

障害者支援施設におけるQOLの向上を目指した支援の現状と課題 — 支援者の支援行動の実行要因と阻害要因を中心に —

富山福祉短期大学 社会福祉学科 村田 泰弘

1. 研究の目的

知的障害者や知的障害を伴う自閉症者が福祉サービスを選択し、利用できるようになることで、選択される側である福祉施設が自らのサービス内容を見直す必要性に迫られるようになった。つまり、「施設・職員主体のサービス」から「利用者主体のサービス」への転換である。「利用者主体のサービス」とは、利用者の生活の質（Quality of Life：以下、QOL）の向上を目指したサービスが挙げられるのではないだろうか。しかしながら、福祉施設職員による利用者への虐待に関する事件は後を絶たない。行動問題を示す利用者のQOLを目指した支援に悪戦苦闘している職員も多いのではないかと考えられるため、早急な実態把握が必要であろう。

そこで、当該研究では、障害者支援施設職員のQOLに対する認識と実行状況について明らかにすること、QOLを目指した支援行動の実行要因と阻害要因を明らかにすることを目的とし、障害者支援施設職員が利用者へのQOLを目指すために必要な環境整備を検討するための指針としたい。

2. 研究の計画・方法

(1) 研究計画

研究計画としては、平成28年4月から5月までに、先行研究を踏まえた質問項目を作成した。遠藤（2003）の「QOL」に関する質問項目に、先行研究を参考にしながら、障害者支援施設職員のQOLを目指す支援に必要な支援行動の要因に関わる質問項目を加えた。また、質問項目の妥当性を高めるために、障害者支援施設職員4名にその質問項目に沿って回答してもらい、質問項目の修正を行った。6月から7月にかけて、該当する障害者支援施設の生活支援員の人数分の質問紙を郵送・回収をする。質問紙調査の集計作業を8月に行い、調査結果に関する考察を9月から12月にかけて行った。

(2) 研究方法

①対象者

A県内の主に知的障害者を中心に受け入れている障害者支援施設に勤務する行動問題を示す担当利用者のいる生活支援員を対象とした。

②質問紙の作成手続き

筆者（障害児者入所施設勤務経験5年、社会福祉士、教育学修士、社会福祉学修士）が、先行研究を参考に、(1)生活支援員に関する質問紙、(2)行動問題を示す担当利用者に対する生活支援員の施設QOLに対する意識に関する質問紙、(3)施設QOLの向上を目指すために必要な生活支援員の支援実行に関わる要因に関する質問紙の暫定質問項目を作成した。

次に、A県以外で勤務する主に知的障害者を中心に受け入れている障害者支援施設の生活支援員4名に予備調査を行った。予備調査に参加した生活支援員は、男性利用者B棟責任者で勤続年数が5年5ヶ月の男性、男性利用者C棟責任者で勤続年数7年2ヶ月の男性、女性利用者棟責任者で勤続年数9年の女性、支援課長で勤続年数36年の女性であった。予備調査では実際に質問紙に回答してもらった後に、質問項目や質問の仕方、回答方法などの意見交換を行った。予備調査を踏まえて、質問紙の修正を行った。(1)の質問項目は、7項目であった。回答方法は、複数の選択肢の中から一つ選んでもらった。担当利用者の要求表現に関する質問項目と、行動問題の有無に関する質問項目では、要求表現と行動問題の内容について例示した。(2)の質問項目は、30項目であった。同じ質問項目について、施設QOLに対する理想(以下、理想)では、「1. 大切ではない」「2. あまり大切ではない」「3. まあまあ大切である」「4. 大切である」、施設QOLに対する現実(以下、現実)では、「1. できていない」「2. あまりできていない」「3. まあまあできている」「4. できて

いる」のいずれも4件法で回答してもらった。(3)の質問項目は、13項目であった。質問項目(1)から(12)までの回答方法は、「1. 必要ではない」「2. あまり必要ではない」「3. まあまあ必要である」「4. 必要である」の4件法であった。質問項目(13)は、質問項目(1)から(12)に該当しない場合に自由に記入してもらった自由記述であった。

③質問紙調査の手続き

2016年6月から7月の2ヶ月間にかけて調査を実施した。A県厚生部障害福祉課の「障害福祉サービス事業所等情報」に掲載されていた27の障害者支援施設に対して、(1)(2)(3)の質問紙を郵送により配布した。回答は無記名とし、個人の特がでできないようにした。質問紙には、回答できない場合は白紙で提出することが可能であるといった内容を明記した。回答後は、各施設で回収してもらい、返信用封筒に入れ、筆者宛に投函してもらうように依頼した。

④分析方法

(1)(2)(3)の質問項目について単純集計した。その後、(2)行動問題を示す担当利用者に対する生活支援員の施設QOLに対する意識に関する質問項目に関しては、回答番号を点数化し、対応ありt検定を行った。さらに、Cohenの効果量も算出した。分析に用いた統計ソフトは、SPSS(Verion24)であった。

3. 研究の特色

知的障害者や知的障害を伴う自閉症者の行動問題の改善を試みる研究は、対象者の生活場面に実際に介入する事例研究だけではなく、複数の福祉施設や学校などに対して行動問題に関わる質問紙を用いた調査研究からも報告されている。我が国における知的障害児者や発達障害児者の示す行動問題に関わる調査研究をレビュー(村田2014)してみると、知的障害者などの行動問題の要因に関わる研究(石井2005)をはじめ、知的障害者などの行動問題に対する親のストレスに関わる研究(坂口・別府2007)、自閉症生徒のコミュニケーション手段と行動問題に関する調査研究(平澤・藤原2012)などが認められる。最近では、知的障害特別支援学校における行動問題の実態と教員の意識調査(小笠原・湯川他2015)が報告されている。しかし、障害者支援施設職員における利用者のQOLに対する認識と実行状況、障害者支援施設職員のQOLを目指した支援行動の実行要因と阻害要因を明らかにすることを目的とした調査研究は、ほとんど見当たらない。

4. 研究の成果

(1) 行動問題を示す担当利用者に対する生活支援員の施設QOLに対する意識

「施設QOLの現実」に関するすべての質問項目の平均値が、「施設QOLの理想」に関する平均値よりも低く、有意確率は $p < 0.001$ であった。Cohenの効果量では、効果の大きが17項目、中が9項目、小が4項目であった。以上の結果から、行動問題を示す知的障害者の施設QOLでは、生活支援員が考える施設QOLの「理想」と「現実」には差があることが明らかになった。

Cohenの効果量の効果が大きであった質問項目のうち、(2)個室を持つ、(5)食事時間を自由に選択できる、(12)外出が自由にできる、(18)施設全体の雰囲気明るい、(20)教養や知識を学ぶ機会がある、(25)プライバシーが守られている、(26)毎日お風呂に入れる、(29)食事メニューについて、朝・昼・夕のいずれかで自由に選択できる機会が毎日あるに関しては、生活支援員一人で改善を目指すことが難しい項目である。つまり、施設全体の方針が強い影響を与える項目であると考えられる。施設QOLの指標を施設全体で共有し、施設全体の取り組みとして定期的な確認と改善を継続していくことが求められていると思われる。施設QOLの指標を活用することで、各障害者支援施設の現状と課題の把握、さらには、利用者一人ひとりの支援内容の改善にもつながるであろう。

効果量の効果が大きであった質問項目のうち、(1)様々な行事を自分で選択して参加できる、(3)街へ出かけて社会資源を活用する、(10)友人ができる、(13)職員は利用者に対しての接し方・態

度・話し方について配慮している、(15)利用者の意思を尊重する、(17)楽しめる余暇活動がある、(19)利用者の不満・苦情を受け入れられる、(21)自分のお金で嗜好品や趣味のものが自由に買える、(30)施設外の友人と自由に交流ができるに関しては、利用者の示す行動問題の影響が考えられる。利用者への支援方法の決定は、担当者である生活支援員によるところが大きいと思われるが、行動問題に応じた支援に困難さを感じている生活支援員が多いことが推測される。利用者の示す行動問題への支援が不十分なために、利用者の様々な活動参加の機会の広がりにはマイナスの影響が生じたり、利用者の人権に配慮することを難しくしているのではないかと考えられる。利用者の示す行動問題に対応した支援の充実が早急に求められるであろう。

(2) 施設QOLの向上を目指すために必要な生活支援員の支援実行に関わる要因

生活支援員が施設QOLの向上を目指すために必要と考える取り組みとして、「必要」と回答した50%以上の質問項目（8項目）を整理すると、①担当利用者に関わる時間の確保に関すること（質問項目(1)）、②行動問題や障害特性に関する知識や技術を学ぶ機会に関すること（質問項目(2、8)）、③チームアプローチを円滑に進めるための機会に関すること（質問項目(9)）、④スーパービジョンの機会に関すること（質問項目(3、5、6、7)）であった。①担当利用者に関わる時間の確保に関することに関しては、担当利用者との十分な関わりを通して、担当利用者を理解し、施設QOLの向上につなげていきたいと考えていると思われる。生活支援員は、利用者支援以外にも、居室やトイレなどの掃除や洗濯、食事の運搬から配膳、書類作成など、一人で複数の役割を担っている。利用者支援以外の業務量の見直しや調整が求められる。②行動問題や障害特性に関する知識や技術を学ぶ機会に関することに関しては、担当利用者の行動問題や障害特性に応じた支援方法の理解を深めることで、担当利用者の施設QOLの向上に役立てたいと考えているためであると思われる。障害者支援施設における行動問題を示す利用者や障害特性に配慮を要する利用者の割合は高く、生活支援員は日々試行錯誤を繰り返しながら利用者支援に取り組んでいる。今後、施設全体の共通理解と統一した支援の実現には、施設全体での利用者の行動問題や障害特性に応じた支援に関する研修の計画的、定期的な実施が強く求められる。③チームアプローチを円滑に進めるための機会に関することに関しては、利用者の支援の実施や支援効果を高めるためには、施設全体の専門職の協力が必要と考えるからであろう。実際の利用者支援では、担当者である生活支援員以外の専門職とのチームアプローチによって実施される。24時間365日利用者支援を行う障害者支援施設では、すべての利用者に関する支援方法について、すべての専門職が理解し、統一した支援の実行が重要になる。円滑なチームアプローチを進めていくための体制整備も重要な検討課題となるとと思われる。④スーパービジョンの機会に関することに関しては、担当利用者の支援を振り返ることで、担当利用者への支援の質の向上につなげたいと考えているからであると思われる。同僚、上司、専門家などとの日々の支援の振り返りが、生活支援員の支援の質を高め、担当利用者の施設QOLの向上につながるのではないかと考える。特に、行動問題を示す利用者や障害特性に応じた支援を要する利用者を常時支援しなければならない生活支援員へのスーパービジョン体制の構築は、緊急に対応すべき課題であると言えるであろう。

