

# 平成 26 年度研究費助成 研究成果報告書集

## 研究成果報告書 目次

- 被告人の主体的訴訟参加の意義について  
岡山大学 大学院 社会文化科学研究科 准教授 原田 和往 ..... 1
- オーロラキナーゼAが制御している遺伝子転写調節ネットワークの網羅的解析  
岡山大学 大学院 医歯薬学総合研究科 准教授 片山 博志 ..... 7
- 独自に開発した超高効率遺伝子発現プラスミドベクターの抗体大量産生系への  
応用を目指した基礎研究  
岡山大学 大学院 環境生命科学研究科 准教授 阪口 政清 ..... 11
- 自家骨に匹敵する早期骨修復能を備えた新規リン酸カルシウム人口骨の創製  
岡山大学 大学院 自然科学研究科 助教 小西 敏功 ..... 13
- 空気圧ゴム人口筋を用いた農作業支援用簡易型アシストロボットの機構開発  
岡山大学 大学院 自然科学研究科 助教 佐々木 大輔 ..... 15
- ニトロアルケンへの $\alpha$ -アミノ酸エステルのマイケル付加反応を鍵工程とする  
置換ピペラジノンの新規効率的合成法の開発  
岡山大学 大学院 自然科学研究科 助教 工藤 孝幸 ..... 19
- 新規血管新生阻害剤の合成と口腔癌および炎症性疾患領域における阻害効果の検討  
岡山大学 大学院 自然科学研究科 助教 萬代 大樹 ..... 25
- 電気的な反応点制御に基づいた集積的カップリング反応による有機半導体分子の探索  
岡山大学 大学院 自然科学研究科 准教授 光藤 耕一 ..... 29
- 江戸期の巨石樋門・倉水門の撤去に関わる記録保存および文献調査  
岡山大学 大学院 環境生命科学研究科 准教授 樋口 輝久 ..... 35
- 河川堤防の安全な維持管理のための総合的照査方法の確立  
岡山大学 大学院 環境生命科学研究科 助教 金 乗洙 ..... 37
- 国内希少野生動植物種スイゲンゼニタナゴの繁殖生態解明と保全技術の開発  
岡山大学 大学院 環境生命科学研究科 准教授 中田 和義 ..... 48
- GPGPUによる平面2次元浅水流モデルの高速演算に関する研究  
岡山大学 大学院 環境生命科学研究科 准教授 吉田 圭介 ..... 52
- 地質統計学と論理モデルに基づいた地質モデリングに関する研究  
岡山大学 大学院 環境生命科学研究科 助教 珠玖 隆行 ..... 58
- 分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ制御を分子基盤とした新規抗アレルギー  
性食品因子に関する研究  
岡山大学 大学院 環境生命科学研究科 准教授 中村 宜督 ..... 61
- 岡山市西川緑道公園における持続的なまちづくりに向けた実践研究  
—アメリカ・ポートランド市のB I Dと市民参加の国際比較—  
岡山大学 地域総合研究センター 助教 岩淵 泰 ..... 65
- オオムギの形質転換に必要なゲノム領域の同定  
岡山大学 資源植物科学研究所 助教 久野 裕 ..... 67
- 植物の生殖細胞におけるDNAメチル化動態に関する研究  
岡山大学 資源植物科学研究所 助教 池田 陽子 ..... 71

■ もち麦の品質向上を目指した植物色素合成メカニズムの解明 岡山大学 資源植物科学研究所 非常勤研究員 氷見 英子	..... 75
■ 小型半導体チップ型センサーによる土中水分量の計測手法の開発 岡山大学 廃棄物マネジメント研究センター 准教授 小松 満	..... 78
■ 自然薯のプロスタグランジンE2 合成系抑制による抗炎症・抗腫瘍効果 岡山県立大学 保健福祉学部 准教授 山本 登志子	..... 84
■ 「食品素材や化粧品素材」としての「高機能化ポリフェノール誘導体」の 環境に優しい「次世代型酵素的合成システム」の開発 岡山県立大学 保健福祉学部 准教授 中島 伸佳	..... 90
■ 上肢の運動制御における筋機能に着目した左右差に関する研究 岡山県立大学 情報工学部 助教 大山 剛史	..... 91
■ 小中学生の学力向上に貢献する運動・スポーツの条件に関する研究 ～持続的スポーツ競技と学習の集中力の関連性の検証～ 岡山県立大学 情報工学部 准教授 綾部 誠也	..... 95
■ 積層型金属スリットアレイの光学的性質とその応用 岡山県立大学 情報工学部 助教 徳田 安紀	..... 99
■ エネルギー保存を考慮した超高画質画像変換手法とその応用に関する研究 岡山県立大学 情報工学部 准教授 山内 仁	.....105
■ 実感を伴う水害用デジタル避難ガイドの開発 岡山県立大学 デザイン学部 講師 齋藤 美絵子	.....111
■ 建築家ジェフリー・バワの建築言語に関する研究 岡山県立大学 デザイン学部 教授 岩本 弘光	.....116
■ がん抑制遺伝子 REIC/Dkk-3 による表皮幹細胞のストレス応答制御機構の解明 岡山理科大学 理学部 准教授 片岡 健	.....121
■ 高効率な発光を目指した有機蛍光材料の開発 岡山理科大学 理学部 講師 岩永 哲夫	.....124
■ 情景画像と大規模点群の対応付けによる拡張現実指向GISの開発 岡山理科大学 工学部 教授 島田 英之	.....129
■ 航空レーザー測量データに基づいた大規模崩壊危険度評価手法の開発 岡山理科大学 生物地球学部 准教授 佐藤 丈晴	.....134
■ 自然科学的手法により備前焼のルーツを探るー邑久窯跡群の発掘調査からー 岡山理科大学 生物地球学部 教授 白石 純	.....140
■ 有害野生獣多頭捕獲檻のゲート閉鎖用遠隔制御装置の開発 津山工業高等専門学校 電子制御工学科 教授 鳥家 秀昭	.....146
■ 非同期式直列演算器に基づいた超低消費電力デジタル補聴器の開発 川崎医療福祉大学 医療技術学部 助教 近藤 真史	.....151
■ ICFを活用した在宅重症児(者)の生活実態・社会資源の調査 川崎医療福祉大学 医療福祉マネジメント学部 助教 三田 岳彦	.....157
■ HTLV-1 由来のHBZ 蛋白を標的とした新規HTLV-1 関連疾患の発症予防・治療法に関する研究 川崎医科大学 助教 塩浜 康雄	.....160
■ 創薬基盤のための後期エンドソーム内リン脂質ドメインの機能解析に関する研究 就実大学 薬学部 准教授 松尾 浩民	.....165
■ 高脂肪食摂取による肥満の形成は Gas6 阻害により制御できるか？ 倉敷芸術科学大学 生命科学部 講師 椎葉 大輔	.....169

■ ソーシャルビジネスの評価の在り方—インドの事例から社会開発へのインパクト測定をする 吉備国際大学 外国語学部 教授 橋本 由紀子	……………175
■ 油彩画、日本画、染色品に使用される色材の簡易分析法の開発 吉備国際大学 外国語学部 准教授 大下 浩司	……………181
■ パルミトオレイン酸誘導性心筋ミトコンドリア機能障害と性差の関連性 吉備国際大学 保健福祉研究所 准研究員 小柳 えり	……………187
■ アケビ由来発酵酵素液中に含まれる微生物の同定と機能性の検討 美作大学 短期大学部 教授 桑守 正範	……………192
■ 糖尿病性腎症モデルマウスを用いた Sfrp1 の病態的意義の解明 重井医学研究所 主任研究員 松山 誠	……………197
■ 3D レーザー測量を利用した斜面崩壊危険箇所抽出の開発 岡山大学 理学部 教授 鈴木 茂之	……………200
■ オープンソースライセンスでの 3D データ活用に関する調査研究 岡山理科大学 総合情報学部 講師 山根 信二	……………204

## 海外渡航報告書 目次

■ 岡山大学 大学院 自然科学研究科 助教 前田 千尋	……………210
■ 岡山大学 大学院 環境生命科学研究科 助教 西本 俊介	……………212
■ 岡山大学 大学院 環境生命科学研究科 准教授 永禮 英明	……………214
■ 岡山大学 大学院 環境生命科学研究科 助教 山本 ゆき	……………215
■ 岡山大学 資源植物科学研究所 准教授 杉本 学	……………217
■ 岡山県立大学 情報工学部 助教 瀬島 吉裕	……………219
■ 岡山理科大学 生物地球学部 准教授 大橋 唯太	……………221

## 被告人の主体的訴訟参加の意義について

岡山大学大学院社会文化科学研究科

原田 和往

(概要) 刑事手続の遅延等によって記憶の減退又は証拠の散逸等が生じ、被告人の主体的な訴訟参加が得られない場合の法的対応の要否及びあり方に関し、基礎理論的検討の基盤を確立するため、研究を実施した。本研究においては、被告人の主体的な訴訟参加を困難にする証拠散逸という事態につき、①被疑者・被告人の「防御権」又は「法的安定性」という視点からではなく、②裁判所の「事実認定」乃至「真実発見」という視点から考察を加えることとした。そして、まず、証明過程において証拠量の増減が与える影響につき、「解明度」という法学上の概念を用いて分析を加え、証拠量という問題が、証明基準とは異なる問題領域に属することを明らかにした。その上で、刑事裁判における証明の構造を分析し、そこに帰納的推論の過程が含まれることを示すとともに、帰納的推論においては、その時点の証拠群に照らし妥当と考えられる推論的判断であっても、新たな証拠・情報が付加される可能性如何により、その判断結果の確実性——すなわち、解明度——が異なることを明らかにした。

(本文)

### I はじめに

#### 1 問題の所在

わが国では伝統的に、「事案の真相解明」(刑訴法1条)とは、証拠によって認定された事実と、客観的真実との一致/対応の問題として捉えられてきた。ここでは、我々の主観から独立して諸事実は存在しており、それらを我々はありのまま認識することができる、という実在論及び認識論が前提となっている。

こうした立場にあっては、時の経過により証拠の散逸等が生じ、被告人の主体的な訴訟参加が得られない場合でも「事案の真相」を解明することはできるとして、法的に対応すべき必要性は乏しいことになる。現に、わが国では、この場合の法的対応のあり方に関する検討は充分には行われてこなかった。しかし、公訴時効の廃止により事件発生から長期間経過後に公訴が提起される事態が想定される現在の状況にあっては、上記の問題領域の理論的検討が必要不可欠であると考えられる。

#### 2 検討の視点

被告人の主体的訴訟参加を困難ならしめる証拠散逸という事態に対しては、①被疑者・被告人の「防御権」又は「法的安定性」という視点からのアプローチと、②裁判所の「事実認定」乃至「真実発見」という視点

からのアプローチが考えられる。このうち、本研究においては、②の事実認定に関する視点からのアプローチを用いる。先般の公訴時効の一部廃止に係る法改正をめぐる論議においては、①被疑者・被告人の防御権に関する視点を重視する立場から、慎重意見乃至反対意見がみられた。しかし、科学的技術が発達し、DNA型鑑定による個人識別の精度が飛躍的に向上した現代においては、時の経過により証拠の散逸という事態が生じたとしても、DNA型鑑定によって犯行又は犯人と被告人とを強く結びつけ、正しく刑事責任を追及することができる、との論調が多数を占めた。そして、現に、横浜池判平成24年7月20日は、事件発生後から9年後に起訴された強姦殺人事件において、被害者は死亡しており、目撃者もおらず、被告人は否認・黙秘しているという利用可能な証拠が著しく制約された状況にあって、裁判所は、「DNA型がすべて一致する人物は4兆7000億人に1人という出現頻度」等に言及し、DNA型鑑定の結果を唯一の根拠として、被告人の犯人性を認める判断を示している。

この事例は、公訴時効の一部廃止に肯定的な論者が想定していた類のものであり、今後、証拠の散逸による被告人の積極的な訴訟参加が困難乃至不可能であることが問題となるひとつの典型例といえる。上記の事例も含め、如何に科学的技術が進歩しようとも、DNA

型鑑定自体の可謬性について慎重な姿勢が求められるのは言うまでもないが、量的に乏しい証拠によって、「合理的な疑いを超える証明」という刑事裁判の厳格な証明基準を超えるように思われる証明がなされる場合があることは否定できない。この場合に、①被疑者・被告人の防御権又は法的安定性という視点を持ち出しても、先の公訴時効の改正論議の時と同様、結局は、「事案の真相を正しく把握し、刑事責任を追及することができる事件」について、国家刑罰権の行使を阻むことは適当ではない（法務省「凶悪・重大犯罪の公訴時効の在り方について」16頁（2009年））、との意見に対して、説得的な議論を展開することができるとは思われない。①被疑者・被告人に係る視点を持ち出すとしても、その前提として、時の経過による証拠の散逸という事態が、刑事手続に看過し得ない影響をもたらすことを明らかにし、当該事態が一定の法的対応を要請するものであることを示す必要があると考える。そこで、本研究においては、②裁判所の「事実認定」乃至「真実発見」という視点から、問題を分析することとした。

なお、証拠の散逸に関しては、先の公訴時効の一部廃止を受けて、この問題を、合理的な疑いを超える証明という証明度乃至心証度において考慮する試みがみられる。例えば、「合理的疑いを入れない程度の証明がなされたかどうかは、長期間の経過による記憶の変容などの証拠の劣化、被告人側における長期間経過による反対証拠の収集の困難性などにも十二分に配慮」すべきとの主張、あるいは「防御側の主張・立証については、むしろ時間の経過を考慮した緩やかな評価がなされなければならない。例えば、十分な具体性や裏付けを欠くアリバイ主張も、時間の経過に照らしてやむを得ないと認められる場合には、争点の形成に足りるとされてよい。その場合、訴追側が反証できなければアリバイが認定されることになる」との主張である。

これらが、公訴提起までに長期間を要した場合に、個別の対応の必要性を認める点は支持できる。しかし、証拠収集の困難性等の事情を、証明度乃至心証度において考慮することができるであろうか。例えば、DNA型鑑定に関して、資料の全量費消により再鑑定が不可能であるという場合に、裁判所が、再鑑定が実施不可

能であるという事情をもって、当初の鑑定書の証拠能力を制限する、証明力を一定程度減殺する、再鑑定請求者の主張を裏付けなく肯定する等の対応が要請される、というのが一般的とも思われない。ところが、これに、当初の鑑定から公訴提起、再鑑定の請求までに長期間が経過したという事情が付け加わると、途端に、一定の対応が要請される、というのは、容易には賛同し難いであろう。むしろ、これら証拠の散逸という事態は、一次的には、心証の問題ではなく、その基礎となる情報の外在的制約の問題ではないかと考える。

そこで、本研究では、訴訟上の証明の過程において、証拠の量を測るものとされる解明度という考え方の、刑罰法領域への応用可能性を検証することとした。

## II 証明過程における証拠量の意義

### 1 解明度

民事訴訟法の領域において、「解明度」という概念を普及させたのは、太田勝造『裁判における証明論の基礎』の功績とされる。裁判における証明に関しては、一般に、事実の認定に必要とされる証明の程度・基準に関する「証明度」、及び具体的事実について得られた証明の程度に関する「心証度」という概念が用いられる。太田は、これらとは別に、審理結果の確実性を指すものとして「解明度」という概念を提唱する。前二者が、事実の存否を認定するために到達すべき証明の程度に関するものであるのに対し、審理結果の確実性に係る解明度とは、証拠調べを尽くした程度であり、今後更に証拠調べをしたとしても心証度が変動しない度合いを意味する。

その意義は、事例を用いて次のように説明される。すなわち、「(a) 原告 X は A 市で赤いバスに追突されてけがをした。」「(b) 事故当時 A 市内のバスは数社が運行していたが、赤いバスのうちの 90%は被告 Y 社の保有であった。」とする。A 市内の赤いバスが Y の所有である客観的（統計的）蓋然性・確率は 90%であるため、X を加害した赤いバスが Y の所有であったということの確率は、裁判官にとっても 90%となる。しかし、X が (a) (b) のみを主張立証した段階（以下、「 $\alpha$ 段階」とする）で、X が Y 所有のバスによって傷を負ったと認定する裁判官はいない。むしろ、裁判官として

は、①目撃者、②Y社のバスの修理についての調査、③事故当日のY社等のダイヤグラム、④その他予想される証拠の有無や証拠調べ等を尽くすまでは、事実についての確信を持たないのが一般的である。誤判の危険の点では、90対10の割合で、認定した方が誤りの可能性が少ないといえるが、 $\alpha$ 段階では、判断の機が熟したとは考えられないのである。

これに対し、X、Yが①から④等の主張立証を尽くした段階（以下、「 $\beta$ 段階」とする）を考えてみる。この場合、①から④については、Xに有利な証拠も、Yに有利な証拠も出てきうるから、心証度（証明主題の蓋然性）が $\alpha$ 段階よりも高くなっているとは限らない。しかし、最終的な心証度は $\alpha$ 段階と変わらなかったとしても、裁判官は迷わず事実認定をするであろう。両者を比較すると、心証度が殆ど同じでも、 $\alpha$ 段階では、新たな証拠で覆される可能性は大きい、 $\beta$ 段階では証拠調べを尽くしているから新たな証拠で覆る虞は少ない。つまり、心証度が同じでも、解明度が異なるのである。

このように、「解明度」とは、十分に証拠調べ・事実審理を尽くした度合いであり、新たな証拠で証明主題の蓋然性が変動することのない程度をあらわす概念である。証明度・心証度が証明主題の存否の判断に直接関係するのに対し、解明度は、証明主題の存否の判断についての判断——すなわち、現在、利用可能な情報で、判断することの適否についての判断、判断の時期についての判断——であるともいえる。

この解明度という考え方については、発表直後から高い評価を得たが、その主張が全面的に承認されているわけでもない。その原因のひとつは、同概念が、『訴訟力裁判ヲ為スニ熟スルトキ』ハ裁判所ハ終局判決ヲ為ス」旨を定めた旧民法182条（現243条）の解釈論として展開されたことにある。

赤バス事例における $\alpha$ 段階と $\beta$ 段階の差異が示すとおり、解明度は、「裁判ヲ為スニ熟スルトキ」との文言の解釈にあたって有用であるとはいえる。しかし、「証拠はまだ残っていても、既に調べた分だけで十分に心証がとれれば、つまり解明度不十分でも証明度に達していれば」、判決は可能であるため、「裁判ヲ為スニ熟スルトキ」の定義にとって解明度が必要不可欠という

わけではない。また、あらたに証拠調べをすれば心証が変動する可能性があると思えば、裁判官としては、容易に事実の存否が高度の蓋然性を持って証明されたという心証を形成することはない。そのため、解明度は、結局のところ、証明度乃至心証度の中に溶解することになる、として、その実践的な意義を疑問視する向きもある。

しかし、これらの消極的評価は、解明度それ自体ではなく、それを用いた民法243条の解釈論に対するものである。近時のある体系書において、今後、発展させていくべき注目すべき異説と評されているように、解明度の評価としては、わが国の民訴法学において一定程度定着をみている。同概念は、理論的な有用性は承認されているものの、実践的な課題への応用展開が期待されている段階にあるといえる。

## (2) 信頼度との比較による解明度の意義

解明度の内実をより明確にするためには、ほかの類似の概念との差異を確認しておくことが有用である。そこで、解明度と同様に、証明度や心証度とは異なるものとして新たに提唱された信頼度という概念を取り上げることにはしたい。

信頼度は、心証度の確実性を意味する概念であり、自己の心証に対して裁判官が持つ信頼性を指す。心証度と信頼度の関係は次のようなモデルで説明される。すなわち、「中が見えない大きな桶の中に大量の白石と黒石が入っているとする。そこから無作為に50個の石を取り出したところ、白が30個で黒が20個であったとする。この場合、この桶の中に入っている白石の比率を60%と推定することができる。他方、同じように無作為に10万個の石を取り出した結果、白が6万個で黒が4万個であったとしても、白石の比率を60%と推定することができる。いずれの場合でも、心証の程度である心証度は異ならない。しかし、推定の基礎となった情報が大きく異なるため、推定の信頼性は大きく異なる。」すなわち、同じ推定値60%といっても、統計学的には、区間推定の概念により、第一の例では、その値は46%から74%まで28%の幅を有するのに対し、第二の例では、59.7%から60.3%まで1%の幅に収まる。

このように、信頼度とは、心証度と同じく、心証の

状態を表す。そして、心証度と同一の次元にあり、その上限下限を上下に変動させる従たる概念である。

これに対し、解明度というのは、心証の問題ではなく、現実に存在する証拠の量という外在的な制約である。心証度の確実性の程度は、その基礎となる情報の質や量に応じて異なる。一定の量の情報を必要とするという点では、解明度と信頼度とは共通している。しかし、たった一つの証拠に基づく推論でも、裁判官が自己の心証に確信を持つことができれば、解明度は低くても、信頼度は高いといえるが、他方で、関連性のある証拠の取調べを尽くし、解明度が高い状態でも、それらの証明力が乏しければ、裁判官はその心証に確信を持っていない。このように両者は異なる概念である。

## 2 英米証拠法における”Weight of Evidence”

本研究では、解明度という概念の意義を明確にするため、これと類似の考え方といえる”Weight of Evidence”（以下、「証拠の重み」という）という英米証拠法の議論に関する比較法的調査を行った。

これは、経済学者のケインズの確率に関する考え方に着想を得た、イギリスの哲学者であるローレンス・ジョナサン・コーエン (L. J. Cohen) によって、法学の領域に持ち込まれた議論である。1921年に公開されたケインズの著書に、次のような記述がある。

「手元の証拠が増加したとき、確率の大きさは、その新しい知識が不利な証拠を強めるか、有利な証拠を強めるかによって、強まりもするし弱まりもする。しかし、どちらの場合でも何かが増加している——我々の下す結論が依拠する基盤はより強固になっている。これを『推論の重み (the weight of argument)』と呼ぶことにしよう。新たな証拠は、推論の蓋然性を弱めることもあるが、常に『重み』を付け加えている。『重み』とは、いわば、有利不利を含めた証拠の総量を図る尺度である。」(ケインズ (佐藤隆三訳) 『確率論』82頁 (東洋経済新報社, 2010年) (一部訳を改めた))。

これに着想を得たのが「証拠の重み」という考え方である。確率が有利な証拠と不利な証拠の差に依拠するのに対し、「証拠の重み」は、証拠の完全性に依拠する。証拠調べが進めば、証拠の重みは増え、証拠の完全性の度合いが増す。しかし、これに応じて、心証度が増えるとはかぎらない。

ある主張が真実であるときにかぎり、一定の行動をとることが要請されるという場合、利用可能な情報の説得力によって、当該行動の採否は判断される。これは、証明度乃至心証度の問題である。これとは、別に、当該判断を現時点で行うか、更なる情報の収集を待つか、という判断もある。つまり、判断の時期に関する判断であり、「証拠の重み」は、これに関係するものである。

「証拠の重み」と解明度は、証明度・心証度とは別個独立の、証拠の量という外在的制約を問題にする点で、機能的共通性があるといえる。しかし、「証拠の重み」という概念を提唱したケインズ自身も、その実践的意義については疑問を呈しており、現在、英米の証拠法学において、この点が議論の焦点となっている。そこで、本研究では、次に、「解明度」及び「Weight of Evidence」について、裁判における証明の構造との関係で、その実践的意義を分析することとした。

## III 裁判における証明構造と、解明度

### 1 間接証拠による証明と、直接証拠による証明

(1) 構造 刑事裁判における証明は、間接証拠による場合と、直接証拠による場合とに大別される。間接証拠と直接証拠とは、要証事実(刑罰権実現の根拠となる起訴状記載の「公訴事実」と証拠との関係によって区別される。直接証拠とは、要証事実の存在を直接証明する証拠のことをいい、犯行状況や犯人性に関する目撃者の供述、被害状況や犯人性に関する被害者の供述等がこれに含まれる。これに対し、間接証拠とは、主要事実の存在を推認させる事実である間接事実を証明する証拠のことをいう。

例えば、起訴状記載の公訴事実が「被告人 X は、平成 26 年 4 月 1 日午後 10 時頃、岡山市内の公園において、被害者 V の左胸部をナイフで刺して殺害した」という殺人被告事件において、X が黙秘乃至否認しており、被告人 X と起訴された殺人被告事件の犯人の同一性(犯人性)が争点となっているとする。

W1 が証人として尋問され、「犯行日時頃、公園を歩いていると、X が V の左胸をナイフで刺すところを目撃した」と証言したとする(W1 証言)。この証言を信用することができれば、直ちに「X が犯人である」との

要証事実を認定することができる。これが、W1 証言という直接証拠による証明の例である。

これに対し、W2 が証人として尋問され、「犯行日時頃、公園を歩いていると、A が植え込みから突然出てきて、慌てた様子で走り去るのを目撃した。不審に思っ、植え込みの近くまで行ってみると、そこには V が左胸から血を流して倒れていた」と証言したとする (W2 証言)。W1 とは異なり、W2 は、X が殺人を行うところを目撃したわけではないから、W2 証言から直ちに「X が犯人である」と認定することはできない。しかし、W2 証言によっても、「X が犯行直後に犯行現場にいた」との事実を直接証明することができる。そして、「犯行直後に犯行現場にいた人物は犯人である可能性が高い」との経験則によれば、「X が犯行直後に犯行現場にいた」という事実 (間接事実) から、「X が犯人である」ことを推認することができる。これが、W2 という間接証拠による証明の例である。

上記の直接証拠による証明と、間接証拠による証明とは、論理的には、前者は演繹的推論、後者は帰納的推論にそれぞれ分類されるものである。

演繹的推論の特徴は、

①前提の真偽に関わりなく、一度それを前提として認めれば、一定の結論が必然的に導かれる

②演繹的推論における結論は、背景的知識を含めた前提の中に含まれているものを引き出すだけのもにすぎず、前提が真ならば、必ず結論も真であるという性質 (真理保全性) があるが、その推論結果は前提に新たな情報を付け加えるものではない

③演繹的推論における結論は、前提が含むものだけを導出するものであるから、前提に新たな情報が追加されても結論は不変である、

という点にある (近藤洋逸=好並英司『論理学入門』156 頁 (岩波書店, 1979 年), 戸田山和久『科学哲学の冒険』51 頁 (NHK 出版, 2005 年) 参照)。

W1 証言という直接証拠による証明の場合、「X が V の左胸をナイフで刺すところを目撃した」という前提を真とするならば、「X が犯人である」という結論も真である (①)。ここでの結論 (認定) は、その前提 (W1 証言という直接証拠) に含まれている情報を引き出したにすぎず、新たな情報を付け加えるものではない

(②)。また、例えば、X に V を殺害する動機があるか否か、という点は、前提 (W1 証言という直接証拠) を真とするならば、結論を左右するものではない (③)。

したがって、直接証拠による証明は、論理的には、演繹的推論の構造をとることになる。

これに対し、間接証拠による証明は、帰納的推論の構造をとる。帰納的推論の特徴は、

①前提と結論との間に必然的連関がない

②帰納的推論における結論は、前提には含まれていなかった情報を新たに付け加えるものである

③帰納的推論では、前提に新たな情報がつけ加わると、その結論が大きく動揺する、という点にある。

W2 証言という間接証拠による証明の場合、「X が犯行直後に犯行現場にいた」との前提と、「X が犯人である」との結論との間に必然的連関はない。この結論は、前提から、前記経験則を媒介にして、蓋然的に導かれる (「可能性が高い) ものにすぎない (①)。ここでの結論は、その前提 (W2 証言という間接証拠) に含まれている情報を引き出すものではなく、経験則を介して、新たな情報を付け加えるものである (②)。そして、例えば、「X には V を殺害する動機がない」という新たな情報が前提として追加されると、「X が犯行直後に犯行現場にいた」との前提が真であるとしても、その結論は大きく動揺することになる (③)。

(2) 解明度との関係 上述したところから明らかなように、間接証拠による証明の場合、前提に新たな情報がつけ加わると、その結論が大きく動揺する機能的推論の構造をとるため、解明度の高低如何は、審理結果の確実性に大きな影響を与える。冒頭に示した横浜池判平成 24 年 7 月 20 日も、DNA 型鑑定的一致という前提から、「DNA 型がすべて一致する人物は 4 兆 7000 億人に 1 人という出現頻度」という経験則を介して、「被告人が犯人である」との結論を帰納的に推論したものである。が、この結論は、「被告人以外に、DNA 型がすべて一致する人物が他にもいる」との新たな前提が追加されることによって、容易に動揺する。DNA 型鑑定という証拠による証明が如何に強力であったとしても、それに基づく審理結果の確実性は非常に低いのである。このように、間接証拠による証明の場合には、その証



明構造上、最終的な推論的判断（審理結果）の確実性を図るために、解明度という観点をを用いる実践的意義がある。

## 2 証明力判断における帰納的推論

解明度という観点は、間接証拠による証明にとどまるものではなく、直接証拠による証明との関係でも実践的意義を有する。

W1 証言という直接証拠による証明の場合、上述のとおり、それによってもたらされる「X が V の左胸をナイフで刺すところを目撃した」という前提を真とするならば、「X が犯人である」という結論も真となる、という演繹的推論の構造をとる。そのため、この場合は、W1 証言の真偽の評価（前提が真か否か）が結論の真偽を左右する重要なものとなるが、この評価（証明力判断）は、帰納的推論の構造をとる。

W1 証言を評価するにあたっては、例えば、「偽証罪による制裁のもとで行われた公判廷証言は信用できる」等の経験則を用いることになる。しかし、例えば、「W1 と X とは友人で、昔からよく知っている」場合と、「W1 と X とは、仕事の上で付き合いのある知人にすぎず、最近顔は合わせていない」場合とでは、当然のことながら、その評価は大きく異なる。W1 証言は、「偽証罪による制裁のもとで行われた公判廷証言であり、W1 と X とは昔からの友人である」から、その証言は信用できる、との推論的判断に至ったとしても、そこに新たに「金銭をめぐるトラブルから、W1 と X の関係は、近時は非常に陰悪である」、「W1 が X を目撃したとする地点には、照明器具が設置されていない」等の情報が追加されれば、その判断は大きく動揺する。これは、当初の裁判で証拠とされた自白が、後に過酷な取調べによって得られたものであることが判明し、再審で虚偽の自白である、と評価される場合があることにも示されている。

直接証拠による証明の場合、全体的な証明の構造は演繹的証明であり、その最終的な推論的判断が前提の変化に左右されない点で、間接証拠による場合とは異なる。しかし、個々の証拠評価に際しては、直接証拠による証明の場合でも、帰納的推論が用いられるため、その証拠の真偽評価との関係で、解明度の高低如何という観点が実践的な意義を有すると考えられる。

そして、解明度と審理結果の確実性との関係を、証拠の散逸という問題状況の中で捉えるならば、時の経過等により証拠が散逸した場合には、推論の前提として利用可能な証拠が制約されるため、総体的に解明度が低下した状況にあるといえる。この場合、現在利用可能な証拠から、法的に要求される証明度を超える証明が可能であるとしても、証拠が散逸していない場合に比べ、その推論的判断の確実性は相対的に低下している。

この点、刑事訴訟法は、事実認定の不当を救済するために、再審制度（刑訴法 435 条）を設けている。そのため、無罪等を言い渡すべき証拠があらたに発見された場合には、帰納的推論に内在する誤りは是正される。しかし、時の経過による証拠が散逸している場合には、無罪等を言い渡すべき証拠があらたに発見される可能性は著しく制約されており、この救済手段が十分には機能しないという問題がある。

## IV 結びに代えて

以上、本研究では、証拠の散逸という問題について、証拠の証明力ではなく、証拠の量を問題とする解明度という概念に着目し、類似の概念との比較を通じて、その内実を明らかにした。その上で、刑事裁判における証明の構造を分析し、裁判において帰納的推論が用いられる場面において、その推論的判断の確実性を図るものとして、解明度という観点が有用であることを明らかにし、その実践的意義を示すことを試みた。本研究の成果については、その一部を「公訴時効制度に関する実体法説的説明について」岡山大学法學會雑誌 64 巻 2 号 41 頁（2014 年）として公表している。

本研究では、証拠の散逸という事態が、刑事裁判における証明の過程において、審理結果の確実性を低下させるという影響をもたらすことを明らかにした。しかし、証拠の散逸という事態は、現実には不可避的であり、常に裁判において質の高い証拠が豊富に提出されることを期待することはできない。そのため、審理結果の確実性の低下が懸念されるすべての場合に、法的な対応が要請されるということもできない。この点は、法的対応の根拠となる規範の検討と合わせて、今後の研究課題としたい。

