

太陽光エネルギー交換を可能にする可視光応答性光触媒の創製 ー光水分解による水素製造のための基礎研究ー

神奈川大学 工学部 田邊 豊和

1. 研究の目的

- (1) ドーピングを必要としない可視光応答性の錫酸化物とチタン酸化物を組み合わせた新規タンデム型の光触媒の合成

地球エネルギー問題の根本解決には無尽蔵の再生可能エネルギーである太陽エネルギーの変換システム構築が必須である。現在、太陽電池やバイオマス等の太陽エネルギー関連の研究が盛んに行われている中で米国エネルギー省DOEの試算では「光触媒を用いた水分解による水素製造」は実用化への課題とされるエネルギーコストの壁（約2円/メガジュール≒石油レベル）をクリアできる数少ない経済性を確保できる太陽エネルギー変換技術の代表として位置づけている。光触媒による水素製造は太陽エネルギーを工業的に利用価値の高い水素エネルギーとして直接変換・貯蔵できる大きな利点があり、「太陽光+水+光触媒」のみという非常にシンプルかつ究極的にクリーンなシステムである。従来のドーピング系光触媒では異種元素ドーピングによる欠陥サイトも同時に導入されるため電荷の再結合を誘発し、高効率での水素製造は難しい。そのため水分解の高効率化には、ドーピングや置換に頼らない新規の可視光応答型光触媒の開発が必要である。そこで本研究では水熱合成法によりドーピングを必要としない可視光応答性の錫酸化物とチタン酸化物を組み合わせた新規タンデム型の光触媒の創出を目的とした。

2. 研究の計画・方法

- (1) 水熱合成法による可視光応答性錫酸化物の合成

キレート剤を用いた水熱合成反応は、可視光応答性の錫系酸化物光触媒の合成に用いられる手法である。これまでの研究報告から Sn^{2+} 酸化物と Sn^{4+} 酸化物がそれぞれ形成しやすいキレート錯体が存在することが分かり、両方のキレート錯体が安定的に共存（平衡）する溶液条件下において、可視光応答性の酸化物の単相が得やすいことが分かっている。これらの知見をもとに、ナノロッド状のチタン酸化物を水熱合成における前駆体溶液中に分散させ可視光応答性の錫酸化物が形成する条件下（キレート/ Sn^{2+} =2.5, 180°C-12h）において錫酸化物/チタン酸化物のタンデム光触媒の合成を行った。

3. 研究の特色

- (1) 水素エネルギー社会への貢献と多大な CO_2 削減効果

水素は化石燃料に変わる新しいエネルギーであり多くの化学工業品の原材料であることから将来大量生産が必要となる。現在の水素製造法では化石燃料を使用し CO_2 を多量に排出している。錫酸化物/チタン酸化物のタンデム型光触媒による水素製造が実現することで年間約200~300万トンもの膨大な CO_2 削減効果が見込まれる。

- (2) 学術的な獨創性

光触媒反応効率は[光吸収率]×[量子効率]によって決定されるが、従来はバンドギャップの広い半導体酸化物（主に TiO_2 ）に異種元素をドーピングし、バンドギャップを狭める手法で[光吸収率]を向上させる手法が用いられてきた。一方で、錫含有の酸化物はドーピングをいわずに適度なバンドギャップ幅を実現させ、これまで困難であった高いレベルでの[量子効率]が期待できる革新的な光触媒材料である。

- (3) 材料の特色

従来の水分解用光触媒の多くは希少元素や毒性金属を大量に含むが、開発した錫酸化物/チタン酸化物系の光触媒は、安価で毒性の殆どない元素のみで構成され、水素燃料の大規模製造に利用した場合、対人・対環境負荷が極めて低く、先進国以外でも十分に製造可能である。実用範囲の広いエネルギー材料としてメリットが多い。

4. 研究の成果

(1) 錫酸化物/チタン酸化物コンポジットの創出

光触媒における水分解反応では同一粒子表面で水素発生と酸素発生が同時に起こる。錫酸化物光触媒においては他の酸化物系光触媒と比較して水素発生能力（水の還元）が非常に強力であるのが大きな特徴である。一方で酸素発生能力（水の酸化）は特段に高いわけではない。そこで、錫酸化物の強力な水素発生能を活かすために、酸素発生用光触媒として代表的なチタン酸化物と組み合わせてタンデム型の光触媒システムを構築することで錫酸化物単独よりも飛躍的に水分解反応効率を向上させることが期待できる。図1に水熱合成法により合成した錫酸化物/チタン酸化物のタンデム型光触媒のSEM及びSTEM観察の結果を示す。ナノロッド形状のチタン酸化物の表面を覆うように錫酸化物が析出しているコンポジット型の光触媒が得られた。STEM-EDSによる元素マッピング像によりチタン酸化物表面の析出物が錫酸化物であることを確認した。詳細なSTEM及び電子回折像の解析により錫酸化物と下地のチタン酸化物は特定の結晶方位を有していることが明らかになった。すなわちランダムにチタン酸化物表面に析出するのではなく、特定の結晶面から選択的に錫酸化物が結晶成長していることが分かった。このような特定方位関係を有した錫酸化物/チタン酸化物のコンポジットはこれまで報告がなく光触媒だけでなく無機酸化物の合成手法としても興味深い知見を得たものと言える。

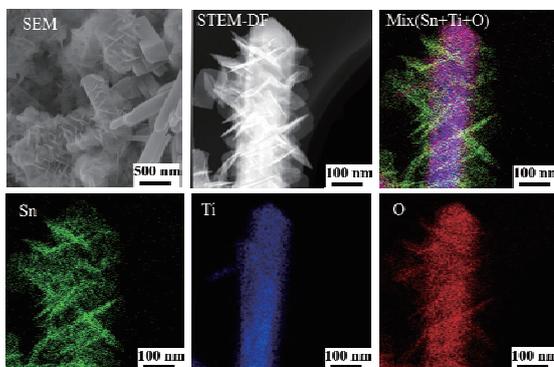


図 1 錫酸化物/チタン酸化物コンポジットのSEMおよびSTEM像

(2) 錫酸化物/チタン酸化物コンポジットの材料評価

① 光吸収特性評価

図 2 に本研究で合成した錫酸化物/チタン酸化物コンポジットの紫外-可視光吸収スペクトルを示す。錫酸化物/チタン酸化物コンポジットはチタン酸化物単体よりも長波長側の光吸収が観察され可視光領域 ($\lambda > 400\text{nm}$) の光を吸収可能であり太陽光エネルギーを利用可能な光触媒系であることが分かった。

また pH を変化させると吸収波長が変化しており、わずかの幅であるが pH 制御によって吸収波長制御の可能性を示唆する結果を得た。

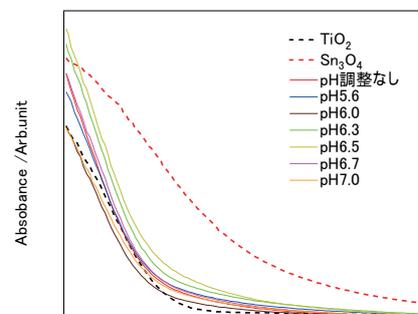


図 2 錫酸化物/チタン酸化物コンポジットの紫外-可視光吸収スペクトル

② 光触媒反応評価

Xeランプ ($\lambda > 350\text{nm}$) 照射下における10%メタノール水溶液からの水素発生反応について光触媒反応の評価を行った。錫酸化物/チタン酸化物コンポジットを光触媒として用いた場合には5マイクロmol/hの水素発生を観察し光水分解による水素発生用の光触媒として機能していること確認した。しかしながら錫酸化物単独(10マイクロmol/h)やチタン酸化物単独(20マイクロmol/h)よりも水素生成速度が低下しており有意なタンデム型の相乗効果は得られなかった。これらの知見から析出した錫酸化物の露出表面が水素発生に高活性な結晶面でないかと予想される。今後の展開として下地のチタン酸化物の露出面を制御することで錫酸化物の露出結晶面を制御し高活性な表面を選択的に結晶成長させることで高活性なタンデム型光触媒の創出が可能であると考えられる。

人工症例画像の CAD 開発への応用に関する研究

神奈川工科大学 工学部 電気電子情報工学科 ポスト・ドクター 安倍 和弥

1. 研究の目的

(1) 近年、医療の現場では CT や MRI など撮影装置の高精細化により生成される医用画像の量が增大している。撮影される画像の枚数は患者一人あたり数百枚にもおよび、それを読影する医師の負担も急増している。そのため診断の補助を行うコンピュータ画像支援診断 (Computer Aided Diagnosis/Detection : CAD) システムの開発が非常に重要視されている。

CAD システムの開発においては、サンプルデータの不足が長い間、問題とされてきた。システムの有効性を示すためには多くの臨床画像を使う必要があるが、プライバシーの配慮などにより症例画像の入手が困難になっている。そこで現在、3 次元腹部 CT 画像において、実症例からの腫瘍の埋め込みを行い、腫瘍の存在する CT 画像を人工的に作成する研究を行っている。人工症例の研究は、日本医用画像工学会の CAD コンテストのテーマとしても取り上げられるなど注目されているテーマである。この研究は、実症例と全く見分けがつかない人工腫瘍の作成方法を確立し、大きさ、コントラストを変更しながら、無数に人工腫瘍を含む模擬的な症例画像を生成することによって、CAD システムの開発におけるサンプルデータ数を補完することを目的としている。

①本研究では、様々なバリエーションの人工症例データベース (DB) を作成し、実運用を視野に入れ、CAD システムの未知データへの判別性能向上が見込める最適な組み合わせ方や生成方法を検討する。サイズの大小やコントラストの濃淡を様々に変化させることにより、埋め込む病変を強調した人工症例を学習データとして作成する。その人工症例画像と肝腫瘍の実症例の混ぜ合わせたデータ群をもとに機械学習 (例えば SVM : サポートベクタマシン) による判別器を作成し、別途用意した未知データによる評価により CAD システムの開発に最適な学習データ作成法を検証、その有効性を確認する。

