

2018
平成 30 年度（第 1 回）
若手・女性研究者奨励金

Scholarship Fund for Young / Women Researchers

研究報告（レポート）

令和元年 8 月

日本私立学校振興・共済事業団
平成30年度 若手研究者奨励金 研究報告一覧

	学校法人名	学校名	研究分科	研究課題	研究者名 (敬称略)	キーワード
1	岩手医科大学	岩手医科大学	歯学	変形性顎関節症の治療薬作出のための分子研究基盤の確立	横 田 聖 司	・変形性顎関節症 ・DAMPs ・線維化
2	東北公益文科大学	東北公益文科大学	経営学	わが国における財務諸表監査制度の社会的意義と経済的価値	松 尾 慎 太 郎	・財務諸表監査の社会的意義 ・監査費用 ・シグナリング機能
3	埼玉医科大学	埼玉医科大学	内科系臨床医学	ナノポア型シークエンサーを用いた発熱性好中球減少症の病態解明	酒 井 純	・敗血症病原体の網羅的同定 ・ポータブルNGSの臨床応用 ・抗菌薬耐性遺伝子の迅速同定
4	獨協学園	獨協医科大学	内科系臨床医学	間質性肺炎モデルマウスにおける血管内皮プラズマローゲンの評価	中 村 祐 介	・間質性肺炎 ・プラズマローゲン ・脂質代謝からの病的解析
5	廣池学園	麗澤大学	政治学	長期震災復興における記憶、トラウマ、死者の政治理論的研究	花 田 太 平	・東日本大震災と死者の政治学 ・震災トラウマとグリーフ ・ハンナ・アレントの物語論
6	北里研究所	北里大学	薬学	黄色ブドウ球菌が生産する黄色色素生成阻害剤の探索	小 林 啓 介	・新しい抗感染症薬探索系の構築 ・微生物由来天然化合物 ・スタフィロキサンチン生成阻害剤
7	順天堂	順天堂大学	内科系臨床医学	ボドシンのエンドサイトーシスにおけるSNX9とNPC2の役割	佐 々 木 有	・ボドサイト ・ボドシン ・エンドサイトーシス
8	昭和薬科大学	昭和薬科大学	薬学	アデノウイルスにおける中和抗体回避機構の解明	平 井 孝 昌	・アデノウイルス新規再感染機構 ・ウイルスの膜上拡散 ・中和抗体による認識性
9	成蹊学園	成蹊大学	材料工学	NMRピックアップコイル用REBa2Cu307薄膜の創製	作 間 啓 太	・高品質高温超電導薄膜 ・ナノ組織制御 ・高感度NMRピックアップコイル
10	中央大学	中央大学	法学	債務不履行に基づく損害賠償における過失相殺の根拠と構造	齋 藤 航	・過失相殺 ・契約違反 ・損害賠償
11	帝京大学	帝京大学	境界医学	多角的アプローチによる骨格筋侵害受容器の定量的分類	太 田 大 樹	・骨格筋疼痛 ・非活動性侵害受容器 ・骨格筋支配神経新規マーカー因子
12	東京薬科大学	東京薬科大学	薬学	高度に縮環したエーテル系天然物の効率的合成法の開発	川 本 論 一 郎	・高度に縮環したエーテル系天然物 ・天然物の全合成 ・立体選択的合成
13	法政大学	法政大学	基礎生物学	細胞極性と細胞間力学相互作用による体軸決定機構の解明	西 川 正 俊	・体軸形成 ・自発的対称性の破れ ・細胞質流動
14	明星学苑	明星大学	史学	16世紀前期の在俗宗教に関する基礎的研究	芳 澤 元	・在俗宗教論 ・居士 ・職業仏道観
15	江戸川学園	江戸川大学	科学教育・教育工学	プログラミング教育を通じたICT問題解決力育成の指導法開発	小 原 裕 二	・プログラミング教育 ・問題解決力 ・情報の見方・考え方
16	関東学院	関東学院大学	機械工学	微細周期構造による円すいころ軸受の低トルク化	堀 田 智 哉	・転がり軸受（ベアリング） ・省エネルギー化 ・マイクロテクスチャ
17	金沢医科大学	金沢医科大学	基礎医学	ストレス応答キナーゼの遺伝子多型と神経変性疾患タウオパチー	平 松 伸 彦	・ストレス応答機構の遺伝的差異 ・タウオパチーと細胞ストレス ・ゲノム編集による病態モデル
18	金沢学院大学	金沢学院短期大学	子ども学	幼児期にふさわしいプログラミング体験活動プログラムの開発	村 山 大 樹	・プログラミング教育 ・幼児教育とICT ・AI時代の遊びと学び
19	新田塚学園	福井医療大学	健康・スポーツ科学	脳卒中片麻痺者のStiff Knee Gaitに対する下肢ペダリング動作の効果	藤 田 和 樹	・脳卒中による歩行障害 ・足のこわばり ・自転車エルゴメーターの効果
20	松本学園	松本短期大学	社会学	保育ソーシャルワークにおけるアセスメント・ツールの開発に関する研究	山 城 久 弥	・保育 ・ソーシャルワーク ・エコシステム
21	金城学院	金城学院大学	薬学	新規抗がん剤開発のための水溶性化修飾法の確立	市 丸 嘉	・新規抗がん剤 ・新しい水溶性化修飾 ・天然由来物
22	藤田学園	藤田保健衛生大学	生物科学	新規遺伝子モジュレーター環状RNAの未知の核外輸送経路に迫る	芳 本 玲	・ノンコーディングRNA ・環状RNA ・細胞内RNA輸送
23	同志社	同志社大学	心理学	悲しみを癒す分散型記憶モデルに基づく原理的対処法の検討一	白 井 真 理 子	・悲しみ ・分散型記憶モデル ・対処法
24	近畿大学	近畿大学	内科系臨床医学	膵切除に伴う耐糖能異常と糖尿病発症の実態調査と危険因子の解明	庭 野 史 丸	・膵切除術全例登録前向き観察研究 ・膵切除術後の耐糖能異常 ・糖尿病発症に寄与する危険因子
25	四條畷学園	四條畷学園大学	子ども学	スポーツ傷害予防のためのトレーニング方法の考案とその介入効果	木 下 和 昭	・体操競技 ・障害予防 ・スポーツ
26	加計学園	岡山理科大学	複合化学	低沸点フルオロプロピン誘導体の自在導入法の開発	奥 田 靖 浩	・フッ素化反応 ・イナミン（アミノエチン） ・生理活性物質
27	川崎学園	川崎医科大学	神経科学	嗅球におけるノルアドレナリン神経回路の解明	堀 江 沙 和	・匂いの情報 ・神経回路 ・ノルアドレナリン
28	福山大学	福山大学	薬学	食餌による腸内細菌叢の変化が大黃甘草湯の下剤活性に及ぼす影響	高 山 健 人	・大黃甘草湯 ・腸内細菌叢 ・レスポンダー・ノンレスポンダー
29	福岡学園	福岡歯科大学	歯学	骨基質タンパクの脂肪細胞に対する影響に関する研究	大 谷 崇 仁	・骨成分による脂肪細胞の細胞死 ・肥満に対する新たな薬理学的戦略 ・分子機序解明による本研究の加速
30	産業医科大学	産業医科大学	基礎医学	卵膜由来間葉系幹細胞を用いた新規心筋細胞分化誘導法の開発	石 兼 真	・間葉系幹細胞 ・分化誘導調節 ・グリコーゲン合成酵素キナーゼー3

日本私立学校振興・共済事業団
平成30年度 女性研究者奨励金 研究報告一覧

	学校法人名	学校名	研究分科	研究課題	研究者名 (敬称略)	キーワード
1	岩手医科大学	岩手医科大学	心理学	産後の生活介入による母親と子どもの心理的影響についての検討	事 崎 由 佳	・産後女性 ・生活介入 ・園芸療法
2	埼玉医科大学	埼玉医科大学	神経科学	自閉症リスク因子に対する性ホルモンのシナプスでの作用	柳 下 楠	・デグリー ・自閉症リスク因子 ・性ホルモン
3	順天堂	順天堂大学	神経科学	PARK2iPS細胞を用いたドパミン神経特異的な病態機序解明	横 田 睦 美	・PARK2患者iPS細胞 ・GFP標識ドパミン神経細胞 ・光顕電顕相関観察法
4	昭和大学	昭和大学	基礎医学	ドライアイ誘発性眼炎症に対する茶カテキンの保護効果	宇 高 結 子	・カテキン ・涙液移行 ・ドライアイ
5	白百合学園	白百合女子大学	心理学	児童期における歌唱活動の機能と役割の検討	春 日 文	・児童期における歌唱活動 ・アタッチメント ・コンパニオンシップ
6	東京歯科大学	東京歯科大学	歯学	22q11.2欠失症候群由来iPS細胞による顎骨病態機序の解明	小 田 嶋 彩 乃	・再生医療 ・iPS細胞 ・発症メカニズムの解明
7	東京女子大学	東京女子大学	心理学	子どもとのインタラクション経験が情動知覚に与える影響の検討	山 本 寿 子	・情動認知 ・大人と子どもの発達 ・顔と声の視聴覚コミュニケーション
8	東京電機大学	東京電機大学	心理学	VRを用いた身体機能向上プログラムの開発と心身への効果の検討	日 根 恭 子	・バーチャルリアリティ ・運動機能の向上 ・身体拡張
9	東京理科大学	東京理科大学	情報学基礎	母集団間で分散共分散行列が異なる場合における統計的手法の開発	川 崎 玉 恵	・仮説検定問題 ・ベレンスフィッシャー問題 ・F近似
10	東京薬科大学	東京薬科大学	薬学	近赤外線 (NIR) および紫外線 (UV) の皮脂腺に対する作用	秋 元 賀 子	・太陽光 ・紫外線 ・近赤外線
11	東邦大学	東邦大学	複合化学	ルシフェリンアナログの網羅的合成に向けた有機合成手法の開発	東 翔 子	・人工ルシフェリン ・新しい有機合成方法の開発 ・生物発光の利用と発展
12	日本医科大学	日本獣医生命科学大学	環境保全学	家畜および伴侶動物におけるコリスチン耐性菌保菌率に関する調査	木 邊 量 子	・薬剤耐性菌 ・最後の切り札コリスチン ・飼料添加物
13	貞静学園	貞静学園短期大学	教育学	新設保育所における特別支援教育推進に関する研究	白 取 真 実	・新設保育所 ・特別支援教育 ・保育士支援
14	神奈川大学	神奈川大学	文学	『源氏物語』の大衆文化における変容	平 田 彩 奈 恵	・源氏物語と大衆文化 ・古典文学の変容 ・現代の娯楽としての古典
15	金沢医科大学	金沢医科大学	境界医学	内因性抗線維化ペプチドAcSDKPの臨床応用への基盤研究	新 田 恭 子	・AcSDKP ・糖尿病腎症1期バイオマーカー ・糖尿病腎症
16	健康科学大学	修紅短期大学	科学教育・教育工学	科学的体験場面における「隠れたカリキュラム」の特質解明	後 藤 み な	・隠れたカリキュラム ・科学的な体験 ・幼児教育
17	松翠学園	滋賀文教短期大学	子ども学	教員養成における実践的音楽教育活動の具現化に向けた取り組み	藤 山 あ や か	・ドイツの器楽教育「Jeki」 ・音楽アウトリーチ活動 ・地域社会と連携した教育実践活動
18	椋山女学園	椋山女学園大学	心理学	ユーモアスタイルを用いたポジティブ心理学的介入の検討	高 岡 し の	・ユーモア ・ユーモアの多面性 ・ポジティブ心理的介入
19	愛知医科大学	愛知医科大学	内科系臨床医学	メディカルガスを主薬とした炎症性皮膚疾患適応外用薬剤の開発	福 重 香	・メディカルガス製剤 ・ウルトラファインバブルキャリア ・新規外用抗炎症薬の開発
20	京都薬科大学	京都薬科大学	薬学	新規GGCT阻害剤を用いた新しいがん治療戦略の創生	飯 居 宏 美	・GGCTを標的としたがん治療薬の創製 ・pro-GAのがん治療薬としての有用性 ・新規がん分子標的治療薬の開発
21	同志社	同志社大学	複合化学	ドラッグデリバリーを目的とした能動輸送ベシクルの設計	名 和 愛 利 香	・生体模倣的な化学システム ・非線形・非平衡科学 ・非生物系による自律運動
22	近畿大学	近畿大学	建築学	竹材の耐腐朽性を向上する加熱処理に関する研究	山 田 宮 土 理	・建築材料としての竹材の活用 ・加熱処理による耐久性向上 ・適切な加熱処理条件
23	近畿大学	近畿大学	薬学	肺病標的型吸入用薬物ナノ粒子の創製と肺線維症治療への応用	大 竹 裕 子	・吸入用薬物ナノ粒子の実用化 ・新規肺線維症治療薬としての応用 ・革新的な肺疾患治療の実現
24	森ノ宮医療学園	森ノ宮医療大学	腫瘍学	TPX2を介した肺腺癌の浸潤メカニズムを解明する	小 林 彩 香	・肺腺癌 ・早期治療し完治を目指す ・健康長寿
25	大阪キリスト教学院	大阪キリスト教短期大学	子ども学	子どもの塩味嗜好性の関連要因とそれに基づく食育支援策の検討	山 崎 圭 世 子	・幼児の味覚 ・食塩摂取 ・食習慣
26	甲南学園	甲南大学	複合化学	貴金属イオンを含む廃液中から貴金属を回収する光触媒の合成	外 山 真 理	・廃液中の有価金属イオンの固体化 ・新しい光還元触媒の開発 ・光触媒による金ナノ粒子製造計画
27	甲南女子学園	甲南女子大学	社会学	再就職した看護師の組織社会化に関する研究	小 西 由 起 子	・再就職した看護師の組織への適応 ・再就職看護師の実践能力を活かす ・再就職を機に看護実践を学びなおす
28	川崎学園	川崎医科大学	基礎医学	HTLV-1の持続感染が免疫老化制御機構におよぼす影響とその病因的意義の解明	瀬 島 寛 恵	・HTLV-1 ・免疫老化 ・慢性炎症
29	安田学園	安田女子大学	社会経済農学	家庭の食品ロスの実態と原因の解明	野々村 真 希	・家庭の食品ロス ・過剰除去の発生要因 ・調理行動の観察調査
30	福岡大学	福岡大学	基礎医学	イオン輸送体を標的とした加齢性難聴発症機序の解明と創薬応用	鈴 木 沙 理	・加齢性難聴 ・イオン輸送体 ・遺伝子改変マウス

2018
平成 30 年度（第 1 回）
若手研究者奨励金

Scholarship Fund for Young Researchers

研究報告（レポート）



日本私立学校振興・共済事業団

Promotion and Mutual Aid Corporation for Private Schools of Japan

変形性顎関節症の治療薬作出のための分子研究基盤の確立

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	ヨコタ セイジ 横田 聖司
所属等	岩手医科大学 生化学講座細胞情報科学分野 助教
プロフィール	H24 年 3 月に岩手医科大学歯学部を卒業し、H25 年 4 月に同大学大学院歯学研究科（歯科矯正学分野）に入学。大学院在籍中は変形性顎関節症の研究を行い国内、国外（92nd EUROPEAN ORTHODONTIC SOCIETY）の学会で発表を行う。H29 年 3 月に大学院を終了し、同年 4 月より同大学生化学講座細胞情報科学分野の助教に任用される。

1. 研究の概要

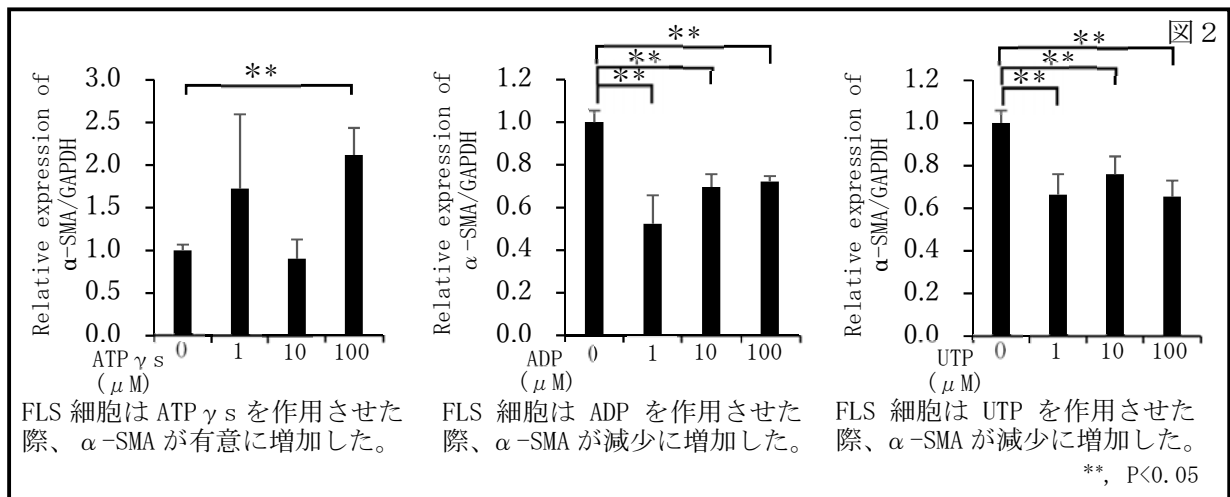
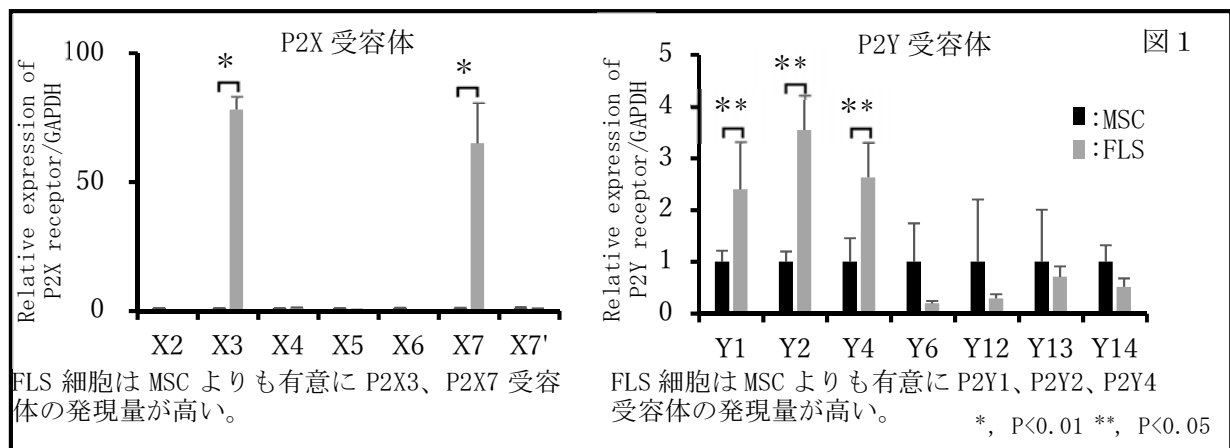
細胞内においてエネルギー源や DNA の構成成分として利用される ATP が細胞外シグナル伝達物質として働くことが知られるようになっておよそ半世紀が経つ。また ATP は、P2 受容体を起点とした細胞内シグナルを活性化して細胞の増殖・分化や遊走性に影響することが報告されている。一方、咬合不正などが原因とされる顎関節に対する異常な機械的刺激は同部に炎症を惹起することが知られているが、炎症で壊死した細胞から漏出する ATP などのヌクレオチドやその代謝産物が顎関節周囲組織にどのような影響を及ぼすかは不明である。そこで我々は、ATP をはじめとした P2 受容体リガンドが顎関節由来線維芽細胞様滑膜細胞株 fibroblast-like synoviocytes (FLS) (Int. J. Mol. Med., 39:799-808, 2017) の筋線維芽細胞への分化度にどのように影響するかについて調査した。

2. 研究の動機、目的

変形性顎関節症 (temporomandibular joint-osteoarthritis: TMJ-OA) は、滑膜組織の慢性炎症を伴う軟骨の変性、下顎頭の骨の空洞化や顎関節の線維症などの様々な症状を引き起こすが、その発症機序については不明な点が多い。TMJ-OA に認められる炎症の多くは TMJ 組織損傷により壊死した細胞から放出されるダメージ関連分子パターン damage-associated molecular pattern (DAMPs) によって引き起こされる無菌性炎症と考えられるが、その分子メカニズムの詳細を解明した例はない。そこで本研究では FLS 細胞による無菌性炎症の発症機構を解明することにより、TMJ-OA における炎症の発症に必須なターゲット分子を同定し、TMJ-OA に対する有効な治療薬作出のための分子研究基盤を確立することを目的とした。

3. 研究の結果

間葉系幹細胞 mesenchymal stem cell (MSC) は DAMPs の一つである細胞外ヌクレオチドに結合する各種 P2 受容体を幅広く発現していることが知られている (Lin-Hua Jiang et al.: J. Cell. Physiol., 232(2):287-297)。我々はこの MSC を control 細胞として、FLS 細胞における各種 P2 受容体の発現を確認した (図 1)。また、P2 受容体のリガンドである ATP、ADP、および UTP を作用させた際の筋線維芽細胞マーカーである α -smooth muscle actin (α -SMA) の発現を確認した (図 2)。



4. これからの展望

本奨励金の支援により、FLS 細胞における各種 DAMPs に対する受容体の発現および、筋線維芽細胞への分化度の影響について調査ができた。今後は、①TMJ-OA で想定される DAMPs で FLS 細胞を刺激した際のマクロファージの走化性因子(ケモカイン)あるいはケモカインの発現がどのように変化するのか DNA アレイやプライマーアレイあるいは抗体アレイで網羅的に調査する。また、②軟骨・骨が変形する際にその出現が必須と考えられる破骨細胞の増殖を促進する macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) をはじめとした液性因子ならびに接着因子を介した破骨細胞誘導機構が FLA 細胞にどのように影響するのか解明する。③さらに①で明らかとしたケモカイン、サイトカインに対する阻害剤と②で明らかとした破骨細胞誘導機構に対する阻害剤を TMJ-OA モデルマウスに局所投与することにより、TMJ-OA の各症状が緩和されることを確認する。

5. 社会に対するメッセージ

TMJ-OA 発症の原因として、重度の不正咬合や顎の非対称、咀嚼筋の過剰使用により顎関節に加わる過度の機械的ストレスやホルモンバランスなどが病因となりうると報告されているが、発症機構については不明な点が多い。本奨励金の支援により TMJ-OA の発症の原因の 1 つである無菌性炎症の解明の一助を担うことが出来ました。今後は TMJ-OA における線維症および軟骨・骨変形症の発症に必須なターゲット分子を同定し、それぞれの原因に対する有効な治療薬作出のための分子研究基盤を確立したいと思います。

わが国における財務諸表監査制度の社会的意義と経済的価値 －なぜ、経営者は監査報酬を支払うのか－

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	まつお しんたろう 松尾 慎太郎
所属等	東北公益文科大学 公益学部 講師
プロフィール	2016 年 4 月、東北公益文科大学助教に着任し、2018 年 4 月より現職。公益的な視点から財務諸表監査制度を再検討し、公益に資する会計・監査の在り方を構想している。そして、会計リテラシーの重要性を学生たちに啓蒙するため、教育活動に励んでいる。現在、日本監査研究学会課題別研究部会「テクノロジーの進化と監査」の部会員として、テクノロジーの進化に伴う未来の監査の在り方についての研究を行なっている。また、日本会計研究学会スタディ・グループ「財務諸表監査の基礎概念に関する研究」のメンバーとして、これまでの研究成果の棚卸しを行い、共通言語としての概念の明確化に取り組んでいる。

1. 研究の概要

わが国における財務諸表監査制度の社会的意義と経済的価値を再検討するべく、方法論として、シグナリング・ゲームを用い、財務諸表監査のシグナリング機能についての解明を行い、今後の実証研究の基礎となる観察命題を導出した。

2. 研究の動機、目的

近年、わが国において、財務報告制度の信頼を揺るがす会計不正が相次いで発生している。そして、そのような会計不正が起こるたびに、企業が作成した財務諸表の信頼性について独立の第三者の立場から保証を行っている監査人は批判にさらされている。そして、現状の改善策として、企業との馴れ合いを防止し、監査人が新しい視点で財務諸表監査に臨めるよう、監査事務所のローテーションの議論がなされるようになった。つまり、監査人の独立性の強化と職業的懐疑心の保持・発揮が強く要請されているのである。しかし、監査契約の締結が財務諸表作成者である経営者で行われ、経営者から監査報酬が支払われているという状況下では、監査事務所のローテーションを実施したとしても、究極的な意味での監査人の独立性に関しては疑念を抱かれるであろうし、職業的懐疑心の保持・発揮に関しても、報酬を支払っている相手方を疑ってかかるということは、そもそも契約を締結するのかという問題にも派生する。

従来の監査論の議論では、法規制が存在せずとも、企業は自主的に財務諸表監査というサービスを購入するインセンティブを有しており、財務諸表監査は自然発生的に生成されるものであるとして、スチュワードシップ仮説と情報仮説にもとづいて説明がなされてきた。そして、そこには、経営者は適正な財務報告を行っているということが暗黙的に仮定されており、経営者と監査人の間に潜在的な利害の対立は存在していない、という監査公準が反映されている。しかし、近年の相次ぐ会計不正からも分かるように、この監査公準にもとづいた財務諸表監査についての理論構築は限界を有している。財務諸表監査制度の社会的意義という視点から、スチュワードシップ仮説と情報仮説を再検証し、財務諸表監査の経済的価値を再確認する必要性が生じている。

わが国において、金融商品取引法や会社法において財務諸表監査は法的な制度として実施・運用されており、その生成に関しても戦後において欧米諸国からの要請によって取り入れられた制度であるため、自然発生的なものであるとはいいがたい。そのため、財務諸表監査制度の社会的意義が、監査が自然発生的に存在した欧米諸国とは異なる可能性が存在する。そして、その帰結として、財務諸表監査制度の経済的価値に関する認識が欧米諸国よりも低いのではないだろうか。

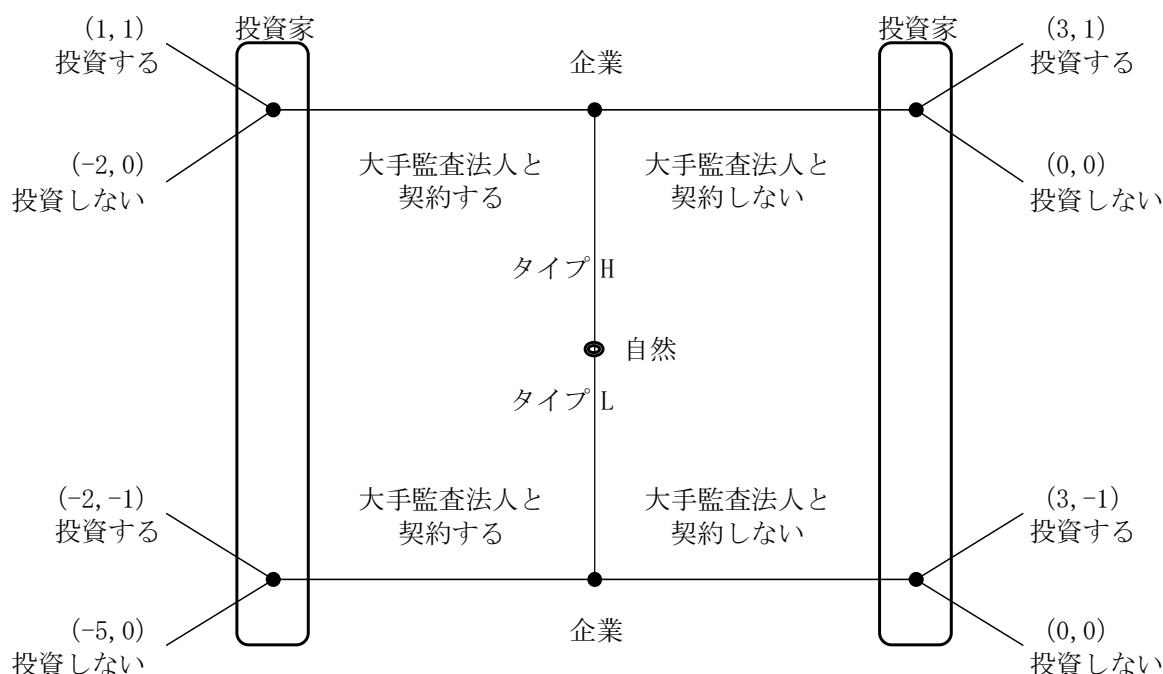
以上のような動機・背景から、わが国における財務諸表監査制度の社会的意義および経済的価値を究明するべく、「なぜ、経営者は監査報酬を支払うのか」という問題意識を設定し、財務諸表監査のシグナルが機能するための観察命題を導出することを目的とした。

3. 研究の結果

Spence による労働市場のシグナリングについての知見を援用し、ベイジアン・ゲームを用いて数値例による検討を行った。ゲームの設定は、次のとおりである。

- ◆ タイプ：企業の財務安定性
 - タイプ H：財務安定性が高い企業（ビジネス・リスクが低い）
 - タイプ L：財務安定性が低い企業（ビジネス・リスクが高い）
 - 投資家は、タイプ H とタイプ L の割合を 1：2 と推定している
- ◆ 投資家の利得
 - タイプ H に投資すれば、投資家の利得は 1
 - タイプ L に投資すれば、投資家の利得は -1
 - 投資を行わない場合は、投資家の利得は 0
- ◆ 企業が大手監査法人と契約する際のコスト
 - タイプ H のコストは 2
 - タイプ L のコストは 5
- ◆ 投資家は、投資する場合、企業に 3 支払う

以上の設定にもとづき、ゲームの状況は、次のように示すことができる。



このゲームの均衡点は、次のとおりである。

- ◆ タイプ H の企業が大手監査法人と契約する場合（分離均衡）
 - タイプ H の企業は大手監査法人と契約をし、タイプ L の企業は大手監査法人と契約をしない。
 - 投資家は大手監査法人と契約をした企業に投資をし、大手監査法人と契約をしな

い企業に投資をしない。

- 投資家の信念は、企業が大手監査法人と契約するならば、タイプHと予想し、企業が大手監査法人と契約しないならば、タイプLと予想する。
- ◆ タイプHの企業が大手監査法人と契約しない場合（一括均衡）
 - どのタイプの企業も大手監査法人と契約しない。
 - 投資家は、企業が大手監査法人と契約したかどうかに関わらず、投資しない。
 - 投資家の信念は、企業が大手監査法人と契約しないならば、事前予想と同じであり、企業が大手監査法人と契約するならば、企業の財務安定性が高い確率 p を $0 \leq p < 1/2$ と予想する。

以上の結果から、シグナリング機能の解明を行うと、以下のように説明できる。

- ◆ 分離均衡
 - 企業の大手監査法人との契約がシグナルとなり、財務安全性の高い企業は大手監査法人と契約すれば、投資される。
 - シグナルが有効であるためには、企業の財務安全性によって大手監査法人との契約コストが異なることが重要である。
- ◆ 一括均衡
 - 大手監査法人との契約がシグナリングとならず、非効率な結果となる。

シグナリング機能の解明から、シグナルが有効となるためには、企業の財務安定性によって、大手監査法人と契約する際のコストが異なることが重要であるとの理解にもとづき、「ビジネス・リスクと大手監査法人に対する監査報酬には正の関係がある」という観察命題が導出された。

4. これからの展望

監査人・監査報酬問題研究会の調査では、現在の監査報酬額に対する評価として、上場会社は「やや高い」という評価をしていることが分かっている。最近の傾向として、監査報酬の金額に折り合いがつかず、監査法人を変更する企業が増加している。しかし、有効な監査の実施には適切な監査報酬が必要であり、監査人・監査報酬問題研究会の調査では、わが国の監査報酬額についてはアメリカに比べて低廉であることが明らかとなっている。この点から、わが国の監査報酬決定プロセスは適切に機能していない可能性があり、また、財務諸表監査についてのコスト・ベネフィット分析が不十分であると思われる。今回の研究結果から、資本調達コストの影響を考慮したモデルを構築し、シグナリング機能をふまえた経営者側の行動原理の解明により、適切な監査報酬の決定プロセスを明らかにすることが展望として挙げられる。現在、監査の質に関する影響要因を定量的に測定するという試みが行なわれており、そこでは、企業におけるリスクの状況によって、監査人が監査資源の投入量を調整して対応しているかを捉える指標として、監査報酬の金額が検討されている。監査の質の影響要因の一つとして、監査報酬が適切な指標かについての議論に対しても、本研究の規範的理論にもとづいた成果は貢献があると考えられる。

5. 社会に対するメッセージ

わが国においては、戦後になり、財務諸表監査制度が輸入されたという背景からも、財務諸表監査が担っている機能や有している価値に対して、社会の認識が希薄なように思われる。大きな会計不正が明らかになった際には、監査プロフェッションは批判の対象となるが、財務諸表の裏や会計帳簿の裏に潜んでいた大きな黒い不正を監査プロフェッションが本来の在るべき会計の姿に引き戻していたとしても、社会一般の人には見えてこず、彼らが褒められることはない。そのような状況では、次の世代を担う監査プロフェッションも現れなくなってしまうであろう。監査プロフェッションに対する適切な認識は、時間をかけて醸成されていくものであるため、その点に寄与することができていれば、望外の喜びである。

ナノポア型シーケンサーを用いた 発熱性好中球減少症の病態解明

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	サカイ ジュン 酒井 純
所属等	埼玉医科大学 医学部 感染症科・感染制御科 助教
プロフィール	平成 23 年 3 月 埼玉医科大学医学部医学科を卒業。医師免許取得後、同年から 2 年間、埼玉医科大学国際医療センターにおいて初期臨床研修を修了した。その後、埼玉医科大学大学院 医学研究科 博士課程に入学。国立感染症研究所真菌部協力研究員を兼任し、真菌学の研究に従事した（新規抗真菌薬に関する研究）。平成 30 年 3 月、同大学院博士課程を修了し、博士（医学）の学位を取得した。その後、埼玉医科大学 医学部 感染症科・感染制御科に入局。以後、一貫して感染症の遺伝子診断学の開発のほか、真菌感染症の病態解明を目指したトランスレーショナル・リサーチに取り組んでいる。

1. 研究の概要

発熱性好中球減少症（以下 FN）は、血液疾患や、生物学的製剤などの薬剤を契機に、極度の好中球減少に陥ることで、何らかの感染症を引き起こした状態をいう。宿主の免疫機能が低下している状態であるため、早期診断・早期適正治療が行われなければ、予後不良になりうる。しかし、FN 患者の病態解明は遅れている。特に急性白血病寛解導入時や造血幹細胞移植の患者で FN をきたした場合、その 10 % 未満の例で血液培養が陽性となり、20~30 %で肺炎などの感染巣が臨床的に確認でき、残りの大多数の症例は原因不明のままとされる。また、次世代シーケンス技術(NGS)を用いたこれまでのメタゲノム解析のほとんどが、16S rRNA 遺伝子のシーケンス解析に基づいており、ウイルスや真菌の関与を明らかにすることはできない。

我々は、FN と臨床診断された際に採取した末梢血培養検体を用い、ナノポア型・ポータブル・シーケンサー（以下 MinION）を用いて微生物叢を解析することにより、FN の病態解明と原因病原体の同定を試みた。MinION はノート型 PC で制御可能であり、シーケンスのコアユニットが使い捨てである。そのため、高額な研究機器を事前に準備する必要がなくゲノム解析が可能であるうえ、シーケンス・データをクラウドネットワーク上でリアルタイムに解析することができる。本方法は、新興・再興感染症も網羅した幅広い感染症診断診断に活用可能であり、医療資源に乏しい環境においても実施可能であることは、今後の発展性が高い基盤技術であるといえる。本技術を用いた新たな診断技術により、FN の起因菌の早期診断・早期治療が可能か検証することが最終目標となる。その先行研究として我々は、菌血症症例において、MinION の菌同定能が従来の検査法と比較して、有効な検査法になりうるか、比較し検証する。

2. 研究の動機、目的

着想に至る動機

FN は患者死亡につながる致死的な緊急症のひとつであり、培養検査での原因微生物の同定が極めて困難であるため、抗菌薬の適正使用の実践は難しい。実際、広域抗菌薬が長期間継続されることが多く、培養検査で菌種が同定されない以上、抗菌薬の de-escalation が行われないことから、結果として FN に対する経験的治療が耐性菌を生み出し、医療費の高騰を招いている。しかも、感染症治療が長期化すれば、がん化学療法中の継続が困難となり、患者の生命予後は一層悪化する。我が国では医療施設での NGS の配置は諸外国に比べて遅れており、その成果を臨床の現場で活用し、直接的に治療へ活かすためには、ソフト・ハードの両面から困難を生じている。

以上のことから、取り扱いが簡単で、メンテナンスが不要な使い捨てタイプの MinION の活用が解決への突破口となると考えた。本研究の成果が、培養検査による原因病原体の同定が困難な FN 患者に対する抗菌薬の適正使用を実現させ、患者の予後改善と耐性菌の出現の抑制に貢献し、医療費の低減につながることを目標に掲げ、本研究を着想した。

目的

FN の病原体診断を可能にする技術を開発し、抗菌薬の適正使用を実現させ、患者の予後を向上させるとともに、効率的な医療資源の使用に貢献する。がん化学療法中に FN と診断された患者末梢血を用い、メタゲノム解析を行う。その結果、病態形成に関与する病原体を網羅的に解析し、適切な抗菌薬・抗真菌薬の使用を可能にすることで、患者の死亡率を低下させ、安全ながん化学療法を可能にする。さらに、FN に関与する病原体のゲノム疫学解析を行い、FN の病態解明を試みる。

本研究の先行調査として、血流感染症の症例における MinION の菌種同定能を、従来の質量分析装置 (MALDI-TOF MS)・16S rRNA sequencing の結果と比較・検証する。

3. 研究の結果

16S rRNA sequencing と MALDI-TOF MS と比較した、MinION の菌種同定能 (Table 1)

当院細菌検査室に提出された血液培養ボトル陽性症例 38 例 (グラム陰性菌, GNR 18 例; グラム陽性菌, GPC 20 例) を MinION にて菌種の同定を行い、MALDI-TOF MS、16S rRNA sequencing との結果と比較した。

GNR では、MinION による同定結果はすべて MALDI-TOF MS による判定結果と一致したが、16S rRNA sequencing では 1 検体のみ MinION で *Klebsiella*

Table 1. Comparison of the identification results with MALDI/TOF MS, 16S rRNA sequencing and MinION sequencing.

Pathogens	Detection rate	
	MALDI-TOF MS	16S rRNA sequencing
GNR(n=18)	18 / 18 (100 %)	17 / 18 (94.4 %)
GPC (n=20)	12 / 20 (60.0 %)	12 / 20 (60.0 %)

variicola と判定した検体について *K. pneumoniae* と判定された。GPC では、MinION の MALDI-TOF MS と 16S rRNA sequencing との一致率は 60.0%に留まった。とりわけ *Staphylococcus caprae*, *S. aureus* の同定能が低く (42.8 %, 0 %)、菌種により陽性的中率に差が見られた。

Extended-spectrum β lactamase の同定 (Table 2)

MinION でのシーケンス解析ソフト Epi2ME の ARMA workflow にてグラム陰性菌の同定能の際に抽出された ESBL 遺伝子と、菌株の薬剤感受性試験結果を検証した。薬剤感受性試験

は、CLSI (document M100-S27)の基準にてESBL産生菌かを判定した。

No.9 の *Escherichia coli* において、CTX-M33 型を検出した。同株は、他 *E. coli* 株と異なり、薬剤感受性試験にてESBL産生菌と判定された。*K. pneumoniae* 株3菌株は、うち2菌株No.14とNo.15の株でSHV-143、SHV-66とSHV-143を検出した。薬剤感受性試験にて、ESBL産生菌と判定されたものは、No.15のみであった。SHV-143は*K.*

pneumoniae の染色体内に存在している遺伝子であり、非ESBL遺伝子であった。

ESBL遺伝子はESBL産生菌と判定された2例中2例で同定されたため、ESBL産生菌の迅速同定検査法としての可能性があると考えられた。

4. これからの展望

本研究により、MinIONによる血液培養ボトル陽性検体の菌種同定ならびに耐性菌判定の可能性を示した。今後は、FNと臨床診断された際に採取した末梢血を直接的に検体として用い、MinIONを用いた微生物叢の解析技術の実用化を目指す。特にGPCにおけるシーケンス精度に、DNAの精製度が大きく影響することが明らかとなった。そのため、最適なゲノムDNAならびにプラスミドDNAの抽出方法にて、さまざまな方法を検証し、MinIONによるシーケンス精度の向上を諮る。さらに、菌種同定にとどまらず、染色体ならびにプラスミド上に存在する抗菌薬耐性に関わる遺伝子の有無、あるいはSNP解析を試み、病原体の質的診断まで可能にできるように開発をすすめる。解析データの蓄積がすすめば、患者の臨床情報(先行する抗菌薬投与の有無、好中球数、基礎疾患、がん化学療法のメニュー)とメタゲノム解析の結果について統計学的検討を行い、FNの病態解明とともに、FNに対する経験的治療の際の抗菌薬選択に関するエビデンスの確立を目指す。

5. 社会に対するメッセージ

我々は、今回の研究成果を土台とし、FN患者の医療に貢献できる実用的な臨床検査技術として開発を目指すとともに、さまざまな医療分野での貢献を目指し努力する。

Table 2. Comparison of ESBL *bla* genes by ARMA results and PCR amplification

Species	Isolate no.	ARMA workflow	Routine methods	
			PCR	Disk diffusion
<i>Escherichia coli</i>	5	None	-	Non-ESBLs
	6	None	-	Non-ESBLs
	7	None	-	Non-ESBLs
	8	None	-	Non-ESBLs
	9	CTX-M33	CTX-M (+)	ESBLs
	10	None	-	Non-ESBLs
	11	None	-	Non-ESBLs
	12	None	-	Non-ESBLs
	13	None	-	Non-ESBLs
<i>K. pneumoniae</i>	14	SHV-143	SHV (+)	Non-ESBLs
	15	SHV-66, 143	SHV (+)	ESBLs
	16	None	-	Non-ESBLs

間質性肺炎モデルマウスにおける血管内皮プラズマローゲンの 評価

－脂質代謝から新規治療を目指した基礎的研究－

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	ナカムラ ユウスケ 中村 祐介
所属等	獨協医科大学 医学部 助教
プロフィール	再生医療を目指した iPS 細胞の血管内皮分化における脂質代謝、脂質プロファイルの解析、喘息の分子病態学の研究に従事し、現在は指定難病である特発性肺線維症の治療を目指し、病態形成における血管内皮細胞と脂質代謝の関わりをテーマに研究しております。特発性肺線維症が克服できる未来を作れる一翼になれば幸いです。

1. 研究の概要

特発性肺線維症は特発性間質性肺炎に含まれる慢性進行性の呼吸器疾患であり、予後不良の疾患である。本邦の生存期間中央値は 35 ヶ月と報告されており (Am J Respir Crit Care Med 2014; 190: 773-9)、指定難病である。本邦の有病率は 10 万人あたり 10 人とされ、発症率は 10 万人あたり 2 人ほどである (Am J Respir Crit Care Med 2014; 190: 773-9)。基本的には原因不明であり、種々の病態形成に関わる理論が報告されている。治療はピルフェニドンやニンテダニブなどの抗線維化薬が近年使われており、ガイドライン上 (Am J Respir Crit Care Med 2015 192 e3-e19) は条件付きでの推奨とされる。効果としては疾患の進行抑制効果が主であり、寛解に至る例は少ない。特発性肺線維症は慢性進行性の疾患であり、時に急激に呼吸不全が生じる急性増悪もある。このように、進行性であり予後も不良であり、効果的な治療法も乏しい疾患である。したがって、特発性肺線維症に対する病態解析や新規治療法の開発は急務である。

肺線維症の病態として活性酸素が関与する機序が報告されており、組織ストレスにより活性酸素が産生され気道上皮細胞のアポトーシスが生じ、それに続き線維芽細胞の筋線維芽細胞への分化が起こり、膠原線維の産生に繋がるという機序である (Biochimica et Biophysica Acta 1832 (2013) 1028-1040)。また、間質性肺炎に対して血管形成が病態生成を担う可能性を論じた報告も認められる。IPF において線維化の軽度な部分は血管形成が増加し、高度線維化部分は血管形成が減少するとされる。血管網の低下が、組織の異常修復を引き起こし線維化が形成されると考えられている (Chest. 2012;142(1):200-207.)

我々は血管内皮細胞にとってプラズマローゲンが重要なリン脂質であることを明らかにした (Sci Rep. 2017;7(1):9377.)。プラズマローゲンはビニルエーテル結合を *sn*-1 位に持つリン脂質であり、脂質二重膜の構成成分である他、内因性の抗酸化物質としても働くと報告されている (Am J Physiol Heart Circ Physiol. 283(2), H671-9 2002.)。

本研究では、プラズマローゲンが肺線維化に対して、抑制的に関わる可能性があるかと仮定し研究を行った。これまで、虚血性心疾患、喫煙、加齢等でプラズマローゲンの減少を報告したものは存在したが (Atherosclerosis. 241(2), 539-46 2015, J Neurochem. 77(4), 1168-80 2001, PLoS One. 3(12), e3863 2008)、間質性肺炎とプラズマローゲンの関連に注目した報告は存在しない。最近、血管内皮にとってプラズマローゲンが重要であることを報告し、これまでの研究にて肺における血管網の異常が特発性肺線維症の病態形成に関わるという知見も

ある。両者を組み合わせ間質性肺炎におけるプラズマローゲンを評価することは新しい試みである。本研究では、間質性肺炎におけるプラズマローゲンの作用を解析した。

2. 研究の動機、目的

特発性肺線維症にとって脂質や血管網の構築や組織の活性酸素が病態形成に関与する報告がされ、血管網の主要構成細胞である血管内皮細胞にとって、プラズマローゲンが重要であるという知見が得られた。今回プラズマローゲンが特発性肺線維症で生じる活性酸素に対して、防御的に働いていると仮説を立てた。本研究目的はブレオマイシン間質性肺炎モデルマウスにおけるプラズマローゲンの動態を明らかにし、それを用いた治療の可能性を評価することである。

3. 研究の結果

(未発表データのため、概略のみ記載)

間質性肺炎モデルマウスを作成し、コントロール群と間質性肺炎群、間質性肺炎+プラズマローゲン群で解析。プラズマローゲンは結合した脂肪酸によって、投与後に伴う反応が変わる結果が得られた。今後、論文作成し報告する。

4. これからの展望

今後の発展としては、本研究で得られたプラズマローゲン投与に伴う生体反応に対しての分子生物学的、脂質生化学的観点からメカニズムを解析する。また、プラズマローゲンに現行の肺線維症治療薬であるピルフェニドン、ニンテタニブを併用した場合の影響も同様に評価する。両薬物における効果は線維化を惹起するサイトカインの抑制と推察されているが(Int J Med Sci. 2015; 12(11): 840-847. Expert Rev Respir Med. 2010;4(3):301-10. Core Evid. 2015;10:89-98.)、プラズマローゲン併用でのサイトカインの動態も評価する。

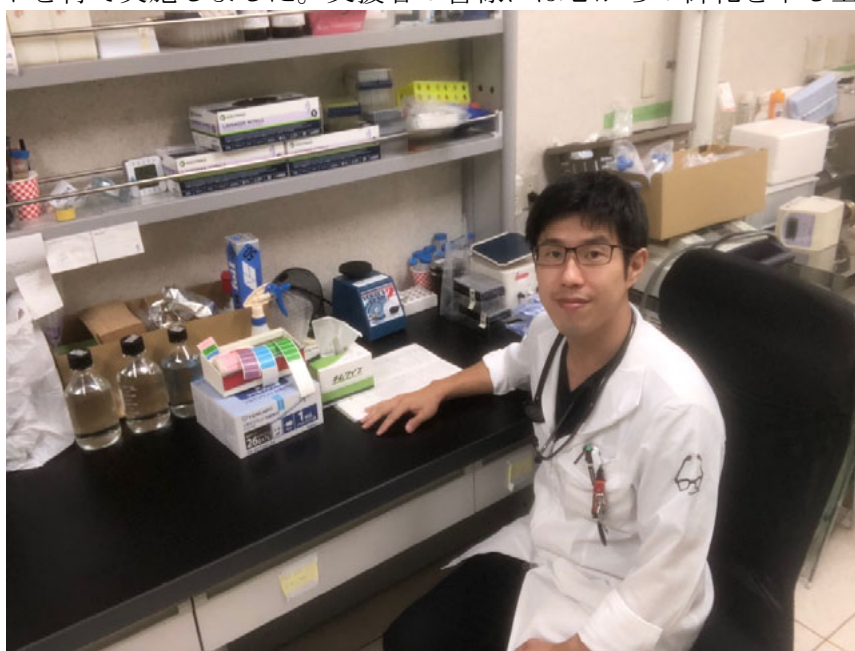
5. 社会に対するメッセージ

本事業支援者の皆様へ

本研究のテーマである特発性肺線維症は慢性的進行性の経過となることが多く、時に急性増悪を起こし重篤になることがある疾患です。在宅酸素が必要となる症例や、肺癌の合併も多く、本邦の指定難病となっております。現時点で進行を遅らせる治療しかなく、悪化した肺(線維化)を改善させることは非常に困難です。本研究は、肺線維症の治療に向けた基礎研究として私学事業団のサポートを得て実施しました。支援者の皆様には心からの御礼を申し上げます。

右の写真は、小生が研究室で実験をしているものです。病棟と外来と研究室を行き来しながら研究を進めております。

今後ともご支援よろしくお願い致します。



長期震災復興における記憶、トラウマ、死者の政治理論的研究

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	ハナダ タイヘイ 花 田 太 平
所属等	麗澤大学外国語学部助教
プロフィール	2005 年よりエクセター大学大学院に留学し、英文学（ルネサンス文学）を専攻。2006 年に同大学院より優等修士号、2011 年に博士号を取得。専門は英文学、西洋政治思想史、批評理論。現在は震災復興をめぐる死者や記憶の問題にも取り組んでいる。著書に、『 <i>Samson in Labour: Milton and Early Modern Political Theology</i> 』（麗澤大学出版会、2019）。主な論文に、「大震災と死者の政治学」（『麗澤レビュー 23 号』）、「他者を求めるところ：ハンナ・アレントと日本の戦後」（『新日本学 31 号』）。

1. 研究の概要

本研究は長期震災復興における「復興主体」形成過程を、ハンナ・アレントの政治理論を援用して考察するものである。東日本大震災では、グローバリゼーションのもと社会関係資本が収縮した現代社会において、復興過程が長期に亘ることが焦点化された。そのなかで人はどのように喪失の現実を受け容れ、トラウマから回復するのか。この課題を明らかにするために本研究では、行政主導のインフラ復旧等の影で見過ごされがちな、当事者やそれを囲む支援者・傍観者たちの「物語り」(storytelling) や対話 (dialogue) を通じた復興主体形成に着目し、関連文献の分析と聞き取り調査等のフィールドワークを実施する。なかでも数多くのメディアでも取り上げられた被災地の「霊性の言説」(金菱、2016) を、現状への批評性をもった災害ユートピア的言説として学術的研究の遡上にのせる。そのうえで、死者をめぐる「物語り」がトラウマ経験の言語化＝共有化＝記憶化による回復という、文化的な「治療共同体」(Therapeutic Community) 形成であることを理論化する。本研究の成果が、今後のより人間化された災害復興政策を支える理論構築と公共空間形成に貢献できるものとしたい。

2. 研究の動機、目的

東日本大震災が顕在化させたのは、戦後の経済成長やグローバリゼーションの影で進行していた社会関係資本の収縮であった。本研究の目的は、そのようなグローバル社会の厳しい条件下で、被災当事者が大災害における死者の両義性に仮託しながら、「喪の作業」(mourning work) を通して復興主体を構築していくプロセスを明らかにすることである。

研究代表者は過去に初期的なフィールドワークを行い、その理論的序説を「大震災と死者の政治学」（『麗澤レビュー23 号』2017 年 9 月）という研究論文としてまとめた。その調査過程で研究の射程は広がり、より本格的な現地調査に基づいた理論構築が求められると考えるにいたった。本応募の動機もそこにある。

死者と生還者の両義的な関係性についてはこれまで、トラウマ回復における「喪の作業」の重要性として、臨床心理学、医療人類学、民族学、災害社会学等の学問分野で扱われてきた。だが、いずれのアプローチも、当事者を治療や援助の「対象」とみなすことによって、「患者」や「被災者」の主体性の萌芽を捉えきれずにいるケースが少なからず見られた。

この問題を回避するために、本研究では、政治理論家アレントの物語理論と複数性 (plurality) の政治概念を援用する。ナチ・ドイツの全体主義批判のなかでアレントは、自由で対等な複数の人間主体が創出する政治空間において、人は活動や発言を通して自らの唯一性と取替え不可能性を開示すると考えた。研究代表者は、復興支援の消極的受給者としての「被災者」概念の代わりに、当事者を自らのトラウマ体験の「語り手」や「対話者」として捉え直す

ことにより、独自の政治言語をもった復興主体として位置づける。

3. 研究の結果

本研究は現在実施中の長期震災復興研究3カ年プロジェクトの基礎固めのためのものである。この一年間で、アレントの物語論に関する理論的文献の収集分析、津波被害を受けた東北沿岸部の「霊性の言説」を扱った刊行物の収集分析、南三陸町、閑上、石巻市における研究体制作りのための震災経験の語り部たちへの準備的な聞き取り調査等を実施した（e.g. 語り部タクシー、被災当事者[語り部、学生等]）。

聞き取り調査の主な内容は、復興の長期化と復興過程における死者の役割や喪失の意味の変化についてである。現地で「霊性の言説」はどのような方法や規模で流通しているのか、被災当事者たちは震災経験の語りと復興をどのように関係づけているのか等を調査対象とした。

本年度の研究成果は以下の媒体で発表を予定している。

- ・「死者との対話：大震災と霊性、記憶、グリーフ」NPO 法人 千葉県東葛地区・生と死を考える会主催（7月例会）2019年7月27日（招待講演）
- ・「長期震災復興論：時間、記憶、死者」公益財団法人モラルロジー研究所・道徳科学研究センター主催「モラルサイエンス・コロキウム・震災復興とモラルサイエンス～尊厳ある復興をめざして～」2019年10月9日（招待論文発表）
- ・「長期震災復興論：記憶、死者、時間」（仮題）麗澤大学紀要103巻（査読論文）

4. これからの展望

2011年の東日本大震災から復興10年目となる2021年まであと2年である。そのまゝに東京オリンピックも控えており、壮絶な震災の記憶は風化し、トラウマ体験を共有する機会はますます減少すると予想される。戦後の日本は、どのような悲惨な災害でも、復興が完成した途端にリセットし、「忘却」し、「次の事業へと移る」傾向がある。この傾向は、防災・復興に関する経験や知識の蓄積や継承といった側面からも、マイナスの要因として働いてきた。

阪神・淡路、東日本とすでに二つの大震災を経験した平成日本は、今日令和の時代へと移りながらも、いまだ首都直下地震、南海トラフ地震を待つ「大震災の時代」の只中にいる。東日本大震災の復興が長期化した要因が一刻も早く解明され、私たちは次の震災復興に備える必要がある。本研究は災害復興過程を単なる物的復旧や心療内科的こころのケアで捉えずに、生者と死者との関係の再構築として捉え直し、復興主体形成における記憶や慰霊等の「喪の作業」の政治学的機能を明らかにする。その作業を通して、今後の復興政策を「人間化」するための理論構築に貢献するものである。

この復興における霊性や「祈り」の重要性を、継承の場としての「教育」にどのように生かしていくか、という視点もますます大切になっていくと考えられる。

加えて、東日本大震災復興のケースをハンナ・アレントの政治理論を通して普遍化することにより、日本やドイツの戦後復興（＝敗戦の文化的トラウマからの回復）との歴史的連関や、海外における災害復興過程との比較を可能にする等、研究の将来的な発展を見通すことができる。

5. 社会に対するメッセージ

今回の研究奨励金により、ハンナ・アレントの物語論の理論的文献の収集分析、「霊性の言説」の収集分析、震災経験の語り部たちへの聞き取り調査を実施する等、現在実施中の長期震災復興研究3カ年プロジェクトの基礎固めができました。

復興が長期化し、震災の記憶が「風化」することと反比例するかのようになり、他者の死をどう受け容れればいいのか、喪失をどう引き受ければいいのかという問題は、当事者一人ひとりのなかでより切迫したものとなっています。これらの「喪の作業」は、震災直後は、個人の問題にとどまらず、コミュニティの問題でもあり、日本社会の問題でもありました。しかし、8年を経過した今、多くの当事者は「ワンオペ」で自分たちの心の復興と向き合っているのが現状です。なぜそうなってしまったのか—本研究のような人文社会科学の見地から、復興過程を捉え直す作業が急務となっているのです。そして、微力ながらもこのような研究こそが、我が国

の子孫へ語り継ぐべき「震災の記憶」の一助となるに違いありません。今後も、継続したご理解とご支援をよろしくお願いいたします。

黄色ブドウ球菌が生産する黄色色素生成阻害剤の探索

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	コバヤシ ケイスケ 小林 啓介
所属等	北里大学薬学部 微生物薬品製造学教室 助教
プロフィール	私は 6 年制課程の一期生として薬学部に入學しました。卒業研究の過程で、日本が誇る天然物化学研究の面白さに魅了され、学士を修了後、大学院博士過程 (4 年制) に進学しました。4 年間さらに研究に没頭し、その成果として日本学術振興会特別研究員 (DC2) への採択もしていただきました。現在は私大薬学教員としてアカデミックの世界に残り、教育と研究の両方に携わっていますが、自身の研究を遂行するだけでなく、学生の方にも研究の面白さを伝え、基礎研究の裾野をもっと広げていきたいと考えています。

1. 研究の概要

Staphyloxanthin (STX) は、黄色ブドウ球菌が特有に生産する黄色色素である。STX は 2 分子の farnesyl diphosphate を基質とし、各種中間体を経て生合成される。これまでに、生合成経路中の酵素である CrtM や CrtN の阻害により、菌自身の生育に影響を与えることなく、マウスへの感染が抑制されることが報告されている。すなわち、STX は宿主免疫系からの攻撃に対する防御物質であり、その生合成を阻害することで、抗菌作用を示さずに宿主免疫系を利用して菌を排除するという新しい概念の抗感染薬薬につながることを期待される。しかし、未だ STX 生合成阻害剤はほとんど報告されていない。そこで本研究では、STX 生合成経路中間体の変動を UFLC を用いて解析する新たな STX 阻害剤探索系の構築を行い、微生物由来化合物ライブラリーから STX 生成を阻害する 2 化合物を見出した。

2. 研究の動機、目的

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) は世界的な規模でその蔓延が問題となっている。従来は、高齢者や新生児などの抵抗力が低い患者に発症することが主であったが、近年は、健康人にも感染する市中感染型 MRSA や、第一選択薬であるバンコマイシンに低感受性の菌 (VRSA) の出現も報告されており、新たな薬剤の開発が求められている。従来の抗菌薬の開発アプローチでは、細菌の細胞壁やタンパク質合成を阻害するなど菌の生育に直接作用を示すことから、耐性菌の出現に繋がると考えられる。一方で、菌の生育には関係のない標的、例えば、**宿主への感染性や病原性のみを低下させる**ことができれば、耐性菌を生み出さない新たな抗感染薬としての開発が期待できる。この考えに基づき、申請者は黄色ブドウ球菌が特有に生産する**黄色色素 staphyloxanthin (STX)**に着目した。黄色ブドウ球菌内において、STX は 2 分子の farnesyl diphosphate を出発原料とし、CrtM から CrtO までの各酵素により各中間体を経て生合成される (図 1)。これまでに、CrtM または CrtN の阻害により、生育に影響を与えることなくマウスへの感染が抑制されることが報告されている (*Science* **319**, 1391-1394 (2008)、*Nat. Chem. Biol.* **12**, 174-179 (2016))。すなわち、STX の生合成を阻害することで、抗菌作用を示すことなく宿主への感染性を低下させ、宿主内の防御機構を利用して菌を排除することが可能になると考えられる。通常は黄色である菌体の白色化を指標とした方法により、

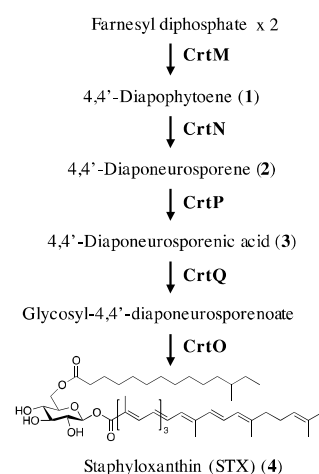


図 1. STX 生合成経路

これまでに STX 生合成阻害剤の探索が行われてきたが、未だその数は少なく、また CrtN 以降の阻害剤の報告例はない。STX 生合成経路において、farnesyl diphosphate および **1** は無色であるが、それ以降の化合物は黄色を呈す。すなわち、菌体の白色化を評価するだけでは、CrtN 以降の生合成酵素に対する影響を評価できないことが考えられた。そこで本研究では、STX および STX 生合成経路中間体の菌体内量の変動を検出することで **CrtM から CrtO までの阻害剤を網羅的に探索する新たな評価方法**の構築と、その評価系を用いた新たな STX 生合成経路阻害剤の探索を目的として研究を行った。

3. 研究の結果

本研究では実験上の安全を考え、黄色ブドウ球菌の野生株である *Staphyrococcus aureus* FDA209P 株を使用した。

1) STX 生合成経路中間体を検出する評価系の構築 STX 生合成経路阻害剤の探索

96 穴プレートに *S. aureus* FDA209P 株の培養液 (McFarland 値 0.5 相当) を播種し、37°C で 96 時間培養した。菌体を MeOH (50 μ L) により抽出し、その菌体抽出液 10 μ L を Ultra Fast Liquid Chromatography (UFLC) (カラム: LaChromUltra C18 (2.0 ϕ x 75 mm)、移動相: 80-100% CH₃CN/H₂O-0.05% H₃PO₄ 5 min、100% CH₃CN 15 min、流速: 0.55 mL/min、検出: UV 290, 450 nm) に注入し分析した。その結果、4 つの主要なピークを検出し、特徴的な UV スペクトルおよび MS 解析から、検出波長 290 nm の条件下で検出されたピークを STX 生合成経路中の **1**、および検出波長 450 nm 条件下で検出された 3 つのピークをそれぞれ **2**、**3** および STX (**4**) と同定した (図 2)。この解析条件下、CrtN 阻害剤である naftifine (*Nat. Chem. Biol.* **12**, 174-179 (2016))(0 ~ 50 μ g/mL) で処理した菌体抽出液を解析したところ、CrtN 反応基質である **1** のピークの増加と、CrtN 以降の STX 生合成経路産物 **2**、**3** および **4** のピークの減少をともに認めた。これは naftifine が CrtN を阻害したことにより、**1** から **2** への酵素変換が阻害されたためと考えられ、本評価系を用いて、STX 生合成中間体を網羅的に解析できることが示唆された。

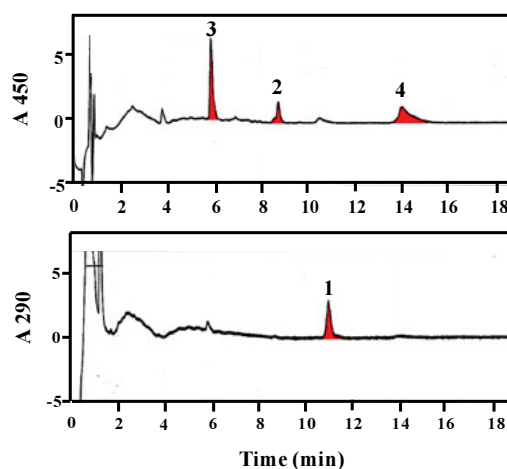


図 2. UFLC を用いた STX 生合成経路産物の検出
検出波長 450 nm (上段)、290 nm (下段)

2) 化合物ライブラリーを用いた STX 生合成経路阻害剤の探索

本評価系を用いて、我々のグループが保有する天然由来化合物ライブラリー約 350 化合物を評価した。その結果、2 化合物に **4** 生成を減少させる活性を見出した。真菌由来の化合物である FD549 (JP080003097 (1994)) は、naftifine と同様に **2**、**3** および **4** のピークの減少と **1** のピークの増加を示したことから、阻害点は CrtN であることが示唆された。また真菌由来化合物である citridone A (*Chem. Pharm. Bull.* **54**, 1659-1661 (2006)、*J. Antibiot.* **67**, 445-450 (2014)) は **1** から **4** 全てのピークを減少させたことから、阻害点は CrtM であることが示唆された。

3) 酵素レベルでの CrtM 阻害活性の評価

S. aureus FDA209P 株から抽出した DNA を鋳型として取得した *crtM* 遺伝子をベクターにライゲーション後、大腸菌に導入した。その大腸菌より、His タグ精製を行い、精製 CrtM を取得した。CrtM 阻害活性は Liu らの方法 (*Science* **319**, 1391-1394 (2008)) を参考に行った。サンプル存在下、精製 CrtM とその基質である farnesyl diphosphate を混合し 37°C で 1 時間酵素反応後、酢酸エチルにより酵素反応を停止させた。酢酸エチル層を乾固後、MeOH に再溶解し、UFLC で解析した。本精製酵素を用いて CrtM 阻害剤である zaragozic acid を評価したところ、その IC₅₀ 値は報告されている阻害活性と良い一致を示した。一方で、citridone A は 100 μ g/mL を作用させても **1** の生成を阻害しなかった。したがって citridone A の作用点は CrtM より上流である farnesyl diphosphate 合成酵素や、STX 生合成酵素群の遺伝子調節因子などに作用している可能性が示唆された。CrtM と同様に、CrtN についても、現在大腸菌異種発現系による精製酵素の取得

を行っており、FD549 の酵素レベルでの評価を実施する計画である。

以上の研究成果については、第 60 回日本脂質生化学会、第 91 回日本生化学会大会、日本薬学会第 139 年会で発表を行った。

4. これからの展望

本研究では黄色ブドウ球菌内の STX 生合成経路産物量の変動を UFLC を用いて検出する新たな STX 生合成阻害剤探索系の構築を行った。FD549 は naftifine と同様の UFLC 変動パターンを示したことから、その作用点は CrtN と予想された。CrtN 阻害剤として naftifine やその誘導体、また NP16 (*MBio* 8, e01224-17 (2017)) が報告されているが、FD549 は既存の CrtN 阻害剤の構造とは全く異なっていることから、学術的な新規性が強く示唆される。さらに今後、酵素レベルでの CrtN 阻害活性について明らかとするとともに、*in vivo* レベルでの感染実験を行い、抗感染症治療薬のリード化合物へと発展させていきたいと考えている。

微生物資源はこれまでに、抗感染症薬をはじめとして、抗脂質異常症薬や免疫抑制剤などの創薬シーズだけでなく、研究用ツールとしてなど多岐に渡って有用であることが示されてきた。しかし近年、天然物化学研究は、製薬企業の撤退などに伴い下火になってきていると言われており。私は今後、アカデミックの立場から、本研究のように工夫を凝らした評価系を通して、天然物の魅力を発信し、天然物研究が再興する一助となるよう研究に励んでいきたいと考えている。

5. 社会に対するメッセージ

本研究では、宿主への感染性や病原性のみを低下させることに着眼した抗感染症薬へのアプローチを行いましたが、こうした挑戦的な研究に奨励金をいただけたことをとても感謝しております。本基金により、研究を遂行するための試薬等を整えられただけでなく、学会に参加し、多くの先生方とディスカッションする機会を得たことは何にも代えがたい財産となりました。私は、本研究の他にも、既存の抗菌薬の作用を増強させる化合物の探索およびその作用機序解析の研究も行っており、既存薬のポテンシャルを最大限に発揮させることに着眼した抗感染症(補助)薬へのアプローチも行っています。感染症の大規模な蔓延は多くの死者を出すなど人類の歴史上常に問題を引き起こし、その度に新しい抗生物質が開発されてきましたが、現在は、新しいタイプの抗菌薬がなかなか見つからないこと、また、経済的なメリットがあまりないことなどから新薬の開発はほとんど行われなくなっています。しかし、耐性菌出現の問題は常に存在しています。私たちがアカデミックで行っている独創的な発想に基づく研究が、こうした問題を解決するための一助となることを期待しています。これからもチャレンジングな研究へのご支援を宜しくお願い致します。

ポドシンのエンドサイトーシスにおける SNX9 および NPC2 の役割

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	ササキ ユウ 佐々木 有
所属等	順天堂大学医学部腎臓内科学講座
プロフィール	平成 28 年 4 月～現在 順天堂大学医学部 腎臓内科学講座 助手 糸球体足細胞（ポドサイト）の研究に従事 平成 28 年 3 月 順天堂大学大学院医学研究科 医学専攻課程 腎臓内科学 博士課程修了 ポドサイトにおけるポドシンのエンドサイトーシスについての研究 学位論文：Sorting Nexin 9 facilitates podocin endocytosis in the injured podocyte (Scientific Reports) 平成 24 年 4 月 The 9th International Podocyte Conference Scholarship, The Neph Cure Foundation

1. 研究の概要

本研究は糸球体足細胞（ポドサイト）の障害機序を明らかにすることを目的としており、SNX9発現抑制細胞や過剰発現細胞における検討を行い、またNPC2とポドシンの相互作用について検討する予定であった。糸球体足細胞障害の最終段階である糸球体硬化において、細胞内蛋白の Rac1とmTOR が足細胞の構造を維持し、糸球体硬化を抑制することを論文化することができた。また、蛋白分解酵素であるカテプシンLは腎障害時にポドサイトで発現が亢進しスリット膜や細胞骨格関連蛋白を過剰に分解し蛋白尿をもたらすことが知られているが、ネフローゼ・糸球体硬化モデルであるピューロマイシン腎症ラットにおいて、カテプシンLの発現が亢進しているが、カテプシンLの阻害物質であるシスタチンCの発現とは一致しないことを論文化した。

2. 研究の動機、目的

腎臓糸球体足細胞間に存在するスリット膜の異常は、蛋白尿を出現させ、ひいては持続的な糸球体障害に基づく不可逆性の腎障害を誘導する。我々のグループは、足細胞障害時に、スリット膜蛋白の一つであるポドシンがエンドサイトーシスにより足細胞内で局在変化することを、腎障害モデルラットと IgA 腎症の腎生検検体にて見出した(Cell Tissue Res. 360:391-400, 2015)。さらに yeast two hybrid 法を用いて、ポドシンと接着する蛋白質の同定を行い、エンドサイトーシスの制御蛋白である Sorting Nexin 9 (SNX9) を糸球体上皮細胞で初めて同定した。ネフローゼを呈する糸球体腎炎は、微小変化群に認める可逆的変化から、巣状糸球体硬化症に認める不可逆的な変化を引き起こすものまで多彩である。可逆的病態では、SNX9 の発現は弱くポドシンとは一致しなかった。一方、不可逆的病態においては SNX9 の発現が著しく強くなり、ポドシンと極めてよく一致することが明らかとなった。今回の研究で SNX9 の機能的役割をさらに詳細に調べるため、発現抑制あるいは過剰発現細胞における検討を行う予定と

した。そのうえで、SNX9 の発現欠失マウスを作成し、糸球体硬化モデルを惹起しその病態の進行を詳細に観察することで、蛋白質の役割を解析したいと考えた。

さらに yeast two hybrid 法にてポドシンと接着する蛋白質として Niemann-Pick Disease Type C2 (NPC2) にも注目しており、検討を行う予定とした。NPC2 は後期エンドソーム/ライソゾームからのコレステロール等の脂質輸送に関与している蛋白で、NPC2 の遺伝子変異によりライソゾーム内に遊離型コレステロール、糖脂質が蓄積するライソゾーム病であるニーマンピック病が引き起こされる。SNX9 および NPC2 の解析により足細胞におけるエンドサイトーシスを含めたメンブレントラフィックの経路を明らかにし、正常状態における機能の解明を行う。さらに、ネフローゼに伴う不可逆的病態形成のメカニズムを明らかにすることは、治療薬開発の突破口となる可能性を秘めており、難治性ネフローゼから慢性腎不全へと移行する患者数を減少させるための基盤研究として重要と考えた。

3. 研究の結果

糸球体足細胞障害の最終段階である糸球体硬化において、細胞内蛋白の Rac1 と mTOR が足細胞の構造を維持し、糸球体硬化を抑制することを論文化することができた。Rac1 のポドサイト特異的ノックアウトマウスにおいてネフローゼ・糸球体硬化モデルであるアドリアマイシン腎症を引き起こすと、硬化糸球体が増加し糸球体上のポドサイトの数はコントロールマウスと Rac1 ノックアウトマウスで差はないにもかかわらず、その細胞の大きさは Rac1 ノックアウトマウスでは小さくなっていた。さらに Rac1 と細胞の大きさに関与するキナーゼタンパクの mTOR との関係を調べ、コントロールマウスにアドリアマイシンを投与するとポドサイトにおいて mTOR の活性化が見られたが、Rac1 ノックアウトマウスでは抑えられており、ポドサイトが障害を受けると Rac1 が存在することで mTOR が活性化され、ポドサイトの大きさが保持される分子メカニズムが明らかになった。また、蛋白分解酵素であるカテプシン L は腎障害時にポドサイトで発現が亢進しスリット膜や細胞骨格関連蛋白を過剰に分解し蛋白尿をもたらすことが知られているが、ネフローゼ・糸球体硬化モデルであるピューロマイシン腎症ラットにおいて、カテプシン L の発現が亢進しているが、カテプシン L の阻害物質であるシスタチン C の発現とは一致しないことを論文化した。蛋白分解酵素とその阻害物質の分泌のバランス変化が糸球体基底膜からの糸球体足細胞の脱落だけでなく、糸球体の透過性亢進につながる糸球体基底膜分解を誘発する可能性があると考えている。

4. これからの展望

当初目的としていた、SNX9 および NPC2 の機能的役割を詳細に調べるため、SNX9 の過剰発現モデルを作成し培養足細胞における SNX9 の役割を解析し、足細胞特異的な SNX9 knock out マウスを作成し、足細胞における SNX9 の役割を解明する。正常状態での様子をスリット膜関連蛋白質、足細胞骨格形成の蛋白質、エンドサイトーシス関連蛋白質との発現を蛍光免疫染色と Western Blot 法において解析する。さらにアドリアマイシン投与により糸球体硬化を誘発し、上記蛋白質の動態を評価する予定である。

また NPC2 に関しては、ポドシンの相互作用について検討する。ポドシンとの HEK T293 細胞での遺伝子導入後の共免疫沈降法による結合を確認できており、本研究ではポドシンとの足細胞内因性蛋白質での共免疫沈降法による結合の確認、さらにポドシンの蛋白精製を行い、直接相互作用があるかを確認する。本研究でえられた結果は、学内の研究協力者と適宜討論を行い、研究成果を学会、欧米紙等に随時発表していくことを考えている。

5. 社会に対するメッセージ

学術研究は、人文・社会・自然科学のあらゆる学問分野における幅広い知的創造の活動である。創薬をターゲットとした臨床研究も重要であるが、その基盤となる基礎研究への理解、支援を期待したい。

アデノウイルスにおける中和抗体回避機構の解明

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	ヒライ タカマサ 平井 孝昌
所属等	昭和薬科大学 薬剤学研究室 特任助教
プロフィール	私は、昭和薬科大学の薬学部薬学科を卒業後、同大学の博士課程に進学しました。博士課程では、アデノウイルスの構成タンパク質の機能解析を行い、ウイルスタンパク質を用いて、タンパク質等の高分子を送達可能な新たなドラッグデリバリーシステムを考案しました。 現在は同大学の特任助教として、中和抗体を回避可能なアデノウイルスの新たな感染機構の解明を目指し研究に励んでいます。また、遺伝子導入に関する知識と経験を活かし、国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部との共同研究を行っており、アデノウイルスベクターを用いて iPS 細胞由来の再生医療製品中の未分化細胞の高感度検出法の確立を目指しています。

1. 研究の概要

本研究は、感染細胞内で増殖した 5 型アデノウイルス (Ad) が「中和抗体により阻害されることなく他の細胞に感染する」という新たな感染機構を有することに着目し、Ad がどのように中和抗体を回避して他の細胞に感染するのかを明らかにすることを目的とした。今回行った 2 つの検討内容を下記に示す。