## オーロラキナーゼ A が制御している遺伝子転写調節ネットワークの網羅的解析

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 分子腫瘍学分野

片山 博志

多種の腫瘍で高い発現が認められる癌遺伝子産物オーロラキナーゼ A の生理的な役割として、細胞分裂期の紡錘体極と紡錘体に局在し、染色体均等分配を保証する両極性紡錘体形成やスピンドル損傷チェックポイント応答を調節する作用が広く知られている。興味深いことに、腫瘍の免疫染色からオーロラキナーゼ A は核内にも局在していることが示されているが、その核内機能についてはほとんど明らかにされていない。我々はこれまでにオーロラキナーゼ A の核内局在が細胞周期の G2 期に起きることを確認していたため、オーロラキナーゼ A は細胞周期進行に関わる遺伝子群の転写調節に関わるのではないかとの仮説を立て、オーロラキナーゼ A が相互作用する転写因子の同定と機能解析を試みた。その結果、オーロラキナーゼ A は転写因子 X (仮称) と直接結合すること、オーロラキナーゼ A によるリン酸化は転写活性に影響を及ぼすことを見いだした。今回の発見は、オーロラキナーゼ A が腫瘍においても特異的な遺伝子の転写制御を行っている可能性を示唆し、その解明はオーロラキナーゼ A により誘導される細胞癌化の全貌を理解する上で重要である。

## 1. はじめに

オーロラキナーゼ A は、細胞分裂期の紡錘体極と紡錘体に局在し、Bora, Cdc25B, TPX2 などの分裂期調節因子と相互作用することで、G2/M 期進行、中心体成熟や両極性紡錘体形成など染色体の均等分配に重要なプロセスを調節している (1)。他方、乳癌や卵巣癌などの腫瘍では高発現しており、ゲノムの守護神である p53 ファミリー蛋白質や BRCA1, 2 など癌抑制蛋白質の機能を抑制したり、反対に Akt や NF- $\kappa$ B などの癌化促進タンパク質の活性を増幅する働きがある。その結果、中心体増幅を伴った染色体不安定性や癌発症が促され、既存の癌治療薬に対する耐性獲得につながっている (2)。このことから、オーロラキナーゼ A は単なる予後因子としてだけでなく、癌治療の標的遺伝子として近年注目されている。現在までにキナーゼ活性を特異的に阻害する ATP 競合型阻害剤が数多く開発され、臨床試験の結果から、造血系腫瘍に著効であることが示されている (3)。

上述のようにオーロラキナーゼ A の細胞内局在は分裂期で特に顕在化するが、腫瘍の免疫染色では核への蓄積がより顕著に検出される (4, 図 1A)。また、この核内蓄積は腫瘍の悪性度と正の相関関係に

あることが報告されている (5)。しかしながら、オーロラキナーゼ A の核内での機能的役割については現在のところ不明なままである。我々は、正常乳腺上皮由来 MCF-10A 細胞と細胞周期を同調した子宮頸癌由来 HeLa 細胞の免疫染色から、オーロラキナーゼ A が正常細胞の核にも局在することと細胞周期の G2 期から核膜崩壊にかけて核内に蓄積することをこれまでに見いだした (6, 図 1B)。

G2 期は、M 期の染色体分配や細胞質分裂など非常にダイナミックなイベントに備えるため、関与する一連の蛋白質因子群の遺伝子発現が盛んになる時期である。そのため、さまざまな転写因子がリン酸化やアセチル化などの翻訳後修飾を受け活性化される。これまでに報告されているオーロラキナーゼ A 結合蛋白質の中には転写因子が複数含まれている。これらのことから、我々は、核内に局在しているオーロラキナーゼ A が G2-M 期進行に関わる遺伝子群の転写調節を司る未知の転写因子の活性をコントロールしているとの仮説を立て、その検証を試みた。

## 2. 結果

A. オーロラキナーゼ A の細胞周期遺伝子の転写調

## 節への影響

図1に示すようにオーロラキナーゼAは、正常細胞と癌細胞の核内に局在しており、特にHela細胞ではG2期の細胞に蓄積することが我々のこれまでの研究から明らかになっている(6)。

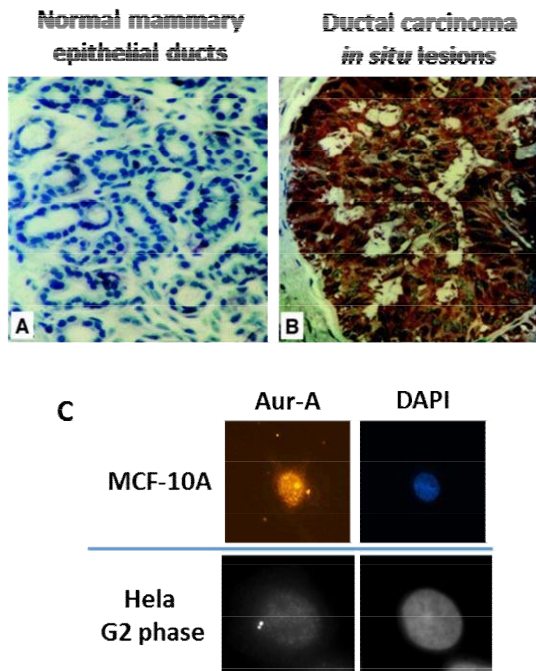


図1 オーロラキナーゼAの細胞内局在

まず初めにオーロラキナーゼAの活性が、G2-M期進行に関わる遺伝子群の転写調節に影響を与えるか否かを調べた。ダブル・チミジン・ブロック処理により細胞周期をG1/S期に同調したHela細胞を、オーロラキナーゼA特異的阻害剤MLN8237を含む培養液で6から7時間培養し、G2期の細胞を効率的に集めた。コントロールは阻害剤を含まない培養液にて同時間培養した。これらの細胞から抽出したmRNAからcDNAを合成した後、G2-M期進行に関与する代表的な遺伝子であるサイクリンB1とポロキナーゼ1(PLK1)のmRNA発現量を、それぞれに特異的なプライマーとCyberGreenを用いてreal-time PCRにて定量的に測定した。その結果、阻害剤処理した細胞では、測定した全ての遺伝子の発現量が、コントロールと比較して有意に低いことが分かった(図2)。このことは、G2-M期においてオーロラキナーゼAのキナーゼ活性が、転写調節に重要であることを示している。

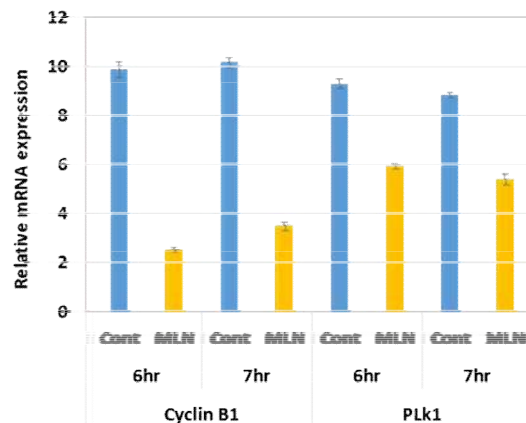


図2 オーロラキナーゼA活性依存的転写制御

## B. オーロラキナーゼAが結合する転写調節因子の同定

オーロラキナーゼAがどの転写因子に働きかけているか調べるために、上述の方法でG2期に同調したHela細胞の核タンパク質抽出液を、抗オーロラキナーゼA抗体あるいはコントロールIgGにて免疫沈降した。免疫沈降産物を電気泳動後、コントロールIgGの免疫沈降産物には存在せず、抗オーロラキナーゼA抗体の免疫沈降産物にのみ存在するタンパク質バンドを切り出し、それらを質量分析器にて転写因子の有無を解析した。これまでオーロラキナーゼAとの結合が未知であった中心体の活動やDNA損傷応答に関係する複数のタンパク質は同定されたが、転写因子あるいは転写調節関連タンパク質は含まれていなかった(data not shown)。

そこで、G2-M期進行に関わり、且つ、オーロラキナーゼAのリン酸化部位コンセンサス配列をもつ転写因子を、複数のパブリック・データベースから抽出し、オーロラキナーゼAと結合しているかどうか確認実験を行なった。その結果、転写因子X(論文投稿準備中のため仮称とさせていただきます)の同定に至った。転写因子Xは、生物種を超えて保存されており、細胞周期進行過程において基本転写因子の働きを促進する作用をもつことが知られている。加えて、腫瘍で高発現している癌進行に関わる多くの遺伝子が、転写因子Xの標的遺伝子であり、その転写調節の異常が報告されている。

### C. タンパク質間相互作用の解析

オーロラキナーゼ A と転写因子 X との相互作用の確認を、*in vitro* と *in vivo* の実験系で行った。*In vitro* 結合実験には、ウサギ網状赤血球の細胞抽出液から合成した転写因子 X と大腸菌で合成した GST タグを N 末端にもつオーロラキナーゼ A の融合タンパク質を使用した。コントロールとして GST のみのタンパク質を用いた。結合反応の結果、オーロラキナーゼ A は、転写因子 X と直接的に結合していることが分かった (図 3A)。次に、*in vivo* 結合実験には、G2 期に同調した HeLa 細胞の核タンパク質抽出液を抗オーロラキナーゼ A 抗体あるいはコントロール IgG にて免疫沈降した産物を用いた。*In vitro* 結合実験同様に、実際に細胞内でオーロラキナーゼ A が転写因子 X と結合していることが確かめられた (図 3B)。

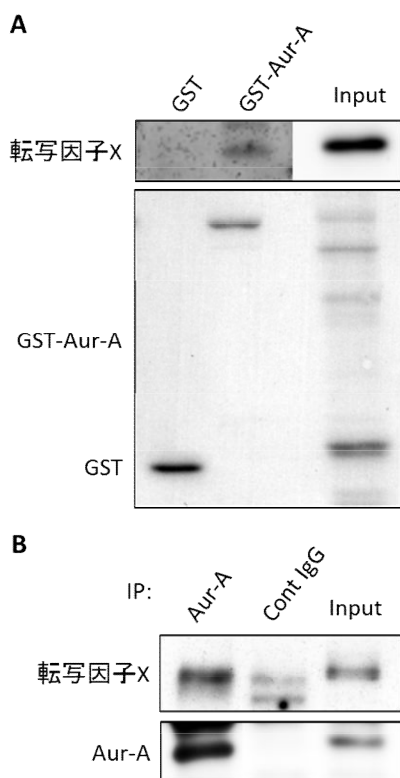


図3 *In vitro*と*in vivo*におけるタンパク質間相互作用

### D. オーロラキナーゼ A による転写因子 X のリン酸化とその機能

転写因子 X のアミノ酸配列には、オーロラキナーゼ A のリン酸化コンセンサス配列が存在するので、

オーロラキナーゼ A が実際に転写因子 X をリン酸化するかどうかを、*in vitro* kinase assay で調べた。図 4 に示すように、転写因子 X がオーロラキナーゼ A の基質であることが確認できた。次に、コンセンサス配列中のスレオニン残基をアラニン残基に置換した変異型転写因子 X を作製し、オーロラキナーゼ A によるリン酸化について調べた。予想通り、変異型転写因子 X はリン酸化されないことが確かめられた (図 4B)。

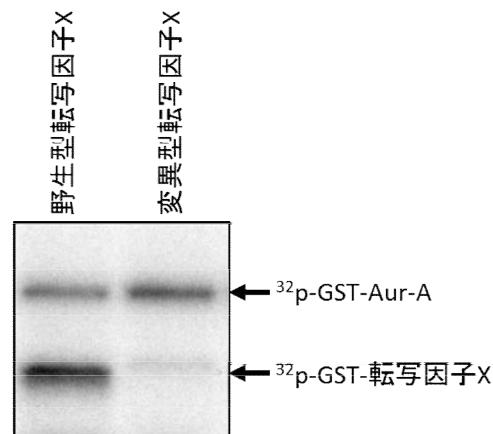


図4 オーロラキナーゼAによる転写因子Xのリン酸化

*In vitro* kinase assay で同定したリン酸化部位の *in vivo* リン酸化については、オーロラキナーゼ A 特異的阻害剤を処理した、あるいは無処理の細胞抽出液を、Phos-tag 試薬を含む SDS-PAGE 電気泳動することによって確認した (data not shown)。

### E. 転写因子 X の DNA 結合能への影響

次に、オーロラキナーゼ A の転写因子 X のリン酸化の機能について調べた。オーロラキナーゼ A 特異的阻害剤処理によって G2 期進行遺伝子群の遺伝子発現量が低下することから (図 2)、リン酸化の機能について 2 つの可能性を考えた。1 つ目は、リン酸化が転写因子 X の DNA 結合能に影響を及ぼしている可能性。2 つ目は、他転写因子との相互作用への影響。

オーロラキナーゼ A の転写因子 X リン酸化の DNA 結合能への影響は、クロマチン免疫沈降法により、どの程度の転写因子 X が標的遺伝子のプロモーター領

域に結合しているのか real-time PCR で定量的に調べた。ここでは、サイクリン B1 遺伝子プロモーター中の転写因子 X 結合領域の増幅効率を定量化した。図 5 に示すように、転写因子 X のサイクリン B1 プロモーターへの結合は、阻害剤存在下で半減した (図 5)。この結果は、オーロラキナーゼ A のリン酸化が、転写因子 X の標的遺伝子のプロモーターへの結合に重要な役割を持つことを示している。2 つ目の可能性については、現在、研究を行っており結論に達していない。

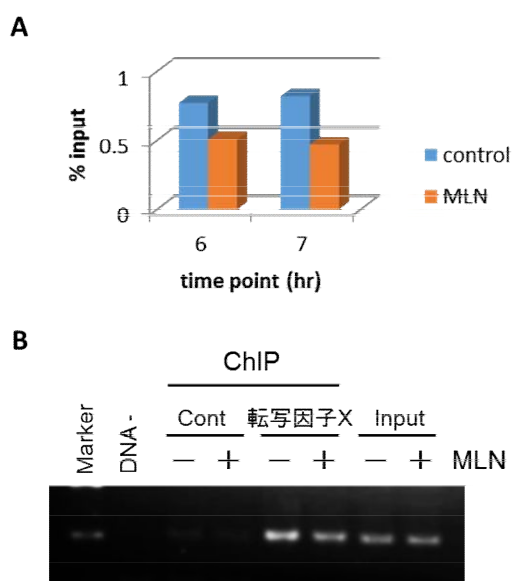


図5 リン酸化による転写因子XのDNA結合の安定化

### 3. まとめ

本研究から、細胞周期 G2 期の遺伝子発現調節にオーロラキナーゼ A が関与している直接的な証拠を得ることが出来た。オーロラキナーゼ A による転写因子 X のリン酸化が、転写因子 X の DNA 結合能に影響するという発見は、G2 期進行の遺伝子発現機構の解明のみならず、オーロラキナーゼ A が高発現している腫瘍の遺伝子発現異常が、オーロラキナーゼ A による転写因子 X の機能異常に起因する可能性を示唆するものである。本研究の目的の 1 つに、癌発症と進行においてオーロラキナーゼ A の発現異常が、他遺伝子の転写調節にどのような影響を及ぼしているか、そのネットワークの網羅的解析を挙げているが、期間内に成果を挙げることは適わなかった。転写因

子 X の調節異常は、腫瘍発生に重要な位置を占めていることから、オーロラキナーゼ A-転写因子 X 軸の詳細な調節機構の解明と下流遺伝子の同定とそれらの機能解析が今後求められる。

### 参考文献

1. Carmena M, Ruchaud S, Earnshaw WC. Making the Auroras glow: regulation of Aurora A and B kinase function by interacting proteins. *Curr Opin Cell Biol.* 21:796-805 (2009)
2. Katayama H, Sen S. Aurora kinase inhibitors as anticancer molecules. *Biochim Biophys Acta.* 1799:829-839 (2010)
3. Malumbres M, Pérez de Castro I. Aurora kinase A inhibitors: promising agents in antitumoral therapy. *Expert Opin Ther Targets.* 18:1377-1393 (2014)
4. Royce ME, Xia W, Sahin AA, Katayama H, Johnston DA, Hortobagyi G, Sen S, Hung MC. STK15/Aurora-A expression in primary breast tumors is correlated with nuclear grade but not with prognosis. *Cancer.* 100:12-19. (2004)
5. Kao SY, Chen YP, Tu HF, Liu CJ, Yu AH, Wu CH, Chang KW. Nuclear STK15 expression is associated with aggressive behaviour of oral carcinoma cells in vivo and in vitro. *J Pathol.* 222:99-109. (2010)
6. Katayama H, Sasai K, Kloc M, Brinkley BR, Sen S. Aurora kinase-A regulates kinetochore/chromatin associated microtubule assembly in human cells. *Cell Cycle.* 7:2691-2704. (2008)

## 独自に開発した超高効率遺伝子発現プラスミドベクターの抗体大量産生系への 応用を目指した基礎研究

岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科

阪口 政清

### (概要)

近年、がんやリウマチの治療薬として抗体医薬の市場は急速に拡大している。抗体医薬のもっとも大きな課題は、製造コストが高いことにある。コストを下げるために、哺乳動物高発現ベクターの開発等が求められている。抗体医薬の抗体は、目的の抗体遺伝子搭載発現ベクターを導入した動物細胞を大量培養することにより製造されているが、従来の発現ベクターを用いた場合は、導入された抗体遺伝子が抗体を生産しない場合や、培養途中で生産なくなってしまうことが多く、抗体を安定的に高効率で生産する動物細胞を取得するには多大な時間を要していた。

代表者が独自に開発した当超高効率遺伝子発現プラスミドベクターは、本研究結果（1, IRES を適用し、抗体遺伝子 H 鎖と L 鎖の同時発現を可能にした、2, 安定発現を目指し、エピソーマルベクター化した）より、上記問題を克服し、抗体医療における様々な抗体や生体タンパク質を大量調製するための哺乳動物産生系に新たな光明をもたらすことが期待された。

### 1. 背景と目的

リツキシマブ、トラスツズマブ、あるいはベバシズマブといった抗癌抗体医薬の薬剤費は、薬効発現のために多くの量の抗体投与が必要となるため、高額なものとなることが多い。これは、それら生成のための抗原や抗体そのものの精製に大きなコストがかかるためである。このことから、より生産コストの低い、かつ既存薬と同等の治療効果を有する抗体医薬生産法の新規開発が求められている。当観点から、我々は、「プロモーターサンドイッチ技術による超高効率遺伝子発現プラスミドベクター (C-TSC system) (文献 1 (成果発表論文) 参照) (下図) を完成させ、当ベクターの組み換えタンパク質大量産生への有用性を見出した。本計画では、さらに C-TSC system を抗体遺伝子発現に適用させ、安定発現株作成用に進化させることを目的とした。

### 2. 方法・結果

#### (方法)

本ベクターに挿入する抗体遺伝子の発現性の

評価には、我々が既にクローニング済みの抗 TNF $\alpha$  モノクローナル抗体の H 鎖と L 鎖遺伝子を使用した。HEK293 細胞を用いて一過性の発現効率の評価の後、その安定産生細胞株の樹立を試み、抗体産生への本ベクターの有効性を検証した。

#### (結果)

- (1) まず、医療用リコンビナントタンパク質としてエリスロポイエチン (EPO) をクローニングし、開発プラスミドベクター C-TSC による発現を従来法と比較して検討した。その結果、従来の高発現ベクターに比較して、約 8 倍量のタンパク質がいずれにおいても発現することが判明した。
- (2) 次に TNF $\alpha$  モノクローナル抗体の H 鎖と L 鎖の cDNA について発現検討を行った。抗体遺伝子に関しても、H、L 鎖とも、それぞれ単独で発現させた場合、従来法に比較して顕著な上昇を示した。
- (3) 上記の成果を受け、抗体遺伝子同時発現

(H鎖とL鎖遺伝子)への適用を試みた。具体的には、2つの抗体遺伝子の同時発現に必要なIRES配列を利用し、これにTNF $\alpha$ モノクローナル抗体のH鎖とL鎖遺伝子を組み込んだ。更に安定発現株作成に適応させるために、抗生物質(ピユーロマイシン)耐性遺伝子発現ユニットを付加した。そこで、当改変システムによる抗体遺伝子安定発現株の作成を試みた。しかし、得られたクローンに関して十分な発現を示すものはいずれも認められなかった。

- (4) (3)での失敗から、当発現システムを、環状を保持したまま自己複製(安定発現)できるように改変した。即ち、次のベクターである。C-TSCエピソードプラスミドベクター; C-TSC-EBNA-OriP と C-TSC-H chain-IRES-L chain-OriP。EBNAはOriP配列に働いてプラスミドの自己複製に働く。現在、上記2種のベクターを用いて、HEK293細胞にて抗体発現の詳細な検討を行って

いる。

### 3. 考察

結果の(3)に関して、当構築プラスミドを環状ではなく、直鎖状にすると一過性発現においても搭載遺伝子の発現効率が極度に低下することから、これは、染色体内に組み込まれること(直鎖状になる)が、C-TSCの高発現能力消失につながるものと考えられた。そのため、当システムを、環状の形で細胞内に安定的に保持させることが遺伝子発現安定株取得に重要であると考えた。現状で当考えに最もマッチするものはC-TSCシステムをエピソードベクターにすることと考えた。結果(4)から、エピソード化したベクターを作成することができ、現在当ベクターの効能を検証中である。予備的検討から本来のC-TSCの能力(高発現)を損なわずに抗体遺伝子の安定発現株作成用に応用可能となりうることが示唆され、期待が持てるものと考えている。

## 自家骨に匹敵する早期骨修復能を備えた新規リン酸カルシウム人工骨の創製

岡山大学 大学院自然科学研究科

小西 敏功

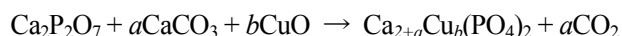
水酸アパタイト(HAp)をはじめとするリン酸カルシウム系人工骨は骨補填材として広く利用されている。骨欠損などの創傷治癒には血管形成が必須であり、銅(Cu)は抗菌性を有するだけでなく、血管内皮細胞による血管新生の補酵素として重要な役割を果たすことが報告されている。銅をリン酸カルシウムに導入し、血管新生を促進する早期骨修復能を備えた新規リン酸カルシウム人工骨を創製することを目的とした。そこで本研究では、固相反応法を用いて銅含有  $\beta$ -リン酸三カルシウム( $\beta$ -TCP)の合成を試みた。

(緒言)  $\beta$ -リン酸三カルシウム ( $\beta$ -TCP) をはじめとするリン酸カルシウム系人工骨は、その優れた骨伝導性や生体吸収性から整形外科、歯科分野において有用な生体材料の一つとされ[1]、骨補填剤をはじめ様々な用途で広く用いられている。しかしながら、自家骨の有する骨誘導能を持たないため、確実な骨癒合および、早期治癒が得られない問題がある。そのため、リン酸カルシウム系人工骨への骨誘導能の付与に関する研究が盛んに行なわれている。例えば、骨形成タンパク質 (rh-BMP-2 など) をヒドロキシアパタイト (HAp) 多孔体に担持させこれを徐放させることで確実な骨癒合を獲得するという研究が報告されている[2]。しかしながら、高額な BMP の使用が医療経済を圧迫することは明らかであり、そのような社会的背景を鑑みると、人工材料のみで自家骨に匹敵する骨修復能を発現するリーズナブルな人工骨を開発することは急務な課題である。

一方で、生体中の微量元素(ミネラル)は、重要な生体反応や生理活性を発現することが知られている。例えば、骨欠損部での骨組織の再生には血管形成が必須である。血管新生が内皮細胞によって行われる際、銅 (Cu) は補酵素として重要な役割を果たすことが報告されている[3]。そのため、銅をリン酸カルシウム内に導入することができれば、血管新生を促進する新規な骨補填剤となることが期待される。

そこで本研究では、固相合成法を用いて、 $\beta$ -TCP 内に銅を導入した銅含有  $\beta$ -リン酸三カルシウム (CuTCP) を合成することを目的とした。また、導入した銅が  $\beta$ -TCP の結晶構造に及ぼす影響を調べた。

(実験方法) 以下の反応式に基づき、固相反応法により CuTCP を合成した。炭酸カルシウム( $\text{CaCO}_3$ )、酸化銅( $\text{CuO}$ )およびピロリン酸カルシウム( $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ )を出発原料として用い、 $(\text{Ca}+\text{Cu})/\text{P}$  比が 1.5 となるように各試料を秤量し、乳鉢と乳棒を用いて 90 分間アセトン中で原料粉末を混合しバッチを作製した。バッチは Cu が TCP 中の Ca に対して 0, 0.1, 1, 5 mol% となるように調製した。混合したバッチを、錠剤成形器を用いて 17.5 kN で加圧成形することで圧粉体を作製し、電気炉中で 1000°C、12 時間焼成した。 $a$  は  $\text{CaCO}_3$  の、 $b$  は  $\text{CuO}$  のモル数である。



得られた試料  $x\text{CuTCP}$  ( $x = 0, 0.1, 1, 5$ ) の結晶構造および分子構造を粉末 X 線回折法(XRD)、マジック角高速回転法による固体核磁気共鳴分光法(MAS-NMR)、フーリエ変換赤外分光法(FT-IR)を用いて、元素組成を高周波誘導結合プラズマ(ICP)発光分光法を用いて評価した。また、酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液(pH 5.5)中での CuTCP の溶解性をカルシウムイオン電極を用いて調べた。

(結果と考察) Fig. 1 に作製した試料の XRD パターンを示す。検出された回折ピークは全て  $\beta$ -TCP に帰属されたことから、作製した試料は  $\beta$ -TCP の単相であることが分かった。8 つの結晶面に対応する回折ピーク位置から Cohen 法に基づき格子定数を求めたところ、銅仕込み量の増加に伴う格子定数の減少が



確認され、Benarafa ら[4]が報告した格子定数の変化の傾向と一致した。FT-IR スペクトルからは  $\text{PO}_4^{3-}$  基に由来する P-O 結合に帰属される赤外吸収ピークのみが観測された。 $^{31}\text{P}$  MAS-NMR から、銅仕込み量の増加に伴って NMR ピーク数の減少とピーク幅の増大が確認された。これは導入した銅が  $\beta$ -TCP 中の Ca(4)サイトの欠損部位を埋めている[5]、あるいは格子中の別の Ca サイトと置換したことで、格子中の  $^{31}\text{P}$  核の周囲の遮蔽の状態が変化したためであると考えられる。さらに、ICP を用いて得られた試料中の銅含有量を測定した結果、0~5CuTCP\_S では仕込み組成とほぼ同量の銅の含有が確認された。以上のことから、作製した CuTCP は仕込み量とほぼ同量の銅を格子内に含有した  $\beta$ -TCP 単相であると考えられる。

さらに、CuTCP の溶解性を調べたところ、0.1 および 0.1CuTCP の溶解性は 0CuTCP\_S と同程度であったが、5CuTCP ではそれよりも低下することが確認された。

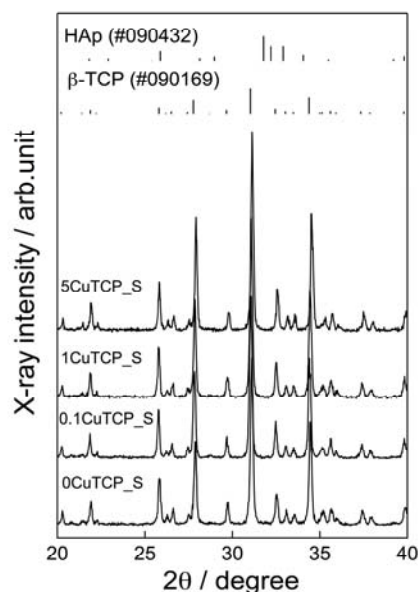


Fig.1 XRD patterns of synthesized CuTCP powders

(結言) 固相合成法により、仕込み量とほぼ同量の銅を格子内に含有した  $\beta$ -TCP 単相を作製できた。0.1 および 0.1CuTCP の溶解性は 0CuTCP と同程度であったが、5 および 10CuTCP では、溶解性が低下することが明らかとなった。

(参考文献)

- [1] I. Cacciotti, A. Bianco, “High thermally stable mg-substituted tricalcium phosphate via precipitation”, *Ceram. Int.*, **37**, 127-137 (2011).
- [2] H. Morisue, M. Matsumoto, K. Chiba, H. Matsumoto, Y. Toyama, M. Aizawa, N. Kanzawa, T. Fujimi, H. Uchida, I. Okada, “A Novel Hydroxyapatite Fiber Mesh as a Carrier for Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 Enhances Bone Union in Rat Posterolateral Fusion Model”, *Spine*, **31**, 1194-1200 (2006).
- [3] G.F. Hu, “Copper Stimulates Proliferation of Human Endothelial Cells Under Culture”, *J. Cell Biochem.*, **69**, 326-335 (1998).
- [4] A. Benarafa, M. Kacimi, G. Coudurier, M. Ziyad, “Characterisation of the active sites in butan-2-ol dehydrogenation over calcium-copper and calcium-sodium-copper phosphates”, *Appl. Catal., A*, **196**, 25-35 (2000).
- [5] M. Yashima, A. Sakai, T. Kamiyama, A. Hoshikawa, “Crystal structure analysis of  $\beta$ -tricalcium phosphate  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  by neutron powder diffraction”, *J. Solid State Chem.*, **175**, 272-277 (2003).

