. 17)
- ⑦ 横山るみ・大谷歩未・河村耕史：炭化水素産生藻*Botryococcus*の塩耐性野生株の選抜と突然変異育種, 第59回日本水環境学会, 北海道大学P-H-05 (2025. 3. 17)
- ⑧ 西中日菜子・大前翔太郎・橋本昌也・河村耕史：オイル産生藻類*Botryococcus*の炭化水素含量をプレートリーダーで推定する方法第59回日本水環境学会, 北海道大学L-023 (2025. 3. 17)
- ⑨ 大谷歩未・松原 翔・河村耕史：炭化水素産生藻*Botryococcus*の栄養飢餓で単細胞化しやすい野生株の選抜. 第59回日本水環境学会, 北海道大学L-024 (2025. 3. 17)
- ⑩ 松原翔・畑下昌範・岡田茂・河村耕史：炭化水素産生藻*Botryococcus braunii*のイオンビーム照射による群体形成異常突然変異体の作出. 第49回日本藻類学会, 琉球大学P69 (2025. 3. 22)
- ⑪ 川村祐介, 古崎康哲, 築井良治, 高橋惇太：加圧バイオメタネーション実験からの動力学パラメータ算出, 第59回日本水環境学会年会講演集, p. 650 (2025. 3. 17)
- ⑫ 丁含含, 古崎康哲：バイオメタネーションにおける泡沫充填型とトリクルベッド型リアクタの比較, 第59回日本水環境学会年会講演集, p. 651 (2025. 3. 17)
- ⑬ 福富純也, 古崎康哲, 立木悦二, 孫晋：においセンサによるメタン発酵槽運転状態の把握可能性の検討, 第59回日本水環境学会年会講演集, p. 676 (2025. 3. 18)
- ⑭ 古崎康哲：マイクロバブルエジェクタを用いたバイオメタネーション, 第12回日本マイクロ・ナノバブル学会学術総会, p. 23 (2024. 12. 1)
- ⑮ 古崎康哲, 丁含含：水素資化メタン生成菌群のバイオメタネーションへの応用, 第27回日本水環境学会シンポジウム講演集, pp. 110-111 (2024. 9. 11)

(2) 国際学会発表

- ⑯ Yasunori Kosaki, Hanhan Ding: Biomethanation employing a pressurised reactor, 18th IWA World Conference on Anaerobic Digestion conference proceedings, pp. 1346-1348 (2024. 6. 3-6)
- ⑰ Hanhan Ding, Yasunori Kosaki: Biomethanation using froth-filled reactors, 18th IWA World Conference on Anaerobic Digestion conference proceedings, pp. 1272-1275 (2024. 6. 3-6)

2024年度（第49回）學術研究振興資金 學術研究報告

学 校 名	大 阪 歯 科 大 学	研究所名等		
研 究 課 題	iPS細胞からの歯根膜幹細胞分化誘導と新規歯周組織再生戦略		研 究 分 野	医 学
キ ー ワ ー ド	① iPS細胞 ② 歯周病 ③ 再生			

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
橋 本 典 也	大阪歯科大学歯学部	教 授	研究代表者・論文作成

○研究分担者

[illegible]

iPS 細胞からの歯根膜幹細胞分化誘導と新規歯周組織再生戦略

1. 研究の目的

本研究の目的は、人工多能性幹細胞（iPS 細胞）から歯根膜由来間葉系幹細胞（PDLSC）への分化誘導法を確立し、得られた iPS 細胞由来歯根膜幹細胞（iPS-PDLSC）が歯周組織を再生する能力を有するか否かを検証することである。歯周病は細菌感染による慢性炎症により歯を支持する歯周組織が破壊され、最終的には罹患歯の抜歯に至る疾患である。日本では歯周病の罹患率が非常に高く、歯の喪失原因として最大である。従来の再生治療では適応症例や再生組織量に限界があり、新規再生治療法の開発が求められている。近年、iPS 細胞を用いた再生医療が注目されており、加齢黄斑変性やパーキンソン病、脊髄損傷などへの治療応用が進んでいる。iPS 細胞は多能性幹細胞であり、理論的には無限に分化・増殖が可能であることから、臨床応用に向けた細胞供給源として非常に有望である。しかし、iPS 細胞から PDLSC への分化誘導法についてはこれまで十分に解明されていない。本研究では、歯根膜細胞培養上清を用いて iPS 細胞から PDLSC への分化誘導を試み、その特性を RNA-seq 解析により明らかにする。また、分化誘導の過程でのゲノム安定性についても評価し、移植医療に適した iPS-PDLSC の誘導作製を目指す。さらに、タンパク質の網羅的解析を通じて分化メカニズムを解明し、動物モデルを用いた移植実験によって歯周組織の再生効果を検証する。これらの検討により、iPS 細胞を用いた新規歯周組織再生治療の開発に貢献することが本研究の最終目標である。

2. 研究の計画

本研究では、iPS 細胞から PDLSC への分化誘導法を確立し、歯周組織再生への応用を目指す。分化誘導には、動物由来成分を排除した Xeno-Free 条件での培養を基本とし、腫瘍形成リスクを軽減するため c-Myc を使用せず、エピゾーマルベクターで樹立された iPS 細胞を使用する。まず、歯根膜細胞の培養上清を用いて iPS 細胞を培養し、歯根膜特異的遺伝子（Periostin、Asporin/PLAP1）の発現を指標に分化誘導条件の至適化を行う。in vitro において骨芽細胞、脂肪細胞、軟骨芽細胞への分化能を評価し、間葉系幹細胞マーカー（CD19、CD44、CD73、CD90、CD105）および多能性幹細胞マーカー（TRA-1-60、TRA-1-81、SSEA4）の発現を確認する。さらに、分化前の iPS 細胞、分化後の iPS-PDLSC、歯根膜幹細胞の RNA を用いて RNA-seq 解析を行い、遺伝子発現の網羅的解析を通じて分化誘導の分子メカニズムを明らかにする。同時に、G-Band assay を用いて核型異常の有無を検討し、臨床応用に必要なゲノム安定性の確認も行う。これらの検討により、iPS-PDLSC が歯周組織再生に有用な細胞源として応用可能かを評価し、新規歯周組織再生治療法の開発につなげる。

3. 研究の成果

iPS 細胞から iPS-PDLSC への分化誘導方法を検討した。歯根膜細胞の培養上清を iPS 細胞に加えることで iPS 細胞が iPS-PDLSC へ分化することを確認した。iPS-PDLSC は培養上清によって分化誘導を行うと紡錘形の形態に変化し、1 週間以内に多能性幹細胞のマーカー遺伝子である Oct4 が消失した。また、2〜3 週間後に Periostin、Asporin/PLAP1、I 型コラーゲンなど歯根膜特異的な遺伝子の発現が上昇した。さらに細胞表面タンパクの検討を行ったところ、iPS-PDLSC では間葉系幹細胞マーカー（CD19、CD44、CD73、CD90、CD105）が発現し、多能性幹細胞マーカー（TRA-1-60、TRA1-81、SSEA4）が消失していた。これらの結果は、iPS-PDLSC の特徴が歯根膜細胞に類似していることを示していると考えられる。RNA-seq 解析を行い、iPS-PDLSC と歯根膜細胞の遺伝子発現パターンを比較したところ、PCA 解析で iPS-PDLSC と歯根膜細胞が近傍に位置し、iPS 細胞とは明確に異なる位置に配置された。また、iPS-PDLSC と歯根膜細胞は約 80%以上の遺伝子発現において共通していた。この結果から、iPS-PDLSC が歯根膜細胞に非常に近い遺伝子発現パ

ターンを示すことが明らかとなった。さらに、iPS-PDLSC のゲノムの安定性を G-band 法を用いて検討したところ、3 つの iPS-PDLSC のゲノム構造を評価したが、1 つの iPS-PDLSC において染色体断片の付加が認められた。その他の細胞では特に異常は観察されなかった。

4. 研究の反省・考察

本研究では、iPS 細胞から iPS-PDLSC への分化誘導方法を確立し、iPS-PDLSC が歯根膜細胞に類似した遺伝子発現パターンを示すことを明らかにした。結果として、iPS 細胞から歯周組織再生に必要な PDLSC を効果的に誘導できる可能性が示唆された。しかし、いくつかの課題と反省点も明らかとなった。

まず、iPS-PDLSC の分化誘導過程におけるゲノム安定性について、G-band 法を用いた検討で染色体断片の付加が一部の iPS-PDLSC で確認された。この結果は、iPS 細胞由来の細胞を臨床応用する際の重要な課題を浮き彫りにした。ゲノムの安定性が確保されることは、再生医療において極めて重要であり、今後の研究では、分化誘導過程におけるゲノム安定性をさらに詳細に評価し、安定性向上のための対策を講じる必要がある。

次に、iPS-PDLSC が歯根膜細胞に非常に近い遺伝子発現パターンを示したことは、iPS 細胞からの歯周組織再生における応用の可能性を示唆している。しかし、iPS 細胞と歯根膜細胞との完全な同等性は確認できなかったため、iPS-PDLSC が歯根膜細胞に類似していても、その機能が完全に一致するかどうかは未だ不明である。この点については、さらに詳細な機能解析や in vivo での再生能力の評価を行う必要がある。

今後の研究では、分化誘導の最適化やゲノム安定性の向上を目指し、iPS-PDLSC の臨床応用に向けた安全性と効率性の確保に注力する必要がある。また、iPS-PDLSC の機能を確認するため、再生医療のモデルとなる動物実験を通じて、その再生能力をさらに検証することが求められる。

5. 研究発表

(1) 学会誌等

なし

(2) 口頭発表

①谷口侑里映、城潤一郎、岩崎剣吾、橋本典也、百田義弘. iPS歯根膜細胞由来エクソソームを用いた歯周組織再生のための徐放化担体の開発. 令和6年度日本歯科理工学会近畿・中四国地方会. 2024. 12. 7. 神戸国際会館、神戸市

②Taniguchi Y, Jo J, Iwasaki K, Hashimoto Y, Momota Y. Exosomes from iPS-Derived PDL Cells Promotes Osteogenic and Anti-Inflammatory Properties. 第72回国際歯科研究学会日本部会総会・学術大会. 2024. 11. 16. カクイックス交流センター、鹿児島市

③谷口侑里映、西口雄祐、城潤一郎、岩崎剣吾、橋本典也、百田義弘. 歯周組織再生治療への応用に向けたiPS由来歯根膜細胞エクソソームの基礎的研究. 第11回日本細胞外小胞学会学術集会. 2024. 10. 28. 京王プラザホテル、東京都

④Iwasaki K, Wu Y, Ishikawa I, Hashimoto Y. Differentiation of iPS Cells into Periodontal Ligament Stem Cells and Their Potential for Periodontal Tissue Regeneration. The 15th Asian Pacific Society of Periodontology Meeting. 17-18, October 2024. Grand Plaza Hanoi, Hanoi, Vietnam.

