2025年度（第50回）

学 術 研 究 振 興 資 金

The Science Research Promotion Fund

学 術 研 究 報 告

令和8年10月

日本私立学校振興・共済事業団
Promotion and Mutual Aid Corporation for Private Schools of Japan

はじめに

この報告書は、2025年度（第50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8年5月末までに配付した資金総額は、3,601件、84億3,198万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8年3月末で、54億1,716万円に達しました。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8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　2025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　2025年度学術研究振興資金　研究課題一覧

Ⅴ　2025年度（第50回）学術研究振興資金 学術研究報告

Ⅰ　2025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	94	19	20.2%	190,550	33,000
	継 続 2 年 目	11	10	90.9%	40,100	28,600
	継 続 3 年 目	7	7	100.0%	25,400	19,000
学校種別	大　　学	108	35	32.4%	252,650	80,300
	短 期 大 学	4	1	25.0%	3,400	300
	高 等 専 門 学 校	0	0	0.0%	0	0
研究区分別	人文・社会科学系	28	9	32.1%	29,650	8,300
	理 工 系 、 農 学 系	27	9	33.3%	80,600	25,400
	生物学系、医学系	57	18	31.6%	145,800	46,900
合　計		112	36	32.1%	256,050	80,600

Ⅱ　学術研究振興基金　年度別受領状況

（単位：千円）

区分＼年度	1976(昭和51)～2019(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)	2025年度(令和7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	199,947	3	129	404	254	451	820	202,008
合　計	5,415,108	3	129	404	254	451	820	5,417,169
基金保有額	5,415,108	5,415,111	5,415,240	5,415,644	5,415,898	5,416,349	5,417,169	－

Ⅲ　学術研究振興資金　研究分野別配付状況

研究分野＼年度	1976(昭和51)～2019(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)	2025年度(令和7年度)	合　計
医　学	2,964,280	38,800	39,300	47,800	45,600	51,100	45,300	3,232,180
環境科学	227,740	0	0	0	2,100	4,300	4,500	238,640
理　学	976,410	11,300	5,500	5,200	11,500	6,600	8,400	1,024,910
工　学	1,663,160	16,300	21,000	8,900	700	2,100	5,200	1,717,360
農　学	338,800	4,400	5,300	6,000	8,400	8,500	8,900	380,300
文　学	755,560	2,500	1,400	3,500	7,300	7,100	5,900	783,260
法　学	107,420	2,500	0	0	0	0	0	109,920
経　済　学	243,080	2,600	2,800	3,700	1,800	900	1,800	256,680
家　政　学	223,460	0	0	2,000	0	0	0	225,460
体　育　学	31,800	0	3,000	2,800	2,800	0	0	40,400
教　育　学	196,270	2,000	2,900	800	400	600	600	203,570
小　計	7,727,980	80,400	81,200	80,700	80,600	81,200	80,600	8,212,680
若手研究者奨励金	139,300	―	―	―	―	―	―	139,300
合　計	7,867,280	80,400	81,200	80,700	80,600	81,200	80,600	8,351,980

（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　2025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	岩手医科大学	医学	マスト細胞の分泌刺激に対する即時型応答の全容理解	300
2	埼玉医科大学	医学	解糖系酵素PKM異常に基づくATL特異的な発症機序解明	1,100
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	4,500
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	東京慈恵会医科大学	医学	バイオフィルムによる胆管ステント閉塞機構の解明と予防戦略	2,200
6	順天堂大学	医学	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	4,500
7	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	2,100
8	成蹊大学	理学（理工系）	がんを兵糧攻めにするネオ糖タンパク質の創成	1,500
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	4,500
11	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	4,200
12	東京農業大学	農学	高温ストレスの長さや強度に応じた植物の多層的高温適応機構解明	2,200
13	東京薬科大学	医学	ヒト生体模倣血液脳関門モデルによる新たな薬物脳送達技術開発	1,800
14	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	2,200
15	東洋大学	工学	ミクロ界面精密制御システムの創出とバイオ応用	3,000
16	二松学舎大学	経済学	1970年代以降の視聴率制度の変容とその影響に関する研究	1,500
17	日本医科大学	医学	1塩基解像度による分子標的低分子医薬品の耐性変異機構の探索	4,500
18	自治医科大学	医学	骨髄と心血管の老化連関の解明	2,200
19	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	2,200
20	新潟青陵大学	教育学	小規模市町村におけるこども家庭支援モデル構築に関する研究	300
21	金沢医科大学	医学	マクロファージによる腫瘍内鉄代謝機構の解明と革新的がん治療法	1,800
22	中部学院大学短期大学部	教育学	実習教育における保育実習Ⅰ（施設）・Ⅲプログラムに関する研究	300
23	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	4,500
24	名城大学	農学	プラズマ処理バイオマスを用いた農業革命	2,200
25	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	2,200
26	京都薬科大学	理学（生物学系）	遺伝子改変によるカポジ肉腫関連ヘルペスウイルス複製機構解明	1,600
27	京都文教大学	文学	夢とバウムテストを通した乳がん患者への心理的支援の検討	300
28	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	4,500
29	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	1,500
30	関西医科大学	医学	先天的恐怖臭による依存性のない強力な鎮痛薬の実用化	3,000

Ⅳ　2025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	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	800
32	園田学園大学	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
33	神戸女子大学	文学	演能記録の調査・保存及び演能記録データベースの構築	1,000
34	川崎医科大学	医学	自己炎症性疾患VEXAS症候群の革新的治療法の開発	2,200
35	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	4,500
36	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	3,200
			配付額計	**80,600**

（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　2025 年度（第 50 回）

学術研究振興資金　学術研究報告

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

学　校　名	**岩　手　医　科　大　学**	研究所名等		
研 究 課 題	マスト細胞の分泌刺激に対する即時型応答の全容理解 ー3Dイメージングによる脱顆粒とマイクロベシクル産生の解析ー		研 究 分 野	医　　学
キ ー ワ ー ド	① マスト細胞　② 脱顆粒　③ マイクロベシクル			

〇研究代表者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
東　尾　浩　典	岩　手　医　科　大　学 教 養 教 育 セ ン タ ー	准　教　授	研究統括、分子生物学／生化学実験、ライブイメージング

〇研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
齋　野　朝　幸	岩　手　医　科　大　学 医　　学　　部	教　　授	ライブイメージング

マスト細胞の分泌刺激に対する即時型応答の全容理解
－3D イメージングによる脱顆粒とマイクロベシクル産生の解析－

1. 研究の目的

マスト細胞は、花粉症・気管支喘息・アナフィラキシーといった I 型(即時型)アレルギーへの関与で知られる、本来感染防御を担う免疫細胞である。抗原と IgE によって細胞膜上の IgE 受容体が架橋されると活性化され、細胞内 Ca^{2+}濃度上昇およびプロテインキナーゼ C (PKC)活性化を直接の引き金として、分泌顆粒に貯留している生理活性物質等の内容物を脱顆粒(開口放出)する。脱顆粒様式は細胞膜―分泌顆粒間、分泌顆粒―分泌顆粒間の膜融合が組み合わさった compound exocytosis を中心とするものと考えられているが実態は未解明である。そこで私共は、分泌顆粒の挙動と脱顆粒を同時検出可能な脱顆粒インジケーターCD63-pHluorin/mCherry を考案し、3D タイムラプス観察によるマスト細胞株 RBL-2H3 の脱顆粒様式の可視化に取り組んでいる。本脱顆粒イメージング系では「1 細胞丸ごとの少々マクロな視点」で「分泌顆粒の挙動と compound exocytosis の軌跡」をモニターする。これまでの低倍率での観察により、1) 分泌顆粒は複数が集合して大きなクラスターを形成している、2) 抗原刺激(IgE 感作+抗原添加)では細胞辺縁で脱顆粒が生じている、また 3) TPA+A23187 刺激(細胞内 Ca^{2+}濃度上昇および PKC 活性化を惹起する薬剤の添加)ではクラスター内で脱顆粒が compound exocytosis 様に生じていることを示唆する結果を得た。

また、イメージング後の細胞外液に、数百 nm～1.5 μm 程度の大きな膜構造が分泌刺激依存的に含まれてくること、それらがしばしば脱顆粒インジケーターの蛍光を伴っていることが見出され、分泌顆粒を内包するマイクロベシクル(細胞膜由来の細胞外小胞)の産生が示唆された。マイクロベシクルについては細胞種を問わず知見がないが、多胞体由来のエクソソーム(30～150 nm)と同様に、細胞間情報伝達ツールとして働いている可能性がある。この結果から、マイクロベシクル形成も分泌刺激に対する即時型応答の一つであると考えられた。

私共の脱顆粒イメージング系は、従来の系とは異なり、マイクロベシクルが形成されうる「細胞上部表面」を観察することが可能である。本研究では、分泌刺激に対する即時型応答の包括的理解を目指し、本イメージング系を用いて「細胞内外の」膜構造とその変化を精細に捉え、それらを支える分子機構を「目で見る」遺伝子機能解析により明らかにすることを試みている。

2. 研究の計画

(1) 抗原刺激／TPA+A23187 刺激に対する即時型応答の高倍率 3D タイムラプス観察

上記脱顆粒インジケーターおよび細胞膜マーカー(細胞膜タンパク質と近赤外光タンパク質 miRFP713 の融合タンパク質)を RBL-2H3 細胞に発現させ、各分泌刺激の存在下／非存在下で共焦点レーザー顕微鏡を用いて 3D タイムラプス観察を行う。miRFP713 蛍光は細胞膜を、mCherry 蛍光は分泌顆粒の挙動を、また pHluorin 蛍光は脱顆粒を(脱顆粒が生じると蛍光を発する)それぞれ可視化する。×100 対物レンズ・×5 デジタルズーム・Z 軸 0.1 μm 刻み・1024×1024 pixels にて 2 分おきに 20 分間画像取得を行ったのち立体構築し、分泌顆粒クラスターの構造と動態、TPA+A23187 刺激時のクラスター内の compound exocytosis 様脱顆粒の進展、抗原刺激時の細胞辺縁での脱顆粒、細胞表層からのマイクロベシクル形成過程を精細に捉える。

(2) 高倍率 3D タイムラプス観察による脱顆粒制御分子の時空間的機能解析、およびマイクロベシクル形成機構の解析

現在知られている脱顆粒制御分子のほとんどが、分泌刺激に対するアウトプット(顆粒内容物の放出)のみに着目した従来の生化学的脱顆粒アッセイ系により同定されたものである。これらの分子を本イメージング系で脱顆粒の実態に則して再解析し、いつ・どこで・どう働いているか等の知見を得る。

マスト細胞以外の細胞でのマイクロベシクル形成において、細胞膜ダイナミクスを制御す

る分子(Arf6, ホスホリパーゼ D)、アクトミオシン、および脂質膜の変形と切断に関与する I-BAR タンパク質 MIM の関与が示されている。また、マイクロベシクルへの積荷の輸送があるならば、他の細胞骨格関連分子やモーター分子の関与も想定される。これらの分子のマスト細胞のマイクロベシクル形成への関与を本イメージング系で検討する。

実験方法としては、上記分子の機能を RNA 干渉法による遺伝子発現の抑制あるいは阻害剤処理により抑制し、(1)と同様にイメージングする。

3. 研究の成果

(1) TPA+A23187 刺激存在下／非存在下での高倍率 3D タイムラプス観察

分泌刺激非存在下の分泌顆粒クラスターはソフトクリーム様の形状であり、その高さは細胞の厚みの 1/2 を超えるものが多かった。常に変形・伸縮しており、近接する別のクラスターとの接着／分離、またクラスター間の一過的なチューブル形成が見られた。

分泌刺激添加後直ちに、分泌顆粒クラスターの局所への pHluorin 蛍光の出現(脱顆粒を示す)、およびクラスターの弛緩（円盤状の分泌顆粒が繋がりつつ層状に積み重なったトルネードポテト様の形状への変化）が見られた。pHluorin 蛍光はクラスター内を不均一に（時にチューブル状に）進展しつつ強度を増し、10 分以内にクラスター全体に行き渡り、強度もプラトーに達した。また、頻度は低いが、クラスター間の接着やチューブル形成を介した pHluorin 蛍光の伸展もあった。

また、分泌刺激添加後 2 分経過した頃から、細胞上部表面で激しいラッフリングと細胞突起の形成が起こり、突起の先端から多数のマイクロベシクルが飛び出した。マイクロベシクル形成は次第に減衰し、刺激添加後 10 分以内には収束した。突起は、分泌顆粒クラスター上端近傍の細胞膜より形成され、弛緩したクラスターの一部が突起内部へ伸びていた。なお、放出されたマイクロベシクルの多くが分泌顆粒マーカーを含んでいたが、pHluorin 蛍光を伴うものと伴わないものがあった。

(2) 抗原刺激存在下(IgE 感作+抗原添加)／非存在下(IgE 感作のみ)での高倍率 3D タイムラプス観察

IgE 感作により分泌顆粒クラスターの多くは個々の分泌顆粒が見える程度に弛緩し、非常に動的であった。抗原添加後 2 分経過した頃に、細胞辺縁で激しい細胞突起の形成が起こり、そこへの分泌顆粒の集積と pHluorin 蛍光の出現が観察された。この現象は突起の持続時間と相関があり、突起がすぐ退縮する細胞では pHluorin 蛍光は弱く一過的である一方、突起が持続する細胞ではさらなる分泌顆粒の集積と pHluorin 蛍光強度の増大が見られた。この間、クラスター上には pHluorin 蛍光はほとんど出現しなかった。

上記の細胞辺縁での激しい突起形成時に、突起の先端がちぎれるようにマイクロベシクルが形成されていた。そのサイズは TPA+A23187 刺激時よりも小さかったが、分泌顆粒マーカーを含むものが多く、pHluorin 蛍光を伴うものと伴わないものがあった。

(3) 高倍率 3D タイムラプス観察による脱顆粒制御分子の時空間的機能解析

分泌顆粒膜上に存在する低分子量 GTPase Rab37 は、従来の生化学的脱顆粒アッセイ系により脱顆粒を負に制御する分子として同定された(Higashio et al., *Sci. Rep.* 6:22539, 2016)。この分子が実際の脱顆粒様式において何を・どう抑制しているかを知るため、Rab37 ノックダウン細胞をイメージングに供した。TPA+A23187 刺激での脱顆粒にはノックダウンの影響は見られなかった。一方、抗原刺激における脱顆粒では、(非ノックダウン細胞と比較して）細胞突起における pHluorin 蛍光の強度と持続性の増大、また分泌顆粒クラスター内への pHluorin 蛍光の出現と compound exocytosis 用の部分的進展が見られた。マイクロベシクル形成については、分泌刺激の種類を問わず Rab37 ノックダウンの影響は見られなかった。

4. 研究の反省・考察

生理的な分泌刺激である抗原刺激(IgE 感作＋抗原添加)では、IgE 感作によって分泌顆粒クラスターが緩んで分泌顆粒が動きやすい状態になり、抗原添加によって細胞突起が形成され、その先端まで分泌顆粒が輸送されて脱顆粒を生じていると考えられた。この時、Rab37 はクラスターにおいて脱顆粒を妨げていること、また突起において過度な脱顆粒を抑制しているこ

とが示唆され、特に前者には分泌顆粒貯蔵庫としてのクラスターを維持する意義があると考えられた。一方、TPA+A23187 刺激時にはクラスター内で compound exocytosis が生じていることが示唆されたが、これは、この人工的な強い分泌刺激が（上記のような）クラスター内での脱顆粒を妨げる仕組みを打ち破ってしまった結果だと考えられた。抗原刺激時にも突起において compound exocytosis が生じているのかは今後の検討課題である。

マイクロベシクルは、分泌刺激依存的に生じる細胞突起の先端から形成されること、また分泌顆粒マーカーの積込みが示唆されたことから、マスト細胞の即時型応答において何らかの生理的意義を有すると考えられた。

今年度の研究活動を通じて、私共の脱顆粒イメージング系は、脱顆粒とマイクロベシクル形成という、アレルゲン刺激に対する 2 種類の即時型応答を観察可能であり、それぞれのメカニズム解析の技術基盤になり得るとの自信を得た。今年度は本イメージング系しか用いておらず、また一部の計画しか遂行できなかった。次年度以降は、今年度の計画を引き続き遂行しつつ、可視化された「細胞内外の」膜構造とその変化を、他の実験手法（電子顕微鏡観察、フローサイトメーターなど）で随時検証しながら研究を進める。

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

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

学　校　名	**埼　玉　医　科　大　学**	研究所名等		
研 究 課 題	解糖系酵素PKM異常に基づくATL特異的な発症機序解明 −難治性白血病ATL発症機序解明を目指して−	研 究 分 野	医　　学	
キーワード	①ATL、②NDRG2、③解凍系酵素PKM、④脱リン酸化、⑤がん代謝			

〇研究代表者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
市　川　　朝　永	埼 玉 医 科 大 学 医 学 部	講　　師	研究代表者 総括　実験・データ整理・論文作製

〇研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
村　　上　　孝	埼 玉 医 科 大 学 医 学 部	教　　授	実験・データ整理

解糖系酵素 PKM 異常に基づく ATL 特異的な発症機序解明
－難治性白血病 ATL 発症機序解明を目指して－

1. 研究の目的

成人 T 細胞白血病リンパ腫 ATL(Adult T-cell leukemia/lymphoma)はヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 HTLV-1 が $CD4^+$T 細胞に感染したキャリアで発症する極めて予後不良の悪性疾患である。ATL は制御性 T 細胞(Treg)の特徴を有している。近年、いくつかの治療法の導入で平均余命の延長が見られている。しかし、ATL は 50-60 年に及ぶ HTLV-1 持続感染による遺伝子発現、翻訳後修飾や代謝等の異常が多数蓄積し、多くのがん・白血病とは異なる発症機序を呈している。よって治療標的が絞り込めておらず、患者は未だに予後不良であり大きな問題となっている。ATL 発症機構解明および治療法開発は喫緊の課題である。

研究者は ATL 細胞内で新規がん抑制遺伝子 NDRG2(N-myc downstream-regulated gene 2)が有意に発現低下していることを同定した。NDRG2 は脱リン酸化酵素 PP2A と複合体を形成し、NDRG2 結合標的分子である PTEN を含む多種の細胞内情報伝達分子群の Serine/Threonine 脱リン酸化調節に関わっていた。さらに、*Ndrg2* 欠損マウス解析で PI3K/AKT 情報伝達系の異常亢進を介した T 細胞リンパ腫、肝臓がんを含む多様ながんを発症と共に糖および脂質代謝異常が認められた。ATL 細胞に NDRG2 を過剰発現させ、NDRG2 結合タンパク質を網羅的に解析した結果、解糖系酵素ピルビン酸キナーゼ PKM(Pyruvate Kinase M)を同定した。

がん・白血病では PKM2 のみが発現亢進して、ホモ 2 量体を形成し酵素活性が低下している。グルコース取り込み亢進、解糖系による細胞増殖のためのアミノ酸、脂質、核酸等の合成促進および乳酸産生によって特徴付けられる Warburg effect を惹起してがん発症を促進している。さらに、翻訳後修飾 PKM2 は多機能性タンパク質として転写因子や受容体等の機能を有し腫瘍形成に関与している。一方で、PKM1 は翻訳後修飾されず、ホモ 4 量体形成で酵素活性を亢進させ、ピルビン酸を大量に産生している。PKM 遺伝子は選択的スプライシングによって排他的に PKM1 または PKM2 のどちらかが優位に発現すると報告されている。PKM1 と PKM2 両方が発現しているがん・白血病は少なく、ヘテロ複合体形成の有無および機能は詳しくわかっていない。ATL では NDRG2 発現低下による PKM1 発現、PKM2 の S37 高リン酸化が亢進しており、典型的な Warburg effect とは異なる ATL 特異的ながん代謝や機能が想定される。

本研究は NDRG2 と PKM に着目し、1)NDRG2 発現低下 ATL 特異的な PKM 発現亢進機序、2)PKM2 リン酸化機構解析、3)PKM1/PKM2 ホモおよびヘテロ複合体によるがん代謝の解析を目標とする。PKM 依存的な新規がん代謝を解明し、ATL の発症機構解明と治療標的化につなげたい。

2. 研究の計画

1) PKM1/PKM2 発現調節機構解析

- 正常末梢血単核細胞 PBMCs(Peripheral Blood Mononuclear cells)から、Th1、Th2、Th17 と Treg を分離または分化させ、PKM1/PKM2 発現(ウエスタンブロット-WB、定量 PCR-qPCR)を ATL 患者検体と比較検討する。

2) NDRG2 発現低下による PKM2 リン酸化機構解析

- NDRG2 発現白血病細胞株 T-ALL、PBMCs と $CD4^+$T 細胞で内在性の NDRG2 と PKM2 を免疫沈降し、それらの結合能を明らかにする。
- NDRG2 過剰発現 ATL 関連細胞株および NDRG2 発現低下 T-ALL 細胞株を作製し、PKM2 の S37 リン酸化を検討する。

3) PKM1/PKM2 機能解析

- 白血病細胞株 T-ALL、ATL 細胞株で PKM 酵素活性の違いと PKM1/PKM2 のヘテロ重合度を検討し、主として働く PKM フォームを検討する。

3. 研究の成果

1) PKM1/PKM2 発現調節機構解析

- 健常者 $CD4^+$T 細胞と ATL 患者検体で、PKM1/PKM2 発現を WB や qPCR で比較検討した。多くのがん・白血病と異なり、タンパク質と mRNA レベルで、PKM1 が ATL 患者検体で発現亢進していた。一方で、PKM2 は両群に差はなかった。
- 野生型と *Ndrg2* 欠損マウスサンプルで網羅的遺伝子発現解析を行った。GO(Gene Ontology)解析の結果、*Ndrg2* 欠損で、fatty acid metabolic process(Pck1、Srebf1 等)が有意に増加していた。PKM における転写およびスプライシング因子を解析中。

2) NDRG2 発現低下による PKM2 リン酸化機構解析

- NDRG2 発現 T-ALL、NDRG2 過剰発現 ATL 細胞株で、免疫沈降を行い、NDRG2 と PKM2 が複合体を形成していることを確認した。
- ATL 細胞株では T-ALL 細胞株に比べて PKM2 の S37 リン酸化が顕著に亢進していた。NDRG2 過剰発現 ATL 細胞株では PKM1 および PKM2 発現は変化していなかったが、PKM2 の S37 リン酸化は有意に減少していた。反対に、NDRG2 発現低下 T-ALL 細胞株では PKM2 の S37 リン酸化は顕著に増加していた。NDRG2 が S37 リン酸化を制御していることを明らかにした。NDRG2 発現により細胞増殖は抑制され、細胞死が誘導された。また、さまざまな情報伝達系因子のリン酸化が低下していた。細胞表現型解析はさらに解析中。

3) PKM1/PKM2 機能解析

- PKM1/PKM2 のヘテロ重合度を検討するために、細胞に DSS (Disuccinimidyl suberate)を付加し、クロスリンキングを行った。PKM1/PKM2 ヘテロ・ホモの 2 量体及び 4 量体の確認ができた。さらに、ヘテロ重合度や酵素活性を測定していく。

4. 研究の反省・考察

細胞内のストレス応答として、細胞内リン酸化活性化による情報伝達系の活性化、翻訳後修飾や分子間相互作用によるストレス対応の分子機構が解明されつつある。しかし、ストレス状態から脱却し、恒常状態に戻る機構についての知見は少ない。研究者はストレス対応状態から恒常状態へ戻るための negative feedback 機構の一翼を担う新規がん抑制遺伝子である NDRG2 の働きを同定した。その分子機構として NDRG2 は PP2A リクルーターとして NDRG2 標的分子群を脱リン酸化、続いて情報伝達系を不活化することを突き止めた。

NDRG2 は ATL ではほぼ全症例、他の白血病や固形腫瘍の約 42-85%で高頻度に遺伝子発現低下が認められているので、「NDRG2 発現低下による高リン酸化基質」は幅広く悪性腫瘍に応用できる。NDRG2 標的因子の同定および機能解析はストレス応答、発がん機序の解明、治療標的の同定や開発につながる。

PKM2 過剰発現の依存した Warburg effect と発がんとの関係性はよく研究されているが、PKM1 発現や機能に着目した研究はほとんどない。PKM2 依存的な Warburg effect が腫瘍形成に有利であることは間違いないが、PKM1/PKM2 がよりがん進行に対して効果的な代謝環境を提供するのかもしれない。ATL と同様に難治性の小細胞肺がん(SCLC)で PKM1 が高発現し、他のがん種とは異なるグルコースとグルタミン代謝による特徴的ながん代謝異常によって腫瘍形成が促進される。$CD4^+$T 細胞の Th1、Th17 では PKM2 が優位に発現し嫌気性解糖が誘導されているが、HTLV-1 感染、ATL や Treg に関しては PKM1/PKM2 発現変化や代謝の詳細な検討はされていない。PKM 遺伝子はスプライシングアイソフォームとして存在し、PKM1 は exon9 が、PKM2 は exon10 が選択的にスプライシングされて産生される。この機構に関わる関連因子はいくつか同定されているが、PKM1/PKM2 が両方発現するメカニズムについてはわかっていない。慢性・くすぶり型 ATL が急性転化・悪性化する機序も不明な点が多く、HTLV-1 感染や Treg 分化による PKM1/PKM2 発現調節機能の解明から ATL 発症・悪性化機序の解明に寄与できる。本研究は PKM2 が主体として考えられてきたがん代謝とは異なる代謝異常が惹起される可能性があり、PKM1 発現や PKM1/PKM2 機能解析はがん特異的代謝を見直す重要な鍵であることが考えられる。

ATL を含む難治性のがん・白血病では NDRG2 発現低下による PKM2 の恒常的リン酸化亢進や PKM1 発現、PKM1/PKM2 のホモまたはヘテロ複合体形成によるがん代謝が発症・悪性化に関与していることが考えられる。ATL では、グルコース取り込みが増加しており、それを利用した FDG-PET 検査の実施、糖尿病治療薬 SGLT2 阻害剤や乳酸排泄阻害剤の治療効果検討が行われている。これまで PKM1 発現や翻訳後修飾は PKM2 機能解析の陰に隠れて見逃されてきた。本研究の推進によってがん代謝の詳細と発症機序の解明につなげていく。

5. 研究発表

(1)学会誌等

① **Ichikawa T***#, Nakahata S, Shimoda K, Murakami T, Morishita K. The tumor suppressor NDRG2 recruits protein phosphatase 2A to suppress STAT5 phosphorylation in adult T-cell leukemia/lymphoma. ***J Biol Chem***. 2026 Apr 27:113080. doi: 10.1016/j.jbc.2026.113080.

② **Ichikawa T***#, Shimosaki S, Nakahata S, Suekane A, Kitabayashi I, Iha H, Shimoda K, Murakami T, Morishita K. Clathrin-associated SCYL2 contributes to the activation of PI3K/AKT signaling and tumorigenesis through PTEN phosphorylation in adult T-cell leukemia/lymphoma. ***Cancer Gene Ther***. 2026 Mar;33(3):314-322. doi: 10.1038/s41417-026-01008-9.

③ Kotani N, Iwasa K, Amimoto T, Yamashita Y, Komatsu K, Narimichi Y, Wakabayashi Y, Kurebayashi Y, Horiuchi Y, Kashimata L, Sasaki R, Kumagai M, Yagishita-Kyo N, Awaji T, Murakami T, Mizuno Y, Nakano M, Takahashi T, Takeuchi H, Honke K. Pseudovirus-Mediated Proximity Labeling Identifies Candidate Host Cell Membrane Proteins Involved in Viral Attachment. ***J Virol***. 2026: e0050726. doi: 10.1128/jvi.00507-26.

④ Shinagawa M, Hirabayashi K, Fujioka M, Kamijo K, Uchiyama N, Yokokawa Y, Tanaka Y, Ono M, Chinsuwan T, Asaka R, Hasegawa A, Tanaka M, Murakami T, Yagyu S, Miyamoto T, Shiozawa T, Nakazawa Y. Ligand-based CAR-T cells targeting EGFR exhibit favorable antitumor effects against gynecologic malignancies. ***Cancer Sci***. 2025;116(8):2243-2255. doi: 10.1111/cas.70106.

⑤ Okamoto K, Mihara Y, Ogasawara S, Murakami T, Ohmori S, Mori T, Umata T, Kawasaki Y, Hirano K, Yano H, Tsuneoka M. Interaction between PHF8 and a segment of KDM2A, which is controlled by the phosphorylation status at a specific serine in an intrinsically disordered region of KDM2A, regulates rRNA transcription and cell proliferation in a breast cancer cell line. ***Biomolecules***. 2025;15(5):661. doi: 10.3390/biom15050661.

#Coresponding author, *First author

(2)口頭発表

① **Tomonaga Ichikawa**, Kazuhiro Morishita, Takashi Murakami. Analysis of tumor development through the increase of phosphorylated PKM2 in Adult T-cell leukemia/lymphoma. 第 84 回日本癌学会学術集会. 2025 年 9 月 25 日-27 日.

② 安藤 優希枝、畑澤 さら、又木 萌萌、熊田原 莉子、中嶋 美桜、曽根 陸寿、中村 彰宏、戸叶 美枝子、**市川 朝永**、村上 孝、堀内 大. Immunological characteristics of hyper-differentiated melanoma. 第 84 回日本癌学会学術集会. 2025 年 9 月 25-27 日.

③ 畑澤 さら、熊田原 莉子、安藤 優希枝、又木 萌萌、中嶋 美桜、曽根 陸寿、中村 彰宏、戸叶 美枝子、**市川 朝永**、村上 孝、堀内 大. Bacterial infection induces transient melanoma dedifferentiation with attenuated antigenicity. 第 84 回日本癌学会学術集会. 2025 年 9 月 25-27 日.

(3)出版物

なし

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

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	研 究 分 野	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		

〇研究代表者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
田　邉　一　仁	青　山　学　院　大　学 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

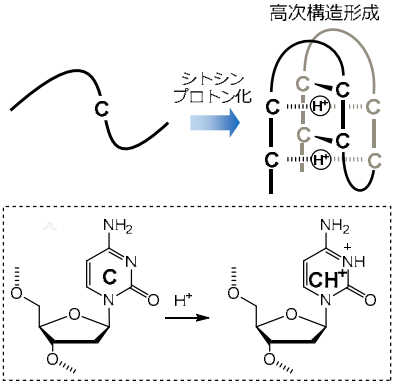
〇研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
武　　内　　亮	青　山　学　院　大　学 理　　工　　学　　部	教　　授	複素環合成実験、論文作成
鈴　　木　　正	青　山　学　院　大　学 理　　工　　学　　部	教　　授	分光測定実験、論文作成

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 は、塩基配列そのものに基づく情報担体としての役割に加え、周囲の環境条件に応じて多様な高次構造を形成し、その構造変化を通じてさまざまな機能発現に関与している。特に、三重鎖構造や i-motif 構造は、シトシン塩基のプロトン化を起点として pH 応答的かつ可逆的に形成されることが知られており、核酸構造の動的変化を理解する上で重要な研究対象である。これらの構造では、単に塩基配列や相補鎖形成だけでなく、特定塩基の化学状態、すなわちプロトン化の有無が構造形成の鍵を握る。そのため、核酸中のどのシトシンが、どのような環境下で、どのタイミングでプロトン化されるのかを明らかにすることは、高次構造の形成機構を分子レベルで理解するために不可欠である。



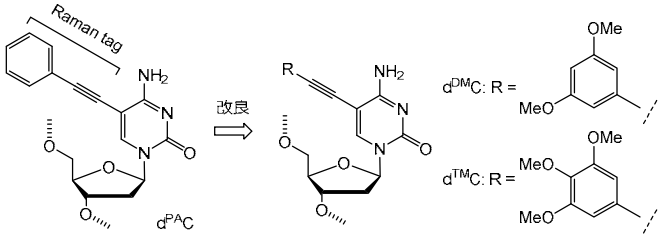
一般に、化合物のプロトン化は、その化合物が本来持つ pK_a 値と周囲の pH によって支配される。通常のシトシン塩基の pK_a は約 4.1 であり、シトシン単量体は pH 4 以下の酸性条件でプロトン化が進行すると考えられる。一方で、DNA オリゴマー中に存在するシトシン塩基は、pH 6〜7 程度の中性に近い条件下においてもプロトン化すると報告されており、この異常ともいえるプロトン化挙動が、三重鎖や i-motif などの高次構造形成に深く関与すると考えられている。すなわち、DNA 上では、単独のシトシンでは通常プロトン化が起こりにくい環境においても、周囲の塩基配列、塩基対形成、スタッキング相互作用、局所的な立体環境などの影響により、プロトン化が促進されている可能性がある。しかし、このようなプロトン化が高次構造形成のどの段階で生じるのか、また構造形成を誘導する原因なのか、あるいは形成後に安定化へ寄与する結果なのかについては、十分に解明されていない。

これまで、化合物のプロトン化状態は、NMR、紫外可視吸収スペクトル、蛍光測定などの分光学的手法を用いて解析されてきた。しかし、DNA オリゴマーのような巨大かつ複雑な分子では、得られるスペクトルが多数の塩基や骨格構造に由来する情報を含むため、特定のシトシン塩基のみのプロトン化を直接かつ選択的に観測することは極めて困難である。さらに、生細胞内のように多種多様な分子が共存する環境では、スペクトルは一層複雑化し、プロトン化のような微小な化学反応を高い選択性で可視化することは、現状では困難である。

そこで本研究では、プロトン化の有無を高感度かつ選択的に追跡可能な、ラマン散乱光計測に基づく核酸構造解析システムの開発を目指す。具体的には、ラマンタグを導入したシトシン塩基を新たに設計・合成し、DNA オリゴマー中に組み込むことで、特定塩基のプロトン化状態をラマンシグナルの変化として検出する。まずは in vitro 条件下において、pH 変化に伴うラマンタグ修飾シトシンのプロトン化挙動を詳細に解析し、高次構造形成との相関を明らかにする。その後、細胞内環境における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技術へと発展させる。これにより、従来の手法では捉えることが困難であった核酸高次構造形成の初期過程や動的変化を可視化し、核酸機能発現の分子機構解明に貢献することを目指す。

2. 研究の計画

シトシン塩基上で進行するプロトン化を検出するにあたり、これまでにフェニルアセチレン基をラマンタグとして導入したシトシン誘導体($d^{PA}C$)を開発してきた。$d^{PA}C$ は 2200 cm^{-1} 付近に強いシグナルを示す一方、そのシグナルはプロトン化によってシフトすることが確認できた。しか

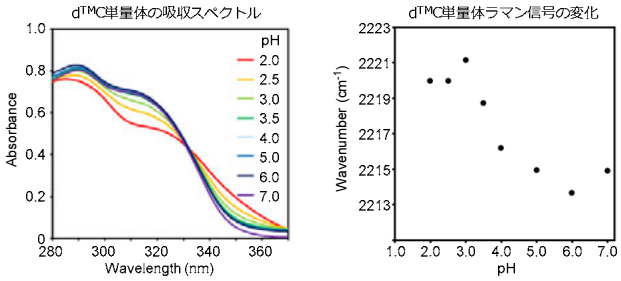


し、$d^{PA}C$ の pK_a は 2.8 程度と算出され、通常のシトシン塩基の pK_a(4.1)と比較するとより強い酸性条件下でプロトン化することがわかった。そこで、2025 年度は、通常のシトシンにより近い条件で、プロトン化し得る誘導体の開発を進めた。具体的には、ラマンタグとなるフェニルアセチレン基の芳香環上に、電子供与基を導入し、フェニルアセチレン基の電子吸引性をより弱め、合成したシトシン誘導体の pK_a 値をより高める工夫を施した。電子供与性のメトキシ基を 2 つ導入した $d^{DM}C$ および 3 つ導入した $d^{TM}C$ を設計・合成し、それら誘導体の pK_a 値を計測するとともに、DNA に導入し、プロトン化を観測できるか検討した。

3. 研究の成果

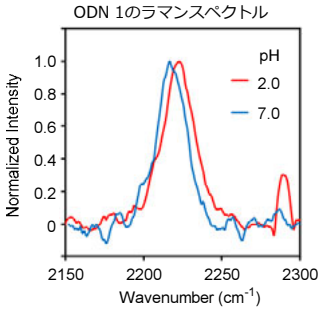
$d^{DM}C$ および $d^{TM}C$ 単量体は、5-iodo-2'-deoxycytidine を出発物質とし、対応するフェニルアセチレン誘導体との薗頭カップリング反応により、それぞれ合成した。

続いて、得られた $d^{DM}C$ および $d^{TM}C$ 単量体が、プロトン化を起こし得るか検討した。リン酸緩衝液中での各 pH における UV スペクトルを測定したところ、$d^{DM}C$ および $d^{TM}C$ それぞれについて、pH 変化に伴うスペクトル変化が観測された。このスペクトル変化には等吸収点がみられ、酸性条件にするに伴い、310 nm 付近の吸収が減少し、340nm の吸収が増大した。こうした吸収スペクトルの長波長化は、無置換シトシン単量体のプロトン化によっても生じることが報告されていたことから、この吸収の変化は、$d^{DM}C$ および $d^{TM}C$ のプロトン化に由来するものと結論付けた。また、この吸収スペクトルの 320 nm 付近の吸光度変化から、各 pH におけるプロトン化体および非プロトン化体の存在比を算出し、pK_a を求めたところ、$d^{DM}C$ および $d^{TM}C$ の値はそれぞれ 3.0、3.8 と算出された。これらの結果から、$d^{TM}C$ の方が、無置換シトシンに近いプロトン化特性を持つことがわかった。



次に、各単量体について、さまざまな pH 条件下でラマンスペクトルを測定し、プロトン化を追跡し得るか調べた。まず、532 nm の励起光を照射したところ、2200 cm^{-1} 付近に、$d^{DM}C$ と $d^{TM}C$ 上に導入したアセチレン基の伸縮振動に起因するバンドが観測された。このバンドは、酸性側で明確に長波数側へシフトすることが確認された。対応する pH には各単量体で違いが見られ、$d^{DM}C$ ではおよそ pH 3.0、$d^{TM}C$ ではおよそ pH 4.0 付近でピーク位置の変化が観測された。pH 変化によるラマンスペクトルの変化は、吸収スペクトル変化と一致したことから、この結果はシトシン塩基上で進行するプロトン化をラマンスペクトルで検出し得たことを示すと判断した。

上述のように、$d^{TM}C$ は無置換シトシンと同じ程度の条件でプロトン化することがわかったので、次に、$d^{TM}C$ を DNA オリゴマーに導入した。$d^{TM}C$ の 5'側水酸基を DMTr 化した後、通常のホスホロアミダイト法を用いて 19 量体の DNA オリゴマー(ODN 1)を合成した。得られた ODN 1 は HPLC を用いて精製し、吸収スペクトルおよび MALDI-TOF MS にて修飾塩基の導入を確認した。なお、ODN 1 は単純なオリゴマーの中央に $d^{TM}C$ を導入した一本鎖 DNA である。



ODN 1: 5'-d(TTT TTT TTT T^{TM}CT TTT TTT T)-3'

合成した ODN 1 を用いてオリゴマーでのプロトン化が追跡できるか検討した。ラマンスペクトルを測定したところ、DNA オリゴマーでもアセチレン由来の強いシグナルが 2220cm^{-1} 付近に観測できた。ODN 1 のラマンスペクトルを pH 2.0 および 7.0 で測定したところ、モノマーと同様に、酸性条件下で高波数側にシフトすることがわかった。すなわち、シトシン塩基上のプロトン化を DNA オリゴマーにおいても追跡できることが示された。

4. 研究の反省・考察

2025 年度は、ラマンタグ部位を改良することによって、より通常のシトシンに近い環境でプロトン化を起こす誘導体の開発に成功した。合成した $d^{DM}C$、$d^{TM}C$ については、現在も DNA オリゴマーへの導入を進めており、各種 pH 条件下でのラマン測定、および三重鎖構造や i-motif 構造におけるプロトン化の検出を早急に進めていく予定である。また、細胞内や細胞に類似す

るような各種生体分子が混在する実験系にて、プロトン化を検出できるのか、検討していく予定である。また、2024 年度に作成した三重鎖構造のプロトン化検出システムおよび高感度化システムの活用も進める。

5. 研究発表

(1)学会誌等

なし

(2)口頭発表

①ラマンタグを備えたシトシン誘導体の設計とpH環境応答性の制御　渡邉理央・西原達哉・田邉一仁　第106日本化学会春季年会　日本大学

②反応性分子を標的としたアルキン含有プローブの開発と組織転写TLCへの応用　山口翔吾・永野舜也・西原達哉・田邉一仁　第106日本化学会春季年会　日本大学

(3)出版物

なし

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

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 －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－	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		

〇研究代表者

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

〇研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
深　谷　昌　浩	北里大学･医療衛生学部	教　　授	実験･データ解析
斉　藤　康　二	北 里 大 学 ・ 医 学 部	講　　師	実験･データ解析

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

慢性疼痛は、「典型的には 3 ヶ月以上持続する、または通常の治癒期間を超えて持続する痛み」と国際疼痛学会(IASP)により定義されている病態により、患者に身体的・心理的に大きな負担を与えるとともに、医療経済的にも深刻な損失を招いている。

慢性疼痛の発症機序として、組織の炎症や神経の損傷により損傷局所より神経成長因子(NGF)をはじめとする様々な液性因子が放出され、神経終末に作用し、痛覚の感受性閾値の低下や興奮性の亢進、さらに可塑的な変化が生じるものを考えられている。しかしながら、慢性疼痛に対する有効な治療法はなく、慢性疼痛の分子機序のさらなる解明とそれに基づく新たな創薬・治療法の開発は喫緊の課題である。

NGF は、発達期の感覚ニューロンや交感神経節後ニューロンの生存や分化に必須の神経栄養因子である一方、組織の損傷や炎症に伴い組織局所で分泌されて、疼痛の惹起や痛覚感受性の亢進を引き起こす。近年、NGF シグナルを標的とした抗体治療薬が開発され、変形性関節症や慢性腰痛の患者の難治性疼痛に対して有意な緩和効果を示し有望視されていたが、重篤な副作用のため未だ実用化に至っていない。したがって、慢性疼痛における NGF シグナル経路の制御機構のさらなる解明が求められる。

研究代表者らは、小胞輸送を制御する低分子量 G タンパク質 Arf6 が、活性化因子 EFA6A により活性化されて、NGF 受容体 TrkA の細胞表面発現を調節することにより、神経内分泌細胞株 PC12 細胞の NGF 依存的な神経突起の形成を制御することを見出した（Fukaya et al., 2024)。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小胞輸送経路を標的とする慢性疼痛の新規治療法の開発に繋がる可能性が期待される。

2. 研究の計画

(1) 脊髄後角における EFA6A 発現局在に関する免疫組織学的解析
脊髄神経節感覚ニューロンでの EFA6A 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。

(2) 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に対する疼痛感受性閾値の変化を検討する。

(3) EFA6A-Arf6 小胞輸送による NGF 疼痛シグナルの制御機構の解明
一次感覚ニューロンにおいて EFA6A-Arf6 経路が、TrkA および侵害刺激受容体である 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、細胞外領域を認識する抗体で細胞表面に発現する TrkA と TRPV1 を標識することにより、NGF 刺激後の TrkA と TRPV1 の細胞表面発現量の変化を経時的に検討する。

3. 研究の成果

(1) 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

EFA6A 特異抗体を用いてマウス脊髄神経節での発現局在を免疫組織化学的に検討した。その結果、EFA6A 陽性反応は小型から中型の一次感覚ニューロンの一部に認められた。TrkA 陽性細胞の約 50%が EFA6A 陽性を示した。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する一方、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。

(2) 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

EFA6A 遺伝子欠損マウスと野生型マウスの足底部に NGF を投与し、機械的刺激に対する疼痛感受性閾値の経時的な変化を von Frey 法により検討した。その結果、NGF 投与側の足底において、野生型マウスでは疼痛感受性閾値が NGF 投与 4 時間後から低下し、7 日後まで持続的に低下を示した。一方、遺伝子欠損マウスでは NGF 投与 2 日目までは疼痛感受性閾値は刺激前と比較して低下したが、その疼痛感受性閾値は野生型に比べて有意に高かった。さらに、NGF 投与 4 日後には、投与側の測定部の疼痛感受性は投与前のレベルに戻り、さらに NGF 投与反対側の足底の閾値と同等であった。

(3) EFA6A 遺伝子欠損による NGF 刺激後の TrkA 及び TRPV1 の細胞表面発現への影響

脊髄神経節初代培養ニューロンに対して NGF 刺激後の TrkA と TRPV1 の細胞表面発現を細胞外領域に対する抗体を用いて標識し検討した。その結果、野生型においては、NGF 刺激 4 時間後の TrkA の細胞表面発現量は、刺激後前の 20%にまで減少する一方、24 時間後には細胞表面発現量が 50%まで回復した。一方、遺伝子欠損型では、NGF 刺激 4 時間後では野生型と同程度に TrkA 細胞表面量が減少するのに対して、NGF 刺激 24 時間後において野生型で観察された NGF の細胞表面量の増加は認められなかった。次に NGF 刺激前に細胞表面に存在する TrkA を、細胞外領域を認識する抗体で標識した後に、NGF で 30 分間刺激した後、維持培養液を戻して経時的に固定前に、細胞表面に残存する TrkA とリサイクリングにより細胞膜に戻ってきた TrkA の総和となる細胞表面に存在する一次抗体で標識された TrkA を蛍光二次抗体で可視化して検討した結果、野生型では NGF 刺激 30 分後に細胞内に取り込まれて減少した TrkA 表面発現量は、6 時間後にはその一部がリサイクリングされて刺激前の 80%レベルまで回復した。一方、遺伝子欠損型の TrkA 表面発現量は NGF 刺激 30 分後では野生型と同レベルに減少するのに対して、6 時間後での発現量の増加は観察されなかった。これらのことより、脊髄神経節初代培養ニューロンにおいても PC12 細胞と同様に EFA6A-Arf6 経路は NGF 依存的な TrkA のリサイクリングを制御することが明らかになった。さらに、NGF 刺激による TPRV1 細胞表面発現量の経時的変化を検討した結果、野生型では 4 時間後には TPRV1 細胞表面発現量が約 40%増加し、24 時間においても持続するのに対して、遺伝子欠損型では NGF 刺激 4 時間および 24 時間後において、TPRV1 細胞表面発現量は変化せず、刺激前と同レベルであった。以上のことより、EFA6A は NGF 依存的な TrkA と TPRV1 の小胞輸送経路の制御を介して痛覚感受性に関与する可能性が示唆された。

4. 研究の反省・考察

本研究により、EFA6A 遺伝子欠損マウスは、NGF 投与による機械的疼痛の感受性が野生型に比較して低いこと、さらに EFA6A-Arf6 が初代脊髄神経節初代ニューロンにおいても PC12 細胞と同様に NGF 依存的な TrkA の細胞表面発現を制御するともに、TRPV1 の細胞表面発現の調節に関わることより、EFA6A-Arf6 小胞輸送経路が、NGF 疼痛シグナル経路における下流効果経路として TrkA や TRPV1 の細胞表面発現量の制御を介して、慢性疼痛に関わる可能性が示唆された。今後、脊髄神経節特異的なノックアウトマウスを用いた疼痛感受性の検討や脊髄神経節での EFA6A の発現によるレスキュー実験などによる本現象の確認とともに、遺伝子欠損マウスの脊髄神経節の一次感覚ニューロンでの TrkA や TRPV1 の発現量の変化を個体レベルで検

証する予定である。

5. 研究発表

(1)学会誌等

① Sakagasmi H, Shiroshima T, Nemoto N, Niimura T, Sugawara T, Hara Y, Okubo T, Fukaya M. Disruption of the gene for Iqsec1/BRAG2 in mice leads to embryonic lethality with reduced large apical vacuoles in the visceral endoderm. ***FEBS Let.*** 599(4):581-591 (2025)

② Sugawara T, Matsu-Ura H, Inagaki R, Kawamura T, Tanaka M, Hara Y, Saito K, Fukaya M, Moriguchi S, Sakagami H. EFA6A, a Guanine Nucleotide Exchange Factor for Arf6, Regulates Developmental Stage-Dependent Spine Morphogenesis, Synaptic Plasticity, and Long-Term Memory in the Hippocampus. ***Mol Neurobiol***. 62: 11904-11919 (2025)

(2)口頭発表

① 深谷 昌弘, 伊藤 諭子, 岡本 浩嗣, 阪上 洋行「EFA6A, a guanine nucleotide exchange factor for Arf6, regulates NGF-induced TrkA recycling in DRG neurons and heat hyperalgesia」第130回日本解剖学会全国学術集会 (APPW2025　2025年3月19日

(3)出版物

該当なし

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

学　校　名	**東 京 慈 恵 会 医 科 大 学**	研究所名等	細　菌　学　講　座	
研 究 課 題	バイオフィルムによる胆管ステント閉塞機構の解明と予防戦略 －胆汁酸による胆泥分離菌のバイオフィルム形成の誘導－		研 究 分 野	医　　学
キ ー ワ ー ド	①胆管ステント ②バイオフィルム ③腸球菌 ④胆汁酸			

〇研究代表者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
金　城　雄　樹	東京慈恵会医科大学 細　菌　学　講　座	教　　授	研究の統括

〇研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
杉　本　真　也	東京慈恵会医科大学 細　菌　学　講　座	准　教　授	実験・論文作成
炭　山　和　毅	東京慈恵会医科大学 内 視 鏡 医 学 講 座	教　　授	臨床検体の収集に関する統括
加　藤　正　之	東京慈恵会医科大学 内 視 鏡 医 学 講 座	准　教　授	臨床検体の収集
一　志　公　夫	東京慈恵会医科大学 内 視 鏡 医 学 講 座	非常勤講師	臨床検体の収集
古　橋　広　人	東京慈恵会医科大学 内 視 鏡 医 学 講 座	非常勤講師	臨床検体の収集
小　貫　友　輝	東京慈恵会医科大学 附　属　病　院	初期研修医（基礎研究医育成プログラム）	FISH法の確立

バイオフィルムによる胆管ステント閉塞機構の解明と予防戦略
－胆汁酸による胆泥分離菌のバイオフィルム形成の誘導－

1. 研究の目的
本研究は、腸内微生物叢が形成するバイオフィルムに着目し、閉塞性黄疸を繰り返す患者から回収した閉塞胆管ステント内に形成されたバイオフィルムの構造解析および、胆泥由来微生物の in vitro におけるバイオフィルム形成能の評価を通じて、胆管ステント閉塞の機序を解明することを目的とする。さらに、本研究成果を基盤として、胆管ステント閉塞に対する新たな予防戦略の確立を目指す。

2. 研究の計画
① バイオフィルム透明化法を用いた閉塞胆管ステント内部のバイオフィルムの可視化

これまでに得られた胆管ステント内微生物叢解析の結果をもとに、菌種特異的な蛍光 DNA プローブを作製し、まず浮遊菌を用いてその有効性を検証する。蛍光 DNA プローブは、優占菌種のリボソーム RNA（16S rRNA または 23S rRNA）を標的とする。また、蛍光プローブの浸透性向上を目的として、溶菌酵素処理条件の最適化を行う。

さらに、単一菌種および複合菌種からなるバイオフィルムを作製し、Fluorescence In Situ Hybridization（FISH）法を用いて、菌の三次元的分布を可視化する。最終的には、閉塞胆管ステント内部に形成されたバイオフィルムを対象として、本研究で確立する FISH 法と、申請者らが開発したバイオフィルム透明化技術（Sugimoto and Kinjo, Commun. Biol. 2023）を組み合わせることで、細菌およびヒト由来成分の空間配置を保持したまま観察を行う。

② 閉塞胆管ステント由来微生物のバイオフィルム形成能の評価

これまでの研究において、閉塞胆管ステント内の胆泥から、細菌および真菌を含む 17 菌種 31 株を分離・同定している。これらの分離株を用い、ビリルビンカルシウム、胆汁酸、パルミチン酸などを添加した、胆管ステント内環境を模擬した培地で培養を行う。形成されたバイオフィルムについては、ポリスチレンプレートおよびクリスタルバイオレット染色を用いた定量法（Sugimoto et al., Sci. Rep. 2018）により評価する。

3. 研究の成果
① バイオフィルム透明化法を用いた閉塞胆管ステント内部のバイオフィルムの可視化

これまでの研究において、閉塞胆管ステント内の微生物叢解析を実施した結果、Enterococcus faecalis や Enterococcus faecium を含む腸球菌属細菌が高頻度で分離されることを明らかにしている。そこで、既報（Wellinghausen et al., J. Clin. Microbiol. 2007）を参考にして E. faecalis および E. faecium に特異的な蛍光標識 DNA プローブ（ENF 191: Cy5-GAAAGCGCCTTTCACTCTT ATGC および ENU 1470: Cy5-GACTCCTTCAGACTTACTGCTTGG）を作製した。加えて、16S rDNA の配列に基づき、全細菌種を検出可能な蛍光標識 DNA プローブ（EUB 338: Cy3-GCTGCCTCCCG TAGGAGT）も作製した。

これらプローブの有効性を検証するために、E. faecalis、E. faecium、および大腸菌を用いて浮遊菌液を調製し、FISH 法による検出を行った。その結果、EUB338 では全菌種、ENF191 では E. faecalis のみ、ENU1470 では E. faecium のみを特異的に検出できることを確認した（次項図１）。

また、溶菌酵素 Lysozyme による前処理条件を検討した結果、腸球菌では菌体形態が大きく損なわれることが判明した。そのため、低濃度かつ短時間での処理、あるいは酵素処理を行わない条件の方が、アーティファクトの少ない観察結果が得られることが示唆された。

さらに、単一菌種由来バイオフィルムを用いて FISH 観察を実施したところ、厚みのあるバイオフィルム内部まで蛍光 DNA プローブが浸透し、菌の三次元的局在を可視化することに成功した。一方で、バイオフィルム内部では細胞ごとに蛍光強度が大きく異なることも確認された。

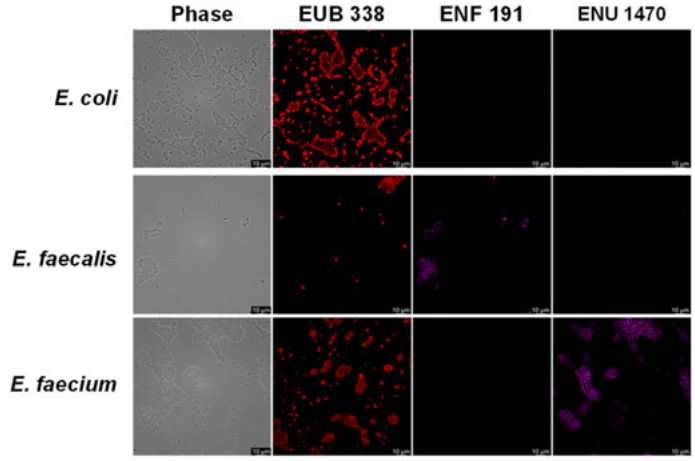


図1. FISH法による各菌種の検出.