以上のことから、施設QOLの向上を目指すために必要な生活支援員の支援実行に関わる要因として、①担当利用者に関わる時間の確保に関すること、②行動問題や障害特性に関する知識や技術を学ぶ機会に関すること、③チームアプローチを円滑に進めるための機会に関すること、④スーパービジョンの機会に関することが示唆された。施設QOLの向上を目指すために必要な生活支援員の支援実行の促進には、①②③④への改善が大きな鍵になると考えられる。一方で、①②③④への改善が進まなければ、①②③④が、施設QOLの向上を目指すために必要な生活支援員の支援実行の阻害要因となる可能性が高いと考えられる。

今後の課題として、障害者支援施設において、①担当利用者に関わる時間の確保に関すること、②行動問題や障害特性に関する知識や技術を学ぶ機会に関すること、③チームアプローチを円滑に進めるための機会に関すること、④スーパービジョンの機会に関することについての実態調査が求められると思われる。今回の研究成果と関連付けながら検討していきたい。

うつ解明に向けたストレス状態の脳で発現変動する遺伝子の研究 — iPS細胞分化系を用いた遺伝子機能の解明 —

金沢医科大学 医学部 齋藤 英仁

1. 研究の目的

これまでの研究から、ストレスが「うつ状態」の重要なトリガーであること (Gold et al, N Engl J Med 319 : 413, 1988)、また、「うつ状態」が認知症の危険因子であること (Geerling M et al, Br J Psychiatry 176 : 575, 2000)が示されている。しかしながら、ストレスが脳の遺伝子発現にどのような影響を与え、それが神経機能などにどのような影響を与え、うつ状態や認知症に繋がるのかについては、研究が進んでいない。

申請者は、強制水泳ストレスを負荷する「うつモデルマウス」の脳海馬で発現が変化する遺伝子の同定を行い、複数の遺伝子を同定した。うち発現が低下する遺伝子は3種類、発現が上昇する遺伝子は4種類である。

本研究では、うつの分子基盤を解明する第一歩として

- (1) 強制水泳ストレス負荷マウスの脳海馬で同定した遺伝子発現変化が強制水泳以外のストレス負荷でも同様に起こるか
- (2) ストレス負荷マウスの脳海馬で同定した遺伝子発現変化が脳細胞の分化や機能にどう影響するかを明らかにする。

2. 研究の計画・方法

- (1) 強制水泳ストレス負荷マウスの脳海馬で同定した遺伝子発現変化が強制水泳以外のストレス負荷でも同様に起こるかについて、社会的敗北ストレスを負荷するマウスを用いて明らかにする。
 - ①社会的敗北ストレスを負荷する「うつモデルマウス」を作成する。

C57BL/6マウスに体格的に優位なICRマウスから1日10分間の攻撃を10日間暴露する。
うつ様行動試験（社会行動試験、尾懸垂試験）を行い、社会的敗北ストレスによる「うつモデルマウス」が作成できたかを確認する。
 - ②社会的敗北ストレスを負荷したマウスの脳海馬で発現変動する遺伝子を明らかにする。

マウスの脳から海馬を分離し、RNA精製後、qPCRで遺伝子発現を解析する。
- (2) ストレス負荷マウスの脳海馬で同定した遺伝子発現変化が脳細胞の分化や機能にどう影響するかをiPS細胞の分化系を用いて明らかにする。
 - ①マウス海馬での発現変動細胞を明らかにする。

免疫組織染色法で当該遺伝子が発現している細胞種を明らかにする。
 - ②レンチウイルスベクターの作製
ストレスで発現上昇する遺伝子については過剰発現レンチウイルスベクターを、発現が低下する遺伝子については当該遺伝子に対するshRNAを発現する発現ノックダウンレンチウイルスベクターを作成する。
 - ③前駆細胞およびiPS細胞の準備と細胞分化の検証
 - ④発現変動遺伝子が脳細胞分化に与える影響の解明

3. 研究の特色

- ストレスがうつ状態発生の大きなリスクファクターであることから、本研究の特色は、
- (1) これまでほとんど明らかにされていないストレスによる脳の遺伝子発現変化を明らかにし、ストレスにより発現変動する遺伝子が脳細胞の分化と機能にどう影響を与えるのかを解明するところにある。

- (2) 強制水泳ストレスおよび社会的敗北ストレスを負荷して「うつ状態」に陥ったマウスの脳海馬で発現変動する遺伝子を同定し、その機能をiPS細胞および前駆細胞を用いて解明するところにある。

4. 研究の成果

(1) 社会的敗北ストレスを負荷する「うつモデルマウス」の作成

体格的に優位なICRマウスから1日10分間/10日間の攻撃を受けたC57BL/6マウスに社会行動試験を行なった。ストレスを受けていないマウスは、新奇ICRマウスに興味を示したのに対し、ストレスを受けたマウスは新奇ICRマウスから忌避反応を示した。また、尾懸垂試験において、ストレスを受けていないマウスは無動時間が短かったのに対して、ストレスを受けたマウスは無動時間が長かった。このことから、社会的敗北ストレスの負荷による「うつモデルマウス」が作成できたと考えられる。

(2) 社会的敗北ストレスを負荷したマウスの脳海馬での発現変動する遺伝子の解明

社会的敗北ストレスを負荷したマウスの脳海馬を分離後、RNAを精製し、qPCRで遺伝子発現を解析した。その結果、強制水泳ストレスを負荷する「うつモデルマウス」の脳海馬で発現が低下した遺伝子が同様に発現が低下することを確認した。また、強制水泳ストレスを負荷する「うつモデルマウス」の脳海馬で発現が上昇した遺伝子が同様に発現が上昇することを確認した。この結果から、強制水泳ストレス負荷マウスの脳海馬で同定した遺伝子が別のストレス負荷による「うつモデルマウス」でも同様の発現変化を起こすことが明らかとなった。

(3) マウス海馬での遺伝子発現変動した細胞の解明

海馬のパラフィン切片を免疫組織染色法により遺伝子産物に対する抗体で染色した結果、血管細胞には発現がなく、神経細胞に発現していることが明らかになった。

(4) レンチウイルスベクターの作製

発現が低下する遺伝子の1つに対するshRNAを発現する発現ノックダウンレンチウイルスベクターを作成し、効果を確認した。現在、他の遺伝子についてもレンチウイルスベクターを作成中である。

(5) 前駆細胞およびiPS細胞の準備と細胞分化の検証

「ヒト神経前駆細胞 ReNCell VM株」を入手し、神経細胞への分化を確認した。今後は、京都大学iPS細胞研究所から「健常人由来ヒトiPS細胞」を入手し、神経細胞への分化系を確立する予定である。

(6) 発現変動遺伝子が脳細胞分化に与える影響の解明

現在、作成したレンチウイルスベクターを用いて「ヒト神経前駆細胞 ReNCell VM株」の遺伝子発現を異常化させ、細胞分化への影響を検討中である。さらに「健常人由来ヒトiPS細胞」の遺伝子発現を異常化させ、細胞分化の影響を検討する予定である。

歯周病原菌の異所性肺感染における IL-17サイトカイン・ネットワークの検討

愛知学院大学 歯学部 藤村 岳樹

1. 研究の目的

超高齢社会となった我が国で問題となっている高齢者における肺炎の多くは、誤嚥性肺炎であり、歯周病原細菌や肺炎球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) が起因菌になると考えられている。また、代表的な歯周病原細菌である *Porphyromonas gingivalis* は歯周炎の組織における検出量は少ないものの、口腔のフローラの構成を変化させることで炎症などの免疫の破綻をひき起こすキーストーン細菌であると考えられており、誤嚥性肺炎においても *P. gingivalis* がキーストーン細菌としてはたらいっている可能性がある。しかし、*P. gingivalis* と *S. pneumoniae* を用いた混合感染による実験的肺炎モデルに関する報告はなく、全く明らかになっていない。また近年、炎症性サイトカインである IL-17 は炎症誘導だけでなく、細胞性および液性獲得免疫といった広範な免疫応答を制御することが明らかにされ、感染防御の観点からも注目を集めている。本研究では、誤嚥性肺炎を想定し、歯周病原細菌と肺炎球菌の混合感染による実験的肺炎モデルマウスを確立し、IL-17 を共通な要素とするサイトカイン・ネットワークによる免疫制御および感染防御機構を解明することを目的とした。

2. 研究の計画・方法

(1) *P. gingivalis* および *S. pneumoniae* の混合感染実験的肺炎モデルマウスの作製

本研究申請時は *P. gingivalis* 単独感染により実験的肺炎モデルマウスを作製する計画であったが、誤嚥性肺炎の病態を強く反映できると考え、*P. gingivalis* および *S. pneumoniae* を用いた混合肺感染に変更した。