⑤谷口侑里映、西口雄祐、上田衛、窪寛仁、橋本典也. 歯周組織再生に向けたiPS由来歯根膜細胞exosomeの単離およびその関連microRNAの発現測定. 第78回日本口腔科学会学術集会. 2024. 7. 20. 東京大学 本郷キャンパス、東京都

⑥谷口侑里映、岩崎剣吾、呉珣璠、上田衛、橋本典也、百田義弘. 歯周組織再生に向けたiPS由来歯根膜細胞からの細胞外小胞の単離. 第82回日本歯科理工学会学術講演会. 2024. 4. 21. カクイックス交流センター、鹿児島市

(3) 出版物

なし

学 校 名	大 阪 成 蹊 短 期 大 学	研究所名等	
研 究 課 題	動物繊維由来の機能性ナノファイバーを利用した骨格筋組織の再生	研 究 分 野	工 学
キ ー ワ ー ド	①動物繊維 ②ケラチン ③ナノファイバー ④骨格筋再生		

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
澤 田 和 也	大 阪 成 蹊 短 期 大 学 生 活 デ ザ イン 学 科	教 授	研究代表 研究全般と総括

○研究分担者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
藤 里 俊 哉	大 阪 工 業 大 学 大 学 院 工 学 研 究 科	教 授	組織工学領域の実験
中 村 友 浩	大 阪 工 業 大 学 工 学 部	教 授	組織工学領域の実験
藤 原 智 洋	岡 山 大 学 大 学 院 医 歯 薬 学 総 合 研 究 科 整 形 外 科	講 師	動物実験領域の実施と評価
福 岡 史 朗	香 川 県 立 中 央 病 院 整 形 外 科	医 員	動物実験領域の実施と評価
長 谷 川 翼	岡 山 大 学 大 学 院 医 歯 薬 学 総 合 研 究 科 整 形 外 科	医 員	動物実験領域の実施と評価

動物繊維由来の機能性ナノファイバーを利用した骨格筋組織の再生

1. 研究の目的

本研究は、「毛髪の再生利用」と「骨格筋組織の再生」という性質の異なる2つの課題を同時に解決することを目的とする。以下に、それぞれの観点から背景と目的を整理する。

＜毛髪の再生利用について＞

これまで毛髪に関する研究は、育毛やウィッグ開発を主目的とした構造解析が中心であり、毛髪を構成するタンパク質を再生医療やバイオマテリアルとして応用した例はほとんどない。一方で、毛髪は大量に廃棄される未利用バイオマス資源であり、その有効活用には環境的にも大きな意義がある。

そこで本研究では、毛髪由来ケラチンを再生医療用のスキャフォールド材料として活用し、廃棄資源の高機能化と、再生医療をはじめとした多分野への応用展開を目指す。

＜骨格筋組織の再生について＞

骨格筋欠損に対しては、組織工学的アプローチによるスキャフォールドの応用が有望とされているが、筋組織に特化した材料は未だ確立されていない。現行の主材料であるコラーゲンは、生体適合性には優れるものの、成形加工性や機械的強度に課題があり、さらに異種動物由来による病原性リスクも無視できない。したがって、これらの課題を克服する新たなスキャフォールド材料の開発が必要とされている。

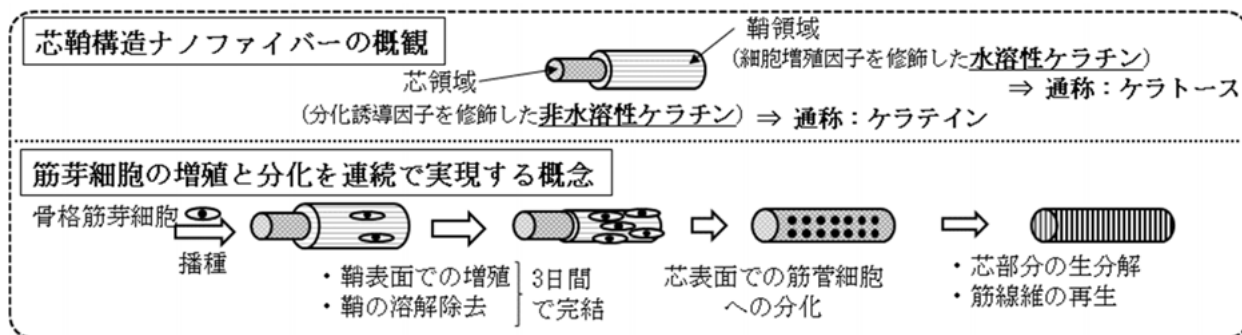
本研究では、毛髪由来ケラチンを用いたスキャフォールドの作製とその再生医療材料としての有効性の検証を通じて、骨格筋組織の再生を目指す。ケラチンは高い剛性と生体親和性を有しており、従来のコラーゲン材料が抱える物性上の課題を克服しうる素材である。

特に本研究では、以下の3点を技術的特徴とする：

1. 筋芽細胞の配向性を誘導する一軸配向ナノファイバー構造の採用
2. 異なる抽出法で得られた特性の異なる2種のケラチンの併用と機能分担化（下図）
3. 芯鞘構造ナノファイバーの導入による、細胞増殖から分化への一段階工程制御（下図上段・下段）

具体的には、増殖促進用のケラチンを外層（鞘）に、分化誘導用のケラチンを内層（芯）に配置した芯鞘構造ナノファイバーを作製する（下図上段）。外層で筋芽細胞を増殖させた後、鞘領域が約3日で溶解し、その空隙により栄養素や老廃物の移動を促進、深部での細胞活性を維持する（下図下段）。その後、細胞は芯領域へ移行して分化し、筋線維の形成へと至る。

このように、毛髪由来ケラチンの物性と機能性を活かし、構造設計を工夫することで、従来材料では実現が難しかった骨格筋組織の再生を目指す。



2. 研究の計画

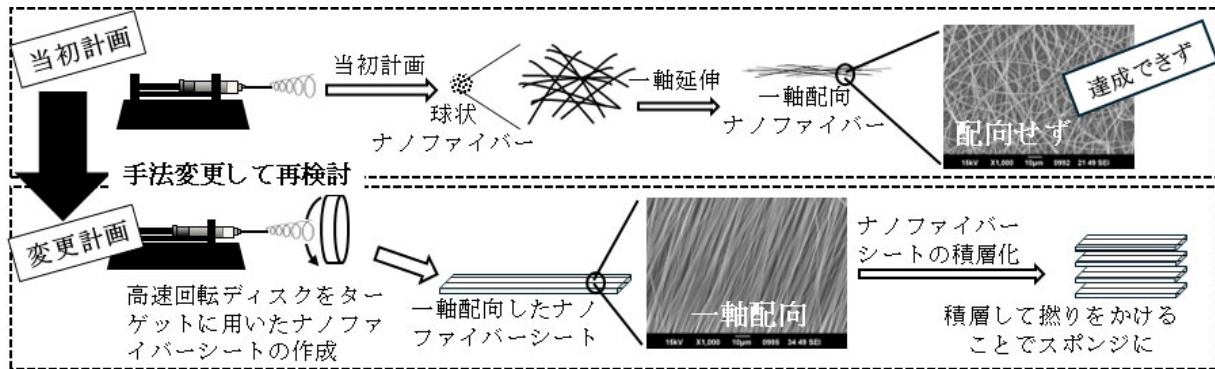
2024年度は、以下の4項目の検討を共同研究者と共に実施した

- ①-1 ケラトースを用いた延伸ナノファイバースポンジの作製
- ①-2 ナノファイバースポンジの架橋処理
- ①-3 成長因子 (b-FGF) のスポンジへの固着化とその定量評価
- ①-4 成長因子固着スポンジ上での筋芽細胞の培養評価

3. 研究の成果

①-1 延伸ナノファイバースポンジの作製

筋芽細胞の分化と筋線維形成を誘導するため、一軸配向ナノファイバー構造の構築を目指した。当初は、エレクトロスピンニングで作製したナノファイバーに一軸延伸を加える手法を検討したが、各種条件を最適化しても十分な配向性は得られなかった（図：上段）。そこで、ファイバー収集部を高速回転させる方法に切り替え、溶液濃度・回転速度・供給量を最適化することで、厚さ約1mmの一軸配向ナノファイバーシートの作製に成功した（図：下段）。さらに、複数枚を積層・燃糸することでナノファイバースポンジの成形を達成した。この手法変更に伴い、一軸延伸装置の更新は中止し、高速回転ディスク装置の導入に予算を充当した。



①-2 ナノファイバースポンジの架橋処理

鞘材料として用いるケラトースは本来水溶性を有するため、生体内環境での形状保持性が課題となる。本研究では、37℃の疑似体液中において3日間かけて徐々に溶解させることを目標に、カルボジイミド系架橋剤であるEDC（1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド）を用いたケラトースの架橋処理条件の最適化を試みた。具体的には、処理温度およびEDC濃度を段階的に変化させたスクリーニング実験を行い、目標とする溶解性を実現可能な条件の確立に成功した。得られたスポンジの水溶性は、BCA法（ビシンコニン酸アッセイ）を用いたタンパク質溶出量の定量的評価と、フィルムの残存形状を顕微鏡観察することにより、定性的・定量的に検証した。

①-3 成長因子の固着と定量評価

（※本手法については特許出願を予定しているため、以下には概要のみを記載する）

ナノファイバースポンジに生物活性を付与する目的で、線維芽細胞増殖因子（b-FGF）をケラトースに静電的に固着させる手法を新たに開発した。具体的には、酢酸緩衝液中にb-FGFを溶解し、これにEDC架橋処理を施したケラトーススポンジを浸漬することで、タンパク質の吸着を試みた。固着の定量評価にはELISA法を用い、吸着前後の溶液中のb-FGF濃度変化を追跡することで、吸着効率を算出した。その結果、ケラトースの架橋条件がb-FGFの吸着量に大きく影響を与えることが明らかとなり、最適な条件設定が成長因子の有効利用において重要であることが示唆された。

①-4 筋芽細胞培養評価

（※本手法については特許出願を予定しているため、以下には概要のみを記載する）

b-FGFを固着させたナノファイバースポンジの生物活性を評価するため、マウス骨格筋由来の筋芽細胞株C2C12を用いて静置培養を実施した。培養期間は3日間とし、細胞密度がサブコンフルエントに到達することを目標とした。また比較対象として、b-FGFを固着していないナノファイバーフィルムをコントロール群とした。その結果、b-FGFを固着した群では細胞増殖が促進される傾向が確認されたが、十分な増殖には至らなかった。これを受けて、EDC架橋条件の再検討を行い、b-FGFの吸着量を増加させる方向で条件をフィードバック的に最適化した。その結果、一定の改善が見られたものの、依然として細胞増殖促進効果の最大化には至っておらず、さらなる改良の余地があると判断された。

4. 研究の反省・考察

本研究の遂行にあたり、各段階でさまざまな技術的課題に直面したが、それらを克服する過程で多くの知見を得ることができた。以下に、各ステップにおける主な反省点および考察を述べる。

①-1 では、ケラチン素材に配向性を誘導する物理的手法の確立を試みたが、力学的加圧によって安定的な配向を得ることは困難であるという現実直面した。当初はこの方法の実現を目指して多くの時間を費やしたものの、最終的には本手法の採用を断念せざるを得なかった。代替手段として、高速回転による巻き取り法が既報であることを確認し、その応用を検討した。ところが、この手法に必要な回転巻き取り装置の開発には高度な技術が要求されることが判明したため、装置メーカーと連携し、試行錯誤を重ねながら独自の巻き取り機を開発した。その結果、当初の目的であった配向性の付与に成功し、最終的には目標を十分に達成するに至った。想定を超える時間と労力を要したものの、結果として有用な技術的基盤を確立できたと考えている。

①-2 では、ケラトースの架橋反応に関する制御性に課題があった。ケラトース自体が水分を含むことで大きく膨潤する性質を有するため、その挙動を抑えながら適切な分解性を持たせる架橋条件の設定は容易ではなかった。特に、架橋剤の濃度と反応時間の最適化においては、細かな条件調整と繰り返しの検討が必要であった。試行を重ねることで、目的としていた「3 日程度で分解可能な架橋ケラトース」の調製条件を確立するに至り、一定の技術的到達点を得ることができた。

