

新しい作用機序の注意欠如/多動性障害治療薬の開発 —前頭前野 NMDA 受容体 glycine 結合部位の可能性—

北海道医療大学 薬学部 鹿内 浩樹

1. 研究の目的

注意欠如/多動性障害 (attention-deficit/hyperactivity disorder: AD/HD) は、主として幼児期から学齢期の児童に認められる「不注意」「多動性」「衝動性」を中核症状とし、時に認知機能障害を伴う、男児優勢の軽度発達障害と位置づけられる精神疾患である。特に学齢期の児童の 5-10%において認められ、近年では教育現場における「学級崩壊」の要因となることが指摘されている。MRI などの脳機能画像診断の結果から、疾患の病因としては「前頭前野 (prefrontal cortex: PFC)」の機能形態的異常が想定されている。現在 AD/HD 治療薬としては、神経伝達物質ドパミンの細胞外遊離量を増大させる目的で、各種モノアミン再取り込み阻害薬が使用されている。しかしこれらの AD/HD 治療薬は、アンフェタミンなどの覚せい剤と同様の薬理作用機序を持つため、その副作用や依存性が薬理的な問題を引き起こし、加えて乱用などの社会的な問題となることがある。これらの背景を踏まえても、本疾患の病態生理解明・新規作用機序の治療薬開発は急務であると言える。

申請者はこれまでに AD/HD 疾患動物モデルを用いて、AD/HD の示す行動変容の神経基盤解明に取り組んできた。その結果、疾患動物モデルには PFC における興奮性シナプスに機能形態学的な異常が存在することを突き止め、さらに近年は、興奮性シナプスのグルタミン酸受容体の一つである NMDA 受容体の glycine 結合部位に注目している。本研究では、NMDA 受容体 glycine 結合部位リガンドが AD/HD の新規治療薬となる可能性について、薬理的に追究することを目的とした。

2. 研究の計画・方法

NMDA 受容体は、NR1 ならびに NR2A~2D サブユニットからなるヘテロ 4 量体であることが知られており、特に NR1 サブユニットには抑制性アミノ酸である glycine の結合部位が存在している。電気生理学的な実験結果より、glycine はグルタミン酸による興奮性神経伝達を増強させる機能を有することが示されている。従って glycine は NMDA 受容体の co-agonist として様々な脳機能の発現・調節に重要な役割を果たす可能性が示唆されている。

そこで申請者は、これまでの研究で用いてきた AD/HD モデル動物である脳卒中易発性高血圧自然発症ラット (stroke-prone spontaneously hypertensive rat: SHRSP/Ezo) の PFC 脳領域の NMDA 受容体機能が glycine などの co-agonist により改善する可能性を、放射標識リガンド (^3H)MK-801: NMDA 受容体選択的 antagonist) を用いた NMDA 受容体 binding assay を用いて検証した。

さらに、得られた結果を基に NMDA 受容体 glycine 結合部位に対するリガンドを SHRSP/Ezo に単回全身投与し、PFC が関与する短期記憶・作業記憶 (working memory) を評価するために広く用いられている Y 迷路試験を行い、不注意行動 (inattention) への効果を評価した。

3. 研究の特色

国内外において AD/HD に関する基礎研究は、主として神経伝達物質ドパミンに焦点を当てた研究が進められてきた。ドパミン神経毒投与ラット (Davids et al., 2002) やドパミントランスポーターノックアウトマウス (Trinh et al., 2003) など、ドパミン作動性神経の機能を擾乱させたものが AD/HD 疾患モデルとして広く用いられている。一方、申請者の所属する北海道医療大学薬学部で継代繁殖している SHRSP/Ezo が、AD/HD 疾患モデル動物として高い妥当性を示す。特に、代表的な AD/HD 様行動 (不注意・多動・高い衝動性) が雄性 SHRSP/Ezo の幼若期特異的に見られるため、臨床で見られる AD/HD 患者の所見と高い相同性を示す (Ueno et al., 2002)。この AD/HD 疾患の表現型をすべて反映している疾患モデルは SHRSP/Ezo 以外に報告がなく、本研究ではこの

モデル動物を使用して AD/HD の疾患病態を明らかにしていく点が特色である。

4. 研究の成果

(1) [³H]MK-801 を用いた PFC 領域 NMDA 受容体 binding assay

NMDA受容体の機能亢進に対するco-agonistとしてglycineとD-serineを用いて、それぞれNMDA受容体binding assayに対する用量依存性を検証した。Glycineは100 μMの濃度においてのみ、対照群(WKY/Ezo)より有意にNMDA受容体bindingを亢進させた(図1)。D-serineでは、1、10、100 μMの濃度において、有意なNMDA受容体binding亢進効果を示した(図2)。

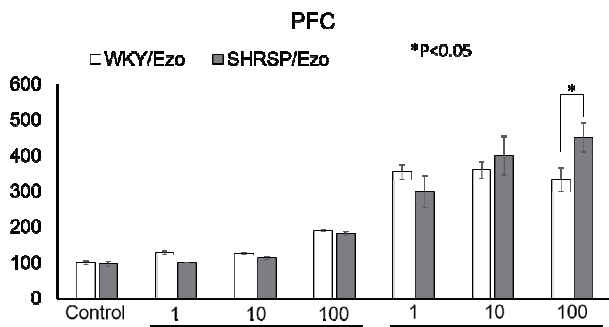


図 1. Glycine 添加による [³H]MK-801 の NMDA 受容体結合能の用量依存的変化。

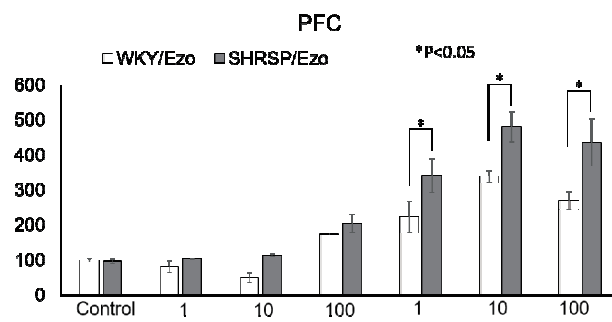


図 2. D-serine 添加による [³H]MK-801 の NMDA 受容体結合能の用量依存的変化。

(2) NMDA 受容体 glycine 結合部位リガンド D-cycloserine 投与による SHRSP/Ezo の注意機能への影響

上記の実験により、glycineならびにD-serine共にNMDA受容体機能を改善することが示された。しかしながらこれらのリガンドは末梢から投与しても、血液脳関門の透過性が低く中枢への移行率が悪いので、そのまま全身投与することが出来ない。そこで、脂溶性を高く比較的中枢へ移行しやすいD-cycloserine (DSC:15 mg/kg)をAD/HDモデル動物であるSHRSP/Ezoに単回全身腹腔内投与し、Y迷路試験を実施した。その結果、有意な差ではないものの、注意機能(Y迷路試験における自発交替行動率:alternation)の改善傾向を示した(図3)。

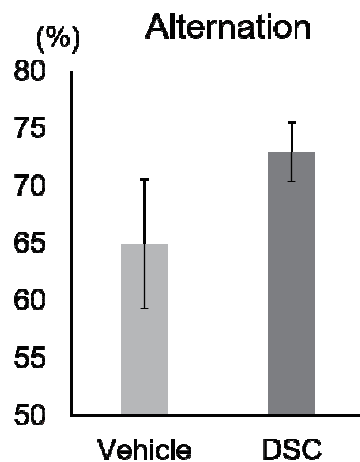


図 3. D-cycloserine 投与による SHRSP/Ezo の不注意行動の変化

(3) 結果の総括と今後の展望

以上の結果から、行動薬理的に有意な差は検出されなかったもののNMDA受容体glycine 結合部位に対するリガンドがAD/HDに対する新規作用機序の治療薬である可能性を支持した。今後、DSCについては投与量の検討や投与計画の変更(反復投与など)を検討していきたい。また、脳内glycineやD-serineの遊離量を増大させるなど、なんらかの方法でPFCのNMDA受容体glycine 結合を刺激し、AD/HDの治療につなげる方法についても検討していきたい。精神疾患の症状・程度は遺伝的要因や環境要因に大きく左右されるため個体差が存在する。そのため、単純一律化された治療方法では疾患の治療は困難である。出来るだけ多くの治療方法を見出し活用するためには、疾患の全容解明は不可欠である。本研究は、新規治療薬の創薬ターゲットを提示することで治療選択肢を広げ、新たな治療戦略を見出す一助となることが期待されるものである。