## 空気圧ゴム人工筋を用いた農作業支援用簡易型アシストロボットの機構開発

岡山大学大学院（現 香川大学工学部）

佐々木 大輔

農業就業者は重量物の搬送や長時間一定の姿勢を保持するといった身体への負荷が大きな労働環境において作業を行っている。そのため、高齢化が問題である農業就業者の身体負荷の軽減を目的とした支援装置の開発が重要と言える。本研究では農作業の収穫作業の支援を目的とし、作業者の上肢を任意の角度で屈曲方向に保持する簡易型アシストロボットの機構を開発した。

開発した装置は、空気圧ゴム人工筋の張力によりドラムブレーキ機構が制動力を発生させることで肩の屈曲方向の姿勢を保持できる。三節リンク機構を上腕装具に設けることで、肩の姿勢が保持されている場合でも外転・内転方向に動かすことができるため外骨格装着による拘束感を軽減できる。

本報告書では開発した装置の構造と動作原理について述べたのち、装着実験から装置使用時に肩部における筋負荷が軽減可能であることを示す。

### 1. はじめに

農林水産省の統計では平成 23 年度の農業就業人口は約 260 万人で、そのうち 60 歳以上の人口は約 193 万人と全体の 74%の割合を占めている。また過去の統計からみると 60 歳以上の人口の割合は増加傾向にある。農業就業者は重量物の搬送や長時間同一姿勢を保持するといった負荷の大きな環境下で作業を行う。加齢とともに体力や筋力などの機能が低下するため、農作業に従事する高齢者が身体に負担や疲労を軽減する支援装置の開発が求められている。

そこで、本研究ではブドウなど上方に生る果樹収穫作業の支援を想定し、装着者の肩を任意の角度で保持するブレーキ機構を持つ簡易型アシストロボットの研究開発を行った。開発した装置は、空気圧ゴム人工筋の張力によりドラムブレーキ機構が制動力を発生させることにより装着者の肩の姿勢を任意の角度で保持する。

以下では、まず開発した装置の構造、動作原理について述べる。次に、装着実験において筋電位 (EMG)を用い装着者に対する支援効果を評価する。

### 2. 簡易型アシストロボットの構造

農作業の収穫作業や剪定作業では、肩関節を屈曲・伸展方向に曲げ伸ばしを繰り返し、作業中は肩を同じ角度に維持しなければならない。この肩関節の支

援を行うために肩の屈曲方向に対する支援機構と肩関節の自由度に対応した機構が必要となる。また同時に、装着時における拘束感を軽減するために外転・内転方向の自由度がある構造が望ましい。そこで、収穫・剪定作業を支援するために肩の屈曲方向のみを支援対象とし、装着者の屈曲・伸展、外転・内転の動作を阻害しない機構を開発した。

開発したアシストロボットの概観を Fig.1 に、装置の構造を Fig.2 に示す。装置は主に PLA 樹脂、ABS 樹脂、ウレタン樹脂で外骨格を構成し、アクチュエータとして McKibben 型空気圧ゴム人工筋を使用する。肩の関節角度検出用のセンサとしてポテンシオメータ (COPAL ELECTRONICS 社製 JT22-320-500)を使用する。重量は約 3 [kg]である。

アシストロボットは Fig.2 に示すようにドラムブレーキ機構(図中①)、三節リンク付き上腕装具(同②)、背中用装具(同③)の3つの部品で構成されている。ドラムブレーキ機構は装着者側面に配置し、ドラムブレーキ機構の制動力を装着者に伝達するために上腕装具を設ける。上腕装具は伸展方向に $-50$  [°]、屈曲方向に $180$  [°]回転させることができる。また、上腕装具に三節リンク機構を設けることで、外転方向に $15$  [°]、内転方向に $10$  [°]回転させることができる。そのため、肩の姿勢が保持されている場合でも外転・内転方向に動かすことができるため外骨格装

着による拘束感を軽減できる。制動力が発生するとドラムブレーキ機構と接続している三節リンク機構付きの上腕装具は肩の屈曲・伸展方向に対しての動作が拘束される。

背中の装具とドラムブレーキ機構は蝶番で接続されており、Fig.3 に示すように蝶番を中心にドラムブレーキ機構と三節リンク上腕装具を水平内転方向に 20 [°]、水平外転方向に 90 [°]回転できる。

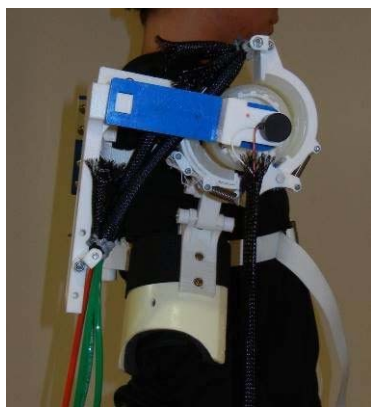
### 3. ドラムブレーキ機構の構造と動作原理

ドラムブレーキ機構の構造を Fig.4 に示す。ドラムブレーキ機構は中央のドラムを挟み込む形で上下に 2 本のブレーキアームが備えられている。ブレーキアーム右端には図中青色で示すギアが装着されているため、片方のアームが動くときにより他方のアームも動作する。2 本のブレーキアームとドラムにはシリコンゴムを取り付けている。ブレーキアームが中央のドラムを挟み込むと、ブレーキアームとドラムのシリコンゴム間で摩擦が生じ、これが

機構の制動力となる。ブレーキを駆動する McKibben 型空気圧ゴム人工筋は背中用装具下部と上側ブレーキアームの先端にそれぞれ取り付けている。

人工筋の張力減少時にブレーキアームをドラムから引き離すためバネ A を取り付ける。また、人工筋を取り付けていない状態ではブレーキアーム、三節リンク付き上腕装具、背中用装具のそれぞれは独立している。そのため、人工筋を背中用装具とブレーキアームの先端に取り付けると人工筋の張力によりブレーキアーム全体が回転する構造となっている。バネ B はブレーキアーム全体を初期位置に復元するために取り付けている。

ドラムブレーキ機構の動作原理を Fig.5 に示す。三節リンク付き上腕装具のリンク上端とドラムはシャフトで接続されている。Fig.5(a)のように腕の装具を真下から屈曲方向に任意の角度まで回転させる。このとき、装具とドラムはシャフトでつながっているためドラムも装具と同じ方向に回転する。

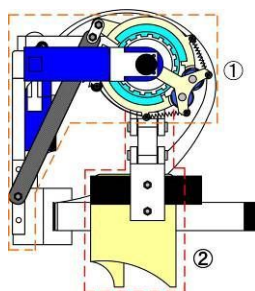


(a) Side view

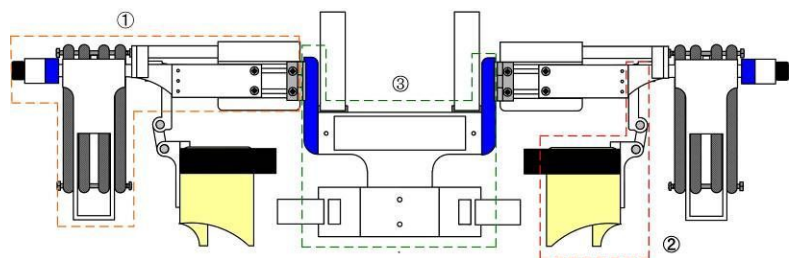


(b) Rear view

Fig.1 Overview of developed device



(a) Side view



(b) Rear view

Fig.2 Structure of developed device

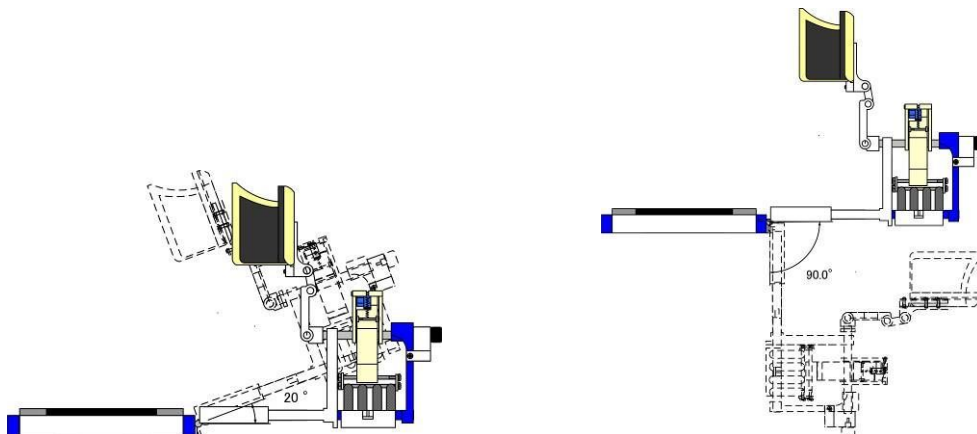


Fig.3 Top view of developed device

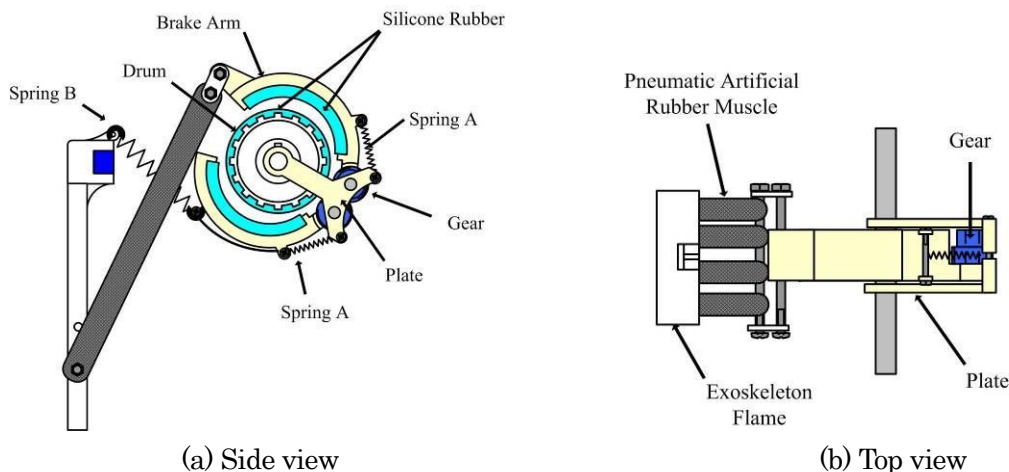


Fig.4 Structure of brake mechanism

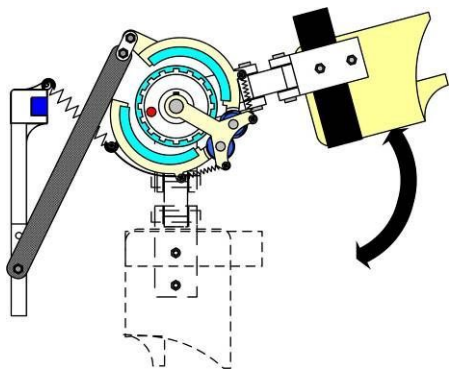
Fig.5(b)に示すように、人工筋を加圧・収縮させるとブレーキアーム全体が回転すると同時にドラムとブレーキアームのシリコンゴムが接触し制動力が生じる。

#### 4. 装着実験による支援性能の評価

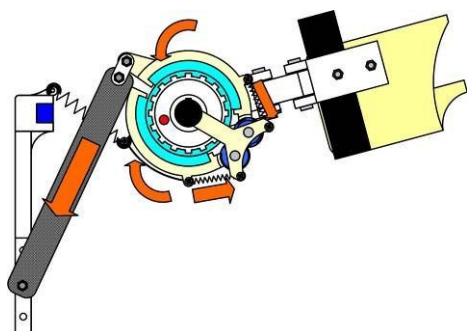
開発した装置を実際に装着して装着者に対する支援効果の評価を行う。筋活動の評価方法として筋電位の時間的変化の測定が挙げられる。筋電位 (EMG) は筋肉が収縮するとき発生する。そのため、支援時に筋電位が減少すれば本装置による負担軽減が行えていることが確認できる。そこで、本研究では農作業を想定した姿勢を維持時の肩部筋電位から負担軽減効果を評価する。

実験では屈曲動作の主動筋である三角筋の筋電位を測定するために、三角筋前部のあたる両肩の皮膚表面に電極を張り付ける。腕を自然に下ろした状態を角度 0 [°]として、被験者は肩を屈曲方向に 90[°]付近まで上げる。この状態を実験開始から 30 分維持した時の EMG を測定する。支援性能は、平滑化した EMG の 0.25[s]間の移動平均に相当する筋電積分(iEMG)の時間変化に基づき評価する。

測定した iEMG を Fig.7, 8 に示す。Fig.7 は右肩の三角筋、Fig.8 は左肩の三角筋の iEMG の計測結果であり、それぞれ青線は装置未装着時、赤線は装着時の実験結果である。なお装着時の実験ではポテンシオメータから計測した角度の変化も橙線で示す。



(a) Un-restriction state



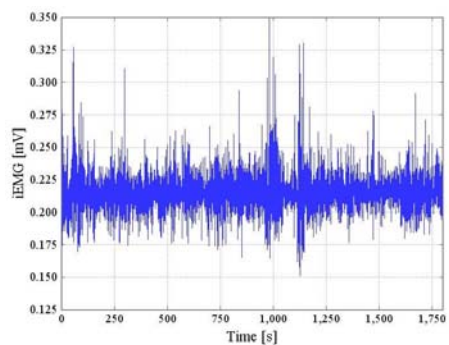
(b) Restriction state

Fig.6 Principle of operation

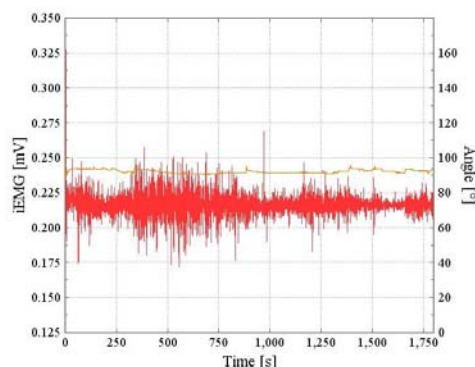
装着時の iEMG の値は未装着時のそれと比較して全体的に振幅が小さく時間を追うごとに減少傾向にある。特に左右の三角筋とも実験開始から約 500 [s]以降はその現象が顕著である。また、装着時の三角筋右側の実験の場合、上腕装具の角度はロックが開始されてから終了するまでの 30 分間同じ値を維持できている。以上より、肩の姿勢維持に大きな支援効果が得られることが確認できた。

### 5. おわりに

農作業の収穫、剪定作業を行う作業者の肩の疲労を軽減するために簡易型アシストロボットを開発した。開発した装置を身につけた被験者の肩の筋電位を測定することで装着時の iEMG の値が装置未装着時より減少していることから本装置の支援が有効であることがわかる。今後は、肩の姿勢保持だけではなく屈曲動作の能動的なアシストの実現を目指す。

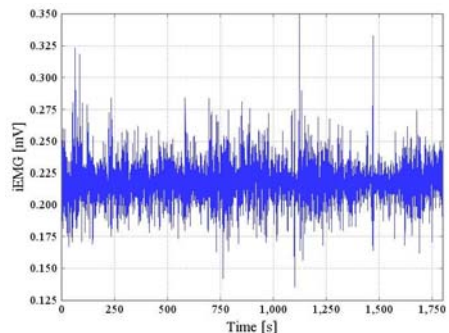


(a) Without device

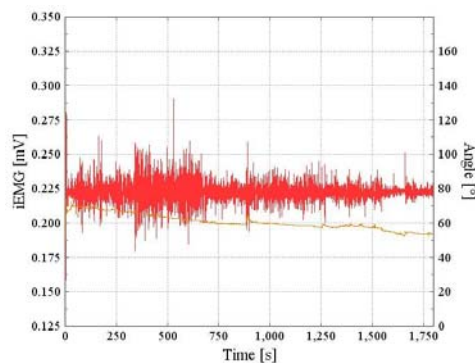


(b) With device

Fig.7 iEMG at right shoulder



(a) Without device



(b) With device

Fig.8 iEMG at left shoulder

## ニトロアルケンへの $\alpha$ -アミノ酸エステルのマイケル付加反応を鍵工程とする置換ピペラジノンの新規効率的合成法の開発

岡山大学大学院自然科学研究科

工藤 孝幸

ピペラジノン環は、窒素原子を2つ含むヘテロ6員環化合物であり、これまでに様々な合成法が開発されてきた。しかしながら、それらは出発原料の入手が困難であったり、置換基の位置選択的な導入が困難であるなどの問題があった。筆者は、入手容易なニトロアルケンと $\alpha$ -アミノ酸エステルを出発原料に用いた新規効率的ピペラジノン環の合成法を開発した。この合成法では、 $\alpha$ -アミノ酸エステルのニトロアルケンへのマイケル付加反応を鍵反応とし、わずか3工程でピペラジノン環の合成が可能である。この合成法では、出発原料のニトロアルケンと $\alpha$ -アミノ酸エステルを種々組み合わせることにより、多様な置換様式を有するピペラジノン環を完全に置換基の位置を制御して自在に合成可能である。

ピペラジノン類は、窒素原子2つを含むヘテロ6員環化合物であり、様々な生物活性化合物中に見出される。例えば、天然から単離されたピペラジノン骨格を含む化合物としては、海綿から単離された抗腫瘍活性を示す *cis*-3,4-dihydrohamacanthin B [1]や (-)-dibromophakellstatin [2]、細胞毒性を示す piperazirum [3]などが挙げられる (Figure 1)。そのため、これまでに多くのピペラジノン合成法が開発されてきた[4]。しかしながら、いずれも出発原料の入手しやすさや置換基を自在に制御してピペラジノンを合成することに問題を抱えていた。

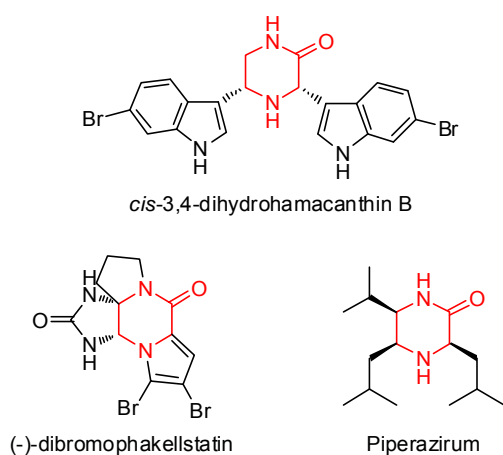
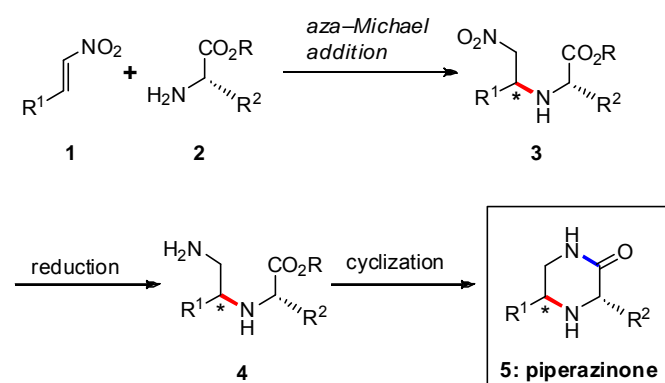


Figure 1.

アミノ酸エステルを出発原料とする新規ピペラジノン合成法を開発を行うことを目的として研究を実施した。この合成法は、ニトロアルケン **1** への $\alpha$ -アミノ酸エステル **2** のマイケル付加反応を鍵工程とし、生じたマイケル付加体 **3** のニトロ基部分を還元することでジアミン **4** とし、分子内エステル-アミド交換反応を行うことでピペラジノン環 **5** を得るという計画である。この合成法が成功すれば、入手容易なニトロアルケンと $\alpha$ -アミノ酸エステルを種々組み合わせることで多様な置換様式を有するピペラジノンを置換基の位置を制御してわずか3工程で合成可能となる。また、光学活性な $\alpha$ -アミノ酸エステルを用いることでキラルなピペラジノンの合成も可能となる。



Scheme 1.

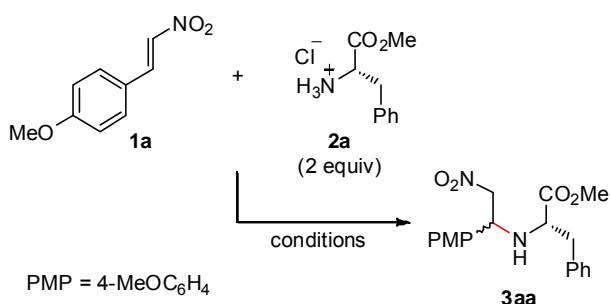
本研究課題では、入手容易なニトロアルケンと $\alpha$ -

1. ニトロアルケンへの $\alpha$ -アミノ酸エステルのマイ

## ケル付加反応の検討

ニトロアルケンは、ニトロ基の強力な電子吸引性により優秀なマイケル受容体として多くの合成反応に利用されているが、アミンのマイケル付加の例はごく限定的である [4]。これは生成物であるβ-ニトロアミンが不安定であり、容易に逆反応が進行することが原因と考えられる。これまでに塩基性の低い芳香族アミンを用いる方法[5]やアミン等価体としてヒドラジン[6]、アジド[7]、イミン[8]、ヒドロキシルアミン[9]、オキサゾリジノン誘導体[10]を用いた例が報告されている。このことを踏まえて、ニトロアルケンへのα-アミノ酸エステルのマイケル付加反応を検討することとした。

まずはじめにモデル反応として *trans*-4-methoxy-β-nitrostyrene **1a** と L-Phenylalanine methyl ester 塩酸塩 **2a** を用いて検討を行った。塩基として *N*-methylmorpholine を用いてジクロロメタン、メタノール、水溶媒中で反応を検討したが、いずれも反応がほとんど進行しなかった。また、溶媒としてジクロロエタンを用いて加熱条件下でも反応を検討したが、改善は見られなかった。なお反応の進行度合いは、生成物がシリカゲルカラムクロマトグラフィーでの精製に対して不安定であったため、反応粗生成物を抽出した後、<sup>1</sup>H-NMR 測定により原料と生成物の積分比から判断した。



conditions	Ratio of <b>3aa</b> and <b>1a</b> in crude product
<i>N</i> -methylmorpholine (1.0 equiv) in CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , MeOH or H <sub>2</sub> O, rt	<b>3aa:1a</b> = 1:>20
NaHCO <sub>3</sub> (2.5 equiv) in <b>EtOAc-H<sub>2</sub>O</b> (1:1 v/v), rt, 24 h	<b>3aa:1a</b> = <b>&gt;20:1</b>

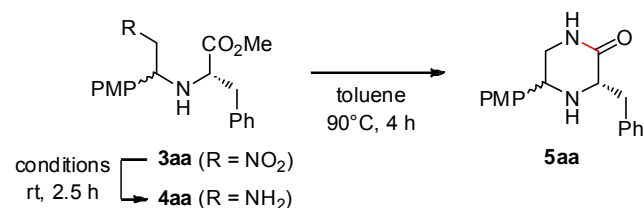
Scheme 2.

均一溶媒系では反応が十分進行しなかったため、

次に各種有機溶媒-水の二相系溶媒で反応を検討した。その結果、酢酸エチル-水 (1:1) の二相系溶媒中で炭酸水素ナトリウムを塩基として反応を行うと室温で効率的に反応が進行し、目的とするマイケル付加体 **3aa** が良好な収率で得られることを見出した (Scheme 2)。

## 2. マイケル付加体からのピペラジノンへの変換の検討

ニトロアルケンへのα-アミノ酸エステルのマイケル付加反応の最適条件を見出したので、次にマイケル付加体のピペラジノンへの変換について検討を行った。マイケル付加体 **3aa** に対してニトロ基のアミノ基への還元に使われる Pd/C を用いた水素化反応を行ったが、反応の進行が遅く、マイケル付加体がニトロアルケンとα-アミノ酸エステルへと分解する逆反応が起こり、目的のジアミン **4aa** は得られなかった。そこでより強い還元剤として酸性条件下、過剰量の亜鉛粉末を用いて還元を行ったところ、還元反応が速やかに進行した。過剰量の亜鉛を除去した後、トルエン中、90度で加熱したところ、目的とするピペラジノン **5aa** が46%の収率で約1:1のジアステレオマー比で得られた。さらにより活性の高い亜鉛ナノパウダーを用いたところ[11]、66%まで収率を向上させることが出来た (Scheme 3)。



conditions	yield (%) <sup>a</sup>
H <sub>2</sub> (1 atm), 10% Pd-C, AcOEt	0 <sup>b</sup>
Zn (10 equiv), THF-AcOH (4:1 v/v)	46 (dr 1.2:1)
Zn nanopowder (10 equiv), THF-AcOH (4:1 v/v)	66 (dr 1.2:1)

<sup>a</sup> Overall isolated yield from **1a**. <sup>b</sup> **3aa** was decomposed to **1a** and **2a**.

Scheme 3.

なお、得られたピペラジノンのそれぞれのジアス

テレオマーはカラムクロマトグラフィーにより分離可能であり、光学活性なピペラジノンが得られた。得られたそれぞれのジアステレオマーの立体化学は、<sup>1</sup>H-NMR カップリング定数ならびに NOE 測定結果より決定した (Figure 2)。シス体 **5aa** では、H<sub>a</sub> と H<sub>b</sub>、H<sub>b</sub> と H<sub>c</sub> の間に NOE が観測され、一方トランス体 **5aa** では、H<sub>a</sub> と H<sub>c</sub>、H<sub>b</sub> と H<sub>c</sub> の間で NOE が観測された。カップリング定数からいずれのジアステレオマーも H<sub>a</sub> がアキシャルであることから以下のように立体化学を決定した。

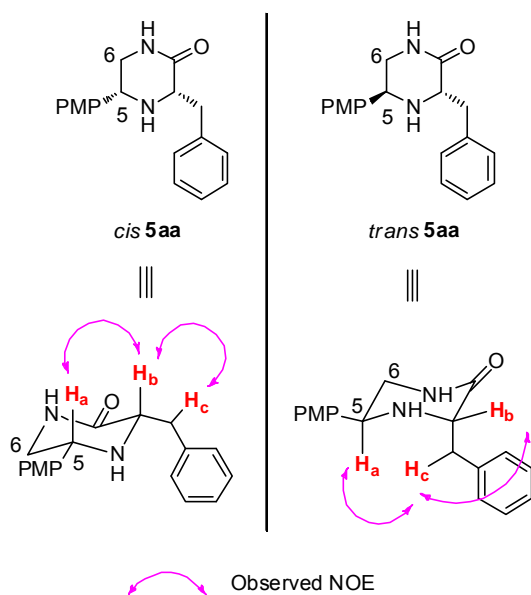


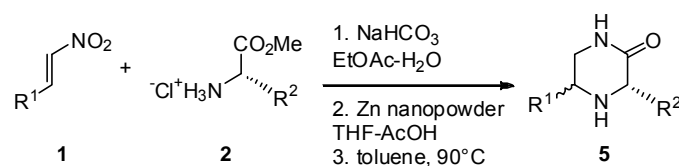
Figure 2.

以上の検討により、ピペラジノン合成の最適条件が得られたので、次に種々のニトロアルケンとα-アミノ酸エステルを用いてこの反応の基質適用限界について調査した。

### 3. 種々のニトロアルケンとα-アミノ酸エステルを組み合わせたピペラジノン合成

まずはじめに様々なニトロアルケンを用いてニトロアルケンの構造のピペラジノン合成への影響を調査した。その結果、ニトロアルケンに関しては、Table 1 entry 1-3 に示すように電子吸引性置換基、電子供与性置換基を持つ芳香族置換基いずれも良好な収率でピペラジノンが得られた。次に脂肪族置換基を持つニトロアルケンについて調査したところ entry 4-6

に示すように分岐、環状、直鎖状いずれの脂肪族置換基を有するものであっても収率良くピペラジノンが得られた。



entry	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	Yield (%)	dr
1	<b>1a</b> : 4-MeOPh	<b>2a</b> : Bn	<b>5aa</b> : 66	1.2:1
2	<b>1b</b> : Ph	<b>2a</b> : Bn	<b>5ba</b> : 69	1.2:1
3	<b>1c</b> : 4-ClPh	<b>2a</b> : Bn	<b>5ca</b> : 60	1:1
4	<b>1d</b> : <i>i</i> Pr	<b>2a</b> : Bn	<b>5da</b> : 52	1.5:1
5	<b>1e</b> : Cy	<b>2a</b> : Bn	<b>5ea</b> : 82	1.2:1
6	<b>1f</b> : <i>n</i> -Octyl	<b>2a</b> : Bn	<b>5fa</b> : 50	1.5:1
7	<b>1a</b> : 4-MeOPh	<b>2b</b> : Ph	<b>5ab</b> : 76	1:2
8	<b>1a</b> : 4-MeOPh	<b>2c</b> : CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4-OH	<b>5ac</b> : 61	2.6:1
9	<b>1a</b> : 4-MeOPh	<b>2d</b> : 1 <i>H</i> -indol-3-ylmethyl	<b>5ad</b> : 50	1:1
10	<b>1a</b> : 4-MeOPh	<b>2e</b> : <i>i</i> Pr	<b>5ae</b> : 44	1:1
11 <sup>a</sup>	<b>1a</b> : 4-MeOPh	<b>2f</b> : Me	<b>5af</b> : 27	1:1
12 <sup>a</sup>	<b>1a</b> : 4-MeOPh	<b>2g</b> : CH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> Me	<b>5ag</b> : 30	2:1
13 <sup>a</sup>	<b>1a</b> : 4-MeOPh	<b>2h</b> : ( <i>R</i> )-CH(OH)CH <sub>3</sub>	<b>5ah</b> : 37	1.2:1
14 <sup>a</sup>	<b>1a</b> : 4-MeOPh	<b>2i</b> : CH <sub>2</sub> OH	<b>5ai</b> : 13	1.2:1

<sup>a</sup> Reaction was conducted in THF/sat. brine (3:1, v/v).

Table 1.

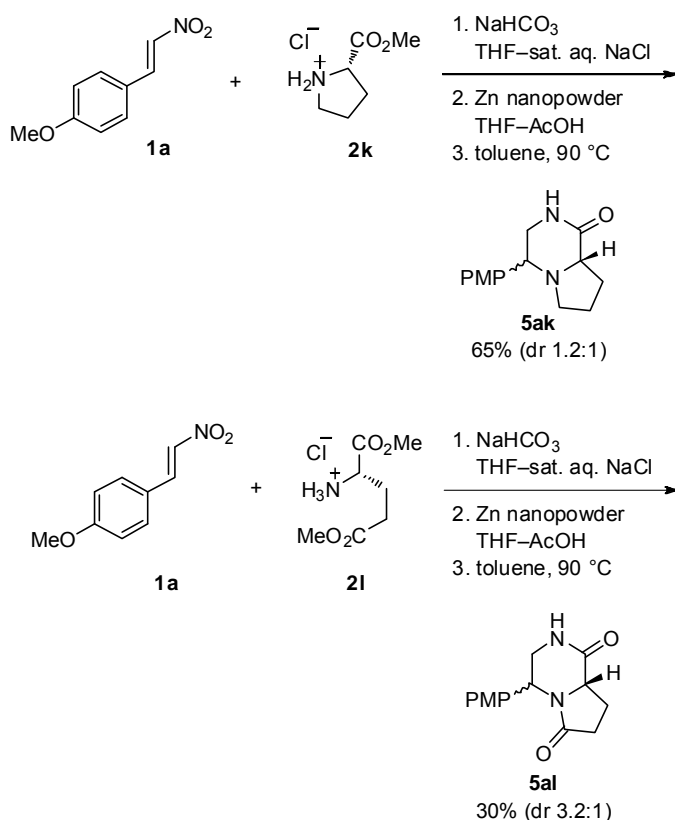
次にα-アミノ酸エステルの影響について検討した。その結果、Table 1 entry 7-10 に示すように比較的脂溶性の高いα-アミノ酸エステルを用いた場合には、良好な収率でピペラジノンが得られた。一方比較的水溶性の高いアラニンメチルエステルを用いた場合、酢酸エチル-水 二相系溶媒中ではマイケル付加がほとんど進行しなかった。これは、水溶性の高いアラニンメチルエステルが水相に多く溶解し、有機相に十分な濃度で存在しないことが原因と考えられた。そこでアラニンメチルエステルの水相への溶解を抑制するため、THF と飽和食塩水を 3 : 1 の比で混合した溶媒中で反応を行ったところ、比較的良好にマイケル付加が進行した。得られたマイケル付加体を還元、環化することでピペラジノンが 2



7%の収率で得られた(entry 11)。このマイケル付加反応の条件を適用することで他の水溶性の高い $\alpha$ -アミノ酸エステルを用いた場合でもピペラジノンを得ることが出来た(entry 12-14)。

#### 4. 二環性ピペラジノンの合成

天然物中に多く見出される二環性ピペラジノンの合成についても検討した。環状 $\alpha$ -アミノ酸エステルであるプロリンメチルエステル **2k** を用いると二環性ピペラジノン **5ak** が65%の通算収率で得られた。また、グルタミン酸ジメチルエステル **2l** を用いてピペラジノン合成を検討したところ、分子内エステル-アミド交換反応時に側鎖エステル部分がピペラジノン環中のグルタミン酸エステル由来のアミノ基とアミドを形成し、二環性ピペラジノン **5al** が30%の収率で得られた。



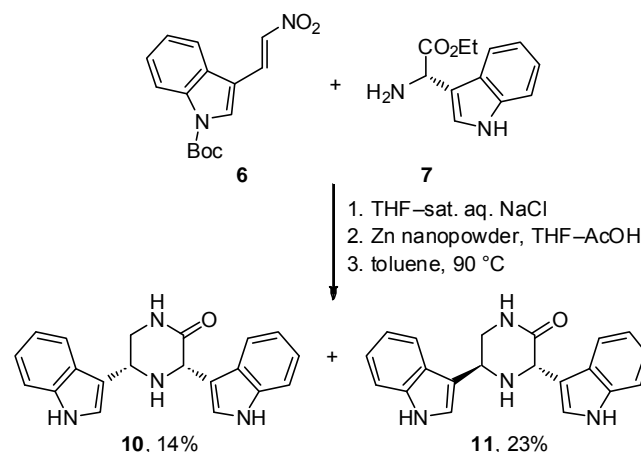
Scheme 4.

#### 5. 6',6''-dibromo-*cis*-3,4-dihydrohamacanthin B 合

#### 成への応用

最後に本研究で開発したピペラジノン合成法をピペラジノン骨格を含む天然物である

6',6''-dibromo-*cis*-3,4-dihydrohamacanthin B の合成へと応用した。出発原料であるニトロアルケン **6**、 $\alpha$ -アミノ酸エステル **7** は、既知合成法により調製した[12][13]。得られたこの2つの出発原料を THF-飽和食塩水 3 : 1 混合溶媒中、マイケル付加反応を行うと効率的に反応が進行した。得られたマイケル付加体を酸性条件下、亜鉛ナノパウダーを用いて還元し、トルエン中、90度で加熱したところ、目的とする天然物であるシス体ピペラジノン **10** を3工程の通算収率 14%、異性体であるトランスピペラジノン **11** を23%の収率で得た。このように筆者らの開発したピペラジノン合成法を活用することで短工程でのピペラジノン骨格を含む天然物の合成を達成することが出来た。



Scheme 5.