①-3 では、b-FGF をケラトースと静電的相互作用で結合させる検討を行ったが、溶液中の pH やケラトースの架橋状態が相互作用に大きく影響を与えることが明らかとなった。これにより、安定した b-FGF の吸着や保持が難しく、再現性のある成果を得るにはさらなる系統的な条件検討が必要であることを認識した。

①-4 においては、b-FGF が筋芽細胞 C2C12 の増殖を促進する傾向が見られたものの、十分な増殖効果を引き出すためには、b-FGF の吸着量そのものを改善する必要があると判断された。そのため、再び①-2 で検討した架橋条件に立ち戻り、b-FGF との相互作用を最適化する必要があった。また、フィルム自体の分解性についても、3 日以内の溶解を達成しつつ、b-FGF の機能を保持するバランスを見出すことが困難であったが、条件設定を丁寧にスクリーニングすることで、一定の方向性を見いだすことができた。

以上のように、各課題において技術的困難を伴いながらも、粘り強く取り組むことで多くの成果と知見を得ることができた。これらの経験は、今後の応用研究および展開研究において、技術的な基盤として大いに活用されると考える。

5. 研究発表

(1) 学会誌等

- ① Shiro Fukuoka, Kazuya Sawada, Tomohiro Fujiwaral, Tsubasa Hasegawal, Maki Iwata, Takenori Uehara1, Masanori Yorimitsu, Toshifumi Ozaki, Toshiya Fujisato, Functional limb reconstruction using the decellularized skeletal muscles” which you submitted to Bone & Joint Research, submitted
- ② Kazuya Sawada, Toshiya Fujisato, Surface Functionalization of Keratin Proteins to Promote Cell Proliferation, J. chem. Tech. Biotech., submitted

(2) 口頭発表

- ① 藤原智洋, 福岡史朗, 長谷川翼, 澤田和也, 藤里俊哉, 望月雄介, 依光正則, 尾崎敏文, 脱細胞化骨格筋を用いた軟部組織欠損に対する機能的四肢再建法の開発, 第43回日本運動器移植・再生医学研究会, 2024. 11. 30, 岡山
- ② Kazuya Sawada, Hoshinori Fujii, Toshiya Fujisato, Modification of Keratin Protein for Biomaterial Applications, International Symposium on Fiber Science and Technology, 2024/11/25 ~ 2024/11/28, Kyoto, Japan

(3) 出版物

なし

2024年度（第49回）學術研究振興資金 學術研究報告

学 校 名	関 西 学 院 大 学	研究所名等	
研 究 課 題	X線自由電子レーザーによるX線誘起フェムト秒磁気ダイナミクス	研 究 分 野	理 学 (理工系)
キ ー ワ ー ド	①X線自由電子レーザー ②放射光 ③磁気ダイナミクス ④円偏光X線 ⑤光誘起磁化 ⑥逆ファラデー効果		

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
鈴木 基 寛	関 西 学 院 大 学 工 学 部	教 授	総括・手法開発・実験・論文作成

○研究分担者

[illegible]

X線自由電子レーザーによるX線誘起フェムト秒磁気ダイナミクス

1. 研究の目的

本研究では、新たな原理に基づくスピン制御技術の構築を目指し、より高速なピコ秒からフェムト秒での元素選択的なスピンドायナミクスの解明を通じて、超高速スピン制御原理の探求を目的とする。

- (1) 円偏光した超短パルス X 線自由電子レーザー (XFEL) を磁性体に照射することにより、スピン偏極した励起状態、すなわち「X 線誘起磁化」を瞬間的に生成し、その緩和過程の動的現象を解析するための手法を開発する。
- (2) 開発した測定手法をフェリ磁性体 GdFeCo 薄膜に適用し、フェムト秒からピコ秒の時間スケールでのスピン選択的な内殻励起状態とその緩和過程の動的現象を観察する。
- (3) 得られた結果を解析することで、上記の時間スケールで起こるスピン選択的な内殻励起状態とその緩和素過程の情報を引き出し、スピンに依存した電子間相互作用や磁気素過程を元素選択的に解明する。これにより従来の 100 倍以上高速なデバイスのためのスピン制御原理を提示する。

2. 研究の計画

本研究では、円偏光 XFEL パルスを励起光とし、可視光パルスレーザーを検出光とするポンプ・プローブ法を用いる。XFEL パルスを試料に照射することで瞬間的な磁性変化を誘起し、可視・近赤外領域の磁気ファラデー効果を検出することにより磁性変化の時間分解計測を行う。2023 年度には、計測に用いる偏光顕微磁気光学系の開発と性能評価を行った。2024 年度には、開発した偏光顕微光学系を X 線自由電子レーザー (XFEL) 施設 SACLA に持ち込み、X 線誘起磁気ダイナミクスの観測を行うことを目的とした。具体的には以下の項目について研究を行った。

- (1) XFEL 励起-近赤外パルスレーザー検出による、ポンプ・プローブ測定系の構築
- (2) GdFeCo 試料に対する X 線誘起磁気ダイナミクス測定

3. 研究の成果

- (1)XFEL 励起-近赤外パルスレーザー検出による、ポンプ・プローブ測定系の構築

2024 年度に開発した偏光顕微光学系を X 線自由電子レーザー施設 SACLA に持ち込み、XFEL 励起・近赤外パルスレーザー検出による、ポンプ・プローブ測定系を構築した。実験は SACLA の共同利用ビームタイムを取得し、BL3 ビームラインにおいて行った。構築した測定系を図 1 に示す。励起光である XFEL の光子エネルギーは Gd の L₃ 吸収端の 7.246 keV とした。円偏光した XFEL を X 線屈折レンズにより試料上に $2 \times 3 \mu\text{m}^2$ のスポットに集光した。励起光である XFEL パルスと検出光である Ti サファイアレーザーパルスを同期させ、両者の時間間隔を 60 fs の精度で制御した。

偏光顕微光学系は、顕微鏡対物レンズ、ウォラストン偏光プリズム、および 2 台の高感度 CMOS カメラで構成される。この光学系により、プローブレーザーを光源とした試料の拡大透過像を $100\text{ }\mu\text{m}$ の視野で観察することができる。試料に垂直偏光したレーザーを入射し、ウォラストンプリズムを用いて試料透過光の垂直

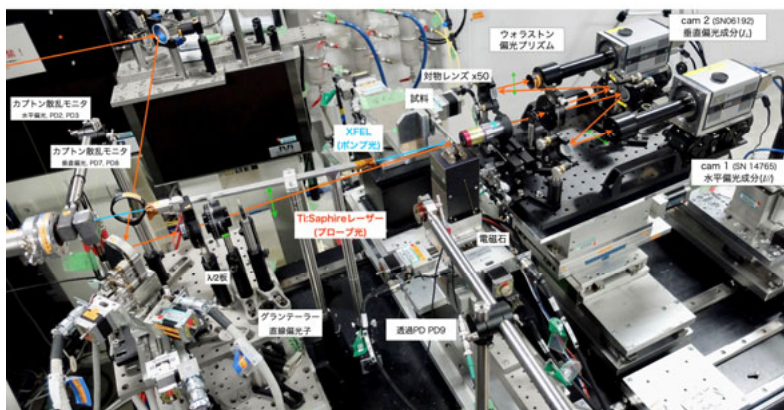


図 1. SACLA に構築した XFEL 励起-近赤外パルスレーザー検出による、ポンプ・プローブ測定系。

偏光成分と水平偏光成分を分離し、2 台の高感度 CMOS カメラ上で顕微画像として撮影した。水平偏光成分を検出するカメラ 1 では、ファラデー回転による磁気コントラスト変化を測定し、垂直偏光成分を検出するカメラ 2 では、試料透過光の強度変化を測定する。この方法により、XFEL 照射による磁性（ファラデー回転角）の変化と電子状態（透過光強度）の変化を同時に取得することができる。

データ取得系については、CMOS カメラを制御するための Windows PC 上の LabView プログラムと、SACLA のデータ収集システム（Linux）との連携制御・同期測定シーケンスを構築した。これにより、XFEL 30 Hz、近赤外ポンプレーザー 60 Hz の繰り返しに同期して 2 台の CMOS カメラの画像データ取得を行うシステムを構築した。

上記の測定系により、ワンショットでの磁気ファラデー回転角画像の取得が行えることを確認した。取得画像のノイズとコントラスト比から、磁気ダイナミクス測定の十分な精度が得られることを確認した。

(2) GdFeCo 試料に対する X 線誘起磁気ダイナミクス測定

上記の測定系を用いて、GdFeCo フェリ磁性合金の X 線誘起磁化観測を行った。Gd 組成 25%、膜厚 30 nm の試料に対するワンショット磁気画像を図 2 に示す。XFEL を照射した視野中心部分のコントラストが、XFEL 照射後の時間とともに変化する様

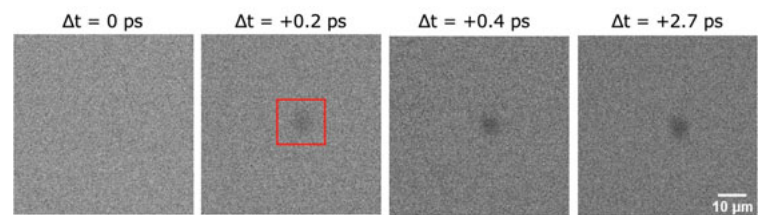


図 2. GdFeCo 試料の XFEL 照射によるフェムト秒での磁性変化。

子を捉えることができた。この結果は、XFEL 照射により試料の磁化が瞬間的に減少していることを示しており、X 線誘起による磁気ダイナミクスを直接観察することに成功した。

2 台の CMOS カメラ画像の XFEL 照射位置のコントラスト変化（図 2 中の赤い四角で囲んだ領域の画像強度）の、XFEL 照射後のディレイ時間に対する依存性を解析した。その結果、カメラ 1 によるファラデー回転角の変化から、XFEL 照射により磁化が減少することが明らかになった。また、逆方向に試料を磁化した場合にも、減磁を示す同様な結果が得られた。減磁は XFEL パルス照射後 300 fs で完了しており、XFEL の照射によって、1 ps 以内の高速な減磁が誘起されることが初めて明らかになった。照射後 2 ps までは一定の磁化の値を保ち、その後、数 10 ps 以上の緩和時間で、元の磁化の値に戻っていく様子が観測された。磁気コントラストの減少量から、減磁量は飽和磁化に対して 10～20%であり、磁化反転、あるいはゼロ磁化までの減磁には到達していないといえる。

また、垂直偏光成分を検出するカメラ 2 による画像のコントラストは試料の透過率に対応しており、XFEL 照射によって試料の透過率も変化することが観測された。透過率変化は XFEL 照射後 100 fs で起こっており、上で述べた減磁よりも速い変化であった。X 線照射により誘起される磁性変化と電子状態の変化が異なる時間で起こることを示唆しており、興味深い結果である。一方で、照射による SiN メンブレン基板の透過率変化を観測している可能性もあるため、慎重に判断する必要がある。そのため、2025 年度に検証のための追実験を予定している。

4. 研究の反省・考察

3. で述べたように、GdFeCo 試料に対して X 線誘起磁気ダイナミクスの観測を行い、磁性と電子状態の変化に関して、異なる時間スケールでのダイナミクスが誘起されることを初めて明らかにした。一方で、励起光として用いた XFEL の円偏光ヘリシティに対する依存性については、実験誤差内では有意な変化として観測されなかった。左右円偏光に対する磁性変化の違いが観測されれば、よりインパクトの高い成果となるため、今後は測定と解析の精度を高め、励起光のヘリシティ依存性について精査していきたい。さらに、XFEL 励起強度、光子エネルギー、試料組成など異なる条件に対するデータの蓄積を行う予定である。この目的のため、セルフシード XFEL の利用や、ダイヤモンド移相子の高速駆動による XFEL とパルスと同期した円偏光スイッチング法の開発・導入を行う。これらの計画に沿って、XFEL 誘起磁化信号の測定精度をさらに高めるための装置開発と測定条件の最適化を、今後も継続していく予定である。