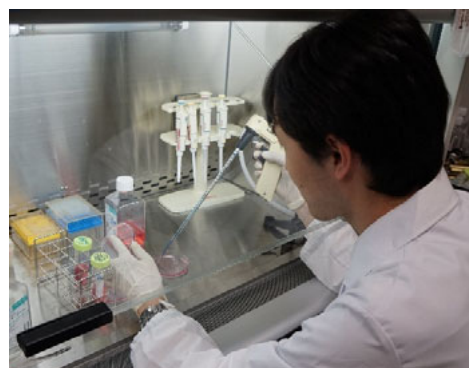
(1) Ad における中和抗体の結合量に関する検討

中和抗体は量依存的に Ad の感染を阻害する。つまり、Ad に多くの中和抗体が結合するほど、感染はより強く阻害される。そこで、既知の感染機構と新たな感染機構とで Ad に結合する中和抗体の量を比較し、新たな感染機構を想定した条件の方が中和抗体の結合量が少ないことを明らかにした。

(2) 異なる血清型の Ad における中和抗体回避能に関する検討

これまでの検討では、5 型 Ad を用いて検討を行ってきた。Ad には 50 種を超える血清型が存在するが、5 型以外の血清型においても同様に中和抗体を回避可能であるかは明らかとなっていない。そこで、5 型とはサブグループおよび受容体が異なる 35 型 Ad を用いて再感染量を評価し、中和抗体存在下においても感染細胞から他の細胞への感染が起きることを示した。

一般的に中和抗体の影響を検討する場合、中和抗体存在下において Ad がどの程度細胞に侵入し、遺伝子を発現するかを評価する。一方、本研究は中和抗体存在下において、感染細胞内で増殖した Ad の他の細胞への感染を評価するため、Ad の感染細胞内での挙動や感染細胞から他の細胞への移行過程についても重要である。特に、新規感染機構では、Ad が感染細胞から隣接細胞の膜上に広がることが示唆されている。この特異なウイルスの挙動に関する検討はされておらず、本研究の特色と言える。ウイルスの挙動と中和抗体との関係を明らかにすることで、中和抗体からの回避機構の解明につながると推測される。



2. 研究の動機、目的

Ad は、咽頭結膜熱や流行性角結膜炎等を引き起こすウイルスである。一方、ウイルスの機能をがんや難治性疾患等の治療に応用する試みが進められており、その 1 つとして、腫瘍溶解性ウイルスが挙げられる。腫瘍溶解性ウイルスとは、遺伝子組み換えにより、がん細胞でのみ増殖するウイルスであり、がん細胞に感染するとウイルスが増殖しがん細胞を傷害する。増殖したウイルスは他のがん細胞に再び感染するため、作用が持続し高い抗腫瘍効果が期待されている。しかし、ウイルスを用いた治療法は、ウイルスに対する免疫応答の影響を考慮しなくてはならない。特に、中和抗体は感染防御の観点では非常に重要な役割を果たすが、治療用ウイルスの治療効果は減弱される。したがって、中和抗体による影響を受けない腫瘍溶解性ウイルスが求められている。ウイルスは宿主の機能をうまく利用し、感染と増殖を繰り返し、長きにわたり生き残ってきた。ウイルスは宿主の免疫を回避する様々な機構を備えており、Ad もインターフェロンの放出や細胞傷害性 T 細胞による攻撃を抑制する戦略を有している。そこで、私は中和抗体による阻害を回避するための機構も存在すると予想し、中和抗体存在下における Ad の感染について検討を行った。その結果、感染細胞内で増殖した Ad は中和抗体による阻害を受けずに、他の細胞に感染できることを明らかとした。さらなる検討を行うことで、Ad をより有効に活用でき、効果の高い治療法の構築につながると考え、中和抗体の回避機構の解明を目的として本研究を実施した。

3. 研究の結果

(1) Ad における中和抗体の結合量に関する検討

はじめに、中和抗体の結合量を測定するための実験系を確立した。5 型 Ad に対するマウス由来の中和抗体を得るために、不活化した Ad ベクターを投与したマウス (Balb/c、オス) から血液を採取し、血清を得た。得られた血清が中和活性を有することを確認し、マウス由来中和抗体として用いた。まず、Ad ベクターにマウス由来中和抗体を作用した。マウス由来の中和抗体が結合した Ad ベクターを ELISA 用のプレート (ヒト由来の抗 Ad 抗体を吸着) に添加し、well に結合させた。その後、マウス IgG 抗体に対する二次抗体 (ホースラディッシュ・ペルオキシダーゼ標識) および発色試薬を作用して発色させた。反応停止後、450 nm の吸光度を測定した。その結果、中和抗体を含まないマウス血清を作用した Ad ベクターでは吸光度は増加しなかったが、マウス由来の中和抗体を作用した Ad ベクターでは吸光度が増加した。また、マウス由来の中和抗体の濃度依存的に吸光度が増加した。したがって、本実験系により、Ad に結合した中和抗体量を比較可能であることが示された。

次に、中和抗体からの回避における中和抗体の結合性の影響を明らかにするために、上清中に浮遊した Ad (既知の感染機構を想定) および膜に結合した Ad (新規感染機構を想定) に中和抗体を作用し、各条件における抗体結合量を比較した。この時、well 中の Ad 量を補正するために、well に結合した Ad 量を PCR 法を用いて測定した。その結果、Ad 1 粒子当たりの中和抗体の結合量は、上清中に浮遊している Ad よりも膜に結合している Ad の方が少なかった。このことから、Ad は細胞膜から離れずに、膜上を移動することで、中和抗体の結合性を低下させ、一定の感染力を保持可能であることが示唆された。

(2) 異なる血清型の Ad における中和抗体回避能に関する検討

5 型以外の血清型においても中和抗体による阻害を受けずに再感染が可能かを明らかにするために、緑色蛍光タンパク質 (GFP) を発現する 35 型 Ad ベクターを用いて、中和抗体存在下における再感染について検討を行った。通常、ベクターは細胞に感染しても増殖しないように改変されているため、細胞には 35 型 Ad ベクターが増殖可能な 293 E1b 細胞を用いた。まず、35 型 Ad ベクターを 293 E1b 細胞に作用し、感染細胞とした。その後、感染細胞と区別するために ParRed で染色した 293 E1b 細胞を感染細胞とともに中和抗体存在下で培養し、GFP 発現量を flow cytometry を用いて測定した。その結果、わずかではあるが、ParRed 染色した細胞においても GFP の発現が見られた。このことから、35 型 Ad は、5 型 Ad と同様に、中和抗体存在下においても再感染が可能であることが示された。また、Ad は血

清型や感染受容体に関わらず、中和抗体を回避可能である可能性がある。今後、5 型 Ad と同様に膜上での挙動を検討し、同一のメカニズムであるかを明らかにする。

4. これからの展望

前述したとおり、ウイルスを用いた治療法において、免疫回避能は重要な機能である。Ad は、腫瘍溶解性ウイルスとしての臨床応用に向け、研究が行われている。今回得られた成果は、Ad の中和抗体回避能に関わる新たな知見であり、腫瘍溶解性ウイルスとしての機能向上に寄与すると考える。しかし、新規感染機構による感染量は、既知の感染機構と比べて少ないと考えられることから、今後、新規感染機構を促進する方策を探索し、中和抗体の影響を受けない腫瘍溶解性ウイルスを構築する。また、35 型 Ad においても中和抗体を回避可能であることが示唆されたため、感染受容体や血清型に関わらず、どの Ad においても中和抗体を回避可能な感染機構を有する可能性がある。Ad は軽微な症状で済むことが多いが、特異的な治療法がないため、小児や免疫力が低下した人では重症化することがある。新規感染機構を阻害することができれば、中和抗体により感染が完全に阻害され、重症化を防ぐことができると予想される。今後、メカニズム解明を進め、新たな治療標的を同定し、Ad 感染症の新たな治療方策を構築する。

ウイルスは感染症を引き起こし脅威となるが、様々な機能を有しており、応用することができれば有益な存在にもなり得る。ウイルスの機能を一つずつ紐解いていき、ウイルスの新たな利用法や制御法を開発していきたい。

5. 社会に対するメッセージ

ウイルスに関する研究は単に感染症を防ぎ治療するためだけではなく、がんをはじめとする様々な疾患に対する治療法としての応用を目的に行われています。本研究は、基礎研究の段階ですが、基礎検討を重ねていくことで、ウイルスの新たな可能性を切り開き、画期的な治療法の確立につながると考えています。私が行っている研究が将来誰かを助け、社会に貢献するよう、研究に励んでいきますので、今後ともご支援をよろしくお願い申し上げます。

また、ご支援をいただきました方々には、深く感謝申し上げます。1 年間トライアルエラーを繰り返し、研究の難しさと奥深さを改めて感じることができました。今回の研究を通して、研究と向き合い、様々な問題を解決していく力を養うことができたと感じています。誠にありがとうございました。

NMR ピックアップコイル用 $\text{REBa}_2\text{Cu}_3\text{O}_7$ 薄膜の創製 ー低コスト・高性能化に向けてー

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	サクマ ケイタ 作間 啓太
所属等	成蹊大学 理工学部 助教
プロフィール	仙台電波高専を卒業後、岩手大学において修士号、名古屋大学において博士号を取得。銅酸化物高温超伝導体を主とした機能性酸化物薄膜の研究に従事。スパッタリング、MBE、MOD、IAD 蒸着法、CVD など多くの製膜手法を用いることができ、それぞれの製膜手法を活かした高品質薄膜の作製が可能。

1. 研究の概要

本研究では、Nuclear Magnetic Resonance(NMR)用ピックアップコイルへの応用に向け、低コストプロセスである Trifluoroacetates-Metal Organic Deposition (TFA-MOD)法(図 1)を用いた CeO_2 バッファ $R\text{-Al}_2\text{O}_3$ 基板上 $\text{REBa}_2\text{Cu}_3\text{O}_7$ (REBCO) 薄膜および特性の大幅な向上が期待されるナノ組織制御技術の創製を行った。アニール処理を行うことにより、原子レベルで平坦かつ結晶性が非常に良好な CeO_2 バッファ $R\text{-Al}_2\text{O}_3$ 基板が得られた。その CeO_2 バッファ $R\text{-Al}_2\text{O}_3$ 基板上に作製した REBCO 薄膜は $J_c \approx 9.2 \text{ MA/cm}^2$ と世界最高クラスの超伝導特性を示した。加えて、ナノ組織制御による人工ピンニング点であるナノ粒子(BaMO_3 , $M = \text{Zr}$ or Hf)の導入により、さらなる特性の向上にも成功した。作製された REBCO 薄膜を用いることにより、高感度な NMR ピックアップコイルの作製が可能であると考えられる。

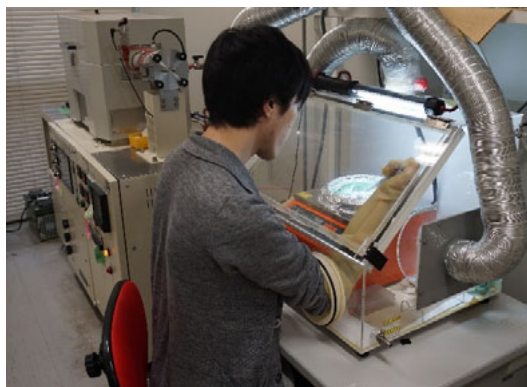


図 1 TFA-MOD 法による製膜、
手前:TFA-MOD 溶液の塗布を行うグローブボックス、奥:焼成を行う電気炉

2. 研究の動機、目的

NMR は物質の分子構造や原子の結合状態を調べることができ、タンパク質や創薬などの研究開発に幅広く用いられている強力な分析装置である。しかし、その原理上他の分光法と比べて感度が非常に低いことや測定時間が長いことが知られている。そのため、感度向上の研究開発が盛んに行われている。感度を向上させる手法として、主に 1) 高磁場化、2)NMR 用ピックアップコイルの高信号低雑音比(高感度化)がある。1) 銅酸化物高温超伝導線材を用いたマグネットを用いることにより、1GHz 以上(磁場換算 23.5 T)の強磁場が得られている。しかし、高磁場 NMR 装置は大型化、複雑化し、高コストとなる。2) 高感度 NMR 用ピックアップコイルは既存の NMR 装置でも使用でき、容易にかつ安価に NMR 測定の感度向上が望める。NMR 用ピックアップコイルの感度を向上させるためには、ピックアップコイルの表面抵抗(R_s)が小さな材料が求められている。銅酸化物高温超伝導体である REBCO は、NMR 用ピックアップコイル材料として使用されている常伝導体(Cu)と比べて R_s が 3 桁程度小さいことが報告され、感度($\propto 1/\sqrt{R_s}$)が数十倍向上することが期待されている。しかしながら、REBCO 薄膜の主な作

製手法であるマグネトロンスパッタリング法やパルスレーザー堆積法は高価な真空装置を必要とし、かつ、原料低収率のため、NMR 用ピックアップコイルのような機器の作製コストが高くなることが予測される。加えて、基板材料として、低価格・大面積・低誘電率である CeO_2 バッファ $R\text{-Al}_2\text{O}_3$ 基板を用いることによりさらなる低コスト化が望める。そのため、低コストプロセスによる CeO_2 バッファ $R\text{-Al}_2\text{O}_3$ 基板上の REBCO 薄膜の創製が望まれている。また、NMR 用ピックアップコイルは高磁場下(現在市販されている NMR 装置の磁場は 10T 以上)で用いられるため、REBCO のような超伝導体は磁場下では R_s などの超伝導特性が低下し、感度が低下する。そのため、磁場中においても高い超伝導特性(低 R_s)を示す REBCO 薄膜が求められる。

本研究では、①低コストプロセスである TFA-MOD 法を用いた CeO_2 バッファ $R\text{-Al}_2\text{O}_3$ 基板上の REBCO 薄膜の創製および②ナノ組織制御による磁場中超伝導特性の向上を行う。

3. 研究の結果

①低コストプロセスである TFA-MOD 法を用いた CeO_2 バッファ $R\text{-Al}_2\text{O}_3$ 基板上の REBCO 薄膜の創製

一般的にバッファ層は下部基板と比べて、結晶性および表面平坦性が悪くなり、上部薄膜の特性が劣化することが知られている。これまで、筆者は独自のアニール処理技術により、バッファ層の結晶性および表面平坦性の改善し、上部薄膜の特性を向上させることに成功してきた。そこで、 CeO_2 バッファ $R\text{-Al}_2\text{O}_3$ 基板をアニール処理することにより CeO_2 バッファ層の結晶性および表面平坦性の改善を行った。図2に CeO_2 バッファ層の結晶性のアニール温度依存性を示す。ここで $\Delta\omega$ は out-of-plane の結晶性、 $\Delta\Phi$ は in-plane の結晶性である。アニール温度の増加に伴い、結晶性が改善されていることが分かり、1000°Cにおいて最も結晶性が良好になった。図3に表面性状のアニール温度依存性を示す。800°C以上のアニール温度では、原子レベルで平坦な表面が得られた。

次に、アニール処理した CeO_2 バッファ層上に TFA-MOD 法を用いて REBCO 薄膜を作製した。図4に REBCO 薄膜の J_c のアニール温度依存性を示す。ここで、 J_c は $J_c \propto 1/R_s$ の関係があり、 J_c が高いほど R_s は小さくなる、つまり、高 J_c ほどピックアップコイルの感度が向上する。最も結晶性および表面平坦性が良好な CeO_2 バッファ層上の REBCO 薄膜は $J_c \approx 9.2 \text{ MA/cm}^2$ と世界最高クラスの超伝導特性を示した。これは、結晶性および表面平坦性の改善により、REBCO 薄膜の粒間結合が向上したためと考えられる。以上から、低コストプロセスおよび低価格、低誘電率基板を用いた REBCO 薄膜の創製に成功した。

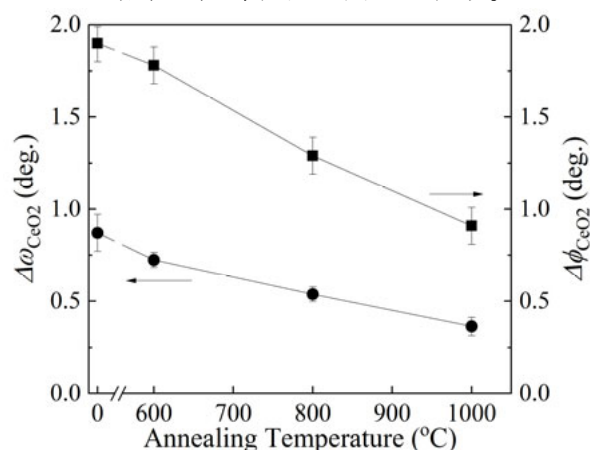


図2 CeO_2 バッファ層の結晶性のアニール温度依存性

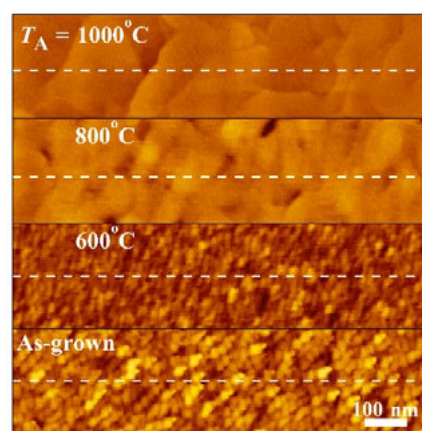


図3 表面性状のアニール温度依存性

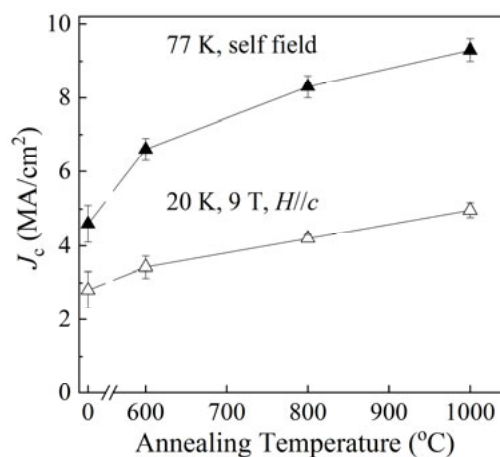


図4 J_c のアニール温度依存性

②磁場中超伝導特性向上(低 R_s)に向けた REBCO 薄膜のナノ組織制御技術の創製

REBCO のような超伝導体は、磁場中では超伝導体内に侵入した磁束がローレンツ力を受け運動するため磁場の増加に伴い超伝導特性が急激に低下する。そのため、REBCO の結晶性および粒界結合の改善や磁束の運動を抑制する人口欠陥の導入などのナノ組織制御が重要となる。そこで、図 5 挿入図に示すような BaMO_3 ($M=\text{Zr}$ or Hf) ナノ粒子を導入し、磁場中超伝導特性の向上を試みた。図 5 にナノ粒子有無 REBCO 薄膜の J_c の印加磁場依存性を示す。ナノ粒子有 REBCO 薄膜はナノ粒子無 REBCO 薄膜と比べて、高磁場中においても高い J_c を示した。ナノ組織制御によるナノ粒子導入より、NMR ピックアップコイルの使用環境下(高磁場中)においても高い超伝導特性を有する REBCO 薄膜の作製技術を確認した。

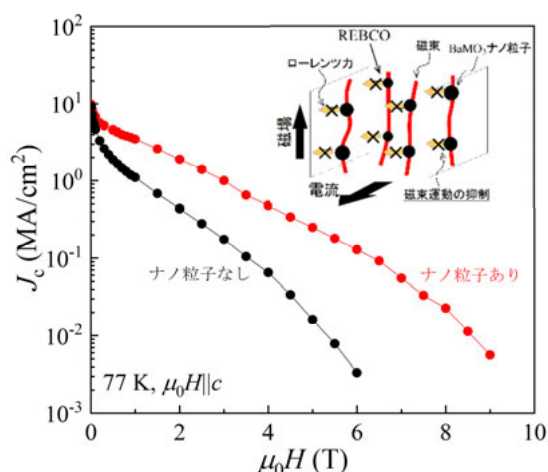


図 5 ナノ粒子有無 REBCO 薄膜の J_c の印加磁場依存性

4. これからの展望

以上の通り、低コストプロセスおよび低価格、低誘電率基板上に世界最高クラスの超伝導特性を有する REBCO 薄膜の創製に成功した。加えて、ナノ組織制御による人工ピンニング点の導入により、NMR の使用環境である高磁場中においても高い超伝導特性を示す REBCO 薄膜が得られた。今後は表面抵抗 R_s の測定を行い、実際に低 R_s であることを実証する。加えて、実際にピックアップコイルを作製し、REBCO 薄膜を用いたピックアップコイルの有用性を検証する。現在、ピックアップコイルの作製に向けて大面積基板への薄膜作製を行っており、すでに必要十分な面積を有する REBCO 薄膜が得られている。

筆者は材料からデバイス開発までを一貫して行うことができる研究者になりたいと考えている。本奨励金により、デバイス開発に至る初期的な材料研究が可能となり、今後の研究展開において良好なスタートが切れたと考えている。今後は本研究成果のデバイス化および新材料研究を行いたいと思っている。

5. 社会に対するメッセージ

本研究の成果の一つであるアニール処理によるバッファ層の高品質化は、これまで単結晶基板上に直接作製できなかった機能性材料の薄膜作製や特性の向上を可能にし、新たなデバイス開発や性能向上の一助になると思われます。また、現在周波数帯の枯渇が危惧されており、周波数有効利用が求められています。本研究の成果である高 J_c REBCO 薄膜は周波数を有効利用できるフィルターの作製が可能であり、携帯電話の基地局フィルターなどへの展開も期待できます。現在、本研究の成果を利用し、銅酸化物高温超伝導線材の高性能化(NMR の感度向上が期待される)およびフィルターの作製を試みています。

本奨励金により、今後の研究展開において重要な材料研究を行うことができ、かつ、良好な結果が得られ筆者の研究活動において軸となるテーマを創出できました。筆者のような若手研究者の研究活動をご支援いただき誠にありがとうございました。

債務不履行に基づく損害賠償における過失相殺の根拠と構造 ー英米損害賠償理論との比較を通じてー

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	サイトウ コウ 齋藤 航
所属等	中央大学大学院法務研究科助教
プロフィール	東京大学法学部卒業。中央大学法科大学院修了。平成 28 年司法試験合格。平成 29 年より現職。専門は民法。現在の研究テーマは契約違反、特に違反が存在した場合の損害賠償請求に関し、債権者側の事情がその額や請求の可否に対して及ぼす影響についての日米比較。

1. 研究の概要

本研究は、民法 418 条に規定されている、債務不履行（主に契約違反）における損害賠償に対する過失相殺について、その制度的根拠を検討することを通じて、過失相殺の法的性質を明らかにするものである。

まず日本法において過失相殺の立法過程、および学説と判例の展開を分析し、現在の過失相殺制度において、その根拠がどのように認識されてきたのかを明らかにするとともに、その課題を指摘した。具体的には、過失相殺は従来、当事者の公平という根拠に基づき、損害を被った当事者の事由を広く斟酌して減額されてきた。しかし、これに対して根拠として曖昧であり、実質的に無限定に過失相殺がなされているという批判が存在した。

そのような問題意識に基づき、過失相殺は伝統的には不法行為分野において理論が形成されてきた。そして近年、不法行為における過失相殺の議論を参考にしつつ、当事者の合意が過失相殺の根拠となるとする見解がある。その観点から契約違反における判例を検討すると、たしかに合意による損害負担に基づいて過失相殺の適用が判断されている事案も存在した。

しかし他方、判例分析を通じて、当事者の合意に依拠せず、より客観的な視点から債権者の行為義務を認定し、その懈怠を理由として過失相殺を行っている場合も存在することを明らかにした。この、当事者の合意に依拠しない過失相殺はいかなる根拠で行われているのかということが、検討すべき課題である。

次に、その課題を検討するために、アメリカ法における過失相殺類似の法理について参照し、債権者側のどのような事実について、いかなる根拠で損害賠償額の減額事由としているかを検討した。その結果、アメリカ法においても、基本的には当事者の合意に依拠せず、社会的な観点から契約違反を受けた当事者に行為義務を課し、その懈怠を理由として損害賠償額を減額していることがわかった。具体的には、経済的効率性、すなわち損害の全体的な最小化を目的として、当事者が怠慢により損害を発生させることを防止するインセンティブを与えるために損害賠償額の減額をしているという見解が存在することが注目される。

これらを踏まえて、日本法においてあまり意識されていない、経済的効率性の観点が受け入れ可能かを検討した。そして、経済的効率性の根拠は、実は日本法においても合意に依拠しない過失相殺を判断するにあたって、すでに一定程度機能していると思われることを示し、結論として、当事者に損害発生を抑止するためのインセンティブを与える制度として過失相殺を捉えるべきであるとした。この、経済的効率性の観点から損害抑止のインセンティブを与える制度として過失相殺を意識することで、無限定な過失相殺を防止することが可能なのではな

いかと考えられる。

2. 研究の動機、目的

研究の動機としては、法科大学院時代に研修で訪れたメルボルン大学ロースクールの研修プログラムにおいて、英米法の損害賠償制度をはじめとする、契約違反に対する救済制度の日本法の違いについて興味を抱いたことが端緒である。

そのなかで、損害賠償制度を法と経済学的な観点から考える方法に興味を抱き、それを日本法に反映させることはできないかと考えた。そこで、日本法において、かねてからその制度的な曖昧さが指摘されてきた過失相殺について、法と経済学的な観点からの明確化を行うことで、当事者が契約違反に際してとるべき行為の指針を示し、損害賠償に対する予見可能性を高めることに繋がるのではないかと考えている。その結果として、本研究が安定した取引経済活動を促す一助となることを目指している。

3. 研究の結果

昨年度における研究は、主に日本法の部分の執筆と、アメリカ法の理解分析にあてることができた。日本法の部分については、その分析の対象を過失相殺の立法過程、学説の展開、そして判例の展開に分け、学説の見解にしたがって判例を分析した結果、現状の日本法の課題を指摘するという形で進めた。これをまとめた研究成果として現在、拙稿「契約違反における過失相殺の法的性質 (1) ～ (3)」中央ロー・ジャーナル 15 巻 3 号 85 頁 (2018 年)、同 4 号 43 頁、同 16 巻 1 号 71 頁 (2019 年) が刊行されている。

続いて、アメリカ法における過失相殺類似の法理について検討しており、これは現在経過中である。具体的には、結果回避可能性と比較過失という法理について、その法理の概要、根拠、具体的な事案を検討し、日本法との比較を行っている。このアメリカ法の検討部分と、比較法的検討の結果については現在執筆中であり、近々同誌に掲載される予定である。

4. これからの展望

本研究では、アメリカ法を中心とする英米法における、損害賠償額減額法理について検討することを通じて日本法の過失相殺を検討した。この過失相殺は立法的には明治時代のフランス法を参考にし、ドイツ法の影響も受けながら発展してきたものである。今後は、それらの国々における過失相殺制度が現在どうなっているのかを検討することを目指したい。

また過失相殺は不法行為についても存在し、むしろそちらの研究が日本では中心となってきたが、本研究が対象とした契約における過失相殺が、不法行為における過失相殺の議論に何らかの影響を与えるかも検討したい。

5. 社会に対するメッセージ

民法は普段の生活で意識されることはあまりないかもしれませんが、取引関係を規律する最も基本的な法律であり、社会生活に深くかかわっています。

今回の私の研究も、買った物に問題があった、医者に治療してもらったがミスがあった、仕事中にミスをして自分が怪我をしてしまったといった事案で、損害賠償額はどうなるのか、契約違反をされた側はどのような行動をとってれば良いのかという問題を扱っています。

そのような基本的な事案についても、意外なことに、どういう事実があれば賠償額がどのくらい減額されるのかというルールがはっきりと決まっているわけではなく、裁判官が事案ごとに、過去の同種の事案を参考にしつつ判断していることが多いです。

契約違反はないのが一番ですが、違反をされたからには適切な補償を受けたいと思うのは当然のことです。そこで、自分が思いもよらない理由で賠償額を減額されては、安心して契約を結べません。仮に減額をされるにしても、その理由は結果論的に判断されるのではなく、明確な根拠に基づいてほしい。私の研究は、そのような問題を解決したいという目的で行いました。この研究によって、私自身、日本における過失相殺、そして英米法における損害賠償制度について、とても詳しく知ることができました。その資料となる書籍にはとても高額なものもあり、支援金には本当に助けていただきました。ありがとうございます。

多角的アプローチによる骨格筋侵害受容器の定量的分類 －「非活動性侵害受容器」に着目して－

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	オオタ ヒロキ 太田 大樹
所属等	新潟医療福祉大学 リハビリテーション学部 理学療法学科 助教
プロフィール	私は、信州大学理学療法学専攻で理学療法士免許を取得した後、名古屋大学大学院に進み、不慣れな運動の後に遅れて骨格筋に痛みが生じる「遅発性筋痛」の基礎メカニズムの解明に取り組んできました。その後、博士号(医学)を取得し、帝京大学医療技術学部柔道整復学科で教鞭をとる傍ら、本申請課題に関連する研究を行ってきました。本年度より新潟医療福祉大学に移り、本研究を引き続き進めています。

1. 研究の概要

本課題の目的は、新たな神経タイプである「非活動性侵害受容器」に焦点を当て、電気生理学的ならびに免疫組織化学的アプローチによって、新たに骨格筋侵害受容器を分類することである。具体的には、(1)骨格筋神経の活動記録を電気生理学的手法により直接行い、その電気的活動特性と骨格筋への刺激応答特性から、骨格筋侵害受容器タイプの分類を試みた。(2)さらに近年、他組織において見つかった「非活動性侵害受容器」特異的なマーカー因子が、骨格筋神経にも発現するか、蛍光色素とこのマーカー因子に対する抗体を用いた免疫組織化学的手法により調べた。その結果、骨格筋神経において「非活動性侵害受容器」の電気生理学的特徴を持つ神経の存在が確認された。一方で、「非活動性侵害受容器」特異的なマーカー因子の発現は、感覚神経細胞体の集まる後根神経節(DRG)において確認されたが、骨格筋神経への発現の有無については解析途中である。

2. 研究の動機、目的

腰痛や肩こりなど骨格筋を由来とする痛み(骨格筋疼痛)は有訴者数がきわめて多く、病態メカニズムの解明と治療の開発は喫緊の課題である。しかし、骨格筋疼痛は他組織の痛み比べて研究が遅れており、不明な点が多く残されたままである。

一方、痛み(侵害)情報を伝える神経線維は侵害受容器と呼ばれ、Paintal の報告(1960 年)以来、

約 60 年にわたって研究が進められ、様々な神経タイプに分類されてきた。このうち、正常時は痛みを伝えず、病態下ではじめて伝えるようになる“潜在的な痛み神経”の存在がかねてより提唱されてきた。この神経は「非活動性侵害受容器 (sleeping nociceptor)」と呼ばれ、病態下において痛みに必要な役割を果たすと考えられる(図 1)が、有効な解析手法がなく、その実態は長らく謎だった。

近年になり、サル[Ringkamp et al., *PLoS One*, 2010]、ブタやヒト[Obreja et al., *Pain*, 2010]、ラットの皮膚[Taguchi et al., *Pain*, 2010]の神経において、繰り返し電気刺激を与える と神経伝導速度が大幅に遅くなる電気生理学的な特性が見出され、「非活動性侵害受容器」の同定が可能となった。しかし、骨格筋神経において存在するかは未知である。

また、「非活動性侵害受容器」において特異的に発現する因子は見つかっていなかったが、最近、ニコチン性アセチルコリン受容体 $\alpha 3$ (CHRNA3)を遺伝学的に強制発現させた神経細胞において、機械刺激に応答しない特徴が確認され、「非活動性侵害受容器」特異的なマーカー因子として有力視されている[Prato et al., *Cell Rep.*, 2017]。しかし、骨格筋神経において免疫組織化学的な解析は行われていない。

以上より本課題では、(1)骨格筋神経を電気生理学的神経特性により「非活動性侵害受容器」を含め分類し、(2)「非活動性侵害受容器」の特異的発現因子“CHRNA3”が骨格筋にも発現するか調べた。

3. 研究の結果

(1) 電気生理学的アプローチ：

雄性 SD ラットを用い、全身麻酔下で血圧、心拍、直腸温を生理的範囲に保持し、*in vivo* 単一神経記録法により腓腹筋神経から C 線維を同定した。次に、同定した C 線維軸索への反復電気刺激(5 Hz、10 秒間)により活動依存的伝導速度変化(ADCCV)を記録した。腓腹筋へのピンチ刺激により線維の機械感受性の有無を調べた。さらに、「非活動性侵害受容器」と考えられた一部の線維に対して炎症メディエータの混合物(炎症スープ)を筋注し、新たに機械感受性を獲得するか調べた(図 2,3)。

その結果、同定した腓腹筋 C 線維(187 例)のうち、機械非感受性線維は 143 例(約 76%)であった。このうち 17 例(C 線維の約 9%)の ADCCV は顕著に遅延し(−10%以下)、「非活



図1 様々な侵害受容器タイプ



図2 電気生理実験の風景

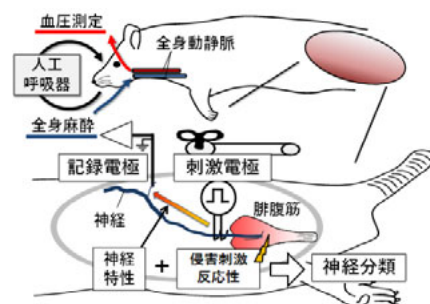


図3 電気生理セットアップ

動性侵害受容器」であると考えられた。さらに、この 17 例のうち 9 例の腓腹筋に炎症スプを投与したところ、3 例は投与 3～10 分後に新たに機械感受性を示した。以上より、腓腹筋 C 線維のうち約 9%は「非活動性侵害受容器」であり、その一部は実験的炎症(病態)により不活状態から活性状態にモーダルシフトすることがわかった。

(2) 免疫組織化学的アプローチ：

DRG から骨格筋神経を標識(可視化)するために、正常ラット腓腹筋に逆行性神経トレーサー色素 DiI を筋注した(図 4)。筋注 7 日後にラットから第 3～5 腰髄レベルの DRG を取り出し、凍結切片を作製した後、抗 CHRNA3 抗体ならびに Alexa Fluor488 抗体を順に反応させ、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。その結果、CHRNA3 染色像を得るための最適な条件を割り出すことができた(図 5)。まだ DiI で標識された神経細胞において CHRNA3 の染色像を観察することはできていないが、目下、実験を進めているところである。

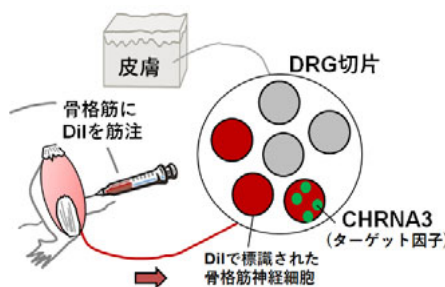


図4「非活動性侵害受容器」
特異的発現因子の発現解析法

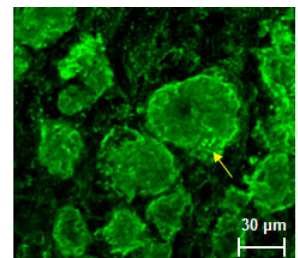


図5 標的因子の染色像

4. これからの展望

今回、電気生理学的解析は、正常ラットに対する実験のみを行った。今後は、病態モデルにおいて各神経タイプの割合を調べる予定である。具体的には、完全フロイントアジュバント (CFA) 筋注による慢性筋痛モデルや、骨格筋収縮由来の非炎症性筋痛モデルである「遅発性筋痛」[Murase et al, *J Neurosci*, 2010, etc.]において解析を行い、正常ラットの結果と比較する予定である。

一方、免疫組織化学的解析については、DRG において CHRNA3 の染色像を確かめることに成功したが、骨格筋神経での発現は確認できていない。早急に解析を進めるとともに、CHRNA3 発現神経の分布や密度等の定量解析を進める予定である。また、CHRNA3 はアセチルコリンチャネルを構成するサブユニットの 1 つであり、CHRNA5 などその他のサブユニットとともにアセチルコリンチャネルを構成している。また、他のサブユニットとの共発現レベルの解析に加え、Peripherin や NeuN など従来の神経マーカーとの共発現も調べることで、骨格筋神経の「非活動性侵害受容器」に発現する CHRNA3 の形態学的実態を詳しく解析していこうと考えている。

5. 社会に対するメッセージ

「非活動性侵害受容器」は長らくその存在が提唱されていたものの、実際に確認されていない未知の神経タイプでしたが、様々な研究者たちの取り組みにより、皮膚など別組織においてその存在が確かめられ特徴づけがなされました。一方、骨格筋での報告は皆無であり、我々はこのテーマに取り組むこととなりました。

本研究は、電気生理学的アプローチと免疫組織化学的アプローチの2側面から構成されていますが、このうち前者は *in vivo* 単一神経記録法と呼ばれる手法を用いています。生きた動物から末梢神経活動をリアルタイムに記録することができ、世界的にも遂行する研究室が非常に少なく稀有な手法となっています。しかし、骨格筋神経は1個体あたりで記録できる神経の数が限られ、その中でも「非活動性侵害受容器」の特徴を持つ神経の数はさらに少ないため、一定の成果を得るまで長い時間を要しました。それでも、骨格筋神経において「非活動性侵害受容器」の存在を実証することができ、当受容器を含めた新たな骨格筋神経の割合を明らかにすることができました。

また後者の免疫組織化学的実験では、他組織で「非活動性侵害受容器」に特異的に発現する因子が、骨格筋神経においても発現するか調べました。まだ途中の段階ですが、今後、骨格筋神経の細胞体において CHRNA3 の染色像が確認されることで、骨格筋における有力な「非活動性侵害受容器」マーカーとなることが期待されます。「非活動性侵害受容器」は、正常時には侵害情報を伝えず、病態下において初めて伝えるようになる神経タイプであり、病態時の痛みに重要な役割を担っている可能性が考えられます。「非活動性侵害受容器」をターゲットとした治療薬の開発は、従来の治療薬とは一線を画しており、全く新しい創薬分野の発展が期待されます。

以上のように、本研究のような基礎的研究を、若手研究者である私が継続的に遂行できたのも、貴奨励金の支援によるところが大きいと考えております。この場をお借りし、御礼申し上げます。

高度に縮環したエーテル系天然物の効率的合成法の開発

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	カワモト ユイチロウ 川本 諭一郎
所属等	東京薬科大学 生命化学部 助教
プロフィール	大学院博士課程においては顕著な生理活性を示す複雑な含窒素天然有機化合物の合成研究に従事してきた(東京大学、福山透教授)。また博士号取得後は、アステラス製薬にて低分子創薬化学研究に関わってきた。このような背景に基づき、現在は生理活性が期待される天然物の効率的な経路に基づく全合成法の開発及びアカデミア発医薬品研究を行なっている(東京薬科大学、伊藤久央教授)。

1. 研究の概要

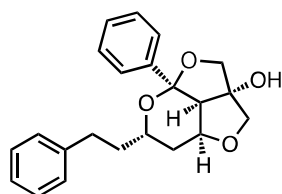
高度に縮環したエーテル系天然物 diocollettines A と gracilioether K の全合成経路を確立する。Diocollettines A は、2016 年にヤマノイモ属植物より単離構造決定された三環性ジアリールヘプタノイド誘導体であり、2つのテトラヒドロフラン環と1つのテトラヒドロピラン環が縮環した特異なヘテロ環構造を有している。合成戦略としては、立体化学を制御したアルドール反応と続くケトンへの分子内アセタール環化、二重結合の立体選択的ジオール化と分子内エーテル環化反応を特徴とし、既知化合物からわずか数工程にて diocollettines A を合成することが可能となった。また gracilioether K は 2013 年に海綿より単離構造決定されたポリケチドであり 8 つの不斉中心や 3 箇所のエーテル架橋構造を含む複雑な四環性骨格を持つ。合成戦略としては、3 箇所のエーテル架橋構造を水酸基によるケトン及び三重結合への分子内エーテル環化により一挙に構築する点を特徴とし、また環化前駆体は 1,4-付加反応等を駆使することにより立体選択的に合成可能と考えている。

2. 研究の動機、目的

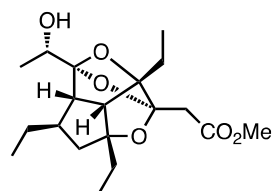
植物や海洋生物由来の天然有機化合物群は合成的関心のみならず、様々な生理活性を有することから医薬品開発を始め多様な領域で注目を浴び続けている。特に複雑な環状エーテル系天然物は、ブレベトキシンを始め特異な構造と顕著な生理活性を有する化合物も多い。このような背景から、複雑な縮環エーテル架橋構造を有する diocollettines A(**1**)や gracilioether K(**2**)に興味を持つが、すでに合成方法論が確立されているブレベトキシンのような多環状エーテル系天然物とは異なり、これら高度に縮環したエーテル架橋型天然物は未だ合成法が確立されていない。以上からその効率的な全合成法の開発について検討を開始した。

Diocollettines A は、2016 年にヤマノイモ属植物より単離構造決定された三環性ジアリールヘプタノイド誘導体であり (*Tetrahedron Lett.*, **2016**, 57, 3215.), 2つのテトラヒドロフラン環と1つのテトラヒドロピラン環が縮環した特異なヘテロ環構造を有している。一方で diocollettines A はヒト肺癌細胞株 NCL-H460 に対し中程度の細胞毒性作用を持つことが明らかとなっている。

Gracilioether K は、2013 年に海綿より単離構造決定されたポリケチドであり (*Mar. Drugs*, **2013**, 11, 2314.), 8 つの不斉中心や 3 箇所のエーテル架橋構造を含む四環性骨格を持つ。また gracilioether K は強い PXR agonist 活性も有しており興味深い。



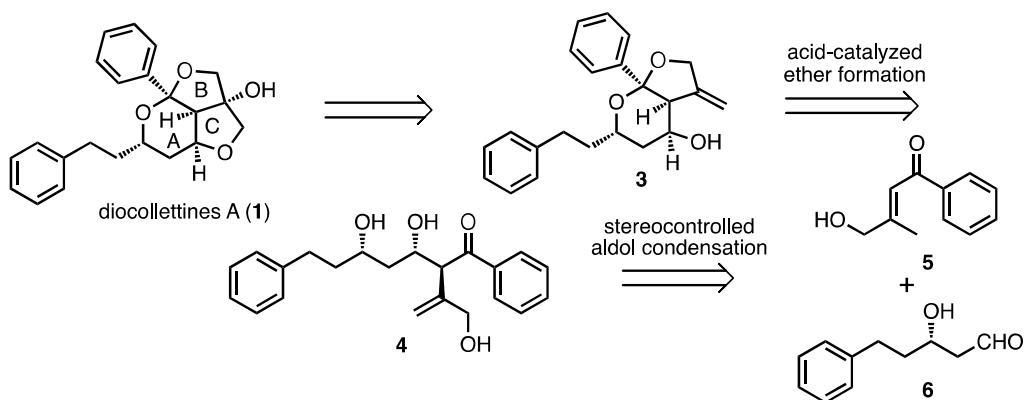
diocollettines A (1)



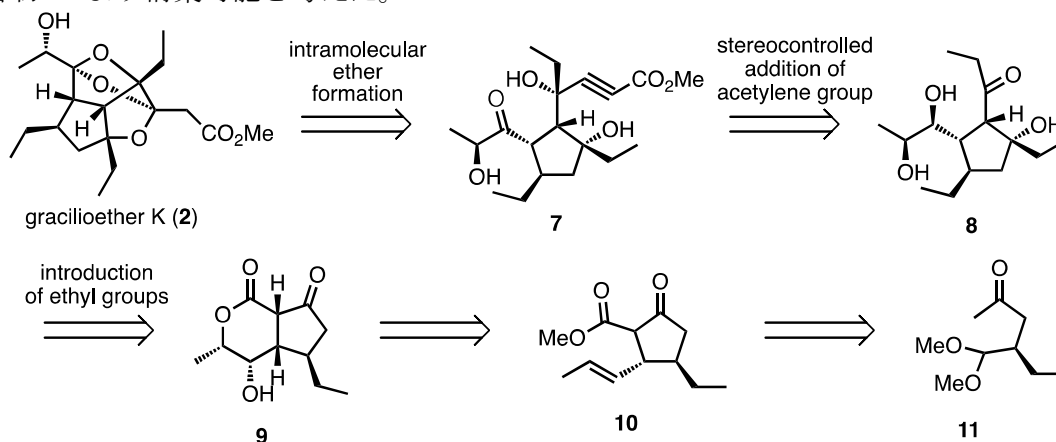
gracilioether K (2)

3. 研究の結果

Diocollettines A(1)の合成戦略を以下に示す。C環部は、化合物**3**より二重結合の立体選択的ジオール化と続く第二級アルコールによる分子内エーテル環化反応により構築可能と考えている。この時ジオール化はコンベックス面から進行することにより、第三級アルコールは望みの立体化学を与えると予想する。化合物**3**のAB環部は、化合物**4**のケトンへの分子内アセタール環化により合成可能と考えている。ベンゼン環は熱力学的に安定な望みのコンベックス面側を向くと予想する。化合物**4**は既知化合物**5**と**6**より、アンチ選択的アルドール反応により合成可能と考えている。この時 1,3-ジオールの立体化学はシン配置で制御可能と予想する。

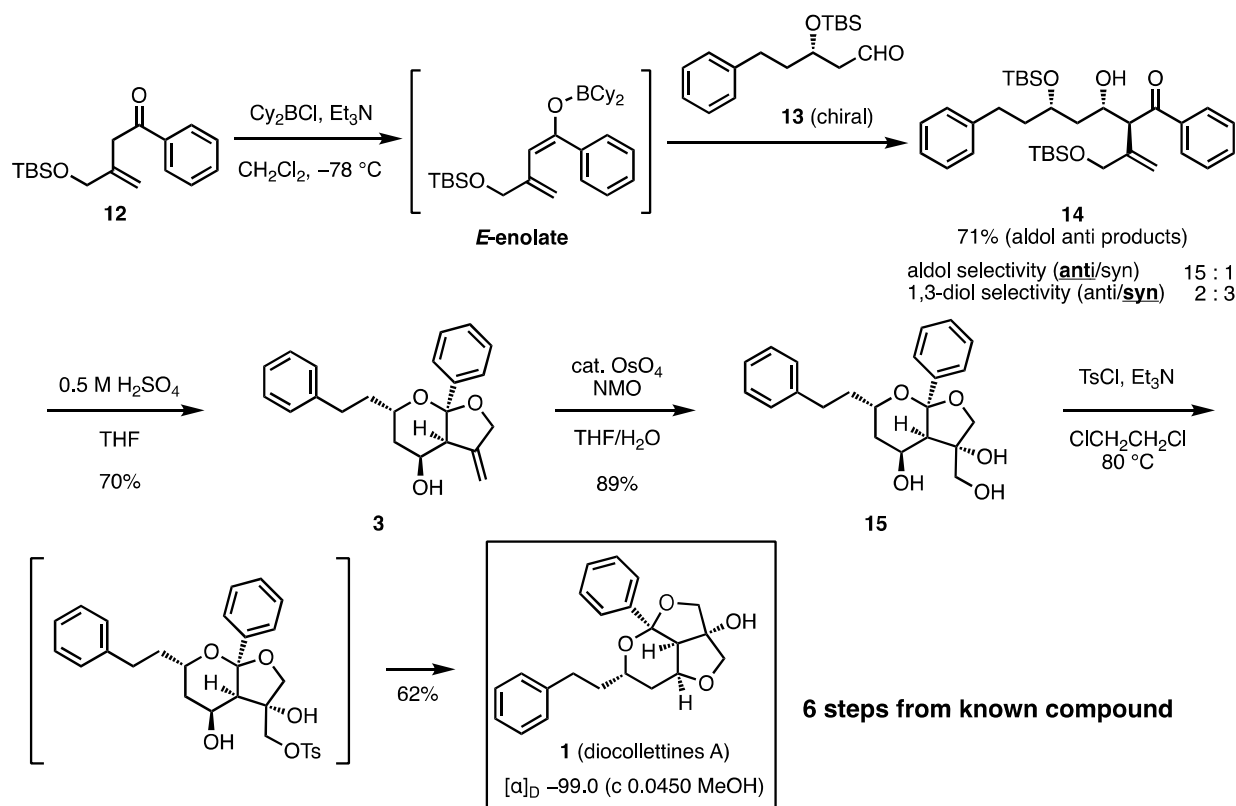


次に gracilioether K(2)の合成戦略を以下に示す。三つのエーテル架橋構造は水酸基によるケトン及び三重結合への分子内エーテル環化により、化合物**7**から一挙に構築可能と考えている。化合物**7**のアセチレンユニットは、化合物**8**からケトンへの付加反応により立体化学を制御しつつ導入可能と予想している。また化合物**9**の二環性骨格を利用した、エチル基のケトンへの立体選択的付加及びラク톤のエチルケトンへの変換により化合物**8**は合成可能と考えている。化合物**9**は化合物**10**の二重結合ジオール化と続く分子内ラクトン化により、化合物**10**は化合物**11**より構築可能と考えた。

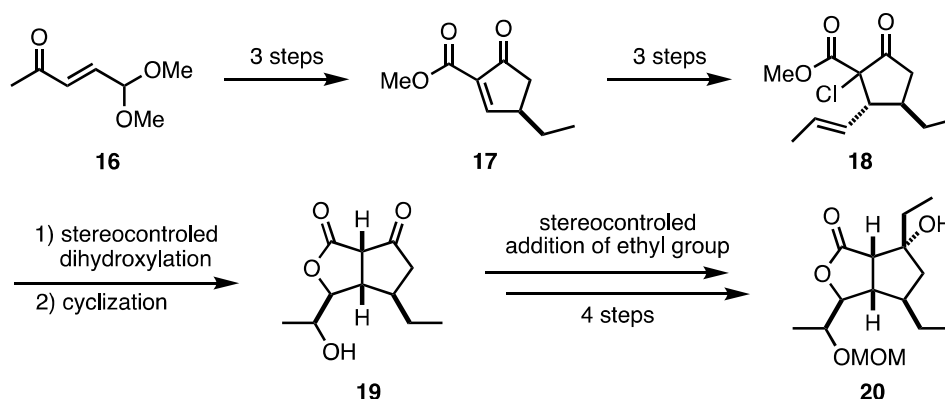


まず Diocollettines A(1)の合成検討結果について説明する。3-フェニルプロピオンアルデヒドを出発物質として、不斉アリル化等により合成したキラルなアルデヒド**13**に対し、**12**より調整したホウ素エノラートを作用させたところ、望みのアルドール反応が進行し、付加体

14 を得ることに成功した。ホウ素エノラートの幾何異性を反映してアルドール反応はアンチ選択的に進行しているものの、1, 3-ジオール部分に関しては2:3の選択性に留まっている。望みのジアステレオマーを分離精製し、酸処理により環化体 **3** とした後、ジオール化と続く分子内エーテル環化により光学活性 diocollettines A (**1**) へと導いた。(H. Itoh et al. *Org. Lett.*, **2019**, *in press*)



続いて gracilioether K (**2**) の合成検討結果について説明する。既知化合物 **16** より Knoevenagel縮合等により3工程にて合成した化合物**17**に対し、Hosomi-Sakurai アリル化反応、異性化、クロロ化により化合物**18**へと導いた。ここで立体選択的ジオール化、続く脱クロロ化を伴う分子内環化により二環性ラクトン**19**を合成した。さらに4工程にてケトンへエチル基が導入された化合物**20**を得た。



4. これからの展望

gracilioether K に関しては、ラクトン環へのエチル基の導入、生じるケトンへのアセチレン付加等により環化前駆体 **7** を合成し、エーテル環構築を検討する予定である。

5. 社会に対するメッセージ

現在では、時間、労力を費やせば天然有機化合物で合成不可能な化合物は無いと言われている。そのため興味深い反応を全合成経路に組み込みつつ、いかに効率的に分子を作り上げるかが重要であると考ええる。さらに、その標的化合物が特異で複雑な骨格を持つ場合、効率的かつ独創的な全合成経路の開発における学術的意義は非常に高いと考えている。また標的化合物が興味深い生理活性を有する場合、構造活性相関研究を目的とした類縁体合成はメディシナルケミストリーの観点からも重要である。従って類縁体合成も考慮した柔軟な合成ルートの開拓も必要であると考えている。上記の点について高いレベルで達成できれば、インパクトは非常に高いものとなる。

細胞極性と細胞間力学相互作用による体軸決定機構の解明

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	ニシカワ マサトシ 西川 正俊
所属等	法政大学生命科学部 助教
プロフィール	細胞が自分で方向を決めるメカニズムに興味を持って研究しています。大学院前期過程まで機械工学を専攻した後に生物物理に転向しましたので、物理・数理科学的な手法を得意としています。実験だけでなく、画像処理やコンピュータによる数値計算を駆使して研究を進めています。また 4 年間のドイツ研究留学経験で、未知な領域が多い生命科学における学際的アプローチの重要性を学びました。

1. 研究の概要

受精卵から生物の複雑なかたちを作り上げるためには、前後・背腹・左右の体軸にしたがってさまざまな種類の細胞を正しく配置することが必要となる。このためには、自律的に胚内部の軸を決定し、極性を形成することが不可欠である。これは自発的対称性の破れと言われる現象であり胚が持つ重要な性質であるが、その機構については不明な点が多い。本研究は、線虫胚において背腹軸が確立する過程に着目して研究を行なった。背腹軸の非対称性は、第一卵割において細胞を二つに分割する分裂溝が一方向から進行することをきっかけとすることがわかっているが、どうやってその異方性を生み出すのかは明らかではない。

そこで本研究は、

- 細胞質流動によって収縮環へのミオシンの凝集が妨げられること
- 細胞質流動速度を低下させると分裂溝進行が等方的になること
- 細胞表層と細胞質との連結を弱めると分裂溝進行が等方的になること

を明らかにした。これらの結果は、細胞表層における張力によって引き起こされる細胞質流動が、張力発生因子の濃縮を抑制する、力学的フィードバック機構の存在を示すものであり、この機構によって分裂溝進行の異方性を生み出すことを示唆している。

2. 研究の動機、目的

一様なシステムから空間パターンを作り出すしくみについての研究は、1952 年の Turing による先駆的理論から始まった。化学反応を起こす 2 分子種が、拡散性の違いによって縞や水玉、らせん模様などの濃度の空間パターンを作り出すことで空間対称性が破れる。このような自発的対称性の破れが発生過程で重要な役割を果たすと指摘した Turing の推測は正しく、動物の体表パターンや手指形成において Turing 機構がはたらいっていることが明らかとなってきた。

多くの多細胞生物は前後・背腹・左右の 3 つの体軸に沿った非対称性を作り出す。この非対称性は、受精などのイベントによって決まる極性をきっかけとするものと、胚の自発的な対称性の破れによって生じる極性をきっかけとするものがある。本研究で扱う線虫胚においては、受精直後に Turing 型の空間パターンが形成されて前後軸が決まる。そして、第一卵割で背腹軸に沿った対称性が破れる。この分裂溝は異方的に進行し、分裂によって生じる中央体遺残物の位置が前後軸の中心から外れる。中央体遺残物の位置は第二卵割の分裂軸を決定し、背腹軸が確立する。このため、第一卵割における分裂溝進行の異方性は、背腹軸確立の非対称性をもたらす。これは先に述べた Turing 型機構とは本質的に異なる、力学過程によって実現する自

発的対称性の破れである。本研究ではこの現象に興味を持ち、どうやってこのような異方的な分裂溝の進行を実現するのかの解明を目指して研究を行なった。

3. 研究の結果

細胞質分裂に伴って細胞質の流動が起こる。この流れは、細胞表層における張力の空間勾配から生じる表層流れに駆動され、分裂溝から細胞中心を通して極に向かう渦を作る。しかし分裂溝の進行が一方的になると、分裂溝の進行方向に沿った一方向性の流れが生じる。そこで、この流れは分裂溝の進行が進まない側で表層の流れを妨げ、収縮環の張力低下と分裂を抑制する可能性があると考えた。そして、**細胞表層と細胞質の流体力学的相互作用によって分裂溝の進行が一方向になるか？**を明らかにするために、以下の3点について調べた。

1. 表層流れと分裂溝の進行は同時に起こるのか？

分裂溝の進行に伴って収縮環に向かうミオシンの表層流れが起こることを見出した。分裂溝が進行しない側ではこの表層流れが観察されず、ミオシンの濃縮も起こらない。

2. 表層流れを抑制すると分裂溝の進行が等方的になるか？

RNAiによってミオシン発現量を低減させることで細胞質流動を抑制し、分裂溝の進行が等方的になることを見出した。

3. 細胞表層と細胞質との連結を弱めると分裂溝進行が等方的になるのか？

RNAiによって細胞質とのリンカーとしてはたらく因子の発現量を低減させると、細胞質流動の抑制と、等方的な分裂溝の進行を観察した。

以上の結果は、細胞表層における張力によって引き起こされる細胞質流動が、張力発生因子の濃縮を抑制する、力学的フィードバック機構の存在を示すものであり、この機構によって分裂溝進行の異方性を生み出すことを示唆している。

4. これからの展望

本研究で得られた結果は、細胞表層と細胞質の間ではたらく流体力学的フィードバック機構によって分裂溝進行の異方性が現れることを示している。これは力学的な過程が本質的に重要な役割を果たす、新規の自発的対称性の破れを生み出す機構である。このような分裂溝の異方的な進行は、左右軸形成にも関与している可能性がある。そこで、左右軸形成における細胞質流動を調べることで、細胞質流動による力学的フィードバック効果と対称性の破れについて発展的な研究が展開できると期待している。

細胞質流動はさまざまな細胞や胚で見られる普遍的な現象である。したがって、本研究で示した力学的フィードバック効果による自発的対称性の破れをもとに数理的理論基盤を構築することで、さまざまな生物種でみられる現象に適用可能な一般的枠組みとなるかもしれない。

5. 社会に対するメッセージ

本支援によって購入したコンピュータにより、顕微鏡画像のデータ処理や細胞質流動の数値計算など、計算コストの高い処理を高速で行うことが可能となりました。そのおかげで、1年間で新規性の高い発見ができたと思います。ここに感謝します。

本研究が着目する体軸決定機構は、生命システムが普遍的に持つ自律性の一例です。線虫のゲノム配列は20年以上前に決定されていますが、それだけでは発生過程の自律性は明らかになりません。そのような未知の領域では、学際的なアプローチが有効になります。本研究のような学際アプローチによって得られる新しい理解の枠組みは、自発的対称性の破れが本質的に重要となる試験管内臓器形成など医療・工学的応用分野への波及効果も期待できます。

16 世紀前期の在俗宗教に関する基礎的研究

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	ヨシザワ ハジメ 芳澤 元
所属等	明星大学、人文学部、日本文化学科、助教
プロフィール	2005 年龍谷大学文学部卒業、2013 年大阪大学大学院文学研究科修了。 日本中世史を専攻しています。とくに「室町文化」を考える上で中世の宗教 に関心があり、歴史史料と禅宗文献を使いながら研究してきました。最近、 室町時代に対する関心が一般的にも高まっていますが、「文化史」に対する研 究は、必ずしも進展しているわけではありません。心構えとしては、歴史学 だけでなく文学・美術・仏教学・言語などに関して、他分野の研究との連携 を意識しています。

1. 研究の概要

本研究は、中世後期の社会と宗教の関係を解くカギとして、「在俗宗教」という新しい研究概念の有効性を検証するため、その実態的研究をめざした。「宗教の時代」と形容される中世の宗教史研究では、近現代に確立した宗派単位の枠組みを当てはめる考え方（宗派史観）は、その有効性如何がつねに議論されてきた。これに対して本研究は、そうした寺院社会側の秩序だけでなく、むしろ宗教に接する〈俗人側の視点〉から、当時の社会と宗教の関係を捉えなおす。具体的には、社会に広く存在した在俗信徒（居士）などヒトの問題、さらに彼らが体験した儀礼の問題、儀礼のなかで彼らがまとった装束など身体の問題などから、中世後期の在俗信徒のあり方を多角的に分析した。とくに 16 世紀日本の宗教といえば、一向一揆の活動や臨済宗勢力の地方展開というイメージが強いが、そうした宗教運動を最前線で担った在俗信徒に焦点を当てることで、その時代性の検証も試みるものである。

2. 研究の動機、目的

21 世紀になり、M＝ウェーバーの「世俗化」理論は、宗教社会学のなかでは抜本的に見直しが進められつつある。そのような現況に鑑みれば、日本史学界でも「世俗化」論という大味なグランド・セオリーから脱却する段階にきていると考える。世界のなかでも、独自の時代性・地域性をもつ日本史における宗教状況を解明するには、〈世俗社会と宗教の相互関係〉を議論の基軸に置いて、〈俗人の宗教的態度〉を示す歴史的徴証を継続的に分析するべきである。しかも、俗人の法体は、東アジア世界のなかでも日本特有の現象である。

そもそも、中国史研究では「居士仏教」と題した通史的研究が存在したが、日本史研究ではそうした研究はほとんどない。本研究では、「社会と宗教」を考えるひとつの指標を示していくことが問題意識の底流にある。

本研究は、「在俗宗教」という新しい研究概念を構築するべく、その歴史的実態を考察することを目指す。「在俗宗教」をキーワードとして、中世後期の社会と宗教の関係を、いわば〈俗人の視角〉から活写しようとするねらいがある。

3. 研究の結果

本研究期間中の1年で発表した主要な論文業績は以下のとおりである。

- ①芳澤元「足利将軍家の受衣儀礼と袈裟・掛絡」(前田雅之編『画期としての室町一政事・宗教・古典学』勉誠出版、2018年10月)。
- ②芳澤元「中世後期の社会と在俗宗教」(『歴史学研究』976号、2018年10月)。
- ③芳澤元「碧潭周皎の周辺と中世仏教—嵯峨・仁和寺・高山寺—」(早島大祐編『中近世武家菩提寺の研究』小さ子社、2019年5月)。
- ④芳澤元「書評・原田正俊編『宗教と儀礼の東アジア—交錯する儒教・仏教・道教—』(『日本史研究』680号、2019年4月)。

なかでも②は、本研究の全体像を歴史的観点から包括的に論じた内容であり、歴史学研究会大会(日本中世史部会)2018年5月27日の大会報告を原稿化したものである。当日の質疑応答では、室町幕府史・戦国史研究者をはじめ、個別専門領域を超えた濃密かつ旺盛な議論を交わすことができ、歴史学の全国大会で発表する機会を得たことは大きい。対象時期としては鎌倉末期から近世初頭までを視野に入れている。第一に、在俗宗教の担い手として、(a)在俗出家者、(b)居士、(c)世間者の三種に大別した。とくに俗人のあり方に影響を与えた居士という形態は、鎌倉・南北朝期の日宋・日元交流のなかでもたらされた新しい生き方を示した。第二に、中世宗教が社会のなかで職業と仏道の一致を説いて在俗出家者や居士を取り込み、殺生の罪業と生業のあいだで悩む俗人側も仏教諸宗を複数選択し、自身の救済願望を満たそうとする過程を述べた。いわば仏教による職業振興は、在俗宗教を支える論理となった。第三に、職業仏道論の反動として、寺僧の還俗や破戒が問題視され、16世紀以降の大名権力がこれを停止するなかで在俗出家者や世間者に打撃を与え、在俗宗教のかたちも変動したと論じた。

また①は、俗人が僧侶から衣鉢を授かり俗弟子となることを誓う受衣儀礼をとりあげた。足利将軍家が代々、夢窓疎石の門弟を戒師に指名し、将軍就任から十五歳までの間に受衣儀礼を済ませた実態を明らかにした。受衣儀礼では十重戒(菩薩戒)を授かるが、これは身体護持や、職位を得た国王百官が玉体安穏と天下泰平を祈る目的があった。なかでも、共同で受衣した後花園天皇と足利義政は、天皇家と将軍家の君臣関係を忠実に示した。足利将軍家にとって受衣儀礼は、夢窓疎石の俗弟子になると同時に、共同受衣の場合には、夢窓疎石の霊前で、国王(天皇)の玉体安穏を祈る百官の一員であることを誓う意味をもつと主張した。俗人の受衣儀礼は、在俗宗教のあり方を儀礼という観点から深めることができる。

4. これからの展望

本研究では、顕密仏教や新仏教を横断する存在として「在俗宗教」に検討を加えた。在俗宗教を担った人々は、それぞれ寺院社会と世俗社会の周縁部にいて、その境界を踏み越えて宗教に関わる活動をみせる存在だった。一般俗人が、自身の願望におうじて複数の仏教諸宗を選択するというあり方は、近世の寺檀制度とは位相を異にするが、最近の近世史研究では「複檀家」「半檀家」という概念も提案されている。その点からすれば、居士という形態は、檀家の多様性に収斂されつつ、位牌の戒名(居士号)などの形式で、近世以降もかたちを残すと考えられ、中世と近世の連続面・断絶面を考える際には見逃せない。

ただし、在俗宗教の宗教的・社会的意義やその矛盾が時代に与えた影響や、東アジア世界での位置づけについては、今後さらに精緻に顕彰していかなければならない(東アジアの問題については、上記の研究業績④のなかでも展望を示した)。

5. 社会に対するメッセージ

宗教の歴史は広範であり、英雄的・天才的な僧侶や有名な寺社だけに止まらない。我々のような〈俗人〉が抱えた問題にも思いをいたし、より等身大の視点から問題を究明することで、現代社会と宗教の問題、さらには前近代における広義の〈文化史〉を、歴史的な文脈に沿って読みなおす機会にできるだろう。この十数年来、日本中世史研究では室町期研究が盛んだが、〈文化史〉・宗教史にとっても画期となる15-16世紀の研究は、現状ではけっして多いとはいえない。本研究で示した新視点も、ひきつづき学際的な観点からの検証が欠かせず、広く〈文化史〉研究への理解を呼びかけていきたい。

プログラミング教育を通じた ICT 問題解決力育成の指導法開発

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	オハラ ユウジ 小原 裕二
所属等	江戸川大学 メディアコミュニケーション学部 講師
プロフィール	私はこれまでに、実践的な物理計測の経験から、得られた生のスペクトルデータを統計処理し、シミュレーションによるモデル化、そして、統計解析の技術を身に付けながら、情報通信技術の基礎と応用について実践・研究をして参りました。これらの経験を活かし、高度情報化人材の育成について研究を進めています。特にモデル化、シミュレーションに着目し、松田（2015）が提案している問題解決の縦糸・横糸モデルを活用して、プログラミング教育を実践できる指導法及び教材開発をするとともに、小中高大を連携した体系的・系統的なプログラミング教育の実現を目指して研究を進めています。

1. 研究の概要

これまでの大学におけるプログラミング教育の多くは、専門の情報処理技術者を輩出することを目的としたプログラミング言語の修得を目指した指導に終止していた。これに対して、本研究は、学士力としての ICT 問題解決力（問題解決力×情報リテラシー）を育成するための 1 つのアプローチとしてプログラミングの指導法を開発する点に特色・独創性がある。また、「自らが立てた新たな課題を解決する能力」という視点から、内容に依存しない汎用的スキルとしての ICT 問題解決力を育成しようとしているところにも特色・独創性がある。

さらに、松田（2015）が提案している問題解決の縦糸・横糸モデルを活用してプログラミングの指導法を検討するところにも特色がある。このモデルは、学習科学の成果（Bauer 1993）を踏まえて、問題解決力を育成するためには、学習のメカニズムや知識の変容プロセスを考慮した指導プロセスの設計が必要だと考えている。図 1 に示す通り、解決手順を明示した問題解決スクリプト、手順の各過程で活用すべき見方・考え方、さらに見方・考え方と関連付

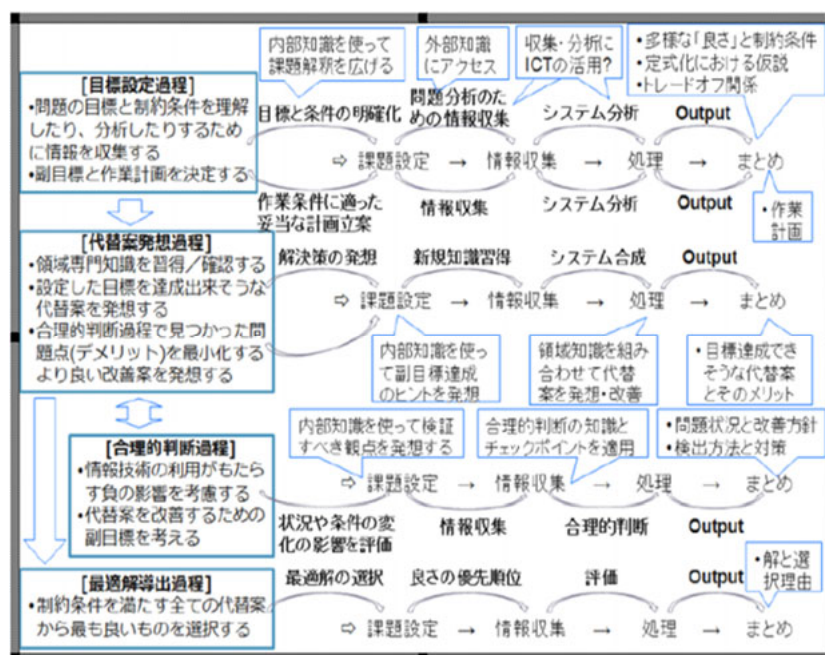


図 1 問題解決の縦糸・横糸モデル

けて活用すべき領域固有知識をモデルの要素としており、問題解決のサイクルを何度も経験させつつ（図2）、これらを明示的（インフォームド）に指導する点も特色である。

本研究では、学士力としての汎用的な資質・能力の核に問題解決力を据え、社会的スキルや自ら学ぶ力も、問題解決力を転移させることによって習得させることが可能であるとの仮説に立って、認知的な学習者モデルに基づく指導法を開発する。そのため、学習者のICT問題解決力を効果的に育成することができ、大学教育において自らが立てた新たな課題を解決する能力のある人材を多く輩出することが期待される。

また、これまでのプログラミング教育には、小中高との連携を検討する視点はほとんどなく、個々の大学の専門性と教員の現状においてプログラミング教育がなされていた。しかし、本研究では、学力低下・高大接続・アクティブラーニングを考慮した上で、広く大学（特に文系学部学科）で実践可能な、プログラミングの指導法・教材を開発するとともに、初等中等教育でのプログラミング教育に応用可能な指導法の知見を抽出する点にも特色がある。

2. 研究の動機、目的

予測困難な時代における大学の責務として、「生涯学び続け、どんな環境においても“答えのない問題”に最善解を導くことができる能力」を身につけた学生の育成が求められている（中央教育審議会大学部会 2012）。そして、グローバル化する知識基盤社会で学士力として求められる力の中には、「汎用的技能」「自己管理能力」「統合的な学習経験と創造的思考力」などが含まれる（文部科学省 2008）。人工知能技術の発達により、現在ある職業の多くが将来はコンピュータ化されると言われる中、今後の社会で特に重要になる資質・能力を育成する指導法が必要になっている。もちろん、コンピュータは情報を処理する道具であるが、その処理のメカニズムは人間のそれとは異なるし、倫理的問題を含め、コンピュータに意思決定を任せられるわけではない。その意味で、「問題解決力のために情報通信技術（ICT）を用いて多様な情報を収集・分析し、適正かつ創造的に思考・判断し、モラルに則って効果的に活用する力」の育成・強化は、ますます重要性が高まると考えられる。私立大学情報教育協会（以下「私情協」）では、松田（2015）の「問題解決の縦糸・横糸モデル」を元に、学士力としての「ICT問題解決力」育成のためのガイドライン、教育モデルを提案している（玉田 2016、2017）。

一方、内閣府（2013）の「日本再興戦略」、総務省（2014）の「世界最先端IT国家想像宣言」、教育再生実行会議（2015）の「第7次提言」など、各方面からプログラミング教育の必要性が提言されている。文部科学省（2016）では、次期学習指導要領から、これまで中等教育で行ってきたプログラミング教育を初等教育でも必修化すべく、当該の内容が盛り込まれた。そこで目指しているのは、「2020年代に向けた教育の情報化に関する懇談会」がまとめた提言をふまえ、情報の科学的な理解に裏打ちされた情報活用能力を育むとともに、情報と情報技術を問題の発見・解決に活用するための科学的な考え方を育むことである。

以上を踏まえて本研究では、大学生のICT問題解決力を育成するための汎用的なプログラミング指導法及び教材を開発すると共に、初等中等教育でのプログラミング教育に応用可能な指導の知見を抽出する。

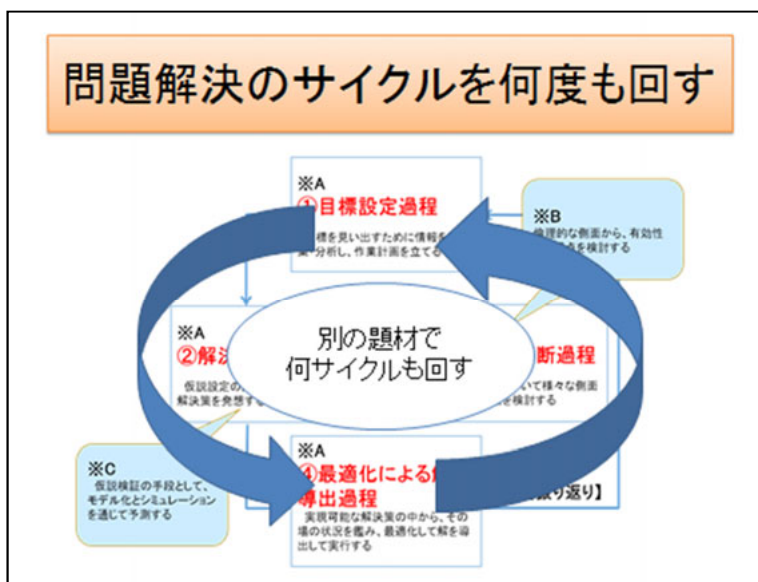


図2 問題解決のサイクルを何度も経験する

3. 研究の結果

本研究では、大学生の ICT 問題解決力を育成するための汎用的なプログラミング指導法及び教材開発とともに、初等中等教育でのプログラミング教育に応用可能な指導法の開発を目指している。

- (1) これまで大学におけるプログラミング教育には、小中高との連携を検討する視点はほとんどなく、個々の大学の専門性と教員の現状に応じてプログラミング教育が実施されていた。プログラミング教育を行うことで学習者は論理的な思考ができるようになるのか、ということを検討するために、大学1年生を対象にアンケート調査及び論理的思考を問う設問を実施した。調査結果から、現行の高等学校までのプログラミング教育では、アルゴリズム的思考・論理的思考・プログラミング的思考に相当するものを修得できているとは考えにくいことが明らかになった。また、プログラミング経験者は、「コーディング（プログラミング言語を用いた記述）を覚えること」がプログラミングだという意識を持っている傾向が強いことが明らかになった。
- (2) (1)の結果より、プログラミング経験者は、「コーディング（プログラミング言語を用いた記述）を覚えること」がプログラミングだという意識を持っている傾向が強いことが明らかになっている。私情協の提唱する情報教育ガイドラインの到達目標Cの達成を目指して、到達目標Aとして提唱されている、松田（2003）が情報技術を活用した問題解決力を育成するために提案している「情動的な見方・考え方」と、「3種の知識」を統合した問題解決の枠組みを活用し、授業実践を行った。

大学1年生83名を対象とし、前期講義「プログラミング概論」で2クラス（Aクラス、Bクラス）に分けて授業実践を行った。まず、Aクラスには、問題解決の枠組みによる指導法を実践し、Bクラスには、従来多く実践されてきたコーディング中心の指導法での実践を行った。後半では、AクラスとBクラスを入れ替え、最終的には学習者が両指導法を体験出来るようにした。

問題解決の枠組みを活用した指導法では、目標を設定する場合に、その場面にに応じて多様な良さを発想し、目標と条件を切り分けて検討することが出来るようになることが示唆された。

4. これからの展望

プログラミングの必修化については、それによって、児童生徒のどのような資質・能力を育成したいか、目標・内容・評価方法について明確化することが重要である。松田（2016）の縦糸・横糸モデルを活用すると、各学校段階での目標が明確になってくる。

小学校段階では、プログラミング活動を体験させ、問題解決の手順が大事であることに気づかせることが重要である。必ずしもプログラミング言語を活用する必要はなく、身近な他のソフトウェア（例えばエクセルやパワーポイント）などでも工夫次第でプログラミングは可能となるし、低学年の場合は機器を活用せず問題解決の手順を考えることも重要である。松田ら（2017）が言うように、将来の職業選択の幅を狭めないために「食わず嫌いにならない」楽しさを味合わせることに主眼を置くべきである。