マウス経気道感染：実験動物には、C57BL/6マウスを用いる。ジエチルエーテル吸入およびペントバルビタールナトリウムを腹腔内注射し全身麻酔下で、頸部を消毒後切開し、気管内に *P. gingivalis* および *S. pneumoniae* 菌液を 26G シリンジで接種する。その際の総菌数は 1×10^7 CFU とした。群分けは PBS 群（コントロール群）、*P. gingivalis* 単独群、*S. pneumoniae* 単独群および混合感染群とした。混合感染群では *P. gingivalis* と *S. pneumoniae* の比率を 2 : 8 に調整し、実験的肺炎モデルマウスを作製した。すべてのマウスは、温度 ($23 \pm 2^\circ\text{C}$) と湿度 ($45 \pm 10\%$) が一定な恒温動物室で 12 時間の明暗周期 (8:00A. M. ~ 8:00P. M. 点灯) の環境下において、固形飼料を与え、飲料水として水道水を自動供給装置によって与え、飼育した。

(2) *P. gingivalis* および *S. pneumoniae* の混合感染実験的肺炎モデルマウスの病理組織学的検討

混合感染実験的肺炎惹起より 1 日後にマウスの肺を摘出し、通法に従いパラフィン包埋組織切片を作製する。ヘマトキシリン・エオジン染色を施し炎症性細胞浸潤を解析した。

3. 研究の特色

肺炎は高齢者を中心に致死的な疾患であり、その死亡率も増加傾向にある。また、老人性肺炎のほとんどは、誤嚥性肺炎であり、歯周病が強いリスクファクターであると考えられている。これまでに歯周病と肺炎の関係性に関しては様々な報告がされているが、免疫応答、特に IL-17 を中心としたサイトカインに関連した報告はほとんどされていない。歯周病原細菌と肺炎球菌による混合感染における免疫応答を解析する事で、誤嚥性肺炎に関連する免疫応答の特徴を解明する一助となると考えている。

また、感染モデルを用いた実験にて IL-17 は、初期の感染防御において重要な役割を担っていると考えられている。そこで、今回の実験で IL-17 や関連サイトカインや主要な IL-17 産生細胞の遺伝子発現に関して明らかにすることで、IL-17 による感染防御のメカニズム解明に繋がると考えている。また将来的には、IL-17 を標的とした生体防御機構の調節について検討し、肺炎の予防・治療にフィードバックすることを目標としている。誤嚥性肺炎の発症メカニズムにおいて、高齢者

で免疫能が低下することが病因の1つとされており、IL-17産生細胞を制御し、免疫能を増強することで、予防や症状緩和に応用できるのではないかと考えている。日本において、肺炎は死因の第3位となっているが、その約96%は65歳以上の高齢者が占めている。日本の超高齢化社会時代はもう終わり、今や超高齢社会となっている。超高齢社会である日本において肺炎対策は命題であり、このような免疫療法の実現は、口腔ケアとは異なるアプローチでの誤嚥性肺炎の対策として、年々増加傾向にある肺炎での死亡数・死亡率の減少につながり、健康寿命の延伸、さらに国の医療費削減にも大きく貢献できると思われ、非常に意義深いものになると考える。

4. 研究の成果

*P. gingivalis*および*S. pneumoniae*を経気道的に混合感染させたマウスの肺にヘマトキシリン・エオジン染色を施し炎症性細胞浸潤を解析したところ、PBS群においては炎症性細胞の浸潤を認めず、肺胞構造も正常像を呈していた。一方、各菌の単独感染および混合感染を行った群においては気管支周囲に炎症性細胞浸潤および肺胞上皮の肥厚を認め、炎症の惹起が確認された。さらに、単独感染に比較し、*P. gingivalis*および*S. pneumoniae*の混合感染群では顕著な炎症所見が観察された（図1）。よって、*P. gingivalis*および*S. pneumoniae*の混合感染により単独感染と比較し、炎症が増強される可能性が示唆された。今後は採取した肺組織および肺胞洗浄液を用いてIL-17に関連した炎症性サイトカインの遺伝子発現、タンパク発現の解析および主要なIL-17産生細胞の解析を行う予定である。

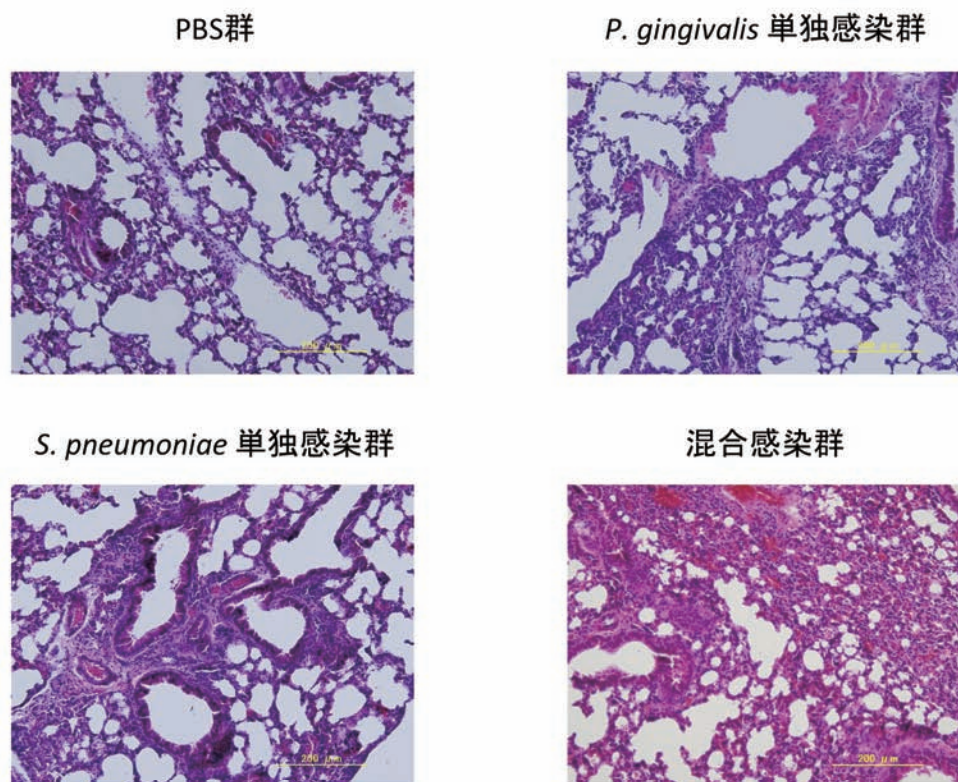


図1 *P. gingivalis*および*S. pneumoniae*の混合感染実験的肺炎モデルマウスの病理組織学的検討

がん微小環境を標的とした間質性肺炎合併肺がんの新規治療戦略 — 間質性肺炎合併肺癌に対する新たな治療戦略 —

藤田保健衛生大学 第一病理学 前田 亮

1. 研究の目的

肺がん患者の特徴としては、慢性閉塞性肺疾患や間質性肺疾患などの呼吸器疾患を基礎疾患に持つ患者が多いことがあげられる。特に、間質性肺炎は従来の治療では致死的な急性増悪を来しやすいことから、最も治療に苦慮する合併症であり、肺がん診療を行う上で高い頻度で遭遇する間質性肺炎合併肺がんの患者のがん治療が十分になされていないのが現状である。この現状を打破するために、治療に難渋する間質性肺炎合併肺がん患者の診療及び治療成績を向上させるための新たな治療戦略を構築することが本研究の目的である。

2. 研究の計画・方法

(1) 間質性肺炎と肺癌の進展

- ① 臨床データ（間質性肺炎合併肺癌は非合併肺癌よりも病理学的悪性度が高いことが判明）より、間質性肺炎の肺微小環境が既存の肺癌の悪性度を高めるのかという独自の新しい仮説を提唱し、その仮説を基礎実験で検証する。
- ② 間質性肺炎の肺微小環境が肺癌の進行を促進させるメカニズムの解明を目指す。

(2) 間質性肺炎合併肺癌に対する新たな治療戦略の構築

- ① 間質性肺炎合併肺がんの進展に対して、抗線維化薬が癌の進行抑制に対して効果を示すかを動物実験で検証する。
- ② 間質性肺炎合併進行非小細胞肺がんに対する抗線維化薬併用投与の安全性と有効性に関する臨床試験の早期実現を目指す。

3. 研究の特色

これまでの臨床研究成果から、本研究では、間質性肺炎における肺の微小環境が肺がんの進行を促進させるのかを検証すると同時に、抗線維化薬投与により間質性肺炎を制御することで、間質性肺炎合併肺がんにおけるがんの進行を抑制することができるのかを検証することに焦点を置いて、上記の目的を達成させる。本研究計画によって、間質性肺炎合併肺がんに対する新規治療戦略として、抗線維化薬を投与し間質性肺炎を制御することが、間質性肺炎合併肺がんの新たな治療アプローチ方法となり得るのかを明らかにすることで、現状の間質性肺炎合併肺がん治療に、大きなブレークスルーをもたらす可能性のある、革新的治療戦略を提唱し得ると考えられる。

4. 研究の成果

(1) 研究ツールとしてのマウスモデルの確立

① 間質性肺炎マウスモデルの導入

C57BL/6マウスにブレオマイシンを経気道的に投与することで、ブレオマイシン誘導性間質性肺炎モデルマウスを作製した。ブレオマイシン投与後、14日目よりマウス肺に線維化病変が認められ、肺の線維化病変は少なくともブレオマイシン投与後28日目まで認められた。

② 肺がんの同所性肺移植モデルの確立

C57BL/6マウスの左肺に、同系マウス由来の肺がん細胞株である Lewis lung carcinoma cell (LLC) を同所性移植させる方法を確立した。同所性肺移植後7日目には肉眼的に腫瘍を確認することができ、10日目には縦隔リンパ節転移が認められた。生存期間は約20日で、対側肺を含む遠隔臓器への転移は認められなかった。

(2) *In vivo* イメージングシステムを用いた肺がん実験モデルの確立

LLC にルシフェラーゼ遺伝子を導入し、ルシフェリン投与と IVIS Imaging System により、*in vivo* でリアルタイムに腫瘍の経時的観察を行うモデルを確立した。