5. 研究発表

- (1) 学会誌等
なし
- (2) 口頭発表
なし
- (3) 出版物
なし

学 校 名	園 田 学 園 女 子 大 学	研究所名等		
研 究 課 題	労働者のワーク・エンゲイジメント向上に関するメカニズムの解明—個人の資源と職場の資源から「働きがい」のある職場を支える要因の検討—		研 究 分 野	経 済 学
キ ー ワ ー ド	①職場のメンタルヘルス対策、②ワーク・エンゲイジメント、③組織内自尊感情、④情動知能、⑤職業性ストレスと心身の健康、⑥メンタリングやコーチングのキャリア発達支援、⑦教育研修、⑧構造方程式モデリング			

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
足 立 邦 子	園田学園女子大学 経 営 学 部	准 教 授	研究代表者 総括

○研究分担者

[illegible]

労働者のワーク・エンゲイジメント向上に関するメカニズムの解明 — 個人の資源と職場の資源から「働きがい」のある職場を支える 要因の検討 —

1. 研究の目的

現在注目を集める「働き方改革」に際して、勤務時間や勤務場所など労働者の状況や特性に合わせた勤務形態を整えることは重要である。また、キャリアを形成する上で、従来の働き方からの変化をどのように捉え、それに適応できるかは労働者ならびに雇用する側にとっても大きな課題である。本研究では、産業構造の変化やウイズ及びポスト・コロナ時代における多様な働き方を踏まえ、職場におけるメンタルヘルス対策の一助となる、労働者の健康を促進しながら働くためのメカニズムを明らかにする。そこで、本研究では労働者の働きがいに着目した「ワーク・エンゲイジメント」及び「組織内自尊感情」など労働者のもつ個人の資源を取り上げ、職場が提供するコーチやメンターによるキャリア発達支援制度や入職後の継続した教育研修制度などの職場の資源が、個人がもつ資源にどのような影響を与えるのか検討する。さらに、「ワーク・エンゲイジメント」を向上させるためのメカニズムについて検討する。第2の目的として、コロナ禍における勤務形態の変化や、メンタリングやコーチングのキャリア発達の開始時期である入社時期による違いが、労働者の職業性ストレスと心身の健康、及び心理面にどのような影響を与えるのか検討する。

2. 研究の計画

(1) 本年度は、「ワーク・エンゲイジメント」や「組織内自尊感情」を促進するモデル構築を目的に、Webを介した大規模調査を行う。また、そこから得たデータをもとに、ウイズ及びポスト・コロナ時代に即した労働者の働きがいに着目し、入社してからの勤務形態の変化や、キャリア発達の開始時期である入社時期による違いが労働者の心理面にどのような影響を与えるか検討する。

- ① 調査対象者：調査時点で心身の不調による休職経験のない1000人程度とする（インターネット調査会社のパネルを活用する）。
- ② 調査項目：デモグラフィック変数として、年齢、性別、職業、職位、勤務状況、勤続年数、事業所規模、新入社員研修後の継続的な教育研修の実施、メンターやコーチによるキャリア発達支援の有無、コロナ禍による就業形態の変化及び就業形態などを尋ねる。労働者の心理・情緒的側面を捉えるため、組織内自尊感情尺度、日本語版ワーク・エンゲイジメント尺度短縮版、情動知能尺度日本語版を用いる。また、コロナ禍による就業形態の変化及び就業形態による心理的苦痛の程度を尋ねる。労働者の心身の健康の側面を捉えるため、K6 (Kessler psychological distress scale) 日本語版、職業性ストレス簡易調査票（下光，2005）の身体愁訴11項目を用いる。
- ③ データ解析：各尺度の因子得点を用いた構造方程式モデリングを行い、2022年度に得たモデルの精緻化を実施する。また、「勤務形態」と「入社時期」を独立変数に、「勤務形態による心理的苦痛」、「ワーク・エンゲイジメント」、「組織内自尊感情」、「K6」を従属変数とする2要因分散分析を行う。

(2) 成果発表：学会でポスター発表を行う。そこで得た意見や情報をもとにモデル改善を目指した再分析を行い、得られた最終的なモデルを「心理学研究」に投稿する予定である。

(3) 予備調査の精査：2022年度の予備調査で得られたモデルに関して、「産業・組織心理学研究」に投稿する予定である。

3. 研究の成果

本年度は、労働者の属性及び組織における人材育成体制が心理・情緒的特性を介して心身の健康へ関連するのか、2022年度の予備調査で得られたモデルの精緻化を行った。調査対象者は、調査会社にモニター登録している成人のうち、現在就業しており休職経験のない1172名であつ

た。モデルに投入した変数は、性別、入職後の継続的な教育研修、キャリア発達支援の有無等を問う項目、心理・情緒面の指標としてワーク・エンゲイジメント尺度短縮版、組織内自尊感情尺度、情動知能尺度、心身の状態を捉える指標として K6 と職業性ストレス簡易調査票の身体愁訴項目であった。結果、モデルの適合度は $\chi^2=710.183(17)$ 、GFI=.884、AGFI=.755、RMSEA=.187 であり、モデルの修正が必要であることがわかった。

また、本年度においては、ウィズ及びポスト・コロナ時代に即した労働者の働きがいに着目し、入社してからの勤務形態の変化や、キャリア発達の開始時期である入社時期による違いについても検討した。そのために用いた質問項目は、性別、年齢、職業と役職有無、入社時期、勤務形態、勤務形態による心理的苦痛に関する 1 項目、組織内自尊感情尺度、ワーク・エンゲイジメント尺度であった。「勤務形態」と「入社時期」を独立変数に、「勤務形態による心理的苦痛」、「ワーク・エンゲイジメント」、「組織内自尊感情」、「K6」を従属変数とする 2 要因分散分析を行った。結果、とくに交互作用が有意であったのは「勤務形態」×「入社時期」であった ($F(3, 1148)=3.64$, $p=.01$)。コロナ禍前に入社した人については、「出社から在宅勤務に変化」、「出社から在宅、そして出社に変化」が「ずっと出社勤務」に比べ、有意に心理的苦痛が低かった（それぞれ $p<.001$, $p=.045$ ）。一方、コロナ禍中もしくはコロナ禍後に入社した人は、「ずっと在宅勤務」が、「出社から在宅勤務に変化」、「出社から在宅、そして出社に変化」、「ずっと出社勤務」に比べ、有意に心理的苦痛が低かった（順に $p=.04$, $p=.01$, $p=.03$ ）。また、「出社から在宅勤務」の群では、「コロナ禍前入社」よりも「コロナ禍中もしくはコロナ禍後に入社」の方が有意に心理的苦痛が高かった ($p=.03$)。「出社から在宅、そして出社に変化」においても、「コロナ禍前入社」よりも「コロナ禍中もしくはコロナ禍後に入社」の方が有意に心理的苦痛が高かった ($p=.02$)。よって、コロナ禍前に入社した人については、感染症流行時にも出社が必要であったグループが他と比べて心理的苦痛を感じていることが明らかとなった。一方、コロナ禍中もしくはコロナ禍後に入社した人は、入社から現在まで在宅勤務が続いているグループが他に比べて心理的苦痛が低く、勤務形態が変化した場合はコロナ禍前に入社した人に比べて高い心理的苦痛を感じていることが示された。以上の研究成果は、2025 年 3 月に開催された日本発達心理学会第 36 回大会においてポスター発表し、研究者との意見交換を行った。

2022 年度の予備調査で得られたモデルに関して、『神戸女学院大学論集』第 71 巻第 2 号において発表した。本研究では、労働者の属性及び組織における人材育成体制が心理・情緒的特性を介して心身の健康へ関連するの仮説モデルを構築し、その適合度の検証を行った。調査対象は休職していない 593 名であった。尺度は入職後の継続的な教育研修、キャリア発達支援の有無等を問う項目、心理・情緒面の指標としてワーク・エンゲイジメント尺度短縮版、組織内自尊感情尺度、情動知能尺度、心身の状態を捉える指標として K6 と職業性ストレス簡易調査票の身体愁訴項目を用いた。結果、モデルの適合度は $\chi^2=61.16(17)$ 、GFI=.975、AGFI=.947、RMSEA=.067 であった。組織による人材育成体制であるメンターもしくはコーチ制度は組織内自尊感情に ($\beta=.20$, $p<.001$)、入職後の継続的な教育研修はワーク・エンゲイジメントに正の影響を与え ($\beta=.10$, $p<.01$)、労働環境への適応に資することが示された。また、性別について男性を 1、女性を 2 に変換したダミー変数として解析に入れたが、性別は情動知能ならびに組織内自尊感情に関連がみられ ($\beta=.12$, $p<.001$; $\beta=.09$, $p<.05$)、女性であることが 2 変数の高得点に弱い影響がみられた。情動知能、組織内自尊感情、ワーク・エンゲイジメントからは精神面の不調を示す K6 に対して有意な負の影響が確認され ($\beta=-.11$, $p<.001$; $\beta=-.17$, $p<.001$; $\beta=-.18$, $p<.001$)、ワーク・エンゲイジメントからは身体愁訴に対して有意な負の影響が確認された ($\beta=-.19$, $p<.001$)。さらに、組織内自尊感情はワーク・エンゲイジメントに有意な正の影響を与えることがわかった ($\beta=.49$, $p<.001$)。これは、Mauno et al. (2007) が示したように、組織内自尊感情がワーク・エンゲイジメントを予測する重要な変数であることを示すものであった。

4. 研究の反省・考察

組織内自尊感情とワーク・エンゲイジメントを促進するモデル構築

本年度の調査で得たデータをもとに、予備調査で得られたモデルの検証を行ったが、モデルの適合度は芳しくなかった。モデルにおける変数の順序の検討、及び変数間の相関の見直し等が必要である。また、構造方程式モデリングとは異なる解析手法、たとえば、クラスター分析などを用いることも必要と考えられる。モデル構築について、引き続き検討する必要がある。ま

た、予備調査と本調査を比べると、約2年間の時差があり、社会情勢並びに働き方の変化の影響を受けている可能性がある。比較的、予備調査はワーク・エンゲイジメントや組織内自尊感情の項目に対してポジティブな回答をする傾向があるなど、サンプルの持つ特徴が異なる可能性が示唆された。今後、年代を超えて汎用できるモデルが存在するのか、もしくは働き方の変革といった情勢によってモデルも発達の的に変化するのかといった、メカニズムの変遷について検討していく必要があるといえる。

コロナ禍における働き方の変化が労働者の心理に与える影響について

コロナ禍における勤務形態による心理的苦痛及びそれに対するコーピングを検討した研究や、入社時期（中堅と若手）のメンタルヘルスについて検討した研究はあるが、その両方を検討した研究はほとんどないことから、勤務形態の変化やキャリア発達の開始時期である入社時期による違いによる労働者のメンタルヘルスについて検討した。本研究の結果から、労働者の働きがい及び心理的なストレスはキャリア発達とも関連していることが考察された。今後の課題として、入社後の教育やフォロー体制などとも併せて検討をしていく必要がある。メンターやコーチが提供する支援の内容やそのタイミングについて具体的な内容が本研究では明らかになっておらず、今後検討が必要である。