② 閉塞胆管ステント由来微生物のバイオフィルム形成能の評価

閉塞胆管ステントから高頻度に分離された腸球菌について、胆管内容物が菌体凝集およびバイオフィルム形成に及ぼす影響を検討した。その結果、E. faecalis では、リトコール酸（LCA）およびパルミチン酸（PA）による菌体凝集の促進に加え、ケノデオキシコール酸（CDCA）、デオキシコール酸（DCA）、およびビリルビン（BIL）による生育阻害が認められた（図２a）。また、E. faecium では、CDCA および PA によるバイオフィルム形成の促進に加え、LCA、PA、BIL による菌体凝集の促進が観察された（図２b）。さらに、Enterococcus gallinarum においては、LCA および PA によるバイオフィルム形成の促進、ならびに LCA による菌体凝集の促進が認められた一方で、BIL による生育阻害も観察された（図２c）。

以上の結果から、胆管内容物が及ぼす影響は菌種あるいは菌株ごとに異なることが示唆された。また、菌体凝集能とポリスチレンプレート上でのバイオフィルム形成能との間に明確な相関は認められなかったものの、いずれの形質も胆管ステント閉塞に寄与する可能性が示された。

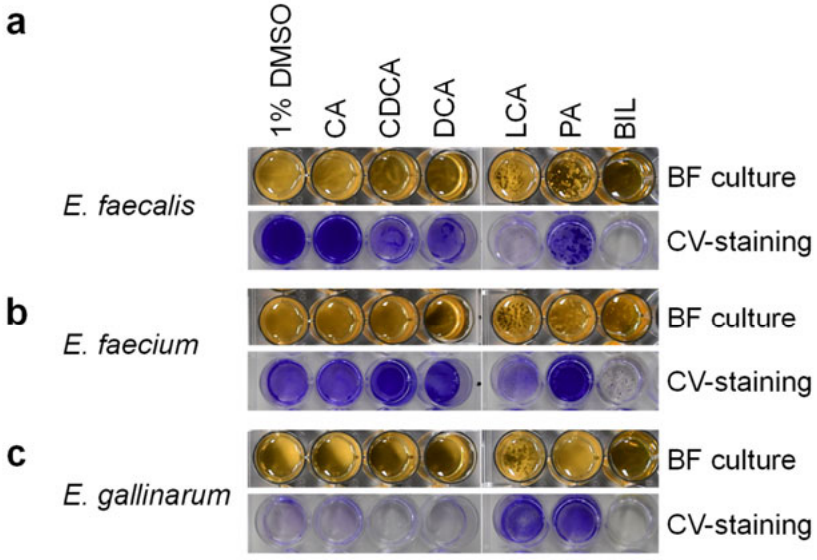


図2. 閉塞胆管ステントから分離された腸球菌のバイオフィルム形成に与える胆管内容物の影響.

4. 研究の反省・考察

本研究により、胆管ステント内バイオフィルムにおける各菌種の三次元的局在を可視化するための技術基盤を構築することができた。一方で、バイオフィルム内部において細菌細胞ごとに蛍光標識 DNA プローブの染色性にばらつきが認められた。その原因については、技術的要因によ

るものか、あるいは単一細胞ごとの rRNA 量の違いを反映した生理学的差異によるものか、現時点では明らかではない。DAPI などの核酸染色試薬を用いた場合にも同様の染色ムラが観察されることから、後者の可能性を考えているが、今後さらに慎重な検討が必要である。

また、胆汁酸やパルミチン酸による腸球菌の凝集形成誘導が確認されたものの、その分子機構については未解明である。今後は、申請者らが開発した菌体外マトリクス解析法（Chiba, Sugimoto et al., Microb. Biotechnol. 2015）や遺伝子発現解析を組み合わせることで、本現象の分子機序の解明を進める必要がある。

さらに、本研究では、閉塞胆管ステントから高頻度に分離された腸球菌に着目して解析を行ったが、今後は腸球菌以外の分離菌についても、FISH 法による特異的検出法の確立およびバイオフィルム形成能の評価を進める必要がある。

5. 研究発表

(1)学会誌等

①なし

(2)口頭発表

①杉本 真也，高泉　優，古橋 広人，一志 公夫，加藤 正之，炭山 和毅，〇金城 雄樹．閉塞胆管ステント由来腸球菌のバイオフィルム形成能の解析．第55回レンサ球菌研究会．2025年6月．東京．

(3)出版物

①なし

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

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 －UFM1システムの包括的研究－	研 究 分 野	医　　学
キ ー ワ ー ド	①UFM1システム　②小胞体　③遺伝性小児脳症　④ER-RQC　⑤ER-phagy		

○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　研　究　科	教　　授	研究統括、分子細胞生物学的解析、マウス遺伝学的解析

○研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
石　村　亮　輔	順天堂大学大学院 医　学　研　究　科	助　　教	生化学、分子細胞生物学的解析
稲　田　利　文	東京大学医科学研究所	教　　授	生化学、分子細胞生物学的解析
野　田　展　生	北　海　道　大　学 遺伝子病制御研究所	教　　授	構造生物学的解析、タンパク質物性解析

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 システムによる小胞体選択的オートファジー（ER-phagy）の制御機構（Ishimura et al., Nature Communications 2022）および小胞体リボソーム品質管理（ER-RQC）の分子機構（Ishimura et al., Science Advances 2023）を明らかにしてきた。また、その成果を総括し、UFM1 システムの分子基盤と生理的意義を概説した総説を発表した（Komatsu et al., Molecular Cell Review)。一方で、小胞体膜上に局在する UFM1 システムが、多様な小胞体機能をどのような分子機構で制御しているのか、さらにその破綻が遺伝性小児脳症の発症へどのようにつながるのかについては、ほとんど明らかになっていない。　本研究では、以下の 3 点を目的とする。

- 構造レベルでの作用機序の解明　AlphaFold3（AF3）による構造予測とクライオ電子顕微鏡解析を融合し、UFM1 化・脱 UFM1 化反応の分子作動原理を明らかにするとともに、小胞体膜上での UFM1 システムの機能基盤を解明する。
- 個体レベルでの生理機能の解明　作製済みおよび新たに作製する遺伝子改変マウスを用い、UFM1 システムが個体発生や神経系をはじめとする組織恒常性維持に果たす生理的役割を明らかにする。
- 疾患モデルを用いた病態機構の解明　遺伝性小児脳症患者由来 iPS 細胞から分化誘導した神経細胞を用いて、UFM1 システム遺伝子変異が小胞体機能異常および神経細胞障害を引き起こす分子機構を解明する。

本研究により、UFM1 システムによる小胞体機能制御の分子基盤から個体生理、さらには疾患発症機構までを一貫して理解することが可能となる。得られる成果は、基礎医学のみならず、臨床遺伝学、神経学、小児神経学などの臨床医学分野にも新たな知見を提供し、UFM1 関連疾患の病態理解や治療戦略の構築につながることが期待される。

2. 研究の計画

1. 分子機構の解明
   UFSP2-ODR4 脱 UFM1 化複合体および UFM1　E3 リガーゼ複合体と脱 UFM1 化複合体との相互作用を解析し、RPL26 の UFM1 化・脱 UFM1 化サイクルの分子機構を、構造予測および生化学的解析により解明する。
2. 個体レベルでの機能解析
   作製済みの条件付き不活性型 *Ufsp2* ノックインマウスを用いて表現型を詳細に解析し、UFM1 システムが組織および個体レベルで担う生理機能を明らかにする。
3. 疾患関連変異の機能解析
   新たに同定した小児脳症患者由来の UFM1 E2 酵素（UFC1）遺伝子変異の機能を解析するとともに、患者皮膚由来 iPS 細胞から分化誘導した神経細胞を用いて、小胞体リボソーム品質管理（ER-RQC）に及ぼす影響を明らかにする。

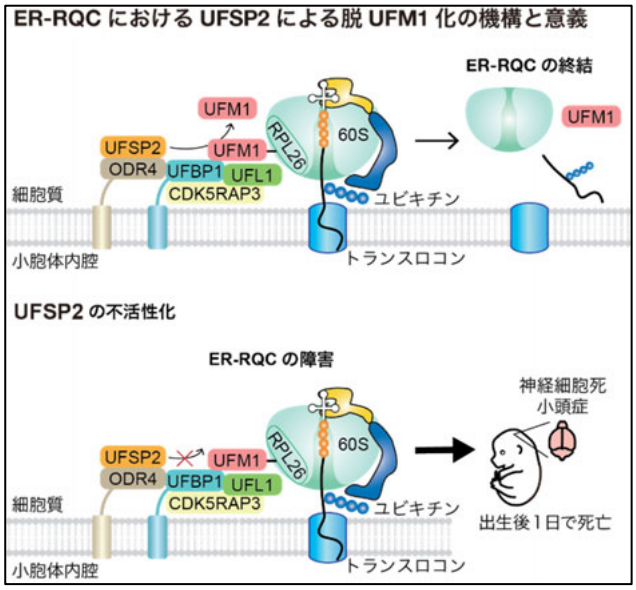
3. 研究の成果

AlphaFold3 による構造予測を基に、脱 UFM1 化酵素 UFSP2 が ER 膜タンパク質 ODR4 と複合体を形成することで RPL26 を脱 UFM1 化し、ER-RQC の終結に機能することを明らかにした。さらに、ODR4 が UFBP1 と結合することで、巨大な E3 リガーゼ-脱 UFM1 化酵素複合体が形成されること、そしてこの複合体形成が ER-RQC に重要であることを見出した。これらの結果から、UFM1 E3 リガーゼ複合体が Writer、Reader、Eraser の役割を果たし、RPL26 への UFM1 付加、認識、除去を ER 膜上で協調的に制御していることが示唆された。

次に、脱 UFM1 化の生理的意義を明らかにするため、*in vivo* で UFSP2 の機能を抑制した。*UFSP2* 遺伝子を欠損させると E3 リガーゼ-脱 UFM1 化酵素複合体の不安定性を引き起こす可能性が考えられたため、FLEx 技術を用いて、酵素活性を失った UFSP2 を神経細胞特異的に発現するコンディショナルノックインマウスを作製した。その結果、脳内での UFM1 化 RPL26 の蓄積、神経細胞死、小頭症、および周産期致死が生じることを明らかにした。これらの表現型は UFM1 化不全マウスでも認められることから、UFM1 化と脱 UFM1 化の両方が神経発生に重要であることが示された。

この結果より、過剰な UFM1 化が神経発生異常につながることが示唆される。実際に、重篤な神経発達障害を示す患者において、E2 酵素 *UFC1* 遺伝子の変異が同定され、この変異が UFC1 と E3 複合体構成因子 UFL1 との結合を増強することで、RPL26 の UFM1 化を亢進していることを明らかにした。

以上の結果より、脱 UFM1 化が ER-RQC の終結および神経細胞におけるプロテオスタシス維持に必須であることが示された（右図）。



4. 研究の反省・考察

本研究により、UFM1 システムが ER-RQC の終結と神経細胞におけるプロテオスタシス維持に果たす重要な役割を明らかにすることができた。一方で、UFM1 化・脱 UFM1 化反応が小胞体膜上でどのような立体構造に基づいて制御されているのか、また ER-RQC において実際にどのような新生ポリペプチドが標的となるのかについては、さらなる解明が必要である。現在、UFM1 E3 リガーゼ複合体、60S リボソームおよび UFSP2-ODR4 複合体からなる超分子複合体の構造解析を、AlphaFold3 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て進めている。本解析により、RPL26 への UFM1 付加・除去が協調的に制御される分子基盤を原子レベルで明らかにすることが期待される。また、UFM1 化の生理的意義を直接検証するため、条件付き RPL26 K134R ノックインマウスの作製・解析を進めている。さらに、UFM1 依存的 ER-RQC によって認識・分解される特異的な新生停止ポリペプチド（nascent arrested peptides）の網羅的同定を進め、その配列的・構造的特徴を明らかにすることで、UFM1 システムがどのような翻訳異常産物を選択的に品質管理しているのかを解明したい。これらの研究により、UFM1 システムによる小胞体ホメオスタシス制御の分子基盤を、構造、生理機能、基質認識の三つの観点から統合的に理解し、遺伝性脳症をはじめとする UFM1 関連疾患の病態解明へとつなげたい。

5. 研究発表

(1)学会誌等

① Komatsu M, Noda NN, Inada T. The mechanistic basis and cellular functions of UFMylation. Nat Rev Mol Cell Biol. 2026 Jan 9. doi: 10.1038/s41580-025-00944-y.

② Yuen M, Zhang K, Marchant RG, Ishimura R, Graham M, Aung-Htut M, Bryen S, Rius R, Marshall L, Aryamanesh N, Dziaduch G, Joshi H, Wilton SD, Wilson M, Gear R, Doyle H, Krivanek M, Leventer RJ, White SM, Sandaradura SA, Komatsu M, Evesson FJ, Cooper ST. A Severe Neurodevelopmental Syndrome linked to biallelic variants in UFMylation adaptor CDK5RAP3. Acta Neuropathologica. 151, article number 48. https://doi.org/10.1007/s00401-026-03017-2 (2026)

Mao G, Ito S, Ishimura R, Sakamaki J-i, Sasaki R, Uemura T, Ishikawa K-i, Komatsu-Hirota S, Akamatsu W, Abe M, Waguri S, Bijarnia-Mahay S, Noda NN, Inada T, Komatsu M. The UFSP2-ODR4 complex spatially confines and dynamically controls UFM1 deconjugation to safeguard neuronal proteostasis. Mol Cell 2026 https://doi.org/10.1016/j.molcel.2026.06.026

(2)口頭発表

①小松雅明, UFMylationの分子機構、細胞機能と病態生理. 第61回インスリン研究会 経団連会館2F「国際会議場」東京

(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

2025年度（第50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		

〇研究代表者

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

〇研究分担者

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	大谷大学社会学部	教　　授	文献学的研究・評価
友　田　博　通	昭　和　女　子　大　学	名誉教授	データ分析、メタバース化
U.エルデネバト	モンゴル国立大学科学カレッジ	教　　授	発掘調査
J.オランゴア	モンゴル国立大学科学カレッジ	教　　授	アーカイブ構築
Ch.アマルビレグ	モンゴル国立大学科学カレッジ	非常勤講師	実践、データ分析
A.ゾルジャルガル	モンゴル国立大学科学カレッジ	助　　教	実践、発掘調査
B.ダシドルジ	モンゴル国立大学科学カレッジ	研　究　員	実践、発掘調査
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
烏　　敦	内モンゴル師範大学地理科学学院	教　　授	歴史学・考古学データのGIS化
李　　哲	内モンゴル大学民族学と社会学学院	准教授・副学院長	衛星リモートセンシングの解析
黒　　龍	大連民族大学民族史研究所	教授・所長	歴史学的研究

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－

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

プロジェクトの中盤、すなわち 2025 年度には、研究代表者と研究分担者が、ひきつづき上記の四つの基本コンセプトにもとづき、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・社会的・民俗的景観を明らかにし、その復元と保護につとめる。

具体的には、資料調査を実施するほか、ドグシヒーン・バルガス遺跡及びその周辺の関連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もとに総合的に分析する（主として研究代表者ボルジギン・フスレ、研究分担者の U.エルデネバト、B.ダシドルジ、烏敦、李哲、A.ゾルジャルガルが担当）。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（主として研究分担者の二木、J.オランゴアが担当）。同時に海のシルクロード・ホイアンの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いかし、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（主として研究分担者の友田、Ch.アマルビレグが担当）。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（主として研究分担者の松川、黒龍が担当）。

さらに、在モンゴル日本大使館等の協力を得て、ウランバートルで国際シンポジウム「21 世紀のシルクロード研究――モンゴルからのアプローチ」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）、『日本モンゴル学会紀要』No.55（2026 年 3 月）に収録する予定である。

3. 研究の成果

2025 年度に、研究代表者はひきつづき研究目的に沿って、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、2025 年 8 月 17 日から同月 27 日までウムヌゴビ県ツォグトオボー郡のボル・テーグ村にあるドグシヒーン・バルガス遺跡で発掘調査を行ったほか、同遺跡の近くのテールミーン・トルゴイとフフトルゴイン・ヘレム遺跡で考古学探査を行い、重要なデータを収集できた。また内モンゴル大学リモートセンシング考古実験室とデジタル遺産実験室の調査チームがドグシヒーン・バルガス遺跡に対するドローン・リモートセンシング調査を行った。このほか、研究代表者は、シルクロードの重要な町である中国の内モンゴル自治区トクトフ県の城圀圖（モンゴルのシルクロード遺跡、中国国家文化財)、ホリンゲル県の古城子（モンゴルのシルクロード遺跡）等で現地調査をおこない、重要な資料を収集した。さらに、2025 年 9 月 1 日にウランバートルで国際シンポジウム「21 世紀のシルクロード研究――モンゴルからのアプローチ」を開催し、日本とモンゴル、中国の研究者 22 名（共同発表も含む）により、12 本の報告がなされた。国内外 100 名余りの研究者や大学生、大学院生等が参加し、反響は非常に大きかった。同シンポジウムについての記事が、現地の『ソヨンボ』紙や『オラーン・オドホン』紙に掲載されたほか、TV9、Zogii.mn でも報道され、渥美国際交流財団のかわらばん、モンゴル国立大学等のホームページにも紹介された。本シンポジウムの成果をまとめた論文集は 2026 年 3 月に刊行された。また、『日本モンゴル学会紀要』第 56 号（2026 年 5 月）は同シンポジウムについて紹介した。

以下の知見を得た。

第一に、ドグシヒーン・バルガス遺跡では、計 4 か所で試験的発掘を行い、貯蔵用大型陶器が含む陶磁器や土器、鉄器、銅器の破片、装飾品、唐、宋、金、西夏等の時代の貨幣などが多数発見された。また同遺構における居住区では数多くの大小の建築とその中央を走る大通り、冬季・夏季を問わず人が住むことのできる火炕を備えた建物、農作業用の設備や区画が確認された。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、モンゴル帝国時代のものであることを示している。

第二に、ドローン・リモートセンシング調査では、ドグシヒーン・バルガス城址及び周辺の景観を対象に、約 1.65 平方km（南北 1.1km、東西 1.5km）に及ぶ範囲で 1920 枚の航空測量画像と約 2 億 600 点のレーザー点群データを獲得するとともに正射画像（DOM)、数値標高モデル（DEM)、3D モデル及び点群データを作成した。ドグシヒーン・バルガス城址は初めて系統的にして精密なデジタル化記録を獲得し、同遺跡の空間形態と配置の特徴を知るための信頼できる基礎的データが提供された。これらのデータに対する分析の結果は、地表の遺構の保存状況が良好ではなく、微地形起伏もはっきりしない環境において、高解像度正射画像が壁体の痕跡、構造と堆積差異等を識別する点において明らかな優位性を有していること、レーザーレーダーが地物の除去と地形背景の表現の点で必要となる補完を提供したことを明示した。二種のデータの総合的分析によって遺跡の地表構造の特徴が完全に表現されるとともに、さらに城址の場所選択と地形条件との緊密な関係も提示した。調査結果は、遺跡が比較的高くかつ地形の安定した台地と緩やかな斜面の区域に多く分布し、典型的な地形適応の策略を体現しており、モンゴル南部地域の都市システム、集落の構造及びその社会組織を理解するのに一定の意義を有することを示した。

第三に、ドグシヒーン・バルガスは、モンゴル帝国とその後の時代にカラコルムへキャラバンが往来する通商路の要衝の一つであったと考えられる。キャラバンは、モンゴル帝国期以降も長期間、ドグシヒーン・バルガスを使用していたとみなしてよい。

4. 研究の反省・考察

2025 年度のドローン・リモートセンシング調査によって、ドグシヒーン・バルガス遺構の築造年代と繁栄年代ならびに役割と用途に関する学術的原資料を整備できた。しかし、地表の遺構の保存状況が良好ではなく、城の壁体がほぼ消失しており、微地形起伏もはっきりしない環境において、出土した遺物の分類、文様・形態特徴の抽出、城郭の空間構成、建築配置の実態解明を行うには、克服すべき課題が多く残されている。

これから、発掘調査で出土した陶磁器、土器、銀製品、銅器、鉄製品、鉄素材片、石器、骨

器、煉瓦、装飾品、馬具、車輌の部材、貨幣等について、画像・寸法・材質・文様・出土位置等のデータベースを構築する必要がある。

また、現在では壁体がほぼ消失している城郭について、地理情報システム（GIS）、ドローン・リモートセンシング測量データ、発掘の成果、既成研究を統合し、考古学・歴史学・文化遺産学という学際的研究によって、城郭及び内部の石積みの整った基礎をもつ建築遺構、居住空間に隣接した家畜管理や乳製品加工のための附属施設、井戸及び水路などから構成される城郭及び建築物、空間構造の復元モデルを構築する。

これらの内容の検討を進めるためには、さらに長期間の取り組みと、多数の裏付け資料の収集・研究が必要であることは言うまでもない。

5. 研究発表

(1)学会誌等

①U.エルデネバト、ボルジギン・フスレ、B.ダシドルジ、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2025年度現地調査隊報告」（『モンゴルと東北アジア研究』Vol.11、pp.3-50、2026年3月）

②У.Эрдэнэбат, Боржигин Хүсэл,Б.Дашдорж,Ж.Урангуа. “МУИС, Японы Шова Эмэгтэйчүүдийн Их Сургууль 2025 онд Дугшихын балгасанд ажилласан Археологийн шинжилгээний үр дүнгээс”, *Монголын археологи-2025*, 226-232, 2025.(U.Erdenebat, Husel Borjigin, B.Dashdorj, 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 (2025)”. *Mongolian Archaeology 2025*, 226-232, 2025.)

③李哲、白満達「モンゴル国ドグシヒーン・バルガス城址のドローン・リモートセンシング考古探査」（『モンゴルと東北アジア研究』Vol.11、pp.51-64、2026年3月）

④烏敦、劉雨婷「CNKI掲載文献に基づく近十年（2015～2024年）における集寧路古城遺跡研究の進展」（『モンゴルと東北アジア研究』Vol.11、pp.81-86、2026年3月）

(2)口頭発表

①ボルジギン・フスレ「ドグシヒーン・バルガスに関する文献研究」（第18回ウランバートル国際シンポジウム「21世紀のシルクロード研究――モンゴルからのアプローチ」、ウランバートル、2025年9月1日）

②U.Erdenebat, Husel, B. Dashdorj, “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 (2025)”, (Organizers: Department of International Studies, Faculty of International Humanities, Showa Women's University, Sekiguchi Global Research Association (SGRA), Atsumi International Foundation, Department of History, School of Arts and Sciences, National University of Mongolia), Ulaanbaatar, Mongolia, 1th September, 2025.

③Hiroshi Futaki, “The Dzungarian Gate, ruled by the Oyirads in the 17th and 18th centuries : a Key Point on the Silk Road”, The 18th International Symposium in Ulaanbaatar “Silk Road Studies in the 21st Century: Mongolian Approaches”, Ulaanbaatar, 1th September, 2025

④J. Urangua, “Oral History of the Ruins of Dugshikhyn Balgas”, The 18th International Symposium in Ulaanbaatar “Silk Road Studies in the 21st Century: Mongolian Approaches”, Ulaanbaatar, 1th September, 2025

⑤Li Zhe, Bai Manda, “Archaeological Survey of the Dugshikhyn Balgas Site in Mongolia via UAV Remote Sensing”, Ulaanbaatar, 1th September, 2025

⑥Wudun, Liu Yuting, “Research Progress on Jining Road Ancient City Site in the Past Decade (2015-2024) Based on CNKI”, Ulaanbaatar, 1th September, 2025

⑦U.Erdenebat, Husel. Borjigin, et al., “Archaeological Research Report on the Work Conducted at Dugshikhyn Balgas in 2025”, The 2025 Mongolian Archaeology

Academic Conference, 20-21th, December, 2025

(3)出版物

なし

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

学　校　名	**成　　蹊　　大　　学**	研究所名等	
研 究 課 題	がんを兵糧攻めにするネオ糖タンパク質の創成 －糖鎖修飾VEGFの新規合成と機能解明－	研 究 分 野	理　　学 （理 工 系）
キーワード	①糖タンパク質、②糖鎖、③化学合成、④がん、⑤VEGF、⑥抗がん剤、⑦たんぱく質間相互作用、⑧阻害剤		

○研究代表者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
岡　　本　　亮	成蹊大学理工学部 理　　工　　学　　科	准　教　授	研究代表 統括 実験・論文作成

○研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
戸 谷　希 一 郎	成蹊大学理工学部 理　　工　　学　　科	教　　授	実験・論文作成

がんを兵糧攻めにするネオ糖タンパク質の創成
－糖鎖修飾 VEGF の新規合成と機能解明－

1. 研究の目的

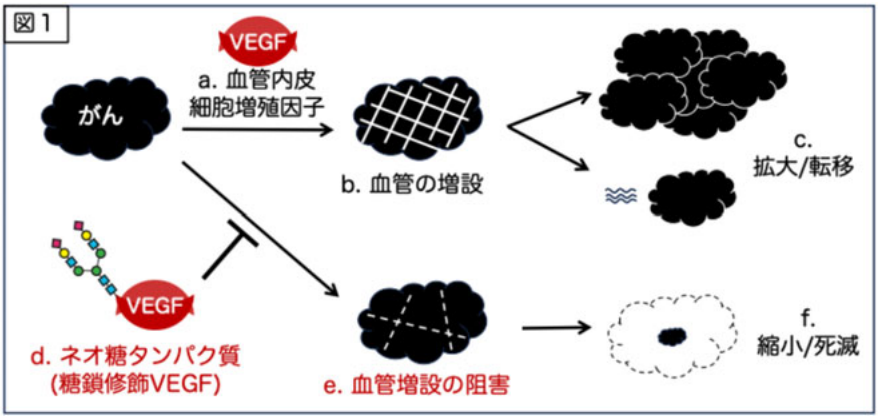
本研究では、がんに栄養を供給するための血管増設を促すシグナルタンパク質「VEGF」に対して、ヒトの体内にある天然の分子である「糖鎖」で修飾することで機能を逆転させ、血管の増設を阻害できる新しい分子の設計と合成、そして活性評価を行う。これにより、がんへの栄養供給を遮断し兵糧攻めにする新しい糖タンパク質型分子の創成を目指す。

血管内皮細胞増殖因子 VEGF は、VEGF 受容体と結合することで血管の増設を促すシグナルタンパク質である(図 1，a，b)。がんは自らの異常成長に必要なエネルギーの獲得のために、VEGF を放出し周辺での血管の増設を促す。VEGF は血管内皮細胞上の VEGF 受容体と結合し、二量体化させることで増殖シグナルを細胞に伝達する。このシグナルにより血管が増設されると、がんは栄養を得て拡大するとともに、新しい血管を通って他の部位へと転移してしまう(図 1，c)。この機構を逆手にとって血管の増設を阻害できれば、がんを兵糧攻めにし、がんの死滅や転移阻害が期待できる。

近年、がんによる血管の増設を阻害するために、VEGF と VEGF 受容体の相互作用を阻害し、シグナル伝達を遮断する分子の開発が行われている。従来創薬利用されてきた低分子の有機化合物では、VEGF のようなシグナルを伝達するタンパク質と、その受容体の広い相互作用面を十分に阻害できない。この問題に対し近年、生体高分子である抗体が広く利用されており、VEGF についても、受容体との結合を阻害する抗体医薬が抗がん剤として開発された。一方で抗体医薬は極めて薬価が高く、利用可能な患者に制限がかかるだけでなく、高齢化が進む現代では医療保険システムを破綻させかねない状況となっている。しかし未だ、抗体に替わってタンパク質と受容体の相互作用を強力に阻害できる分子の開発は途上にある。

本研究では、VEGF を糖鎖で修飾することで、血管の増設を阻害するという天然の VEGF とは逆転した新しい機能をもつ、ネオ糖タンパク質の創成を行う(図 1，d，e，f)。糖鎖は、生体内においてタンパク質修飾に利用される天然由来の生体高分子であり、高い生体適合性を有することから、免疫原性や毒性が低い。研究代表者は、化学合成を基盤とした構造活性相関研究により、タンパク質製剤であるインスリンを糖鎖修飾することで、その凝集を抑制し、高度に安定化できることを明らかにした（*J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142*, 1164)。このような糖鎖の機能に着目し、化学合成によって適切に糖鎖修飾した VEGF を創製することで、天然の VEGF と VEGF 受容体との相互作用を阻害し、がん創薬への応用が期待される新しい糖タンパク質型分子を創成できるという着想に至った。

以上の背景のもと本研究では、糖鎖で修飾されたVEGFの新規化学合成法を確立し、得られた糖鎖修飾VEGFの活性評価を実施する。まず新規な糖鎖修飾反応を開発後、糖鎖修飾VEGFタンパク質の合成法を検討する。そして合成した糖鎖修飾型VEGFの活性評価をとおして、糖タンパク質型のVEGF-VEGF受容体相互作用阻害剤の創成を目指す。



2. 研究の計画

糖タンパク質型阻害剤のデザイン

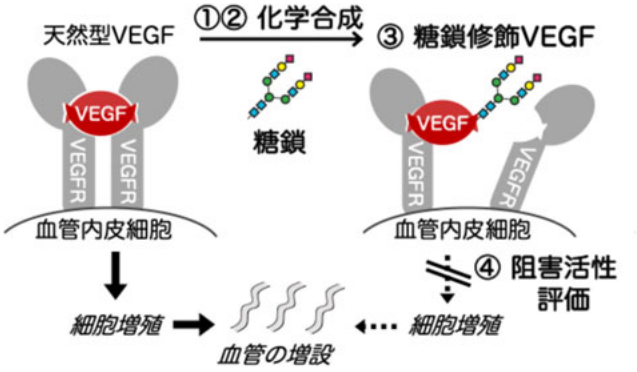
本研究では、VEGF の N 末端または C 末端を糖鎖で修飾することで、VEGF-VEGFR 相互作用を阻害する新規糖タンパク質の創出を目指した。VEGF は点対称に近いホモ二量体構造を形成し、各サブユニットの N 末端および C 末端は VEGFR 結合部位の近傍に位置している（*Structure*, **2017**, *25*, 341-352）。この構造的特徴に着目し、末端にオリゴ糖を導入して立体障害を付与することで、VEGF の VEGFR への結合ならびに受容体二量体化を阻害する新しい分子デザインを考案した。

研究計画

本研究では、位置選択的に糖鎖修飾した新規 VEGF の合成法を確立するとともに、その機能評価を行うことを目的とする。この目的を達成するため、以下の 4 項目について、3 年間の研究計画を立案した。

①簡便なペプチド末端糖鎖修飾反応の開発
②ワンポット法による VEGF 合成法の確立
③糖鎖修飾 VEGF の合成
④細胞増殖阻害活性評価と構造活性相関解析

2025 年度は①と②の検討をおこなった。



3. 研究の成果

①簡便なペプチド末端糖鎖修飾反応の開発

（進捗結果：おおよそ期待通り、またはそれ以上の結果を得られた）

N 末端選択的糖修飾法の開発

ペプチド N 末端を位置選択的に糖修飾する手法として、N 末端 Cys 残基を標的とした糖修飾反応を開発した。Cys 残基はアルデヒドと反応して環状中間体を形成することから、通常は反応性の低い糖のアノマー位アルデヒド基との反応が可能になれば、ペプチドおよびタンパク質の N 末端 Cys 残基を位置選択的に糖修飾できると考えた。そこで、既報のオキシムライゲーション（*Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 7581-7584）を参考に、アミン触媒によるイミン形成を利用した糖アルデヒドの活性化を検討した。その結果、N 末端に Cys 残基をペプチドやタンパク質の位置選択的が糖修飾反応が効率よく進行することを見出した。さらに基質適用範囲を検討したところ、単糖のみならず、11 糖からなるオリゴ糖に対しても本反応が適用可能であることを明らかにした（学術論文準備中）。

C 末端選択的糖修飾法の開発

上述のN末端Cys残基選択的糖修飾反応と同様の発想に基づき、ペプチドやタンパク質のC末端ヒドラジド基を、ヒドラゾン結合を介して糖修飾する糖修飾反応を見出した。化学合成によりC末端ヒドラジドを有するペプチドおよびタンパク質の合成が可能である。このヒドラジド基を糖修飾の標的とし、アミン触媒によるイミン形成を利用した糖アルデヒドの活性化を検討した。その結果、種々の糖を用いて、ペプチドC末端ヒドラジド基を位置選択的に糖修飾できることを見出した。

② ワンポット法によるVEGF合成法の確立

（進捗結果：おおよそ期待通り、またはそれ以上の結果を得られた）

標的とした VEGF は、97 アミノ酸残基からなるポリペプチドを単量体とするタンパク質である。Fmoc 固相合成法により合成を検討した結果、N 末端側 44 残基および C 末端側 53 残基からなるペプチドヒドラジドを、それぞれ良好な純度で合成できることを見出した。今後は、これらの断片を用い、ワンポットでのペプチド連結反応およびフォールディング反応の検討を進め、全長 VEGF の化学合成を目指す予定である。

4. 研究の反省・考察

本研究では、糖修飾型 VEGF の合成の鍵となる、N 末端 Cys 残基および C 末端ヒドラジド基の双方に対する位置選択的糖修飾法を確立した。本手法の最大の特徴は、保護基を必要とせず、遊離のペプチドと還元糖を直接反応させるだけで、ペプチド末端選択的な糖修飾を実現できる点にある。糖ペプチドは創薬分野において重要な分子群であり、本研究で標的とする VEGF のみならず、多様な糖ペプチドの迅速な合成基盤として幅広い応用が期待される。今後は、本手法を血管新生に関与する他のタンパク質にも展開し、糖修飾を利用した新たな阻害剤の開発も試みる予定である。

また、VEGF の化学合成については、全長合成の原料となる長鎖ペプチド断片の合成を完了した。一般に、Fmoc 固相ペプチド合成法では 50 残基程度のポリペプチドを高純度で合成することは容易ではない。そのため、100 残基を超えるポリペプチドの化学合成では、30 残基程度の短いペプチド断片を複数調製し、段階的なペプチド連結反応によって全長を構築する手法が一般的である。これを踏まえ、本研究でも申請者らが確立したワンポット法（*Chem. Comm.* **2023**, *59*, 13510）を基盤とし、3 つのペプチド断片を用いた VEGF 全長合成を計画していた。しかし、合成条件を最適化した結果、VEGF を構成する 44 残基および 53 残基からなる長鎖ペプチド断片を十分な純度で調製できることを見出した。これにより、全長 VEGF をわずか 2 つのペプチド断片から構築できる見通しが得られ、当初計画よりも合成工程の大幅な簡略化が期待される。

5. 研究発表

(1) 学会誌等

なし（2026年度、研究継続中）

(2) 口頭発表

眞木準平, 岡本亮. 無保護ペプチドの糖鎖修飾を志向した *N,S*-グリコシル化反応の開発. 第 44 回日本糖質学会年会, 弘前, 2025 年 10 月.

(3) 出版物

なし（2026年度、研究継続中）

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

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0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』		

〇研究代表者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
小　澤　正　人	成城大学文芸学部 成城大学民俗学研究所	教　　授 主　　事	総括

〇研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
及　川　祥　平	成城大学文芸学部 成城大学民俗学研究所	准　教　授 所　　員	山村調査
川　田　牧　人	成城大学文芸学部 成城大学民俗学研究所	教　　授 所　　員	海村・離島調査
小　島　孝　夫	成城大学文芸学部 成城大学民俗学研究所	教　　授 所　　長	海村・離島調査
俵　木　悟	成城大学文芸学部 成城大学民俗学研究所	教　　授 所　　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(併任)	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(併任)	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
－新たなるＯポイントの構築に向けて－

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「Ｏ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る「Ｏ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、民俗学の今日的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)2025 年度の計画

①山村調査班の活動

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

鹿児島県奄美市、東京都青ヶ島村・八丈町、愛媛県上島町での調査。

(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

報告書の作成にむけ、前年度に引き続き岡山県新見市、島根県奥出雲町での調査を実施し、あわせて、前年度実施できなかった福島県昭和村の調査を実施し、自治等をめぐる状況を把握した。

②海村・離島調査班

報告書の作成にむけ、過去２年度に引き続き鹿児島県奄美市、東京都青ヶ島村での調査を実施し、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。また、新規に愛媛県上島町での調査を実施した。

(2)新たな調査地の検討

前々年度調査から、既往の調査地のみならず、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。これを通して調査地を広域の文化・社会状況のもとで把捉するすべを模索した。

(3)調査成果の整理

アルバイトスタッフにより上記調査の成果と山村・海村・離島調査およびそれらの追跡調査の成果が統合され、各調査地における調査時期別のデータ照合が可能となった。「持続可能な長期的定点調査の基礎を構築する」ことを目指す本研究課題において、統合されたデータは、地域文化・社会状況の変遷や生活変容を明らかにする重要な成果物となっている。

4. 研究の反省・考察

(1)2025 年度の反省

①調査者拡充の必要

前年度の実績報告書でも述べたように、引き続き調査効率が課題として存在することを痛感している。前年度の実績報告書では「「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」と述べた。今年度は福島県昭和村においてそのような調査を試みたが、大学の設ける出張規程等が大学院生の起用に差し障り、十分とはいえなかった。他方、本学の大学院生は層が厚く、年々人材が重厚化している。いずれ、院生を主要なプレイヤーとするプロジェクトを構想する余地がある。

②インテンシブな調査の必要

前年度の実績報告書でも述べたように、本年度は「個々の地域により深く入り込む調査」を重視したが、民俗調査の精度・深度という点では十分ではない。「０ポイント」構築後の課題として、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)2025 年度調査成果からの考察

①組織化の必要

組織化の必要性は前年度に引き続き痛感される。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。本年度はリサーチアシスタントを雇用し、組織面の改良を試み、これが非常に功を奏した。ただし、上記のように、規程面でプレイヤーとしては調査にあたってもらえなかったことが残念であった。博士後期課程の院生は一人前の研究者／調査者とみなし得る。各種の権限を整備するなど、大学院生をプレイヤーとして駆動させることが、この種のプロジェクトにおいては必須となるだろう。また、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、引き続き検討する必要がある。

②連携体制の必要

本年度も研究分担者に公立博物館の学芸員が加わったが、昭和村での調査を除けば、本務との兼ね合いで、そのような属性を活かした調査は十分に実施しえなかった。学芸員を本研究所のプロジェクトメンバーに組み入れるというかたちではなく、組織同士の連携・協働というかたちでのコラボレーションとして構想することで、この点の問題は解決されるだろう。連携協定事業を立ち上げるなど、研究所をあげたプロジェクトとして構想すべきものと考える。また、研究所内に、そのような連携事業に専従するスタッフを配備することも検討されるべきと考える。

5. 研究発表

(1)学会誌等

なし

(2)口頭発表

①荒井浩幸「令和の「山村調査」報告―平成の大合併後の新見市、奥出雲町の民俗―」（成城大学民俗学研究所所員研究例会、2025 年 7 月 10 日、成城大学 2 号館大会議室）

(3)出版物

①研究成果報告書（2027 年 3 月刊行予定）

2025年度（第50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		

〇研究代表者

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）

〇研究分担者

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	客員教授	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	国　立　環　境　研　究　所 地　域　環　境　保　全　領　域	JSPS特別研究員	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	埼　玉　県　環　境　科　学 国　際　セ　ン　タ　ー	研 究 所 長	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。

(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金属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金属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。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。加えて、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、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。

初年度の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。27種の土壌抽出液を作成し、土壌抽出液中の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、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培養に適した条件を検討した。最終年度の2025年度は、多変量解析による成長促進因子の推定を行い、その推定された因子による増殖促進効果を検証した。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をバブルカラムリアクターで評価した。

2. 研究の計画

(1)増殖促進効果のある成分の推定

本年度は、土壌抽出液の類似性評価および増殖促進に寄与する成分を推定するため、クラスター分析および重回帰分析を行った。分析には、培地に含まれる土壌抽出液由来のUV254値（芳香族性有機物の指標）、栄養塩濃度、および微量金属濃度のデータセットを用いた。微細藻類の増殖指標として、各土壌抽出液添加区における最大比増殖速度および最大吸光度を用いた。クラスター分析と重回帰分析には、それぞれ Primer 7 with PERMANOVA+とRを使用した。

(2)成長促進因子による増殖促進効果の検証

重回帰分析によって推定された成長促進因子による増殖促進効果を検証するため、培養実験を行った。土壌抽出液の添加では、特定成分のみの濃度調整が困難であるため、抽出液由来のDOM（UV254値基準）、栄養塩、および金属を、標準腐植物質（Humic substances: HS）と化学試薬を用いて模擬した。標準腐植物質は、国際腐植学会からフルボ酸とフミン酸を入手し、1:1(v/v)で混合した。基準となる土壌抽出液添加区は、過去の培養実験において最も高い最大比増殖速度の促進効果を示した微細藻類種と土壌抽出液の組み合わせとした（*Oocystis heteromucosa*: 黄色土121℃加熱・5時間再加熱、赤色土121℃加熱・1時間再加熱）。各成分の添加量は、培地中の抽出液由来の各成分濃度と同等となるように調整した。Conway培地のみの対象区(C)、従来の土壌抽出液(Soil extract: SE)添加区(C+SE)、土壌抽出液を標準腐植物質と化学試薬で模擬した区（C+All）、DOMは入れずに栄養塩と金属（Metals: M）を添加した区（C+M）、そして、推定された成長促進因子（マンガン、鉄）を入れずにDOM、栄養塩、その他の金属を添加した区(C+All-Mn, C+All-Fe)を設定した（図1）。培養は、有効容積30 mLの60 mL試験管を用いて、温度30℃、光強度300 µmol photons m^{-2} s^{-1}、12時間毎の明暗周期とした。

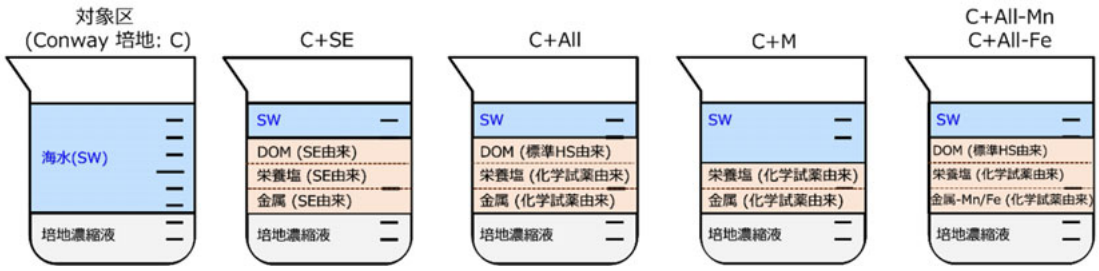


図1. 異なる由来のDOM，栄養塩，金属で構成された培地組成の模式図.