逐次近似再構成法を用いた超低被曝冠動脈 CT 撮影法の開発 —ファントムを用いた基礎検討および臨床応用—

岩手医科大学 医学部 高木 英誠

1. 研究の目的

(1) 研究の背景

冠動脈狭窄の診断は、従来はカテーテルを用いた侵襲的な経皮的冠動脈造影が唯一の検査であったが、多列検出器CTの進歩と普及により非侵襲的に冠動脈の形態情報を得ることが可能となった。大規模臨床研究から冠動脈CTの高い臨床的有用性が示され、本邦における冠動脈CTの検査件数は2015年で42万件/年と急速に増加している。一方で、冠動脈CTによる若年患者における遠隔期の肺癌や乳癌の発症リスク上昇が指摘されており、20~40代の女性における発症リスク上昇は、80代患者の10~20倍とも言われ(Andrew JE et al. *JAMA* 2007;298:317-23)、冠動脈CTの低被曝化が必要である。

近年、CT画像の再構成法として逐次近似再構成法 (FIRST; Forward projected model-based Iterative Reconstruction Solution, キヤノンメディカル)が開発された。この方法は従来の画像再構成法に比べ、画像ノイズを大幅に低減(画質向上)可能である。そこで逐次近似再構成法を冠動脈CTに応用することで、診断可能な画質を保ちつつ、放射線被曝の低減が期待できると考えたが、FIRSTを応用した冠動脈CTの被曝低減法やその効果は分かっていない。

(2) 研究の目的

研究計画時には面検出器CTを用いて0.5 mSv以下の撮影プロトコル作成を目標としていたが、研究開始時にCT画像に流体構造連性解析を用いて非侵襲的に冠血流予備能比を算出する方法 (CT-FFR; Computed tomography-derived Fractional Flow Reserve)が開発、導入されたため、冠動脈CT撮影時に心電図拡張末期のデータも収集する必要が生じた。そのため、被曝の目標値は2 mSv以下と再設定した。本研究の目的は以下の3つである。

- ①冠動脈CTにおける超低被曝撮影法のパラメータの最適化を行う。
- ②狭心症疑いで冠動脈CTを撮影した患者の径狭窄率の診断精度への影響を検証する。
- ③FIRSTを用いた低被曝冠動脈CTでのCT-FFRの診断精度を検証する。

2. 研究の計画・方法

(1) 低被曝撮影法のパラメータ最適化

過去に本学附属病院で撮影された冠動脈CT画像を2つの画像再構成法 (FIRSTおよび従来型の画像再構成法) で再構成する。両者の画像を盲検化し画質評価し至適な画像ノイズを決定する。

(2) 低被曝冠動脈 CT の冠動脈狭窄診断精度

本学附属病院で撮影された低被曝冠動脈CT画像を2つの画像再構成法 (FIRSTおよび従来型の画像再構成法であるFBP: filtered back projection) で再構成し、侵襲的なカテーテル冠動脈造影の診断を真とした時の診断精度を比較する。その際、ステント治療や冠動脈バイパス治療後の患者は除外する。また狭窄率の定量値をカテーテル冠動脈造影での狭窄率と比較し、バイアスを算出する。またその冠動脈CTの実効線量の平均、標準偏差を算出する。

(3) 低被曝冠動脈 CT の CT-FFR の診断精度

本学附属病院で撮影された冠動脈CT画像をFIRSTで再構成し、その画像からCT-FFRを算出し、侵襲的な冠血流予備比 (FFR: Fractional Flow Reserve)の診断を真とした時の診断精度を算出する。また、CT-FFRと侵襲的FFRの値の誤差、バイアスを算出する。その冠動脈CTの実効線量の平均、標準偏差を算出する。

3. 研究の特色

(1) 研究の社会的貢献性

低被曝冠動脈CT撮影法は、小児～若年患者など長期予後の見込める患者の遠隔期発癌のリスク低減に貢献する。またFIRSTはすでに市販されている画像再構成アルゴリズムであり汎用可能であることから、国内外の研究機関と連携し、超低被曝冠動脈CTの診断精度のエビデンスを構築するための資源となる。

(2) 特色・独創的な点

本研究で用いる逐次近似再構成法FIRSTは2016年に市販されたばかりである。FIRSTに関する大規模な研究は行われておらず、冠動脈CTにFIRSTを応用した被曝低減効果やその方法は分かっていない。本学には面検出器CTおよび FIRSTを搭載したCT画像再構成端末が設置されており、既に冠動脈CTの撮影経験を有しており、さらにそれ以前にも面検出器CTで心臓血管領域のCT撮影法に関する研究実績がある。

4. 研究の成果

(1) 低被曝冠動脈 CT のパラメータ最適化

従来型の逐次近似再構成法で、スライス厚0.5mm, field of view 200mmの条件下でターゲットノイズを28ハンスフィールドユニットで撮影条件を設定すると概ね良好な画像が得られた。日本人の標準的体格の成人であれば、体軸方向の撮影範囲をなるべく狭くし、撮影時に高心拍の患者に対し、 β 遮断薬を投与し心拍を下げ、拡張期のみの撮影にすることで、実効線量2mSvは達成できることが分かった。

(2) 低被曝冠動脈 CT の冠動脈狭窄診断精度

低被曝下での冠動脈CTでは、カテーテル冠動脈造影の診断を真とし、50%狭窄以上の病変を有意狭窄と定義した際に、従来型の再構成法 (FBP) に比べ特異度、精度が上昇することがわかった。狭窄率の定量性に関して誤差の許容範囲は約20%で同程度であったが、誤差平均が小さくなることがわかった ($-3\% \pm 9\%$ vs. $-7\% \pm 9\%$, $p < 0.01$)。対象集団における冠動脈CTの平均実効線量は 1.7 ± 0.7 mSvであり、過去の同様のCT-FFR対応の撮影方法を行った研究 (平均4.9mSv) と比べると低被曝で撮影できていた (Ko BS, et al. *JACC Cardiovasc Imaging* 2016;10:663-673)。これらの成果をRadiological Society of North America (RSNA) annual meeting 2017で発表した。

(3) 低被曝冠動脈 CT の CT-FFR の診断精度

低被曝下での冠動脈CTを用いたCT-FFRは、侵襲的なFFRの診断を真とし、 $FFR \leq 0.8$ を有意な病変と定義した際に、冠動脈狭窄50%で診断した時と比較して、感度は同等だが (感度, 81% vs. 81%, $p = 0.62$)、特異度や曲線下面積が改善する傾向が見られた (特異度40% vs. 73%, $p = 0.07$; 曲線下面積, 0.61 vs. 0.77, $p = 0.07$)。FFRの値の誤差平均は0.01と小さかったが、誤差の許容範囲が $-0.25-0.26$ と大きく、相関もピアソンの相関係数0.36であり、良好と言えるものではなかった。冠動脈CTの平均実効線量は2.3 mSvであり、過去の同様のCT-FFR対応の撮影方法を行った研究 (平均4.9mSv) と比べると低被曝で撮影できていた (Ko BS, et al. *JACC Cardiovasc Imaging* 2016;10:663-673)。これらの成果をEuropean Congress of Radiology (ECR) 2018で発表した。

急速減量による水分代謝応答の分子機構の解明

盛岡大学 栄養科学部 長谷川 和哉

1. 研究の目的

レスリングや柔道、ボクシングなどの体重階級制競技選手の多くは、試合前の計量に向けた極度の食事や飲水の制限、およびサウナなどを用いた脱水により、比較的短期間に体重を減らす“急速減量”を伝統的に行っている。しかしながら、過度の急速減量は生体の恒常性機能の破たんを引き起こし、過去には死亡事故も報告されている。急速減量は、体脂肪減少を目的として行われる減量とは異なり、脱水を伴うのが特徴である。これまでにヒトを対象とした研究により、急速減量が脱水、低血糖や免疫機能低下などの身体機能障害を引き起こすことが報告されているが (Mendes et al. 2013)、生体内における分子応答については、ほとんど明らかにされていない。

生体内の水分代謝は、主に脳と腎臓の連関によって制御されている。飲水制限などによって生体内における水分量が低下すると、脳下垂体後葉から抗利尿ホルモンである Vasopressin が分泌され、腎臓の水チャネルの Aquaporin-2 に作用することで、腎臓における水の再吸収を促進し、尿量が低下する。一方、絶食時には、腎臓の Aquaporin-2 の発現は低下し、多尿を呈することが報告されている (Hassane et al. 2001)。急速減量は、運動習慣を伴いながら、食事と飲水を同時に制限することが特徴だが、急速減量によって水分代謝制御機構がどのような挙動を示すかについては、十分に明らかにされていない。さらに、運動トレーニングが慢性心不全モデルラットの腎臓における Aquaporin-2 に作用することで腎機能障害を改善させることが報告されていることから (Lin et al. 2011)、運動習慣を持つアスリートと一般人では、急速減量における水分代謝応答が異なることが予想される。