(2) さらに汎化性の確認のため、他部位への応用として、乳がん腫瘍 CAD システムに適用し、有効性がある事を確認する。

2. 研究の計画・方法

(1) 本研究の主目的は、様々なバリエーションの人工症例データベース (DB) を作成し、実運用を視野に入れ、CAD システムの未知データへの判別性能向上が見込める最適な組み合わせ方や生成方法を検討すること、および他部位応用による汎化性の確認にある。そのため以下の流れで研究を行う。

①バリエーションに富んだ人工症例の作成

人工症例は正常 CT 画像に腫瘍を埋め込むことによって作成する。腫瘍サイズの大小やコントラストの濃淡を様々に変化させることにより、埋め込む病変を強調した人工症例を学習データとして作成する。

②機械学習を用いた判別器作成による CAD システムの開発

人工症例と実症例を混ぜ合わせたデータ群をもとに機械学習 (例えば SVM : サポートベクタマシン) による判別器を作成する。

③①、②より最適な画像 DB の検討

別途用意した未知データによる評価により CAD システムの開発に最適な学習データ作成法を検証、その有効性を確認する。

(2) 人工症例画像の汎化性確認のための乳がん腫瘍への適用を行う。乳がん腫瘍の人工症例も肝腫瘍と同様に腫瘍の存在する症例より腫瘍を切り取り、正常な乳房に埋め込むことにより人工症例画像を作成する。データ群を基に機械学習による判別器し、肝腫瘍と同様に未知データによる評価でその有効性を確認する。

3. 研究の特色

(1) 人工症例画像は少量の症例画像からサイズ・コントラストの変更などにより実質無数の症例画像を作り出すことが可能であり、サンプルデータの不足という CAD システムの開発に長年付きまっていた問題へ一石を投じることが可能なものであると考えている。さらに、我々は予備実験という形で人工症例画像を用いた CAD 開発に挑戦し、一定の成果を得ることができた。この技術を検討し、汎化性を持ったものに押し上げることで、実際の医療現場で実用が可能な CAD システムの開発へとつなげることが可能と考えている。

①実症例と同等の人工症例が実質無限に生成可能

現在模擬的な画像生成にはファントムが用いられているが、本手法では実症例を埋め込むことにより実症例と同等かつファントムでは困難な症例などが生成可能である。また、大きさやコントラストを調整することで高品質の症例画像を実質無限に生成することが可能となり、症例データの不足を補うことが可能となる。

②複数の病院との協力体制

過去の共同研究などの実績から複数の病院との連携が可能であり、データの収集や人工症例および CAD システムの評価などが可能である。また、評価を依頼する医師らはいずれも放射線診断専門医であり高い読影技術を有している。評価を依頼することにより信頼性の高い人工症例の作成、および CAD システムの開発が行える。

③人工症例作成の技術力

人工症例の作成手法は、日本医用画像工学会主催の CAD コンテストにおいて優勝をした実績を持つ手法であり、医師の評価においては実症例に勝るとも劣らないものであると自負している。また、上記②の経験より、バリエーションに富んだ人工症例の作成も可能であるものと考えている。

4. 研究の成果

(1) サイズの大小、腫瘍の明暗を意図的に強調した人工症例を作成し検討を行った。検討のために作成した人工症例の内訳として、明暗を考慮せずに腫瘍の大きさが 15mm を超えるもの、明暗を考慮せずに腫瘍の大きさが 15mm を下回るものを作成した。また、腫瘍の CT 値の平均が 40HU 以上（大きさはほぼ均等）となるもの、腫瘍の CT 値の平均が 40HU を下回るもの（大きさはほぼ均等）として作成した。これらの人工症例を均等に混合し、実症例 50%・人工症例 50%の比率にて判別器を作成した。これと実症例のみで作成した判別器を比較すると、Az（ROC カーブの下面積）が実症例のみの判別器で 0.892、人工症例を含む判別器で 0.890 と同等の判別性能が得られ、これにより人工症例の CAD 開発への有効性が確認できた。

現状においてはサイズの大小・コントラストの濃淡の 4 分類にて人工症例を作成した。更なるバリエーションとして、これらを組み合わせた特徴の人工症例（例えば濃くて大きい、淡くて小さいなど）を作成し学習を行うことなど、更なる判別性能の向上に向けた検討が必要である。

(2) 同様に乳がん腫瘍に対しても特徴を強調した人工症例画像を作成し、上記(1)と同様の比率で混合して判別器を作成した。こちらも実症例のみの判別器と比較を行った結果、どちらの判別器においても Az が 0.87 と高い判別性能が得られた。これにより、人工症例画像の他部位における汎化性が確認できた。

乳がん腫瘍の人工症例については作成数及び評価に用いた実症例数共にまだ少なく、今後より多量・多彩な人工症例を作成し多数の未知データによる検証を行い、判別性能を評価することが望ましい。

肝腫瘍・乳がん腫瘍共に判別器を設計するための学習サンプルを可能な限りたくさん用いて上記課題へと対応を行う方法で検討した。しかし、まだ決して十分であるとはいえないと思われるため、今後はより多くの試行セットを用いるなど検証レベルを上げ、より信頼性を向上させる必要がある。

MDCK シスト回転運動メカニズムの解明と癌転移への寄与

金沢医科大学 医学部 市川 壮彦

1. 研究の目的

固形がんによる死因の 90%以上は浸潤もしくは転移によるものである。浸潤現象は転移現象と並んでがんの悪性化を特徴付けている性質の 1 つであり、もしこれを防止することができれば多くのがんの治療効果が上昇し結果として医療費の削減にも繋がると考えられる。しかし、未だにがんが浸潤を起こすメカニズムは明らかではなくこれらに関わる遺伝子についても未だ研究途上にある。研究が進まない原因の 1 つは生体内で現象を観察することが難しいことが挙げられる。*in vivo* でがんの浸潤を観察するためには顕微鏡の高い深部到達性が必要であるが、現在のところ体外から直接観察できかつ数細胞を分離可能な分解能を持つ顕微鏡はない。さらに浸潤現象を観察するには長期で観察をする必要があり同一部位の観察が難しいといった問題もある。

生体内での観察は依然として困難であるものの、近年別のアプローチとして組織から単離した細胞を用いて元の器官や器官様の組織（類器官）を培養皿中で再構成しそれを用いて形態形成や機能解析研究を行うといった手法が用いられつつある。Z. Werb らのグループは単離したマウス乳腺細胞を細胞外マトリックスを含むゲル中で培養することにより乳腺類器官を再構成し、腺管構造形成時の詳細な観察を行った（A. Ewald et al. *Dev. Cell* 2008）。その結果、腺管が伸長する時の先端付近の細胞が集団で回転するように移動しており、この回転運動が腺管の伸長に必須であることを明らかにした。さらに、既に形成した腺管中で細胞が移動しようとする力ががん化した細胞の浸潤を促す可能性を示唆した。

類器官が回転する現象についてはいくつか報告がされており、X. Zhang らのグループはイヌ尿管由来の MDCK 細胞が 3 次元培養中で球形のシスト構造を構成しそれが回転すること報告した（Q. Guo et al. *Eur J Cell Biol* 2008）。M. Bissell らのグループは単離したマウス乳癌細胞も 3 次元培養中で回転すること、継続的に一方向へ回転するためには正常な細胞の極性と骨格が必要であることを報告した（K. Tanner et al. *PNAS* 2012）。また、S. Muthuswamy らのグループは 3 次元培養中でマウス乳癌由来細胞の成熟度（単離からの経過日数）によって回転速度やパターンが変わること、基底側にラミニンとコラーゲンの集積が必要であることを報告した（H. Wang et al. *PNAS* 2013）。また、申請者のグループは予備的な実験から低分子量 G タンパク質 K-Ras を MDCK 細胞で活性化すると成熟して回転が止まった MDCK シストを再び回転させることを発見した（未発表）。K-Ras の活性化型変異は多くの癌、特に肺癌では約 9 割に見られることから K-Ras ががん化に何らかの寄与をしていることは明らかである（K. Bryant *Trends Biochem Sci* 2014）。申請者は K-Ras の活性化が上皮内で運動しようとする力を生じ、それががんの浸潤を促すのではないかと考えた。そこで、本研究では類器官シストを腺管の試験管内モデルとして採用しその回転運動を制御している因子をスクリーニングすることによりがんの浸潤に関わる因子を探索することを目的とする。

2. 研究の計画・方法

本研究計画は、類器官シストの回転運動を検出するスクリーニングシステムを構築し回転運動に関わる因子を特定することによりがんの浸潤に寄与する因子の同定を行う。

以下の計画を立て、順に行った。

(1) MDCK を用いた類器官シスト回転運動を定量化するためのイメージングシステムの構築

これまで微分干渉顕微鏡等を用いてシストが回転する様子が観察されてきたが、これらは 2 次元での観察であるために回転運動の正確な定量化は難しかった。そこで、シストの 1 細胞のみを標識しそれを 3 次元＋タイムラプスで追跡することにより回転運動の 3 次元イメージングを行う系を構築する。1 細胞のみの標識には Kaede (R. Ando et al. *PNAS* 2002) や KikGR (H. Tsutsui et al. *EMBO Rep.* 2005) といった紫外線照射により発光波長が変化する蛍光タンパク質を用いる。ウイルスベクターを用いてこれらの遺伝子を MDCK 細胞

に導入し、3次元培養によってシスト形成を行う。共焦点顕微鏡 (LSM710, Zeiss, 導入済) や申請者が博士研究員時代に組み立てたライトシート型顕微鏡（基礎生物学研究所との共同研究により使用、T. Ichikawa et al. PLoS One 2013, T. Ichikawa et al. Nat Protoc 2014）を用いて標識した1細胞を3次的に追跡する。

(2)シスト回転運動に寄与する因子を明らかにするためのハイスループット評価システムの構築

シスト回転運動に関わる因子を同定するために、ハイスループット細胞機能探索システム (Cell Voyager, 横河電機, 共通機器として導入済) を用いて 96 穴ベースで多数のサンプルを同時に観察可能な系を構築する。z 間隔や時間間隔を最適化し一度に可能な限り多くのサンプルを観察できるように条件を検討する。

また、MATLAB と解析用コンピュータを導入し得られた画像データを自動的に解析し定量化を行うプログラムを作製する。アルゴリズムとしては、データの取り込み→フィルタリング・2 値化→標識細胞のセグメンテーション→各タイムポイントでの標識細胞の中心点測定→中心点を繋げてトラッキング→3次元表示といったプロセスを追う。