(3)バブルカラムリアクターでのスケールアップ試験

過去の培養実験において最大比増殖速度が最も向上した、*O. heteromucosa* と黄色土由来の抽出液（121℃ 加熱・5 時間再加熱）の組み合わせで、バブルカラムリアクターを用いてスケールアップ試験を行った。対象区には Conway 培地のみを用いて、条件区では土壌抽出液を溶存有機炭素（DOC）濃度が 10 mg/L となるように添加した。有効容積を 1.2 L とし、温度 30℃、光強度 300 µmol photons m^{-2} s^{-1}、連続通気で、12 時間毎の明暗周期とした。培養期間中は、二酸化炭素供給により pH が 8.3 以上とならないよう制御した。

3. 研究の成果

(1) 増殖促進効果のある成分の推定

これまでの研究で使用した 27 種の土壌抽出液の類似性を評価するため、クラスター分析を行った（図 2)。その結果、土壌分類学上では同じ沖縄土壌マージに分類される赤色土および黄色土は異なるグループに分類され、暗赤色土および黄色土の類似性が高いことが示された。土壌抽出液は、A. 25℃ 加熱の暗赤色土と黄色土、B. 高温（105℃、121℃）加熱の暗赤色土と黄色土、C. 121℃ 加熱の赤色土、D. 25℃、105℃ 加熱の赤色土、の 4 つのグループに分類された。赤色土および黄色土は、同じ母材に由来する土壌であり、鉄の含有量が高いことから同じマージに分類されている。しかし、本研究で作成した黄色土由来の土壌抽出液は、鉄以外にもマンガンや窒素含有量が高く、これは暗赤色土由来の抽出液と似た傾向であった。このことから、クラスター分析において黄色土は暗赤色土と類似性が高くなったと考えられる。過去の培養実験において、最大比増殖速度の促進効果が高かった抽出液は、主にグループ B と C に属した。これらのグループに属する抽出液添加条件下では、高温で抽出された微量金属が豊富に溶存していたことに加え、UV254 値も高かったことから、難培養性微細藻類種の増殖促進に寄与した成分は、高温下で抽出された微量金属や芳香族性有機物である可能性が示唆された。

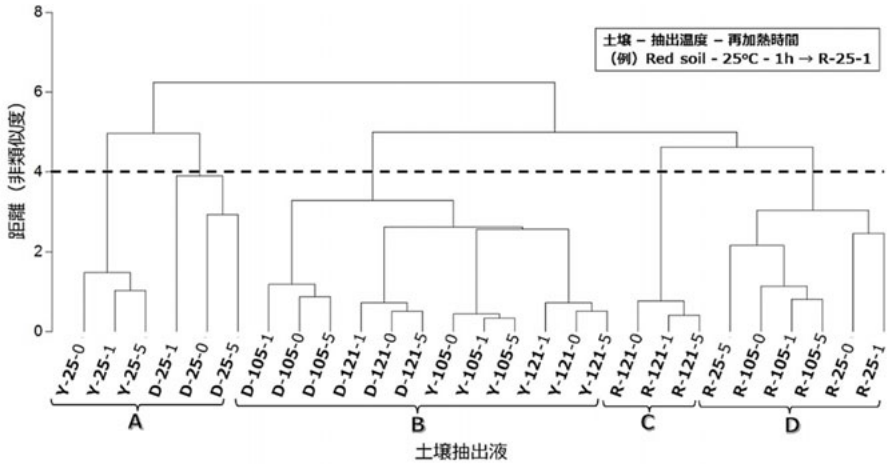


図 2. クラスター分析におけるデンドグラム．R は Red soil（赤色土），Y は Yellow soil（黄色土），D は Dark red soil（暗赤色土）を示す．抽出温度は，25℃，105 ℃，121 ℃，再加熱時間は 0 時間，1 時間，5 時間を示す．グループ A は、距離 4 において 2 つに分かれたが、ANOSIM（Analysis of Similarities）により、グループ間に有意な差が見られなかったため、同じグループとした．

続いて重回帰分析を行うことにより、増殖促進に貢献したと予想される成分を抽出した。*O. heteromucosa* と *O. marssonii* における、最大比増殖速度および最大吸光度の回帰式を求めた。その結果、*O. heteromucosa* と *O. marssonii* の最大比増殖速度の促進には、マンガンや鉄、リンが効果的である可能性が示唆された。これらの成分は、高温で加熱された黄色土および赤色土由来の抽出液添加区で高い濃度であり、そのような抽出液添加区では最大比増殖速度が無添加区と比較して 2 倍近く向上していた。これはクラスター分析の結果と一致しており、マンガンや鉄が比増殖速度の促進に寄与した可能性が高い。

(2) 成長促進因子による増殖促進効果の検証

土壌抽出液添加区（C+SE）が、土壌抽出液を標準腐植物質と化学試薬で模擬した区（C+All）やマンガンあるいは鉄を添加しなかった条件区（C+All-Mn, C+All-Fe）と比較し、最も高い増殖促進効果を示した（図 3）。DOM を添加しない全ての C+M において、土壌抽出液添加区と比較して最大比増殖速度が最大 69%低下したことから、土壌抽出液中の物理化学的に複雑な構造・性状の DOM が比増殖速度の促進に重要な因子であることが明らかとなった。さらに、黄色土または赤色土由来の抽出液模擬区（C+All）から、それぞれマンガンまたは鉄を除いた条件区（C+All-Mn, C+All-Fe）では、増殖促進効果が 16-22%低下したことから、重回帰分析で推定された因子（Mn、Fe）が難培養性微細藻類種の増殖促進効果をもたらしたことが示唆された。以上より、土壌抽出液中の DOM のキレート作用により形成されたマンガンおよび鉄との錯体が、最大比増殖速度を促進したと考えられた。

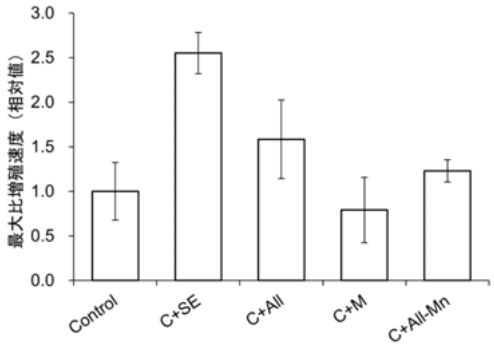


図3. 異なる培地組成における *O. heteromucosa* の最大比増殖速度（相対値）の変化.

(3) バブルカラムリアクターでの試験

大量培養に向けて60 mL試験管からスケールアップしたバブルカラムリアクターを用いて培養した。その結果、土壌抽出液添加区における最大比増殖速度および最大吸光度は、対象区と比較しそれぞれ1.2倍と1.1倍の向上を示した（図4）。60 mL試験管による培養実験では、同様の土壌抽出液を10 mg/Lで添加して無通気で培養したところ、最大比増殖速度は2.6倍向上した。一方、本実験のように連続通気で培養すると、土壌抽出液による増殖促進効果は50%以上低下した。

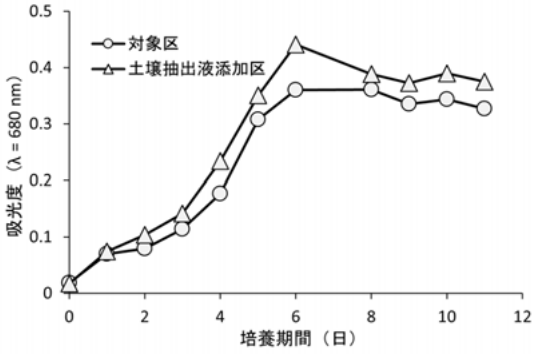


図4. バブルカラムリアクターで培養した際の *O. heteromucosa* の増殖曲線.

4. 研究の反省・考察

(1)重回帰分析により、これまで未解明であった土壌抽出液中の比増殖速度の促進因子を推定した。最大比増殖速度では主に、DOM のキレート作用により形成された微量金属との錯体による効果が認められた。一方、土壌抽出液中の DOM は一般的に腐植物質という難分解性有機物と認識されてきたが、DOM には易分解性有機物も一定量含まれていることから、今後は、易分解性画分の影響評価についても検討する必要がある。

(2)大量培養に向けたバブルカラムリアクターでの試験と試験管での実験の結果に、乖離のあった条件が複数認められた。例えば、試験管培養では土壌抽出液の添加によって最大比増殖速度が 2.6 倍向上したが、バブルカラムリアクターでは 1.2 倍の向上にとどまった。この結果を受けて試験管においてもバブリングを導入した追加試験を実施し、同様の結果を得た。したがって、バブリングによって増殖促進効果が抑制されると考えられた。DOM のエアレーションバブルへの表面吸着の可能性が推察され、土壌抽出液を添加した際の大量培養方法については攪拌方法ならびにリアクターの検討が必要である。

5. 研究発表

(1)学会誌等

① Afifudeen, Aziz, Toda, Takahashi, Effendy, Cha. 2025. Transcriptome-wide analysis of nitrate starvation in *Messastrum gracile*: Impact on nitrogen and carbon metabolism. *J. Appl. Phycol.*, 37(1), 303-321, https://doi.org/10.1007/s10811-024-03389-6.

② Chowdhary, Kishi, Toda. 2025. Cellular characteristics of *Chromochloris zofingiensis* in different nutritional modes. *Bull. Plank. Eco-Eng. Res.*, 5, 51-55.

③ Gu, Chowdhary, Sekine, Toda. 2025. Enhanced astaxanthin accumulation in the microalga *Haematococcus lacustris* in seawater through the combination of salinity, nitrogen starvation and high light. *Plankton and Benthos Res*, 20(4), 293-297, https://doi.org/10.3800/pbr.20.293.

④ Sewunet, Chowdhary, Xia, Sekine, Bhatia, Woldie, Toda. 2025. Optimizing ammonium supply strategies for mitigation of free ammonia inhibition in the mass cultivation of *Limnospira fusiformis*. *Biochem. Eng. J.*, 227, 110018, https://doi.org/10.1016/j.bej.2025.110018.

⑤ Fujii, Takayama, Tomatsu, Sano, Kishinami, Hirahara, Farahin, Harun, Yusoff, Syukri, Furuya, Toda. 2026. Pilot outdoor cultivation of a marine haptophyte *Tisochrysis lutea* using a novel floating photobioreactor driven by electric rotary motor. *Aquacul. Eng.*, 113, 102666, https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2025.102666.

⑥ Workie, Chowdhary, Sekine, Larry, Woldie, Kishi, Toda. 2026. Development of a low-cost real-time monitoring system for biomass concentration and environmental factors in microalgae *Limnospira fusiformis* cultivation. *Biopro. Biosys. Eng.*, 49, 47-57, https://doi.org/10.1007/s00449-025-03237-y.

⑦ Hashim, Komatsu, Sekine, Chowdhary, Yaacob, Toda. 2026. Linking Soil-Derived Dissolved Organic Matter from Malaysian Forests to Phytoplankton Growth: Insights from Fractionation and EEM-PARAFAC Analysis. *J. Appl. Phycol.*, 38, 1019-1036, https://doi.org/10.1007/s10811-026-03793-0.

(2)口頭発表

① Chowdhary, 林, 関根, 竹中, 山口, 戸田.成長の遅い微細藻類における土壌抽出物添加による増殖促進. 2025年日本ベントス学会・日本プランクトン学会 合同大会, 東北大学, 2025年9月9日～12日,

② 林, Chowdhary, 関根, 久保川, 戸田. 難培養性有用微細藻類 *Oocystella heteromucosa* および *Oocystis marina* の培養における土壌抽出液の増殖促進効果. 第60回水環境学会年会, 要旨集 p.312, 中央大学, 2026年3月9日～11日.

ほか国際学会1件（AlgalBBB）、国内学会3件（日本プランクトン学会・日本水環境学会）

(3)出版物

① 地球を救うグリーンテクノロジー
戸田 龍樹, 井田 旬一, 佐藤 伸二朗（編）2025. 第三文明社.

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

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		

〇研究代表者

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、分子生物学的解析

〇研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
大　塚　正　人	東海大学 医学部医学科	教　　授	実験動物作成、表現型解析
宮　沢　正　樹	東海大学 健康学部 健康マネジメント学科	准　教　授	生化学、分子生物学的評価

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

神経発達過程における化学物質曝露は、高次脳機能に不可逆的な障害を及ぼす懸念がある。しかし、次世代の学習能力に対する影響を、従来の実験動物モデルで精緻に評価することは困難であった。既存の汎用ラットでは個体間の学習能力差が大きく、化学物質曝露による影響と個体本来のばらつきを判別できないためである。すなわち、学習能力の変化を鋭敏かつ客観的に評価可能なモデル動物が不在であることが、本領域における主要な課題となっている。

申請者らが作出した「Tokai High Avoider（THA）ラット」は、高学習能力を有する個体を系統選抜することで得られた独自のモデルである。THA ラットは、生まれつき極めて高い学習能力を有し、かつ個体間のばらつきが極めて小さいという特性を持つ。この「遺伝的均質性」は、従来の課題を克服し、周産期曝露による神経毒性を鋭敏に検出することを可能にする。

本研究の目的は、THA ラットの特性をフル活用し、化学物質曝露が次世代の学習能力に及ぼす影響を高感度に捉える「次世代影響評価系」を開発することである。具体的には、THA ラットの高学習能力を規定する分子機構を解明し、それを指標とした次世代型評価プロトコールを確立する。併せて、本評価系を用いて次世代影響が懸念される化学物質の安全性を再評価し、学習機能の低下を早期に予測し得る血清バイオマーカーの特定を目指す。

2. 研究の計画

本年度は、昨年度までに得られた遺伝子発現および代謝物プロファイルの知見に基づき、THA ラットの高学習能力を規定する BCAA 代謝関連分子を特定し、遺伝子改変系統を作出した。さらに、次世代影響評価法への応用を見据え、個体レベルの学習試験、化学物質曝露、およびメタボローム解析を統合した次世代影響評価系を構築した。詳細を以下に示す。

① **遺伝子改変THAラットの作出：**THAラットの選抜規定（回避率95%以上）を満たす個体を1対1で自然交配させた。ゲノム編集にはi-GONAD法を採用した。膣栓確認当日の雌ラットより両側卵管を露出し、実体顕微鏡下でBCAA代謝関連遺伝子を標的とするsgRNAおよびCas9タンパク質の複合体を卵管膨大部へ注入後、エレクトロポレーションを施行した。得られたF0個体の組織片からDNAを抽出し、遺伝子変異の有無を選別した。

② **遺伝子改変系統の表現型解析：**BCAA代謝の抑制因子をコードするBCAA-I遺伝子ノックアウト（代謝亢進モデル）、および異化因子をコードするBCAA-A遺伝子ノックアウト（代謝抑制モデル）を作出した。各系統に対し、遺伝子変異の確認、血清中BCAA濃度の定量、ウェスタンブロットによる標的タンパク質の発現解析、および行動学試験を実施し、ノックアウト個体の表現型を多角的に評価した。

③ **化学物質曝露による次世代影響評価プロトコールの構築：**WistarラットおよびTHAラットを用い、内分泌攪乱物質であるビスフェノールA（濃度：0〜10 mg/kg/day）の周産期曝露試験を行った。交配確認直後の雌ラット背部皮下に浸透圧ポンプ（Alzet, model 2006）を留置し、胎児期（妊娠後期14日間）から授乳・離乳期（生後28日間）に至る計42日間の連続曝露を実施した。次世代の学習機能への変容を鋭敏に検出するため、離乳後の生後5週齢時に学習試験を実施した。

④ **血清バイオマーカーの探索と特定：**化学物質曝露に伴う母体および出生仔の生理的変化を網羅的に捉えるため、血清メタボローム解析を実施した。得られたデータから、曝露群において有意に変動し、かつ仔の学習能力と高い相関を示す代謝物群に着目した。さらに、次世代の学習能力低下を予測し得る母子に共通した代謝変化を抽出し、バイオマーカーとしての有用性を検証した。

3. 研究の成果

(1) ゲノム編集技術 i-GONAD 法を用いた BCAA 代謝酵素関連遺伝子の編集と機能解析

昨年度確立した THA ラットにおける i-GONAD 法を用い、BCAA 代謝関連遺伝子の欠損系統の作製を開始した。まず、BCAA 代謝の抑制因子をコードする遺伝子（以下、BCAA-I 遺伝子）のノックアウト個体を構築した。具体的には、BCAA-I 遺伝子の exon 9-11 を標的とする gRNA を設計し、エレクトロポレーションを施行した結果、約 500 bp の欠失を伴う個体を得た。

当該欠損がタンパク質発現および代謝活性に及ぼす影響を検証するため、海馬、肝臓、骨格筋、褐色脂肪組織を対象にウェスタンブロット解析を行った。その結果、全組織において BCAA-I の欠損が確認され、BCAA 代謝活性化の指標であるリン酸化 BCKDC の顕著な減少が認められた。これより、全身性かつ組織横断的な BCAA 代謝の亢進が実証された。加えて血清中の BCAA 濃度を定量した結果、ホモ欠損型では野生型と比較して約 4 分の 1 へ、海馬組織中では約 3 分の 1 へと有意に低下しており、全身的な BCAA 代謝亢進モデルの構築が完了した。

次に、BCAA の異化に関与する遺伝子（以下、BCAA-A 遺伝子）の欠損系統の作製に着手し、exon 4-5 を標的とした gRNA の導入により、遺伝子欠損を示唆する複数の変異体を得た。現在、系統化に向けた戻し交配を進めている。

また、BCAA-I 野生型およびホモ欠損型個体を用いて学習試験を実施した。対照群である野生型 THA ラットは、THA 系統特有の速やかな学習曲線と均質な成績を維持しており、ゲノム編集によるオフターゲット影響は極めて限定的であることが示唆された。対照的に、BCAA-I 欠損個体は野生型を大幅に上回る高い学習能力と、個体差の極小化を示した。特筆すべきは、初回学習試験から優れた成績を収め、試験 3 回目までに回避率 95%以上に到達した点である。選抜交配による系統化個体をも凌駕するこの成績向上は、BCAA 代謝の亢進が学習機能を飛躍的に高める要因であることを示唆するものである。

(2) 化学物質曝露が次世代の学習能力に及ぼす影響評価プロトコールの策定と妥当性の評価

次世代の学習能力に対する化学物質の影響を精緻に評価するには、神経発達における脆弱期を網羅した曝露デザインが不可欠である。本研究では、ヒトとげっ歯類の神経発達プロセスの相同性に基づき、最適な曝露期間および手法を策定した。

ヒトにおける中枢神経系は、受精後 28 日頃の神経管形成から始まり、神経細胞の増殖・移動、髄鞘形成、シナプス形成、小脳顆粒細胞の生成を経て、出生後 2 歳頃まで複雑な発達プロセスを継続する。げっ歯類において、これら一連の発達工程は受精後 7 日から離乳期の生後 4 週齢に集約される。この期間は外的環境因子に対して極めて脆弱であり、高次脳機能の形成を左右する決定的なフェーズである。本研究では、この脆弱期を確実にカバーするため、母体を介した経胎盤および経母乳曝露を連続的に行う「周産期曝露」を採用した。これにより、周産期における化学物質曝露の及ぼす影響について、発生学的根拠に基づき評価することができる。

評価モデルの妥当性を検証するため、汎用系統の Wistar ラットを用い、NOAEL 量（5.0 mg/kg/day）のビスフェノール A による次世代影響を評価した。曝露母体より出生した仔の体重は、対照群との間に有意差は認められず、一般的な成長過程には顕著な毒性を及ぼさないことが分かった。

一方、学習試験において、試行 10 回目までに学習および記憶の成立過程は観察されたものの、個体間の学習成績に極めて大きなばらつきがあった。この膨大な背景ノイズにより、汎用系統では学習能力への微細な影響を捉えることが困難であった。

(3) 無毒性量（NOAEL）における次世代影響評価：THA ラットを用いた検証

Wistar ラットと同様に、THA ラットにおいても仔の体重推移には曝露群と対照群との間に有意差はなかった。

学習試験において、対照群は試験 4 回目までに全個体が回避率 95%前後に到達し、以降の試行においても極めて小さな個体間ばらつきを維持した。この結果は、THA ラットの特徴である「高い学習能力」と「遺伝的均質性」を正しく保持していることを示した。

この均質なバックグラウンドの下でビスフェノール A 曝露による影響を解析した結果、対照群と比較して有意な回避率の低下が認められた。特に雌個体においては、学習初期段階から

継続的な回避率の低下が観察され、ビスフェノール A の曝露が学習機能の獲得過程に負の影響を及ぼすことが示唆された。

(4) 次世代影響を予測する血清バイオマーカーの探索と特定

ビスフェノールA曝露による次世代の学習能力への影響を早期予測するため、血清メタボローム解析を用いて網羅的な代謝プロファイリングを実施した。

対照群および曝露群の出生仔から、学習試験の前後で採血し解析した。得られた多変量データを主成分分析（PCA）により可視化したところ、各群はスコアプロット上で明瞭なクラスターを形成した。特筆すべきは、第1主成分（PC1）が学習試験（経験）の有無に、第2主成分（PC2）がビスフェノールA曝露の有無にそれぞれ高い相関を示した点である。この結果は、血清代謝物中に学習過程と化学物質曝露の両因子を反映する分子が含まれていることを示唆している。

解析結果をヒートマップで検討したところ、曝露の有無に関わらず学習試験前後で代謝プロファイルが劇的に変化する動態が確認された。また、曝露群では学習試験前の段階で既に対照群とは異なる特異的な代謝パターンが見出された。そこで、学習能力への影響を反映するバイオマーカーを特定するため、学習試験の有無に関わらず顕著な変動を示した代謝物を絞り込んだ。その結果、アミノ酸およびペプチド分子から構成される「代謝シグネチャー」を同定した。これら分子の動態解析は、次世代の学習能力低下を予測する高感度なバイオマーカーとして有用である。その中の一つの代謝物変動は母体血清でも観察されたことから、母体血清測定により、次世代個体の将来的な学習能力への影響を予測できる可能性を示した。

4. 研究の反省・考察

本研究において BCAA 代謝経路のノックアウト個体を解析した結果、BCAA-I 遺伝子の欠損が代謝亢進を介して学習能力を飛躍的に向上させる一方、異化因子である BCAA-A 遺伝子の欠損が学習抑制を招くことが明らかとなった。今後、この代謝系がどのような神経可塑性シグナルと連動しているのか、電気生理学的アプローチを含めた解明が急務である。

メタボローム解析により特定した代謝シグネチャーは、ビスフェノール A 曝露に対し、神経発生過程で最も敏感に反応する代謝物であると考えられる。この代謝シグネチャーの変動をトリガーとして、神経分化のどの段階（神経管形成、神経細胞移動、シナプス形成）が阻害されているのかを時系列的に追跡することで、化学物質による毒性発現の機序をさらに精緻に記述できると考えている。

今後は、in vitro 評価系と組み合わせ、他の環境化学物質の安全性評価にも応用することで公衆衛生の向上に寄与する社会実装を目指していきたい。

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

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

学　校　名	**東　京　農　業　大　学**	研究所名等	
研 究 課 題	高温ストレスの長さや強度に応じた植物の多層的高温適応機構解明 －植物の高温耐性寄与遺伝子の同定と動物高温耐性機構への展開－	研 究 分 野	農　　学
キ ー ワ ー ド	①環境応答、②高温耐性、③シロイヌナズナ、④線虫、⑤多様性		

〇研究代表者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
太　治　　輝　昭	東京農業大学生命科学部	教　　授	研究代表者・総括

〇研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
久　　原　　篤	甲南大学理工学部	教　　授	研究分担者・線虫に関する実験

高温ストレスの長さや強度に応じた植物の多層的高温適応機構解明
－植物の高温耐性寄与遺伝子の同定と動物高温耐性機構への展開－

1. 研究の目的

本研究の学術的背景

近年の気温上昇が作物収量を減少させており、植物の高温耐性メカニズムの解明と耐性作物の作出が植物科学の重要な課題となっている。植物の高温ストレス応答については、これまでにシロイヌナズナを含むモデル植物を中心に研究が進められ、細胞レベルにおける Heat Shock Factors A1 (HsfA1s)を介した数分から 1 時間の素早くダイナミックな転写ネットワーク、個体レベルにおける PIF4 を介した数時間で茎の伸長や下偏成長（葉を立ち上げる）を誘導する熱形態形成が知られている。これらは時空間的にも独立して議論されており、ステージゲートの存在が示唆されるものの、両ステージにまたがる因子の同定や、多層的な適応機構の理解には至っていない。

シロイヌナズナは世界中の様々な地域に生息し、その野生系統数は 2000 以上に上る。これらは様々な環境条件に適応した結果、同じ種でありながらストレス耐性に大きな違いがあることが明らかとなってきた。先行研究において、シロイヌナズナ野生系統の「短期間の極端な高温ストレス（42℃_50 分間)」と「長期間続く高温ストレス（37℃ _7 日間)」に対する耐性（以後、前者を短期高温耐性、後者を長期高温耐性とする）を評価したところ、それぞれの高温耐性に大きな多様性が認められた。興味深いことに、長期高温耐性を示す野生系統は必ずしも短期高温耐性を示さず、それぞれの耐性は独立したメカニズムに因ることが示唆された。

研究課題の学術的「問い」

植物は高温ストレスの長さや強度に応じて、複数のステージゲートを設けることで応答の最適解を選択している。しかし、段階的に見えるこれらステージゲート応答も実際に植物は時間重複しながら同時多面的に応答しており、「ステージをまたがる因子」の同定や、「時間軸に沿ったシグナルネットワークの変遷・制御」の理解に至っていない。また、植物動物共通の温度制御機構についてはほとんど知見がない。

本研究の目的

そこで本課題では、以下の 1) ～ 3) の解析により、短期・長期高温ストレス応答に寄与する遺伝子群を同定し、その相同遺伝子が動物でも温度耐性に寄与しうるか線虫を用いて調べる。これにより、植物さらには動物の高温に対するレジリエンス機構の解明を目指す。

1) 短期高温応答ステージゲート機構に関する解析
2) 短期高温耐性に寄与する遺伝子の同定と解析
3) 長期高温耐性に寄与する遺伝子の同定と解析

2. 研究の計画

1) 短期高温応答ステージゲート機構に関する解析

先行研究より、*HsfA1* 過剰発現株が通常生育温度で茎の伸長、葉の巻き上がり（下偏生長）といった典型的な熱形態形成を示すこと、さらに気孔開口を介した蒸散を強力に促すことが明らかになった(未発表)。熱形態形成については、PIF4 を介したオーキシン応答やジベレリン応答が知られているが、*HsfA1s* との関連は不明である。また、*HsfA1s* がどのようにして気孔開口から蒸散を促すのかについては一切不明である。そこで本課題では、トマトおよびシロイヌナズナの *HsfA1* 過剰発現株および *hsfa1* 多重変異株を用いて、*HsfA1s* がどのようなプロセスで熱形態形成・蒸散に至るのかを明らかにする。

2) 短期高温耐性に寄与する遺伝子の同定と解析

シロイヌナズナにおける短期高温耐性メカニズムの解明を目的に、短期高温に感受性を示した Col-0 種子に対して EMS による突然変異処理を行い、短期高温に耐性を示す変異株の単離を試みた。スクリーニングの結果、複数系統の *short-term*（*s-*） *heat tolerant*（*sheat*）変異株を獲得した。これらの生理学的、遺伝学的解析を行う。

3）長期高温耐性に寄与する遺伝子の同定と解析

長期的な高温ストレス応答についてはこれまでに知見が乏しく、そのメカニズムに興味が持たれる。そこで野生系統間に見られる長期高温耐性の多様性に関する研究、および長期高温耐性が欠損した、*sensitive to long-term heat*（*sloh*）変異株の単離・解析を進めてきた。これまでに原因遺伝子座が異なる8つの*sloh*変異株を単離したが、全ての*sloh* 変異株の短期高温耐性は野生型と同等、かつ、短期高温応答に重要な *HsfA1* や *HSP* 遺伝子群の発現量も野生株と同等であり、本研究が位置づける短期・長期高温応答の間にはステージゲートの存在が示唆された。そこで本課題では、未だ原因遺伝子の特定や機能解析に至っていない残り4つの *sloh* 変異株の解析を進める。

3. 研究の成果

1）短期高温応答ステージゲート機構に関する解析

RNAseq および ChIP-seq 解析より、熱形態形成と蒸散に寄与しうる *HsfA1* の制御遺伝子候補を見出した。そこで *HsfA1* 過剰発現株および *hsfa1* 多重変異株における候補遺伝子群の発現解析を行った。その結果、オーキシン、ジベレリン応答に加えて、ジャスモン酸応答関連遺伝子群が *HsfA1* の制御を受けることが明らかとなった。また、シロイヌナズナに加えて、トマトにおける *hsfA1* 多重変異株の作出を進めた。トマトのゲノム上には *HsfA1* 遺伝子は 4 つ存在する。シロイヌナズナの先行研究から、4 つの *HsfA1* 遺伝子群は重複した機能を有することが知られており、三重、ないしは四重変異株の作出が必要と考えられる。本年度は三重変異株の作出に成功した。

2）短期高温耐性に寄与する遺伝子の同定と解析

これまでに単離した *sheat* 変異株の短期、あるいは長期高温ストレス耐性を評価した結果、いずれの *sheat* 変異株も、短期高温ストレスにのみ特異的に耐性を示した。遺伝学的解析に加えてゲノムシークエンス解析を実施した結果、*sheat3* 変異株については、マッピング領域内の 1 遺伝子のみに 1 アミノ酸置換を誘導する変異を発見した。現在、当該遺伝子が原因遺伝子であるのか確認するため、野生株から当該遺伝子をクローニングして *sheat3* 変異株に導入する相補試験の準備を進めている。

3）長期高温耐性に寄与する遺伝子の同定と解析

長期高温ストレスに高感受性を示すシロイヌナズナ変異株のうち、*sloh7*、および *sloh29* 変異株の原因遺伝子の同定に成功した。原因遺伝子はこれまで同定した他の *sloh* 変異株と異なるため、新たなシロイヌナズナにおける長期高温耐性機構が明らかになると期待される。

4. 研究の反省・考察

本研究予算で自動表現型解析システム RIPPS の導入（2025 年度_育苗ポット自動搬送装置本体、2026 年度_各種カメラ撮影装置）を計画している。予定通り今（2025）年度は、RIPPS 育苗ポット自動搬送装置本体を導入した。RIPPS は 82 ポットの土壌水分量を厳密に制御可能なため、水分量に左右されない高温耐性評価が可能である。RIPPS には多様なセンサーが搭載されており、植物の生育速度や色彩変化、蒸散や水分分布などを非破壊で経時的に数値化できる。来（2026）年度から RIPPS を本格運用し、トマトの *hsfA1* 多重変異株をはじめ、シロイヌナズナ野生系統や突然変異株の表現型解析を実施する。

植物動物共通の温度制御機構については、共同研究者である甲南大学の久原篤博士と共同で、これまでに同定してきた植物の高温耐性に関与する遺伝子群の線虫ホモログについて、その変異株や遺伝子発現抑制系統を用いた解析を進めている。まだ解析はこれからであるものの、現状ほとんど知見のない植物動物共通の温度制御機構が明らかになると期待される。

5. 研究発表

(1)学会誌等

①Kobayashi K, Murakoshi Y, Kanamori K, Hidema J, Masuda G, Tanaka K, Yotsui I, Sakata Y, Taji T. UVH6 regulates osmotic and heat stress tolerance by modulating transcription. Frontiers in Plant Science 2025: 16: 1623563. doi:

10.3389/fpls.2025.1623563

(2)口頭発表

①発表者名:Asuka Ogawa, Mire Yanagihara, Goro Masuda, Izumi Yotsui, Yoichi Sakata, Teruaki Taji
発表標題：シロイヌナズナの短期高温耐性獲得変異株の解析
学会等名：日本植物生理学会

②発表者名:Haruomi Yoshino, Yusuke Murakoshi, Ryo Yamaguchi, Akito Hosoi, Takamasa Suzuki, Izumi Yotsui, Yoichi Sakata, Teruaki Taji
発表標題：シロイヌナズナ長期高温感受性変異株 *sloh2* の原因遺伝子同定
学会等名：日本植物生理学会

③発表者名：Asumi Kitashima, Goro Masuda, Izumi Yotsui, Yoichi Sakata, Teruaki Taji
発表標題：シロイヌナズナ野生系統 Berg-1 の長期高温耐性に寄与する遺伝子の探索
学会等名：日本植物生理学会

④発表者名：Haruto Kinoshita, Goro Masuda, Izumi Yotsui, Yoichi Sakata, Teruaki Taji
発表標題：シロイヌナズナ長期高温感受性変異株 *sloh12* の原因遺伝子同定
学会等名：日本植物生理学会

⑤発表者名：Ririka Nosuga, Akito Hosoi, Takamasa Suzuki, Izumi Yotsui, Yoichi Sakata, Teruaki Taji
発表標題：シロイヌナズナ長期高温感受性変異株 *sloh7* の機能解析
学会等名：日本植物生理学会

(3)出版物

なし

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

学　校　名	**東　京　薬　科　大　学**	研究所名等	
研 究 課 題	ヒト生体模倣血液脳関門モデルによる新たな薬物脳送達技術開発　－ニューモダリティ時代における脳疾患治療の革新を目指して－	研 究 分 野	医　　学
キーワード	①生体模倣システム　②血液脳関門　③ドラッグデリバリーシステム　④脳疾患　⑤ヒト予測 ⑥創薬基盤技術　⑦ニューモダリティ		

○研究代表者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
降　幡　知　巳	東京薬科大学 薬学部・ 創薬基盤科学教室	教　　授	研究代表者　総括 データ統合解析、論文作成、知財出願

○研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
林　　良　　雄	東京薬科大学 生命科学部・ 創薬化学研究室	教　　授	研究分担者 ペプチドデザインと有機化学実験
森　尾　花　恵	東京薬科大学 薬学部・ 個別化薬物治療学教室	助　　教	研究分担者 脳移行性評価実験 データ整理
伊　藤　慎　悟	熊本大学大学院 生命科学研究部 （薬学系）微生物	准　教　授	研究分担者 DDSデザインとin vivo実験

ヒト生体模倣血液脳関門モデルによる新たな薬物脳送達技術開発
－ニューモダリティ時代における脳疾患治療の革新を目指して－

1. 研究の目的

脳疾患に対する治療薬開発は非常に困難である。この主要因の一つは、脳には脳毛細血管内皮細胞（Brain Microvascular Endothelial Cells, BMEC）を実体とする血液脳関門（Blood-Brain Barrier, BBB）が存在し、ニューモダリティを含め様々な薬物の脳移行を制限しているためである。そのため、薬物を脳に届ける薬物脳送達技術（脳ドラッグデリバリーシステム、脳DDS）が必要とされている。

脳DDSキャリアには、トランスサイトーシスによりBBBを透過する抗体・核酸・ペプチド・ウイルスなどの中／高分子が用いられる。このような脳DDSキャリアの開発を促進するには、効率的・的確に脳DDSキャリアのヒト脳移行性を検証できる評価系が、さらにはこれを組み込んだ新たな創薬体系を立ち上げる必要がある。 そこで本研究は、ヒト生体模倣システムを導入したBBBモデルを開発し、それを用いた新たな脳DDSキャリア開発体系の確立を目的とする。なお、生体模倣システムは生体環境を再現することで細胞本来の機能を最大限引き出す最先端細胞培養法であり、細胞を用いた試験結果のヒト予測性を大きく向上させると期待されている。

2. 研究の計画

本研究では目的達成に向け、以下２つの目標を設定した：（１）ヒト生体模倣 BBB モデルを用いた脳 DDS キャリア評価系の確立、（２）本評価系を活用した新たな脳 DDS キャリアの創成の実証、である。2025 年度では主に（１）に取り組み、さらに（１）の成果を用いて（２）に向けた取り組みを実施した。

（１）ヒト生体模倣BBBモデルの開発とその評価能の実証

ヒト生体模倣システムを導入したBBBモデルとして、研究代表者は独自のヒト不死化BBB細胞を用いた階層スフェロイド型BBBモデル（human multicellular spheroidal-BBBモデル、hMCS-BBBモデル）の開発を進めてきた。そこで本研究においては、脳移行性抗体に対する本モデルの評価能およびその結果の生体外挿性を検証した。ヒト不死化BBB細胞の培養およびhMCS-BBBモデルの構築は、既報（Kitamura et al. Mol Pharmaceut 2022;19(8):2754-2764）に基づき行った。対象とする抗体は、サル*in vivo*脳移行性が明らかな４種の抗ヒトトランスフェリン受容体抗体（hTfRMab1-4）を用い、陰性対照として正常IgGを用いた。また、これら抗体のBBB透過がTfRに依存していることを検証するため、CRISPR/Cas9システムを用いてTfR欠損BMECを作製し、hMCS-BBBモデルを構築した。さらに、異なるタンパク質を標的とする脳移行性ペプチド融合抗HER2抗体も評価対象とした。これに対する陰性対照は抗HER2抗体とした。これら抗体は蛍光色素で標識した。BBB透過性試験では、スフェロイドと抗体を２時間反応させた後、スフェロイド内部に移行した抗体由来の蛍光を検出した。脳移行性は37℃および4℃条件下における蛍光強度の比で算出した。

（２）新たな脳DDSキャリアの創出の実証

新たな脳DDSキャリアのモダリティとして、環状ペプチドに着目した。まず、未発表の脳移行性環状ペプチドを基に、そのアミノ酸配列を改変したペプチドを合成することで、さらに脳移行性を高めた環状ペプチドの開発に取り組んだ。知財出願の予定があるため、具体的な配列情報は記載できないが、特定アミノ酸のアラニンへの変換やＤ体への変換等の手法を用いた。合成したペプチドはFAMを用いて蛍光標識し、精製した。その後、抗体と同様の方法を用いてBBB透過性を評価した。

3. 研究の成果

（１）ヒト生体模倣BBBモデルの開発とその評価能の実証

hMCS-BBBモデルのhTfRMAbに対するBBB透過性評価能を明らかとするため、TfRへの親和性が異なる4種 hTfRMAb（hTfRMAb-1、-2、-3、-4)および陰性対照としてコントロールIgGを用いて透過性試験を実施した。その結果、3種（hTfRMAb-1、-3、-4）のBBB透過活性は、それぞれ3.4±0.2、2.6±0.3、3.7±0.3倍であり、明らかなBBB透過性が認められた。一方、hTfRMAb-2のBBB透過活性はコントロールIgGの値と同程度であった(それぞれ1.4±0.2倍、1.2±0.2倍)。

次に、hTfRMAbのBBB透過におけるTfRの役割を明らかにするため、TfR欠損BMECを用いたhMCS-BBBモデルを構築し、同様の透過性試験を実施した。その結果、TfR欠損hMCS-BBBモデルにおけるhTfRMAb-1、-3、-4のBBB透過活性は消失し、hTfRMAb-2およびコントロールIgGで観察された値と同程度となった(IgG、hTfRMAb-1、-2、-3、-4について、それぞれ1.0±0.1、1.2±0.1、0.9±0.1、0.8±0.1、1.2±0.2倍)。したがって、hTfRMAb-1、-3および-4のBBB透過活性はTfRに依存したトランスサイトーシス経路を介するものと考えられた。

上記のとおり４種hTfRMAbのBBB透過性に違いが認められたことから、続いてサル*in vivo*データとの照合(*in vitro-in vivo* correlation, IVIVC) を行った。その結果、*in vitro*実験結果は、*in vivo*実験より得られた知見と良好な相関を示すことが明らかとなった。すなわち、*in vivo*サル試験において、hTfRMAb-1、-3、-4の静脈内投与後の脳内濃度はhTfRMAb-2と比較して有意に高い値を示し、また、免疫組織化学染色においても同様の結果が認められた。これら結果は*in vitro*実験より得られた結果（hTfRMAb-1、-3、-4はBBB透過性であるのに対し、hTfRMAb-2は非透過性）であることとよく一致している。

hTfRMAb間でのBBB透過性の違いは、BMECにおけるエンドサイトーシス、細胞内小胞輸送、エキソサイトーシスのいずれかの段階における違いに起因する可能性がある。これまでに、BBB透過性のhTfRMAbは、非BBB透過性hTfRMAbと比べ、エンドサイトーシス後にリソソームを介した分解経路を回避しやすいことが知られている。そこで、hMCS-BBBモデルを用い、hTfRMAb-1またはhTfRMAb-2とリソソームとの共局在解析を実施した。その結果、BBB非透過性のhTfRMAb-2ではリソソームとの共局在が多く観察されたのに対し、BBB透過性のhTfRMAb-1では少なかった。これらを定量的に解析した結果、hTfRMAb-1のリソソーム共局在率(37.4±2.7%; Pearson’s correlation coefficient (R) = 0.32±0.01) は、hTfRMAb-2 (63.8±4.3%; R=0.45±0.01) よりも有意に低いことが明らかになった。したがって、hTfRMAb-1はリソソーム分解経路を回避する傾向にあり、これが効率的な脳移行を示す一因となっている可能性があると考えられた。

以上の知見を総合すると、hMCS-BBBモデルはhTfRMAbのTfRを介したBBB透過性の違いを識別することができること、さらにその評価結果は*in vivo*における脳移行性を反映し得ることが明らかとなった。さらに、hTfRMabのBBB透過過程には、リソソームへの移行を回避する経路が関与すると考えられた。

本内容について、論文としてまとめ年度内に受理された。また、同時にプレスリリースも行い、日刊工業新聞オンライン版など複数のメディアで紹介された。

次に、脳移行性ペプチド融合抗HER2抗体を対象として同様にBBB透過阻害試験を行った。その結果、脳移行性ペプチド融合抗HER2抗体のBBB透過活性は2.0±0.3であり、抗HER2抗体(1.2±0.1)と比較して高い値を示した。本結果は、脳移行性ペプチド融合抗HER2抗体がトランスサイトーシス経路を介してBBBを透過することを示しており、hTfRMab以外の抗体についても、hMCS-BBBモデルがその脳移行性評価に有用であると考えられる。さらに、脳移行性ペプチド融合抗HER2抗体のBBB透過における時間および濃度依存性を解析した。時間依存性解析の結果、本抗体の取り込みは、40分まで直線性が認められることが明らかとなった。続いて、このBBB透過時間で濃度依存性解析を行った結果、本抗体の取り込みには低濃度域から明瞭な飽和性が認められた。したがって、脳移行性ペプチド融合抗HER2抗体のBBB透過は高親和性の能動輸送経路が関与すると考えられた。

本内容については、日本薬剤学会学術年会にて発表を行った。現在論文としてまとめているところであり、2026年度中の投稿を予定している。

（２）ペプチド型脳DDSキャリアの同定

（１）の結果により、hMCS-BBBモデルが脳移行性抗体の評価系として有用であることが明らかとなったことから、本評価系を用いて、新たな脳DDSキャリアの創出に取り組んだ。対象として、環状ペプチドに着目し、既知の脳移行性ペプチドとは配列の異なる7種の新たな環状ペプチドを合成した。また、この対照として線状化したペプチドも合成した。hMCS-BBBモデルを用いてこれらのBBB透過性を解析したところ、複数の環状ペプチドにおいて、基準とする環状ペプチドよりも高い脳移行性が認められた。一方、線状化したペプチドでは脳移行性はほとんど認められなかった。したがって、これらBBB透過活性を持つ環状ペプチドは、新たな脳移行性DDSキャリアとなる可能性がある。現在、本ペプチドの抗体融合体を作成しており、これを用いたBBB透過性試験を実施予定である。また、本ペプチドの更なる改変体を合成し、より優れた活性を持つペプチドの同定も試みる予定である。

4. 研究の反省・考察

2025 年度の研究では、目標とした（１）評価系の確立について論文発表を行うまでに至り、本目標については概ね目標を達成できたと考えている。hMCS-BBB モデルを用いた脳 DDS キャリア開発体系が確立し、広く創薬研究に用いられるようになれば、ヒトに投与する前に、脳 DDS キャリアがヒト脳に届くか的確に評価・予測することができるようになると期待される。これにより、開発早期の Go/No-go の意思決定や臨床試験における成功率の向上につながると期待され、ひいては画期的な治療につながる脳 DDS キャリアの創出が期待される。

一方、目標（２）新たな脳 DDS キャリア開発については、新たな脳移行性ペプチドシーズを見出し、現在、アプタマーについても同様に検討を進めている。しかしながら、いずれも脳 DDS キャリアとしての有用性を実証するまでに至らなかった。アミノ酸改変を Step-by-step で実施したことや、探索に試行錯誤を要したこと、シーズ候補であったもう一つのペプチドの合成がうまく進まなかったことなど、複数の要因が考えられる。しかしながら、見出した分子はいずれも新規配列やユニークな BBB 透過特性を有しており、知財出願を検討するに足る成果であると考えられる。これらは新たな脳 DDS キャリア開発における前向きな知見であり、2026 年度以降、引き続き精力的に開発を進めていきたい。

5. 研究発表

(1)学会誌等

Ohki S, Fukatsu T, Morimoto H, Kinoshita M, Imakiire A, Yamamoto R, Morio H, Sonoda H, Furihata T. Translational applicability of human blood-brain barrier spheroid models for the development of brain-penetrant therapeutic antibodies. Fluids Barriers CNS. 2026;23(1):30.