予備調査で得られたモデルの検討

労働者にとって、継続的な教育研修はワーク・エンゲイジメントに正の影響を与え、働くことへのモチベーション維持や働くこと自体へのポジティブな感情をもたらすと考えられる。キャリア発達支援制度の有無からは組織内自尊感情に正の影響がみられ、メンターやコーチによる適切な介入やフィードバックが組織内での自己に対するポジティブな自己認知につながり、個人の自尊感情や自己効力感、動機づけを高め、それがワーク・エンゲイジメントを介して精神面での健康にポジティブな影響を与えると考えられる。また、ワーク・エンゲイジメント及び組織内自尊感情は、いずれも職場における精神的健康度と深く関連している。身体愁訴は精神的ストレスからの影響を無視することはできない。業務内容や従事中の姿勢・運動量・使用デバイスなどから発生する身体的疲労の影響もあるとは考えられるが、心身ともに健康な状態を維持するためには、エンゲイジメントが重要な役割を果たしていると考えられる。

5. 研究発表

(1) 学会誌等

- ①足立邦子・山村麻予・小田桐良一 「労働者における研修の効果、ワーク・エンゲイジメント、組織内自尊感情、情動知能と心身の健康との関連の検討」 『神戸女学院大学論集』第71巻第2号、pp. 1-15、2024年12月

(2) 口頭発表

- ①足立邦子・山村麻予・小田桐良一 「働き方の変化が就労者の心理に及ぼす影響」 日本発達心理学会第36回大会 東京日野市 明星大学 2025年3月4日

(3) 出版物

なし

学 校 名	兵 庫 医 科 大 学	研究所名等	
研 究 課 題	MHC class II制御異常による炎症性疾患の探索 —新たな炎症性腸疾患発症メカニズムの探索—	研 究 分 野	医 学
キ ー ワ ー ド	①MHC class II ②制御性T細胞 ③Itgb8陽性樹状細胞 ④E3ユビキチンリガーゼ		

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
石 戸 聡	医 病 原 学 生 物 部 学 微 生 物 学	主 任 教 授	研究統括

○研究分担者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
小 椋 英 樹	医 病 原 学 生 物 部 学 微 生 物 学	准 教 授	免疫細胞解析、動物実験
林 周 平	医 国 際 観 光 医 療 部 学 学 部	准 教 授	臨床サンプル収集のマネージメント・統括
池 内 浩 基	医 消 化 器 外 科 学 学 部 (炎 症 性 腸 疾 患 外 科)	主 任 教 授	臨床サンプル収集のマネージメント・統括
池 田 正 孝	医 消 化 器 外 科 学 学 部 (下 部 消 化 管 外 科)	主 任 教 授	臨床サンプル収集のマネージメント・統括
孫 安 生	医 病 原 学 生 物 部 学 微 生 物 学	講 師	免疫細胞解析、動物実験

MHC class II 制御異常による炎症性疾患の探索

—新たな炎症性腸疾患発症メカニズムの探索—

1. 研究の目的

我々は、遺伝子改変マウスの解析から、CD11c⁺ dendritic cell (DC)のMHC IIの発現制御異常によって病原性 Th17 細胞が出現し、腸炎が発症することを見出したことから、IBD 発症の新たな機序としてMHC II 発現異常が潜在している可能性を見出している。当該遺伝子改変マウスの病変は大腸に限局しており、ヒト潰瘍性大腸炎 (UC) の病変と極似していることから、当該遺伝子改変マウスとヒト UC を解析することによって、IBD 発症にMHC II 異常が関連しているのか？を検討することを目的とした。

2. 研究の計画

(1) 当該遺伝子改変マウスの詳細な病態解析

我々が作出した遺伝子改変マウスの病態を大腸粘膜固有層、腸間膜リンパ節を中心にFACSにて詳細を解析した。また、必要に応じて、キメラマウスを作製し、免疫細胞の関与についての詳細な解析をおこなった。

(2) ヒト UC での詳細な T 細胞解析

本学の共同研究者から手術材料を提供して頂き、T細胞の詳細な解析をFACS, scRNAseqにておこなった。また、得られた細胞に刺激を加えることによってex-vivoでの解析も詳細におこなった。

(3) ヒト UC での詳細な CD11c⁺ DC 解析

(2)と同様に、供与を受けた材料をもとに、FACS、およびscRNAseq解析をおこなった。また、pTregなどのCD4⁺ T細胞との相関解析も並行しておこなった。

(4) ヒト UC での詳細な MHC II の発現解析

供与を受けた材料をもとに、MHC IIの発現をCD11c⁺ 細胞に注目してFACSにて解析した。また、MHC II抗体を用いたCITE-seq解析もおこなった。

3. 研究の成果

(1) 当該遺伝子改変マウスの詳細な病態解析

2022年度、2023年度において、CD11c⁺ DCにおけるMHC II異常によりpathogenic Th17細胞 (Th17/Th1細胞) が出現すること、そして、pTregが減少することを見出していた。当該マウスがUCと極似していることから、MHC II異常によって引き起こされたTh17, pTregの異常が実際に腸炎を引き起こしているのか？について詳細な検討を行った。当該マウスのMHC IIの低下はユビキチン化の過剰によって引き起こされていることから、MHC IIのユビキチン化サイトであるリジン残基をアルギニンに置換したマウスと交配することによって、MHC IIの異常を回復させた。その結果、予想通り、CD11c⁺ DCでのMHC II回復に伴って、Th17細胞の減少、pTregの上昇が観察され、腸炎が回復することを確認した。これらのことから、CD11c⁺ DCにおけるMHC IIの異常がUCの病因の候補として挙がるに至った。さらに、当該マウスにて増加しているTh17細胞が病因となっているのかについて、腸炎当該マウスのCD44^{high} CD4⁺ T細胞をRAG KOに移入し検討した結果、腸炎当該マウス由来のCD4⁺ T細胞によって腸炎が出現し、その出現がIL-17A, IFN- γ 中和抗体にて抑制されることが確認された。また、腸炎当該マウスのCD25⁺ CD4⁺ T細胞の炎症抑制能力が顕著に減少していることが明らかとなった。このように、UCモデルと考えられる当該マウスは、CD11c⁺ DCにおけるMHC II異常により引き起こされるpTregの減少、pathogenic Th17細胞の出現によってUC様の腸炎を発症することが確認された。

(2) ヒト UC での詳細な T 細胞解析

当該マウスにて観察された異常がヒトUCにおいても、認められるのか？について詳細な検討を行なった。大腸全摘を必要とする重症UC患者から得られた腸間膜リンパ節と、早期大腸がんの患者から得られた腸間膜リンパ節を比較することによって、CD4⁺ T細胞の異常に

ついて詳細な検討を行なった。その結果当該マウスにて認められた変化と同様に、Th17/Th1細胞の増加、pTregの減少が認められた。

(3) ヒト UC での詳細な CD11c⁺ DC 解析

現在、腸管のDCによって誘導されたpTregによって腸管免疫寛容が引き起こされていると考えられており、どのようなDCがヒトにおいて実際に寛容を誘導しているのか？に注目が集まっている。寛容を誘導するDCとpTregに相関があると考えられることから、早期癌患者から得られたサンプルについて検討をおこなった。その結果、いくつかのDCサブセットがpTregの頻度と正の相関を持っていることが明らかとなった。しかしながら、UC患者に置いては、早期癌患者にて認められた正の相関関係が消失した。すなわち、これらのDCサブセットが腸管免疫寛容に関連している細胞である可能性が引き出された。

(4) ヒト UC での詳細な MHC II の発現解析

腸間膜リンパ節のCD11c⁺ DCサブセットにおけるMHC IIの発現の比較をおこなった。その結果、あるDCサブセット (DC-X) においてMHC IIの発現が亢進しており、MHC IIを制御する分子の発現が顕著に減少していることが明らかとなった。この関係はマウスの腸間膜リンパ節においても確認された。したがって、あるDCサブセット (DC-X) がMHC IIの発現を亢進することによって免疫制御を行なっていると考えられた。さらに、そのDCサブセットをUC患者と早期癌患者にて比較検討した結果、UC患者由来のDCにてMHC IIの発現減少が認められた。これらのことから、CD11c⁺ DCの中のあるサブセットXがpTregを介した腸管免疫寛容に関与しており、そのMHC II異常がUCの発症原因の一つである可能性を提唱することができたと考える。

4. 研究の反省・考察

(1) ヒト UC の発症機序について

我々の持つUCモデルマウスとヒトUCからの解析から、MHC II異常による病因を挙げることが出来たと考える。ヒトサンプルには限界があり、機能的解析は現実的には不可能であり、我々の解析が限界であると考えている。重要な点は、現在までに多くの報告がなされているRORgt⁺ APC (antigen presenting cell) と今回のDC-Xの関係である。現在においてRORgt⁺ APCはマウスでの解析からpTreg誘導にkeyとなる細胞であると報告されているが、ヒトにおいては、RORgtを発現してないわけではないが、優位に発現している結果は得られていない。これらのことは、RORgt⁺ APC以外にもDC-Xのような免疫寛容を誘導するAPCが存在する可能性を示唆していると考ええる。

(2) 免疫寛容に向かう MHC II の制御について

我々の結果から、あるMHC IIを制御する分子が免疫寛容に関連していることが強く示唆される。マウス、ヒトともに同様の機構をもっていることから、前述の制御機構を明らかにする必要がある。また、MHC IIは我々が注目している分子以外にも制御を受けていることから、MHC II異常へ向かう多くの変調がUC発症に関与している可能性があると考ええる。

5. 研究発表

(1) 学会誌等

なし

(2) 口頭発表

①Ogura H, Hanawa S, Teratani A, Unita R, Ishido S. Functional defect in regulatory CD4⁺ T cells in a novel inflammatory bowel disease model. 日本免疫学会学術集会, 長崎, 2024 年.

(3) 出版物

なし

2024年度（第49回）学術研究振興資金 学術研究報告

学 校 名	天 理 大 学	研究所名等		
研 究 課 題	東地中海地域における鉄器時代の始まりと地域社会の変容―イスラエル、テル・レヘシュの調査を軸とした考古学的研究―		研 究 分 野	文 学
キ ー ワ ー ド	①東地中海、②イスラエル、③考古学、④都市、⑤青銅器時代、⑥鉄器時代、⑦国際関係、⑧テル・レヘシュ			

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
桑 原 久 男	天 理 大 学 人 文 学 部	教 授	研究総括 都市遺跡の比較研究

○研究分担者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
橋 本 英 将	天 理 大 学 人 文 学 部	教 授	後期青銅器時代における金属器生産の研究
長 谷 川 修 一	立 教 大 学 文 学 部	教 授	考古学研究結果を踏まえた旧約聖書形成研究
小 野 塚 拓 造	東 京 国 立 博 物 館 学 術 研 究 部	主任研究員	土器からみた地域間交流の研究
津 本 英 利	古 代 オ リ エ ン ト 博 物 館 研 究 部	研 究 部 長	古代西アジア金属文化の研究
間 舍 裕 生	天理大学附属天理参考館 考 古 美 術 室	学 芸 員	後期青銅器～鉄器時代の都市遺跡の比較研究
増 渕 麻 里 耶	京 都 芸 術 大 学 芸 術 学 部	教 授	金属製品の考古理化学的研究

東地中海地域における鉄器時代の始まりと地域社会の変容 ーイスラエル、テル・レヘシュの調査を軸とした考古学的研究ー

1. 研究の目的

- (1) テル・レヘシュの「下の町」の発掘調査を通して、考古学的なデータから、青銅器・鉄器時代移行期についてどのような社会状況を読み取れるのかを探ること。
- (2) 土器や金属器など外来系遺物の分析を通して、後期青銅器時代のテル・レヘシュが地中海世界の国際ネットワークにどのように組み込まれていたのかを探ること。
- (3) 青銅器・鉄器時代移行期における国際的環境の激変に、テル・レヘシュを含む南レヴァントの地域社会がどのように対応したのか、その実態を探ること。
- (4) 当該期の文化を担った集団のアイデンティティに対する理解を深めること。
- (5) 青銅器から鉄器への移行という人類史上の大きな変化を、南レヴァントにおける「移行期」の社会状況の中に位置づけ直すこと。