そこで本研究では、脳と腎臓を中心とした水分代謝機構に着目し、急速減量による水分代謝応答を分子レベルで解明することを目的とした。加えて、運動習慣の有無が急速減量による水分代謝応答に与える影響についても明らかにすることとした。

2. 研究の計画・方法

Sprague-Dawley ラットを 4 群（安静群、安静＋急速減量群、運動群、運動＋急速減量群）に分け、運動群および運動＋急速減量群には、1 日 15 分 3 セットのクライミング運動を週 5 日、6 週間行わせた。その後、安静＋急速減量群および運動＋急速減量群には、3 日間の絶食を実施し、さらに絶食 3 日目には 1 日間の絶水を合わせて実施することで急速減量を行った。

3. 研究の特色

本研究のアイデアは、ラットを用いた動物実験により、急速減量による水分代謝応答を分子レベルで明らかにする点にある。ヒトを対象とした急速減量研究では、選手に競技大会の合間を縫って被験者になってもらい、体重・血液・尿・唾液などを解析するため、大会に向けた減量に加えて、さらなるストレスを選手に与えてしまうことや、臓器レベルで水分代謝機構を解析することが難しい。これまでに国内外で精力的に行われてきた急速減量研究をさらに発展させ安全な急速減量方法を確立していくには、動物実験が必要不可欠であるが、動物を用いた急速減量モデル研究は、ほとんど報告されておらず、さらには水分代謝応答については全く報告されていない。

現在、体重階級制を設けている競技は、我が国のお家芸であるレスリングや柔道を始めとして少なくとも 15 種目以上存在し、全世界に数多くの競技者が存在する。過度な急速減量は、身体機能障害を引き起こす危険性がある。しかしながら現在の急速減量は、科学的根拠よりも指導者や選手の経験則に基づいて実施されているのが実情である。その背景には、急速減量についての科学的な根拠が未だ不十分である現状が存在する。本研究の遂行によって、急速減量による水分代謝応答の分子機構の一端を明らかにすることは、より安全で効果的な急速減量法の確立のために貢献できるものと確信する。

4. 研究の成果

ラットの体重は運動習慣によって変動しなかったが、安静群および運動群ともに急速減量によって有意に減少した。尿量は安静群および運動群ともに急速減量によって有意に減少し、尿中の浸透圧は両群ともに急速減量によって有意に上昇した。腎臓の重量は、安静群では急速減量によって変動しなかったが、運動群では有意に減少した。視床下部における Hetero Vasopressin mRNA 発現量は運動習慣によって有意に増加したが、急速減量では変動しなかった。同様に、Mature Vasopressin mRNA 発現量も運動習慣によって有意に増加したが、急速減量によって変動しなかった。さらに、腎臓の集合管主細胞における管腔側細胞膜の水透過性に関与する Aquaporin-2 の mRNA 発現量は、安静群に比べて運動群で有意に増加していたが、安静群および運動群ともに急速減量によって発現量は変動しなかった。同様に、基底側壁部細胞膜の水透過性に関与する Aquaporin-3 および Aquaporin-4 の mRNA 発現量も安静群に比べて運動群で有意に増加していたが、安静群および運動群ともに急速減量によって発現量は変動しなかった。

以上の結果から、運動習慣は Vasopressin- Aquaporin 経路の水分代謝機構の遺伝子発現量を増加させることが示唆された。また、急速減量による体水分量の減少に対しては Vasopressin- Aquaporin 経路以外の水分代謝応答が関与している可能性が示唆された。今後、Renin-angiotensin-aldosterone 経路を介した水分代謝調節機構についても併せて検討していく予定である。

中枢神経系ヒスタミンクリアランスの役割の検討 —睡眠覚醒、攻撃性への役割の解明を目指して—

東北医科薬科大学 医学部 長沼 史登

1. 研究の目的

脳内においてヒスタミンは、神経伝達物質として覚醒の維持や、学習記憶など多彩な生理作用に関与している。これに加え、様々な中枢疾患においてヒスタミン神経系の活動異常が報告されている。しかしながら、これらの活動異常が病態に対して直接的に寄与しているのか、それとも代償的に生じているものなのかは未だ不明なままである。そのため、中枢ヒスタミン神経系の役割を詳細に明らかにすることは、ヒスタミン神経系の関与する様々な病態の理解、および新規治療標的の開発に繋がることが期待される。これまでの研究で、脳内の主要なヒスタミン代謝酵素である histamine N-methyltransferase (HNMT) の欠損マウスを解析し、脳内におけるヒスタミン量の上昇は、睡眠覚醒サイクルの異常と、高い攻撃性を引き起こすことを明らかにした。特に、不眠症、過眠症、およびナルコレプシーのような睡眠障害におけるヒスタミン神経系の活動異常は多数の臨床研究により報告されている。さらに、高い攻撃性を伴う治療抵抗性の統合失調症において、ヒスタミン受容体遮断薬が有効であることが報告されている。これらのことから、HNMT 欠損マウスで確認されたヒスタミン神経系の活動亢進による表現型の理解は、睡眠障害で認められる睡眠覚醒調節機構の破綻や、統合失調症において攻撃性が増加する機構の解明につながり得るのではないかと考えられた。これに加え、病態における各神経系の異常は、病態によってそれぞれ異なる脳部位で起こっている場合が多い。そのため、病態における神経系の活動異常を理解するためには、各脳部位における機能解析が必須である。そのため本研究は、ヒスタミン神経系の活動と、これらの表現型との関連をさらに理解するため、ウイルスベクターを用いた条件的遺伝子改変技術により、どの脳部位におけるヒスタミン神経系の活動亢進が睡眠覚醒や攻撃行動の調節に寄与しているかを明らかにすることを目的としている。

2. 研究の計画・方法

本研究では Cre-LoxP システムを用いた条件的遺伝子欠損法を利用する。そのため、まず HNMT-flox マウスを作製する。作製したマウスに Cre を発現させる AAV ベクターを脳内局所にマイクロインジェクションし、投与部位のみで HNMT を欠損させる。これにより、AAV ベクター投与部位のみでヒスタミン量が増加し、ヒスタミン神経系を亢進させることが可能である。その後、自発運動量の測定および、resident-intruder test による攻撃性の評価を行うことで、HNMT 全身欠損マウスで認められた睡眠覚醒サイクルの破綻、および攻撃性の増加がどの脳部位のヒスタミン神経系の亢進により引き起こされているのかを検討する。

3. 研究の特色

これまでヒスタミン神経系の機能解析は、合成酵素や、受容体に着目した研究が中心となり、様々な役割が解明された。しかしながら、他の神経伝達物質に目を向けると、合成酵素や、受容体だけでなく、代謝酵素などが関与する消失系に着目した研究も併せ行われたことで、病態の更なる理解や、新規治療法の開発に大きく貢献した例が多数存在する。事実、アルツハイマー病や精神疾患などにおいては、アセチルコリンやセロトニンなどの消失系が現在においても主要な治療標的とされている。しかしながら、ヒスタミンの消失系に関する研究は乏しく、実際に HNMT 欠損マウスを用いて機能解析した研究は、我々グループを除いては現時点で一報も報告はない。そのため、従来の合成酵素や、受容体の欠損マウスを用いた「機能抑制型」の研究と異なり、消失系に着目し、「機能亢進型」の表現型を解析する研究であることが当該研究と先行研究とで、大きく異なる点である。さらに先行研究は、全身欠損マウスを用い、脳全体でのヒスタミン神経

系の機能を観察することに限られていた。そのため本研究のように、AAV ベクターと、条件的遺伝子改変技術を併用し、各脳部位におけるヒスタミン神経系の役割を明らかにする試みも当該研究の特色である。

4. 研究の成果

(1) 研究に使用する AAV ベクターの作製とマイクロインジェクション法の確立

Cre とマーカータンパクである mCherry を発現させる AAV ベクター (AAV-Cre-mCherry) および、対照群に投与するための mCherry のみを発現する AAV ベクター (AAV-mCherry) を発現するプラスミドを作製し、HEK293 細胞を用いてパッケージングを行った。得られた AAV を精製し、十分な力価が得られたことを定量 PCR 法にて確認した。作製した AAV ベクターをそれぞれマウスに投与し、2 週間後に脳切片を作成し、mCherry の発現を確認したところ、標的脳部位のみでの mCherry の発現を確認することが出来た。

(2) 睡眠覚醒サイクル調節機構に関する検討

AAV ベクター投与部位として睡眠覚醒、自発運動量の調節に重要な視床下部を標的にした。HNMT-flox マウスの視床下部に AAV-Cre-mCherry を投与し、約 2 週間後に自発運動量の測定を行った。その結果、AAV-mCherry 投与を投与した対照群と比較し、暗期の自発運動量が増加傾向を示した。