(2)口頭発表

① 大木 聖矢、深津 智樹、森尾 花恵、薗田 啓之、降幡 知巳. 階層スフェロイド型ヒト血液脳関門モデルは*in vivo*外挿性ある脳移行性抗体の評価が可能である. 日本薬物動態学会第40回年会（2025年10月20日、京都）
② 降幡 知巳. ヒト生体模倣血液脳関門モデルの開発とその脳疾患治療薬開発研究への実装に向けた取り組み. 第15回CSJ化学フェスタ2025（2025年10月24日、東京）
③ 降幡 知巳. ヒト生体模倣血液脳関門モデルを用いた脳移行性抗体評価法の開発. 日本薬学会第146年会（2026年3月26日、大阪）

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

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		

〇研究代表者

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

〇研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
恒　岡　洋　右	東 邦 大 学 医 学 部	准　教　授	形態学的および生理学的研究遂行
吉　田　さ　ち　ね	東 邦 大 学 医 学 部	講　　師	動物実験計画策定と実施

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増加している。これらの疾患の発症には明瞭な性差が存在することが知られており、その基盤として脳の構造や機能における性差の存在が指摘されている。このような脳の構造的・機能的性差がどのように形成され、生理的機能や疾患感受性にどのように寄与するのかを明らかにすることは、生物学的にも医学的にも極めて重要な課題である。

古典的な染色による研究から、視床下部や扁桃体などの脳領域において、サイズやニューロン数に雌雄差が存在することが報告されてきた。しかしながら、これらの構造的性差がどのような機能的意義を持つのかについては、十分に解明されてこなかった。その主な理由は、性差を示すニューロン集団を特異的に標識・操作するための分子マーカーが存在しなかったことにある。近年では、薬理遺伝学的手法やカルシウムイメージング、さらには順行性、逆行性トレーサーを用いた神経回路解析が発展しているが、これらはいずれも標的ニューロン特異的な遺伝子発現系、特に Cre-loxP システムに依存している。

このような背景のもと、我々は視床下部視索前野、分界条床核、腹内側扁桃核において明瞭な性差を示すニューロンに特異的に発現する Moxd1 を同定した。さらに Moxd1 遺伝子座に DNA 組み換え酵素 Cre を導入した Moxd1-Cre マウスを作製し、性差ニューロン特異的な遺伝子操作が可能であることを実証した。このモデルにより、これまで困難であった性差ニューロンの機能解析が可能となった。

本研究の目的は、我々が独自に同定・作製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的解析により、脳の構造的性差が機能的性差や性行動を含む性特異的行動の制御にどのように関与するかを解明することである。さらに、Moxd1 と同様に性差関連行動を担う他のニューロン集団についても検討するとともに、発達期の環境要因が睡眠などの行動に及ぼす影響について解析を行う。これらを通じて、性行動および養育行動を含む性差のある行動とその神経基盤に関する理解を深化させることを目標とする。

2. 研究の計画

視床下部腹内側核、分界条床核、腹内側扁桃核に分布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、Moxd1-Creマウスに対してアデノ随伴ウイルスを各標的領域へ局所投与した。ウイルスにはCre依存的に発現するDIO-ChR2またはDIO-ArchTを組み込み、Moxd1陽性細胞に選択的に光応答性分子を発現させた。光ファイバーおよび高輝度LED（Cree社）を用いた光刺激により、ChR2発現細胞では神経活動の促進、ArchT発現細胞では神経活動の抑制を誘導した。これにより、性行動、養育行動、攻撃行動、営巣行動への影響を評価した。さらに、短時間刺激による即時的な行動変化に加え、約1時間の断続的刺激を実施することで、行動動機づけに対する累積的影響を検討した。睡眠覚醒状態については脳波および筋電図を用いて判定した。

光遺伝学的操作は高い時間分解能を有する一方で、行動の多くは数時間単位で変化し、睡眠覚醒のような恒常性制御を受ける行動の評価には長時間の観察が必要であった。このため、性差ニューロンに対する薬理遺伝学的手法を併用し、時間スケールの異なる行動制御機構を検討した。具体的には、DIO-hM3DqまたはDIO-hM4Diを発現させたアデノ随伴ウイルスを同様の脳領域に投与し、CNOまたはDCZの腹腔内投与により神経活動の活性化または抑制を行った。これにより、性行動、養育行動、攻撃行動、営巣行動に加え、社会行動への影響も含めて評価した。

これらの光遺伝学的操作および薬理遺伝学的操作の結果を統合することで、秒単位から時間単位に至る複数の時間スケールにおいて、性差ニューロンが行動制御に果たす役割を包括的に解析した。

内側視索前野に存在するPenk陽性ニューロンに着目し、性行動における動機づけ状態の維持およびマウントから挿入行動への遷移制御機構を解析する。特に、これらのニューロンが腹側被蓋野や中脳水道灰白質への投射を介して性行動の進行を調節する回路基盤を検討した。

発達期の環境要因の影響を検討するため、母子接触の有無が背部刺激による睡眠誘導やストレス応答に及ぼす影響を解析する。特に、母子接触の欠如により視床下部におけるカルシウムチャネル遺伝子Cacna1b発現が変化し、背部刺激による鎮静・睡眠誘導機構が修飾される可能性について検討した。

3. 研究の成果

（1）性差ニューロンの薬理遺伝学的操作

内側視索前野の Moxd1 陽性細胞の神経活動を亢進させた結果、オスマウスの性行動は著明に抑制された。一方、メスマウスに対する接近や嗅覚探索行動、求愛発声には変化は認められず、オスマウスに対する攻撃行動にも影響は見られなかった。これに対し、内側視索前野の Penk 陽性細胞の神経活動を亢進させると、オスマウスの性行動は顕著に促進された。嗅覚探索行動および求愛発声には変化がなかったものの、マウントおよび挿入行動の潜時は短縮し、回数は増加した。また、マウントから挿入行動への移行時間も短縮した。一方、攻撃行動には変化は認められなかった。さらに、Penk 陽性細胞の神経活動を抑制した場合には、これらと逆の結果が得られ、マウントおよび挿入行動の回数は減少し、潜時は延長したが、嗅覚探索行動および求愛発声には影響は見られなかった。これらの結果から、Penk 陽性ニューロンは性行動の開始そのものではなく、マウントから挿入行動への遷移および射精に至る一連の行動進行を支える持続的な動機づけ状態の制御に関与することが示唆された。

（2）性差ニューロンの光遺伝学的操作による行動変容

内側視索前野の Penk 陽性ニューロンを光遺伝学的に活性化したところ、光刺激に対する即時的な行動変化は認められなかった。しかし、光刺激を実施した条件では、マウント行動の開始から挿入行動への移行時間が短縮した。特に、行動試験前にあらかじめ光刺激を行った場合には、マウントおよび挿入行動の潜時が短縮し、行動回数の増加が認められた。さらに、Penk ニューロンの投射先特異的な操作を行った結果、腹側被蓋野への軸索末端刺激ではマウント行動の潜時短縮および回数増加が認められたが、挿入行動への影響は限定的であり、マウントから挿入への移行時間の短縮は認められなかった。一方、中脳水道灰白質への投射刺激では、マウントおよび挿入行動の潜時短縮と回数増加に加え、両者の移行時間の短縮も認められた。

（3）母子接触と睡眠・ストレス制御機構

背部刺激は仔マウスにおいて、運動量および心拍数の低下と徐波活動の増加を伴う睡眠様状態を誘導し、ストレスホルモンの上昇を抑制することが明らかとなった。一方、母子接触を欠いた人工飼育個体ではこれらの効果は消失した。さらに、視床下部におけるカルシウムチャネル遺伝子 Cacna1b の発現低下およびそのノックダウンにより、背部刺激による鎮静および睡眠誘導効果が消失したことから、発達期の母子接触が感覚刺激に対する睡眠・ストレス応答機構の形成に重要であることが示された。

4. 研究の反省・考察

本研究は概ね計画通りに遂行され、性差を示す Moxd1 陽性細胞をはじめとする内側視索前野の多様なニューロン群が、本能行動、特に性行動や攻撃行動の制御において異なる役割を担うことを明らかにする上で一定の進展が得られた。とりわけ、分子マーカーに基づくニューロン集団の機能分化や、行動の異なる段階に対応した神経基盤の存在が示唆された点は重要な成果である。一方で、これらのニューロン群が形成する神経回路の全体像や、各サブタイプ間の相互作用については未解明な点も多く残されている。また、性行動における動機づけ状態や行動遷移を支える神経活動の時間的ダイナミクスについても、さらなる詳細な解析が必要である。今後は、回路特異的操作や活動記録手法を組み合わせることで、性差ニューロンの機能的連関および行動制御メカニズムの統合的理解を進めるとともに、発達期の環境要因がこれらの神経回路に及ぼす影響についても検討を深めていきたい。

5. 研究発表

(1)学会誌等

①Sachine Yoshida, Akiko Harauma, Toru Moriguchi, Yousuke Tsuneoka, Kimiya Narikiyo, Kazuya Miyanishi, Makoto Kashima, Makoto Wada, Yu Hayashi, Hiromasa Funato. Early-life maternal care is required for the typical development of calming responses to back stroking. *Communications Biology*, in press

②Nozomu Yoshioka, Masayuki Kurose, Kazuki Tainaka, Takako Ichiki, Yousuke Tsuneoka, Hiromasa Funato, Masaki Ueno, Hayato Ohshima, Ikuo Kageyama, Hirohide Takebayashi. Disruption of afferent neural circuits leads to arrhythmia in the animal model of hereditary sensory and autonomic neuropathy 6. *Frontiers in Neural Circuits* in press

③Fumiya Fukumori, Yoshiki Maeda, Kanemasa Maki, Toshiki Takenouchi, Kenjiro Kosaki, Hiromasa Funato, Eiji Kondo, Tomoaki Ikeda. Fetal rapid eye movement sleep dysfunction as a potential early indicator for NALCN-Related CLIFAHDD Syndrome: a case report. *Prenatal Diagnosis* 46(3):448-450, 2026

④Birkan Girgin, Fumito Naganuma, Kyosuke Hirano, Motoki Fujiya, Toshimasa Mimura, Ren Ebina, Ruoyu Zhu, Ayaka Nishibe, Tadaho Nakamura, Vetrivelan Ramalingam, Chika Miyoshi, Takatoshi Mochizuki, Hiromasa Funato, Masahiko Watanabe, Masashi Yanagisawa, Takeo Yoshikawa. Histamine N-methyltransferase inhibition as a novel therapeutic strategy for idiopathic hypersomnia. *European Journal of Pharmacology* 1011: 178475, 2026

⑤Natsuki Tagawa, Yousuke Tsuneoka, Hiromasa Funato. Nest-Building Behavior in Laboratory Mice: Multifunctional Roles and Neural Mechanisms. Neuroscience and Biobehavioral Reviews 178, 106377, 2025

⑥Shinya 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 zsae279, 1-14, 2025

(2)口頭発表

①Sachine Yoshida, Hiromasa Funato. Sensing parent-infant physical contact for the understanding and support of development. 第103回　生理学会 東京（東京医大）

②船戸弘正. 食欲と睡眠の中枢制御ネットワーク. 第40回日本女性医学会学術集会　教育講演　東京

③Hiromasa Funato. Uncovering REM sleep regulation through NALCN. 2nd NALCN meeting, San Antonio

④Hiromasa Funato. Sodium leak channel uncovers the molecular mechanism regulating REMS and the function of REM sleep. World Sleep 2025, Sept 9 2025 シンガポール

⑤吉田さちね　船戸弘正. 体性感覚刺激で起こるヒト幼児および仔マウスの自発運動量の低下. 第48回日本神経科学大会　新潟

⑥船戸弘正. 解明される睡眠制御の仕組み. 第31回日本脳神経モニタリング学会　羽田

(3)出版物

なし

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

学　校　名	**東　　洋　　大　　学**	研究所名等	工 業 技 術 研 究 所	
研 究 課 題	ミクロ界面精密制御システムの創出とバイオ応用 －細胞外小胞体の分離抽出と解析への展開を目指して－		研 究 分 野	工　　学
キ ー ワ ー ド	①ナノ構造、②表面増強ラマン散乱、③ナノマイクロシステム、④表面弾性波、⑤エクソソーム			

〇研究代表者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
山　口　明　啓	東 洋 大 学 理 工 学 部	教　　授	研究総括、統合システムの創製と特性評価、各種実験と解析、論文執筆

〇研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
安　永　峻　也	愛 知 学 院 大 学 薬 学 部	講　　師	SAW輸送解析、薬剤効能調査
筧　　康　正	神 戸 大 学 医 学 部 ・ 医 学 部 附 属 病 院	講　　師	エクソソーム解析と病気との関連性調査
田　畑　美　幸	東 京 農 工 大 学 工 学 部	講　　師	電気化学反応解析とバイオセンシング

ミクロ界面精密制御システムの創出とバイオ応用
－細胞外小胞体の分離抽出と解析への展開を目指して－

1. 研究の目的

細胞外小胞体（EVs）は、癌の転移機構を担っていると考えられ、最近、注目されている。EVs は、ほぼすべての生細胞から分泌される不均一な脂質二重膜構造を有する小胞の総称である。EVs は、細胞内の産生機構の違いから、エクソソーム、マイクロベシクル、アポトーシス小体の 3 種類に大別される。エクソソームの大きさは、直径 30～150 nm で、エクソソームは後期エンドソーム膜の内向きの出芽により形成され、さらに細胞膜と融合することで完全な粒子を形成しエキソサイトーシスにより細胞外へ分泌される。一方、マイクロベシクル（MVs）は、細胞膜が外側へ出芽して分離することによって生成される。その大きさは、直径 100～1,000 nm と、かなり広範囲に分布している。 アポトーシス小体は、細胞が組織的な細胞死（アポトーシス）を起こすことで生じる。その大きさは、広範囲にわたり（直径 50 ～ 5,000 nm）、その範囲はエクソソームや MVs と重なっている。エクソソームと MVs は、細胞内での起源が異なるにもかかわらず、この２種類の細胞外小胞の産生には共通の細胞内メカニズムと機構が関与している。図 1 のように、EVs の内部には、RNA や DNA の断片、すなわち dsDNA, mRNA, miRNA などを有しており、エンドサイトーシスによって細胞に容易に取り込まれる他、抗原マーカーも有しているので、ウイルスなどと同様に細胞内に mRNA などを伝達することも可能である。この点から、細胞情報伝達を担っている。例えば、miRNA-92a は、18 - 22 塩基の小分子 RNA の一種で細胞内で mRNA と結合してその転写を制御することが知られている。この miRNA-92a は、急性白血病や悪性リンパ腫、骨髄種患者由来の血清中において著減することが発見され、ここで述べた病気に関するバイオマーカーとして注目されている。miRNA の分泌に関わる機構はエクソソームだけではなく、アポトーシス小体も担っている。以上の点から、エクソソームの本来の機能を理解するためには、その単離と分析及び生命現象との関連付けが必要である。エクソソームの本来の機能を解明できれば、生命現象の理解や病気の抑制や根治などへつながる可能性がある。

本研究では、エクソソームの単離と内容物に関する分子レベルでの理解を行い、各エクソソームの役割を精密かつ定量的かつ系統的に解明するためのナノマイクロ化学システムを創生する。ナノ構造表面増強ラマン散乱活性を有する電極を配置した in situ 電気化学マイクロ流路と表面弾性波(SAW)を組み合わせた統合システムを用いることで、分泌物やエクソソームを任意に単離して抽出しつつ、内容物を分子レベルでその反応過程などを制御しながら、追跡することで機構解明と治療などへの応用展開を図る。

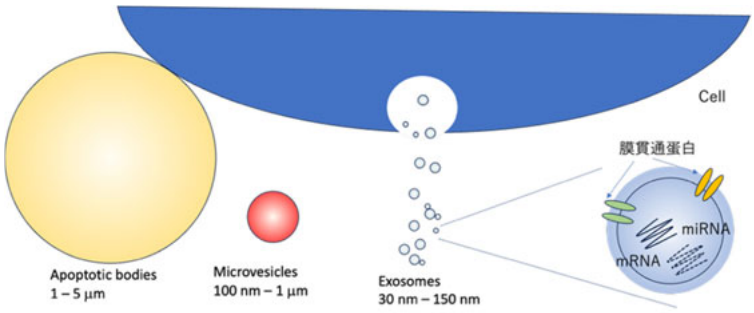


図 1 細胞外小胞体の産生概念図とエクソソーム、マイクロベシクル、アポトーシス小体のサイズおよび内容物の概念図

2. 研究の計画

血液、唾液、尿、精液、喀痰、母乳、脳脊髄液など様々なところから取得可能なエクソソームであるが、分離と機能解明を結びつけるのが難しい。超遠心分離法、沈殿法、濾過法、サイズ排除クロマトグラフィ法、抗原抗体反応(ELISA)法で分離されるが、一般的なのは遠心力を用いた分離である。遠心力は重さのみで分離するので、単分離することは困難である。加えて、内容物を特定して分離することもできない。

そこで、近年、注目されているのが表面弾性波(SAW)を用いたマイクロ化学システムである。ペンシルバニア大学の Wu ら(PNAS 114(2017) 10584.)は、血液中に含まれるエクソソームおよびマイクロベシクルを見立てて、マイクロ流路に SAW を照射することで、分球することに成功した。非常に精度がよく効率が良い手法であることが実証されている。しかし、このシステムには、非常に大きな欠陥がある。それは SAW を発生させる圧電体基板そのものに SAW 発生、流路などをすべて実装して組み込む必要があり、コンタミ（汚染：異なる生体由来の試料が混ざる）が起き

る可能性がある点である。コンタミがあれば、結果に重大な問題を引き起こすことが予想される。申請者らは、マイクロ流路と SAW 基板の間にカップリング液を導入することで、コンタミなしでマイクロ流路に SAW を用いた送液や混合などの単位化学操作を行えることを実証した。また、エクソソーム内に含まれる mRNA や miRNA 他、低分子から高分子の材料について、その分光分析や電気化学反応による酸化還元機能などの究明を行うことは、エクソソームの理解や生体内での役割を理解することにつながるそこで、これらの分光イメージングを行うために、貴金属ナノ構造をマイクロ流路に配置したシステムと顕微分光システムの構築を行う必要がある。これらの要素技術を組み合わせ統合化することで、エクソソームの分離・抽出と機能解明を実施し、病気の発生機構の解明や創薬への展開を実施したいと考えた。

以上の内容を 3 年計画にして、表 1 に示す計画実施案を考案した。

表 1　研究項目と実施計画案

研究項目	2025		2026		2027	
	前半	後半	前半	後半	前半	後半
顕微システムの創製	←――→					
SAW システムの創出と評価	←――→		←――→			
電気化学反応計測系の構築と運用	←――→		←――→		←――→	
統合型システムの創出とバイオ応用				←――→	←――→	

3. 研究の成果

以下、2025 年度の研究成果を行う。本年度は、このカップリング液を用いた手法を発展させて、SAW 励起機構とマイクロ流路を分離して組み合わせて用いるシステムの創製を行い、基本的な単位化学操作の特性理解や制御を確立した。

図 2 に示したシステムを用いて、酵素免疫測定法(ELISA)の一部のプロトコルにおいて、SAW による混合プロセスを実施した例を図 3 に示す。図 3(a)に実験セットアップ概略図を示し、取り替え可能なマイクロカップ内での発色基質と抗体反応の模式図を図 3(b)に示す。SAW による混合がある場合とない場合での 650 nm での吸光度の濃度依存性を示したのが図 3(c)である。こ

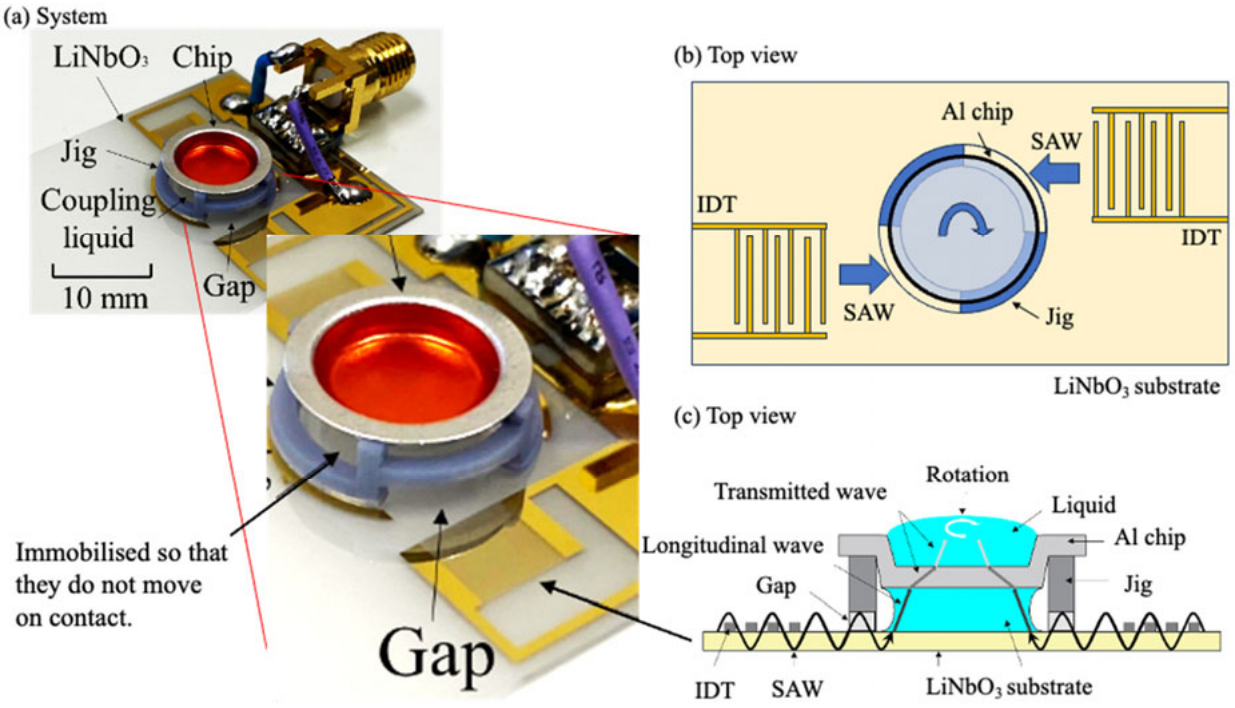


図 2 (a) SAW を用いた取り外し可能で試薬汚染をしないマイクロ混合システムの外観とそれを(b)上部から見た時の模式図並びに(c)真横から見た時の模式図

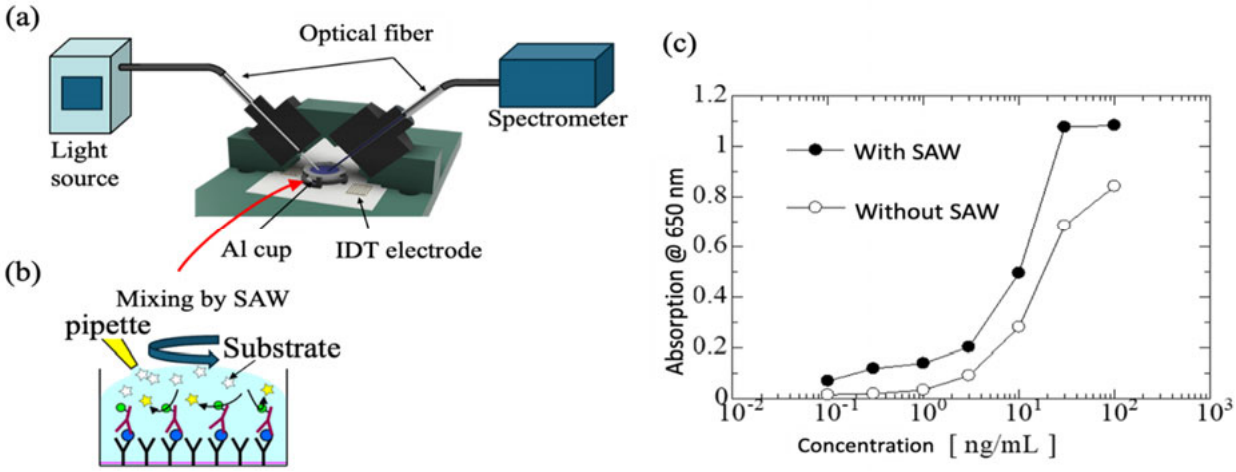


図 3 (a) SAW を用いた取り外し可能なマイクロチップを用いた ELISA 実験セットアップ概念図 (b) マイクロチップ内での反応概念図 (c) SAW 印加ある場合と SAW 印加ない場合の吸光度の IgG(H+L)濃度依存性

こでは、酵素標識抗体として、抗 IgG(H+L)（マウス・ヤギポリクローナル抗体）と西洋わさびペルビン酸オキシターゼ(HRP)(1mg/mL)を使用し、基質溶液としては、テトラメチルベンジジンを用いた。この２液を混合すると、抗体標識酵素である HRP が基質溶液中の過酸化水素水を分解して、活性酵素を生成する。生成された活性酵素は非常に不安定であり、酸化剤として作用し、TMB を酸化することで、酸化色素を生成して吸光度が変化する仕組みである。結果として、SAW による混合が反応効率を向上させ、有効に作用することが実証された。これまでの研究事例では、圧電体基板表面に直接、混合系を構築する例ばかりであったが、提案システムを用いることで取り替え可能で汚染しない混合システムの構築ができることを示した。この他、粉体輸送に関してもカップリング溶液を圧電体基板とマイクロチップを分離できることを示し、粉体と液体の輸送報告が逆方向になることを利用して、両者を混合できることなどを実証した。(A. Yamaguchi *et al.*, *ACS Measurement Science Au* 5, 4, 489 - 496 (2025).

さらに、金ナノ構造を電極に構築することで、電気化学反応や固液界面での酸化還元反応を精密制御しながら、表面増強ラマン散乱(SERS)でその化学反応追跡を分光的に行う仕組みの構築も実施した。図 4 に示した例は、マイクロ化学チップに実装した金ナノ構造電極に硝酸鉄水溶液を入れてサイクリックボルタンメトリーを実施しながら、その場で SERS 計測を実施し SERS 強度をカラーマップ化して表示した例である。1500 cm^{-1} 付近で 3 つのスペクトルが時間で振動している様子がわかる。このピークは硝酸イオンに由来するピークで電気化学反応が固液界面で起きていることを直接検出していることを示している。これらの結果は、現在、論文としてまとめており、投稿中のものが含まれるので、概要のみを紹介した。

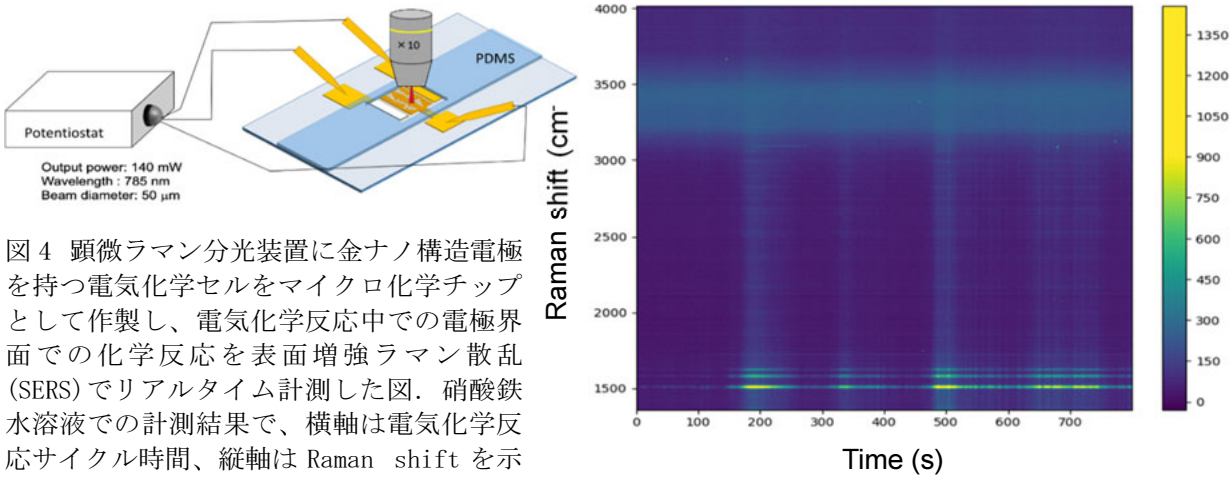


図 4 顕微ラマン分光装置に金ナノ構造電極を持つ電気化学セルをマイクロ化学チップとして作製し、電気化学反応中での電極界面での化学反応を表面増強ラマン散乱(SERS)でリアルタイム計測した図．硝酸鉄水溶液での計測結果で、横軸は電気化学反応サイクル時間、縦軸は Raman shift を示している。

4. 研究の反省・考察

顕微ラマン分光システムを構築し、SAW 励起システムと電気化学反応中の表面増強ラマン散乱分光計測を統合することに向けて、研究開発を進めている。これまでのところ、表１に示した計

画通りに進んでいるが、１点課題も見つかった。それは、高倍率のレンズを用いるとマイクロチップや電極との干渉が生じ、高倍率での観測・計測が難しい点である。そこで、ワーキング・ディスタンスの長いレンズを探して顕微ラマン分光システムを構築すれば、上記の課題を解決できた可能性がある。今後、レンズの交換とマイクロチップと電極との配置なども総合的に考えて、システムの設計と構築を実施したいと考えている。これまでに研究開発してきた SAW 励起機構、ナノ構造電極、電気化学反応機構、SERS 分光追跡など複数の機構を統合化することで、エクソソームの単離およびその分析を進めるとともに、細胞を播種した時にエクソソームが取り込まれて反応する過程などを直接追跡するような仕組みを構築していきたいと考えている。

5. 研究発表

(1)学会誌等

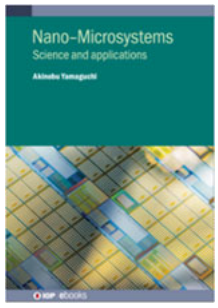
1) Akinobu Yamaguchi, Masatoshi Takahashi, Satoshi Amaya, and Tsunemasa Saiki, “Disposable. Microchip Platform with Removable Actuators Using SAW Excitation”, *ACS Measurement Science Au* 5, 4, 489 - 496 (2025). https://doi.org/10.1021/acsmeasuresciau.5c00027
2) Shunya Saegusa, Masayuki Naya, Takao Fukuoka, Miyuki Tabakta, Koji Sumitomo, and Akinobu. Yamaguchi, “Microchemical systems for simultaneous measurement of surface-enhanced Raman scattering and electrochemical reactions”, *Scientific Reports* **15**, 18574 (2025). https://www.nature.com/articles/s41598-025-02647-y
3) 山口明啓, 明日にかける 「理想的な科学実験系と応用展開を目指したナノマイクロシステ. ムの活用事例」, 製剤機械技術学会誌 Vol. 34, No. 5, 75 - 86 (2025).

(2)口頭発表

1) Akinobu Yamaguchi, Syunya Saegusa, Masayuki Naya, Takao Fukuoka, Koji Sumitomo, Miyuki. Tabata, “Microchip for in situ SERS monitoring during electrochemical reaction”, P2-33, The 11th international Conference on Surface Plasmon Photonics, Hitotsubashi Hall, Japan (2025). (Poster)
2) 原田 栞大朗, 田畑 幸太, アルムレーキ シェイカ, 山口 明啓, “EC-SERSプラットフォームを用いた硝酸鉄、硫酸銅、酢酸銅の電気化学反応に関する研究”, G1_1_22, 2025電気化学秋季大会, 鳥取大学, 2025年
3) 山口 明啓, 花田 賢志, 関口 博史, 福岡 隆夫, 安永 峻也, 岡田 育夫, 櫻井. 郁也, “X線光化学反応における金ナノ粒子生成のX線エネルギー依存性”,G1_2_11, 2025電気化学秋季大会, 鳥取大学, 2025年
4) 田畑 幸太, 原田 栞大, ALMURAIKHI SHAILHA, 山口 明啓,”電気化学反応における表面修飾分子依存性”, S1_1_12, 2025電気化学秋季大会, 鳥取大学, 2025年
5) アルムレーキ シェイカ, 原田 栞大朗, 田畑 幸太, 山口 明啓, “電気化学表面増強ラマン散乱プラットホーム”, S11_2_06, 2025電気化学秋季大会, 鳥取大学, 2025年
6) Akinobu Yamaguchi, Masatoshi Takahashi, Satoshi Amaya, Tsunemasa Saiki, ”Replaceable. micromixer agitated by surface acoustic wave”, Oral Session 5C: Micro-Nano Systems I, 51st International Micro and Nano Engineering Conference, National Oceanography Centre, Southampton, United Kingdom, 15 -18 September 2025.
7) 山口明啓, 髙橋正俊, 天谷諭, 才木常正, “表面弾性波マイクロアクチュエータとマイクロ化学システム”, 第１１回材料WEEKワークショップ, 京都テルサ, 10月6日- 9日, 2025年 (他、5件)

(3)出版物

1) Akinobu Yamaguchi, Nano-Microsystems: Science and applications, IOP Publishing (著書)
https://iopscience.iop.org/book/mono/978-0-7503-3111-1



2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

学　校　名	**二　松　学　舎　大　学**	研究所名等	
研 究 課 題	1970年代以降の視聴率制度の変容とその影響に関する研究 －調査会社･放送局･視聴者の三つのアプローチから－	研 究 分 野	経　済　学
キ ー ワ ー ド	①視聴率　②テレビ　③流通　④オーディエンス　⑤メディア研究		

〇研究代表者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
谷　島　　貫　太	二松学舎大学 文学部	准　教　授	研究統括及び視聴率計測の技術と実践の変遷の研究

〇研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
近　藤　　和　都	立命館大学 映像学部	准　教　授	視聴者にとっての視聴率の位置づけの研究
丸　山　　友　美	静岡大学 情報学部	准　教　授	視聴率を活用した放送局の番組制作に関する研究

1970 年代以降の視聴率制度の変容とその影響に関する研究
―調査会社・放送局・視聴者の三つのアプローチから―

1. 研究の目的

本研究は、テレビ視聴率という制度の成立と発展が、いかに日本における放送メディアの流通システムを変容させてきたのかを明らかにすることを目的とする。具体的には、視聴率を測定するシステムがオンライン化された 1970 年代後半から 1980 年代の時期に着目し、①〈視聴率の技術的基盤とビジネスモデル〉、②〈視聴率がテレビ制作のプロセスにもたらした影響〉、③〈視聴率と視聴者の関係性〉という三つの観点から研究を進める。

テレビという放送メディアにとって、視聴率が果たす役割とおよぼす影響は極めて大きい。どの番組がどれほどの視聴者に見られているのかという数値的な情報は、視聴者のアテンションが放送局の利益に直結する放送ビジネスモデルの核をなしているからである。しかし、日本における既存のテレビ研究では、視聴率という制度がどのように成立し、それが番組制作の論理や視聴者のテレビ体験にどのような影響を及ぼしてきたのかは、ほとんど論じられてこなかった。他方、英語圏のテレビ研究では、1970 年代に「オーディエンス商品」概念が提唱されて以降、商品としてのオーディエンスを計測可能な経済的リソースとみなす視聴率という制度の研究が蓄積され、視聴率調査を実施する民間企業の具体的な実践に焦点が当てられてきた。また近年のメディア産業研究では、コンテンツの流通過程を丹念に検証する「流通研究」の重要性が指摘されている。

こうした問題意識に基づき本研究は、視聴率がテレビというメディア産業を新たに組み替えていく 1970 年代半ば以降を対象に、視聴率を計測する調査主体、視聴率を用いる制作・放送主体、そして視聴率という制度と相互作用する視聴主体という三つのアクターの諸実践を、資料調査とインタビュー調査を通して掘り起こすとともに、視聴率という制度を核としながら生じていたテレビを見る／見させるダイナミズムを浮かび上がらせることを目指すものである。

2. 研究の計画

本研究は 2025 年度から 2027 年度までの 3 か年計画であり、初年度にあたる 2025 年度は、次年度以降に本格化させるインタビュー調査の基盤を整備するための資料調査と関係者の所在確認を中心に据えた。具体的な計画は以下のとおりである。

①〈視聴率の技術基盤とビジネスモデル〉（谷島担当）では、インタビュー調査に向けて、ビデオリサーチ社の資料調査、インタビュー対象者の選定、『放送技術』や『放送批評』、『放送界』等の業界誌の収集・整理を踏まえ、1970 年代から 1980 年代の放送と視聴率をめぐる背景を調査する。ここでは特に、ニールセンとその日本進出の文脈の調査に取り組む。

②〈視聴率がテレビ制作のプロセスにもたらした影響〉（丸山担当）では、「腸捻転」解消を目指して動き始める東京・大阪間の番組系列変更（ネットチェンジ）の動きについて、『毎日放送社報』と各社の社史を収集・整理する。また、翌年度からのインタビュー調査に向

けて、辻一郎氏（1955 年新日本放送入社、元毎日放送取締役報道局長）に協力を仰ぎ、ネットチェンジ交渉に関わった方々の所在を調査する。

③〈視聴率と視聴者の関係性〉（近藤担当）では、『週刊 TV ガイド』、『TV LIFE』、『TV ステーション』、『月刊ザテレビジョン』などのテレビ情報誌を対象としながら、それらのなかで視聴率がどのように意味づけられてきたのかを、ランキング項目の出現や視聴率に言及した記事内容を中心に調査する。

3. 研究の成果

①〈視聴率の技術基盤とビジネスモデル〉（谷島担当）については、ビデオリサーチ社が刊行している社史や資料集を収集した。同社の社史・記念誌等は、視聴率計測システムのオンライン化が進められた 1970 年代後半から 1980 年代における技術開発や事業展開の経緯を内部の視点から跡づけるための基礎資料であり、これらの整理を通して、視聴率計測の技術と実践の変遷を検討するうえで次年度のインタビュー調査において確認すべき論点の抽出を進めた。あわせて、当時の視聴率調査の実務に関わった人物を中心にインタビュー対象者の選定を行ったほか、『放送技術』等の業界誌の収集にも一部着手した。

②〈視聴率がテレビ制作のプロセスにもたらした影響〉（丸山担当）については、東京・大阪間のネットチェンジに関わる資料の収集を進めた。一方で、聞き取り調査の中心的な協力者として予定していた辻一郎氏が調査期間中に逝去された。これを受けて、同氏の周囲の関係者に対し、同氏が保有していた関連資料の提供について相談を進めた。

③〈視聴率と視聴者の関係性〉（近藤担当）については、テレビ情報誌を中心とする資料の収集を進め、視聴率がどのように意味づけられてきたのかを分析するための資料的基盤の整備を行った。

また、研究全体の理論的枠組みに関わる成果として、日本メディア学会 2025 年春季大会において、研究代表者・分担者が登壇するワークショップ「メディア研究にとって流通とはどのような問いか？：メディア空間の存在論に向けて」を実施し、本研究の基盤をなす流通のメディア論の射程について学会レベルでの検討を行った。さらに、各メンバーは本研究と関連する招待論文を執筆し、上記日本メディア学会の学会誌『メディア研究』109 号に掲載予定（2026 年 7 月）である。

4. 研究の反省・考察

本年度における最大の課題は、聞き取り調査の要として協力を仰ぐ予定であった辻一郎氏の逝去である。1970 年代の放送業界の動きを直接知る世代の高齢化が進むなかで、当事者への聞き取りが可能な時間は限られており、本研究が対象とする時代の証言と一次資料を確保することの緊急性が改めて浮き彫りとなった。次年度は、関係者の紹介をたどるスノーボール方式による対象者の開拓を早期に始動させるとともに、当事者やその周囲が保有する資料の保全・提供についても並行して相談を進めていく必要がある。

また本年度は、各担当とも資料の収集が先行し、収集した資料の本格的な整理・分析は途上にある。社史や業界誌、テレビ情報誌といった刊行資料は、それぞれの発行主体の立場から書かれたものであるため、次年度のインタビュー調査で得られる証言と突き合わせながら批判的に読み解いていくことが求められる。

5. 研究発表

(1)学会誌等

①谷島貫太「オーディエンスの舞台裏―レーティングの政治経済学と〈流通〉の問い」『メディア研究』109 号、2026 年（招待有り、掲載予定)。

②近藤和都「流通空間／アーカイヴとしてのレンタルビデオ店―TSUTAYA の情報インフラと「新しさ」の編成」『メディア研究』109 号、2026 年（招待有り、掲載予定)。

③丸山友美「メディア・インフラをめぐる労働―「ラジオ塔」の建設・修理・保守・整備」『メディア研究』109 号、2026 年（招待有り、掲載予定)。

(2)口頭発表

①谷島貫太・近藤和都「メディア研究にとって流通とはどのような問いか？：メディア空間の存在論に向けて」日本メディア学会 2025 年春季大会、2025 年 6 月 8 日。

②丸山友美「(討論者）メディア・インフラとラジオ塔」日本メディア学会 2025 年春季大会ワークショップ「メディア研究にとって流通とはどのような問いか？：メディア空間の存在論に向けて」、2025 年 6 月 8 日。

③谷島貫太「「到達可能性」の力学：パラテクスト論の拡張と「編成される力」の分析」多文化関係学会第 24 回年次大会、2025 年。

④近藤和都「音、身体、メディア―ジョナサン・スターン特集合評会」『メディウム』第 5 号刊行記念研究会（評者)、2025 年。

⑤近藤和都「メディア研究にとっての雑誌研究」共立女子大学文芸学部月例研究集会、2025 年。

⑥丸山友美「制御技術／文化のインフラストラクチャーとしての、戦前（・戦後）のラジオ塔について」成城大学文芸学部マスコミュニケーション学科第一回研究会、2025 年 10 月 2 日（招待有り)。

⑦丸山友美「台湾に残るメディア遺構：JFAK の建設したラジオ塔」カルチュラル・タイフーン 2025 高雄大会、2025 年 11 月 7 日。

(3)出版物

なし

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

学　校　名	**日　本　医　科　大　学**	研究所名等	先 端 医 学 研 究 所	
研 究 課 題	1塩基解像度による分子標的低分子医薬品の耐性変異機構の探索 －分子標的薬抵抗性メカニズムの横断的理解による精密医療の実現－		研 究 分 野	医　　学
キ ー ワ ー ド	①ドライバー変異　②　肺がん　　③　薬剤耐性			

〇研究代表者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
吉　田　圭　介	日 本 医 科 大 学 大 学 院 医 学 研 究 科	准　教　授	研究統括・培養細胞のゲノム編集

〇研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
本　田　一　文	日 本 医 科 大 学 大 学 院 医 学 研 究 科	大学院教授	1塩基変異による細胞表現型解析
村　上　善　則	日 本 医 科 大 学 大 学 院 医 学 研 究 科	特 命 教 授	接着分子の遺伝子構造発現異常による薬剤感受性変化の解析
山　　本　　林	日 本 医 科 大 学 大 学 院 医 学 研 究 科	大学院教授	EML4-ALK融合遺伝子の機能解析
清　家　正　博	日 本 医 科 大 学 大 学 院 医 学 研 究 科	大学院教授	臨床検体の変異解析（肺がん）
臼　田　実　男	日 本 医 科 大 学 大 学 院 医 学 研 究 科	大学院教授	臨床検体の表現型解析（肺がん）
吉　　田　　寛	日 本 医 科 大 学 大 学 院 医 学 研 究 科	大学院教授	臨床検体の変異解析(肝がん)
近　藤　幸　尋	日 本 医 科 大 学 大 学 院 医 学 研 究 科	大学院教授	臨床検体の変異解析(腎がん)
清　　水　　章	日 本 医 科 大 学 大 学 院 医 学 研 究 科	大学院教授	病理形態学診断・病理学的助言
大　橋　隆　治	日 本 医 科 大 学 大 学 院 医 学 研 究 科	大学院教授	病理形態学診断・病理学的助言

1塩基解像度による分子標的低分子医薬品の耐性変異機構の探索
－分子標的薬抵抗性メカニズムの横断的理解による精密医療の実現－

1. 研究の目的

現在のがんゲノム研究では、膨大な臨床検体の次世代シーケンス情報と臨床疫学を基盤とするがんゲノム解析（top-down cancer genomics）が主流となっている。しかしながら、こうしたアプローチでは、

1）臨床検体を集める労働的・時間的コスト［特に、希少がんや薬剤抵抗性の症例について］
2）機能的なドライバー変異と、パッセンジャー変異を区別する統計解析の複雑性
3）同定された個別の変異について、細胞実験によるドライバー活性評価の欠如

などの問題点があり、変異情報から得られる新規性の高い知見については、飽和状態にある。

これに対して、細胞表現型変化を出発点とする変異機能の解析基盤(bottom-up cancer genomics)を確立することが出来れば、top-down と重ね合わせることで、がん発症の分子機序の解明・効果的な薬剤作用点を迅速に同定できるようになると考えられる。こうした背景から申請者らは、「細胞の特定の内在性遺伝子領域に対して、1 塩基変異を網羅的に導入すること(BELT 法)で、機能的変異をスクリーニングできる実験系」を新規に開発した(特許出願準備中: 吉田圭介ほか)。この系を中心として、本課題では、下記の項目を明らかにする。下記の項目を明らかにする。

[本研究の目標]
- 分子標的医薬品の標的遺伝子上の変異に起因するがん悪性化の分子機序を解明する
- 臨床現場で使用されている分子標的医薬品に対する薬剤耐性変異を網羅的に同定する

2. 研究の計画

上述の研究背景から申請者らは、bottom-up cancer genomics の実験系を新規に構築するため、「細胞の特定の内在性遺伝子領域に対して、1 塩基変異を網羅的に導入することができる実験手法、**BELT 法**(Base Editor and gRNA Library-based gene locus-driven Targeting mutagenesis)を開発した。これは、「特定のゲノムサイトに 1 塩基トランジション変異を誘導するゲノム編集酵素 Base Editor（以下、BE)」と「ガイド RNA(以下、gRNA)の発現ベクターライブラリー」を組み合わせた技術である。BE とは、DNA 二重鎖切断活性を欠損させたゲノム編集酵素 dCas9 に対して、シチジンデアミナーゼ(C 塩基を T に変換する酵素)またはアデノシンデアミナーゼ(A 塩基を G に変換する酵素)を接合したものである。Cas9 は gRNA と複合体を形成し、gRNA の 5’末端に存在するスペーサー配列と呼ばれる 20 塩基の配列に相同的なゲノム領域に Cas9 がリクルートされる。従って、特定の 20 塩基のゲノム配列を含む gRNA 発現ベクターを BE 発現ベクターと共に細胞に導入すれば、任意のゲノムサイトに 1 塩基変異を誘導することができる。一方で申請者らは、制限酵素などの DNA クローニング技術を応用することで、特定の DNA 断片について、これに含まれるランダムな 20 塩基を発現する gRNA ベクターライブラリーへと変換する技術を独自に開発した(特許出願中: 吉田圭介ほか)。これら BE（near PAM-less 型)と gRNA ライブラリーの発現ベクターを細胞に導入することによって、任意の内在性ゲノム領域に対して、網羅的にランダム変異を導入することに成功している。

実際に BELT 法を用いて、がん遺伝子に網羅的に変異導入し、細胞ごとに異なる 1 塩基変異を有する細胞群を、がんの特徴の一つである足場非依存的増殖条件下で培養すると、スフェロイド形成が観察されると共に、Xenograft モデルで腫瘍形成が観察されている。ここでスフェロイド形成に関わる細胞群には、がんドライバー変異が濃縮していることが考えられたため、

NGS で変異解析を行うと、既知のドライバー変異(がん検体で一定数検出され、強い細胞増殖活性が実験的にも確認されている変異)の濃縮が観察されている。

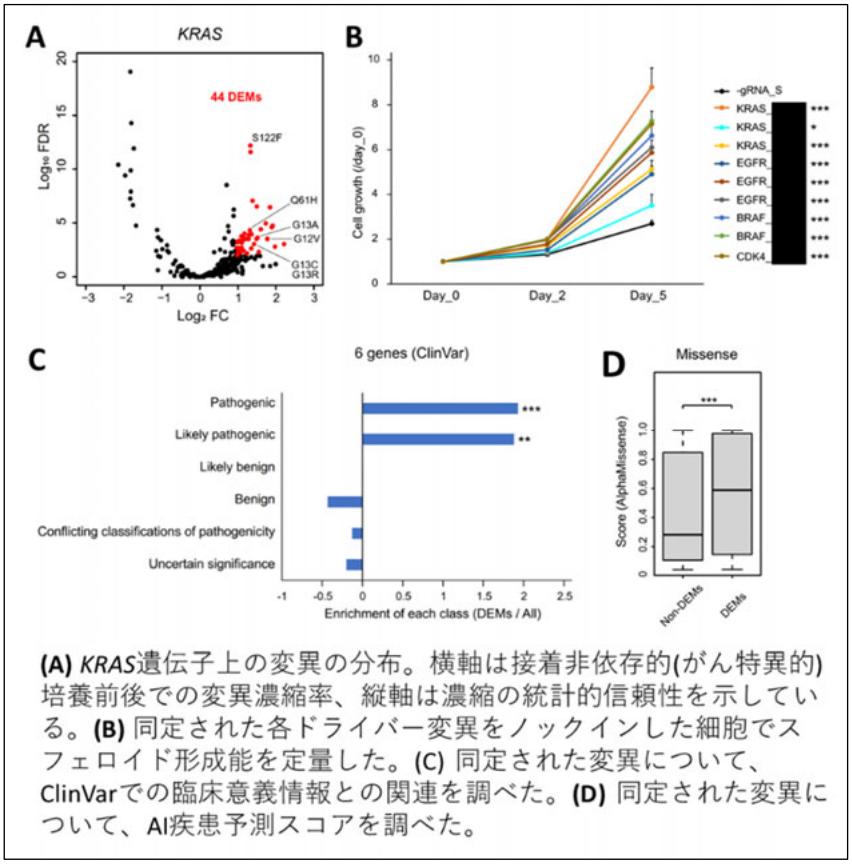
こうした予備実験の結果から本研究では、「BELT 法による標的がん遺伝子上変異の 1 塩基レベルでの機能評価」と「臨床検体でのドライバー変異のスクリーニング解析」を組み合わせることで、実験的・疫学的に検証された、信頼性の高いがんドライバー及び薬剤耐性に関わる変異データベースを構築すると共に、変異細胞のオミックス解析から耐性メカニズムを解析する。

3. 研究の成果

(1)がん遺伝子における、ドライバー変異の網羅的同定

肺がん患者で変異が検出されるがん遺伝子について、高頻度の順から *KRAS*, *EGFR*, *BRAF*, *MDM2*, *MET*, *CDK4* を選択し、ドライバー変異のスクリーニング実験を行った。ヒト正常様培養細胞である HEK293 を用いて、これら遺伝子群のコーディングエキソン領域に 1 塩基ランダム変異を BELT 法で導入し、接着非依存的条件下で培養することで、ドライバー変異を濃縮させ、NGS 解析で変異箇所を同定した。ここでは、上記の 6 遺伝子のエキソン領域において、がん患者で検出報告のある変異個所(COSMIC データベース登録変異)である 3,930 か所に着目して解析した。

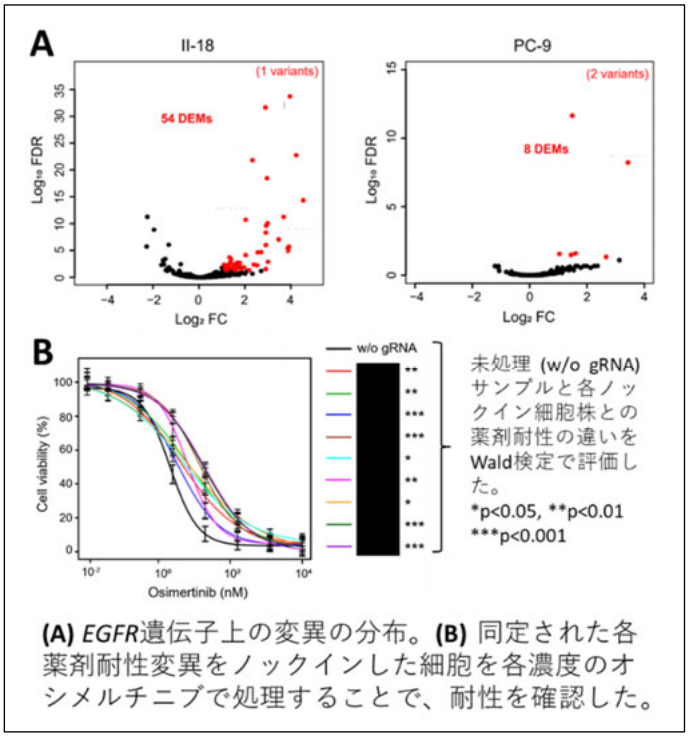
その結果、116 か所のドライバー変異の同定に成功し、*KRAS, EGFR, BRAF* で比較的多く検出され、それぞれ 44, 39, 14 か所であった(Fig. 1A)。実際に、これらがドライバー変異として機能するか調べるため、代表的なものをゲノム編集法で個別に導入すると、接着非依存的増殖能の亢進が観察された(Fig. 1B)。また、同定された変異について、疾患変異データベースである ClinVar の変異機能情報と比較すると、ここで同定された変異群では(likely)pathogenic と判定されているものが有意に含まれていた(Fig. 1C)。さらに、最新の AI 疾患変異予測プログラム AlphaMissense で解析すると、疾患性スコアの高いものが濃縮されていた(Fig. 1D)。以上の結果から、BELT 法による我々の実験的ドライバー変異探索法によって、臨床的にも疾患性の高い変異について、高い信頼性で抽出が可能であることが示された。



(A) *KRAS*遺伝子上の変異の分布。横軸は接着非依存的(がん特異的)培養前後での変異濃縮率、縦軸は濃縮の統計的信頼性を示している。**(B)** 同定された各ドライバー変異をノックインした細胞でスフェロイド形成能を定量した。**(C)** 同定された変異について、ClinVarでの臨床意義情報との関連を調べた。**(D)** 同定された変異について、AI疾患予測スコアを調べた。

(2)分子標的治療薬における耐性変異の網羅的同定

EGFR 陽性の肺がん患者の分子標的治療薬として使用されているオシメルチニブに着目して解析した。前項と同様に、*EGFR* 遺伝子にランダム変異を導入した肺がん細胞株 II-18 及び PC-9 を調整し、オシメルチニブ含有培地で継続培養することで、薬剤耐性変異を濃縮させた。その結果、それぞれの細胞株で 54 及び 8 か所の薬剤耐性としての新規機能変異を同定した(Fig. 2A)。これらの内、代表的なものを個別に細胞に導入すると、オシメルチニブ処理時の増殖阻害の抵抗性(Fig. 2B)、EGFR 脱リン酸化への抵抗性が観察されたため、薬剤耐性が検証できている。



(A) *EGFR*遺伝子上の変異の分布。**(B)** 同定された各薬剤耐性変異をノックインした細胞を各濃度のオシメルチニブで処理することで、耐性を確認した。

4. 研究の反省・考察

本年度の研究から、「肺がん患者で変異が検出される、がん遺伝子上のドライバー変異のマッピング」、「EGFR 分子標的治療薬であるオシメルチニブのオンターゲット耐性変異の網羅的同定」が達成されており、当初の実験計画通り、研究が進められた。

BELT 法を用いたドライバー変異スクリーニングで同定された変異箇所の出現分布は、(特に *KRAS*, *EGFR* において)臨床の患者分布におけるホットスポットとコドン位置が一致していること、in silico による疾患度予測スコアと相関していることから、本手法による機能変異スクリーニングは、標的遺伝子上における機能的変異マッピングの汎用的有用性が期待できる。また、同定された分子標的薬のオンターゲット薬剤耐性変異のリストについては企業と連携し、コンパニオン診断薬の開発などにつなげていきたい。

5. 研究発表

(1)学会誌等

なし

(2)口頭発表

① 吉田圭介, 本田一文 「Comprehensive and Accelerated Detection of Driver Mutations through Single-Nucleotide Random Mutagenesis of Target Genes」 The 3rd JCA-AACR Precision Cancer Medicine International Conference 2025年6月29日

② 吉田圭介 「早い! 安い! うまい! – 標的遺伝子領域へのランダム変異導入による網羅的ドライバー変異の同定法の開発」 日本分子腫瘍マーカー研究会 2025年9月24日

③ 吉田圭介 「標的遺伝子領域への1塩基ランダム変異の導入による迅速なドライバー変異の網羅的同定」 第84回 日本癌学会 学術集会 2025年9月25日

(3)出版物

① Yoshida K. et. al. "Comprehensive and accelerated mapping of driver mutations through single-nucleotide random mutagenesis of target genes" (BioRxiv: https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2025.11.05.686667v1.full)

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

学　校　名	**自　治　医　科　大　学**	研究所名等	
研 究 課 題	骨髄と心血管の老化連関の解明	研 究 分 野	医　　学
キーワード	① 骨髄老化 ② 心血管老化 ③ 臓器連関		

〇研究代表者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
松　村　　貴　由	自　治　医　科　大　学 分子病態治療研究センター 心 血 管・遺 伝 学 研 究 部	教　　授	研究の総括 特に骨髄の解析とバイオインフォマティクスを担当

〇研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
岩　　田　　洋	順天堂大学 循環器内科	准　教　授	実験・論文作成 特にヒトサンプルの解析を担当
澤　城　大　悟	自　治　医　科　大　学 臨　床　薬　理　部　門	准　教　授	実験・論文作成 特に心臓の解析を担当
東　邦　康　智	自　治　医　科　大　学 分子病態治療研究センター 心 血 管・遺 伝 学 研 究 部	講　　師	実験・論文作成 特に心臓の解析を担当

骨髄と心血管の老化連関の解明

1. 研究の目的

65歳以上の“健常な”高齢者の10%に、悪性腫瘍関連の遺伝子異常をもつ細胞が選択的に増殖する、クローン性造血(CHIP)という現象が報告され、CHIPは30-40%死亡率を増加させるが、その原因は白血病よりもむしろ心血管疾患であることが示された。したがって、骨髄の老化が心血管疾患の増悪に寄与することは明らかである。しかし、マウスの寿命は約２年と短いため、通常飼育のマウスにCHIPはおきない。適切な動物モデルがないなどの理由で、骨髄の老化やCHIPがどのように心血管不全を引き起こすかについてはいまだ不明な点が多く残されている。

一方、心不全はあらゆる心疾患に伴う心臓の構造的機能的変化(心リモデリング)の終末像であり、血液を送り出すポンプ機能が低下した状態である。心不全も加齢関連疾患の一つであり、認知機能や活動度を低下させるのみならず、心不全や心筋梗塞が骨髄造血幹細胞の機能を低下させるというヒト及びマウスの観察研究は散見されるものの、その分子生物学的機序について詳細にはわかっていない。

研究代表者らは、骨髄と心血管の機能は老化とともに低下し、骨髄の老化と心血管の老化は互いに悪影響を与えながら相互の老化を進行させ、悪循環のサイクルを形成していると考えている。しかし、骨髄と心血管の老化連関を包括的にとらえた研究はこれまで多くはない。

これらのことを踏まえ、本研究では、これまで個々の研究者が個別に行ってきた老化骨髄の研究と老化心血管の研究を統合し、骨髄と心血管の老化連関の本質を明らかにすることを目的としている。

2. 研究の計画

短期的にはまず、骨髄の老化、心血管の老化のより包括的な理解のため、造血幹細胞の外的因子制御による骨髄老化モデルマウスの確立、および心血管老化モデルマウスの作成を計画している。さらに、骨髄老化が動脈硬化や心不全を促進させる機序を特にインフラマソームに着目して解明すること、心血管の老化が慢性炎症や交感神経活動を介して骨髄不全を起こす機序を解明すること、より長期的には、それまでに得られた知見をヒト検体、特にヒト心臓病理検体を用いて評価し、バイオマーカーや創薬シードとしての有用性を探索することを計画している。

3. 研究の成果

造血幹細胞の老化がどのように心血管疾患の発症・増悪に関与するのかを明らかにするために解析を進めた。研究代表者らは以前より老化造血幹細胞の不均一性に対応すべく、若年および老化造血幹細胞のシングルセル解析を行っていた。老化造血幹細胞集団の中でも、ミトコンドリア量の多い造血幹細胞の方が高い自己複製能を保持し、ATP産生能が高い一方でミトコンドリア膜電位は低く維持されており、活性酸素種の過度な蓄積も認められなかった(Nature Aging 2025)。このような造血幹細胞の不均一性をきたす原因の探索を進め、ミトコンドリア量の多い老化造血幹細胞に特徴的な表面マーカーを複数同定した。その一部は、循環器疾患との関連がすでに報告されているため、骨髄老化と循環器疾患の関連を示す鍵因子として注目している。

また、本研究では骨髄老化研究を効率よく進めるため、骨髄老化促進モデルを作成することも目的の一つとして掲げていた。喫煙者にCHIPが多いことに着想をえ、加熱式タバコ煙をマウスに8週間吸引させ、骨髄に炎症を惹起させるモデルを構築した。好中球系細胞の有意な増加とB細胞系列の分化抑制を認めた他、タバコ煙負荷後の造血幹細胞の網羅的遺伝子解析により、タバコ煙による各種の遺伝子変化が明らかになった。骨髄造血幹細胞培養へのタバ

コ抽出液負荷でも同様の所見が得られており、骨髄老化促進モデルとして有望なものになると考えている。

また、本研究では、ヒト検体を用いた解析も目的の一つとして掲げていた。変性トランスサイレチンが老化に伴い蓄積するATTRwt心アミロイドーシスは心臓老化の最終像とも考えられている。ヒト心筋生検サンプルの空間トランスクリプトーム解析にて、心不全関連遺伝子のみならず、他臓器のアミロイドーシスで関連が報告されている遺伝子の発現亢進なども確認した。さらに、3次元電子顕微鏡により、心アミロイドーシスにおける細胞の構造変化のみならず、おそらくミトコンドリア代謝異常を反映するミトコンドリア構造の微小変化を検出することに成功した。これらの変化の一部は骨髄由来マクロファージの老化による機能低下によるものと考えられるため、ヒト生検サンプル側からも骨髄老化がいかに心血管疾患の増悪につながるかについての解析を進めている。

4. 研究の反省・考察

本研究は、骨髄と心血管の老化連関というこれまであまり注目をされていなかった病態の解明を目指したものである。本研究に対する助成は1年間であったため、老化マウスを用いた実験よりも、ヒトサンプルを用いて老化に伴う心臓の変化を骨髄細胞の観点から捉える研究の方が進展著しかった。特にヒト検体を用いた解析については、初年度の成果としては当初の予想を超える成果が得られ、今後の研究方向性の基礎となる重要なデータが得られたと考えている。

ヒト心筋サンプルを用いた研究は国内でも比較的珍しく、現在の方向性の研究を継続しつつ、今後はこれまで得られたデータをもとに、さらに、心臓老化が骨髄老化に与える影響も踏まえながら、二つの臓器の間の老化連関の研究を進めていきたいと考えている。

5. 研究発表

(1)学会誌等

なし

(2)口頭発表

① Saito S, Sawaki D, Matsumura T, Kamioka M, Komori T, Harada K, Imai Y, Ohno N, Kario K. Diverse anatomical and metabolic effects of amyloid deposits in transthyretin cardiac amyloidosis revealed by 3D reconstruction of serial block face-scanning electron microscopy images. European Society of Cardiology Congress 2026. Munich, Germany. 2026/8/28-31 (演題採択済).