2. 研究の計画

- (1) 東地中海地域の諸遺跡における青銅器時代・鉄器時代の様相に関する比較検討を行う。
 - ①研究論文・発掘調査報告書などを通して、各地域の遺跡の様相を把握する。
 - ②ASORなどの学会に参加し、情報収集を進める。
- (2) テル・レヘシュの現地調査を実施する。
 - ①現地協力者のイツハク・パズ博士と連携しながら、現地調査の準備を進める。
 - ②現地調査を実施し、青銅器・鉄器時代移行期のテル・レヘシュの様相の把握を行う。
- (3) 当該期のセトルメントシステムを把握するため、関連遺跡の踏査を行う。
- (4) テル・レヘシュの調査成果の検討を行い、データの情報化を進める。
- (5) テル・レヘシュ出土資料の比較検討を行い、歴史的な理解を深める。
- (6) 日本西アジア考古学会において調査研究成果の報告を行う。

3. 研究の成果

- (1) 東地中海地域の諸遺跡における青銅器時代・鉄器時代の様相に関する比較検討
 - ①年間を通して、研究論文、発掘調査報告書の検討をオンライン・ツールを利用しながら進め、イスラエルとその周辺地域の遺跡について、青銅器時代・鉄器時代の様相を把握、比較検討する取り組みを行った。
 - ②関連遺跡の報告書の収集とデータの情報化
メギドー、ベト・シャン、テル・レホヴなど、テル・レヘシュ周辺の関連遺跡について、報告書を通して情報収集を進め、情報をデジタルデータ化した。
 - ③天理大学附属天理参考館が収蔵するテル・ゼロール遺跡出土遺物のうち、鉄器時代の墓域出土の遺物の検討を行い、当時の埋葬習慣の一端を明らかにした。
- (2) テル・レヘシュ遺跡の現地調査の計画と実施見送り
 - ①8月に現地調査を実施する準備を進めた。
 - ②しかしながら、今年度は現地の情勢からイスラエル国内での現地調査を実施することができなかった。
- (3) 関連遺跡の踏査
 - ①イスラエル国内での調査に代えて、12月～1月にかけて、ヨルダンを訪問し、後期青銅器時代～初期鉄器時代の関連遺跡の踏査を行った。銅の採掘・精錬遺跡であるフェイナン地域のキルベット・エン・ナハス、テル・レヘシュとヨルダン川を挟んだ反対側に位置するテル・ジラ、テル・アブ・カラズ、テル・デア・アラなどを訪問し、同時代の遺跡の立地や出土遺構などを観察・記録することができた。
 - ②3月には、エジプト、ルクソールを訪問し、後期青銅器時代に南レヴァント地域に覇権を行使した歴代のファラオの葬祭殿を訪問し、「海の民」を描いた壁面レリーフなどを、360土カメラで撮影し、パノラマツアーとして記録した。

(4) テル・レヘシュ調査成果の検討とデータの情報化

8月に現地渡航ができなかった代替として、日本国内で集中作業を行い、テル・レヘシュの既往の調査成果について、出土土器を中心に検討を行った。12月・3月にも同様に集中作業を実施した。

(5) テル・レヘシュ出土資料の比較検討

テル・レヘシュの出土土器について、テル・レホヴ、ベト・シャン、メギドーなどの類例を探索する作業を進め、データを取りまとめた。

(6) 調査成果の報告

- ①今年度は、テル・レヘシュの発掘調査が実施できなかったため、イスラエル考古学研究会、西アジア考古学会等における報告もできなかった。
- ②3月12日に東京国立博物館で開催された研究会『西アジア・東地中海地域の後期青銅器時代を考える』にて、テル・レヘシュの調査成果について報告を行った。

4. 研究の反省・考察

テル・レヘシュの発掘調査については、2023年8月に第13次調査を実施したが、その後、帰国してまもなくの2023年10月7日、ガザ地区を実効支配するハマスがイスラエル南部のキブツ・ベエリを襲撃し、多数の住民を人質にする事件が発生し、これに伴って現地の情勢悪化が続いていた。2024年春の段階では、5月にガザ地区における停戦が発効するとの期待があり、調査計画(2)として、8月に現地に渡航して発掘調査を実施する計画(プランA)を立て、イスラエル考古局に発掘調査ライセンスを申請するなどの準備を進めた。しかしながらガザ地区における停戦が実現せず、夏期の発掘調査は見送ることにし、冬期に小規模な発掘調査を実施する計画(プランB)に切り替えた。しかしながら、2024年7月31日、ハマスの最高幹部がイランで殺害されたのを契機に、イスラエル全土の危険レベルが「レベル3：渡航は止めてください(渡航中止勧告)」に引き上げられるに至った。これによりイスラエル国内での現地調査がいつそう困難となった。

この事態により、テル・レヘシュの発掘調査の実施については断念し、予定を変更し、調査計画(3)の関連遺跡の踏査に集中し、イスラエルに近接するヨルダンなどを訪問して、現地調査を行う方針(プランC)に変更した。また、夏の現地渡航に代えて、日本国内で集中作業を実施し、12月にも再度の集中作業を実施した。3月に実施した第3回目の集中作業には、逆に、イスラエル考古局のイツハク・パズ氏を日本に招聘し、実りある作業を行うことができた。

以上、今年度の調査計画は、現地の情勢に翻弄され、イスラエル国内における現地調査は断念せざるを得なかったが、その代替として、ヨルダン、エジプトにおける関連遺跡の調査を実施することができたことは、当該研究の幅を広げる貴重な機会となった。現地の情勢が回復し、これまで培ってきたイスラエル国内における研究協力者や現地の人々の協力関係を踏まえ、テル・レヘシュの発掘調査が再開できることを願うばかりである。

5. 研究発表

(1) 学会誌等

- ①間舎裕生「鉄器時代のテル・ゼロールにおける埋葬習慣―墓地出土のランプを通して―」『天理参考館報』37巻、2024年
- ②長谷川修一「続・東地中海東岸の遺跡を掘る」『古代文化』第76巻第2号、2024年
- ③Shuichi Hasegawa, The Book of Hosea and the History of Eighth Century BCE Israel. In: Brad E. Kelle (ed.), The Oxford Handbook of Hosea, Oxford: Oxford University Press, 2024
- ④Shuichi Hasegawa, History and Archaeology: The Kingdom of Judah. In: Steven L. McKenzie and Matthieu Richelle (eds.), The Oxford Handbook of the Books of Kings, Oxford: Oxford University Press, 2024

(2) 口頭発表

- ①Takuzo Onozuka “Canaanite Elites” at Tel Rekhes? An Archaeological View
研究会『西アジア・東地中海地域の後期青銅器時代を考える』Tokyo National Museum

②橋本英将「イスラエル国、テル・レヘシュ2023年発掘調査報告」

(3) 出版物

①安倍雅史・津本英利・長谷川修一編『古代オリエントガイドブック』新泉社、2024年

②長谷川修一「「イスラエル」の起源」、日本ユダヤ学会編（市川裕編集代表）『ユダヤ文化事典』、丸善出版、2024年

学 校 名	徳 島 文 理 大 学	研究所名等		
研 究 課 題	金属トランスポーターZIP14の制御に基づく創薬研究 －革新的な治療薬の開発を目指して－		研 究 分 野	医 学
キ ー ワ ー ド	①金属トランスポーター ②ZIP14 ③亜鉛 ④鉄 ⑤がん悪液質 ⑥鉄過剰症			

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
深 田 俊 幸	徳島文理大学薬学部	教授	研究総括

○研究分担者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
今 川 洋	徳島文理大学薬学部	教 授	有機合成化学実験
山 本 博 文	徳島文理大学薬学部	教 授	有機合成化学実験
堂上(久保)美和	徳島文理大学薬学部	教 授	質量分析実験
美 島 健 二	昭和医科大学歯学部	教 授	病理学的実験
原 貴 史	徳島文理大学薬学部	准 教 授	細胞生物学実験
土 方 敦 司	東京薬科大学生命科学部	准 教 授	構造バイオインフォマティクス解析
末 永 み どり	徳島文理大学薬学部	講 師	タンパク質分析化学実験
岡 本 育 子	徳島文理大学薬学部	講 師	タンパク質分析化学実験
田 中 弦	杏林大学医学部	助 教	薬理学実験
吉 開 会 美	産業医科大学医学部	助 教	細胞生物学実験

金属トランスポーターZIP14の制御に基づく創薬研究

－革新的な治療薬の開発を目指して－

1. 研究の目的

近年、研究代表者らは、がん悪液質患者や疾患モデルマウスの骨格筋に ZIP14 が発現上昇し、ZIP14 を介して過剰な亜鉛が骨格筋へ導入され、骨格筋の萎縮や喪失が促進されることを見出した。さらに、ZIP14 による肝臓への過度な鉄の導入は、鉄過剰症の原因となることを報告した。そこで研究代表者らは、ZIP14 の金属輸送を阻害する化合物をスクリーニングし、ZIP14 を阻害する化合物 X (未発表) を発見した。一方、当該化合物の阻害活性に必要とする構造は、まだ同定されていない。当該化合物の阻害活性獲得に必要な部位や官能基を同定するために、2024 年度では当該化合物の構造活性相関を解析して、①阻害活性に必要不可欠な部位と、②活性亢進に関与する部位を同定することを目的とした。

2. 研究の計画

以下の実験により、当該化合物の阻害活性に必要不可欠な構造を同定し、本申請研究を進めるためのリード化合物を最適化する。

①. 阻害活性に必要不可欠な部位の同定：

当該化合物の多様な誘導体を合成し、阻害活性に不可欠な部位を同定する。阻害活性の評価系には、誘導的にヒト ZIP14 を発現する HEK293 細胞株と、ヒト ZIP14 を発現させたアフリカツメガエル卵母細胞を用いる。亜鉛と鉄の輸送活性は、亜鉛または鉄の特異的蛍光プローブと、放射性同位体 (^{65}Zn , ^{55}Fe) を用いて評価する。

②. 活性亢進に関与する部位の同定：

上記①の実験で、阻害活性の亢進を認めた誘導体については、活性の亢進に必要とされる部位を他の官能基等に置換して、阻害活性がさらに亢進する誘導体を合成する。

3. 研究の成果

①. 阻害活性に必要不可欠な部位の同定：

当該化合物の主要構造であるスピロ環の N1 位、N3 位、N8 位の構造体に着目し、それらを多様な官能基に置換した誘導体を合成した。具体的には、N1 位または N8 位のベンゼン環にメチル基やプロピル基等の脂肪族側鎖、ヒドロキシ基や硫酸基等の官能基を付加し、N3 位には炭素鎖を介してベンゼン環等を付加して、N3 位が嵩高い構造の修飾を許容するか、多様な誘導体を合成してそれらの阻害活性を評価した。

誘導体の阻害活性の評価には、テトラサイクリン誘導的にヒト ZIP14 を発現する HEK293 細胞株 (TREx-hZIP14) および、ヒト ZIP14 を発現させたアフリカツメガエル卵母細胞を使用した。これらの細胞に誘導体を前処理して亜鉛または鉄を培地に添加し、細胞内に取り込まれた亜鉛や鉄を特異的蛍光プローブで測定した。さらに、放射性同位体 (^{65}Zn , ^{55}Fe) を用いて、これら金属の輸送に対する阻害活性を評価した。