(3) 攻撃行動調節機構に関する検討

AAV ベクター投与部位として、感情、攻撃行動の調節に重要な扁桃体を標的にした。HNMT-flox マウスの扁桃体に AAV-Cre-mCherry を投与し、約 2 週間後に resident-intruder test による攻撃行動の評価を行った。その結果、AAV-mCherry 投与の対照群と比較し、AAV-Cre-mCherry 投与群において攻撃時間が長い傾向が認められた。

これまでの研究により、AAV ベクターの作製とマイクロインジェクション法の確立、および、AAV ベクター注入後の表現型の解析まで、一連の研究体制を整えることが出来た。さらに、実際に自発運動量、および攻撃行動に関する検討をしたことにより、ヒスタミンは、視床下部において自発運動量の調節、扁桃体において攻撃行動の調節にそれぞれ関与していることが示唆された。今後サンプル数を増やし、これらの役割を明確にすること、および、他の脳部位におけるヒスタミン神経系の役割についても明らかにすることが今後の課題である。

微小粒子の胎仔期曝露が大脳皮質発達過程に及ぼす影響 —DOHaD 仮説に基づいた影響メカニズムの検証—

奥羽大学 薬学部 横田 理

1. 研究の目的

自閉症や学習症、注意欠如多動症などの神経発達障害のメカニズムは未解明な部分が多く、我が国は、基礎医学・薬学・生命科学分野を中心にそれらの原因究明に日々注力している。その中でも、神経発達障害の共通病態は大脳皮質を中心とした神経回路の形成および維持の障害であることが明らかになってきている。胎児期における発生過程において、大脳皮質ではいくつかの特徴的なイベントが起こることが知られている。具体的には、神経細胞への分化およびアポトーシスによる胎生後期から生後初期にかけて劇的な細胞数変化や、先に産生された神経細胞ほど皮質の深層に遊走されるという様式（インサイド・アウトパターン）に従った層形成などがある。この現象は、遺伝的に厳密なプログラム制御を介しておこるものである。これまでの考えでは、このような脳発達障害の発症には遺伝的要因が強く関連するというのが我々の共通認識であった。しかし、近年、ダイオキシンやビスフェノール A などの環境由来化学物質の胎仔期曝露が大脳皮質の発達過程に影響を及ぼすことが報告され、環境要因と遺伝的要因の複合的な作用による発症の可能性が濃厚と考えられている。衛生学分野や胎児医学分野においては、Developmental of Health and Disease (DOHaD 説) に基づき、妊娠期の環境要因が引き金となって、次世代の後天的な影響を誘発することが疫学調査をはじめ、動物実験からも多くの知見が集積され始めている。しかし、評価された化学物質には限りがあり、超微小粒子を対象に詳細な研究は進んでいないのが実情である。

これまでに、ディーゼル排ガスを含む超微小粒子の胎仔期曝露が後世の行動異常や神経伝達物質の放出異常を引き起こすことを、私は国内外ではじめて明らかにしてきた (Yokota S *et al.*)。対照的に、プレリミナリーなデータではあるが、生体期にディーゼル排ガスを慢性曝露しても脳神経系への影響は認められなかった。自動車産業の技術革新（高性能フィルターを用いて排気される微粒子の濃度の大幅な削減など）や我が国での環境整備の成果もあって、一部を除く現在の大気汚染レベルでは、一般的にディーゼル排ガス曝露の健康影響を危惧する必要も少なくなるほど、大気中の微小粒子の濃度は低減してきた。しかし、低濃度曝露においても、“妊娠期間”に曝露されると、子どもの脳神経系が攪乱されるいくつかのデータを得ていることから、影響には臨界期が存在し、大人では見られない機序で子どもには影響が生じることが想定された。そこで私は、何故、このような特徴的な毒性フェノタイプが生じるのか、詳細に検討を行う必要があると考えた。本研究では、胎仔期に超微小粒子を曝露させ、仔の大脳皮質の細胞移動に焦点を当てて検討を進めることとした。

2. 研究の計画・方法

(1) 動物

- ①実験には、ICR 系マウスを用いた。自家繁殖後、プラグの確認を持って妊娠日 (GD: gestational day) 0.5 とした。GD 7.5 と 14.5 それぞれに、大気環境中のナノサイズの超微小粒子 (15-20 nm リッチな粒子) を生理食塩水に懸濁後、気管内投与を行った。高濃度群 (50 μ g/injection)、低濃度 (5 μ g/injection)、対照群 (生理食塩水投与) の 3 群に分けた。なお、懸濁した超微小粒子は、調整後およそ1ヶ月間安定な状態であった。
- ②投与直後 (GD14.5-15の間) にプロモデオキシウリジンを経口投与 (15 mg/kg) し、その日に産生された神経細胞をチミジンアナログにて標識した。出産後、新生仔期から離乳期にかけて、経時的に灌流固定・脳サンプリングを行い、スクロース置換後、包埋を

行いマイクロスライサーにより切片の作成を行った。また、生体期に行動解析（自発運動量の測定・強制水泳試験）を行い、マウスの基本的な運動量とモチベーションの評価を行った。

(2) 影響評価

- ①行動解析：自発運動量の測定には、オープンフィールド装置を用いた。マウスを馴化した装置内に置いてから、5分間の運動奇跡を解析した。次に、強制水泳試験を行った。水温 24 °C に制御された水の中にマウスを投入し、6分間の無動状態（floating time）を測定した。
- ②組織学解析：離乳時に、曝露を行った母マウスの肺をサンプリングし、切片作成後、粒子の沈着を顕微鏡下で行った。一方、脳組織は、抗プロモデオキシウリジン抗体を用いて新生ニューロン数、ならびに、その分布を解析した。神経細胞分化マーカーとして抗 NeuN 抗体を、未成熟神経細胞マーカーとして抗 DCX 抗体を、アストロサイト分化マーカーとして抗 GFAP 抗体を用い、免疫組織化学染色を行い定量解析を行った。

3. 研究の特色

超微小粒子曝露の、脳神経系への影響を検討した報告は国内外ともに少なく、また、後世の脳神経疾患発症の機序について *in vivo* 組織レベルで検討した報告はない。本研究の特色は、脳発達の要となる神経細胞の分化・移動を捉えること、また、層構造が明確な大脳皮質を標的に組織学的に層形成への影響を明らかにすることである。大脳皮質の神経回路構築は、胎仔期後期から生後初期にかけて行われる。従って、大脳皮質の神経回路形成は周産期環境の影響を受けやすいと考えられる。この時期に影響を受けると、精神・神経疾患のリスク増加につながる可能性が懸念される。本研究は、超微小粒子の胎仔期曝露により生じる行動変化や脳機能低下の原因となり得る脳神経発達への影響について明らかにすることで、胎生期環境要因による精神・神経疾患発症の脆弱性のメカニズムについて新たな結果を導く点からも独創性が高いと言える。

4. 研究の成果

(1) 行動解析

- ①自発運動量：自発運動量の測定を行ったところ、高濃度曝露群と対照との間でほとんど同じ運動量を示した。
- ②強制水泳試験：強制水泳試験を行ったところ、高濃度曝露群では有意に floating の時間が長くなったことから、うつ様行動を示す可能性が示唆された。

(2) 組織学解析

- ①肺組織解析：離乳時に、曝露を行った母マウスの肺をサンプリングし、粒子の沈着を顕微鏡下で確認したところ、対照の肺組織では認められない、粒子の存在が曝露群の肺では検出され、気管内投与の妥当性も併せて確認することができた。
- ②脳組織解析：高濃度曝露群、低濃度曝露群の胎齢 14.5-15 日目に新生された大脳皮質ニューロンの分布は対照群と比較して、その分布にバラツキが認められた。また、大脳皮質ニューロンの移動は対照群と比べて遅い傾向にあった（インサイドアウトパターン形成が正常に行われていない）。

(3) 総括

以上の結果より、胎仔期超微小粒子曝露（低濃度・高濃度）は次世代の脳神経発達に影響を及ぼすことを明らかにした。大脳皮質の細胞移動異常が神経回路形成異常を引き起こしうつ様行動を惹起した可能性が考えられる。今後は、引き続き組織解析を進め、細胞移動・分化・回路形成の全貌を明らかにし、同時に、うつ様行動のトリガーとなる分子基盤を明らかにし、脳神経疾患の発症を未然に防ぐ防御策を検証する。