② Sawaki D, Matsumura T, Aoyama Y, Saito S, Kamioka M, Komori T, Harada K, Imai Y, Kario K. Spatial transcriptomics of human cardiac biopsy samples reveals gene expression signature of cardiac amyloidosis. European Society of Cardiology Congress 2025. Madrid, Spain. 2025/8/29-9/1

(3)出版物

① 戸谷治仁, 松村貴由, 須田年生. 老化骨髄におけるGPR183高発現・ミトコンドリア多量型造血幹細胞の自己複製能と生存優位性. 実験医学 2025年8月号.

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

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		

〇研究代表者

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

〇研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
宮　坂　力	桐 蔭 横 浜 大 学 医　用　工　学　部	特 任 教 授	研究に対する助言
中　村　唯　我	高輝度光科学研究センター	研　究　員	放射光実験
宮　澤　優	宇 宙 航 空 開 発 機 構	研　究　員	宇宙太陽電池に対する助言
金　谷　周　朔	宇 宙 航 空 開 発 機 構	研　究　員	宇宙太陽電池に対する助言

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。

2. 研究の計画

①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。
②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。
③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。

3. 研究の成果

2023 年度から 2025 年度までの継続課題において、下記を達成した。
①宇宙空間の太陽光スペクトルをソーラーシミュレーターにより再現し、変換効率 23%を達成した。
②放射線耐久性（電子線照射）後、変換効率を維持することが分かった。
③ペロブスカイト太陽電池は負の温度係数を有することが分かった。
④ペロブスカイト太陽電池サブモジュールを作製し、変換効率、温度係数が研究室サイズのペロブスカイト太陽電池と同様の挙動をすることが確認できた。

4. 研究の反省・考察

反省点としては、様々な宇宙放射線に対する耐久性の評価を実施することが出来なかったことが、あげられる。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。宇宙空間での利用を見据えて、各種放射線耐久性に対する挙動や材料の最適化が今後の課題として残るが、本研究助成を得たことで、この分野に対して大きな進展をもたらすことが出来た。

成果としては、日経新聞 1 面（2024 年 6 月 17 日）や多数の学術論文を発表することができ、今後のペロブスカイト太陽電池の進展の礎となる成果が得られた。

5. 研究発表

（１）学会誌等

①Tatsuya Ohsawa*, Naoyuki Shibayama*, Nobuhiro Nakamura, Shigeto Tamura, Ai Hayakawa, Yohei Murayama, Kohei Makisumi, Michitaka Kitahara, Mizuki Takayama, Takashi Matsui, Atsushi Okuda, Yuiga Nakamura, Masashi Ikegami, Tsutomu Miyasaka, “A Phthalocyanine-Based Polycrystalline Interlayer Simultaneously Realizing Charge Collection and Ion Defect Passivation for Perovskite Solar Cells” *Journal of Materials Chemistry A*, **2024**, 12, 22510. (Front cover)

②Naoyuki Shibayama*, Shota Fukumoto , Hiroyuki Kanda , Takaya Shioki , Takeshi Fukuda , Yoshihiro Oka , Yuichi Haruyama , Satoru Suzuki , Seigo Ito*, “Temperature dependence of spray pyrolysis deposited NiOx layer in inverted perovskite solar cells” *Oxford Open Energy,* **2024**, 3, oiae003.

③Tomoyuki Tobe, Naoyuki Shibayama*, Yuiga Nakamura, Masashi Ikegami, Hiroyuki Kanda, Tsutomu Miyasaka*, Chemistry – An Asian Journal, **2024**, 19, e202400686.

④Shun 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, Mohammad Khaja Nazeeruddin*, *Small*, 2024, 20, 2406929.

⑤Jaekeun Lim, Alwani Imanah Rafieh, Naoyuki Shibayama, Jianxing Xia, Jean-Nicolas Audino, Tom Wirtz, Sachin Kinge, Stefan W. Glunz, Yong Ding, Bin Ding, Hobeom Kim, Michael Saliba*, Zhaofu Fei*, Paul J. Dyson*, Mohammad Khaja Nazeeruddin*, Hiroyuki Kanda*″Ultra-uniform perovskite crystals formed in the presence of tetrabutylammonium bistriflimide afford efficient and stable perovskite solar cells″ *Energy & Environmental Science*, **2024**, 17(21), 8209-8218. (TOP 10%論文)
⑥Yuiga Nakamura*, Naoyuki Shibayama*, Hideki Hayashida, Kunihisa Sugimoto, Tsutomu Miyasaka, ″Thermal Expansion Behavior of Halide Perovskite Single Crystals Across a Broad Temperature Range″*European Journal of Inorganic Chemistry*, **2025**, 28(5), e202400682. DOI: 10.1002/ejic.202400682
⑦Natalia Belen Correa Guerrero, M. Dolores Perez*, Naoyuki Shibayama*, Tsutomu Miyasaka*, “Advancements and Prospects for eco-friendly, high-performance silver bismuth halide solar cells” *Chemical Science*, **2025**, 16(14), 5807-5818.
⑧Zhanhao Hu, Nao Saito, Masashi Ikegami, Naoyuki Shibayama* and Tsutomu Miyasaka*, “All-SAM Interfacial Architecture for Perovskite Solar Cells without Charge Transport Materials”, *Chemical Science*, **2026**, 17, 5869.

（２）口頭発表等

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，東京都港区，2025年２月25日（招待講演）
②柴山直之：酸化物ナノ粒子の粒子サイズがペロブスカイト太陽電池の特性に与える影響：第86回応用物理学会秋季学術講演会，（2025年９月10日），口頭発表
③**Naoyuki Shibayama**：*In Situ* Heating WAXS Analysis of Crystallization Dynamics in $FAPbI_3$ Films：2025 KJF International Conference on Organic Materials for Electronics and Photonics (KJF-ICOMEP 2025)（2025年８月26日），ポスター発表

（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，pp4-11.

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

学　校　名	**新　潟　青　陵　大　学**	研究所名等	
研 究 課 題	小規模市町村におけるこども家庭支援モデル構築に関する研究―人口減少時代の市町村子ども家庭施策のあり方を探る―	研 究 分 野	教　育　学
キ ー ワ ー ド	①こども家庭支援　②小規模自治体　③こども家庭センター		

〇研究代表者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
藤　瀬　竜　子	新潟青陵大学福祉心理子ども学部子ども発達学科	教　　授	研究統括・調査・論文執筆・データ分析

〇研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
伊 藤 真 理 子	新潟青陵大学福祉心理子ども学部臨床心理学科	教　　授	調査・論文執筆
坪 川 ト モ 子	新 潟 青 陵 大 学 看 護 学 部 看 護 学 科	教　　授	調査・論文執筆
伊　　藤　　充	新潟青陵大学福祉心理子ども学部子ども発達学科	特 任 教 授	調査・論文執筆
齊　藤　　勇　紀	新潟青陵大学福祉心理子ども学部子ども発達学科	教　　授	調査・論文執筆・データ分析
石 田 真 由 美	新 潟 青 陵 大 学 看 護 学 部 看 護 学 科	助　　教	調査・論文執筆・データ分析
五 十 嵐 久 美 子	新潟青陵大学福祉心理子ども学部子ども発達学科	特 任 助 教	調査・論文執筆・データ分析

小規模市町村におけるこども家庭支援モデル構築に関する研究
－人口減少時代の市町村こども家庭施策のあり方を探る－

1. 研究の目的

2024 年度から、こども家庭センターの設置は市町村の努力義務となり、設置が本格化した。これにより、母子保健と児童福祉の一体的支援体制の構築が進められている。しかし、人口規模や地域特性によって人的資源や地域資源に差があり、とりわけ人口減少が著しい小規模市町村では体制整備に困難を抱えていることが指摘されている。

本研究の目的は、児童福祉、臨床心理、母子保健、教育、保育の多角的な専門知見を統合し、小規模市町村における持続可能なこども家庭支援体制のモデルを構築することである。具体的には、2025～2027 年度までの 3 か年計画で実施する。2025 年度は研究初年度であり、新潟県内の全 30 市町村を対象とした実態調査を通じて、こども家庭センターの設置状況、母子保健と児童福祉の連携実態、地域資源との連携実態、および現場が直面している課題を把握する。

子どもがどこで生まれ、どこで育っても、質の高い支援を受けられる体制の実現を目指し、人口規模や地域性を考慮した「こども家庭支援小規模市町村モデル」の提示を行うことを目指す。

2. 研究の計画

研究初年度となる 2025 年度は、主に以下のプロセスで調査研究を遂行した。

第一に、予備調査として、新潟県内の小規模 2 自治体へのインタビューを実施し、現場の基礎的な課題認識を抽出した。

第二に、新潟県内の全 30 市町村のこども家庭センター（未設置の場合は児童福祉担当課）を対象に、郵送による無記名式質問紙アンケート調査を実施した。調査期間は 2025 年 8 月から 2026 年 3 月までであり、こども家庭センターの設置状況、職員配置、分野間連携の変化、要保護児童対策地域協議会の課題、5 歳児健診の実施状況など、子ども家庭支援に関して多岐にわたる項目について回答を求めた。

第三に、先進的な取り組みを行う県外 2 自治体への現地調査を実施し、地域資源の活用や組織運営の工夫に関する知見を収集した。

最終的に、これらの収集データに基づき、KJ 法の手法を援用した質的な分析および統計的な実態把握を行い、調査報告書として取りまとめる計画とした。

3. 研究の成果

本年度の主要な成果として、新潟県内市町村の 90%（27 市町村）から回答を得た実態調査結果が挙げられる。 まず、こども家庭センターの設置状況については、2025 年 4 月時点で回答自治体の 70.4%（19 市町村）がこども家庭センターを設置済みであったが、人口 1 万人以下の自治体における設置率は、1 万人超の自治体と比較して有意に低かった。職員配置においては、小規模市町村で助産師、社会福祉士、医師、精神保健福祉士といった専門職の配置人数が統計的に有意に少なく、人材確保の困難さが浮き彫りとなった。

母子保健分野と児童福祉分野の分野間連携の分析では、こども家庭センター設置により「同一部署・同一フロア化」が進み、日常的な情報共有が密になることで家庭のアセスメントが深まるなど、連携が個人の努力から組織的な仕組みへと移行している実態が確認された。「変化なし（未設置自治体は変化なしと予測）」との回答も一定数あり、従前から分野間の連携が円滑である自治体もみられた。また「統括支援員」の配置は、虐待通告への迅速な対応や包括的な支援において有効に機能していることも示唆された。さらに、多くの自治体が、臨床心理士や言語聴覚士等の専門職を核とする保育所等への巡回相談（自治体によって呼称は異なる）を実施しており、センター設置に関わらず、すでに日常的な連携体制を構築していた。

一方で、多くの課題も明らかとなった。要保護児童対策地域協議会においては、虐待件数の増加に伴う業務負担の増大や、学校・教育委員会との情報共有の困難さ、義務教育終了後の支援の難しさが指摘された。また、5 歳児健診については実施予定を含め、前向きな検討が進ん

でいるものの、医師の確保や健診後のフォロー体制の未整備が大きな障壁となっていることが明らかとなった。

また、地域資源に関しては、小規模市町村は自治体内に支援をつなぐ民間団体や専門医療機関が不足しており、町村外資源への依存や支援の断絶を招くリスクとして示唆された。

さらに、サポートプランの作成においても、対象者との関係構築の難しさやマンパワー不足により、手交に至るケースが限定的であるという実態が浮き彫りとなった。

4. 研究の反省・考察

本年度の研究を通じて、こども家庭センターの設置が分野間連携を制度的に強化する有効な枠組みであることが再確認された。しかし、同時に、国が掲げる「切れ目なく、漏れなく」という理念の実現には、未だ連携上の問題がある現状が確認された。 特に、乳幼児期までは母子保健主導で一定の支援が届くものの、学童期・思春期以降は教育分野との所管の分断により情報が入りにくくなり、支援の「切れ目」が生じやすいことが考察された。これは、ライフステージごとの制度的・文化的な境界が、支援の継続性を阻害していることを示唆していると考えられる。

また、小規模市町村における課題は、現場の努力のみで解決できる範囲を超える「構造的課題」であると考える。専門職の不足は採用の難しさだけでなく、限られた人員体制のもとで専門性を継続的に確保し、人材育成の体制を維持することの難しさとも関連している可能性がある。今後は、単一自治体での体制整備に固執せず、広域的な運営体制の構築や、県や大学等の研究機関による専門的な伴走的バックアップ機能の強化が不可欠である。

研究における今後の課題として、本年度のアンケート調査によって広範な実態把握はできたものの、各自治体の固有の特色や成功要因の調査が十分ではない点が挙げられる。2026 年度は、小規模市町村へのインタビュー調査を重点的に行うとともに、自治体アセスメント手法を活用した各自治体の現状分析、自治体間のつながりを目的とした研修会の実施により、具体的な支援モデルの構築を進めていく必要がある。

5. 研究発表

(1)学会誌等

なし（研究継続中のため今後予定）

(2)口頭発表

なし（研究継続中のため今後予定）

(3)出版物

①新潟県市町村子ども家庭支援体制の実態調査

～小規模市町村における子ども家庭支援体制モデル構築に向けて～

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

学　校　名	**金　沢　医　科　大　学**	研究所名等	
研 究 課 題	マクロファージによる腫瘍内鉄代謝機構の解明と 革新的がん治療法	研 究 分 野	医　　学
キ ー ワ ー ド	①腫瘍免疫、②マクロファージ、③RNA結合分子、④鉄代謝、⑤がん治療法		

〇研究代表者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
小　内　伸　幸	金沢医科大学医学部	教　　授	研究代表者　統括

〇研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
小　泉　真　一	金沢医科大学医学部	助　　教	実験・データ整理・論文作成
小笠原　千絵	金沢医科大学医学部	助　　手	実験・データ整理

マクロファージによる腫瘍内鉄代謝機構の解明と革新的がん治療法

1. 研究の目的

がんは日本の死亡原因第1位であり、年間約100万人が罹患し37万人超が死亡する社会課題である。化学療法、分子標的薬、免疫チェックポイント阻害剤により治療は進歩したが、正常組織障害、適応患者の限定、耐性化、低い奏効率、免疫関連有害事象、高額な医療費などの限界が残る。特に免疫チェックポイント阻害剤はがん免疫応答を回復させる革新的治療である一方、奏効率は 20〜30%にとどまり、不応答性を規定する腫瘍微小環境の理解とその中で免疫抑制を担う腫瘍関連マクロファージ(Tumor associated macrophage)の制御解明が急務である。

腫瘍関連マクロファージ（TAM）は腫瘍内免疫細胞の中で大きな比率を占め、抗腫瘍T細胞応答の抑制、血管新生、線維化、転移前ニッチ形成を介して腫瘍進展に関与する。TAMに発現するCSF1R、CCR2、CD47/SIRPα、TREM2などを標的とするTAM制御研究は国際的に進展しているが、その多くはTAMの除去、遊走阻害、または表面分子制御を目的としている。一方で、TAMは腫瘍種や治療状況により腫瘍促進型にも腫瘍抑制型にも機能し得るため、一律な除去・阻害は抗腫瘍免疫を損なう危険がある。重要な未解決問題は、腫瘍微小環境に入ったマクロファージが、どのような細胞内機構により腫瘍促進性を維持・その機能を固定化するのかである。

RNA結合タンパク質poly(rC)-binding protein 1（PCBP1）は、mRNAの安定性、局在、翻訳効率を制御し、転写応答から様々な細胞機能を制御している。またPCBP1はRNA結合分子であると同時に鉄代謝制御にも関与するが、TAMにおけるPCBP1依存性の転写後制御機構はほとんど解明されていない。申請者は炎症性腸疾患マウスモデルにおいてPCBP1がマクロファージからのケモカインCCL2/CCL7および炎症性サイトカインTNF-α/IL-6産生を制御することを示しており、PCBP1がマクロファージ機能を規定する分子であるという独自の研究成果を発表している。そこで、本研究ではこの成果を発展させ、腫瘍微小環境におけるTAMの腫瘍促進性は外因性サイトカインやケモカイン刺激だけでなく、PCBP1を中心とする転写後制御ネットワークによって細胞内在的に固定化されるのか、またPCBP1の直接標的RNAは腫瘍免疫抑制、血管新生、腫瘍増殖をどのように制御するのかを解明し、新たながん免疫治療・診断の基盤を構築する。

2. 研究の計画

2025年度計画

① PCBP1欠損によるTAM機能と腫瘍進展の遺伝学的証明

Pcbp1$^{fl/fl}$マウスと*Cx3cr1*^{creERT}マウスを掛け合わしてマクロファージ特異的Pcbp1欠損マウス（*Pcbp1*$^{\Delta Cx3cr1}$マウス）を作製し、コントロールマウス(*Pcbp1*$^{fl/fl}$)と共にタモキシフェン投与する。その後、各種免疫細胞を純化し、mRNAを調整して定量的PCR法によってPCBP1遺伝子がマクロファージ特異的に欠損しているか確認する。確認後、コントロールマウスおよび*Pcbp1*$^{\Delta Cx3cr1}$マウスにB16-F10がん細胞株(2x10^{5}個)を皮下に投与し腫瘍体積を経時的に測定する。その後、腫瘍組織からCD45$^+$CD11b$^+$Ly6G$^-$CD64$^+$ F4/80$^+$細胞を腫瘍関連マクロファージ(TAM)として分取し、Pcbp1 mRNAおよびPCBP1タンパク質低下を確認する。さらに、MRC1/CD206、ARG1、PD-L1、MHCII、iNOS、SPP1、TREM2などの発現、TAM絶対数、腫瘍内分布をフローサイトメトリーおよび多重免疫染色で解析する。またTAMからの各種炎症性サイトカイン(TNFやIL-6など)や免疫細胞浸潤を制御するケモカイン(CCL2、CCL7など)産生量をqPCR法やELISA法にて検討する。各群8〜10匹を標準として独立実験を2回以上行う。

② PCBP1の標的RNA同定と腫瘍関連マクロファージ機能への影響の検討

コントロールマウスおよび*Pcbp1*$^{\Delta Cx3cr}$マウス由来のTAMから調整したmRNAを用いてRNA-seqを行い、PCBP1遺伝子欠損の結果、変化する遺伝子群を同定する。次に、両マウスのTAM由来mRNAと抗マウスPCBP1抗体を用いたRNA沈降-定量PCR(RIP-qPCR)によりPCBP1と直接結合するRNAを同定する。これらRNA-seqとRIP-qPCRの結果からPCBP1が腫瘍促進型TAMの機能を制御する候補分子mRNAを3〜5個に絞る。その後、候補分子mRNAを骨髄由来マクロファージに

おいて Cas9 RNP nucleofection によって除去し、腫瘍促進型遺伝子(Arg1、Il10、Mrc1)や腫瘍抑制型遺伝子(Nos2、Tnf、Il6)発現への影響を検証する。さらに *Pcbp1*$^{\Delta Cx3cr}$ マウス由来のマクロファージに PCBP1 をレンチウイルスベクターによって導入するレスキュー実験を行い、腫瘍促進型遺伝子や腫瘍抑制型遺伝子の発現を検討する。これらの実験によって PCBP1 による TAM 機能を決定する RNA 制御機構を解明し、がん治療創薬に繋がる新たな分子標的を検索する。

3. 研究の成果

① マクロファージ特異的 PCBP1 欠損マウスの作製

コントロールマウスおよび *Pcbp1*$^{\Delta Cx3cr}$ マウスの脾臓から、マクロファージ、単球、好中球、樹状細胞、T 細胞及び B 細胞をセルソーターよって純化し、mRNA を抽出し cDNA を合成後、PCBP1 の発現量を定量的 PCR によって検討した。その結果、マクロファージ特異的に PCBP1mRNA 発現が有意に減少し、他の細胞における発現にはほとんど影響はないことが確認できた。

② コントロールマウスおよび *Pcbp1*$^{\Delta Cx3cr}$ マウスの皮下に MC38 細胞を移植し、継時的に腫瘍の体積を測定した。この結果、投与後 18 日目から *Pcbp1*$^{\Delta Cx3cr}$ マウスではコントロールマウスと比較して著しい腫瘍の増殖抑制が認められた。また、*Pcbp1*$^{\Delta Cx3cr}$ マウスにおいて腫瘍がほとんど増殖しない個体も確認された。

③ コントロールマウスおよび *Pcbp1*$^{\Delta Cx3cr}$ マウスの腫瘍組織から腫瘍浸潤細胞を調整し、腫瘍関連マクロファージの細胞表面マーカー発現を FCM 解析によって検討した。この結果、CD11b^{+}F4/80^{+}Ly6c^{int}CD206^{+}の免疫抑制型マクロファージが著しく減少していることが確認できた。また、*Pcbp1*$^{\Delta Cx3cr}$マウスの腫瘍組織ではCD4^{+}T細胞、CD8^{+}T細胞及びB細胞の数が増加していることが確認できた。

4. 研究の反省・考察

本研究の成果によって、PCBP1 が腫瘍関連マクロファージの腫瘍抑制型機能を決定する細胞内マスター分子であることが示唆された。今後は Pcbp1ΔCx3cr マウスの腫瘍関連マクロファージにおける免疫チェックポイント分子(PDL1 や PDL2 等)の発現やサイトカイン産生能力と行った機能を解析する。また、同マウスの腫瘍浸潤 T 細胞のサイトカイン産生や抗腫瘍活性を検討する。

さらに、抗 PCBP1 抗体を用いた RNA 沈降-定量 PCR によって PCBP1 の標的 RNA と腫瘍関連マクロファージの機能維持機構を同定する。

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

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

学　校　名	**中部学院大学短期大学部**	研究所名等	
研究課題	実習教育における保育実習Ⅰ（施設）・Ⅲプログラムに関する研究―実習施設の実習プログラムに対する保育士養成校の関与状況の検討―	研究分野	教　育　学
キーワード	①保育実習Ⅰ（施設）・Ⅲ実習プログラム、②保育実習Ⅰ（施設）・Ⅲ担当教員、③質問紙調査		

〇研究代表者

氏　名	所　属	職　名	役　割　分　担
村　田　泰　弘	中部学院大学短期大学部 幼　児　教　育　学　科	准　教　授	研究統括、質問紙調査の準備及び実施、 データ分析、研究成果報告書執筆

〇研究分担者

氏　名	所　属	職　名	役　割　分　担
藤　田　哲　也	岐阜聖徳学園大学 短期大学部　幼児教育学科	准　教　授	質問紙調査の準備、データ分析

実習教育における保育実習Ⅰ（施設）・Ⅲプログラムに関する研究
―実習施設の実習プログラムに対する保育士養成校の関与状況の検討―

1. 研究の目的

本研究では、①保育士養成校は、実習施設の保育実習Ⅰ(施設)・Ⅲプログラムを把握しているか、②把握している場合、保育実習Ⅰ(施設)・Ⅲプログラムの作成は、実習施設に一任しているのか・保育士養成校が提供しているのか・実習施設と保育士養成校が協働で作成しているのか・実習生と実習施設と保育士養成校の 3 者が協働して作成しているのか、③把握していない場合の理由は何かについて明らかにすることを目的とする。

2. 研究の計画

１）質問紙の作成

（１）研究代表者による素案の作成

研究代表者は、福祉型障害児入所施設及び障害者支援施設での勤務経験を持ち、保育実習Ⅰ（施設）及び保育実習Ⅲ担当教員として 8 年の経験を有していた。まず研究代表者が 2025 年 4 月 1 日～4 月 10 日の期間で素案を作成した。

（２)研究代表者と共同研究者による素案の検討及び試案の作成

研究代表者と共同研究者が 2025 年 4 月 11 日に対面で素案を検討した。共同研究者は児童養護施設での勤務経験を持ち、保育実習Ⅰ（施設）及び保育実習Ⅲ担当教員として 8 年の経験を有していた。研究代表者が素案の検討結果に基づいて、試案を作成した。

（３)研究代表者と共同研究者以外の保育実習Ⅰ（施設）及び保育実習Ⅲ担当教員による試案の検討及び完成版の作成

研究代表者と共同研究者以外の保育実習Ⅰ（施設）及び保育実習Ⅲ担当教員 2 名に試案について意見を確認した。1 名は研究代表者と同じ法人内の 4 年制大学に所属しており、保育実習Ⅰ（施設）及び保育実習Ⅲ担当教員（教員 A）として 5 年の経験を有していた。もう 1 名は共同研究者と同じ法人内の 4 年制大学に所属しており、保育実習Ⅰ（施設）及び保育実習Ⅲ担当教員（教員 B）として、13 年の経験を有していた。研究代表者と共同研究者がそれぞれ 2025 年 4 月 21 日に直接依頼し、2025 年 5 月 6 日までに対面もしくはメールで試案についての意見を踏まえて、試案の加筆・修正を行い完成版を作成した。その後、研究代表者が所属する研究倫理審査委員会に、質問紙調査に関わる書類について審査を受け承認された（C25－0005)。

２）質問紙調査の手続き

調査対象者は、2025 年度保育士養成協会会員名簿に掲載されている 523 校の保育実習Ⅰ（施設）及び保育実習Ⅲ担当教員に実施した。質問紙調査の実施に当たっては、研究協力の依頼に関する文書と研究の説明に関する文書も同封し、研究協力の依頼に関する文書には「アンケート調査は任意です。ご協力いただけない場合の不利益はありません」という内容を示し、質問紙調査の回答をもって同意を得たと判断した。回答は匿名で実施した。実施期間は 2025 年 9 月 1 日～10 月 31 日の 2 ヶ月間とした。質問紙調査への回答方法は「①アンケート調査用紙（別紙）にご記入のうえ、同封致しました返信用封筒に入れて投函していただくか、もしくは、②下記に記載しました QR コードからご回答ください。①もしくは②のどちらか一つの方法でご回答いただければ幸いです」とした。

保育実習Ⅰ（施設）の質問項目は【質問 1】、【質問 2】、【質問 3】で構成されていた。【質問 1】では「保育実習担当教員として、実習施設で実施されている実習プログラムの内容を把握していますか？ 該当する番号を一つだけ選択してください。」とし、「1. 実習プログラムの内容を把握している⇒【質問 2】の回答をお願いします。」、「2. 一部の実習施設については実習プログラムの内容を把握している。⇒【質問 2】の回答をお願いします。」「3. 実習プログラムの内容を把握していない⇒【質問 3】の回答をお願いします。」であった。

【質問 2】では「【質問１】で「1」又は「2」を選択した回答者は、該当する番号を一つだけ選択してください。」とし、「1. 実習施設に実習プログラムの作成を一任し、その実習プログラムを提出してもらっている。」、「2. 保育実習担当教員が基本となる施設種別ではなく全施設種別共

通の実習基本プログラムを作成し、実習施設に提供している。その後、実習施設が作成した実習プログラムを提出してもらっている。」、「3. 保育実習担当教員が基本となる施設種別に応じた実習基本プログラムを作成し、実習施設に提供している。その後、実習施設が作成した実習プログラムを提出してもらっている。」、「4. 実習施設と保育実習担当教員が立案から完成まで２者間の相互のやり取りを経て作成している。」、「5. 実習生・実習施設・保育実習担当教員が立案から完成まで３者間の相互のやり取りを経て作成している。」、「6. その他（自由記述)」であった。

【質問 3】では「【質問１】で「3」を選択したと回答者は、該当する番号を一つだけ選択してください。」とし、「1. 実習は実習施設で実施するため、実習プログラムの内容を把握する必要はない。」、「2. 実習プログラムの内容を把握する必要性は感じているが、具体的にどのようにすればよいか悩んでいる。」、「3. その他（自由記述)」であった。保育実習Ⅲの質問項目は、保育実習Ⅰ（施設）と同様の内容であった。

3. 研究の成果

１）保育実習Ⅰ（施設）及び保育実習Ⅲの回答校数

回答校数は 523 校中 161 校（30.8%）であった。保育実習Ⅰ（施設）を実施している 161 校、保育実習Ⅲを実施している 154 校を分析対象とした。

２）保育実習Ⅰ（施設）

（１）実習施設で実施されている実習プログラムの内容の把握状況について

【質問 1】については回答のあった 161 校（100%）について述べる。「【質問 1】保育実習担当教員として、実習施設で実施されている実習プログラムの内容を把握していますか？該当する番号を 1 つ選択してください。」では、「1. 実習プログラムの内容を把握している。」が 38 校（23.6%)、「2. 一部の実習施設については実習プログラムの内容を把握している。」が 85 校（52.8%)、「3. 実習プログラムの内容を把握していない。」が 38 校（23.6%）であった。

（２）実習施設に対する実習プログラム作成及び提出について

【質問 2】については回答があった 123 校（76.4%）の回答について述べる。「【質問 2】質問 1 で「1」または「2」を選択した回答者は、該当する番号を 1 つ選択してください。」では、「1. 実習施設に実習プログラムの作成を一任し、その実習プログラムを提出してもらっている。」が 54 校（43.9%)、「2. 保育実習担当教員が基本となる施設種別ではなく全施設種別共通の実習基本プログラムを作成し、実習施設に提供している。その後実習施設が作った実習プログラムを提出してもらっている。」が、13 校（10.6%)、「3. 保育実習担当教員が基本となる施設種別に応じた実習基本プログラムを作成し、実習施設に提供している。その後実習施設が作った実習プログラムを提出してもらっている。」が 11 校（8.9%)、「4. 実習施設と保育実習担当教員が立案から完成まで２者間の相互のやり取りを経て作成している。」が 5 校（4.1%)、「5. 実習生・実習施設・保育実習担当教員が立案から完成まで 3 者間の相互のやり取りを経て作成している。」が 1 校（0.8%）であった。「6. その他」では 39 校（31.7%）であり、自由記述には「上記 1 の内容だが、提出はして頂かない。巡回指導の際に資料を見せて頂いたり、口頭で教えて頂くことで把握している。」「実習施設に実習プログラムの作成を一任し、その実習プログラムを学生が学校に提出している。」「回答者は、施設担当となり 3 年目です。①施設担当初年度から受け入れている施設については、学生への事後指導で実習期間中に渡された資料を手に入れて把握しています。②今年度から新規に受け入れをお願いした施設については、事前に保育実習担当教員と実習先の担当職員で打ち合わせを行い、保育実習の目標やスケジュールに合意していただきました。」等の記載があった。

（３）今後の実習施設に対する実習プログラム作成及び提出についての考え

【質問 3】については回答があった 38 校（23.6%）の回答について述べる。「【質問 3】質問 1 で「3」を選択した回答者は該当する番号を 1 つ選択してください。」では、「1. 実習は実習施設で実施するため、実習プログラムの内容を把握する必要はない。」が 1 校（2.6%)、「2. 実習プログラムの内容を把握する必要性は感じているが、具体的にどのようにすればよいか悩んでいる。」が 26 校（68.4%）であった。「3. その他」では 11 校（29.0%）であり、自由記述には「実習の目的、内容を各実習施設に示しており、それを基に施設様に実習プログラムを作成していただいている。施設の種別、職員体制等もあり、実習プログラムを一律にすることは困難。実施したプログラムは学生の日誌にて確認している。」「実習プログラムというものが必要だという認識がなかった。」「実習プログラムは施設が作成すべきものだが、依頼する学校として求める標準

について本学の「保育実習要綱（居住型施設等、児童厚生施設等)」の中で示し、ご理解いただくようにしている。」等の記載があった。

３）保育実習Ⅲ

（１）実習施設で実施されている実習プログラムの内容の把握状況について

【質問 1】については回答があった 154 校（100%）の回答について述べる。「【質問 1】保育実習担当教員として、実習施設で実施されている実習プログラムの内容を把握していますか？該当する番号を 1 つ選択してください。」では、「1. 実習プログラムの内容を把握している。」が 42 校（27.3%)、「2. 一部の実習施設については実習プログラムの内容を把握している。」が 67 校（43.5%)、「3. 実習プログラムの内容を把握していない。」が 45 校（29.2%）であった。

（２）実習施設に対する実習プログラム作成及び提出について

【質問 2】については回答があった 109 校（70.8%）の回答について述べる。「【質問 2】質問 1 で「1」または「2」を選択した回答者は、該当する番号を 1 つ選択してください。」では、「1. 実習施設に実習プログラムの作成を一任し、その実習プログラムを提出してもらっている。」が 48 校（44.0%)、「2. 保育実習担当教員が基本となる施設種別ではなく全施設種別共通の実習基本プログラムを作成し、実習施設に提供している。その後実習施設が作った実習プログラムを提出してもらっている。」が 15 校（13.8%)、「3. 保育実習担当教員が基本となる施設種別に応じた実習基本プログラムを作成し、実習施設に提供している。その後実習施設が作った実習プログラムを提出してもらっている。」が 7 校（6.4%)、「4. 実習施設と保育実習担当教員が立案から完成まで 2 者間の相互のやり取りを経て作成している。」が 4 校（3.7%)、「5. 実習生・実習施設・保育実習担当教員が立案から完成まで 3 者間の相互のやり取りを経て作成している。」が 1 校（0.9%）であった。「6. その他」では 34 校（31.2%）であり、自由記述には「実習懇談会等にて、大学からプログラムについての依頼をするが、全施設が懇談会に参加するわけではないので周知しているとは言い難いのが現状である。」「保育実習Ⅰと同様。」「実習施設に実習プログラムの作成を一任し、その実習プログラムを学生が学校に提出している。」「実習生が行う事前訪問時にプログラムが提示されるので、訪問後の指導時に把握し、必要な助言等を行っている。」「先ほどと同じ」「Ⅰに同じ。」「実習施設に実習プログラムの作成を一任し、その実習プログラムを提出してもらっている。作成していない施設については、保育実習Ⅲとしてふさわしい実習内容となっているか口頭や日誌で確認している。」「本学では、保育実習Ⅲを、児童厚生 2 級指導員資格取得希望者向けに開設しており、実習先を児童館のみとしている。実習先には資格認定元である財団の実習受け入れマニュアルを提供し、それに示されている実習モデルを参照していただいている。実際には、実習先の都合等によりモデル通りに実施されない場合もある。」「施設が学生に配布している資料により確認。共通の手引きに従い実習を行っている。」「Ⅰ. 質問 2 に同じ。」等の記載があった。

（３）今後の実習施設に対する実習プログラム作成及び提出についての考え

【質問 3】については回答があった 45 校（29.2%）の回答について述べる。「【質問 3】質問 1 で「3」を選択した回答者は該当する番号を 1 つ選択してください。」では、「1. 実習は実習施設で実施するため、実習プログラムの内容を把握する必要はない。」が 1 校（2.2%)、「2. 実習プログラムの内容を把握する必要性は感じているが、具体的にどのようにすればよいか悩んでいる。」が 25 校（55.6%）であった。「3. その他」では 19 校（42.2%）であり、自由記述では「開講しているが、希望者がいなかった。」「そもそも、本学では、開講はしていますが、履修者がいたことがありません（全員が 2 回目の保育所実習を希望しています)。」「基本的には保育実習 Ib を行い、保育実習Ⅲを行う学生がいない。」「実習 1 と同様。実習Ⅲの目的と内容を示している。各施設でどのようなプログラムが実施されているのかを、実習連絡会で統計や具体的な例を示し説明している。実習担当者様が計画を立てる参考になればと考えている。」「本学科では開講されていない科目であるため。」等の記載があった。

4. 研究の反省・考察

本研究は、保育実習Ⅰ（施設）および保育実習Ⅲにおける実習プログラムに対する保育士養成校の関与状況を明らかにすることを目的として実施したものである。とりわけ、実習施設が作成する実習プログラムを養成校がどの程度把握し、どのような形で作成に関与しているのかを検討した点に意義がある。

１）実習プログラム把握の現状と課題

結果より、保育実習Ⅰ（施設）では76.4%、保育実習Ⅲでは70.8%の養成校が「把握している」または「一部把握している」と回答している。一方で、「把握していない」と回答した養成校もそれぞれ 23.6%、29.2%存在していた。このことから、多くの養成校が実習プログラムの内容を何らかの形で把握しようとしていることは確認できる。しかしながら、「一部把握している」が最も高い割合を占めていることから、すべての実習施設について体系的・継続的に把握している状況には至っていないと考えられる。さらに注目すべきは、「把握していない」と回答した養成校の多くが「必要性は感じているが、具体的な方法に悩んでいる」としている点である。これは、実習プログラム共有の重要性に対する認識はあるものの、制度的裏付けや具体的方策が十分に整備されていない現状を示している。自由記述からは、「実習プログラムという概念自体が不明確である」との意見も見られた。すなわち、実習プログラムが日課表レベルのものを指すのか、目標や評価観点を含む体系的な計画を指すのかについて、養成校間で共通理解が十分に形成されていない可能性が示唆される。この点は、今後の実習教育の質保証を考える上で重要な課題である。

２）実習プログラム作成における関与形態

実習プログラムの作成主体については、保育実習Ⅰ（施設）・Ⅲともに「実習施設に一任し、提出してもらっている」が最も多く、約4割を占めていた。一方で、養成校が基本プログラムを作成し施設に提供している事例は 2 割前後にとどまり、施設と養成校が双方向で作成している割合は数%に過ぎなかった。さらに、実習生を含めた三者協働による作成は極めて少数であった。本研究の問題意識は、実習生・実習施設・養成校の三者協働による実習プログラム作成が満足度向上および福祉施設への就職促進につながる可能性にあった。しかし、現状では実習プログラムの多くが施設主導で作成され、養成校は巡回指導、実習日誌、事前訪問後の報告等を通して間接的に把握しているにとどまっている実態が明らかとなった。このような間接的把握は、一定の実効性を持つ一方で、厚生労働省が示す目標・内容との整合性を体系的に確認するには限界があると考えられる。とりわけ、先行研究が指摘するように、目標や内容に即した実習プログラムが作成されていない可能性がある場合、養成校側の関与の在り方については再検討が必要である。

３）地域事情と力動構造

自由記述からは、実習先確保が困難な地域では養成校側から強い要望を出しにくいという実態も示された。また、人手不足の施設において実習生が労働力として機能している可能性に言及する回答も見られた。これらは、養成校と実習施設の関係が必ずしも対等なパートナーシップに基づくものではなく、地域的・構造的要因によって左右されていることを示している。その結果、実習プログラムの提出や共同作成を制度化することが困難となり、任意的・慣行的な運用に委ねられている状況が生じていると考えられる。したがって、実習プログラムの標準化や義務化を一律に求めるのではなく、地域連絡協議会や実習懇談会等の場を活用しながら、段階的に共通理解を形成していくアプローチが現実的であると考えられる。

４）保育実習Ⅰ（施設）と保育実習Ⅲの連続性

保育実習Ⅲにおいては、履修者が少ない、あるいは開講のみで実施実績がない養成校も一定数存在していた。このことは、福祉施設への関心が十分に高まっていない現状を示すものであり、保育実習Ⅰ(施設)の質がその後の進路選択に大きく影響している可能性がある。しかしながら、保育実習Ⅰ（施設）と保育実習Ⅲで実習施設種別が異なる場合が多く、連続的な学びが構造的に難しいという課題もある。実習プログラムが明文化され、目標や到達課題が共有されていれば、保育実習Ⅰ（施設）から保育実習Ⅲへの学修の連続性を意識的に設計することが可能となるが、現状ではその基盤が十分に整備されているとは言い難い。したがって、実習プログラムは単なる日程表ではなく、学修成果を可視化し、実習間の連続性を担保する教育的ツールとして位置づけ直す必要がある。

5. 研究発表

(1)学会誌等

①2026年度岐阜聖徳学園大学教職教育センター紀要に投稿予定である。

(2)口頭発表

①予定なし

(3)出版物

①予定なし

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

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 －2標的3作用機序を持つiPS応用Off-the-shelf化－	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、⑧他家γδT細胞		

〇研究代表者

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

〇研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
川　瀬　孝　和	藤 田 医 科 大 学 国際再生医療センター	准 教 授	実験・論文作成
久　保　貴　紀	安 田 女 子 大 学 薬　学　部	准 教 授	実験・データ整理
榎　本　篤	名古屋大学大学院 腫 瘍 病 理 学	教　　授	実験・データ整理
今　井　千　速	富　山　大　学 医 学 部 小 児 科	教　　授	実験・データ整理
服　部　裕　次	藤 田 医 科 大 学 国際再生医療センター	助　　教	実験・データ整理

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
－２標的３作用機序を持つiPS応用Off-the-shelf化－

1. 研究の目的

キメラ抗原レセプターT細胞(CAR-T細胞)療法は再発難治B細胞性血液腫瘍患者に対し、寛解率・予後において画期的な結果をもたらした。しかし、固形がん患者ではCAR-T細胞療法の効果は限定的である。これは主に以下の要因が考えられている。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)が極めて多く、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おり、疲弊化が進行する。2) TMEには制御性T細胞(Treg)が非常に多い。3)TMEには免疫抑制機能を有するM2マクロファージが多く、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。4) 抗原認識部位であるCARのscFv(single chain Fv)は通常マウス由来であり、患者の持つ免疫によって排除されやすい。5) CARに対する抗原の発現低下がみられ、耐性化しやすい。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している。また、腫瘍を標的にするばかりでなく、TMEも改善させる必要がある。

以上より、我々は希少癌である骨軟部腫瘍細胞、CAFに共発現するMeflin抗原に着目し、CAR-T細胞を作成した。マウス由来scFv(m)抗Meflin-CAR-T細胞は効果的に骨肉腫細胞、横紋筋肉腫細胞をin vitroで傷害した。さらに、ヒト由来(h)抗Meflin抗体をクローニングし、ヒト由来(h)抗Meflin-CAR-T細胞も作成した。このh抗Meflin-CAR-T細胞は上記腫瘍細胞に対し、m抗Meflin-CAR-T細胞と同等の抗腫瘍効果を示した。次に、マクロファージのSIRPα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。抗CD47抗体はヒトおよびマウスのM2マクロファージの細胞数の低下・M1様マクロファージへのシフトによる貪食作用の促進などの効果が報告されている。CD47は悪性腫瘍細胞に発現が高く、抗CD47抗体療法は固形がん患者の予後を改善したばかりでなく、副作用は許容範囲内である。我々はm抗CD47-CAR-T細胞およびh抗CD47-CAR-T細胞を作成し、白血病細胞・骨髄腫細胞に対しin vitroおよびin vivoで抗腫瘍効果を確認した。

off-the-shelf化というコンセプトに従い、killer活性を有するiPS由来再生CTL(iPS-rCTL)にCARベクター(抗CD38-CARおよび抗CD19-CAR)を導入し、抗腫瘍効果を検討した。CAR-iPS-rCTLの抗腫瘍効果は概して不安定であり、iPS使用における高額な使用料等も考慮し、iPS-rCTL以外のエフェクター細胞としてγδT細胞の使用を検討した。iPS-rCTLを使用する場合、MHC拘束性細胞障害を示すため、MHCを一致させるか、TRAC遺伝子(T Cell Receptor Alpha Constant)およびCD52をノックアウトする必要があるが、γδT細胞はMHC非拘束性細胞障害を示し、疲弊化にきわめて抵抗性である。しかし、γδT細胞は末梢血では非常に少ない分画であるため、増殖により十分な量を確保できるかが問題となる。そこで、γδT細胞をin vitroで増殖可能かどうか検討した。末梢血50mlから大人複数人分以上に相当するγδT細胞の増殖培養に成功し、しかもγδT細胞は同じCARを有するiPS-rCTLよりも高い抗腫瘍効果を安定的に認めた。さらに2025年7月4日、骨髄腫細胞株に対しh抗CD47-CAR-γδT細胞はin vivoにおいて明らかな抗腫瘍効果を示した。