その結果、スピロ環の N1 位や N8 位のベンジル基は、小分子量の官能基の付加を許容すること、N8 位のベンジル基の単一の環構造への置換が許容されることを見出した。一方、N8 位から伸びる炭素鎖の炭素数の増減や、N8 位のベンジル基への分子量の大きな官能基や複数の環構造の負荷は、阻害活性を著しく減少させることが判明した。すなわち、N8 位に関わる構造が、PPTD の阻害活性の発現に必要であることが明らかとなった (未発表)。

②. 活性亢進に関与する部位の同定：

N1 位、N3 位、N8 位の構造体を様々に修飾して合成した誘導体の中で、N8 位のベンジル基を修飾した誘導体に、阻害活性を 2 倍程度に亢進する誘導体を見出した (未発表)。

4. 研究の反省・考察

当初の計画より進捗の遅れが生じ、購入予定であった消耗品や機器類の購入および、研究補助員の採用を見合わせた。2025 年度においては、前年度の反省を踏まえてより確実な計画

の基に本研究を実施する。また、研究助成財団法人の競合的外部資金にも積極的に応募して、さらなる本研究の推進と充実を図る所存である。

具体的な研究内容としては、当該化合物の作用機序の解明と、薬物代謝解析による化合物と投与方法の最適化を検討し、疾患モデルマウスへの投与を行なって、その効果を精査する計画である。

5. 研究発表

(1) 学会誌等

- ① E.Yoshigai, T.Hara, M.Hashimoto, H.Tsuzuki, T.Abe, K.Inoue, A.Noguchi, T.Ohashi, **T.Fukada**. ZIP13 marks muscle satellite cells and contributes to their quiescent and active phase balance. *Scientific Reports* 15 (1): 9206, 2025

(2) 口頭発表

- ① 深田俊幸, 原貴史, 田村朋則, 田中弦, 寺嶋優臣, 濱村賢吾, 吉田優哉, 葛西祐介, 布村一人, 木村徹, 藤代瞳, 中山雄太, 野口綾香, 中井靖乃, 吉開会美, 松永直哉, 大戸茂弘, Mitchell D. Knutson, 今川洋, 浜地格, 金属トランスポーターZIP14を阻害する化合物の同定と創薬に向けた研究 日本薬学会145年会 (28-10-pm03) (福岡) 令和7年3月28日
- ② Toshiyuki Fukada, Closing remarks: Learning from the past, Bridging to the future, THE 8TH ISZB MEETING ISZB-2024 (Merida, Mexico) 2024年12月6日
- ③ Toshiyuki Fukada, Zinc transporters and signaling in health and disease, Seminar in Food Science and Human Nutrition Department, University of Florida (FL, USA) 2024年6月20日
- ④ Toshiyuki Fukada, Takafumi Hara, Emi Yoshigai, Misato Kikuchi, Hatsuna Miyake, Kento Chayabana, Nobuyuki Shiuchi, CRITICAL ROLES of ZINC TRANSPORTER ZIP10 IN SKIN BARRIER AND B LYMPHOCYTE FUNCTIONS: NEW TOOLS TO INVESTIGATE ZIP10 AND ITS EXPRESSING CELLS *in vivo*, FASEB SRC “Channel and Transporter in Immunity” (MN, USA) 2024年6月18日

(3) 出版物

該当なし

2024年度（第49回）學術研究振興資金 學術研究報告

学 校 名	福 岡 歯 科 大 学	研究所名等	
研 究 課 題	腸内環境が引き起こす歯周病の病態の解明 -腸内細菌の代謝が担う免疫治療戦略-	研 究 分 野	医 学
キ ー ワ ー ド	①歯周病 ②腸内環境 ③免疫応答 ④感染実験 ⑤感染症		

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
田 中 芳 彦	口 腔 歯 学 部	教 授	総括、主な研究の遂行

○研究分担者

[illegible]

腸内環境が引き起こす歯周病の病態の解明 ー腸内細菌の代謝が担う免疫治療戦略ー

1. 研究の目的

歯周病では、歯周病原細菌に応答してインターロイキン-17A (IL-17A)を産生するヘルパーT細胞 Th17 を介した免疫応答による病態悪化が注目されているが、その免疫応答から病態悪化に至る機構は十分に解明されていない。代表者らは最近、腸での免疫応答が歯周病の発症と重症化を引き起こす仕組みをマウスで解明した。歯周病原細菌に応答する責任 Th17 細胞が「腸（誘導組織）」で腸内細菌叢がもたらす腸内環境の影響を受けて誘導された後、歯周病原細菌による口腔感染を契機に責任 Th17 細胞が「口腔（実行組織）」へ移動して歯周病の病態を形成する「腸ー口腔連関」の存在を世界に先駆けて立証し、研究成果を発表した。今後、本研究成果を起点に「腸ー口腔(歯周病)」へパラダイム転換が加速することが予想される。しかし、腸内環境による歯周病の免疫応答調節の詳細なメカニズムは不明である。

本研究の目的は、代表者らが明らかにしてきた腸ー口腔連関の研究基盤において未解決な腸内環境が引き起こす歯周病の病態を解明するために、次世代シーケンサー（細菌叢解析）とメタボロミクス（代謝解析）を用いてヒト腸内細菌叢の特性を解析することである。また、ヒト腸内細菌叢を無菌マウスに定着させたヒト腸内細菌叢マウスを創生して腸内細菌叢が影響する歯周病の免疫応答を解析し、歯周病感染モデルマウスの評価系を活用して糞便微生物移植への基礎的データを蓄積し、最終的には腸内細菌の代謝が担う歯周病の新たな免疫治療戦略の開発に向けた臨床へのトランスレーション研究の実施へ展開するねらいがある。

2. 研究の計画

(1) ヒト歯周病における腸内細菌叢の役割の解明

① 歯周病患者における腸内細菌叢の解析

- 歯周治療学的解析：本研究をヒト歯周病研究に発展させるため、未治療の重度歯周炎患者と対照の健常者を対象に治療前後の歯肉組織検査をする。また、血清サイトカインやケモカイン等を測定し、歯周炎の重症度との関連を確認する。
- 影響要因の解析：問診票や診療情報から身長・体重、飲酒・喫煙、便秘・下痢、運動習慣、睡眠時間、基礎疾患や合併症・既往歴、服薬、健康食品、食生活習慣等を収集し、歯周炎の重症度との関連を確認する。
- 腸内細菌叢の解析：次世代シーケンサーにより糞便から腸内細菌叢を解析する。

② 腸内細菌叢が歯周病の病態に及ぼす影響の解明

無菌マウスに患者ならびに健常者の便移植を行い、ヒト腸内細菌叢マウスを作成する。ヒト腸内細菌叢マウスでは、ヒト腸内細菌叢や便のメタボロミクス解析についてドナー特性を同等に再現することが知られている。

- ヒト腸内細菌叢マウスの作成：計画①-cの腸内細菌叢の解析結果を参考にドナー候補者を選別して、便移植してヒト腸内細菌叢マウスを作成する。検体のヒト便は分注凍結保存して、長期的に安定して同一ドナー由来のヒト腸内細菌叢マウスの作成ができるようにする。

3. 研究の成果

(1) ヒト歯周病における腸内細菌叢の役割の解明

① 歯周病患者における腸内細菌叢の解析

- 歯周治療学的解析：本研究をヒト歯周病研究に発展させるため、本年度に未治療の重度歯周炎患者8人と対照の健常者7人を対象に治療前後の歯肉組織検査をした。また、血清サイトカインやケモカイン等を測定し、歯周炎の重症度との関連を確認した。
- 影響要因の解析：問診票や診療情報から身長・体重、飲酒・喫煙、便秘・下痢、運動習慣、睡眠時間、基礎疾患や合併症・既往歴、服薬、健康食品、食生活習慣等を収集した。先行解析として歯周炎の重症度との関連を確認した。本年度に予定していた被験者

数が十分ではないため有意差はないものの、異なる傾向の影響要因を認めた。

- c) 腸内細菌叢の解析：次世代シーケンサーにより糞便から腸内細菌叢を解析した。歯周炎患者と健常者の比較で、 β 多様性解析において群間の腸内細菌叢の多様性が異なる結果を得た。また、群間の菌種の比較解析においてそれぞれの群で異なる菌種が優勢に存在することを示す結果を得た。

② 腸内細菌叢が歯周病の病態に及ぼす影響の解明

無菌マウスに患者ならびに健常者の便移植を行い、ヒト腸内細菌叢マウスの作成を試みた。ヒト腸内細菌叢マウスの実験を加速するために無菌マウスシステムを補強して研究を進めた。ヒト腸内細菌叢マウスでは、ヒト腸内細菌叢解析についてドナー特性を同等に再現することが知られている。作成したヒト腸内細菌叢マウスを用いてドナー特性を解析したところ、少なくとも移植後3ヶ月間に渡ってヒトの腸内細菌叢を再現することを確認できた。

- a) ヒト腸内細菌叢マウスの作成：計画①-cの腸内細菌叢の解析結果を参考にドナー候補者を選別して、患者1人ならびに健常者1人の便移植してヒト腸内細菌叢マウスを作成した。検体のヒト便は分注凍結保存して、長期的に安定して同一ドナー由来のヒト腸内細菌叢マウスを作成できるようにした。

4. 研究の反省・考察

代表者らは最近、腸での免疫応答が歯周病の発症と重症化を引き起こす仕組みをマウスで解明し、歯周病の病態を形成する「腸－口腔連関」の存在を立証したが、ヒトにおいて腸内環境による歯周病の免疫応答調節の詳細なメカニズムは不明である。本研究では、代表者らが明らかにしてきた腸－口腔連関の研究基盤において未解決な腸内環境が引き起こす歯周病の病態を解明するために、次世代シーケンサーとメタボロミクス解析を用いてヒト腸内細菌叢の特性の解析を進めている。また、ヒト便を無菌マウスに移植するヒト腸内細菌叢マウスを用いた解析は世界的に拡がりつつあり、メタボロミクス解析が腸内細菌叢とその宿主との相互作用の機能的特徴付けのための強力な手段であることを示されている。国内ではヒト腸内細菌叢マウスの解析はまだほとんど見当たらないが、我々が蓄積してきたノウハウを活かしてヒト腸内細菌叢マウスを創生して腸内細菌叢が影響する歯周病の免疫応答を解析し、歯周病感染モデルマウスの評価系を活用して糞便微生物移植への基礎的データを蓄積することを目指していく。これまでのところ、研究計画を遂行しておおむね順調に研究を進めており、作業仮説を支持する実験結果を得つつある。次年度以降も研究計画に従って実験を行うことで目的に向かって研究を展開していく。

5. 研究発表

(1) 学会誌等

- ① Kaji, E., Nagao, J., Kishikawa, S., Toyonaga, K., Tasaki, S., Iwai, S., Nakagami, M., Iwanuma, A., Ikeda, M., and Tanaka, Y. Fungal pathogen-responsive Th17 cells in gut-mouth axis enhance protection against oropharyngeal candidiasis. *iScience*. in press.
- ② 田中芳彦。腸－口腔連関による口腔感染症の免疫応答の仕組み。 *日本口腔科学会雑誌* 74(1): 1-7, 2025。
- ③ 田中芳彦。腸内環境がおこす歯周病の免疫応答の仕組み。 *医線探報* 8: 6-7, 2025。
- ④ 田中芳彦。口腔細菌と全身疾患～腸－口腔連関を介した歯周病の免疫応答調節機構～。*炎症と免疫* 33(1): 21-24, 2025。
- ⑤ 田中芳彦。腸内細菌叢と免疫細胞による歯周病の増悪化。 *歯界展望* 144(5): 17-22, 2024。
- ⑥ 田中芳彦。腸でおこる歯周病の発症と重症化の仕組み－腸内細菌叢をターゲットとした歯周病の予防と治療への応用－。 *全国大学歯科衛生士教育協議会雑誌* 13: 7-12, 2024。

(2) 口頭発表

- ① 田中芳彦。腸内環境が歯周病の重症化を引き起こす仕組み－歯周病原細菌に応答する免疫細胞が腸から歯肉へ－。第28回日本顎顔面インプラント学会・第41回日本顎顔面補綴学

会。教育講演。福岡・福岡国際会議場、12月1日、2024。

② 田中芳彦。歯周病と腸内細菌の関係～腸の免疫応答が歯周病の重症化をおこす仕組み～。一般社団法人佐賀県歯科医師会 令和6年度佐賀県医科・歯科連携による糖尿病等対策事業。人材育成研修会。佐賀、9月14日、2024。

③ 田中芳彦。腸内環境がおこす歯周病の免疫応答の仕組み。第12回日本病巣疾患研究会 学術集会 特別講演。東京・東京国際交流館 国際交流会議場。9月7日、2024。

④ Jun-ichi Nagao, Masanobu Nakagami, Sari Kishikawa, Kenji Toyonaga, Emi Kaji, Aoba Iwanuma, Kanae Negoro-Yasumatsu, Sonoko Tasaki, Satoru Iwai, Yoshihiko Tanaka. Investigation of immune regulation of Th17 cells in the development of periodontitis. The 53th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology. Nagasaki, December 3rd-5th (4th), 2024.