#### 結論

以上、まとめると筆者は、入手容易なニトロアルケンと $\alpha$ -アミノ酸エステルを出発原料とする3工程でのピペラジノン合成法を開発した。この反応では光学活性な $\alpha$ -アミノ酸エステルを用いることで光学活性なピペラジノンが合成可能であり、出発原料の組み合わせを変えることにより、多様な置換様式を有するピペラジノンを合成可能である。この手法を応用してピペラジノン骨格を含む天然物である 6',6''-dibromo-*cis*-3,4-dihydrohamacanthin B の短工

程合成を達成した。現在、本手法を用いて他のピペラジノン環を含む天然物の合成や多用な置換基を有するピペラジノン化合物からなる化合物ライブラリーの構築に取り組んでいる。

## 謝辞

以上の研究成果は、平成26年度公益財団法人ウエスコ学術振興財団の学術研究費助成により得られたものであり、深く感謝いたします。

## 参考文献

- [1] Bao, B.; Sun, Q.; Yao, X.; Hong, J.; Lee, C.; Cho, H. Y.; Jung, J. H. *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 2–8.
- [2] Pettit, G. R.; McNulty, J.; Herald, D. L.; Doubek, D. L.; Chapuis, J. C.; Schmidt, J. M.; Tackett, L. P.; Boyd, M. R. *J. Nat. Prod.* **1997**, *60*, 180–183.
- [3] El-Desouky, S. K.; Ryu, S. Y.; Kim, Y. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 4015–4017.
- [4] (a) Heath, R. L.; Rose, J. D. *J. Chem. Soc.* **1947**, 1486–1489. (b) Ranganathan, D.; Ranganathan, S.; Rao, C. B.; Kesavan, K. *Synthesis* **1980**, 884–886. (c) Ranganathan, D.; Ranganathan, S.; Bamezai, S. *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 2789–2792. (d) Hassner, A.; Wiegand, N. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 3652–3656. (e) Barco, A.; Benetti, S.; Pollini, G. P.; Spalluto, G. *Synthesis* **1991**, 479–480. (f) Morris, M. L.; Sturgess, M. A. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 43–46. (g) Vega-Pérez, J. M.; Candela, J. I.; Blanco, E.; Iglesias-Guerra, F. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 9641–9650.
- [5] (a) Kitagawa, I.; Cha, B. C.; Nakae, T.; Okaichi, Y.; Takinami, Y.; Yoshikawa, M. *Chem. Pharm. Bull.* **1989**, *37*, 542–544. (b) Yoshikawa, M.; Nakae, T.; Cha, B. C.; Yokokawa, Y.; Kitagawa, I. *Chem. Pharm. Bull.* **1989**, *37*, 545–547. (c) Brimble, M. A.; Rowan, D. D. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1990**, 311–314. (d) Brimble, M. A.; Johnston, A. D. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 4887–4896. (e) Yoshikawa, M.; Yokokawa, Y.; Inoue, Y.; Yamaguchi, S.; Murakami, N. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 9961–9974. (f) Winterfeld, G. A.; Das, J.; Schmidt, R. R. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 3047–3050. (g) Wang, J.; Li, H.; Zu, L.;

Wang, W. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 1391–1394. (h) Wang, L.; Shirakawa, S.; Maruoka, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 5327–5330.

[6] (a) Enders, D.; Wiedemann, J. *Synthesis* **1996**, 1443–1450. (b) Vakulenko, M. I.; Lapshina, L. V.; Grishchenko, S. I.; Efremova, I. E.; Berestovitskaya, V. M. *Russian J. General Chemistry*, **2010**, *80*, 2393–2395.

[7] Nielsen, M.; Zhuang, W.; Jørgensen, K. A. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 5849–5854.

[8] Lykke, L.; Monge, D.; Nielsen, M.; Jørgensen, K. A. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 13330–13334.

[9] Kobayashi, T.; Shimura, T.; Kurita, Y.; Katsumata, Y.; Kezuka, S. *Tetrahedron Lett.* **2014**, *55*, 2818–2821.

[10] (a) Lucet, D.; Toupet, L.; Gall, T. L.; Mioskowski, C. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 2682–2683. (b) Lucet, D.; Sabelle, S.; Sabelle, S.; Kostelitz, O.; Gall, T. L.; Mioskowski, C. *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 2583–2591. (c) Lucet, D.; Heyse, P.; Gissot, A.; Gall, T. L.; Mioskowski, C. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 3575–3579. (d) Leroux, M-L.; Gall, T. L.; Mioskowski, C.; *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, *12*, 1817–1823. (e) Feroci, M.; Inesi, A.; Palombi, L.; Rossi, L. *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, *12*, 2331–2335. (f) Turconi, J.; Lebeau, L.; Paris, J-M.; Mioskowski, C. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 8109–8114.

[11] Arai, T.; Wasai, M.; Yokoyama, N. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 2909–2912.

[12] Jiang, B.; Huang, Z. *Synthesis* **2005**, 2198–2204.

[13] Cassel, S.; Casenave, B.; Déléris, G.; Latxague, L.; Rollin, P. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 8515–8524.

[11] Arai, T.; Wasai, M.; Yokoyama, N. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 2909–2912.

[12] Jiang, B.; Huang, Z. *Synthesis* **2005**, 2198–2204.

[13] Cassel, S.; Casenave, B.; Déléris, G.; Latxague, L.; Rollin, P. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 8515–8524.

## 研究成果報告

### 学会発表

[1] キラルニトロネートに対するジアステレオ選択的なヒドロキシメチル化反応の開発とそれを応用したマンザシジン合成

三好夏美、工藤孝幸、石川彰彦、坂倉彰

第30回若手化学者のための化学道場 2014.8.29–30  
倉敷

[2] ニトロアルケンへの  $\alpha$ -アミノ酸エステルのマイケル付加を鍵反応とする置換ピペラジノンの新規

合成法の開発

工藤孝幸、坂倉彰

岡山大学知恵の見本市2014 口頭講演、

2014.11.14 岡山大学創立50周年記念館

岡山大学知恵の見本市2014 ポスター発表 プ

ース41番、2014.11.14 岡山大学創立50周年記念

館

[3] 高選択的キナーゼ阻害剤開発のための *in silico*

スクリーニング法の開発

工藤孝幸

日本化学会情報化学部会主催 第二回若手の会、

2014.11.29 日本化学会化学会館

[4] ニトロアルケンへの $\alpha$ -アミノ酸エステルのマイ

ケル付加を鍵反応とする置換ピペラジノン合成法の

応用

鍵本祥子、工藤孝幸、坂倉彰

第95回日本化学会春季年会 1J1-04 2015.3.26

日本大学 船橋キャンパス

## 新規血管新生阻害剤の合成と口腔癌および炎症性疾患領域における阻害効果の検討

岡山大学自然科学研究科

萬代 大樹

既存の血管から新たな血管が出芽して血管網が再構築される過程を血管新生と呼ぶ。これを阻害してやれば「血流遮断による兵糧攻め」によって口腔癌および歯周炎の進行を抑えることができると考えられる。そこで申請者らは真菌が生産する低分子化合物である(+)-terreinに着目した。(+)-terreinは様々な生理活性をもつ化合物として知られており、その合成法もいくつか報告されている。我々の研究グループも当初、文献法に従って(+)-terreinの合成を試みたが、実験の再現性が取れないといった問題があり、種々の検討を行ない文献法の改良をした結果、収率よく(+)-terreinを合成することができた。また合成品の(+)-terreinは口腔癌領域および炎症性疾患領域のモデル系で極めて有効であることを明らかにした。

がんは日本人の死亡原因の第1位を占めており、現在では約3人に1人ががんで死亡するという状況になっている。世界的にみても、ごく最近のWHOの報告によれば2000年のがん罹患者は一千万人に及び、今後更に増加することが指摘されていることから「がんの克服を目指す研究」は、今までも増して社会的要請の高い推進課題となっている。一方、口腔内の慢性炎症性疾患の一つである歯周病が糖尿病や循環器系疾患等の生活習慣病と密接に関係していることが数多く報告されている。歯周病はう蝕(むし歯)とならんで口腔内における二大疾患の一つであり、その罹患率(国民全体の70%以上)の高さを考えると国民病の一つと言える。高齢化社会を迎えた今、上記の問題を解決する新規分子標的薬の開発が強く望まれている。

既存の血管から新たな血管が出芽して血管網が再構築される過程を血管新生と呼ぶ。これを阻害してやれば「血流遮断による兵糧攻め」によって癌および歯周炎の進行を抑えることができると考えられる。そこで申請者らは低分子化合物であるterreinに着目し、研究に着手した(図1)。

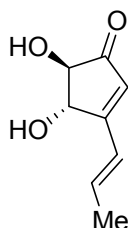


図1. (+)-Terreinの構造

(+)-Terreinは1935年に発見されて以来、その詳細な生理活性についての報告はされていなかった。しかし、1983年にKamataらによって植物の成長阻害作用があることを報告した(*Agric. Biol. Chem.* **1983**, *47*, 2637)。そして、2004年にメラニン形成阻害効果があることがParkらによって報告された(*Cell. Mol. Life Sci.* **2004**, *61*, 2878)。さらにParkらは2008年に角化細胞増殖の阻害効果を報告し(*Exp. Dermatol.* **2008**, *17*, 312)、2009年にチロシナーゼ阻害効果を報告した(*Exp. Dermatol.* **2009**, *18*, 562)。2008年にはYiらによってヒト歯髄細胞における抗炎症作用があることが報告されている(*J. Endod.* **2008**, *34*, 433)。また2008年にArakawaらによって癌細胞におけるAngiogeninの阻害効果を報告している。一方、(+)-terreinを用いて、口腔癌・歯周炎における評価は、これまでの研究対象として取り上げられたことのない分野であった。本研究によって、口腔癌および歯周炎に対する阻害効果が確認できれば、この分野に対して波及効果が大きいものと考えている。またその成果は新規阻害剤の発見や分子標的薬の開発へと繋がるのが期待できる。このように(+)-terreinは新規血管阻害剤として大変魅力ある化合物であるが、天然の*Aspergillus niger*(コウジカビ)から抽出によって、ごく微量(数~数百mg)しか得られない希少化合物であり、その入手は極めて困難である。将来に渡って様々な生理活性試験を行うためには、合成化学的手法により、潤沢にサンプルを供給する体制を整える必要がある。

そのような背景のもと、文献既知の合成法(*Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, *29*, 67) をもとに酒石酸ジエチルから(+)-terrein の合成を試みたが、詳細な実験項が無く、シクロペンテノン骨格合成の収率の再現性およびシリル基の脱保護の段階において、目的生成物がラセミ化し光学純度が低下してしまうという問題があった。そこで各ステップの詳細な検討を行った。安価に入手可能な酒石酸ジメチルを出発原料として用い、そのジオール部位をシリル保護(TBS= $-\text{SiMe}_2t\text{-Bu}$ )し、化合物 **1** を定量的に得た。これに対してリチオ化されたジメチルメチルホスホネートを作用させて五員環の形成を行ない化合物 **2** を収率 65% で得た。また Horner-Wadsworth-Emmons 反応により化合物 **2** を **4** に変換し、(+)-terrein の保護体となる化合物 **4** を収率 83% で得た。これに対してテトラブチルアンモニウムフロリド水溶液を作用させることでシリル基の脱保護を行ない、天然型(+)-terrein を収率 86% で得ることに成功した。なおここでの鏡像体過剰率は >98% ee であり、ラセミ化などの副反応が進行していないことを確認した。四工程総収率 46% で(+)-terrein を合成することができた(図 2)。

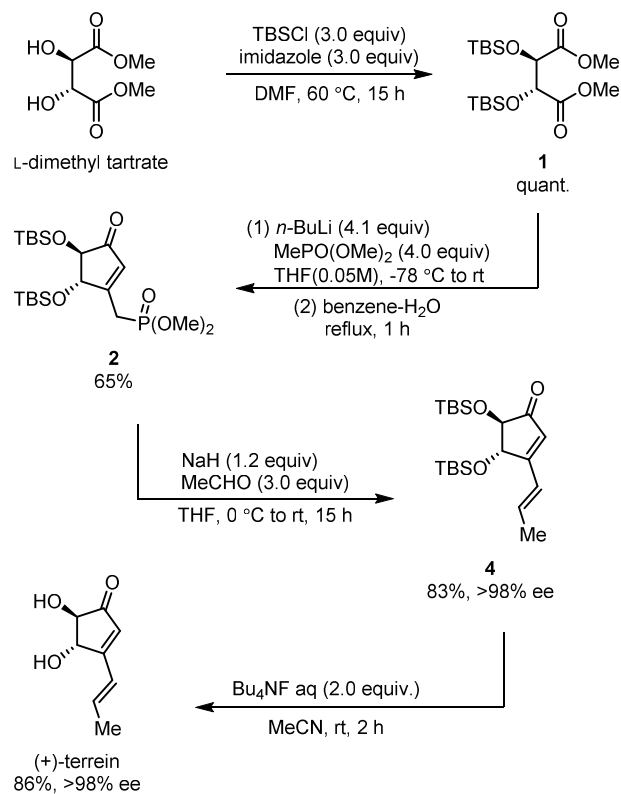


図 2. (+)-Terrein の合成経路

合成した(+)-terrein の立体構造の確認は、<sup>1</sup>H および <sup>13</sup>C の核磁気共鳴 (NMR) を用いて炭素骨格を確認し、高分解能質量分析 (FAB) によって分子量を測定して(+)-terrein であると判断した。天然抽出物との比較は、比旋光度を比較することによって、天然物と同一の鏡像異性体であることを確認した。さらに申請者らの合成法に従って、非天然型 terrein 類縁体 (鏡像異性体, ラセミ体, シリル基置換 terrein) の合成にも成功している。このようにして天然型 (+)-terrein ならびに非天然型 terrein 誘導体の潤沢な供給法を確立したので、次にこれらの化合物を用いて生理活性評価を行った。

### 【口腔癌に対する抗腫瘍効果に関する評価】

(共同研究者：岡山大学医歯薬学総合研究科 伊原木總一郎博士)

癌細胞の産生する Angiogenin (ANG) は、血管内皮細胞に作用し血管新生を促進する。最近、ANG は血管内皮細胞に作用するだけでなく、癌細胞の増殖も促進させることが明らかになった。ANG を阻害すれば、血管新生と癌細胞増殖を同時に抑制できる可能性がある。アスペルギルス属真菌から抽出された ANG 阻害薬(+)-terrein は、前立腺癌細胞の ANG 発現を抑制する。しかし(+)-terrein が口腔癌細胞に与える影響は不明である。そこで本研究では(+)-terrein が口腔癌の増殖と浸潤および血管新生に与える影響を検討した。

### (+)-Terrein がヒト口腔扁平上皮癌細胞の増殖、運動、遊走、浸潤に与える影響

細胞株 HSC-2, HSC-3, HSC-4, SAS, OSC-19, OSC-20 を用いて細胞増殖能を検討した。いずれの細胞においても(+)-terrein 添加群が対照群と比較して増殖能を濃度依存的に抑制していた。

OSC-19 細胞を用いて wound healing assay で運動能を検討した。(+)-Terrein 添加群が対照群と比較して創傷面積は縮小せず、運動能が有意に抑制されていた。

OSC-19 細胞を用いて migration assay で遊走能検討した。メンブレン下層へ遊走した細胞数は、対照群

997±134 個, (+)-terrein 20 μM 添加群 704±129 個, (+)-terrein 20 μM 添加群 575±118 個であり, 運動能と同様に(+)-terrein 添加群が対照群と比較して遊走能が有意に抑制されていた。

OSC-19 細胞においてマトリゲルインベーションチャンバーを用いた invasion assay で浸潤能を検討した。マトリゲルを破壊してメンブレン下層へ浸潤した細胞数は, 対照群 402±113 個, (+)-terrein 20 μM 添加群 320±80 個, (+)-terrein 50 μM 添加群 256±80 個であり増殖能, 運動能, 遊走能と同様に(+)-terrein 添加群が対照群と比較して遊走能が有意に抑制されていた。

### **(+)-Terrein が背部皮下腫瘍モデルに与える影響について**

OSC-19 細胞を 5 週齢雄のヌードマウスの背部皮下に移植し, (+)-terrein 投与群と対照群の腫瘍体積を経時的に計測した。両群ともに経時的に腫瘍体積は増加し, 移植 8 週間後に腫瘍体積は(+)-terrein 投与群 1435±583mm<sup>3</sup>, 対照群 6109±3570mm<sup>3</sup> になった。屠殺後摘出した腫瘍の重量は, (+)-terrein 投与群 0.975±0.345g, 対照群 2±0.93g であった。(+)-terrein 投与群が対照群と比べて有意に腫瘍体積, 腫瘍重量が小さかった。

また移植部における血管新生については血管新生時に血管内皮細胞間の相互作用における重要な役割を担っているタンパク質 CD31 に対する抗体を用いて免疫組織化学的に検討した。血管密度の高い部位を 100 倍視野下で 3 視野選び, 血管面積を計測し平均値を算出し評価した。血管面積はそれぞれ (+)-terrein 投与群 21709±8163mm<sup>2</sup>, 対照群 35817±12017mm<sup>2</sup> で血管面積に有意差を認め, (+)-terrein 投与による血管新生の抑制を認めた。

Ki67 は細胞周期関連核タンパク質で, 細胞増殖と細胞周期のマーカーとして用いられる。この抗体を用いて免疫組織学的染色を行い, 100 倍視野下で 3 視野選び, Ki67 陽性細胞数を計測し平均値を算出し評価した。Ki67 陽性細胞数はそれぞれ(+)-terrein 投与群 111±8 個, 対照群 157±18 個で有意差を認め, (+)-terrein 投与による腫瘍増殖能の抑制を認めた。

(+)-Terrein は口腔癌細胞に対して直接的に増殖, 浸潤を抑制するだけでなく, 血管新生を抑制することで抗腫瘍効果を示し, 口腔癌に対して分子標的治療薬として有用であると考えられた。

### **【炎症性疾患領域に関する評価】**

(共同研究者：岡山大学病院 大森一弘博士)

慢性炎症は, 生活習慣病, 癌, 自己免疫疾患, 神経疾患等の発症および進展に深く関与することが今日知られている。慢性炎症の発症には, 主に 3 つの要因, ① 内因性リガンド[酸化 LDL (low density lipoprotein), 脂肪酸, S100 タンパク質等], ② 炎症のキーファクター[炎症性サイトカイン, プロスタグランジン, c-Jun N-terminal kinase (JNK), signal transduction and activator of transcription (STAT) 等], ③ 実質細胞 (免疫担当細胞, 癌細胞, 神経細胞, 線維芽細胞等) が挙げられ, 各々の因子が密接に関与している。また, 慢性炎症発症のプロセスとしては, 血管新生, 免疫担当細胞の浸潤, 組織のリモデリング, 線維化が挙げられる。

これまで慢性炎症の制御を試みるために, 前述の発症因子や発症プロセスをターゲットとした研究が進められてきた。従来, 慢性炎症制御のターゲットは, 腫瘍壊死因子 (TNF) やインターロイキン (IL) に代表される炎症性サイトカインそのものであった。しかし, 近年では, 慢性炎症の波及に必須な幼若な毛細血管の新生をターゲットにした研究が報告され始めている。慢性炎症時に新生される病的な毛細血管は, 疾患の進行に深く関わる事が知られている。血管新生を誘導する因子として, 血管内皮細胞増殖因子 (vascular endothelial growth factor : VEGF), 血小板由来増殖因子 (platelet-derived growth factor : PDGF), angiogenin 等が挙げられる。

本研究では, 口腔内の慢性炎症性疾患の一つである歯周炎の病態に VEGF が関与すると仮定し, 歯周組織を構築する主細胞の一つである歯肉線維芽細胞 (HGFs) を用いて, 各種炎症性サイトカインが VEGF の産生性に及ぼす影響を検討した。

### (+)-Terrein が HGFs の細胞障害性に及ぼす影響

HGFs における(+)-terrein が細胞数に及ぼす影響として、0.1-50  $\mu\text{M}$  の濃度では影響を与えなかったが、100  $\mu\text{M}$  以上の濃度で有意に細胞数が減少した (図 3A,  $p<0.05$ ). 一方、細胞増殖活性に及ぼす影響として、0.1-10  $\mu\text{M}$  の濃度では影響を与えなかったが、50  $\mu\text{M}$  以上の濃度で有意に細胞増殖活性が抑制された (図 3B,  $p<0.05$ ). 以上の結果をもとに本研究では、(+)-terrein を 0-20  $\mu\text{M}$  の濃度で用いて以後の実験を行った.

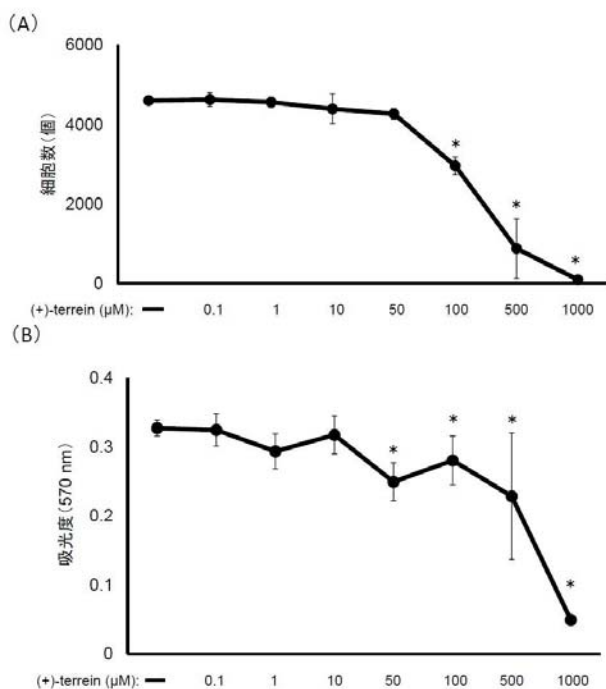


図 3. (+)-Terrein が HGFs の細胞障害性に及ぼす影響

### (+)-Terrein が HGFs の IL-6/sIL-6R あるいは IL-1 $\beta$ 誘導性 VEGF 産生に与える影響

HGFs において(+)-terrein は IL-6/sIL-6R 添加によって亢進した VEGF の産生を無添加時と同程度まで有意に抑制した (図 4,  $p<0.05$ ). また、(+)-terrein は IL-1 $\beta$  添加によって亢進した VEGF の産生も IL-6/sIL-6R 添加時と同様に無添加時と同程度まで有意に抑制した (図 4,  $p<0.05$ ).

### (+)-Terrein が HGFs における IL-6/sIL-6R 誘導性細胞内シグナル伝達系に与える影響

(+)-Terrein は、IL-6/sIL-6R 添加によって亢進した

STAT3, ERK1/2, および JNK1/2 のタンパク質のリン酸化を濃度依存的に有意に抑制した (図 5,  $p<0.05$ ).

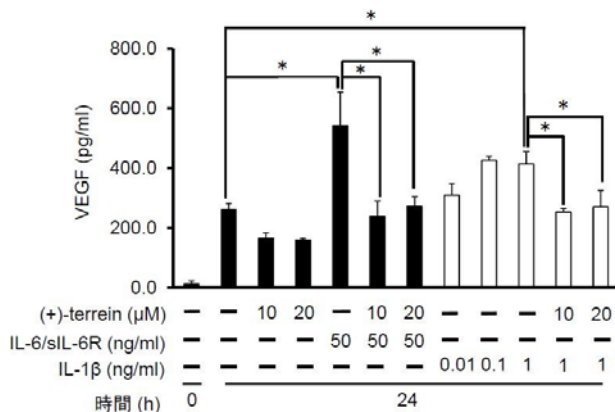


図 4. (+)-Terrein が HGFs の IL-6/sIL-6R あるいは IL-1 $\beta$ 誘導性 VEGF 産生に与える影響

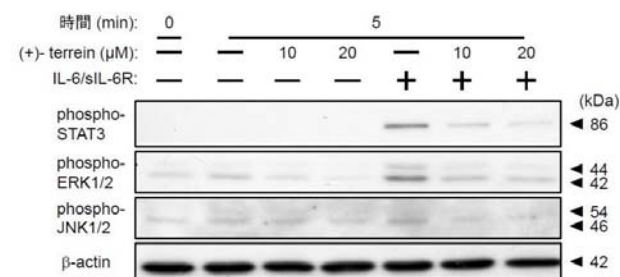


図 5. (+)-Terrein が HGFs における IL-6/sIL-6R 誘導性細胞内シグナル伝達系に与える影響

慢性炎症性疾患の一つである歯周炎の病態に着目して、VEGF の病態への関与ならびに(+)-terrein による産生制御の可能性を検討したところ、HGFs における IL-6/sIL-6R 存在下での VEGF の産生亢進を共に生理的範囲内で抑制する結果は、(+)-terrein の新たな血管新生阻害因子の一つとして使用できる可能性を示唆するものである.

我々は (+)-terrein に着目し、それを潤沢に供給する方法を確立した. また口腔癌および炎症性疾患領域のモデル系において、(+)-terrein は極めて有効であることが明らかになり、新しい分子標的治療薬としての可能性を見出すことができた. 本研究助成で得られた成果は学術雑誌 *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2014**, 5338.に報告した.

## 電氣的な反応点制御に基づいた集積的カップリング反応による有機半導体分子の探索

岡山大学大学院自然科学研究科

光藤 耕一

ビルディングブロックを連結して分子を構築するときに、ワンポットで特定のファクターのオン/オフによって複数の反応点から任意の反応点を選ぶこと、すなわち反応点のスイッチングができれば、反応の集積化が可能となる。電氣の様なオン/オフの容易なファクターをスイッチに用いて反応を制御できれば、同一装置内でオン/オフを繰り返しながら同一の操作を行うだけで、選択的かつ逐次的に結合様式の異なるカップリング生成物の構築が可能となるので、効率的な分子構築が可能となる。本研究では複数の反応点を有する $\pi$ ユニットを連結する際に、電氣のオン・オフのスイッチングをファクターとして逐次的に反応点を切り換えることにより、反応を集積化し、複数の $\pi$ ユニットを任意に連続的に連結した拡張 $\pi$ 電子系分子を構築することを目的とし、通電条件下（スイッチオン）でアルキンのホモカップリング反応を、電氣を流さない条件下（スイッチオフ）でのクロスカップリング反応を連続的に行うことで、様々な $\pi$ 拡張ジイン誘導体の簡便合成を達成した。また、得られた $\pi$ 拡張ジインは容易にチオフェン誘導体へと変換可能であり、得られた $\pi$ 拡張ジインが溶媒によって蛍光波長が変わる蛍光ソルバトクロミズムを示すことも見出したので併せて報告する。

## 1. 目的と意義

ビルディングブロックを連結して分子を構築するときに、ワンポットで特定のファクターのオン/オフによって複数の反応点から任意の反応点を選ぶこと、すなわち反応点のスイッチングができれば、反応の集積化が可能となる。同一装置内でオン/オフを繰り返しながら同一の操作を行うだけで選択的かつ逐次的に結合を生成して、結合様式の異なるカップリング生成物の構築が可能となるからである。特に電氣の様なオン/オフの容易なファクターをスイッチに用いて反応を制御できれば、効率的な分子構築が可能となる。

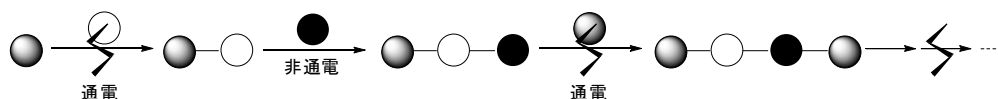
本研究では複数の反応点を有する $\pi$ ユニットを連結する際に、電氣のオン・オフのスイッチングをファクターとして逐次的に反応点を切り換えることにより、反応を集積化し（時間的集積化）、複数の $\pi$ ユニットを任意に連続的に連結した拡張 $\pi$ 電子系分子を構築することを目的とした。実際に、複数の反応点を有する基質の反応点を電氣のオン・オフによっ

て切り換える手法を確立し、 $\pi$ 拡張ジイン、テトラアレーン等の合成を確立した。得られた両末端にジメチルアミノ基を有するビス（ビアリーール）ブタジエンが全く対称な非極性分子であるにもかかわらず蛍光ソルバトクロミズムを示すことを明らかとした。また、 $\pi$ 拡張ジイン誘導体については更なる分子変換のおこなうと共にその物性を精査した。以下にその成果を示す。

## 2. 研究結果

2-1. 電氣化学的な時間的集積化による $\pi$ 拡張ジイン誘導体の合成

まず、電氣的スイッチングに基づいた $\pi$ 拡張ジイン誘導体の合成をおこなった。触媒量の酢酸パラジウム、ヨウ化銅、*p*-ベンゾキノン (pbq)、トリエチルアミン存在下、*p*-ブロモフェニルアセチレン (**1**) を電氣化学的にホモカップリングさせ、系中でビス(*p*-ブロモフェニル)ブタジイン (**2**) を発生させた(スイッチ ON)。その後、通電を止め、溶液に配位子、塩

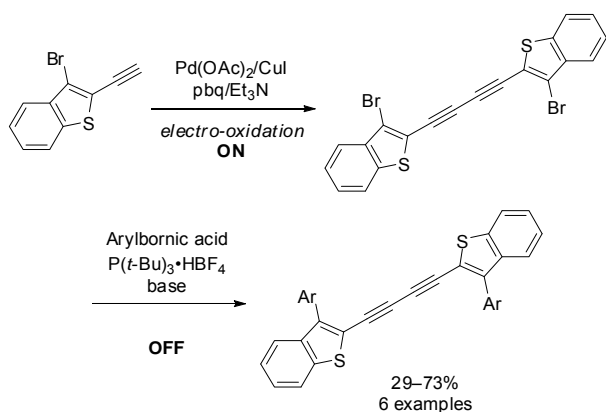


スイッチのオン/オフを繰り返すことで逐次的に分子を構築していく



基、及びにアリールボロン酸を加え、加熱することで二段階目の反応を行い対応する  $\pi$  拡張ジイン (**3**) を得た(表 1)。本連続反応の基質一般性の結果を次頁に示す。電子供与性置換基であるアルキル基やアルコキシ基、ジメチルアミノ基といった置換基を有するアリールボロン酸を用いると、いずれの場合も速やかに反応が進行し、対応する  $\pi$  拡張ジイン誘導体 **3a-e** を良好な収率で与えた。また電子求引性の置換基を導入した場合も問題なく反応は進行した (**3f-h**)。また、ナフチル基やスチリル基といったより嵩高い置換基も導入可能であり高収率で目的カップリング体 **3i, 3j** が得られた。

*p*-ブロモフェニルアセチレンに替えて 3-ブromo-2-エチニルベンゾチオフェンを用いることで、ベンゾチオフェンを導入したジイン誘導体の合成にも成功した (式 1)。

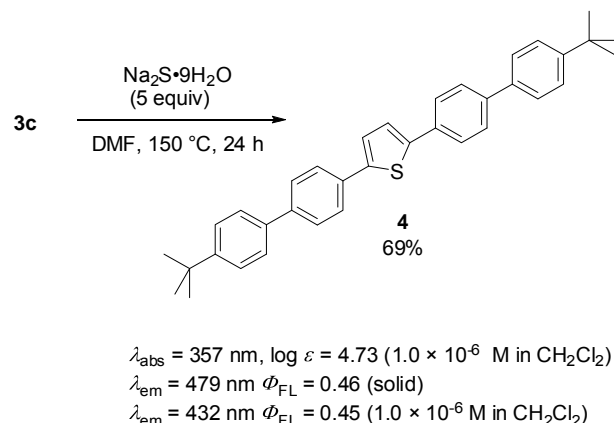


式 1. 電気的な反応点制御を利用した含ベンゾチオフェン  $\pi$  拡張ジインの合成

## 2-2. $\pi$ 拡張ジインの分子変換

得られた  $\pi$  拡張ジインはいずれも容易にチオフェン誘導体へと誘導可能であった。例えば  $\pi$  拡張ジイン **3c** に硫黄化ナトリウムを作用させたところ、速やかにチオフェン誘導体 **4** へと変換された (式 2)。 **4** は固体および液体状態で強い蛍光発光を示した。その他のチオフェン誘導体についても光学特性を評価したところ、両端に導入するアリール基によってその光特性が大きく変化することもわかった。これらの分子は別法でも合成可能であると思われるが、今回初めて合成した分子が大半であった。用いるアリールボロン酸を変えるだけで多様な誘導体が合成可