(3) 間質性肺炎における肺微小環境は、肺がんのリンパ節転移、対側肺転移を促進させる

ブレオマイシン誘導性間質性肺炎マウスモデル（ブレオマイシン投与後14日目）にマウス肺がん細胞株 LLC を左肺に同所性肺移植し、同所性移植後14日目に形成された腫瘍を評価した。ブレオマイシン誘導性間質性肺炎マウスモデルに形成された腫瘍と、コントロールとして PBS を経気道的に投与したマウスに形成された腫瘍を比較したところ、腫瘍の大きさに有意差は認められなかったものの、ブレオマイシン誘導性間質性肺炎マウスモデルで形成された腫瘍では縦隔リンパ節転移量が有意に増加し、コントロールマウスでは全く認められなかった対側肺転移が認められるようになった。

(4) 抗線維化薬を投与し間質性肺炎を制御することで、肺がんの進行は抑制される

抗線維化薬投与により間質性肺炎を制御することで、間質性肺炎合併肺がんにおけるがんの進行を抑制することができるのかを検証した。ピルフェニドンは、2008年10月に特発性肺線維症の治療薬として初めて認可された抗線維化剤で、間質性肺炎の病態に関わる各種サイトカインおよび増殖因子に対する産生調節作用や、線維芽細胞増殖抑制作用を有することが知られている。肺がんの同所性肺移植モデルにブレオマイシンで間質性肺炎惹起させ、間質性肺炎に対する治療薬であるピルフェニドンを投与し、間質性肺炎を制御したところ、肺がんの縦隔リンパ節転移、対側肺転移が有意に抑制された。

本研究期間内において、間質性肺炎における肺の微小環境が肺がんの悪性度を高める因子として働いているという、臨床研究の成果に基づいた洞察より導いた作業仮説を、マウスモデルを用いて検証し、間質性肺炎における肺微小環境は、肺がんのリンパ節転移、対側肺転移を促進させることを示した。さらに、抗線維化薬投与により間質性肺炎を制御することで、間質性肺炎合併肺がんにおけるがんの進行を抑制することができるのかを検証し、既に臨床応用されている抗線維化薬ピルフェニドンが効果を示すことが非臨床モデルで立証することができたと考えている。

本研究の意義をご理解いただき、研究助成をご支援いただきました日本私立学校振興・共済事業団の関係各位に心より御礼申し上げます。

L. bulgaricusの摂取によるストレスならびにうつ病症状の制御に関する研究

名城大学 農学部 長澤 麻央

1. 研究の目的

現代社会において、私達は様々なストレスに曝されおり、これが身体的あるいは精神的な疾患の発症リスクを増加させることが知られている。中でも、精神疾患は、患者の生活の質を低下させるだけではなく、症状がひどい場合には自殺に繋がる危険性もある。そのため、現代社会においてストレス制御メカニズムの解明が急務である。動物がストレスを感じた際には食欲が低下するため、栄養状態が悪化することは周知の事実である。そのため、栄養状態を維持すること、あるいは、改善することがストレスによって現れる心身への悪影響を緩和できる可能性が考えられる。

そこで本研究では、栄養状態を良好に保つための食品として栄養価の高い乳製品（脱脂乳ならびに発酵乳）に注目し、これらを積極的に摂取することでストレスによって誘導される精神疾患を予防できるか検討した。

2. 研究の計画・方法

(1) 脱脂乳ならびに発酵乳中の遊離アミノ酸濃度の分析

脱脂粉乳（全国酪農業協同組合連合会）から15%還元脱脂乳を調製し、これを脱脂乳試料として給与試験に用いた。また、15%還元脱脂乳に*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*未同定株（以下BLと記す）を接種し、37℃で発酵させたものを発酵乳試料として給与試験に用いた。

(2) 乳製品の摂取がうつ様行動へ及ぼす影響

雄性のICRマウスを1週間馴化させた後に、蒸留水、脱脂乳あるいは発酵乳を長期に渡り経口摂取させた。給与試験終了後、うつ様行動を評価するために強制水泳試験を行った。

(3) 乳製品の摂取が不安様行動へ及ぼす影響

雄性のICRマウスを1週間馴化させた後に、蒸留水、脱脂乳あるいは発酵乳を長期に渡り経口摂取させた。給与試験終了後、不安様行動を評価するためにオープンフィールド試験ならびに高架式十字迷路試験を行った。

(4) 慢性ストレス条件下において乳製品の摂取が不安様行動へ及ぼす影響

①慢性ストレス動物モデルの作製

最近の研究から、炎症性サイトカインの産生を誘導するリポ多糖（以下LPSと記す）を腹腔内投与することで慢性ストレス様状態を誘導できる可能性が示されている。そこで、雄性のICRマウスに大腸菌0127:B8由来あるいは大腸菌0111:B4由来のLPSを投与することで慢性ストレスモデル動物を作製し、このモデル動物において不安様行動ならびにうつ様行動が誘導されるかを検証した。

②慢性ストレス動物モデルにおいて乳製品の摂取が不安様行動へ及ぼす影響

雄性のICRマウスに蒸留水、脱脂乳あるいは発酵乳をあらかじめ長期に渡り経口摂取させた後に、大腸菌0111:B4由来のLPSを腹腔内投与することで、慢性ストレス誘導性の不安様症状を誘導した。その後、動物の不安様行動を観察することで、乳製品の摂取が慢性ストレス誘導性の不安様症状を予防できるか検討した。

3. 研究の特色

近年、食品の三次機能、いわゆる「機能性」が注目されており、世間からの「食」への関心が高まっている。流通している機能性食品のほとんどは肥満や高血圧などの身体的な健康に着目したものが多く、精神的な健康に焦点を当てた商品は少ない。しかし、現代社会においてストレスやそれによって誘導される精神疾患の予防あるいは症状緩和が急務である。本研究では、「食事」を介した「ストレスの制御」を目的としており、我々が直面しているストレス社会において必要不可欠な研究課題である。

4. 研究の成果

(1) 乳製品の摂取がうつ様行動へ及ぼす影響

乳製品の摂取がげっ歯類のうつ様行動へ及ぼす影響を明らかにするため、うつ様行動を評価できる強制水泳試験を行った。この試験において、「うつ様行動の程度」は「不動時間の長さ」と正の相関を示す。つまり、不動時間が長ければ強いうつ様行動を示しており、また、不動時間が短縮されれば抗うつ様効果が認められることを示す。本研究において、発酵乳を摂取させた場合には不動時間の短縮が認められなかったものの、脱脂乳を摂取させることで不動時間の有意な短縮が認められた。以上より、脱脂乳の積極的な摂取はうつ様行動を予防出来る可能性が示された。

(2) 乳製品の摂取が不安様行動へ及ぼす影響

乳製品の摂取がげっ歯類の不安様行動へ及ぼす影響を明らかにするために、不安様行動を評価できるオープンフィールド試験ならびに高架式十字迷路試験を行った。オープンフィールド試験は、センターエリアでの移動距離を弱い不安様行動の指標とし、げっ歯類の不安様行動を評価する試験である。また、高架式十字迷路試験は、オープンアームでの移動距離を強い不安様行動の指標としてげっ歯類の不安様行動を評価する試験である。両試験において、「不安様行動の程度」と「センターエリアでの移動距離あるいはオープンアームでの移動距離」は負の相関を示す。つまり、それぞれの値が増加すれば抗不安様効果が認められることを示す。本試験において、脱脂乳ならびに発酵乳の長期摂取は、強い不安様行動の指標である高架式十字迷路試験におけるオープンアームでの移動距離に影響を及ぼさなかったものの、弱い不安様行動の指標であるオープンフィールド試験におけるセンターエリアでの移動距離を増加させる結果となった。以上より、積極的な乳製品の摂取は弱い不安様行動を予防出来る可能性が示された。

(3) 慢性ストレス条件下において乳製品の摂取が不安様行動へ及ぼす影響

①慢性ストレス動物モデルの作製

LPSを投与することで強い不安様行動ならびにうつ様行動を呈する慢性ストレス動物モデルを作製できるか検討した。LPSを投与することで、不安様行動の指標である高架式十字迷路試験におけるオープンアームでの移動距離が減少することを確認した。一方、強制水泳試験におけるうつ様行動には影響を及ぼさなかった。以上より、LPSを投与することで、強い不安様行動を呈する慢性ストレス動物モデルを作製できることを確認した。

②慢性ストレス動物モデルにおいて乳製品の摂取が不安様行動へ及ぼす影響

そこで次に、乳製品の積極的な摂取がLPS誘導性の強い不安様行動を予防出来るか検証した。LPSを投与する前に脱脂乳を長期間給与させることで、LPS投与によって減少するはずの高架式十字迷路試験におけるオープンアームでの移動距離を、LPSを投与していない動物と同じ水準まで回復させることができた。一方、発酵乳の摂取による影響は確認できなかった。以上より、脱脂乳の積極的な摂取によって慢性ストレス誘導性の強い不安様行動を予防出来る可能性が示された。

ゲノム編集を用いたがんウイルス感染細胞からの ウイルスゲノム除去 — 潜伏感染細胞からのカポジ肉腫関連ヘルペスウイルス排除へ向け た分子基盤構築 —

京都薬科大学 渡部 匡史

1. 研究の目的

(1) 背景：カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス(KSHV)は、初感染後に生涯に渡り潜伏感染を維持する。極度な免疫低下時に、KSHVは再活性化しカポジ肉腫や原発性体腔性リンパ腫(PEL)などのがんを発症させる。

(2) 問題点：現時点で、潜伏感染状態に移行したKSHVを生体から排除する手段は存在しない。KSHV関連腫瘍発症時には抗がん剤による対症療法がとられるが、患者全身状態が不良な場合が多く、治療には困難がともなう。

(3) 解決策：ゲノム編集により感染細胞中のウイルスゲノムを直接改変することで、KSHVの排除を目指す。ゲノム編集技術の一つであるCRISPR/Cas9システムは、配列特異的sgRNAとそれを認識するDNA切断酵素Cas9により標的配列を切断する。切断箇所の修復ミスによるフレームシフト変異のため、遺伝子欠損が生じる。本研究ではKSHVゲノムにコードされている潜伏感染遺伝子LANAを、欠損変異標的とする。KSHVは宿主細胞へ侵入後、自身のコードする数種の潜伏感染遺伝子によ