近代日本におけるエリート・ネットワーク形成に関する 実証的研究

—旧制高等学校卒業生の出身校の量的比較—

上武大学 ビジネス情報学部 堤 ひろゆき

1. 研究の目的

- (1) エリート・ネットワーク形成における異動の影響を実証するための資料残存状況等の調査
 - ① 中等・高等教育接続によるネットワーク形成を検討するために、高等教育機関の中でも、「正系」とされた高等学校（旧制）の同窓生名簿から、その出身中学校（旧制）を割り出して全国的な進学の動向を明らかにする。旧制高等学校同窓会の組織状況を明らかにする。
 - ② 旧制高等学校を前身とする高等教育機関における資料の残存状況及びアクセスについて調査する。
- (2) エリート・ネットワークの質的、空間的展開についての発展性を明らかとする調査
 - ① 帝国大学、旧制大学の卒業生によるネットワーク組織の存在の有無を確認し、その組織の広がりや影響力を明らかにする。その際、卒業後の社会的地位と学校ネットワークとの関係を明らかにできるように努める。とりわけ、教員ネットワークに注目した。
 - ② 日本国内にとどまらず、留学などによる高等教育を通じたエリート・ネットワーク形成の可能性について、日本の学校を中心として明らかにする。

2. 研究の計画・方法

- (1) 旧制高等学校関係の同窓会名簿、個人資料などへのアクセス
 - ① 長野県松本市に所在する旧制高等学校記念館に所蔵されている旧制高等学校同窓会名簿を中心として、出身中学校などの基礎的情報を収集する。加えて、旧制高等学校卒業生とのコネクション形成を試み、可能であれば質的な調査も実施した。
 - ② 現存する高等教育機関の所有する学籍簿等の資料へのアクセスについて調査し、可能であれば現物を確認しながら出身中学校を確認した。
- (2) 帝国大学を中心とした現地調査及び文献調査
 - ① 帝国大学を中心としたナショナル・エリートのネットワーク形成を検討するため、帝国大学を中心として文献調査を行った。とりわけ、卒業生数の点から大きな勢力を誇っていたのは東京帝国大学であり、東京帝国大学を中心として文献調査を実施した。
 - ② ナショナル・エリート・ネットワークを検討するため、日本への留学生と日本の学生とのネットワークを対象とした。適切な対象国を、両世界大戦においても独立国の地位を保ち続けたタイに設定して日本国内での文献調査を実施するとともに現地での資料へのアクセス、残存状況等についてのヒアリング等調査を実施した。

3. 研究の特色

- (1) 中等・高等教育を通じたエリート・ネットワーク形成に関する実証的調査
 - ① 本研究の特色は、中等高等教育接続の形成過程と展開を、資料に基づき量的に明らかにすることにある。中等高等教育接続といっても、それぞれの学校は個別の地域に立地していた。そのため、各学校間の移動を検討する必要がある、本研究はそれを明らかにしようとするものである。これによって、本研究はローカル／ナショナルなエリート・ネットワークを中等教育の段階から可視化する基礎的研究である。
- (2) 教育関係者ネットワークという視点の提示
 - ① 中等教育以上の教育機関では、地理的に近接している学校であってもその卒業生ネットワークは学校ごとに大きく異なるものであり、地域性に還元できないものである。地域

性に加えて、学校独自の紐帯を持つものと考えられる。学校独自の紐帯は、生徒においては学校内部で完結する側面が強いが、教員は異動によって複数の学校で学校関係者ネットワークに関与し、教育者として卒業生ネットワークの形成に寄与する。生徒／教員というカテゴリーで分割するのではなく、学校関係者として見ることで、広く近代日本の社会における学校関係者ネットワークを検討することが特色である。同時に、学校を通じた国際的ネットワークの形成にも注目する。

4. 研究の成果

(1) 資料の残存状況と各校の特徴

① 資料の残存状況

ア 旧制高等学校記念館では、第二次世界大戦以前に創立された官公私立旧制高等学校（大学予科を含む）41校中39校の同窓会名簿が確認された。個人情報等保護の観点から複写等は実施していないが、名簿に掲載されている全卒業生の情報について閲覧した。その結果、13校の同窓会名簿に出身中学校等の入学以前の経歴が掲載されていることが確認された。中でも、第一高等学校から第八高等学校までの高等学校では、すべての同窓会で出身中学校の記載がなかった。第一高等学校では学校一覧に在校生の出身中学校が記載されており、また、第七高等学校では、公式の同窓会名簿とは別に有志によって編纂された名簿『七高造士館で学んだ人々（名簿編）』が存在しており、この名簿では出身中学校が記載されている

イ 1918（大正7）年の高等学校令以降に設置された高等学校では、近隣府県からの進学者が多数を占めていた。ナンバーズスクール卒業生の出身中学校は第一高等学校および第七高等学校の二校について調査し、全国各地から進学していることが確認された。また、長野県長野中学校からは初代校長が第二高等学校教頭へ異動したため、第二高等学校への進学志向が強い時期があったことが長野中学校の学校史で言及されている。このことから、教員を通じた進学志向が存在していたことが示唆される。

② 旧制高等学校を前身とする大学への調査として、第一高等学校（東京大学）と第四高等学校（金沢大学）への調査を試みた。学籍簿等の資料を閲覧するには個人情報等の観点から相当程度の制約と時間を要するため、今後の継続的な調査が必要である。

(2) ローカル／ナショナル・エリート・ネットワークの構築

① 東京帝国大学出身教育関係者ネットワーク

調査の過程で、中学生の進学志向に教員の影響が強いことが示唆された。旧制高等学校出身者は大半が帝国大学へと進学しているため、帝国大学出身者教員のネットワークに範囲を拡大して調査を実施した。その結果、新史料として東京帝国大学出身教育関係者の組織である「東大倶楽部」の『東大倶楽部員名簿』（昭和8年10月末現在、昭和14年10月1日現在、昭和15年10月1日現在、昭和17年10月1日現在）を発見した。先行研究において「東大倶楽部」についての言及はほぼ存在せず、『東大倶楽部員名簿』の存在は今回初めて確認されたといつてよい。当該組織は東京帝国大学文学部学友会内に事務所を置き、帝国大学をはじめとする教員のみならず、教育行政関係者、軍関係学校教員、会社員等も含めて教育に関係している卒業生を包括的に組織する意図を有していた。組織の内実や活動は今後さらなる分析が必要となるが、ナショナル・エリートの養成機関であった東京帝国大学の卒業生とローカル・エリートとのつながりを検討する際に重要な意味を持つものであると考えられる。

② 国際的なエリート・ネットワーク構築の可能性

旧制高等学校卒業生を調査した結果、複数の留学生卒業生の存在が確認された。ナショナル・エリート・ネットワーク構築を検討するために、旧制高等学校の存在した時期において独立国であったタイを対象として検討した。とりわけ、日本との関係も深いチェンマイにおいて、当該期における日本－タイ間の留学生交流についての史資料の残存状況およびアクセスを調査した。私費留学生として多数のタイ人が留学していたとの情報を得たが、タイの大学や行政機関では手続き上非常に多くの時間を要することが判

明したため、タイとの国際的なネットワーク構築については今後さらなる調査が必要である。

(3) 成果発表状況

得られた知見に基づいて、Asian Studies Conference Japan 2018（国際基督教大学）にて報告することが決定している。また、そこでの議論をもとに論文を投稿準備中である。

ヒト・ラット・マウスの胸腺上皮細胞新規サブセットの比較解析

獨協医科大学 医学部 沢登 祥史

1. 研究の目的

本研究は、申請者の過去の論文（PLoS One. 2014;9(10):e109995.）で発表された、マウス及びラットに見出された胸腺上皮細胞の 2 つのサブセットに関して、(1) ヒトにおけるその存在、(2) その機能のさらなる解析、の 2 点からさらに深めた研究を行うものである。

(1) ヒト髄質胸腺上皮細胞のサブセット解析。

申請者らが以前新規抗体と既存抗体を組み合わせて用い報告した、ラット、マウスにおける新規髄質胸腺上皮細胞サブセット mTEC1 と mTEC2 がヒトにも存在するかを確認し、機能分子発現と相関するかを確認する。

(2) 新規髄質胸腺上皮細胞サブセット mTEC1 と mTEC2 の機能の解析。

①動物を用い、免疫抑制剤でありながら、動物実験では自己免疫の誘導が報告されるシクロスポリン A 投与時の mTEC1/mTEC2 の数や機能の変化を観察する。

②シクロスポリン A 投与時の T 細胞新生の変調を解析し、胸腺上皮細胞サブセットの役割を同定する。

2. 研究の計画・方法

(1) ヒト髄質胸腺上皮細胞のサブセット解析。

獨協医科大学の生命倫理委員会の認可を受け（2014 年 11 月 11 日）、胸腺摘出を伴う外科的治療を必要とする患者のインフォームドコンセントを得て得られた胸腺検体を、申請者らの過去の論文にて使用された新規抗体 ED18 と ED21、さらに抗サイトケラチン 5 及び抗サイトケラチン 8 抗体を用いた蛍光多重免疫染色で観察することにより、齧歯類と同様に mTEC1、mTEC2 を同定できるかを確認する。さらに、それぞれの画分での CD40、CD80、involucrin の発現を観察することにより、その機能を類推する。