能な本法は、簡便に多様な  $\pi$  拡張チオフェンを合成する手法として極めて有効であると思われる。



式 2.  $\pi$  拡張ジインのチオフェン誘導体への変換

## 2-3. 蛍光ソルバトクロミズムの発現

一連のジイン誘導体を合成する過程において、分子両末端にジメチルアミノ基を有する  $\pi$  拡張ジインが蛍光ソルバトクロミズムを示すことを見いだした (図 1)。

一般的に蛍光ソルバトクロミズムを示す分子としては、ドナーアクセプター型分子のような大きな双極子モーメントを有するものが知られており、本ジイン誘導体のように双極子モーメントを有さない分子が蛍光ソルバトクロミズムを示すのは極めて珍しい。本特性を解明するため、アルキル鎖長を伸長したビス(ジアリール)プタジイン **3k, 3l** を同様の電気化学的な反応点制御を基軸とした分子変換により高収率で合成した。また窒素上にアリール基を導入し更に  $\pi$  拡張したビス(ジアリール)プタジイン **3m, 3n** も同様の手法で合成した(式 3)。

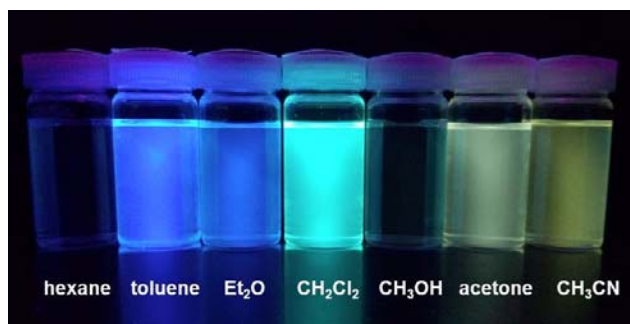
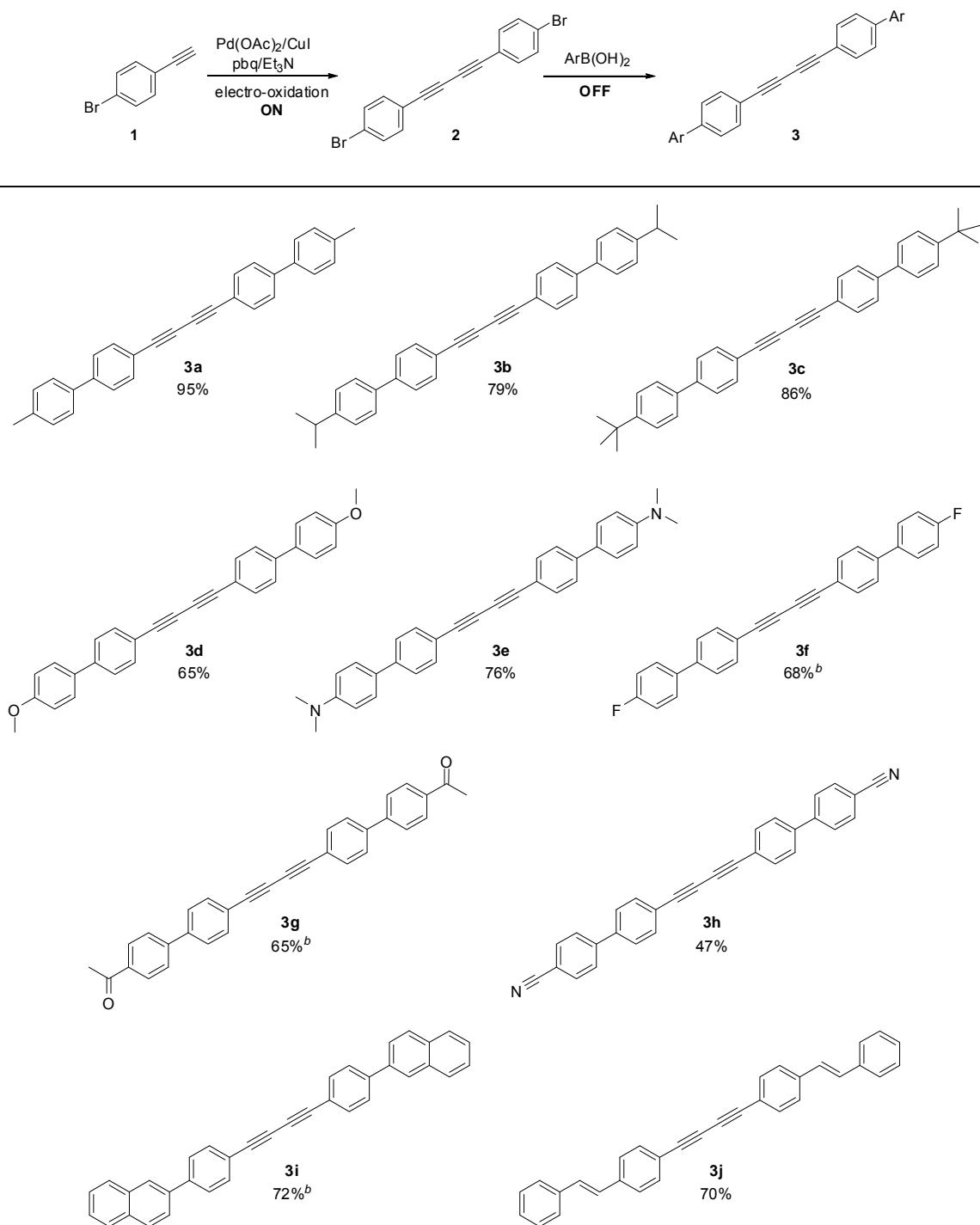
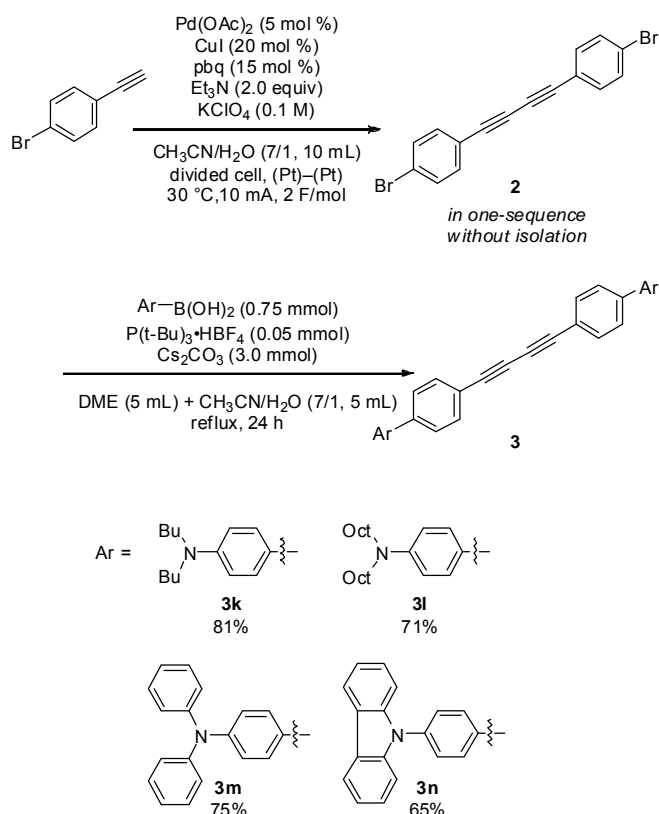


図 1. ジメチルアミノ基を有する  $\pi$  拡張ジイン誘導体 **3e** の蛍光ソルバトクロミズム

表1. 電氣的スイッチングに基づいたπ拡張ジイン誘導体合成<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Reaction conditions **ON**: **1** (0.5 mmol), Pd(OAc)<sub>2</sub> (5 mol %), CuI (20 mol %), pbq (15 mol %), Et<sub>3</sub>N (2.0 equiv), KClO<sub>4</sub> (0.1 M), CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O (7/1), 30 °C, 10 mA, 2 F mol<sup>-1</sup> (2 h 40 min). **OFF**: additionally added were arylboronic acid (0.75 mmol), P(t-Bu)<sub>3</sub>·HBF<sub>4</sub> (10 mol %), Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (3.0 mmol), DME (5 mL), and were refluxed for 24 h. Isolated yield. <sup>b</sup> NaClO<sub>4</sub> was used instead of KClO<sub>4</sub>.



式 3. 電気化学的な反応点制御によるアミノ基を有するビス(ジアリール)ブタジインの合成

得られたアミノ基を有するビス(ジアリール)ブタジインのジクロロメタン溶液 ( $1.0 \times 10^{-6}$  M) を調製し紫外可視吸光(UV-vis)スペクトル、蛍光(FL)スペクトル、蛍光量子収率( $\Phi_{FL}$ )の測定を行った(図 2, 表 2)。**3k-m** の最大吸収波長  $\lambda_{abs}$  は 385 nm 付近で、極大蛍光波長  $\lambda_{em}$  は 475 nm 付近で観測された。一方 **3n** は  $\lambda_{abs}$  が 345 nm、 $\lambda_{em}$  が 428 nm と **3k-m** に比べて短波長側で観測された。このとき **3k-m** では蛍光ソルバトクロミズムを発現した。一方 **3n** では蛍光ソルバトクロミズムを発現せず **3k-m** とは異なる物性を示した。窒素原子上にフェニル基を有するビス(ジアリール)ブタジイン **3m** とアルキル基を有するビス(ジアリール)ブタジイン **3k, 3l** の  $\lambda_{em}$  が近い値を示すことから、窒素原子上の二つのフェニル基とジイン骨格との  $\pi$  共役は弱いと推測される。また **3n** のみ最大吸収波長、極大蛍光波長共に **3k-m** よりも短波長側に見られることは、**3n** は **3k-m** に比べて  $\pi$  共役が広がっていないことを示唆している。

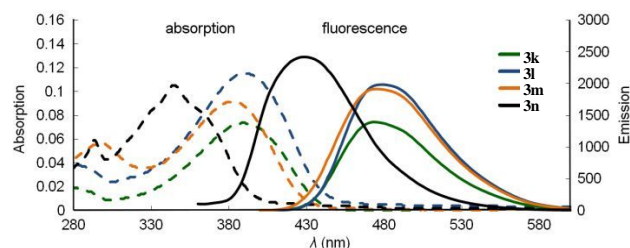


図 2. **3k-n** の紫外・可視吸光スペクトル及び蛍光スペクトル

表 2. **3k-m** の光学特性データ<sup>a</sup>

entry	3	$\lambda_{abs}$ (nm)	$\log \epsilon_0$	$\lambda_{em}$ (nm)	$\Phi_{FL}$
1	<b>3k</b>	389	4.87	473	0.81
2	<b>3l</b>	390	5.06	479	0.82
3	<b>3m</b>	382	4.96	475	0.99
4	<b>3n</b>	345	5.02	428	0.71

<sup>a</sup>  $1.0 \times 10^{-6}$  M in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .

蛍光ソルバトクロミズムをしめした **3k-m** のうちもっとも蛍光量子収率のよかった **3m** について、さまざまな溶媒中での光学特性を評価した(図 3, 表 3)。溶媒によって吸収波長はほとんど変化しなかったのに対し、溶媒の極性が上がるにつれて蛍光波長は長波長側に变化する蛍光ソルバトクロミズム特有の現象が観測された。ヘキサン中では紫色だった蛍光色はアセトニトリル中では緑色を示した。

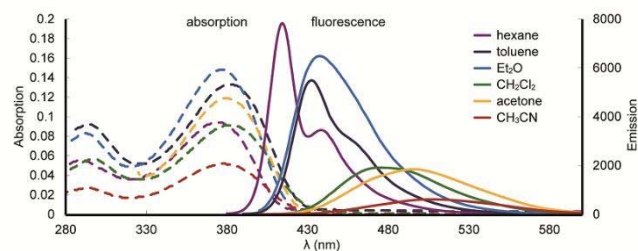


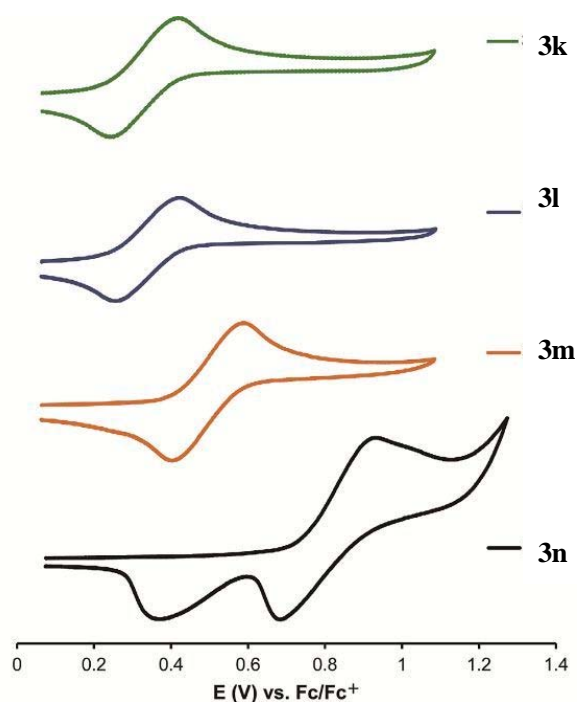
図 3. 様々な溶媒中での **3m** の紫外・可視吸光スペクトル及び蛍光スペクトル

表 3. 様々な溶媒中での **3m** の光学特性<sup>a</sup>

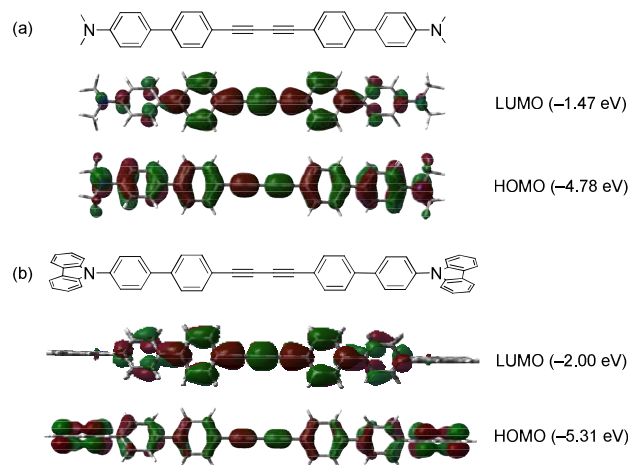
entry	solvent	$\lambda_{\text{abs}}$ (nm)	$\log \epsilon_0$	$\lambda_{\text{em}}$ (nm)	color of FL	$\Phi_{\text{FL}}$
1	hexane	374	4.97	415	violet	0.97
2	toluene	382	5.12	433	blue	0.88
3	Et <sub>2</sub> O	377	5.17	438	blue	0.99
4	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	382	4.96	475	green-blue	0.99
5	acetone	379	5.08	496	blue-green	0.88
6	CH <sub>3</sub> CN	379	4.72	507	green	0.94

<sup>a</sup>  $1.0 \times 10^{-6}$  M.

なぜ、類似の構造を有しているにもかかわらず、蛍光ソルバトクロミズムを示す化合物と示さない化合物があるのか調べるため、まず **3k-n** の電気化学的な性質をサイクリックボルタンメトリー (CV) により測定した (図 4)。**3k-n** にて一組の可逆な酸化・還元波が観測されるのに対し、**3n** についてはよりポジティブな電位に酸化波が観測され、また、二つの還元波が観測された。

図 4. **3k-n** のサイクリックボルタモグラム (CV)

**3n** のサイクリックボルタモグラムは **3n** の末端の官能基であるカルバゾールのそれと類似であり、この酸化波がカルバゾール由来であることを示しており、先程の紫外・可視吸光スペクトル及び蛍光スペクトルと共に、両端のカルバゾールとジイン骨格がほとんど共役していないことを示唆している。そこで、**3e** と **3n** の安定構造と HOMO-LUMO を DFT 計算により算出したところ、**3e** は窒素上の非共有電子対も共役系に含まれて分子全体が共役した構造をとるのに対し、**3n** は立体反発により、カルバゾールが主骨格に対して直交した構造をとる構造が安定である事が示された (図 5)。

図 5. DFT 計算により求めた **3e**, **3n** の HOMO-LUMO 軌道

同様の傾向は X 線結晶構造解析により求めた **3k**, **3l**, **3n** においても観測された (図 6)。結晶構造中でも **3k**, **3l** が分子全体で共役した構造をとるのに対し、**3n** ではカルバゾールが主骨格に対してねじれた構造をとっていた。すなわち、蛍光ソルバトクロミズムを示すためには、分子両端の窒素分子の非共有電子対が主骨格と共役していることが重要である事が示唆された。

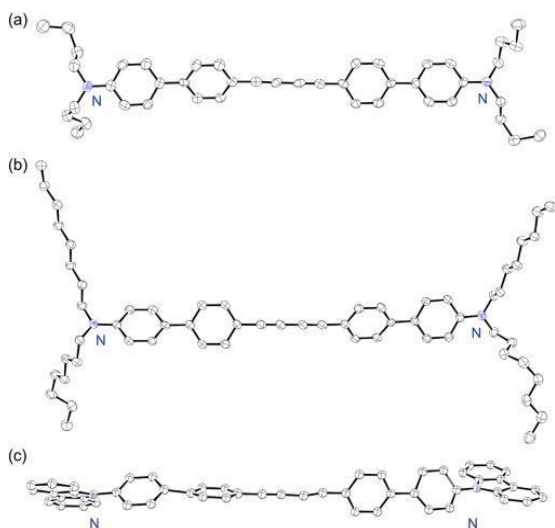


図 6. (a) **3k**, (b) **3l**, (c) **3n** の結晶構造

### 3. 結言

今回我々は、電気化学的な反応点制御による連続反応により、種々の $\pi$ 拡張ジインを合成する方法を開発した。得られたジインはそれぞれチオフェン誘導体へと変換可能であり、また中には優れた蛍光特性を示す分子も見られた。

様々な $\pi$ 拡張ジインを合成する中で、分子全体で非極性であるにもかかわらず蛍光ソルバトクロミズムを示す、珍しい分子群を見出すことができた。

蛍光ソルバトクロミズムを示す分子群を精査することで、両端の窒素原子上の非共有電子対が分子全体と共役することが重要であることがわかった。今後は得られた $\pi$ 拡張ジインとその誘導体のより精密な物性評価を行なうとともに、機能性材料への応用へと展開していきたい。

学会発表

(1) The 9th International Symposium on Integrated Synthesis (ISIS-9), Awaji, Japan, 2014.11.14-11.15

“Synthesis of  $\pi$ -Extended Dehydrobenzoannulenes Bearing Thiophenes and Their Physical Properties”

Natsuyo Kamimoto, Koichi Mitsudo, Seiji Suga

(2) The 9th International Symposium on Integrated Synthesis (ISIS-9), Awaji, Japan, 2014.11.14-11.15

“Integrated Synthesis of Bis(diaryl)butadiynes Bearing Two Amino Moieties by Sequential Coupling Reactions and Their Solvatochromic Fluorescence”

Koichi Mitsudo, Natsuyo Kamimoto, Nariaki Nakamura, Akina Tsutsumi, Seiji Suga

(3) 第25回基礎有機化学討論会 東北大学川内キャンパス 2014.9.7-9

「連続的カップリング反応による両端にアミノ基を有するビス（ジアリール）ブタジインの合成とその蛍光ソルバトクロミズム特性」

○光藤耕一・中村成明・神本奈津代・菅誠治

(4) ECS (アメリカ電気化学会) 225th Annual Meeting (2014.05.11-15) Orlando, USA

“Site-Selective Sequential Coupling Reactions Controlled By “Electrochemical Reaction Site Switching”: A Straightforward Approach to 1,4-Bis(diaryl)Buta-1,3-Diynes”

Natsuyo Kamimoto, Nariaki Nakamura, Koichi Mitsudo, Seiji Suga

(5) ECS (アメリカ電気化学会) 225th Annual Meeting (2014.05.11-15) Orlando, USA

“Synthesis of 1,4-Bis(diaryl)-1,3-Butadiynes Bearing Two Amino Moieties by Electrochemical Reaction Site Switching and Their Solvatochromic Fluorescence”

Koichi Mitsudo, Natsuyo Kamimoto, Nariaki Nakamura, Seiji Suga

江戸期の巨石樋門・倉水門の撤去に関わる記録保存および文献調査【経過報告】

岡山大学大学院環境生命科学研究科

樋口輝久

倉敷市亀山と帯高の間を流れる2級河川・六間川に位置する倉水門は、潮除け水門として18世紀初頭に築造されたもので、全幅10m(2連)、花崗岩の石梁を大胆に使用した典型的な岡山式の石造樋門で、かつ岡山県内に現存する最古の巨石樋門でもあり、非常に貴重な存在である。その倉水門が、河川改修事業によって撤去されるため、今後の解体・復元のための記録保存ならびに関係する古文書の収集・分析を本研究の目的としていたが、当初、平成27年2~3月に予定されていた撤去作業が、工事の遅れによって平成27年度(平成28年1~3月頃)に延期された。したがって、撤去作業中の締切水換え工を行った後に実施する予定であった水門本体(上部構造)の記録保存(3Dレーザースキャナ計測)も実施できず、平成27年度に持ち越すこととなった。

## 1. 研究の目的

倉水門の撤去に対して、地元住民は岡山県に保存の要望書を提出したにもかかわらず、河川拡幅のため現位置での保存は不可能で、移設についても予算的に不可能との結果であった。その後、倉敷市との協議によって、撤去される石材を付近の公園で再利用する方向でまとめ、石材には手を加えず、そのまま保存しておくことによって、将来、倉水門を復元する道筋が残された。しかしながら、倉水門は文化財に指定されておらず、岡山県および倉敷市の教育委員会は記録保存の予算すら確保できないため、地元から保存の相談を受けた代表研究者が、将来の倉水門復元のため、記録保存をしようとするものである。今、実測調査をして記録を残しておかなければ、二度と復元できなくなるばかりか、300年以上にわたって干拓地の生命線として機能し、親しまれてきた倉水門の存在そのものが忘れ去られてしまう。また歴史的構造物にとって、撤去は最悪の結果であるが、江戸期の石造樋門が稀少となった今日、その撤去作業によって当時の築造技術、とりわけ基礎構造が明らかとなる貴重な機会であり、本研究の果たす学術的役割は高い。

## 2. 研究の内容と進捗状況

本研究では、記録保存のための実測調査と、関係する古文書等の文献調査を実施する予定であった。

実測調査は、倉水門が撤去作業される際に、締切水換え工を行った後に、水門上部構造について、固定レーザースキャナによる3D計測を行う予定であったが、工事の遅れにより、平成27年2~3月に予定されていた撤去作業が、平成27年度(平成28年1~3月頃)に延期された。

なお、実測にあたっては、将来の復元に備え、城郭石垣の解体復元の手順と同様に石材に番号を付して記録する。そして、解体撤去の際には、石組みの方法、石材への印刻を確認し、下部構造(基礎部分)についても、その構造(江戸時代の基礎構造)を確認し実測を行うものである。

一方、文献調査は、倉水門の築造経緯、年代、関係人物を明らかにするため、文書や絵図の検索を行うものである。藩営干拓が行われ、その文書が一括して岡山大学に所蔵されている備前岡山藩の池田家とは異なり、倉水門は備中庭瀬藩の帯江戸川家と早島戸川家の領土にまたがり、その開発主体も庄屋、農民、商人と多岐にわたるため調査の対象は広範になる。

なお、当初、水門本体(上部構造)の3Dレーザースキャンに20万円、基礎部分(下部構造)に20万円、文献調査等に10万円の計50万円で申請していたが、助成額が20万円であったため、水門の復元に最低限必要な本体部分の記録保存に全額を充てる予定で、岡山県立記録資料館、倉敷市総務課歴史資料

整備室等において関連する資料の存在を確認したが、複写や詳細な分析は実施していなかった。

### 3. 文献調査の概要

予算の関係で詳細な分析は実施していないが、所在が確認できた文献の概要を示しておく。

#### (1) 西山家文書

高沼村の村役を務めた西山家の文書で、岡山県立記録資料館に所蔵されている。新田開発に関わる「高沼村新田開発以来謂古書」が収められており、正徳3(1713)年、高沼村に検地が入った際に庄屋の亀山喜七郎によって記された文書と思われる。

#### (2) 永山家文書

児島郡黒石村の名主などを勤めた永山家の文書で、倉敷市総務課歴史資料整備室に所蔵されている。

「覚」に倉水門という記述が見られ、奉行の野口弥市右衛門が、宝永3(1706)年に倉水門の設置を命ぜられたことが記されている。

#### (3) 帯江・早島領新田絵図

寛政9(1797)年に、帯江及び早島領の新田に関して記された絵図で、「蔵水門」という記述が見られる。

#### (4) 古谷家文書

都宇郡中庄村の村長などを勤めた古谷家の文書で、倉敷市総務課歴史資料整備室に所蔵されている。明治20(1887)年頃の倉水門の樋守の給料に関する文書である「倉水門・十六水門属具費受払簿」が収められている。

### 4. 今後の予定

平成26年度は、予算的に実測調査のみしか予定していなかったが、平成27年度も助成が得られれば、当初の予定通り、水門本体(上部構造)の3D計測に加え、基礎構造の実測調査及び詳細な文献調査も実施できる。その場合、倉水門の3Dレーザースキャナによる計測が可能となる時期(平成28年1月頃)

までに文献調査を実施する。具体的には岡山県立記録資料館、倉敷市総務課歴史資料整備室等に保存されている古文書のデジタル化および解読作業から取りかかる。一方、倉水門本体の記録保存については、平成28年の1月以降に水門本体(上部構造)の3Dレーザースキャナによる計測、水門本体の解体撤去後には、土中の基礎部分を段階的に掘削し、構造を確認しながら3Dレーザースキャナによる計測を実施する予定である。

助成が得られなかった場合は、繰り越した予算によって、水門本体(上部構造)の3D計測のみ実施する。



撤去を待つ倉水門

## 河川堤防内の細粒分含有率による不飽和土地盤特性に関する研究

岡山大学大学院 環境生命科学研究科

金 秉洙

一般的に河川堤防は、大きな礫から細粒分まで含む土で構成されているので、豪雨時の浸透・侵食により地盤強度の低下に最も関連する細粒分含有率に注目する必要がある。現在まで河川堤防の安全性照査のため、地盤工学的特性として細粒分含有率の条件を変化させながら地盤強度及び変形特性を定量的に評価されてきた。しかし、ほとんどの研究が原試料と異なるシルト分や粘土分を混合して実験に用いられ、河川堤防の地盤材料の元の地盤工学的性質を評価するには、限界があると判断される。よって、本研究では、河川堤防の地盤材料であるまさ土のみで細粒分含有率( $F_c$ )、10%、25%、40%を調整することで、細粒分含有率による不飽和土力学的特性を定量的に評価する。本研究の結果として、一定含水比圧縮試験により、細粒分含有率が増加、初期飽和度( $S_{ri}$ )が減少するほど、一軸圧縮強度( $q_u$ )が増加することが確認できた。また、細粒分含有率( $F_c$ )により水分特性曲線が異なり、同じ飽和度でも細粒分含有率が25%以上になると、土のせん断強度の増分にサクシジョンの影響が大きくなり、河川堤防の安全性を高めるということが分かった。これらの結果により、河川堤防の地盤材料において細粒分含有率の重要性が明らかになったと考えられる。

## 1. はじめに

近年、豪雨時の雨水の浸透・侵食により河川堤防崩壊などの不飽和地盤災害が頻繁に発生し、社会的問題となっている。この河川堤防は、一般的に大きな礫から細粒分まで含む土によって構成されている。降雨時には、雨水の浸透・侵食によって細粒分が初めに流出してしまう。そこで地盤強度低下に最も関連する細粒分含有率に注目した。しかし、現在まで河川堤防の安全性照査のため、地盤工学的特性として細粒分含有率の条件を変化させながら地盤強度及び変形特性を定量的に評価してきたものの、ほとんどの研究が原試料と異なるシルト分や粘土分を混合して実験に用いられてきた。これにより、河川堤防の地盤材料の元の地盤工学的性質を評価するには、限界があると判断される。また、実験条件として飽和状態での結論に止まっているので、不飽和状態で存在する自然河川堤防の力学的特性を定量的に評価したとは言えない。よって、本研究では、岡山県高梁川の堤防から採取する地盤材料を用い、この試料か

ら細粒分を取り、試験条件に合わせて細粒分含有率を調節する。これにより、自然河川堤防において細粒分含有率による不飽和土力学的特性を定量的評価が可能になり、河川堤防での一軸圧縮強度に及ぼす細粒分含有率の影響について評価できると考えられる。

本研究では、まず試料となる高梁川堤防から採取したまさ土について物性試験を行い、土の物性を把握する。その後、各試験条件において一定含水比圧縮試験および保水性試験を行い、細粒分含有率による土の一軸圧縮強度の増減について調べ、土のせん断強度と関連するサクシジョンと細粒分含有率の関係を明らかにする。最後に、SSM (Suction stress – SWRC Method : Kim et al. 2010)を適用により、不飽和土せん断強度の力学特性を調べることを目標とする。

## 2. 理論的背景

## 2.1 不飽和土せん断強度に対するサクシジョンの影響

水のメニスカスが生じて、土にサクシジョンが作用すると、土粒子間に吸い込む力が生じる。この粒子



間力は、土粒子間の滑りに対する抵抗を増加させ、その結果、不飽和土のせん断強度を増加させる。一般的に、不飽和土せん断強度式は、Bishop and Blight (1963)の提案式を始め、飽和土せん断強度の理論を拡張して提案されてきた。

$$\tau = c + \sigma \tan \phi + \Delta c \quad (1)$$

ここで、 $c$ ：飽和粘着力、 $\sigma$ ：鉛直全応力、 $\phi$ ：内部摩擦角、 $\Delta c$ ：見かけの粘着力である。

Fredlund et al. (1978)は、次のような不飽和土に対するせん断強度式を提案した。

$$\tau_f = c_{sat} + (\sigma - u_a) \tan \phi_{net} + (u_a - u_w) \tan \phi^b \quad (2)$$

ここで、 $\tau_f$ ：破壊面上のせん断応力、 $c_{sat}$ ：飽和状態での粘着力、 $\sigma$ ：鉛直全応力、 $\phi_{net}$ ：純鉛直応力に対する内部摩擦角、 $\phi^b$ ：サクシジョンの増加によるせん断強度の増加に対する変数である。

式(2)の右辺第3項の $(u_a - u_w) \tan \phi^b$ は、サクシジョンによるせん断強度増分を表している。また、サクシジョンが土の空気侵入値(AEV)より低い時、 $\phi^b$ の値は $\phi_{net}$ と等しい。また、サクシジョンが空気侵入値よりさらに大きくなれば、 $\phi^b$ の値は $\phi_{net}$ よりもっと小さくなる(Fredlund et al. 1987)。上式は、サクシジョンが増加しても、内部摩擦角 $\phi_{net}$ は一定値を保ち、 $c_{sat}$ と $(u_a - u_w) \tan \phi^b$ の和で示される全体の粘着力はサクシジョンと共に増加することを意味する。しかし、このような傾向は、高い拘束圧力状態での三軸試験の結果に基づいて得られたもので、式(2)が低圧力状態に対しても適用できるかについては、検証が必要である。

最近の研究結果では、不飽和土のせん断強度の変化が水分特性曲線と関連性を持つと報告されている(Vanapalli et al. 1996)。Bishop (1959)は、飽和度の関数 $\chi$ を用いて不飽和土の有効応力式を提案し、軽部ら(1996)およびVanapalli et al. (1996)は、式(2)の右辺3

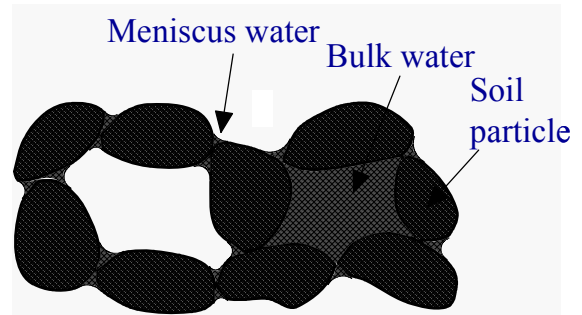


図-1 メニスカス水とバルク水 (Karube & Kato, 1994)

項のサクシジョンによるせん断強度増分成分に対して、次式を提案した。

$$c^* = \left( \frac{S_r - S_{r0}}{100 - S_{r0}} \cdot s \right) \tan \phi_{net} \quad (3)$$

ここで、 $c^*$ ：サクシジョンによるせん断強度増分であり、式(1)の右辺3項に対応する、 $S_r$ ：現在の飽和度、 $S_{r0}$ ：残留状態の飽和度、 $s$ ：サクシジョンである。

この式は、不飽和土の状態での粘着力の増加がサクシジョンの増加のみならず、飽和度の変化とも関係があるということを意味する。以上のことから、不飽和土のせん断強度特性を予測するためには、水分特性曲線を知ることが重要であることがわかる。

## 2.2 土中水の分布の影響およびサクシジョン応力

平衡状態における土中の水分量とサクシジョンの関係は、水分特性曲線として知られている。乾燥過程と湿潤過程での水分特性曲線の差は、ヒステリシスと呼ばれている。よって、同じサクシジョンでも、乾燥過程と湿潤過程では、異なる土中水の状態が存在する。土中水の状態が異なれば、その結果として間隙水の分布状態が変わる。図-1は、Karube & Kato (1994)によって提案された“バルク水”と“メニスカス水”の概念図を示している。バルク水は土粒子の間隙を占めている間隙水で、メニスカス水は土粒子の接点に存在する間隙水である。バルク水は飽和度が高いほど間隙水中に占める割合が高くなり、反対に飽和度の低下とともにメニスカス水の割合が増加す

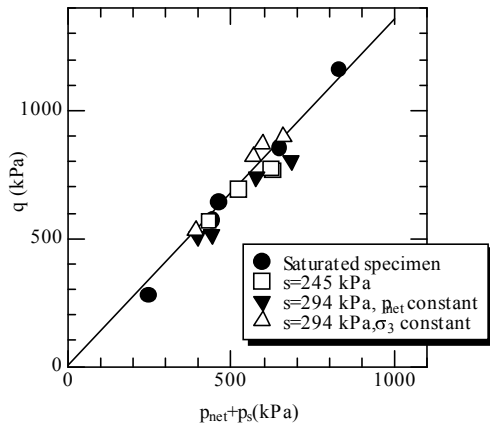


図-2 最大圧縮点でのせん断応力と等価拘束応力の関係 (Karube ら, 1996)

る。この二つの間隙水の形態によって、サクシオンが力学挙動に与える影響は異なるものと考えられる。

メニスカス水により生じるサクシオンは内部粒子間力を増加させて、それによって土骨格の剛性を増加させる。一方、バルク水により生じるサクシオンは土骨格の剛性を増加させて、同時に負の間隙水圧と同じ作用によって土骨格を圧縮して体積を減少させる。このような影響は負の間隙水圧の影響と同じものである。

軽部ら(1996)は、メニスカス水の影響で生じる応力成分をメニスカス応力( $p_m$ )、バルク水の影響で生じる応力成分をバルク応力( $p_b$ )で名付けた。また、二つの応力成分の和が次式のようにサクシオン応力( $p_s$ )を構成するとした。また、彼らはサクシオン応力として、次式を提案した。

$$p_s = \frac{S_r - S_{r0}}{1 - S_{r0}} \cdot s \quad (4)$$

軽部ら(1996)は、締固めたカオリン試料に対する三軸試験の結果を解析した。その結果、せん断過程中的の試料の最大体積圧縮状態で同じ拘束圧力( $p_{net} + p_s$ )に対して、せん断応力が一定の関係を示すことが分かった(図-2)。加藤ら(2001)は、締固めたシルト試料に対してサクシオンと体積変化を測定しながら一軸圧縮試験を行った。その結果から、拘束応力に対する一軸圧縮強度の関係がユニークなることを示した。このようなサクシオン応力は Bishop

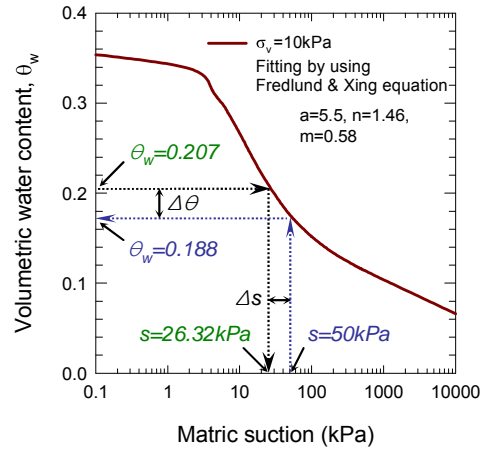


図-3 SSMによる水分特性曲線を用いたサクシオンの推定方法 (Kim et al. 2010).