中学校では情報技術の特性とプログラムの役割との関係を理解させることが重要である。技術・家庭科の、各領域で問題解決の手順を学び理解する。また、より良く問題解決するには、「情報の活用」「多様な良さ」「トレードオフとその解消」「多様な代替案」「良さに応じた選択」「意思決定の権利と責任」「転ばぬ先の杖」「合理的判断の知識」など、情動的な見方・考え方等の活用が必要であることを手順と関連づけて指導する。

高校では情報システムの設計が社会に及ぼす影響を予測し、その導入の是非や問題の回避策を考えられるよう指導するのが望ましい。高校での情報教育には万人が学ぶべき市民教育として側面と、専門家を目指す専門教育としての側面が存在する。これら両者にとってのプログラミング教育は目的が異なる。

小中高大が連携した情報教育の実現 (プログラミングをどう位置づけるか)

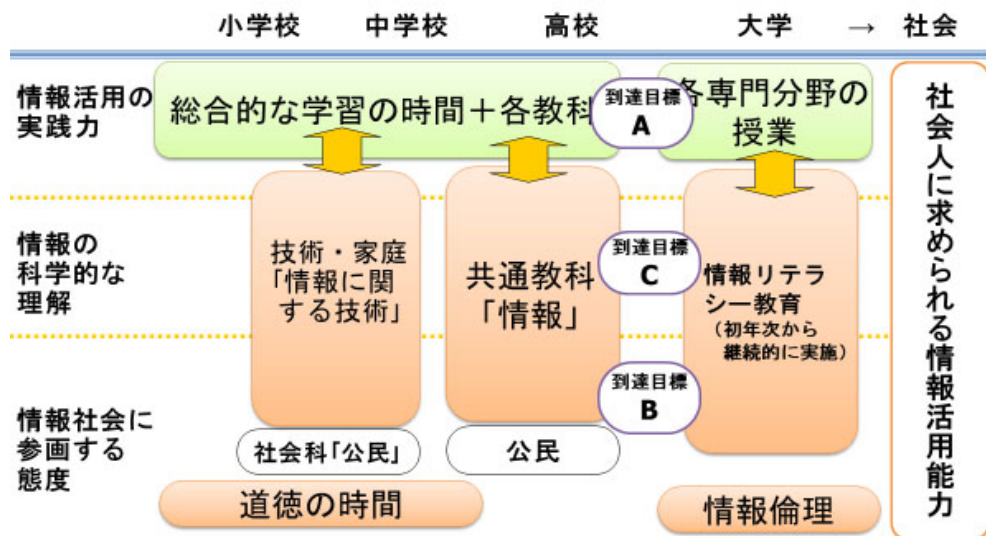


図3. 小中高大が連携した体系的・系統的なプログラミング教育の実現

大学におけるプログラミング教育は高等学校の延長線上にあり、高校で学んできた内容をさらに深めるものである。高校と同様で社会での問題解決力を身につけるとする市民教育としての側面と、情報系の専門学科では専門家をめざす専門教育の側面が存在する。私情協の情報教育ガイドラインでは「情報通信技術の仕組みを理解し、モデル化とシミュレーションを問題発見・解決に活用できる」という到達目標Cの中で、プログラミングを指導することとなっている。

以上のことを踏まえ、今後は、小・中・高・大による系統的・体系的なプログラミング教育のあり方を検討していく必要がある。

5. 社会に対するメッセージ

2020年より小学校ではプログラミング教育が必修化され、様々なタイプのプログラミング教材が開発され、教育現場では教授法や評価に関して検討がなされている。中学校においても、技術・家庭科でプログラミングに重点を置いた指導が求められ、高等学校共通教科「情報」でも「情報Ⅰ」が必修となり、必ずプログラミングを実施することとなった。一方、大学教育では、学生に「生涯学び続け、どんな環境においても“答えが一つに定まらない問題”に最善解を導くことができる」力が求められており、私立大学情報教育協会（以下「私情協」）では、小中高大が連携した情報教育の実現を目指した情報教育ガイドラインが提言されている（玉田 2017）。本研究により、松田（2003）が情報技術を活用した問題解決力を育成するために提案している「情報的な見方・考え方」と、「3種の知識」を統合した問題解決の枠組みを活用することで、目標を設定する場合に、その場面に応じて多様な良さを発想し、目標と条件を切り分けて検討することが出来るようになることが示唆された。今後は、目標設定についての検討だけではなく解決策発想、合理的判断、最適化による解の導出など問題解決全般において効果を示すかどうかを検討していき、問題解決の枠組みによる指導法が初等中等教育でのプログラミング教育にも活用できるかどうか、その可能性についても検討していきたい。

微細周期構造による円すいころ軸受の低トルク化 ー超短パルスレーザによる放射状直線周期溝付与の場合ー

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	ホッタ トモヤ 堀田 智哉
所属等	関東学院大学 理工学部 理工学科 機械学系 助教
プロフィール	東京理科大学理工学研究科機械工学専攻を修了（博士（工学））。2017 年に関東学院大学理工学部助教に着任。専門は転がり軸受工学および材料工学。転がり軸受の低トルク化や疲労寿命に関する研究などに従事。所属学会は、日本機械学会、日本トライボロジー学会、日本設計工学会。

1. 研究の概要

本研究は、円すいころ軸受のしゅう動面に微小な溝（マイクログループ）を設けることにより、十分な供給潤滑油量を確保することで低トルク化を行うものであり、円すいころ軸受の組み込まれた機械すべての低燃費、省エネルギー化に直接的な効果が期待できることから、社会的・工業的な貢献度は非常に高く、また、社会的なニーズに沿った研究であると考え、学術的な貢献としては、軸受メーカーなどがこれまで行ってきたような、表面粗さの向上や、形状の最適化といった手法ではなく、摩擦面に微細な溝を設け、供給油量を制御するという転がり軸受においては前例のない低トルク化手法の効果について実験的に明らかにした。

2. 研究の動機、目的

近年、CO₂排出量削減を目的に、機械製品の省エネルギー化、小型軽量化への要求が高まっており、その機械製品に組み込まれる転がり軸受の回転トルクを低減することは非常に重要な課題であり、急務である。円すいころ軸受は、同サイズの玉軸受に比べ約 3 倍の大きな負荷容量を有し、ラジアル方向とアキシアル方向の両方向の大きな荷重の支持が可能であり、高い剛性を持つ軸受である。そのため、自動車のパワートレインや新幹線の車台、工作機械など産業機械の回転軸支持部に幅広く使用され、回転しゅう動部の摩擦損失低減に大きく貢献している機械要素である。しかし、この軸受は構造的に、転がり軸受でありながらすべり接触面が存在するため、低速・高荷重条件においてはすべり摩擦によるトルク損失が非常に大きくなる。したがって、通常の玉軸受などに比べ、高剛性である反面、低トルク、低発熱の面では著しく劣っている。

円すいころ軸受の構造を図 1、円すいころ軸受における回転速度とトルクを図 2 に示す。円すいころ軸受の回転トルクの発生要因を分類すると、以下の四つとなる。

- ①ころ大端面と内輪大つば面のすべり抵抗
- ②ころと内輪・外輪軌道面の転がり粘性抵抗
- ③潤滑油の攪拌抵抗
- ④ころと保持器間のすべり抵抗

通常、②ころと内輪・外輪軌道面の転がり抵抗、④ころと保持器間のすべり抵抗は非常に小さく、低速領域においては、①ころ大端面と内輪大つば面のすべり抵抗、高速領域では、③潤

滑油の攪拌抵抗が支配的となる。低回転領域では、ころ大端面と内輪大つば面は境界潤滑領域であり摩擦は大きい、回転速度が上昇するとその部分の油膜厚さが大きくなり、流体潤滑へ遷移していくので摩擦は小さくなる。したがって、円すいころ軸受の低トルク化を行う場合、低速域においては厚い油膜を早期に形成することですべり抵抗を減らすことが可能である。そこで、摩擦面により多くの潤滑油を供給することで厚い油膜を形成することが可能であると考えた。軸受メカにおいては、この問題に対し、内部形状の最適化や、表面粗さの向上、保持器形状の最適化など、様々な手法により低トルク円すいころ軸受を開発しているものの、玉軸受の回転トルクと比較すると依然として高い。すべり軸受の分野では、溝をしゅう動面に設けることによって潤滑油の流れを制御することで、摩擦面に、より多くの潤滑油を供給して金属接触を減らす手法が用いられている。したがって、円すいころ軸受の内輪大つば面ところ大端面はすべり接触であることから、同様の手法によりトルクを低減することが可能であると考えたが、転がり軸受の分野においては転がり軸受の滑り摩擦面への適用例はない。そこで、本研究で滑り摩擦面である円すいころ軸受のころ大端面に微細な溝を付与することで潤滑油の流れを変化させ、円すいころ軸受の低トルク化を行うことを目的とした。実際に超短パルスレーザ加工機を用いて円すいころ軸受のころ大端面に放射状の微細な溝を付与し、そのトルク試験をおこなうことによって、その効果を確認することが本研究の目的である。

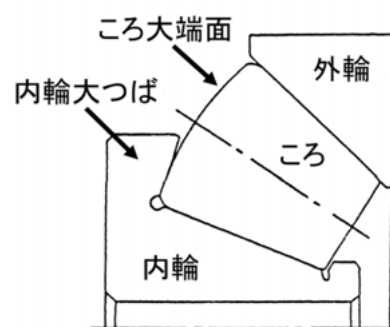


図1 円すいころ軸受断面

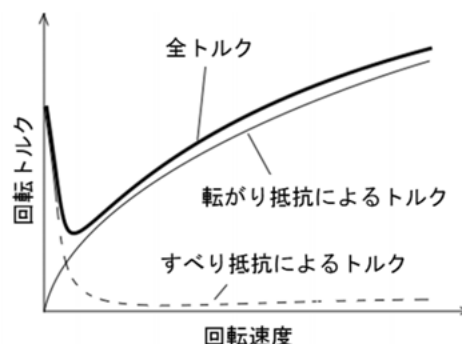


図2 円すいころ軸受断面

3. 研究の結果

本研究では円すいころ軸受（30306C：内径 30 mm、外径 72 mm、組立幅 20.7 mm、接触角 20° ）を試験軸受として、溝の加工には、超短パルスレーザ加工機を用いるが、当研究室には設備がないため加工を外部に依頼した。ピコ秒パルスレーザなどの超短パルスレーザによる加工はナノ秒パルスレーザのような短パルスレーザによる加工のように物体を熱で溶解させるのではなく、極短い時間で高出力のレーザを照射することで物体の原子結合を切断し、蒸気化、除去する加工法である。この加工法により、短パルスレーザによる加工よりも、バリ、マイクロクラック、熱影響層、加工で発生する残骸が極めて少ないため、追加工が不要である。本研究においても、溝加工は超短パルス（ピコ秒）レーザによる溝加工のみを行い、バリ除去等の追加工はおこなわない。パターンの詳細な形状、寸法を図2に示す。ころ回転軸を中心とする同心円上（P. C. D. 7.9 mm）に 144 個配置し、幅 $2.6\ \mu\text{m}$ 、深さ $14\ \mu\text{m}$ 、全幅 $800\ \mu\text{m}$ とする。迎え角 α は $45 \sim 135^{\circ}$ で変化させたものをそれぞれ製作した（表1）。

試作した円すいころ軸受の回転トルクの評価には当研究室が所有する回転トルク試験機を改良したものを用いた。本試験機の試験概要を図3に示す。本試験機は円すいころ軸受の正面を上にして組付け、軸受内輪を回転させ、外輪が連れ回るときの力をハウジングに取り付けられたトルクバーに接続したロードセルによって測定し、その値に回転中心から測定位置までの距離を乗じることで軸受の回転トルクを得るが、回転始動直後は回転トルクが安定しないため、回転始動から 120 min 間はなじみ運転させ、その後の 10 min の平均値を回転トルクとする。ハウジングはロードセルに取り付けられており、外輪が回転しようとする力（外輪の連れ回りトルク）を測定することで、回転トルクを測定が可能である。試験条件を表2に示す。荷重はアキシアル方向のみ 10 kN を負荷し、内輪回転速度を $500\ \text{min}^{-1}$ とした。潤滑油は VG32 無添加タービン油（鉱油）を軸受正面よりポンプを用いて $0.5\ \text{L/min}$ の速度で強制的

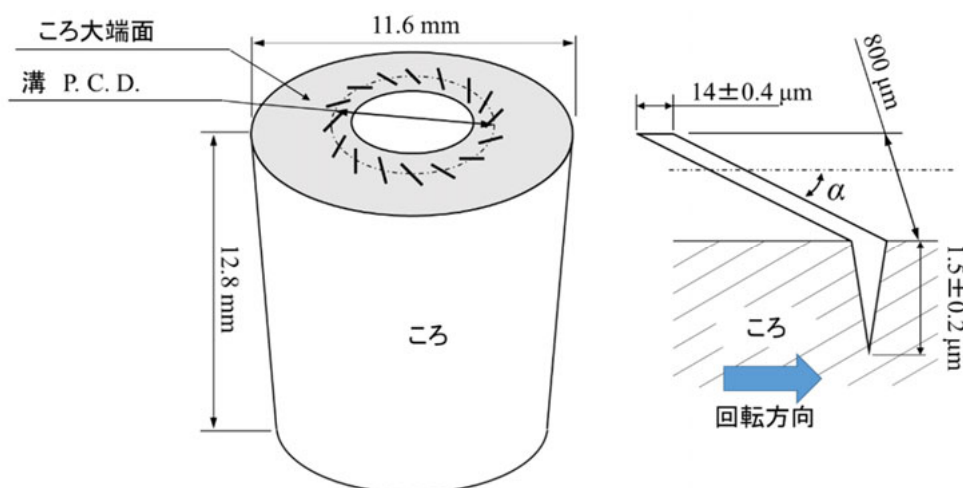


図2 パターンの詳細図

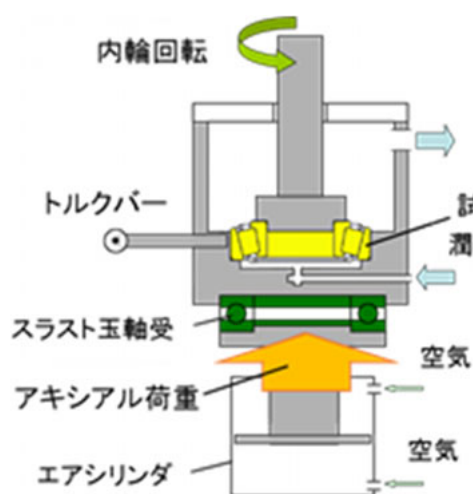


図3 トルク試験概略図

表1 パターンの記号と迎え角 α

記号	α [°]	面積率 [%]	試験個数
S45	45	2.5	3個 × 2回
S90	90	2.5	3個 × 2回
S135	135	2.5	3個 × 2回

表2 トルク試験条件

アキシャル荷重 [kN]	10
回転速度 [min ⁻¹]	500
潤滑油	VG32
供給油量 [L/min]	0.5
環境温度 [°C]	24 ± 3

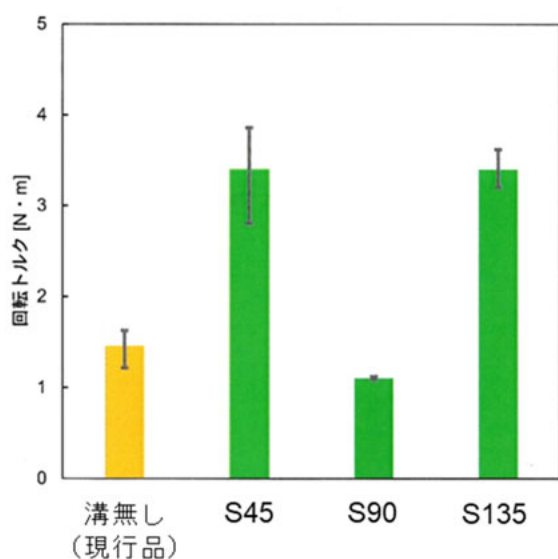


図4 各パターンの回転トルク

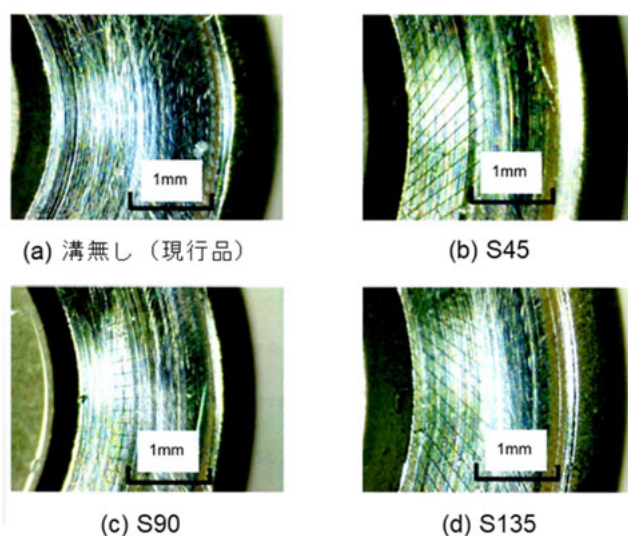


図5 試験後のしゅう動面の状態

に給油し、ハウジングよりオーバーフローさせて循環させている。軸受のしゅう動面は常に

十分な量の潤滑油で満たされており、実験中の潤滑切れによる焼付きを回避できる潤滑方法となっている。

図4に各パターンのトルク試験結果を示す。現行品は $1.4 \text{ N} \cdot \text{m}$ 程度であるが、迎角 $\alpha = 90^\circ$ の場合は、 $1.2 \text{ N} \cdot \text{m}$ となり、トルクが減少した。しかし、 45° と 135° の場合においては、現行品の2倍以上のトルクとなった。図5にトルク試験後の各試験片ころ大端面表面状態を示す。現行品と迎角 90° の表面状態にはほとんど違いは確認できないが、 45° と 135° は接触面外縁が茶色く変色しており、潤滑不足であったことが確認できる。

本研究で明らかになったことをまとめると、軸受30306Cのころ大端面に短パルスレーザによって放射状パターンを付与し、トルク試験（内輪回転速度： 500 min^{-1} 、アキシアル荷重： 10 kN 、潤滑：VG32タービン油）をおこなった結果以下の2点が明らかとなった。

- ・回転方向に対し、迎角 90° でパターンを付与した場合、現行品よりもトルクが減少した。
- ・回転方向に対し、迎角 45° および 135° でパターンを付与した場合、潤滑不良となり、現行品の2倍以上のトルクとなった。

4. これからの展望

今後の展望としては、さらなる低トルク化を行うために、低トルクとなった原理を解析等により明らかにしていく。また、同時に、直線パターン以外のパターンの試作およびトルク試験を実施し、最適なパターンを明らかにする。さらに、ころ大端面以外の個所、たとえば、内輪大つば面や転走面などにマイクロパターンを施し、さらなる低トルク化を目指す。

5. 社会に対するメッセージ

本研究を実施するにあたり、研究助成を交付していただいた、日本私立学校振興・共済事業団ならびに関係者の方々に深く感謝いたします。

前述のとおり、現在の機械においては、いかに省エネルギーであるかが重要な要素になっております。とくに自動車においては、省エネルギー化＝低燃費となり、環境負荷の低減だけでなく、自動車自体の売り上げにも影響をおよぼす要素となります。これらの理由により、自動車の省エネルギー化には自動車関連メーカーが力を入れてきました。中でも軸受の低トルク化の効果は大きく、急速に低トルク化が進められてきました。たとえば、本研究で用いた、円すいころ軸受は、自動車のデファレンシャルユニットに使用されますが（図6）、従来品の25%もの低トルク化に成功したものも出てきており、この軸受を乗用車のデファレンシャルに適用した場合、1.5%の燃費向上と 3.4 g/km の CO_2 排出量削減の効果が得られるとされております¹⁾。しかし、これまでの低トルク化の方法ではさらなる低トルク化を望むことができなくなっております。

本研究では、これまででない、転がり軸受の転動体にパターン溝を付けるといった、新しい手法を用いた試作軸受を制作することができ、その効果についても明らかにすることができました。本研究結果が、さらなる低トルク化のための足掛かりになればと考えております。また、この結果に満足せず、トルクが限りなくゼロとなるような転がり軸受の開発に向けて、研究を続けていきたいと思っております。

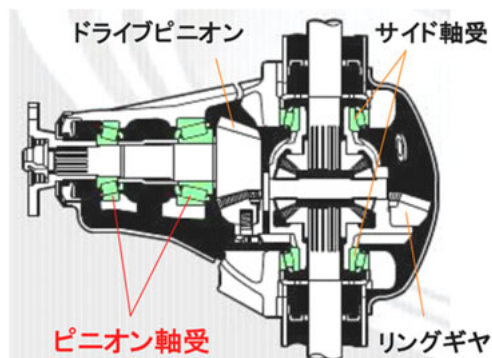


図6 デファレンシャル内部構造²⁾
(サイド軸受とピニオン軸受が円すいころ軸受)

参考文献

- 1) 大島宏之：デファレンシャルピニオン用低トルク軸受，JTEKT ENGINEERING JOURNAL, 1009(2011), p.37-43.
- 2) 松山博樹：超低トルク円すいころ軸受の開発，日本フルードパワーシステム学会誌，38，E1(2007)，E42-E49.

ストレス応答キナーゼの遺伝子多型と神経変性疾患タウオパチー

ーゲノム編集によるヒト病態遺伝子の機能解析ー

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	ヒラマツ ノブヒコ 平 松 伸 彦
所属等	金沢医科大学 総合医学研究所 助教（平成 31 年 4 月退職）
プロフィール	海外留学を終えて、2016 年 10 月より金沢医科大学、総合医学研究所、助教に着任しました。研究のテーマは細胞に生じる負荷（ストレス）についてです。細胞は日々曝されるストレスをどのように感知し対処しているのか、若年期と老年期でなぜストレスに対する応答性の変化、細胞ストレスが病態の発症や進展にどのように関わるのか、などなど知りたいです。

1. 研究の概要

タウオパチーは微小管結合タンパク質の一つであるタウタンパク質（以下、タウ）の異常蓄積を特徴とする神経変性疾患群であり、アルツハイマー病などが含まれる。タウオパチー発症に関わる遺伝的要因の探索のため大規模なゲノム解析(GWAS)が実施され、細胞ストレス群の一つである小胞体ストレスに応答するキナーゼである EIF2AK3（以下 PERK）が新たなリスク遺伝子として同定された（Hoglinger et al. Nat Genet 2011, Liu et al. Neurobiol Aging 2013）。本研究は GWAS の結果より同定された PERK 遺伝子多型がタウオパチー病態(タウ凝集体形成や神経細胞変性)への様に寄与するのかについて解析を行った。その結果、リスク型に相当する PERK ではキナーゼ活性の減弱が引き起こされており、タウオパチー発症や病態進展へと関与する可能性が示唆された。そこで PERK のキナーゼ活性の減弱とタウとの関係性を調べるためにゲノム編集技術、リプログラミング法による評価系の構築に取り組んだ。

2. 研究の動機、目的

タウオパチーはタウというタンパク質の凝集、蓄積が病理学的に認められる疾患である。本来、タウは親水性に富んだ構造で凝集とは縁がないようなタンパク質である。それにもかかわらず、タウタンパク質が何故凝集体を形成するのかについては今も分かっていない神経病理学の大きな課題の一つである。その解決の糸口を探すべく実施された GWAS の結果、小胞体ストレス応答キナーゼ PERK が関与している可能性が示唆された。そこで、PERK が「なぜ？」、「どのように？」タウオパチー病態の発症や進展へと関与するのかについて解明し、究極的には予防や治療法の確立へと繋げる為の基盤作りが本研究の目的である。

3. 研究の結果

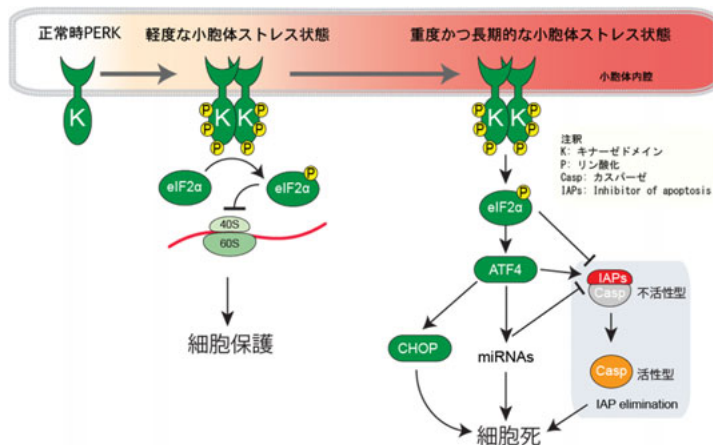


図1: PERK 経路 正常時には単量体として小胞体膜に存在する PERK は、小胞体ストレス状態（異常タンパク質の小胞体内腔での蓄積）においては二量体を形成し、キナーゼドメイン (K) を自己リン酸化することによって活性化する。基質である翻訳開始因子 eIF2α をリン酸化する事でリボソーム複合体(tRNA-Met)の形成が阻害されるため一過的に翻訳が抑制される。これは細胞保護作用を有する。しかし、慢性的または高度な小胞体ストレス時には下流に存在する ATF4 や CHOP という転写因子の発現が上昇し、細胞死が誘導されてくる。

図1に概説した通り、PERKは小胞体に局在するキナーゼであり、小胞体ストレス応答機構の中心分子の一つである。これまでの研究から PERK の高度な活性化は細胞変性を引き起こすことが知られている。一方で PERK ノックアウト細胞を用いた研究から、PERK の機能欠損は細胞を脆弱化させることが報告されている。つまり、PERK の活性は最適なチューニングが重要なのである。こうした背景から、GWASによって同定された PERK の遺伝子多型 (SNP : rs7571971) は、PERK の キナーゼ機能を増強させているのか、または減弱させているのか、について解析を行った。その結果、リスク型 PERK (136 番、166 番、704 番の3カ所のアミノ酸が置換されている) では正常型に比べ、キナーゼ活性が減弱していることを見出した。ではなぜリスク型 PERK ではキナーゼ活性が低下しているのかについて引き続き検討を行った。置換されたアミノ酸に着目すると、リスク型 PERK では136番セリンがシステインへと置換され、ジスルフィド結合を形成するためのシステイン総数が奇数(5個)となってしまう。そこで、奇数によって異常なジスルフィド結合形成(構造異常)が生じている可能性について検討を行った結果、リスク型 PERK では高分子量(多量体)形成が引き起こされている可能性を見出した。一般的に、異常構造をとるタンパク質に対し、小胞体は速やかに分解をする機構が存在しているため、リスク型 PERK の半減期について解析を行った。その結果、リスク型では半減期(安定性)の低下が引き起こされていることを見出した。さらに、正常型における704番セリンは PERK のキナーゼドメイン中に存在し、そこはキナーゼ活性獲得

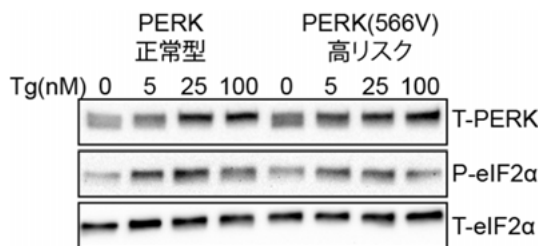


図2: 高リスク型 PERK(566V)におけるキナーゼ活性の減弱 小胞体ストレス誘導剤であるタプシガルギンに曝露された際、正常型 PERK では eIF2α のリン酸化が顕著に誘導されるのに対して、高リスク型 PERK(566V)ではその量が低かった。

に必要な潜在的なリン酸化部位とされている。そこで、PERK キナーゼドメインの組み換え体を作成し、リスク型における704番がアラニンに置換の意義を検討した。その結果、アラニン置換において優位にキナーゼ活性が減弱することを見出した。これらの結果から、リスク型 PERK においてキナーゼ活性の減弱が引き起こされている原因は、異常な構造による安定性の低下や活性ドメイン中の変異が寄与している可能性が示唆された。

また、タウオパチーの一つである PSP (進行性核上性麻痺) において、PERK 遺伝子中に存在する別の SNP (rs55791823, 566 番がバリン置換) は低頻度ながらも高リスクであることが同定された。そこで、PERK の566番バリン変異体(566V)についても機能解析を行った。リスク型 PERK の結果と一致して、PERK (566V) においてもキナーゼ活性の減弱が引き起こされていた(図2)。興味深いことに、PERK(566V)では1箇所の変異にも関わらず、より高度に活性が減弱していることを見出された。566番アミノ酸は PERK の細胞膜貫通ドメイン直下に存在しているが、その構造機能への役割は分かっておらず、今後の課題の一つである。

タウオパチー病態に PERK のキナーゼ活性の低下が関与している可能性が示唆されたことから、キナーゼ活性の低下がどのようにタウの凝集体形成や神経細胞変性へ影響するのかについて検討を行っていった。従来、遺伝子導入による過剰発現系を用いた評価検討が一般的であった。PERK に関しては遺伝子導入による方法では、ストレス感受性への変化などが引き起こされ、バイアスの掛かった結果になってしまうという問題があった。また、タウは過剰

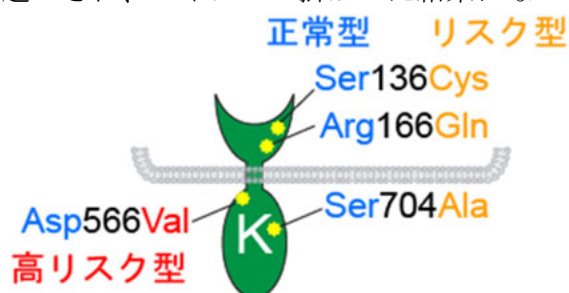


図3：PERK 変異箇所

表：IMR90 細胞における PERK 遺伝子型

	コドン(アミノ酸)
p.136	TCC(Ser)・TGC(Cys)
p.166	CGA(Arg)・CAA(Gln)
p.704	TCT(Ser)・GCT(Ala)
p.566	GAT(Asp)・GAT(Asp)

IMR90 細胞では正常型、リスク型 PERK がヘテロ接合体として存在しており、また、高リスク型 (566 番) PERK の遺伝子型はもっていない。

発現させること自体が凝集体形成を引き起こしてしまうという問題点を孕んでいる。そこで、本研究においてはバイアスの掛からない評価系を構築するため、外来遺伝子を導入する従来の方法ではなく、ゲノム編集技術により遺伝子情報を書き込む戦略を用いていく。リスク型 PERK の遺伝子情報をもつ細胞を iPS 細胞または Direct Conversion 法により神経細胞へ分化誘導し、内因性タウへの影響を継続的に評価できる実験系の構築を目指していく。

過去に iPS 細胞の作出実績があることからヒト正常繊維芽細胞(IMR90)を使用することにした。ゲノム編集に先立ち、IMR90 細胞における PERK の遺伝子型をサンガーシーケンスにより解読した。その結果、136 番、166 番、704 番アミノ酸に相当する塩基配列は全てヘテロ接合体として存在することが分かった。また、566 番のアミノ酸については、高リスク型 SNP (566V) の存在は認められなかった (図3と表)。シーケンス結果より、ゲノム編集については、3カ所を段階的に導入するのではなく、高リスク型(566V)を1箇所導入することにした。

IMR90 細胞は分裂に伴うテロメアの短小化により分裂老化が引き起こされてしまうのだが、ヒトテロメラーゼ (hTERT) を導入することで不死化させることが可能である。一般的にはウイルスベクターなどにより導入するのだが、それはゲノム中にランダムに取り込まれてしまう。また、ヒト体細胞中では発現していない hTERT が PERK とタウの関係性を検討する上で影響を与えてしまうことを避けるため、評価段階で必要に応じてゲノム中から取り除ける様にトランスポゾンの原理を利用した PiggyBac(PB)システムにより hTERT を IMR90 細胞に導入することで不死化させることを目指した。従来通りウイルスベクターにより hTERT を導入した IMR90 細胞では分裂を重ねても増殖速度が低下することではなく、不死化することができたのだが、予期せずして PiggyBac のシステムでは安定的に hTERT を発現する不死化株を樹立することができなかった。様々な遺伝子導入試薬 (Lipofectamine2000, Lipofectamine3000, ポリエチレンイミン) を用いて試みたが、どれも十分な遺伝子導入効率が得られず、安定株の樹立には至らなかった。その対策として、エレクトロポレーションなど高効率かつゲノムへのダメージも無い遺伝子導入方法を試験し、最適な条件を見出す必要である。

4. これからの展望

遺伝子導入法の条件設定が整えば、ゲノム編集や神経細胞への分化誘導等は確立されたプロトコルに従い実施できる。しかし高リスク型 PERK の遺伝子型をもつ神経細胞において内因性タウにどのような影響がもたらされるのか全く未知である。長期的な培養を実施するだけでなく、PERK という遺伝的要因だけでなく、培養条件 (栄養、温度、物理刺激など) などの環境的要因を付加するなど、多角的なアッセイを実施することも可能である。より簡便に凝集体形成の有無を評価できるように、ゲノム編集技術によって蛍光タンパク質をタウ遺伝子に融合させ、凝集体形成を GFP 発現によりリアルタイムに評価観察が可能となる。この細胞が樹立できれば、本研究以外にも創薬などを目的とするハイスループットなスクリーニングにも利用

可能なツールの提供となることが期待できる。

5. 社会に対するメッセージ

まずは平成30年度若手奨励金を賜りました事、この場をかりまして深謝致します。本研究はタウというタンパク質がなぜ凝集するのか、という問題に取り組むものです。冒頭にも述べましたが、タウの凝集体形成はアルツハイマー病などの病態の根底に存在する機構であり、それが解明できれば、病気の予防や治療という形で社会福祉に貢献するテーマと認識しています。本研究の可能性をご理解頂き、研究助成を受けられた事大変光栄に思います。

幼児期にふさわしいプログラミング体験活動プログラムの開発

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	ムラ ヤマ タイ キ 村 山 大 樹
所属等	金沢学院短期大学 幼児教育学科 助教
プロフィール	埼玉県私立大袋幼稚園 非常勤講師、東京学芸大こども未来研究所 研究員を経て、金沢学院短期大学 幼児教育学科 助教として、保育者養成に尽力している。教育方法、教育学、子ども学を中心に「これからの幼児教育における ICT 活用」や「AI 時代における遊びの意義」を研究テーマとしている。

1. 研究の概要

本研究は、これからの時代を生きる子ども達とデジタルとの出会いの在り方の1つとして「幼児期にふさわしいプログラミング体験活動プログラム」の開発を行うものである。

2020 年度より小学校においてプログラミング教育が導入されるなど、デジタルは子どもの生活と益々密接になっている。保育現場においてもタブレット端末の導入などの試みが徐々に始まっているが、保育で大切にされてきた幼児の「感性」や「感覚」、「経験」を大事にする視点を活かしながら、デジタルの体験を如何に導入していくかを検討することが課題とされている。

本研究を通して、これからの時代を生きる子ども達とデジタルとの最初の出会いを、今後の幼児教育の中でどのように形作っていくことができるか、その一方略を追究する。

2. 研究の動機、目的

申請者は、2012 年度から幼稚園教諭（非常勤）として保育現場に携わりながら、これからの学びの形として、ICT の活用に焦点を当て実践研究を続けてきた。未来の子ども達の教育を考えると、幼児期の子どもとデジタルとの出会いをどのように演出するべきかを検討することが、これからの幼児教育にとって重要であり、ひいては、これからの学校教育や教育におけるデジタルの活用の在り方にもつながっていくことになるという発想を得た。

本研究の目的は、これからの時代を生きる子ども達とデジタルとの出会いの在り方の1つとして、小学校以降の教育との接続の観点を踏まえた「幼児期にふさわしいプログラミング体験活動プログラム」を開発することである。この目的を達成するために、①活動プログラムの開発、②保育現場等と連携した実践・検証、を段階的に行っていくこととする。

3. 研究の結果

①活動プログラムの開発

1) プログラミング教材の検討

本研究では、まず、幼児期の子どもに適したプログラミング体験活動を探るために iPad 用の子ども向けプログラミングアプリ（25 種）を検討し、幼児に利用できるもの（3 種）を選定した。次に、情報機器を使わないハンズオン型のプログラミング体験用教材について、先行

的に発売されているプログラミング玩具（7種）を検討し、幼児に利用できるもの（2種）を選定した。続いて、上記で選定した計5種の教材を活用した活動プログラムの作成を行った。これらは、各教材の基本的な使い方（説明書等）を基にして、保育の現場でそれぞれの特徴を活かせるようなプログラムとした。

2) 小学校以降の教育との接続の視点「プログラミング的思考の“基礎”」の提案

体験プログラムの開発とともに、幼児期におけるプログラミング体験のねらいについて、小学校以降の教育との接続を踏まえて整理を試みた。小学校で導入されるプログラミング教育では「プログラミング的思考（自分が意図する一連の活動を実現するために、どのような動きの組み合わせが必要であり、一つ一つの動きに対応した記号を、どのように組み合わせたらいいのか、記号の組み合わせをどのように改善していけば、より意図した活動に近づくのか、といったことを論理的に考えていく力）を育む」ことをねらいの1つとしている。これに対して、幼児教育の段階では「プログラミング的思考の“基礎”を体験する」ことが適していることを見出した（表1）。本研究で見出した「プログラミング的思考」につながる幼児期の「プログラミング的思考の“基礎”」の具体的な要件定義については、今後、学会等を通じて発表・提案していく予定である。

表1 幼児教育におけるプログラミング体験活動のねらいと小学校プログラミング教育とのつながり

幼児教育におけるプログラミング体験活動	→	小学校プログラミング教育
「プログラミング的思考の“基礎”」を体験する		「プログラミング的思考」を育む

②保育現場等と連携した実践・検証

上記①で作成した5種のプログラムのプレ実施が進行および計画中である。特に複数端末間でのデータ共有（iPad20台による教材同期）について検証できた点は、クラス単位での実施を検討する上で、有用な知見を得られた。

幼児向けプログラミングアプリ「Codeable Crafts」を用いて、他者の作成したキャラクター（プログラミングによって動きをつけたもの）を共有する活動では、3歳児「他者の作ったキャラクターに触れて仕掛けを楽しむ」、4歳児「他者の作ったキャラクターの動きに合わせて自分のキャラクターを動かす」、5歳児「他者のキャラクターのプログラムにも変更や追加を加え、自分のキャラクターと組み合わせでお話を作る」など、年齢による活動の違いは見られるが、前述の「プログラミング的思考の基礎」として、その子なりの因果関係の発見を大切に活動が展開可能であると考えられる（図1）。



図1 他者が作ったプログラム（上部）を共有し、自分のキャラクター（犬）を加える（下部）様子

③次年度の計画

本奨励金による研究が基となり、次年度は科研費による助成を受け、研究を継続・発展させ

ることが可能となった（科学研究費助成事業 若手研究 課題番号：18K13136「幼児教育における ICT の活用～年齢別プログラミング体験活動プログラムの開発～」研究代表者：村山大樹）。そのため、本奨励金研究を基礎研究と位置づけ、研究を2年間延長し取り組む計画である。

本研究のゴールである幼児期の子どもにふさわしいプログラミング体験活動プログラムの完成に向けて、保育現場等での実践から、本年度検討した活動プログラムの改善点を明らかにし、活動プログラムの完成を目指していく。なお、検証協力先として、近隣市の主催するプログラミング教室での実施可能性が出てきたため、次年度は、保育施設だけでなく検証範囲を広げて、継続的な検証を重ねていく。

4. これからの展望

本研究の成果については、教育・保育関係学会への論文投稿・学会発表とともに、保育者研修等を通じて、広く幼児教育の現場へ普及させることに取り組みたいと考えます。また、地域の子育てイベントでのワークショッププログラムに反映させる等、研究の成果を身近な地域社会へ還元していくことにも挑戦していきます。

デジタル技術の進歩はすさまじく、益々子どもの生活と切り離せないものとなっています。そうした時代の中で、教育におけるより良いデジタルとの付き合い方を探究し「AI 時代の幼児教育や遊びの意義」を今後の自身の研究の柱として進めていきたいと考えます。

本奨励金研究を通じて、研究として新しいことに挑戦する意義を社会に発信し、研究環境を獲得していくことが研究者の務めであることも実感しました。理論と実践の往還から、新たな知の創造に挑む研究者を目指し、一層努力していく所存です。

5. 社会に対するメッセージ

本奨励金によって挑戦することができたこの研究は、日々進化するデジタル技術を、これからの時代を生きる子どもたちの教育にどのように活かすかを追究するものであり、今後も新たな技術の到来とともに進歩し続けなければならないテーマであると捉えています。研究を進めることで、デジタルにしかできないことやデジタルにはできないことを明らかにしていくことは、来たる AI 時代における幼児教育や遊びの意義、ひいては、人の温かさや尊さを改めて価値づけることにもつながっていくと捉えています。

本奨励金に採択されたことによって、こうした自身の研究の社会的意義を改めて見つめ直すことができました。研究者としてのキャリアがまだ浅いこの時期に、本奨励金に採択いただいたことは、研究者としての責任とやりがいを深く心に刻む契機となりました。検証協力をいただいた保育施設をはじめ、本奨励金研究にご協力いただいたみなさまに改めて深謝いたします。

脳卒中片麻痺者の Stiff Knee Gait に対する下肢ペダリング動作の効果

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	フジタ カズキ 藤田 和樹
所属等	福井医療大学 保健医療学部 リハビリテーション学科 講師
プロフィール	平成 20 年～福井総合病院 リハビリテーション科 理学療法士 平成 25 年～福井医療短期大学 リハビリテーション学科 助教 平成 30 年～福井医療大学 保健医療学部 リハビリテーション学科 講師 平成 30 年 金沢大学大学院医薬保健学総合研究科 修了 博士(保健学) 研究分野：脳卒中片麻痺者の歩行および自動車運転の筋電図・動作解析

1. 研究の概要

脳卒中片麻痺患者に対するペダリング運動が棒足歩行 (stiff knee gait) に及ぼす影響を検討した。40～70 歳代の慢性期脳卒中片麻痺者を無作為に実験群 (ペダリング運動) と対照群 (トレッドミル歩行) に割付けした。介入の直前と直後に歩行評価をし、その際の三次元動作解析装置による下肢の関節運動と表面筋電図による筋活動を分析することで、ペダリング運動の即時効果を検討した。

2. 研究の動機、目的

1960 年頃まで我が国における死因の第 1 位を占めていた脳卒中は、現在では第 4 位に後退したが、社会人口の高齢化に伴い年間脳卒中発症者数は増加の一途をたどっている。その結果、脳卒中後遺症による要介護者数は約 200 万人を超え、介護が必要になる疾患割合では脳卒中が最も多い。その後遺症として、麻痺した筋肉が異常に緊張し、運動障害や疼痛を引き起こす原因となる「痙縮」は、発症 3 か月後に全体の約 19%、12 か月後に全体の約 38% に認められる主要な後遺症である (Watkins CL, et al. Clin Rehabil. 2002)。また、脳卒中後の歩行異常として、膝が曲がらず下肢全体を伸ばしきったまま歩行する「Stiff Knee Gait」は、歩行能力を低下させる一因である。Stiff Knee Gait は膝関節を伸ばす作用がある大腿四頭筋 (太ももの前面の筋肉) の痙縮が原因となるが、欧米では大腿四頭筋にボツリヌス療法を行うことで Stiff Knee Gait の改善を試みている。しかしながら、大腿四頭筋へのボツリヌス療法は、歩行中の膝折れによる転倒のリスクを増加させる懸念があり、本邦で施行されることは稀である。

これらの後遺症に対するリハビリテーションとして、近年ではロボットを使用した歩行トレーニングが普及しつつある。しかし、ロボットは非常に高価であり、中小規模の病院や介護保険施設での導入は極端に少ない。Stiff Knee Gait の改善に効果的であることが予想され、且つ誰もが簡単に行える方法として自転車エルゴメーター (下肢ペダリング運動) の実施が挙げられる。エルゴメーターは脳卒中治療ガイドライン 2015 においても体力を向上させるトレーニングとして推奨されている。脳卒中者の下肢ペダリング運動中の筋活動を測定した研究



では、膝が曲がる際に大腿四頭筋の筋活動は抑制される (Fujiwara T, et al. Am J Phys Med Rehabil. 2003)。したがって、エルゴメーターを使用したリハビリテーションは、大腿四頭筋の痙縮を抑制しつつ下肢の屈伸運動を繰り返すことで、膝関節の柔軟性および協調性を改善させることが予想される。ペダリング運動の効果を歩行能力や体力面から検討した研究は多数存在するが、脳卒中者の Stiff Knee Gait を対象に運動生理学的観点から検討した報告はない。したがって、本研究の目的はペダリング運動の Stiff Knee Gait に対する効果を明らかにすることであった。

3. 研究の結果

本研究の被験者は脳卒中発症後 6 ヶ月以上経過し、独歩もしくは杖使用にて歩行可能、自力でのエルゴメーター駆動が可能な者であった。実験群としてリカンベントタイプのエルゴメーターを使用したペダリング運動を実施する者と対照群としてトレッドミル歩行を実施する者に無作為に割付けした。エルゴメーターは、過去の報告を参考に被験者が快適に駆動できる設定とし、負荷 5N・m、回転速度 40rpm、膝関節最大伸展角度 20~30°、サポートペダル使用、駆動時間 10 分とした。トレッドミル歩行は、被験者の選択する快適な速度により 10 分間実施した。



エルゴメーターによるペダリング運動

効果判定のための歩行評価は介入の直前および直後に実施した。

歩行評価には三次元動作解析装置 (MyoMotion: Noraxon 社製)、ワイヤレス表面筋電計 (Telemyo DTS: Noraxon 社製) を用い、快適な速度による平地歩行時の各関節の動きと筋の活動パターンを測定した。

解析対象は、ペダリング群 9 例 (年齢: 61.4±8.8 歳、罹病期間: 59.1±43.1 ヶ月)、トレッドミル群 7 例 (年齢: 56.9±11.7 歳、罹病期間: 46.4±30.2 ヶ月) とした。統計解析は、各測定項目において介入前後における群内比較、介入による変化率の群間比較とした。

全ての測定項目において介入前データに群間での統計学的な有意差はなかった。歩行パラメータ (歩行速度、歩行周期割合、歩行率) において、ペダリング群では介入前後で統計学的に有意差のあった項目はなかった。トレッドミル群では介入後に歩行速度が有意に増加 (0.55m/sec⇒0.61m/sec) した。

歩行時の関節運動において、ペダリング群では介入後にトゥーオフ時 (後ろ足のつま先が床から離れる瞬間) および遊脚初期 (トゥーオフ後に床から離れた足が反対側の足の位置を超えるまで) の膝関節が曲がる角度が有意に増加 (トゥーオフ: 28°⇒31°; 遊脚初期: 33°⇒37°) した。さらに、ペダリング群では介入後にトゥーオフ時の膝関節が曲がる角速度が有意に増加 (110°/sec⇒121°/sec) した。トレッドミル群では、膝関節運動に介入前後で有意差はなかった。また両群ともに股関節および足関節の関節運動に介入前後で有意差はなかった。

歩行時の筋活動において、本研究の被験者の大部分は大腿直筋 (大腿四頭筋の一部) の相対的筋活動は前遊脚期 (足を振り出すために膝を曲げていく相) に過活動を示し、さらに活動時間が延長していた。これは、Stiff Knee Gait を呈する症例の特徴的な筋活動パターンである。したがって、ペダリング運動が大腿直筋の筋活動を抑制することが予想されたが、ペダリング群の前遊脚期および遊脚初期の相対的筋活動は介入後に減少しなかった。さらに外側広筋 (大腿四頭筋の一部)、大腿二頭筋 (膝を曲げる筋)、ヒラメ筋 (つま先をたおす筋)、前脛骨筋 (つま先を起こす筋) にも変化はなかった。

本研究では即時効果のみの検討となったが、ペダリング運動により歩行の振り出しの際に膝が曲がる角度が増え、さらに膝が曲がる速度が速くなることが示唆された。しかしながら、その変化量は小さく、筋活動にも変化を及ぼすほどの即時効果はなかった。

4. これからの展望

本研究は、即時的な効果に加え、2週間毎日ペダリング運動を行った際の効果と、その3ヵ月後における効果の持続性についてもデータ収集を行っている。しかし、現時点ではデータ数が

少なく言及できないことがないため、本報告では即時効果のみを示した。今後、データ収集を続け2020年度までに国際論文として公表する予定である。さらに、Stiff Knee Gaitを改善するためのペダリング運動を実施するにあたって、より効果的な姿勢、膝の角度、負荷、回転数といった部分についても明らかにしていく必要がある。

5. 社会に対するメッセージ

Stiff Knee Gait に対する効果が確認されているものは、ボツリヌス療法や特殊な機器を使用したリハビリテーションが主である。本研究では、どの医療・介護施設にも設置されており、自宅にも簡単に設置が可能なエルゴメーターで Stiff Knee Gait を改善できる可能性が示唆された。さらに、ペダリング運動は足関節の痙縮を軽減させることも報告されている。未だ明らかにできていないが、このように簡便に実施可能なペダリング運動で膝および足関節の痙縮や麻痺の改善に十分な効果が確認されれば、その費用対効果は非常に大きい。また、Stiff Knee Gait は、脳卒中片麻痺者のみならず脳性麻痺、脊髄損傷、人工膝関節術後など多種多様な疾患において出現するため、本研究の結果を広範囲に汎化できる。

本研究の意義をご理解いただき、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ならびに奨励金をご寄付いただいた皆様に心より御礼申し上げます。

保育ソーシャルワークにおけるアセスメント・ツールの開発に 関する研究

ーコンピュータ教育支援ツールによる実践的展開と検証ー

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	ヤマシロ ヒサヤ 山城 久弥
所属等	鎌倉女子大学 児童学部 講師
プロフィール	病院や障害者支援施設、児童相談所などの福祉現場を経験し、現在は大学で保育士養成に関する社会福祉領域の教科目を主に担当している。 研究としては、保育現場におけるソーシャルワークをどのように機能させ、子どもや保護者を含めた家庭全体の支援の方法について検討している。

1. 研究の概要

現在の保育現場では、保護者の子育て不安や貧困、地域社会での孤立など、様々な家庭問題に対する対応が求められている。こうした複雑かつ多様な家庭問題に対し、保育所や保育士は、「ソーシャルワーク」の機能を活かした支援を行う必要性が高まっている。

しかしながら、現在の保育現場において、ソーシャルワークの支援およびその方法について、具体的かつ有効な手法はほとんど見当たらず、また、保育士に対するソーシャルワークのスキルを身につけるための教育や研修体制等も十分とはいえないのが現状である。

こうした課題に対し、本研究では、筆者がこれまで開発してきたアセスメント・ツール（教育支援ツール）を、保育現場に従事している保育士 36 名を対象に試行し、ソーシャルワークに必要な支援スキルの理解や実際の保育現場での有用性について、実践的な展開において検証を行った。

その結果、①子どもやその家庭を全体的に理解するための視点や実際に支援を展開していくうえで必要となるソーシャルワークのスキルの理解が促進されたこと。②アセスメント・ツール（教育支援ツール）の保育現場での有用性について、高い評価を得ることができた。

2. 研究の動機、目的

（1）研究の動機

近年、都市化や核家族化、女性就労の増加などによって、家庭や地域社会における子育ての機能が低下し、子育ての孤立や負担の増大、児童虐待などの様々な家庭問題が生じている。

このような家庭の子育てニーズに対し、保育所や保育士はその役割を担う存在として期待されている。児童福祉法において、保育士は「専門的知識及び技術をもつて、児童の保育及び児童の保護者に対する保育に関する指導を行うことを業とする者をいう」と定められており、さらには「保育所に勤務する保育士は、乳児、幼児等の保育に関する相談に応じ、及び助言を行うために必要な知識及び技能の修得、機能及び向上に努めなければならない」とされている。つまり、現代のような子育て機能が衰退している家庭や地域社会において、保育士は、子どものみを対象に支援するのではなく、保護者に対して子育て支援を行うなど、子どもと保護者といった、その家庭全体を視野に入れながら包括的に支援していくことが求められている。

具体的な支援の内容や方法としては、保護者の子育ての相談に応じその不安の軽減や解決を目指すケースワーク、保護者同士の交流を促進し子育ての孤独感の解消を目指すグループワーク、地域全体で子育てを支援していくコミュニティワークといった、様々なソーシャル

ワークの機能があげられる。

このようなソーシャルワークの機能を果たしていくためには、子どもや保護者の家庭生活全体を「アセスメント（把握や理解）」し、そこからニーズを読み取り具体的な支援へとつなげていくプロセスがソーシャルワークには欠かせない。しかし、実際の保育現場においては、こうしたアセスメントに基づいた支援につながられていないのが現状である。こうした課題の背景としては、保育士自身にソーシャルワークの支援スキルが備わっていないことや、そもそもスキルを獲得するための教育が行われなかったことが根本的な原因として考えられる。

以上のような問題意識から、筆者はこれまで、保育士がソーシャルワークを展開していくために必要な「アセスメント」の技能及び習得を目的とした、アセスメント・ツール（教育支援ツール）の開発を行ってきた。

（２）研究の目的

本研究では、筆者が開発したアセスメント・ツール（教育支援・ツール）を、保育現場に従事している保育士を対象に試行し、ソーシャルワークに必要な支援スキルの理解につながるのか、さらに、実際の保育現場で有用性について、実践的展開において検討を行った。

3. 研究の結果

（１）研究の方法

保育に従事している保育士36名を対象に、保育現場における貧困家庭への支援に関する事例を用いながら、演習形式で実施した（表1）。研究協力者である保育士には、事前準備として、事例とアセスメント・シートを配布し、事例の熟読とアセスメント・シートの質問項目（96項目）に対し回答を行うよう依頼した。

表1. 演習プログラム

本研究のねらい（30分）	ワークショップ（45分）	まとめ（45分）
①演習の内容・進め方の説明 ②ツールの使用方法の説明と操作	①グループで、事例についてのディスカッション ②グループごとにデータの入力と出力	①グループごとの結果の比較検討と全体での振り返り ②ツール試行に関するアンケートの記入

演習の展開方法としては、まず、グループを3名で構成し、演習（研究）のねらいや内容、進め方について説明したうえで、アセスメント・ツール（教育支援ツール）の使用方法や操作方法についての説明も行った。その後、各グループにおいて、各自が回答したアセスメント・シートをもとに話し合いをしながら、グループ内におけるアセスメント・ツールの入力作業と出力を行うよう指示した。そして、最後に、グループごとの結果の比較検討と全体での振り返りを行い（写真1・2）、アセスメント・ツールを試行した感想について、アンケートの記入を依頼した。



写真1. 全体での振り返りや感想など



写真2. 全体の総括

(2) 研究の結果

表2に、研究協力者である保育士に依頼したアンケートの内容について示した。全部で13項目の内容についてたずね、1～11までの項目については「5. よくできた」「4. まあまあできた」「3. どちらともえない」「2. あまりできなかった」「1. できなかった」までの選択肢を示した。また、12と13の項目については「5. そう思う」「4. まあそう思う」「3. どちらともいえない」「2. あまりそう思わない」「1. そう思わない」の5件法による選択肢を示した。

表2. アンケート項目

(1) ツールの利用により、保育ソーシャルワークの視点について理解できましたか
(2) 子どもやその家庭の生活を、グラフなどで見ること、生活全体を理解しやすかったですか
(3) ツールの利用により、子どもやその家庭の生活状況や生活問題を、具体的に理解できましたか
(4) 子どもやその家庭の生活問題は、個人的な要因だけでなく、環境的な要因が関係していることを、ツールの利用により理解できましたか
(5) 1回目と2回目のアセスメント結果を通して、子どもとその家庭の生活の変化を理解できましたか
(6) 子どもやその家庭を支援していく際には、保育所や保育士だけでなく、地域や行政・専門機関までも視野に入れ、連携していく必要があることを、ツールの利用により理解できましたか
(7) 子どもやその家庭を支援していく際には、保育所内における情報共有や職員連携などの組織体制が、必要であることを、ツールの利用により理解できましたか
(8) 子どもやその家庭を支援していく際には、保育所や保育士は子どもの権利を護るだけでなく、保護者との信頼関係や家庭を支援するための知識や方法が必要であることを、ツールの利用により理解できましたか
(9) グラフなどを見ることで、グループでの話し合いがしやすかったですか
(10) ツールを活用し、グループで話し合うことで他の人の考え方を受け入れたり、自分の意見との差異を確認したりすることができましたか
(11) 教員や他のグループとのアセスメント結果の差異（認識のズレ）を確認することで、他職種や他機関との連携の必要性を理解できましたか
(12) 今回の演習体験は、保育現場での実践に役立つと思いますか
(13) 支援ツールを、保育現場での実践として、取り入れることは有効だと思いますか

表3は、アンケート結果のうち、1から13までの質問の中で、上位2つの選択肢「5 よくできた」「4 まあまあできた」を選択し回答した者の割合を、全体としてまとめたものである。

少人数のアンケート結果であることから、統計的な正確さを示すことはできないが、アセスメント・ツールに対する評価について、全体的に高い評価（全ての項目において80%以上）を示していることがわかる。とくに、評価が上位の項目である「(2)」「(5)」「(6)」「(8)」は、家庭の生活を全体的に把握するための視点や実際に支援を展開していくうえで必要なスキルなど、ソーシャルワークにおけるアセスメントと支援スキルの理解が進んだと評価することができる。そして、「(9)」「(10)」の項目は、グループ内における話し合いに関する内容であり、メンバー間のコミュニケーションや互いの認識の違いを、アセスメント・ツールによって、その理解が促進されたと評価することができる。

以上のことから、アセスメント・ツールを活用した演習プログラムの現時点での成果としては、①子どもだけでなく、家庭の生活全体やその変容過程の理解ができる、②保護者との信頼関係や行政・専門機関などの社会資源を活用した支援の重要性についての理解ができる、③グループ内でのディスカッションを通じて、他者との認識の違いやその意義について理解できる、といった点にまとめられる。

これらの成果は、本研究が目的としていた、「保育士のソーシャルワークへの理解」が進んだと評価することができる。また、もう一方の課題であったアセスメント・ツールの有用性については（質問の「(12)」「(13)」）、それぞれ86.1%と比較的に高い評価を得ることができた。

表3. アンケート集計結果（%）

質問No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
全体	86.1	100.0	86.0	83.3	100.0	97.2	88.9	94.4	97.2	97.2	86.1	86.1	86.1

4. これからの展望

本研究におけるアセスメント・ツール（教育支援ツール）を活用した演習プログラムは、保育士がソーシャルワークのスキルを身につけるのに、ひとつの有効な方法であるとして評価された。このことは、今後、保育士がソーシャルワークのスキルを獲得していくための有効なトレーニング方法として提示することができる。

今後は、「保育ソーシャルワーカー」養成のための研修や保育士の養成課程におけるソーシャルワーク・トレーニングとしての新たなカリキュラム開発（テキストの作成）にも発展させていきたいと考えている。

5. 社会に対するメッセージ

本研究で実施したアセスメント・ツール（教育支援ツール）は、子どもと家庭の生活全体や保育所や地域社会の環境状況などの多くの情報をコンピュータによって処理し、棒グラフやレーダーチャートなどで、その全体図を視覚的に把握することを可能にしています（図1）。

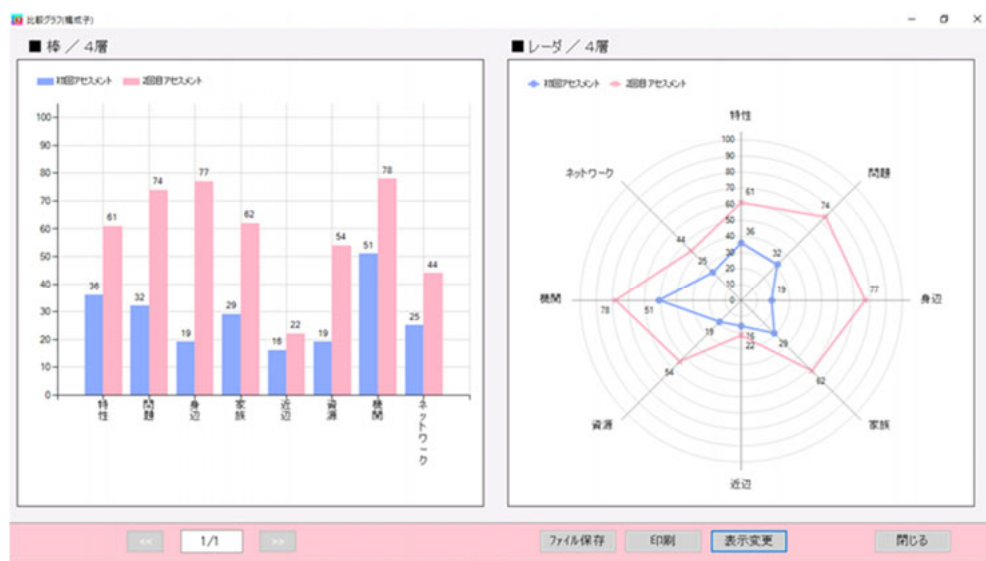


図1. アセスメント・ツールを活用した、家庭の生活全体の状況

近年、福祉現場においても、こうした ICT（コンピュータやインターネットなどの情報通信技術）を活用した支援に注目が集まっており、その利便性や機能性から、様々な福祉問題を解決するための支援活動として、どのように活かすことができるのかが課題となっています。そうした意味において、本研究は ICT を活用した研究であり、今後の福祉領域の実践レベルに応用していくための多くの成果や示唆が得られたと考えています。

今後も、福祉領域における ICT を活用した研究の発展のために、引き続きご支援をお願い申し上げます。

若手・女性研究者奨励金による研究を遂行していくなかで、現場で活躍されている多くの保育士の方々と交流することができ、そして、本研究への期待と激励をいただくことができました。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・共済事業団および関係各位に心より御礼申し上げます。

新規抗がん剤開発のための水溶性化修飾法の確立 ーアミド構造特異的メチル化反応の有効性ー

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	イチマル ヨシミ 市 丸 嘉
所属等	金城学院大学 薬学部 助教
プロフィール	私は薬学部 6 年制教育課程の第 1 期生として日本大学薬学部薬学科を卒業後、日本大学大学院薬学研究科博士課程を修了し、博士（薬学）を授与されました。その後、博士研究員として日本大学薬学部で勤務し、平成 29 年度より現在の職位に就きました。新規課程の薬学教育を修了した研究者として、特に基礎化学をベースに、質の高い薬剤師、薬学研究者の養成に尽力すべく、日々精進しています。資格：薬剤師、公認スポーツファーマシスト。専門：創薬化学、生物有機化学。

1. 研究の概要

新規抗がん剤候補化合物である Epox/Ind は、高い抗がん活性を有する一方、水溶性が極めて低い点が大きな欠点である。本研究では、Epox/Ind のアミド構造をメチル化することで水溶性を改善できるか検討した。結果、アミド構造のメチル化は、Epox/Ind の水溶性を改善し、加えて抗がん活性をわずかに増強させることを見出した。本研究成果は、これまでに例のない手法で水溶性の改善を試みた例であり、Epox/Ind 以外にも、難水溶性を欠点とする医薬品化合物への応用が期待される。

2. 研究の動機、目的

【研究の動機】日本人の 2 人に 1 人が生涯でがん罹患するとされている近年、新しい抗がん剤の開発には大きな需要がある。私はこれまで、インディルビン誘導体の抗がん作用に注目して研究を行ってきた。インディルビン誘導体は植物由来の化合物であり、アミド構造をもつインドール化合物である。また、がん細胞において活性を持つ特定の分子に対して選択的に作用する薬（分子標的薬）としての可能性が期待されている。私が開発したインディルビン誘導体の 1 つ” Epox/Ind” は、肝臓がん、膵臓がん、神経芽腫など、複数のがんに対して、他のインディルビン誘導体よりも強く作用することが示されている。しかし、インディルビン誘導体は水に極めて溶けにくく、この性質が医薬品の開発において大きなネックになっている。これまでに、インディルビン誘導体の抗がん活性を維持しつつ、水溶性を改善する方法は確立されていない。そんな中、最近、アミド構造がメチル化されたインディルビン誘導体は、水系溶剤に極めて溶けやすくなることを見出し、Epox/Ind の水溶性を改善するために利用できないかと考え、本研究の発案に至った。

【研究の目的】

Epox/Ind のアミド構造をメチル化したインディルビン誘導体” Epox/Ind-2MeO (Epox/Ind Δ 1,2O-Me)” を用いて、1：水溶性が改善するか、2：抗がん活性に影響があるか、を検証する目的で研究を行った。

3. 研究の結果

【水溶性の改善】本研究ではまず、求電子的メチル化剤を用いて Epox/Ind のアミド構造を特異的かつ効率的にメチル化する方法を確立し、Epox/Ind-2MeO の製法を確立した。Epox/Ind と Epox/Ind-2MeO の、がん細胞培養液に対する溶解度を比較したところ、メチル化によって水溶性が 10 倍改善した。化学計算ソフト Spartan'16 を使用して Epox/Ind と Epox/Ind-2MeO を比較したところ、水溶性に関連するパラメーターのうち、双極子モーメントの値が 2 倍以上異なることを見出した。一方で、油水分分配係数や極性表面積などのパラメーターは、Epox/Ind と Epox/Ind-2MeO の値にほとんど差はなかった。以上から、Epox/Ind のアミド構造をメチル化すると、分子の双極子モーメントが変化し、水溶性が向上することを見出した。

【抗がん活性への影響】続いて、Epox/Ind と Epox/Ind-2MeO の抗がん活性を比較した。まず、肝臓がん、膵臓がん、乳がん、膀胱がん、子宮内膜がん、それぞれについて代表的ながん細胞を用いて、がん細胞の増殖抑制活性を比較した。結果、Epox/Ind-2MeO は、乳がん細胞に対する活性が Epox/Ind よりわずかに低下したものの、その他のがん細胞については Epox/Ind-2MeO の方ががん細胞の増殖抑制活性が強かった。がん細胞の増殖を抑制する機序を検討したところ、Epox/Ind と Epox/Ind-2MeO は共にがん細胞のアポトーシス（周囲の細胞へ悪影響を及ぼさないように引き起こされる細胞の自殺機構）を引き起こすことが示された。また、Epox/Ind と Epox/Ind-2MeO ががん細胞にアポトーシスを引き起こす要因として、細胞増殖過程（細胞周期）に異常を生じさせる（具体的には G2/M arrest）が共通していることを見出した。以上から、Epox/Ind のアミド構造をメチル化すると、多くのがん細胞に対する抗がん作用が増強すること、抗がん作用機序には変化がないことが示された。

【小括】Epox/Ind のアミド構造をメチル化すると、水溶性が改善し、がん細胞の増殖抑制活性が増強した。がん細胞の増殖抑制活性は、がん細胞にアポトーシスを誘導することに由来することを見出した。

4. これからの展望

本研究成果によって Epox/Ind の抗がん活性を維持しつつ、水溶性を改善する方法が見出された。現在、溶解補助剤を用いて Epox/Ind-2MeO の水溶性を 20 倍以上向上させること成功し、さらなる水溶性の改善に取り組んでいる。水に溶けづらい物質を使用する動物実験では、多くの場合、有機溶媒など生体内に存在しない溶剤に溶かして注射し、動物に投与する。一方で水に溶ける物質は、動物の飲料水や餌に混ぜて投与することが可能で、実験動物への負担を格段に軽減できる。本研究成果によって、Epox/Ind-2MeO を用いた動物実験の展望も開けたことから、臨床試験への橋渡し研究を進めていきたいと考えている。

5. 社会に対するメッセージ

本奨励金によって、私が開発した抗がん剤候補化合物 Epox/Ind の水溶性を改善し、新薬としての可能性をより高めることに成功しました。今後とも新薬開発までに生じる課題を着実に克服していきたいと考えています。私は本研究成果を挙げるために、これまで行ったことのない実験法取り入れた実験を設計し、新しい実験スキルを獲得することができました。これはひとえに、新しい実験法にチャレンジするために必要な研究資金源となった本奨励金、延いては奨励金への支援をいただいた協賛の皆様のおかげです。厚く御礼申し上げますと共に、本研究成果に興味をお持ちいただけましたら、お気軽にお声がけいただきたく存じます。今後とも、本研究成果をベースに、更に多くの方々の目に留まる研究成果を挙げられるように、日々精進してまいりますので、ご指導ご鞭撻のほど何卒よろしくお願いいたします。

新規遺伝子モジュレーター環状 RNA の未知の核外輸送経路に 迫る

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	ヨシモト レイ 芳本 玲
所属等	藤田医科大学 総合医科学研究所 遺伝子発現機構学研究部門 助教
プロフィール	長崎県出身。京都大学薬学部卒業、京都大学理学研究科修了（理学博士）。大学院時代から一貫してスプライシング反応の副産物である、まるい構造を持つ RNA の研究を行っています。

1. 研究の概要

私たちは世界に先駆けて機能性 circRNA である ciRS-7 の生合成機構を解明した。その経験を最大限生かして、本研究提案では circRNA 核外輸送経路を解明することを目的とする。

1) 未知の circRNA 核外輸送アダプター因子の探索：

RNA クロスリンク-免疫沈降法(ChIRP-MS)によって circRNA 結合タンパク質候補データベースから siRNA ノックダウン細胞と核・細胞質分画した RT-PCR によって、核外輸送アダプター因子の探索を行う。

2) 逆位スプライシングと共役した核外輸送アダプター因子のリクルート機構の解明：

In vitro スプライシング法を確立し、スプライシング反応を各段階で粗精製し、どの段階でアダプター因子が呼び込まれるかの解析を行う。

これらの手法はすでにこれまでの研究で確立しており、成果の実現性は高いと考える。

2. 研究の動機、目的

① どのような動機か：国内外における研究動向および位置づけ

コーディング RNA から機能のあるノンコーディング RNA が作られる、しかもその構造は完全な環状である。 高速シーケンサーによる大規模解析によって、ヒトで数千種の環状 RNA(circRNA)が組織・発生段階特異的に発現している事がわかり、アルツハイマー病、ALS(筋萎縮性側索硬化症)といった神経変性疾患、癌、アテローム性動脈硬化症において circRNA とこれら疾患との関係が相次いで報告されている。さらに circRNA の一種 ciRS-7(CDR1as)は、miRNA(miR-7)の吸着剤として働き、miR-7 の遺伝子発現抑制機能を調節しているという。したがって circRNA は新たな機能性ノンコーディング RNA として注目されているが、その生合成機構には不明な点が多い。そこで私たちは世界に先駆けて最初に機能が判明した ciRS-7 をモデルに、生合成機構を解明した。

② どのような問題意識か：これまでの研究成果と着想に至った経緯

1) ciRS-7 は MIR という哺乳類によく保存された反復配列 (SINE) 依存的に産生される

ciRS-7 を発現するヒト神経芽細胞腫 (SH-SY5Y) 細胞を用いたアンチセンスオリゴヌクレオチド (ASO) 阻害実験から、ciRS-7 イントロン内に環状化に必要なシスエレメントの存在が示唆された。バイオインフォマティクス解析とレポーター実験により、MIR と呼ばれる繰り返し配列 (SINE) がスプライシングによる環状化を促進することを明らかにした。さらに RNA-Seq データ解析から MIR 依存的に産生される circRNA を多数見出し、MIR 依存的な環状化には普遍性があることを示した (Yoshimoto et al., BioRxiv 2019)。

2) circRNA は核から細胞質へ能動的に輸送される

核・細胞質に分画し RNA-Seq を行い、circRNA の多くが細胞質に局在することを見出した。しかしそれらが細胞核から能動的に輸送されているのか、あるいは M 期の核膜崩壊時に受動的に拡散しているのか不明であった。アフリカツメガエル卵母細胞へのプラスミド DNA 注入実験を用いて circRNA の動態を調べた結果、転写後にスプライシング反応によって環状化された circRNA が核から細胞質へ能動的に輸送されることを明らかにした。さらに circRNA の輸送は mRNA 核外輸送因子 TAP に依存していることが競合阻害実験により示された。circRNA には末端構造がないため、未知の circRNA 側の TAP のアダプター因子の存在が予想される。

3. 研究の結果

circRNA の細胞質局在機構を調べるために、アフリカツメガエル卵母細胞へのプラスミド DNA 注入実験を用いて circRNA の動態を調べた。その結果、転写、スプライシングされた circRNA が核から細胞質へ積極的に輸送されること、輸送はレトロウイルスの核外輸送配列 CTE で競合阻害されることから mRNA 型であることが判明した。次に mRNA 型輸送アダプター因子と circRNA の相互作用を HEK293 細胞の CLIP (crosslink and immunoprecipitation) 実験によって検証したところ circRNA には EJC、TREX の両方が結合していた。そこで EJC、TREX の構成因子のノックダウン実験を行ったところ EJC のノックダウンでは ciRS-7 の輸送は阻害されなかったのに対し、TREX のノックダウンでは ciRS-7 の輸送が阻害されたことから TREX が circRNA 輸送のアダプターであることが示唆された。次に TREX の circRNA へのリクルート過程を詳細に調べる目的で直鎖状 RNA 前駆体と HeLa 核抽出液を用いた *in vitro* 逆位スプライシング反応系を立ち上げた。CLIP 実験の結果と同様に circRNA に EJC、TREX の両方が結合していることを確認した。興味深いことに TREX のリクルートはホスト遺伝子の末端構造と逆位スプライシングに依存している。

4. これからの展望

研究を進める上で mRNA 型の輸送に非依存の circRNA も多数見出した。この違いを追い求める予定である。

5. 社会に対するメッセージ

研究を行うにはどうしてもお金（研究費）が必要です。研究費を得るには時間と労力を割いて書類を書かねばなりません。しかし時間と労力割いても獲得できないことが多々あります。その分研究費を獲得できたときの喜びは格別です。また、審査はプロの研究者が行うことから、研究費獲得に成功することは、自分の研究が認められることでもあります。

やりたいことがあるのに研究費がないという辛いときに手を差し伸べていただいたおかげで、研究を続けることができ、さらに翌年度の科研費取得にもつながりました。今回若手研究者奨励金に選んでいただきありがとうございました。

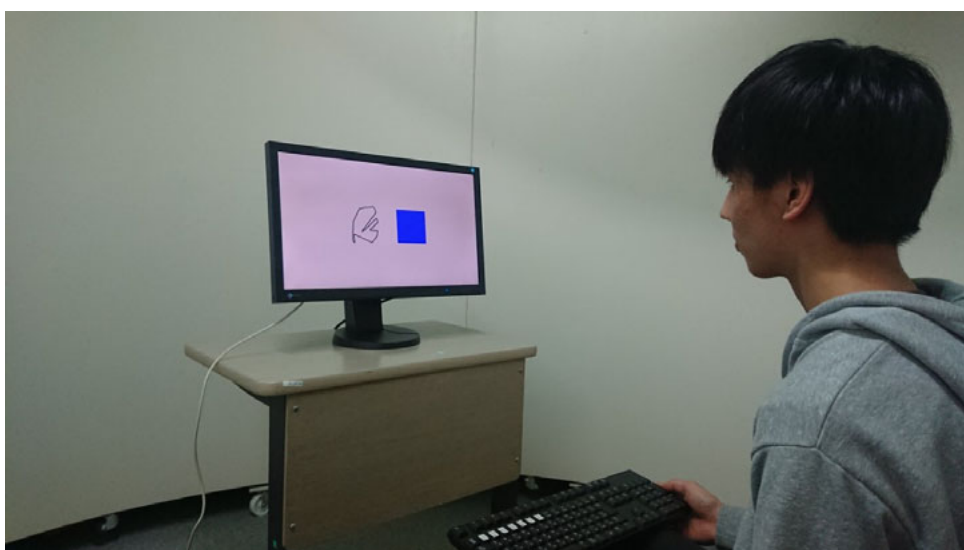
悲しみを癒す —分散型記憶モデルに基づく原理的対処法の検討—

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	シライ マリコ 白井 真理子
所属等	同志社大学 心理学部 助教
プロフィール	同志社大学大学院心理学研究科博士後期課程修了(博士(心理学))。専門は感情心理学で、中でも悲しみの感情について研究をしている。悲しみといえども様々な種類の悲しみがあり、それぞれの悲しみに対して効果的な対処方法が異なるのではと考えたことが研究を始めた動機である。主観反応だけでなく、生理・行動反応も含めた多角的な観点から、ヒトのこころのメカニズムの象徴である感情の特徴を明らかにしたいと考えている。