(2) 新規髄質胸腺上皮細胞サブセット mTEC1 と mTEC2 の機能の解析。

①ラットにシクロスポリン A を 16 日間投与し、数日のインターバルで胸腺を採取、その新鮮凍結切片を蛍光多重免疫染色する。定量的な検出のため、撮影画像をコンピューターで画素解析し、mTEC1、mTEC2 の数や比率を算出する。

②シクロスポリン A 投与ラットの末梢リンパ節より調製した T 細胞と、同系ラットの樹状細胞で混合リンパ球反応試験（Mixed lymphocyte reaction: MLR）を行い、シクロスポリン投与により自己応答性が上昇するかを確認する。

③自己免疫疾患では、T 細胞受容体を構成するセグメントの発現比率に正常に比べ偏りがあることが報告されている。これに着想を得て、シクロスポリン投与による T 細胞の自己応答性の変調が、胸腺で選択される T 細胞のレパトアに変調が起きたためかどうかを検討するため、シクロスポリン A 投与ラットの胸腺内で産生されつつある T 細胞、末梢リンパ節の T 細胞、MLR で増殖した T 細胞の T 細胞受容体の V β セグメントの発現比率を、リアルタイム PCR を用いて解析することにより調べる。

3. 研究の特色

(1) ヒト髄質胸腺上皮細胞のサブセット解析。

ヒト髄質胸腺上皮細胞のサブセット解析を試みた報告はいくつかあるが、複雑であり機能との相関を見た研究は少ない。我々の先行研究でマウス及びラットにおいて判明した mTEC1 と mTEC2 の分類のような比較的シンプルなサブセット分類が可能であり、それが機能との相関を見るならば、主に齧歯類で研究されている胸腺上皮細胞、ひいては胸腺全体の発生と成熟に関する知見をヒトに応用することが可能となる。

(2) 新規髄質胸腺上皮細胞サブセット mTEC1 と mTEC2 の機能の解析。

これまでの解析により、マウス、ラットでは mTEC1 に髄質胸腺上皮細胞の機能分子である MHC II や AIRE が発現しており、高い機能を持ったサブセットであり、mTEC2 は幼若もしくは機能を失いハッサル小体へと変化しつつあるサブセットである可能性が高いと申請者らは予測しているが、直接的な証拠はない。T 細胞を選別する胸腺の機能を低下させるシクロスポリン A の投与中のこれらサブセットの変化と新生した T 細胞を解析することにより、より直接的にこの仮説を検証する。

4. 研究の成果

(1) ヒト髄質胸腺上皮細胞のサブセット解析。

ED18 と ED21 を用いた免疫染色により、マウス及びラットと異なりこれらの抗体は常に同一の胸腺上皮細胞を染めることが明らかとなり、これらによりマウス及びラットにおける mTEC1 や mTEC2 に相当するサブセットを見分けることはできないことが明らかとなった。さらに ED18+ED21+細胞は HLA-DR+細胞および HLA-DR-細胞の双方を含んでおり ED18-ED21-である胸腺上皮細胞もあったため、ヒト胸腺細胞はさらに細かなサブセットに分かれると思われる。また、獨協医科大学で得られたヒト胸腺検体はいずれも高齢であったため、教科書的な胸腺の構造が失われており、今回見出された胸腺上皮細胞サブセットが皮質胸腺上皮細胞なのか、髄質胸腺上皮細胞なのかも不明瞭であった。

(2) 新規髄質胸腺上皮細胞サブセット mTEC1 と mTEC2 の機能の解析。

シクロスポリン A 投与ラットは投与日数に相関した髄質の縮小を見せた。それに応じ、mTEC1 と mTEC2 は減少したが、mTEC1/mTEC2 比はコントロールラットに比べシクロスポリン A 投与ラットで有意に低くなり、シクロスポリン A 投与により特に mTEC1 が抑制されることが明らかとなった。

シクロスポリン A 投与ラットの末梢リンパ節から T 細胞を単離し、同系ラットの樹状細胞に対して MLR を行ったところ、コントロールラットに比べて有意に高い細胞増殖を見せ、自己免疫の増強を示唆した。また予備検討ではシクロスポリン A 投与ラットでは制御性 T 細胞が特に減少することが明らかとなっていたため、これが自己免疫応答の増強の原因かを検証するために制御性 T 細胞を除いた MLR を行ったところ、制御性 T 細胞の関与は部分的であることが明らかとなり、シクロスポリン A により自己応答性の T 細胞が増えることが示唆された。

自己応答性 T 細胞の増加と T 細胞受容体のセグメント発現比率の関係をリアルタイム PCR で調べるため、ラットの Vb セグメント全 24 種に対するプライマーを設計し、非特異的検出を防ぐために PCR の条件決定のための試行を繰り返し、安定的に PCR 反応を行える系を構築した。現在、この系を用いた解析を進めるため、シクロスポリン投与動物や MLR 後のウェルからの T 細胞をセルソーターを用いて単離し、RNA サンプルを得る作業中である。

教科「情報」教員の採用・配置に対する学校現場の意識 — 「生きる力」を育む情報教育の推進に向けて —

秀明大学 学校教師学部 中園 長新

1. 研究の目的

本研究では、教科「情報」教員の在り方、特に採用と配置について学校現場がどのような意識を持っているのかを明らかにすることで、情報教育推進のために教員人事の面からどのような働きかけが可能であるか検討することを目的とする。学校現場が教科「情報」教員の採用・配置を肯定的にとらえているのか、あるいは否定的であるとすれば、それは何に起因するものであり、改善するためには何が必要となるのかを明らかにすることで、教科「情報」担当教員および教科そのものの存在意義を高め、情報社会を生きる子どもを育てる教育の質向上に寄与できる点に有用性がある。

1999（平成 11）年の高等学校学習指導要領改訂で普通教科「情報」（必履修）が新設され、2009（平成 21）年改訂の現行学習指導要領および 2018（平成 30）年改訂の次期学習指導要領においてもその重要性は継承されている。しかしながら現在に至るまで、教科「情報」担当教員の採用は十分になされてはいない。教科「情報」の教科担任の現状を調査した先行研究においても、教科「情報」において臨時免許状や免許外教科担任の制度による担当が、他教科と比べて多いことが指摘されている。教科「情報」の専任教員採用が進まない背景には、教科「情報」やその担当教員を軽視する意識の問題が潜んでいる可能性がある。

教科「情報」を核とした情報教育は「生きる力」の重要な要素のひとつである。本研究では教科「情報」教員の採用と配置について、学校現場がどのような意識を持っているのか、高等学校等の学校現場への質問紙調査で明らかにした。

2. 研究の計画・方法

情報教育に携わる学校現場の意識を把握するため、本研究では高等学校ならびに中等教育学校後期課程（以下、高等学校等という）における教科「情報」の担当教員を対象とする。文献調査では、既存の調査や先行研究等から教科「情報」教員の採用試験実施状況を確認し、現場の教員が置かれている現状を把握する。質問紙調査では、高等学校等で教科「情報」を担当する教員に対し、主観的な意識を回答してもらう。

(1) 文献調査

- ①各都道府県教育委員会が公開している教員採用試験情報を参照し、高等学校教科「情報」の教員採用状況を調査する。
- ②先行研究や調査結果を参照し、文献調査①で得られた調査結果を補完する。

(2) 質問紙調査

- ①A県およびB県の高等学校等633校に質問紙を郵送し、教科そのものや教科を取り巻く状況等について、教科「情報」担当教員の意識を調査する。
- ②今後の研究への接続を企図し、各学校において実践されている授業についての資料（年間計画等）を提供していただく。なお、本研究においてこの資料は調査結果を補完する目的で用いるものとする。

3. 研究の特色

本研究は、学校現場における教員の「意識」そのものを研究対象とすることに特色がある。先行研究において教育制度の在り方を論じる際は、制度そのものの変遷や成立過程、あるいは運用による結果と課題等を明らかにするものが主であった。しかし、制度を運用するためには運用にあたる現場の意識が重要であり、現場の意識が低ければ、制度は適切に運用されないことが危惧される。本研究で対象としている教科「情報」担当教員の採用・配置は、まさにそのような「制

度と現場の意識の乖離」によって適切な運用がなされていない事例と考える。高等学校等における必修教科でありながら専任教員が少なく、臨時免許状や免許外教科担任を多用している現状では、我が国の後期中等教育の質の低下を招きかねず、「生きる力」の要素のひとつである情報活用能力の育成に支障を来すことが懸念される。情報活用能力の育成（情報教育）推進のためには、現場の意識そのものを改革していく必要があるが、本研究はその第一段階として、現在の現場の意識を明らかにする点で萌芽的であり、他に類を見ない独創的な研究である。