の有効応力式の  $\chi$  により次式のように表されると考えられる。

$$p_s = \chi \cdot s \quad (5)$$

軽部ら(1996)および加藤ら(2001)の結果は、サクシオン応力としてサクシオンの影響を拘束応力に加える重要性を示している。他の研究者たちは不飽和土に対する結果を解析するため、同じようにサクシオンの影響を加えた等価拘束応力を示している。

Vanapalli et al. (1996)は、不飽和土のせん断強度の増加を推定するためにせん断強度式を提案した。また、試験結果に対する粘着力の考察から式(5)と同じ式を提案した。Khalili & Khabbaz (1998)は、骨格応力を使って、ユニークな破壊線が不飽和土の試験結果に対して得られたと報告した。彼らの結果で、骨格応力は基底応力、飽和度とサクシオンの積で与えられる等価応力との和として定義され、その等価応力はサクシオン応力と対応する。Kohgo et al. (1993)は、不飽和土に対する有効応力として、基底応力と、サクシオンの関数で与えられる等価応力との和として定義される応力要素を定義した。

### 2.3 Suction stress-SWRC Method (SSM)について

Kim et al. (2010)は、不飽和土の一面せん断試験結果を整理して、SSMによる供試体せん断面付近に作用するサクシオンの推定方法を提案した。一面せん

断試験では上下せん断箱の間の隙間から排水するため、供試体の水分量を制御することが難しい。このため、不飽和土の試験でよく行われているセラミックディスクを用いた加圧板法により実験条件としてサクシオンを制御しても、隙間からの排水の影響を受けるためせん断面付近のサクシオンの大きさが実験条件で設定されているサクシオンの大きさと同じである保証はない。SSM(Suction stress-SWCC Method)では、破壊面上に作用するサクシオンの値及びサクシオン応力を供試体の水分量から水分特性曲線に基づいて決定する。すなわち、図-3に示すように破壊時の供試体の飽和度から、その上載圧のもとで得られる水分特性曲線を用い、水分特性曲線上の供試体水分量に対応した点でのサクシオンの大きさを破壊面上に作用しているサクシオンの大きさとするものである。

Kim et al. (2010)の研究により、垂直基底応力にサクシオン応力を加えて破壊時の応力状態を  $\tau_f \sim (\sigma_{v, net} + p_s)$  関係を整理すると、飽和状態の破壊線付近にプロットが分布したと報告している。この結果は、SSMに基づき得られたサクシオン応力により、飽和・不飽和状態に対してユニークな破壊線が得られることを示している。さらに、河井ら(2002)の非排水状態の不飽和三軸圧縮試験の試験結果を再整理して、体積最大圧縮時の応力状態だけでなく、破壊時のピーク強度についても、ユニークな破壊線が得られることを報告している。これらの結果から、SSMによる整理方法は、一面せん断試験のみならず、三軸圧縮試験にも適用可能であると考えられる。なお、SSMは供試体の平均的な水分量から、水分特性曲線を通じてせん断面に作用するサクシオンの大きさを推定していると考えられる。今後、さらなる検討が必要ではあるが、水分量のみから破壊時のサクシオンの推定が可能であれば、その実務的な有用性は高いものと考えられる。

### 3. 試料および物理特性

本研究での試料は、岡山県高梁川堤防から採取したまさ土であり、その物理特性を把握のために室内

表-1 物性試験結果

項目	物理値
土粒子の密度 ( $\rho_s$ )	2.58 (g/cm <sup>3</sup> )
液性限界( $w_L$ )	N.P
塑性限界( $w_P$ )	24.60 (%)
最大乾燥密度( $\rho_{dmax}$ )	1.88 (g/cm <sup>3</sup> )

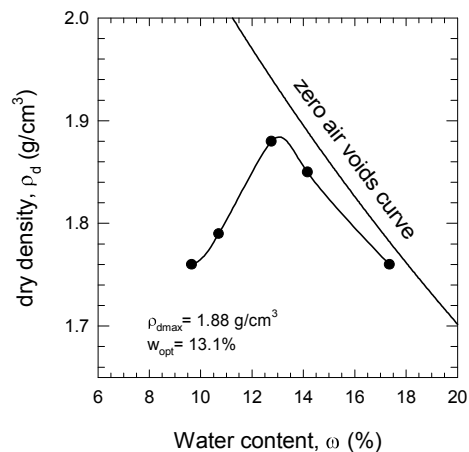


図-4 まさ土の締固め曲線

実験を行った。試験項目としては、土粒子密度( $\rho_s$ )を求める土粒子密度試験、液性限界( $w_L$ )、塑性限界( $w_P$ )を求める液性・塑性試験、最大乾燥密度( $\rho_{dmax}$ )、最適含水比( $w_{opt}$ )、締固め曲線を求める締固め試験、粒径加積曲線を求める粒度試験について試験を行った。

表-1は、高梁川堤防から採取したまさ土の物理特性試験の各々の試験結果を表したものである。まさ土の土粒子密度は一般的に  $\rho_s=2.6\sim 2.8$  g/cm<sup>3</sup> といわれているが、 $\rho_s=2.58$  g/cm<sup>3</sup> と少し小さい値となった。液性限界については JIS A 1205 の試験方法に則り、試験を行ったが含水比を求めることができず、 $w_p=N.P$  となった。最大乾燥密度( $\rho_{dmax}$ )、1.88 g/cm<sup>3</sup> と高く、最適含水比( $w_{opt}$ )、13.1%と低い値となり、砂質土の特徴的な締め固め曲線となった(図-4)。また、粒度試験結果により、本研究で用いるまさ土の場合、2mm以下が97.2%を占め、細粒分含有率( $F_c$ )、18.42%である粒度分布が分かる(表-2、図-5)。細粒分含有率( $F_c$ )10%、25%、40%の粒度分布については、まさ土の粒度分布曲線に基づいて求められている。

表-2 まさ土の粒度特性

項目	通過率
礫分 (75~2mm)	2.80 (%)
砂分 (2~0.075mm)	78.78 (%)
細粒分 (0.075mm 以下)	18.42 (%)
細粒分含有率( $F_c$ )	18.42 (%)
平均粒径( $D_{50}$ )	0.38 (mm)

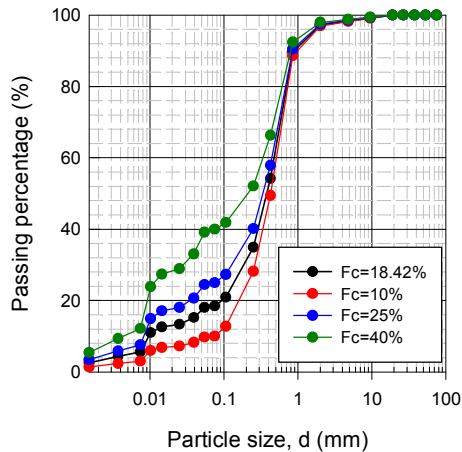


図-5 細粒分含有率によるまさ土の粒度分布曲線

#### 4. 保水性試験

保水性試験は、セル内の供試体に空気圧（正圧）を負荷し、供試体から排水される水分量を記録する試験である。本研究では、加圧法を採用し、サクシオンと飽和度の関係である水分特性曲線(Soil-water content(retention) curve: SWCC or SWRC)を求め、細粒分含有率( $F_c$ ) 10%, 25%, 40%による水分特性曲線の変化を把握することが目的である。

本研究での保水性試験には、三軸セルタイプに試験機を用いた。図-6は、それぞれ保水性試験装置の全景およびシステムを示している。この装置には鉛直荷重を測定するための荷重計、鉛直変位計、排水量測定のための差圧計、空気圧を測定するための圧力ゲージが取り付けられている。すべてのデータは自動測定システムによって測定され、コンピューターに保存される。供試体はセル内部に設置され、空気圧を与えたセル圧が試料上部のポーラスメタルを通じて間隙空気圧として作用する。供試体の下には円形のセラミックディスク(Air-entry value = 500 kPa)

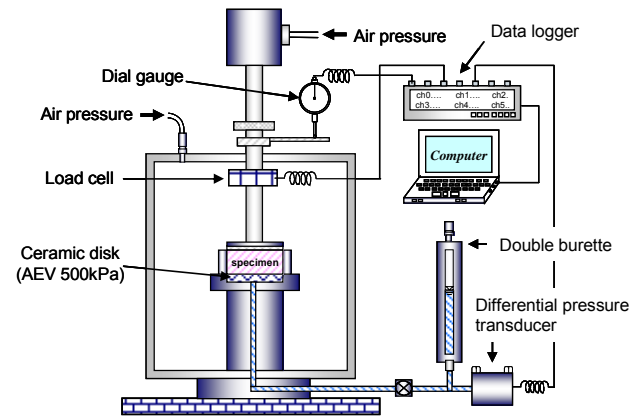


図-6 保水性試験装置の概念図

が設置され、排水経路と接続されている。

供試体は、一定含水比圧縮試験に用いる試料と同じまさ土を用いて静的締固め法によって作製した。供試体サイズは、直径 60 mm であり、試験時間を短縮するために供試体高さを 10 mm とした。細粒分含有率による各供試体の初期条件は、乾燥密度( $1.692 \text{ g/cm}^3$ ,  $\rho_{dmax}$  の 90%), 初期飽和度, 約 80% である。

試験手順としては、まず供試体を飽和させ、試験を行った。本研究での保水性試験では、所定の鉛直応力を与えず、セル圧を段階的に増加させて排水過程を行った。供試体に与えるセル圧としての空気圧は、段階的に 2 → 5 → 10 → 20 → 50 → 100 → 200 → 400 kPa まで加えられた。各空気圧での排水量が一定に収束すると、次の段階に移った。

細粒分含有率( $F_c$ ) 10%, 25%, 40%において保水性試験を行った。サクシオン( $s$ ) と飽和度 ( $S_r$ ) の関係を示す水分特性曲線を図-7 にまとめている。水分特性曲線は、含水量による吸水力の変化を現わす曲線として不飽和地盤の固有特性を現わしており、地盤の強度と挙動特性を決める非常に重要な基本物性である。これらの水分特性曲線をフィッティングするために、以下の Fredlund and Xing (1994) の提案式を用いた。

$$\theta = C(\psi) \left[ \frac{\theta_s}{\ln[e + (\psi/a)^n]} \right]^m \quad (6)$$

ここに、 $\theta$  : 体積含水率,  $\psi$  : 全サクシオン(kPa),

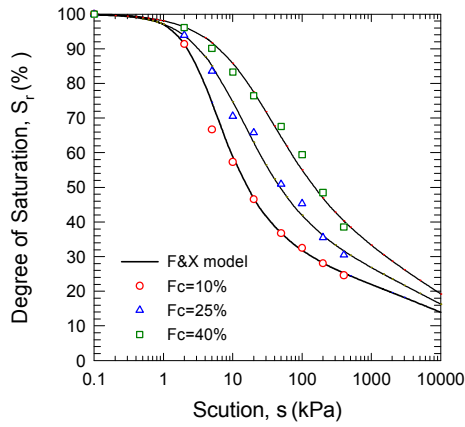


図-7 まさ土の細粒分含有率による水分特性曲線

表-3 フィッティングパラメーター

F <sub>c</sub> (%)	Fitting parameters		
	a	n	m
10	3.20	1.72	0.64
25	6.00	1.19	0.70
40	14.20	0.98	0.73

$\theta_s$  : 飽和体積含水率,  $e$  : ネイピア数(2.71828),  
 $C(\psi)$  : 修正関数である.

$$C(\psi) = \left[ 1 - \frac{\ln(1 + \psi/\psi_r)}{\ln(1 + 10^6/\psi_r)} \right] \quad (7)$$

ここに、 $\psi_r$ : 残留体積含水率に対応するサクシオン,  
 $a$  : フィッティング変数(空気侵入値と密接な関係を持つ),  
 $n$  : フィッティング変数(水分特性曲線の勾配),  
 $m$  : フィッティング変数(残留含水率と密接な関係を持つ)である.

本研究に用いた試料では、浸透サクシオン(Osmotic suction)の影響がほとんどないと考え、式(6)でのトータルサクシオン( $\psi$ )は、空気圧によるサクシオン(Matric suction)と等しいと仮定した。表-3は、まさ土試料の試験結果に対して式(6)を適用して得られたフィッティング変数を示している。図-7では、細粒分含有率による水分特性曲線をそれぞれ示している。図により、飽和度が減少と共にサクシオンの値が増加していること分かる。つまり、供試体から排水量が発生するほど、飽和度が減少し、サクシオンの増加と繋がる。また、細粒分含有率

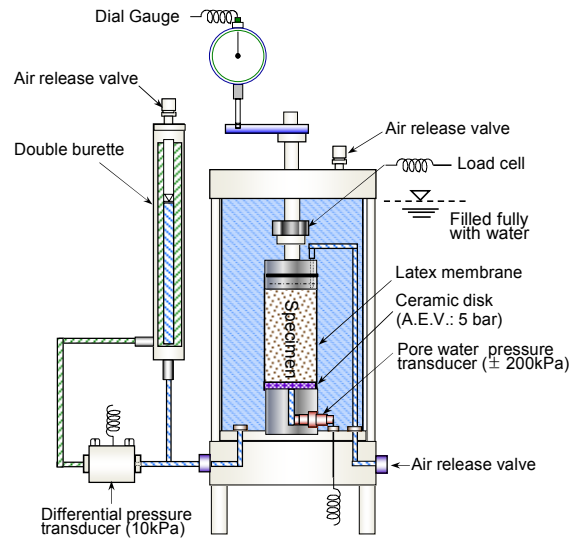


図-8 一定含水比試験装置の概念図

( $F_c$ )が高いほど、同じ飽和度の条件でサクシオンの値が大きくなること分かる。

## 5. 一定含水比圧縮試験

一定含水比圧縮試験とは、供試体を飽和させずに、含水比を一定に保った状態で周りから有効拘束圧力をかけず、鉛直荷重のみを載荷し圧縮を行う試験のことである。そしてその際に、センサーによって一軸圧縮強度を測定し、圧縮によって排水した吸排水量を二重管ビュレットで測定し、そこから体積ひずみを計測し、一軸圧縮強度と体積ひずみの関係を求める。大まかな実験の流れとしては、ふるい分け、試料準備、供試体の作製、供試体の設置、そしてせん断の順に実験を行う。

### 5.1 試験装置

図-8は、一定含水比圧縮試験の実験装置を示している。この実験装置は、ペロフラムタイプの三軸セルであるペダスタルには、ポーラスストーンの代わりにセラミックディスク(AEV=490kPa)を装着している。実験中はセラミックディスクに通じた水路路端部に取り付けたセルに通じる排水経路の先にビュレットを接続して、ビュレット内の水位の変動を差圧計により読み取り、セルからの吸排水量を測定した。吸排水量を測定することによって、体積ひず



写真-1 水洗い



写真-2 試料混合

みを計測した。セル上部には、軸変位計が取り付けられており、せん断中の供試体の軸変位量を測定した。荷重計はセル内部に装着されているため、せん断時のピストン貫入に伴う摩擦力を考慮する必要のない構造になっている。

## 5.2 試験方法

本研究で用いる細粒分含有率( $F_c$ ) 10%, 25%, 40%の一定含水比試験の供試体の製作のため、2mmふるいの下に0.075mmふるいを重ね、試料をふるい分けした。また、0.075mmふるいのものを水洗いし、乾燥させ、2~0.075mmと0.075mm以下の2種類の試料を用意した。この2種類の試料を目標の細粒分含有率( $F_c$ )に混合し、目標の飽和度( $S_r$ )になるように水を加え、十分に混ぜ合わせる。規定の質量を測った試料を3等分し、5cm×10cmモールドに詰め、静的三層締め固めを行い、その後ジャッキを用いて、直径5cm、高さ10cm供試体を取り出した(写真-1と2)。各供試体の初期状態は、表-4にまとめている。

作製した供試体をポーラスメタルの上に載せ、メ

表-4 各供試体の初期状態

$F_c$ (%)	$\rho_{di}$ (g/cm <sup>3</sup> )	$S_{ri}$ (%)	$S_{rf}$ (%)	$p_{sf}$ (kPa)
10	1.699	49.73	47.52	9.50
	1.696	60.85	53.35	7.36
	1.706	68.14	63.30	5.13
	1.704	78.57	73.06	3.87
25	1.699	50.18	48.14	27.20
	1.695	61.21	52.43	21.08
	1.692	71.83	66.47	10.83
	1.670	78.05	75.71	7.12
40	1.707	48.60	46.89	96.59
	1.701	65.10	63.60	34.22
	1.692	72.09	69.00	25.25
	1.679	82.35	76.56	16.69

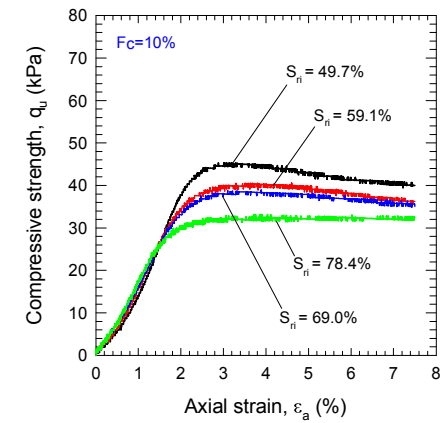
Note:  $\rho_{di}$ : 初期乾燥密度,  $S_{ri}$ : 初期飽和度,  $S_{rf}$ : 破壊時の飽和度,  $p_{sf}$ : 破壊時のサクシオン応力

ンプレートを被せゴムリングを用いて固定させた。その後、セルを組み立て供試体がすべて水に浸かるようにセル水を入れた。より正確な実験を行うために、セル水注入後、セル内の空気を完全に排除した。荷重計、二重管ビュレットをセットし、鉛直荷重、排水量を測定する準備を行った。せん断過程では、有効拘束圧力を掛けず、不飽和かつ含水比一定の状態、排水条件で0.1%/minのせん断速度でせん断を行った。その際、鉛直荷重、鉛直変位、排水量を測定した。

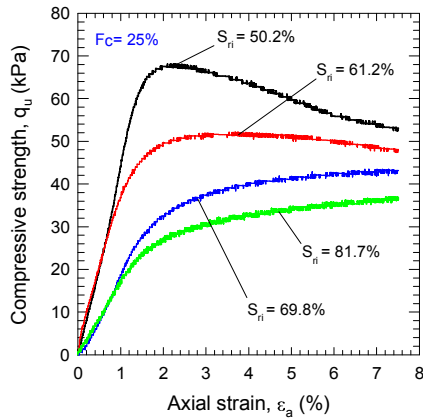
## 5.3 試験結果

細粒分含有率( $F_c$ ) 10%, 25%, 40%においてそれぞれ初期飽和度( $S_{ri}$ ) 50%, 60%, 70%, 80%に対する12パターン一定含水比試験を行った。図-9は、軸ひずみ( $\epsilon_a$ )と一軸圧縮強度( $q_u$ )の関係の結果を示している。細粒分含有率( $F_c$ )に関わらず、初期飽和度( $S_{ri}$ )が小さくなるほど一軸圧縮強度( $q_u$ )が大きくなることが確認された。また、特に初期飽和度( $S_{ri}$ ) 50%, 60%では、細粒分含有率が大きくなるほど急激に一軸増加し、早い段階で一軸圧縮強度がピーク値になることが観察された。

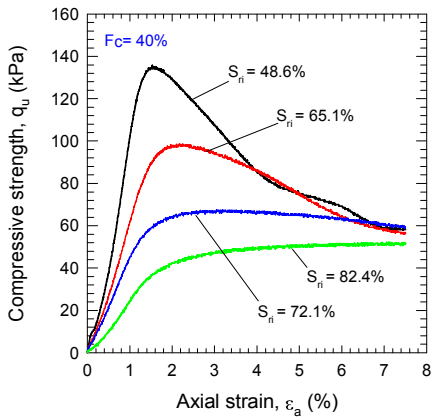
細粒分含有率( $F_c$ ) 10%, 25%, 40%においてそれぞれ初期飽和度( $S_{ri}$ ) 50%~80%に対する軸ひずみ( $\epsilon_a$ )と体積ひずみ( $\epsilon_v$ )の関係を図-10に示している。どのパターンにおいても軸ひずみが増える程、体積



(a)  $F_c = 10\%$



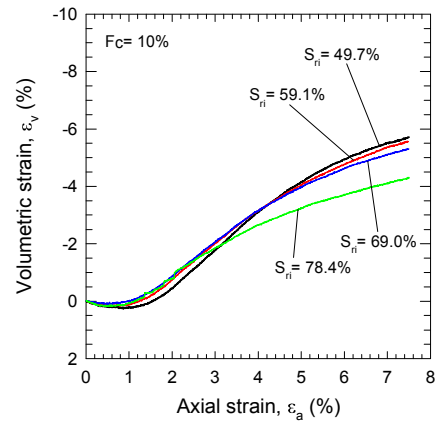
(b)  $F_c = 25\%$



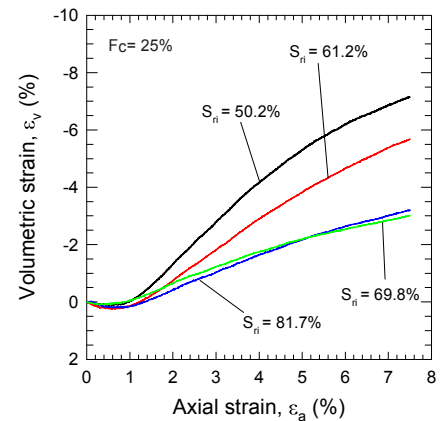
(c)  $F_c = 40\%$

図-9 細粒分含有率( $F_c$ ) 10, 25, 40%におけるの応力ひずみ曲線

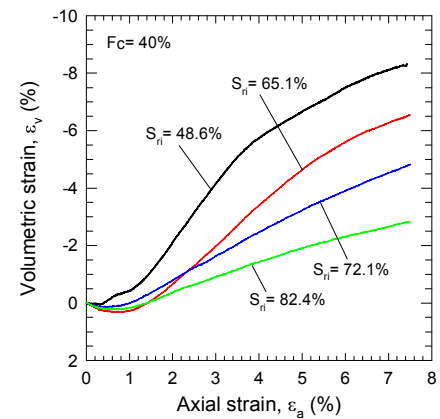
ひずみが大きくなり、膨張していることが確認された。細粒分含有率  $F_c=10\%$  では、体積ひずみが  $-6\%$  以下の範囲で膨張している(図-10 (a))。また、 $S_n=81.7\%$  以外の結果は、ほぼ類似であることも観察できる。細粒分含有率  $F_c=25\%$  と  $45\%$  では、体積ひずみが  $-8\%$  以下の範囲で膨張し、初期飽和度、すなわちサクシオンにより異なることが観察できる(図-10 (b), (c))。



(a)  $F_c = 10\%$



(b)  $F_c = 25\%$



(c)  $F_c = 40\%$

図-10 細粒分含有率( $F_c$ ) 10, 25, 40%におけるの体積ひずみ曲線

図により、細粒分含有率  $F_c=25\%$  と  $40\%$  でのダイレイタンスの値が  $F_c=10\%$  の結果より細粒分含有率の影響により大きいことが分かる。

図-11 は、飽和度による細粒分含有率と最大一軸圧縮強度の関係を示している。図により、飽和土と細粒分含有率( $F_c=40\%$ まで)が高いほど最大一軸圧縮強度が大きくなることが分かる。図-12 は、初期飽和

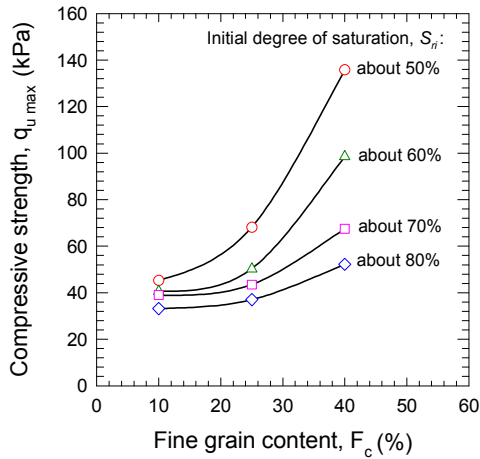


図-11 飽和度による細粒分含有率と最大一軸圧縮強度の関係

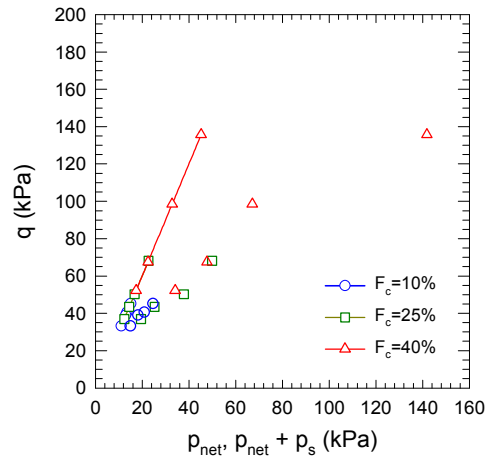


図-13 SSMによるサクシオン応力の適用結果

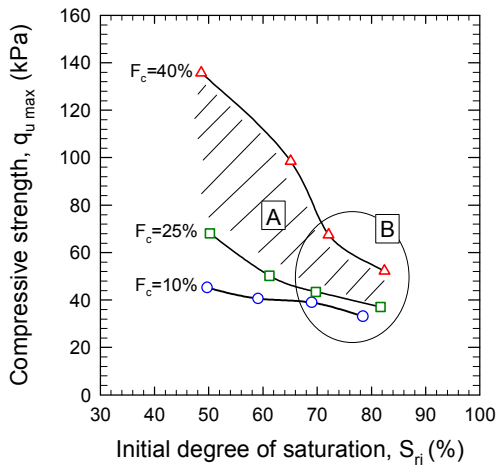


図-12 細粒分含有率による初期飽和度と最大一軸圧縮強度の関係

度( $S_i$ )と最大一軸圧縮強度( $q_{u,max}$ )の関係を示している。前述したように細粒分含有率に関わらず、初期飽和度( $S_i$ )が小さくなる程、最大一軸圧縮強度( $q_{u,max}$ )が大きくなることが確認された。しかし、最大一軸圧縮強度の増分は、 $F_c=10\%$ 、 $25\%$ 、 $40\%$ で大きく異なり、細粒分含有率( $F_c$ )が大きくなるほど、増分も大きくなることが確認できる。細粒分含有率  $F_c=10\%$  の場合、初期飽和度により最大一軸圧縮強度の増加が僅かである。また、細粒分含有率  $F_c=25\%$  と  $40\%$  の間の領域 A は、最大一軸圧縮強度の差を示している。これは、 $F_c=25\%$  以上の場合、最大一軸圧縮強度がサクシオンの影響が拡大されることを意味すると判断される。

一方、豪雨時、河川水位の上昇による浸透によっ

て河川堤防が飽和状態になるまでには時間がかかる。よって、河川堤防は、河川水位が下がるまで飽和度  $70\%$  と  $80\%$  の高い範囲 (領域 B) で破壊に対して十分な強度を持つのが望ましい。図により、初期飽和度  $S_i=70\%$  と  $80\%$  の範囲で  $F_c=40\%$  の結果は、 $F_c=10\%$  と  $25\%$  の結果のより約 1.5 倍大きいことが分かる。この結果により、河川堤防の盛土材料が細粒分含有率  $F_c=25\%$  以上なら、サクシオンの効果が拡大になり、堤防の安全性を高めるということ言える。

#### 5.4 SSMによるサクシオン応力の適用

細粒分含有率による一定含水比試験の結果のサクシオン値は、破壊時のせん断強度に対するサクシオンの効果を評価するために破壊時の飽和度に基づいて求められた。SSM による  $F_c=10\%$ 、 $25\%$ 、 $40\%$  の飽和度  $80\%$  のサクシオンの値は、 $4.0\text{ kPa}$ 、 $7.1\text{ kPa}$  と  $16.7\text{ kPa}$  である。 $F_c=25\%$  と  $40\%$  の間のせん断強度の差がサクシオン値の差により生じたことが分かる。

図-13 は、SSM からのサクシオンと式(4)により求められたサクシオン応力の適用結果を( $p_{net}$  &  $p_{net}+p_s$ ,  $q$ )の関係で示している。この結果により、不飽和土せん断強度は、サクシオンの効果により生じた拘束圧、すなわちサクシオン応力ほど大きくなる関係になることが分かる。よって、破壊時の飽和土と不飽和土のせん断強度の関係は、等価拘束応力(equivalent confining stress)としてサクシオン応力を適用することで説明できると理解できる。



## 6. 結論

本論文では、高梁川堤防のまさ土を対象として細粒分含有率( $F_c$ )がせん断強度に及ぼす影響について調べた。そのため、まさ土について物性試験を行い、まさ土のみで調整した細粒分含有率 10%, 25%, 40% についての保水性試験、初期飽和度( $S_{ri}$ ) 50%~80% に対して一定含水比圧縮試験を行った。よって、細粒分含有率がせん断強度に及ぼす影響の検討は、不飽和土力学理論に基づいて行い、得られた結論を以下に示す。

- (1) 一定含水比試験結果での軸ひずみ( $\epsilon_a$ )と一軸圧縮強度( $q_u$ )の関係の結果により、細粒分含有率( $F_c$ )に関わらず、初期飽和度( $S_{ri}$ )が小さくなるほど一軸圧縮強度( $q_u$ )が大きくなることが確認された。また、特に初期飽和度( $S_{ri}$ )50%, 60%では細粒分含有率が大きくなるほど急激に一軸圧縮強度が増加し、早い段階で一軸圧縮強度がピーク値になることが観察された。
- (2) 一定含水比試験結果での軸ひずみ( $\epsilon_a$ )と体積ひずみ( $\epsilon_v$ )の関係の結果により、ダイレイタンシーに対するサクシジョンの効果は、細粒分含有率の影響より大きいことが分かった。
- (3) 細粒分含有率  $F_c=25%$ と  $40%$ の間の領域 A は、最大一軸圧縮強度の差を示した。これは、 $F_c=25%$ 以上の場合、最大一軸圧縮強度がサクシジョンの影響が拡大されることを意味すると判断される。この結果により、河川堤防の盛土材料が細粒分含有率  $F_c=25%$ 以上なら、サクシジョンの効果が増大になり、堤防の安全性を高めるということが分かった。
- (4) SSM によるサクシジョン応力の適用結果により、( $p_{net}$  &  $p_{net}+p_s$ ,  $q$ )の関係で不飽和土せん断強度は、サクシジョンの効果により生じた拘束圧、すなわちサクシジョン応力ほど大きくなる関係になることが分かる。よって、破壊時の飽和土と不飽和土のせん断強度の関係は、等価拘束応力 (equivalent confining stress)としてサクシジョン応力を適用することで説明できるということが分かった。

## 参考文献

- 1) 加藤正司, 吉村優治, 河井克之, 寸田 亘: 不飽和土の一軸圧縮試験時の強度特性に及ぼすサクシジョンの影響, 土木学会論文集, No.687/III-56, pp.201-218, 2001.
- 2) 軽部大蔵, 加藤正司, 浜田耕一, 本田道識: 不飽和土の間隙水の状態と土塊の力学的挙動の関係について, 土木学会論文集, No.535, pp.83-92, 1996.
- 3) 河井克之, 軽部大蔵, 嘉戸善胤, 加藤正司: 不飽和土の非排水三軸圧縮試験における変形強度特性および水分特性, 土木学会論文集, No.715/III-60, pp.287-296, 2002.
- 4) Bishop, A.W.: The principle of effective stress, Teknisk Ukeblad, Vol.39, pp. 859-863, 1959.
- 5) Bishop, A.W. and Blight, G.E.: Some aspects of effective stress in saturated and partly saturated soils, Geotechnique, Vol.13, No.3, pp. 177-197, 1963.
- 6) Fredlund, D.G., Morgenstern, N.R. and Widger, R.A.: The shear strength of unsaturated soils. Canadian Geotechnical Journal, Vol.15, No.3, pp.313-321, 1978.
- 7) Fredlund D.G., Rahardjo, H. and Gan J.K.M.: Non-linearity of strength envelope for unsaturated soils. Proceedings, 6th International Conference on Expansive Soils, New Delhi, India, December 1-4, pp. 49-54, 1987.
- 8) Karube, D. and Kato, S.: An ideal unsaturated soil and the Bishop's soil. Proceeding of 13th International Conference. Soil Mechanics and Foundation Engineering, New Delhi, Vol.1, pp.43-46, 1994.
- 9) Khalili, N. and Khabbaz, M. H.: A unique relationship for  $\chi$  for the determination of the shear strength of unsaturated soils. Geotechnique 48, No. 5, 681-687, 1998.
- 10) Kim, B.S., Shibuya, S., Park, S.W., and Kato, S. Application of suction stress for estimating unsaturated shear strength of soils using direct shear testing under low confining pressure. Canadian

Geotechnical Journal. Vol. 47, No. 9, pp. 955-970,  
2010..