1. 研究の概要

突然の事故や災害などによる大切な人との別れは、深い悲しみを惹き起こし、複雑性悲嘆や PTSD(心的外傷後ストレス障害)などの精神症状を引き起こすことは広く知られている(松井, 1997)。こうした背景には、感情が与える長期記憶の影響が挙げられ、この記憶は海馬や前頭前野を含む脳記憶システムから切り離され断片化されていることが示唆されている(西川, 2008;va der Kolk, 2015)。断片化された記憶の消去や再構成を促すためには、長期記憶のメカニズムに基づいた記憶の変化過程を明らかにする必要がある。例えば、楽しい出来事の記憶は、脳の一部に限定して蓄えられている訳ではなく、さまざまな領域が関与することで維持されていると考えられている。このような理論的立場は、分散型記憶モデル(Tyler et al., 2001)と呼ばれ、脳がダメージを受けたとしても、被害が認知機能の部分的な不全にとどまり、リハビリによって機能回復が促されうる現象を効果的に説明できるモデルである。本研究では、この分散型記憶モデルに基づき、感情が関連する出来事の発生前後において、記憶がどのように経時的変化をするかを、実験的に明らかにするための研究を行った。



実験の様子

2. 研究の動機、目的

悲しみという感情に焦点を当て、感情が関係する出来事の前後で、形成された長期記憶がどのように変化するかを検討することを目的とした。感情が記憶に与える影響を明らかにすることにより、臨床場面での介入方法の開発において有効な知見を提示できる可能性がある。PTSD のようなネガティブな感情記憶を保持している疾患に対して有効とされる認知行動療法では、記憶を繰り返し思い出させることによる対象者の負担をいかに減らすか、3 ヶ月以上かかる治療期間をどのように短縮するかが課題である。本研究により、分散型記憶モデルに基づき、長期記憶に焦点を当て、強い感情反応と結びついた出来事の記憶（例えば、トラウマ記憶）が元に戻るという「適切な回復を促す治療法」を確立する一助につなげたい。

3. 研究の結果

参加者 8 名（男性 4 名、女性 4 名、平均年齢 22.5 歳）に対し、図形と色の連合記憶課題を行った。課題は 3 つのフェーズから構成されており、各参加者につき 10 日ほど要した。第 1 フェーズでは、参加者が図形と色の組み合わせを記憶し、保持されているかどうかのテストを受けた。第 2 フェーズは、第 1 フェーズの 2、3 日後に行い、図形と色の組み合わせに中性音を提示する中性条件と、感情音を提示する感情条件を用意し、連合記憶課題を行った。第 3 フェーズでは、第 2 フェーズの 1 週間後に、図形と色の連合記憶が保持されているかについてテストを行なった。

第 2、3 フェーズにおける、中性条件と感情条件の記憶保持率の変化を検討した。中性条件の保持率は第 2 フェーズが 99% ($SD = .03$)、第 3 フェーズが 91% ($SD = .18$)、感情条件がそれぞれ 96% ($SD = .09$)、97% ($SD = .04$) であり、中性条件より感情条件の方が、第 3 フェーズの保持率が高かった。第 3 フェーズで、記憶保持率の低下を示した参加者は、中性条件においては 3 名であったが、感情条件ではおらず、分布の偏りはカイ二乗検定において有意傾向を示した ($\chi^2 = 3.692$, $p = .055$)。参加者がまだ 8 名のため、厳密な結論を下すには時期尚早ではあるが、記憶形成に感情が関与しうることを示唆している。

4. これからの展望

本奨励金で得られた知見に基づき、今後も、ネガティブな感情が及ぼす記憶への影響について実証的知見を積み重ねていく。ネガティブな感情の出来事の付加が、部分的に長期記憶を変化させることが示唆されたので、更に人数を増やし、いかに効果的に記憶の回復を促すことができるかについての研究を進める。

研究者を志した背景には、少しでも苦しんでいる人の助けとなれるような、役に立てるような研究ができればという思いがあった。本奨励金は、その目標を支援してくれるものであり、今後も人のためになるとはどういうことなのかを考え続けながら真摯に研究と向き合っていきたい。

5. 社会に対するメッセージ

自身の専門である心理学の研究領域の観点から、得られた知見を社会に還元し、貢献するためには、基礎研究を堅実にやり、基礎と応用を繋げることが必須である。本奨励金により、基礎研究の重要性や独創性の評価を得て、挑戦的研究に取り組むことができた。新しいことに挑戦する際には困難が伴うが、この度の支援を得たことにより、挑戦し続けてゆくことの大切さを学んだ。支援してくださった方への感謝を忘れずに、これからも研鑽を重ね、本奨励金による後押しに応えていきたいと思う。

膵切除に伴う耐糖能異常と糖尿病発症の実態調査と危険因子の 解明－膵切除術全例登録による前向き観察研究－

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	ニリノ ファマル 庭野 史丸
所属等	近畿大学医学部内分泌・代謝・糖尿病内科 医学部講師
プロフィール	平成 23 年に高知大学医学部を卒業後、2 年間の初期臨床研修を経て平成 25 年に近畿大学医学部内分泌・代謝・糖尿病内科に入局。平成 27 年に近畿大学大学院医学研究科へ入学し平成 31 年に医学博士の学位授与とともに同大学院を修了。同年に医学部講師となり現在に至る。大学院在学中から一貫して膵切除術後症例と 1 型糖尿病の耐糖能異常に関する研究をおこなっている。

1. 研究の概要

膵臓は血糖値を制御するインスリンなど複数のホルモンを血液中に分泌する「内分泌機能」と、食事の消化吸収を司るアミラーゼなど複数の消化酵素を膵液として膵管を通じて消化管に分泌する「外分泌機能」を併せ持つ、生体の栄養代謝において極めて重要な役割を担う臓器である。近年、膵臓の手術件数は全国的に増加傾向にあり、また膵切除術後の長期生命予後改善に伴い術後に発症する耐糖能異常や糖尿病の管理が問題となり、これら基盤情報に関する需要が増している。我々は膵全摘後の膵性糖尿病にまず着目し、その血糖管理に特別な治療プロトコルを考慮する必要があることを解明してきた。しかしながら、膵切除術後の耐糖能異常や糖尿病発症に関する情報については不明な点が多い。本研究では、膵切除術前の全症例を対象とした前向き観察研究をおこない、詳細な糖代謝指標・膵内外分泌機能に関する情報を術前後に経時的に収集し、術後長期合併症管理として膵切除術後の耐糖能異常や糖尿病発症に関する基盤情報を構築することを目的としている。

2. 研究の動機、目的

①本研究の着想に至った経緯

膵切除手術により膵実質の一部または全てが取り除かれると、膵内分泌・外分泌機能の両者が障害され、術後合併症として種々の栄養障害とともに糖尿病（膵性糖尿病）が発生することが報告されている（Yun C et al. *Pancreatology* 11:279-294, 2011）。手術適応となる膵疾患としては、膵癌や慢性膵炎、膵管内乳頭粘液性腫瘍（Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm : IPMN）などがあげられ、近年積極的な手術加療が行われるようになった。さらに膵疾患以外でも、胆管癌や十二指腸乳頭部癌の手術加療では術式に膵切除を含むことから、膵切除術の適応疾患は拡大しており、その結果として膵臓の手術件数は全国的に増加傾向にある。また、手術技術が向上していることにより膵部分切除後に生じやすかった膵液の漏出などの術後急性期合併症が制御可能となったことから、膵全摘症例よりも部分切除症例が増加する傾向にある。部分切除術により膵実質が一部でも残存すると、膵内分泌・外分泌機能が維持されることが期待されるが、今後の課題として術後長期合併症管理としての耐糖能異常および糖尿病発症に関する基盤情報に関する需要が急速に高まり、その充足が急務となっていることから本研究の着想に至った。

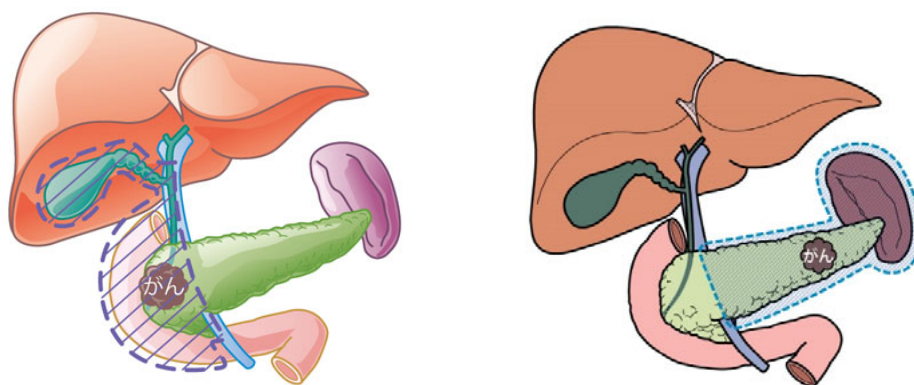
②本研究で何をどのように、どこまで明らかにしようとするのか

膵切除手術が予定されている膵疾患患者 200 名を対象とし、膵手術前後で膵機能に関する検査（75g 経口ブドウ糖負荷試験など）をおこない、血糖値やインスリン値などの各種データを収集する。主要評価項目は術後 3 年までの新規糖尿病発症または糖尿病悪化とし、副次的評価項目はベースライン（研究開始時点）から術後 3 年までの糖代謝指標を含めた各種臨床指標の変化とした。統計的事項として、患者背景を集計し主要評価項目において術後 3 年までの新規糖尿病発症率を算出する。副次的項目において時点毎の測定値の基礎統計量を算出し、術前後で対応のある 1 票本 t 検定を行う。患者背景別（年齢、膵切除割合、膵切除部位等）に解析を行う。安全性として有害事象は、その発現率を算出する。

3. 研究の結果

現在、膵疾患患者 377 名がエントリーされており、このうち術後 3 年を経過している症例は 113 名であり、着実に症例数を積み上げている。膵機能に関する検査から得られたデータについては順次データベースに登録をおこなっており、現在 57 名を解析対象として 75g 経口ブドウ糖負荷試験の結果をもとに、膵切除術直前と直後（それぞれ手術から±1 か月以内）において血糖値やインスリン値の比較をおこなった。比較に際しては術式間（PD 膵頭十二指腸切除術 vs DP 膵体尾部切除術）で術前後の血糖値やインスリン値に違いがあるかを検討した（図）。75g 経口ブドウ糖負荷試験を施行し血糖値とインスリン値の曲線下面積で比較した結果、PD 群（41 例）においては手術前と比較し手術後において血糖値は有意に低下し（PD 術前： 26739.2 ± 682.3 vs PD 術後： 24702.4 ± 668.9 mg/dl $\times$ min, $p < 0.05$ ）、インスリン値についても有意に低下する結果（PD 術前： 9242.5 ± 792.2 vs PD 術後： 4999.7 ± 629.4 μ IU/mL $\times$ min, $p < 0.05$ ）となった。DP 群（16 例）においては手術前と比較し手術後において血糖値は有意に上昇し（DP 術前： 25249.7 ± 1226.6 vs DP 術後： 30446.3 ± 1416.8 mg/dl $\times$ min, $p < 0.05$ ）、インスリン値については差を認めなかった（DP 術前： 8288.6 ± 988.7 vs DP 術後： 6387.6 ± 799.2 μ IU/mL $\times$ min, NS）。術式間において、膵手術前後で血糖値・インスリン値に大きな変化の違いがあることが明らかとなった。

図 膵頭十二指腸切除術（PD, 左）と膵体尾部切除術（DP, 右）、切除範囲は点線部分



日本消化器病外科学会 HP より転載

4. これからの展望

データベース作成完了後、膵切除症例の糖尿病発症に関する発症予知因子についてさらに詳細な統計解析を今後検討している。現在、血液や尿の検査を中心としたデータを収集しているが、今後膵切除体積を手術前後に撮影された CT から計測し術後の血糖変化への影響について調べることや、膵切除標本を用いて膵実質に術後の血糖変化に影響する要因（膵炎の状態など）について検討する予定である。なお、膵切除術後 6 か月おきに外来で経口ブドウ糖負荷試

験や他の臨床検査をフォローアップしているため、それらのデータについても順次解析をおこない長期的な術後合併症管理として膵切除術後の耐糖能異常や糖尿病発症に関する病態解明と発症予知に関する臨床指標を将来的に検索する。

5. 社会に対するメッセージ

本研究により、膵切除に生じる耐糖能異常・糖尿病発症の危険因子を同定できれば、術後耐糖能障害発症を予知予測することが可能となり、膵切除後糖尿病発症に対する新たなスクリーニング指標として臨床応用可能です。発症早期から糖尿病治療を始めることにより、現在問題となっている膵切除後糖尿病による急性期・慢性期合併症の発症進展を未然に防ぐことができます。また、私たちは1型糖尿病と膵全摘後糖尿病の血糖コントロールが大きく異なり、それぞれ特別な治療プロトコルが必要であることを報告しており (Niwano F et al. *J Diabetes Investig.* 9: 1084-90, 2018)、膵部分切除後糖尿病においても新たな治療プロトコルを構築する必要があると考えていますが、その実現のためには数多くの膵切除症例の集積と長期的なフォローアップが必要となります。今後も増加する膵切除後糖尿病の病態解明と合併症進展予防のために引き続きご支援のほど宜しくお願い致します。

スポーツ傷害予防のためのトレーニング方法の考案とその介入 効果

－器械体操競技の倒立に着目して－

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	キノシタ カズアキ 木下 和昭
所属等	四條畷学園大学 リハビリテーション学部 講師
プロフィール	兵庫県内にある 2 つのジュニア体操競技チームで傷害予防やパフォーマンスの向上にむけて活動を行っています。また兵庫県 U-15 ジュニア体操競技強化チームのトレーナーも務めており、今年度より兵庫県ジュニア体操競技選手権大会での救護活動も実施していく予定です。今後、ジュニア選手が体操競技を上手くなることはもちろんのこと、傷害予防の知識を身につけながら、将来活躍できる選手へ育つために活動を進めたいと考えています。

1. 研究の概要

(1) 筋電図学的観点から段階づけた倒立方法を検討した。

次の世代を担う小学生や中学生（以下、ジュニア）体操競技選手の上肢傷害を予防する活動を試みるため、基礎となる倒立練習方法を筋活動の面から検討した。

(2) 段階づけた倒立方法を現場で導入し、その効果を検討した。

研究（1）の方法を実際の体操現場に導入し、上肢傷害の予防に貢献するのか検討した。本研究は体操競技の上肢傷害の減少に貢献する一つの知見となった。

2. 研究の動機、目的

平成 17 年より開始された「運動器の 10 年」日本委員会における学校での運動器疾患・障害の調査研究事業の結果、運動器疾患の有病率は 10～20%と非常に高く、そのうちスポーツ傷害が 40%以上と多くを占めることが判明した。そのため、現在では様々なスポーツ競技で傷害の予防活動やその成果が報告されている。

近年、体操競技はオリンピックや世界体操競技大会での選手の活躍により競技人口が増加しており、特に女子選手では低年齢化が進んでいる。そのため、ジュニア世代は身体機能や神経系の未発達な時から難しい技に取り組み、身体へ負担をかけている。それに加え過度の運動により第二次性徴の発現が遅れ、スポーツ障害との関係も強く懸念される。

以上の点から、体操競技のジュニア世代の医学的研究は、将来の活躍やスポーツ傷害予防、子供の発育発達の観点からも重要となり、その問題は非常に難解な社会問題である。

体操競技は上肢で体重を支持する運動が多く、この競技の傷害は他競技と比較すると、上肢に多く発生する特徴がある。上肢で荷重を必要とする基礎的な技術では、倒立姿勢保持（以下、倒立）がある。倒立では特に成長期の時期を中心として成長軟骨への負荷が増大することによる、体操競技特有の骨端線障害を認めることも少なくない。そのため、低年齢層の時から無知に倒立を練習するのではなく、上肢への負荷を段階づけるような倒立練習の方法が必要であると考えている。

そのため本研究は、「段階づけた倒立方法（図 1）における肩関節・肩甲骨周囲の筋活動の変化」について明らかにし、また考案した「段階づけた倒立方法の導入が、傷害予防の短期成績に与える影響」に関して明らかにすることである。

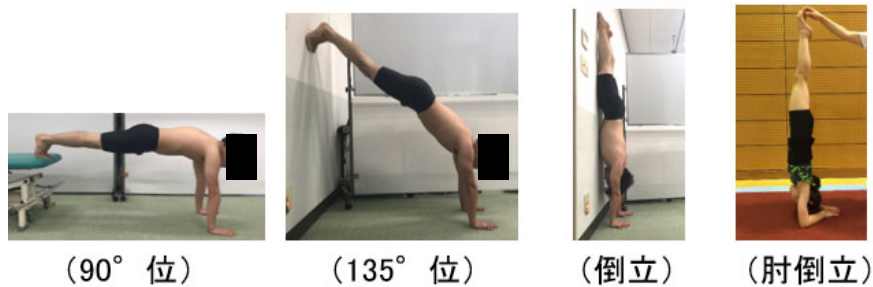


図1：段階づけた倒立方法

3. 研究の結果

(研究1) 段階づけた倒立方法における肩関節・肩甲骨周囲の筋活動の変化

90°位から135°位では、肩甲骨周囲筋の筋活動が有意に増大した。135°位から倒立では肩甲骨周囲筋の筋活動に加えて、肩甲上腕関節周囲筋も有意に筋活動が増大した。135°位から肘倒立では僧帽筋上部線維と中部線維に有意な筋活動の増大が認められ、肘倒立から倒立では僧帽筋下部線維と棘下筋に有意な筋活動の増大が認められた。

すなわち、筋電図学的解析の観点から、倒立、肘倒立、135°位、90°位の順に負荷が強くなっており、各々の姿勢で必要な筋活動が明らかとなった。

(研究2) 段階づけた倒立方法の導入が、傷害発生の短期成績に与える影響

“一年間に一週間以上続く疼痛”を疼痛発生と定義して、19名に対してアンケートにて肩関節、上腕部、肘関節、前腕部、手関節、手部・手指の項目で疼痛発生の調査をした。調査は2018年に実施し、その後より研究1の倒立方法を導入した。再測定を1年後の2019年に同様の形式で行った。結果、19名中14名の経過を追えた。疼痛アンケートの結果は(2018年から2019年)、肩関節3名から3名、上腕部0名から0名、肘関節7名から7名、前腕部0名から0名、手関節5名から4名、手部・手指1名から3名となり、肘関節は有意に減少した。その他には、有意な変化は認められなかった。

4. これからの展望

本研究の結果から段階づけた倒立は、肘関節の傷害予防への一つとなることが明らかとなりました。しかし、肩・手関節には変化がなく、今後の課題を残す結果となりました。傷害予防には多面的要素からの介入が必要であり、さらなる要素の追加や異なる観点からの介入により、体操競技の傷害予防へ繋げることが重要であると考えています。

今後の目標としては、最終目標に小中学生のジュニア世代の傷害予防を目的としているため、一都道府県レベルでの大会などで傷害アンケートの周知やその予防方法の指導などを取り入れることや、ジュニア世代の代表チームに介入をすることにより、末端にも情報を広めていくことが重要と考えています。そして、ジュニア体操競技における一つの傷害予防モデルを構築していくことが重要であると考えています。

5. 社会に対するメッセージ

わが国の子どもの体は、運動不足により身体機能が低い子どもと過度の運動によりスポーツ障害を有している子どもとの二極化現象が報告されています。この現象は、子どものロコモティブシンドロームを引き起こすことや将来のロコモティブシンドロームを助長することが考えられるため、非常に難解な社会問題となっています。その背景は様々であり、各スポーツ種目により傷害予防法は異なることが容易に考えられます。このような状況に関して、現場介入を行っている医療従事者や研究者は希少であり、次世代の社会を担う現在社会の子どもの健全なる発育発達を促す上で本研究は非常に重要と考えています。

本研究は、ジュニア体操競技における傷害予防の一步として遂行でき、今後、さらなる発展をさせることが重要と考えています。本研究の遂行にご支援を頂きました、日本私立学校振興・共済事業団とその関係者の皆様に深謝致します。

低沸点フルオロプロピン誘導体の自在導入法の開発 ー含フルオロメチル医薬品合成への挑戦ー

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	オクダ ヤスヒロ 奥田 靖浩
所属等	岡山理科大学 工学部 バイオ・応用化学科 助教
プロフィール	鳥取県鳥取市出身。2007 年 4 月から岡山大学理学部化学科に入学。2011 年 3 月、岡山大学理学部化学科 卒業 (指導教官：西原 康師 教授)。その後、同研究室で研究を継続し、2013 年 3 月 岡山大学大学院自然科学研究科分子科学専攻 修了 (修士 (理学) 取得)、2016 年 3 月 岡山大学大学院自然科学研究科地球生命物質科学専攻 修了 (博士 (理学) 取得)。その間、2015 年 4 月より日本学術振興会特別研究員 (DC2、2 年間) に採用され、2016 年 4 月に日本学術振興会特別研究員 (PD) に資格変更後、スペイン Institut Català d'Investigació Química において 1 年間博士研究員として海外研究を実施 (指導教官：Ruben Martin 教授)。2017 年 4 月から現職の岡山理科大学工学部バイオ・応用化学科 助教として着任 (折田 明浩 教授 主宰研究室)。専門分野は有機金属化学、有機合成化学、計算化学、錯体化学 など。

1. 研究の概要

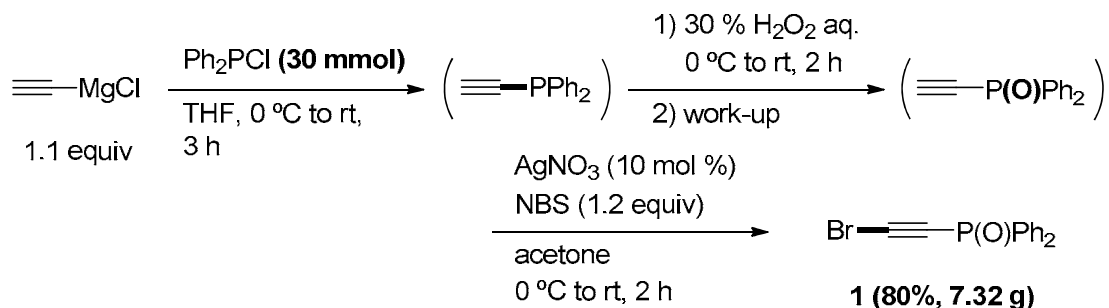
本研究では、有機合成化学において取り扱い困難なフルオロプロピンの安定等価体を開発し、続く変換反応に応用することを目標とした萌芽的研究である。不安定化学種を安定化し、続く変換反応に応用する研究は、これまでに多くの天然物や機能性物質を合成可能にし、社会に多くの化学製品を提供してきた。本研究では、申請者がごく最近独自に開発したブロモ (ホスホリル) エチン **1** にフルオロメチル基を導入することにより、安定かつ取り扱い容易なフルオロプロピン等価体を合成できると考え、研究を実施した。その結果、当初予定したフルオロメチル化反応ではなく、添加剤のアミンが直接反応してイナミンが生成することを本研究にて見出した。詳細に調査した結果、合成報告例が少ない希少な化合物であること (関連化合物である窒素上に電子求引基を導入したイナミドの報告例は多いことと全く対照的)、幅広い有機窒素化合物の合成前駆体として利用できることが明らかになった。予想外の生成物ではあるものの、本研究では新たなイナミンの合成法の確立と、続く有機窒素化合物への展開することが出来たので、その詳細について以下報告する。

2. 研究の動機、目的

以前から当研究室では、ホスホリルエチン誘導体の変換反応を開発し、幅広い機能性アセチレン誘導体に応用してきた (一例として、*Org. Chem. Front.* **2015**, 2, 248.)。このため、ホスホリル基を利用した有機合成反応は、新たなアセチレン誘導体の合成法として期待されているが、その実証例は未だ多くない。そこで本研究では、これまで高揮発性という性質のため有機合成化学では積極的に利用されなかったフルオロプロピンの安定かつ簡便利用化を実現するため、本研究者が独自に開発したブロモ (ホスホリル) エチン **1** を用いた炭素－臭素結合のフルオロメチル化反応からフルオロプロピン等価体を合成することを目指し、本研究を実施した。

3. 研究の結果

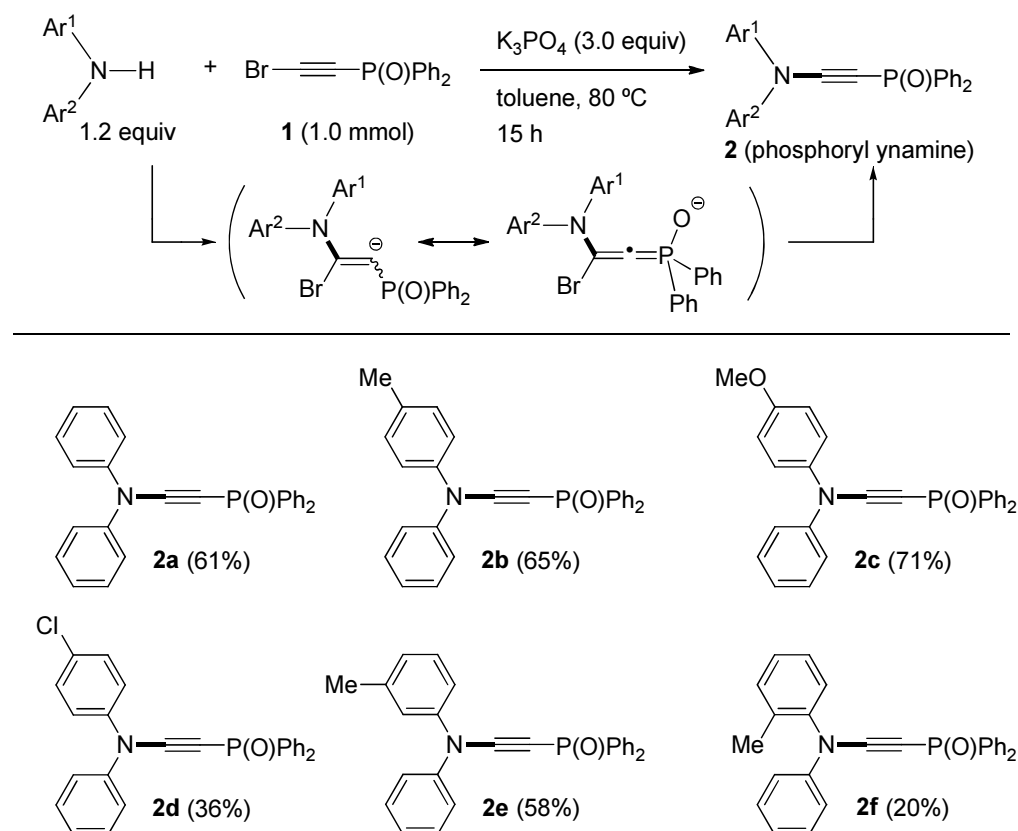
まず、出発原料であるブromo (ホスホリル) エチン **1** の合成に取り組んだ。その結果、本研究では Grignard 反応–H₂O₂ 酸化–銀触媒臭素化という連続プロセスによりブromo (ホスホリル) エチン **1** を高収率かつ大スケール合成することに成功した (スキーム 1)。



スキーム 1：出発原料となるブromo (ホスホリル) エチン **1** の合成

続けて、合成したブromo (ホスホリル) エチン **1** を用いてフルオロメチル基の導入を検討した。幅広いフルオロメチル化剤を用いて **1** と反応を行ったが、フルオロメチル基の導入は低収率 (20% 程度) であった。しかしフルオロメチル化条件の最適化研究の最中に、**1** とアミンを混合すると速やかにイナミンに変換されることを見出した。さらに反応条件を調査すると、**1** とジアルキルアミンをリン酸三カリウム存在下、トルエン中 80 °C で混合することでホスホリルイナミン **2** が高収率で得られ、幅広い関連誘導体にも応用できた (表 1)。

表 1：炭素(sp)–窒素結合の形成反応を経由したホスホリルイナミンの合成例



更に本研究において、合成したホスホリルイナミン **2** は従来の有機窒素化合物とは全く異なる性質を有していることも明らかにした。例えば、アミノ基とホスホリルエチニル基の間にベンゼン環を結合した化合物 **3, 4** は 350-390 nm 付近の可視光領域に大きな吸収帯 ($\epsilon \approx 30,000$) を有し、かつ 450 nm 付近に強い蛍光を発する発光分子であった。これに対し、ホスホリルイナミン **2a** は紫外光のみを吸収し、かつ蛍光発光は観測できなかった (表 2)。

表 2 : アミノホスホリルエチン誘導体 **2a**, **3**, **4** における分光学的パラメータ

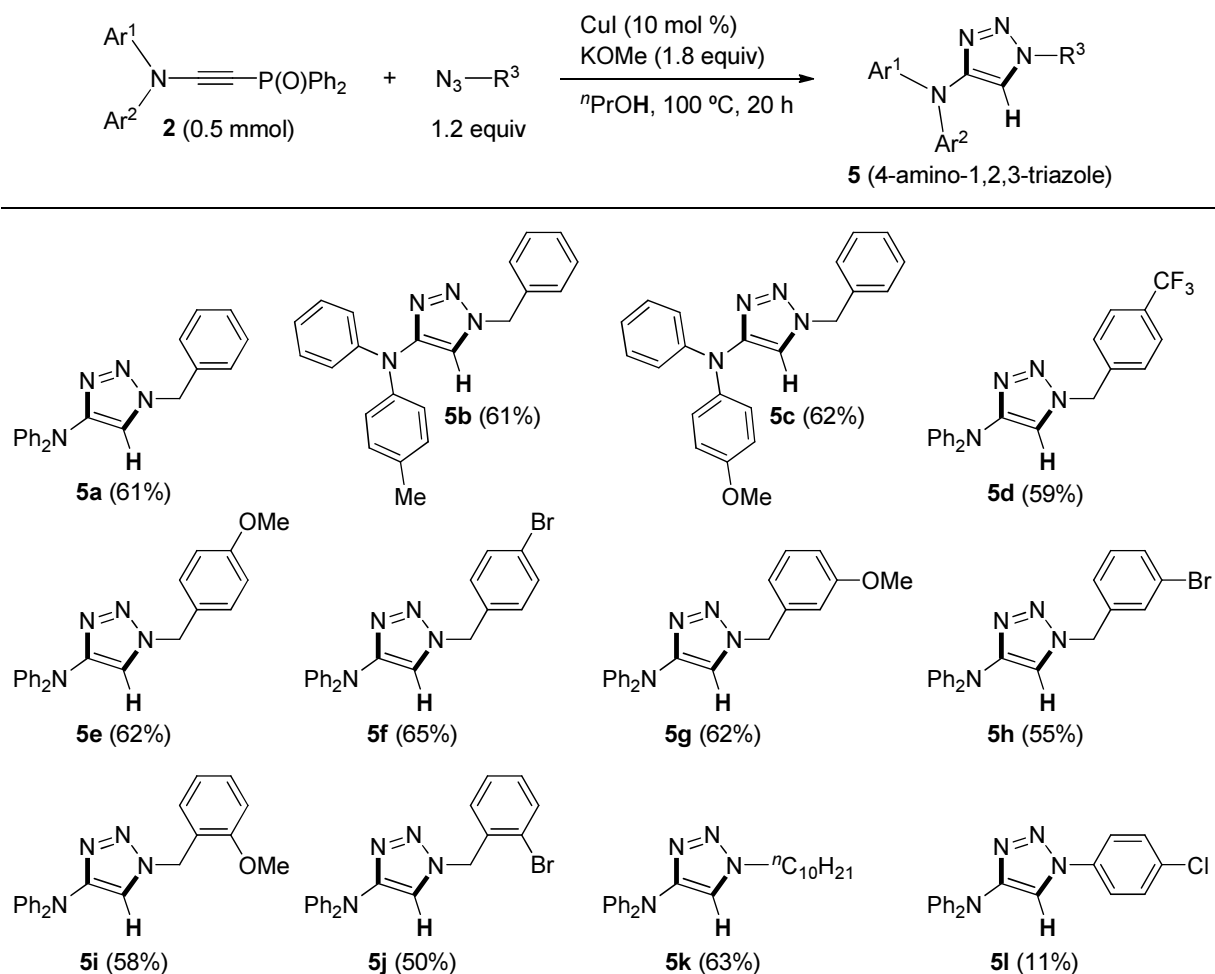
$\text{Ph}_2\text{N}-\text{C}\equiv\text{C}-\text{P}(\text{O})\text{Ph}_2$ 2a $\text{Ph}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{C}\equiv\text{C}-\text{P}(\text{O})\text{Ph}_2$ 3 $\text{Ph}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{C}\equiv\text{C}-\text{P}(\text{O})\text{Ph}_2$ 4				
	$\lambda_{\text{max}}^{\text{abs}} / \text{nm}^a$	$\varepsilon / \text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}^a$	$\lambda_{\text{max}}^{\text{em}} / \text{nm}^b$	$\Phi_F^{a,c}$
2a	273	11,651	ND	—
3	354	29,261	440	0.93
4	385	31,555	467	0.97

^a In CHCl₃ (1.0 × 10⁻⁴ M). ^b In CHCl₃ (1.0 × 10⁻⁶ M).

^c Absolute fluorescence quantum yield.

さらに、本研究ではホスホリルイナミン **2** を用いた応用反応も開発した。銅触媒存在下、*n*-プロパノール溶媒中、ホスホリルイナミン **2** とアジド、メトキシカリウムを 100 °C で混合すると 4-アミノ-1,2,3-トリアゾール **5** が得られることを見出した (表 3)。

表 3 : ホスホリルイナミン **2** を用いた 4-アミノ-1,2,3-トリアゾール **5** の合成例



4. これからの展望

本研究で合成した 4-アミノ-1,2,3-トリアゾールは σ_1 レセプターに作用する新たな鎮痛剤として報告されている (*J. Med. Chem.* **2015**, 58, 2441.). しかし、従来では合成法に制限が多いため、これまで実用化には至っていない。そこで本研究からアミノトリアゾールの合成簡略化を実現することにより、続く生理活性の評価研究を促進し、最終的には新たな鎮痛薬を開発したいと考えている。実際に現在では、本研究者と生物学を専門とする研究グループとの間で共同研究を実施しており、新たな医薬品とするための研究を開始している。本研究を契機として新たな医薬品が誕生することを期待したい。

5. 社会に対するメッセージ

本研究を実施するにあたり、当初はフルオロメチル化を出発地点として含フッ素合成前駆体を合成することを計画していた。しかし予想外の新規かつ重要な研究知見を得たことにより、現在では医薬品の開発につながる重要な研究に展開出来た。本研究で開発した化合物 (イナミン) を新たな出発物質として応用すれば、これまで合成出来なかった有機窒素化合物の合成を実現、また従来法の効率向上により医薬品の低コスト化が期待される。研究開始時点ではアカデミックキャリアを開始したばかりの研究者ではあったものの、本研究を通じて独自の研究基盤を構築し、次の研究につなげることができた。改めて本制度により支援を受けられたことに関して謝意を述べたい。

嗅球におけるノルアドレナリン神経回路の解明 —単一ニューロン標識による形態学的アプローチ—

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	ホリエ サワ 堀江 沙和
所属等	川崎医科大学 医学部 助教
プロフィール	杏林大学大学院 保健学研究科で高見茂教授のもとで博士号を取得しました。その後、岩手医科大学 病態生理学分野（佐原資謹教授）で博士研究員を経て、現職で研究および解剖学の教育に従事しています。“におい” および“フェロモン”に興味を持ち、2つを大きなテーマに解剖学的、時には生理学的アプローチで神経回路や機能の解明を目指して日々研究をしています。

1. 研究の概要

においの情報は嗅粘膜の嗅細胞で受容され、1次中枢である嗅球にて処理され、さらに高次中枢へと伝えられる。嗅球では、特異的に存在する出力ニューロンや、抑制性介在ニューロンが嗅覚情報処理に関与している。さらに嗅球には脳の他の領域から遠心性の神経線維が入っていることが知られているがその詳細は明らかにはなっていなかった。

私はこれまで、嗅球内の介在ニューロンにおいて、ドーパミン代謝酵素の局在を調べてきた。そして同じ合成系であるノルアドレナリンをもつ神経線維は嗅球内に見られるものの、ノルアドレナリンを合成する酵素であるドーパミン-β水酸化酵素 (DBH) をもつ細胞の細胞体は嗅球内には存在せず、嗅球内の介在ニューロンとは異なることを報告してきた。

本研究では、これらの成果を発展させ、遠心性に嗅球に入力するノルアドレナリン合成細胞に着目し、以下のことを調べることを目的とした。

- ① ノルアドレナリンをもつ神経線維の起始核から嗅球内に至る経路
- ② 嗅球におけるノルアドレナリンをもつ線維の神経回路の解明

嗅球の構造や情報の出力、調節機構は嗅球外同様にそう構造をもつ大脳皮質にも通じ、さらには中枢神経系の脳の他の領域でも応用が可能であるのが特徴である。よって、本研究の成果は、においの情報処理の理解を深めるだけでなく、中枢性の嗅覚障害の病態生理の解明の糸口ともなることが期待される。

2. 研究の動機、目的

においの情報を受け取る1次中枢である嗅球は層構造をなしており、各層には多種多様なニューロンが存在し、複雑な神経回路を形成している。嗅球への入力線維は嗅神経のほかに、遠心性の入力が存在する。遠心性の入力についてはこれまで、セロトニン (5HT)、アセチルコリン (ACh)、ノルアドレナリン作動性線維の起始核および、そこから嗅球へ投射していることは知られていた。しかしながら、それらは1960年代に神経変性によるものや、1980年代にトレーサー (WGA-HRP など) を用いた方法で行われており、起始核における細胞群や線維束としては証明されていたが、投射経路そのものはわかっていなかった。そこで、所属研究室ではこれまで、5HT および ACh ニューロンの起始核から嗅球までの単一ニューロンレベルでの投射経路を明らかにしてきた。しかしながら、ノルアドレナリンについては不明なままであった。

嗅球内にはドーパミン合成酵素であるチロシン水酸化酵素 (TH) を発現している介在ニュー

ロンが多数存在し、ドーパミンの生合成が行われている事がわかっている。さらに、ドーパミン代謝酵素の一つである、芳香族 L-アミノ酸脱炭素酵素 (AADC) の発現が見られることより、ドーパミンの合成が示唆されてきた。一方、ノルアドレナリンの生合成はドーパミンの代謝経路と同様の経路で、TH から合成されるが、さらに解析を進めると、ノルアドレナリンの合成に関与する DBH(+)の細胞体は嗅球内には存在しないことがわかった。そこで、「嗅球での遠心性ノルアドレナリン線維の役割とは何か」、「嗅覚情報処理に対して、どのような調節に関与しているのか?」という問いを立て、本研究ではノルアドレナリン合成細胞に着目し、遠心性ノルアドレナリン細胞の起始核から嗅球に至る経路と嗅球における神経回路を解明することを目的とした。

嗅覚障害には、末梢の感覚器に起因するものと、嗅覚情報処理の場である中枢性のものがある。この中枢性嗅覚障害のうち、ドーパミンの欠乏によるパーキンソン病患者では、70-90%で著しい嗅覚機能障害が起こると言われている。その現象として、嗅覚1次中枢にある傍系球体細胞の TH 陽性細胞が2倍に増えているといわれており、ドーパミン系の神経回路との関連が示唆されている。しかしながら、異臭症に代表されるその他の中枢性の嗅覚障害の場合、臨床では外科的手術、ステロイド薬、漢方薬（当機芍薬散等）の処方が主となるが、病態解明への形態学的アプローチは他にない。

3. 研究の結果

① 嗅球に入る遠心性のノルアドレナリン線維の解析

嗅球に入る遠心性のノルアドレナリン線維を明らかにする為に、ウイルスを用いた単一ニューロン標識を行い、その投射経路を明らかにした。方法として、ノルアドレナリン神経線維を特異的に標識するために、DBH-Cre マウスに Cre に特異的に感染するアデノ随伴ウイルスを DBH-Cre マウスの青斑核に注入することで、ノルアドレナリンニューロンを特異的に標識した。その結果、嗅球に投射するノルアドレナリンニューロンは青斑核より始まり、中脳毛様体を通り、黒質線条、視床と視床下部の間を通り、内側前脳束から腹側に下降、嗅索の上方を通過し、嗅球へと至ることがわかった。単一の神経細胞を標識することで、途中の分枝や嗅球内での走行が明らかとなった。

② 嗅球内でのシナプスレベルでのノルアドレナリン線維の解析(電子顕微鏡レベル)

遠心性の線維が嗅球内のどの細胞とどのようなコンタクトをしているのか、電子顕微鏡を用いて微細構造解析を行った。標識されたノルアドレナリン作動性線維の超薄切片を作製し、電子顕微鏡で観察、シナプス構造などを解析した。その結果、ノルアドレナリン作動性線維にバリエーション部分にシナプス結合が見られた。

4. これからの展望

本研究において、嗅球内へ入力する遠心性の神経線維の経路および、嗅球内での神経回路の一部が明らかとなった。今後さらに解析を進めることで、神経回路の解明につながると考えられる。さらに、今まで解析してきた遠心性の神経線維の起始核の神経細胞は生理学的にも睡眠などの体内の生理学的なリズムへの関与が示唆されている。今後、生理学的な実験と組み合わせ、生理的条件も加味した嗅覚への影響も研究していきたい。

本研究の発展により、遠心性のノルアドレナリンや他の遠心性線維、嗅球内の細胞との関係が明らかになることで、嗅覚情報の調整機構の基盤構築ができる。ノルアドレナリンをはじめとするドーパミン系ニューロンやアセチルコリンなどによる嗅球内の神経回路を明らかにすることで、中枢より起こる嗅覚障害に対する治療法等の為の一助となると考えている。

5. 社会に対するメッセージ

このたびは、若手・女性研究者奨励金を賜り、誠にありがとうございました。関係者の皆様に深く感謝いたします。

私の研究は「嗅球におけるノルアドレナリン神経回路の解明」をテーマに、嗅覚に関わる脳の神経回路の解明に向けて行なっております。今回いただきました奨励金により、電子顕微鏡のための試料薄切に欠かせない、ダイヤモンドナイフを購入することができました。これにより、数十 nm（ナノメートル）という非常に薄い切片を作製でき、電子顕微鏡でシナプスレベルでの微細な構造の解析ができ、重要な所見を得ることができました。これからさらに解析を行い、神経回路の微細な形態を明らかにしていきたいと思っております。

嗅覚は多くの動物にとって、生存や繁殖などの種の維持に関わる重要な感覚です。得られた成果をさらに発展させ、嗅覚情報処理機構の解明、そして臨床応用への足がかりとなることを目指して、今後も研究に取り組んでいきたいと思っております。

食餌による腸内細菌叢の変化が大黃甘草湯の下剤活性に及ぼす影響

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	たかやま けん と 高山 健人
所属等	福山大学 薬学部薬学科 講師
プロフィール	岡山県倉敷市出身。平成 21 年福山大学薬学部生物薬学科卒業後、同年福山大学薬学部漢方薬物解析学研究室助手、平成 28 年同助教、平成 29 年博士（薬学）取得後、平成 31 年から同講師。漢方薬の作用メカニズムを明らかにするため、近年疾病の発症との関わりが解明され始めた腸内細菌叢に着目し、腸内細菌叢の変化を介した漢方薬の新たな作用メカニズムの解明を目指している。

1. 研究の概要

大黃甘草湯は、便秘症に対する効果が広く認められている漢方薬である。医薬品には、効果を示す人（レスポnder）と効果を示さない人（ノンレスポnder）の存在がよく知られており、東洋医学ではこのような個人差を証と定義して漢方薬の処方指針として重要視する。私は、大黃甘草湯における下剤効果の個人差は、食生活、特に食事による腸内細菌叢の違いが影響を及ぼすと考え、下剤効果と腸内細菌叢の変化についてマウスを用いて検討を行った。その結果、便秘症患者と腸内細菌叢が類似している高炭水化物および高脂肪飼料摂取下の腸内細菌叢において、大黃甘草湯の下剤効果は促進され、その効果に大黃成分の $\text{rhein } 8\text{-O-}\beta\text{-D-glucopyranoside}$ (RG) が関与することを明らかにした。また、大黃甘草湯は腸内細菌叢を大きく変化させることで下剤効果を高めていることを解明した。一方で、高食物繊維飼料摂取下の腸内細菌叢において、大黃甘草湯の下剤効果は反対に抑制された。一般的に食物繊維の摂取により腸内環境は整えられ便通は改善することから、そのような状態にある患者には大黃甘草湯が適応しない、すなわち大黃甘草湯の証ではないと考えられる。本研究によって、食事による腸内細菌叢の違いが漢方薬のレスポnderとノンレスポnderを生み出す一因になっていることが明らかとなり、証と腸内細菌叢が深く関わっていることを証明した。

2. 研究の動機、目的

便秘の治療に頻用される大黃甘草湯は、大黃と甘草の 2 つの生薬から構成される漢方薬である。大黃甘草湯の主有効成分は大黃に含まれるセンノシド A (SA) で、ビフィズス菌などの腸内細菌叢によって代謝変換され下剤活性を示すと考えられている。しかし、漢方薬は複数の生薬を組み合わせるため、個々の成分の意義やそれらの相互作用などを十分に考慮する必要があり、構成生薬の主有効成分の薬理作用や薬物動態のみで、漢方薬の本質や特徴的な薬効を説明することは困難である。そこで申請者は、大黃甘草湯成分は腸内細菌叢による代謝

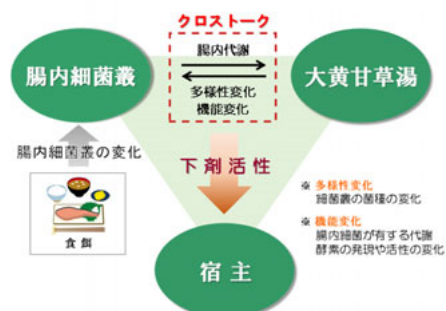


図1. 漢方薬と腸内細菌叢のクロストークの解明

変換だけではなく、腸内細菌叢の多様性や酵素活性など腸内細菌叢の機能に影響を及ぼしているのではないかと、すなわち、大黄甘草湯と腸内細菌叢のクロストークによって、大黄甘草湯の作用が宿主に発現しているという作業仮説を立て研究を進めている【図1】。

プルゼニドなど SA 製剤や大黄甘草湯などの緩下薬は、その薬効発現において大きな個人差（レスポnder、ノンレスポnder）のあることが知られている。一般的に東洋医学において、大黄甘草湯は比較的体力のある食欲旺盛な人の便秘症に適応するとされているが、科学的には主有効成分である SA が腸内代謝を介して作用を発現するプロドラッグであることから、その下剤活性の発現は大黄甘草湯のレスポnderやノンレスポnderと腸内細菌叢の違いに密接な関係性のあることが推測された。

そこで本研究では、飼料組成の異なる3種の食餌をマウスに給餌して腸内細菌叢を変化させた上で、大黄甘草湯や SA を5日間にわたり連日経口投与し、下剤活性変化と投与前後の腸内細菌叢の多様性変化を解析することで、食餌による腸内細菌叢の変化が大黄甘草湯の下剤活性に及ぼす影響について明らかにした。

3. 研究の結果

① 食餌の違いは緩下薬の下剤効果に影響を及ぼす

高炭水化物飼料摂取下において SA 単独の下剤活性は有意に抑制された一方で、大黄甘草湯の下剤活性は有意に促進した（図1A）。そこで、この相違に関与する大黄甘草湯成分を明らかにするために、大黄甘草湯の下剤活性促進成分である RG およびリクイリチン（LQ）について SA に添加して下剤活性を評価した。その結果、RG は大黄甘草湯と同様に SA の下剤活性を有意に促進したことから、大黄甘草湯の下剤活性促進作用に RG が関与することが明らかとなった（図1A）。

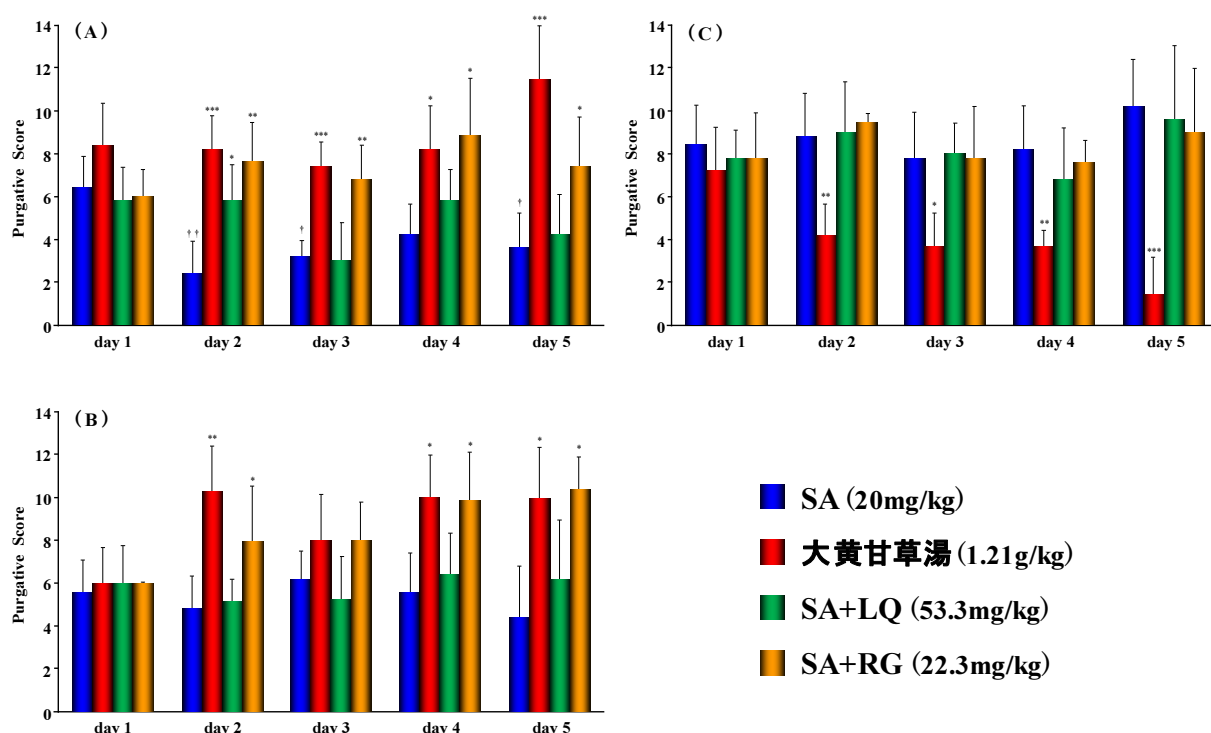


図2. 食餌の違いが及ぼす緩下薬の下剤活性への影響

(A) 高炭水化物飼料、(B) 高炭水化物飼料、(C) 高炭水化物飼料

Data points are presented as the mean $\pm$ standard deviation (SD) derived from five mice; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, and *** $p < 0.001$, a statistically significant difference in relation to sennoside A (SA) using Bonferroni's multiple comparison test; † $p < 0.05$ and †† $p < 0.01$, significantly different from SA on day 1 using Bonferroni's multiple comparison test.

高脂肪飼料摂取下においては、SA 単独の下剤活性は変化を認めなかったものの、大黄甘草湯の下剤活性は高炭水化物飼料摂取下と同様に有意な下剤活性の促進を認め、この作用にも RG の関与が認められた (図 1 B)。

高繊維飼料摂取下においては、SA 単独の下剤活性は 5 日間を通して高い下剤活性が維持された一方で、大黄甘草湯の下剤活性は有意に抑制された (図 1 C)。この抑制作用に RG や LQ は関与しておらず、他的大黄甘草湯成分の関与が推察された。一般的に食物繊維の摂取により、腸内環境は整えられ便通は改善することから、そのような状態で大黄甘草湯の下剤活性が抑制される現象は東洋医学的に考えて大変興味深い結果である。現在、この抑制作用について大黄甘草湯を構成するどの生薬に起因する作用か、またどの成分による作用なのか検討を行っている。

② 大黄甘草湯は便秘症の腸内細菌叢の状態下で下剤効果を発揮する

3 種の飼料を給餌させた緩下薬投与前の腸内細菌叢を比較した結果、高炭水化物および高脂肪飼料摂取下における腸内細菌叢は高繊維飼料摂取下と比較して *Firmicutes* が多数を占め (図 2 A、B)、多様性も異なった。Zhu らによると、便秘症患者の腸内細菌叢において *Bacteroidetes* は有意に減少し *Firmicutes* は増加傾向にあること、また非便秘症患者と比較して α 多様性および β 多様性は異なることを報告しており、また Vandeputte らは硬い便の α 多様性は高いことを明らかにしている。以上の報告から、本研究における高炭水化物および高脂肪飼料摂取下の腸内細菌叢は、便秘症患者の腸内細菌叢と類似していると考えられた。そこで、SA や大黄甘草湯を投与し腸内細菌叢の変化を解析したところ、いずれの緩下薬の投与においても *Bacteroidetes* の存在比は大幅に増加した (図 2 A、B)。硬い便で多いとされる *Ruminococcaceae* は SA 単独投与ではほとんど変化しなかったが、大黄甘草湯投与により大きく減少した。また、*Enterobacteriaceae* は、高炭水化物飼料摂取下において下剤活性が抑制された SA 単独投与では変化しなかったが、大黄甘草湯投与により 100 倍近く増加した。

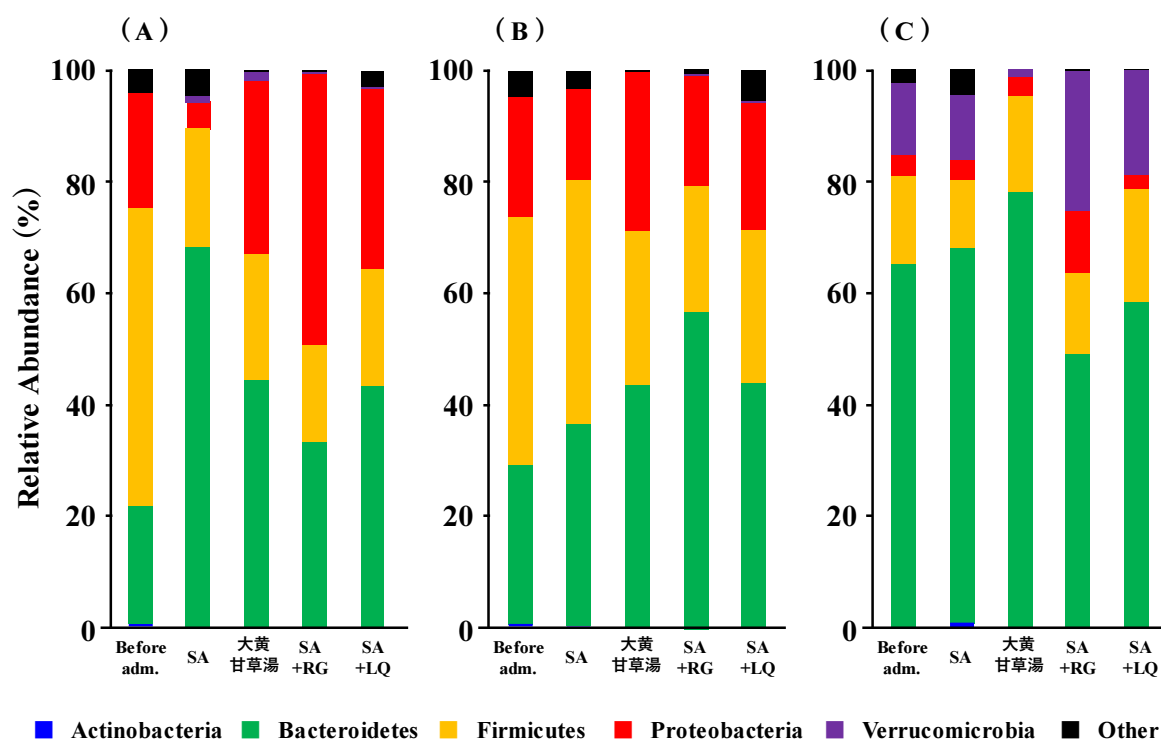


図 3. 緩下薬の投与による腸内細菌叢の変化

(A) 高炭水化物飼料、(B) 高炭水化物飼料、(C) 高炭水化物飼料

一般的に *Enterobacteriaceae* には下痢などを引き起こす細菌種も含まれており、それらの細菌種の増加と下剤活性の促進作用に関連性が認められた。以上の結果から、SA や大黃甘草湯の下剤効果は食餌による腸内細菌叢の変化に左右され、特に大黃甘草湯は便秘症の腸内細菌叢に類似した状態下において下剤効果を発揮することが明らかとなった。

4. これからの展望

本研究から SA や大黃甘草湯のレスポonder、ノンレスポonderは食餌による腸内細菌叢の状態により決定づけられ、特に大黃甘草湯は RG の作用によりレスポonderに対して下剤効果をより高めることが明らかとなった。臨床では、SA は西洋医学的な診断基準に基づいて処方される。しかし、大黃甘草湯は東洋医学的な診断基準、すなわち漢方薬の適応となる症状（証）に基づいて処方が決定される。本研究から食餌による腸内細菌叢の違いは漢方薬の適応となる証を決める一因になっている可能性を強く示唆した。東洋医学において、治癒は漢方薬など医術だけで臨むものではなく、普段の食生活など生活習慣、すなわち養生が重要であるとされる。これにより腸内細菌叢は決定づけられ、体質だけではなく薬の効き方まで左右していることが本研究から明らかとなった。

本研究成果を基に現在は、腸内細菌叢を介した腸管免疫やマウスの行動特性を指標に漢方薬と腸内細菌叢のクロストークが及ぼす影響について解明を試みている。

5. 社会に対するメッセージ

本研究から、食餌による腸内細菌叢の違いが便秘症の治療に頻用される大黃甘草湯の薬効発現を左右するという事実を証明することができ、その成果を発表することができました (Takayama K., *et al.*, *Sci Rep*, doi:10.1038/s41598-019-40278-2, 2019)。近年、薬の効果が腸内細菌叢の違いによって異なるという事実は、PD-1 を標的とするチェックポイント阻害薬の抗腫瘍効果においても認められており (Routy B. *et al.*, *Science*, 2018)、漢方薬だけではなく抗がん剤など西洋薬の薬効発現も腸内細菌叢との関連性は指摘され始めました。この度の若手奨励金により遂行することができた本研究から様々な知見を得ることができ、現在新たな研究の進展に活かすことができています。今後、薬の薬効と腸内細菌叢の変化は重要視されると考えられ、私もその一躍を担えるよう努力を積み重ね、研究成果を社会に還元できるよう邁進していく所存です。

骨基質タンパクの脂肪細胞に対する影響に関する研究 ーオステオカルシンによる脂肪細胞の細胞死誘導機序の解明ー

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	オオタニ タカヒト 大谷 崇仁
所属等	福岡歯科大学 生体構造学講座 機能構造学分野 助教
プロフィール	2012 年 4 月から九州大学歯学研究院口腔細胞工学分野にて骨基質タンパクの 1 つであるオステオカルシン (OC) の脂肪細胞に対する影響について研究を開始し、OC が脂肪細胞に作用し、糖・脂質代謝活性化ホルモンであるアディポネクチンの発現を亢進させることとそのシグナル伝達経路を解明し、学位論文として発表した(歯学博士号取得)。2015 年 4 月からは同研究室にて学術研究員として勤務し、以前から確認していた高濃度の OC を脂肪細胞に作用させると逆にアディポネクチンの発現が抑制される現象の解明について着手した。2016 年 4 月からは福岡歯科大学機能構造学分野の助教に採用され、継続して OC の研究を続け、高濃度 OC によりアディポネクチンの発現が抑制される現象が脂肪細胞への細胞死誘導の影響であることとそのシグナル伝達経路を明らかにし、現在に至る。

1. 研究の概要

骨は運動器官であるとともに、ホルモンを分泌する内分泌器官として重要な働きを担っていることがここ十数年の研究で明らかとなった。中でも、骨芽細胞が分泌するオステオカルシン (OC) は、糖・エネルギー代謝の制御に重要な役割を担っている。

これらの役割の中で、私は OC が脂肪細胞に作用し、糖・脂質代謝活性化ホルモンであるアディポネクチンの発現を亢進させることとそのシグナル伝達経路を解明した。これにより OC による代謝制御の一端として脂肪細胞を介した機序が示唆され、糖尿病や肥満などの生活習慣病に対する新たな薬理学的アプローチとなる可能性を見出した。

2. 研究の動機、目的

この研究過程において、私は高濃度の OC は逆の作用-すなわちアディポネクチンの発現を抑制することに気づき、これが脂肪細胞への細胞死誘導である可能性に至った。この OC の濃度による効果の違いはその実用化を考える際に解明すべき重要なポイントとなる。

そこで、本研究では高濃度 OC によって脂肪細胞に細胞死が誘導されるメカニズムを分子レベルで明らかにし、その全身的な影響について解析することを目的とした。

3. 研究の結果

今回の研究によって以下の内容が明らかとなった。脂肪細胞に高濃度の OC を作用させると OC は脂肪細胞の細胞膜上の受容体である GPRC6A に結合し、セカンドメッセンジャーである細胞内 cAMP (サイクリック AMP) の濃度を上昇させ、続いて PKA (プロテインキナーゼ A) を活性化させる。これによりアディポネクチンの発現が亢進すると同時に、転写因子である FoxO1 の発現がする。この FoxO1 の発現亢進は高濃度 OC を作用させた時のみに認められる現象である。よって、高濃度 OC による脂肪細胞への細胞死誘導はこの FoxO1 が重要な役割を果たす。続いて FoxO1 は FasL (Fas リガンド) というデス因子 (細胞死を引き起こすタンパク質) を細胞膜上に発現させ、この FasL がとなりの脂肪細胞の細胞膜上の Fas という受容体に結合し、この隣

在した脂肪細胞に細胞死を誘導することを発見した。つまり、高濃度 OC による脂肪細胞の細胞死は OC がその受容体を介して結合した脂肪細胞に隣在する脂肪細胞に誘導されるということが明らかとなり、このことからすべての脂肪細胞が細胞死するのではなく、まさに間引きされるように約 3 割の脂肪細胞が細胞死し、残りの約 7 割はアディポネクチンの発現が亢進した代謝に有利な性質をもった脂肪細胞となることが示唆された。

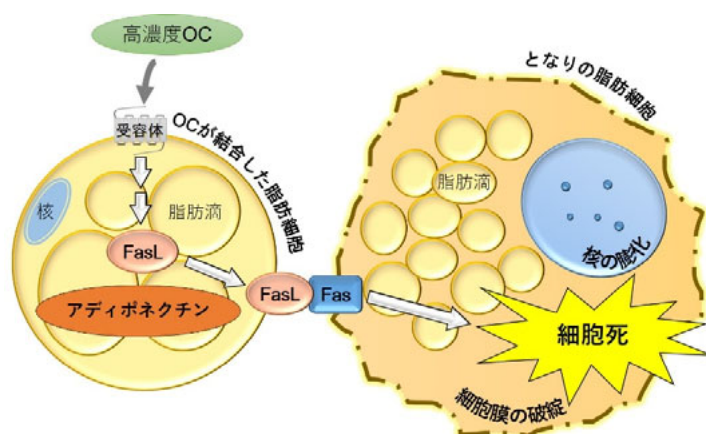


図) 高濃度OCによる脂肪細胞への細胞死誘導メカニズム

今回の研究内容は 2018 年 12 月 13 日に英国のオンライン科学雑誌「Cell Death & Disease」(Nature Publishing Group)に掲載された。

4. これからの展望

ここまでの研究で高濃度 OC の脂肪細胞に対する影響を細胞レベルで明らかにしたので、今度はマウスを用いて個体レベルで高濃度 OC の及ぼす全身的な影響を解析する予定である。

5. 社会に対するメッセージ

今回の研究で、骨基質タンパクの OC が脂肪細胞に作用し、糖・脂質代謝活性化ホルモンであるアディポネクチンの発現を亢進させるのと同時に、その濃度を上げると脂肪細胞に細胞死を誘導し、全体のボリュームを 3 割ほど減少させる効果が確認された。このことから、OC が生活習慣病である糖尿病や肥満の予防や治療に対して新しい戦略をもたらす可能性を有しており、今後、その他の細胞や個体レベルでの OC の効果をより詳細に検証する必要があると考える。

卵膜由来間葉系幹細胞を用いた新規心筋細胞分化誘導法の開発 —GSK-3 の活性化による分化誘導促進—

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	イシカネ シン 石 兼 真
所属等	産業医科大学 医学部 助教
プロフィール	2010 年福岡大学大学院薬学研究科博士課程修了、博士（薬学）。国立循環器病研究センター研究所再生医療部流動研究員、同研究所生化学部特任研究員、福井大学医学部生命情報医科学講座特命助教を経て、2015 年より現職の産業医科大学医学部薬理学講座助教に。学生の頃より循環器疾患に興味を持ち、血管病変が関与する心筋梗塞や閉塞性動脈硬化症、がんなどの難治性疾患に対する新しい治療法の開発を目指して研究を進めている。日本薬理学会、日本臨床薬理学会、日本癌学会に所属。

1. 研究の概要

産業医学において、労働環境に起因する肉体的・精神的ストレスは様々な疾患リスクを増加させると考えられており、過労死の要因の一つに心不全がある。心不全の発症後は、生活習慣の改善、薬物治療、バイパス術などの治療を受けながら就労する患者が多いが、根本的な治療には至らないため身体活動が制限されるケースも多く、生活の質（QOL）の低下が懸念される。

近年、様々な細胞へと分化することのできる多能性幹細胞を用いた再生医療が注目され、国内外で研究が盛んに行われている。2015 年には、間葉系幹細胞 (Mesenchymal stem cells; MSC) を用いた急性移植片対宿主病に対する再生医療製品として「テムセル HS 注」が保険適用医薬品として承認・販売され、再生医療が臨床治療に用いられるようになってきている。

循環器分野においても MSC 移植による治療効果が基礎・前臨床研究にて報告されており、重度の心不全患者に対する心臓移植や人工心肺の使用に変わる新たな根本的な治療法として期待されている。しかし、細胞移植療法を臨床応用へと用いるためにはクリアすべき課題が多く残されており、移植した細胞が生体内で長期間生存することができないため、時間経過とともに生存細胞数が減少する「低生着率」と、わずかに生着した細胞でも目的の細胞に分化する割合が非常に少ない「低分化率」は、現時点における細胞移植療法の治療効果を限定的なものにしているとして、早期改善が渴望されている。

本研究では、心筋梗塞患者への MSC 移植療法において、移植細胞の心筋細胞への分化効率を改善することで、より効果的な細胞移植療法を確立することを目的として、グリコーゲン合成酵素キナーゼ-3 (GSK-3) の活性化薬を用いた MSC 分化誘導効率の改善に関する研究を行った。

2. 研究の動機、目的

MSC の分化誘導効率を改善する取り組みは様々な手法で行われており、ウイルスベクターなどを用いた遺伝子導入法も検討されているが、十分な分化効率を得ることはできていないことに加え、安全性の面から臨床応用については慎重な意見も多い。そこで、臨床での使用に影響が少ない方法で MSC の分化誘導効率を改善すべく検討を行った。

当講座では、GSK-3 をターゲットとした創薬研究を行っているが、幹細胞の分化能調節に GSK-3 が重要な役割を有しているとの報告がある。しかし、その関与メカニズムについては明

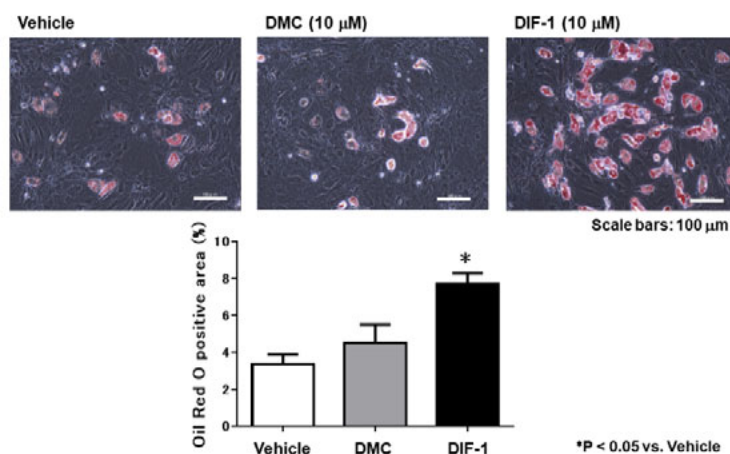
らかになっておらず、分化誘導効率改善を目的とした応用には至っていない。申請者は、GSK-3 のホモノックアウトマウスは胎生致死性であり、その原因の一つに心臓形成不全があることに着目し、GSK-3 の活性化が心筋細胞への分化過程において促進的に作用しているのではないかと仮説を立てた。

本研究では、GSK-3 活性化作用を有する 2,5-Dimethyl celecoxib (DMC) と Differentiation-inducing factor-1 (DIF-1) を用いて、MSC の分化誘導効率の改善作用や分化調節機序を明らかにすることにより、マウス心筋梗塞モデルを用いた *in vivo* 解析、大動物を用いた前臨床研究へとステップアップするための基礎的研究を行った。

3. 研究の結果

(1) DMC、DIF-1 による MSC の脂肪細胞分化効率の変化

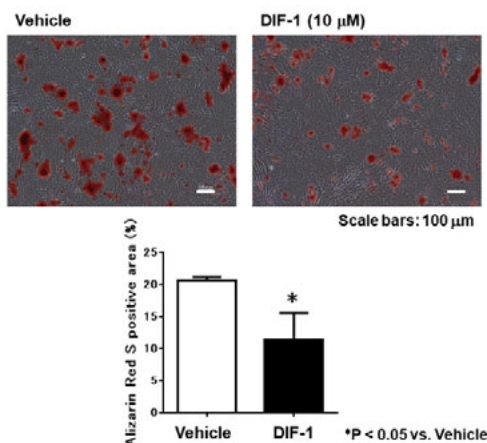
ラット MSC に対し、DMC (10 μ M)、DIF-1 (10 μ M) を前処置し、48 時間後に脂肪細胞分化誘導メディウムにて分化誘導を行った。14 日後、オイルレッド O 染色にて脂肪細胞への分化効率を評価した。DMC 処置群では、Vehicle 処置群と比較してオイルレッド O 陽性細胞数の変化は確認されなかったが、DIF-1 処置群では有意なオイルレッド O 陽性細胞の増加が確認された (図 1)。この結果より、DIF-1 は MSC の脂肪細胞への分化誘導促進作用を有することが示唆された。



【図 1. MSC の脂肪細胞分化に対する DMC、DIF-1 の作用】

(2) DIF-1 による MSC の骨芽細胞分化効率の変化

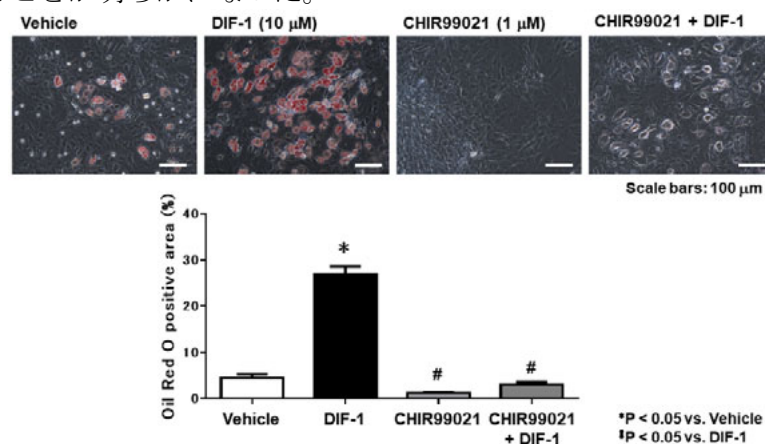
ラット MSC に対し、DIF-1 (10 μ M) を前処置し、48 時間後に骨芽細胞分化誘導メディウムにて分化誘導を行った。21 日後、アリザリンレッド S 染色にて骨芽細胞への分化効率を評価した。DIF-1 処置群では、Vehicle 群と比較して有意なアリザリンレッド S 陽性部位の減少が確認された (図 2)。この結果より、DIF-1 は MSC の骨芽細胞への分化誘導抑制作用を有することが示唆された。



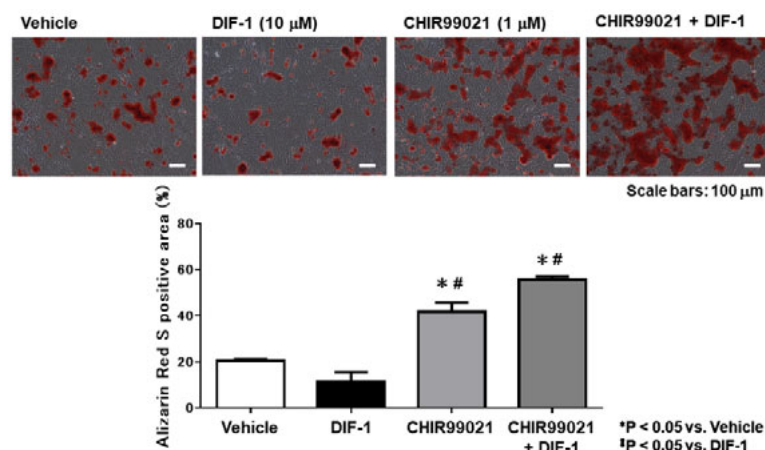
【図 2. MSC の骨芽細胞分化に対する DMC、DIF-1 の作用】

(3) GSK-3阻害剤によるDIF-1の分化誘導調節作用の変化

ラット MSC に対し、GSK-3 阻害剤 (CHIR99021、1 μ M) を前処置し、30 分後に DIF-1 (10 μ M) を添加した。48 時間後に脂肪細胞分化誘導メディウム、もしくは骨芽細胞分化誘導メディウムにて分化誘導を行った。DIF-1 による脂肪細胞への分化促進作用 (図 3)、骨芽細胞への分化抑制作用は GSK-3 阻害剤により有意に抑制された (図 4)。また、GSK-3 阻害剤単独処置群では、脂肪細胞への分化抑制作用、骨芽細胞への分化促進作用が確認された。この結果より、GSK-3 は MSC の分化誘導に重要な役割を有しており、その活性調節により幹細胞分化を制御できる可能性があることが明らかになった。



【図 3. DIF-1 による脂肪細胞分化促進作用に対する GSK-3 阻害剤の作用】



【図 4. DIF-1 による骨芽細胞分化抑制作用に対する GSK-3 阻害剤の作用】

4. これからの展望

本研究成果から、GSK-3 が MSC の分化制御に大きく関わっており、その調節作用により目的細胞への分化誘導効率を改善できることが示唆されました。GSK-3 の活性調節は、MSC 移植療法を臨床応用へと発展させるにあたり大きな課題となっている「低分化効率」を克服することができる可能性があります。現在、GSK-3 調節薬を用いて、MSC の心筋細胞への分化誘導効率を改善すべく研究を進めています。本研究成果は、心筋への分化効率を改善するだけでなく、多能性維持による他の分化系統 (血管内皮細胞、神経、肝細胞など) においても応用が可能であると考えられます。

加えて、細胞移植療法において、分化効率と同様に移植細胞生着率の改善が望まれています。DIF-1 が関与するシグナルには移植 MSC の生存に関わる因子があり、分化効率だけではなく、移植細胞の生着性を改善できる可能性があります。今後の展開として、GSK-3 調節により作製した“高心筋分化誘導型 MSC シート”を *in vivo* 移植実験へと発展させる際、分化効率、生着率のさらなる改善を期待して、DIF-1 の経口投与を細胞移植と組み合わせることを計画しており、より安全かつ効果的な細胞移植療法の確立に向けて研究を進めていきたいと考えています。

現在、主に基礎研究を進めていますが、今後は得られた研究成果をもとに臨床研究にも取り組みたいと考えています。将来的には、基礎と臨床を組み合わせた包括的な研究課題を遂行できる環境を整え、大学だけでなく病院勤務の方々ともコラボレーションした研究にも取り組んでいきたいと考えています。