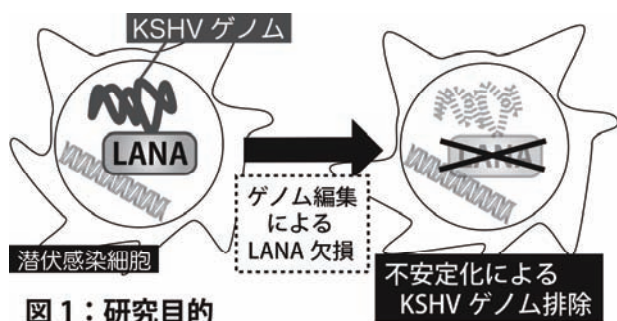


図1：研究目的

って感染細胞を腫瘍化し、潜伏感染状態へと移行させる。なかでもKSHV潜伏感染遺伝子であるLANAは、KSHVゲノムを宿主染色体に繋ぎとめ、細胞分裂に伴ったウイルス複製、さらには娘細胞へのウイルスゲノムの分配を司る。すなわちLANAを完全に欠損させることで、染色体に繋がりとめられていたKSHVゲノムの不安定化が生じ、感染細胞からのウイルス排除が可能であると考えられる(図1)。

(4) 達成目標：潜伏感染細胞中のKSHVゲノムを改変し、LANA欠損変異を誘導する。そしてKSHVゲノム不安定化に起因するウイルス排除の可能性を探索する。

2. 研究の計画・方法

CRISPR/Cas9システムを利用したゲノム編集には、sgRNAならびにCas9が細胞内に同時に発現する必要がある。そこで両分子を発現するCRISPR/Cas9レンチウイルスベクターを構築・調製する。KSHV感染細胞へのレンチウイルスベクター導入後、LANA遺伝子およびタンパク質レベルでのLANA発現欠損を確認する。そしてLANAは宿主細胞染色体へのウイルスゲノム保持に関与するため、LANA欠損によりウイルスゲノム不安定化の惹起が予想される。LANA欠損細胞株でのKSHVゲノム定量解析により、その変動を評価する。以上より、LANA欠損によるウイルスゲノム変動を解析し、ゲノム編集による潜伏感染KSHV排除の基盤を構築する。

3. 研究の特色

本研究の特色・独創性は、細胞内で潜伏状態にあるウイルスゲノムに、直接改変を施すことでウイルス排除を図る点にある。KSHV潜伏感染細胞でのウイルス産生は非常に低いレベルに抑えら

れている。そのためウイルス複製阻害剤を用いても、潜伏感染細胞を完全に排除できない。ゲノム編集技術により、はじめて潜伏感染細胞中のKSHVゲノムに対して直接作用することができる。本研究では、KSHV関連リンパ腫である原発性体腔性リンパ腫由来細胞株を用いるため、より生体内での潜伏感染環境を模した実験系であるといえる。さらにリンパ腫細胞株でのゲノム編集の高効率化・迅速化を図るため、CRISPR/Cas9レンチウイルスベクターを用いる点も本研究の特色である。レンチウイルスベクターにより、潜伏感染細胞などの静止期細胞への高効率な遺伝子導入が達成できる。

4. 研究の成果

(1) LANA特異的sgRNA配列の機能確認

まず、ゲノム編集の効果を決定づけるsgRNA配列の最適化を検討した。具体的には、LANA N末端領域-EGFP融合タンパク質発現プラスミドと4種のLANA標的sgRNA発現ベクタープラスミドとを細胞に共発現させた。LANA N末-EGFP融合タンパク質発現量をフローサイトメトリーにより定量したところ、4種いずれの配列でも顕著な融合タンパク質発現量低下をみとめた。このことは、プラスミド上のLANA N末端領域配列への変異発生によるフレームシフトの発生、すなわちゲノム編集が生じていることを意味する。以上より、LANAに対して有効に機能するsgRNA配列を同定した。

(2) KSHV感染リンパ腫由来PEL細胞株におけるLANA欠失によるウイルスゲノム量への影響

コントロールとしてlentiCRISPR-sgLuc、およびLANA標的sgRNA配列のうちlentiCRISPR-sgLANA#1を用いて、レンチウイルスベクターを調整した。これらレンチウイルスベクターをKSHV感染リンパ腫由来PEL細胞株BC3およびHBL6に感染させ、薬剤選択を行った。21日間培養後に、細胞中KSHVゲノムを定量した。その結果、BC3およびHBL6細胞のいずれにおいても細胞中KSHVゲノム量が顕著に低下していることをみとめた。さらに、潜伏感染細胞KSHVゲノム上のLANAコーディング領域に対して、変異・欠損が生じているかを確認するため、抽出DNAからLANAコーディング領域を増幅、TAクローニングののち、サンガー・シーケンス法により解析した。結果として、BC3細胞では全6配列中4配列(4/6 clone: 66.7%(欠損2、点変異2))に、HBL6細胞では全6配列中3配列(3/6 clone: 50%(欠損2、点変異1))に、変異・欠損導入を確認した。以上のことから、ゲノム編集によるLANA欠損により、細胞内ウイルスゲノム不安定化を誘導できることが明らかとなった。

しかしながら、ウイルスベクターの導入効率等の問題もあり、本研究の当初目的である潜伏感染細胞からのウイルスゲノムの完全排除には至っていない。これらに関しては今後の課題として研究を展開していきたい。

近世村落の生産活動と環境適応 — 産物データベースの構築と定量的・地理的分析 —

同志社大学 研究開発推進機構・文化情報学部 松森智彦

1. 研究の目的

『斐太後風土記』とは、明治初期に編纂が完了した岐阜県飛騨地方の物産誌である。また『防長風土注進案』は防長地方（山口県）の近世の物産誌である。従来の研究では、これらの物産誌記載産物の網羅的なデジタルデータ化と、地理情報システム（GIS）を用いた地理的分布の把握を行ってきた。産物の表記ゆれを整理し、産物の種類また生産量の特徴を把握することは、近世村落社会の生活文化の実態理解に有用である。本研究では、これまでの研究において構築した産物データベースとGISを用いて、物産誌記載のデータに基づくボトムアップの村落研究を行う。データに基づき、再現可能な手続きを用いて、近世村落社会の一般性と個別性について、生産活動と環境適応の視点より明らかにする。飛騨と防長の二つの産物データベースを統合し、近世村落の生産活動のモデルを作成する。二つの地域を比較し、地域間に共通する生業形態、それぞれの地域ごとで発現する特徴、そして地域内での多様性を、データベースとGISを用いて明らかにする。

2. 研究の計画・方法

二種類の成果物の作成を目標としている。一つ目は「日本近世産物データベース」の構築である。これは『斐太後風土記』DBと『防長風土注進案』DBを併合したもので、両DBの産物名を表記ゆれを考慮しながら併合し、産物名称のシソーラスを作成する。二つ目は研究報告書の作成である。章構成は①対象地域の地形的特徴、②村落の分布と立地、③人口、④産物の種類、⑤産物の構成、⑥産物の生産量、⑦飛騨（もしくは防長）地方村落社会の特徴とする。分析と執筆には上述のDBを利用する。⑤産物の構成については村落同士を一对比較し、それぞれの産物構成の類似と相違について定量的に分析する。⑥生産量については穀物・豆類について報告を行っている。記載頻度、生産量ともに多い9種を対象に生産量の大小、生産量の地理的偏在を分析し産物の特徴について論じている。同様に他種類の産物についても報告にまとめる。⑦飛騨（もしくは防長）地方村落社会の特徴については⑤と⑥の結果を総合し、生産活動からみた村落の実態について論述する。

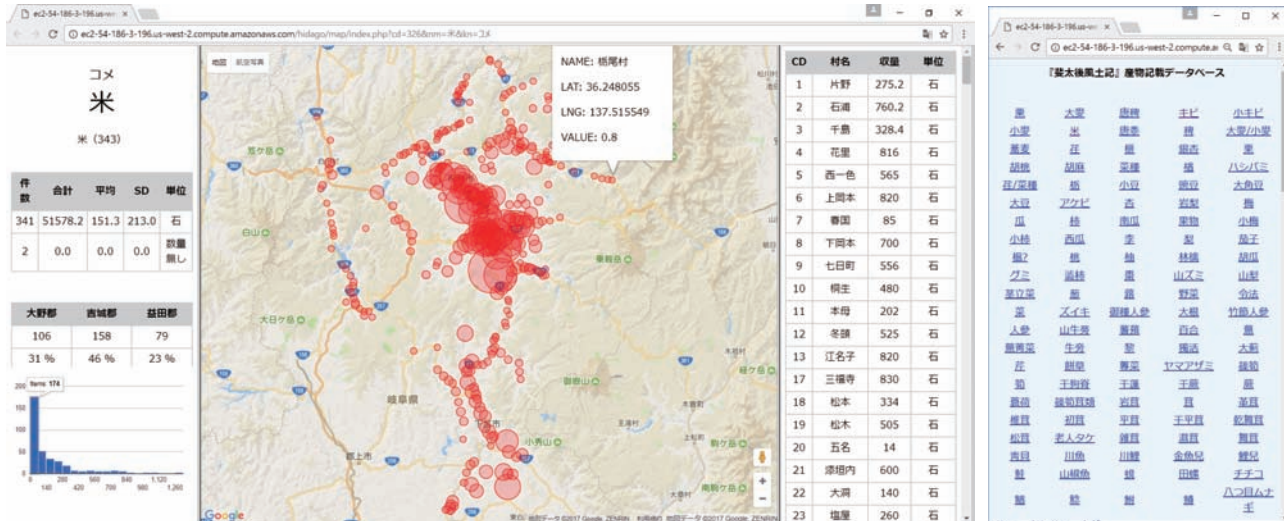
3. 研究の特色

本研究の特色は、データベース・統計学・地理情報学を用いた文化情報学的アプローチを取り入れている点である。申請者はおよそ1万件的『斐太後風土記』の産物記載、2万件以上の『防長風土注進案』の産物記載をデータベース化しており、成果物として食品目録等の論文発表を行っている。表記ゆれの整理された大量のデータを整合性持って操作・管理する事ができ、その質的・量的データに対して再現可能な手続きによる定量的な分析を行うことができる。定量化されたデータに対し、基本集計やヒストグラム・箱ヒゲ図等による分布の評価、また主成分分析、クラスター分析など多変量解析等の統計学的分析が可能である。ほか、地理情報システム（GIS）を用いた村落の分布・立地などの地理学的分析が特色である。村落の生産活動には、村落の周囲の環境が大きく影響するため、それを評価、総合する必要がある。本研究では、旧版五万分一地形図を用いて村落位置を比定し、同地図や標高地図、河川地図を用いて立地の評価を行っている。