- 11) Kohgo, Y., Nakano, M., and Miyazaki, T.:  
Theoretical aspects of constitutive modeling for  
unsaturated soils, Soils and Foundations, Vol.33,  
No.4, pp. 49-63, 1993.
- 12) Vanapalli,S.K., Fredlund, D.G., Pufahl, M.D. &  
Clifton, A.W.: Model for prediction of shear strength  
with respect to soil suction. Canadian Geotechnical  
Journal, Vol.33, No.3 pp. 379-392, 1996.

## 国内希少野生動植物種スイゲンゼニタナゴの繁殖生態解明と保全技術の開発

岡山大学大学院 環境生命科学研究科

中田 和義

河川改修や圃場整備等の影響を受けて激減しているスイゲンゼニタナゴは、環境省第4次レッドリストにおける絶滅危惧 IA 類、種の保存法における国内希少野生動植物種に指定されている。本種の地域個体群を効率的に保全していく上では、その生態をふまえた保全技術の開発が不可欠となる。

タナゴ類は、二枚貝類の鰓内に産卵するという特有の繁殖生態をもつ。平成 25 年度からの継続課題である本研究では、スイゲンゼニタナゴの保全技術として、生きた二枚貝類を収容した人工産卵床の開発に必要となる基礎的知見を得ることを目的とし、農業水路に人工産卵床を設置する野外実験を実施した。

その結果、平成 25・26 年度ともにスイゲンゼニタナゴによる人工産卵床の利用は確認されなかったが、平成 26 年度の研究では、平成 25 年度に人工産卵床の利用が確認された環境省準絶滅危惧のヤリタナゴと要注意外来生物のタイリクバラタナゴに加えて、環境省準絶滅危惧のアブラボテが人工産卵床を産卵場所として利用することが新たに確認された。したがって、本研究で考案した人工産卵床は、他の絶滅危惧タナゴ類の保全技術としても有効であることが示された。今後の研究では、平成 25・26 年度の研究で得られた知見に基づき、スイゲンゼニタナゴが利用する人工産卵床の条件を明らかにする必要がある。

### 1. はじめに

平野部の河川中・下流域や農業水路に生息するスイゲンゼニタナゴ *Rhodeus atremius suigensis* は、圃場整備や河川改修等の影響を受けて、生息地数が激減している。本種は、種の保存法で国内希少野生動植物種に指定されているほか、環境省第4次レッドリストの絶滅危惧 IA 類、岡山県の絶滅危惧 I 類にも選定されている。現在の本種の分布域は、岡山県の一部と広島県東部の芦田川水系に限られているが（赤井ら、2009）、芦田川水系の個体群は危機的な状況にあり、岡山県の個体群の保全は本種の存続にとって極めて重要である。しかしながら、スイゲンゼニタナゴの保全対策を実施する上で必要となる学術的知見は、十分には得られていないのが実状である。

スイゲンゼニタナゴを含むタナゴ類は、二枚貝類の鰓内に産卵するという特有の繁殖生態をもつ（川那辺・水野、2001）。したがって、スイゲンゼニタナゴの個体群を保全する上では、同時に産卵母貝となる二枚貝類を保全することが必要不可欠となる。この場合、産卵母貝として有効な二枚貝類の特性を明

らかにできれば、スイゲンゼニタナゴの産卵母貝となる二枚貝類の効率的な保全が可能になるとともに、本種にとっての好適な産卵母貝を用いた人工産卵床の開発も可能となり、本種の個体群保全にも大きく貢献すると考えられる。しかしながら、スイゲンゼニタナゴが選好する産卵母貝の特性については、学術的知見が十分には得られていない。

以上の背景をふまえて、平成 25 年度より公益財団法人ウエスコ学術振興財団の研究費助成を受けて着手した本研究では、スイゲンゼニタナゴの産卵母貝の特性として二枚貝類の種とサイズに着目し、スイゲンゼニタナゴの産卵母貝選好性を野外実験と室内実験によって明らかにすることを目指している。この研究で得られる知見に基づき、スイゲンゼニタナゴの人工産卵床を開発する。この人工産卵床を圃場整備等によって個体群が衰退した水域に設置し、保全効果を検証する。そして最終的には、人工産卵床を用いたスイゲンゼニタナゴの保全技術を確立することを本研究の目標としている。

平成 26 年度の研究では、平成 25 年度の研究手法

を基にし、農業水路に人工産卵床を設置する野外実験を実施した。そして、タナゴ類による人工産卵床の利用状況に基づき、野外における人工産卵床の有効性について検討した。また同時に、スイゲンゼニタナゴによる産卵母貝選好性を解明するための室内実験も実施した。さらには、農業水路におけるスイゲンゼニタナゴの繁殖生態に関する知見を得るため、毎月1～2回の頻度で、生息場所利用様式解明のための現地調査を実施した。本稿では、農業水路で実施した野外実験の結果について報告する。

## 2. 研究の方法

### 2. 1. 野外実験を実施した農業水路

本研究の野外実験は、H25年度の研究と同じく、スイゲンゼニタナゴが生息している岡山県倉敷市内の農業水路で実施した。なお、この農業水路の位置の詳細は、スイゲンゼニタナゴの生息地の保護のために記載を省略する。本農業水路の水系においては、岡山大学環境理工学部環境管理工学科水生動物学研究室の調査により、スイゲンゼニタナゴを含む複数種のタナゴ類が生息していることが確認されている(宮武ら, 2013)。

### 2. 2. 人工産卵床設置実験

上述の農業水路に1ヵ所の実験地点を設け、人工産卵床の設置実験を実施した。この実験地点は、H25年度の研究における4ヵ所の実験地点のいずれとも異なる場所に設定した。実験に用いた人工産卵床は、H25年度の研究で使用したのと同じ市販の長方形型トレイ(50 cm×36 cm×8 cm)とし、砂礫を2～3 cm程度敷いた。この人工産卵床に、同一の二枚貝種を一定個体数収容した(図1)。

実験に用いた二枚貝種は、タナゴ類の産卵母貝として知られるイシガイ *Unio douglasiae*、マツカサガイ *Inversidens japonensis*、トンガリササノハガイ *Lanceolaria grayana* の3種とした。これらの二枚貝類は、実験を実施した農業水路と同水系の農業水路でタナゴ類の産卵期が始まる前に採集し、実験終了後には採集場所に戻した。

実験地点には、H25年度の研究の実験方法に従い、同一種の二枚貝類で構成された3個の人工産卵床を

同列となるように左岸側・中央・右岸側の水路底に静かに設置した(図2, 3)。人工産卵床の設置期間は約3週間とした。人工産卵床の設置期間中には、実験地点のタナゴ類の行動について、目視および水中ビデオカメラ(ソニー、HDR-GWP88)を用いた撮影により定期的に観察をおこなった。

人工産卵床の設置期間終了後は、二枚貝類を回収して実験室に持ち帰り、人工産卵床に用いたものと同じ砂礫を敷いた水槽(23 cm×15 cm×17 cm)で、個体別に二枚貝類を飼育した。なお、H25年度の研究では、各人工産卵床の二枚貝類を産卵床ごとにまとめて同じ水槽に入れて飼育したが、H26年度の研究では、タナゴ類による二枚貝類の利用状況について、二枚貝類の個体レベルで把握することを目的とし、個体別に飼育するように変更した。



図1 産卵母貝としてイシガイを収容した人工産卵床。



図2 実験地点における人工産卵床設置作業の状況。



図3 実験地点に設置した人工産卵床.

そして約1ヵ月間、各水槽内の二枚貝類からの仔魚の浮出状況を毎日観察した。この観察期間の終了後も仔魚の飼育を継続し、種の判別が可能となるサイズにまで成長した個体について、種同定をおこなった。

平成25年度の研究の実験では3期に分けて実験を実施したが、本研究ではさらに細かく実験期間を設定し、計7期に分けて実験を実施した。実験は2014年3月10日から8月11日にかけて実施した。

### 3. 結果

#### 3. 1. 人工産卵床の利用状況：浮出仔魚の個体数

本実験に用いた人工産卵床の二枚貝類からは、全実験期間を通して、合計679個体のタナゴ類の仔魚が浮出した。仔魚の浮出は、第2期～第7期において認められた。実験期間別の浮出仔魚個体数の内訳は、第1期：0個体、第2期：17個体、第3期：87個体、第4期：178個体、第5期：172個体、第6期：76個体、第7期：149個体であった（図4）。

#### 3. 2. 浮出仔魚の種同定

種の判別が可能となるサイズにまで成長した稚魚について、種同定をおこなった。その結果、平成25年度の研究で人工産卵床の二枚貝類から浮出した環境省準絶滅危惧のヤリタナゴ *Tanakia lanceolata* と要注意外来生物のタイリクバラタナゴ *Rhodeus ocellatus ocellatus* に加えて、環境省準絶滅危惧に指定されているアブラボテ *Tanakia limbata* が確認された（図5）。

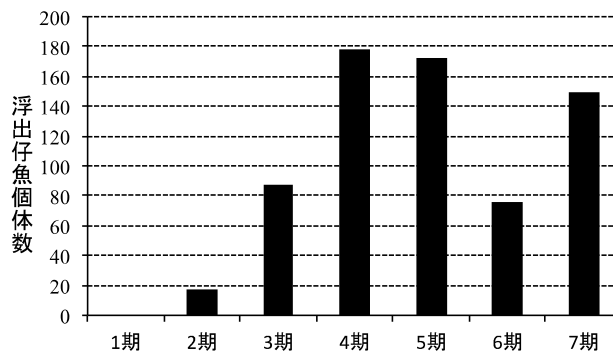


図4 実験期間別の浮出仔魚の個体数.



図5 本研究の野外実験において人工産卵床の二枚貝類から浮出したアブラボテ.

#### 3. 3. タナゴ類3種の産卵母貝種選好性

本研究の実験では、イシガイとマツカサガイからはタナゴ類の仔魚が浮出したが、トンガリササノハガイからの仔魚の浮出は認められなかった。すなわち、平成26年度の実験で人工産卵床の利用が認められたヤリタナゴ・アブラボテ・タイリクバラタナゴの3種は、トンガリササノハガイを産卵母貝として利用しなかった。

タナゴ類3種の産卵母貝種選好性については、タイリクバラタナゴではイシガイとマツカサガイから仔魚の浮出が確認されたが、全実験期間を通した浮出仔魚個体数の合計では、イシガイから380個体、マツカサガイから38個体であり、イシガイからの浮出個体数が有意に多かった（一試料 $\chi^2$ 検定,  $P < 0.001$ ）。一方、ヤリタナゴとアブラボテについては、マツカサガイからのみ仔魚の浮出が確認された。

### 3. 4. 二枚貝類の個体レベルでのタナゴ類による産卵母貝利用

本研究では、同一個体の二枚貝類から複数種のタナゴ類の仔魚が浮出する例が確認された。すなわち、本研究において人工産卵床を産卵場として利用したタナゴ類は、先に別種の他個体のタナゴ類が産卵した二枚貝類であっても、産卵母貝として利用することが明らかとなった。

### 4. 考察と今後の課題

本研究の野外実験の結果、平成25年度の実験結果と同様、スイゲンゼニタナゴによる人工産卵床の利用は確認できなかった。しかしながら、平成26年度の研究では、環境省および岡山県レッドリストにおいて準絶滅危惧に選定されているアブラボテが、本研究の人工産卵床を産卵場所として利用することが初めて確認された。このことから、本研究で考案した人工産卵床は、希少タナゴ類の保全・増殖技術として有効な手法となることが再確認された。

平成25年度に続き、平成26年度もスイゲンゼニタナゴによる人工産卵床の利用が確認されなかった理由としては、実験地点においてスイゲンゼニタナゴの親魚の個体数が少なかったことにあると思われる。平成26年度の研究では、平成25年度の研究における課題をふまえて、実験地点をスイゲンゼニタナゴがより高密度に生息していると考えられる場所に変更したが、期待していた成果は得られなかった。今後の研究では、これまでの研究結果に基づき、スイゲンゼニタナゴの生息密度の増減を予測した上で、実験地点を慎重に検討する必要がある。

### 謝辞

本研究は、公益財団法人ウエスコ学術振興財団の平成26年度学術研究費助成事業の助成を受けて実施したものである。種の保存法に係る各種手続きでは、環境省中国四国地方環境事務所に大変お世話になった。本研究の野外実験や野外調査は、岡山大学環境理工学部環境管理工学科水生動物学研究室の学生諸氏の協力を得て実施した。ここに記してお礼申し上げます。

### 引用文献

- 赤井 裕・秋山信彦・上野輝彌・葛島一美・鈴木信洋・増田 修・藪本美孝 (2009) タナゴ大全. エムピージェー, 横浜, 191 pp.
- 川那辺浩哉・水野信彦編 (2001) 日本の淡水魚. 山と溪谷社, 東京, 719 pp.
- 宮武優太・牛見悠奈・青江 洋・中田和義 (2013) 農業水路における希少タナゴ類の生息場所利用様式. H25 農業農村工学会大会講演会要旨集, pp. 220-221.

### 本研究成果の外部発表

#### 依頼講演

- 宮武優太・小林蒼菜・中田和義 (2014) スイゲンゼニタナゴの生態解明と保全技術開発に関する研究: 農業水路におけるタナゴ類の分布と環境要因および人工産卵床の利用状況. スイゲンゼニタナゴ勉強会, 倉敷市環境学習センター, 2014年11月29日.

#### 学会発表

- 宮武優太・川本逸平・青江 洋・中田和義 (2014) 農業水路に用いる希少タナゴ類の人工産卵床の検討. H26 農業農村工学会大会講演会講演要旨集, pp. 232-233.
- 小林蒼菜・宮武優太・青江 洋・中田和義 (2015) 希少タナゴ類による人工産卵床の産卵母貝利用: 農業水路での野外実験. H27 農業農村工学会大会講演会講演要旨集 (印刷中).

\*本研究で得られた成果については、今後、学会誌に原著論文として投稿予定である。

## GPGPUによる平面2次元浅水流モデルの高速演算に関する研究

岡山大学 大学院環境生命科学研究所 准教授

吉田 圭介

計算機の性能向上に伴って、水工学分野では高次の流体解析モデルがより一層利用されつつある。これによって複雑な水理現象を詳細に検討できる利点が挙げられるが、水理解析の高度化と比例して解析負荷は増大する傾向にある。そのため、実務では有用な学術成果が広く利用されることは少ない。したがって、工学的な観点からは水理解析技術の発展と共に、解析負荷の低減策が強く望まれている。一方、近年、分散メモリ型大型計算機に替わって、多数の計算コアを有するGPUを用いた並列計算手法（GPGPU）が注目されており、様々な分野で適用され始めている。GPUは元来、画像処理装置であり、廉価な事務用PCにも備わっているが、GPGPUではこのGPUの演算性能を最大限に引き出して、科学技術計算の高速化を試みている。本研究では水工学分野でのGPGPUの適用が未だかなり少ない現状を鑑み、河川流解析で一般的に利用される平面2次元浅水流モデルへのGPGPUの適用を試みた。開水路流れを例として、従来のCPUを用いた解析とGPGPUによる解析とを比較し、特に、計算精度と計算効率の観点から水工学分野でのGPGPUの有用性について検討を行った。

## 1. はじめに

近年、画像処理に用いられるGPUの並列処理能力を数値解析へと応用し、これまでの解析時間を著しく短縮させるなど、多くの分野でその有用性が確かめられている。従来、並列計算といえば、一般に専門家が多数のPCを連結してクラスターを組んだり、研究機関の大型計算機を利用するなど、手間や費用を要するシステムを想定した。一方、GPUを用いた並列計算手法(GPGPU)では市販の廉価なGPUを用いて、個人が1台のPC上で比較的容易に計算環境を構築できるため、実務での並列計算の普及が期待されている。

一般に、解析モデルの高度化と解析時間の短縮は相容れない要素である。現実問題の解決、つまり実務への応用を最終目標とする水工学では、従来、計算精度と解析時間のバランスを考え、適切な水理解析モデルが構築・適用された。しかし、近年、計算機の性能が著しく向上するに従い、水工学の学術ではより詳細な検討を行う目的で高度な解析モデルが利用されつつある。例えば、津波の海域伝播や陸への遡上過程を解析する研究では、高解像度の格子を用いて流れを計算し、それを巧みに映像化することで、一般の方でも水理現象をより直感的に理解できるようになっている。本研究では河川工学でのGPGPUの適用性を検討す

るために、既存の逐次計算型の平面2次元浅水流計算コードをGPGPU用に改変した。また、矩形断面開水路と旭川下流部2km区間に適用して、計算精度と計算効率の観点からその有用性を検討した。

## 2. GPU 並列計算

## (1) CUDA 概要

CUDAはNVIDIA社によるGPUコンピューティング向けの統合開発環境である。CUDAでは並列処理の単位に、グリッド、ブロック、スレッドといった階層を利用する。連続した32個のスレッドをワープと呼び、その計算を32個のCUDAコアが対応する。そのため、各ワープでは単一命令で32個のデータを並列に処理できる。また、スレッドの集合をブロック、同様にブロックの集合をグリッドという。各ブロックは計算コアを束ねた演算器(プロセッサ)であるSMXに割り振られ、SMXは計算命令を並列に実行する。

CUDAによるGPGPUに限らず、一般に、並列計算コードでは従来型の逐次計算とは異なるコーディングが要求される。例えば、CUDAでは並列化対象のコードはモジュール内に記述する必要がある。また、並列演算に用いるブロック・スレッド数はプログラマーが指定する必要がある。そのため、CUDAに

よる GPGPU では並列演算に関わる調整を適切に行うことで、計算効率の最適化を図ることができる。

(2) 開発環境

本研究で用いた計算機及び開発環境の詳細を表-1 に示した。本研究では PGI Accelerator Compiler (Ver.14.7)を使用し、倍精度演算を行った。Tesla-K20c は GPU 計算に特化しており、13 基の SMX が備わっている。また、1 つの SMX あたり 192 基の単精度 CUDA コアと 64 基の倍精度ユニットが搭載されている。なお、倍精度演算では単精度演算のピーク性能の 1/3 程度である。

本研究ではまず、従来型の CPU コアによる計算(以後、CPU 計算と呼ぶ)を意図した、非定常浅水流モデルの逐次計算コードを作成した。その後に、CUDA の仕様に沿って、GPU による並列計算(以後、GPU 計算と呼ぶ)を行うコードに書き換えた。そのため、高速演算を意図したコードの最適化は行っていない。また、GPU の基本的な演算性能を評価する目的で、グローバルメモリを使用した簡潔なコードを作成している。なお、特に断らない限り、本研究では計算を高速に行う目的で CPU-GPU 間のデータ転送を最小限に抑えた。つまり、コード内の主要な反復計算部分の前後でのみ、データ転送を行うこととした。

3. 解析結果

(1) 矩形断面開水路への適用

水際移動の無い矩形断面開水路の等流場を対象に、浅水流モデルに対する GPU 並列計算の基本性能を検討した。ここでは GPU 計算の結果と、CPU 計算の結果を比較し、計算精度及び高速化効果を調べた。表-2 には計算条件を示した。水路下流端で与える水位は 1.40m、上流端で与える流量は 400m<sup>3</sup>/s で一定であり、これら条件は常流場の等流を満足する。

a) 計算精度の検討

水深及び流速の時間的な変動が計算精度に与える影響を確認するため、図-1 に示すような水面形を初期条件として与え、非定常計算を行った。計算時間は 3hr (1,080,000step)とし、計算格子数は流下方向に 500、横断方向に 100 の総計算格子数 50,000 とした。

図-2 には水路の縦横断の中心点において、1 秒 (100step)毎に得た水深  $h$  の計算結果を示した。CPU、

表-1 開発環境

OS	Windows7 64bit
CPU	Xeon E5-1620, 3.6GHz
PC メモリ	16GB
GPU	Tesla K20c
コンパイラ	PGI Accelerator 14.7
CUDA toolkit	6.0

表-2 計算条件 (開水路)

水路勾配	1 / 200
時間刻み $\Delta t$	0.01 s
Manning 粗度係数 $n$	0.028 m <sup>-1/3</sup> s
上流端での定常流量	400 m <sup>3</sup> /s
下流端での定常水位	1.40 m

表-3 計算時間と検証ケース (計算精度の検討)

計算時間	3 hr
計算格子数 ( $x, h$ )	500 × 100

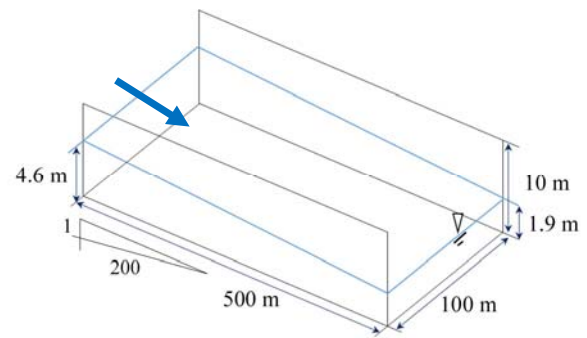


図-1 矩形断面開水路の概要と精度検証で与えた初期水面形

GPU 両計算結果ともに、計算開始後、1800 秒の時点で計算値は収束値に対して 10<sup>-13</sup> のオーダーまで漸近している。また、計算開始から約 300 秒までの時間変動が見られた時間帯においても、GPU 計算は CPU 計算の結果との間には顕著な値の差異は見られなかった。

表-4 には同じ地点での計算終了時点における CPU の計算結果と CUDA の計算結果の差異の絶対値を示した。ここで、流下方向流速を  $u$ 、横断方向流速を  $v$  とする。最大の差異は水深で観察されるが、それでも 0.150 × 10<sup>-13</sup>m であることが分かる。

次に、開水路全域を対象として、10 分(60,000step)毎に水深及び流速の値を得た。表-5 には CPU の計算結果と CUDA の計算結果とを比較して得られた差異の絶対値に対して、全域内での最大値を示す。この場合、流下方向流速の差が一番大きく、1.90 × 10<sup>-13</sup>m/s であることが分かる。



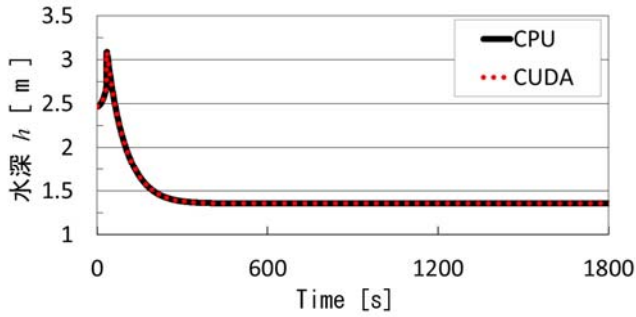


図-2 水深の時間変化

以上の結果より、水深及び流速で見られた差異は極微量であり、GPU の計算結果は十分な精度であると考えられる。

### b) 高速化効果の検討

GPGPU による高速化効果が計算格子数にどの程度依存するかは、未だ十分には検討されていない。そこで、本研究の計算環境において、高速化効果に対する格子数依存性を定量的に調べた。ここでは開水路にほぼ等流流れが形成されている状態を初期条件として計算を開始した。検討した格子数と計算時間を表-6 に示す。格子数を1万~80万まで変化させ、全7ケースで検証を行った。計算時間は100秒(10,000step)である。この計算では、途中で結果の書き出しなど行わず、反復計算部分のみにかかる計算時間を対象として計測した。ここで、計測時間の中には、上下流端の境界条件の設定など、主要な反復計算以外に要する時間は含めていない。

表-7 には各ケースの実行時間を示す。また、図-3 には格子数と実行時間の関係を示した。GPU の計算結果に対しては、両対数グラフを用いてデータの傾向を明示した。両対数グラフより、CUDA では格子数20万以降は傾きが1に漸近し、格子数と実行時間の間に線形性が確認できた。また、図-4 に格子数と高速化率の関係を示した。ここで、高速化率はCPU 逐次計算時間を GPU 並列計算時間で除した値を用いた。格子数が最小の1万の計算条件では、CUDA で約7.8倍の高速化効果が得られた。また、格子数の増加に伴って高速化率も上昇する様子が確認できたが、格子数が20万以降では高速化効果の上昇が抑えられることが分かった。これは表-7 及び図-3 から分かるように、格子数が20万より少ない場合はGPU の並列処理能力を十分に活用できていないことが考えら

表-4 水路中央での値が収束したとき(計算終了時)の流速と水深のGPU 計算結果のCPU 計算結果との差異 ( $\times 10^{-13}$ )

	$ h $ (m)	$ u $ (m/s)	$ v $ (m/s)
CUDA	0.150	0.071	0.018

表-5 水路全域を対象としたCPU 計算結果との最大差異 ( $\times 10^{-13}$ )

	$ h $ (m)	$ u $ (m/s)	$ v $ (m/s)
CUDA	0.150	1.900	0.341

表-6 計算時間と検証ケース(高速化効果の検討)

計算時間	100 s
計算格子数	1万,5万,10万,20万,40万,60万,80万

表-7 実行時間 (単位: s)

格子数( $x, h$ )	CPU	CUDA
100×100	154.891	19.766
500×100	839.922	46.832
1000×100	1731.773	81.707
2000×100	3582.492	149.293
4000×100	7250.074	283.844
6000×100	10845.730	418.563
8000×100	14438.875	553.785

れる。一方、格子数20万以降ではGPU が一度に処理できる並列処理能力が限界に近づいていることが推測できる。

表-8 に計算終了時の、GPU の計算結果とCPU の計算結果との差異の絶対値を示す。本研究で検討した中では、最大の計算格子数80万の場合、 $2.082 \times 10^{-13}$  m/sの差異が流下方向流速で確認されたが、それ以上の値は、全ケース通して見られず、格子数が増加した場合も精度良く計算可能なことが示された。

### (2) 実河川への適用

岡山県の一級河川である旭川の大原試験区を含む河道縦断 約2km の範囲を対象として、GPGPU を適用した非定常浅水流モデルを検討した。ここでは特に、出水時に水際移動のある実河川での解析における

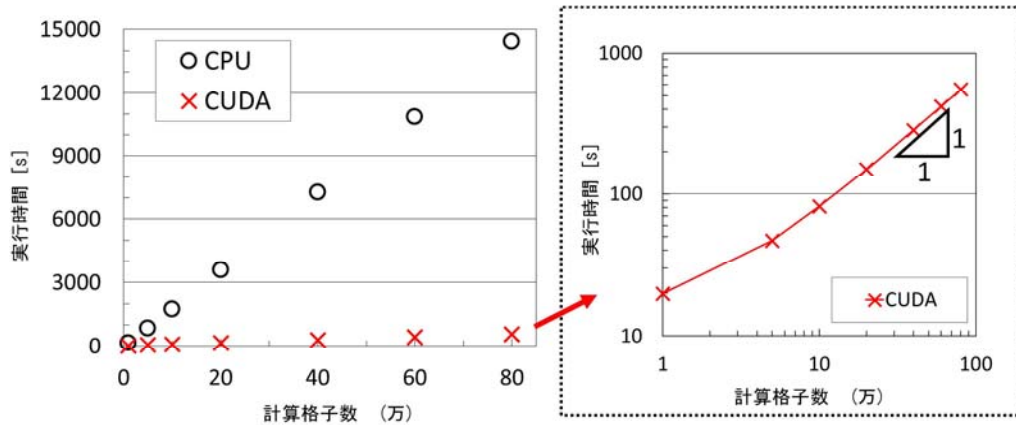


図-3 実行時間と格子数の関係

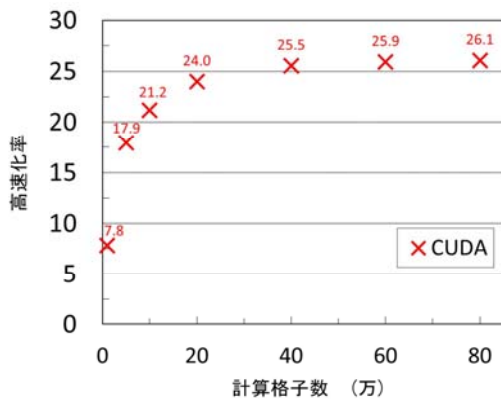


図-4 格子数と高速化率の関係

表-8 GPU 並列計算結果と CPU 計算結果の差(最大値)