5. 社会に対するメッセージ

再生医療は、難治性疾患に対する新たな治療法になるポテンシャルを持っていると考えられます。皮膚や角膜、軟骨などの構成細胞が少ない組織に対する細胞移植療法は臨床応用例も増えてきていますが、十分な治療効果を得るためにはさらなる改善が必要です。また、様々な細胞によって複雑に構成された臓器を再生させるには、これからも多くの時間と研究が必要だと考えられます。本研究成果から、MSCの分化制御にGSK-3が関与しており、DIF-1が分化調節薬として有用であることが示唆されました。DIF-1による詳しい分化制御機序については更なる解析が必要ですが、MSC移植療法の治療効果改善に有用である可能性があり、より効果的な細胞移植療法の開発へと発展させることで、難治性疾患に苦しむ方々の治療に貢献できるよう研究を進めていきたいと考えています。

本研究では、DIF-1のMSC分化誘導調節薬としての可能性を見い出すことで、これまでの研究をさらに進める手がかりをつかむことができました。この研究を遂行するにあたり、ご支援を頂いたことを心より感謝申し上げます。

2018
平成 30 年度（第 1 回）
女性研究者奨励金

Scholarship Fund for Women Researchers

研究報告（レポート）

産後の生活介入による母親と子どもの心理的影響についての検討

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	コトザキ ユカ 事崎 由佳
所属等	岩手医科大学いわて東北メディカル・メガバンク機構特命助教
プロフィール	2009年東北大学大学院情報科学博士。同年、東北大学加齢医学研究所博士研究員、2014年福島県立医科大学医療-産業トランスレーショナルリサーチセンター助教、2017年岩手医科大学いわて東北メディカル・メガバンク機構特命助教。 主な研究テーマは、介入によるメンタルヘルスと関連したバイオマーカー・心理指標への影響および神経科学的手法による検討。 2014年の第1子出産を機に、産後の母親とその子ども達の心理的影響について検討している。

1. 研究の概要

産後うつは、出産後の女性の心身に影響を与えるだけでなく、その子どもの成長や発育に大きな影響を与える可能性がある。しかしながら、産後うつになった女性のうち、周囲からの十分なサポートの得られづらさや、専門医への受診をためらうことも少なくなく、出産後間もない母親を対象とした負担の少ない産後うつの早期対策が必要である。本研究では、植物を育て、収穫し、それを生活に取り入れるという一連の園芸作業によって、身体的・心理的機能が回復するという効果がある園芸療法に着目し、産後女性に対する心理的影響を検討できないかと考えた。

本研究は、産後の健常女性を対象に、園芸療法による生活介入を2ヶ月間実施し、介入前後に産後うつ・育児ストレス・不安・Quality of life (QOL)に関する質問紙調査と、注意・遂行機能に関する神経心理学的検査、乳幼児の情緒面に関する質問紙調査を行い、介入前後の調査結果を比較することで、母親自身のメンタルヘルスおよび注意や処理能力といった認知機能が園芸介入によって改善するか、さらには母親と密に接している乳幼児の情緒面にも変化がみられるかを検討した。

参加者は15人で、園芸介入を実施した。具体的には、1回1時間のセッションを毎週計8回実施した。

その結果、産後うつを測るEPDSは、介入後に有意な低下を認めた。ボンディングについては、介入後に有意な低下傾向を認めた。デジットスパンテストでは、介入後平均数に有意な上昇を認め、トレイルメイキングテストでも介入後に有意な低下を認めた。子供の情緒面を測るRITQでは、「周期の規則性」で介入後に有意な上昇を認めた。

産後女性に対する園芸介入の効果について、産後うつ、ボンディング、認知機能、および子どもの周期的規則性が改善する可能性が明らかとなった。この改善効果が長期的に持続するかどうかについては、今後のフォローアップの解析による評価が必要である。また、今後、対照群を置いた検証が必要であると考ええる。

2. 研究の動機、目的

女性は妊娠中や出産後にうつが起りやすいと指摘されており（Kessler RC. J Affect Disord

2003)、ストレス疾患の既往がない女性や初回妊娠・出産でうつ症状が見られなかった女性でも産後うつが発症する可能性がある。産後うつは、出産後の女性の心身に影響を与えるだけでなく、その子どもの成長や発育に大きな影響を与える可能性がある(NICHHD Early Child Care Research Network. Dev Psychol 1999)。しかしながら、産後うつになった女性の多くが周囲の十分なサポートや適切な治療を受けることができず、乳児同伴での通院の大変さや授乳中の服薬の迷いから専門医の受診をためらうことも多い。産後うつを放置することは、重症化や慢性化につながり児への影響も大きくなるため (Brennan PA, et al. Dev Psychol 2000)、**出産後間もない母親を対象とした負担の少ない早期対策が必要**である。

研究者は、これまで成人女性を対象とした園芸療法を用いたメンタルヘルスの改善に関する研究に携わってきた。園芸療法は、植物を育て、収穫し、それを生活に取り入れるという一連の園芸作業によって、身体的機能が回復するという効果 (Ulrich RS. Environ Behav 1981) だけでなく、植物に愛着を感じることで、自信・達成感・満足感・喜び・幸福感、ストレス解消や想像力・記憶力を高めるといった**心理的改善**があると考えられている (Relf D, et al. Horttechnology 1995)。

しかしながら、**産後のうつ症状を含む様々なストレス症状に対する園芸療法などの生活介入に関する研究はほとんどなく、その効果は明らかとなっていない**。また、母親への介入による子どもへの影響を検討した研究も存在しない。

そこで、研究者が研究実績のある園芸療法を用いて産後の母親に対し生活介入を実施することで、母親の心理的な改善効果が得られることによる産後うつを含むメンタルヘルス不全の予防、かつ、子どもの情緒面への影響について明らかにできるのではないかと考えた。

本研究は、産後の健常女性を対象に園芸療法による生活介入を実施し、園芸介入がもたらす母親のメンタルヘルスや認知機能に対する効果や介入を受けた母親の子どもへの心理的影響について明らかにすることを目標とする。

3. 研究の結果

<研究対象>

本研究は、岩手医科大学医学部倫理委員会の承認を得て実施し (審査番号 : MH2018-512)、産後 1 年前後の女性 15 人 (平均年齢 : 30.4±3.2 歳) が対象者であった。

<介入内容>

対象者は、週 1 回、1 時間の園芸介入に合計 8 回参加した。園芸介入は先行研究の園芸介入の内容に準じ (Kotozaki Y, et al. J Trauma Treat 2013, Int J Rec Sci Res 2015)、前半 30 分が使用する植物や育て方の説明といった講習、後半 30 分で種まき、鉢上げ、寄せ植えといった実習から構成されており、毎回最後にチェックシートに記入した。また、参加者は、園芸介入期間中、自宅でも全員同じ種類の植物を育てた。

<評価項目>

対象者は、介入前と介入後の 2 回、アンケートに回答した。このうち、神経心理学的検査である「数字符号置換検査」、「トレイルメイキングテスト」の 2 つについては対面式で行い、その他のアンケートについては、自宅で記入してもらい、次回来る時に持参してもらった。

なお、アンケートは以下の内容であった。

- ・フェイスシート : 性別、年齢、教育歴、婚姻歴、生活習慣

- ・EPDS (Edinburgh Postnatal Depression Scale) :

産後うつ病のスクリーニングを目的とした自記式質問紙であり (Cox et al. 1987)、1996 年に岡野らによって日本語版 EPDS が作成された。10 項目 4 件法で構成されており、数分で回答可能である。得点範囲は 0~30 点である。

- ・赤ちゃんへの気持ち質問票 (ボンディング) :

自分の子供に対する愛着 (ボンディング) 障害を評価するための自記式質問紙であり、2005 年に吉田らによって日本語版が作成された。10 項目 4 件法で構成されており、30 点満点で得点が高いほど子供に対する否定的な感情が強いことを示す (吉田ら、2005; Yoshida et al, 2012)。

- ・ PSI (Parenting Stress Index) :
親の育児ストレスのスクリーニングを目的とした自記式質問紙であり (Abidin, 1983)、奈良間らによって日本語版作成、および信頼性と妥当性の検討が行われた (奈良間ら, 1999)。78 項目 5 件法で構成されており、得点が高いほどストレスが高いことを示す (奈良間ら, 1999)。
- ・ STAI (State-Trait Anxiety Inventory) :
不安状態を特性不安と状態不安の両側面から測定する自記式質問紙であり (Spielberger et al., 1970)。日本語版は中里らによって 1982 年に作成された。40 項目 4 件法からなり、女性の場合は特性不安が 45 点以上、状態不安が 42 点以上だと高不安と評価できる (中里ら, 1982)。
- ・ POMS2 短縮版 (Profile of Mood States 2nd Edition) :
気分状態を評価する自記式質問紙であり (Heuchert et al., 2012)、日本語版は 2015 年に横山によって作成された。35 項目で構成されている。
- ・ QOL26 (Quality of life) :
Quality of life (生活の質)、主観的幸福感を測定するために 1996 年に WHO によって開発され、日本語版は 1997 年に田崎らによって作成された。26 項目、5 件法で構成されており、身体的領域、心理的領域、社会的関係、環境領域、それぞれの QOL 評価ができる。
- ・ 数符号置換検査 (デジットスパンテスト) :
時間制限の中で、数と図形の対応を探し、その図形を素早く記録させることで、視覚的な処理速度と処理効率及び、書く速さを評価する。認知機能を評価するに当たり代表的な神経心理的検査の一つである (Wechsler, 1981)。
- ・ トレイルメイキングテスト :
注意機能を評価する神経心理学検査で、1986 年に日本語版が作成された (鹿島ら, 1986)。A タイプと B タイプがあり、TMT-A が選択性注意、TMT-B が分配性注意とされる (高岡ら, 2009)。TMT-A では、1 分間の間に用紙上のランダムに散りばめられた 1 から 25 までの数字を順番に、TMT-B では、2 分間の間に 1 から 13 までの数字と「あ」から「し」までのひらがなについて、数字、ひらがなを交互にできるだけ早く結んでいき、終了までにかかった時間を計測する。
- ・ RITQ (Revised Infant Temperament Questionnaire) :
こどもの乳児期の情緒面を調べるテストで 21 項目、4 件法で構成されている (菅原ら, 1994)。質問紙への回答は養育者が回答するもので、「見知らぬ人・場所への恐れ」「味覚的敏感さ」「周期の規則性」「フラストレーション・トレランス」「視覚的敏感さ」「注意の持続性と固執性」「触覚的敏感さ」を評価する。得点が高いほど、それらに当てはまることを意味する。

<解析方法>

得られたアンケート、神経心理学検査の結果は全て得点化した。なお、今回は結果がまとまっている EPDS、ボンディング、デジットスパンテスト、トレイルメイキングテスト、および RITQ について報告する。

各変数のデータは、平均値と標準偏差で示した。園芸介入前後の母親とこどもの心理的变化について、反復測定による分散分析 (repeated measure ANOVA) を行った。統計解析には IBM SPSS statistics version25 を使用し、有意水準は 5%とした。

<結果>

EPDS については、今回の対象者の中にはカットオフとなる 9 点以上に該当するものはいなかった。介入前平均得点は 2.8、介入後平均得点は 1.3 であり、有意な低下を認めた ($F=13.39$, $p=0.003$)。ボンディングについては、介入前平均得点は 11.5、介入後平均得点は 10.7 であり、有意な低下傾向を認めた ($F=3.12$, $p=0.097$)。

デジットスパンテストでは、介入前平均数は 75.4、介入後平均数は 99.2 であり、有意な上昇を認めた ($F=14.6$, $p=0.002$)。トレイルメイキングテストでは、TMT-A における介入前秒数は 53.3、介入後秒数は 46.9 であり、有意な低下を認めた ($F=5.89$, $p=0.029$)。また、TMT-B に

おける介入前秒数は 73.5、介入後秒数は 57.4 であり、有意な低下を認めた ($F=8.39, p=0.012$)。

RITQ については、「周期の規則性」で介入前平均得点は 5.3、介入後平均得点は 6.2 であり、有意な上昇を認めた ($F=8.0, p=0.013$)。他の項目については、有意差を認めなかった。

表 1 対象者 15 人の介入前後のアンケートおよび神経心理学的検査の結果

	介入前		介入後		p値
	平均	標準偏差	平均	標準偏差	
年齢 (歳)	30.4	3.2			
EPDS (点)	2.8	2.7	1.3	2.5	0.003
ボンディング (点)	11.5	1.4	10.7	1.6	0.097
デジットスパンテスト					
正答数	75.4	20.3	99.2	9.5	0.002
誤答数	0.1	0.5	0.1	0.3	0.670
TMT					
TMT-A (秒)	53.3	8.1	46.9	9.3	0.029
TMT-B (秒)	73.5	17.2	57.4	16.9	0.012
RITQ					
見知らぬ人・場所への恐れ (点)	5.9	1.4	5.6	1.3	0.265
味覚的敏感さ (点)	4.3	3.9	3.8	3.5	0.110
周期の規則性 (点)	5.3	0.5	6.2	0.6	0.013
フラストレーション・トレランス (点)	5.4	1.5	5.2	1.5	0.458
視覚的敏感さ (点)	5.1	1.8	4.9	1.6	0.634
注意の持続性と固執性 (点)	2.8	4	2.8	3.8	1.000
触覚的敏感さ (点)	5.1	2.1	5.2	2.2	0.774

EPDS, Edinburgh Postnatal Depression Scale; RITQ, Revised Infant Temperament Questionnaire;
TMT, Trail Making Test

<考察>

産後女性に対する園芸介入の効果について、産後うつ、ボンディング、認知機能、および子どもの周期的規則性が改善する可能性が明らかとなった。この効果が長期的に持続するかどうかについては、今後のフォローアップの解析による評価が必要である。

また、今回の結果は単群の結果であり、今後、対照群を置いた検証が必要であると考ええる。

4. これからの展望

今後は、残りのアンケート項目を分析し、論文化を目指す。また、介入効果の持続性の検証、および対照群を置いた検証についても将来的な実施を視野に考えたい。

5. 社会に対するメッセージ

産後うつは赤ちゃんを産んだばかりのお母さんに出てくる症状です。おおよそ 7 人に 1 人の割合で産後うつを経験すると言われていて、初めての出産に限らず、2 回目以降の出産で症状が見られることも少なくありません。

出産後は、赤ちゃんとの生活の中で、なかなか外に出にくいということもさることながら、赤ちゃんを連れて病院を受診する大変さ、授乳のことを思うと服薬は避けたいという思いなどから、ちょっとした気分の不調ぐらいだと我慢してしまうお母さんも多いのではないのでしょうか。そんな時、自宅の中でも手軽に気分転換ができて、楽しく過ごすことができる効果的な対処方法はないかなと思ったのが、この研究のきっかけでした。

これからも、多くのお母さんと赤ちゃんの笑顔が続くために、「研究」というツールを使ってサポート出来たらと思います。

自閉症リスク因子に対する性ホルモンのシナプスでの作用

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	ヤギシタ ナン 柳下 楠
所属等	埼玉医科大学 医学部 基礎医学部門 薬理学 助教
プロフィール	大学時代に『脳の中の幽霊 V.S. ラマチャンドラン、サンドラ・ブレイクスリー著、山下篤子翻訳』を読み、神経科学に魅了される。神経伝達物質である低分子化合物や受容体となるタンパク質をはじめ、様々な分子によって神経細胞の活動が制御され、我々が「考える」ことや「感じる」ことが化学物質によって左右されていることに興味を持ち、研究者を志す。 2008 年、卒業研究にて本研究の基となる仮説に思い至り、最初の端緒となる研究を行い、東京大学総長賞を受賞。本奨励金を頂き、10 年来温めていた研究を行うことが可能になった。

1. 研究の概要

①デグーの自閉症リスク因子の遺伝子配列解析

自閉症の研究には、高度な社会性を有する動物モデルが重要となる。**デグー**(*Octodon Degus*)はチリ原産で昼行性の齧歯類であり、高度な認知機能と社会性を有することが大きな特徴である。デグーを自閉症研究の有力な研究ツールとして広く活用できるように提唱するため、デグーの分子生物学的な基本情報の解析を行った。具体的には、自閉症に深く関与する遺伝子（**自閉症リスク因子**）の、デグー型の遺伝子配列を確定するために、デグーの脳から抽出した DNA 配列の解析を行った。

②シナプスにおける性ホルモンの影響

自閉症の分子的な発症メカニズムは明らかになっていないことが多い。本研究では全く新しい概念として、自閉症リスク因子に対して**性ホルモン**が分子的に作用し、自閉症を引き起こしていると仮定した。この仮説を検証するために、神経細胞の情報伝達を担う部位である**シナプス**の構造を再現した実験系において、自閉症リスク因子に対する性ホルモンの影響を検証した。

2. 研究の動機、目的

自閉症は、他者の心を推測することやコミュニケーション障害などの社会性異常を特徴とする発達障害群である。社会性という、定義が困難で評価基準が曖昧になりがちな事象を対象とするため、病態の度合や処置により改善されたかどうかの評価も困難を極める。これは特に、社会性行動を規定しにくい動物モデルを用いて研究を行う上で、大きな障害となりうる。特に、遺伝学や分子生物学的な研究で重宝されているマウスは、顕著な相互コミュニケーション行動が少なく、母子音声コミュニケーションも超音波領域であり、解析や結果の解釈が困難になりやすい。これらのことから、高度な社会性を持ち、コミュニケーション能力の高い新たな自閉症動物モデルの創出が待たれている。そこで、私は、デグーという齧歯類に着目した。デグーは、南米原産の齧歯類であり、道具を使って餌を取ることを学習できるほど認知機能が高い。また、特に大きな特徴として、高い社会性が挙げられる。デグーは

複数頭で群れを作り、緊密に意思疎通を行っている。特に、音声コミュニケーションにおいては、15 種類以上の音声レパートリーを使い分け、まるで会話をするように意思疎通を行っている。また、通常夜行性であるマウスと異なり、我々ヒトと同じ昼行性である珍しい齧歯類であることから、デグーは「ヒトに最も近い齧歯類」であると考えられている。これらの注目すべき特徴から、私は本研究において、デグーを新たな自閉症モデルとして確立すべく、基礎的な研究を行った。デグーの分子生物学的・生化学的な研究は進んでおらず、自閉症リスク因子に関しても遺伝子配列といった基本的な情報ですら、不明な点が多い。そこで、本研究では、デグーにおける自閉症リスク因子の遺伝子配列情報や脳内での発現部位といった、基礎的だが重要な事柄について解析を行った。

また、自閉症の発症率には、顕著な男女差が認められ、男子の発症率は女子の4～5倍にのぼる。このことより、男性ホルモンの自閉症発症に対する影響が考えられてきた。しかし、男性ホルモンが分子的にどのように作用して、自閉症の発症に繋がるのかは明らかになっていない。そこで、本研究では性ホルモンの自閉症発症のメカニズムを解明するために、自閉症リスク因子のシナプス形成作用に着目して、検証を行った。

3. 研究の結果

①デグーの自閉症リスク因子の遺伝子配列解析

シナプスを構成する自閉症リスク因子に着目して、デグーの脳で発現している遺伝子型を解析した。大変興味深いことに、デグー型の遺伝子配列はヒト型の配列との類似率(97%)が、マウス型(類似率 57%)やラット型(類似率 71%)よりも特に高いことを見出した。この分子は、自閉症との関連が特に深く、変異が発生することで自閉症を引き起こすことが明らかになっている。しかし、マウスの配列がヒトに余り似ていないことや、脳内での発現量が低いことから、この分子に対する研究はなかなか進んでいない。本研究によって、デグー型の分子がヒト型の配列に酷似していること、また脳内での発現を染色法その他で確認していることなどから、デグーを用いた研究を推進することで、有力な自閉症研究ツールになりえることが示された。

②シナプスにおける性ホルモンの影響

シナプスの構造を再現するような培養細胞系を構築し、性ホルモンを添加することで、シナプスに対する性ホルモンの影響を検討した。この結果、特定の性ホルモンがシナプス形成因子に作用することで、シナプス形成に影響する可能性を示した。更に、これは性ホルモンが直接シナプス形成因子に結合することで引き起こされることも示された。本研究で見出したのは性ホルモンの全く新しい働き方であるとともに、自閉症発症メカニズムとしても全く新しい機構である。このメカニズムをより詳細に検証することで、自閉症発症機構の解明に新たな一石を投じることになる。

4. これからの展望

本研究では、自閉症発症の新しい動物モデルとしてデグーの有用性を分子生物学的に補強し、更に、性ホルモンが自閉症発症に与える影響の解明に繋がる結果を得た。この結果を踏まえて、今後は、デグーにおける様々な自閉症リスク因子に関しての配列情報や発現解析を引き続き行うとともに、デグーを用いた行動実験を確立し、その自閉症モデルとしての有用性を樹立していくことを目指す。また、学会等を通して、その特徴や有用性を広く喧伝していく所存である。さらに、性ホルモンによる自閉症の発症メカニズムを明らかにすべく、本研究の結果を基に、神経細胞および動物モデルを用いて、シナプス形成や社会性の構築に対する性ホルモンの影響を検討する。

申請者はかねてより、ヒトの高度認知機能を担う分子機構、とりわけ中でも、社会性に興味を持っており、「ヒトが社会性を構築するに至った分子メカニズムとはどのようなものか？」という「問い」を研究の命題と位置付けて、研究を開始した。そして、社会性を損なう症例として自閉症に着目し、その発症機構の解明を目指している。今後の目標としては、

誰も考えつかないようなフレッシュな発想力を常に保ち、真に独創的な研究を行い続けていくことを目指す所存である。更に、本研究のように、華々しいものではなくても、根本的な「問い」に答えられるように、愚直にコツコツと研究を続けていくことが重要であると考えている。流行や情勢にとらわれない、真に重要な「問い」を持ち続け、真理に近づくために邁進する研究者像を目指している。

5. 社会に対するメッセージ

本研究を通して、今までにない発想から自閉症の発症に繋がる新しいメカニズムの解明の一端が開けたと自負している。また本研究を受けて、自閉症の発症機構に新しい観点が加わり、自閉症をはじめとした発達障害に対する更なる理解が進むとともに、社会性やコミュニケーションの障害といった、生活上の困難を伴う症状の改善に繋がることを目指していく。これは、本奨励金を頂き、皆さまの支援を賜ったおかげであり、そのために自由な発想を持って研究を行うことが出来、大変感謝しております。

日本の研究力が落ちていると言われて久しくなっている。この手の議論では大抵、インパクトファクターと呼ばれる、掲載雑誌の影響度の指標として使われている評価数値の高い雑誌に掲載された論文数などを基準に論が進められることが多い。しかし、インパクトファクターは雑誌の評価指標であって、掲載されている論文の評価ではない。まして、研究者本人の評価ではありえない。また、昨今のインパクトファクター競争の苛烈化により、高いインパクトファクターの雑誌に論文を掲載するためには、豊富な資金と人材を使って手の込んだ実験を多数行うことが必要になる。これにより、必然的に、有力な研究室にさらに大型の予算が集まるという循環が繰り返されている。また、このような研究体制では、成果を求められる余り、研究者自身の自由な発想や知的好奇心によって研究を行うことが困難になっている。しかし、科学研究の推進力は、ひとえにまさに、この自由な発想と知的好奇心のみ拠っていると私は考える。また、真に独創的な研究は、根本的な「問い」に対して答えを与える「新芽」を提示する研究であり、この「新芽」が多くの研究者を惹きつけ、大掛かりな研究が始動し、やがて「実」になるものである。それには、大型の研究資金ではなく、少額でも独創的な研究の新芽を生む「タネ」となる自由な発想を支援する制度が是非とも必要である。このような状況の中、本奨励金のように、研究の世界で独立したばかりの若手や女性の研究者が、自由な研究をのびのびと行えるように支援して頂ける助成金は本当に稀有であり、大変貴重である。実際に、本研究でも、今まで研究の主流筋では想定されていないアイデアについて、研究を行うチャンスを本奨励金により頂いた。そして、そのご支援のおかげで、自身の一生の研究テーマになるような着想について、足掛かりとなる結果を得ることが出来た。このような機会を更に、多くの研究者に繋げていくことが出来れば、本当の意味で日本の科学研究力は向上していくと確信している。また、申請者も、本奨励金の支援に恥じないような研究を、更に邁進していく決意である。

PARK2iPS 細胞を用いたドパミン神経特異的な病態機序解明 —GFP 標識ドパミン神経の形態学的研究—

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	ヨコタ ムツミ 横田 睦美
所属等	順天堂大学医学部 神経生物学・形態学講座 助教
プロフィール	ミトコンドリア病モデルマウスの作製・解析やミトコンドリア病患者由来 iPS 細胞を用いた研究を経て、現在はパーキンソン病患者由来 iPS 細胞を用いた研究を行っている。ミトコンドリアを含めたオルガネラの形態学的解析から多様な疾患の発症機構解明を目指している。

1. 研究の概要

本研究では iPS 細胞由来ドパミン神経細胞を GFP 標識することにより、ドパミン神経特異的なミトコンドリア機能・形態解析を通じたパーキンソン病病態機序の解明を目指した。本研究では、CRISPR/Cas9 システムを用いてドパミン神経細胞が GFP 標識された健常者及び患者 iPS 細胞の樹立に成功した。これらの iPS 細胞の樹立により、光顕電顕相関観察法を用いたドパミン神経特異的なオルガネラの超微形態学的解析が可能となったと言える。

2. 研究の動機、目的

パーキンソン病は中脳黒質におけるドパミン神経の変性を特徴とする神経変性疾患であり、本邦でも 10 万人以上のパーキンソン病患者がいると推定される。家族性パーキンソン病の原因因子の 1 つである PARKIN (*PARK2* 遺伝子) は、マイトファジーに代表される損傷したミトコンドリアの分解 (良質なミトコンドリアを維持する機構) に関与している。病態発症の要因としてこの損傷ミトコンドリア分解機構の破綻が示唆されているが、ドパミン神経細胞特異的な変性機序についてはほとんど明らかにされていない。

そこで、CRISPR/Cas9 システムを用いて健常者及び *PARK2* 変異を有するパーキンソン病患者 iPS 細胞内のドパミン神経細胞特異的に発現する Tyrosine Hydroxylase (TH) 遺伝子へ GFP 遺伝子をノックインし、iPS 細胞から誘導したドパミン神経細胞を特異的に GFP 標識する。分化誘導した神経細胞に対して健常者と患者間、GFP 陽性ドパミン神経と GFP 陰性その他サブタイプの神経細胞間で電子顕微鏡の比較解析を行う。これにより、パーキンソン病におけるドパミン神経特異的な形態学的変化を明らかにする。

3. 研究の結果

(1) CRISPR/Cas9 システムを用いた健常者及び患者 TH-GFP iPS 細胞の樹立

ドパミン神経に特徴的なマーカーである TH 遺伝子へ GFP 遺伝子を CRISPR/Cas9 システムによりノックインするため、ヒト TH 遺伝子エクソン 12 内ターゲット配列を含む sgRNA 発現ベクターを作製した。また、切断部位に隣接した相同配列を含むドナーベクターを作製した。作製したこれらのベクターと Cas9 ベクターを健常者及び *PARK2* 患者 iPS 細胞 (Imaizumi *et al.*, *Mol. Brain*, 2012) へ導入し、薬剤セレクションと PCR を行った結果、標的部位に GFP 遺伝子が挿入された TH-GFP iPS 細胞が健常者、患者共に複数クローン得られたことが明らかになった (図 1)。

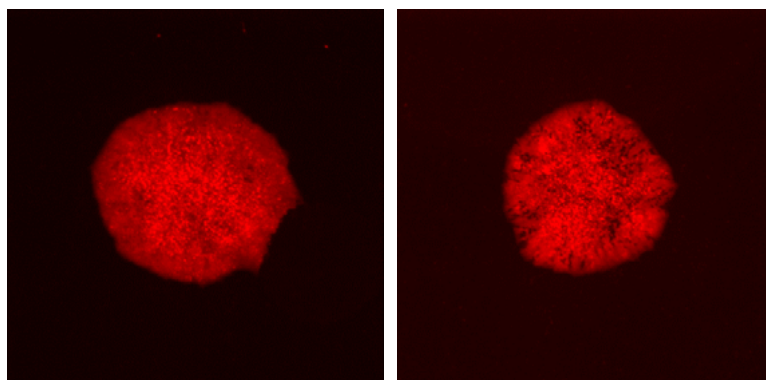


図 1. ドナー遺伝子の挿入により RFP を発現している健常者（左）と患者（右） iPS 細胞コロニー

（2）樹立した TH-GFP iPS 細胞からドパミン神経への分化誘導と有用性の評価

樹立した健常者及び PARK2 患者 TH-GFP iPS 細胞を本学のゲノム再生医療センターで確立された分化誘導方法 (Imaizumi *et al.*, *Stem Cell Reports*, 2015; Matsumoto *et al.*, *Stem Cell Reports*, 2016) に従ってドパミン神経細胞へと分化誘導を行った結果、GFP を発現する細胞が認められた (図 2、左)。さらに、この TH-GFP iPS 細胞由来ドパミン神経細胞に対して TH 抗体と GFP 抗体による免疫染色を行うと、同じパターンの染色像が得られた。これらの結果から、ドパミン神経細胞特異的に GFP を発現する健常者及び患者 iPS 細胞株の獲得に成功したことが確かめられた。これらの iPS 細胞株は光顕電顕相関観察による GFP 発現細胞におけるオルガネラの超微形態学的解析に大変有用である。

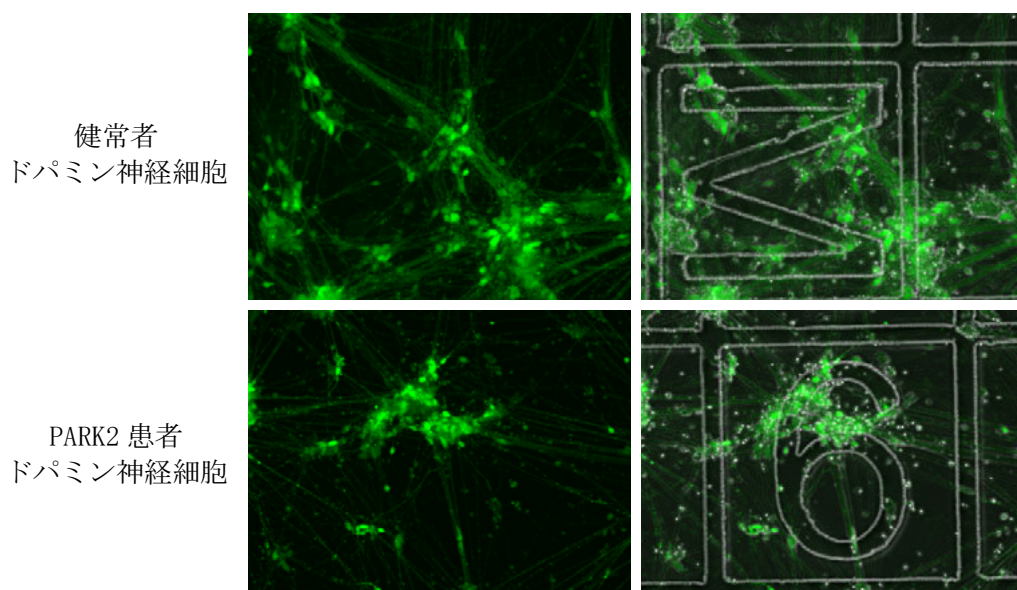


図 2. TH-GFP iPS 細胞由来ドパミン神経の蛍光像(左)とグリッドが写る明視野像と統合させた蛍光像 (右)

4. これからの展望

（1）本研究の今後の展開

本研究で得られた TH-GFP iPS 細胞由来ドパミン神経をグリッド付のカバーガラスに播種して (図 2、右) GFP 陽性ドパミン神経の位置情報を得た後、包埋、電子顕微鏡観察を行う。健常者、患者における GFP 陽性ドパミン神経と GFP 陰性その他サブタイプの神経細胞を比較解析することにより、パーキンソン病におけるドパミン神経特異的なオルガネラの変化を見出す。

（2）研究者としての今後の目標

緻密に制御された細胞内の生命現象に興味を持ち、ミトコンドリアの研究を続けてきている。細胞内の新しい現象や生命活動におけるミトコンドリアを含めたオルガネラの役割を解明し

ていくことが目標である。

5. 社会に対するメッセージ

本奨励金のご支援のおかげで本研究を遂行することができた。本研究により得られた iPS 細胞株を用いた研究はパーキンソン病の発症機構解明や治療法探索に効果的である。様々な疾患に苦しんでいる患者様や生命現象の知的理解に少しでも貢献できるよう、今後も研究活動に励み、適宜報告を行っていく所存である。

ドライアイ誘発性眼炎症に対する茶カテキンの保護効果

研究者の所属・氏名等

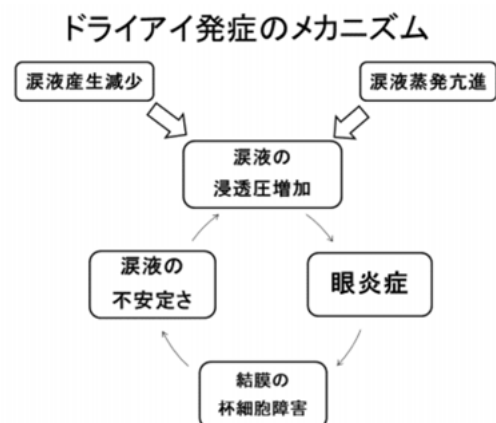
フリガナ 氏 名	ウダカ ユウコ 宇 高 結 子
所属等	昭和大学医学部薬理学講座医科薬理学部門
プロフィール	学歴：1990 年 昭和大学薬学部卒業 現職：昭和大学医学部薬理学講座医科薬理学部門 講師 専門：眼薬理学、臨床薬理学、薬理学一般 所属学会：日本薬理学会、日本臨床薬理学会 他

1. 研究の概要

近年、デジタル機器の長時間使用等によりドライアイの有病率が増えている。しかも子供がスマホでゲーム、学校教材としてタブレット端末を使用する等、低年齢からの曝露が問題視されている。緑茶は老若男女問わず日本人にとって身近な飲料で、その中に含まれるカテキンという成分は多様な生理作用を有している。私たちはこれまでの基礎研究で、高浸透圧ストレスを負荷したヒト培養角膜細胞株（ドライアイモデル）に対し、カテキン類を前投与すると抗炎症効果を示すことを報告してきた。これら一連の研究成果から、本研究では、ヒトを対象とした臨床研究に進み、緑茶飲用後の涙を採取し、涙液中のカテキン濃度の測定を試みる。

2. 研究の動機、目的

【ドライアイ】近年、生活環境の変化（コンタクトレンズ、エアコン、パソコン、スマートフォン、ゲーム等のデジタル機器の長時間使用）により、ドライアイの有病率が増えていて、QOLの低下や作業効率の低下などにつながり、いわば現代病の一つといっても過言ではない。しかも、学校教材としても使用する等、子供のタブレット端末使用時間も年々増加の一途を辿り、低年齢からその環境に曝露されていることが問題視されている。ドライアイの発症のメカニズムは、涙液量の減少による眼表面浸透圧が上昇しで、結果として炎症が起きる。米国においてはドライアイ治療の中心は抗炎症薬を用いるのに対し、日本では水分補充療法を優先的に行っている。

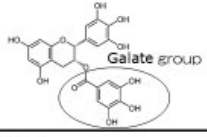
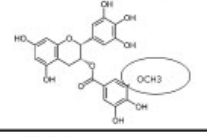


【カテキン】日本緑茶に豊富に含まれるポリフェノールのうち、カテキン類には、抗酸化作用、抗腫瘍作用、抗転移作用、血圧抑制作用、動脈硬化抑制作用、脂質代謝改善作用、抗菌作用、抗ウイルス作用、抗う蝕作用、抗アレルギー作用といった多様な生理作用を有することが注目されている。特に、エピガロカテキンガレート(EGCG)は茶特有のポリフェノール成分で、いわゆる緑茶の代表的な品種「やぶきた」に多く含まれている。一方、EGCGをメチル化したエピガロカテキン3メチルガレート(EGCG3" Me)は「べにふうき」といった特定の品種の茶葉にのみ多く含まれ、高い抗酸化活性に加え、特に花粉症のアレルギー症状を緩和すると最近注目されている。

スギ花粉症のシーズンになると、「べにふうき茶」ペットボトル飲料が鼻水、鼻づまり、目のかゆみ等の症状の軽減目的で市販されている(11月～3月頃)。角膜は無色素無血管組織のため、血液からではなく、涙液や房水から栄養を受けている。なぜ茶飲用で症状が軽減されるのか。カテキン類の涙液中に移行している可能性が考えられるが、これまでカテキン類の涙液濃度の検討は無く、涙液移行が確認できれば、初の報告となる。

スギ花粉症のシーズンになると、「べにふうき茶」ペットボトル飲料が鼻水、鼻づまり、目のかゆみ等の症状の軽減目的で市販されている(11月～3月頃)。角膜は無色素無血管組織のため、血液からではなく、涙液や房水から栄養を受けている。なぜ茶飲用で症状が軽減されるのか。カテキン類の涙液中に移行している可能性が考えられるが、これまでカテキン類の涙液濃度の検討は無く、涙液移行が確認できれば、初の報告となる。

EGCG と EGCG 3Meの特性

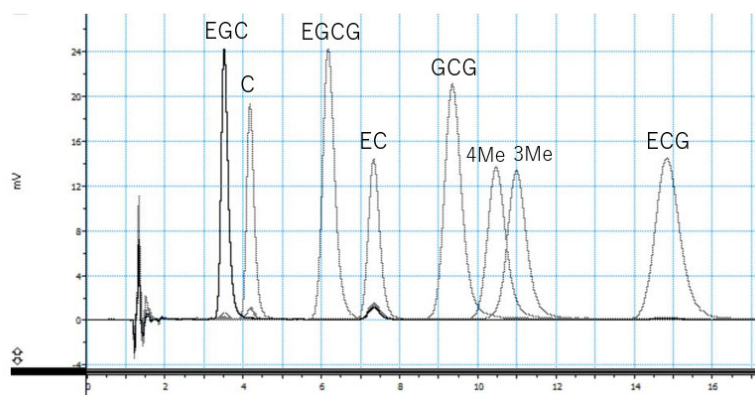
	(-)-Epigallocatechin Galate (EGCG)	(-)-Epigallocatechin 3-(3"-O-Methyl) Galate (EGCG 3Me)
構造		
作用	抗酸化作用 抗がん作用 抗アレルギー作用 等	抗酸化作用 抗アレルギー作用 ※EGCGの2.5倍
品種	やぶきた茶 等	べにふうき茶
特徴	EGCG3Meは血漿中での安定性が高く、消失がEGCGに比較し緩やかである。経口投与での吸収率も有意に高い。 M.Maeda-Yamamoto et al.: J.Immunology, 172, 4486 (2004)	

3. 研究の結果

緑茶中に含まれるカテキン類の分析

HPLC-ECD (HTEC-510 コンプリートスタンドアロン(株)エイコム)を用いて、8種類のカテキン分離を行った。使用したカラムはEICOMPAK SC-50DS 30 φ×150mm ((株)エイコム)である。試薬は、カテキン類標準品 5 種 ((-)-エピカテキン(EC)、(-)-エピカテキンガレート(EGC)、(-)-エピガロカテキン(EGC)、(-)-エピガロカテキンガレート(EGCG)、(+)-カテキン(C) (KRT-C-0016 Catechin Kit, フナコシ(株))、その他ガロカテキンガレート(GCG) (KRT-C-0114 (-)-Gallocatechin Gallate, フナコシ(株))、エピガロカテキン-3-O-メチルガレート(EGCG3" Me)およびエピガロカテキン-4-O-メチルガレート(EGCG" 4Me) (長良サイエンス(株))を用いた。移動相の組成は pH3.5 0.1M リン酸バッファーにアセトニトリル、メタノール、EDTA・2Na を加えたものを用いた。

HPLC-ECD を用いたカテキン 8 種の分離状況



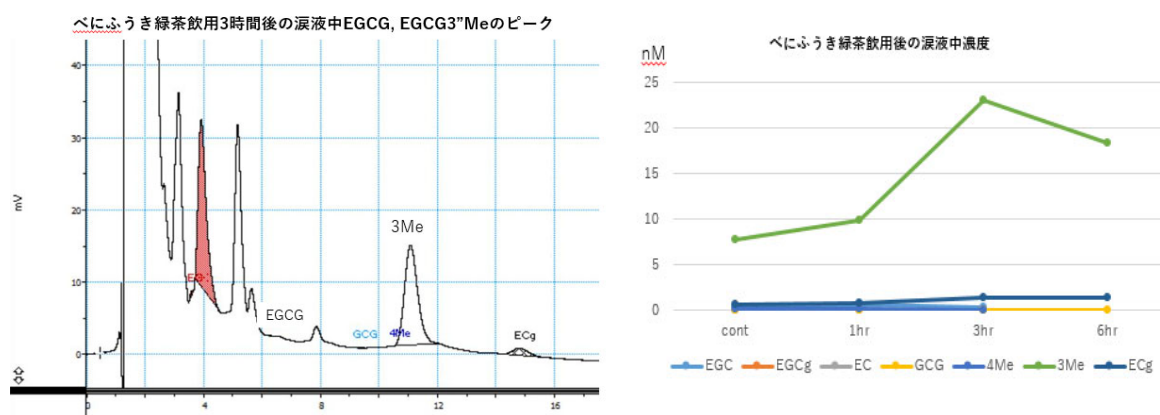
EGCG の涙液中濃度の測定

本研究では、事前に昭和大学附属烏山病院の臨床試験審査委員会による審査・承認を得た説明文書に基づき、試験目的、方法、危険性等に関して十分な説明を受け、文書によって同意を

取得した 20 歳から 44 歳の日本人健康成人を対象とし、EGCG 含有茶（緑茶）または EGCG3Me 含有茶（べにふうき茶）を単回飲用し、試験飲料飲用後 30 分～24 時間まで経時的に涙液を採取した。HPLC-ECD (HTEC-500, Eicom Corp. Kyoto, Japan)にて涙液中 EGCG、EGCG3"Me 濃度を測定する予定であるが、今回はカテキンの分離測定条件の検討が主となってしまったため、ヒト涙液濃度測定は完了していない。一部、涙液中 EGCG3Me の測定結果のチャートとグラフを提示する。べにふうき緑茶飲用後 3 時間をピークに検出されている。この先もサンプルを集めて、順次測定していく予定である。

4. これからの展望

カテキンの涙液濃度の測定



【ドライアイ】将来、我々の生活にデジタル機器は切っても切り離せないツールであり、その使用も低年齢化が指摘されている。点眼と違い、緑茶の飲用は、子供でもできる簡便かつ手軽な手段であり、ドライアイ誘発眼炎症症状に対する予防効果が期待できる。さらに、涙液浸透圧は、飲水による補水のみでも改善されとの報告があることから (WalshNP et al : Invest Ophthalmol Vis Sci 53: 6622-6627 (2012))、カテキン含有茶飲用は、カテキンの持つ抗炎症と、飲水による補水のダブル効果で、ドライアイ予防を科学的に証明したい。

【UV 傷害（目の日焼け）】近年、子供の紫外線 (UV) 曝露による問題が指摘されている。皮膚の表皮性色素沈着の原因の一つに「目の日焼け」の関与が指摘されている。つまり、眼への UV 照射で三叉神経が刺激され、下垂体を経由してメラニン産生を促進するとの報告から (Hiramoto K et al : Cont Lens Anterior Eye 36 :28-31 , 2013)、眼に対する UV 予防の重要性が指摘されている。EGCG および EGCG3"Me の構造式中のガレート基には UV を吸収する能力があることから、それ自体が UV 吸収剤のような役割を果たし、UV から細胞を保護する可能性が示されている (Akiko Toju et al : Showa Univ J Med Sci 30(1) : 73-85 (2018))。

涙液移行が確認できれば、例えば、サングラス装用が不向きな屋外スポーツ時や、子供の外遊び前にカテキン含有茶飲用することで、UV から眼球表面を保護できる可能性も合わせて提唱したい。

5. 社会に対するメッセージ

エピガロカテキンガレート(EGCG)は茶特有のポリフェノール成分で、抗酸化作用や動脈硬化抑制作用、抗炎症・アレルギー作用など多様な生理作用を有しています。緑茶の飲用は、老若男女を問わず日本人に馴染み深く、今回、緑茶飲用でカテキンが涙に移行する可能性が示唆されました。茶飲用は点眼と異なり、子供でもできる簡便な手段です。パソコンやスマホ作業で生じるドライアイや、紫外線を浴びる屋外作業や外遊び時の目の日焼けに、カテキン含有緑茶飲料が、補水に加え眼球保護にも役立つ可能性があるかもしれません。

児童期における歌唱活動の機能と役割の検討

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	カスガ アヤ 春日 文
所属等	白百合女子大学 人間総合学部 助教
プロフィール	これまで乳幼児期における歌唱活動の機能と役割について研究を行ってきました。今後は生涯発達の視点から、児童期以降の歌唱活動の機能と役割がどのように変容していくのかを明らかにし、最終的には、地域社会において心理社会的な支援につなげていくことを目標として研究を続けていきたいと考えています。最近では、地域公開講座および子育て支援講座において親子とともに歌唱活動を行い、歌の効果を伝える活動を積極的に行っています。

1. 研究の概要

乳幼児期における歌唱活動は情動的コミュニケーションという側面があり、子どもの自己表現活動や情動調整の発達を促し、社会情動的活動の基盤作りに貢献することが示唆されている。しかしながら、歌唱活動に関する研究は少なく、その機能と役割が生涯にわたりどのように変化していくのかは明らかにされていない。児童期において、歌唱活動はコンパニオンシップの場、つまり友だちと喜びや情動を共有する場となり、生涯を通して子どもの発達に影響を及ぼし、特に社会情動的発達に大きな影響を与えると予想される。そこで、本研究では児童期に着目して、歌唱活動の機能と役割について検討することを目的とする。

具体的には、乳幼児期と児童期の歌唱活動の状況が歌唱活動時における子どもの反応にどのように影響し、母親とのアタッチメント及び友だちとのコンパニオンシップにどのように繋がっていくのかを小学校低学年(1～2年)100名・中学年(3～4年)100名・高学年(5～6年)100名の各学年段階で検討する。まず、小学校1～6年生までの子どもを対象に、その母親及び友だちとの歌唱場面でみられる相互行為を検討する。次に、母子の歌唱活動及び子どもの反応、母親とのアタッチメント及び友だちとのコンパニオンシップとの関連を検討するために、小学校1～6年生までの子どもを育てる母親と子ども(300名)にウェブでの質問紙調査を実施する。内容は、母親及び友だちとの歌唱場面でみられた相互行為を基に抽出した項目と、「歌い聞かせ態度と歌い聞かせによる子どもの反応についての質問紙」(中島, 2010)を参考にした項目とコンパニオンシップに関する項目(Furman ら, 1985)および「児童用アタッチメント機能尺度」(村上・櫻井, 2014)の項目を用いて作成する。

2. 研究の動機、目的

乳幼児期では、大人から歌いかけをされた体験から子ども自らが自分に対して歌いかけをするようになるという自立化の過程がみられる。この自立化の過程を Vygotsky の越境活動の考え方から説明すると、子どもは大人の役割の境界を越えてその役割を担うようになるという意味で、垂直的な越境活動と表現される。また、児童期では複数文脈を横断して一つの活動を異なる視点から見直し、自分の活動を再吟味・深化させる水平的な越境活動が盛んになるという。この越境活動の視点から歌唱活動を捉えると、歌いかけによる母子の垂直的な越境活動を通して、まず母親とのアタッチメントの形成に影響を及ぼし、しだいに、友だちと歌を共有しながら活動の場は家庭以外にも広がり、水平的越境活動が盛んになり、友だちとのコンパニオンシ

ップの形成につながっていくといえよう。音楽はポジティブな情動を喚起するといわれ、歌唱活動はコンパニオンシップが生み出される重要な場であると考えられる。また、児童期は重要な対人関係が家族から友だちも含めた関係へと変容する時期であり、コンパニオンシップが生み出す情動が子どもの関心を社会へ向ける動機づけとしても機能すると考えられる。したがって、アタッチメントやコンパニオンシップの形成が歌唱活動においてどのようにみられるのか捉えることは、子どもの社会情動発達への影響を知るための重要な足がかりとなるといえる。そこで、本研究では児童期に焦点をあて、乳幼児期と児童期の歌唱活動の状況が歌唱活動時における子どもの反応にどのように影響し、母親とのアタッチメント及び友だちとのコンパニオンシップにどのように繋がっていくのか検討することを目的とする。

3. 研究の結果

(1) 調査項目の因子分析

乳幼児期の歌唱活動の状況は 2 因子が抽出され、「自由な歌唱活動」、「対話型歌唱活動」と命名した。児童期の歌唱活動の状況は 2 因子が抽出され、「自由な歌唱活動」、「対話型歌唱活動」と命名した。歌唱活動による子どもの反応は 2 因子が抽出され、「情動の安定」、「水平的越境活動の進行」と命名した。児童期アタッチメント機能は 4 因子が抽出され、「分離苦痛」、「安全基地」、「近接性の維持」、「安全は避難場所」と命名した。コンパニオンシップ尺度は 1 因子となり、「友だちとのコンパニオンシップ」と命名した。

(2) 各下位尺度の平均値の比較

低学年、中学年、高学年の各学年について下位尺度の平均得点に有意差がみられるか 1 要因分散分析で検討した (Table1)。児童期の歌唱活動の「対話型歌唱活動」の主効果が有意であり多重比較をしたところ、低学年になるほど値が高まることが示された。次に、歌いかけによる反応の主効果が有意であり多重比較をしたところ、低学年の方が中学年より有意に値が高いことが示された。また、母親とのアタッチメントの主効果が有意であり多重比較をしたところ、低学年の方が中・高学年よりも有意に値が高いことが示された。

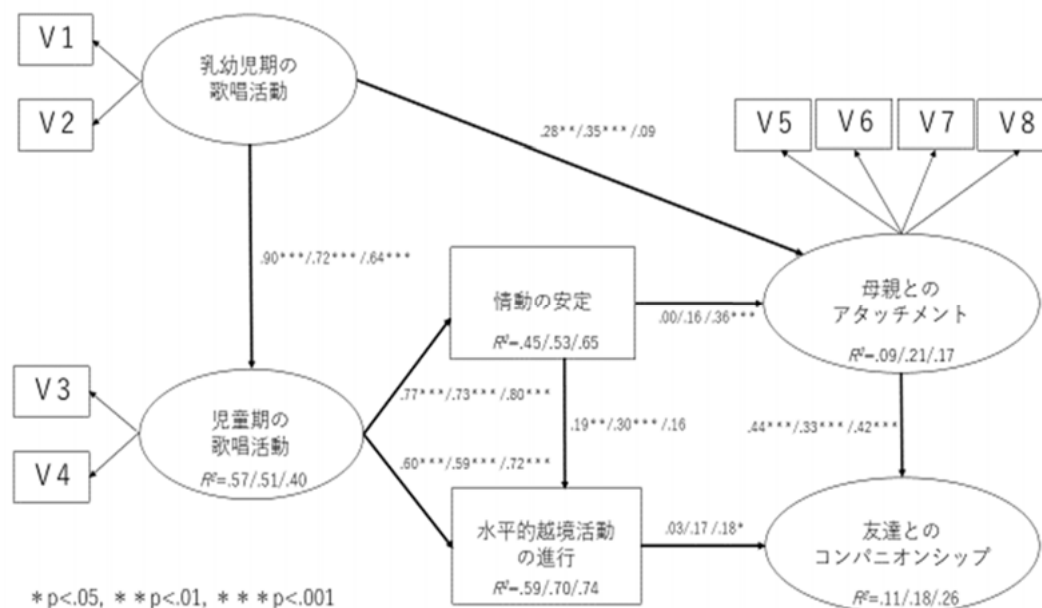
Table6 1要因の分散分析の結果

	(小学)						F	多重比較
	低学年	SD	中学年	SD	高学年	SD		
	M		M		M			
乳幼児期の歌唱活動								
自由な歌唱活動	3.06	.50	2.96	.58	3.02	.56	0.81	
対話型歌唱活動	2.69	.52	2.63	.59	2.69	.57	0.34	
児童期の歌唱活動								
自由な歌唱活動	3.07	.59	2.86	.69	2.92	.68	2.82	
対話型歌唱活動	2.49	.66	2.22	.66	2.19	.64	6.35 **	低学年>中学年>高学年
歌唱活動による反応								
情動の安定	2.68	.63	2.46	.65	2.47	.64	3.60 *	低学年>中学年
水平的越境活動	3.08	.55	2.86	.70	2.88	.67	3.67 *	低学年>中学年
母親とのアタッチメント								
分離苦痛	3.65	.48	3.44	.64	3.29	.72	8.28 ***	低学年>中学年, 高学年
安全基地	3.38	.48	3.09	.71	3.07	.68	7.80 ***	低学年>中学年, 高学年
近接性の維持	3.63	.46	3.42	.63	3.27	.66	9.19 ***	低学年>中学年, 高学年
安全な避難場所	3.46	.52	3.25	.61	3.14	.64	7.38 **	低学年>中学年, 高学年
友達とのコンパニオンシップ	3.24	.57	3.27	.58	3.33	.61	0.58	

* $p<.05$, ** $p<.01$, *** $p<.001$

(3) 変数間の影響過程

乳幼児期の歌唱活動と児童期の歌唱活動による子どもの反応、母親とのアタッチメント及び友だちとのコンパニオンシップとの関連について、両者間の因果的な流れを推定してモデルを策定し、その適合性を検討するために共分散構造分析をした。その結果、高い適合性指標を確保した上で、低・中・高学年の比較を伴う因果のパス図が得られた (Figure1)。



注) →の左の数値は低学年/中央は中学年/右は高学年を対象に算出した標準偏回帰係数。潜在変数と観測変数の下部の数値は決定係数。誤差変数は省略。V1:自由な歌唱活動, V2:対話型歌唱活動, V3:自由な歌唱活動, V4:対話型歌唱活動, V5:分離苦痛, V6:安全基地, V7:近接性の維持, V8:安全な避難場所。適合性指標 $\chi^2=11.88$, $df=7$, CFI=.99, RMSEA=.05, AIC=39.88

Figure1 多母集団同時分析の結果

4. これからの展望

今後の課題としては、本報告では、歌唱活動が子どもの社会情動発達の足場作りとなっていることは示唆されたが、具体的にどのような発達に影響を及ぼすかまでは明らかにできなかったため、この点について検討していく必要があると考える。また、今後は児童期に留まらず、青年期以降の歌唱活動の機能と役割について検討し、歌唱活動がどのように生涯にわたって影響を及ぼし、人生においてどのような意味をもつのか検討していきたい。

5. 社会に対するメッセージ

本研究により、児童期においても乳幼児期の歌唱活動の効果が持続し、また、歌唱活動により子どもの情動が安定し、歌を通して体験した安心感は母親との良い関係性につながるとともに、友だちとの関係作りへと展開することが考えられました。歌を通して育まれる人と人との関係性や、そこからうまれる安心や喜びを感じる子どもの心を大切に扱うことで、歌のある人生がより豊かなものになる可能性があると考えます。最近の活動としては、歌唱活動を取り入れた子育て支援活動を行いました(Figure2)。親子で笑い合う様子や新しい友だちができる様子がみられ、温かいひとときとなりました。女性研究者奨励金による温かいご支援により、児童期における歌唱活動の機能と役割の一端が明らかになり、得られた研究成果を地域活動へと繋げることができています。また、青年期の歌唱活動に関する研究への道筋ができ、研究活動を継続する上で大きなステップとなりました。今後も、研究で得られた成果を広く社会に発信できる場を大切にしながら、歌唱活動の研究を継続していきたいと願っています。



Figure2 子育て支援活動の様子

22q11.2 欠失症候群由来 iPS 細胞による顎骨病態機序の解明

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	オダシマ アヤノ 小田嶋 彩乃
所属等	東京歯科大学口腔科学研究センター リサーチレジデント
プロフィール	東京歯科大学歯科麻酔学講座大学院在籍中、『マウス iPS 細胞による頭部神経堤分化誘導における発現遺伝子の解析』に関する研究を行い、次世代シーケンサーによる解析、細胞生物学・分子生物学に関する基本的な知識および手技を習得。また、障害者歯科治療に従事し多くの症例を経験していく中、歯科領域において様々な病態があることに着目し治療法の確立が重要であると考えた。そこで、顎顔面領域に多くの症状を示す神経堤症の一つである 22q11.2 欠失症候群の病態解明に着目し、治療法確立を目指している。

1. 研究の概要

神経堤症 (Neurocristopathy) は神経堤領域に症状を呈する疾患の総称であり、口蓋裂、小下顎症、象牙質形成不全など神経堤領域に症状を示す。神経堤は象牙質、下顎骨を含む多くの顎顔面・口腔領域組織が形成される。

本研究では神経堤症の一つ 22q11.2 欠失症候群由来 iPS 細胞を用いる。本症候群において神経堤発生分化に問題があるのか、またはその後の神経堤由来組織分化段階に問題があるのかなど顎顔面・口腔領域の病態発症メカニズムはほとんど未解明である。そこで確立した iPS 細胞を用い、病態発症メカニズムを明らかにする。

2. 研究の動機、目的

22q11.2 欠失症候群は歯科的特徴として、口蓋裂、歯の萌出異常、口蓋裂、小下顎症、象牙質形成不全が挙げられ、神経堤症の一つである。頭部神経堤は胎生 3.5 週に発生し、神経堤由来口腔領域組織として下顎骨は胎生 10 週ごろに形成され、神経堤に由来する下顎骨、象牙質、セメント質、歯根膜などの多くの組織が胎生期に発生する。22q11.2 欠失症候群における病態は神経堤領域の異常に起因することを考慮すると、ヒト胎生期における神経堤の発生メカニズム、原因遺伝子の解明が重要であるが、22q11.2 欠失症候群ヒト胎生期の細胞を採取するのは困難である。

そこで、ヒトにおける神経堤細胞から象牙芽細胞の疾患発症メカニズムを解明するためには未分化性を維持する疾患特異的ヒト iPS 細胞を用いることで、ヒト胎生期における神経堤や神経堤由来組織を再現できることが可能であると考えた。正常ヒト iPS 細胞と 22q11.2 欠失症候群由来 iPS 細胞間で分子機能解析を比較検討することで今後、疾患に対する治療の開発、患者の QOL の向上へとつながるという着想に至った。

3. 研究の結果

①22q11.2 欠失症候群患者からの iPS 細胞樹立

本研究は当大学倫理審査の承認を受け（承認番号 875）、22q11.2 欠失症候群患者並びに保護者より同意を得た。患者単核球より中西ら（産総研）から提供を受けたセンダイウイルスベクターにて 22q11.2 欠失症候群患者 iPS 細胞を樹立し、qRT-PCR におけるセンダイウイルス

サイレンシングの確認、未分化性・多分化能を確認した。(図 1)

②疾患特異的 iPS 細胞から神経堤細胞への分化誘導

疾患特異的 iPS 細胞と正常 iPS 細胞を比較するため、iPS 細胞から神経堤細胞分化誘導培地を用いて神経堤細胞へと分化誘導を行った。(図 2)

疾患特異的 iPS 細胞は神経堤分化中期に発現する遺伝子、後期に発現する遺伝子共に正常 iPS 細胞と比較すると発現時期に違いが認められた。後期発現遺伝子は正常 iPS 細胞が 14 日目に急激な上昇を認めるのに対し、疾患特異的 iPS 細胞は 7 日目、14 日目ともに発現が上昇しているものの緩やかであった。

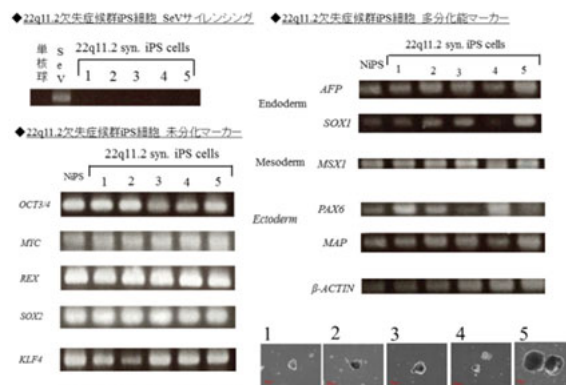


図 1

③疾患特異的 iPS 細胞から象牙芽細胞への分化誘導

②で作成した神経堤細胞を用いて、神経堤細胞から象牙芽細胞への分化誘導を行った。(図 2) 象牙芽細胞分化は正常 iPS 細胞では象牙芽細胞誘導後 14 日目に象牙芽細胞に発現する遺伝子の急激な上昇が認められたが、疾患特異的 iPS 細胞では発現上昇が緩やかであった。

◆22q11.2症候群患者iPS細胞から誘導した各種細胞

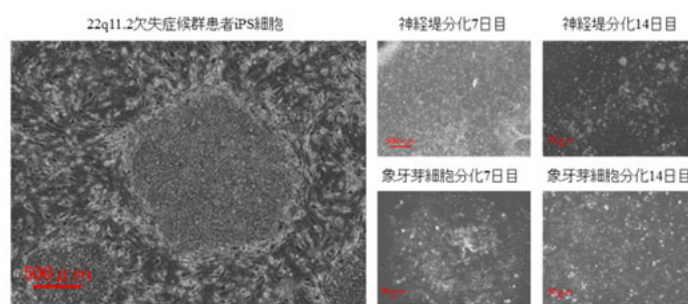


図 2

以上のことから22q11.2欠失症候群患者由来神経堤細胞また象牙芽細胞は正常iPS細胞由来細胞に比べ関連遺伝子の発現時期の遅滞が認められたことから、22q11.2欠失症候群においては象牙芽細胞よりも前段階である神経堤分化段階で成長に差が生じるのではと考えられる。

4. これからの展望

今後は分化誘導を行った神経堤細胞や象牙芽細胞を用いた顎顔面領域の治療法確立を行っていく。また同症候群は口蓋裂も主症状であることから骨芽細胞の分化を行っていく必要があると考えている。

治療法の確立においては各物質の添加群/非添加群の疾患特異的 iPS 細胞と正常 iPS 細胞で神経堤細胞の細胞遊走能、発現遺伝子の比較検討を上記同様 7、14、21 日目の細胞を回収し、経時的に観察する。さらに各物質の添加群/非添加群で誘導した神経堤細胞を上記の骨芽細胞、象牙芽細胞の分化誘導方法を用い、発現遺伝子、硬化能も経時的に比較検討する。

今後は自分自身の歯科領域に関する疾患の解明や再生医療の研究のみならず、大学院生等の研究分野での育成に励み、歯科領域の研究の発展に寄与出来ればと考えております。

5. 社会に対するメッセージ

障害者歯科を受診する患者においては顎顔面領域に多くの症状を示すため、その病態解明、治療法の確立は重要であるとされている。顎顔面領域(歯牙、口蓋、下顎骨)組織は胎生期に発生する。そのため症候群における口蓋裂や象牙質形成不全、下顎骨低形成は胎児期発生段階で症状を呈するが胎児期の細胞を採取することは困難である。そのため今回ヒト胎児期の細胞を再現出来る疾患特異的 iPS 細胞の作成、顎顔面領域分化誘導後の症候群病態解明という考えに至った。

今後は今回作成した疾患特異的 iPS 細胞由来の神経堤細胞や象牙芽細胞を用い、歯科領域における顎顔面領域の治療法の確立を行うことで、患者の QOL 向上を目指していきたいと考

えている。

子どもとのインタラクション経験が 情動知覚に与える影響の検討 ー顔と声からの多感覚知覚に着目してー

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	ヤマモト ヒサコ 山本 寿子
所属等	東京女子大学 人間科学研究科 特任研究員
プロフィール	早稲田大学第一文学部心理学専修卒業、東京大学大学院教育学研究科教育心理学コース修士課程、博士課程修了。博士（教育学）。音の感じ方、聞こえ方が個人の経験によって異なりうることに関心を持っている。大学院時代には、子どもの音声知覚の発達をめぐる研究を進めるほか、学外で幼稚園の臨時講師や自身での子育てを経験することで、子どもとのインタラクションの奥深さを体感した。現在は東京女子大学特任研究員として、音声と視覚情報を組み合わせた感情の読み取りの研究を進めている。

1. 研究の概要

本研究の目的は、子どもとのインタラクションをはじめとするコミュニケーションの経験や傾向が、顔と声から情動を多感覚的に捉える様式に対して、どのような影響を及ぼすかを検討することであった。表情と声色の組み合わせから情動を判断させる知覚実験と、コミュニケーション経験、傾向についての質問紙調査を行った結果、自身の子どもを育てた養育経験がある参加者ほど他者志向性が高く、また他者志向性の高い参加者ほど、表情を重視して情動を判断しやすいことが示唆された。さらに、そのような個人差だけでなく、年齢を追うほど表情を重視する傾向が強まることも示され、成人期における加齢に伴う情動知覚の変化も明らかになった。このように、本研究から、多感覚的な情動知覚には、養育経験、共感性、年齢が絡み合って影響を与えることが示唆された。

2. 研究の動機、目的

他者の情動を適切に捉えることは、円滑なコミュニケーションの成立に重要である。しかし、その情動がどのように表出されるか、またそれがどのように知覚されるかは、必ずしも普遍的ではない(たとえば、情動表出と知覚の文化差：Elfenbein & Ambady, 2002)。このことは、他者の情動をどのように知覚するかという様式が、日常生活における他者とのインタラクションを通して形成される可能性を示唆する。このことをふまえ、本研究では、子どもとの日常的なインタラクションをはじめとするコミュニケーションの経験や、社会性といった要因が情動知覚にどのような影響を与えるかを、特に顔と声を組み合わせた多感覚的な情動の捉え方に着目して検討した。

他者の情動を知覚する手がかりには、話者がどのような表情をしているかという視覚情報と、話者がどのような声で話しているかという聴覚情報、そしてそれらの統合、すなわち話者の顔と声の組み合わせから多感覚的に情動を知覚するということがあげられる。これまでの研究では、情動の多感覚知覚の様式が、文化によって異なることが示されてきた。たとえば、Tanaka, et al. (2010)は、顔と声による情動表出に対して、日本人は声を、オランダ人は顔を重視して情動を知覚するという文化差を報告している。さらに、このような日蘭の文化差は児童期に徐々に表れていくこと、具体的には、日本人の子どもでは情動判断の手がかりが顔か

ら声にシフトしていくという発達的变化も明らかになっている (Kawahara, et al., 2017; Yamamoto, et al., 2017)。このように、情動判断に文化の影響が見られるということは、他者と実際にインタラクションをする中で、相手がどのような形で情動を表出しているか、また自分の表出がどのように知覚されるか、という経験を重ねることで、情動の多感覚知覚が形成される可能性を示唆すると考えられる。

このような発達は、大人とインタラクションを行う子どもの側でのみ、起こりうるものなのであろうか。また、そもそもそのような情動知覚の様式を獲得するというのは、子どものころにのみ起きるものなのだろうか。これまでの研究では、子どもの時期の発達に焦点が当てられてきたが、コミュニケーションが双方向的なものであることをふまえると、子どもと日常的に接触する大人の側でも、子どもに影響を受けて情動を多感覚知覚的に捉える様式が「発達」したり、あるいは日常でのコミュニケーションの傾向によっても、その捉え方が変容する可能性がある。つまり、生涯を通して情動知覚の様式が変化したり、またそれに基づく個人差が生まれる可能性も考えられる。

そこで本研究では、経験により変化することが予想される多感覚知覚に着目し、子どもとインタラクションを日常的に取るという経験の有無、参加者のコミュニケーション経験と傾向が、情動の多感覚知覚に与える影響を検討した。

3. 研究の結果

<研究遂行の過程>

さまざまな参加者のデータを集めるため、筆者が所属する東京女子大学のサテライト研究室のある日本科学未来館で科学イベントを開催し、その一環として実験データを収集した (図 1)。



図 1 実験の様子

【実験参加者】 18 歳から 44 歳までの日本語を母語とする成人 86 名のデータを分析対象とした。参加者の中には、家庭で子どもを養育した経験のある成人、養育経験のない成人、家庭での子どもの養育経験はないが保育・教育経験のある成人が含まれていた。

【刺激・手順】 参加者は、(1) 動画に登場する人物の情動を判断する情動判断課題と、(2) 発した音韻を判断する音韻知覚課題 (比較課題) に取り組み、その後、(3) 質問紙に回答した。

(1) 情動判断課題

参加者は、話者が顔と声で情動を表す動画を視聴し、話者が表している情動を判断して回答した。参加者の多感覚知覚の特徴を検討するために、顔と声で表している感情が一致しない場合 (図 2: 顔と声の感情不一致) の声優位性 (声に基づいて情動を判断した割合) を算出した。そのほか、多感覚課題で用いた動画を「映像のみ (音なし動画)」 「音声のみ (映像なし音声)」 で呈示することで、視覚刺激のみ、聴覚刺激のみの正答率も算出した。

「この人は怒ってる? 喜んでる?」



図 2 情動判断課題の刺激

(2) 音韻知覚課題

情動判断課題の結果が、情動に特有のものであるのか、他の多感覚知覚においても同様であるかを検討する比較課題として、音韻知覚課題を実施した。参加者は、話者が「ぱ」「か」「た」といった単音節を話す動画を視聴し、話者が何を言ったかを判断して回答した。情動判断課題と同様、顔 (唇) と声で発した音節が一致しない場合の声優位性、また「映像のみ」「音声の

み」呈示時における正答率を算出した。

（3）コミュニケーション経験・傾向についての質問紙

参加者の養育経験をはじめとするコミュニケーション経験や、コミュニケーションにかかわる社会性の傾向を知るため、共感性に関する質問項目、養育している子どもの有無、日常的に子どもと接する時間、自分の子ども以外の子どもたちと接する機会の有無、自身の年齢を問う質問紙調査を、実験参加者に対して行った。

<結果>

実験の結果、情動知覚の様式には、参加者の年齢による違いが見出された。そこでまず、（1）年齢群ごとの結果を紹介する。続いて、年齢を制御した上で（2）コミュニケーション経験、傾向の違いの影響を検討した結果を紹介する。

（1）年齢群による情動知覚の様式の違い

図3のように、10-20代に比べて、30-40代では声優位性が減少、すなわち、表情をより重視するようになることが示された。すなわち、年齢を追うごとに、声よりも表情を重視して情動を判断するようになるという変化がみられることが明らかになった。また、視覚刺激のみ、聴覚刺激のみからの情動判断では、年齢群による違いはみられなかった。すなわち、このような年齢による違いは、顔と声を組み合わせて知覚する際に生じるものである可能性が示唆される。

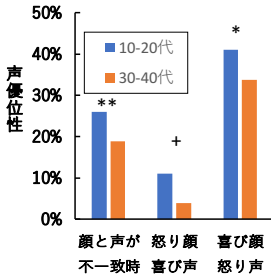


図3 情動判断の年齢差

また、このような変化は、音韻知覚課題においてはみられず、加齢に伴う情動知覚の変化が、多感覚的な音韻知覚よりも顕著なものであることが示唆された。

表1 情動判断の声優位性と各項目の偏相関係数（年齢を制御変数とする）

	顔と声の 情動不一致時合計	怒り顔 喜び声	喜び顔 怒り声
養育経験の有無	-.03	-.13	.04
性別	.02	.06	-.01
日常的な自分の子ども以外とのコミュニケーションの有無	.05	-.03	.07
日常的な子どもとのコミュニケーション経験（家族内外問わず）	-.03	.00	-.03
自己志向性	-.02	.04	-.04
視点取得	.04	.03	.02
想像性	.00	.11	-.07
他者志向性	-.22	-.08	-.21
被影響性	.08	.13	.02
共感性平均	-.04	.10	-.11
対人恐怖心性	-.09	-.09	-.04

（2）コミュニケーション経験・傾向要因の検討

（1）のように、年齢における違いがみられたため、年齢を統制した上で、コミュニケーションにかかわる共感性尺度の各項目（表1 自己志向性～被影響性）および対人恐怖心性と、声優位性との偏相関を求めた。その結果、他者志向性が高いほど、情動知覚において声優位性が低い、すなわち表情を重視しやすいことが示された（表1、太字部分）。

養育経験や、子どもとのインタラクション経験の有無そのものと声優位性との相関はみられなかったが、自身の子どもの養育した経験のある参加者は、そうでない参加者に比べて他者志向性が高いことが示された。これらを統括的に考えると、養育経験がある参加者は他者志向性が高く、養育経験がなく他者志向性の低い参加者に比べて、顔に表れた情動を重視する傾向が見られることが示唆される。

4. これからの展望

（1）互いの情動知覚・互いの情動表出の関連

本研究は他者とのコミュニケーションが知覚の様式を形成する可能性についての一端を明らかにしたが、今後はさらに、具体的に他者と接する中で、何をどのように見て、聞いて、知覚が変容するかを明らかにしていくことが課題である。具体的には、「自分が他者をどう知覚するか」という知覚の様式と「自分自身がどのように他者に情動を表出しているか」の関連、たとえば、「自分自身が声に情動を表出しやすい人は、他者に対しても声に表れている情動を重視しやすい」といったことがあるかを検討していきたいと考えている。

(2) 生涯を通した多感覚知覚の変容の検討

本研究の当初の目的には含まれていなかったが、興味深い結果として、成人期の中でも年齢によって情動知覚の様式が異なり、年齢が進むに従い、表情を重視するようになるという変化がみられた。筆者がこれまで子どもを対象にして収集してきたデータと合わせて考えると、情動の多感覚知覚は「児童期に顔から声へ、成人期に声から顔へ」というように、生涯を通して、逆 V 字のような発達過程を経ることが示唆される。ただし、児童期の変化と成人期の変化がそれぞれどのような要因に基づくものであるかは、まだ明らかではない。

今後は、生涯を通した発達的变化と、その背景にあるメカニズムの解明が必要である。今回、成人を対象とした実験を行いながら、参考データとして、実験中の保護者を待つ子どもなどを対象にした発達データも収集している (図 4)。今後はこれらの検討を通して、子どもから成人期、また老年期にかけて、統一的な枠組みから発達を説明するモデルの検討を目指しながら、「子どもと高齢者」といった異なる年代同士の交流を促進する技術の発展にも繋がる知見を提供したい。



図 4 子ども実験の様子

5. 社会に対するメッセージ

現代は視聴覚メディアを通して世界中と繋がることができる時代です。その中では、多種多様な環境で暮らしてきた人々が互いの文化的背景を背負いながら、また子どもから老人まで幅広い年齢層にわたる人々が、かつての垣根を越えたやり取りを行っています。そのような情報伝達技術の革新により、表情のニュアンスや声色が与える非言語情報を通したコミュニケーションは、ますます重要になっていくと言えます。一方、コミュニケーションの拡大は、同時に誤解を生み出す恐れもはらんでいます。本研究の知見が、文化や年齢を越えた互いの「ものの捉え方」の特徴を理解する上での手がかりとなり、スムーズなコミュニケーションの一助となることを願っています。

今回の研究テーマを思いついたきっかけの1つは、育児により研究を離れた時期に、自分自身の表情や声の作り方、また世の中の見方や聞き方までもが、それまでにない変容を遂げた（気がする）ことでした。また、研究を中断していた身で、再び研究を始められるかということにも非常に不安を覚えていましたが、今回のご支援をいただいたことにより、新たなスタートを切ることができました。この場を借りて厚く御礼申し上げます。

VRを用いた身体機能向上プログラムの開発と心身への 効果の検討

－「トんでトんで」の研究開発－

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	ヒネ キョウコ 日根 恭子
所属等	豊橋技術科学大学大学院 情報・知能工学系 助教
プロフィール	私は、ヒトとヒト、モノとヒトとの関わり合いにおける、人間の情報認知特性を明らかにし、よりよいコミュニケーション環境、さらには新しいコミュニケーション支援ツールの提案をすることを目的として研究を行っています。

1. 研究の概要

本研究では、バーチャルリアリティ (VR) 技術を用い、身体機能を向上させるプログラム「トんでトんで」を開発し、その心理的・身体的効果を検討した。VR 用プログラムの開発は、Unreal Engine を用いて行い、ヘッドマウントディスプレイは、Oculus Rift を用いた。また、作成したプログラムの心理的・身体的効果を検証するため心理実験を実施した。その結果、本研究で提案したプログラムの効果が認められ、心理的・身体的効果を確認することができた。

2. 研究の動機、目的

近年、VR 技術が一般社会へ浸透しはじめ、内閣府による「科学技術イノベーション総合戦略 2016」では、わが国の目標として VR の実用化の促進が示されており、様々な場面での応用への期待も高まっている。そのため、VR の実用化とその心理的・身体的効果を明らかにすることは、われわれの生活を大きく変える可能性を示すことであり、重要であると考えられる。

VR 技術は身体の動きと視覚情報を連動させることにより、現実世界をバーチャルに再現し、様々な知覚や感情の追体験を可能としているが、VR における視覚的な情報を操作し非現実的な体験を経験することで、現実世界では経験できない知覚や感情を生じさせる可能性も示されている[1][2][3]。また、知覚や感情の変化により私達の行動や意思決定など、より高次の認知機能も影響を受けると考えられること、加えて、身体機能の向上には視覚情報が大変有用であることから[4]、VR で視覚的情報を操作することで、私達の行動変容を促進することも可能であると考えられる。

本研究では、VR を用い、理想的な身体の動きを行ったときに見える映像を提示することにより、ユーザの現実世界での身体機能を向上させるプログラム「トんでトんで」を開発することを目的とした。また、心理実験を行い、その心理的・身体的効果を検討することとした。

[1] 伴祐樹, et al. "Pseudo-Haptics を利用した三次元曲面の形状知覚操作に関する基礎的検討 (インタフェース, 人工現実感)." 電子情報通信学会技術研究報告. MVE, マルチメディア・仮想環境基礎 111.101 (2011): 67-72.