(3)シスト回転運動に関わる責任因子の追求

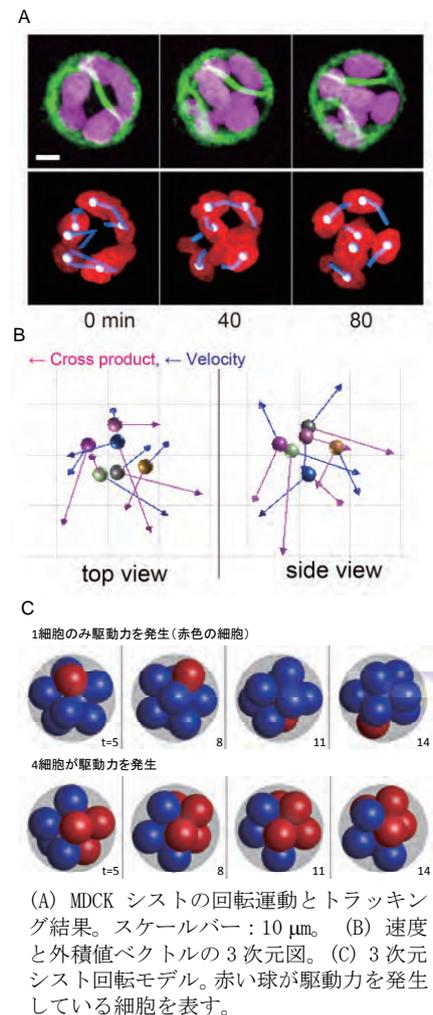
がんで変異や過剰発現が多くみられる遺伝子群 (Myc, EGFR, p53 など) や、細胞骨格を制御する分子群 (Rho ファミリーG タンパク質群や myosin, kinesin, dynein などモータータンパク質群)、極性形成に関わる分子群 (Wnt, β -catenin, PAR, aPKC, integrin ファミリー) を個別に阻害・ノックダウンもしくは活性化・過剰発現させることによりシスト回転運動に関わる因子をスクリーニングする。

3. 研究の特色

本研究の最も大きな特徴は3次元器官培養技術を用いることによって、これまでスクリーニングの難しかった浸潤に関わる因子を試験管内の系に置き換えハイスループット化し網羅的に因子を調べる点である。本研究に用いる系の構築には近年発達しつつある類器官の培養技術に加え顕微鏡システムの立ち上げ、解析に関する技術と経験が必要であるが、申請者の所属する研究室では類器官形成の研究を行っており培養技術の蓄積があること、また、申請者はこれまで顕微鏡の立ち上げや解析ソフトの開発を行っておりスクリーニングや解析に関する知識と技術を擁している (T. Ichikawa et al. PLoS One 2013, T. Ichikawa et al. Nat Protoc 2014) ことから本研究が申請者にとって十分に遂行可能である点が本研究の強みである。

4. 研究の成果

(1)薬剤によるシスト回転運動を定量化するためのスクリーニングシステムの構築を行った。ヒストン H1 に蛍光タンパク質 mCherry を融合させ核を標識し、炭酸ガス供給下で共焦点顕微鏡を用いて三次元タイムラプス観察を行った。得られたデータを ImageJ を用いてクロッピング、Imaris を用いてトラッキングし、Excel VBA を用いて半自動で各細胞の回転速度を計測するプロトコルを構築した (図 A)。さらに、シストの回転運動には全ての細胞が同じ方向へ回転するコヒーレント運動と各細胞が入れ替わりながら運動するランダム運動があり、後者とがんの悪性度との関連性が指摘されていることから、外積値を指標として用いることで回転運動のコ



ヒーレント性を定量化する手法を考案した（図 B）。これらの方法を用いてがん細胞において高頻度で見られる K-Ras 活性型変異体（K-RasG12V）を発現する MDCK シストの回転運動を定量化した結果、通常の MDCK 細胞と比べ K-RasG12V を発現する MDCK シストでは速度・外積値共に有意な上昇が観察された。また、阻害剤を用いたスクリーニングの結果から、Blebbistatin や Nocodazole といった細胞骨格に関わる阻害剤と細胞周期阻害剤の一部が速度・外積値を減少させることを明らかにした。

(2) シスト回転運動メカニズムを明らかにするためにシミュレーションモデルを用いてシストを構成する細胞の多様性が回転運動に与える影響を調べた。3次元回転モデルではシスト中で駆動力を持つ細胞が少ない場合により回転運動を示すことが示唆された（図 C）。また、実際のシスト回転運動は断続的に運動する様子が見られるが、モデルにおいても移動空間が制限されると移動速度が周期的になることが示され、移動空間の制限のみで運動の断続性を再現可能であることが分かった。

3次元シスト回転運動の定量化系の構築は完了し、系を用いて阻害剤による速度・外積値への影響を定量化する段階に入っているが、がん浸潤に関わる因子はまだ同定できていない。今後さらに阻害剤を用いたスクリーニングを進めると同時に siRNA を用いたノックダウンや CRISPER/Cas9 を用いたノックアウト・ノックイン細胞を用いて回転運動を制御している因子を同定する。さらに、同定した回転運動制御因子を活性化・不活性化させた細胞をマウスに移植することによりがん浸潤への影響を明らかにする。

植物の概念形成に及ぼす動物概念の影響 — 植物の種子と動物の卵の類似性に着目して —

修紅短期大学 幼児教育学科 蛭名 正司

1. 研究の目的

科学的概念を形成する前の子どもは、自分の経験に基づいた素朴理論 (naïve theory) を形成することが知られている。認知発達研究において、子どもがどのような素朴理論を保持しているか、あるいはどのような要因が概念変容をもたらすのかなどが検討されてきた (e.g. Goswami, 1998)。そのような背景のもと、本研究では生物に関する素朴理論に焦点をあてる。幼少期の子どもは植物を生きていないと判断することが知られており (Cary, 1985)、そのような素朴理論が科学的な認識に変容するには、どのような環境が条件となるのであろうか。この点について筆者は、これまで植物の種子 (e.g. 緑豆・ひまわり) の生命認識の変容を促す要因として、緑豆もやしの発芽場面を観察させたり (蛭名, 2015)、ひまわりの栽培活動を実施したりしたが (蛭名, 2016)、植物の種子について「生きていない」から生物学的根拠に基づいた「生きている」に判断が変化した幼児は多くはなかった。また、幼児は未知の事項を理解する際に人間をベースとした類推が可能であることを踏まえ (Inagaki & Hatano, 2002)、中村・宇野・蛭名 (2018) では、栽培活動に加えて人間の赤ちゃんと種子を対応づけた教示を行った。しかし、人間をベースにした類推はほとんど見られなかった。この要因として人間の赤ちゃんの植物の種子の見かけ上の類似性が低いことが考えられた。

そこで本研究では、類推のためのベースとして「卵から孵化する動物」を取り上げる。卵から動物が孵化する様子は、球形に近い物体から別な物体が出現するという点で、植物の種子からの発芽と類似しており、人間の赤ちゃんよりも見かけ上の類似性は高い。以上から本研究では、卵から孵化する動物を観察することで、卵が生きていること (卵の中の動物が生きていること)、さらには卵と知覚的に類似している植物の種子も同様に生きていることに気づくようになるか検討する。また、本研究では年長児に加え、小学 1 年生～小学 3 年生の児童を対象として生命認識の実態を調査し、変容過程について探索的に検討する。

2. 研究の計画・方法

- (1) 調査対象者 岩手県内の私立認定こども園に通う年長児 10 名、同一地域内にある公立小学校 1 年生 39 名、2 年生 47 名、3 年生 41 名を対象とした。
- (2) こども園の年長児に対して、2017年7月及び2018年3月の2度にわたって筆者による個別インタビューを実施した。7月の調査では、女王アリとその女王アリが生んだ卵をアリの飼育ケースに入れた状態で対象児に提示した。その際、アリの卵を見やすくするために、デジタル顕微鏡を使用して女王アリやアリの卵を拡大した。その上で、「卵の中にアリの赤ちゃんがいると思うか (質問①)」を質問した。「いる」と回答した対象児には、「アリの赤ちゃんは卵の中で大きくなっていると思うか (質問②)」、「アリの赤ちゃんは卵の中で生きていると思うか、その理由は何か (質問③)」を質問した。さらに、ヒマワリの種子の実物を提示して「ヒマワリの種子は生きていると思うか、その理由は何か (質問④)」を質問した。3月の調査も、同様の手順で②～④を質問した。なお、3月調査では、女王アリが産んだ卵から孵化した働きアリも提示して、働きアリは女王アリの子どもであることも対象児とともに確認した。また、7月調査の終了後、こども園の中にアリの飼育ケースを設置し、園児が自由に観察できる環境を構成した。小学生の対象児に対しては、質問紙法による一斉テスト形式で実施した。質問項目は、幼児とほぼ同様で、女王アリ、アリの卵、ヒマワリの種子の写真を提示して、②～④の質問に回答してもらった (ただし、協力校の都合により判断理由の回答欄は削除した)。質問紙の配布・回収は2017年11月に担任教員によって実施された。

3. 研究の特色

幼稚園教育要領や小学校学習指導要領（生活）の教育内容には、「生命を大切にすること」、あるいは「生命をもっていることに気づくこと」が記されている。しかし、従来の教育現場での生物の扱われ方は、「心の教育」のような情緒的な側面のみが強調され、生物学的な内容は軽視される傾向にあった（大谷・楢原・高井、2007）。しかし、そもそも生命の大切さ・尊さを理解するには、まずは生物に生命が宿っていることに気づく必要がある。それゆえ、生物の生命は、種子や卵を含めたライフサイクルのどの時期においても連続していることに気づくこと、及びその気づきを促す環境作りは、生命の大切さ・尊さを理解する上で基盤となりうるといえ、教育上の意義は大きいといえる。