4. 研究の成果

産物データベースの構築及び成果公開用システムの開発を行った。『斐太後風土記』及び『防長風土注進案』の産物データベースについて、データの入力・精査・確認・紐付け作業を行った。

作業は一名の研究協力者の助力を得て、両データベースの全レコードについて、作業が完了した。また、成果公開・分析用のGISシステムの開発を行った。試験公開用のアドレスにて限定的に公開を行っており、サーバーはAmazon EC2、データベースはOracle DB、サーバーサイドはPHP、フロントエンドはHTMLとJavaScriptで実装している。次のアドレスにて限定的に公開を行っている。
<http://ec2-54-186-3-196.us-west-2.compute.amazonaws.com/hidago/>



成果公開・分析用のWeb GISシステム

本研究題目にて取り上げた、生業活動・環境適応については、特に産業・手工業製品を中心に分析を進めて、論文を投稿した。「『防長風土注進案』記載の産業と手工業製品」¹は山口大学の五島淑子氏、立命館大学の中村大氏との共同研究で、2013・2014・2015年に報告した 農作物・採集品、魚介類・海藻類、鳥獣類 編の続編である。本稿では『防長風土注進案』記載の201品目の産業・手工業製品について、分類を行い、表記ゆれを整理して目録として報告した。これら四稿の目録数は179品目と169品目、124品目を合わせ、673品目にのぼる。

同様に、岐阜県飛騨地方でも産業・手工業製品の整理作業を進めており、「『斐太後風土記』記載産物の生産量と地理分布（2）—繊維・織物類・紙類を中心に—」²を投稿している。これは2015年度に投稿した「『斐太後風土記』記載産物の生産量と地理分布（1）—穀物類・豆類を対象に—」の続編である。前稿では、産物生産量の分析を行うにあたり、食料となりうる産物のうち、記載頻度、生産量合計ともに最大で、主エネルギー源となりうる穀物類・豆類を対象とした。今年度は、非食用の産物のうち、記載頻度、生産量合計ともに高い繊維・織物類・紙類を対象とし、これらの量的特徴と地理的分布について詳しく論じた。

ほか、口頭発表では「『斐太後風土記』記載の手工業製品とその生産量」³が挙げられる。上記の繊維・織物類・紙類の論考をもとに、繭・生糸・真綿・紬・絹・布・麻・桑・煙草・苳・菜種・楮・紙の13品目について、生産量及び地理的分布の相補性を指摘し、議論を深めた。

従来の食品となりうる産物の研究に、今年度での産業・手工業製品の分析を加え、対象地域の地形的特徴、村落の分布と立地、人口、これらを総合して村落社会の特徴について考察し、報告書を執筆した。

¹ 松森 智彦・中村 大・五島 淑子 2017『山口大学教育学部研究論叢（第1部）』第66巻 1号, pp. 41-56
² 松森 智彦 2016『文化情報学』第12巻1号, pp. 1-10
³ 松森 智彦 2016「古典籍の保存・継承のための画像・テキストデータベースの構築と日本文化の歴史的研究 夏の研究集会」

胎盤幹細胞の分化における膜融合関連タンパク質複合体の役割

同志社女子大学 薬学部 安川 淳一郎

1. 研究の目的

哺乳類の特有の組織である胎盤は、胎児への栄養補給、老廃物排泄や呼吸を担い、哺乳類の発生における必須の器官である。発生段階における胎盤形成のメカニズムの解明は重要な課題であるが、不明な点が多く残されている。近年、エンドソームやリソソームといった細胞内の膜小胞が、細胞の増殖・分化に関わるシグナル伝達因子の活性化の場として重要であることが明らかとなりつつある。本研究において、細胞内膜小胞の動態に関わるタンパク質に着目し、胎盤の初期形成におけるシグナル伝達経路制御メカニズムの解明を目指した。

2. 研究の計画・方法

(1) 膜融合関連タンパク質ノックアウトマウス胚における胚発生の解析

ノックアウトマウスが胎生致死となる発生段階において、whole mount *in situ* hybridization法や免疫組織化学蛍光抗体法を用いて、組織特異的な発現を示すマーカー遺伝子産物、マーカータンパク質を検出した。膜融合に関連する複数の遺伝子について、それぞれのノックアウトマウスを作出し、組織特異的なマーカーの発現パターンを比較した。

(2) ノックアウトマウス胚におけるシグナル伝達経路の解析

シグナル伝達経路に関与するタンパク質の活性化フォームに対する特異的抗体を用いた免疫組織化学蛍光抗体法を用いて、ノックアウトマウス胚におけるシグナル伝達経路の活性化状態について解析した。

(3) 遺伝子欠損細胞におけるシグナル伝達経路の解析

組換え酵素の導入によって条件的に遺伝子を欠損させることができる遺伝子組換えアレル(*loxP*)を導入したマウスから胚繊維芽細胞を樹立し、シグナル伝達経路の活性化に対する遺伝子欠損の影響について、その活性化条件を検討・確立し、活性化フォーム特異的抗体を用いたウェスタンブロット法を用いて解析を行った。

3. 研究の特色

哺乳類特有の組織である胎盤の発生に関わるシグナル伝達における、膜動態関連タンパク質の寄与についてアプローチする本研究は他に類を見ないものである。膜動態関連因子はこれまで、真核生物のシンプルなモデル生物である出芽酵母を用いた研究が盛んに行われてきた。多細胞生物を用いた研究も進められ、酵母の液胞に相当すると考えられるエンドソームやリソソームなどの膜小胞の動態に関与し、機能の上でも進化的に保存されていることが示されてきている。一方で、個体の発生や、細胞の分化といったマクロな生命現象におけるこれらの因子の役割については、ほとんど明らかではない。本研究は、膜動態関連タンパク質の生物学的な役割について新しい知見を与えると考えられる。

小胞輸送経路であるエンドサイトーシス経路が、特定のシグナル伝達経路に関わる因子の輸送や分解を介して、シグナル伝達経路を制御することが知られている。また近年、膜小胞が、シグナル伝達制御の場となっていることが明らかになりつつある。しかしながら、膜小胞とその動態が果たすシグナル伝達の制御の全体像については、未だ明らかではない。本研究は、さまざまな外的刺激に応答するシグナル伝達経路の制御に関する膜動態の役割について、新たな示唆を与えると期待される。

4. 研究の成果

(1) 膜融合関連タンパク質ノックアウトマウス胚における胚発生の解析

膜融合関連タンパク質のノックアウトマウスが、着床後に胎生致死となることが予備的な解析で明らかとなっていた。着床時のマウス胚は、胚盤胞（blastocyst）と呼ばれ、胚体外胚葉（epiblast）、栄養外胚葉（trophectoderm）、ならびに原始内胚葉と、3つの組織に分かれる最初の時期である。ノックアウトマウス胚において、それぞれの胚葉に特異的なマーカータンパク質のパターンを観察したところ、これらの胚葉への分化は問題なく進んでいることがわかった。ところが、さらにその発生段階を追っていくと、ノックアウトマウス胚において、栄養外胚葉から分化する胚体外外胚葉の形成が不全となっていることがわかった。胚体外外胚葉は、胎盤の前駆組織にあたり、胚本体の成長に必須な領域である。この表現型は、別の、関連する膜融合タンパク質のノックアウトマウス胚でも同様に確認された。以上の結果から、膜融合関連タンパク質が、協調して、栄養外胚葉から胚体外外胚葉への分化に、重要な役割を果たしていることが示唆された。

(2) ノックアウトマウス胚におけるシグナル伝達経路の解析

ノックアウトマウス胚における分化異常の分子メカニズムを明らかにするために、ノックアウトマウス胚において、着床後の発生に寄与すると報告されているシグナル伝達因子の活性化状態を調べた。該当のシグナル伝達経路因子のノックアウトマウスは、着床後の発生段階で、胚体外外胚葉の分化発生に異常をきたして胎生致死になることが報告されている。加えて、細胞内小胞がその活性化に寄与するとの報告もあり、関係が考えられた。

シグナル伝達経路の活性化・不活性化を、タンパク質のリン酸化フォームを検出することによって評価することができる。ノックアウトマウス胚において、免疫組織化学蛍光抗体法により、活性型タンパク質を検出したところ、野生型胚と比べて、そのシグナルが低下していた。このとき、該当するタンパク質の総量に変化は認められなかった。以上の結果から、マウス胚において、膜融合関連タンパク質が、特定のリン酸化シグナルの伝達に寄与することが示唆された。

(3) 遺伝子欠損細胞におけるシグナル伝達経路の解析

シグナル伝達経路に対する膜融合関連タンパク質の役割を、より詳細に明らかにするために、胚繊維芽細胞を用いた解析を行った。目的の遺伝子領域に*LoxP*配列を導入したマウスから胚繊維芽細胞を樹立し、アデノウイルスベクターを用いたCreリコンビナーゼの導入によって遺伝子を欠損させられることを確認した。さらに、タンパク質レベルでその発現が低下していることを確認した。