この研究ではCD47/Meflinの発現が高く、再発難治で予後不良な希少がん・骨軟部腫瘍を対象とし、h抗CD47-h抗Meflin-dual targeting CAR-γδT細胞を開発する。この細胞は骨軟部腫瘍細胞に対し、直接的な抗腫瘍作用とM2マクロファージの数の低下および貪食機能を活性化させ、さらにCAFも抑制するという間接効果を有す”dual targeting triple effect”が期待できる。scFvを含めヒト由来であるためoff-the-shelfを考えた便宜性の高い投与が可能となり、価格の低減化も期待できる。

2. 研究の計画

前年度においてoff-the-shelf化というコンセプトに従い、iPS-rCTLにCARベクター(抗CD38-CARおよび抗CD19-CAR)を導入し、抗腫瘍効果を検討した。CAR-iPS-rCTL細胞の抗腫瘍効果は概して不安定であり、iPS-rCTL以外のエフェクター細胞を使用することとし、γδT細胞の使用を検討した。まず、γδT細胞は末梢血では非常に少ない分画であるため、γδT細

胞を in vitro で増殖可能かどうか検討した。末梢血 50ml から大人複数人分以上(2.5～5x108x 複数人分(3～5 人))に相当するγδT 細胞の増殖培養に成功し、しかもγδT 細胞は同じ CAR を有する iPS-rCTL よりも高い抗腫瘍効果を安定的に認めた。

h 抗 CD47-CAR-γδT 細胞、h 抗 Meflin-CAR-γδT 細胞の抗腫瘍効果を確認したため、h 抗 CD47-h 抗 Meflin-dual targeting CAR ウイルスベクターを作成し、γδT 細胞に遺伝子導入する。dual-targeting CAR の発現を確認するには、抗 CD47-CAR の scFv はλ light chain 由来であり、抗 Meflin-CAR の scFv はκ light chain 由来であるため、λおよびκの抗体で検出できる。CD47 および Meflin 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て h 抗 CD47-h 抗 Meflin-dual targeting CAR-γδT 細胞の抗腫瘍効果を in vitro にて解析する。また、患者由来単球/マクロファージの活性化・抗腫瘍効果への評価も重ねて解析を行う。

3. 研究の成果

まず、h 抗 Meflin-CAR-γδT 細胞は 2 種類の骨肉腫細胞株(Meflin 陽性)、1 種類の横紋筋肉腫細胞株(Meflin 陽性)に対し、in vitro で顕著な抗腫瘍効果を発揮した（xCELLigence を使用した)。そこで、in vivo において HS-OS1(骨肉腫細胞株)を移植した xenografted model を作成し、in vivo imaging で抗腫瘍効果を検討した。In vivo imaging において腫瘍増殖をほぼ完全に抑制した。しかし、マウスにおいて下痢により、マウスが衰弱し、死亡した。今度は腫瘍を移植しない NOG マウスにおいても同様に下痢が認められた。これらのことから h 抗 Meflin-CAR-γδT 細胞における off-target 効果により起こった副作用と考えられた。小腸にも Meflin がわずかに発現が認められたことから、Meflin に対して low affinity の別のクローンを使った h 抗 Meflin-CAR-γδT 細胞を作成、使用し、in vitro 実験を同様に行った。抗腫瘍効果は前回使用した high affinity h 抗 Meflin-CAR-γδT 細胞の抗腫瘍効果とほぼ同等であった（むしろ、強い傾向)。次に、in vivo において NOG マウス（腫瘍細胞を移植していない）で low affinity h 抗 Meflin-CAR-γδT 細胞の off-target 効果を確認した。マウスは下痢などを全く起こさず､副作用･副反応は全く見られなかった｡low affinity h 抗 Meflin-CAR-γδT 細胞を使用し、HS-OS1 細胞を移植した xenografted マウスで実験を行っている。予備的結果であるが、抗腫瘍効果が認められ、副作用も全く認められていない。

h 抗 CD47-CAR-γδT 細胞の抗腫瘍効果を in vitro で確認したことから悪性腫瘍細胞移植 xenografted マウスでその効果を in vivo imaging で解析した。ところが、抗腫瘍効果は極めて弱く、マウス生存には影響を与えなかった。h 抗 CD47-CAR-γδT 細胞が認識する epitope と違う部位を認識する別の h 抗 CD47-CAR-γδT 細胞を使用し、解析中である。

4. 研究の反省・考察

In vivo での解析により dual CAR-γδT 細胞を作成することにしていたが、どちらもクローンを変更することになった。しかし、affinity の違いにより効果・副作用が大きく異なることが明らかとなった。別の h 抗 CD47-CAR-γδT 細胞の結果を踏まえ、dual CAR-γδT 細胞を作成する予定である。同時に、この 2 つの CAR を投与した xenografted マウスでも実験を行う予定である。

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

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

学　校　名	**名　　城　　大　　学**	研究所名等	
研 究 課 題	プラズマ処理バイオマスを用いた農業革命 －プラズマ処理バイオマス中の植物成長調整物質の同定－	研 究 分 野	農　　学
キ ー ワ ー ド	①植物バイオマス②プラズマ処理③稲わら④バイオスティミュラント		

〇研究代表者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
志　水　元　亨	名 城 大 学 農 学 部	准　教　授	研究統括、プラズマ処理稲わら中の活性物質の特定

〇研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
伊　藤　昌　文	名 城 大 学 理 工 学 部	教　　授	未利用植物バイオマスのプラズマ処理条件最適化
加　藤　雅　士	名 城 大 学 農 学 部	教　　授	微生物に対する研究
塚　越　啓　央	名 城 大 学 農 学 部	教　　授	植物に対する研究

プラズマ処理バイオマスを用いた農業革命
－プラズマ処理バイオマス中の植物成長調整物質の同定－

1. 研究の目的

気候変動や国際情勢の不安定化は、日本の食料安全保障にとって大きなリスク要因となっている。水耕栽培農法は、気候に依存しない安定した作物生産や、土地・水資源の効率的利用が可能であることから、これらのリスクを克服する持続可能な食料生産システムとして注目されている。一方で、本農法では養液を介して栽培を行うため、微生物の繁殖による病害や腐敗を抑制する目的で農薬の使用が不可欠であり、農薬を含む養液の廃棄処理が環境負荷の観点から課題となっている。

我々はこれまでに、大気圧プラズマ処理[注 1)]を施した未利用バイオマス資源である稲わら（以下、プラズマ処理稲わら）をモデル植物シロイヌナズナの培地に添加することで、根毛および側根形成が顕著に促進されるとともに、地上部の成長が促進されクロロシスが抑制されることを見出した。また同条件において、大腸菌の生育が抑制されることも明らかにしている。これらの結果は、プラズマ処理によってバイオマス中に生成した物質が、植物成長促進と微生物抑制という二つの機能を同時に発揮している可能性を示唆するものである。しかしながら、これらの効果を担う活性本体およびその作用機構については未解明であった。

本研究では、プラズマ処理稲わら中に生成する低分子化合物群に着目し、植物の成長促進機構、ならびに微生物の生育抑制機構を分子レベルで解明することを目的とする。最終的には、稲わらに加えて廃材や食物残渣などの非可食バイオマス資源にも対象を拡張し、プラズマ処理によって得られる機能性物質を水耕栽培および露地栽培へ適用することで、新規な植物成長促進剤かつ微生物制御資材としての実用化を目指す（図 1）。

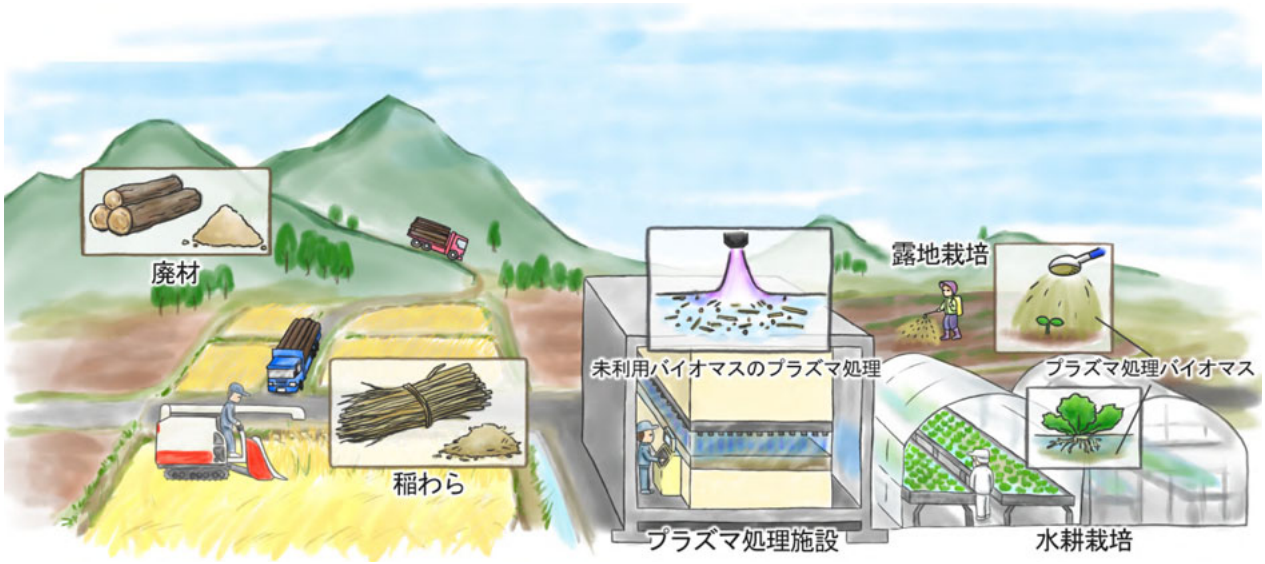


図 1. プラズマ処理バイオマスを活用した農業革命

本研究で用いるプラズマ処理バイオマスは未利用資源を原料とすることから、環境負荷が低く、資源循環型社会の実現にも寄与する。さらに、植物成長促進と微生物抑制を同一濃度域で達成可能な天然由来資材として、日本の農業生産体系に革新をもたらすことが期待される。

（注 1）大気圧プラズマ処理：大気圧プラズマ発生装置により生成した高速電子の衝突により、酸素・窒素分子が解離し、高反応性ラジカル種を生成する処理技術

2. 研究の計画

本研究では、プラズマ処理稲わらに由来する生理活性物質の同定と作用機構の解明を目的として、（1）植物に対する研究、（2）微生物に対する研究、（3）生理活性物質の特定、（4）プラズマ発生装置の改良、の 4 つの柱に基づき研究を推進した（図 2）。

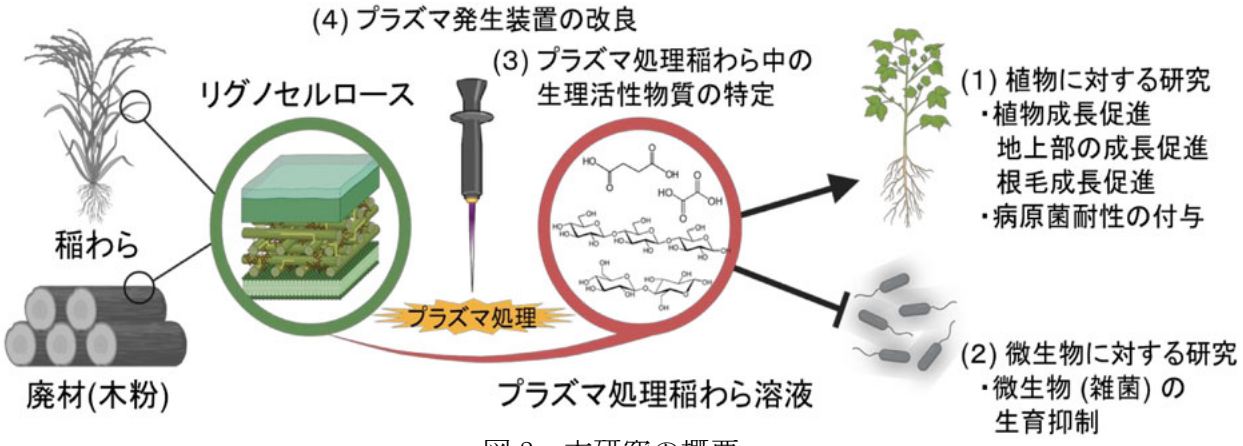


図 2. 本研究の概要

（1）植物に対する研究では、モデル植物であるシロイヌナズナを用い、プラズマ処理稲わらの添加による根毛や側根形成および地上部成長への影響を定量的に評価した。さらに、稲わらの主要構成成分であるセルロースおよびセルロースの構成糖であるグルコースを個別にプラズマ処理した試料を用いることで、活性の起源を段階的に切り分ける実験系を構築した。また、網羅的遺伝子発現解析（RNA-seq）を行い、プラズマ照射試料がシロイヌナズナのどのような遺伝子ネットワークに作用し、成長促進や根系発達に関わるかゲノムワイドに解析を進めた。

（2）微生物に対する研究では、大腸菌をモデル微生物として用い、プラズマ処理稲わら添加条件における増殖挙動を評価した。特に、植物成長促進効果が確認された濃度域において微生物抑制効果が維持されるかを検証することで、本資材の二機能性（植物の成長促進および微生物の生育抑制）の成立条件を明確化することを目指した。

（3） 生理活性物質の同定に関しては、プラズマ処理セルロースおよびグルコース溶液を対象として、GC-MS によるメタボローム解析を行い、生成する低分子化合物の同定を進めた。得られた候補化合物については、市販試薬を購入し、植物および微生物に対する作用を評価することで活性寄与成分の特定を行った。また、クロマトグラフィーによる分画と生物活性評価を組み合わせることで、複数成分の寄与および相乗効果の解析も進めた。

（4）プラズマ発生装置の改良では、稲わらなどの不溶性リグノセルロース系バイオマスに対する処理効率の向上を目的として、電極構造および放電条件の最適化を行った。稲わらのプラズマ処理によって生成する低分子化合物の生産効率を従来比で約 2 倍に向上させることを目標とした。

加えて、実用化を見据えた検証として、水耕栽培系を構築し、プラズマ処理稲わらの添加が植物成長および養液中微生物動態に及ぼす影響を評価した。これにより実際の栽培環境における効果を統合的に検証する研究計画とした。

3. 研究の成果

本研究により、プラズマ処理バイオマスに由来する生理活性物質が植物および微生物に対して顕著な作用を示すことが明らかとなった。

（1）植物に対する効果として、プラズマ処理稲わらを添加した培地において、シロイヌナズナの根毛および側根形成が顕著に促進されるとともに、地上部の成長促進およびクロロシスの抑制が再現性よく確認された。さらに、稲わらの主要構成成分であるセルロースおよびグルコースを個別にプラズマ処理した場合にも同様の成長促進効果が確認されたことから、活性因子の一部が稲わらに含まれるセルロースの分解・酸化生成物であることが示唆された。加えて、RNA-seq による網羅的遺伝子発現解析の結果、オーキシン応答に関与する遺伝子群および側根形成・根毛

分化に関与する遺伝子群の発現が顕著に誘導されることが明らかとなり、本資材が植物の成長制御ネットワークを活性化することが示唆された。

(2) 微生物に対する効果としては、大腸菌培養系において、プラズマ処理稲わらを添加することで顕著な生育抑制が確認された。特に、植物成長促進効果が発現する条件下においても微生物の増殖が抑制されることが示され、同一条件下で植物成長促進と微生物抑制が同時に達成されることが明らかとなった。この結果は、本資材が従来の農業資材にはない二機能性を有することを示す重要な知見である。

(3) メタボローム解析の結果、プラズマ処理稲わらおよびグルコース中には、有機酸および糖酸化物が生成していることが明らかとなった。これらの候補化合物を個別に評価した結果、いくつかの化合物が根毛成長を促進することが確認され、候補化合物およびその構造類似体が活性因子の一つであることが示された。一方で、単一化合物では地上部成長の促進効果が十分に再現されなかったことから、複数成分の組み合わせによる相乗効果の関与が示唆された。

(4) プラズマ処理装置の改良に関しては、電極構造の最適化および放電条件の制御により、ラジカル生成効率の向上に成功した。その結果、稲わらの変換効率が従来比で約 3.1 倍向上し、生理活性物質の生成量の増加を達成した。この改良により、本技術のスケールアップおよび実用化に向けた基盤が強化された。

さらに、水耕栽培系においても、プラズマ処理稲わらの添加により地上部のバイオマス増加が確認され、実際の栽培環境においても有効性が維持されることが示された。また、養液中における微生物増殖の抑制も確認されており、農薬使用量の低減につながる可能性が示唆された。

以上の成果により、プラズマ処理バイオマスから生成する低分子化合物群が、植物成長促進と微生物抑制という二つの機能を同時に担う新規農業資材として有望であることが示された。また、活性本体が単一物質ではなく複数成分からなる機能性混合物である可能性が高いことが明らかとなり、今後の機構解明および資材設計に重要な指針を与える結果となった。

4. 研究の反省・考察

本研究は概ね順調に進展し、プラズマ処理バイオマス中の活性本体の一端を明らかにすることができた。しかしながら、いくつかの課題も明らかとなった。

まず、単一化合物では、プラズマ処理稲わら全体と同等の成長促進効果（特に地上部成長）は完全に再現できなかった。このことは、活性が単一成分ではなく、複数成分の相乗効果によって発現している可能性を示唆している。したがって、今後は単一化合物の評価に加え、複合系としての再構成実験が重要となる。また、微生物の生育抑制機構については作用機序の分子レベルでの理解には至っていない。今後はトランスクリプトーム解析や代謝経路解析を通じて、より詳細な機構解明が必要である。さらに、実用化に向けては、原料バイオマスの種類やプラズマ処理条件に依存した生成物組成のばらつきが課題となるため、再現性の高い製造プロセスの確立が不可欠である。

一方で、本研究により、未利用バイオマスから環境負荷の低い方法で生理活性物質を生成し、それを農業資材として利用するという新たな概念の有効性が示された点は大きな成果である。今後、作用機構の解明および実証試験を進めることで、持続可能な農業の実現に資する革新的技術としての展開が期待される。

5. 研究発表

(1)学会誌等

① Bactericidal properties of tryptophan and pyrrole solutions irradiated by oxygen radicals. Daiji Kitagawa, Kenta Shimizu, Takuya Watanabe, Motoyuki Shimizu, Masashi Kato, Hiromasa Tanaka, Kenji Ishikawa, Masaru Hori, Masafumi Ito, 2026, Japanese Journal of Applied Physics, 65, 056001-05600.

② Functional characterization of a novel p-coumarate 3-hydroxylase from Trametes versicolor. Link Hamajima, Reini Mori, Ryoga Tsurigami, Yuki Yoshida, Hiroyuki Kato, Mika Hayasaka, Hiromitsu Suzuki, Masashi Kato, Motoyuki Shimizu, 2026, Applied and Environmental Microbiology, e0230125.

(2)口頭発表

① Bactericidal effect of rice straw solutions prepared at different concentrations. Kenta Shimizu, Shoto Nakashima, Motoyuki Shimizu, Hironaka Tsukagoshi, Masashi Kato, Masafumi Ito, SPlasma2026IC-PLANT, 2026 May.

② Plasma activated organic solutions with bactericidal and plant-growth effects. Masafumi Ito, Daiji Kitagawa, Kenji Ishikawa, Motoyuki Shimizu, Yasuhiro Nishikawa, Hironaka Tsukagoshi, Masashi Kato, Hiroshi Hashizume, Hiromasa Tanaka, Masaru Hori, AI2EAR Seminar & Workshop 2026 in Nagoya, 2026 May.

③ 大気圧空気グロープラズマを用いた稲わら殺菌効果の濃度依存性 (Concentration dependence of the bactericidal effect of rice straw using atmospheric-pressure air glow discharge). 清水 健太, 中島 生人, 志水 元亨, 塚越 啓央, 加藤 雅士, 伊藤 昌文, 第73回応用物理学会, 2026年3月.

④ プラズマ照射非可食性バイオマスは植物成長を促進させるか？ 髙木 雪州, 大口 凌平, 鈴木 孝征, 吉田 有希, 志水 元亨, 伊藤 昌文, 塚越 啓央, 第67回日本植物生理学会年会, 2026年3月.

(3)出版物

なし

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

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介護予防　③ポジティブ心理学的介入　④健康増進　⑤主観的認知機能低下 ⑥軽度認知障害　⑦スーパーエイジャー		

〇研究代表者

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	研究の統括及び認知機能測定、介入効果の検証

〇研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
中　山　玲　子	京都女子大学	副　学　長	栄養調査及び食生活と介護予防との関連の検証
宮　脇　尚　志	京都女子大学 家政学部	教　　授	医学的診断及び医学的解析
坂　手　誠　治	京都女子大学 家政学部	教　　授	運動機能の測定と解析
下　津　咲　絵	京都女子大学 心理共生学部	教　　授	ストレスマネジメント及び介入手法の開発
八　田　武　俊	京都女子大学 心理共生学部	教　　授	心理社会的指標の測定
阿　部　　望	京都女子大学 心理共生学部	講　　師	ポジティブ心理学的介入の補助
藤　原　和　美	関西国際大学 保健医療学部	教　　授	認知機能及び心理社会的指標の測定の測定

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
－京都・東山研究にポジティブヘルス理論を活用して－

1. 研究の目的

本研究は、地域在住高齢者の認知機能低下を予防し、健康増進行動を促進するための新たな支援モデルを構築することを目的として実施した。高齢社会の進展に伴い、認知症の発症を遅らせること、また認知機能低下の進行を緩やかにすることは、個人の生活の質を維持するうえでも、地域社会の持続可能性を高めるうえでも重要な課題となっている。これまでの疫学研究では、身体活動、知的活動、社会的交流、栄養、睡眠、生活習慣病の管理などが認知症予防に関わることが示されてきた。しかし、運動習慣や食習慣の改善、社会的活動への参加を日常生活のなかで継続することは容易ではない。特に、独居や身体機能の低下、社会的交流の減少によって孤立しがちな高齢者に対しては、単に知識を提供するだけでは十分な行動変容につながりにくい。

そこで本研究では、健康行動を「しなければならないもの」として指導するのではなく、「何のために健康でありたいのか」「どのような生活を続けたいのか」という人生の意味づけや目的意識に働きかけることに着目した。素因的楽観性、人生の意味、老いに対する肯定的態度などのポジティブ心理学的要因は、健康行動、ウェルビーイング、認知機能の維持と関連する可能性がある。本研究の目的は、第一に、ポジティブな心理特性を強化することにより健康増進行動が変容しやすくなるかを検証することである。第二に、他者との交流が制限されている状況において、情報通信技術を活用した介入が認知機能低下の予防や健康行動の維持に寄与するかを検証することである。本年度は、特に、これまでに蓄積してきた住民健診データと、ポジティブ心理学的介入プログラムの開発成果を踏まえ、タブレット型端末やスマートフォンで使用可能なアプリケーションを用いた介入効果を検証することを主たる目的とした。

2. 研究の計画

本研究は、住民健診を基盤とした横断的・縦断的調査と、ポジティブ心理学的介入を組み込んだ健康教育プログラムの効果検証から構成された。研究計画では、第一段階として、生活習慣要因、医学的要因、心理社会的要因と認知機能との関連を検討した。具体的には、地域在住高齢者を対象に、認知機能、身体機能、生活習慣、食事、医学的指標、社会的つながり、ポジティブ心理学的要因を測定し、認知機能の維持に関わる要因を多面的に検証した。認知機能については、全般的認知機能、注意機能、記憶、前頭葉機能・言語機能、遂行機能を測定した。身体的・医学的指標としては、動脈硬化リスク、MCI リスク因子、骨格筋量、健脚度、食事摂取状況、運動習慣などを把握した。

第二段階として、第一段階で重要性が示されたポジティブ心理学的要因を、従来型の健康教育に組み込み、介入効果を検証した。従来の認知症予防では、栄養、運動、知的活動に関する教育が中心となるが、本研究ではこれらに加えて、人生の意味、目的、価値観、感謝、他者とのつながり、老いに対する肯定的態度を高める課題を組み込んだ。これにより、健康行動への動機づけやアドヒアランスを高めることを目指した。

第三段階として、タブレット型端末やスマートフォンで使用できるポジティブ心理学的介入用のアプリケーションを開発した。本年度は、開発したアプリケーションを用いた介入研究を実施し、ポジティブ心理学的介入が認知機能、精神的健康、幸福感、健康行動関連指標に及ぼす効果を検証することを中心課題とした。アプリケーションには、健康教育に関する情報提供だけでなく、人生の意義や目的、感謝、価値観、家族や他者とのつながりを振り返る課題を組み込み、対象者が自宅でも継続的に取り組めるようにした。これにより、対面式介入で得られた知見を ICT 型支援へと発展させ、地域高齢者に対する遠隔健康サポートプログラムとしての実用可能性を検討した。

3. 研究の成果

本研究の第一の成果は、主観的認知機能低下を測定する尺度を開発したことである。主観的認知機能低下は、客観的な神経心理学検査では明確な低下が認められないにもかかわらず、本人が認知機能の低下を自覚している状態であり、軽度認知障害よりも早期の段階で認知症リスクを

把握するうえで重要な概念である。しかし、日本の地域高齢者を対象として、現代の生活様式に合った実用的な尺度は十分に整備されていなかった。そこで、先行研究をもとに予備項目を作成し、65 歳以上の高齢者を対象とした調査を通じて項目を精選した。その結果、2 因子構造からなる 14 項目の主観的認知機能低下尺度を作成し、妥当性と信頼性を確認した。日本版成人メタ記憶尺度との基準関連妥当性は高く、再検査信頼性も十分であった。この成果により、住民健診や介護予防事業において、本人が感じている認知機能低下を簡便に把握するための基盤が整った。

第二の成果は、スーパーエイジャーの観点から、認知機能が高く保たれている高齢者の特徴を整理したことである。スーパーエイジャーとは、暦年齢に比してエピソード記憶が非常に良好に保たれている高齢者を指す。本研究では、八雲研究および東山研究のデータを用いて、75 歳以上の地域在住高齢者を対象に、論理的記憶検査の成績に基づいてスーパーエイジャー群と対照群を分類した。その結果、スーパーエイジャー群は、エピソード記憶だけでなく、情報処理速度、意味流暢性、遂行機能など、複数の認知領域において対照群よりも高い成績を示した。一方で、歩行速度、筋力、バランス機能などの身体機能には明確な群間差は認められなかった。この結果は、優れた認知機能を保つ高齢者が、必ずしも身体機能全般においても優れているわけではないことを示している。したがって、認知症予防や健康寿命延伸のためには、認知機能と身体機能の双方に働きかける包括的な支援が必要であると考えられる。

第三の成果は、ポジティブ心理学的介入用のアプリケーションを開発し、その効果を検証したことである。介入試験では、T0 を介入前、T1 を介入後、群 0 を統制群、群 1 を介入群とし、介入後得点を目的変数、群および介入前得点を説明変数とする共分散分析を行った。これにより、ベースライン時点の個人差を調整したうえで介入効果を検討した。その結果、ポジティブ心理学的介入の中核的アウトカムである「人生の意義」と「人生の目的」の合成得点において、有意な群効果が認められた。介入群は統制群よりも T1 の意義・目的得点が有意に高く、群効果は B = 2.90, 95% CI [0.17, 5.63], p = .038 であった。また、家族との関係性に関する得点にも有意な群効果が認められた（B = 1.05, 95% CI [0.05, 2.05], p = .040）。これらの結果は、アプリケーションを用いたポジティブ心理学的介入が、短期間で全般的幸福感を大きく変化させるというよりも、人生の意味づけや目的意識、身近な他者との関係性の再評価に働きかける可能性を示している。一方、健康行動への意識、意欲、価値観、主観的健康コンピテンシー（PHCS）については、有意な群効果は認められなかった。ただし、意欲や PHCS を中心とした健康行動への心理的準備性については、中程度の効果量が認められた。幸福感、抑うつ、認知機能についても検討したが、主観的幸福感、人生満足度、QOL、うつ、注意機能検査、理的記憶検査、言語流暢性検査、ストループ検査のいずれにおいても有意な介入効果は認められなかった。

4. 研究の反省・考察

本研究では、地域在住高齢者の認知症予防を、生活習慣指導や認知機能訓練に限定せず、ポジティブ心理学的要因、主観的認知機能低下、スーパーエイジャー、身体的リスク要因、ICT を活用した介入という複数の観点から検討した。その結果、主観的認知機能低下を測定する尺度を整備し、優れた認知機能を保つ高齢者の特徴を明らかにし、さらにアプリケーションを用いたポジティブ心理学的介入が人生の意義・目的や家族との関係性に影響を及ぼす可能性を示すことができた。これらは、認知症予防を単なる疾患予防としてではなく、高齢者が自らの人生を肯定的に捉え、意味ある生活を継続するための支援として再構成するうえで重要な成果である。

特に、本年度の主たる成果であるアプリケーションを用いた介入試験では、人生の意義・目的に有意な改善が認められた点が重要である。健康教育の多くは、運動や栄養に関する知識提供、あるいは行動目標の設定を中心に構成される。しかし、高齢者にとって健康行動を継続するためには、単に「健康によいから行う」という理由だけでなく、自分自身の生活や価値観と結びついた内発的な動機づけが必要である。本研究で開発したアプリケーションは、人生の意味、目的、感謝、家族や他者とのつながりを振り返る課題を含んでおり、こうした心理的側面に働きかけたことが、意義・目的得点や家族関係得点の改善につながった可能性がある。

一方で、いくつかの課題も残された。第一に、介入試験では、認知機能、全般的幸福感、抑うつ、健康行動指標に明確な介入効果は認められなかった。今回の介入は、人生の意義・目的という心理的・価値的側面には効果を示したが、短期間で実際の健康行動や認知機能を変化させるには至らなかった。このことは、健康行動や認知機能の変化には、より長期的な介入と継続的な支援が必要であることを示している。第二に、対象者数が限られており、介入効果の検出力にも課

題があった。今後は対象者数を拡大し、フォローアップ調査を行うことで、介入効果の持続性を検証する必要がある。今後は、今回開発したポジティブ心理学的介入アプリケーションを活用し、対面型の健康教育に参加しにくい高齢者や、社会的つながりが低い高齢者にも支援を届ける仕組みを整備することが重要である。

5. 研究発表

(1)学会誌等

①Takeshi Hatta, Taketoshi Hatta , Mariko Horii, Takahiko Kimura, Kimiko Kato, Junko Hatta , Yukiharu Hasegawa, Akihiko Iwahara. (2025). Effects of Cognitive and Physical Performances on Subjective Age Perception among Community-Dwelling Older People: Evidence from the Yakumo Study. Adv Geriatr Med Res. 2025;7(3):e250015. https://doi.org/10.20900/agmr20250015.

②Takeshi Hatta, Taketoshi Hatta , Mariko Horii, Takahiko Kimura, Kimiko Kato, Junko Hatta , Yukiharu Hasegawa, Reiko Nakayama, Takashi Miyawaki, Seiji Sakate, Akihiko Iwahara. (2025). Cognitive but not physical advantages in Japanese SuperAgers: Evidence from urban and rural cohorts. Journal of Human Environmental Studies, 23, 2, 197-204.

③Akihiko Iwahara ,Taketoshi Hatta, Reiko Nakayama, Takashi Miyawaki, Seiji Sakate, Junko Hatta, Takeshi Hatta. (2025). Investigating the Moderating Effect of Attitudes Toward One’s Own Aging on the Association Between Body Mass Index and Executive Function in Older Adults. Geriatrics 2025, 10, 105 https://doi.org/10.3390/geriatrics10040105.

④前田紗彩・成本迅・八田武俊・八田武志・岩原昭彦. (2026). 「主観的認知機能低下」尺度の開発. 老年精神医学雑誌, 37, 3, 479-488.

(2)口頭発表

なし

(3)出版物

なし

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

学　校　名	**京　都　薬　科　大　学**	研究所名等	
研 究 課 題	遺伝子改変によるカポジ肉腫関連ヘルペスウイルス複製機構解明	研 究 分 野	理　　学 （生物学系）
キ ー ワ ー ド	①カポシ肉腫関連ヘルペスウイルス　②ウイルス複製　③キャプシド　④抗ウイルス化合物		

〇研究代表者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
藤　室　雅　弘	京都薬科大学　薬学部	教　　授	研究代表者　実験・総括

〇研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
伊　藤　昭　博	東京薬科大学・生命科学部・細胞情報科学	教　　授	LC－MS／Msによる蛋白質同定
鈴　木　陽　一	大阪医科薬科大学・医学部・感染制御	講　　師	電子顕微鏡によるキャプシド解析
市　　川　　聡	北海道大学・薬学部・有機合成医薬学	教　　授	抗ウイルス薬の設計および合成

遺伝子改変によるカポジ肉腫関連ヘルペスウイルス複製機構解明

1. 研究の目的

本申請研究では、我々の得意とするウイルスゲノム改変技術により、カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス(KSHV)のウイルス複製機構を解明し、さらにウイルス複製阻害化合物を創生する。KSHVは感染者の免疫不全時にカポジ肉腫やリンパ腫を発症する腫瘍ヘルペスウイルスで**（図 1）**、唾液や性交渉を介してヒト間で伝播する。健常人における KSHV の既感染率は、アフリカでは 50%以上(約 6 億人)、日本では約 1-2%(約 100 万人)と報告されている。また、**世界ではエイズ発症者のうち年間 20 万人以上が KSHV 関連腫瘍により死亡している**。KSHV は健常人に感染すると潜伏感染と溶解感染サイクルの 2 つの感染様式を示す。

潜伏感染期ではウイルスは環状 2 本鎖 DNA として核内で保持され感染者の免疫不全時にカポジ肉腫やリンパ腫を発症する。一方で、紫外線等により感染細胞が溶解感染期(ウイルス複製期)に移行すると核内でキャプシド形成とゲノム複製が行われ、ゲノムを内封した成熟キャプシドは外皮エンベロープを獲得し、宿主細胞から出芽する。この全過程のなかでも、連結ゲノム前駆体として合成される**ウイルス DNA 複製と切断機構、ゲノムのキャプシド内腔への挿入**や**キャプシドの核脱出**は**真核生物には類似の機構はなく、その殆どが不明である**。そこで本研究ではこれら KSHV の複製機構の不明な点を解明する。そして得られた知見と研究ツール、さらに我々の開発したシーズ化合物を活用し、ウイルス複製阻害剤開発へと研究を展開する。

ヒトヘルペスウイルスは現在までに 8 種類同定され、バラシクロビル等の有効なウイルス薬も開発されているが、KSHV には無効である。つまり KSHV の発見から 29 年が経過した現在でも、KSHV の治療薬は開発されておらず、さらに複製機構も不明のままである。しかし、比較的研究が進んでいる他のヘルペスウイルス研究と我々グループの一貫した KSHV 研究により、KSHV の複製過程は以下のように推論されている **(図 2)**。

KSHV は溶解感染期に移行すると、キャプシド等の構造蛋白質が発現し、核内でキャプシドが形成される。一方、ウイルスゲノムは鎖状にターミナルリピート(TR)部で連結した連結ゲノムとして複製される。この前駆体 DNA は TR 部で、ターミナーゼ複合体により切断されキャプシド内に挿入される。ゲノムを内封し正 20 面体を形成した成熟キャプシドは核から細胞質へ移行する。**上述の推測された KSHV 複製過程は複数のウイルス研究者により支持されているが、その真偽と分子機構の多くは不明のまま残されている**。そこで、本研究では KSHV 複製過程で特に不明な点が多いキャプシド形成機構を解明する。特に、ウイルス構造蛋白質発現、ウイルスゲノム複製と切断、キャプシド形成・成熟、ゲノムのキャプシド挿入、キャプシドの核脱出の分子機構を解明する。そして得られた知見や過去のシード化合物を活用してウイルスゲノムの複製阻害化合物を開発する。



図1. 免疫不全患者のカポジ肉腫
AIDSに合併するカポジ肉腫等のHHV-8関連疾患における診断と治療の手引き

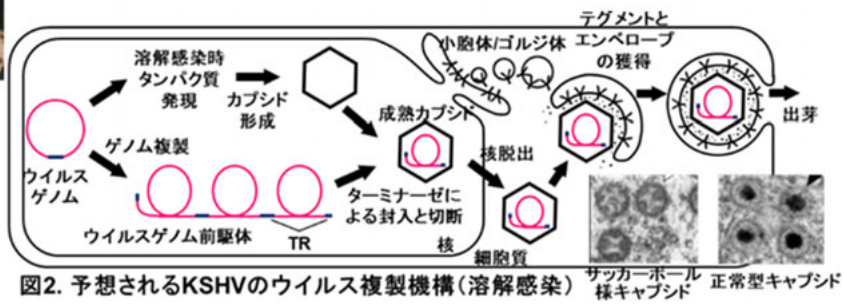


図2. 予想されるKSHVのウイルス複製機構(溶解感染)

2. 研究の計画

申請者のウイルス複製研究の成果、および他グループの先行研究により、KSHV 複製は以下のとおり推測される(図 3)。感染細胞が溶解感染期に移行するとキャプシド等の構造遺伝子が転写される。キャプシド蛋白質は核内で自己会合しプロキャプシドを形成し、キャプシド内壁が外壁から切り離されて B キャプシドへと変化する。一方で、ウイルスゲノムは鎖状にターミナルリピート(TR)部で連結した前駆体ゲノムとしてウイルス性ポリメラーゼ ORF9 等により複製される。この前駆体 DNA はターミナーゼ複合体により TR 部で切断され、キャプシド内に挿入される。す

ると、キャプシド内壁が排出され、頂点因子により正 20 面体の成熟キャプシドが形成され、核から細胞質へ移行すると推測されている。

本申請研究（3 年間）では複製イベントに重要と思われるが不明なまま残されている**黄色ハイライトで示した**イベントとウイルス ORF（図 3）を研究対象とする。

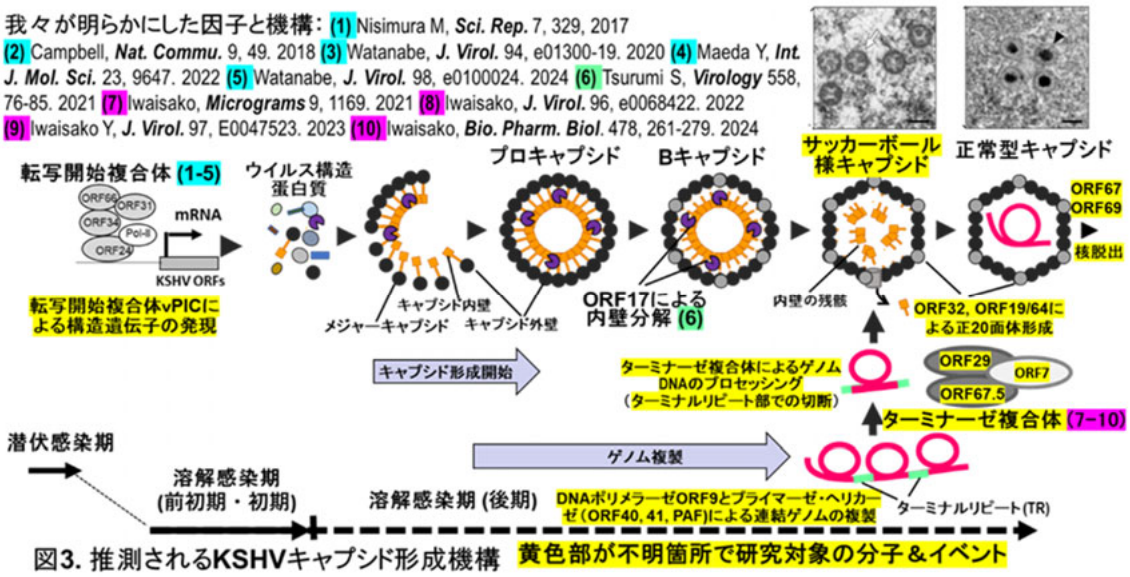


図3. 推測されるKSHVキャプシド形成機構　黄色部が不明箇所で研究対象の分子＆イベント

初年度（2025 年）の計画

ウイルス複製に重要と考えられる各ウイルス ORF の欠損 KSHV の作製を実施する。つまり、(A)遺伝子発現に関わる ORF34、(B)ゲノム複製に関わる DNA ポリメラーゼ ORF9、プライマーゼ PAF、(C)ターミナーゼ構成因子 ORF29、(D)頂点分子 ORF32、(E)成熟キャプシドの核脱出に関わる ORF67 と ORF69 の欠損ウイルスを、作製する。さらに、それら遺伝子欠損 KSHV のウイルス学的特徴（感染能やウイルス形態、遺伝子発現、ゲノム複製、孫ウイルスの産生量と感染能力）の解析と、電子顕微鏡によるキャプシド形態の解析、さらに、相互作用する細胞性およびウイルス性結合因子の解析を実施する。

2 年目（2026 年）の計画

当初の申請書に記載のとおり、前年度（2025 年）の研究計画を引き続き行う。図 3 黄色ハイライトで示したキャプシド形成に関わる各 ORF が欠損した遺伝子改変 KSHV の作製は昨年度に概ね完了している。それら各 ORF 欠損 KSHV のウイルス学的特徴とウイルス複製に関する表現型、さらに、電子顕微鏡を用いたキャプシド形態解析や、各 ORF のウイルス性（および細胞性）相互作用分子の MS 解析を実施し各 ORF のキャプシド形成やウイルス複製に関する機能を解明する。

次に、我々が世界に先駆けて発見したサッカーボール様キャプシドと名付けた新規キャプシドの実態を解明する。この新規キャプシドは今まで報告がなく、その構成成分や生物学的意義は全く不明である。また、正常なキャプシド形成やサッカーボール様キャプシド形成に関わるウイルスタンパク質同士の分子間相互作用の詳細なメカニズム解明のため、我々は人工知能 AlphaFold2 により予測されたタンパク質間の予想結合モデルを活用する。

3 年目（2027 年）の計画

申請書に記載のとおり、下記研究課題は 2026 年度途中から開始する。過去に開発したシード化合物 CNDAG を活用し、ウイルスゲノムの複製阻害化合物を開発する。核酸誘導体 CNDAG はウイルス選択性を持つアシクロビルと、β 脱離反応により DNA 鎖切断活性を持つ核酸誘導体 CNDAC の二つの長所を融合させたハイブリッド化合物である。北大・市川グループと共同で CNDAG を基本骨格とした 18 種類の CNDAG の誘導体類を合成中であるが、その半分は既に合成が完了している。これらの合成と活性評価、CNDAG の作用機序解析を進める。

3. 研究の成果

初年度（2025 年）の研究成果

申請時の計画書どおり、ウイルス複製に重要と考えられる各ウイルスORFの欠損KSHVの作製は、ほぼ全て完了した。つまり、(A)遺伝子発現に関わるORF34、(B)ゲノム複製に関わるDNAポリメラ

ーゼORF9、プライマーゼPAF、(C)ターミナーゼ構成因子ORF29、(D)頂点分子ORF32、(E)成熟キャプシドの核脱出に関わるORF67とORF69の欠損ウイルスを、当初の計画どおり作製した。さらに、それら遺伝子欠損KSHVのウイルス学的特徴（感染能やウイルス形態、遺伝子発現、ゲノム複製、孫ウイルスの産生量と感染能力）の解析と、電子顕微鏡によるキャプシド形態の解析(大阪医科薬科大・鈴木先生の協力)、さらに、相互作用する細胞性およびウイルス性結合因子の解析(東京薬科大・伊藤先生の協力)も実施した。

その結果、(A)ORF34はウイルスの後期遺伝子発現を活性化する転写開始複合体の構成因子として機能することを解明し、その成果を米国微生物学会の旗艦誌に発表した(Watanabe T ***J. Virology*** 2024)。さらに、(C)ORF29は前駆体ゲノムのTR部切断活性を有すること、またキャプシド挿入に関わるターミナーゼ複合体形成能も有し、成熟キャプシドの形成に必須であることを解明した。なお、ORF29の研究成果は、米国微生物学会の学術OA誌に発表した(Iwaisako Y. ***Microbiology Spectrum*** 2025)。

4. 研究の反省・考察

研究課題(B)、(D)に関しては、論文投稿まで至らなかった。研究完成まで解明しなければならない幾つかの課題が残った。現在、論文発表に向けて研究を遂行中である。これらの研究成果により、申請時の研究計画の 9 割以上の目標を達成したと言える。

5. 研究発表

(1)学会誌等

なし

(2)口頭発表　**(37 件から 9 件を抜粋)**

①池田育寛, 黒橋萌, 山口達夫, 祝迫佑紀, 須賀 圭, 中曽一裕, 藤室雅弘, HSV-1感染で産生されるタンパク質凝集塊の神経細胞傷害活性, 日本薬学会第145年会,福岡,2025年3月26－29日.

②髙山愛理, 祝迫佑紀, 上田啓次, 藤室雅弘, B型肝炎ウイルス様粒子（VLP）を用いた肝細胞特異的薬物送達キャリアの作製, 日本薬学会第145年会,福岡,2025年3月26－29日.

③祝迫佑紀, 渡部匡史, 鈴木陽一, 中野隆, 藤室雅弘,KSHVターミナーゼ複合体の機能解明, 日本薬学会第145年会,福岡,2025年3月26－29日.　学生優秀発表賞

④髙田まり菜, 祝迫佑紀, 藤室雅弘, カポジ肉腫関連ヘルペスウイルスのプライマーゼ関連因子PAFの機能解析, 日本薬学会第145年会,福岡,2025年3月26－29日.

⑤前田 笙, 角谷廣智, 太田萌絵, 井上拓美, 古田 巧, 藤室雅弘, 抗単純ヘルペスウイルス1型化合物YI32の作用機序の解析, 日本薬学会第145年会,福岡,2025年3月26－29日.

⑥池田 宝, 祝迫佑紀, 橘 明日香, 中森悠佳, 藤室雅弘, カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス(KSHV)遺伝子ORF67とORF69の機能解析, 第72回日本ウイルス学会学術集会,浜松,2025年10月28－30日.

⑦伊東宏起, 高山愛理, 川瀬暉人, 榎本美咲, 小川真都花, 大塩ひとみ, 祝迫祐紀, 上田啓次, 藤室 雅弘, B型肝炎ウイルス（HBV）の膜タンパク質を用いたVLPの送達, 第72回日本ウイルス学会学術集会,浜松,2025年10月28－30日.

⑧金巻沙菜, 池田育寛, 堤 万紘, 川端捷太, 祝迫佑紀, 須賀 圭, 中曽一裕, 藤室雅弘, HSV-1感染細胞から神経細胞傷害活性をもつアミロイドβ凝集物が産生される, 第72回日本ウイルス学会学術集会,浜松,2025年10月28－30日.

⑨宿谷明日香,がんウイルスがコードする E3 ユビキチンリガーゼの機能解析会, 第 48回日本分子生物学会年会横浜, 2025年12月3-5日.