4. 研究の成果

(1) 教科「情報」担当教員の採用状況

教科「情報」の教員採用が開始された 2003 年度（2002 年夏実施）から、最新の 2018 年度（2017 年夏実施）までの教員採用試験について、各都道府県の採用状況を調査した。政令指定都市等で独自の教員採用を行っている自治体もあるが、高等学校等を持たない自治体もあるため、今回は 47 都道府県のみを調査対象としている。調査の結果、47 都道府県中 13 自治体が、これまで一度も教科「情報」専任教員の採用を実施していないことが明らかになった。その他の 34 自治体は採用実績があるものの、長期間にわたって採用を継続している自治体は少ない。各年度の採用実施自治体数は一定ではないものの、2005 年度以降は 12～18 自治体の間を推移しており、おおむね横ばいである。最新情報となる 2018 年度については、18 自治体のみが採用を行っていることが明らかになった。

教科専任が不在である学校では、他教科の教員が兼任したり、非常勤講師等が担当したりしていることが考えられる。兼任や非常勤講師を否定する必要はないものの、教科専任教師ならではの教育の質向上が難しい可能性が考えられる。

(2) 教科「情報」担当教員の意識

調査した意識の中から特に、教科「情報」に理解や支援について期待すること、要望したいことについて分析を行った。その結果、管理職、他教科教員、自治体・国（文部科学省）に対する様々な意見が明らかになった。

①管理職に対する期待・要望

管理職に対しては、教科「情報」の重要性・必要性理解、教科「情報」教員が校内 ICT 管理者であるという認識の払拭（教科に専念できる環境）、研修会の実施・充実等の期待・要望が見いだされた。学校のトップが教科「情報」を正しく理解することが、意識改革の第一歩といえる。

②他教科教員に対する期待・要望

他教科教員に対しては、教科を超えた協力体制・連携の模索、各教科での ICT 活用の推進、TT としての協力、情報モラルの向上等が確認された。教科の縦割りではない連携協力を期待する一方で、他教科教員に対しても情報モラル等の知識向上を求める声があった点は興味深い。

③自治体・国（文部科学省）に対する期待・要望

自治体・国（文部科学省）に対しては、特に多くの期待・要望が寄せられた。教科専任教員の採用を義務化し、情報免許のみで採用試験受験可能にすることは行政として急務と考えられる。また、大学できちんと「情報」を学んだ者を採用することへの要望等、教員の資質向上に関するものも多く見受けられた。また、補助金等予算面の支援、設備の充実、研修会の実施・充実等に関しても、教育委員会等の行政が主導することで充実に図ってほしい旨の要望があった。

オリンピック・パラリンピック競技に共通する誤認知の研究

学習院大学 計算機センター 安部 健太

1. 研究の目的

本研究では、スポーツ場면을対象に広く浸透している信念を調査し、その事象が誤認知であるか分析し、誤信念が生起するメカニズムを明らかにすることを目的とした。

- (1) 研究 1 では、オリンピック・パラリンピックの複数の競技に共通して認知されている信念について調査することを目的とした。
- (2) 研究 2、3 では、調査した信念が正しい事象か明らかにするため、実際のデータを収集して比較を行った。信念の通りの現象が起きていない場合には、実際の結果とは相反するデータが得られることが期待された。

2. 研究の計画・方法

- (1) オリンピック・パラリンピック競技に共通する誤認知（研究 1）

信念の調査にあたっては、新聞記事において結果の因果関係に言及している内容を調査し、最も指摘される頻度の高い信念を対象とした。具体的な記事としては、「××が起きたから□□の結果となった」というように、因果関係が指摘される文章を調査した。新聞記事の調査から、スポーツ選手の会見では、「勝てたのは皆さんのお陰です」という発言がしばしばなされる。これはボート競技の国内トップ選手にもあてはまり、2017 年 11 月に開催された第 85 回全日本選手権大会で優勝した実業団ボート部の漕手は「皆様の応援のおかげで、レースでは 200%の力が出ました！」というコメントを残していた。そこで研究 2、3 では、観衆が選手のパフォーマンスに与える影響について検討することを目的とした。

- (2) 競技経験者を対象とした調査（研究 2）

研究 2 では、ボート競技の経験者を対象に、観衆の声援の影響についての信念を尋ねる質問紙調査を実施した。対象は都内の私立一貫校のボート部に所属する高校生、大学生、卒業生だった。研究 2 で採用した調査質問紙は、無記名方式によるフェイスシートと参加者の信念を測定する質問項目から構成した。質問項目には「あなたは競技中に岸から声援を送る人がいることで、漕手のパフォーマンスが良くなると思いますか」などが含まれていた。

- (3) 実際の競技結果による分析（研究 3）

研究 3 では、観衆の影響が実際に認められるか検討するため、実際の結果を対象に分析した。

無観客試合を対象とした報告の結果は一貫しておらず、いずれも外的要因に左右される状況下でのスキルが求められる競技が対象とされた（たとえば Moore & Brylinsky, 1993; 安部, 2017）。オープンスキル競技では、相手選手との関係性によっても影響を受けてしまうため、外的要因に左右されない状況下で発揮されるクローズドスキル競技を対象とした研究が求められる。

当初は特定した誤信念が浸透している原因を特定し、その過程を明らかにすることを目的とし、映像刺激を用いた実験を行うこと計画していた。調査の中で、国内ボート競技の主要大会開催にあたっては、2013 年に施行された特別ルールによって観衆（伴走者）の制限がなされた (Figure 1 参照)。スポーツ競技の試合を観衆が観戦するのは一般的であり、純粹な観衆の影響を分析する研究は難しく、大多数の先行研究が観衆の人数や密度に注目してきた。

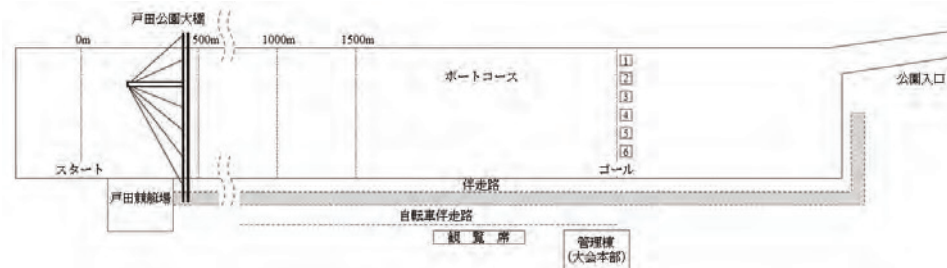


Figure 1. 戸田ボートコースの模式図、自転車伴走路の使用する台数が制限された。

非実験的な環境において、観衆によるパフォーマンスへの影響を比較する最適なケースといえる。そこで本研究では、ボート競技の特別ルールについて確認したことから、実際の競技結果を対象とした調査を実施した。

3. 研究の特色

東京オリンピック・パラリンピックのボート競技開催にあたっては、会場の選定にあたって課題が浮き彫りになった。最終的に東京オリンピックのボート競技は、東京港中央防波堤内側及び外側埋立地間の水路に新しく整備される海の森水上競技場での開催が決定した。会場の選定にあたってはメディアをとおして競技関係者以外にも注目された。本研究の成果は、会場を新設することに伴う対策についても示唆する成果が期待された。

4. 研究の成果

(1) 競技経験者を対象とした調査

研究 2 では、ボート競技の経験者を対象に、観衆の声援による影響を信じているか、質問紙調査を実施した。分析の結果、競技経験者は役割にかかわらず観衆の声援によって漕手のパフォーマンスが向上すると信じていることが認められた。

メディアに対する発言から、スポーツ選手の発言は、日本人の文化規範的な背景に基づくといえる。そして「声援のお陰で」、「声援を送ったから」勝ったというもっともらしい事実は、声援とパフォーマンスの関係をサポートする情報として集積され、信念が構成されたと考える。

(2) 実際の競技結果による分析

研究 3 は、実際の競技結果から観衆の影響について検討するため、特別ルールによる観衆の大小が比較できた全日本選手権大会を対象に分析を行った。

分析の結果 (Figure 2 参照)、0m~500m 地点間において、特別ルール施行後、すなわち伴走者が制限されたほうが特別ルール施行前よりも速いタイムが認められた。この結果は、男子種目と女子種目に共通していた。特別ルール施行前後に競技会場となったボートコースの周囲の環境に大きな変化はなく、特別ルールの施行による伴走者の制限が、パフォーマンスに影響したものと推測される。