培地への刺激因子への添加、あるいは除去によって、胚繊維芽細胞における活性化状態を制御する系を確立した。この系を用いて、遺伝子を欠損させた細胞における、シグナル伝達経路因子の活性化について調べた。その結果、欠損細胞において、刺激因子に応答したシグナル伝達下流因子の活性化に、低下が認められた。加えて、シグナル伝達因子の活性化の低下は、シグナル伝達経路の特定の段階でおきていた。膜融合関連タンパク質が、特異的に、シグナル伝達の活性化に寄与することが示唆された。

また、上記のシグナル伝達経路に対して抑制的に機能する、別のシグナル伝達経路について、その活性化状態を検討したところ、遺伝子欠損細胞において、野生型と異なる活性化パターンを示し、条件によっては活性化の亢進が認められた。このことから、膜融合関連タンパク質が、複数のシグナル伝達経路の統合的な制御に寄与していることが考えられる。

以上の結果から、膜融合関連タンパク質が、特定のシグナル伝達経路を制御し、胎盤の前駆組織の分化に寄与することを明らかにした。本研究成果に基づいて、明らかにしたシグナル伝達経路と、胎盤細胞の分化との関係、ならびに詳細な制御メカニズムについて、さらに解析を進めてゆく。

液晶性ナノ微粒子の創製とブルー相の電気光学特性の解析 —ブルー相を用いた次世代液晶ディスプレイへの応用—

立命館大学 生命科学部 応用化学科 金子 光佑

1. 研究の目的

本研究では、次世代液晶表示デバイスへの応用を念頭に置き、液晶相の1つである「ブルー相」に注目し、金ナノ微粒子を添加した系での電気光学特性の向上を目的としている。これまで液晶デバイスとして広く使われてきたネマチック液晶にPd、Ag/Pdなどのナノ粒子を添加することにより、それを用いた液晶ディスプレイの動作特性を改善することが報告されている。この効果をブルー相ディスプレイにも拡張し、一般に使われている液晶ディスプレイと同じ5V駆動や低消費電力、動作電圧の低減、室温における応答速度の向上を目指し、微粒子添加によってブルー相の電気光学特性の改良を行うという着想に至った。まず初めに、液晶に対する微粒子の分散性・相溶性を高めるための有効な手段として、液晶基で被覆した金ナノ微粒子含有液晶の合成を試み、材料設計の視点からブルー相の電気光学特性向上の方法を考案した。さらに微粒子添加の方法についても検討し、液晶材料との相溶性を高めるために微粒子に液晶性を持たせるという化学的なアプローチを進める。

2. 研究の計画・方法

ブルー相はネマチック液晶にキラルドーパントを添加し、液晶分子の配向にねじれを誘起させることにより得られる。したがって、ブルー相に微粒子添加を考える場合、ネマチック液晶・キラルドーパント・微粒子の3種混合系を対象とすることになる。一般的に微粒子をある材料に添加する場合、微粒子を保護材で包み、水や有機溶媒の中に分散させる。その際、適切な保護材を用いないと微粒子の凝集が生じ、良い分散および相溶性が得られない。良好な微粒子の分散状態を得ることは容易ではなく、その困難度は「水→有機溶媒→液晶」の順で大きくなる。したがって、分散性の良い微粒子を得るためには、微粒子の合成および特に適切な保護材の合成が極めて重要なポイントとなる。そこで本研究では新規有機・無機ハイブリッドナノ材料の開発を主軸とした以下の方法により、液晶材料の電気光学特性向上の新しい手法を提案する。

(1) 金ナノ微粒子含有液晶の合成

金微粒子を液晶分子で表面修飾することにより、金微粒子自身に液晶性を持たせることを目標とした。具体的にはチオール基(-SH基)を持つ有機化合物と金が結合しやすいことを利用し、チオール化合物の末端に液晶分子を結合させることにより、金微粒子を液晶分子で覆う。本研究では図1に示す2種類の液晶基で保護された金ナノ微粒子の合成を行った(Au-II,Au-III)。

(2) ブルー相の発現機構の解明

ネマチック液晶4-pentyl-4'-cyanobiphenyl (5CB)とフッ素系ネマチック液晶JC1041XX (JNC)の混合液晶(重量比1:1)に対し、全量に対して7.5wt%となるようにキラル剤(ISO)を加え、ブルー相を示す液晶材料(BPLC-1)を調製した。その試料に合成した金属微粒子Au-IIおよびAu-IIIを0.3wt%の割合でそれぞれ添加し、金ナノ微粒子含有液晶材料BPLC-2およびBPLC-3を調製した。得られた試料をセル厚10 μ mのガラスセルに注入し偏光顕微鏡観察を行い、相転移挙動を確認した。

(3) 電気光学特性の評価

光透過率の印加電圧依存性を測定することにより、閾値電圧を観察した。電場に対する応答時間の評価は入射光源としてHe-Neレーザーを用い、電場印加時の透過光強度変化を検出す

ることにより評価した。また、試料を楡歯型電極(In-plain switching: IPS電極)付基板とガラス基板からなるIPSセル($d \sim 15 \mu\text{m}$)に注入し、周波数500Hz(矩形波)のHe-Neレーザー入射光($\lambda = 633 \text{nm}$)を用いて電気光学特性(V-T曲線)を測定した。IPSセルの電極間距離は $10 \mu\text{m}$ 、電極幅は $5 \mu\text{m}$ とした。

3. 研究の特色

液晶への良好な分散性を得るために液晶基およびアルキル基で表面化学修飾された金ナノ微粒子の合成を試みた。化学修飾された微粒子単体での液晶相発現の報告例は現在まで非常に少ないため、液晶基の化学構造や結合様式を検討し、ネマチック相を発現する金ナノ微粒子の合成を目指した。液晶性を発現する微粒子の作製は本研究の最大のポイントであり、金属微粒子と液晶からなる複合材料の液晶相の有無は液晶基の「分子構造」および「結合様式」に大きく左右されると考えられる。液晶基と金ナノ微粒子の間にはメチレン鎖などを介すが、結合様式の視点で考えた場合、片末端に結合させた「side-end型」と側方から結合させた「side-on型」に分類できる。そこで2種類の液晶基で保護された金ナノ微粒子の合成を行った結果、side-on型の金ナノ微粒子に液晶性を持たせることに成功した。

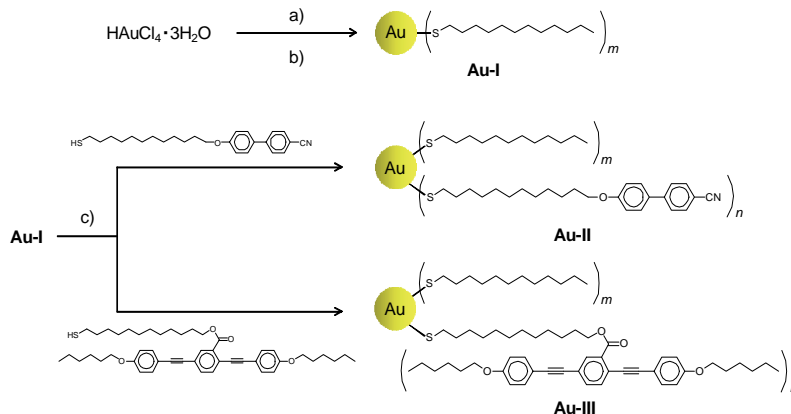


図1 液晶基を有する金ナノ微粒子の合成経路

4. 研究の成果

(1) 金ナノ微粒子含有液晶の合成

得られたAu-IIおよびAu-IIIに関して偏光顕微鏡(POM)観察および示差走査熱量(DSC)測定を行い、相転移挙動を確認した。Au-IIは室温において黒色粉末の状態、熱変化に対して相転移挙動を示さなかった。一方Au-IIIの偏光顕微鏡観察において、約 80°C までの温度範囲において複屈折性を示し、透明点(Tcl)以上の温度では暗視野組織が確認された。またDSC測定の結果から、偏光顕微鏡組織の変化が確認された温度と同様の温度において、相転移に伴う熱量変化を確認することができ(図2)、以上の結果からside-on型の金ナノ微粒子Au-IIIに液晶性を持たせることに成功した。また透過型電子顕微鏡(TEM)観察により、Au-IIおよびAu-IIIの粒径を求めた。Au-IIおよびAu-IIIの粒径は3-4 nmとそれぞれ見積もられた。

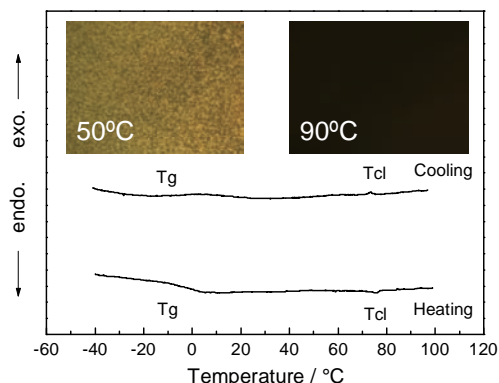


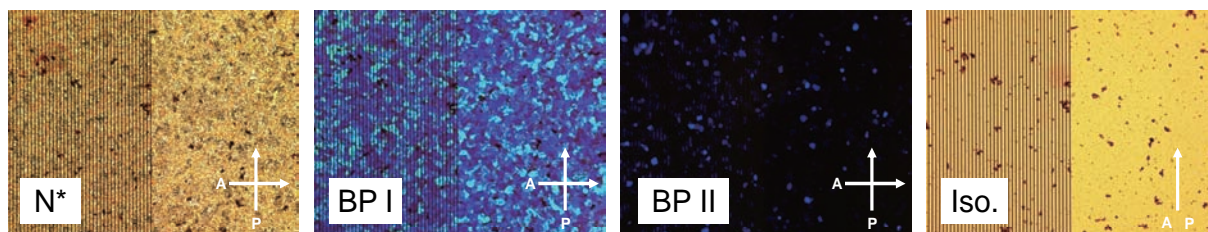
図2 Au-IIIのDSC曲線およびPOM写真

(2) ブルー相の発現機構の解明

各試料について偏光顕微鏡観察を行った結果、それぞれブルー相の発現が認められた。BPLC-1、BPLC-2およびBPLC-3の相転移挙動を表1に示す。ブルー相を示す液晶材料BPLC-1と金ナノ微粒子を添加したBPLC-2およびBPLC-3の相転移挙動を比較すると、金ナノ微粒子添加により透明点の減少が確認されたが、ブルー相の温度範囲の拡大は認められなかった。またBPLC-2に関しては、Au-IIに由来するマクロな凝集体が確認され(図3(a))、ブルー相を示す液晶材料(BPLC-1)との相溶性が悪いことが明らかとなった。一方、BPLC-3の液晶相・等方相において金ナノ微粒子は均一に分散し、各相においても凝集体が観察されず、液晶材料