[2] Kanaya, Shoko, et al. "Does seeing ice really feel cold? Visual-thermal interaction under an illusory body-ownership." PloS one 7.11 (2012): e47293.

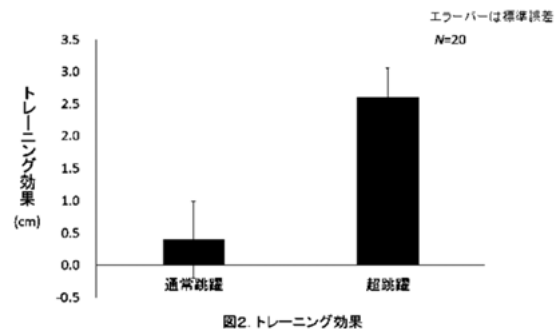
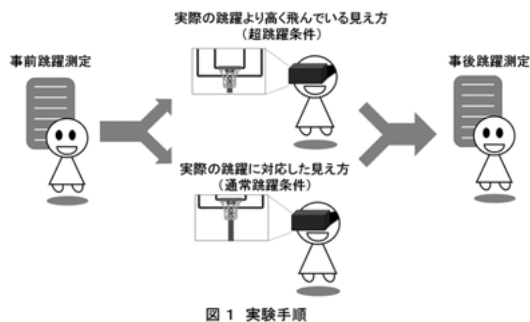
- [3] Yoshida, Shigeo, et al. "Manipulation of an emotional experience by real-time deformed facial feedback." Proceedings of the 4th Augmented Human International Conference. ACM, 2013.
- [4] 樋渡涓二：視聴覚情報。樋渡涓二（編），視聴覚情報概論，昭晃堂，pp.3-6（1987）。

3. 研究の結果

VR 用プログラム「とんでとんで」の開発は、Unreal Engine(バージョン 4.11.1、<http://www.unrealengine.com>)を用いて行い、ヘッドマウントディスプレイは、Oculus Rift (Oculus 社)を用いた。

心理実験では、実験参加者は通常の VR を用いて跳躍練習を行う通常跳躍条件と、「とんでとんで」を用いて跳躍練習を行う超跳躍条件にランダムに振り分けられた。すべての実験参加者の練習前の跳躍高は、あらかじめ測定されていた。両条件とも、ヘッドマウントディスプレイを装着し、跳躍の練習を 10 回行った。跳躍練習後、ヘッドマウントディスプレイを装着しない状態で再度跳躍を行った。練習前後の跳躍高の変化量をトレーニング効果とし、「とんでとんで」の効果を検討した。図 1 に、実験手続きを示す。

トレーニング効果を図 2 に示す。トレーニング効果について t 検定を実施した。練習前後の跳躍高の変化量は、超跳躍条件の方が通常条件よりも有意に大きかった。



本研究で製作したVRコンテンツ「とんでとんで」は、超臨場感コミュニケーションフォーラムシンポジウムにおいてデモ展示を実施した。また、心理実験については、国際科学誌への投稿準備を進めている。

4. これからの展望

本研究により、VR において理想的な身体の動きを体験することにより、身体機能が向上する可能性が示された。この結果は、例えばリハビリテーションや技能獲得のためのツールとして VR が有効である可能性を示している。これまでの身体技能訓練における VR 研究の多くは、訓練の容易性や、モチベーションへの影響に着目するものが多かった。本研究より、VR が単なる訓練ツールとしてだけでなく、より効果的・効率的な技能獲得ツールとして活躍する可能性が示せたことは、VR 研究のみならず、高齢化が進む我が国において、非常に大きなインパクトを与えたといえる。今後は、跳躍以外の技能でも同様の効果が得られるかの検証及びより効果の高い VR コンテンツの開発を行う予定である。

5. 社会に対するメッセージ

私は、VR 研究では、どのようにすれば現実と同じような体験ができるかという着眼点だけではなく、どのようにすれば現実を超えた体験ができるかに関する研究が必要であると考えています。なぜなら、現実の模倣では、現実を超えられず、VR の価値が十分には発揮できないからです。私は本研究を通じ、現実の模倣だけではない VR の新たな可能性を伝えたいと考えています。それとともに、技術の進歩により、今まで人類が体験したことのない体験を私たちが目の当たりにしたとき、私たちの可能性はどこまで広がっていくのか探求し続けることが、人類の幸せのために必要であると思います。どうぞ、今後も科学技術へのご支援をお願いいたします。

母集団間で分散共分散行列が異なる場合における 統計的手法の開発

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	カワサキ タマエ 川崎 玉恵
所属等	東京理科大学 理学部第一部 応用数学科 嘱託助教
プロフィール	2007 年 3 月 私立多摩大学目黒高等学校 卒業 2011 年 3 月 東京理科大学理学部第一部数理情報科学科卒業 2013 年 3 月 東京理科大学大学院理学研究科数理情報科学専攻 修士課程修了 2016 年 3 月 東京理科大学大学院理学研究科数理情報科学専攻 博士後期課程修了（博士（理学）） 2016 年 4 月 東京理科大学理学部第一部数理情報科学科 嘱託助教 2017 年 4 月 応用数学科（数理情報科学科から名称変更） 嘱託助教 現在に至る

1. 研究の概要

近年盛んに発展しているデータサイエンスや機械学習、人工知能の分野は、統計学の一分野である数理統計学が基礎理論となって構築されている。数理統計学は統計学の様々な分野においても基盤となっている重要な学問であり、その中でも平均における仮説検定問題は、実験や観測を行った際にグループ間で差があるのかを調べるなどにおいて有用であり、品質管理や臨床医学をはじめとしたあらゆる応用分野で利用されている。さらに、数理統計学における理論を、複数の変数を同時に扱うことができるようにと発展して生まれた多変量解析は、世の中の多くのデータに適応できることから、様々な分野で活用されている。

本研究では、多変量解析において難しい問題としてよく知られる母集団分布の分散共分散行列が異なる場合における平均ベクトルの仮説検定問題について議論を行った。

2. 研究の動機、目的

申請者は多変量解析を専門としているが、その中で多群における平均ベクトルの仮説検定問題は、母集団分布の分散共分散行列が母集団間で「等しい」か「等しくない」かによって検定手法としての扱いやすさが変わってくることを知った。分散共分散行列が母集団間で「等しい」場合には、検定統計量として Hotelling の T^2 統計量（1 変量の場合における t 統計量に対応するもの）がよく知られており、この検定統計量は正確に F 分布に従うため仮説検定を容易に行うことができる。一方で、分散共分散行列が母集団間で「等しくない」場合には、様々な検定統計量が議論されているが、その正確な分布の導出は難しく、パーセント点の値が容易には求められないことがため「(多変量) Behrens-Fisher 問題」と呼ばれ、難しい問題として知られている。この問題に対する検定統計量の近似分布に関しては、Cornish-Fisher 展開や Bartlett 補正を用いて χ^2 分布に近似させる方法や、 χ^2 分布の自由度を調整して与える方法等が先行研究でなされている。しかしこれらの提案手法は、母集団分布の分散共分散行列の構造による影響が大きく、さらに次元数に対してサンプル数が少ない場合や次元数とサンプル数が近い場合における近似が良くない。

そこで申請者は解決策のひとつとして、検定統計量を摂動展開することにより F 分布の自

由度を調整して近似解を与えた Yanagihara and Yuan (2005, *Comm. Statist., Simulation Comput.*) に着目した。しかし、この結果では上記のような近似が悪い場合での改善ができていないため、申請者は Kawasaki and Seo (2015, *Comm. Statist., Simulation Comput.*) で検定統計量の摂動展開のオーダーを先行研究よりも高次まで与えることで、近似精度の改良を行った。申請者による提案によって、先行研究で提案されてきた結果における近似の悪い部分に対する改良はなされたが、新たな問題としては式が複雑であり、応用場面では使いにくいという問題が生じた。そこで本研究課題は、近似の悪さを改良しつつも、より簡便な近似解の提案を目指すものである。

3. 研究の結果

まずは応用分野への適応を目指し、より簡便な近似解の提案を目指した。具体的には、Kawasaki and Seo (2015) で与えた近似分布として用いた F 分布の自由度を調整する方法について、推定するパラメータを 1 つ増やすことにより高次までの摂動展開をすることなく、近似精度の改良と近似解の簡便化を考えた。

得られた結果としては、まずパラメータが増えたことにより、検定統計量の摂動展開を行い、その後期待値を求める際に必要となる期待値計算の定理が必要となる。この定理となる期待値の計算公式は、多変量解析であるため複数の変数に対して分布を仮定し、それらの期待値を個別に計算していく必要があるため、パソコンを用いてプログラムによる計算を行い、本研究のみならず他の研究にも有用となる期待値の定理を複数与えることができた。さらに書籍により、申請者がこれまでの研究では行ってこなかった分散共分散行列に構造を与える手法についても学び、本研究の仮定として用いることを現在検討している。分散共分散分析に構造を仮定することは、実際の問題に適応させる場合に有用となることも多く、これまで数多くの先行研究が行われている。

4. これからの展望

例えば環境問題における水質や土壌の調査において、観測地点で得られるデータは、どんなに同じ条件・状況を目指していてもある程度の観測誤差が生じてしまう。さらに、採取する環境や条件を統計的に差のない状況にして行えるかどうか大きな問題となり、この場合の分散や変数間の共分散は母集団間で差が生じやすくなる。このように、観測・測定する計画とは別の要因で、どうしても同等な調査が行えないというケースは環境問題に関わらず、多く存在している。また、このようなケースで得られたデータには欠測値を含んだものが多く存在する。以上の観点から、本研究は理論的な貢献だけではなく、様々な分野への発展が期待できると確信している。さらに、得られたデータから分散共分散行列の構造などのモデル式を作ることにより、その採取環境等に即した（多変量）Behrens-Fisher 問題への当てはまりの良い近似解の提案が行える。未解決な問題である分、多くの発展性が見込める研究課題であるため、理論的かつ応用面も視野に入れた包括的な研究を行っていきたい。

5. 社会に対するメッセージ

本研究課題は、まずは理論的な部分における発展を目指しており、様々な現象や状態を数学的に一般化した形での提案となる。しかし、（多変量）Behrens-Fisher 問題は多くの応用分野が直面している問題であるにも関わらず、使いやすく有効である決定的な手法の提案には至っていない現状がある。そこで本研究課題は、理論的な立場ではあるが、応用面で直面している問題について挑み、統計学における理論的な発展と、データサイエンスが進む社会に対する貢献の 2 つを目指している。

理論的な基礎研究の積み重ねが、今日の応用分野の発展につながっている一方で、応用面には直接的に結び付かない結果があるのも事実である。貴事業団からのご支援により、これまで改めて向き合うことのなかった構造に関する研究など、多くのことを学ぶ機会となり、今後の研究への大きな基盤づくりができた 1 年であった。このような理論的な基礎研究に対し深いご理解を示していただき、ご支援くださったことに対して深く感謝申し上げます。

近赤外線（NIR）および紫外線（UV）の皮脂腺に対する作用

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	アキモト ノリコ 秋元 賀子
所属等	東京薬科大学 薬学部 助教
プロフィール	皮膚構成細胞である表皮細胞および線維芽細胞の単層および共存培養法を樹立しているだけでなく、皮膚の付属器官の一つである皮脂腺細胞の培養技術を有しています。これらの細胞を用いて、皮膚に対する薬剤や太陽光（紫外線（UV）および近赤外線（NIR））の作用だけでなく、新規化粧品素材の探索等、皮膚構成細胞に対する作用を多角的に研究してきました。

1. 研究の概要

地上に届く太陽光には、紫外線（UV）、可視光線、近赤外線（NIR）がある。UVと同様に NIRは皮膚に対して功罪をもたらすと考えられているが、NIRの研究はUVほど進んでおらず、生体や皮膚に及ぼす影響は十分に理解されていない。また、皮膚に対する功罪とその波長・照射量との関連性についても十分に理解されていないのが現状である。最近になり、実験のための照射機器が開発され、研究が進み始めている。申請者も任意に波長と照射量を変更できる NIR照射装置を開発した。この装置を用い、皮膚組織および培養細胞に対するNIRの生物活性を検討した。

2. 研究の動機、目的

地上で暮らす人々にとって太陽光はかけがえのない自然の恵みであるが、地球環境の悪化に伴いUVの地表到達率が高進し、角質水分量の低下、真皮細胞外マトリックス（ECM）の粗造化、皮脂分泌高進などの皮膚老化（光老化）が問題となっている。また、UVよりも波長が長く生体透過性が高いNIRも発赤、水疱やしわ・たるみ（光老化）など皮膚への悪影響を及ぼすことが知られており、近年、NIRの皮膚に対する作用に関心が非常に高まっており、UVと同様にNIRによる光老化防止を指向したスキンケアが提唱されつつあるが、NIRの皮膚機能に対する作用は十分に理解されていないのが現状である。

また、皮膚バリア機能は、表皮および真皮におけるECMおよび防御因子の発現調節に加え、皮膚の付属器官の一つである皮脂腺より分泌される皮脂による皮表脂質膜形成により構造的・機能的に制御されている。皮脂は“肌のてかり”や“尋常性ざ瘡（にきび）”を連想し、「悪者」と捉えられているが、皮脂の欠乏は、皮膚のバリア機能を損ない、皮膚の乾燥（乾皮症）を引き起こす。皮脂腺の正常な機能を保つことが皮膚バリア機能の維持に繋がる。

本申請研究では、皮脂腺組織に着目し、UVまたはNIR照射が、皮膚バリア機能および皮脂腺の過形成においてどのように作用するのかを、申請者らが開発したNIR照射装置を用いて皮膚組織および培養皮脂腺細胞において検討した。

3. 研究の結果

(1) ハムスター耳介部における皮脂産生に対するUVBおよびNIRの作用

これまでに、ハムスター耳介部の皮脂腺組織において、UVおよびNIR照射は皮脂腺の過形成を引き起こすこと、UV照射が皮脂の分泌を高進する (Fig. 1AおよびB) ことを報告している。今回、NIR照射の皮脂の産生に対する作用をoil red O染色により検討したところ、NIR照射は皮脂腺の過形成を引き起こし、皮脂の産生を促進した (Fig. 1CおよびD)。

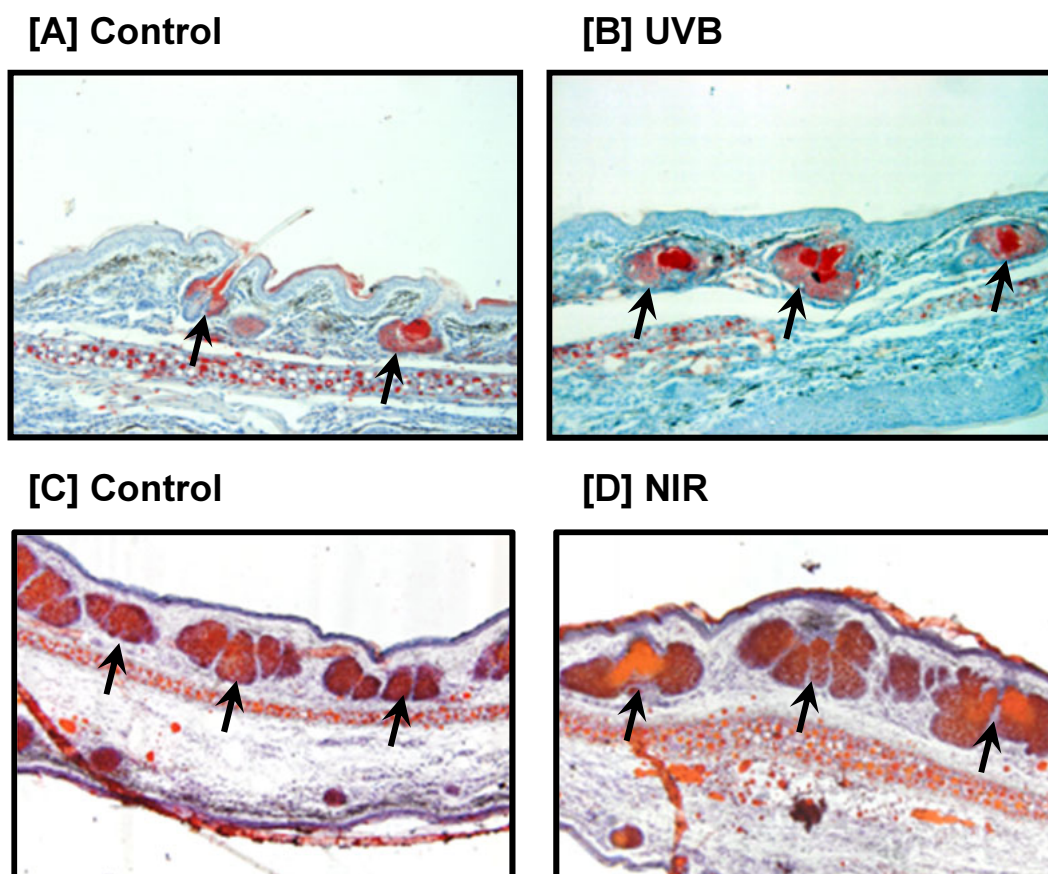


Fig. 1 ハムスター耳介部における皮脂産生に対する UVB および NIR の作用

(2) 分化ハムスター脂腺細胞における細胞内脂肪滴形成と皮脂分泌に対する UVB および NIR の作用

ハムスター耳介部の皮脂腺組織において UVB および NIR が皮脂の産生を促進することから、ハムスター脂腺細胞における細胞内脂肪滴形成に対する UVB および NIR の作用を検討した。その結果、UVB 照射により細胞内脂肪滴の微細化が確認された (Fig. 2A および B)。一方、NIR 照射は UVB 照射で見られたような脂肪滴の微細化は確認されなかった (Fig. 2D および E)。

次に、産生される皮脂の主成分であるトリアシルグリセロール (TG) を指標として、培養液中に分泌された皮脂量を測定した結果、UVB 照射により照射量依存的に TG 量の増加が確認された (Fig. 2C)。一方、NIR 照射による TG 量の変化は見られず、皮脂分泌に影響を及ぼさなかった (Fig. 2F)。

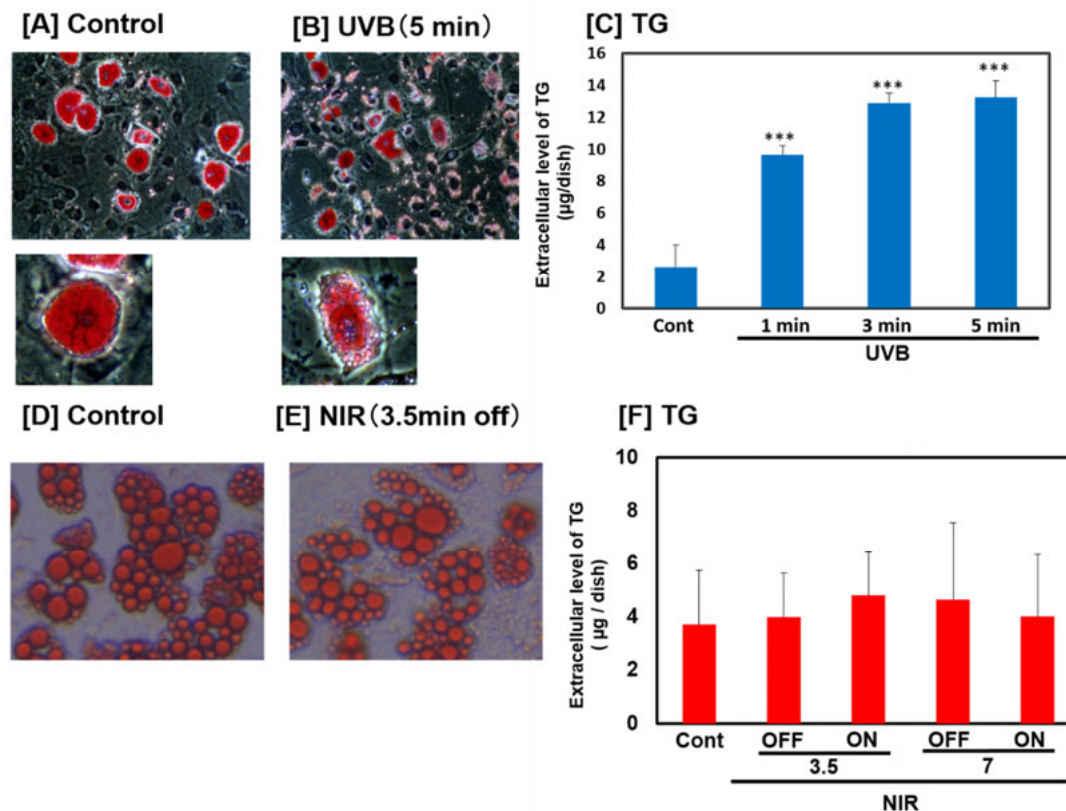


Fig. 2 ハムスター脂腺細胞における細胞内脂肪滴形成と皮脂分泌に対する UVB および NIR の作用

(3) 未分化ハムスター脂腺細胞における細胞増殖活性に対する UVB および NIR の作用

シリアンハムスターの耳介部における NIR 照射が表皮を肥厚させ、皮脂腺の過形成を誘導することから、ハムスター脂腺細胞における細胞増殖活性に対する UVB および NIR の作用を検討した。その結果、UVB 照射により細胞増殖活性が有意に抑制された (Fig. 3A)。一方、NIR 照射は細胞増殖活性に影響を与えなかった (Fig. 3B)。

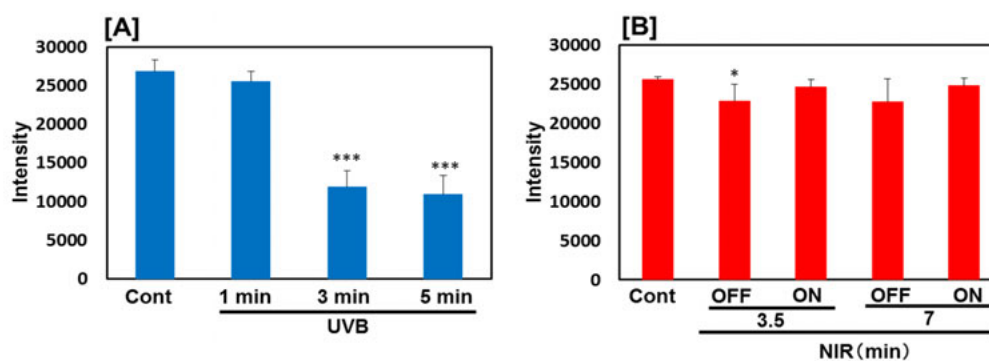


Fig. 3 ハムスター脂腺細胞における細胞増殖活性に対する UVB および NIR の作用

(4) ハムスター耳介部における NIR 照射による lamin B1 発現調節

NIR 照射により表皮および皮脂腺の過形成が観察されたことから、細胞増殖に関与する lamin B1 の発現を検討した。その結果、control においては表皮および皮脂腺において、lamin B1 は主に基底細胞層に発現していることが判明した (Fig. 4A)。一方、NIR 照射においては、表皮の基底細胞層および過形成した皮脂腺の基底細胞層から内腔にかけて lamin B1 陽性細胞が検出された (Fig. 4B)。

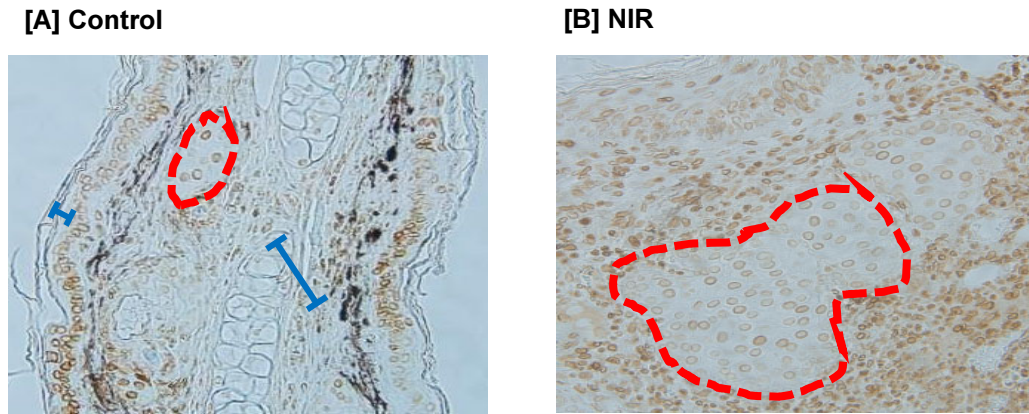


Fig. 4 ハムスター耳介部における隔日 NIR 照射による lamin B1 発現増強作用

エ : 表皮、○ : 皮脂腺組織

4. これからの展望

皮膚組織において UVB および NIR 照射により皮脂腺の過形成を引き起こすことが明らかとなりました。しかし、予想に反し培養皮脂腺細胞においては、UVB および NIR 照射による細胞増殖活性は確認されませんでした。生体において皮脂腺は真皮層内に存在しており、表皮または毛包に開口しています。そして、真皮層は表皮に覆われているため、照射による影響を真っ先に受けるのは表皮角化細胞です。これを考慮すると、表皮角化細胞や線維芽細胞との細胞間コミュニケーションにより皮脂腺の過形成が起きたことが示唆されます。今回の実験はハムスター皮脂腺細胞の単層培養モデルを用いて実施したため、皮膚組織とは条件が異なり他の皮膚構成細胞との細胞間コミュニケーションについては検討していません。皮膚組織での結果より、UVB および NIR 照射が皮脂腺に影響を及ぼすことは明らかなです。今後、表皮角化細胞や線維芽細胞と皮脂腺細胞の共培養モデルを用いてさらに詳細に検討することにより、UV および NIR による皮脂腺をはじめ皮膚構成細胞に対する作用が明らかとなり、光老化の分子機構の解明が進展するものと期待されます。

5. 社会に対するメッセージ

近年、UV だけでなく NIR の皮膚に対する作用に関心が高まりつつありますが、その作用については十分に理解されていないのが現状です。今回の結果から、UV および NIR の皮膚機能、特に皮膚バリア調節における生物活性が明らかになりつつあります。今後のさらなる研究の発展により、皮膚における NIR の功罪の同異性を提唱できると考えています。また、その分子機構に立脚した NIR の光老化防止を指向した新規化粧品の開発に繋がることを期待しています。

今回の結果から、過度の NIR 照射は皮膚への悪影響を及ぼすことが予想され、美容皮膚の観点からすると UVB と同様に NIR から皮膚を防御することが重要であると考えられます。太陽光は、かけがえのない自然の恵みですが、上手に UVB や NIR から自分の肌を守りましょう！

ルシフェリンアナログの網羅的合成に向けた 有機合成手法の開発

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	ヒガシ ショウコ 東 翔子
所属等	東邦大学 理学部 博士研究員
プロフィール	同志社大学工学部機能分子工学科出身。在学中は後周期遷移金属錯体（特にルテニウム錯体）を触媒とする有機合成法の研究に携わる。博士後期課程修了後、電気通信大学にて赤色発光ホタルルシフェリン合成開発の研究メンバーとして従事。この時タンパク質の低分子化合物認識について興味を持ち、東邦大学では、人体にとって悪い働きをするタンパク質を妨害する低分子化合物に関する研究をいくつか行っている。有機合成実験が得意。大腸菌大量培養によるタンパク質合成と精製、結晶化と構造解析を習得中。思いついたことはすぐ試そうとします。

1. 研究の概要

発光生物によるルシフェリン-ルシフェラーゼ反応は、バイオテクノロジーに活発に利用されている。例えば、ホタルが体内で作るタンパク質であるルシフェラーゼをコードする遺伝子を研究対象に目印として組み込み、目的の部分の発現、つまり様々な生物の遺伝子の活性やタンパク質の挙動を、ルシフェリンと反応させた際の発光によって検出する方法などである。ホタルのルシフェラーゼと反応できる小分子のルシフェリンの構造は、ホタルが自己で生成することができる天然型のホタルルシフェリン 1 種類だけであると長年考えられてきた。しかし、近年の研究でホタルルシフェリンは“ある程度”自由な構造を持つ人工のルシフェリンを使っても発光反応を起こすことがわかってきた。興味深いことに、天然のホタルの発光は黄緑色と決まっているのに対して、様々な構造を持つ人工のルシフェリンで発光反応を行うと青や赤といった様々な色・明るさの光が得られる。特に、赤色の光は生体の組織や血液による吸収減衰が少ないため動物の深部の観察を行う際には重要で、赤色発光をするルシフェリンの開発はバイオイメージング分野の発展において高い需要がある。

このような背景から、新奇な発光特性を持つ人工ルシフェリンを探索することは、バイオテクノロジー分野への大きな貢献が見込まれる。本研究では、様々な人工ルシフェリンを合成することができ、その中からより有用な人工ルシフェリンを探索するために役立つと考えられる新しい合成反応を開発することを目指した。

2. 研究の動機、目的

生化学分野で現在最も多く利用されているタイプのホタルルシフェリンと反応可能な人工ルシフェリンは、近年いくつか報告されている。例えば、Millar らはオレンジ色に強く発光する **Cycluc1** [*Nature Methods* 2014(11) 393] を、Maki らは **Akalumine®**をはじめとした赤や青色に発光するルシフェリンを多数報告した [*Curr. Top. Med. Chem.* 2016(24) 2648]。いずれの人工ルシフェリンも、天然のホタルルシフェリンが持っているチアゾリンカルボン酸部分（図 1. 右半分の構造）をもっており、この部分はルシフェラーゼでの発光反応に必須であることがわかっている。一方、残りの部分はある程度の構造改変を行なってもルシフェラーゼでの発光反応が可能であることが示されている。以上の知見に基づき、筆者は以前 Maki らの

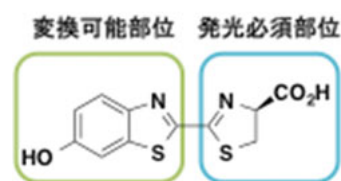


図1. 天然のホタルルシフェリンの発光必須部位と変換可能部位

研究グループにて新規人工ルシフェリンの合成探索に携わっていた。この時、発光の色は化合物の構造から計算等によりある程度予測できるものの、ホタルルシフェラーゼでの発光反応が起こるかどうか、またどれくらいの強さで光るかは、現時点でのデータの積み重ねからは安易には予測できないということを経験した。つまり、ホタルルシフェラーゼがどこまで人工ルシフェリンを基質として受け入れてくれるかは、現在のところ実際に化合物を作って反応させてみるまでわからない。このため、より数多くの人工ルシフェリン候補を網羅的に合成し、有能な発光特性をもつ化合物をスクリーニングする必要があると感じた。本研究はこの目的のため、発光に必須な部位であるチアゾリンカルボン酸を様々な構造をもつ分子に直接結合することができないかという発想のもと開始した。

筆者は在学中の研究テーマから、有機金属錯体をもちいるカップリング反応に親しみがあった。この背景から、窒素と硫黄原子に挟まれたチアゾリン環の炭素がユニークな特性を持っていることを期待し、この部分を金属触媒と置き換わりやすいよう変換（図 2. 桃色部分）、その後触媒上で相手の分子と出合わせ（図 2. 緑色部分）触媒が離れると目的の生成物となる反応メカニズムを構想した。

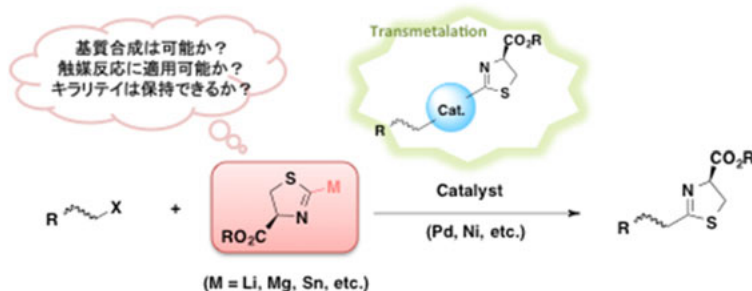


図 2. 発光必須部位を金属触媒によって様々な分子に結合する反応の構想

3. 研究の結果

(1) チアゾリンカルボン酸ブロックの基質合成

本来のホタルルシフェリンは D-システイン由来のチアゾリンカルボン酸のみで発光能力をもつが、今回は合成法の初期検討であるため、入手容易な L-システインを原料とした環状化合物を文献に基づき合成した（図 3）。いずれも良好な収率で得られ、揮発性が高い・分解が速いなどの問題も特に見られず、取り扱い易いスタート物質といえる。

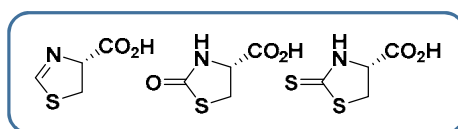


図 3. 合成したチアゾリンカルボン酸ブロック（左から基質 A, B, C）

(2) チアゾリンカルボン酸ブロックの変換反応

(1) の各基質から、目的の部位が金属触媒と置き換わり易くする変換を試みた。基質 B では酸素部分の OTf および OTs への変換を試みたが、生成物の単結晶 X 線構造解析から酸素部分ではなく窒素部分が NTs に変換されたことがわかった。同様に、基質 B の酸素部分、基質 C の硫黄部分の臭素化を試みたが複雑な混合生成物が得られ、目的物の同定には至っていない。この他、基質 A のリチオ化やスズ化、銅触媒を用いたベンゼン類との直接反応なども試みたが、現在のところ目的物は得られていない。

4. これからの展望

現在、リン系縮合剤を用いたカップリング反応など、興味深い既報の反応を応用し検討中です。また、今回の反応デザインでは **Cycluc1** や **Akalumine** と類似した化合物を主ターゲットとして合成容易にする方針でしたが、現在学んでいるタンパク質の構造解析と低分子の結合予測シミュレーションも応用し、未知の人工ルシフェリンの構造候補を探索した後、新たに反応デザインを組みなおすことも視野に入れております。

5. 社会に対するメッセージ

この度はご支援をいただきありがとうございました。高性能な分析機器等の必要を別としますと、有機合成研究は実はあまり初期費用を必要としません。というのも、有機合成化学者のほとんどは、どこでも安価に手に入る原料試薬を使い、より役に立つ化合物を組み立てようという基本的な考えを持っているからです。ただ、色々アイデアが浮かぶ過程で、もしかしたら一度しか使わないことになるかもしれない試薬、試してみたいが失敗に終わるかもしれない反応、など数多くの「出資をためらう場面」が出てきます。そのような時、普段は結局何もしないことになるのですが、今回私はご支援をいただいたことで大いに背中を押していただきました。今後とも、ちょっとしたアイデアは持っているが御蔵入りにしてしまっている有機合成化学者の後輩たちへも、是非ご支援をお願いいたします。

家畜および伴侶動物における コリスチン耐性菌保菌率に関する調査

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	キベ リョウコ 木邊 量子
所属等	日本獣医生命科学大学 獣医学部 獣医学科 助教
プロフィール	獣医微生物学研究室の助教として、将来獣医師となる学生に病原微生物や常在微生物の存在について、授業、実習を通して紹介しています。 薬剤耐性菌は研究室の主となるテーマです。

1. 研究の概要

本研究は、家畜とくに豚および伴侶動物の犬猫におけるペプチド系抗生物質：コリスチンに対する耐性菌の保菌状況を調査した。

わが国では、2008 年に分離された豚由来大腸菌株にコリスチン耐性遺伝子 *mcr-1* が検出され、現在も家畜におけるコリスチン耐性菌の保菌状況は更新され続けている。しかしながら、家畜よりもヒトに接触する機会の多い伴侶動物におけるコリスチン耐性菌の保菌状況に関する調査報告が少ないことから、本研究では豚の便より分離した 122 株、犬猫の臨床検体より分離した 157 株の大腸菌におけるコリスチン耐性とコリスチン耐性遺伝子である *mcr-1* 遺伝子を平板希釈法および PCR 法によりそれぞれ検査した。耐性が確認された菌株は多剤耐性の有無も調査した。その結果、豚において 17% の 21 株においてコリスチン耐性または耐性遺伝子 *mcr-1* の検出を確認した。犬猫に関しては 1 株のみコリスチン耐性を示した。この 1 株は耐性遺伝子を保有していなかった。この結果はわが国の過去における健康豚からの分離率よりも高く、コリスチン耐性菌が増加していることを示唆した。一方で犬猫においてはコリスチン耐性遺伝子や耐性菌の拡散は現在深刻な状況には至っていないことが示された。2012 年 WHO はコリスチンをヒト医療において非常に重要な薬剤として再分類したが、現在もその分類は変更されていない。これはコリスチンに代わる新たな薬剤が開発されていないこと、そしてコリスチン耐性を持つ病原菌の増加が、治療困難な感染症の増加を意味しているからである。ヒト、動物、環境の健康を目指す “One health” の観点から、今後もコリスチン耐性菌の動向をモニタリングしていくことが重要であると考えられた。

2. 研究の動機、目的

薬剤耐性菌の増加が問題となる中、抗生物質の慎重使用が全世界で課題となっている。抗生物質の中でも、コリスチンは多剤耐性菌を治療する「最後の切り札」として 2015 年からヒト医療において再承認され、使用が再開された。その一方で、家畜においては飼料添加剤として 40 年以上使用されていたため、コリスチン耐性菌が畜産領域から拡散しないよう、近年飼料添加目的での使用が停止された。コリスチン耐性遺伝子はゲノム上にあるため、細菌間では伝達しないと考えられてきたが、2015 年に Liu らがプラスミド上に存在するコリスチン耐性遺伝子 *mcr-1* を家畜分離株より検出して以降、世界各国でコリスチン耐性遺伝子 *mcr-1*、*mcr-2* などに関する調査が行われ、耐性遺伝子の拡散が懸念されている。その中、2016 年米国において、尿路感染症患者より多剤耐性コリスチン耐性大腸菌が分離

され、コリスチン耐性遺伝子 *mcr-1* も検出された。感染経路は不明とされたが、環境から汚染した可能性は否定できない。そこで本研究では家畜とくに豚およびヒトに接触する機会の多い伴侶動物におけるコリスチン耐性菌の保菌状況に関する疫学的調査をおこなった。この調査により畜産または伴侶動物からヒトへの耐性菌感染および環境汚染リスクが明らかとなり、将来的な感染経路の特定、環境汚染の指標の一助となることを目的としている。

3. 研究の結果

【健康豚におけるコリスチン耐性大腸菌の保有率】

健康な豚 51 頭の糞便サンプルから DHL 寒天培地を用いて腸内細菌を分離した結果、大腸菌 122 株を分離した。これら大腸菌分離株を用いて、PCR 法による *mcr-1* 遺伝子の保有状況および平板希釈法によるコリスチン耐性を確認した。その結果を表 1 に示した。

122 株中、耐性遺伝子 *mcr-1* を保有する株は 21 株 (17%)、コリスチン耐性の株は 18 株 (14%) となった。*mcr-1* 保有株およびコリスチン耐性株はいずれも *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4*, *mcr-5* を保有していなかった。分離地域は異なるが、鈴木ら (2016 年) はわが国の健康豚から分離された大腸菌のうち、*mcr-1* 遺伝子を保有していた株は 0.02% と報告している。

表1. コリスチン耐性遺伝子とコリスチン耐性状況		
<i>mcr-1</i> 遺伝子	耐性	株数
+	+	15
-	+	3
+	-	6
-	-	98
Total		122

また、福田ら (2017) も 9.5% がコリスチン耐性を示したと報告しており、今回の我々の結果は両報告よりも多い結果となったことから、コリスチン耐性菌が増加している可能性が示唆された。また、本研究では *mcr-1* 以外の *mcr* は検出されなかった。福田らの報告によると、下痢豚由来大腸菌株から *mcr-1* や、その他の *mcr* 遺伝子が検出されていることから、疾病豚においては、より高率にコリスチン耐性株が分離できることが示唆され、今後の検討が必要であると考えられた。

【コリスチン耐性腸内細菌科の同定】

コリスチン耐性および耐性遺伝子を持つ大腸菌以外の腸内細菌科の菌 2 株を同定するために 16S rRNA 遺伝子のシーケンスをおこない配列を決定した。これらの 2 株はどちらも *Providencia rettgeri* と同定された。*Providencia* 属の他の種が *mcr-1* を保有している報告はこれまでもあったが、*P. rettgeri* から *mcr-1* 遺伝子が検出されたのは本研究が初めてである。*Providencia* はそもそもコリスチンの作用部位である LPS のリン脂質が修飾されており、コリスチンに対して自然耐性を持つため、生存に *mcr-1* を保有する必要がない。そのため *Providencia* 属菌が *mcr-1* のキャリアーとなって、他の菌に *mcr-1* 遺伝子を伝播している可能性も示唆された。

【コリスチン耐性株の薬剤感受性試験】

コリスチン耐性で *mcr-1* を保有する大腸菌株 15 株に関して他の薬剤の感受性をディスク法により確認した。その結果、ABP (アンピシリン) 耐性が 15 株中 11 株、AMP (アモキシシリン) 耐性が 10 株、ST (スルファメトキサゾール) 耐性 10 株、CP (クロラムフェニコール) 耐性 7 株、CEX (セファレキシリン) 耐性 5 株が確認された。ABP、AMP に対する耐性率が高かった。どちらもペニシリン系の抗生物質であり、 β ラクタマーゼにより細菌はこれらの抗生物質に対して耐性を獲得する。ヒトや鶏では、伝達プラスミド上に β ラクタマーゼ遺伝子と *mcr-1* 遺伝子両方を持つ大腸菌の存在が報告されている。本実験結果からも *mcr-1* 遺伝子のプラスミド上に β ラクタマーゼ遺伝子が存在する可能性が示唆された。このプラスミドが他の細菌へと伝播すれば、ペニシリン系およびコリスチンに対して耐性を示す腸内細菌が増加する可能性があるため、追試が必要である。

【伴侶動物におけるコリスチン耐性大腸菌の保有率】

2014 年から 2017 年に来院した犬猫の臨床検体から分離された大腸菌 157 株を使用し、PCR 法

による *mcr-1* 遺伝子の検出および寒天平板希釈法によるコリスチンの感受性試験をおこなった。その結果、157 株全てにおいて *mcr-1* は検出されなかった。一方、ネコ由来の 1 株がコリスチン耐性を有した。これに関しては農林水産省が同様の研究を 30 年度 11 月に報告した。平成 29 年度における犬猫を対象としたコリスチン耐性菌の保有率は、イヌで 1%ネコにおいて 0%となっており、本研究の 0.6%とほぼ同様の結果となった。このことは、伴侶動物におけるコリスチン耐性遺伝子や耐性菌の拡散は現在深刻な状況には至っていないことが示唆された。

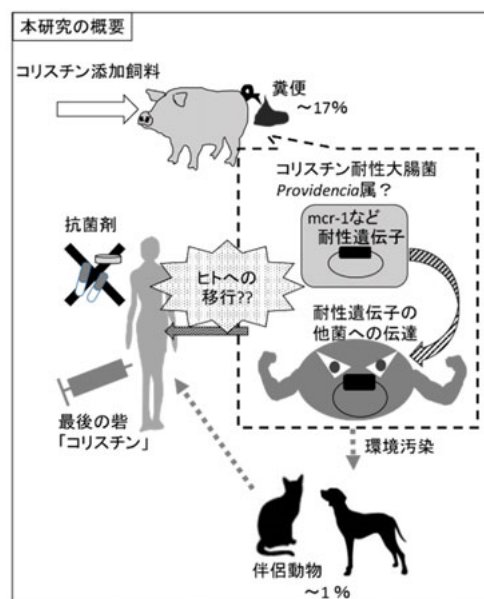
【まとめ】

上記の結果をまとめると、

- ・豚において過去の報告よりも多くのコリスチン耐性大腸菌が検出された。
→コリスチン耐性菌が増加している可能性がある。
- ・*mcr-1* を保有していても、コリスチン耐性をもたない大腸菌が存在した。
→*mcr-1* によるコリスチン耐性発現に関して詳細なメカニズム解析が必要。
- ・コリスチンに自然耐性のある *Providencia* 属において、*mcr-1* が検出された。
→*Providencia* 属のキャリアーとしての可能性が示唆された。
- ・コリスチン耐性菌の 7 割がペニシリン耐性を示した。
→他の薬剤耐性遺伝子と *mcr* 遺伝子の位置関係によっては、多剤耐性菌が生まれる危険性を示唆した。
- ・伴侶動物におけるコリスチン耐性遺伝子や耐性菌の保有率は 0～1%であった。
→伴侶動物における耐性菌や耐性遺伝子の拡散は現在深刻な状況には至っていないが、今後の継続的なモニタリングが必要である。

4. これからの展望

本研究の遂行により、長年にわたり資料添加剤としてコリスチンを投与されてきた豚の腸内にはコリスチン耐性菌や遺伝子が存在し、それらの保有率が増加傾向にあることが明らかとなった。一方で、伴侶動物においては保有率が低いことも確認した。しかしながら、この結果には地域性がある。家畜に近いところに住んでいる犬猫では保有率が高くなる可能性があり、様々な地域のサンプルを集める必要がある。残念なことに、コリスチンなどの薬剤耐性菌の動向調査とくに伴侶動物に関しては、この研究と同時期に国が力をあけて調査をはじめた。これは全国を対象としており、規模の面で本研究は足元にも及ばない。しかしながら、本研究の結果は動向調査以上の情報を得ることが出来たと考えており、今後に発展させていきたい。特に、耐性遺伝子 *mcr* を *Providencia* 属など、コリスチンに自然耐性のある菌が保有していることは、コリスチン耐性菌の拡散に多大な影響を及ぼすと考えられ、大腸菌や他の菌への *mcr* 伝達様式や伝達速度などを確認する必要がある。また、コリスチン耐性菌が多剤耐性となる可能性も示唆され、この研究をきっかけとして、多くの課題を派生することができた。薬剤耐性菌問題は全世界の課題となっており、今回の研究を一端として、新たな対策法の開発へと発展させていきたい。



5. 社会に対するメッセージ

この度、女性研究者奨励金で「家畜および伴侶動物におけるコリスチン耐性菌保菌率に関する調査」という課題で支援をいただきました。薬剤耐性菌問題は、G7 で取り上げられるなど、全世界が取り組まなくてはならない問題です。薬剤耐性菌が増えると、抗生物質が効かなくなり、多くの感染症が治癒しない原因となります。コリスチンは現在使用中止されましたが、家畜の病気を予防するために飼料に添加されていたため、動物から環境へ、そして人への耐性菌の移行が懸念

されています。問題解決のために、新たな薬剤の開発や抗生物質の慎重使用が早急な課題となっていますが、現に存在する薬剤耐性菌の動向調査は将来的な増減を知るきっかけとなるため、非常に重要です。今回、女性研究者奨励金の支援を受けこの動向調査、特にこれまであまり調査されていなかった伴侶動物に関して調査をすることができました。私事ではありますが、出産・子育てを経験し現職に就任して 3 年目になります。所属研究室では薬剤耐性菌を対象にした研究を長年おこなっていますが、今回の採択は私にとって研究室に貢献できるものであり、またこの研究から派生して多くのテーマを築くことができました。この支援を励みに、また次の女性研究者の励みになるよう、続くテーマに精力的に取り組みたいと考えております。この度はご支援、誠にありがとうございました。

新設保育所における特別支援教育推進に関する研究 —園内研修による保育士の変化に着目して—

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	シラトリ マミ 白取 真実
所属等	貞静学園短期大学保育学科 講師
プロフィール	公立保育園での実務経験が 10 年あります。障害のある子どももいない子どもも含めた、インクルーシブ保育についての研究をしています。保育者が子どもの前で、笑顔でいられることが、子どもの健やかな育ちに繋がると 생각합니다。そのような環境を整えることが将来的な目標です。

1. 研究の概要

本研究では、新設保育所において特別な支援を必要とする子どもを保育する場合の現状と課題を明らかにすることを目的とした。

この研究の特色は、新設保育所に焦点を当てたことである。これまでの研究においては、新設保育所を対象とした研究の積み重ねは非常に少ない。小規模な新設認可保育所を対象を限定して調査を行い、実践に即した取り組みや課題を明らかにした点は独創的である。

2. 研究の動機、目的

2015 年に「子ども・子育て支援新制度」がスタートしてからは、認可対象施設の「量」の拡充が図られている。「待機児童ゼロ」を掲げ、保育所の新設が急ピッチで進んでいる中、保育士が集まらない、保育士の一斉退職など、子どもの保育の質の確保が追い付かない現状があげられる。新設保育所の増加は、そこで働く保育士や子どもへの影響が置き去りにされたまま進められているのである。このような背景から、保育の受け皿確保を背景に、すべてを一から積み上げていかなければならない新設保育所には、特有の課題があると考えた。

また、全国保育協議会によると、障害児保育を実施していると回答した保育所は全体の 76.6%にものぼる。障害のある子どもに加えて、特別な支援を必要とする子どもがいると回答した保育所は 8 割にも及び、その数は平均すると保育所 1 園につき 4.1 人である。保育所においては、障害のある子どもをはじめ、特別な支援を必要とする子どもの受け入れが進んでいる。これまでの研究によると、発達障害児や未診断の気になる子どもを保育する場合、保育士が困り感を抱いていることは多数報告されている。このことから、新設保育所で特別な支援を必要とする子どもを保育する場合、保育士、特別な支援を必要とする子どもをサポートする仕組みが求められると考えた。

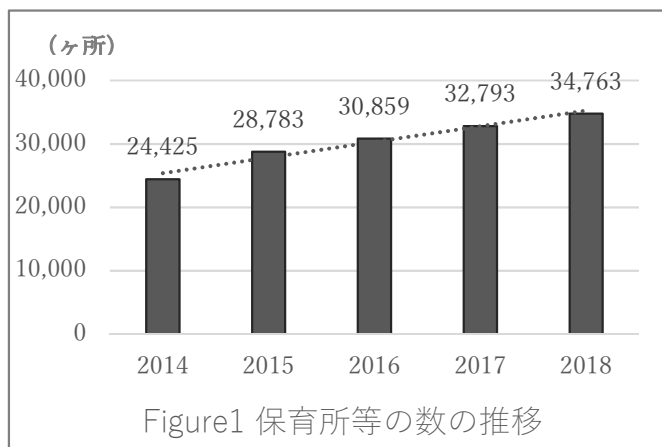
3. 研究の結果

①文献調査

公的資料、先行研究 5 点、新設保育所にける現状と課題を明らかにした。現在の保育所の数の推移をみていくと、2014 年から 2018 年までの 5 年間において、1 万ヶ所の保育所が新設されている (Figure1)。認可外保育所は、2014 をピークに数が減少しており、子ども・子育て支援新制度移行、認可保育所の数が増加している。また、保育所の設置主体としては、株式会社

が運営する保育所が、2007 年度から 2016 年までに 1,146 ケ所増加している。2016 年の統計によると、認可保育所のうち、東京都・千葉県・埼玉県・神奈川県と首都圏が占める割合は、全国の 75.5%である。保育所の設置主体の多様化は、首都圏や政令指定都市、中核市の一部に限定されたものであり、待機児童の少ない地方においては、多様化が進んでいない現状が理解できる。

これまでの先行研究を概観すると、園内研修に関するもの、保護者との信頼関係の構築、騒音等の音環境に関するものがあげられる。しかし、新設保育所を対象とした研究は少なく、保育所増加、設置主体の多様化に対応するためにも、研究の積み重ねが求められる。



②保育士に対するインタビュー調査について

S 区にある私立認可保育所 1 園において、2017 年 10 月より 2018 年 3 月までの間に、計 6 回の調査を行った。この保育所は、2017 年 7 月より子どもの受け入れを開始し、2017 年 10 月定員数となった。保育士に対するインタビューを分析した結果、以下の課題があげられた。

【保育環境について】

保育環境については、保育士間においてもよく話し合われており、新設保育所で保育を進める上で特に重要な課題であった。室内環境としては、子どもが集団の中で落ち着きがなくなった場合、気持ちを切り替えるための余分なスペースがないことが課題であった。新設された当初は、玩具の置き場所、子どもの活動に合わせた室内の設定等について、保育士間の意識をすり合わせする作業が行われていた。また、この保育所の特徴として、地域住民との関係で、園庭を使用できないという点があった。外遊びのために公園に出かける必要があり、毎日のように園外に出ることが保育士にとって大きな負担となっていた。特別な支援を必要とする子どもを含めたクラスを運営する上では、公園でパニックを起こしたり、集団と一緒に行動が難しかったりする時の対応が課題としてあげられていた。夏には、園庭とは別のスペースにテントとプールを設置し、子どもたちが水遊びを経験できるような工夫を行っていた。様々な課題について、それぞれの保育士のこれまでの経験から、出来ることと難しいことを話し合っているという点が特徴的であった。

【保育体制について】

保育所においては、当番勤務で保育を行うため、時間帯によって、活動内容に制限が加わったり、子どもの様子の変化したりすることが課題であった。特別な支援を必要とする子どもを担当した経験が乏しい保育士もあり、これで良いのか日々模索の中保育をしていると悩みを口にする保育士もいた。また、特別な支援を必要とする子どもに個別の対応が必要となる場面においても、保育士の人数の関係で個別対応が難しい、同じ保育士が続けて対応することが難しいという保育士不足の影響があげられていた。

【特別な支援を必要とする子どもも含めたクラス運営について】

新設された保育所では、子どもとの信頼関係作りを一から行わなければならない、保育士同士が子どもの特徴を把握して、できることと苦手なことを出し合っている段階であった。加えて、子ども同士の関係作りも一から行われている最中であることが報告されていた。特別な支援を必要とする子どもが集団に入れず、個別対応をしていると「どうして〇〇君はいいのに、ぼくはダメなの？」などと他の子どもが素直に質問してくることが報告された。そのことについて、みんなに同じ指導をできないことに葛藤する気持ちを抱いているという保育士もいた。しかし、開園後半年もすると、子ども同士も理解し合い、子ども同士の関係の構築が進んでいったという報告があった。

【保護者との関係について】

保育所において、保護者との関係作りは、保育を進める上で重要な課題であった。開園当初は、保護者の特徴をつかみ、特別な支援を必要な子どもについて、どの程度子どもの様子を伝えるべきかを探っている段階であった。子どもの様子が保護者に伝わらない段階では、「お母さんがわかっているのに目を向けようとしない」、「どこかの療育機関と繋がった方が子どものためになるのに」という報告があった。保育所での様子が保護者と共有できていないことに、ストレスを抱えていることがわかった。その後、徐々に保護者との信頼関係が出来始めると、「良いことも悪いことも話せるようになってきた」、「家での様子も話してくれるようになった」等の報告が聞かれるようになった。保護者との関係作りに難しさを感じている段階から徐々に関係を構築する様子を聞き取ることができた

【特別な支援を必要とする子どもについての課題】

特別な支援を必要とする子どもを保育する上で必要となる書類の作成については大きな課題があげられた。開園当初から毎日の日誌は書いていたが、個別の指導計画については、書式もわからずに、書式を作成するところから始めることとなった。また保育士は、特別な支援を必要とする子どもについて、自治体の関係機関との連携を図る必要性を感じているが、まだ行動には移すことが出来ていないという悩みを報告していた。どのようにしていけばよいのかやり方がわからないという悩みがあげられており、関係機関とのルート作りも課題であった。

③新設保育所に勤務する保育士の精神的健康度

インタビュー調査を行った保育所と同一の保育所において、一般的精神的健康調査票短縮版 GHQ30 を使用し、2017 年 11 月と、2018 年 11 月の計 2 回の調査を行った。精神科外来を含め、医療機関で臨床的な立場で使用する GHQ30 の得点は、6 つの下位項目の点数により軽度の症状、中等度以上の症状として判断基準が設けられている。本調査による下位項目の平均は、希死念慮うつ傾向の項目以外は、全てにおいて軽度の症状を上回っており、特に一般的疾患傾向については中等度以上の症状とされる値を上回っていた (Table 1)。

一方で約 1 年後に、同じ GHQ30 を使用し調査を行ったが、睡眠障害、不安と気分変調の項目については、軽度の症状を上回ったものの、他の項目においては 1 回目の調査を比較して平均値が下回るという結果になった (Table 2)。

Table 1 GHQ30 下位尺度得点 (N=12) (1 回目)

	軽度の症状	中等度以上の症状	本調査	
			平均値	標準偏差
一般的疾患傾向	2/5	3/5	3.25	1.48
身体的症状	2/5	3/5	2.50	1.04
睡眠障害	2/5	3/5	2.92	1.80
社会的活動障害	1/5～2/5	3/5	1.50	1.61
不安と気分変調	2/5～3/5	4/5	2.33	1.55
希死念慮うつ傾向	1/5	2/5	0.33	0.75

Table2 GHQ30 下位尺度得点 (N=11) (2 回目)

	軽度の症状	中等度以上の症状	本調査	
			平均値	標準偏差
一般的疾患傾向	2/5	3/5	1.73	1.76
身体的症状	2/5	3/5	1.91	1.44
睡眠障害	2/5	3/5	2.36	1.67
社会的活動障害	1/5～2/5	3/5	0.73	1.35
不安と気分変調	2/5～3/5	4/5	2.09	1.88
希死念慮うつ傾向	1/5	2/5	0.27	0.62

この結果から、新設されて間もない時期は「一般的疾患傾向」といわれている項目や、気

分や健康状態、体の不調を感じる保育士が多かったものの、1年後には落ち着いてきていることが明らかになった。しかし、対象とした保育士の人数が少人数であること、精神的健康に影響を与える要因が仕事だけではないことを考慮する必要がある。

4. これからの展望

現在非常に多くの保育所が新設されています。女性の社会進出に伴い保育所の新設が現在も進んでいる。そこで、保育士が集まらない現状や、一斉退職など、子どもの保育の質の確保が追い付かないという課題があげられています。本研究では、特別な支援を必要とする子どもを含めたクラス運営に焦点を当て調査を行いました。地域住民からの要望で園庭を使用できない現状や、保育士の離職問題等、課題は山積みであると感じました。

私は、保育士として10年勤務する中で、現場の声を形にすることの必要性を感じ、短期大学で研究者として歩み始めたばかりです。今後も、一歩ずつ研究活動を続け、保育士が働きやすい環境を整えることができる研究者になりたいと思います。笑顔で働く保育士が増えることが、子どもへの支援に伝わっていくと信じています。

5. 社会に対するメッセージ

資格を持っていても保育士として働かない、潜在保育士が多数いると言われています。子どもが好きで、先生を目指して資格を取ったのに関わらず、様々な理由から、保育士としての職につかない人が多いという現状は非常に悲しいものがあります。現在増加している保育所の多くは、決して十分な環境が整っているとは言えません。私は、園庭が使用できない、マンションの一角で保育スペースが限られている、人手が不足している保育所に他の保育所からヘルプが入る現状を目の当たりにしました。現場経験のある研究者として、保育士が働く過酷な現状を伝えていく必要があると強く感じました。

そのような中、限られた環境においても、保育を少しでも良くしたい、子どものために学びたいと願う保育士の皆さんの熱意で、本研究は支えられました。株式会社が運営する保育所、小規模保育施設等における、保育実践の積み重ねや、保育士に対する支援については、今後さらに研究の積み重ねが必要であると感じます。本研究は、一つの保育所の取り組みを、追跡した研究ではありますが、今後さらに調査数を増やし研究を進めていきます。

今回奨励金をいただいたことで、研究に必要な分析ソフト等を購入することができました。今後の研究活動においても活用していきます。また、広島で行われた、発達障害学会でのポスター発表も経験することが出来ました。他大学の先生方より、貴重なご意見をいただき、大変勉強になりました。ご支援をいただき、本当にありがとうございました。

『源氏物語』の大衆文化における変容 ―田辺聖子『新源氏物語』以降を対象に―

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	ヒラタ サナエ 平田 彩奈恵
所属等	神奈川大学経営学部 特任助教
プロフィール	早稲田大学大学院文学研究科博士後期課程退学。博士（文学）。 専門は『源氏物語』における歌ことば表現とその受容。 中学校・高等学校での国語科教員の経験を経て、古典を「生きた」ものとして現代の大衆が受容することではじめて、古典作品は継承されてゆくのではないかと思に至る。 その後、神奈川大学経営学部の講義「日本文学」等において、古典と現代とのつながりに着目した授業運営を行うなどの活動を行い、本研究の着想に至る。

1. 研究の概要

本研究は、『源氏物語』をもとにした現代の作品の中で、とくに大衆向けにつくられたものを取りあげ、『源氏物語』の本文からどのように改変されているかを中心に考察することを目的としたものである。多くの作品がある中で、田辺聖子『新源氏物語』と宝塚歌劇における『源氏物語』関連作品を中心に取り上げ、「歌」にかかわる表現をどのように扱っているかを分析した。

2. 研究の動機、目的

平安中期に成立した『源氏物語』は、平安末期には注釈書が登場するなど、成立当時から大きな反響を呼び、読み継がれてきた作品である。古典の金字塔のように扱われるこの物語は、そのものを丹念に精読してゆくだけでなく、その時代ごとにさまざまな形で「表現」されており、『源氏物語』は形を変えながら受容されている、「生きた」ものなのだと言える。

本研究はこのような『源氏物語』の受容史の中で、とくに現代の大衆文化の中に生まれた作品を取りあげ、『源氏物語』本文から変容している面に焦点化して考察することを目的とした。その中でも、一年という研究期間を考慮し、「歌ことば」に関わる表現を中心に検討した。これは、『源氏物語』に多用される、和歌にかかわる表現に対する理解が、『源氏物語』成立当時の読者と現代の大衆の間で大きく異なるとおもわれたからである。『源氏物語』本文に書かれた歌ことばを、ネガティブにとらえるなら「汲み取れない」現代の大衆は、『源氏物語』をどのように理解し、現代のものとしてとらえなおしてゆくのか、という観点から本研究を構想した。

3. 研究の結果

（1）田辺聖子『新源氏物語』

数多くある田辺聖子の『源氏物語』関連作品の中ではもっとも忠実に訳されている『新源氏物語』であるが、それでも『源氏物語』にはほぼあられない「恋の闇」という表現が多用されていることが分かった。これは田辺が独自に設定した『新源氏物語』のテーマであると言え、現代の作品として『源氏物語』を捉えなおした例であると言って良いだろう。本研究の成果は、2018 年 11 月に早稲田大学に提出した学位論文の一章にまとめている。

(2) 宝塚歌劇における『源氏物語』

宝塚歌劇は、『源氏物語』のみならず日本の古典作品を多く取り上げており、それをミュージカル形式で上演している。その中にあらわれる曲は、和歌とはまったく形式の異なるものではあるが、散文的であり、現代の「歌ことば」としての役割に沿って歌詞が作られている。『源氏物語』では散文の中で説明されるような情景を、登場人物の心情と併せて曲にするなど、さまざまな工夫が見られた。本研究の成果については、論文化に向けて準備中である。

4. これからの展望

一年間の研究期間では、限られた作品を個別に見てゆくにとどまり、現代の大衆文化において『源氏物語』がいかに変容し、多様化しているのかを見渡すことはかなわなかった。

今後の展望として、より多岐にわたるジャンル（漫画やアニメといった「表現」の形が異なるもの）を比較しながら見てゆくことで、『源氏物語』、ひいては古典作品が決して「変化しない」「新しく生まれることがない」ものではなく、今も変わり続けながら受け継がれているのだということを示したい。それは、現代の大衆が『源氏物語』を選んだということであり、残っているものを漫然と引き継いでいるのではなく、主体的な行動なのだとして社会に発信したいと考えている。

5. 社会に対するメッセージ

古典はとかく「変わらないもの」「新しく発見されることはないもの」と捉えられがちである。たしかに、作品の「存在」は、よほどの発見がなければ大幅に変わることはない。しかし、『源氏物語』であれば1000年以上の間、成立当時のままこの物語が受け継がれているとはいえない。本文の言葉一つの写し間違いを取っても、そこから解釈が変わってしまうなど、さまざまな変容を遂げながら現代に至っているのである。そういった、意図しない変容のみならず、古典をその時代に合わせて変え、楽しむためのものとして再生産する試みはずっと行われ続けてきた。どのような改変を加えているのかを見ることで、現代における『源氏物語』のありよう、私たちがどのような『源氏物語』を選択したのかが見えてくる。古典を精読するだけが次世代に引き継ぐ行為ではなく、楽しみ、魅力を感じながら触れてゆく大衆の存在があつてはじめて古典は受容されてゆくのである。堅苦しく、正確に「読む」ことから一度離れ、どのような点におもしろみがあるのか、まずは触れてみてほしい。

内因性抗線維化ペプチド AcSDKP の臨床応用への基盤研究

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	ニッタ キョウコ 新田 恭子
所属等	金沢医科大学 糖尿病・内分泌内科学 助教（平成 30 年 12 月退職）
プロフィール	金沢医科大学医学部医学科卒業後、社会人大学院生として金沢医科大学大学院医学研究科生命医学専攻内分泌代謝制御学に入学、大学院での研究中に内因性抗線維化ペプチド N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline (AcSDKP)に出会い、現在に至るまで AcSDKP の基礎研究から臨床応用できる可能性をテーマに取り組んでいる。

1. 研究の概要

AcSDKPは、抗線維化・抗増殖・抗炎症・抗アポトーシス・血管新生作用を有し優れた臓器保護効果をもたらすペプチドである。申請者は動物実験において、AcSDKP経口投与での血中・尿中のAcSDKP濃度が一過性に上昇すること、AcSDKP経口投与が皮下・静脈投与と同様の抗線維化効果を得られることを、組織レベル・分子レベルで証明し報告している。AcSDKPの分子機構の解明や、糖尿病腎症の進行防止を臨床に応用するために、ヒトでの血中・尿中AcSDKPの濃度と腎機能評価の指標の相関について検討を行う。

2. 研究の動機、目的

臨床で AcSDKP が腎機能予測なバイオマーカーとして有用かどうか検討する。また、AcSDKP が現在特異的治療薬の存在しない糖尿病腎の線維化を標的とした治療薬となるか検討する。

3. 研究の結果

我々の研究室では既に、動物実験において腎線維化が尿中 AcSDKP 濃度低下と相関関係にあることを、組織レベル・分子レベルで解析・報告している(Srivastava et al, Scientific Reports 2016)。また、線維化を惹起しやすいマウスではストレプトゾトシン誘導糖尿病マウスでは尿中 AcSDKP 濃度が低下し、線維化をきたしにくいマウスではストレプトゾトシン誘導糖尿病マウスでも尿中 AcSDKP 濃度が普遍であることを見出した。人においても尿中 AcSDKP が腎機能予測のバイオマーカーになるのではという着想を得、ヒトにおいても AcSDKP が抗線維化ペプチドとして腎に対し保護効果を発揮していると仮説し、2 型糖尿病腎症 1 期 21 名を対象に AcSDKP と腎機能との関連を検討した。

尿アルブミン陰性、eGFR30ml/min/1.73mm²以上(糖尿病腎症 1 期相当)21 人という少ない症例ながら、早朝第一尿 AcSDKP/尿クレアチニン比、もしくは、空腹時血中 AcSDKP 濃度の低値群では高値群に比し有意に eGFR 低下速度が速いことが～4 年間の解析で明らかとなった。研究成果は、Clinical and Experimental Nephrology, Original article, First Online: 04 April 2019 に、N-Acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline is a potential biomarker of renal function in normoalbuminuric diabetic patients with eGFR $\geq$ 30 ml/min/1.73 m²という論文として掲載された。

糖尿病腎症は尿アルブミンと eGFR にて病期が決定されるが、尿アルブミン増加を呈していない腎症 1 期症例の腎機能低下の予測因子として有用なバイオマーカーは存在しない。腎機能が低下する前の、腎症 1 期に AcSDKP にて腎機能低下が予測できれば、早期からの腎保護に特化した集学的治療を開始できる可能性があると考ええる。

4. これからの展望

今後さらに大規模のサンプルでの解析結果を検討していく予定である。

5. 社会に対するメッセージ

我が国の透析導入原因第一位は、糖尿病腎症である。血糖だけでなく血圧・脂質などの多角的治療介入により、糖尿病腎症で透析導入する人は横ばいになってはきたものの、未だ進行した腎症を止めることは難しい。早期発見・早期治療に勝る治療はないのが現状である。糖尿病腎症は尿アルブミンと eGFR にて病期が決定されるが、尿アルブミン増加を呈していない腎症 1 期症例の腎機能低下の予測因子として有用なバイオマーカーは存在しない。腎機能が低下する前の、腎症 1 期に AcSDKP で腎機能低下が予測できれば、早期からの腎保護に特化した集学的治療を開始できる可能性があると考ええる。今後も症例数を増やし、実臨床に役立つ研究を続けていきたいと考えている。

科学的体験場面における「隠れたカリキュラム」の特質解明 ー幼児教育施設での場合ー

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	ゴトウ ミナ 後藤 みな
所属等	山形大学 地域教育文化学部 講師
プロフィール	岐阜県出身。筑波大学生命環境学群を卒業後、同大学大学院人間総合科学研究科に進学し、理科教育学を学ぶ。修紅短期大学を経て 2019 年 4 月より山形大学地域教育文化学部講師。前職、現職においては、幼稚園から高等学校の教師など、教職を志す学生を指導している。研究の関心は、子どもが自然現象を見て、何をどのように考えるのか、さらにどんな知識をいかに得ていくのか、ということにある。こうした関心のもと、科学的な体験・実験から自然科学の知識の獲得までの道のりやその手立てについて調べている。

1. 研究の概要

(1) 研究の経緯

本研究は、保育者の価値観や行動様式が知らない間に子どもに伝達されるのではないかという疑問から構想された。具体的には、自然物との接触への構えや科学的なものと関わる態度が暗黙のうちに伝達が子どもの行動様式を決めるようになるのではないかと考えた。そこで、表立たず無意図的に伝達される潜在的な教育方法である隠れたカリキュラムをヒントにして、次の3つの課題に取り組むこととした。

- ① 関連文献を調査し、隠れたカリキュラムを分析する視点を検討した。
- ② 幼児教育施設の実践を参与観察し、①で検討した視点から、隠れたカリキュラムの実態を探った。
- ③ ②の調査結果を踏まえ、保育者養成校における教育の可能性を考察した。

(2) 研究の特色

本研究では、実践を観察、記録する参与観察という方法をとった。科学的体験の実践場面に参与観察することで、教育過程に注目するためである。学習経験として人の頭の中にしまい込まれる前の現象をみることができる点に、一つの特色があると考ええる。

また、明らかにした隠れたカリキュラムについて、保育者養成校の学生に考えさせ、実際に教育実践させた後にどのように感じるか調査した。将来保育者になる学生に対する教育の可能性を探り、養成校での教育の示唆を得るという発展性も本研究の特色であると思われる。

(3) 独創性

カリキュラムに関する研究で、子どもが実際に何を学んでいるかといった点を追求するのは少数であるように思われる。しかし、顕在的カリキュラムの分析と同時に、子どもが結果的に何を学んでいるかという点の分析も合わせて検討することで、より立体的にカリキュラム研究ができる。本研究では、子どもが実際に何を学んでいるかというあり様の問題を追求しており、この点に独創性があると考ええる。

2. 研究の動機、目的

(1) 研究の動機

ドイツの幼稚園にてフィールドワークを行った時、物理・化学・生物・地学の広範な領域におよぶ科学的体験が日常的に実施されていて驚いたことがあった。またその幼稚園では、保育者が、子どもの視覚、味覚、大きさや重さなどの感覚に働きかけて子どもを支援していた。保育者のこうしたサポート、自然物との接触の構えなどが子どもの行動様式を決めていくのではないかと考えたことがきっかけとなり、本研究を構想した。

(2) 研究の目的

本研究では、幼児教育施設における科学的体験場面での保育者の言動を分析対象にして、そこにある隠れたカリキュラムの実態の一端を解明することとした。また、保育者養成校での教育の可能性を検討することとした。

3. 研究の結果

(1) 文献調査の結果

科学教育の研究者である Matthews の本 *History, Philosophy, and Science Teaching* より、隠れたカリキュラムに関する議論を翻訳した。結果、現代の科学教育においても、隠れたカリキュラムは一つの問題として扱われ、子どもの行動様式を暗黙的に決めるものとして捉えられていることが確認された。

文献調査から得た隠れたカリキュラムの視点と、参与観察の結果とを照らし合わせ、参与観察の分析の視点を①課題に取り組ませるための言動、②コミュニケーションを促進させるための言動、③ジェンダーコードに関する言動、とした。

(2) 参与観察の結果

岩手県における協力可能な幼児教育施設にて、参与観察を行なった。参与観察は、自由遊び、一斉活動の時で、定期的に観察する機会を得た。観察した学級は、3、4、5歳児であった。

① 課題に取り組ませるための言動

保育者は、子どもたちの生活と関わりがある話をして課題（取り組む活動内容）と結びつけていた。課題に取り組んでいるとき、子どもから質問が出ることがしばしばあったが、保育者は、「どうしてだと思う？」「なんでだろうね？」と子どもたちに考えさせる発問をしていた。保育者へのインタビューを通して、子どもに考えさせ、子どもと課題とのコミットを図ったということが明らかになった。子どもに考えさせるということは、目の前の課題を、まさに自分のこととしてとらえさせるための働きをすると考えられた。

② コミュニケーションを促進させるための言動

子どもと保育者、一対一のコミュニケーションがよく見られた一方で、子ども同士のコミュニケーションを促進するような発言は少なかったように思われる。すなわち、コミュニケーションを広げるような言動は少なかったように思われる。科学的な態度を養うには、同じ調べ物をしているもの同士でのコミュニケーションを図ることも必要であるが、今回の調査からは、その様子が確認されなかった。

③ ジェンダーコードに関する言動

観察中、明示的に男の子、女の子と区別する保育者の言動はみられなかった。しかし、保育者同士の会話の中で、男の子だから昆虫が好き、ということが聞かれた。自然物や生物への接触を性差を超えて促進するためには、ジェンダーコードに留意する必要があるように考えられる。

(3) 保育者養成校における教育の可能性

将来保育者になる養成校の学生に、①～③の視点について講義した。それらを踏まえて学生が子どもとともに科学的体験を実践した。協力園との協議の結果、自然探しをするという題材で実践することとなった。1人の学生に対して5歳児2、3人が1つ班になった。

実践後、学生の感想や反省から、まだ子どもたちとの関係が十分に築けていないため、①～

③に気をつけながら実践するのは難しかったという意見があった。ただ、①～③の視点は、就学後の子どもの理科の学習態度とも結びつく重要なものであるという認識をした学生が多く、就職後に、子どもの性格を理解した上で、実践をしていきたいという意見も散見された。今後も養成校において、こうした隠れたカリキュラムの働きを学生に伝えていくとともに、実践の機会を提供することも重要だと考える。

4. これからの展望

本研究は、1園での事例、および1つの養成校から検討したものであった。今後は量的分析を行うために、研究対象を広げていき、①～③の視点からさらに分析したいと考える。また、講義を受けた学生にさらに調査し、就職後に何をどのように実践しているのか、調べていきたい。

5. 社会に対するメッセージ

私は就職してから半年後の4月に本助成事業に採択されました。院生時代から、就職してから研究したいことを構想していましたが、いざ始めようとなると、研究環境の整備という問題に直面しました。こうした問題に対して、本ご支援は、新しい研究の最初の一步を踏み出す大きな勇気をくださいました。本ご支援を頂戴できたことは、私にとって大変幸運でした。心より御礼申し上げます。

おかげをもちまして、将来につながり得る研究環境を整えつつありますし、また諸学会に参加し、自身の研究の立ち位置を確認することができました。さらに、自身の研究者としての未熟さにも改めて気づくことができました。研究者として自立して研究を進めなければならない状況の中で、研究の計画、実行、まとめのあらゆる局面で繰り返し戸惑い、悩みました。また他方で、新しい発見をする機会にも恵まれ、研究の深みをもっと出したいと思うようにもなりました。研究者としてまだまだ未熟な自分ではありますが、今後も子どもと科学的な体験に関わる研究をしていく所存ですので、これからも変わらぬご支援、ご厚情を賜りますよう、よろしく願いいたします。