(3)出版物

① Takayama E, Enomoto M, Nagae M, Tomoda M, Miyazumi Y, Iwaisako Y, Shirasawa R, Suzuki Y, Nakano T, Ueda K, and Fujimuro M. HBV Envelope Protein-Bearing Vesicles Show Preferential Uptake in Hepatocyte-Derived Cells. ***Int. J. Mol. Sci.*** 27, 4331. 2026

② Saito A, Tankou S, Ishii K, Sakao-Suzuki M, Oh EC, Murdoch H, Namkung H, Adelakun S, Furukori K, Fujimuro M, Salomoni P, Maul GG, Hayward GS, Tang Q,

Yolken RH, Houslay MD, Katsanis N, Kosugi I, Yang K, Kamiya A, Ishizuka K, Sawa A. Cytomegalovirus-encoded immediate early 1 protein perturbs neural progenitor proliferation via interfering with host PML-DISC1 interaction. ***J Biol Chem.*** 302: 111269. 2026

③ Sekine Y, Hatasa A, Matsuda T, Fujimuro M. Nogo-A-cleaved amino-terminal fragment but not Nogo-B regulates STAT3 activation. ***Biochem Biophys Res Commun.*** 797, 153205. 2026

④ Iwaisako Y, Shimizu K, Suzuki Y, Nakano T, Fujimuro M. Characterization of the Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus terminase complex component ORF29. ***Microbiology Spectrum Microbiol Spectr.*** 13, e0330824. 2025

⑤ Shikata S, Kikkawa K, Fujimuro M, Sekine Y. Dual-specific phosphatase DUSP21 is a novel negative feedback regulator for STAT3. ***Biochem Biophys Res Commun.*** 752:151488. 2025

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

学　校　名	**京　都　文　教　大　学**	研究所名等	
研 究 課 題	夢とバウムテストを通した乳がん患者への心理的支援の検討	研 究 分 野	文　　学
キ ー ワ ー ド	①乳がん ②夢　③バウムテスト ④心理的支援		

〇研究代表者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
清 水　亜 紀 子	京 都 文 教 大 学 臨 床 心 理 学 部	准　教　授	研究代表者 総括

〇研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
田　中　史　子	京 都 先 端 科 学 大 学 人　文　学　部	教　　授	調査･分析
野　田　実　希	立　命　館　大　学 総 合 心 理 学 部	准　教　授	調査･分析
高　橋　紗 也 子	京都府立医科大学附属病院	専 門 職 員	調査･分析

夢とバウムテストを通した乳がん患者への心理的支援の検討

1. 研究の目的

乳がんは、女性のがん罹患率の 1 位を占め、30 代から 40 代と比較的若い年齢での罹患が多い。この時期の女性は、一人の女性として生きながら、妻・母親・娘といった様々な役割を担うことがある。しかし、乳がんへの罹患は、そうした役割遂行を困難にし、苦悩を引き起こす可能性がある。また、乳房の切除や抗がん剤による脱毛などの外見上の変化に伴う苦悩などが、女性性を巡る傷つきをもたらすこともある。さらに、Nakatani et al.（2013）によって、初診時の否定的感情抑制の高さが、術後 1 年後の心理的苦痛を予測することが示されている。こうした否定的感情抑制の傾向によって、乳がん患者は、医療者に適応に問題がないとみなされ、苦悩を見過ごされる危険性がある。これらのことから、乳がん患者は、様々な苦悩を抱えている可能性があり、苦悩をはじめとした多様な要因が心理的適応に影響を及ぼすと考えられる。

そこで、本研究では、コーピングと否定的感情抑制に焦点を当て、乳がん患者の適応を明らかにしていく。しかし、これまでの実証研究の中で、コーピングと否定的感情抑制の測定に主に用いられてきた Mental Adjustment to Cancer（MAC）Scale（Watson、M. et al.、1988）と Courtauld Emotional Control Scale（CECS）（Watson、 M&Greer、 S、1983）は、いずれも自己記入式の尺度である。そのため、乳がん患者の心理的適応を意識的側面からしか捉えることができない。この点に関して、水野ら（2002）は、がん患者において、不安や抑うつなどに問題がないとの質問紙の結果に対して、バウムテストでは、否認が認められたことを報告し、意識的側面と無意識的側面のギャップを踏まえたアセスメントの重要性を主張している。よって、心理的適応を検討する際には、意識的側面だけでなく、無意識的側面も視野に入れる必要がある。そこで、本研究では、無意識的側面を理解する方法として、夢の聴取とバウムテストを実施する。

上記の踏まえ、本研究では、乳がんに関する直接的言及に現れる意識的側面だけでは見過ごされかねない苦悩にも着目しながら、実証的研究を進めていく。そのために、意識的側面と無意識的側面のいずれにも着目し、両者の間に生じうるギャップから、乳がん患者の心理的適応について検討する。そして、検討結果を踏まえて、乳がん患者の心理的理解を深め、乳がん患者の心理的支援のあり方を模索していく。

2. 研究の計画

研究①　質問紙調査

2025 年 1 月～2025 年 5 月にかけて、乳がん患者 55 名を対象とした Google Form を用いた質問紙調査を実施した。質問項目は、MAC scale の日本語版（明智ら、1997）と CECS の日本語版（岩満ら、2003）を使用した。尺度以外の質問項目は、年齢、乳がんと最初に診断された年齢、乳がんと診断された経緯（自由記述）、これまでの乳がんの治療状況（選択式）、現在の乳がんの状態や治療・検診の状況（選択式）、診断時に感じたこと・考えこと（自由記述）、診断後から現在に至るまで、乳がんに対する感じ方・考え方の変化の有無（選択式）、変化した場合、乳がんに対する感じ方・考え方の変化の内容（自由記述）、乳がんが分かる前後にみた印象的な夢の有無（選択式）とその夢の内容（自由記述）とその夢に対して感じたこと・考えたこと（自由記述）、その他に覚えている印象的な夢の有無（選択式）とその夢の内容（自由記述）とその夢に対して感じたこと・考えたこと（自由記述）、であった。

研究②　継続的な個別面接調査

研究①の調査協力者の中から、協力可能な乳がん患者約 10 名（研究①の結果見出された 3 つのクラスター各々について 3～4 名ずつ）を募集し、同一担当者によって、1 ヶ月毎に計 6 回の個別調査面接を実施する。現在、3 名を対象に個別面接調査に取り組んでいる。面接時には、日常生活、乳がんとの関わり、夢に関する聴き取りを毎回実施する。また、調査面接 1 回目・3 回目・6 回目に、バウムテストを実施する。さらに、調査面接 6 回目には、MAC scale と CECS への回答を求める。

研究全体のフロー

研究① 質問紙調査



項目	Web 調査
① 基本情報	○
② 夢の自由記述	○
③ MAC scale	○
④ CECS	○

研究② 個別調査面接



	同意取得日	1 回目	2 回目	3 回目	4 回目	5 回目	6 回目
	Day 0		＋1M	＋2M	＋3M	＋4M	＋5M
⓪ 同意書	○						
① 質問紙調査の回答内容の確認		○					
② 日常生活		○	○	○	○	○	○
③ 乳がんとの関わり		○	○	○	○	○	○
④ 夢の聴き取り		○	○	○	○	○	○
⑤ バウムテスト		○		○			○
⑥ MAC scale							○
⑦ CECS							○

3. 研究の成果

MAC尺度の下位尺度得点とCECS尺度の下位尺度得点を変数とし、階層的クラスター分析を行った結果、AP低群、FS高群、H/H・AP高群の3つクラスターが見出された。AP低群は、コーピング反応が低く、特に不安が低かった。FS高群は、前向きに対処しようとする意欲が3群の中で最も高かった。H/H・AP高群は、無力感や希望のなさが、不安が最も高かった。また、不安の体験のされ方やその後の乳がんに対する感じ方・考え方に与える影響が、群ごとで異なっていた。具体的には、 AP低群では、初診時に共通して不安を抱き、そこから乳がんの受けとめられなさと受けとめという異なる在り方が生じるものの、いずれもそれ以降に変化が見られないことが特徴的であった。ここから、AP低群においては、がんという体験を通しての心理的変容が生じにくいことが示唆される。また、AP低群では、心理的適応を引き起こすポジティブな要因の1つである他者からの支え（Northounse et al.、 2002）が見られないのも特徴的であった。次に、FS高群は、AP低群よりも不安は高いものの、初期段階から、乳がんの受けとめに動きが見られ、揺らぎや他者との関係性の中で、病気の経験や生き方の再構成が展開していく心理的変容過程を体験

していた。H/H・AP高群は、他の2群とは異なり、不安が、主として乳がんの受けとめられなさの側に位置づいており、その後、病気の捉え直しや生き方の再編成が生じつつも、不安は残存していた。こうした不安の強さは、数量的結果とも重なり、H/H・AP高群が、不安に圧倒されていることを示唆するが、不安に直面化しているからこそ揺らぎが生じ、心理的変容が生じていると捉えることもできる。また、夢の分析から、乳がん患者が、主体的な動きを失わせるような圧倒的に受け身的な体験をしていることが示された。さらに、夢の言語化という無意識を含めたイメージを言語化することは、言語化されにくい乳がん体験の意味を再構成し、心理的変容に繋がる可能性があることが考えられた。

上記のように、不安に着目しながら、各データを見ていくと、不安が最も高いH/H・AP高群への心理的支援の必要性が指摘できる。ただ、見過ごしてはならないのは、AP低群である。AP低群は、質問紙からは、がんと戦う意志も無力感・不安も低いというように、コーピング反応が低く、感情の揺れや考え方の変化が少なく、一見適応的に見えるかもしれない。しかし、消極的コーピング方略は心理的適応を阻害することが指摘されている（上田・雄西、2011）。また、AP低群の夢では、無意識的な不安を示唆する「困難状況の発生」が見られ、意識と無意識の間のギャップが大きいことが読み取れる。さらに、適応的なコーピングを用いているFS高群の不安の値がAP低群とH/H・AP高群の中間であることを考慮すると、不安が適応と関係していることも示唆される。そして、H/H・AP高群のような不安の高い乳がん患者だけでなく、AP低群のような意識的には不安を訴えない乳がん患者でも無意識下では、危機的状況を体験していると言える。

本研究の結果を踏まえて、「適応」について改めて考えると、AP群では、感情の揺れが少なく、一見適応的に見えるが、心理的変容が生じにくく、H/H・AP高群では、H/HとAPという「精神医学的に好ましくない反応」（明智ら、1997）があるものの、心理的変容が生じているといったように、コーピングの高低だけで「適応」を判断することはできず、その質や意識的側面だけでは捉えきれない側面も含めて、複合的な視点で「適応」を考えていく必要がある。特に、不安の高さやその質、不安の意識化の程度を見立てることが重要であり、なかでも、AP低群に属する乳がん患者を見過ごすことなく、心理的支援につなげていく必要がある。

4. 研究の反省・考察

質問紙調査は、対象者の特殊性故に、協力者を十分に集めることが難しかった。そのため、今回の結果の一般化には、注意を要する。また、質問紙の限界として、夢の詳細が分からない点が挙げられる。そのため、夢の構造分析において、評定の難しさがあった。よって、現在行っている個別面接調査では、細やかに夢を聴くことに取り組んでいる。さらに、質問紙調査の分析に時間がかかり、個別面接調査の開始が遅れてしまったことも、反省点として挙げられる。今後は、個別面接調査を進め、その分析結果を、研究発表し、論文執筆を行っていく予定である。

5. 研究発表

(1)学会誌等

①清水亜紀子（2026）．繋がりと分離の観点から考える「見送る過程」と「死に逝く過程」．臨床心理学部研究紀要，18，31-43.

②清水亜紀子（2026）．私事の悲嘆夢．臨床心理研究－京都文教大学心理臨床センター紀要－，28，

③清水亜紀子・田中史子・高橋紗也子・野田実希．意識的側面と無意識的側面から理解する乳がん患者の心理的適応．臨床心理学．（投稿中）

(2)口頭発表

なし

(3)出版物

①清水亜紀子・倉西宏・野口寿一・中野祐子（2026）．（仮）悲嘆夢が癒されるとき－喪のプロセスを支える心理学．新曜社．（印刷中）．

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

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CO2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		

〇研究代表者

氏　名	所　属	職　名	役割分担
河村　耕史	大阪工業大学　工学部	准教授	研究総括と微細藻類の実験

〇研究分担者

氏　名	所　属	職　名	役割分担
古崎　康哲	大阪工業大学　工学部	教授	メタン発酵実験
粟田　貴宣	大阪工業大学　工学部	准教授	アナモックスの実験

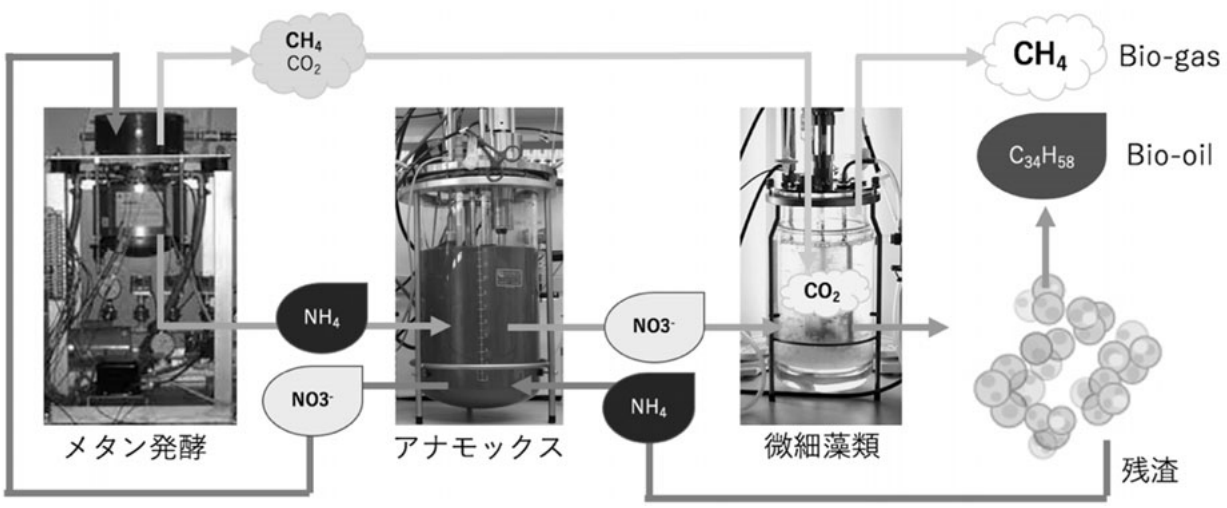
排 CO_2 ゼロのバイオエネルギー生産システムの構築

1. 研究の目的

日本の岸田総理は COP26 で 2050 年 CO2 排出実質ゼロを目指す「チャレンジ・ゼロ」を国際公約として発表し、これを受けて経産省はグリーン成長戦略を策定した。ポストコロナの世界において CO_2 削減技術の重要性が増す中、本研究は「藻類バイオ燃料」「メタン発酵」「アナモックス」の 3 つの環境バイオ技術を統合し、CO_2 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。

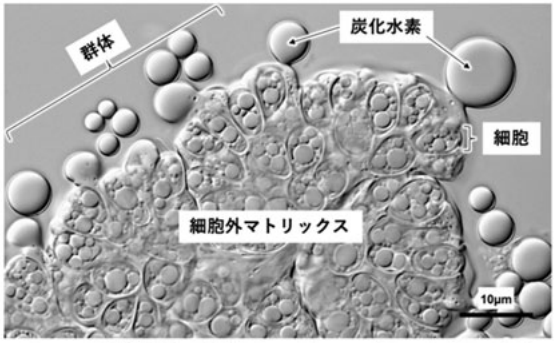
藻類バイオ燃料は光合成で CO_2 を液体燃料に変換する技術で、航空燃料（SAF）として期待されるが、化石燃料の 5〜10 倍という高い生産コストが課題である。一方、実用化が進むメタン発酵はバイオガス中の約 40%を CO_2 が占めており、燃料精製におけるエネルギーコストの増大や設備の大型化が課題となっている。

そこで本研究は、メタン発酵のバイオガスを藻類培養槽に通気して CO_2 除去とオイル生産を同時に行う。さらにオイル抽出後の藻類残渣を発酵槽へ返送するループ構造により、全バイオマスのエネルギー変換を図る。ここにアンモニアを無毒化する「アナモックス」プロセスを連結プラグとして組み込み、全体システムの安定した物質循環構造を構築することを目指す。



2. 研究の計画

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、集積培養化を行う。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* に着目した。*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。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。研究代表者（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、野生株の濃縮単離法を開発、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、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）。本研究はこの野生株コレクションと高増殖株を使い、以下の方法で研究を行う。



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

① 野生株のスクリーニング（2023-2024 年度）：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 株を含む熱帯株から高耐性株が見つかった。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。

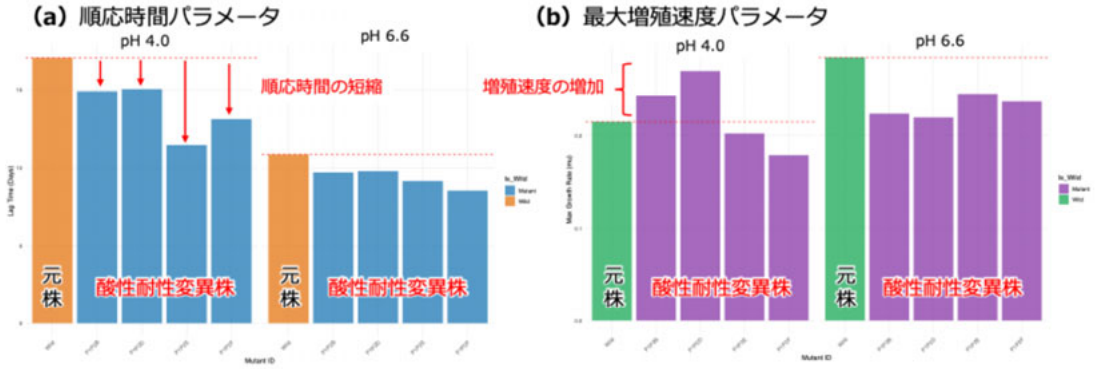
② 突然変異育種（2024-2025 年度）：高増殖株 OIT-678 株とその他の耐性野生株に重イオンビームを照射し変異を誘導（若狭湾エネルギー研究センター）、その後、2023 年度に購入した蛍光プレートリーダーを使い、ストレス耐性株、低クロロフィル含量、群体形成異常など、メタン発酵との結合や高密度化に適した有用変異株を単離し、その性能評価を行う。

③ ゲノム解析（2025 年度）：得られた有用変異株や野生株について、その機能を実現している遺伝子機構を調べるため、ゲノム解析を実施する。

さらに、2023-2024 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。主に「バイオメタネーションの高効率化」および「高圧メタン発酵プロセスの安定性向上」について研究する。技術的ボトルネックである水素溶解効率の改善に向けた工学技術の開発を行う。

3. 研究の成果

メタン発酵との連結を想定し、*B. braunii* の酸性耐性株と塩性耐性株の作出を試みた。具体的な方法は以下のとおりである。変異誘導を行ったのち、寒天培地で再生させ、液体培養へ移行して十分に増殖した後に、塩（NaCl 0.5%）、もしくは、酸性（pH4.0）によるストレス条件下に移行し、数ヶ月間培養を行って大半が死滅した段階で耐性変異株を単離した。単離後にストレス条件下でも生残、増殖した耐性株について、元株とストレス耐性を比較する実験を行った。その結果、塩性耐性の選抜では、NaCl 0.5%添加条件下において、元株よりも 3 倍程度増殖速度が高い変異株が得られた。ただし、耐性を獲得した可能性のある変異株はこの 1 株のみであり、他の単離株は NaCl 添加条件では十分に増殖できないものがほとんどであった。耐性を獲得した可能性のある変異株については引き続き、培養スケールを上げて、元株との比較実験を行い、結果を検証する。NaCl の添加は藻類に浸透圧などのストレスを与えるため、これに対処できるような能力を獲得するためには、複合的な突然変異の蓄積が必要と考えられる。そのため、一定の耐性を獲得した変異株を元株とし、さらなる突然変異育種を行うことが実用性のある品種開発には必要であろう。一方、酸性（pH4）耐性株の育種では、複数の耐性株が得られた。これらの耐性株でも、NaCl 添加時のように、酸性ストレスに対し、一定のラグタイム（順応期間）を経たのちに増殖するパターンを示した。そこで、より詳細な変異株の性状評価を行うため、順応期間を明示的にパラメータとして含む Baranyi モデルを増殖パターンに適用し、順応時間と増殖速度のパラメータを算出する方法で、変異株のストレス耐性を定量的に評価した。その結果、耐性株は酸性条件への順応期間を短縮していること、さらに、一部の変異株では増殖速度の増加も併発していることが示唆された（下図）。



酸性耐性変異株の性状評価.

pH=4.0（酸性ストレス条件）もしくはpH=6.6（ノーマル条件）にて培養を行い、増殖速度を光学密度（OD660）で測定、Baranyiモデル をあてはめ、**(a)**順応時間（Lag Time, Days）と **(b)** 最大増殖速度（Max Growth Rate μ）を求め、元株（Wild）と比較した。pH6.6条件に比べ、pH4.0では5日程度長い順応期間があり、変異株ではこの期間が短縮していた。さらに、一部の変異株（P1P2E）ではストレス条件下での増殖速度の増加も認められた。

微細藻類のバイオマス生産性はメタン発酵の処理速度より数倍遅い。そのため藻類のバイオマス生産性を向上させることが全体システムの律速である。そのための育種として、低クロロフィル含有変異体の作出を試みた。細胞あたりのクロロフィル含量が低下した「低クロロフィル変異体」を作出すれば、細胞集団の光利用効率が高まるため、高密度培養が可能となり、バイオマスの生産性（単位培養液容積あたりのバイオマス生産速度）が向上すると期待される。イオンビーム照射によって変異誘導した細胞塊を寒天培地に低密度で塗布し、発生したコロニー群から目視で緑色が薄いものをピックアップする方法で、低クロロフィル含有変異体の候補を単離した。その後、プレートリーダーにて藻液の吸光スペクトルを測定、低クロロフィル変異体の候補株を選抜し、候補株と元株を 100mL 培養瓶で液体培養、藻体を凍結破砕してクロロフィル色素を抽出し含有量を定量した。その結果、低クロロフィル変異体の候補 6 株を特定した。これらの株では、クロロフィル a とクロロフィル b の含量が元株に比べて有意に低下しており、a/b 比は変化がないことから、クロロフィル a の合成経路に変異が入った変異体であると推察された。今後は、これらの低クロロフィル変異体と元株を使った 1L スケールの瓶培養を行い、藻密度とバイオマス生産性の違いを評価する計画である。

さらに、メタン発酵システムに関し、排 CO_2 ゼロのバイオエネルギー生産システムの構築に向け 、主に「バイオメタネーションの高効率化」および「高圧メタン発酵プロセスの安定性向上」について多角的なアプローチから研究を推進した。技術的ボトルネックである水素溶解効率の改善において、新規提案の「泡沫充填型リアクタ」が従来のトリクルベッド型を大きく上回る負荷追従性（58L/L/d）と高いメタン精製能力（90%以上）を持つことを実証した 。さらに、加圧条件下での反応速度論的・動力学的解析を通じて、比水素消費速度を圧力変化から精度高く算出するモデルを確立し 、連続運転時における培地緩衝能や pH 低下といった実用上の課題と対策を明確にした 。また、外部エネルギーを必要としない「自己加圧型メタン発酵」の長期安定性を証明するなど、システム統合に向けた極めて有益な基盤的知見を構築し、国内外の学会等で計 7 件の成果発表を行った。

4. 研究の反省・考察

本年度は、「排 CO_2 ゼロのバイオエネルギー生産システム」の構築に向け、微細藻類の育種（農学）とメタン発酵・メタネーションの高効率化（工学）の両面から多角的なアプローチを行い、当初の計画を概ね達成するとともに、システム統合に向けた重要な知見と課題を抽出した。藻類育種においては、メタン発酵ガス通気時の培地酸性化を克服する「酸性耐性株」や、光利用効率を高め高密度培養を可能にする「低クロロフィル変異体（候補 6 株）」の作出に成功した。酸性耐性株の増殖挙動を Baranyi モデルで定量評価した結果、環境への順応期間（ラグタイム）が有意に短縮されていることが示された。一方で、塩性耐性株の選抜では顕著な耐性を示す株が 1 株に留まり、浸透圧等の複合ストレスへの適応には単一の変異では不十分であることが判明した。今後は、今回得られた酸性耐性株や低クロロフィル株を親株として、さらなる突然変異育種を累積的に重ねる「段階的品種開発」が必要である。

工学システム側では、技術的ボトルネックであった水素溶解効率の改善において、新規提案の「泡沫充填型リアクタ」がトリクルベッド型を大きく凌駕する水素負荷（58 L/L/d）とメタン精製能力（90%以上）を持つことを連続運転にて実証した。しかし、より高負荷な連続運転試験においては、反応生成水による液相の希釈、緩衝力の低下、およびホモ酢酸生成の促進に伴う pH 低下といった、微生物活性を阻害する実用上の新たな課題が明確となった。速度論的解析により、栄養塩や緩衝能が豊富な培地系が上澄系の約 10 倍の比水素消費速度を示すことが確認されたため、今後はリアクタの押し出し流れ化等の工学的対策に加え、オイル抽出後の藻類残渣を発酵槽へ返送する「ループ構造」による栄養塩・緩衝能の相互補完作用を定量的に検証していく必要がある。

以上の通り、各コンポーネントにおける課題と対策は明確化されており、今後は現在進行中のゲノム解析データをベースに育種機構を解明するとともに、異質な培養槽（メタン発酵／藻類培養）を機能的に連結する「アナモックス」プロセスの導入を進め、システム全体の物質循環構造の最適化へと研究を展開する。

5. 研究発表

査読付論文

1) 丁含含,古崎康哲：汚泥を泡沫状態で保持するバイオメタネーションリアクタの運転特性,土木学会論文集,Vol.81,No.25,25-25024(2025.12.3)

その他雑誌投稿

1) 古崎康哲：下水道カーボンニュートラル～バイオメタネーション技術～,下水道協会誌,Vol.62,No.756,pp.34-38(2025.10)
2) 河村耕史,栗田貴宣,古崎康哲：トピックス　環境バイオリソース研究センター（RCEB）の紹介,環境技術,Vol.54,No.5,pp.34-38(2025.9)

口頭発表等

1) 西村由稀,古崎康哲：バイオメタネーション反応の動力学パラメータを算出する手法の提案,化学工学会第91年会,PD336(2026.3.19)
2) 丁含含,古崎康哲：嫌気性汚泥を泡沫状に保持するリアクタを用いたバイオメタネーションの高負荷運転,化学工学会第91年会,PE376(2026.3.19)
3) 福冨純也,古崎康哲：バイオガス生成による自己加圧型高圧メタン発酵の運転特性, 第60回日本水環境学会年会講演集,p.479(2026.3.10)
4) 川村祐介,古崎康哲,松林未理,野宮高由,高橋惇太,森田智之：加圧バイオメタネーションの培地に関する反応速度論的検討, 第60回日本水環境学会年会講演集,p.478(2026.3.10)
5) 丁含含,古崎康哲：嫌気性消化汚泥を泡沫として充填するリアクタの高負荷バイオメタネーション運転, 第60回日本水環境学会年会講演集,p.480(2026.3.10)
6) 西村由稀,古崎康哲：生物脱リンのリン放出促進を目的とした水素供給によるORP制御の検討, 第60回日本水環境学会年会講演集,p.459(2026.3.9)
7) 福冨純也,古崎康哲,立木悦二,孫晋：においセンサを用いたメタン発酵槽の状態評価に関する研究,第25回環境技術学会年次大会研究発表会予稿集,pp.106-107(2025.10.20)
8) 丁含含,古崎康哲：バイオメタネーションにおける泡沫型とトリクルベッド型の性能比較,第25回環境技術学会年次大会研究発表会予稿集,pp.40-41(2025.10.20)
9) 西村由稀,古崎康哲,森田智之,高橋惇太：加圧メタネーションによるメタン生成菌の動力学的パラメータ算出,第25回環境技術学会年次大会研究発表会予稿集,pp.38-39(2025.10.20)
10) 川村祐介,古崎康哲,森田智之,高橋惇太：加圧型バイオメタネーションの連続運転特性の研究,第25回環境技術学会年次大会研究発表会予稿集,pp.12-13(2025.10.20)
11) 吉川雅登・畑下昌範・河村耕史.群体性緑藻 *Botryococcus braunii* の単細胞由来の突然変異株ライブラリー作成法.環境バイオテクノロジー学会 2025 年度大会. 2025.7.10. 札幌クラーク会館. P-46
12) 西中日菜子・河村耕史.オイル産生藻類 *Botryococcus braunii* の炭化水素含量の株による違いを Nile Red 蛍光で推定する方法. 環境バイオテクノロジー学会 2025 年度大会.札幌クラーク会館. P-43 (2025.7.10)
13) 越智裕斗・松﨑美宙・河村耕史.炭化水素生産藻 *Botryococcus braunii* の細胞外多糖類(EPS)高生産株の選抜.環境バイオテクノロジー学会 2025 年度大会.札幌クラーク会館. P-30 (2025.7.10)
14) 河村耕史. 石油を作る微細藻類 *Botryococcus*.日本農業気象学会 近畿支部大会2025.大阪工業大学. 口頭（招待講演）(2025.11.29)
15) 越智裕斗・畑下昌範・河村耕史. *Botryococcus braunii* の酸性耐性野生株のスクリーニングと変異株の作出.第50回日本藻類学会.筑波大学. P14 (2026.3.21)

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

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	①iPS細胞　②歯周病　③再生		

〇研究代表者

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

〇研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
本　田　義　知	大阪歯科大学歯学部	教　　授	論文作成
岩　﨑　剣　吾	大阪歯科大学歯学部	准　教　授	動物実験、培養実験、データ整理、論文作成
神　田　龍　平	大阪歯科大学歯学部	講　　師	培養実験、論文作成

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

歯周病は、口腔細菌を原因とする慢性炎症によって、歯を支持する歯周組織が破壊される疾患である。歯周病が進行すると歯の動揺や咀嚼機能の低下を招き、最終的には罹患歯は抜歯に至る。日本成人における歯周病の罹患率は高く、現在、日本人が歯を喪失する最大の原因となっており、失われた歯周組織を再生し、歯の保存を可能にする治療法の開発は重要な課題である。歯周組織再生療法として GTR 法や各種再生材料を用いた治療が行われているが、適応症例や再生量には限界があり、高度に破壊された症例に対して安定した再生を得ることは困難である。そのため、より有効な新規歯周組織再生療法の開発が求められている。

近年、培養細胞を用いた再生医療が次世代治療として注目され、歯周病領域においても間葉系幹細胞を用いた歯周組織再生が期待されている。中でも歯根膜由来間葉系幹細胞（periodontal ligament stem cell: PDLSC）は、歯周組織の恒常性維持や修復に関わる細胞として注目され、歯周組織再生に有望な細胞源の一つと考えられている。我々はこれまでに、歯根膜から単離した PDLSC をラット歯周組織欠損部へ移植することにより、歯周組織再生が促進されることを明らかにしてきた。しかしながら、PDLSC の採取には抜歯が必要であり、採取可能な細胞数にも限界があるため、臨床応用を見据えると安定した細胞供給源の確保が大きな課題となっている。

一方、iPS 細胞は高い自己複製能と多分化能を有する多能性幹細胞であり、理論上、目的とする細胞を大量に供給できる可能性を有する。このため、再生医療における細胞源として大きな期待が寄せられてきた。しかし、iPS 細胞から歯周組織再生に重要な役割を果たす PDLSC への分化誘導法は十分には確立されていない。そこで本研究では、iPS 細胞から歯根膜幹細胞様細胞（iPS-PDLSC）を分化誘導する方法の確立を目指し、その細胞学的特性を明らかにするとともに、歯周組織欠損モデルにおける再生能を検証することを目的とした。本研究により、iPS 細胞を用いた新たな歯周組織再生療法の基盤構築につながる知見を得ることを目指した。

2. 研究の計画

iPS 細胞から iPS-PDLSC を分化誘導する方法の確立を申請一年目に行い、さまざまな細胞特性を検証した。その結果を受けて、申請二年目には分化誘導を行った細胞が歯周組織再生治療に利用可能であるのか、そして iPS-PDLSC の分化誘導メカニズムの解明ための研究を計画した。具体的に以下の実験項目を研究計画とした。

① iPS-PDLSC 移植による歯周組織再生の検討

免疫不全ラットに外科的歯周組織欠損モデルを作成し、iPS 細胞から分化誘導した iPS-PDLSC を移植し、組織の再生についての検討を行う。上顎第一臼歯近心面の歯槽骨、歯根膜、セメント質、象牙質の一部を外科的に削除し歯周組織欠損を作製後、細胞シート化した iPS-PDLSC を移植し、４週間後にマイクロ CT、組織形態計測を用いて歯周組織再生を評価する。

②培養上清中に含まれるタンパク成分に対する網羅的解析

iPS-PDLSC の分化誘導メカニズムの解明のために、歯根膜細胞の培養上清に含まれる因子についての解析を行う。歯根膜細胞の培養上清は非常に多くの因子が含まれると考えられるため網羅的解析を用いて因子の特定をすすめる。

3. 研究の成果

まず iPS-PDLSC を細胞シート化するために温度応答性培養皿を用いて培養を行った。本培養皿上で培養した iPS-PDLSC は良好に増殖し、培養 4 日後に培養温度を低下させることによって細胞シートとして回収することが可能であった。免疫不全ラットの上顎第一大臼歯近心根に外科的に歯周組織欠損を形成し、シート化した iPS-PDLSC を移植した。移植 4 週間後にマイクロ CT を撮影し硬組織形成を評価したところ、iPS-PDLSC を移植した欠損では何も移植していない対照群欠損と比較して、露出している歯根表面面積が有意に減少していた。さらに切片を作製し組織学的に再生組織を観察したところ、iPS-PDLSC 移植群では新たな歯槽骨、歯根膜、セメント

質の形成が大きく促進している像が認められた。新生歯槽骨高さを割合で算出し比較したところ、iPS-PDLSC 群において対照群と比較して有意に新生された歯槽骨の割合が高いことが明らかとなった。さらに HE および Azan 染色を行った組織像では、iPS-PDLSC の移植によって新たな歯根膜、歯槽骨の形成を伴う新生歯周組織形成が増強し、コラーゲン線維の一端を根面セメント質に埋入したシャーピー線維様構造の形成が増強している像が認められた。これらの結果から iPS-PDLSC の移植によって正常な組織構造を持つ新生歯周組織の再生が増強されることが示された。

iPS 細胞から iPS-PDLSC への分化誘導メカニズムの検証の為に、分化誘導に用いた PDL 培養上清の内容物について詳細な検討を行った。培養上清中には多種多様な因子が含まれていることが予想されたため、多くの細胞分化に重要な役割を果たす増殖因子の網羅的解析を行った。本解析には Growth Factor Array 解析を用いた。本方法は同時に 41 種の増殖因子の測定が可能であった。本解析の結果、PDL 培養上清には多量の Hepatocyte Growth Factor(HGF)および Vascular Endothelial cell Growth Factor-A (VEGF-A)が含まれていることが明らかとなった。

4. 研究の反省・考察

本研究では、iPS 細胞から歯根膜細胞様細胞への分化誘導を基盤として、得られた iPS-PDLSC を細胞シート化し、歯周組織欠損へ移植することで、歯槽骨、歯根膜、セメント質を含む新生歯周組織の形成が促進されることを示した。これまでに iPS 細胞から歯根膜細胞様細胞へ分化誘導した研究は報告されているが、iPS-PDLSC の移植によって実際に歯周組織再生が促進されることを示した研究は限られており、本研究はその最初の検討の一つとなる可能性がある。特に、本研究で用いた裂開型の歯周組織欠損は、一般的に再生が困難な欠損形態であることから、このモデルにおいて再生促進効果が認められたことは、iPS-PDLSC を用いた歯周組織再生治療の高い再生能力を示唆する重要な成果であると考えられる。

一方で、本研究には今後検討すべき課題も残されている。まず、今回用いた欠損モデルは裂開型欠損に限定されており、臨床で遭遇する多様な歯周組織欠損に対して同様の再生効果が得られるかは明らかではない。今後は、異なる形態や大きさの歯周組織欠損モデルを用いて、iPS-PDLSC 移植の有効性をさらに検証する必要がある。また、移植した iPS-PDLSC が再生組織内でどのように局在し、歯槽骨、歯根膜、セメント質の形成に直接関与しているのか、あるいは周囲組織に作用して間接的に再生を促進しているのかについては十分に明らかにできていない。移植細胞の追跡解析を行うことにより、再生メカニズムの理解が深まり、より効果的な移植方法や治療戦略の改善につながると考えられる。さらに、iPS-PDLSC への分化誘導機構については、PDL 培養上清中の増殖因子解析にとどまった。培養上清には増殖因子以外にも多様な生理活性因子が含まれるため、今後は他の因子の解析を進め、検出された HGF や VEGF-A を含む候補因子が分化誘導に果たす役割を検証する必要がある。

5. 研究発表

(1)学会誌等

①Wu Y, Iwasaki K, Taniguchi Y, Ishikawa I, Hashimoto Y. Differentiation of iPS cells into periodontal ligament cells. Tissue Eng Part A. 2025 doi.org/10.1177/19373341251389015

(2)口頭発表

①李　昊乾、西浦　亜紀、岩﨑　剣吾、橋本　典也. iPS 細胞由来歯根膜細胞の機能評価. 第587回大阪歯科学会例会. 2025.12.13 枚方市.

②谷口　侑里映、山元　智史、岩崎 剣吾、城　潤一郎、石川　敬彬、橋本　典也、百田　義弘. 歯周組織再生療法への応用に向けたiPS由来歯根膜細胞細胞外小胞の有効性の検討(in vitro). 第12回日本細胞外小胞学会学術集会. 2025.10.14.豊中市.

③Taniguchi Y, Iwasaki K, Jo J, Yamamoto T, Ishikawa H, Momota Y, Hashimoto Y. Enhancement of Periodontal Ligament Cell Proliferation and Migration Using Extracellular Vesicles Derived from iPS-Derived Periodontal Ligament Cells. Asia Pacific Societies for Extracellular Vesicles. 2025.7.3.シンガポール.

④Taniguchi Y, Jo J, Iwasaki K, Hashimoto Y, Momota Y. Characteristics and Functions of Exosomes Derived from iPS-PDL cells. 103th General Session & Exhibition of the IADR. 2025.6.27.スペイン、バルセロナ.
⑤谷口　侑里映、西口　雄祐、上田　衛、前川　穂香、奥　勇人、窪　寛仁、橋本　典也. 歯周組織再生に向けたiPS歯根膜細胞由来エクソソームの生物学的機能評価.第79回日本口腔科学会学術集会. 2025.5.17. 松本市.
⑥谷口　侑里映、岩﨑　剣吾、城　潤一郎、石川　敬彬、橋本　典也、百田　義弘. 歯根膜細胞由来エクソソームとiPS歯根膜細胞由来エクソソームの特性及び機能の比較. 第83回日本歯科理工学会学術講演会. 2025.4.19.名古屋市.

(3)出版物
なし

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

学　校　名	**関　西　医　科　大　学**	研究所名等	附属生命医学研究所
研究課題	先天的恐怖臭による依存性のない強力な鎮痛薬の実用化	研究分野	医　　学
キーワード	①チアゾリン類恐怖臭　②鎮痛薬		

〇研究代表者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
小早川令子	関西医科大学 附属生命医学研究所	研究所教授	鎮痛作用の分子・神経メカニズムの解析

〇研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
寿野良二	関西医科大学 医学部医化学講座	准教授	構造解析
日笠幸一郎	関西医科大学 附属生命医学研究所	研究所教授	遺伝子発現解析
徳弘圭造	関西医科大学 附属生命医学研究所	学長特命 准教授	遺伝子改変マウスの作製

先天的恐怖臭による依存性のない強力な鎮痛薬の実用化

1. 研究の目的

神経障害性疼痛、がん性疼痛、三叉神経痛などの難治性疼痛では、既存の鎮痛薬のみでは十分な効果が得られない場合が多い。オピオイドは強力な鎮痛作用を有する一方、依存性、耐性、過量投与などの問題があり、既存薬とは異なる作用機序によって安全かつ強力な鎮痛効果を発揮する治療薬の開発が求められている。

本研究グループはこれまで、先天的恐怖応答を誘導するチアゾリン類恐怖臭（TFO）が、感覚神経に発現するTRPA1を介して脳幹の危機応答系へ情報を伝え、低体温、低酸素抵抗性、抗炎症作用、臓器血流の改善など、生命保護に関わる複数の生理反応を統合的に誘導することを明らかにしてきた。TRPA1は一般に侵害刺激を受容する分子として知られ、その作動薬は痛みを誘発すると考えられている。ところが、予備的な検討により、TFOの一種である2MTはTRPA1作動薬でありながら、強い鎮痛作用を示すことが見いだされた。

そこで2025年度は、第一に、2MTが急性疼痛から難治性の神経障害性疼痛まで幅広い疼痛に有効であるかを検証すること、第二に、2MT以外にも鎮痛作用を示すTFOを探索し、鎮痛作用を持つ化合物群の特徴を明らかにすること、第三に、鎮痛作用を抗炎症作用や低体温作用から分離して誘導できるかを検討すること、第四に、ヒトTRPA1と2MTの相互作用を構造生物学的に解析し、2MTの作用機序を理解するための基盤を得ることを目的とした。最終的には、脳が本来備える危機応答・生命保護機構を感覚刺激によって制御する「感覚創薬」の考え方に基づき、依存性の問題が少ない新規鎮痛薬の実用化につなげることを目指した。

2. 研究の計画

2MT の鎮痛作用については、ホルマリン、カプサイシン及び熱刺激による誘導性疼痛モデルに加え、難治性疼痛を反映する神経障害性疼痛モデルを用いて評価する計画とした。疼痛関連行動の変化を主要な指標とし、併せて痛み情報が入力される脊髄後角における神経活動マーカーの発現を解析することで、行動学的評価と神経生物学的評価の両面から鎮痛効果を検証した。また、既存鎮痛薬との比較を行い、効果の強さ、発現までの時間、持続時間及び行動抑制の有無を確認した。

次に、2MT 以外の TFO について、熱誘導性疼痛に対する鎮痛行動を指標としたスクリーニングを実施し、鎮痛活性を有する候補化合物を探索した。得られた候補については、これまでに蓄積してきた抗炎症作用及び低体温作用のデータと比較し、鎮痛作用がこれらの作用に付随するものか、又は独立して誘導可能であるかを検討した。特に、低体温は救急・神経保護領域では有益となり得る一方、鎮痛薬として使用する際には副作用となる可能性があるため、環境温度、投与経路及び投与時間を変えた条件で、鎮痛作用と体温変化との関係を解析した。

さらに、2MT がヒト TRPA1 とどのように相互作用するかを検討するため、ヒト TRPA1 と 2MT の複合体を調製し、クライオ電子顕微鏡による構造解析を行った。得られた構造情報を既知の TRPA1 リガンドに関する知見と比較することにより、2MT の鎮痛作用を理解するための構造的手掛かりを得ることを計画した。動物実験及び遺伝子組換え実験は、所属機関の関係委員会による承認を得た研究計画に基づいて実施した。

3. 研究の成果

2025 年度の検討により、2MT はホルマリン、カプサイシン及び熱刺激による複数の誘導性疼痛モデルにおいて、強い鎮痛作用を示した。さらに、治療が難しい神経障害性疼痛モデルにおいても明確な効果が認められ、2MT の作用が特定の刺激様式や急性炎症性疼痛に限定されないことが示された。神経障害性疼痛モデルでは、比較対象とした既存鎮痛薬に対して、効果発現及び持続性の面で有用な特徴が認められた。また、本年度までに実施した条件では、麻酔薬や強力な鎮静薬にみられるような顕著な行動抑制は認められず、疼痛行動の減少が単なる運動機能の低下によるものではないことが示唆された。

TFO のスクリーニングでは、熱誘導性疼痛に対して鎮痛効果を示す化合物を新たに数十種類同定した。この結果から、鎮痛作用は 2MT のみに認められる特殊な現象ではなく、一定の特徴を共有する TFO 群に広く存在する可能性が示された。また、各 TFO の抗炎症作用と鎮痛作用を比較した結果、両者は必ずしも一致せず、鎮痛作用と抗炎症作用を分離して誘導できることが明らかになった。したがって、TFO の鎮痛効果は既存の抗炎症性鎮痛薬と同一の機序に単純に還元されるものではなく、新たな鎮痛作用原理に基づく可能性が考えられた。

低体温作用との関係については、2MT による強い低体温は、低温環境下でガスを連続投与する条件で主として誘導されることが分かった。一方、鎮痛作用の評価に用いた室温下での静脈内投与又は経口投与では、実験上問題となる強い低体温は認められなかった。このことから、投与経路、投与時間及び環境条件を適切に設定することにより、生命保護に関与する低体温作用と鎮痛作用を分離し、鎮痛薬として必要な作用を選択的に引き出せる可能性が示された。

構造解析では、ヒト TRPA1 と 2MT の複合体についてクライオ電子顕微鏡による解析を行い、複合体構造の決定に成功した。得られた構造情報から、2MT と TRPA1 の相互作用及び 2MT の作用機序を検討するための重要な手掛かりが得られた。この成果は、当初 2026 年度までに達成することを予定していた課題を前倒しして完了したものであり、研究計画は構造解析の面で当初予定を上回って進捗した。なお、依存性については作用機序からその可能性が低いと推定しているが、2025 年度時点では直接的な実験検証を完了しておらず、今後の課題として残された。

4. 研究の反省・考察

本年度の最大の成果は、2MT が複数の急性疼痛モデルだけでなく、難治性の神経障害性疼痛モデルにおいても鎮痛効果を示したこと、さらにヒト TRPA1 との複合体構造を決定し、作用機序を分子レベルで検討するための基盤を得たことである。薬効評価と構造解析の両面から成果が得られたことにより、TFO による鎮痛が偶発的な現象ではなく、TRPA1 を介した新しい感覚情報変換機構に基づく可能性が高まった。また、抗炎症作用及び低体温作用と鎮痛作用を分離できたことは、実用化に際して、有効性を保ちながら不要な生理作用を抑える化合物又は投与条件を設計できる可能性を示している。

一方、構造解析で得られた知見と個体レベルの鎮痛作用との因果関係は、現時点では十分に証明されていない。今後は、構造情報に基づく機能解析、遺伝学的解析及び薬理学的解析を進め、TRPA1 との相互作用が鎮痛作用の発現にどのように結び付くのかを検証する必要がある。また、顕著な行動抑制が認められなかったことは安全性を考える上で重要であるが、これのみをもって依存性がないと結論付けることはできない。今後、報酬性、反復投与後の薬物探索行動、耐性、離脱症状などを指標とした直接的な評価を実施する必要がある。

さらに、マウスで得られた鎮痛効果を臨床応用へ結び付けるためには、薬物動態、適正用量、投与経路、反復投与時の安全性及び長期毒性を段階的に検証する必要がある。新たに同定した数十種類の TF0 についても、鎮痛強度、持続性、体温への影響、抗炎症作用及び安全性を同一条件で比較し、構造活性相関を整理した上で、用途に応じた候補化合物を選定することが重要である。

以上より、2025 年度は TF0 を利用した新規鎮痛薬開発の有効性と独創性を支持する重要な成果が得られた一方、依存性の直接評価、構造情報と鎮痛作用との因果的検証及び臨床応用に向けた安全性・薬物動態評価は今後の課題である。今後はこれらの検証を進め、感覚刺激によって脳の内在性鎮痛機構を作動させるという新たな治療原理を、再現性の高い創薬技術へ発展させる必要がある。

5. 研究発表

(1)学会誌等

なし

(2)口頭発表

① 小早川令子, 先天的恐怖臭が誘導する低酸素抵抗性とその分子神経メカニズム, 第103回 日本生理学会, 2026年3月11日、東京

(3)出版物

① 『生き物と匂い・フェロモンの辞典』小早川令子 他75名,朝倉書店, 2025年

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

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		

〇研究代表者

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

〇研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
藤 原　明 比 古	関 西 学 院 大 学　工 学 部	教　　授	実験・物性評価

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ダイ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ことを長期的な目標とする。

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に着手した。そして 2025 年度には、GdFeCo 試料に対する X 線誘起磁気ダイナミクスの円偏光依存性の観測を行うことを目的とした。

3. 研究の成果

実験は SACLA の BL3 で行った。試料には厚さ 30 nm の $Gd_x(FeCo)_{100-x}$（x = 23, 25）アモルファス合金を用いた。励起光として用いた XFEL の光子エネルギーを Gd L_3吸収端の 7.2455 keV とし、プローブ光は中心波長 803 nm の Ti:サファイアレーザーを用いた。昨年度に開発した磁気ファラデー顕微鏡光学系（図 1）を SACLA のビームラインに導入し測定を行った。試料を透過したプローブ光をウォラストンプリズムで水平・垂直偏光成分に分離し、2 台の CMOS カメラで偏光顕微画像を取得することでファラデー回転角（磁性）と透過率（電子状態）の変化をシングルショットで検出した。

図 2 に $Gd_x(FeCo)_{100-x}$（x = 25）試料に対して得られた、XFEL 照射後の異なる遅延時間での測定画像を示す。磁性と透過率変化とも XFEL 照射による強度変化が見られた。また、図 3 に左右円偏光 XFEL に対する磁性変化を示す。両者ともに時定数 0.2 - 0.3 ps での減磁が観測され、その後、数 ps 秒での緩和が観測された。左回り円偏光に対する磁性変化よりも右回り円偏光に対する変化の方が約 5% 大きく観測された。この円偏光ヘリシティ依存性

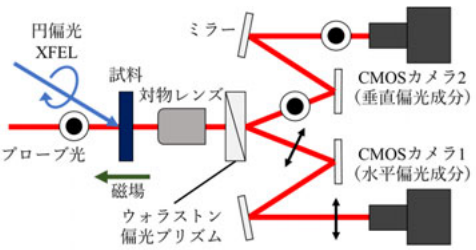


図 1. 磁気ファラデー顕微鏡を用いた XFEL 励起-近赤外レーザープローブ測定系

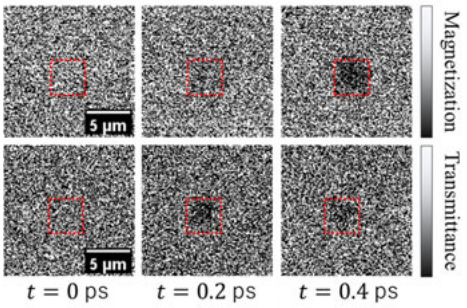


図 2. 各遅延時間における測定画像
（上：水平偏光成分(磁性変化)、下：垂直偏光成分(透過率変化)）

は Gd L_3吸収端での XMCD の符号と合致し、XMCD に起因すると考えられる。一方で、励起光に用いた X 線のエネルギーでは XMCD の大きさは 3% 程度であり、円偏光依存性は X 線吸収の際だけでなく、X 線吸収後の Gd 5d - Fe 3d、あるいは Gd 4f - Fe 3d 間相互作用等の寄与が考えられる。減磁の大きさはフルエンスに対して比例関係にあり、非線形現象は確認できなかった。また減磁時間にもヘリシティ依存性が観測されたが、フルエンスによる明確な違いは見られなかった。

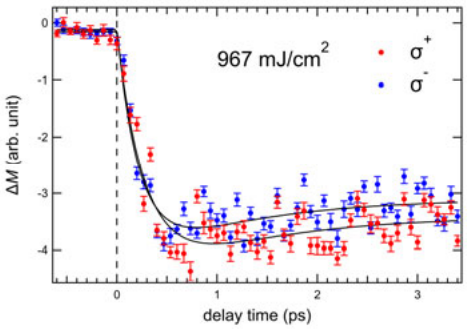


図 3. 円偏光 XFEL 励起光に対する磁性変化
（σ^+：右回り円偏光、σ^-：右回り円偏光）

つづいて、$Gd_x(FeCo)_{100-x}$（x = 23）試料に対して得られた結果と比較したところ、磁気ダイナミクスの円偏光依存性が x = 23 と x = 25 の試料で逆転していることが分かった。この結果は、補償組成（$x \approx 24$）の前後で Gd と Fe の磁気モーメントの大小関係と全磁気モーメントに対する Gd 磁気モーメントの関係が逆転していることと合致しており、Gd の内殻励起による磁気ダイナミクスが、元素ごとの磁気モーメントと励起光である XFEL の円偏光ヘリシティに依存していることを示唆している。

さらに、比較のために円偏光可視光励起による磁気ダイナミクス測定を行った。その結果、可視光励起と XFEL 励起では磁気ダイナミクスに違いが見られ、XFEL 励起の減磁時間が可視光励起に対して約 2 倍速いことが分かった。また、XFEL 励起に対してのみ円偏光依存性が見られ、透過率変化も XFEL に対してのみ観測された。これらの結果からも、価電子帯励起による磁気ダイナミクスと内殻電子励起による元素選択的な磁気ダイナミクスは異なるメカニズムで起こっていることが示唆された。

4. 研究の反省・考察

本研究では、Gd L_3吸収端において、フェリ磁性体 GdFeCo の円偏光 XFEL 誘起磁気ダイナミクスを観測した。得られた円偏光依存性の結果から、XMCD が磁気ダイナミクスのメカニズムに密接に関与していることを明らかにした。一方で、磁気ダイナミクスにおける減磁強度のヘリシティ依存性は、XMCD 信号強度と比較して約 2 倍大きいことが分かった。この起源を解明するためには、内殻励起後のダイナミクスに関する詳細な解析および理論モデルの構築が必要である。

したがって、今後の課題として、内殻励起後の Gd 4f-5d 電子系と Fe 3d 電子系との相互作用を考慮した理論計算が挙げられる。また、実験的には、励起光エネルギー依存性を測定することで、元素選択的な磁気ダイナミクスをより詳細に調べる必要がある。特に、Fe の 3d バンドを直接励起可能な Fe L 吸収端および M 吸収端における軟 X 線 FEL 励起実験を実施したい。軟 X 線領域での実験には真空環境が不可欠であるため、真空槽内の試料に対する X 線励起-可視光プローブ測定系の開発が必要となる。これは本研究をさらに発展させるための、今後の実験技術における重要な課題の一つである。

5. 研究発表

(1)学会誌等

① 鈴木 基寛、西村 渉、田中 健太、大河内 拓雄、久保田 雄也、片山 哲夫、中村 哲也、松田 巌、田中 義人、“XFEL 誘起磁気ダイナミクス実験のためのＸ線ポンプー近赤外レーザープローブ測定系の開発”、SPring-8 SACLA利用研究成果集（SPring-8/SACLA Research Report）、Vol. 14、71-74（2026）。DOI 10.18957/rr.14.1.71

(2)口頭発表

① 秋山裕輔、小林玲、山田貴大、吉川大貴、竹村海輝、小幡竜世、後長葵、笹倉颯太、金島圭佑、富樫格、久保田雄也、塚本新、田中義人、鈴木基寛、“フェリ磁性体GdFeCoの円偏光 XFEL 励起磁気ダイナミクスのヘリシティ依存性”、第39回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム、2026年1月7日～9日、東北大学百周年記念会館 川内萩ホール・仙台国際センター展示棟。

② K. T. Yamada, R. Kobayashi, I. Sugiura, Y. Kubota, Y. Akiyama, S. Sasakura, A.