(BPLC-1)との良好な相溶性が確認された(図3(b))。さらに、ブルー相に特有なプレートレット組織が確認されたことから、微粒子の添加によって液晶性が阻害されないことが明らかとなった。Au-IIIは液晶相を示すことが確認されており、液晶材料との相溶性の向上の原因であると考察される。

(a)



(b)

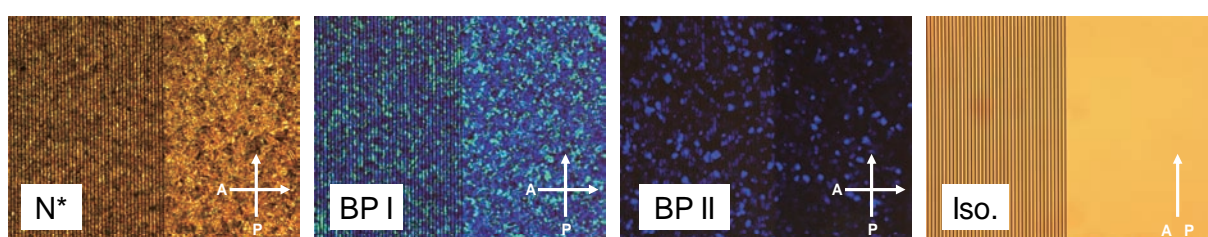


図3 (a)BPLC-2および(b)BPLC-3の偏光顕微鏡写真

N* : キラルネマチック相, BP : ブルー相, Iso. : 等方性液体

(3) 電気光学特性の評価

BPLC-1およびBPLC-3(Au-III-0.3wt%)のBP Iにおける電気光学特性(V-T曲線)の結果を図4に示す。BPLC-1のon-set電圧は約30VでVmaxは110Vであった。一方、BPLC-3のon-set電圧はBPLC-1と同様な値を示すが、VmaxはBPLC-1と比較して数V低く95Vであり、微粒子添加による低電圧駆動の可能性が示唆された。BPLC-2(Au-II-0.3wt%)については印加電圧42Vまではブルー相で通常に見られる電気光学応答が確認できたが、50V以上においては電場印加による光学応答を示さなくなった。電気光学特性を測定した後のセルを偏光顕微鏡で観察したところ、電極間に微粒子が凝集していることが確認された。これは電圧の印加により電極間に微粒子のブリッジ構造が形成されたためであると言える。したがって、ある一定以上の電場強度において均一な分散性は保持されず、電気光学特性の測定は行うことができなかった。

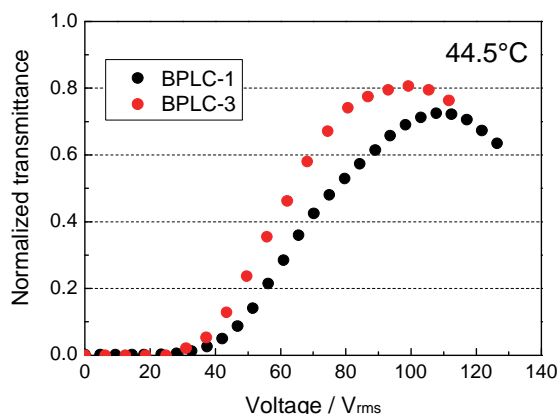


図4 BPLC-1およびBPLC-3のV-T曲線

謝辞

本研究に協力していただいた、九州大学先導物質化学研究所の菊池裕嗣教授に厚く御礼申し上げます。

労働者派遣法の比較制度分析 ードイツ、韓国、日本の事例からー

立命館アジア太平洋大学 アジア太平洋学部 児島 真爾

1. 研究の目的

本研究は、労働法の国際比較研究を通じて、社会学的制度論へ理論的な貢献を行うことを目的としている。韓国、ドイツ、そして日本の労働者派遣制度の相似点と相違点をまとめあげ、記述的な分析を行うことに加え、同じ労働者派遣制度でも先進国間で相違・相似点が生まれている要因を明らかにする。グローバル化が進むなか、諸外国の制度は国内制度の発展に影響を与えるが、その結果、日本の法制度はいかにして同型化あるいは差異化しているのか。国境を越えた相互作用として労働者派遣制度の成立・変遷過程を分析することで、制度的同型化理論と差異化理論への貢献を行う。本研究は、記述的分析と理論的分析の二つの柱から成り立っている。

2. 研究の計画・方法

本研究は労働法制度の国際比較研究であるため、(1)文献の収集と講読、(2)比較分析が可能な形での年表の作成、(3)現地調査、(4)法制度成立および改正プロセスの分析、そして(5)国内および国際学会での発表と論文の出版、の5つの段階を経る。この5つの段階を3年計画で実施する。本奨励金申請時の計画としては、助成年度の平成28年度は日独比較を行い、平成29年度は日韓比較を行い、そして最終年度の平成30年に3カ国の総合的な比較検討を行うとした。しかし、フィールドワーク実施に向けて現地の研究者と予定を調整する過程において、平成28年度と29年度の計画を逆転させる形で先に韓国での現地調査を実施するほうが適切だと判断した。したがって、助成年度である平成28年は前年からの研究成果に積み重ねる形で、(3)と(4)を中心に日韓比較の研究調査を行った。

3. 研究の特色

本研究の特色は、理論と方法論の双方におけるグローバルな視点の採用にある。

(1)労働者派遣法についてはこれまで膨大な先行研究の蓄積があるが、その多くは諸外国の制度が国内制度の設計に与えた影響についての分析が不足している。新社会学制度論は制度の変化を説明する理論であり、諸外国の制度が国境を越えて均質化または差異化していく過程の説明を試みる。DiMaggio and Powell (1983) の制度的同型化理論に始まり、Beckert (2010) の制度的差異化理論は、諸外国の法制度の形成過程をグローバルな相互作用の観点から分析するうえでは有効である。労働者の生活を左右する法制度がどのように国境を越えた相互作用の結果形成されていくのか、そのメカニズムを明らかにすることに、本研究の特徴と意義がある。

(2)方法論上の独創性は、「グローバル・エスノグラフィ (Burawoy 2000, Gille and O'Riain 2002)」を行う点にある。グローバル化とは国境を越えた因果連鎖の拡大と強化を指すが、国を越えたつながりを分析し説明する上では研究者も国境をまたいで調査を実施し、つながりの具体的な形を紐解いていかなければならない。本研究は国内法の成立・改正を分析するために複数の外国でフィールドワークを行うという偏心化された方法論を採用する点においても独創的である。

(3)本研究の結果、いつ、どのような条件の下で諸外国の制度が参照され、国内法の策定プロセスに影響を及ぼすのか、そのメカニズムが明らかになる。それにより、財界のニーズと労働者のニーズとの間で均衡のとれた労働法制の構築を阻害している要因を特定し、制度構築プロセスを改善する方法を模索することへとつながることが期待される。

(4)最後に、本研究の意義は日本の事例を用いて日英両語で論文を発表する点にある。社会学的制度論は近年もっとも発展の著しい理論の一つであるが、西欧中心主義的に発展しがちである。本研究は韓国および日本からの知見を提供することで、その不均衡の是正を試みる。

4. 研究の成果

研究の成果としては、(1)分析ツールとなる新社会学的制度論に関する文献を読み込み、理論的知識を深めた。(2)ドイツ、韓国、および日本の労働者派遣制度について英語および日本語で公刊された先行研究や、政府機関発行の一次資料を読み込み、労働者派遣制度の制定および改正の過程をまとめあげた。(3)国内（関東地域）および海外（韓国）でフィールド調査を実施した。(4)現在執筆中の論文が、Arne KallebergおよびHuiyan Fu編著による書籍に掲載されることが決まった。

具体的には、(1) グローバル化と制度変化の関係性についてinstitutional isomorphism と divergenceのそれぞれの観点から論じられた文献を精読した。(2)ドイツ、韓国、および日本の労働者派遣制度について英語および日本語で書かれた先行研究を読み込んだことに加えて、2017年1月からは安倍政権の「働き方改革実現会議」が発足し、均等待遇原則（同一労働同一賃金）の法制化に向けた改革が政府によって進められたこともあり、各種委員会が公開する議事録などの資料の精読に取り組んだ。(3)平成28年8月27日から9月3日にかけて、東京・神奈川・千葉にてフィールド調査を実施した。労働組合の代表者や派遣労働者に対して聞き取り調査を行い、非正規労働者の待遇改善を求める社会運動の現状や、非正規労働者の賃金体系や生活状況について情報収集を行った。また、平成29年3月2日から4日にかけて、韓国にてフィールド調査を実施した。1998年に制定された派遣法に焦点を絞り、職種で使用を制限する日本の制度が参照されながらも、均等待遇原則も同時に導入された要因を分析する目的で、韓国の非正規雇用にまつわる法案の成立過程に詳しい研究者・労働組合活動家に対して聞き取り調査を実施した。(4)収集した資料をもとに、論文の執筆に取り組んだ。元米国社会学会会長のArne Kalleberg教授、および中国の労働者派遣制度に詳しいHuiyan Fu教授から誘いがあり、本論文はこの二名が編集する書籍に掲載される運びとなっている。中国、米国、および日本の非正規雇用問題の実情や雇用制度に詳しい専門家が寄稿した論文を編纂した研究書として、米国またはイギリスの大学出版会からの出版を目指している。本論文は現在執筆中であり、2017年8月末までに編集者に初稿を提出する予定である。