教員養成における実践的音楽教育活動の具現化に向けた取り組み ードイツ・Jekits プロジェクトの事例からー

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	トウヤマ アヤカ 藤山 あやか
所属等	滋賀文教短期大学 講師
プロフィール	愛媛大学教育学研究科音楽教育専攻を修了し、現在、滋賀文教短期大学子ども学科講師として、ピアノの実技指導や音楽表現など音楽に関わる科目を担当しています。専門分野は音楽教育学で、特に諸外国で行われている教育活動を参考に、幼少期の音楽活動の在り方について研究を進めています。 また、音楽を通じたアウトリーチ活動も積極的に行っており、これまでに、教育現場や社会福祉施設など様々な会場で演奏活動を行ってきました。昨年度には、平成 30 年度若手・女性研究者奨励金より助成を受け「日独親善交流音楽会」を企画するなど国際交流も視野に入れた活動を行っています。これからも、地域に根ざした教育活動を展開し、芸術文化の魅力を発信していきたいと思ひます。

1. 研究の概要

ドイツの初等音楽教育において実施されている Jeki プロジェクト「Jedem Kind ein Instrument (どの子どもたちにも一つの楽器を)」を含めた音楽科教育のカリキュラムにおける現状と、その取り組みについて研究を行った。当該プロジェクトは、小学校を対象とした器楽学習であり、音楽学校の教師や演奏家などを講師として授業を運営している。このように、ドイツでは学校教育と地域社会が連携して行う音楽教育活動の支援体制が整っている。

本研究では、ドイツ連邦共和国・ハンブルク市内の基礎学校“Grundschule”で実施されている音楽教育の調査を基に、教員養成校における音楽教育活動の多様な展開のあり方を検討した。また、Jeki プロジェクトを念頭においた実践的な教育活動として、2018 年 10 月、ドイツ・ハンブルク市より音楽講師 2 名を招聘し、筆者が所属する滋賀文教短期大学と長浜市立杉野小・中学校が連携した日独親善交流音楽会を開催した。さらに、本学学生も企画・運営・実行に至るまで関与し、滋賀文教短期大学と包括連携協定を結ぶ滋賀県長浜市、学校教育現場の三者が連携して行う実践的教育活動として、学生の実践力育成および地域社会の活性化を目指すための指針を示した。

2. 研究の動機、目的

2017 年 10 月、筆者はドイツ・シュレスヴィヒ＝ホルシュタイン州アーレンスブルクを訪問し、ドイツの教育制度や初等音楽教育の実際について調査した。そこで、Jeki プロジェクトなど学校教育と地域社会と連携した取組みや、当地域に存在する学校（幼稚園などを含む）施設を利用した公的な音楽学校“Musikschule”を視察し、講師のインタビューを行いながら幼少期における音楽活動について知見を深めた。

これらの活動内容を概観し、我が国の教員養成校での音楽活動にも取り入れられる部分があると考え、ドイツの幼少期の子どもたちを対象に実施している音楽活動のなかで、成果をあげている実践事例を参考に我が国における地域社会と連携して行う効果的な教育内容を考察した。

3. 研究の結果

(1) ドイツの課外音楽活動について

①公教育機関の音楽学校 “Musikschule”

ドイツでは、幼少期から幅広い年齢層を対象に音楽教育を行う音楽学校が存在する。これらの多くは地方自治体からの公的支援を受け運営されており、場合によっては地域の公立学校の施設を無償あるいは安価で借用していることも多い。子どもたちは、それぞれの学校での通常授業が終わった後にこれらの音楽学校に通い、わずかな受講料で個人やグループレッスンを受講することができる。そのほかに、合唱、合奏、あるいはオーケストラなどそれぞれの状況に応じ、様々な音楽教育実践が行われている。

音楽学校の運用を概観するための調査の拠点として、音楽専門教育の中心であるオーケストラ活動を行っているアーレンスブルク音楽学校を中心に、その教育組織の全容、カリキュラム、指導方法について調査を行った。同音楽学校が位置するシュレスヴィヒ＝ホルシュタイン州では、音楽学校を運営するための施設借用費は無償であり、さらに、市よりの助成を受け、レッスン代や楽器借用費などの個人負担を低く抑え学びやすい環境を構築している。その運営および支援体制は学校教育施設と連携しながら行っており、音楽教育活動の充実を図っている。

②キルヒェンムジークシューレ “Kirchenmusikschule”

地域で行う音楽活動として、教会が主催となって運営している音楽教室がある。今回は、ドイツ・プレーン市で実施している4～6歳児対象のレッスンを見学した。この音楽クラスは、教会に所属する家庭の子どもたちの教育を目的としており、教会の施設を無償で使用すると同時に、参加者も無償でレッスンを受講できるシステムとなっている。講師は、教会所属の音楽監督・オルガン奏者で職務として行っており、基本的に謝礼を受け取っていない。子どもたちは、簡易楽器を用いて簡単なリズムアンサンブル遊びや身体を動かす音楽あそび、また、リズムを読むソルフェージュの要素を持った活動など、30分程度のプログラムで多様な活動を展開していた。



写真1：簡易楽器を用いた音楽あそびの様子

(2) JeKi “Jedem Kind ein Instrument”（どの子どもたちにも一つの楽器を）の実際

2018年8月、現在62校の基礎学校で当該プロジェクトを採用しているハンブルク州の基礎学校を対象とし、担当教員への聞き取り調査およびハンブルク州立図書館での研究資料の収集など現地調査を行った。

ドイツは戦後の高度復興期より移民社会の背景を持っている国であり、とりわけ近年は、東欧諸国や中近東からの移民が増大し社会問題となっている。このような背景の中で、子どもたちが楽器を通じて異なる言語や文化の壁を越えて相互理解し、共存社会の形成の実現を目指すことを理念とした教育活動の一つとして JeKi が導入された。運用方法や授業内容について、① JeKi のカリキュラムに基づいた教科書および指導書を用いて、基本的には1～4年生まで通年を通して週1回の45分授業で実施されていること、②レッスンは2年生（7～8歳）より始まり、各楽器の専門家のもと10人程度のグループレッスンで実施していること、③使用する楽器はヴァイオリン、ギター、トランペット、リコーダー、打楽器など16の楽器が提示されており、どの楽器を選択するかはそれぞれの学校の裁量に委ねられていること、④各学校への楽器の購入、講師の費用面については、ほとんどが州の予算から計上され、これらの補助により無償でレッスンを受



写真2：西アフリカ起源の打楽器「ジャンベ」を用いた授業風景

けられることが明らかとなった。

（３）大学と地方自治体、学校教育現場など地域社会と連携して行う実践的な音楽教育の取り組み

ドイツの教育制度や初等音楽教育の在り方について、外部講師として招き授業を運営する JeKi をはじめとして成果をあげている音楽活動の実践例を参考に、教員養成校における音楽の教育内容について検討した。そこで、学生の教育実践力の育成に寄与するための取り組みとして、学校教育現場と連携して行う地域に根ざした実践的教育活動を実施した。

具体的には、2018 年 10 月、長浜市立杉野小・中学校においてドイツより演奏家 2 名および国内演奏家を招聘し、音楽を通じたアウトリーチ活動として「日独親善交流音楽会」を企画した。当音楽会は、国内外の演奏家と滋賀文教短期大学子ども学科小学校教諭養成コースの学生が企画および運営に関与した。プログラム構成として、一部曲目で子どもたちとカスタネットや鈴など簡易楽器を用いての即興演奏や合唱で共演する「参加型」を重視した内容

とした。さらに、滋賀県近江八幡市発祥の民族楽器「琵琶湖よし笛」を用いた曲目を取り入れ、地元で活動するよし笛の演奏グループをゲストとして招き共演し、音楽を通じた日独文化交流と地域における芸術文化の振興を図った。この実践では、地域社会の活性化および発展に寄与すると同時に、大学と地方自治体、地域の学校教育現場による有機的なつながりを持つ活動として成果を示すことができた。



写真 3： 滋賀夕刊「ドイツから、心に残る音楽」、2018 年 10 月 2 日、夕刊 1 面。



写真 4： 「日独親善交流音楽会」プログラム

4. これからの展望

本研究より得た成果をもとに、JeKi を中心としたドイツの器楽学習のカリキュラムや指導法の現状について調査を続け、国内の器楽教育における適用への方向性を検討したい。

また、国際交流を視野に入れた音楽アウトリーチ活動を地域社会と連携した教育活動として積極的に行い、将来、保育士や幼稚園教諭、小学校教諭を目指す学生が音楽を通じた異文化交流を楽しみ、その経験を次世代に伝えられるような幅広い視野を持つ人材育成に努めたい。

5. 社会に対するメッセージ

日本国内においてもグローバル化が進む現代社会の中で、教育現場では共存社会の形成の実現を目指すグローバル化に対応した教育の展開が求められています。音楽は、「言葉を必要としない言語」として、その表現活動により一つのものを創り上げる協働作業を通して個々の多様な価値観を理解し合う手段として大きな可能性を持っています。

本奨励金より助成を受けて実施した「日独親善交流音楽会」では、小学生にとっては海外からの音楽家による生の音楽に触れる機会として、また、学生においては、演奏会の企画・運営・実施に至る過程の中で、海外の音楽家との交流を通じて多文化への理解を深める大変貴重な機会となりました。

また、本研究ではドイツの初等音楽教育について、今回の現地視察での授業見学や講師へのインタビューより、その理念について知見を深めることができ、今後の研究を推進する成果を得ることができました。今後も、教育実践につながる研究活動を行い、次代を担う子どもたちの可能性を最大限に引き出す音楽活動を展開していきたいと思います。

この度は、本研究を遂行するにあたりご支援いただきました皆様に、深く感謝の意を表します。

ユーモアスタイルを用いたポジティブ心理学的介入の検討

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	タカオカ シノ 高岡 しの
所属等	静岡大学 学術院 人文社会科学領域 助教
プロフィール	名古屋大学大学院教育発達科学研究科にて修士学位（臨床心理学）を取得後、関西学院大学大学院文学研究科総合心理科学専攻博士課程後期課程を単位取得満期退学。関西学院大学大学院文学研究科大学院研究員を経て、椋山女学園大学人間関係学部心理学科に助教として着任。（現在は静岡大学学術院人文社会科学領域・助教） ユーモアを使用することの効用に関心を持ち、心理学的な視点からユーモアの応用を目指した研究活動を行っています。加えて実践研究では、発達障害のある幼児期から青年期の方やそのご家族への行動的支援、大学生の抑うつ予防プログラムなどに関わってきました。人がより健康に、より楽しく過ごすにはどうしたら良いのかについて日々考えています。

1. 研究の概要

ユーモアは古くからヒトの健康にとって良いものと考えられてきた。しかしこれまでの研究から、ユーモアには心身の健康に良い面と良くない面があることが明らかになってきた。本研究は、そのユーモアの多面性を盛り込んで、心身の健康を維持増進するためのポジティブ心理学的介入の開発を目的として実施している。

近年、ポジティブ心理学の分野からユーモアを介入に用いる研究が散見される。しかしながら、ユーモアは単一の概念として扱われ、その多面性は考慮されずにいるのが現状である。一方で、ユーモアと精神的健康に関する基礎的な研究は、1980 年代からパーソナリティの研究を中心に多くの知見を積み重ねてきた。特にユーモアを精神的健康に有益なものと有害なものに分類しようとした Martin の 4 つのユーモアスタイルは、その後のユーモア研究に大きな影響を及ぼしている。本研究は、これらの心理学におけるユーモアの基礎的研究知見と実践とをつなぐものとして位置づけられる。

本研究の実施にあたり、平成 30 年度は予備的検討として、大学院生 11 名を対象に介入研究を行った。介入群と統制群に無作為に割り付け、介入群ではユーモアの多面性（4 つのユーモアスタイル）について心理教育を行った後、毎晩その日経験した“健康に有益であるとされているユーモア”についておもしろいと感じたものを書き出す課題求めた。統制群では、毎晩その日経験したことのうち最も印象に残っていることについて書き出す課題を求め、両群とも課題を 1 週間続けてもらった。介入の前後で普段使用するユーモア、幸福感や抑うつ症状などを測定し、変化を調べた。まだ十分な数のデータが集まっていないこともあり、現時点では効果を示すには至っていないが、今後も継続してデータを蓄積していく予定である。

2. 研究の動機、目的

報告者はこれまでヒトに特有の現象ともいえるユーモアについて、主に対人関係上のストレスとの関連から研究を行ってきた。ユーモアとは、「滑稽と思われたり人の笑いを誘うと考えられるような話や行動、そのようなおかしな刺激を創造し理解する心的過程、そしてその楽

しみににおける感情的な反応などのすべて」(Martin, 2007)と広く定義されている。ユーモアとストレスとの関係について検討した過去の研究の中には、ユーモアがストレスを緩和するという結果を示したものと(Lefcourt & Martin, 1986; 尾関ら、1994)、ユーモアは必ずしもストレスを緩和するわけではないという結果を示したもの(Newman & Stone, 1996; Nezu et al., 1988)が混在していた。このように結果が一貫しない要因の一つとしてユーモアを単一の概念として扱ったことが挙げられており、ユーモアを多側面から捉える試みがなされている。最も代表的なものとして、ユーモアを心身の健康に有益なものと有害なものに区別して捉えた4つのユーモアスタイル(Martin et al., 2003)がある。健康に有益なものとして、ジョークを言って周囲を笑わせるなど、肯定的な対人関係を促進する「親和的ユーモア(Affiliative humor)」とストレスのかかる状況でも面白い面に目を向ける「自己高揚的ユーモア(Self-enhancing humor)」があり、逆に基本的に有害なものとして、過度な自虐などで他人に迎合しようとする「自虐的ユーモア(Self-defeating humor)」とからかいなどで他者を攻撃する「攻撃的ユーモア(Aggressive humor)」が想定されている。これまで報告者はこの4つのユーモアスタイルを用いて、ストレスを感じる経験やそれに対する心身の反応との関連やwell-beingとの因果モデルの検討などを行ってきた。

ユーモアや笑いというと一般的にポジティブなものの印象が強いが、2000年前後から注目されてきたポジティブ心理学の分野ではユーモアはほとんど扱われてこなかった。それも前述したように、ユーモアにはポジティブな面だけでなくネガティブな面もあったからであるといわれている(雨宮、2015)。最近になり、ポジティブ心理学の分野からもユーモアを扱う研究が散見されるようになり、well-beingを高めるポジティブ心理学的な介入にも使用され始めている(e.g., wellenzohn et al., 2016)。ところが、そうした研究では依然としてユーモアはwell-beingに対して有益なものも有害なものも含んだまま扱われている。

そこで本研究では、ポジティブ心理学の分野で行われているwell-beingを高める介入とともに、ユーモアの多面性を考慮にいて、well-beingに対して有益なユーモアの使用を促す介入を実施し、その効果を検討することを目的とした。

3. 研究の結果

研究参加者:大学院生11名を介入群と統制群に無作為に割り付け、介入群9名(男性1名、女性8名)、統制群2名(女性2名)であった。

測定指標:介入前後の測定尺度として、(1)日本語版ユーモアスタイル質問紙(HSQ)(吉田、2012)、(2)抑うつ尺度(CES-D)(Radloff, 1977; 島他、1985)、(3)主観的幸福感尺度(SHS)(Lyubomirsky & Lepper, 1999; 島井他、2004)、(4)日本語版Experiences Questionnaire(J-EQ)(栗原他、2010)を使用した。各測定尺度は、介入前後の2時点において測定を行った。

手続き:介入群についてはユーモアの4つのスタイルに関する心理教育を行った。その後、1日の中で経験した親和的ユーモアと自己高揚的ユーモアに関わる出来事を記入する課題を1週間毎晩行った。統制群については、1日の中で最も印象に残った出来事を記入する課題を毎晩行った。両群には1週間の記録をつけてもらうために、期間中の22時前後に携帯メールに研究実施者からリマインダーを送信した。

結果:現時点ではいずれの測定指標においても統計的に有意な効果は見られなかった。しかし傾向として、介入群ではポジティブなユーモア(親和的ユーモア、自己高揚的ユーモア)の得点が増加し、ネガティブなユーモア(攻撃的ユーモア、自虐的ユーモア)の得点が減少しており、抑うつ得点も減少していた。さらに参加者を募集し、十分な量のデータを収集した上で結果を公表する予定である。

4. これからの展望

本研究は途中段階であり、今後もデータの収集や手続きの精緻化を図っていくものです。しかし現時点においても、ユーモアに関する心理教育と使用に意識を向けてもらうことによって普段ユーモアを使う程度が増えるかもしれない可能性が垣間見えました。ユーモアの使用の程度はパーソナリティによるところが大きいと考えられていましたので、これはユーモア

研究にとって大きな希望です。

本研究で扱っているユーモアは誰にとっても身近なものであり、将来的には大人だけでなく、子どもにも実施できるような介入プログラムへと改変していくことも期待できます。また方法さえ確立できれば、well-beingを高めるために誰でも自分で行うことができるプログラムとして広く使っていただけるものです。ユーモアは研究においては一筋縄ではいかない複雑な現象で、悩まされることも多いですが、その分魅力的なテーマです。当面の私の目標は、このユーモアの魅力と効用を研究によって明らかにし、社会に発信することです。そして一人でも多くの人が笑顔で幸せを感じながら生きられる世の中になるためのユーモア研究を続けていくことが私の夢です。

5. 社会に対するメッセージ

本研究は先述したように、誰にとっても身近なものであるユーモアを well-being の向上に応用しようとするものです。well-being を高めると言われている介入方法はすでにいくつかありますが、さらに笑顔を増やし、楽しんで行えればというのが私の願いです。この研究は今後、産業領域や福祉領域などでのメンタルヘルス対策にも大きく貢献する可能性を秘めています。また臨床心理学の分野においても、予防的介入として現場で応用することができるレベルにまで昇華できれば、より多くの人のお役に立てるのではないかと考えています。

若手研究者は即時的な成果を期待されます。非正規雇用や有期雇用が多いため、常に次の職場を考えなければならず、しかもそれには業績が必要だからです。そのような状況で、限られた研究費の中で、本当に自身の関心に合った研究ができることは多くないと思います。今回、奨励金のご支援をいただき、このチャレンジングな研究をスタートさせることができた経験は、研究者としてやっていけるかの不安のなか、本当にありがたいものでした。また式典では多くの企業の方々から私たち若手・女性研究者に対し直接応援のお言葉をいただいたのも、とても心強いものです。若手研究者が細々とでも自身の研究を継続していくことが、ひいては未来の発展につながっていくものだと思います。今後ともどうかご支援、応援をお願いいたします。この度はご支援賜り、本当にありがとうございました。

メディカルガスを主薬とした 炎症性皮膚疾患適応外用薬剤の開発 ーファインバブル内封リポソームの応用ー

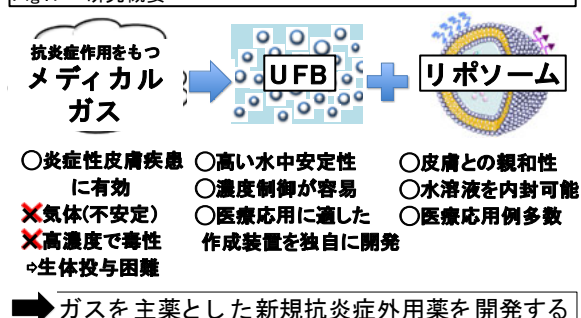
研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	フクシゲ カオリ 福重 香
所属等	愛知医科大学 医学部 解剖学講座 助教
プロフィール	名古屋市立大学薬学部生命薬科学科卒業。同大学院薬学研究科博士前期課程修了・博士課程単位取得退学。博士(薬学)。薬物をより効率的に標的部位に送達させることを目的とする Drug Delivery System(DDS)を専門とする。学生時代は、主として細胞膜と同じリン脂質からなるリポソームを主構成成分とする薬物キャリアの研究を行い、その他、粉体マイクロ粒子や金ナノ粒子など様々な薬物送達キャリアに関する研究に携わってきた。この経験を生かし、現在、愛知医科大学医学部解剖学講座にて、直径 $1\mu\text{m}$ 未満の微小気泡であるウルトラファインバブル(UFB)をガスキャリアとして利用した生理活性ガス製剤の開発を目指し、日々研究を行っている。

1. 研究の概要

アトピー性皮膚炎や乾癬に代表される炎症性皮膚疾患には、治療に難渋する症例が存在する。そのため、既存の外用薬とは異なる作用機序をもつ新規治療薬の実現が切に望まれている。このような背景をもとに、本研究では、効果的で副作用の少ない新たな外用抗炎症薬の実現を目指すにあたり、抗炎症作用を有するメディカルガスである一酸化窒素 (NO)、硫化水素 (H_2S)、一酸化炭素 (CO)、水素 (H_2) に着目した。 NO 、 CO は炎症性腸疾患など、様々な炎症性疾患の治療に有効であることが明らかとなっている。しかしながら、メディカルガスは、常温・常圧で気体であるがゆえに、現在臨床応用されているものは、患部局所への直接曝露により薬効を得ているものがほとんどであり、ガスの保持や患部への浸透が必要な製剤化技術を要する薬剤への応用には至っていない。特に、メディカルガスを気体のまま塗布外用薬にする試みは報告されていない。本研究では、申請者がもつ①ウルトラファインバブル(Ultra Fine Bubble:UFB)技術および②リポソーム技術の2つを応用し、メディカルガスに保持性・浸透性をもたせることで、新規外用抗炎症薬の開発を目指している。

Fig.1 研究概要



2. 研究の動機、目的

ウルトラファインバブル (UFB) 技術とは、球相当直径がナノメートル(nm)単位の極微細な気泡を創る技術であり、多岐にわたりその有効性が明らかとなっている。例えば、雑菌繁殖抑制効果を利用した魚の鮮度保持など、すでに実用化されているものも多い。しかし、医薬品への応用は遅れており、抗炎症作用をもつメディカルガスをUFB化して使用することに挑戦した研究はない。メディカルガスの臨床応用には、ガスの保持性・安定性がカギとなるが、UFBは

その特徴的な粒子径や表面電荷により長期間液中へ保持される特性をもつ。加えて、自己圧壊による殺菌作用も持ち合わせるため、塗布部分におけるウイルスや菌の繁殖を抑制する効果も期待出来る。メディカルガスを長期に安定して皮膚疾患に適用するには、外用剤とする必要がある。これまでに、抗炎症作用を有するメディカルガスを皮膚疾患外用薬に用いる試みはない。リポソームは細胞膜と同じリン脂質から成る閉鎖膜小胞であり、皮膚との親和性が高く、内水相に水溶性薬物を安定に保持できるため、効率的に皮膚内部に薬物を浸透させることが可能である。そのため、リポソームを調製する技術はUFB化したメディカルガスを内封するのに最適であると考えた。本研究は、①抗炎症作用を有するメディカルガスを水中に安定的に分散させるUFB技術と、②内封した水溶性薬物を効率的に皮膚内部に浸透させることが可能なリポソーム技術を応用し、メディカルガスを主薬とした新規の外用抗炎症薬を生み出すこと、および、メディカルガスの炎症性皮膚疾患治療への有用性を評価することを試みる。申請者は水溶性薬物内封リポソームの開発に長年携わっており、これまで得た技術の応用により水中に安定して分散する特徴をもつUFBを安定的にリポソームに内封することも実現性が高いと考えた。

本研究は、1)新規の薬剤として、メディカルガスを含む外用抗炎症薬の開発、および2)気体であるがゆえにこれまで難しかったメディカルガスの炎症性皮膚疾患治療への応用を目的としている。

3. 研究の結果

我々は、新たに無菌条件下でUFBを作製できる装置を開発し、医療応用に向けたUFBの調製を行っている。粒子径および粒子濃度をNano Sight (Malvern)を用いたナノトラッキング法により測定したところ、直径平均約100 nm～200 nm程度の極微細なUFBを均一かつ高濃度($>1 \times 10^9$ 個/ml)で安定的に調製できることが確認できた。密封容器に保存することで、少なくとも2週間安定にこの作製したUFBを保持できた。また、外用薬剤への応用を期待するNO、H₂S、CO、H₂の4種のガス全てにおいて同様の結果となり、ガス種に関わらずUFBの作製が可能であることがわかった。蒸留水のみならず、医療現場で頻用される生理食塩水や5%グルコースなどの等張液やその他細胞内液、細胞外液を分散媒として使用した検討も行い、これらでも同様の結果が得られた。

作製したメディカルガスUFBの抗炎症効果を評価するため、マウスマクロファージ様細胞(RAW264.7)を用いたin vitro試験を行った。LPS曝露により炎症誘導したRAW264.7細胞にCOおよびH₂S含有UFBを曝露後、炎症性サイトカインIL-1bおよびIL-6のmRNAの発現量をReal-Time PCRにより評価したところ、COおよびH₂S含有UFB曝露によるこれらの発現抑制を確認できた。また、凍傷モデルマウスを作製し、UFBの治療効果の検討を行ったところ、H₂S含有UFBを投与することで凍傷治癒が促進された。これらの結果から、H₂S含有UFBが炎症性疾患に有効であることが示唆された。今後、その他の炎症モデルマウスも使用して評価していく。

加えて、UFBの外用薬剤への応用にあたりリポソームの利用に向けた検討を行った。今回、医療応用されている脂質組成(DSPC/CHOL/DSPE-PEG=2/1/0.2)で、薄膜単純水相法によりメディカルガス含有UFBを内封するリポソームを作製した。作製した粒子は、透過型電子顕微鏡(TEM)による観察により確認できた。

4. これからの展望

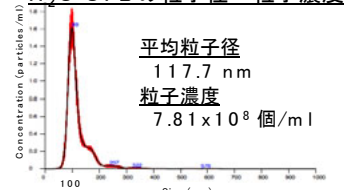
今後、この基礎検討の結果をもとに、新規抗炎症薬の開発に向けた更なる検討を進めていく。今回主薬かつ薬物キャリアとして用いたUFBの製剤化を目指している。本研究を足がかり

Fig.2 作製したH₂S-UFBの一例

H₂S-UFBの可視化画像

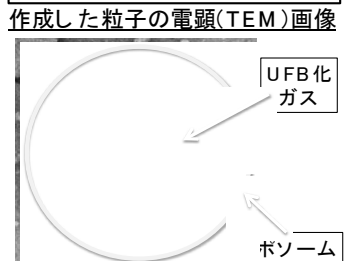


H₂S-UFBの粒子径・粒子濃度



ナノ粒子トラッキング法により NanoSight(NS300(Malvern))を用いて測定

Fig.3 作製した UFB内封リポソームの一例 作成した粒子の電顕(TEM)画像



に、様々な疾患治療へのUFBの応用検討を行うことで、UFBの薬剤化を実現し、難治疾患治療に貢献することが夢である。

5. 社会に対するメッセージ

これまでドラッグデリバリーシステムに関する研究を行い、その過程で得た知識と経験を活かして、この研究を遂行することができた。本研究により UFB 薬剤が、炎症性皮膚疾患治療に使用可能であることが明らかとなった。今後はこの技術が、広く他の疾患治療へも応用されることを期待したい。今回頂いた、日本私立学校振興・共済事業団 女性研究者奨励金に感謝し、抗炎症メディカルガス含有外用薬剤の開発をさらに進めていきたい。

新規 GGCT 阻害剤を用いた新しいがん治療戦略の創生

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	い い ひろみ 飯居 宏美
所属等	病態薬科学系臨床腫瘍学分野
プロフィール	私は、現在六歳になる女兒の母親です。大学院と博士研究員として留学先でしていた研究領域とは異なる分野で助教として現職に就任し、まだ間もないころに結婚・出産をしたことから、外部研究資金の獲得も難しい状況です。しかし、共同研究者や上司に恵まれ自由に研究に取り組めたことから、いつも前向きに研究を進めてきました。女性が仕事をすることが当たり前で、家庭と仕事を両立できる社会がこれからの日本の科学技術、医療を支える力となると信じています。今後も、明るく前向きに研究も子育ても頑張りたいと思っています。

1. 研究の概要

本研究では、申請者らが開発した新規 γ -glutamylcyclotransferase (GGCT) 阻害剤、pro-GA を用いて、がん細胞増殖への GGCT の寄与とその阻害による抗腫瘍効果のメカニズムの解明を目指し、以下の 3 つ実験を計画した。

1. 担癌マウスにおける pro-GA の抗腫瘍効果。
2. GGCT 代謝産物のがん細胞増殖に対する寄与。
3. Pro-GA によるグルタチオン減少と脂質酸化増大の細胞老化への関与。

本研究では GGCT 阻害が担癌動物においても治療効果として再現できるかが最重要ポイントであった。さらに、GGCT がどのようにがん細胞増殖に寄与しているかを GGCT 代謝産物に着目して検討した。また pro-GA 処理下において GGCT の代謝産物より合成されると考えられているグルタチオンの減少ががん細胞増殖抑制に関与するか、という点を明らかにすることが必要と考え、研究を進めた。

2. 研究の動機、目的

悪性腫瘍患者が増加の一途を辿っており、有用な抗癌剤開発が望まれている。数々の分子標的薬や新規化学療法薬などが上市されてきたが、残念ながらその効果は限定的、かつ、短期的で、一方、有害事象は比較的高度である。よって申請者はその問題の解決のため、正常細胞に影響の少ない、つまり副作用の少ない効果的な分子標的治療薬の開発を目指している。申請者の標的としている GGCT の阻害剤は、従来の薬剤が提唱するアポトーシス細胞死とは異なる新規の細胞死機構を介しての抗がん作用をもつ可能性のある分子である。多種の腫瘍でその高発現は確認されており、このたび創出した化合物で治療効果が実証されれば、多岐にわたる癌種にも有効な新規抗癌治療薬の創出が期待できると考えた。さらに、新薬の開発には、その抗腫瘍効果メカニズムの解明も必須である。よって、申請者らは GGCT の代謝産物に注目し、GGCT 代謝産物である 5-オキシプロリン、または、システインの pro-GA によるがん細胞増殖抑制効果に対する関与についても検証した。

3. 研究の結果

1. GGCT 阻害剤投与担癌マウスにおける GGCT 阻害剤の抗腫瘍効果と毒性の評価

前立腺癌細胞株 PC-3 細胞または乳がん細胞株 MCF7 細胞を SCID マウス皮下または、乳腺に移植し、担癌マウスに 50 mg/kg で pro-GA を週に 2 回腹腔投与し、抗腫瘍効果を検討した。また、マウスにおける腫瘍形成抑制効果と体重の変化を見るとともに正常組織や正常細胞に対する障害の有無について、肺、腎臓、肝臓組織を採取して HE 染色し評価した。

結果、PC3 細胞担癌マウスにおいて pro-GA による抗腫瘍効果が見られた(図 1A)。さらに、コントロール群と比較し、pro-GA 投与群マウスでの顕著な体重減少は見られず(図 1B)、また、肺、腎臓、肝臓においても顕著な障害は見られなかった(図 1C)。MCF7 細胞担癌マウスにおいても同様の結果が得られた(データは示していない)。よって、pro-GA の生体内での安全性とその抗腫瘍効果が立証できた。

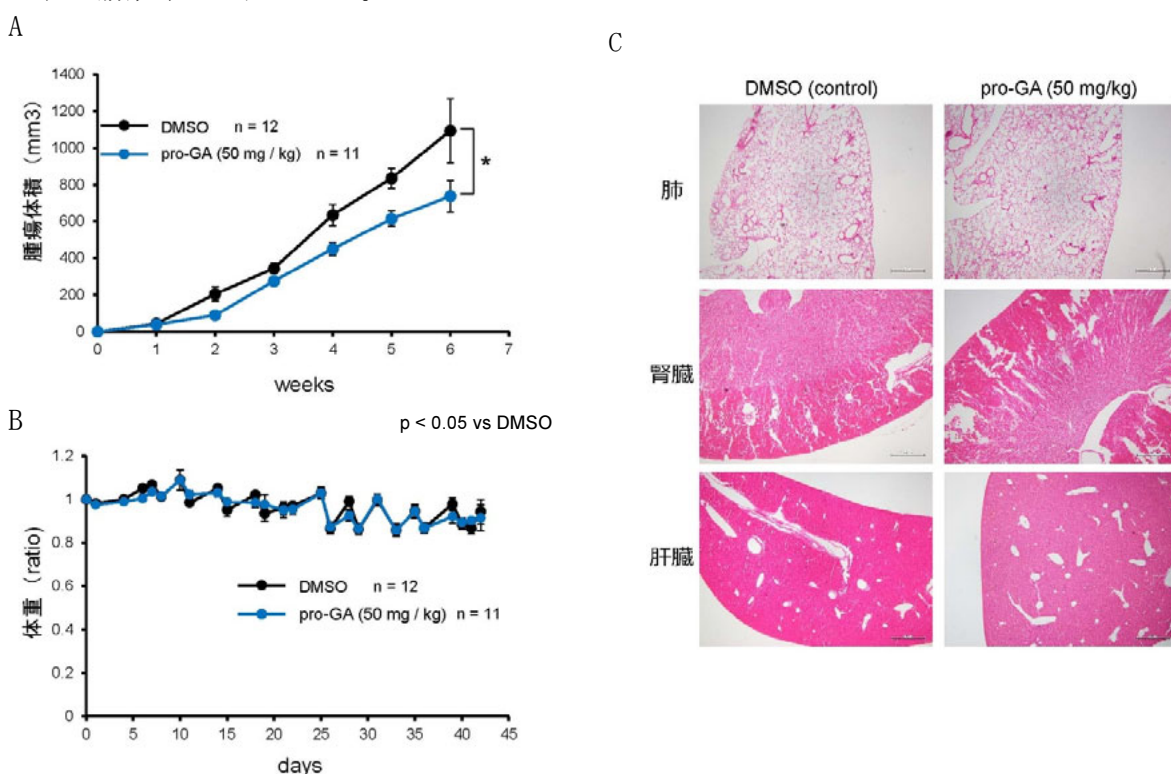


図 1. PC3 細胞担癌マウスにおける pro-GA の抗腫瘍効果

2. GGCT 代謝産物のがん細胞増殖に対する寄与

GGCT は、 γ -glutamyl アミノ酸を基質として、5-oxoproline と遊離アミノ酸を産生する酵素である。よってまず、GGCT 代謝産物の内、基質のアミノ酸に寄らず供給される 5-オキシプロリンを添加し、pro-GA による細胞増殖抑制が回復するか検討した。その結果、5-オキシプロリンの添加による pro-GA のがん細胞増殖抑制効果の回復は見られず(図 2A)、がん細胞の増殖に GGCT による 5-オキシプロリンの供給が関与する可能性は低いと考えられた。一方、 γ -glutamyl サイクルの構成因子には、グルタチオンの前駆体である γ -グルタミルシステインが知られており、GGCT は、 γ -グルタミルシステインの分解を行う酵素であること、また反対にグルタチオンの合成に使われるシステインの供給を考えると考えられてきた。本研究では、細胞内にシステインを供給する *N*-アセチルシステインをもちい、pro-GA による細胞増殖抑制効果がシステインの補充により回復するか検討したところ、明らかな回復効果が見られた(図 2B)。よって、pro-GA によるがん細胞増殖抑制効果には、細胞内システイン濃度が関与している可能性があると考えられた。今後は、細胞内のシステインの量を測定するべきだと考えている。

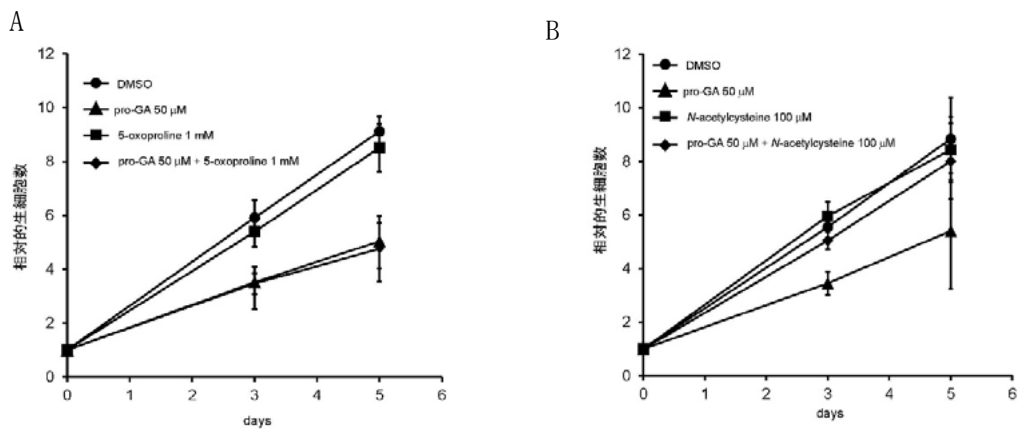
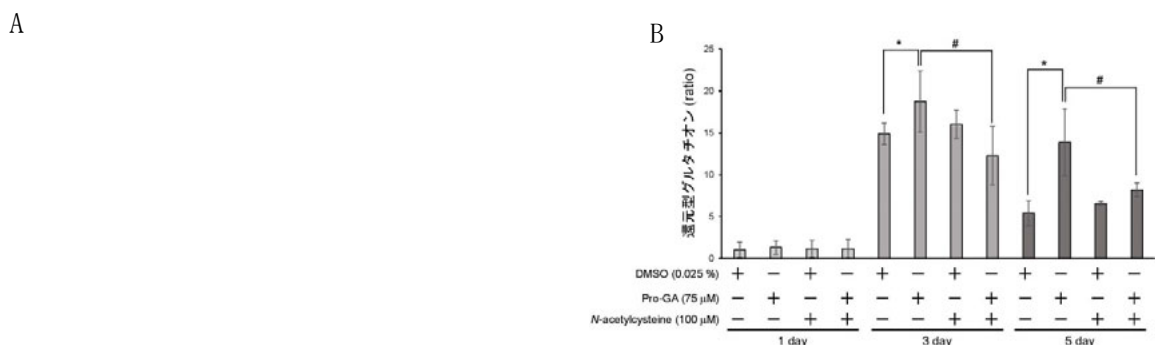


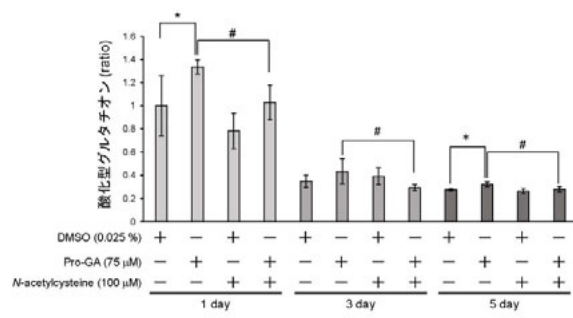
図 2. 5-オキソプロリン(A)または *N*-アセチルシステイン (B) の pro-GA による細胞増殖抑制効果に対する回復効果

3. GGCT 阻害による GGCT 代謝産物のグルタチオンの変動

これまでに pro-GA を処理すると、細胞増殖の抑制が見られ、さらに細胞老化が誘導されることを見出している。よって、GGCT 阻害時に細胞内で変化すると考えられるグルタチオンの減少とそれに伴う脂質酸化の増大が細胞老化誘導メカニズムに関与すると予想し、まずは、pro-GA 処理による経時的なグルタチオンの変動について検討した。図 3 では、pro-GA を 1、3、5 日処理した細胞由来のグルタチオン量を測定し、1 日目のコントロールを 1 としたときの相対量の酸化型グルタチオンを A に、還元型グルタチオンを B に示した。結果、予想に反し、pro-GA 処理によりコントロールに比べて酸化型、還元型ともに増大傾向を示した。このことは、GGCT 阻害により細胞内グルタチオンの減少が誘導されることが細胞増殖抑制に寄与すると考えていた予想とは反対の結果であった。また、面白いことに、酸化型グルタチオンは経時的に減少し、還元型グルタチオンは、3 日目に一番高値を示し、5 日目には減少傾向が見られた。細胞は酸化ストレスを受けると酸化型グルタチオンから還元型グルタチオンに変換されることから、その変化率は、酸化ストレスのマーカーとなることが知られている。さらに、その酸化ストレスは、細胞老化現象を不可逆的に保つのに寄与しているという報告があることから、pro-GA による細胞増殖抑制効果との関連性も理にかなっている。本研究の結果から、細胞は培養中に増殖とともに酸化ストレスに曝され、酸化型のグルタチオンは減少していくのではないかと考えている。また、そのことが pro-GA による細胞老化誘導を不可逆的に調節している可能性もあると考えている。*N*-アセチルシステインの処理による結果については、*N*-アセチルシステインが活性酸素の除去作用を有することから、pro-GA による還元型細胞内グルタチオン量の増大とともに活性酸素が増大するが、その活性酸素を *N*-アセチルシステインが抑制していることによって、細胞増殖が回復する可能性があると考えられる。

よって今後、活性酸素種代謝の一翼を担う、システインを含む γ -グルタミルサイクル構成因子に対する代謝ストレスが pro-GA によるがん細胞増殖抑制・細胞老化誘導に関与するかを明らかにする必要があると考えている。





*p < 0.05 vs DMSO, #p < 0.05 vs pro-GA (75 μ M)

4. これからの展望

本研究成果は、GGCT 阻害が抗腫瘍効果を示し、その機序には、細胞内システインの変動が関与すると考えられた。これまで GGCT は、グルタチオン合成に必要なシステインの供給酵素としても、グルタチオン前駆体であるガンマグルタミルシステインの分解にも関与すると考えられていたので、GGCT の阻害が細胞内グルタチオンを増大させるか減少させるかは不明であった。本研究により GGCT 阻害は細胞内に抗酸化物質であるグルタチオンの産生を増大させることが判明した。一方、*N*-アセチルシステインは、活性酸素除去作用を有することから、GGCT 阻害による細胞増殖抑制効果に GGCT 阻害による活性酸素の増大が関与している可能性が考えられた。よって、活性酸素の関与は今後検討していくべき課題である。また、細胞内グルタチオンの増大は、細胞内活性酸素の増大に伴う代償作用による現象の可能性もあることから、まだ測定することが出来ていない脂質酸化も指標に細胞老化と関連性を検証していきたい。さらに、今回私達が開発した pro-GA の *in vivo* での効果を確かめられたことで、より一層生体内での安定性を高めた GGCT 阻害剤の開発も必要だと考えた。よって、現在 GGCT 阻害化合物のスクリーニングにより GGCT を阻害する低分子化合物も見出している。今後は、その低分子化合物の有用性に関して研究を発展させていきたいとも考えている。

5. 社会に対するメッセージ

本奨励金により進めた研究成果は、GGCT 阻害剤の新規がん治療薬としての有用性を示したと考えられます。これまでの研究により、GGCT の阻害が生体内で高度な有害事象を示さず、がんの増殖を抑制すると考えられ、今後の開発を進める大きな後ろ盾となるデータが得られたと思われます。ここまで研究を進められたのは、他の研究資金を一つも獲得できていなかった私が本奨励金を頂き、一筋の希望を持てたからです。女性であるという事は、研究者としてそれだけで不利であるという意見も何度も聞いたり言われたりしてきました。後世の女性の研究者達がそのような暴言に悩まされることなく、自身の力を存分に発揮するためには、女性だからこそ獲得できる研究助成金は非常に重要です。今後もどうか本奨励金によって勇気づけられた女性研究者が活躍できるよう、奨励金に対するご支援をお願いしたいと存じます。どうぞよろしくお願い致します。

ドラッグデリバリーを目的とした能動輸送ベシクルの設計

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	ナワ エリカ 名和 愛利香
所属等	同志社大学研究開発推進機構および理工学部 特別任用助教
プロフィール	【経歴】 平成 25 年～27 年度：同志社大学大学院理工学研究科応用化学専攻博士課程（後期課程） 平成 27 年～28 年度：独立行政法人 日本学術振興会 特別研究員 DC2（平成 28 年 4 月 1 日より PD に資格変更） 平成 29 年 4 月～：現職 【受賞歴】 ・化学工学会第 80 年会、学生賞金賞 ・第 24 回非線形反応と協同現象研究会、ポスター賞

1. 研究の概要

細胞や細菌は、様々な化学物質の濃度勾配や pH 勾配を仕事に変換し、多くの生体機能を維持している。例えば、白血球は細菌による炎症部位から分泌されたサイトカインの濃度が高い方向へ自らが移動し、細菌を捕獲することができる。このような生体機能に含まれる化学プロセスを人工的に再現できれば、ドラッグデリバリーシステム（以下、DDS）などの科学技術に大きな影響が与えられる。このような観点から、人工系において生体膜や細胞のモデルとして用いられるベシクルの自律運動は非常に興味深い。

本研究では、ベシクル膜の構成物質に酸に溶解しやすいカチオン性界面活性剤である Didecyldimethylammonium bromide を用い、酸性の pH 勾配下でのベシクルの挙動を観察し、さらにそのベシクルの立体的な構造および 3 次元的な挙動を検討した。

2. 研究の動機、目的

生体内の分子機械は目的の物質を特定の場所や環境に能動的に輸送することができる。一方、DDS ではベシクルの体内における受動拡散を用いて体内の特定箇所に薬物を送達する。したがって、ドラッグデリバリーの分野では各々の反応系に適応する物質が選択されており多様性に富んでいる。これはより特殊な環境を選択できるという点で有効である。一方、生体機能のように、能動輸送を用いて薬物を送達するようなシステムは申請者の知る限り報告されていない。

これまでの申請者の研究ではオレイン酸系ベシクルの様々な周期的構造変化について化学物質の種類に依らない普遍的・物理的特徴を捉えることでメカニズムを解明してきた。また、これらのベシクルはどれも周囲の環境に対して鋭敏に応答していた。これはオレイン酸が高 pH 領域でイオン化して溶解することによる自由エネルギーの低下に起因すると考えている。この推定に従えば、低 pH 領域で溶解する物質を含んだ分子集合体は低 pH 側に泳動すると予測できる。

ここで、生体内の炎症箇所などの病変部位は一般的に周囲より pH が低いことが多い。した

がって、周囲の pH が低くなったときに自律的に運動するようなベシクルの作製が求められる。このように、簡単な実験方法を用いて周囲の変化に応じて自律運動するようなベシクルを観察し、そのメカニズムを解明すれば、DDS に対して、特定の環境や物質に影響されないシンプルで現象論的な考え方を与えることが可能となり、様々な環境や物質に展開できるような DDS の新規なモデル系の設計につながると考えた。

3. 研究の結果

3.1 伸縮運動を行うベシクルの構造観察

ベシクルにかかる泳動力が、系の自由エネルギーの減少に伴って生じるとすれば、低 pH 領域で自由エネルギーが低下（膜の溶解など）するベシクルは、低 pH 側へ向かうベシクルになり得ると予想される。そこで、酸に要迂回しやすいアミン系両親媒性分子（カチオン性界面活性剤）である Didecyldimethylammonium bromide（以下、DDAB）と蛍光物質であるペリレンを用いて pH が 4 の酢酸緩衝液内で作製したベシクル懸濁液を、Fig. 1 に示す実験装置のホール内に注入し、ベシクル懸濁液の端から 1 M の酢酸水溶液を拡散させた。この時の DDAB ベシクルの挙動について、カバーガラスに垂直な方向から蛍光観察した際のベシクル運動の連続写真を Fig. 2(a) に示す。また、Fig. 2(b) にこのベシクルの直径の経時変化を示す。

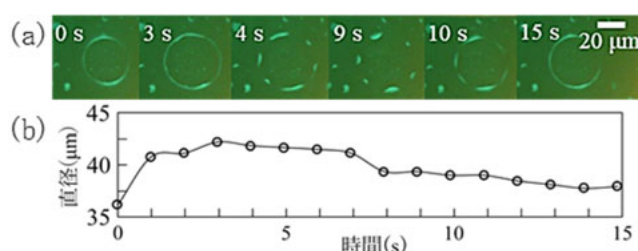


Fig. 2 (a) 垂直方向から見た DDAB ベシクルの伸縮運動 (b) ベシクルの直径の経時変化

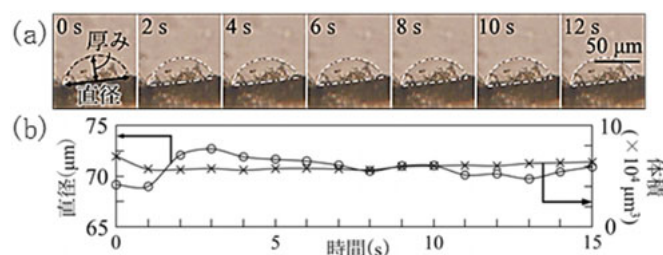


Fig. 3 (a) 平行方向から見た DDAB ベシクルの伸縮運動 (b) ベシクルの直径と体積の経時変化

あると推測できる。また、ベシクルの直径が大きくなった際、同ベシクルの厚みは小さくなっており、体積はほとんど一定に保たれていることがわかる。これより、ベシクルは内水相体積を維持するように伸縮運動を行っていると考えられる。

3.2 伸縮運動を行うベシクルの同期現象

作製したベシクル懸濁液に 1 M の酢酸水溶液を拡散させ、カバーガラスに垂直な方向から低倍率の対物レンズで伸縮運動の様子を蛍光観察した (Fig. 3(a))。Fig. 3(a) 中の A-C で示したベシ

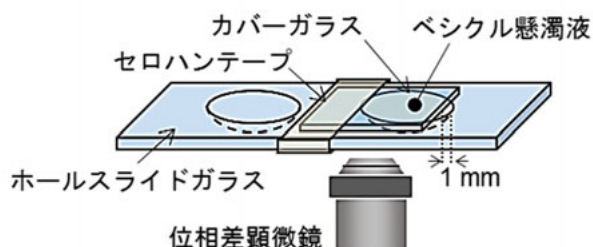


Fig. 1 ホールスライドガラスでの実験における位相差顕微鏡観察の概要図

リング状の蛍光部分をもったベシクルが膨張した後、ベシクルの蛍光部分がリング状から破線状に変化した (0-9 s)。その後ベシクルが収縮すると、蛍光部分がリング状に戻った (10-15 s)。この伸縮運動は繰り返し観察された。

作製したベシクル懸濁液に酢酸水溶液を拡散させた時にカバーガラスに平行な方向から DDAB ベシクルの伸縮運動を観察した際の連続写真を Fig. 3(a) に示した。Fig. 3(a) から伸縮運動を示すベシクルはカバーガラスにドーム状で吸着していることがわかる。Fig. 3(b) にこのベシクルの直径 (吸着部の長さ) およびドーム状と仮定した時の体積の経時変化を Fig. 3(b) に示した。Fig. 2 と Fig. 3 のベシクルはほとんど同じ時間スケールで膨張、収縮していることから、共にカバーガラスに吸着しており、本質的に同じベシクル運動で

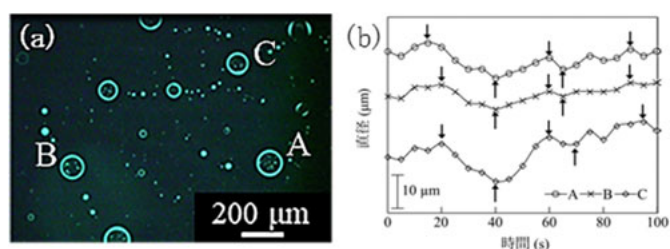


Fig. 4 (a) 伸縮運動を行うベシクルの低倍率観察 (b) ベシクル (A-C) の直径の経時変化

クルについて、直径の経時変化を Fig. 3(b) に示す。Fig. 3(b) の矢印で示す A-C のベシクルの直径の最大・最小のピークが一致していることから、少なくとも 800 μm の範囲で伸縮運動が同期していることが分かった。

4. これからの展望

本研究によって作製されたベシクルはガラス壁面に吸着しており、pH 勾配に沿った移動を観察することは困難であった。そこで、ベシクルがガラス壁面に吸着しない実験系として、高分子を用いた水性二相分離を利用し、水中水滴の液液界面に界面活性剤を吸着させることによって、ベシクルを作製することを試みている。また、この実験系を用いれば、ベシクル内外に別の物質を含ませることも可能になると考えられる。

5. 社会に対するメッセージ

生物は等温系でミクロなポテンシャル差（濃度勾配など）から仕事を取り出して効率的に機能しており、その生体機能を維持するために、生体内では複雑な化学的構造をもつ分子機械が自律的に運動しています。このような観点から、近年、自律的に運動するシステムをもつアクティブマターへの関心が高まっています。また、生体機能のメカニズムを理解し科学技術に応用するバイオミメティクスの分野では、複雑なタンパク質の構造解析や動的状態を詳細に解明することで、分子機械などの機能についての深い理解が進んでいます。一方、ミクロな濃度勾配から力学的仕事をうみだす分子機械にたんぱく質などの複雑な構造は必要なのかについては必ずしも明らかではありません。

我々は、生体機能に見られる運動を最低限模倣できるモデル系を、比較的簡便な実験方法とベシクルを用いて設計し、そのメカニズムを理解することで、様々な生体機能を実現できるような、分子集合体設計法の確立を試みています。このようなモデル系の設計は、多様で複雑な生体機能に潜む物理的な普遍性の理解につながると考えています。そうすることで、これまで受動拡散が移動メカニズムであったドラッグデリバリーシステム設計や、水質管理や細菌除去において目的物質を吸着する薬剤を特定の場所に能動輸送するシステムの発想に質的な影響を与えることができると考えており、単純な人工系で生物のような運動システムを構築することができれば、革新的なエネルギー変換技術につながると期待しています。

竹材の耐腐朽性を向上する加熱処理に関する研究

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	ヤマダ ミドリ 山田 宮土理
所属等	近畿大学建築学部建築学科 講師
プロフィール	1985 年神奈川県生まれ。2008 年早稲田大学理工学部建築学科卒業、2014 年早稲田大学創造理工学研究科博士後期課程修了 博士（工学）取得。2014 年～2016 年早稲田大学創造理工学部建築学科 専任助手、2016 年～2019 年近畿大学建築学部建築学科 助教を経て 2019 年 4 月より現職。専門は建築材料学。日本の伝統土壁構法に関する研究で博士の学位を取得した。現在は建築材料としての土に関する研究をはじめ、天然素材の活用に関する研究を行っている。2016 年に第一子を出産したため研究活動と育児との両立に苦戦することもあるが、研究を通じて社会の役に立てるよう頑張っていきたい。

1. 研究の概要

竹材は日本に豊富に存在し、成長が極めて早いこと、枯渇の心配のない資源である。また、放置竹林の拡大による周辺森林の荒廃が問題となっており、竹材の活用が求められている。本研究は建築材料として竹材を活用するため、竹材の欠点の一つである耐久性の向上を目指す。

耐久性向上の方法はいくつかあるが、本研究では環境安全性が高く、容易に処理が可能な加熱処理に着目した。竹材の種類・部位、および加熱処理条件の異なる試験体を用意し、耐腐朽性の評価試験を実施している。この試験は放置期間を要するため、引き続き経過を観察していく。また、同様の試験体でカビの発生状況を確認したところ、加熱温度の上昇に伴い発生が抑制される傾向が確認できた。さらに、加熱処理条件によっては竹材が脆くなると言われており、各条件での圧縮、曲げおよび引張強度を測定した。その結果、加熱温度の上昇に伴い引張強度の若干の低下を招いたが、圧縮および曲げ強度の低下はみられなかった。

2. 研究の動機、目的

竹材は古来より建築材料として造作材や壁下地材に用いられてきたが、建築様式の変化に伴い、使用量は減少してきた。その一方、日本に豊富に存在することに加え成長が極めて早いこと、枯渇の心配のない資源として注目されている。また、近年、放置された竹林の増殖により、周辺の森林の減少、生物多様性の減少、景観の変化などの問題が各地で生じている。このような資源利用や森林保全の観点から、竹材の建築材料としての用途を広げることが求められる。

しかし、竹材を建築材料として利用する際には、竹材に含まれる糖分やでんぷんによって、生物劣化被害（虫害、カビの発生、腐朽）を受けやすい点が問題となる。耐久性向上技術にはいくつかの種類が検討されているが、本研究では加熱処理に着目した。加熱処理は、経験的に耐久性向上効果が知られる方法で、薬剤等を使用しないため環境安全性が高く、容易に処理が可能である。一方、適切な処理条件や、どの程度の耐久性向上効果があるかなどについては、明らかにされていない。

そこで本研究は、加熱処理の条件が竹材の耐久性に及ぼす影響を明らかにすることを目的とし、今年度は耐腐朽性に対して処理条件が及ぼす影響を検討した。また、加熱処理条件によっては脆竹材が脆くなることがわかっており、竹材の強度を維持しつつ耐腐朽性を向上できる加熱処理条件を検討した。

3. 研究の結果

日本で採取可能な代表的な竹材3種類（マダケ、ハチク、モウソウチク）のそれぞれに対して3種類の部位（根元付近、中央部、先端付近）を採取した。加熱温度120、130および140℃、加熱時間1、2および3時間として加熱処理を行った。試験項目は耐腐朽性試験^{注1)}、カビ発生有無の観察^{注2)}、各種強度試験、耐久性と関連の深い項目として吸水率の測定、基本的性質として顕微鏡観察と色測定である。

土壌中に試験体を埋没させる耐腐朽性試験を実施したところ、平成30年度は埋没開始後24週間まで経過したが、加熱処理の有無に関わらず腐朽の発生はみられなかった。引き続き経過を観察していく。また、耐腐朽性試験に用いた試験体のカビ発生有無を観察した結果を表1に示す。無処理試験体では埋没後8週間で著しくカビの発生が認められたのに対し、**加熱処理を行った試験体ではカビの発生が抑制できる**ことがわかった。加熱処理温度が高く、また処理時間が長いほどカビが発生しにくくなった。吸水率についても、加熱処理を施すことで大きく低下し、処理温度が高く、処理時間が長いほど低下する傾向にあり、**加熱処理は腐朽環境を形成する水分の吸収を抑制する効果がある**ことがわかった。

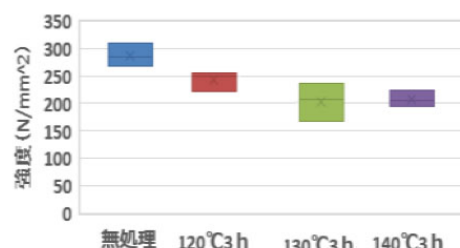
強度試験の結果、引張強度については加熱処理を上昇させると低下する傾向にあった（図1(a)）が、圧縮強度および曲げ強度は加熱処理時間・温度に関わらず同程度であった（図1(b)に例示）。以上より、本実験で検討した**140℃までの処理条件であれば、強度面のデメリットは少ない**といえる。

表1 カビの発生有無の観察結果

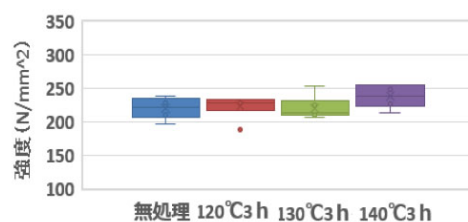
		加熱処理条件					
		無処理	120℃ 3時間	130℃ 3時間	140℃ 1時間	140℃ 2時間	140℃ 3時間
経過時間(週)	0						
	8						
	16						
	24						

注1) 森林総合研究所により提案される土壌中に試験体を埋没させて不特定多数の菌に攻撃させる試験を実施した。

注2) カビの発生有無については、耐腐朽性試験の際に外観察を行って確認した。



(a) 引張強度



(b) 曲げ強度

図1 強度試験結果の例
(処理温度の影響)

4. これからの展望

今後は耐腐朽性のみならず虫害についても検討し、総合的に耐久性を向上させる。耐久性向上効果が十分に認められれば建築材料として様々な部位に使用可能となり、その用途を格段に広げることができる。また、繊維が通直で割れやすい点や天然素材ゆえのばらつきの大きさなどの問題点についてもアプローチしたい。

5. 社会に対するメッセージ

私の専門は建築材料学ですが、これまで主に土壁に関する研究をして参りました。近畿大学への着任を機に研究テーマの幅を広げ、竹材などの天然資源の活用についての研究に着手したいと考えておりました。新たな環境で新たな研究に着手する際には様々な実験関連品を揃える必要がありました。今回ご支援を頂いたことで研究に着手することが可能となり第一歩を踏み出すことができました。誠にありがとうございました。

肺胞標的型吸入用薬物ナノ粒子の創製と肺線維症治療への応用

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	オオタケ ヒロコ 大竹 裕子
所属等	近畿大学 薬学部 助教
プロフィール	2017 年 4 月 - 現在: 近畿大学 薬学部 医療薬学科 助教 2016 年 4 月 - 2017 年 3 月: 名城大学 薬学部 研究員 2012 年 4 月 - 2016 年 3 月: 名城大学大学院 薬学研究科 薬学専攻 2006 年 4 月 - 2012 年 3 月: 名城大学 薬学部 薬学科 吸入剤の製剤設計および適正使用に関する研究を中心に行っています。革新的な肺疾患治療の実現に向けた吸入用ナノ粒子製剤の開発を目指しています。

1. 研究の概要

本研究では、肺線維症治療薬としての開発が望まれるトラニラスト (Tranilast: TL) と数十 nm のナノサイズまでの破碎が可能な湿式ビーズミル法を基盤とし、肺線維症の病変部位である肺胞を標的とした吸入用薬物ナノ粒子の調製条件の確立を試みた。また、ビーズミルの調製条件および処方条件を適宜変化させることで、100 nm 以下の吸入用 TL ナノ粒子を調製し、マウスへの肺内投与による体内動態について評価するとともに、肺線維症モデルマウスを用いた治療効果について検討を行った。本研究を通じて、肺深部への効率的な薬物送達を目的とした吸入用 TL ナノ粒子の有用性ならびに 100 nm 以下の吸入用薬物ナノ粒子に関する体内動態について明らかにする。

2. 研究の動機、目的

近年、ナノ粒子の医療応用を指向した研究が進められているものの、薬物ナノ粒子による検討例が少なく、検討しているナノ粒子の粒子径も数百 nm のナノ粒子であることがほとんどである。この理由として、100 nm 以下のナノ粒子の調製が困難であることが挙げられる。また、ナノ粒子の医療応用に関する研究の主流は溶媒中にナノ粒子を分散した『液剤』を血管内投与した検討に限局しており、肺などの血管以外の投与経路で検討した内容は少ない。また、工業分野でのナノ粒子の応用・製品化の拡大に伴って、人体への影響、特に吸入時の肺障害性及び肺からの全身移行性が懸念されている。本研究で得られる成果は、肺線維症治療薬としての吸入用 TL ナノ粒子の有用性および 100 nm 以下の薬物ナノ粒子に関する体内挙動および安全性についての新情報を提供するものである。これらの研究成果は、ナノ粒子の医療応用を大きく展開・推進するとともに、ナノ粒子に関わる工業・環境面での人体への安全性情報としての有効活用についても期待できる。また、肺には、肺線維症以外にも肺がんなど難治性・致死性の疾患が多く、典型的な肺疾患である気管支喘息や結核についても近年では世界的に増加傾向にあり、治療効果ならびに患者の Quality of life を改善する革新的な肺疾患治療の実現に向けて本研究が果たす意義は極めて大きいと考えられる。

3. 研究の結果

本研究は湿式ビーズミル法を基盤とし、粒子径 100 nm 以下を示す吸入用 TL ナノ粒子を開発

し、肺内投与時の体内動態およびその治療効果について検討したものである。

主に、【1】吸入用 TL ナノ粒子の調製条件の確立および物性評価、【2】吸入用 TL ナノ粒子肺内投与時の *in vivo* 体内動態評価および肺線維化モデルマウスを用いた治療効果、【3】吸入用 TL ナノ粒子の吸入特性評価を行った。

【1】吸入用 TL ナノ粒子の調製条件の確立および物性評価

湿式ビーズミル法によりナノ粒子を調製する上で、微粒子化に寄与するビーズ種類・ミルの処理回数・添加物の有無について検討を行った結果、TL 原末 (TL-MPs、平均粒子径: 約 12 μm) に 0.1 mm ジルコニアビーズを用いて湿式ミル処理を 30 回行うことで、平均粒子径 約 52 nm および球形を示す吸入用 TL ナノ粒子 (TL-NPs) を調製することに成功した (Fig. 1, 2)。分散安定性について評価した結果、TL-NPs は調製 1 ヶ月後も調製直後と同様の平均粒子径および粒度分布を示したことから、良好な分散性を有することが明らかとなった。

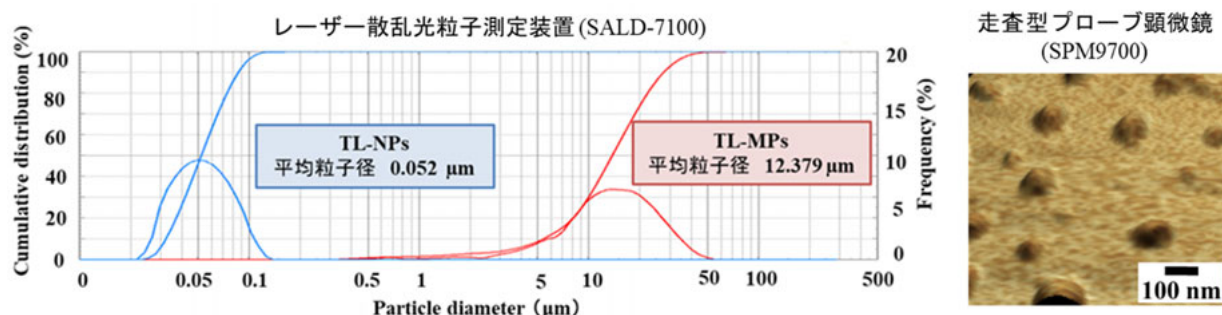


Fig.1 TL-NPsおよびTL-MPsの粒度分布

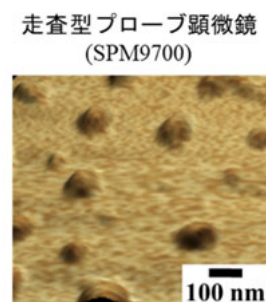


Fig.2 TL-NPsの粒子形状

【2】吸入用 TL ナノ粒子肺内投与時の *in vivo* 体内動態評価および肺線維化モデルマウスを用いた治療効果

【1】で調製した TL-NPs を投与デバイスを用いてマウスに肺内投与することで、体内動態評価を行った。比較対象として、TL-MPs を用い、同様に評価を行った。肺内投与後、経時的に血液および各臓器 (肺・腎臓・肝臓・腸) を採取し、HPLC にて TL 量を検出することで、TL の時間推移および TL 量-時間曲線下面積 (AUC)、平均滞留時間 (MRT) を算出した。投与後 24 時間までサンプリングを行ったところ、血液および各臓器日における TL は投与後 1 時間以内において著しく検出され、肺において最も多く検出された。肺における TL-NPs および TL-MPs の TL の時間推移、AUC および MRT を比較したところ、TL-NPs において速やかな吸収が認められ、AUC および MRT も高値を示した。以上の結果から、ナノ粒子とすることで TL の吸収性および滞留性が向上することが示された (Fig. 3)。肺線維化モデルマウスを用いた際の治療効果については、検討途中であるが、TL-NPs 投与群において生存率が高い傾向が示されている (N.D.)。

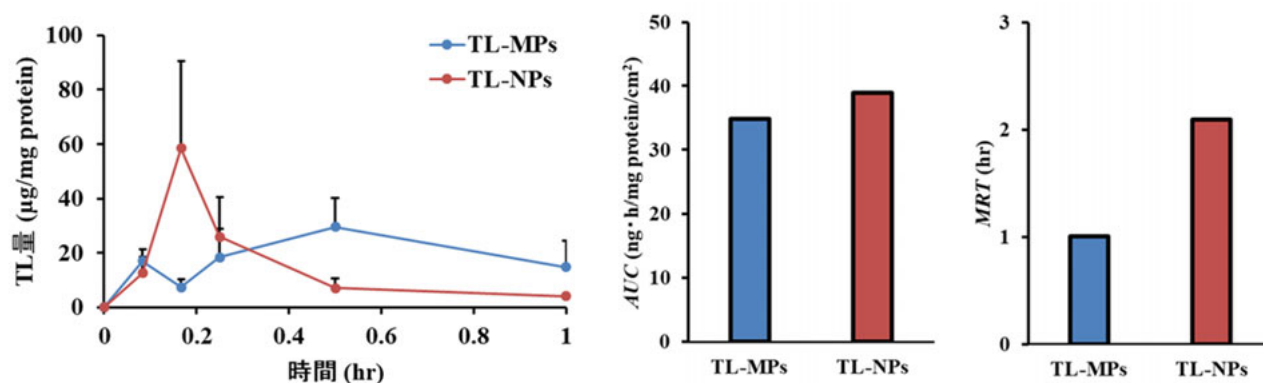


Fig.3 肺内投与後の肺における体内挙動 (n=3-6, mean $\pm$ S.E.)

【3】吸入用 TL ナノ粒子の吸入特性評価

TL-NPs および TL-MPs を凍結乾燥処理することで、粉末化した各製剤を吸入特性評価装置であるアンダーセンカスケードインパクト (ACI) を用いて評価を行った (Fig. 4)。その結果 (Fig. 5)、TL-NPs、TL-MPs とともに Capsule および Device 部分への沈着は少なく、良好な薬物放出性を示した。TL-MPs は Throat および Stage0 部分における沈着が多く、肺深部到達を示す

Stage3 以降の沈着はほとんど認められなかった。一方、TL-NPs は Stage3 以降の沈着が認められ、TL-NPs 凍結乾燥製剤は良好な肺深部送達性を示すことが示された。

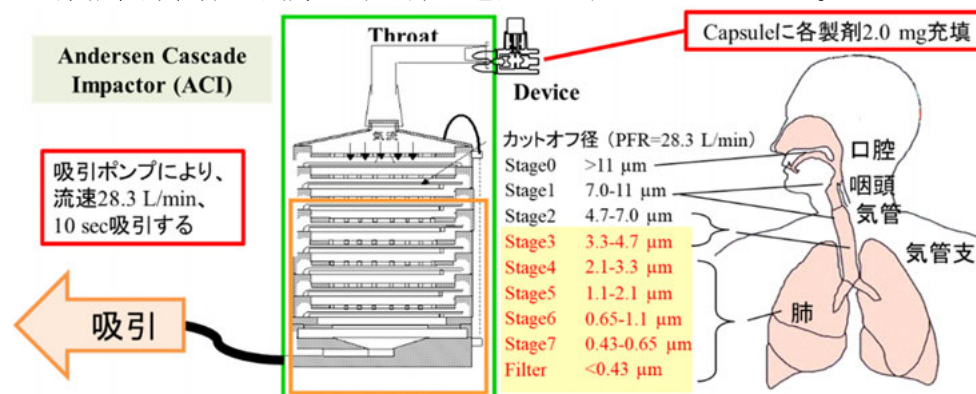


Fig.4 吸入特性評価装置および評価条件

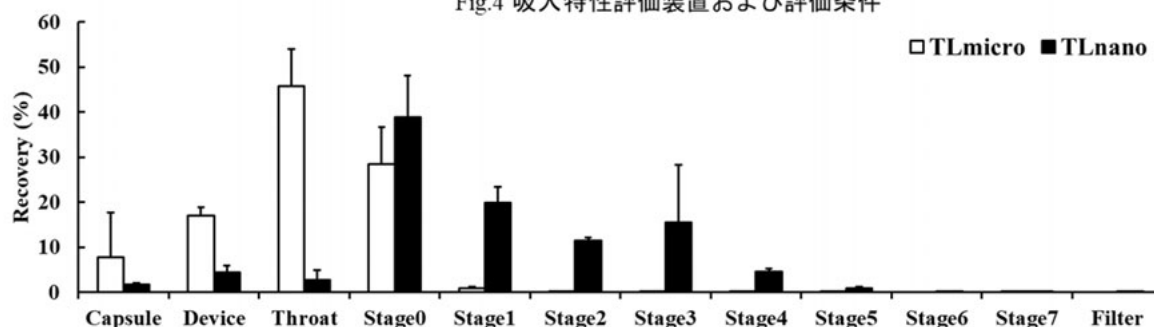


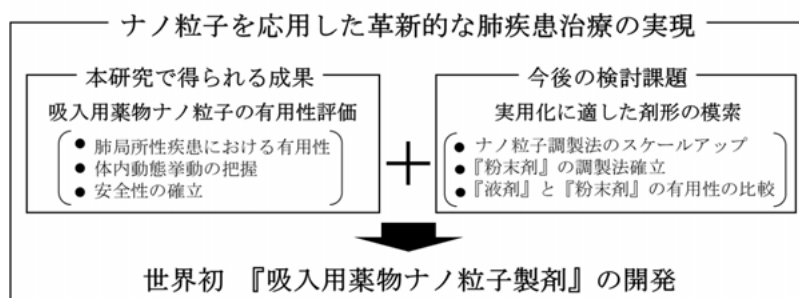
Fig.5 TL-NPsおよびTL-MPsの吸入沈着挙動 (n=3, mean $\pm$ S.E.)