⑤ Masanobu Nakagami, Jun-ichi Nagao, Sari Kishikawa, Kenji Toyonaga, Satoru Iwai, Keisaku Matsuzaki, Emi Kaji, Aoba Iwanuma, Yasunori Yoshinaga, Ryuji Sakagami, Yoshihiko Tanaka. Evaluation of periodontitis in mouse model by periodontal pathogenic bacterial infection. The 53th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology. Nagasaki, December 3rd-5th (4th), 2024.

⑥ 永尾潤一、中上昌信、岸川咲吏、豊永憲司、加地英美、岩沼青葉、根来（安松）香奈江、田崎園子、岩井覚、田中芳彦。歯周病原細菌に特異的な免疫応答による歯周病の病態形成機構の解明。第66回歯科基礎医学会学術大会・総会。長崎、11月2-4日（3日）、2024。

⑦ 中上昌信、永尾潤一、岸川咲吏、豊永憲司、岩井覚、加地英美、岩沼青葉、吉永泰周、坂上竜資、田中芳彦。歯周病原細菌感染による歯周病マウスモデルの病態評価。第66回歯科基礎医学会学術大会・総会。長崎、11月2-4日（3日）、2024。

⑧ 浦崎奈緒、永尾潤一、岸川咲吏、田中芳彦。歯周病原細菌に対して抗菌活性を示すヒト口腔常在細菌の探索。第66回歯科基礎医学会学術大会・総会。長崎、11月2-4日（3日）、2024。

(3) 出版物

① 田中芳彦（分担執筆）。CHAPTER 5 基礎免疫学。石原和幸、猪俣恵、今井健一、大島智子、葛城啓彰、清浦有祐、泉福英信、高橋幸裕、田中芳彦、玉井利代子、浜田信城 編集。口腔微生物学－感染と免疫－ 第8版。東京。学建書院。pp. 209-261、2024。 ISBN: 978-4-7624-7654-9

2024年度（第49回）学術研究振興資金 学術研究報告

学 校 名	志 學 館 大 学	研究所名等	
研 究 課 題	地方における就学時健康診断後の支援状況に関する追跡調査 －自治体・医療機関・大学の連携による支援モデルの構築－	研 究 分 野	教 育 学
キ ー ワ ー ド	①就学時健康診断 ②連携 ③支援モデル ④追跡調査		

○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
野 元 明 日 香	志 學 館 大 学 学 部 人 間 関 係 学 部	講 師	総括・データ分析・発表資料作成

○研究分担者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
飯 干 紀 代 子	志 學 館 大 学 学 部 人 間 関 係 学 部	学 長 ・ 教 授	発表資料作成
志 賀 希 子	志 學 館 大 学 学 部 人 間 関 係 学 部	講 師	データ分析・発表資料作成
永 田 雅 子	医療法人慈和会 大口病院	理 事 長	データ整理
竹 原 有 季	医療法人慈和会 大口病院	心 理 室 長	データ整理

地方における就学時健康診断後の支援状況に関する追跡調査 －自治体・医療機関・大学の連携による支援モデルの構築－

1. 研究の目的

(1) 研究の背景

近年、特別支援教育をめぐる環境は、目まぐるしく変化している。平成 18 年 12 月、国連総会において「障害者の権利に関する条約」が採択されたことを機に、我が国では障害者総合支援法や障害者差別解消法の制定等、障害者に関する制度の整備を進めた。

平成 24 年 7 月には文部科学省による報告「共生社会の形成に向けたインクルーシブ教育システム構築のための特別支援教育の推進」がとりまとめられた後、障害のある児童生徒等の就学先決定の仕組みに関する学校教育法施行令の改正を行った。具体的には、①障害の状態等を踏まえた総合的な観点から就学先を決定する仕組みへの改正、②障害の状態等の変化を踏まえた転学に関する規定の整備、③視覚障害者等である児童生徒等の区域外就学に関する規定の整備、④保護者及び専門家からの意見聴取の機会の拡大、の 4 点であり、特に①については、各自治体が試行錯誤している現状がある。

上記①は、各自治体で「就学時健康診断」等の名称で呼ばれており、学校保健安全法で定められており、対象は、小学校入学を翌年に控えた児童である。検査項目に関しては、表 1 のように示されており、関連する事項としては「七 その他の疾病及び異常の有無」に該当する。

表 1. 就学時健康診断の検査項目

一	栄養状態
二	脊せき柱及び胸郭の疾病及び異常の有無
三	視力及び聴力
四	眼の疾病及び異常の有無
五	耳鼻咽いん頭疾患及び皮膚疾患の有無
六	歯及び口腔の疾病及び異常の有無
七	その他の疾病及び異常の有無

就学前の児童を対象にした発達に関するこれまでの研究では、家庭の経済困難と児童の発達・学力の関連（藤澤，2022）や、軽中等度難聴児の言語発達と他者感情の推測能力の関連の検討（野原，2022）といった一時点における横断的な調査に留まっており、就学前の児童の発達と小学校への適応推移を長期的に検討した研究はまだない。

したがって、本研究では、自治体でおこなわれている就学時健康診断（以下、就学時健診）へ焦点をあて、就学時健診にて小学校で支援が必要と判断された児童の現状を把握し、小学校入学後の治療過程の推移、および自治体と病院等における有効な支援方法・連携を検討する。

本研究では、自治体（以下、A 市）、および A 市で発達支援に関する中核的な役割を担う医療機関（以下、B 病院）と協働し、研究を行う。

(2) 何をどこまで明らかにするのか（資金交付年限 3 年以内）

就学時健診の基礎的データ取得・整理として、A 市で行われた過去 5 年間（2019～2023 年度）の就学時健診の結果（自治体・就学前に在席していた保育園など・就学先からの情報）を整理・分析する。本研究の結果から、就学前から小学校進学へ向けて何らかの支援を必要とした児童の人数や状況を把握、就学先の支援の情報について整理することができれば、就学時健診と小学校入学以降の児童の適応推移を明らかにすることができる可能性がある。

また、就学時健診後（小学校入学後）の治療経過の整理として、就学時健診を受けた後、A 市で発達支援に関する中核的な役割を担う B 病院に通院している児童を対象に、診断名や治療過程についての情報を整理する。本研究の結果から、小学校入学前より何らかの支援を検討した児童における医療機関、およびその他関係機関との連携を含めた有効な支援を検討する。

2. 研究の計画

2024 年度の計画は、A 市で行われた過去 5 年間の就学時健診の結果を整理・分析することであった。

具体的には、①スクリーニング検査である簡易発達検査や、田中ビネー知能検査Ⅴを受検した児の人数等に関する基礎的な自治体データ、②児に関する在籍園等からの申し送りに関する園データ、③簡易発達検査や田中ビネー知能検査Ⅴ等の結果に関する検査データ、④選択した就学先等に関する就学後データを調査する。

3. 研究の成果

2021 年から 2023 年までの 3 年間の就学時健診に関するデータを整理したものを記載する（一部抜粋）。

（1）自治体データ

対象児の数は、2021 年が 174 名、2022 年が 162 名、2023 年が 168 名であった（以下、この順で記載）。そのうち、田中ビネー知能検査Ⅴを受検した児は、それぞれ 13 名、6 名、7 名の合計 26 名であり、受検率はそれぞれ 7.47%、3.70%、4.17%であった。

（2）検査データ

田中ビネー知能検査Ⅴの結果は、2021 年から 2023 年の合計で、IQ50～59 が 3 名、IQ 60～69 が 2 名、IQ 70～79 が 8 名、IQ 80～89 が 6 名、IQ 90～99 が 4 名、IQ100～109 が 2 名、IQ110 以上が 1 名であった。

（3）就学後データ

受検児のうち、その後の就学支援委員会で就学先を検討した児童は、それぞれ 5 名、4 名、6 名であった。内容を見ると、3 年間の中で 2 名が就学支援委員会の判断とは異なる就学先を選択していたが、そのうち 1 名は就学後に就学支援委員会の判断と同じ就学先へ在籍を変更していた。

（4）その他について

受検児のうち、就学時健診時点で B 病院の受診歴がある児は、それぞれ 0 名、0 名、5 名であった。2023 年に急増しており、地域における早期の医療機関でのフォローが可能となっていることがうかがえる。

4. 研究の反省・考察

（1）2024 年度の反省

個人情報に関する取扱い等に関する協議が難航し、データ取得に相当の時間を要した。結果として、当初の研究計画よりも大幅な遅れが生じたため、予定していた過去 5 年分のデータではなく、3 年分（2021 年～2023 年）を分析対象とした。また、予定していたデータの一部（園データ）が取得できなかった。

一方で、A 市と B 病院とで本研究のための「連携協定」を締結することもできた。今後の研究遂行に欠かすことのできないものであり、継続した調査が可能となる素地ができたことは、本研究の一つの成果とも言えるであろう。

（2）2024 年度研究成果からの考察

特に就学後データに関しては、就学支援委員会で就学先を検討した計 15 名のうち、2 名が就学支援委員会の判断とは異なる就学先を選択していたが、そのうち 1 名が就学後に在籍を変更していた。このことから、多くの児童は就学支援委員会の判断に基づいた就学先で適応的に過ごしていることが推察された。今後は、抽出調査として B 病院受診児 5 名について追跡し、就学後の支援や学校との連携及び適応状況等について調査し、支援モデルについて検討していきたい。

5. 研究発表

（1）学会誌等

なし（調査継続中により、今後予定）

(2) 口頭発表

- ① 野元明日香・飯干紀代子・新納雅樹・志賀希子 (2024) 就学時健康診断における知能検査の実施について—論文検索による動向調査—, 日本発達障害支援システム学会第12回研究大会.

(3) 出版物

なし

2024 年度(第 49 回)学術研究振興資金 学術研究報告

令和 7 年 10 月発行

編 集 日本私立学校振興・共済事業団
助成部 寄付金課

発行所 日本私立学校振興・共済事業団
〒102-8145 東京都千代田区富士見 1-10-12

TEL 03 (3230) 7315・7316・7319

FAX 03 (3230) 8223

禁無断転載