4. 研究の成果

- (1) 年長児の縦断的調査 対象児全員が質問①（卵の中にアリの赤ちゃんはいるか）に対して「いる」と回答した。質問②～④の回答結果を Figure1 に示す。卵の中でアリの赤ちゃんが大きくなると判断した対象児は7月時点と3月時点で人数は同数であったものの、卵の中の赤ちゃんは生きてると判断した対象児は7名から9名に増加した。また、ヒマワリの種子について生物学的根拠（e. g. 「芽が出るから」「花が咲くから」）に基づいて「生きている」と判断した対象児は3名から2名へとやや減少した。以上の結果は、人数が少数であるため、一般化には限界があるものの、アリの卵、アリの卵から孵化した赤ちゃんの観察によるだけでは、植物の種子に関する生命認識に影響を及ぼさない可能性が示唆されたといえる。
- (2) 小学生の横断的調査 質問①に対して「いる」と回答した対象児を抽出した（1年生27名、2年生34名、3年生32名）。質問②～④の回答結果を Figure2 に示す。年長児と比較すると、卵の中のアリの赤ちゃんに関する認識（②③）は年長児とほぼ同様の傾向であったといえる。また、ヒマワリの種子の認識は判断理由まで考慮していないため、単純に比較できないが、年長児よりは「生きている」と判断する者の割合は高い可能性が示唆された。
- (3) 今後の課題 本研究では卵と種子の形態の類似性に着目して、アリの卵の観察が植物の種子の認識に影響を及ぼす影響を見ようとした。しかし、機能的類似性について、対象児に積極的に働きかけは行わなかったこともあり、十分な関連づけがなされなかったと考えられる。今後は、機能的類似性への着目を促進させることが、科学的な生物概念を形成する上で有効かどうかを検討していきたい。また、本研究では小学生の認識について実態調査にとどまったため、今後は具体的な飼育活動などを通じて年長児から小学生にかけて認識の変容過程を明らかにしたい。



Figure1 年長児の生命認識に関する縦断的調査

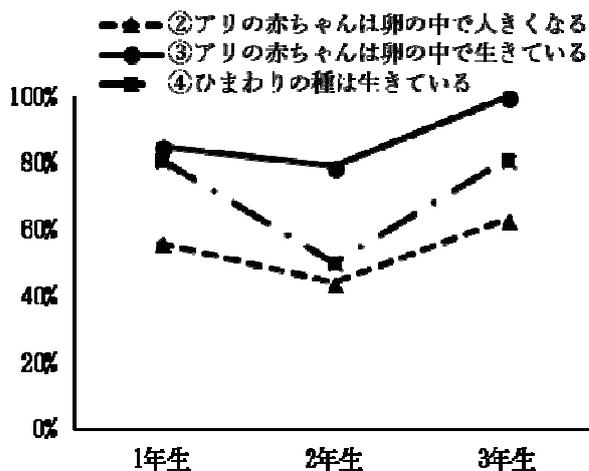


Figure2 小学生1年生～3年生の生命認識に関する横断的調査

mRNA スプライシングの保証機構とその破綻による癌化の解明

藤田保健衛生大学 総合医科学研究所 福村 和宏

1. 研究の目的

ヒトを含めた高等真核生物において、長大なイントロンに分断された小さなエキソンを認識し、正確にイントロンを取り除く mRNA スプライシング(以下スプライシング)は、正常な遺伝子発現に必須である。加えて、発生段階、組織特異的、細胞環境に応答して特定のエキソンを選び出し、1つの遺伝子から多種類のタンパク質を作り出す選択的スプライシングは生命の高次性を生み出す重要な原動力となっている。高等真核生物における複雑な選択的スプライシングを可能にする要因の1つはスプライス部位の配列保存性である。イントロンに分断された真核生物の遺伝子のエキソン/イントロン境界は 5' スプライス部位、3' スプライス部位と呼ばれる配列によって分けられており、エキソン認識のための主要な目印となる(図1)。スプライス部位の配列保存性は、生物が高等になるにつれて低くなり、エキソン認識に大きな自由度が与えられる(図1)。そのため高等生物ほど複雑な選択的スプライシングが可能になり、1つの遺伝子から多くの情報を引き出すことができるのである。しかしながら、スプライス部位の配列保存性の低さは同時に、エキソン内、イントロン内にスプライス部位と似た配列『偽スプライス部位』を生み出す諸刃の剣となる。興味深いことに、多くの癌細胞では本来使用されるはずのないエキソン内やイントロン内に散在する偽スプライス部位を使用した mRNA が産生されることが知られている。さらに近年、乳癌組織や卵巣癌組織のトランスクリプトーム解析からスプライシングパターンの約半数に異常がみられることが報告されており、異常スプライシングが癌化に関与していることが強く示唆される。これら癌細胞における現象は、裏を返すと正常細胞では正確に真のスプライス部位を認識し、正確なスプライシングを保証するメカニズムの存在を示唆する。しかしながら、正確なスプライシングがどのようなメカニズムで保証されるのかという一見当たり前に思えるこの問いに明確な答えをだした研究は、国内外に存在しない。そこで本研究では、pre-mRNA スプライシングを保証する分子基盤の実態とその作用機序、そしてその破綻によって引き起こされる異常スプライシングと癌化の関連性を明らかにすることを目的とする。具体的には以下の通りである。

我々は、これまでの研究から選択的スプライシング制御因子である RNA 結合タンパク質 RNPS1 の発現阻害を行うとオーロラ B キナーゼの正確な pre-mRNA スプライシングが阻害され、異常スプライシング産物が生じることを見出した。結果、オーロラ B キナーゼのタンパク質量が著しく低下する。オーロラ B キナーゼは、細胞周期の分裂期にのみ発現量が増加・活性化するリン酸化酵素で、染色体を娘細胞に正常分配する為に必須である。しかしながらオーロラ B キナーゼは、癌細胞において過剰発現や発現減少することで、癌細胞に共通した特徴であるゲノム不安定性を生み出す。本研究では RNPS1 によるオーロラ B キナーゼの正確なスプライシングを保証するメカニズムと癌化についての関連性を明らかにすることを目的とする。



図1 脊椎動物と酵母のスプライス部位の配列保存性
それぞれ5'スプライス部位と3'スプライス部位の配列を示す。Yはピリミジン塩基、Rはプリン塩基を表す。

2. 研究の計画・方法

- (1) RNPS1 発現阻害時の細胞の表現型を明らかにする。RNPS1 の発現阻害により、オーロラ B キナーゼの発現量が低下する。オーロラ B キナーゼの発現阻害では、正常な染色体分離が行われずゲノムの不安定化が起き、多核になることが知られている。そこで、RNPS1 の発現阻害によっても、オーロラ B キナーゼの発現阻害と同様に多核の表現型が生じるのではないかと考えられる。
- (2) RNPS1 がオーロラ B キナーゼ mRNA の正常なスプライシングをどのように保証するか、その分子メカニズムを明らかにする。具体的には、RNPS1 がオーロラ B キナーゼ mRNA のどの領域に結合するのか、どのスプライシング基本因子と相互作用するかを RNPS1 の免疫沈降実験などによって明らかにする。細胞レベルでの解析後、スプライシング反応を *in vitro* で再現できる実験系である *in vitro* splicing 系を用いて解析を行うことで、より詳細な分子機構

を明らかにしたいと考えている。

- (3) RNPS1 が正常なスプライシングを保証するグローバルレギュレーターであるかを明らかにする。現状 RNPS1 の発現阻害によって、異常スプライシングが生じる mRNA はオーロラ B キナーゼ遺伝子と、MDM2 遺伝子のみである。しかしながら、RNPS1 がさらに多くの遺伝子の正確なスプライシングを保証している可能性がある。そこで、RNPS1 のノックダウン細胞のトランスクリプトーム解析を行い、その可能性の検証を行う。
- (4) (1)-(3) の研究を時間内に遂行できた場合、(4) の研究を進めたい。先行研究から肝細胞癌において、RNPS1 のノックダウンによって検出されるオーロラ B キナーゼ mRNA の異常スプライシング産物が検出することが知られている。加えて、我々の解析から肝細胞癌では RNPS1 の発現が著しく低いことも明らかになった(未発表データ)。これらの知見から、肝細胞癌における RNPS1 の発現減少のメカニズムと癌化の原因についての関連を明らかにする。まずは肝細胞癌検体を用いて、RNPS1 ノックダウン細胞と同様な表現系が検出できるか確認を行う。

3. 研究の特色

これまでのスプライシング制御研究は、エキソンがどのようなメカニズムで選択され、どのような生物学的機能を持つタンパク質を生み出すのかということに焦点が当てられてきた。そのため、『正確にスプライシングが行われること』は当然の事象として受け取られ、見過ごされてきた。本研究は、癌細胞でみられる異常スプライシングという現象に着目し、正確なスプライシングの破綻が癌化を引き起こす要因になる可能性を明らかにする世界に先駆けた研究である。

我々は、スプライシング保証機構を明らかにするために、RNPS1 に着目し、本研究を進める。

これまで RNPS1 がスプライシング保証機構に関与する知見は存在していないが、我々は、すでに培養細胞を用いた予備実験により RNPS1 の発現阻害によってオーロラ B キナーゼ遺伝子に異常スプライシングが起きることを見いだしており、世界の研究者に先駆けた着眼点であると言える。また、本研究では、どのような遺伝子群が異常スプライシングをうけるのかを明らかにするために、次世代シーケンサを用いて解析を行う計画である。これまでの癌研究において、異常スプライシングに着目した網羅的遺伝子解析を行った研究例はなく、本研究の大きな特色である。加えて、*in vitro* splicing 系などの生化学的実験手法も加えることで正確なスプライシング保証機構の分子メカニズムを明らかにすることで、総合的にスプライシング異常と癌化について理解することを目的としている。本研究の成果は、分子生物学分野だけでなく、癌化メカニズムの理解、癌細胞の診断のためのマーカー探索や新たな創薬ターゲットの同定など医療応用の分野にも大きな波及効果をもたらすものと期待される。

4. 研究の成果

(1) 本研究のこれまでの研究結果

RNPS1 の発現阻害によりオーロラ B キナーゼ mRNA の異常スプライシングが起こり、タンパク質発現量が低下することを見出した。培養細胞においてオーロラ B キナーゼの発現阻害を行うと、正常な染色体分裂が阻害される為多核の表現型を示すことから、RNPS1 ノックダウン細胞の核の観察を行った。結果、RNPS1 のノックダウン細胞は、多核の表現型を示した。また、その表現型はオーロラ B キナーゼの cDNA を発現することによって回復することから、RNPS1 の発現阻害によって生じる異常スプライシングが原因であることが示唆された(図 2)。