4. これからの展望

当該研究のである『ナノ粒子の吸入剤化』という新たなアプローチから得られる成果は、『ナノ粒子を応用した革新的な肺疾患治療の実現』において極めて重要な情報を提供するものである。本成果の臨床応用に向けた将来展望として、吸入用薬物ナノ粒子の実用化に適した剤形の模索が必要であると考えている。本研究におけるナノ粒子化技術として湿式ビーズミル法を採用しているが、現在、小スケールのみ検討であり、実用化のためにはナノ粒子調製法のスケールアップが必要である。実用化に向けて遊星ボールミル法での調製を試みることで、効率的かつ安定的に供給可能なナノ粒子調製が可能ではないかと考えている。また、本研究では、ナノ粒子の有用性評価を中心としたため、吸入剤のなかでも吸入液剤に局限した研究を行っている。吸入液剤は吸入時に特殊な手技が必要なく、高齢者から幼児にかけて幅広い世代で適用可能な点で優れているものの、吸入時にネブライザーを使用するため携帯性が悪く、薬物が液体である必要があり、適用できる薬物に制限があるという問題点を有している。このような点から、携帯性・薬物安定性に優れた『吸入粉末剤』化が望まれており、今後は、100 nm 以下の吸入用薬物ナノ粒子の粉末化を試み、粉末化により、ナノ粒子の体内動態・安全性に変化が認められるのか検討を行う予定である。

5. 社会に対するメッセージ

本奨励金による支援により、ナノ粒子の吸入剤応用において極めて重要な情報を得ることができました。得られた検討結果をもとに、今後もナノ粒子を応用した革新的な肺疾患治療の実現に向けて全力で研究を推進する覚悟です。ご支援賜り誠にありがとうございました。



TPX2 を介した肺腺癌の浸潤メカニズムを解明する

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	コバヤシアヤカ 小林 彩香
所属等	森ノ宮医療大学 保健医療学部 臨床検査学科 助教
プロフィール	平成 20 年 3 月に鳥取大学医学部保健学科検査技術科学専攻を卒業し、臨床検査技師の資格を取得。その後、大阪大学大学院医学系研究科保健学専攻予防診断学研究室にて修士課程を修了。その後、近畿大学医学部附属病院 病院病理部、大阪大学医学部附属病院 病院病理部にて検査技師として勤務し、臨床経験を積みました。その間に、細胞検査士資格を取得。 現在は森ノ宮医療大学で臨床検査技師を教育しながら、大阪大学大学院医学系研究科病態病理学教室にて肺癌の研究をしています。

1. 研究の概要

今回対象としている肺腺癌は肺癌の中で最も多い組織型である。浸潤前に発見できれば 5 年生存率は、ほぼ 100%である。本研究を通して、肺腺癌の浸潤や細胞形態に特異的に寄与するタンパク質やその分子間相互作用を明らかに、メカニズムを解明できれば、新しい早期診断法、予後予測法、鑑別法が開発できる可能性がある。本研究では、肺腺癌との関係があると予想した TPX2 という蛋白について発現を解析し、肺腺癌における TPX2 が浸潤や細胞形態にどのように関わるかを解明する。また、肺癌以外の肺疾患において TPX2 発現を確認し、新しい早期診断法や予後予測、鑑別法への応用を目指し以下の点から研究を進めている。

1) 組織型別の TPX2 発現

免疫組織化学染色による TPX2 の発現をスコア化する。肺腺癌を、非浸潤癌 (Lepidic) ・浸潤癌 (Aciner、Solid、Papillary) それぞれの組織型に分類し相関を解析した。

2) 肺癌細胞株を用いた機能解析

肺癌細胞株は、複数種類ある。まず、その中から TPX2 発現のある細胞株を見つけるため、細胞株をセルブロックにしたものを免疫組織化学染色し確認した。今後、ウェスタンブロッティングでも発現を確認する。発現が確認された細胞株の中から一番発現が強い 1 種類を選定し、

①浸潤能 ②形態変化 ③アポトーシス耐性 ④運動能を調査する予定である。

2. 研究の動機、目的

わが国の肺癌死亡率は増加傾向にあり、その中でも腺癌は現在最も多い組織型である。非喫煙者でも発症し、明らかな原因は未だ不明である。分子標的薬が登場し治療成績は向上しているが、浸潤や転移があると死亡率が高く、治りにくい癌の 1 つとされている。しかし、浸潤前に発見できれば 5 年生存率は、100%近い。

現在、CT の発達により浸潤前の腺癌を発見できる割合が増加しているが、異型腺種様過形成などの前癌病変や限局性肺炎、感染症などとの鑑別が難しく良悪の判断が困難である。発見後、経過観察で増大傾向があれば癌を疑い治療するという手法がとられている。このため、時期を逸しないために長期間の経過観察が必要であり、いつまで観察するかの一見解も得られていない。

以上のことより、生存率を上げ不要な経過観察を避けるために、①腺癌を浸潤前に早期発見する②発見した病変が、浸潤癌へと進行しうるものかを予測することが求められている。そこで、

浸潤がキーポイントになると考え本研究に着手するに至った。本研究では、腺癌における浸潤の分子機構を解明し新しい早期診断法や予後予測、鑑別法の開発を目指す。

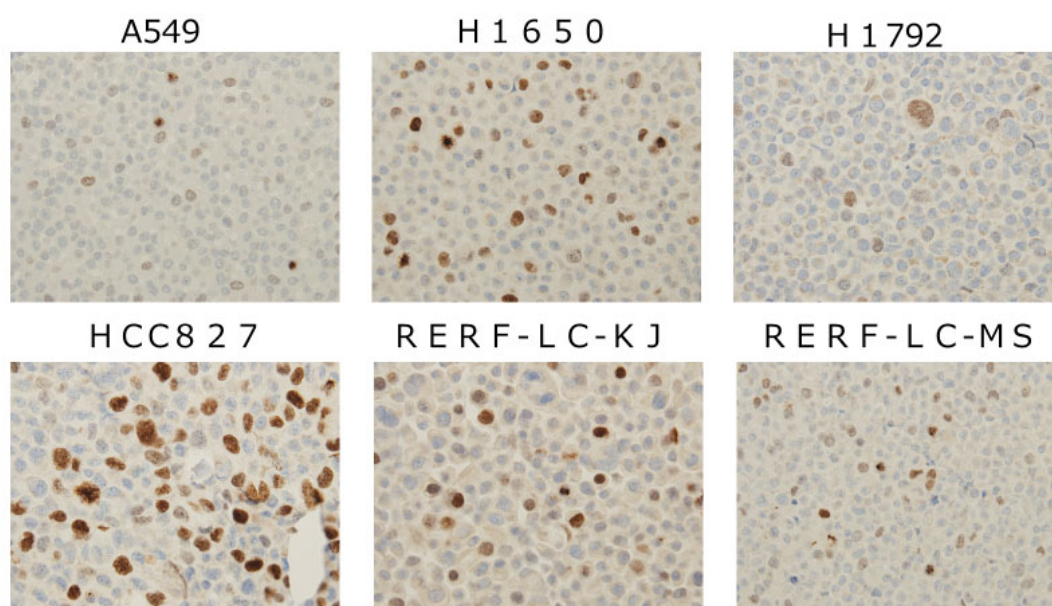
3. 研究の結果

1) 組織型別のTPX2発現

肺腺癌80症例について免疫組織化学染色によるTPX2の発現をスコア化した。肺腺癌を、非浸潤癌 (Lepidic) ・浸潤癌 (Aciner、Solid、Papillary) それぞれの組織型に分類し相関を解析した。その結果、非浸潤癌 (Lepidic) と比較して浸潤癌のSolid type でTPX2の発現が有意に高かった。

2) 肺癌細胞株を用いた機能解析

肺癌細胞株は、複数種類ある。今回 6 種類 (A549、H1650、H1792、HCC827、RERF-LC-KJ、RERF-LC-MS) の細胞株の中から TPX2 発現のある細胞株を見つけるため、細胞株をセルブロックにしたものを免疫組織化学染色し確認した。各細胞株のTPX2発現の写真を以下に示す。その結果、H1650、HCC827 の発現が強く、発現細胞数も多かった。この 2 種類の細胞株を用いて、機能解析を進めていく。



各細胞株のTPX2発現（免疫組織化学染色法）

4. これからの展望

今回の研究結果を踏まえて、さらに以下の研究を進めていく予定である。

1) 肺癌細胞株を用いた浸潤能の解析

ゲノム編集 (CRISPR-Cas9 システム) により TPX2 ノックアウト/ノックダウン 肺癌細胞株を作成する。その後、①Matrigel invasive assay により、浸潤能を比較する。浸潤に関連する②形態変化③アポトーシス耐性④運動能についても評価する。

2) 網羅的遺伝子発現解析

TPX2 ノックアウト/ノックダウン 肺癌細胞株を用い RNA-Seq (または Microarray, 質量分析) にて網羅的遺伝子発現解析を行う。TPX2 ノックアウト/ノックダウンすることによって、発現に変化があった因子を同定する。

3) スクリーニング

2) により同定した因子の肺腺癌手術組織における発現や、ノックアウト/ノックダウン細胞を作製し機能解析を行う。

このサイクルにより TPX2 に関連する因子も含め総合的に理解し、真に浸潤に関わる分子を明

らかにする。

今回、女性研究者奨励金をいただき、重要な実績となりました。本校のような小規模の私立大学は研究資金や設備が潤沢ではないため、今まで研究に必要最低限の試薬や消耗品、機器をそろえるため何年もかけて少しずつ用意している状況でした。しかし今回、40万円もの奨励金をいただけたおかげで最小限の細胞培養用品を揃えることができました。研究をスムーズに進めることができます。研究者として、肺癌死亡率を下げ社会貢献することを目指しています。また、現在大学教員として臨床検査技師の教育にも携わっております。学生に研究の奥深さを教えることにより、研究する人材が増え、よりよい医療に貢献してくれることを願っています。

5. 社会に対するメッセージ

平成30年4月から1年間の女性研究者奨励金をいただき、誠にありがとうございました。妊娠・出産のため、4～7月までの研究期間となってしまう申し訳ありません。平成30年7月14日～3月31日（7月23日出産）まで産休・育休を取らせていただきました。

研究者にとって、ブランクを空けずに研究を少しずつでも進めていくことが重要だと思っています。しかし、女性研究者は妊娠や出産・子育てで研究を中断せざるを得ない時期があります。私は、その期間も少しずつ研究を進めたいと考えています。今回、女性研究者奨励金の採用が決まったときに、辞退すべきかどうかご相談させていただきましたが、ご厚意で奨励金をいただき心より感謝しています。いただいた奨励金で、研究に必要な基本的な試薬や消耗品を揃えさせていただきました。平成31年4月より、職場復帰させていただいており、産休・育休中の研究の遅れを少しずつ取り戻したいと考えております。

私は、研究だけでなく森ノ宮医療大学にて臨床検査技師の教育にも携わっております。臨床検査技師は、女性が多い傾向にあります。今後の教育指導の中で、女性が仕事をしながら子育てをし、研究もする姿を見せることで、よい影響を与えられるのではないかと考えています。将来的に、当校を卒業し研究に携わり、社会に貢献できる人材が増えていくことを願っています。

皆様からご支援をいただきました今回の研究は、肺癌死亡率を少しでも低下させたいとの思いから着手いたしました。肺癌は、分子標的薬が登場し治療成績は向上していますが、浸潤や転移があると死亡率が高く、治りにくい癌の1つです。しかし、浸潤前に発見できれば5年生存率は、100%近くになっており、早期発見ができるかどうかが重要になっています。今後も研究を進め、人々が健康に過ごせるよう社会貢献していきたいと思っています。今後とも、ご支援の程よろしくお願いいたします。

子どもの塩味嗜好性の関連要因と それに基づく食育支援策の検討

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	ヤマザキ カヨコ 山崎 圭世子
所属等	大阪キリスト教短期大学 幼児教育学科 講師
プロフィール	2000－2011 年食品メーカー勤務。管理栄養士として、プロスポーツ選手の栄養サポートや、スポーツをする子どもの保護者へのセミナー活動などに従事。2012 年大学院に進学、アスリートのコンディション評価に関する研究を行う。2015 年より現職、保育士養成課程で子どもの食と栄養の授業を担当している。

1. 研究の概要

子どもの食育において味覚の発達を考慮することは重要である。味覚の形成には様々な要因が複雑に影響していると考えられるが、その詳細は未だ明らかになっていない。本研究では、将来の生活習慣病予防を考える上でも重要な塩味に着目し、子どもの塩味に対する嗜好性（味の好み）と、食習慣や保護者の意識との関連について検討した。調査では、幼稚園・認定こども園に在籍する幼児の保護者を対象に①アンケート調査を実施し、②子どもの味覚調査の結果との関連を調べた。

- ① 保護者へのアンケート調査：子どもの食習慣、子どもの食に関する保護者の意識等について、無記名の自記式質問紙調査を行った。
- ② 子どもの味覚調査：一般的な汁物の塩分濃度（0.8％）と、濃い味付けとされる塩分濃度（1.2％）のだし汁を飲み比べ、どちらが好きかを答えてもらった。

2. 研究の動機、目的

味覚や嗜好は乳幼児期の食経験によって形成され、その後の食行動にも影響すると考えられる。各種の味覚の中で塩味は、人の生存に不可欠なミネラルのシグナルであることから、本能的に好まれやすい。濃い味付けは味覚の形成を妨げる可能性が考えられ、また食塩の過剰摂取は高血圧や胃がんの発症との関連が指摘されていることから、減塩はすべての年代で重要な食の課題である。これらのことから、薄味でもおいしく食べられる子どもを育てるための食育の推進は、生涯にわたる心身の健康増進を目指す上で大きな意義があるといえる。

子どもの味覚や食習慣の形成には、家庭での食事提供を担う家族の食への意識が大きく影響する。しかし、子育て世代の減塩への意識は低く、平成 27 年国民健康・栄養調査において「食品を購入する際の参考として食塩相当量の表示が必要」と思う者の割合は、30 歳代女性で 28.0％にとどまっている。子どもの味覚を育てるための、保護者の意識向上を含めた食育支援策の検討が必要である。

そこで本研究では、子どもの塩味嗜好性の実態を把握し、普段の食生活や保護者の意識と味覚との関連を明らかにすることで、効果的な保護者支援策を検討することを目的とした。

3. 研究の結果

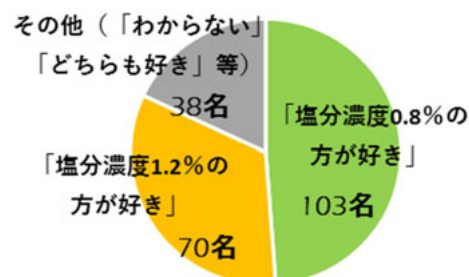
(1) 調査対象

大阪府・滋賀県内の幼稚園・認定こども園に通う幼児（年中・年長）の保護者 211 名

(2) 結果

【子どもの味覚調査】

対象者の子どもの味覚調査の回答結果は、塩分濃度 0.8%のだし汁の方が好きと答えた者（以下、ふつう嗜好群）が 103 名（49%）、塩分濃度 1.2%のだし汁の方が好き（以下、濃い味嗜好群）が 70 名（33%）、わからない、どちらも好き等のその他の答えが 38 名（18%）であった（図 1）。



【図 1】2 種類の塩分濃度のだし汁を用いた味覚調査の結果

【保護者アンケート】

味覚調査の結果から、その他の回答であった 38 名を除く 173 名の保護者アンケート回答結果について、ふつう嗜好群と濃い味嗜好群の 2 群間で比較した（Pearson のカイ二乗検定）（図 2）。

Q1:「お子さんは次の食べものをどのくらいの頻度で食べていますか」

野菜、甘味飲料、スナック菓子、調理済み食品等 15 項目について、「よく食べる」または「時々食べる」と回答した者と、「どちらともいえない」「あまり食べない」「まったく食べない」と回答した者の割合を比較したところ、「スナック菓子」について、濃い味嗜好群はふつう嗜好群よりも「よく食べる」「時々食べる」と回答した者の割合が多い傾向が見られた ($p < 0.1$)。その他の項目で 2 群間の回答に有意差はなかった。

Q2:「あなたがお子さんの食事で意識していること」

栄養バランスをよくする、薄味にする、一緒に作る等 11 項目について質問した。2 群間で回答に有意差はなかった。

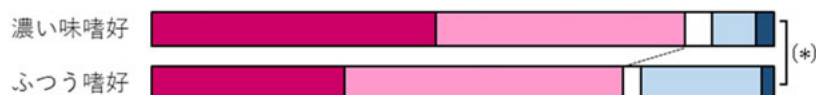
Q3:「お子さんの食事や、家庭の食事の支度で困っていること」

食べることに関心がない、偏食する、料理が苦手等 13 項目について、「とてもあてはまる」「ややあてはまる」と回答した者と、「どちらともいえない」「あまりあてはまらない」「全くあてはまらない」と回答した者の割合を比較した。「甘い飲み物やお菓子を欲しがる」について、濃い味嗜好群はふつう嗜好群よりも「とてもあてはまる」「ややあてはまる」と回答した者の割合が有意に多かった ($p < 0.05$)。また、「食べすぎる」「濃い味付けでないと食べない」について、濃い味嗜好群の方が「とてもあてはまる」「ややあてはまる」と回答した者の割合が多い傾向が見られた ($p < 0.1$)。その他の項目に 2 群

■どのくらいの頻度で食べているか

■よく食べる ■時々食べる □どちらともいえない □あまり食べない ■全く食べない

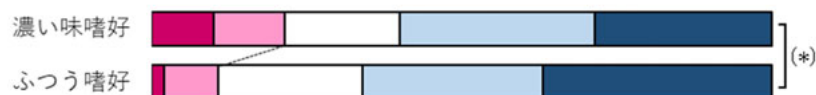
Q1-7 スナック菓子



■食事や食事の支度で困っていること

■とてもあてはまる ■ややあてはまる □どちらともいえない
□あまりあてはまらない ■全くあてはまらない

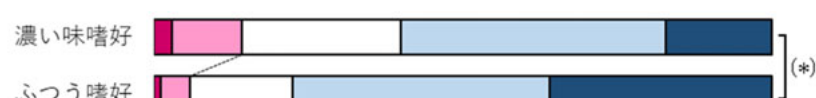
Q3-3 食べすぎる



Q3-7 甘い飲み物やお菓子を欲しがる



Q3-8 濃い味付けでないと食べない



0% 20% 40% 60% 80% 100%
Parsonsカイ二乗検定*: $p < 0.05$, (*): $p < 0.1$

【図 2】保護者アンケートの結果

間で有意差はなかった。

(3) まとめ

- 2 種類の塩分濃度のだし汁を用いた味覚調査において、一般的な塩分濃度のだし汁の方が好きと答えた“ふつう嗜好”の子どもは全体の 49%、塩分濃度が高いだし汁の方が好きと答えた“濃い味嗜好”の子どもは、全体の 33%であった。
- 子どもの食習慣に関する保護者アンケートの回答結果について、濃い味嗜好の子どもとふつう嗜好の子どもで比較したところ、濃い味嗜好の子どもの保護者の方が、「スナック菓子をよく食べる」、「食事を食べすぎる」、「甘い飲み物やお菓子を欲しがる」、「濃い味付けでないと食べない」と感じている者の割合が多かった。
- 子どもの食事で意識していること、家庭の食事の支度で困っていることに関する項目では、濃い味嗜好とふつう嗜好で違いは見られなかった。

4. これからの展望

味覚調査では、全体の約 3 割の子どもが塩分の多い濃い味付けを好んでおり、味覚を考慮した食育の必要性が確認された。アンケート項目との関連では、濃い味を好む子どもはスナック菓子や濃い味付けのものをよく食べる傾向にある可能性が示唆されたが、濃い味が好きだから塩分の多いものをよく食べるのか、塩分の多いものをよく食べるから濃い味が好きになるのかは不明である。今後、より詳しいデータ解析を行い、これらの項目と味覚の因果関係を明らかにするとともに、濃い味嗜好を形成するその他の要因についても総合的に解析する。また、甘いものを欲しがる、食事を食べすぎるといったエネルギー摂取に関わる項目とも関連が見られたことから、肥満予防の観点からも、甘味の嗜好調査の実施を視野に入れて今後の調査方法を検討する。今回の調査では、保護者の食育への意識や食事の支度の悩みについては子どもの味覚との関連は示されず、当初の目的であった保護者支援策の検討には至らなかった。今回の結果を踏まえた調査の継続により、子どもの味覚と食べる力を育むための効果的な保護者支援策の提案を目指したい。

5. 社会に対するメッセージ

今回、配布いただいた奨励金により、以前より構想を練っていた子どもの味覚と食に関する研究をスタートすることができました。ご支援をいただいた皆様に心より感謝申し上げます。本研究は、保育・幼児教育の現場や子育て支援、また保育士養成課程での教育に役立てられる、実用性の高い研究だと考えております。子どもたちの食べる力を育み、心身ともに健全で豊かな人生を歩むための食育推進の一助となるよう、今後も研究に励んでまいります。

以上

貴金属イオンを含む廃液中から貴金属を回収する光触媒の合成 ー金イオン回収・光還元触媒能をもつ錯体ー

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	トヤマ マリ 外山 真理
所属等	大阪府立大学工業高等専門学校 総合工システム学科 環境物質化学コース 講師
プロフィール	明治大学大学院理工学研究科応用化学専攻にて博士（工学）取得後、明治大学理工学部・駒澤大学医療健康科学部・青山学院大学理工学部で非常勤講師を務めた。2015 年 4 月に甲南大学理工学部機能分子化学科任期付き助教として着任し、4 年間の任期満了後、2019 年 4 月より現職に至る。 ルテニウム(II)錯体の精密合成法に関する研究で学位を取得した後、錯体合成技術を基盤とし、有価・有害金属イオン回収のための光触媒を初めとした光触媒の開発、安価なフッ化物イオン検出薬の開発などへ研究を展開している。

1. 研究の概要

本研究では、既存の重金属イオンに対すセンサー（検出剤）、人工光合成の光電子移動触媒、そして色素増感太陽電池の3つの分野の研究を基に、それらの機能を融合した新規光触媒（錯体）のデザインを行い、その合成に取り組んだ。

本研究の特徴的な点は大きく以下の2点である。

(1) 機能性のデザインに関する特徴

類似の既報の研究では、スペクトルの変化による「貴金属イオンの検出」を目的としているのに対し、本研究ではその先の「貴金属の回収・再利用」までを目的として錯体デザインをした。

(2) 錯体合成法における特徴

①一般に修飾基（本研究では貴金属イオン回収基）を持つ錯体の合成は、有機合成的にキレート配位子に修飾基を先に導入する方法をとる。しかし、本研究では錯体骨格を作った後に、修飾基を錯体上で導入する方法を試みる。更に、2017 年度の研究で、錯体の修飾基導入部位が光活性であることがわかった。この光反応を修飾基の導入反応に利用することを検討することも本研究の特徴である。

② acac⁻を含む 3 種類のキレート配位子を持つルテニウム(II)錯体の合成は新規である。このタイプの錯体は光励起電子伝達触媒（色素）としての需要も期待できる。

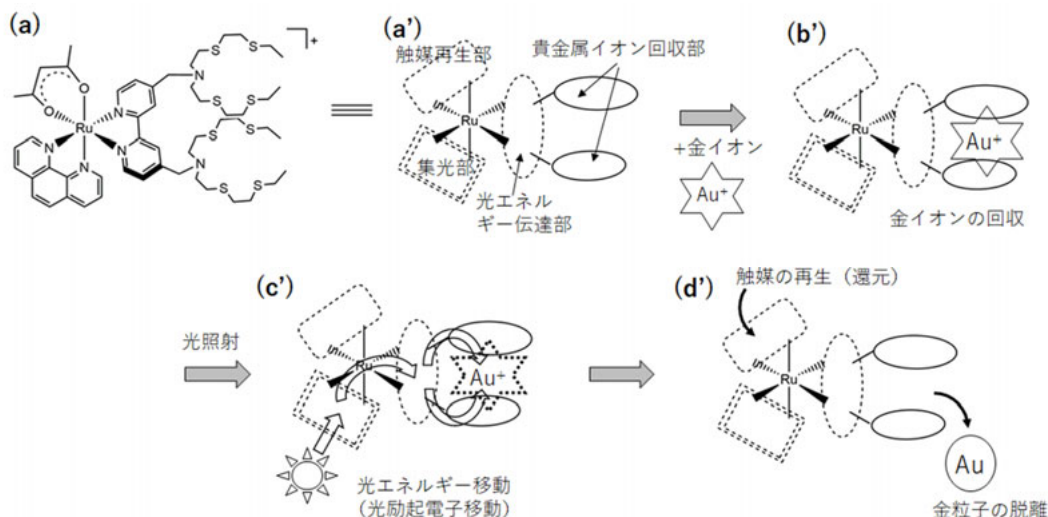
2. 研究の動機、目的

申請者は学生時代より一貫してルテニウム(II)錯体の精密合成法の開発に関する研究を続けている。申請者の開発した合成法は、①既存の方法より制限が少なく、②環境負荷が大きなハロメタン溶媒を使わず、③反応選択性を極限まで高めることで廃棄（副生成物）を出さず、精製過程を必要としない環境負荷の小さな方法である。特に、③は、安価な合成に繋がることも特筆すべき利点であると考えている。このような新しい合成法を活用できる応用研究を行うこともこの研究の動機である。

この合成技術の利用法として、(a)重金属イオンの検出剤、(b)人工光合成システムの光触媒、(c)色素増感太陽電池の色素などが考えられた。しかし、それぞれの分野では多くの研究がなされており、共同研究の形でないと参加が難しい状況であった。申請者は、2015 年度に甲南大学に助教として着任し、2016 年度より独立研究室を主催した。そのような環境で、同学科の環境分析化学が専門の茶山教授との共同研究課題を考え、上記 3 つの分野を横断・融合するような光触媒の構想に至った。

具体的には、本研究では **Scheme 1** の(a)に示した光触媒 (ルテニウム(II)錯体) をデザインし、その合成を行い、**Scheme 1** の(a')~(d')に示した様な触媒能の評価をすることが目的である。貴金属イオン回収基には金イオンなどのクラス *b* 金属イオンの回収能の知られている茶山教授の研究室で合成された 9-aza-3,6,12,15-tetrathiaheptadecane (*N*-H-ATH)を選択した。

Scheme 1



2018 年度は以下の 2 点を明らかにすることを目的とした。

(1) 貴金属イオン回収部位である *N*-H-ATH を錯体に導入する方法の検討

(2) アセチルアセトナトイオン (acac^- ; **Scheme 1** の(a)における左上のキレート配位子) を含む 3 種類の異なるキレート配位子を持つ母錯体 (**Fig. 1**) の合成法の改良 (より安価な合成法の検討)

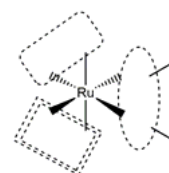
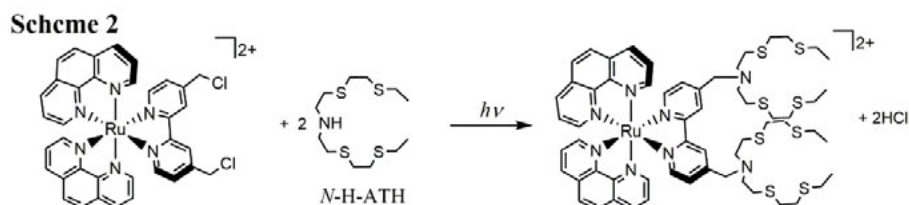


Fig.1. 母錯体概念図.

3. 研究の結果

(1) 貴金属イオン回収部位である *N*-H-ATH を錯体に導入する方法は、2 つのアプローチで検討した。

① 錯体部分にあとから *N*-H-ATH を導入する方法 (**Scheme 2**)



(ア) アルコール中と同様に、カルボン酸基を持つ溶媒 (CH_3COOH) 中で錯体に光照射を行うと錯体の置換基末端にメチルエステルを持つ錯体を得られた。そこで、OH や COOH 基を持たない溶媒 (DMSO、アセトン、ピリジン、THF、クロロホルム) 中で錯体に光照射を行った。その結果、溶媒中の少量の水と反応して置換基末端 OH 基になった錯体に加え、解析不能な錯体を得られた。更に、イオン液体中でも光照射を行ったが、光照射前後でス

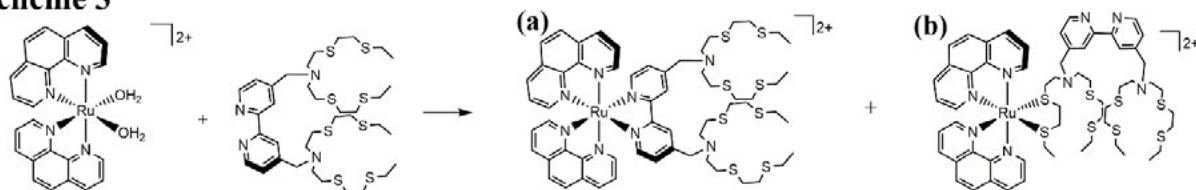
ペクトルの変化が確認された。したがって、これらは期待した光反応の溶媒に適さないことがわかった。

- (イ) アセトニトリル中で光照射を行うと、ニトリル部位の開裂反応が考えられる光生成物が単一で得られた。この反応は、メタノール中での光置換反応より遅かった。そこで、アセトニトリルに 5% のメタノールを加えて光照射を行ったところ、末端 OCH_3 の錯体が選択的に得られた。この結果は、光置換反応速度の違いを利用すれば、単一な光生成物を得られることを示唆する。そこで、*N*-H-ATH の代わりに市販品ジエチルアミンと錯体を、そして *N*-H-ATH と錯体をアセトニトリル溶液中でそれぞれ光照射を行った。その結果、用いたアミン類よりアセトニトリルとの光反応の方が速いことがわかった。
- (ウ) アセトニトリル溶液中の反応生成物を調べるため、反応溶液の錯体濃度を上げたところ、置換基末端が OH 基になった錯体が混在するようになった。効率よく光反応生成物を合成するには、反応溶媒に脱水アセトニトリルを使用するなどの対応が必要であることがわかった。
- (エ) (ア) ～ (ウ) の結果を受け、無溶媒反応での光反応を試みた。まず、*N*-H-ATH の代わりに市販のジエチルアミン中での光反応を試みた。しかし、ジエチルアミンへの錯体の溶解度が低く、不均一系での光照射実験を行った。その結果は、未反応の錯体に加え、置換基末端が OH 基になった錯体が少量得られたのみで、ジエチルアミンが錯体末端に反応した光生成物は得られなかった。
- (オ) 同様に、*N*-H-ATH 中に錯体を拡散させ光照射を行ったところ、錯体も *N*-H-ATH も変化しなかった。この結果は、用いたアミン類に対する錯体の溶解度の低さに問題があったと考えている。

② *N*-H-ATH を有機合成性でキレート配位子に導入してから錯形成反応を試みる場合の予備実験

キレート配位子に先に *N*-H-ATH を反応させてからルテニウム(II)錯体と反応させる場合、キレート配位子 (bpy) の N 原子と *N*-H-ATH の S 原子の両方がルテニウム(II)イオンに配位子する可能性がある。その結果 **Scheme 3** に示した様な目的の錯体(a)以外に、(b)の様な副生成物や、*N*-H-ATH で複数の錯体を架橋した複核錯体が生成する可能性がある。

Scheme 3



そこで、事前にキレート配位子の代用である置換基のない bpy と *N*-H-ATH をルテニウム(II)イオンとを様々な条件で反応させ、N 原子と S 原子の反応選択性について調べた。この際、スペクトルを単純化するため、原料錯体には $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{OH})_2(\text{bpy})_2](\text{OTf})_2$ を用いた。その結果、**Scheme 3** の(a)に対応する錯体に加え、(b)に対応する錯体も生成し、両者に有意の差は見られないことがわかった。

(2) アセチルアセトナトイオン (acac^- ; **Scheme 1** の(a)における左上のキレート配位子) を含む 3 種類の異なるキレート配位子を持つ母錯体の合成法の改良 (より安価な合成法の検討)

母錯体と同様の骨格で、貴金属イオン回収基導入のための置換基の異なる錯体 (**Fig. 2**) は既に合成に至っている。しかし、その錯体の合成は、反応選択性が十分ではなく、副生成物 (ゴミ) が生じてしまう。したがって、その反応性の向上が課題である。更に、貴金属イオン回収基導入のための置換基を持つ化合物が比較的高

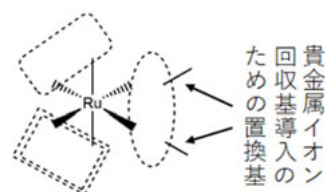


Fig. 2. 母錯体の概念図 2.

価なため、母錯体合成の最終段階で反応させることでコストダウンを狙うことを考えた。

短時間で成果を得るため、phen 錯体の代わりに申請者が十分に知見を持っている bpy 錯体を原料に用いた (Fig. 3)。安価な acac⁻を、より高価なキレート配位子 bcm-bpy (貴金属イオン回収部を導入する置換基をもつキレート配位子) より先に導入する方法では、目的の錯体の合成に至らないことを確認した。そこで、参考文献[1]の方法を参考に、置換基を持つキレート配位子を先に導入した錯体の合成を試み、目的の錯体 *cis*-[Ru(bpy)(bcm-bpy)(dmsd-S)₂](OTf)₂ を収率 88% で得た。

しかし、この錯体に acac⁻を反応させたが、容易には想定した [Ru(acac)(bpy)(bcm-bpy)](OTf) が得られなかった。置換基部位-CH₂-Cl と acac⁻の反応を示唆する結果が得られており、目的の骨格錯体を合成するには、bcm-bpy の置換基部の保護が必要である可能性がある。つまり、引き続きの合成法の検討が必要であることがわかった。この合成研究の成果は、申請者の指導学生が甲南大学の高大連携イベント「リサーチフェスタ」で報告し、大学生の部で審査員特別賞を受賞した。

[1] M. Toyama, D. Fujimoto, Y. Matsuoka, Y. Asano, and N. Nagao, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2018**, 4349-4360.

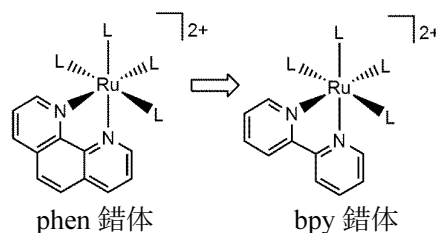


Fig. 3. 原料錯体の構造。

4. これからの展望

(1) 置換基の単純化

貴金属イオン回収部である *N*-H-ATH の代わりにチオエーテル鎖のより短い *N*-H-ATU (Fig. 4) を錯体に導入することを検討する。短いチオエーテル鎖の化合物を用いると、Scheme 3 の (b) に対応する副生成物の抑制が期待できる。2019年6月27日現在、*N*-H-ATU の結晶構造の論文を学会誌に投稿・審査の後、修正・再審査中である (7月3日受理通知あり)。

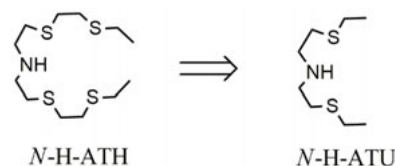


Fig. 4. 貴金属イオン回収部の交換。

(2) アセチルアセトナトイオンを含む3種類の異なるキレート配位子を持つ錯体の合成法の改良の継続検討

「3. 研究の結果 (2)」で報告した様に、目的の錯体合成のためには、置換基部位の保護をすれば問題は解決すると考えている。この保護は「3. 研究の結果 (1)」に記載した光反応の利用で容易に可能である。したがって、目的の錯体構築までの目途は立っている。

次に、最終目的の錯体を合成するために、原料の phen 錯体 (Fig. 3, 左側) の合成が必要である。一般に bpy 錯体と phen 錯体は同じ合成手法が適応可能である。したがって、bpy 錯体での合成法を適応すれば、phen 錯体は合成可能であると考えている。

この母錯体の合成法の研究は、ルテニウム(II)錯体を用いる検出剤や光触媒 (人工光合成、色素増感太陽電池など) の研究に寄与するものである。更に、ルテニウム(II)錯体は、抗がん剤などの医薬品としての利用も検討されている。本研究で合成する新規錯体、そしてその合成法は、将来の医薬品創成にも貢献するものであると信じている。

(3) ターゲットの変更

今回の研究では、ターゲットを貴金属イオン (有価金属イオン) に絞ったが、将来的には①放射性化合物、②化学兵器 (VXガスのようなもの)、③ガン細胞、④害虫・外来種昆虫のフェロモン物質、⑤バクテリアなどへも展開した検出剤の創成を検討したいと考えている。このようなターゲットの変更は、回収基の変更を行うだけで、母錯体の構築と回収基の導入方法は、本研究手法が適応可能である。この点も、本研究の重要なポイントである。

5. 社会に対するメッセージ

業績の多くない助教の申請した萌芽研究に対し、本奨励金をいただけたことは、大きな自信につながりました。ありがとうございました。任期付きの助教の場合、研究・教育と並行して、次の就職活動もする必要があります。その際、多くの大学で「外部資金の取得履歴」が要求されます。今回、本奨励金をいただけたことで「外部資金の取得履歴」の1行目に記載する事項ができました。このことは、研究者としての自信になっております。

この研究課題に対して、1年間の研究では社会に直接的に貢献できる成果、もしくは論文として公刊できる成果は出せませんでした。しかし、甲南大学の学生の協力のおかげで、学術的に重要な知見が沢山集められました。加えて、教育的成果も十分に得られたと自負しております（担当学生が発表で「審査員特別賞」受賞したことが客観的にもそれを支持するものだと考えます。）。2019年4月より所属が変わり、残念ながら、現在は研究の継続ができていない状況です。しかし、この奨励金で得られた知見をきちんと社会に報告（論文として公刊）する責務を感じております。それが現在の研究への原動力となっています。

また、「4.これからの展望」に記載した様に、この研究を基にした展開の夢も大きく持っております。今後も「社会貢献しそうな研究の夢」を持つ女性研究者へのご支援をどうぞよろしくお願い申し上げます。

女性の社会進出を肯定・推進する声は大きくなってきてはおりますが、女性研究者（教員）、特に出産・子育て世代の女性研究者（教員）の環境は、大学が教育現場であるにもかかわらず、厳しいと感じます。そのような状況で、日本私立学校振興・共済事業団が、年齢制限のない「女性研究者奨励金」を設立してくださったことは、非常に価値のあることだと考えます。重ねてのお願いになりますが、今後ともこの制度の継続のためのご支援をいただけますよう、どうぞよろしくお願い申し上げます。

再就職した看護師の組織社会化に関する研究 －組織社会化にむけた学習尺度の開発－

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	コニシ ユキコ 小西 由起子
所属等	甲南女子大学看護リハビリテーション学部看護学科 助教
プロフィール	看護師として約 20 年間の病院勤務を経て大学教員へ転向した。病院では看護管理者として管理、教育を行うなかで、更に看護管理学を深めたいと思い修士課程へ進学した。現在は基礎教育に携わる一方で、看護職のキャリアや看護組織における組織文化に関する研究に取り組んでいる。

1. 研究の概要

本研究の目的は、再就職した看護師の新規参入組織における組織社会化尺度の開発である。

組織社会化とは、「個人が組織の役割を引き受けるのに必要な社会的知識や技術を習得し、組織の成員となっていく過程」と定義される概念であり、組織社会化の達成により職務満足や組織コミットメントの向上が期待できるとされている。

わが国では、高齢化社会の伸展や医療の高度化に伴い、看護職者の需要が拡大しているが、結婚や育児などの女性のライフサイクルに関わる問題が職場への定着を阻む要因となり、慢性的な人員不足に陥っている。さらに診療報酬の改定に伴う 7 対 1 看護配置の導入により、看護職者の需要が拡大し、再就職者を採用する施設は増加しているが、新卒看護師以上に再就職者の組織への定着が困難な状況にある。

そのため社会的知識や技術をどの程度、習得し組織社会化が図れているのかを客観的に評価できる指標（尺度）を作成する研究に取り組んだ。

2. 研究の動機、目的

1) 研究の動機

日本看護協会の調査によると、再就職者の約 3 割に離職意向があり新人看護師とは異なるリアリティショックを経験し、仕事の継続を困難していることが報告されている。しかし再就職者は新卒者を一から教育するのとは違い即戦力となり、看護職としての経験を有する再就職者を採用することは組織の活性化にもつながる。したがって組織にとって貴重な人材となりうることを勘案し、再就職者の適応を促進するため方策を探ることは看護の質を担保していく上での重要な課題と言える。

組織への新規参入者が、どのように職場や組織に適応していくかをとらえる研究は、組織社会化研究と呼ばれている。組織社会化の定義について統一的な見解はないが、Van Maanen & Schein (1979) は、「個人が組織の役割を引き受けるのに必要な社会的知識や技術を習得し、組織の成員となっていく過程」と定義している。組織社会化とは、新規参入者が外部者から内部者に移行し、社会的環境に適応する過程で生じる個人の学習の問題として位置づけられることから、新規参入者には学習が必要であり、その内容は組織や職場によって異なると考えられる。

先行研究においては、組織社会化の程度を測る指標として、新規参入組織における学習内容に焦点を当てた尺度が散見された (Chao, 1994 : Taormina, 1994 : Haueter et al., 2003)。しかしいずれも一般職を対象としているため、学習内容の課題（職務）に看護職に特徴的な技術的

側面が含まれておらず、看護職に適用するには限界がある。

再就職者の学習の特徴として、特定の場所・状況において社会化された内容を場合によっては部分的に学習棄却し、これから参入する場所で支配的な知識、技能、規範、役割を再学習するといった「学びなおし」の局面が増えることが挙げられる。再就職した看護師特有の組織社会化の構成概念が明らかになると、それを定量的に記述した尺度を作成することが可能になる。尺度を活用して自らの学習の程度を評価することでリフレクションの機会となり、再学習を促進することにつながる。さらに、学習の程度を他者が客観的に評価することで、再就職者への教育内容や支援体制を見直す機会にもなりうる。

2) 研究の目的

本研究の目的は、再就職した看護師の新規参入組織における組織社会化尺度を開発することである。

3. 研究の結果

1) 再就職した看護師の組織社会化尺度原案の内容妥当性・表面妥当性の検証

【研究方法】再就職した看護師への教育に携わった経験のある看護管理者 7～8 名、尺度開発の知識を持つ研究者又は看護管理学に精通した研究者 7～8 名の合計 15 名程度を対象に郵送法による無記名自記式の質問紙調査を行った。**【調査内容】**調査内容は、基本属性(職位)、各尺度項目の内容妥当性指数(Content Validity Index : 以下 I-CVI とする)とした。I-CVI の手法として、その項目が概念の定義と関連し、適切か(ふさわしい)、項目が概念を妥当に測定しているかどうかについて、4 点尺度で評定した。表面妥当性は、自由記述にて①尺度項目の文章表現が理解できるか、②尺度項目の内容が妥当であると考えられるか、③他に考えられる質問内容について回答を求めた。**【分析方法】**(1)内容妥当性：項目の関連性に関しては、専門家による各項目の関連性の評定全てについて I-CVI を算出した。各尺度項目の I-CVI 得点を算出し、0.78 以上なら、尺度の妥当性は適切であると判断した。(2)表面妥当性：尺度項目に関する不足や表現の修正の意見は、記述して集約し、尺度項目修正の資料とした。**【結果】対象者の属性：**自記式質問紙調査の回収は 14 件(回収率 93.3%)であり、看護管理者が 7 名(看護部長 3 名、副看護部長 3 名、看護師長 1 名)、研究者が 7 名(教授 4 名、講師 2 名、助教 1 名)であった。**内容妥当性・表面妥当性の検討：**各尺度項目の I-CVI について、全 75 項目中、48 項目は I-CVI が 0.78 以上であった。I-CVI が除外基準に該当する 0.78 未満であった項目は 27 項目であった。尺度に不足する項目内容についての意見は延べ 8 件得られた。**【考察】**専門家を対象に再就職した看護師の組織社会化にむけた学習尺度原案の内容妥当性、表面妥当性の検証を行った。その結果、内容妥当性において、I-CVI が 0.78 以上であった尺度項目は約 6 割であった。専門家からの意見において、下位概念との不一致が指摘された項目を中心に再検討した。また、I-CVI が 0.78 未満であった 27 項目については、項目削除の検討を行うこととした。

2) 尺度項目の修正

表現を修正した項目については、構成概念と関連しているかを質的に検討し、内容妥当性を確認した結果、8 下位概念、43 項目の再就職看護師の組織社会化にむけた学習尺度案を作成した。

4. これからの展望

今回の研究結果を踏まえて、再就職看護師の組織社会化にむけた学習尺度を洗練させ、実用性の高い尺度へ発展させていく必要がある。また本尺度は病院に勤務する再就職者を対象に開発したが、訪問看護ステーションや福祉施設に再就職する看護師へ転用可能な尺度へと発展させていきたい。超高齢社会を迎える 2025 年に向け、看護職者の需要は益々高まっており、病院だけでなく在宅や福祉の場においても再就職した看護師が活躍できるよう支援していきたい。

5. 社会に対するメッセージ

本奨励金を受け、研究のプロセスを一つ一つ丁寧に遂行することができ、自身の研究者としての実践力を積み上げることができたと思います。そしてこれを機に、益々、研究の幅を広げていきたいとモチベーションを上げることができました。

ご支援いただきましたことに感謝いたします。

HTLV-1 の持続感染が免疫老化制御機構に及ぼす影響と その病因的意義の解明

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	セジマ ヒロエ 瀬島 寛恵
所属等	株式会社フジワラテクノアート プロセス開発部 係長
プロフィール	ネバダ州立大学リノ校を卒業後、岡山大学医歯薬学研究科にて博士（医学）を取得。直後から川崎医科大学微生物学教室で助教を勤めた。 2019 年 4 月からは微生物の知識と研究経験を生かして、岡山にある醸造機械メーカーにおいて、醸造についての開発に携わっている。

1. 研究の概要

ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (Human T-cell leukemia virus type 1: HTLV-1) は、主に高齢者に難治性のがん（成人 T 細胞白血病：ATL）または慢性炎症性疾患（HTLV-1 関連脊髄症：HAM）を発症させるレトロウイルスである。本研究では、近年 T 細胞の老化制御に対する重要性が報告された「Menin-Bach2 経路」に着目し ① HTLV-1 感染が同経路に及ぼす効果、② 同経路の阻害または活性化が感染細胞の増殖・機能に与える影響、③ HTLV-1 感染者の臨床検体を用いた検証を行い、HTLV-1 感染が T 細胞の免疫老化プロセスに及ぼす影響と ATL または HAM 発症における病因的意義の解明を試みた。

2. 研究の動機、目的

HTLV-1 は T 細胞（特に CD4 陽性細胞）特異的に感染し、長い潜伏期を経て一部の感染者（約 5%）、主に高齢者に難治性白血病である ATL、または慢性炎症性疾患である HAM のいずれかを発症させる。近年、加齢に伴って免疫システムの老化、特に T 細胞機能の低下・劣化が進行し、個体の老化に大きく影響を受けることが報告された。この「免疫老化」と呼ばれる現象は、高齢者におけるがん、自己免疫疾患等の慢性炎症性疾患、さらには易感染性による感染症の増加につながると考えられている。一方、多発性内分泌腫瘍症 1 型 (MEN1) の原因遺伝子であるがん抑制遺伝子 *men1* の転写産物 Menin が、「免疫老化」に伴う慢性炎症性自己免疫疾患の発症にかかわる転写抑制因子 Bach2 を標的として制御すること、HTLV-1 の転写制御因子 HBZ が Menin の機能を抑制することが近年相次いで報告された。

そこで、本研究では「T 細胞を感染標的としている HTLV-1 は免疫老化の促進因子である」という仮説を立て実験的検証を行うことで、HTLV-1 関連疾患（ATL 及び HAM）の新規発症予防法・治療法開発につながる研究シーズの創出を目指した。

3. 研究の結果

① HTLV-1 感染が免疫システムの老化に関与する Menin-Bach2 経路に及ぼす効果
＜HTLV-1 感染・非感染ヒト T 細胞株における Menin および Bach2 の発現＞
Real Time RT-PCR およびウエスタンブロットにより Menin および Bach2 の発現を解析した。検討したすべての HTLV-1 感染 T 細胞株で Menin の発現を認めたが、Bach2 については発現している細胞株としていない細胞株があった（図 1）。

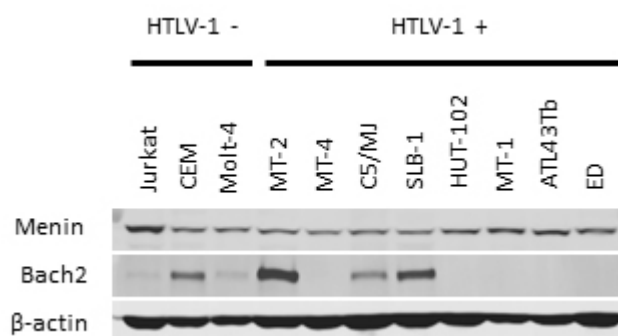


図 1 : HTLV-1 感染、非感染ヒト T 細胞株における Menin, Bach2 の発現 (ウエスタンブロット法)

<HTLV-1 の転写制御因子である Tax および HBZ と Menin, Bach2 との相互作用>

Tax および HBZ はいずれも HTLV-1 の転写制御因子である。Tax と Menin または Bach2、HBZ と Menin または Bach2 とのタンパク質間相互作用を共免疫沈降法で解析した (図 2)。Menin と Bach2 はいずれも HTLV-1 の転写制御因子である Tax および HBZ の双方と相互作用した。

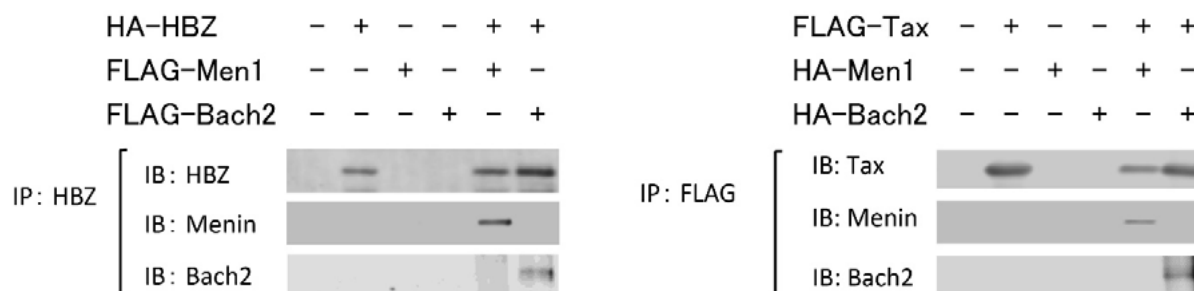


図 2 : HTLV-1 の転写制御因子 (Tax, HBZ) と Menin, Bach2 との相互作用 (共免疫沈降法)

② Menin-Bach2 経路の阻害が感染細胞の増殖・機能に与える影響

細胞増殖用培地 (RPMI1640+10%FBS) に Menin 抑制剤 (MI-2-2) $12 \mu\text{M}$ を添加して、HTLV-1 非感染 (Molt4) および感染 (MT2, SLB1) ヒト T 細胞株の増殖に与える効果を調べた (図 3)。Menin 阻害剤による細胞増殖抑制効果がある T 細胞株 (MT2) とない T 細胞株 (SLB1) があつた。現在、Menin 阻害剤の添加前後で各細胞株から RNA を抽出し、発現遺伝子の変化をマイクロアレイで網羅的に解析中である。

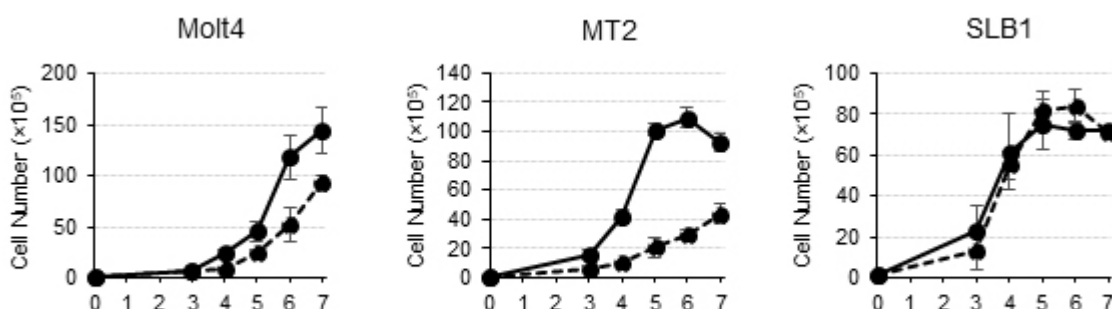


図 3 : Menin 阻害剤 (MI-2-2) が HTLV-1 感染細胞の増殖に及ぼす効果

実線 : MI-2-2 未添加 破線 : MI-2-2 添加 ($12 \mu\text{M}$)

Molt-4: HTLV-1 非感染ヒト T 細胞株 MT2, SLB1: HTLV-1 感染ヒト T 細胞株

<HTLV-1 感染 T 細胞株における Tax, HBZ, Menin, Bach2 の細胞内局在>

Menin阻害剤に対する細胞増殖抑制効果が異なるHTLV-1感染ヒトT細胞株 (SLB-1, MT2) について、Tax, HBZ, Menin, Bach2の細胞内局在を免疫蛍光染色法で解析した(図4)。MeninはMT2では核、SLB-1では細胞質に局在した。Bach2はいずれの細胞株でも細胞質に局在した。Taxはいずれの細胞株でも細胞質に局在した。HBZはいずれの細胞株でも核に局在する細胞と細胞質に局在する細胞とが混在していた。阻害剤に対する効果が異なる細胞株間でMeninの局在が相違することは、HTLV-1が両細胞株のMenin-Bach2経路に異なるアプローチで影響を及ぼす可能性を示唆している。

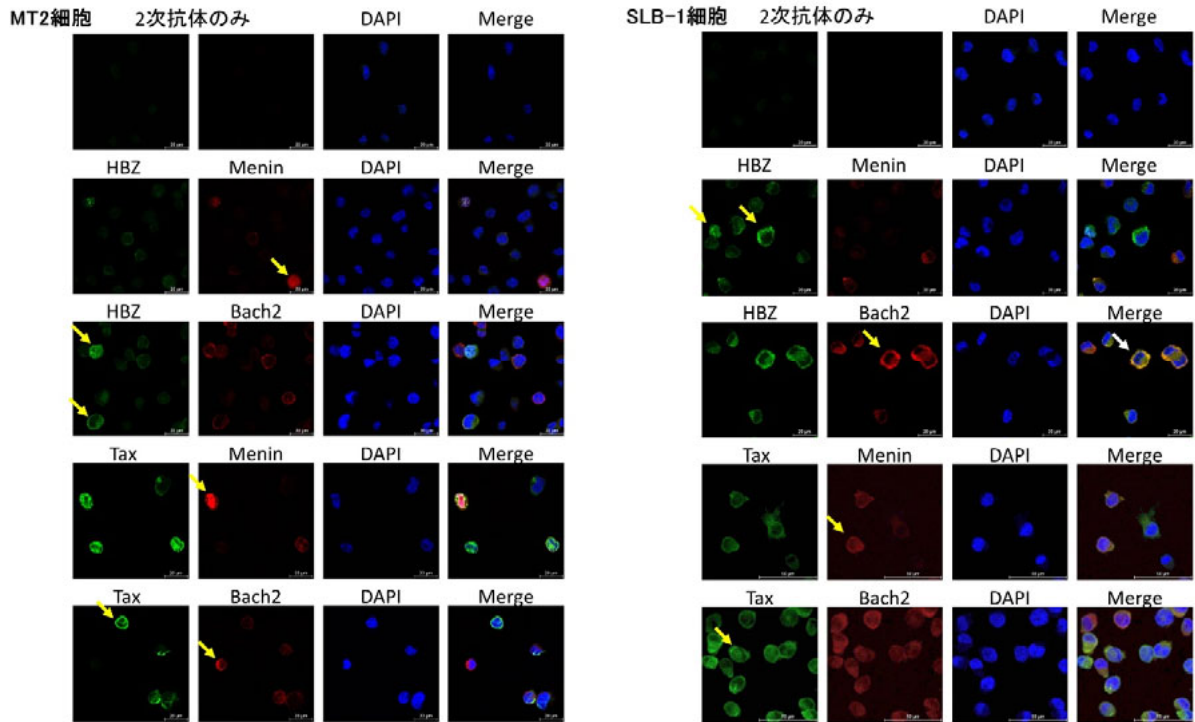


図4： Menin阻害剤に対する細胞増殖抑制効果が異なるHTLV-1感染ヒトT細胞株における Tax, HBZ, Menin, Bach2の細胞内局在

③ HTLV-1 感染者の臨床検体を用いた検証

HTLV-1感染者の末梢血単核球 (PBMC) におけるMenin遺伝子の発現がHTLV-1感染細胞数と逆相関することを見出した(図4: Spearman rank correlation analysis. $r = -0.42$ $p = 0.0056$)。

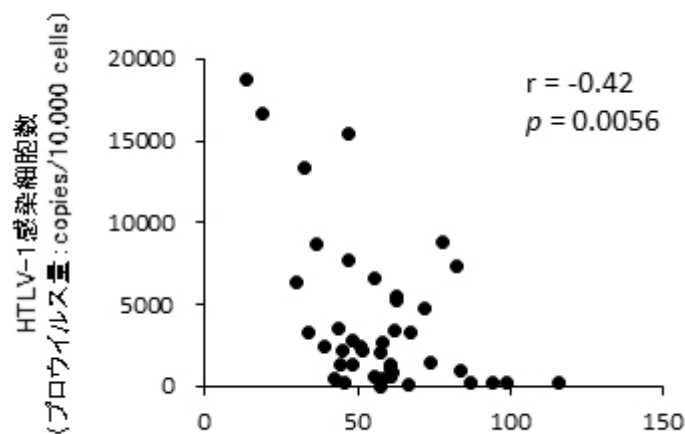


図 4： HTLV-1 感染者末梢血単核球中の Menin 遺伝子発現と HTLV-1 感染細胞数との逆相関

以上の結果は、HTLV-1がその標的細胞であるCD4陽性T細胞に感染してMenin-Bach2経路に影響を与えることで「免疫老化」によるT細胞機能異常をもたらし、HTLV-1関連疾患（ATL、HAM）の発症に関与する可能性を示唆している。

4. これからの展望

本研究により、ヒトの免疫細胞（T細胞）に感染するレトロウイルスによって、疾患の発症を予防する免疫システムの老化が促進される可能性が示された。さらに研究を進めることで「免疫老化」を促進する分子機構が解明できれば、その人為的制御によって老化を遅延させる方法が見つかる可能性もある。

今後とも、これまでの研究経験を生かして民間企業の研究開発に邁進し、公共の福祉に資する研究活動を続けていきたい。

5. 社会に対するメッセージ

我が国では、現在進行形で少子化による人口の急減と超高齢化が進んでおり、「働く人よりも支えられる人が多くなる社会」の到来が、国全体に及ぼす影響が深く懸念されている。現状のまま何も対策を打たなければ、超高齢化により医療のニーズが急増する一方で、少子化による生産年齢人口の急減で人手不足となり、医療業界における需要と供給のバランスが崩れることは必定である。さらに、近年市場に次々と投入され、保健適応となりつつある超高額医薬品が医療費の増加に拍車をかけることも避けられず、国民皆保険制度自体の存続も懸念されている。よって、健康で自立して生活できる高齢者を増やし、「現役高齢者が同世代を支える」ことを可能にする老化研究の重要性は増すばかりである。

今回、本奨励金により行った「免疫老化」研究の成果は、今後さらに発展させることで、高齢者がかかりやすいアルツハイマー病や糖尿病、脳卒中など、多くの老年病の予防・診断・治療につながるものと考えます。つまり、科学的根拠に基づいた方法で健康寿命（日常生活に制限のない期間）を延長する「夢」の実現に向けた一助となりうるかもしれない。

本研究を通じて、未知の領域に積極的に挑戦する姿勢、綿密な研究計画と基礎理論への理解の重要性を学ぶことができ、研究者としての成長を実感できた。大変感謝している。

家庭の食品ロスの実態と原因の解明 ー食品の下処理で発生する過剰除去に着目してー

研究者の所属・氏名等

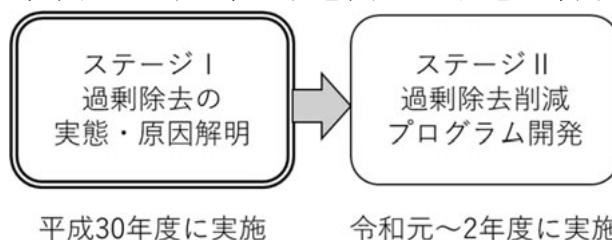
フリガナ 氏 名	ノノムラ マキ 野々村 真希
所属等	東京農業大学 国際食料情報学部 食料環境経済学科 助教
プロフィール	1986 年生まれ、京都市出身。京都大学農学部食品生物科学科卒業、京都大学大学院農学研究科生物資源経済学専攻博士課程修了、博士(農学)。大阪府立大学人間社会システム科学研究科研究員、安田女子大学家政学部生活デザイン学科助教を経て現職。これまで、家庭の冷蔵庫調査や消費者へのインタビュー調査等の手法を用いて、家庭の食品ロスを生む消費者の行動や意識を詳細に明らかにしてきた。

1. 研究の概要

食材の下処理の際に除去・廃棄される可食部「過剰除去」は、家庭の食品ロスの中で高い割合を占めるにもかかわらず、これまであまり注目されてこなかった。このような過剰除去を削減する効果的な方法を今後検討するために、本研究ではその前段階として、過剰除去の実態と原因の解明に取り組んだ。消費者を対象として調理行動観察調査、インタビュー調査を実施し、そこで得られたデータを分析した。その結果、まず過剰除去の実態として、にんじんのヘタなどの不可食部を除去する際にその付近の可食部が一緒に取り除かれる場合と、たまねぎの芯など、日本食品標準成分表では可食部とされている部分が除去される場合があることがわかった。次に過剰除去の原因としては、消費者の当該部分に対する不可食の認識や、食感が悪いなど好みの問題のほか、除去の手間を省きたいという意識、皮むき技術の低さなどがあることが明らかとなった。

2. 研究の動機、目的

廃棄される食品のことを日本では食品ロスというが、食品ロスは環境問題、食料問題を引き起こすとして、近年世界的に関心が高まっている。中でも日本を含む先進国では、家庭由来の食品ロスの割合が高く、その削減が大きな課題となっている。農林水産省によれば、家庭の食品ロスには、大きくわけて「食べ残し」「直接廃棄（賞味期限切れなどを理由に食卓に上ることなく廃棄されるもの）」「過剰除去（食材の下処理の際に除去される可食部）」がある。これらのうち過剰除去は、食べ残しや直接廃棄と比較してこれまで注目されることが少なかったが、家庭の食品ロスの 3 割から 5 割と高い割合を占めている。ではこの過剰除去を効果的に削減するためには、消費者に対しどのように働きかけていく必要があるだろうか。このような問題意識から、平成 30 年度より数年間かけて、過剰除去に関する一連の研究を実施することを計画した。この一連の研究とは、右図のように、まず過剰除去の実態・原因を解明し、次にその得られた知見に基づき、過剰除去削減プログラムを開発するというものである。平成 30 年度は、このうちの過剰除去の実態・原因の解明に取り組むことを課題とした。



3. 研究の結果

調査の実施

過剰除去については、発生量の把握は行われているが、どのような食品のどのような可食部が、どのような理由・事情のもと発生しているのかという点に関しては、これまでほとんど明らかにされていない。したがって本研究では、それらを質的調査により探索するところから始める必要があると考えた。そこで、消費者の自宅を訪問し、実際にその場で調理するよう依頼し、その調理行動を観察するとともに、調理時の除去・廃棄に関してインタビューするという調査を行った。被験者は広島県、岡山県、京都府に住む9名とした。



写真1:被験者の調理の様子

調査・分析の結果

【どのような食品のどのような可食部が除去されていたか】

にんじんのヘタや根端、たまねぎの表層、頭部、底盤部、ピーマンのヘタ、ジャガイモの皮などの不可食部を除去する際に、その付近の可食部が一緒に取り除かれていることが明らかになった。また、たまねぎの芯やにんじんの皮、大根の皮、なすの先端など、文部科学省の日本食品標準成分表では可食部とされている部分が除去される場合もあった。さらにこれらの意図的な除去だけでなく、調理器具上に食品のかけらが残るなどして、調理過程で非意図的に可食部が失われる場合もあった。



写真2:たまねぎ表層付近の可食部

【どのような理由・事情で過剰除去が除去されたか】

過剰除去の除去にはまず、当該部分に対して消費者が不可食、あるいはそれに近い認識を持っていることが影響していた。また、食感が悪い、汚れている、農薬が心配など、当該部分そのものを拒否し除去している場合もあった。また、飾り切りなど、作る料理によって除去する場合もあれば、その野菜の皮が特別固いなど食品の個体差が除去の要因になった場合、鮮度の低下した部分を取り除いた場合もあった。さらに、不可食部を手早く除去したいために可食部も含めて一気に除去した場合や、薄く皮むきをする技術がない場合もあった。



写真3:にんじんの皮

4. これからの展望

「2. 研究の動機、目的」で述べた通り、今後、過剰除去削減のためのプログラム開発へと展開することを計画している。具体的には、本研究で得られた結果を基に、消費者に働きかける内容を検討し、それを実際に消費者に対して試行し、その効果の評価、内容の修正を経てプログラムとして提案することを予定している。

本研究とその後のプログラム開発は、食品ロスの中の過剰除去に限定したものであるが、この一連の研究を土台に、将来的には食品ロス全体に視野を広げて、食品ロス削減のプログラムを検討したいと考えている。

5. 社会に対するメッセージ

国連サミットで採択された持続可能な開発目標（SDGs）において、食品ロスの半減が目標の一つに掲げられました。これを受け、近年、国内外で食品ロスに対する関心は急速に高まっています。行政や市民によって世界各地でロス削減の取り組みが進められている一方で、研究者にもエビデンスに基づいて効果的なロス削減の方法を提案することが求められています。この度、本研究に対するご支援をいただき、そのようなロス削減方法の検討のベースとなるエビデンスを得ることができました。この得られた知見を十分に活用し、今後、実社会での食品ロス削減に必ずつなげていきたい所存です。

この度の研究では、食品ロスの実態と原因について知見を得ることが目的ではありましたが、調査で実際に被験者の方々と会い話を聞く中で、本当に望ましい家庭の食品ロス削減の対策とは何かということについても深く考えさせられました。食品ロス削減の取り組みは、消費者の行動変化を促すものではあるものの、実践する消費者自身が辛くならない、むしろ楽しんで取り組めるものであることが重要ではないかと強く感じました。今後この視点も忘れずに研究を進めていきたいと考えています。

イオン輸送体を標的とした加齢性難聴発症機序の解明と 創薬応用

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	スズキ サリ 鈴木 沙理
所属等	株式会社サイバーコネクトツー
プロフィール	2015 年 3 月東京農業大学生物産業学研究科で博士後期課程卒業。博士後期課程所属中、東京都医学総合研究所および理化学研究所で研修生となる。その際、聴発症系統マウスの表現型解析と新規難聴関連遺伝子座を同定研究に携わる。博士号を習得後、東京都医学総合研究所で研究補助員として 2 年間就業した後、2017 年 4 月より福岡大学医学部薬理学助教に赴任。イオン輸送体を標的とした、加齢性難聴治療薬の開発研究に従事している。

1. 研究の概要

難聴は、世界的にみても患者数の多い感覚器疾患であり、国内の難聴患者は 630 万人以上と推定されている。難聴有病率は加齢に伴って上昇し、難聴患者の約半数は遺伝的な要因により発症することが知られているが、遺伝性難聴（加齢性難聴）に対して、人工内耳や補聴器の適応はあるものの、根本的な治療法や効果的な薬物療法は未だ確立されていない。申請者は、これまでに、難聴発症系統マウスの表現型解析と QTL 連鎖解析から新規難聴関連遺伝子座を同定するとともに、いくつかの関連遺伝子（*Cdh23*, *Fscn2*）の重要性を報告してきた。本研究では、さらに難聴発症機序を解明する目的で、加齢性難聴モデルマウス（*Cdh23* 機能低下マウス）と各種 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換輸送体（NCX）欠損マウスを二重交配したマウスを用いて、難聴発症における Ca^{2+} シグナル異常の病態学的意義の解明を目指し、以下の 3 項目の実験を行った。

（1）内耳蝸牛における各種 Ca^{2+} 輸送体遺伝子の発現およびの局在の検討（2）各種 NCX 欠損マウスの加齢に伴う聴力機能（加齢性難聴感受性）（3）内耳の形態変化観察。これらの結果より、NCX1、NCX2 および NCX3 はそれぞれ内耳蝸牛において異なる発現局在を示しており、蝸牛内の Ca^{2+} 輸送に個々に機能することが示唆された。また、聴力機能試験により、加齢性難聴モデルである C57BL/6J (B6J) マウスと比較して、各種 NCX 欠損マウスは、音刺激による感受性が異なることを見出した。本研究成果は、難聴の新しい治療法や新規創薬に繋がることが期待される。

2. 研究の動機、目的

多くの高齢者は加齢に伴い聴力が低下し、70 歳以上の高齢者のうち約 60%以上は何らかの聴覚異常をもつことが示されている (Pacala *et al.* JAMA, 2012)。加齢性難聴は内耳の機能障害を由来とした感音難聴であるが、内耳では、多様なイオンチャネルやイオン輸送体が局在・機能制御されており、それらは内リンパ液のイオン組成（濃度勾配）を巧みに調節している (Jentsch *et al.* Nat Cell Biol, 2004; Yamauchi *et al.* Equilibrium Res, 2009; Ceriani *et al.* Cell Commun Signal, 2012)。また、内耳蝸牛の内リンパ腔には内リンパ直流電位があり、音の機械的エネルギーを神経伝達のための電気信号に変換する駆動力として重要な役割を担っている。しかしながら、内リンパ液は細胞外組成にもかかわらず、高 K^+ 濃度で低 Ca^{2+} 濃度となる分子機序は未だ不明であり、さらに、難聴発症におけるイオンチャネル・イオン輸送体の病態生理学的意義についても明確でない。本研究では、*Cdh23* 点突然変異の報告がある C57BL/6J (B6J) マウス (Noben-

Trauth *et al.* Nat Genet, 2003) を加齢性難聴モデルとし、B6J (*Cdh23* 変異マウス) を遺伝的背景とした各種 Ca^{2+} 輸送体欠損マウス (*Ncx1*^{+/−}, *Ncx2*^{+/−} および *Ncx3*^{−/−}) を二重変異マウスとして用いて、加齢性難聴発症に関与する Ca^{2+} 輸送体を介した難聴発症機序を解明することを目的とした。

3. 研究の結果

まず初めに、内耳蝸牛における Ca^{2+} 輸送体の発現を確認するため、生後 3 日齢の内耳蝸牛から抽出した RNA を用いた real-time RT-PCR により、各トランスポーターおよびチャネル遺伝子の *Gapdh* に対する相対定量を行った。その結果、内耳において *Ncx1*, *Ncx3*, *Mcu*, *Trpc3*, *Trpc5* および *Trpc6* 遺伝子が他に比べて、多く発現していた (図 1)。

NCX は、哺乳類において NCX1~3 の 3 種類が存在し、それらが発現する臓器は異なる輸送体である。本研究結果は、内耳において NCX1 および 3 が特に高発現することを見出し、これらが内耳蝸牛で機能していることが示唆された。また、内耳において MCU が高発現していることも明らかとなった。MCU はミトコンドリアにおいて Ca^{2+} 単輸送体として機能することが知られている。ミトコンドリア機能の低下はアポトーシスを引き起こし、加齢性難聴の原因となることから、MCU が内耳においてミトコンドリアの品質の維持に機能し、その異常は加齢性難聴の原因となる可能性がある。TRPC1, 3, 5 および 6 は聴覚機能に関与することがすでに報告されており (Quick *et al.* Neurosci Lett, 2016)、TRPC3 および 6 は内耳蝸牛有毛細胞に発現している (Sexton *et al.* Open Biol, 2012)。しかしながら、それらは単独で難聴発症に効果を示さないため、他の分子との相互作用を介したネットワークにより作用することが示唆されている。

次に、内耳蝸牛における Ca^{2+} 輸送体の局在を確認するため、生後 4 ヶ月齢の B6J マウスから、免疫組織学的解析により蝸牛における各種 Ca^{2+} 輸送体の発現・局在解析を実施した。ここでは、図 1 の実験により高発現が確認された NCX1, 2, 3 に着目し検討を行った。その結果、内耳蝸牛の血管条、支持細胞、神経線維細胞およびラセン神経節細胞に NCX1 および 2 が局在していた (図 2a, b, e, f および d)。特に、NCX1 および 2 は内耳蝸内電位を維持する血管条に強く発現し、このことは血管条に発現していることが知られている Na^{+} - K^{+} ポンプのみでなく、NCX が存在しており、相互的に機能している可能性を示唆している (図 2a および b)。また、NCX1 は Ca^{2+} 依存性の音のシグナル変換機能をもつ有毛細胞においても強い発現が確認されたことから、有毛細胞においても機能することが示唆された (図 2a および d)。神経線維細胞およびラセン神経節細胞において NCX1 および NCX2 の局在が明らかになり (図 2a, f および h)、神経細胞から聴覚皮質へ伝達する過程において、 Ca^{2+} が重要な役割を担っていると考えられた。また、NCX1 および NCX2 は類似した局在を示したが、NCX2

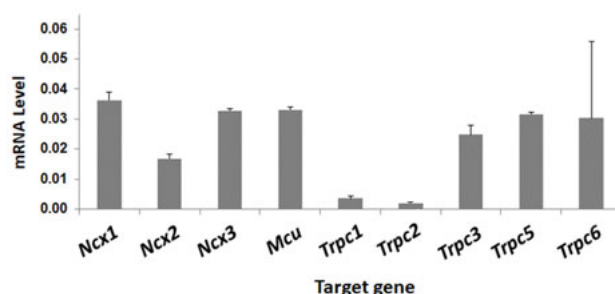


図1: real-time RT-PCRによる生後3日齢における内耳蝸牛に発現する各 Ca^{2+} 輸送体遺伝子のmRNA発現比較。

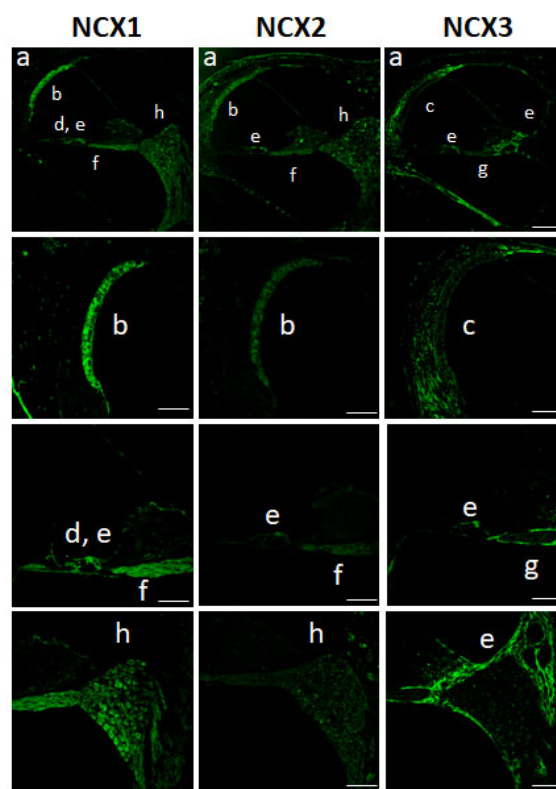


図2: 免疫組織学的解析による生後4ヶ月齢の野生型マウス(C57/BL6J)の内耳蝸牛における各NCXの局在。※ a: 蝸牛中回転全体図; b: 血管条; c: ラセン初帯; d: 有毛細胞; e: 支持細胞; f: 神経線維細胞; g: 骨ラセン板; h: ラセン神経節細胞 Scale bar: a: 100um; b, c, d, e: 50um

は NCX1 と比較して蝸牛における発現量が少なく、これは mRNA 発現の結果と一致した (図 1)。一方、NCX3 は NCX1 および NCX2 と異なり、ラセン靱帯、支持細胞および骨ラセン板に局在を示した (図 2a, c, e および g)。ラセン靱帯や支持細胞には、ギャップ結合タンパクが存在し、細胞間ネットワークが結成され、カリウムイオンのリサイクルに関与することが報告されていることから、NCX3 は Ca^{2+} 輸送体における細胞間ネットワークに関与する可能性がある。また、ラセン靱帯や骨ラセン板はラセン神経節細胞および神経線維細胞を囲っており、神経細胞においても NCX3 が Ca^{2+} 輸送に機能していることも予想される結果である。

次に、各種 NCX 欠損マウスの聴覚機能を調査するため、音刺激による反応を観察した。音刺激は、マウス個体に 2~8kHz の周波数において 90dB 以上の音刺激を 10 回与えた。対象区として、65~79 dB 以下の音刺激を 10 回与えた。マウスに与える機械的音刺激の反応を 0, 1, 2 および 3 にスコア化して記録した。また、各種 NCX 欠損マウスにおいて目視およびビデオ観測し、聴覚機能の有無を判定した。その結果、有意な差異は認められないものの、*Ncx1*^{-/-}マウスは加齢性難聴モデルである B6J マウスと比較して、低い反応スコアを示す傾向にあった。一方、*Ncx3*^{-/-}は B6J マウスと比較して、高い反応スコアを示した。このことは、NCX3 の欠失がマウスにおいて聴覚過敏を引き起こす可能性があることを示している。

さらに、マウス内耳蝸牛の組織形態を観察するため、生後 4 ヶ月齢の B6J マウスおよび *Ncx3*^{-/-}マウスにおける内耳蝸牛組織切片を作製し、HE 染色を行った。その結果、生後 4 ヶ月齢の加齢性難聴モデルである B6J マウスと *Ncx3*^{-/-}の間に、内耳蝸牛の血管条、有毛細胞、神経線維細胞およびラセン神経節細胞、他の部位の形態に差異は観察されなかった。

以上の結果から、NCX1、NCX2 および NCX3 は内耳蝸牛において異なる発現パターンを示し、蝸牛内の Ca^{2+} 輸送に個々に機能することが示唆された。各種 NCX 欠損マウスにおいて聴覚機能の欠損はみられなかったが、内耳蝸牛に Ca^{2+} 輸送体が存在しており、内耳蝸牛内の Ca^{2+} 輸送・循環や他のタンパクと相互的に機能していることが予想される。本研究において各種 NCX 欠損マウスが内耳蝸牛における Ca^{2+} 輸送体機能を解明する上での有用なモデルとなることが示唆され、本モデルを用いた研究結果は、内耳蝸牛の Ca^{2+} 輸送体をターゲットした創薬開発につながることを期待される。

4. これからの展望

本研究の聴力機能測定結果として、各種 NCX 欠損マウスにおいて有意な差は得られなかったものの、音刺激に対する感受性の違いが見られた。本研究において用いた音刺激による聴力機能測定は、検出感度が高い実験系ではないことから有意な差が見られなかった可能性がある。今後は、聴性脳幹刺激反応測定装置を用いた聴力測定を実施し、各種 NCX 欠損マウスの加齢性難聴モデルとしての有用性を実施していきたい。また、内耳蝸牛内 NCX を介した加齢性難聴発症の詳細な機序を、阻害薬実験や生化学的解析を実施することにより解明し、NCX の治療標的としての有用性を明らかにしていきたいと考えている。

5. 社会に対するメッセージ

女性研究者に対して支援が増えている中、これからの社会は女性が研究しやすい環境になっていくと思われます。このような支援が自分の描く研究テーマの第一歩となり、必ずしも成果が出なくても今後につながる重要な準備段階となります。また、研究者が自由に発想して挑戦する機会が増えれば研究者を目指しやすくなり、より日本の研究活動が活発になると思います。