Gocho, K. Takemura, S. Mochizuki, S. Takahashi, T. Ohkochi, I. Matsuda, T. Ono, T. Togashi, Y. Tanaka, and M. Suzuki, “Helicity-dependent ultrafast spin dynamics in a Pt/Co/Pt multilayer excited by hard x-ray pulses”, Iwate spintronics School 2026, 3-6 March 2026, Iwate.

③ K. T. Yamada, R. Kobayashi, I. Sugiura, Y. Kubota, Y. Akiyama, S. Sasakura, A. Gocho, K. Takemura, S. Mochizuki, S. Takahashi, T. Ohkochi, I. Matsuda, T. Ono,T. Togashi, Y. Tanaka, and M. Suzuki, “Helicity-dependent ultrafast demagnetization in a Pt/Co/Pt multilayer excited by hard x-ray pulses”, Joint European Magnetic Symposia (JEMS) 2025, 24-29 August 2025, Frankfurt.

④ K. T. Yamada, R. Kobayashi, I. Sugiura, Y. Kubota, Y. Akiyama, S. Sasakura, A. Gocho, K. Takemura, S. Mochizuki, S. Takahashi, T. Ohkochi, I. Matsuda, T. Ono, T. Togashi, Y. Tanaka, M. Suzuki, “Ultrafast spin dynamics induced by circularly polarized hard x-ray pulses in a Pt/Co/Pt multilayer”, IcAUMS2025: International Conference of Asian Union of Magnetics Societies, 21-24 April 2025, Okinawa.

(3)出版物

なし

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

学　校　名	**園　田　学　園　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ー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ー	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		

〇研究代表者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
足　立　　邦　子	園田学園大学　経営学部	教　　授	研究代表者　総括

〇研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
山　村　　麻　予	関西福祉科学大学 健　康　福　祉　学　部	准　教　授	調査・データ解析・論文作成
小 田 桐　良 一	園田学園大学　経営学部	教　　授	データ解析

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

産業界におけるメンタルヘルス不調の予防や健康増進に向けた対策は、人事労務管理の改善や労働者の生産性向上に資するため、企業では、不調者への対応、ストレスマネジメント、労働環境の改善など多様な取り組みが行われている。厚生労働省は、職場のメンタルヘルス対策の一環として教育研修やメンタリングやコーチングのキャリア発達支援を通じた一次予防の重要性を示している。そこで本研究では、教育研修やメンタリングやコーチングのキャリア発達支援制度に対する労働者の評価に着目し、メンター・コーチが提供する支援の内容やそのタイミング、教育研修がもたらす効果についての詳細を明らかにすることを目的とする。

2. 研究の計画

(研究1)　本年度は、教育研修やメンタリングやコーチング制度などの「職場の資源」に対する労働者の評価から、労働者の精神的負担及び職場適応にどのように影響するか検討するため、WEBを介した大規模調査を行う。

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人で、メンターまたはコーチがいる／いた／現在も過去もいない人それぞれ330名程度、合計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、入職時期、事業所規模、新入社員研修後の継続的な教育研修の実施の有無、メンターまたはコーチ経験の有無などを尋ねる。教育研修やメンタリングやコーチング制度に対する労働者の評価及びそこでの印象について尋ねる。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。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：調査対象者すべてを対象に職業性ストレスと心身の健康状態を示す指標の記述統計量を確認する。メンターまたはコーチがいる／いた／現在も過去もいないの3群×性別2群を独立変数に、メンティ・クライアントによるメンター・コーチの評価、継続した教育研修への評価、組織内自尊感情、ワーク・エンゲイジメント、情動知能の各尺度を従属変数とする2要因分散分析を行う。

(研究1の成果発表計画)：学術学会でポスター発表を行う。東京で定期開催されている多変量解析の専門家が集う自主研究会において解析手法に関する意見収集を行う。

(研究2)　2024年度に公表した研究（『神戸女学院大学論集』第71巻第2号）におけるモデルの精緻化を目指し、2024年度大規模調査で得たデータをもとに構造方程式モデリング手法を用いたデータ解析を行う。ポストコロナに対応する構造モデルを発表する。

(研究2の成果発表計画)：精緻化したモデルについて学術学会で発表する。そこで得た知見及び意見をもとに、研究成果を学会誌等で発表する。

3. 研究の成果

（研究 1）

日本発達心理学会第 37 回大会（2026 年 3 月開催、福岡）において、「メンターやコーチによるキャリア支援制度及び教育研修に対する労働者の評価とワーク・エンゲイジメントに与える影響」というタイトルで、継続的に実施される教育研修やメンタリングやコーチング制度という「職場の資源」に対する労働者の評価に着目した研究を発表した。調査対象者は、インターネット調査会社にモニター登録している成人のうち、調査時点で就業しており休職経験のない 1056 名であった。性別、年齢、職業と役職、メンタリングやコーチング制度や研修制度の有無等を尋ねた。教育研修及びメンタリングやコーチング制度が「ある」と回答した人を対象に、そのような制度は必要か、メリット・デメリットについてどう思うか、現在の業務にどの程度役立っているか等について評価してもらった。さらに、ワーク・エンゲイジメント尺度などに回答してもらった。メンター・コーチの支援（現在いる／過去にいた）×性別（男性／女性）を独立変数、メンター・コーチに対する評価を従属変数とする 2 要因参加者間計画の分散分析を行った。結果、女性の方が男性よりもメンター・コーチに対する評価が高いことがわかった。メンター・コーチの支援（現在いる／過去にいた／過去も現在もいない）×性別（男性／女性）を独立変数、教育研修に対する評価を従属変数とする、2 要因参加者間計画の分散分析を行った。結果、現在及び過去にメンター・コーチがいる／いた人の方が、現在も過去もいない人よりも評価が高いことがわかった。メンター・コーチがいる／いた経験は、教育研修への捉え方を好意的にすることがわかった。メンター・コーチの支援（現在いる／過去にいた／過去も現在もいない）×性別（男性／女性）を独立変数、ワーク・エンゲイジメントを従属変数とする、2 要因参加者間計画の分散分析を行った。結果、メンター・コーチが現在いる人は、過去にいた／現在も過去もいない人よりもワーク・エンゲイジメントが高いことがわかった。メンター・コーチが過去にいた人は、現在も過去もいなかった人よりもワーク・エンゲイジメントが高かった。ワーク・エンゲイジメントは仕事に関連するポジティブで充実した心理状態の指標であることから、メンターまたはコーチの支援が労働者の精神的な負担を低減し、仕事上の目標達成を動機づけ、そのことが職場適応を促進していると考えられた。本研究について、上述の学会発表での意見交換を踏まえ、多変量解析の専門家が集う自主研究会（2026 年 3 月開催、東京）において発表し、データ解析手法の意見交換を行った。

（研究 2）

日本社会心理学会第 66 回大会（2025 年 9 月開催、東京）において、「産業場面におけるメンター制度・研修制度がワーク・エンゲイジメントと組織内自尊感情に与える影響」というタイトルで、次のような研究を発表した。

労働者の様々な知識・スキル向上をめざした教育研修や、従来型の指導ではなく人材育成と個人の能力を引き出すことを支援するメンタリングやコーチングは、職場適応を高めることが予測され、ひいては労働者の心身の健康にも影響を与えると考えられる。しかし、これらの制度の有無が、労働者の心理にどのように働きかけるかの機序は明らかでない。そこで、職場適応の指標としてワーク・エンゲイジメントと組織内自尊感情を、個人特性のひとつとして情動知能を取り上げ、これらが心身の健康にどのように関連をしているかを検討した。相関係数ならびに研究チームのこれまでの研究（足立他、2024 など）を参考に仮説モデルを構築し、最終的なモデルを抽出した。そのモデル適合度は GFI=. 965、AGFI= .837、RMR= .152、RMSEA= .147、AIC=202.128 であり、一部の指標では低い値もあるものの、変数の数を鑑み十分であると判断した。教育研修及びメンタリングやコーチング制度の有無は、組織内自尊感情、ワーク・エンゲイジメント、情動知能いずれにも有意な正のパスを示し、とくにメンタリングやコーチング制度は、ワーク・エンゲイジメントと組織内自尊感情に正の関連が見られた。また、情動知能から組織内自尊感情とワーク・エンゲイジメントへの正のパスも確認できた。得点が高いほど不調であることを示す K6 及び身体的愁訴へは、いずれの変数からも負のパスが有意であった。とくに他者や自身が気づきにくい精神的不調には、組織内自尊感情、ワーク・エンゲイジメント、情動知能のすべてから関連が認められた。メンタリングやコーチング制度や研修制度によって、職場適応に関する心理指標を高め、心身の不調の発生を予防するメカニズムの一助を明らかにすることができた。以上の研究成果をまとめ、「産業場面におけるメンター制度及び教育研修制度が心身の健康に及ぼす影

響：ワーク・エンゲイジメントと組織内自尊感情を媒介として」というタイトルで、『園田学園大学論文集』（第 60 号）において発表した。

4. 研究の反省・考察

HR 施策としての教育研修及びメンタリングやコーチング制度について

教育研修やメンタリングやコーチング制度（仕事の資源）が労働者の組織内自尊感情・情動知能・ワーク・エンゲイジメント（個人の資源）と関連し、さらに心の健康や身体不調と結びつくことを量的研究によって明らかにすることができた。しかしながら、労働者自身がそれらをどのような内容を経験したかといった具体的・個別的な質や、メンターとメンティ、もしくはコーチとクライアントの関係や相互作用を通して個人の資源形成の向上につながるのかのメカニズムに関しては、十分に明らかにできていない。今後の課題として、教育研修及びメンタリング／コーチングの具体的経験に着目した研究が求められる。これまでの量的研究で得られた関連構造を、インタビューによる逐語データから具体化することで、理論的理解を深化させるとともに、HR 施策を「制度整備にとどまる」段階から「個人の資源を高める」施策として実効性ある設計・運用に資する実践的知見を提示する必要がある。

ワーク・エンゲイジメントとワーカホリズムとの区別

ワーク・エンゲイジメントは仕事に関連するポジティブで充実した心理状態であり、「働きがい」を捉える一つの指標であることから、メンターやコーチの支援が労働者の精神的な負担を低減し、仕事上の目標達成を動機づけ、そのことが職場適応を促進することが考察された。しかしながら、ワーク・エンゲイジメントとワーカホリズムは、ともに「よく働く／仕事に深く没入する」という外見上類似する行動が観察され、他者から区別されにくい。つまり、他者からの観察では、ワーカホリック行動の「過重労働」とワーク・エンゲイジメントの「仕事への没頭」とが区別されず、共通の行動という認識をされてしまう可能性がある。本年度の調査では、メンター／コーチがいる（いた）グループはワーク・エンゲイジメントとワーカホリズムとの相関は認められなかったが、メンター／コーチが現在も過去もいなかったグループにおいては正の相関が認められた。また、メンター／コーチ経験があるグループはワーク・エンゲイジメントとワーカホリズムとの相関は認められなかったが、それらの経験がないグループは正の相関が認められた。今後の展望として、「過重労働」と「仕事への没頭」の背景となる動機が異なることをメンタリング／コーチングの具体的なプロセスから検討する必要がある。

5. 研究発表

(1)学会誌等

①足立邦子・山村麻予・小田桐良一 「産業場面におけるメンター制度及び教育研修制度が心身の健康に及ぼす影響:ワーク・エンゲイジメントと組織内自尊感情を媒介として」『園田学園大学論文集』 第60号、pp.191-202、2026年3月

(2)口頭発表

①足立邦子・山村麻予・小田桐良一「産業場面におけるメンター制度・研修制度がワーク・エンゲイジメントと組織内自尊感情に与える影響」 日本社会心理学会第66回大会 東京東京大学 本郷キャンパス 2025年9月21日

②足立邦子・山村麻予・小田桐良一 「メンターやコーチによるキャリア支援制度及び教育研修に対する労働者の評価とワーク・エンゲイジメントに与える影響」 日本発達心理学会第37回大会 福岡 福岡国際会議場 2026年3月4日

(3)出版物

なし

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

学　校　名	**神　戸　女　子　大　学**	研究所名等	
研 究 課 題	演能記録の調査･保存及び演能記録データベースの構築	研 究 分 野	文　　学
キーワード	①能楽　②能　③狂言　④能番組　⑤能組　⑥演能記録　⑦狂言番組　⑧能役者		

〇研究代表者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
樹　下　　文　隆	神戸女子大学文学部	教　　授	総括･中近世能番組･幕府･藩の記録

〇研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
井　上　　勝　志	神戸女子大学文学部	教　　授	近世芸能･番付･興行記録
長　田　　あかね	神戸女子大学 古典芸能研究センター	研究員(非)	中世芸能･近世能番組･能楽諸家記録
大　山　　範　子	神戸女子大学 古典芸能研究センター	研究員(非)	中世芸能･近代能番組･近代雑誌

演能記録の調査・保存及び演能記録データベースの構築

1. 研究の目的

能・狂言の上演記録である能番組は、上演の日時、場所、曲目、演者名などが記されるだけでなく、時に、演能の趣旨、主催者側の準備、客への饗応、附属した行事など、演能そのもの以外の多くの情報が記されている。幕府や各藩の行事として催される場合は、幕藩政治と密接に関わることが多く、家臣団や領民がどのように能楽の催しを支えていたのかを詳細に語る資料も存在する。たとえば、萩毛利氏の江戸屋敷における演能記録からは、毛利家が家格上昇を試みた時の政治的な駆け引きが窺われ、萩城内での演能記録からは、上演に際しての家臣団の役割や観能を許可された領民たちの詳細を知ることができる。そのように、江戸幕藩体制における武家儀礼の研究において、「将軍家御成能」「御鷹之雁拝領老中招請囃子」「大名国入能」「家督就任祝儀能」「若様御誕生祝儀能」「巡検使饗応囃子」などの記録は、重要な示唆をもたらす資料と言える。また、各地の大小の寺社での演能は、地域共同体の有り様を伺うことの出来る場合もあり、町や村での私的な演能の記録は、人々の交際関係や身分関係を明らかにする上でも役立っている。一方で、その原資料は、料紙に墨書きあるいは摺られた紙片だけが伝存していたり、まとまった状態でも懐紙状に折りたたまれて複数枚をこよりや糸で綴じ合わされているものが大半で、冊子体のものは極めて少ない。それゆえ、散逸し易く、残っているものも総じて傷みが著しい。

本研究課題の代表者である樹下がセンター長を務める神戸女子大学古典芸能研究センター(以下、センター) では、2014 年よりホームページで「古典芸能研究センター蔵能番組データベース」(以下、能番組 DB) を公開している (https://noh-bangumi.yg.kobe-wu.ac.jp/)。ここでは、センターが所蔵する伊藤正義文庫「幕末明治京都等能番組集」をはじめとして、江戸時代後期の京都・大坂で演じられた能狂言の番組 2,000 点余りについて、記載された曲目および演者情報と原資料の画像を、検索可能なデータベースとして公開している。最大の特長である全点の画像表示によって、画面上で翻印との比較が可能となり、番組の全容を正確に把握することができる。また、デジタルアーカイブ化することで、閲覧の頻度が下がり、結果として原資料の劣化を抑えることにも繋がっている。

現在、能番組 DB 以外に国内で公開中の関連データベースとして、国文学研究資料館の「連歌・演能・雅楽データベース」(以下、国文研 DB)がある (https://kokubunken.repo.nii.ac.jp/records/4732)。これは、「演能記録の全国的総合調査と演能年表の編纂」(1991～93 年科研費総合研究(A)03301054　代表、故表章法政大学教授) 及び「江戸初期能番組七種－番組要綱と曲名・演者名索引」(法政大学能楽研究所紀要『能楽研究』18、19、24 号。以下、能番組七種) の成果に基づくものである。研究代表者は、1990 年代から当時勤務していた国文学研究資料館と法政大学能楽研究所の共同研究に参加し、この国文研 DB 作成事業全般のほか、演能記録の収集と近世能役者の研究に従事してきた。『江戸初期能番組七種－「番組要綱」と曲名索引と演者名総覧』(1995 年刊行)、平成 8・9・10 年度科学研究費補助金〔基盤研究費(A)(1)〕「近世以前の能役者の総合的研究」研究成果報告書Ⅰ (研究代表者：表章)『近世能役者研究の基礎資料－翻印四十種と総合名鑑二種－』(2000 年刊行) などがその成果である。その後も、演能記録データベースの将来的な発展を庶幾して、山口・広島などの江戸時代の能楽記録を中心に独自に調査を継続し、演能記録の集積に努めてきた。しかし、国文研 DB は完結型で、新規の情報を付け加えることは想定されていない。そこで、本研究 (三カ年計画) では、能番組 DB の長所を最大限に活用して、本センター所蔵資料の枠を越えた演能記録データベース (以下、演能記録 DB) の構築を目指す。

本研究は、単に能や狂言の上演目録を作成して提供するというだけでなく、依拠した原資料の画像を共に提供するという点で、画期的である。従来の目録では、上演日時、場所、目的、曲名、演者名などがデータベースとして提供されるか、原資料の翻刻という形で提供されてきた。しかしながら、役者名は多くの場合、名だけが記され、その役者の姓や流儀については、研究者が自身で調査する以外に方法はなく、結局は原資料を自らの目で確認し、周辺の状況から勘案するという作業が必要であった。本研究の目指す演能記録 DB は、原資料の画像を伴うものであるから、前後の番組や参考記事を確認することができる。同時に同一の名を持つ役者の番組がデータベ

ース上で検索できるために、上記の作業を合わせると役者の同定作業も容易く行えるという利点がある。これまでの演能記録の索引は、特定の作品の上演頻度、同一名の役者の活動時期などをおおまかに捉える場合に利用されていた。演能記録 DB では、それぞれのデータの原資料を確認することで精度を高めると共に、当該箇所の前後を検討することで、従来の索引では実現できない演能当日の全体的な把握が可能になる。また、原資料の性格が一枚物か冊子体かなどの、資料の信憑性を保証する情報も容易に得ることができる。また、「左」や「右」などの紛らわしい字形も、番組全体を見通すことで判断が容易になると考える。さらに、従来の索引や翻印では、原資料を確認する時に記載箇所を探す手間があったが、画像を伴うデータベースであれば、原資料を確認する場合も、即座にその箇所を見つけることが可能である。さらに、難読字や記載方法に関する情報も一目瞭然となるので、個別に検討する時間を大幅に縮小することができよう。

既発表の演能記録（影印・翻刻類など）はもちろん、研究代表者がこれまで把握・調査した江戸幕府や萩藩、岩国藩の記録類を中心とする演能記録、本センターで新たに収集した情報など、可能な限り演能記録 DB に反映させたい。特に、国文研 DB 所収の能番組七種については各記録類の所蔵者・機関からのデータ提供が不可欠である。近世に作成された演能記録集であるため、番組の重複や原資料の存在が認められたので、可能な限り原資料の画像データを調査・収集すると共に、関連する同時代の日記・記録との対照作業を行い、正確を期す。また、予定した研究期間において能番組 DB に他機関や個人所蔵の演能記録資料を組み込む手順を確立し、演能記録 DB へと統合する道筋を構築することで、終了後も新出の演能記録を継続して追加更新していきたい。

併せて、未公開資料も含めて、現在本センターが所蔵する約 2,100 点の原資料の多くは、受け入れ段階で既に経年劣化が著しく、修復と保存環境の整備が所蔵機関として喫緊の課題である。能楽 DB に記載した内容のなかには、劣化によって原資料で判読のつかなくなった箇所も認められる。原資料は能番組 DB の内容を保証する重要な原資料であるため、まずはその保存対策を加速させたい。

近年、新規の演能記録や幕府・藩政資料に含まれる演能関係記事の紹介が相次いで公表されている。センターの本研究の主目的は、能番組 DB を発展・拡充した演能記録 DB の構築である。これまでの研究蓄積によって得られた知見は、中世から近代に及ぶ社会の文化事象を解明する研究資材として活用されているが、データベースの発展・拡充により、様々な分野の研究者とも共同研究が可能になり、大きな成果が期待できる。本研究の従事者は、これまでも能番組 DB によって得られた知見に基づく研究成果を公表してきたが、演能番組 DB への統合作業において、さらに多くの新知見を個々のテーマにおいて公表していくことになるであろう。

2. 研究の計画

2025 年度（計画１年目）

- 本センター所蔵の能番組のうち、修復を要するものを選出して修復を行う。
- 現行の「古典芸能研究センター蔵能番組データベース」を、学外所蔵能番組の情報も盛り込む「演能番組データベース（仮）」に改変するための作業を行う。
- 能番組七種（『小鼓大倉家古能組』『天正慶長元和御能組』『古之御能組』『江戸初期能組控』『御城諸家御能組』『寛永雑記』『寛文御能組』）について、東京（法政大学能楽研究所・観世文庫・個人）・仙台（宮城県図書館）に赴き、所蔵者・所蔵機関の了承を得て画像データを入手する。
- 能番組七種の原資料となる番組を『柳営日次記』（国立公文書館内閣文庫）、『能之留帳』（法政大学能楽研究所）、各種日記（宮内庁書陵部、国会図書館、国立歴史民俗博物館、内閣文庫、東京大学、京都大学等）を参考にして収集または再現する。

2026年度（計画２年目）

- 本センター所蔵能番組の修復と保全（継続）。
- 入手した画像データと能番組七種の成果を「能番組データベース」に反映させる。
- 公表されている演能記録の情報収集と「能番組データベース」への反映。
- これまでに把握している江戸時代の藩政資料に含まれる演能記録について、画像データを入手して「能番組データベース」に反映させる。

2027年度（計画３年目）

- 本センター所蔵能番組の修復と保全（継続）。
- 公表されている演能記録の情報収集と「能番組データベース」への反映（継続）。

・これまでに把握している江戸時代の藩政資料に含まれる演能記録について、画像データを入手して「能番組データベース」に反映させる（継続）。

3. 研究の成果

「2025年度（研究計画１年目）」に基づき、以下を実施した。

・センター所蔵の能番組その他関連資料（近代の能楽雑誌類等）の修復。
・センター所蔵の能番組その他関連資料の保管環境整備（調湿・防虫対策）。
・現行の「古典芸能研究センター蔵能番組データベース」に、他機関・個人蔵等、学外所蔵能番組の情報も盛り込むためのシステム再構築作業。
・「古典芸能研究センター蔵能番組データベース」の改変を前提としたデータの再確認と情報追加作業。
・『柳営日次記』ほか、参考資料からの能番組の収集と再現作業に着手。
・未公開資料の調査と撮影
・新資料の収集および調査と撮影
・能番組を含む資料展示

4. 研究の反省・考察

現行の「古典芸能研究センター蔵能番組データベース」の機能を基に、三カ年計画で他機関・個人の所蔵資料や既発表の演能記録から情報を収集して「演能記録データベース」へと発展させる道筋を付けようと試みたが、学外の資料を取り扱うには、所蔵元や関係者の理解と了承を得ることが第一義である。一年目の計画内容はほぼ順調に進行したが、能番組七種の画像データ入手に関しては、その点において時間不足となり、叶わなかった。それに対して、現行データベースの情報により、仙台藩笛役者平岩家の縁者より家伝古文書群一式の調査依頼が寄せられ、本研究への寄与も叶った。

能番組一点毎に記されている情報は膨大で判読困難なものも多い。専門家による地道な翻字・入力作業を経て、そこから得た情報を集積していくことが結果に繋がる。能楽研究はもちろん、関連分野の研究資材としても有益と判りつつ、未だ成されぬ理由はそこに尽きよう。残念ながら本課題は一年目で終了することとなったが、古典芸能研究センターの研究計画として今後も根気強く継続していきたい。

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

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

学　校　名	**川　崎　医　科　大　学**	研究所名等	
研 究 課 題	自己炎症性疾患VEXAS症候群の革新的治療法の開発 －～細胞死メカニズムに基づくSuppress & Kill戦略～－	研 究 分 野	医　　学
キーワード	①VEXAS症候群 ②自己炎症性疾患 ③UBA1 ④細胞死 ⑤ネクロトーシス ⑥アポトーシス ⑦DAMPs ⑧HMGB1		

○研究代表者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
向　井　　知　之	川崎医科大学　医学部	教　　授	研究統括・研究計画立案・実験遂行・結果の解釈

○研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
坂　本　　祐　真	川崎医科大学　医学部	助　　教	研究計画立案・実験遂行・結果の解釈
馬　場　　伸　育	川崎医科大学　医学部	講　　師	実験遂行・結果の解釈
井　関　　將　典	川崎医科大学　医学部	講　　師	実験遂行・結果の解釈
伊　藤　　達　男	川崎医科大学　医学部	教　　授	実験手法の助言・結果の解釈
近　藤　　英　生	川崎医科大学　医学部	教　　授	実験遂行（遺伝学的解析）・結果の解釈

自己炎症性疾患 VEXAS 症候群の革新的治療法の開発
－～細胞死メカニズムに基づく Suppress&Kill 戦略～－

1. 研究の目的

VEXAS 症候群は、UBA1 遺伝子の体細胞変異により発症する成人発症の自己炎症性疾患であり、発熱、血球減少、骨髄異形成、血管炎、軟骨炎、関節炎など多彩な炎症病態を呈する。本疾患では、UBA1 変異を有する骨髄系細胞がモザイク状に存在し、全身性炎症を惹起すると考えられているが、その詳細な分子機序は十分に解明されていない。また、現在の治療は副腎皮質ステロイド、サイトカイン阻害薬、JAK 阻害薬などに限られ、治療抵抗性を示す症例も多く、根本的治療法の確立が求められている。

本研究では、VEXAS 症候群における UBA1 変異細胞の細胞死感受性に着目し、細胞死および DAMPs 放出を介した炎症誘導機構を明らかにすることを目的とした。特に、UBA1 変異細胞においてアポトーシス、ネクロプトーシス、パイロトーシスなどの細胞死経路がどのように変化するかを解析し、炎症病態との関連を検討した。

さらに、細胞死を抑制することで炎症を軽減する「Suppress 戦略」と、変異細胞を選択的に除去する「Kill 戦略」の可能性を検証することを目指した。これにより、VEXAS 症候群の病態理解を深めるとともに、従来の免疫抑制とは異なる、変異細胞を標的とした新規治療法開発の基盤を構築することを目的とした。

2. 研究の計画

本研究では、まずヒト単球系細胞株 U937 にゲノム編集技術を用いて UBA1 M41 変異を導入し、VEXAS 症候群モデル細胞を作製する計画とした。作製した UBA1 変異 U937 細胞を用いて、TNF などの炎症性サイトカイン、デスリガンド、TLR リガンド、インフラマソーム活性化刺激などに対する細胞応答を解析することとした。細胞死の解析では、Annexin V/PI 染色、LDH 放出、細胞周期解析、ならびに Caspase、RIPK1、RIPK3、MLKL などの発現・リン酸化を評価し、アポトーシスおよびネクロプトーシスの関与を検討する計画とした。炎症誘導機構については、ELISA や multiplex assay を用いて、炎症性サイトカインおよびケモカイン産生を評価することとした。また、HMGB1、S100A8/A9、ATP、cfDNA などの DAMPs 放出を解析し、細胞死と炎症応答の関連を検討することとした。さらに、UBA1 変異細胞と野生型細胞が混在する体細胞モザイク状態を再現するため、共培養系や NF-κB reporter 細胞を用いた解析を行う計画とした。治療戦略の検討として、RIPK1/RIPK3/MLKL 阻害薬などによる細胞死抑制効果を解析し、「Suppress 戦略」の妥当性を検討することとした。

一方で、Smac mimetics、BH3 mimetics、プロテアソーム阻害薬などを用いて、UBA1 変異細胞を選択的に細胞死へ誘導できるかを検証し、「Kill 戦略」の可能性を探索する計画とした。将来的には、患者検体およびモデルマウスを用いて、候補薬剤の治療効果と安全性を検証することを視野に入れた。

3. 研究の成果

本研究では、U937 細胞を用いて UBA1 M41V、M41T、M41L 変異導入細胞を作製し、VEXAS 症候群モデル細胞として解析を進めた。

作製したモデル細胞では、VEXAS 症候群患者細胞で報告されている UBA1a/b 発現低下、UBA1c 発現出現、細胞内空胞形成を確認し、疾患細胞の特徴を再現することができた。

UBA1 M41 変異細胞では、野生型細胞と比較して細胞増殖の低下、LDH 放出の増加、Sub-G1 分画の増加、Annexin V 陽性細胞の増加を認め、基礎状態から細胞死が亢進していることが示唆された。特に TNF 刺激により細胞死が増強し、さらに Caspase 阻害薬である Z-VAD-FMK 存在下では、膜破綻を伴う細胞死が顕著に誘導された。この条件下では RIPK1、RIPK3、MLKL の総蛋白量およびリン酸化が増加し、RIPK1/RIPK3/MLKL 阻害薬により細胞死が抑制されたことから、RIPK1-RIPK3-MLKL 軸に依存するネクロプトーシス様細胞死の関与が明らかとなった。また、UBA1 変異細胞では HMGB1、S100A8/A9、細胞外 ATP、cfDNA などの DAMPs 放出が増加し、

細胞死亢進が炎症誘導に関与する可能性が示された。炎症性サイトカインについては、IL-8やIL-1βの軽度上昇を認めたが、変化は限定的であり、病的意義についてはさらなる検討が必要であると考えられた。一方、U937 NF-κB reporter 細胞との共培養実験では、UBA1 変異細胞が周囲の UBA1 野生型細胞の NF-κB 活性化を増強することを確認した。

これらの結果から、UBA1 変異細胞は自律的に大量の炎症性サイトカインを産生するというよりも、細胞死亢進と DAMPs 放出を介して周囲細胞の炎症応答を増幅する可能性が示された。

4. 研究の反省・考察

本研究により、UBA1 M41 変異細胞では TNF 刺激に対する細胞死感受性が亢進し、特に Caspase 阻害下で RIPK1-RIPK3-MLKL 軸依存的なネクロプトーシス様細胞死が誘導されることが明らかとなった。また、細胞死に伴い DAMPs 放出が増加し、周囲の野生型細胞に NF-κB 活性化を誘導することから、VEXAS 症候群における炎症は、変異細胞の細胞死を起点として周囲細胞へ伝播する病態である可能性が示された。この結果は、申請時に想定した「細胞死および DAMPs を介した炎症誘導機構」を支持するものであり、Suppress 戦略の妥当性を示す重要な成果と考えられる。特に RIPK1/RIPK3/MLKL 阻害により細胞死が抑制されたことは、ネクロプトーシス制御が VEXAS 症候群の治療標的となり得ることを示唆する。

一方で、炎症性サイトカインの産生上昇は限定的であり、IL-1βや IL-8 などの変化が病態形成にどの程度寄与するかについては、今後さらに詳細な検討が必要である。

また、M41V、M41T、M41L の変異間で細胞死や DAMPs 放出の程度に差を認める傾向はあったが、現時点では臨床的重症度の違いを十分に説明できるほど明確な差は得られていない。この点については、UBA1b 残存量、変異アレル頻度、細胞分化段階、患者背景など、複数の因子が重症度に関与している可能性がある。今後は、より多くの独立クローンを用いた再現性確認、患者由来細胞での検証、ならびにモデルマウスを用いた in vivo 解析を進める必要がある。

また、Suppress 戦略に加えて、変異細胞を選択的に除去する Kill 戦略についても、DAMPs 放出による一過性炎症増悪に留意しながら、安全性を含めて検証する必要がある。

以上より、本研究は VEXAS 症候群の病態解明と新規治療法開発に向けた重要な基盤を提供したが、臨床応用に向けては、患者検体および in vivo モデルを用いたさらなる検証が必要である。

5. 研究発表

(1)学会誌等

該当無し

(2)口頭発表

① Yuma Sakamoto, Masanori Iseki, Nobuyasu Baba, and Tomoyuki Mukai
Establishment of a cellular model of VEXAS syndrome and its functional characterization: insights into the role of cell death
第70回　日本リウマチ学会総会、2026年4月23日、福岡県

② 向井知之、坂本祐真、馬場伸育、井関將典、清水由梨香、伊藤達男、近藤英生
VEXAS症候群におけるUBA1変異の細胞死・炎症応答への影響
第9回日本免疫不全･自己炎症学会学術集会、 2026年2月、宮城県

③ Yuma Sakamoto, Masanori Iseki, Eisei Kondo, Tomoyuki Mukai
Somatic UBA1 mutations responsible for VEXAS syndrome enhance cell death and inflammatory response
第87回日本血液学会学術集会、2025年10月、兵庫県

④ Yuma Sakamoto, Masanori Iseki, Nobuyasu Baba, Tomoyuki Mukai
Functional analysis of UBA1 mutations responsible for VEXAS syndrome
第54回日本免疫学会学術集会、2025年12月、兵庫県

(3)出版物

該当無し

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

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		

〇研究代表者

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

〇研究分担者

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、がん悪液質患者および疾患モデルマウスの骨格筋において金属トランスポーターZIP14の発現が上昇し、ZIP14を介した過剰な亜鉛取り込みが骨格筋の萎縮および喪失を促進することを明らかにした。さらに、ZIP14による肝臓への過剰な鉄取り込みが鉄過剰症の発症に関与することも見出している。これらの知見は、ZIP14が複数の病態形成に関与する重要な分子であることを示している。

このような背景のもと、研究代表者らはZIP14の金属輸送機能を標的とした創薬研究を推進し、ZIP14阻害活性を有する化合物（以下、化合物X）を同定した。前年度までに、化合物X の構造活性相関解析により、阻害活性に必須な構造要素および活性亢進に寄与する部位を明らかにした。本年度は、化合物Xの作用機序を分子レベルで解明することにより、ZIP14を標的とした創薬基盤の確立を目的として研究を実施した。

2. 研究の計画

1.化合物XとZIP14の結合部位の同定

阻害活性を保持または増強した化合物 X 誘導体を基盤として光反応性架橋化合物を設計・合成し、細胞系における架橋実験を行う。ZIP14発現細胞に当該化合物を処理し、紫外線照射により架橋反応を誘導した後、ZIP14を免疫沈降する。得られた複合体をプロテアーゼで限定分解し、質量分析により化合物Xが相互作用するZIP14の結合部位を同定する。さらに、当該部位を構成するアミノ酸に変異を導入したZIP14を作製し、培養細胞およびアフリカツメガエル卵母細胞発現系を用いて、亜鉛および鉄の輸送活性ならびに化合物 X の阻害効果を評価することで、結合部位の機能的意義を明らかにする。

2.立体構造モデルを用いたドッキング予測

上記で得られた結合部位情報を基に、化合物XとZIP14の相互作用様式を立体的に解明する。AlphaFoldにより構築したZIP14（野生型および変異体）の立体構造モデルを用い、分子ドッキング解析により化合物 X の結合様式および複合体の安定性を予測する。さらに、安定な複合体形成が示唆された場合には、クライオ電子顕微鏡による構造解析への展開を視野に入れる。

3. 研究の成果

1.化合物XとZIP14の結合部位の同定

化合物 X の基本構造を基盤として光反応性基を導入した架橋化合物を設計・合成した。これらの化合物は ZIP14 に対する阻害活性を保持しており、ZIP14 発現細胞を用いた光架橋実験に適用した。紫外線照射により架橋反応を誘導した後、ZIP14を免疫沈降し、得られた複合体を限定分解して質量分析に供した。その結果、ZIP14由来ペプチドを安定して検出可能な免疫沈降および分解条件を確立し、結合部位同定に向けた解析基盤を構築した。現在、pull-down法による解析に適したビオチン標識型架橋化合物の開発を進めており、既存化合物と併用することで結合部位の生化学的同定をさらに推進している。

2.立体構造モデルを用いたドッキング予測

化合物XとZIP14の相互作用様式を明らかにするため、タンパク質－リガンド相互作用解析および立体構造モデリングを実施した。その結果、ZIP14は二量体化により化合物Xが結合可能な特異的ポケットを形成すること、このポケットが他の金属トランスポーターには認められない構造であることを新たに見出した。また、化合物 X は ZIP14 の金属輸送に必須なアミノ酸モチーフと相互作用し、その阻害作用は亜鉛と競合する可能性が示された。これらの知見は、該当アミノ酸を置換した ZIP14 変異体を用いた機能解析により支持された。以上より、化合物 X が ZIP14 の機能的コアを標的とする阻害剤であることが示唆され、その作用機序の分子基盤を明らかにした。

4. 研究の反省・考察

本年度は、化合物 X の作用機序解明に重点を置き、当初計画に沿って研究を推進した。その結果、ZIP14 阻害機構に関する構造的および機能的知見が得られ、創薬標的としての ZIP14 の有用性が一層明確となった。一方で、結合部位の直接的同定については現在も解析を継続しており、さらなる検証が必要である。今後は、これらの成果を基盤として、薬物動態および投与条件の最適化を行うとともに、疾患モデルマウスを用いた in vivo における有効性検証へと研究を発展させる予定である。

5. 研究発表

(1)学会誌等

① Olivera J, Hoyjo S, Fukada T, Knutson M. SLC39A14 is Required for Iron Loading of the Anterior Pituitary of Mice with Genetic Iron Overload. ***Biol Trace Elem Res*** 2025. DOI: 10.1007/s12011-025-04879-5

② Kageyama A, Ogonuki N, Wakai T, Namiki T, Kawata Y, Ozawa M, Yamada Y, Fukada T, Ogura A, Fissore RA, Kashiwazaki N, Ito J. The oocyte zinc transporter Slc39a10/Zip10 is a regulator of zinc sparks during fertilization in mice. ***eLife,*** 2025. DOI:10.7554/eLife.106616.1

(2)口頭発表

① 深田俊幸. 金属トランスポーターZIP14を選択的に阻害する化合物の発見と創薬に向けた研究 フォーラム2025 衛生薬学・環境トキシコロジー:フォーラムIV(名古屋ウインクあいち) 2025年9月10日

② Toshiyuki Fukada. Discovery of a first-in-class ZIP14 inhibitor with therapeutic potential for cancer-associated cachexia, 第48回日本分子生物学会年会New insights into the metal transporters: structure, functions, disease, and drug development 1PS-08令和7年12月3日 (横浜)

③ Toshiyuki Fukada, Takafumi Hara, Gen Tanaka, Tomonori Tamura, Masaomi Terajima, Kengo Hamamura, Yuya Yoshida, Yusuke Kasai, Kazuto Nunomura, Toru Kimura, Hiroki Taguchi, Hitomi Fujishiro, Yuta Nakayama, Takumi Umeyama, Ayaka Noguchi, Yasuno Nakai, Emi Yoshigai, Naoya Matsunaga, Shigehiro Ohdo, Mitchell D. Knutson, Hiroshi Imagawa, Itaru Hamachi, Hiroyuki Sakurai. Discovery of a selective inhibitor of metal transporter ZIP14 with therapeutic potential for cancer-associated cachexia. Biology of Cancer, CSHL Meeting, 2025年9月(NY, USA)

④ 深田 俊幸、原 貴史、田中 弦、田村 朋則、寺嶋 優臣、濵村 賢吾、吉田 優哉、木村 徹、葛西 祐介、中山 雄太、梅山 拓巳、松川 浩二、氏原 悟、河邉 哲寛、田口 央基、藤代 瞳、高谷 大輔、森 義治、田口 朋佳、吉開 会美、布村 一人、松永 直哉、大戸 茂弘、美島 健二, 中川 晋作, 福澤 薫、今川 洋、浜地 格、櫻井 裕之. がん悪液質に対する治療効果を有するZIP14選択的阻害剤の発見 日本薬学会第145年会, 2025年3月(福岡)

(3)出版物

① Takafumi Hara, Emi Yoshigai, Toshiyuki Fukada. Zinc in Biology: Molecular Structures, Cellular Processes and Living Systems. Chapter 14: Zinc Transporters and Zinc Signaling in Disease Pathogenesis. ***Royal Society of Chemistry.*** Page range: 229 - 244. DOI:10.1039/9781837676583-00229

2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

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		

〇研究代表者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
田　中　芳　彦	福岡歯科大学 口腔歯学部	教　　授	総括、主な研究の遂行

〇研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
永　尾　潤　一	福岡歯科大学 口腔歯学部	准　教　授	動物実験、微生物解析

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－

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－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→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－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

前年度に引き続き、下記 a)- c)について、未治療の中等度以上の歯周炎患者と対照の健常者をそれぞれ30人を目標に継続する。

a) 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、未治療の中等度以上の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。

b) 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。

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。

b) ヒト化マウスの歯周病の病態：歯周病の原因菌の中で*Porphyromonas gingivalis*はred complexに分類される最も病原性が高い強力な歯周病原細菌である。代表者らは物理的な手法ではなく歯周病原細菌を感染させる歯周病感染モデルマウスの評価系の構築に成功し、生理的な条件で歯周病のさまざまな予防法・治療法の安定的な評価が可能になった。腸内細菌がいない無菌マウスでは歯周病を起こさない。ヒト腸内細菌叢マウスを歯周病感染モデル実験の評価系で病態のモニターや顕微鏡を用いて解析する。

(2) ヒト腸内細菌叢の再構築や最適化による歯周病の新たな治療法の開発

③ 健常者の腸内細菌叢の移植による治療法の開発

a) 健常者の便移植：計画②で樹立した疾患感受性のある歯周病ヒト腸内細菌叢マウスが、健常者の便移植により歯周病に抵抗性になる（＝改善する）か検証する。計画通りに進まない時は、腸内細菌叢を抗菌剤で破壊した後に便移植して解析する。

④ 細菌製剤や細菌種による治療法の開発

a）細菌製剤による再構築：計画③と同様の手法で、細菌製剤で歯周病に対して抵抗性になるか検証する。予備実験で、細菌製剤の投与で責任Th17細胞が減少することを見出しており、歯周病に抵抗性になることが予測される。

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

a）歯周治療学的解析：前年度に引き続き、未治療の中等度以上の歯周炎患者17人と対照の健常者19人で累計36人を対象に治療前後の歯肉組織検査を実施しており、本年度の目標の累計30人を達成した。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。

b）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。これまでのところ食生活習慣のデータなどに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

前年度に引き続き、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した。ヒト腸内細菌叢マウスの実験を加速するために前年度に補強した無菌マウスシステムを有効に活用して研究を進めた。

b）ヒト化マウスの歯周病の病態：本年度にマルチスタックモジュールを補強した顕微鏡システムを活用して、歯周病感染モデル実験の評価系で、ヒト腸内細菌叢マウスの歯周病の病態をモニターし、顕微鏡を用いて解析した。歯周病ヒト腸内細菌叢マウスではドナーの病態を反映して歯周病が増悪化する患者がいることがわかった。また、健常者ヒト腸内細菌叢マウスでは歯周病が増悪化しなかった。

(2) ヒト腸内細菌叢の再構築や最適化による歯周病の新たな治療法の開発

③ 健常者の腸内細菌叢の移植による治療法の開発

a）健常者の便移植：計画②で樹立した疾患感受性のある歯周病ヒト腸内細菌叢マウスが、健常者の便移植により歯周病に抵抗性になるか検証した。具体的には、歯周病ヒト腸内細菌叢マウスに健常者の便を移植すると、歯周病の増悪化が抵抗性となる健常者の便を見出すことに成功した。すべての健常者の便が抵抗性を引き起こすわけではないことがわかった。

④ 細菌製剤や細菌種による治療法の開発

a）細菌製剤による再構築：計画③と同様の手法で、細菌製剤で歯周病に対して抵抗性になるか検証した。歯周病ヒト腸内細菌叢マウスに細菌製剤を投与した後に、歯周病感染モデル実験の評価系で確認したところ、病態の増悪化が改善される傾向を認めた。予防法や治療法に応用できる可能性を見出した。

4. 研究の反省・考察

代表者らの研究グループは、腸での Th17 細胞による免疫応答が細菌感染症である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。Th17 細胞は真菌感染症である口腔カンジダ症において真菌排除に必須の役割を果たすが、腸での Th17 細胞による免疫応答が口腔カンジダ症の病態に及ぼす影響は不明であった。本研究を遂行する過程で、細菌感染症の歯周病のみならず真菌感染症の口腔カンジダ症においても、腸で病原体に応答するようになった病原体特異的な Th17 細胞が腸から口腔へ移動して病態を制御することを明らかにして、*iScience* 誌に研究成果を公表することができた[研究発表(1)学会誌等②)]。社会的な関心が高く、WEB メディア Yahoo!Japan ニュースや新聞記事として南日本新聞「口腔カンジダ症重要化予防」・日本歯科新聞「高齢者に多いカンジダ症、食の改善で予防の可能性」など、多くのメディアで本

学術研究振興資金の研究成果が取り上げられた。先の研究成果に示したように、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は進行している。しかしながら、現代の科学技術の急速な進歩の中でさらに解像度を上げて実験を進めていく必要性に直面している。そのための方策として、次世代型フローサイトメーターやシングルセル解析による実験を取り入れて推進力を強化して今後の研究を展開していく。

5. 研究発表

(1)学会誌等

① Toyonaga, K., Kishikawa, S., Nagao, J., Iwanuma, A., Iwai, S., and Tanaka, Y. Adaptor protein CARD9 is required for systemic host defense against *Candida auris*. ***iScience.*** 28: 113864. 2025.

② 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.*** 28: 112675. 2025.

③ 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－。*日本顎顔面インプラント学会誌* 24(4): 125-129, 2025。

(2)口頭発表

① Jun-ichi Nagao, Emi Kaji, Sari Kishikawa, Kenji Toyonaga, Sonoko Tasaki, Satoru Iwai, Aoba Iwanuma, Yoshihiko Tanaka. Mucosal immune network of Th17 cells via gut-mouth axis enhance protection against oropharyngeal candidiasis. The 54th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology. Himeji, December 10^{th}-12^{th} (12^{th}), 2025.

② Sari Kishikawa, Jun-ichi Nagao, Kenji Toyonaga, Aoba Iwanuma, Kanae Negoro-Yasumatsu, Sonoko Tasaki, Satoru Iwai, Yoshihiko Tanaka. Chronic oral infection induces cognitive dysfunction by migrating IL-17A producing immune cells to the brain. The 54th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology. Himeji, December 10^{th}-12^{th} (12^{th}), 2025.

③ 永尾潤一、田中芳彦。 腸-口腔連関による口腔感染症の制御。シンポジウム。第70回日本口腔外科学会総会・学術大会。福岡、11月15日、2025。

④ 永尾潤一、岸川咲吏、豊永憲司、岩沼青葉、根来（安松）香奈江、田崎園子、岩井覚、田中芳彦。 Red complex細菌応答性のTh17細胞に着目した歯周病病態形成の制御機構。第67回歯科基礎医学会学術大会・総会、北九州、9月5-7日、2025.

⑤ 岸川咲吏、永尾潤一、豊永憲司、岩沼青葉、岩井覚、田崎園子、根来（安松）香奈江、田中芳彦。歯周病原細菌感染は脳に免疫学的・神経学的変化を誘導する。第67回歯科基礎医学会学術大会・総会、北九州、9月5-7日、2025。

(3)出版物

なし

2025年度(第50回)学術研究振興資金　学術研究報告

令和8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