さらに、RNPS1 は RNA 結合タンパク質であることからオーロラ B キナーゼ mRNA に結合することで、正確なスプライシングを保証していると考えられる。その結合領域を決定するために、オーロラ B キナーゼのレポーターミニ遺伝子を用いて、解析を行った。その結果、第 5 エキシソンの 5'スプライス部位上流に結合することが明らかになった。このことから、RNPS1

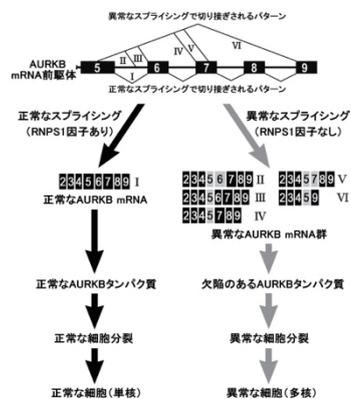


図 2. RNPS1 はオーロラ B キナーゼの正確なスプライシングを保証することで正常な細胞分裂に寄与している

がこのシス配列に結合し、第 5 エキソンの正確な 5'スプライス部位認識に重要な働きを示していることが示唆された。我々は、RNPS1 は 5'スプライス部位認識を行う U1snRNP の構成因子 U1-70K と相互作用することも合わせて見出しており、この相互作用が正確なスプライシングを保証していると考えられる。

RNPS1 がグローバルに正常スプライシングを保証しているか、検証するために、RNPS1 ノックダウン細胞のトランスクリプトーム解析を現在行っている。本研究助成金の研究期間内には、結果を得ることができなかったが、今後さらに発展させていく予定である。

肝細胞癌における RNPS1 の発現減少とオーロラ B キナーゼの異常スプライシングについての解析も本助成金期間内には行うことができなかった。しかしながら本大学の医学部との共同研究という形で、肝細胞癌検体の供与について協議を開始しようとしている段階である。今後、本研究で明らかになった異常スプライシングと癌化との関連を引き続き明らかにしていきたいと考えている。

(2) 本研究の成果は、以下の学会で口頭発表に採択され、発表を行った。

RNPS1 は細胞周期に合わせてオーロラキナーゼ B 遺伝子の正確なスプライシングを制御する日本 RNA 学会年会 2017（富山国際会議場）

(3) 本研究の成果は、以下の学術論文を筆頭著者として出版した。

Fukumura K, Inoue K, Mayeda A (2018)

Splicing activator RNPS1 suppresses errors in pre-mRNA splicing: A key factor for mRNA quality control *Biochem Biophys Res Commun* 496(3):921-926

英作文教育における Plagiarism Education の効果の検証 — 大学生英語学習者を対象に —

中部大学 人文学部 三上 仁志

1. 研究の目的

近年の日本における英語教育では、実用的言語能力の育成が重要視されており、なかでも英作文技術は、代表的な実用的言語能力の 1 つとされている。日本において効果的な英作文能力の育成を考える場合、以下に示す理由から、剽窃教育(Plagiarism Education) (PE) の早期実施が重要となる。

剽窃とは、Council of Writing Program Administration の 2003 年の定義によれば「(公知ではない) 他人の考えや文章、そのほかの開発物について出典を明らかなしないうちで使用する(筆者訳)」である。剽窃行為は、特に英語圏ではいじりくく非倫理的な行為であるとされる。現在、日本でも剽窃は広く罰則の対象となっている。しかし、日本語を母語とする平均的な大学生英語学習者 (JEFL 学習者) が、剽窃の概念や剽窃が適用される範囲について明確な理解を有していることは、稀である (Mikami & Kawaguchi, 2017) (左記の論文は、以下の URL から入手可能: https://www.researchgate.net/profile/Hitoshi_Mikami)。剽窃行為に関する知識の不足は、意図しない剽窃行為を誘発するため、短期的には学業に失敗するリスクを、長期的には国際的に受け入れられない英作文技術を身に付けるリスクを増大させる。また、剽窃に関する知識だけを与える教育は、JEFL 学習者にとって十分に有効なものとならない可能性が指摘されている (Mikami & Kawaguchi, 2017)。

上記のとおり、大学における英作文教育の初期段階で PE を実施することの重要性は、グローバル人材の育成という観点から見て高い。このような理由から、本研究は、JEFL 学習者にとって有用な PE をデザインし、その有効性を検証することとした。

2. 研究の計画・方法

(1) 評価基準

以下の 2 点から PE の効果を評価した。

- ① 英文要約における文章の借用が、PE 実施後に減少すること。ここでは、情報源となる文章で使用された文言や表現を借用する行為 (いわゆるコピー) の減少を目指す。
- ② 自らの書いた要約文がコピーに該当するか否かを自己判断する能力が、PE 実施後に向上すること。

(2) PE の実施手順

76 名の大学生が受講するクラスで、PE を 5 回実施した (実施頻度は、週に 1 回)。以下、学生が取り組んだ課題、課題の評価、学生へのフィードバック、PE の内容について報告する。

- ① 学生は、2 種類の課題 (課題 A・B) に 5 回ずつ取り組んだ。学生は、課題 A で 300 words の英文 (テキスト) を読み、その内容を 100 words 前後で要約した (以下、学生の提出物を要約文と呼称する)。英文要約課題には、ヨーロッパ言語共通参照枠で A1 レベルの難度のテキスト 2 種類 (テキスト A・B) を使用した。第 1・3・5 回の課題でテキスト A を、第 2・4 回の課題でテキスト B を使用した。課題 B で、学生は、要約文を書く際に元の文から文言や表現を借用した割合を自己推定した (以下、この自己推定をコピー率推定と呼称する)。例えば、100 words の要約を書く際にテキストから 30 words を借用した (と見積もった) 場合のコピー率推定は、30% となる。
- ② 全ての要約文について、テキストからの借用部分を同定し、要約文全体での文章借用率 (コピー率) を算出した。分析・計算方法の詳細については、Mikami and Kawaguchi (2017) を参照のこと。また、コピー率推定とコピー率の残差値を算出した。たとえば、コピー率推定が 10%、コピー率が 50% の場合の残差値は、-40 となる。マイナスの残差値は、

学生が文章借用の程度を過小評価していたことを、プラスの残差値は、文章借用の程度の過大評価を意味する。残差値が0に近いほど、自己モニタリングは正確である。

- ③第2～4回のPEで、学生に(a)コピペと判定された記述、(b)コピー率、(c)残差値に関する情報をフィードバックした。
- ④第1回のPEで、文章要約の意義と活用法を解説した。第2回のPEで、フィードバック情報を用いながら、剽窃の定義と問題点を解説した。第3回のPEで、テキストの表面的な書換えが特定の種類の剽窃（Patch Writing）と判定され、コピー率の低下に繋がらないことを解説した。第4・5回のPEで、剽窃に該当しない要約を作成する技術（例. 句構造の書き換え）について解説し、書換え練習を実施した。

(3) データ分析

第4回までの全ての要約課題に取り組んだ JEF L 学習者 59 名のデータを使用し、データ分析を実施した。まず、第1回と第4回のコピー率データを使い、その変化を検証した。次に、第1回と第4回の残差値を使用し、その変化を検証した。歪度/歪度の標準誤差の割合が±1.0 を超える指標が多数あったため、Wilcoxon signed-rank test を検定に使用した。p 値の調整には、Bonferroni 法を用いた。Cohen(1988, 1992)の基準に従い効果量を解釈し、0.80 以上を十分な検定力とした。

3. 研究の特色

先行研究では、「剽窃行為をおこなってしまう書き手の特徴は何か？」もしくは「剽窃に該当する文章の言語的な特徴は何か？」という点について多くの調査がおこなわれてきた。しかし、どの様な教育的介入が特定の学習者集団の剽窃行為の低減につながり、かつ英作文教育として有効となるかを調査した研究は、数が限られており、JEF L 学習者を対象に PE の効果を検証した研究は、管見の限り存在しない。

4. 研究の成果

(1) 文章の借用（＝コピー率）

- ①表1は、コピー率に関する記述統計である。
- ②コピー率について、第1・4回のデータの間で有意差があり、十分な検定力と大きな効果量が得られた ($z = 6.42, p < .001, 1-\beta > .99, r = .59$ [95% CI = .39, .74])。統制群を設けた上で追試をする必要はあるが、検定の結果は、PE実施後の要約文でテキストからの借用が減少したことを認めた。

(2) 残差値

- ①表1は、残差値についての記述統計である。
- ②残差値について、第1・4回のデータの間で有意差があり、十分な検定力、大きな効果量に近い数値が得られた ($z = 5.24, p < .001, 1-\beta > .99, r = .48$ [95% CI = .26, .66])。統制群を設けた上で追試をする必要はあるが、検定の結果は、PE実施後の残差値の変化を認めた。表1のデータと本結果を併せて解釈すると、PE実施後も文章借用の程度は過小評価されがちであるものの、PE実施前は要約文の大部分を占めるテキストからの借用が自覚的に行われており、その意味においてPEの実施に意義があったことが分かる。

表 1. コピー率と残差値の記述統計

指標	提出回	<i>M</i>	<i>Mdn</i>	<i>1stQ</i>	<i>3rdQ</i>	<i>SD</i>	<i>Skew</i>
コピー率	第1回	67.60	69.60	50.66	90.14	26.36	-0.66
	第4回	11.72	6.35	0.00	17.27	17.91	2.73
残差値	第1回	0.65	-1.71	-17.04	19.99	27.80	0.16
	第4回	-30.14	-29.82	-49.53	-15.00	19.25	3.71

注. *N* = 59; 歪度を除きすべてパーセント単位。

(3) 学会発表

Mikami, H. (2018, February). *Patchwriting in Japanese freshmen's English summary writing: The basic data*. Poster presented at the Association for Reading and Writing in Asia Conference 2018, Tsukuba, Japan.