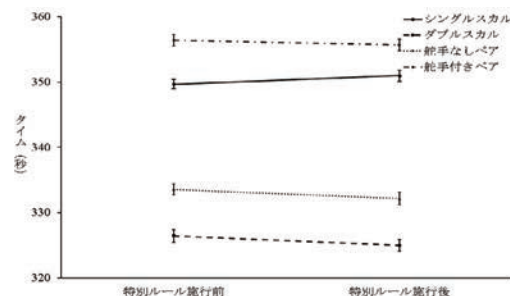


Figure2. 分析結果の一部。

前述のとおりボート競技は新設される海の森水上競技場に決定した。東京オリンピックの会場には、ゴール地点付近に主要観客席が設置されるほか、1000m 地点からゴールラインまでに観戦エリアが建設中である。ゴール付近のメインスタンドに 2 千人、バックスタンドに 1 万人の観客席が設けられ、多数の観衆が見込まれる。ホームゲームであっても、観衆がネガティブな影響を与えるかもしれない点に留意する必要がある。

(3) 本研究の課題

- ① 研究 2 の限界として、有効回答率が 6% であり経験者の信念を十分に表せていない可能性がある。実験は母集団に周知した上での調査であったが、参加者数が少ないため、実際よりも過大評価された可能性を考慮する必要がある。
- ② 研究 3 においては、出場選手のレベル差を考慮して、出場するために制限を設けている種目に限定した。ボート競技に広範的にあてはまる研究成果であることを示すためにも、今後のルール変更があれば追加の分析が必要といえる。

(4) 主な発表論文

- ① Abe, K. (2017a). Investigation of the significance of sports participation for rowing. 2017 *International conference, education, psychology, learning*, 88.
- ② 安部健太 (2017b). ボート競技における声援の効果の信念と実際の結果 日本心理学会第 79 回大会発表論文集, 1046.

RNA の新機能の解明 ーバイオフィルムによる細胞外 RNA の捕捉メカニズムの解明ー

東京慈恵会医科大学 医学部 千葉 明生

1. 研究の目的

細菌はバイオフィルムと呼ばれる構造体を形成し、環境からのストレスや宿主免疫、抗菌薬などに対する抵抗性を獲得する。バイオフィルムは一度形成されると完全な除去は困難であり、医療の現場では、黄色ブドウ球菌などが形成したバイオフィルムが原因となる難治性感染症であるバイオフィルム感染症が問題となっている。この感染症に対しては有効な治療法がないため、時に感染巣の物理的な除去といった侵襲性の高い治療が行われており、新規の治療・予防法の開発が喫緊の課題となっている。現在、世界中でバイオフィルム感染症の治療・予防法の開発のため、バイオフィルム形成メカニズムの解明に向けた研究が展開されているが、バイオフィルムの構成成分ですら、未だに全容の解明には至っていない。

申請者はこれらの難問を解決するために、バイオフィルムから細菌の細胞外のタンパク質、核酸、多糖などのバイオフィルムマトリクスのみを簡便かつ迅速に抽出する方法を開発した (Chiba et al. *Microb Biotechnol* 2015)。この手法により黄色ブドウ球菌のバイオフィルムマトリクス内、つまり細胞外に RNA が存在することを発見した。形成されたバイオフィルムは RNA 分解酵素で処理をすることで分解されたため、RNA がバイオフィルムの構造維持に重要な成分であることを見出した。しかし、バイオフィルム内で、なにが RNA を保持しているのか、どこに RNA が局在しているのか、どんな塩基配列の RNA なのか、といった点は明らかではない。本研究は、これらを“バイオフィルムによる細胞外 RNA の捕捉メカニズム”と捉え、その解明を目的とする。本課題を遂行することで将来的には、RNA を標的としたバイオフィルム感染症対策の開発に繋がる新しい知見を得ることができる。

2. 研究の計画・方法

(1) RNA の捕捉因子の探索

申請者は、ブドウ球菌の臨床分離株のうちバイオフィルム内に細胞外 RNA が存在する株のマトリクスの成分を解析したところ、多くの株で多糖が主要な成分であった。以上から、多糖が細胞外 RNA の捕捉に関連していることが示唆された。そこで、多糖と RNA の結合の有無を調べる。バイオフィルムマトリクス内の多糖以外の成分を酵素処理で分解し、ゲル濾過クロマトグラフィーにより多糖を精製する。RNA は、すでに取得している塩基配列の情報をもとに化学合成する。そして、表面プラズモン共鳴法により多糖と RNA の結合能を評価する。

(2) バイオフィルム内の RNA の局在と機能の解析

化学合成によって蛍光色素を標識した RNA を培地に添加する。そこで形成されたバイオフィルムを共焦点レーザー顕微鏡で観察し、3次元画像による詳細な RNA の局在を調べる。さらに、他のバイオフィルムの構成成分を含めた多重染色を行い、RNA との共局在の観察することで結合する因子の推定も可能となる。つまり、局在が一致する因子に関しては、RNA の捕捉に関連している可能性がある。捕捉に関連すると考えられる因子に関しては、上述の方法で RNA との結合能を評価する。

(3) RNA 捕捉機構の普遍性の解析

細胞外 RNA の塩基配列の特徴を調べるために、バイオフィルムマトリクスから精製した細胞外 RNA の塩基配列情報を次世代シーケンサーによって取得する。得られたデータは、黄色ブドウ球菌のゲノムをリファレンスゲノムとしてマッピングを行う。また、特徴的な

塩基配列については化学合成を行い、培養液に添加し、その促進効果について検討する。

3. 研究の特色

細胞外 RNA については未知の点が多いが、近年になり真核生物を中心に細胞間の情報伝達などの機能が明らかになりつつある。しかし、細菌の細胞外 RNA については、分泌小胞を介した分泌機構などが報告されているが、RNA そのものの機能については分かっていない。申請者は、細菌が RNA をバイオフィルムの構成成分として利用するという RNA の新しい機能を見出した。今後、細菌の細胞外 RNA の塩基配列の特徴を見出せばバイオフィルム形成における普遍的な分子メカニズムの解明に繋がる。

本研究によりバイオフィルム形成メカニズムの一端を明らかに出来れば、RNA を標的とした新しい概念のバイオフィルム感染症対策の開発に繋がる。すわなち、RNA アプタマーやアンチセンス RNA に抗菌活性のある化合物を結合させた高い選択性の抗菌療法の開発が可能になる。また、診断を目的として、特定の塩基配列の RNA を検出・測定によるバイオフィルム形成細菌のマーカーとしての利用などさまざまな波及効果があると考えられる。さらに、病原性細菌だけでなく、自然界に存在する細菌のバイオフィルムへの応用によって、医療だけでなく、食品の安全や清潔な飲料水の確保などにも貢献できる。

4. 研究の成果

(1) 細胞外 RNA の捕捉因子の同定

多糖と RNA の結合を表面プラズモン共鳴法で解析した。アナライトとしてバイオフィルムマトリクス中に存在する多糖をゲル濾過クロマトグラフィーで精製した。取得した細胞外 RNA の塩基配列解析をもとに、化学合成した RNA をリガンドとした。その結果、RNA と多糖が結合できることを確認した。また、バイオフィルム内での RNA の局在観察のため、細胞外 RNA の塩基配列をもとに蛍光標識化 RNA を合成し、培養液中に添加し、そこで形成されたバイオフィルムを共焦点レーザー顕微鏡観察した。その結果、RNA は多糖と共局在していた。また、菌体周囲にも RNA による蛍光が観察されたため、菌体周囲の構造であるタイコ酸も RNA の捕捉因子として考えられた。そこで、タイコ酸合成遺伝子欠損株を作成し、バイオフィルムの観察したところ、RNA の局在がなくなった。さらに、多糖同様に、表面プラズモン共鳴法により、タイコ酸をアナライトとし、RNA との結合を確認した。以上は、RNA のバイオフィルム内の捕捉には、多糖とタイコ酸が重要な因子であることを示している。

(2) 細胞外 RNA の構造の特徴

次世代シーケンサーで取得した細胞外 RNA の塩基配列を、黄色ブドウ球菌をリファレンスゲノムとしてマッピングすると、tRNA や rRNA といった二次構造を形成しうる RNA の位置に集中した。このことから、細胞外に存在するためには 2 次構造の必要性が示唆された。さらに、データをもとにいくつかの RNA を化学合成しバイオフィルムの形成促進効果の有無を調べた。その結果、2 次構造の形成できない RNA では促進効果がないこと、ウラシルの存在が促進に重要であることが分かった。以上は、細胞外 RNA とバイオフィルム形成の関係で、塩基配列の特徴を示した新規の知見である。また、一定の条件を満たす RNA であればバイオフィルム形成を促進できることを示唆し、実際にヒト血液から抽出した RNA もバイオフィルム形成を促進した。これらの結果は、黄色ブドウ球菌は感染宿主の RNA も利用しバイオフィルム感染症の発症に寄与している可能性を示している。