モラルジレンマ判断における直観的な競合検知の検討

愛知淑徳大学 人間情報学部 中村 紘子

1. 研究の目的

モラルジレンマ判断課題とは、多数の利益のために少数を犠牲にすることの是非を問う課題である。少数の権利を優先する義務論的判断には犠牲者への同情心といった感情的な過程が関わり、多数の利益を優先する功利的判断には利益と対価の計算といった熟慮的な過程が関わることを示されている (Greene, 2015)。認知的熟慮性や認知容量と功利的判断が関連するなど (Moore, Clark, & Kane, 2008)、多くの研究が道徳判断に直観的・熟慮的な二過程が関わることを示しているが、直観的な義務論的反応を抑制し認知負荷の高い熟慮的過程を喚起するメカニズムについては不明な点が多い。

近年の推論研究では、直観的過程においても論理や確率的規範に従った反応が生じることが示されている (De Neys, Rossi & Houde, 2013; Nakamura & Kawaguchi, 2016)。Thompson & Johnson (2014) は、推論課題においてヒューリスティック反応と論理的反応が競合する場合、直観的な判断に対する正しさの感覚 (Feeling of Rightness, FOR) が低くなること、および、回答に対する FOR が低いとその回答に対して再考しやすい傾向を示した。この研究は、直観的過程でヒューリスティックと論理的反応が生じ、2つの反応の間の競合が検知されると FOR が低くなり熟慮的過程が駆動する可能性を示している。

本研究では、直観的過程において功利的反応が生じるか、および、義務論的反応と功利的反応の競合と熟慮的な判断との関連を検討する。Bialek & De Neys (2016a) は道徳判断の直観的過程で義務論的反応だけではなく功利的反応が生じ、この2つの反応の競合が熟慮的過程を駆動させる可能性があるとしている。よって、推論課題と同様、直観的な道徳判断に対する FOR は義務論的反応と功利的反応が競合するモラルジレンマ課題で高くなり、また、FOR が低いほど直観的な回答を再考し、熟慮的に回答することが考えられる。

2. 研究の計画・方法

実験は Thompson & Johnson (2014) の手続きを参照し実施し、道徳判断課題の直観的回答に対する FOR が義務論的反応と功利的反応が競合するシナリオで高くなるか、および、FOR がその後の熟慮的判断に影響するかを検討した。

実験材料として Greene et al., (2008) のモラルジレンマシナリオから義務論的反応と功利的反応が強く競合する High Conflict (HC) シナリオ 3 種、義務論的反応が優勢な Low Conflict (LC) シナリオ 3 種、功利的反応が優勢な Impersonal (IP) シナリオ 3 種を用いた。モラルジレンマシナリオについて、功利的な行動が適切かどうかを「1. 適切ではない」から「6. 適切である」の 6 段階で回答するように求めた。

実験参加者は 107 名であり、実験は PC 上で Qualtrics ソフトウェアを用いて行った。はじめに全てのジレンマシナリオを「直観的に素早く」回答するよう求め、次いで、直感的な回答に対する FOR を「1. 絶対に間違っていると思う」から「6. 絶対に正しいと思う」の 6 段階で回答させた。その後、モラルジレンマシナリオを再度提示し「じっくりと熟慮して」回答するよう求めた。併せて、参加者の熟慮性の指標として日本語版情報処理スタイル尺度 (内藤・鈴木・坂本, 2004) と Cognitive Reflection Test (CRT: Frederick, 2005) を行った。

3. 研究の特色

本研究では、推論研究の知見から、道徳判断の直観的過程において感情的な反応だけではなく、功利の計算といった規範に基づく反応が生じるか、および、直観的過程における反応の競合が熟慮的過程を喚起させるかを検討する。本研究により、①道徳判断の直観的過程において功利的判断が生じるか、②直観的過程での反応の競合によって熟慮的過程が喚起するか、および、③推論と道徳判断の二重過程は共通したプロセスを持つか、について示唆を与えることが可能である。

4. 研究の成果

モラルジレンマ判断の結果について (Figure 1)、2 (回答：直観、熟慮) * 3 (シナリオ: HC, LC, IP) の 2 要因分散分析を行った。その結果、HC シナリオと比べ、LC シナリオでは義務論的判断、IP シナリオでは功利的判断が増加することが示された $F(2, 212) = 135.1, p < .001, \eta^2_p = 0.56$ 。一方、どのシナリオにおいても直観的な回答と熟慮的な回答で評定値の違いは見られなかった $F(2, 212) = 1.54, ns, \eta^2_p = 0.01$ 。FOR について (Figure 2)、1 要因分散分析 (シナリオ: HC, LC, IP) を行ったところ、HC は LC, IP と比較して FOR が低くなることが示された $F(2, 212) = 4.95, p < .01, \eta^2_p = 0.05$ 。また、相関分析の結果、FOR とモラルジレンマ判断の回答、および FOR と情報処理スタイル、CRT の成績に有意な相関は見られなかった。

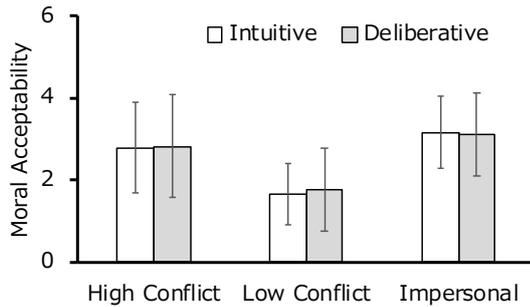


Figure 1. 道德判断課題における功利的反応の受容度の平均値と SD

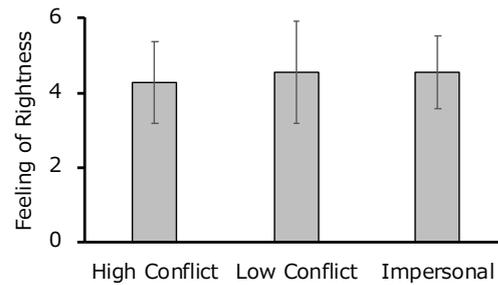


Figure 2. 道德判断課題での直観的判断に対する FOR の平均値と SD

義務論的判断と功利的判断が競合する HC シナリオで、直観的な回答に対する FOR が低下したことから、先行研究と同様、直観的過程において義務論的反応と功利的反応の競合が生じ、競合によって FOR が低くなる可能性が示された。FOR と認知的熟慮性の指標である情報処理スタイルや CRT の成績の相関が見られなかったことから、FOR は直観的過程の処理を反映していると考えられる。一方、FOR と熟慮的回答の相関が見られなかったことから、FOR が低い場合、熟慮的過程が駆動するかは明らかにできなかった。

本研究では、モラルジレンマ判断における義務論的反応と功利的反応の競合が、参加者の認知的熟慮性に関わらず、直観的判断に対する正しさの感覚を低下させることを示した。この結果は、直観的過程においても論理や規範に従った反応が生じるという、近年の推論の二重過程に対する知見が道德判断の二重過程にも応用できる可能性を示唆している。

今後の展望として、本研究では直接的な方法で道德判断の直観的過程を検討していないため、認知負荷をかける、SCR を測定するなど、より直接的に直観的過程での反応を明らかにする必要がある。また、FOR と道德判断との関連が見られず、道德判断における熟慮的過程の駆動メカニズムについては明らかにできなかった。反応時間などの指標を併せて用いることで、直観的過程における競合と熟慮的過程の喚起メカニズムについてより詳細に検討していきたい。

手関節動作筋の張力低下が肩周囲筋筋活動に及ぼす影響の解析 — 肩の痛みや運動制限の解消に向けた研究 —

愛知医療学院短期大学 リハビリテーション学科 草川 裕也

1. 研究の目的

手の外傷や手術の後、リハビリテーションを進めていく中で、患者に肩の痛みや運動制限、関節拘縮が生じることがある。この症状に関する報告は散見されるが、その原因を検討した報告はなく、生理学的メカニズムが未だ明らかになっていない。

そこで、著者はこれまで健常者と手関節周囲損傷患者を対象に、手関節運動時の上腕二頭筋、三角筋の筋活動を測定してきた。結果、肩に痛みや運動制限を生じた者はいなかったが、手関節周囲損傷患者には時間経過とともに、上腕二頭筋に過剰な活動が生じ、上腕二頭筋と三角筋の活動バランスに不均衡が生じることが確認された。そのため、この筋活動のバランスの不均衡が、手の外傷や手術の後に生じる肩の痛みや運動制限の原因の一つである可能性が考えられた。

筋活動については、四肢遠位部の活動が近位部の活動に影響を及ぼすことが知られており、肩周囲筋の筋活動バランスの不均衡は、上肢遠位部の筋活動バランスの不均衡によるものではないかと考えられた。そのため、上肢遠位部の筋活動バランスの不均衡を引き起こす原因を検討し、手関節周囲損傷後に生じる症状の一つである、手関節動作筋の張力低下によるものではないかという仮説に辿りついた。そこで、本研究では、手関節動作筋の張力低下による上肢遠位部の筋活動バランスの不均衡が、肩周囲筋筋活動に及ぼす影響について解析し、その2つの関係について明らかにすることを目的とした。

2. 研究の計画・方法

(1) 対象

同意の得られた、肩関節に疾患のない右利き健常者 16 名を対象とした。

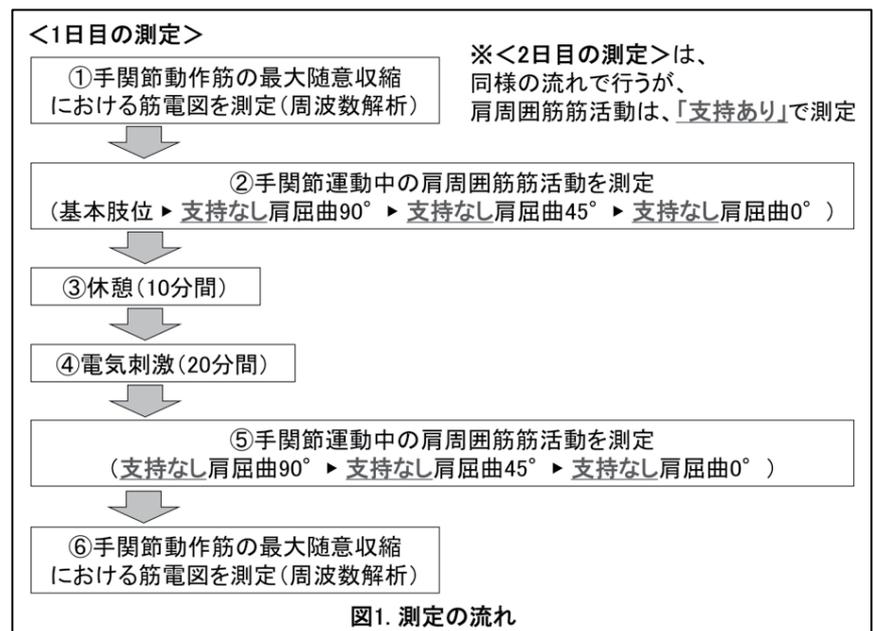
(2) 方法

図 1 の流れで、表面筋電図測定、低周波による電気刺激を実施した。

筋電図の測定肢位は、過去の研究と同様、右肩関節内外転・回旋 0°、右肘関節屈曲 90°、右前腕回旋 0° 位を共通条件に、右肩関節屈曲 0°、45°、90° の3肢位および、机による上肢支持の有無の2条件の組み合わせによる6つの肢位とし、それぞれにおいて右手関節掌背屈自動運動中の右上腕二頭筋、右三角筋前部の筋活動を測定した。なお、1日目に上肢支持なしの条件で測定し、2日目の測定は上肢支持ありの条件で実施した。筋電図測定中の手関節掌背屈運動は、対象者の可能な最大可動域で、合図に合わせて行った。

低周波による電気刺激

は、手関節動作筋に疲労を誘起する目的で実施した。電気刺激については、予備的実験の結



果を参考に、刺激周波数、刺激幅、刺激強度を規定し、20 分間実施した。対象筋は、筋電図学的に手関節屈運動において主役的役割を果たすと言われる、右短橈側手根伸筋とした。電気刺激実施前後には、短橈側手根伸筋の疲労評価のために、短橈側手根伸筋最大随意収縮時の筋電図を測定した。

短橈側手根伸筋の筋電図については、周波数解析を行い、電気刺激実施前後の平均周波数の比較を行った。肩周囲筋の筋電図は、短橈側手根伸筋への電気刺激実施前後の 2 回測定し、各筋の電気刺激実施前後における筋活動の差を求めた。

3. 研究の特色

著者の過去の研究より、上腕二頭筋と三角筋の活動バランスの不均衡が、手の外傷や手術の後に生じる肩の痛みや運動制限の原因の一つである可能性が示唆された。そして、肩周囲筋の筋活動バランスの不均衡は、上肢遠位部の筋活動バランスの不均衡によるものではないかと考え、手関節周囲損傷後に生じる症状の一つである、手関節動作筋の張力低下（発揮される力が低下している状態であるため、本研究では「筋の張力低下」という表現を用いた）に着目し、手関節動作筋の張力低下が肩周囲筋筋活動に及ぼす影響について解析した。なお、手関節周囲損傷患者は手関節運動時に疼痛を生じやすく、手関節動作筋の張力測定が難しいと考えられたため、本研究では健常者を対象とし、薬物などを使用せず、できるだけ侵襲の少ない方法で、他部位の筋に影響を及ぼさず、限定的に手関節動作筋のみ疲労を誘起するために、電気刺激を使用し、手関節動作筋の張力低下を生じさせた。このような電気刺激にて筋疲労を誘起する実験は下肢筋を対象に行われているが、上肢筋を対象とした実験はほとんど行われていない。本研究は、電気刺激にて誘起した手関節動作筋の疲労による筋張力の低下が、遠隔部位である肩周囲筋の筋活動に与える影響を解析するというオリジナルな研究である。

将来的には、手関節動作筋の張力と肩周囲筋の筋活動の関係性を明らかにし、肩の痛みや運動制限などの機能障害を予防・治療する手段として、手関節動作筋の張力維持や張力強化が有効となりうるかを検討したいと考える。このように、その症状の予防・治療法確立のためにも、発生メカニズムを検討する本研究は有意義なものである。

4. 研究の成果

(1) 短橈側手根伸筋への電気刺激の効果

短橈側手根伸筋の平均周波数は、電気刺激後に有意に低下した。そのため、電気刺激により短橈側手根伸筋は疲労したと考えられた。

(2) 短橈側手根伸筋の張力低下が肩周囲筋に及ぼす影響

上腕二頭筋、三角筋ともに、短橈側手根伸筋の張力低下により筋活動量の変化が認められたが、有意差は認められなかった。本研究では、電気刺激による短橈側手根伸筋の疲労が認められたが、手関節運動に影響を及ぼすほどの張力低下は生じていなかったため、運動に影響を及ぼすような、より大きな張力低下を生じることで、上腕二頭筋、三角筋の筋活動量の変化は大きくなる可能性がある。

張力低下による筋活動量の変化としては、支持なし条件においては、上腕二頭筋の筋活動量が減少し、三角筋の筋活動量が増加した。三角筋は、外側上腕筋間中隔を介して、本研究で対象とした短橈側手根伸筋を含む前腕伸筋群との間に筋連結を持つと報告されている（河上ら、1996）。そのため、疲労により張力低下を生じた短橈側手根伸筋に力を入れようとした際に、接続している三角筋まで活動が生じたのではないかと考えられた。また、このように三角筋の筋活動が増加したことにより、肢位保持のための上腕二頭筋筋活動の必要性が減少し、上腕二頭筋筋活動量が減少したと考えられた。

本研究において、三角筋と前腕伸筋群との間の筋連結が、手関節動作筋張力低下時の肩周囲筋筋活動量の変化に関与していることが考えられたが、手関節屈筋群を含む前腕屈筋群は、前腕筋膜を介して上腕二頭筋との間に筋連結を持つと報告されており（河上ら、1996）、前腕屈筋群は上腕二頭筋筋活動に関与しているとも考えられる。そのため、今後は前腕屈筋群の張力低下が肩周囲筋に及ぼす影響について検討したい。

神経精神疾患モデルマウスの代謝産物の研究 — 亢進化合物の発現機構の解明と機能解析 —

京都産業大学 総合生命科学部 藤田 明子

1. 研究の目的

難治てんかんの原因遺伝子とされるシアル酸転移酵素 St3gal4 の遺伝子欠損マウス (KO マウス) は、うつ・不安様症状を示す (*J. Neurochem.*, 2014)。生化学的解析から、KO マウスは脳および血中の成長ホルモンと関連分子 IGF1 の発現が減少すること、血中アルカリホスファターゼ値が高いことを明らかにしている。また、多価飽和脂肪酸を多く含む餌を摂取すると、野生型マウス (WT マウス) は恐怖文脈記憶を緩和したのに対し、KO マウスは変化しない (*PLoS ONE*, 2015)。以上の結果は、KO マウスにおける精神疾患様症状が、脂質代謝異常に起因していることを示唆している。また、ヒト ST3GAL4 が脂質代謝異常と関連性のあることも、ヒト一塩基置換解析より確認されている。

以上の結果は、末梢の脂質代謝がマウスの情動に影響を及ぼすことを示している。我々は、代謝の最終産物である尿中揮発性化合物 (VOC) を調べた。KO マウスの尿からヘッドスペース固相マイクロ抽出 (SPME) 法にて抽出し、ガスクロマトグラフィー・質量分析 (GC-MS) を行った。その結果、KO マウス尿中への排出量が有意に亢進した、フェロモン様物質 β -farnesene および α -farnesene を発見した。この farnesene は、雄マウスの尿中に存在し、雌への誘引物質として機能すること、植物では捕食者や菌の感染に対する防御の役割を果たす物質であることが知られている。その合成酵素は植物、菌で同定されているが、脊椎動物では同定されていない。本研究では、この 2 種の化合物 farnesene のマウス由来合成酵素を探索し、ファルネセン発現とマウスの情動行動との関連性を検証した。

2. 研究の計画・方法

(1) β ファルネセン合成を担うマウス由来酵素の選定とクローニング

植物および菌類で同定されている Farnesene 合成酵素は、‘RXR’ と ‘DDXXD’ の二つのモチーフをもつ。菌類由来 Farnesene 合成酵素 31 種類の両モチーフからマウスに対するホモロジー検索を行い、マウスにおける Farnesene 合成酵素候補遺伝子 X を得た。本研究では、まずこの候補遺伝子 X のクローニングを行った。ポジティブコントロールとして、*Artemisia annua* (和名: クソニンジン) の葉から Farnesene 合成酵素遺伝子 (Acc. No: AY835398.1) をクローニングした。

(2) 酵母発現系による Farnesene 合成酵素タンパク質の調製と GC-MS による酵素産物の解析

Farnesene 合成酵素遺伝子を酵母に導入、発現したタンパク質酵素は、酵母に内在する farnesyl diphosphate を利用し、 β -farnesene を合成、分泌する。揮発成分である farnesene は、培地に加えた有機溶媒ドデカンでトラップできる。クローニングにより得たマウス Farnesene synthase 候補遺伝子を酵母タンパク質発現ベクター酵母タンパク質発現用ベクター pRS424 にサブクローニングした。pRS424 に挿入した遺伝子は、ガラクトース存在下で His 標識融合タンパク質として発現する。機能解析には、酵母の系を用い、タンパク質発現誘導後 6h, 12h, 24h から毎 24h、120h まで経時的にドデカンを回収し、GC-MS で分析した。

(3) 出会い行動による雄マウス尿中 Farnesene の変動

KO マウスで発現が増加する farnesene の情動行動との関連を調べるため、兄弟以外のマウスに出会ったことがない雄 KO マウス (10-15 週齢) と WT マウスをそれぞれ発情前期/発情期 (P/E) または発情後期 (D) の雌 ddy マウスと 30 分間同じケージに滞在させた。ケージ

に入れてから 10 分間の雄マウスから雌マウスへのアクセス数を調べた。Farnesene の変動を観察するため、雌マウスと出会う前と出会った後の KO および WT 雄マウスから採尿を行った。尿中の farnesene を GC-MS 解析し、出会い行動との関連性を検証した。

3. 研究の特色

神経精神疾患のモデル動物は種々作成されているが、St3gal4 一遺伝子の欠損により、うつ・不安症や統合失調症・陰性症状を示すモデル系は、申請者の所属する研究室で開発された独自の研究である。St3gal4-KO マウスは、脂肪の分解に関与する成長ホルモンと IGF1 の発現が減少し、摂取する油脂種の違いによる情動行動の変化を示す。本研究の特色は、末梢の脂質代謝の変化とマウスの情動行動に注目したところにある。申請者は、尿中の VOC をヘッドスペース SPME-GC-MS 法で解析し、 β -farnesene および α -farnesene が KO マウスにおいて有意に亢進することを発見した。本研究は、うつ・不安症モデルマウスにおける性行動と代謝の変動を解析することで、代謝の情動行動への影響を調べたものである。

4. 研究の成果

(1) 酵母発現系による farnesene 合成酵素タンパク質の調製と GC-MS による酵素産物の解析
farnesene 合成酵素候補遺伝子 X またはクソニンジン farnesene 合成酵素遺伝子を導入した酵母にドデカンを加えて培養、ガラクトース含有培地でタンパク質発現を誘導し、farnesene 合成の経時変化を観察した。クソニンジン由来 farnesene 合成酵素遺伝子を導入した酵母を培養したドデカンからは、タンパク質発現誘導後 24 時間で farnesene のピークが検出され、48 時間に plateau に達した（図 1, (b)）。一方、マウス脳由来の候補遺伝子 X または空ベクターを導入した酵母からは、farnesene が検出されなかった（図 1, (a, c)）。導入したタンパク質発現を抗 His 抗体を用いてウェスタンブロッティングを行った結果、候補遺伝子は発現が確認されたが、発現が不安定であった。酵母内の局在や安定性について、今後検証していく必要があると考えられる。

(2) 情動行動 - 出会い行動による Farnesene 発現量への影響

雄の WT マウスの雌マウスへのアクセス数は、出会った雌マウスが P/E 期の場合、D 期の雌との出会いと比べて大きく増加した。一方、KO マウスは、雌の発情期のステージに対する変化はなかった。これは、KO マウスが雌の発情状態を感知しないか、性行動の最初の一歩であるアクセス行動が WT マウスと異なることを示している。

次に、P/E 期の雌マウスと出会う前と出会い後の KO マウスおよび WT マウス尿中の β -farnesene および α -farnesene の変動を調べた。出会い前の KO マウスの farnesene 発現量は WT マウスより多く、再現性が確認された。一方、出会後は WT マウス尿中の farnesene 量が増加したが、KO マウスは変化がなかった。つまり、WT マウスは出会い行動により尿中代謝産物である farnesene の発現が亢進する機構があるが、St3gal4-KO マウスは、その機構に異常が生じていると考えられる。その要因として、farnesene 合成に関わる farnesene 合成酵素の発現または機能変化が挙げられるが、今後の課題である。

(3) 研究の総括

雄 KO マウスは、雌マウスの発情期に対する反応に異常が生じていることが示唆された。さらに、WT マウスにおいて farnesene の発現が出会いにより亢進したのに対し、KO マウスは出会い前から発現が高く、出会い行動によっても変化が生じなかったことから、KO マウスは性フェロモンの発現制御に異常がある可能性が示唆された。

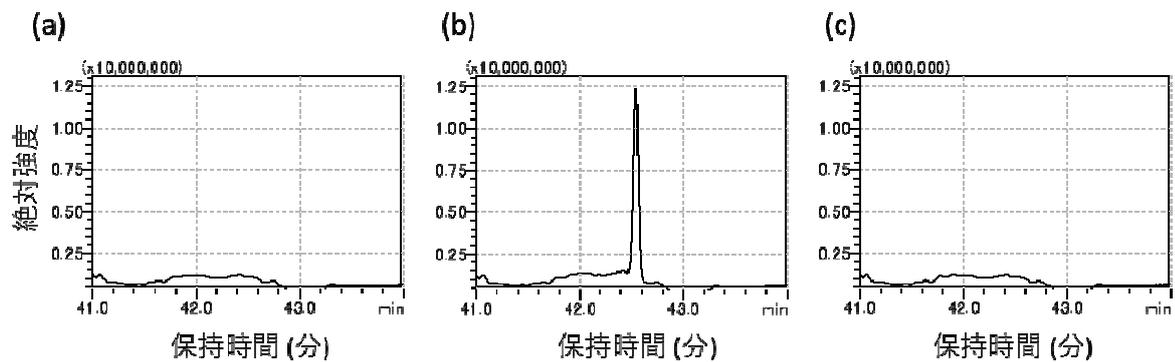


図1 酵母の培養をガラクトース培地に変換後48時間後のドデカン層を回収し、GC-MSで分析した結果
(a) pRS424ベクターのみ (b) クソニンジン由来farnesene synthase (c) マウス脳由来候補遺伝子X

統計手法を用いた源氏物語 54 巻の成立過程についての検討

同志社大学 研究開発推進機構・文化情報学部 土山 玄

1. 研究の目的

『源氏物語』は平安時代に成立した長編物語である。この物語は 54 巻から構成され、一般にこれら 54 巻は三部に分割されると考えられている。第一部には第 1 巻「桐壺」から第 33 巻「藤裏葉」までが属し、第二部は第 34 巻「若菜上」から第 41 巻「幻」の 8 巻が、第三部は第 42 巻「匂宮」から第 54 巻「夢浮橋」の 13 巻が属すとされる。この第一部の 33 巻には成立順序が現行の巻序と異なるとする見解があり、これら 33 巻は「紫上系」と「玉鬘系」という 2 つの群に分類されると論じられている。第一部 33 巻が 2 群に分類されるという見解の根拠として、登場人物の出現状況があげられる。紫上系に登場した人物は玉鬘系においても出現するが、反対に玉鬘系において初出となる登場人物は例外なく紫上系に登場することはない。このような事実に基づき、紫上系の 17 巻が成立した後に玉鬘系が成立し年立に従い紫上系に挿入されたと論じられている。しかし、第一部 33 巻が 2 群に分類されるとする見解を支持する根拠は登場人物の出現状況の他にない。

そこで、本研究では『源氏物語』第一部の成立過程を解明するために、語の出現頻度について統計的に分析を行う。文学的文章のテキストデータを用いた計量的な研究は計量文献学と称され、主に著者の文体に関わる習慣的特徴を統計的に解析する。なお、文体という概念は多様であるが、計量文献学においては文体とは計数可能な記述形式のことであり、その内容は文字や語の頻度、語や文の長さなどの文章を構成する量的な要素である。

2. 研究の計画・方法

本研究では青表紙本系の大島本を主な底本とする『源氏物語語彙用例総索引 自立語編』及び『源氏物語語彙用例総索引 付属語編』を電子化したテキストデータを分析に利用した。『源氏物語語彙用例総索引』は源氏物語の本文すべてについて、形態素解析を行ったものである。すべての語に、表記形、表記形仮名読み、終止形、終止形仮名読み、品詞コード、活用形コード、意味コードなどの情報が付与されている。なお、単語認定については、『源氏物語大成 索引篇』の単語認定基準に準拠している。

本研究では語の n-gram を分析に採り上げた。n-gram は文中において隣接する n 個の要素を 1 つの単位とする。よって、単語の n-gram は隣接する n 個の単語を 1 つの単位として頻度を集計した特徴量である。n = 1 のときは unigram、n = 2 のとき bigram、n = 3 のときは trigram と称され、本研究では unigram 及び bigram を分析に用いた。

また、文章の計量分析では品詞別に語の unigram を集計し、品詞毎に分析を行うことが多い。しかし本研究では、まず品詞別に語を集計せずに出現頻度上位の unigram 及び bigram を用いて分析を行った。次いで、機能語の unigram 及び bigram を用いて分析を行った。機能語とは文章中において語彙的意味を担わず文法的機能を担う語であることから、本研究では補助動詞、助詞、助動詞の 3 品詞を機能語として、頻度を集計した。ただし、『源氏物語』の各巻の延べ語数は一様ではないことから、各 n-gram の頻度を分析には用いず、n-gram の総度数に対する割合、すなわち各 n-gram の出現率を求め、これを分析に用いた。分析においては、このように集計した n-gram の出現率について主成分分析を行った。

3. 研究の特色

著者について議論の余地がある文章を研究対象とするとき、人文的な手法の他に計量的な手法による研究がある。本研究の特色としては、この計量的な手法を用いる点にある。計量的に著者の推定あるいは識別を行う場合、文中において語彙的意味ではなく文法的機能を担う助詞や助動詞などの機能語が広く分析に用いられ、欧米諸語で記述された文献や日本の近現代の文献を対象に、その成果が報告されている。一方で、テキストの電子化が容易ではないことから、日本の

古典文学作品を対象とした研究は十分に展開されているとは言えない。これに加えて、『源氏物語』などの日本の古典文学作品の多くはオリジナル原稿が散逸しており、書写によってのみ受け継がれており、このため著者の特徴的な文体が希釈されている可能性が予想される。しかし、申請者は、『うつほ物語』と『源氏物語』を対象とし、現代文や欧米文学と同様に古典文においても、語の出現率、あるいは語の頻度について計量分析を行うことで著者の識別が可能であることを明らかにした。

このような著者不詳の文献を対象とした著者の識別や推定を目的とした計量的な研究では、機能語が分析項目として取り上げられることが一般的である。先にもふれたように、日本語の場合には、助詞や助動詞などが機能語に該当し、このような機能語が計量分析に取り上げられる背景には、名詞や動詞などの語彙的意味を担う実質語に比べ、機能語は研究対象となる文献の内容、すなわちストーリーの影響を受けにくく、出現する語彙に記述内容に起因すると考えられる出現傾向の偏りが生じにくい。従って、著者の識別に適していると考えられることがある。

4. 研究の成果

作家が文章を執筆する上でどのような語を多く用いるか、ということはその作家の習慣的特徴の現れであると考えられる。出現頻度上位の語の unigram 及び語の bigram は作家が文章を執筆する際の習慣的特徴であり、文体的形式的特徴を規定する要素の 1 つであると思われる。本研究において検討を加えた項目は『源氏物語』にあらわれる出現頻度上位の unigram 及び bigram、そして機能語の unigram 及び bigram である。

n-gram の出現頻度上位の変数について主成分分析を行った結果、どのような分析においても紫上系の諸巻と玉鬘系の諸巻は一部の巻が混在して付置されるものの概ね異なる傾向を有していると考えられる。従って、計量的な判断に基づくならば、紫上系と玉鬘系とでは文体的形式的特徴は相違していると言える。