( $\times 10^{-13}$ )

	$ h $ (m)	$ u $ (m/s)	$ v $ (m/s)
1 万	0.035	0.066	0.061
5 万	0.115	0.284	0.066
10 万	0.037	0.079	0.095
20 万	0.301	0.670	0.081
40 万	0.497	1.132	0.106
60 万	0.675	1.452	0.115
80 万	0.924	2.082	0.177

有用性について検討した。図-5 には解析対象範囲を示す。大原試験区の上流部には堰(図中, No.2)があり, 堰が計算精度に及ぼす影響も検討した。

a) 計算条件

計算条件と計算ケースを表-9 に示す。時間刻み  $\Delta t$  は 0.01 秒, 計算時間は 2 時間(720,000step)である。検討したケースは総計算格子数が 2,001(Case-1)~30,849(Case-3)の 3 ケースである。Case-1 では格子幅は約 20m である。この解析では上下流端で流量と水位を固定した流れ場を対象とするが, 水際の移動によって弱い非定性が流れ場に現れる。計算を開始してから一定時間経過すると, 計算領域内の水深の時間平均値には変化が見られなくなった。その時点を経験を計算の初期条件とした。図-5 のコンターは計算の初期条件の水深分布を示す。

b) 計算精度の検討

図-5 に示すように, 比較的流れが穏やかである地点(No.1)と, 急激な水際移動が現れる固定堰の地点(No.2)において計算結果を出力し, CPU の計算結果

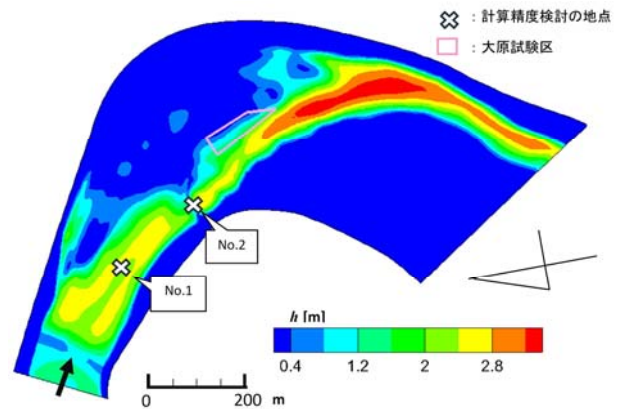


図-5 解析範囲と調査箇所

と GPU の計算結果を比較して精度を検証した。検証では計算終了前の 10 分(60,000step)間を対象として, 1 秒(100step)毎に水深と流速の値を記録した。

図-6, 図-7 には Case-3 における両地点での水深の時間変化を示す。No.1 では CPU 計算と GPU 計算では時間平均的に数 mm 程度の水深差が確認できるが, No.2 では水際の移動に起因してかなり大きな変動が観察される。いずれにせよ, CPU 計算値と GPU 計算値とでは, 前節の矩形断面開水路の計算結果と異

表-9 計算条件・計算ケース

時間刻み $\Delta t$	0.01 s		
Manning 粗度係数 $n$	低水路 : 0.028 m <sup>-1/3</sup> s 高水敷 : 0.026 m <sup>-1/3</sup> s		
上流端での定常流量	400 m <sup>3</sup> /s		
下流端での定常水位	9.38 m		
水際判定基準水深 $h_*$	0.01 m		
計算時間	2 hr		
計算ケース	Case-1	Case-2	Case-3
格子数 $(x, h)$	69×29	135×57	273×113

なり、比較的大きな差異が確認された。

一方、表-10、表-11 には Case-3 における両地点での水深と流速変動の時間平均値および標準偏差を示す。図-6、図-7 の結果と対応して、堰付近の急変場では GPU の計算値は CPU の計算値と比べて数 mm から数 cm 程度の水深差が確認できる。

図-8 には Case-3 の計算終了時点における GPU の計算結果と CPU の計算結果の水深の差異に関するコンター図を示す。差異の大きさは場所により異なることが分かる。特に No.2 の堰周辺で大きな差異が生じている。また、堰から少し下流でも数 cm 程度の差異が生じているのが確認でき、堰で生じた差異の影響が下流に及ぶことが推測される。

以上より、急激な水際移動を除くと、大局的に見た場合、GPU 計算の結果の CPU 計算の結果との差異の大きさは数 mm 程度である。また、水深の変動強度はほぼ同程度であるため、ここで検討した GPU の計算は河川工学上、十分な精度であると考えられる。

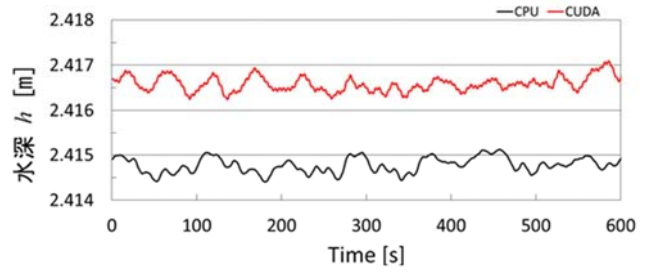


図-6 地点 No. 1 での水深の時間変化 (Case-3)

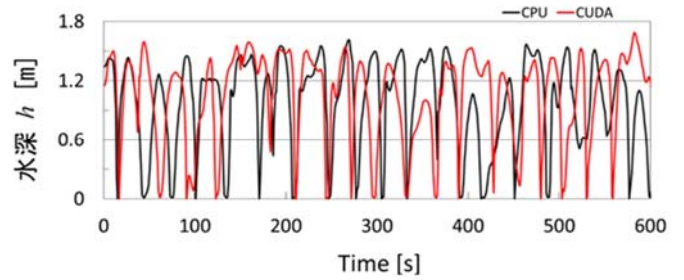


図-7 地点 No. 2 での水深の時間変化 (Case-3)

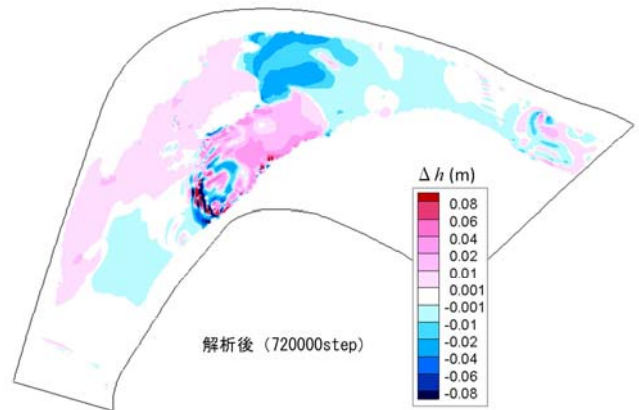


図-8 CUDA の CPU 計算結果との水深の差異 (Case-3)

表-10 地点 No. 1 での流速と水深の時間平均値・標準偏差 (Case-3)

	水深 $h$ (m)		流下方向流速 $u$ (m/s)		横断方向流速 $v$ (m/s)	
	CPU	GPU	CPU	GPU	CPU	GPU
時間平均値	2.415	2.417	0.989	0.987	1.403	1.396
標準偏差( $\times 10^{-4}$ )	1.67	1.65	2.60	3.49	2.68	2.24

表-11 地点 No. 2 での流速と水深の時間平均値・標準偏差 (Case-3)

	水深 $h$ (m)		流下方向流速 $u$ (m/s)		横断方向流速 $v$ (m/s)	
	CPU	GPU	CPU	GPU	CPU	GPU
時間平均値	0.970	1.038	5.255	5.077	3.059	2.971
標準偏差( $\times 10^0$ )	0.463	0.453	1.210	1.219	0.852	0.931

表-12 計算結果の途中出力の有無と実行時間(単位:s)

格子数( $x, h$ )	出力無		出力有	
	CPU	GPU	CPU	GPU
69×29	781.9	1051.9	784.3	1047.3
135×57	3748.9	1203.3	3761.7	1194.0
273×113	17201.8	2125.1	17164.6	2119.4

## c) 高速化効果の検討

計算途中に計算結果を出力することがGPUの高速化効果へ及ぼす影響を確認するため、10分(60,000 step)毎に計算値の出力を行って時間を計測した。表-12には出力の有無と格子数を系統的に変化させた際の実行時間を示した。また、図-9には出力を含むケースでの計算格子数と高速化率の関係について示す。前節の矩形断面開水路での結果と同様に、計算格子数(計算負荷)の増加とともに高速化は上昇する結果が見られた。しかし、前節で確認された程度には、高速化率は達成されなかった。この理由として実河川の解析における水際判別や植生抵抗に関する計算が影響していることが考えられる。つまり、それらの計算コードにおいては複数の条件分岐(if文)が生じ、各分岐の処理内容も高負荷であるため、並列効率(高速化率)が抑えられたことが推測される。

本研究で扱った実河川の解析においては、途中計算結果の出力は高速化率に対して有意な影響を与えることはなかった。この理由としてここで扱った格子数が少ないことと、1回の出力でGPUからCPUに転送するデータ(出力)数が少ないことに加えて、出力を行う時間間隔が大きいことが考えられる。しかし、出力の時間間隔が短い場合や、出力させるデータ数などの条件によっては高速化への影響が懸念されるため、出力による高速化への影響を意識することは重要と考えられる。

## 6. 結論

本研究より得られた主要な結論を以下に述べる。

- 1) 矩形断面を有する開水路等流に関する数値計算では、GPU計算値とCPU計算値との水深差は $10^{-13}$ のオーダーであることを確認できた。
- 2) 実河川での不定流計算では、GPU計算値とCPU

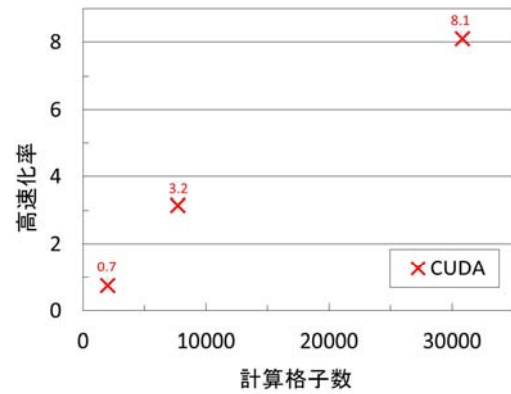


図-9 格子数と高速化率の関係(出力有)

計算値を比較すると、水際以外では水深の差異は時間平均で数mm程度、水際部の急変場では変動強度の差異は1cm程度である。従来型のCPU計算の精度と比べると、本研究で提示したGPU計算の精度は河川工学上、十分であると考えられる。

- 3) 高速化率について、矩形断面開水路での計算では格子数が1万の場合、約7.8倍、格子数が40万の場合、約25.5倍の結果となった。一方、格子数40万以降の結果では、顕著な高速化率の向上は見られなかった。
- 4) 水際境界での処理や植生消長を考慮する実河川計算へのGPUの適用では、その扱いが無い場合と比べて、高速化効果が抑えられる傾向を確認した。

今後は並列計算を行う際に計算効率に影響を与える要因を特定し、GPU並列計算に適したコードへの修正を適宜検討していきたい。

## 参考文献

- 1) 青山幸也：CUDAプログラミング入門，理化学研究所 情報基盤センター，2012。

## 謝辞

本研究を遂行するにあたり、助成を賜りました公益財団法人 ウェスコ学術振興財団に深く感謝いたします。また、岡山大学 大学院環境生命科学研究科博士前期1年生 田中龍二君および岡山大学環境理工学部4年生 脇谷悠君には解析やデータ整理等でご協力を頂きました。記して謝意を表します。

## 地質統計学と論理モデルに基づいた地質モデリングに関する研究

岡山大学大学院環境生命科学研究科

珠玖 隆行

### 概要

申請研究では、論理的思考に基づいた地質モデリング手法と地質統計学的な手法に基づいた地質モデリング手法のそれぞれの長所に着目し、両手法を融合した新しい地質モデリング手法の構築を最終目標としている。本報告では、既存の地質モデリングに関する研究を論理的推論に基づく方法と地質統計学に基づく方法に分けて整理し、それらの問題点や課題を整理した。また、地質統計学的方法の一つである mid-point 法に着目し、mid-point 法による地盤のモデル化の例を示した。

### 1. はじめに

ボーリングデータや地質踏査の情報を用いて、地質構造を推定する地質モデリングは、地質学や資源工学だけでなく、土木工学においても重要な役割を担う。精度の高い地質モデリングの実現は、安全で経済的な構造物の設計・施工に繋がることから、これまで地質モデリングの研究が多数実施されている。

地質モデリングの方法は大きく以下の2つの方法に分けて考えることができる。

①地質学の基本原理に基づいた地質技術者の論理的推論に基づく方法

②データの統計解析に基づく地質統計学的方法

①の方法は、「地層重い重の法則」などの地質学の基本法則に基づいて、限られた地質調査データから地質構造とその形成過程を論理的に推定する方法である。伝統的な地質学では一般的に用いられている「演繹的な推論」であり、十分なデータが無い領域であっても基本法則に従った演繹的推論により地質やその構造が推定できるという特長を有している。しかしながら、得られる結果が定性的であり、技術者の経験や知識レベルによって推定結果が大きく異なるという欠点がある。

一方、②の方法は、ボーリングデータや路頭情報などの地質情報を統計的に処理して地質やその構造を推定する方法であり、推定結果の信頼性も定量的

に評価できるという点で優れている。しかしながらこの方法は、データに基づいた「帰納的な推論」であり、データの内挿（補間）には適用できるものの、地質データが無い（少ない）場所への適用は難しいという欠点を有している。

以上のことから、どちらか一方の方法だけでは、精度の高い地質モデリングは困難であり、論理的および統計的手法を組み合わせることで両手法の欠点が補われ、より合理的な地質モデリングが実現できると考えられる。

申請研究では、2つの地質モデリング手法を融合した新しい地質モデリング手法の構築を最終目標に掲げ、基礎的な研究を実施した。はじめに、コンピュータを利用した地質モデリングに関する既往の研究を整理し、地質構造の論理的推論の可能性について検討した。また、地質統計学的方法に関しても、既往の研究を整理するとともに、最も基本的な地質統計学的方法を単純斜面の地質モデリングに適用し、その適用可能性について考察した。本報告では、その成果の一部を紹介する。

### 2. 論理的な地質モデリングに関する研究

本章では、論理的手法に基づく地質モデリングに関する既往の研究を整理し、今後の課題について示す。

## 2.1 既往の研究

コンピュータを利用して地質やその構造を同定しようと試みた研究は 1970 年代から始まったと推察される。Barns(1975)は ORDER と STACK という 2 つの再帰的アルゴリズムを提案し、地質の形成順序をコンピュータにより自動的に決定できる方法論を提案した。その後、同様の研究が実施されるようになったが（例えば、Edwards and Beaver 1978; Schwarzacher 1980; Waterman and Raymond, 1987）、いずれの方法も単純な構造にしか適用できず、さらには実際に地質技術者が行う論理的推論とは大きな隔たりがあった。

その後、離散的な対象を定量的に扱うことができる「離散数学」を用いて地質構造の論理的推論を実現しようとする研究が始まった。代表的な研究成果として、塩野ら（1987, 1988, 1992, 1998）の一連の研究を挙げることができる。塩野らは、論理的推論を「演算」と捉え、ブール代数などの離散数学的手法に基づき、地質構造の推定方法を提案した。しかしながら、これらの研究においても、断層や褶曲といった複雑な地質構造（地質イベント）のモデル化は困難であり、課題となっている。

## 2.2 論理的地質モデリングの課題

前節で示したように、論理的推論に基づいた地質モデリングに関する研究は多数実施されているが、実務への適用には更なる発展が必要である。野々垣（2011）が既存の地質構造推定プログラムを整理し、それらの特徴についてまとめているが、今後は、人工知能型や深層学習を用いた地質構造プログラムの構築が有効になると考えられる。そのため、地質学の分野だけでなく、人工知能や機械学習など、種々の分野との連携が必要不可欠である。

## 3. 統計的地質モデリングに関する研究

本章では、統計的手法に基づく地質モデリングに関する既往の研究を整理し、今後の課題について示す。

### 3.1 既往の研究

地質統計学的方法により地質構造を推定しようと

試みた最も有名な研究は、Matheron（1975）によるものである。Matheron は、離散的なデータから、その統計的性質に基づいて空間的な分布を同定する Kriging を提案し、資源工学における実際の問題に適用した。その後、Kriging は土木工学の分野へ適用され、最近では空間的なデータを合理的に解析できるという特長を生かし、社会科学や経済学においても用いられるようになってきた。

しかしながら、Kriging はあくまでデータ 2 点間の統計的性質のみを考慮し、その内挿を行うものであり、複雑な構造には適用できないという問題点を有している。そのような問題点を有しつつも、実装の容易さから地質モデリングや地盤のモデル化において一般的に用いられている。

### 3.2 地質統計学手法の適用例

本節では地質統計学的手法の適用例を示す。ここでは最も基本的な方法である mid-point 法により地質をモデル化した。

Mid-point 法とは、確率場の生成方法の一つであり、統計的性質のわかっている地盤に対し、その統計的性質を満たす確率場を生成することができる。Mid-point 法では、地盤を要素に分割し、要素ごとに物性が与えられる。具体的に、要素  $i$  の中心の物性  $G_i$  は次式により与えられる。

$$G_i = S_{ij}^T X_j \quad (1)$$

ここに、 $X_j$  は標準正規分布からサンプルされた乱数、 $S_{ij}^T$  は次の相関行列を三角分解して得られる上三角行列を表す。

Mid-point 法により、図 1 の斜面に対して確率場を生成した、すなわち地質統計学的方法によりモデリングを実施した例を図 2 に示す。図 2 は地盤の内部摩擦角に関して確率場を発生させたものであるが、内部摩擦角だけでなく、任意の地盤パラメータを取り扱うことができる。ここでは、平均値を 20 度、変動係数を 0.3、自己相関距離を 2.0 として、モデリングを実施した。

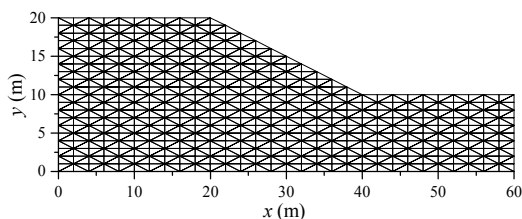


図1 対象とした斜面モデル

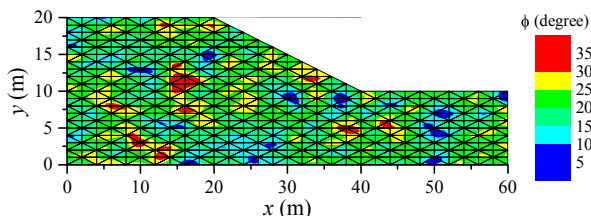


図2 Mid-point法による地質モデリングの例

図より、mid-point法によって地盤が示すバラツキを考慮したモデル化が実現できることがわかる。地盤材料が有する本来的なバラツキは、構造物の設計に大きな影響を及ぼすため、地盤のモデル化においては、その統計的性質をモデル化できる方法が有用である。mid-point法は実装が容易であり、計算コストも小さいことから、地盤のモデル化に一般的に用いられている方法である。しかしながら、断層により地層に不整合がみられる場合や褶曲などの構造は再現することができず、この方法だけでは、精度の高い地質モデリングは実現できない。

### 3.3 統計的地質モデリングの課題

これまで示した Kriging や mid-point 法は、基本的には2点間の統計的性質にのみ着目した方法であり、two-point statistics と呼ばれている。実装が容易という観点からは実務に適しているが、精度の高い地質モデリングは実現できない。よって、2点間の統計的性質のみならず、多点の統計的性質を考慮しうる方法の構築が必要である。

## 4. まとめ

本報告では、既往の地質モデリング手法を地質統計学的手法と論理的手法に基づく地質モデリングに分類し、それぞれの方法に関する既往の研究を整理し、今後の課題について示した。さらに、地質統計

学的方法の一つである mid-point 法を実装し、その適用例を示した。既存の方法では単純な地質構造の同定は、どちらの方法によっても実現できるが、断層や褶曲など複雑な問題に対しては、人工知能の導入や多点の相関を解析できる新しい地質統計学が必要である。

## 参考文献

- Burns, K. L. (1975): Analysis of geological events, *Mathematical Geology*, Vol.7, pp. 295-321.
- Edwards, L. E. and Beaver, J. (1978): The use of paired comparison model in ordering stratigraphic events, *Mathematical Geology*, Vol.10, pp. 261-272.
- Matheron, G. (1975): *Random Sets and Integral Geometry*, John Wiley & Sons, New-York.
- 野々垣 進 (2011) : 地質境界面に基づく3次元地質モデリングシステムの現状と課題, *情報地質*, Vol. 22, No. 3, pp. 131-142.
- Schwarzacher, W.:(1980): Models for the study of stratigraphic correlation, *Mathematical Geology*, Vol.12, pp. 213-234.
- 塩野清治, 弘原海 清 (1988) : 論理地質学のための関係の代数, *情報地質*, Vol.3, No. 4, pp. 261-296.
- 塩野清治, 弘原海 清 (1992) : 地層累重の法則に関連する公理系の試案, *情報地質*, Vol. 3, No. 4, pp. 203-210.
- 塩野清治, 升本眞二, 坂本正徳 (1998) : 地層の3次元分布の特性と地質図作成アルゴリズムー地質構造の論理モデルー, *情報地質*, Vol. 9, No.3, pp. 121-134.
- 弘原海 清, 塩野清治, 升本眞二 (1987) : 地質図自動作成システム (GEOMAP-CAD) の開発の現状と課題, *情報地質*, No.12, pp. 351-358.
- Waterman, M. S. and Raymond, R. (1987): The match game: New stratigraphic correlation algorithms, *Mathematical Geology*, Vol.19, pp. 109-127.

## 分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ制御を分子基盤とした 新規抗アレルギー性食品因子に関する研究

岡山大学大学院環境生命科学研究科

中村 宜督

Th2 サイトカインは、T 細胞の分化や B 細胞からの IgE 産生を誘導することで、I 型アレルギーの発症に大きく貢献している。一方、申請者らは最近、Th2 サイトカイン発現が酸化ストレスによって増強される可能性を示唆してきた。以上の背景から、活性酸素種が活性化し、Th2 サイトカイン発現に寄与する分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ (MAPK) の制御を鍵とした新規抗アレルギー食品の開発を目指して、Th2 サイトカイン遺伝子発現を抑制する食品成分の評価を行ってきた。本研究では、ワサビやダイコンなどのアブラナ科植物を磨砕した時に生ずる isothiocyanate (ITC) 類に注目し、外因性過酸化水素によって活性化した MAPK と Th2 サイトカイン発現への効果を検討した。代表的な芳香族 ITC である benzyl ITC (BITC) は、過酸化水素誘導 IL-13 発現とリン酸化 c-Jun の核内移行を有意に抑制したが、MAPK のひとつである JNK のリン酸化には影響を与えなかった。BITC は glutathione S-transferase P1 (GSTP1) の発現を誘導する一方で、GSTP1 特異的阻害剤である NBDHEX が BITC の IL-13 発現抑制作用を中和した。以上の結果から、BITC は JNK/c-Jun 経路の不活性化を介して、IL-13 の発現を低く保つことで、慢性的なアレルギー疾患への連鎖を防ぐ可能性が示唆された。

### 1. 緒言

我が国では近年、花粉症や気管支喘息、食物アレルギーをはじめとする I 型アレルギーの罹患率が急増しており、社会問題になりつつある。I 型アレルギーは、特定の抗原に対する免疫反応が IgE 抗体を介して過剰に起こる現象である。抗原を貪食した細胞（樹状細胞やマクロファージ）による抗原提示をヘルパーT2 (Th2) 細胞が認識すると、interleukin (IL) -4、IL-5、IL-13 などの Th2 サイトカインが産生され、これらのサイトカインが B 細胞からの IgE 抗体産生を誘導する。IgE は肥満細胞や好塩基球の好親和性 IgE レセプターと結合するが、生体に再侵入した抗原と反応することで、化学伝達物質（ヒスタミンやロイコトリエンなど）の放出を刺激する。このような過程を介して様々な過敏反応を惹起するのが I 型アレルギーの発症メカニズムである。

Th2 型サイトカインの中で、代表的な IL-4 と IL-5 に加えて、IL-13 の重要性も近年明らかにされつつある。経気管支的に投与された IL-13 は喘息病態形成を直接惹起することや、IL-13 は IL-4 と同じレセプターを共有するため、IL-4 と共通の生物活性を持つだけでなく、T 細胞や肥満細胞に作用する IL-4 と

は異なり、末梢組織において作用する可能性が示唆されている。いずれにせよ、アレルギー応答を多面的に媒介する Th2 サイトカインは、アレルギー疾患の現実的な治療標的であると受け入れられている。

本研究で注目する分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ (mitogen-activated protein kinase: MAPK) は、真核生物に高度に保存されているセリン/スレオニンキナーゼである。炎症性サイトカインや酸化ストレスなどの細胞外刺激を伝達するシグナル分子であり、細胞増殖や分化だけでなく、免疫細胞の活性化に関与することが知られている。哺乳類の細胞では、extracellular signal-regulated protein (ERK)、c-Jun N-terminal kinase (JNK)、および p38 MAPK の 3 グループが存在する。MAPK の IL-13 発現への寄与については、1) 特異的な MAPK 阻害剤はヒト白血球と喘息マウスモデルの両方で IL-13 産生阻害効果を示す、2) JNK が活性化する転写因子 c-Jun が T 細胞において IL-13 産生に寄与する、3) 慢性的な酸化ストレスが Th2 細胞への分化を有意に増強し、喘息病態の進行に関与する、などの報告がある。これらのことは酸化ストレスや MAPK 経路が IL-13 の上流制御に非常に重要であることを示唆している。



野菜や果物などの植物性食品の摂取が日常の健康維持に寄与しているものと受け入れられて久しいが、我々の研究グループでは生体防御応答を活性化する食品成分に関する研究を展開してきた。近年、注目しているイソチオシアネート (ITC : isothiocyanate) 類は特異な官能基 (ITC 基 :  $-N=C=S$ ) を有する香味成分で、特徴的な芳香を持つ。ITC 類は、特にアブラナ科植物を中心に普遍的に含まれており、抗肥満や代謝の改善・充進などの多彩な生理作用を示すことが知られている。我々の研究グループでは、芳香族 ITC のひとつである benzyl ITC (BITC) が肝細胞において glutathione S-transferase (GST) 等の第2相薬物代謝酵素の発現を誘導すること [1]、また BITC はヒト好塩基球において、カルシウムイオンフォア誘導 IL-13 発現を抑制することを見出してきた [2]。そこで本研究では、外因性過酸化水素処理によって活性化する MAPK と Th2 サイトカイン発現への BITC の効果を検討し、抗アレルギー性食品因子としての分子基盤を明らかにしようとした。

## 2. 材料と方法

ヒト T リンパ球モデルとして Jurkat 細胞 (RIKEN Cell Bank) を用い、10%ウシ胎児血清 (FBS)、50 U/ml ペニシリン、50  $\mu\text{g/ml}$  ストレプトマイシンを含む RPMI Medium 1640 培地で培養した。Jurkat 細胞は BITC を 24 時間前培養し、培地交換後、過酸化水素 (100  $\mu\text{M}$ ) の 1 時間処理により、MAPK、Th2 サイトカイン発現を刺激した。IL-13 遺伝子発現は RT-PCR 法、GSTP1、p-JNK、p-c-Jun の発現はウエスタンブロッティングにてそれぞれ評価した。また、GSTP1 特異的阻害剤である NBDHEX を既報に従って合成し [3]、IL-13 発現に対する効果を検討した。

## 3. 結果と考察

BITC は Jurkat 細胞に対して細胞死を誘導するため [4]、Jurkat 細胞に対して毒性を及ぼさない BITC の濃度範囲を Trypan Blue 色素排除法により決定した。BITC の 24 時間処理により、10  $\mu\text{M}$  で顕著な細胞毒性が観察されたことから、以降の実験では BITC の濃度範囲を 0~5  $\mu\text{M}$  とした。

まず、Jurkat 細胞への過酸化水素刺激が IL-13 発現に及ぼす影響を調査した。その結果、過酸化水素 100  $\mu\text{M}$ 、1 時間の処理で IL-13 mRNA の発現量が約 3 倍に増加することを確認した。この増加に対する BITC との前培養の影響を RT-PCR 法にて評価したところ、毒性を示さない低濃度の BITC (1~2  $\mu\text{M}$ ) 処理により、IL-13 発現が有意に抑制された (Fig. 1)。短時間の前培養では効果がなかったことから、BITC による IL-13 発現抑制には、前培養の間に *de novo* 合成された因子が関与することが示唆された。

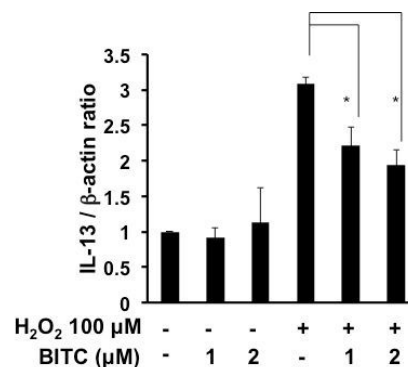


Fig. 1 過酸化水素誘導 IL-13 発現増強に対する BITC の抑制効果

次に、酸化ストレスによって活性化される JNK 経路に対する BITC の効果を検討した。活性化した JNK は転写因子 c-Jun をリン酸化し、転写因子 c-Fos 等との二量体 (AP-1) 形成を促進することで IL-13 遺伝子発現に関与すると報告されている [5]。BITC との前培養を施した Jurkat 細胞を過酸化水素で刺激し、リン酸化 JNK レベルを評価した結果、過酸化水素処理は有意にリン酸化レベルを増加させたのに対し、BITC 前処理は全く影響を与えなかった (Fig. 2)。

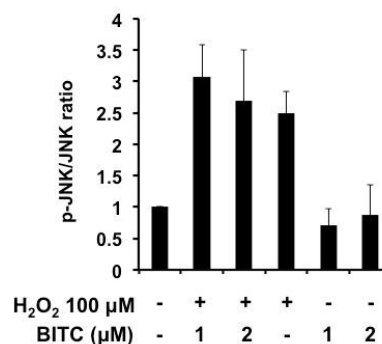


Fig. 2 過酸化水素誘導 JNK リン酸化に対する BITC の影響

一方、JNK の下流にある核内リン酸化 c-Jun レベルを評価したところ、過酸化水素で増加した核内リン酸化 c-Jun のレベルは 2  $\mu$ M の BITC の前処理により有意に抑制された (Fig. 3)。以上の結果から、BITC は JNK の活性化には影響を与えずに、c-Jun のリン酸化及び核内移行を抑制することが示唆された。

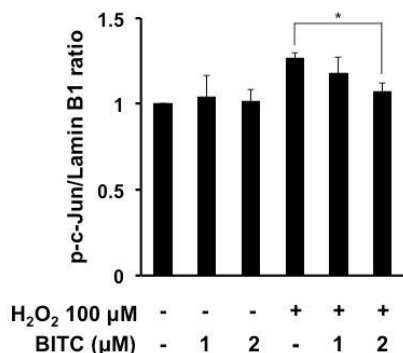


Fig. 3 過酸化水素誘導リン酸化 c-Jun 核内移行に対する BITC の抑制効果

前述のように、BITC は肝細胞において GST などの第 2 相薬物代謝酵素の発現を誘導する [1]。一方、GST アイソザイムの 1 つである GSTP1 は、JNK と直接的な相互作用を介して c-Jun のリン酸化を阻害することが報告されている [6]。そこで、IL-13 発現調節作用への GSTP1 の関与を検討するために、まず BITC の GSTP1 発現に対する影響をウェスタンブロッティングにて調査した。その結果、IL-13 発現を抑制する濃度の BITC 処理は、GSTP1 タンパク質レベルを有意に増加させた (Fig. 4)。この結果から、BITC は肝細胞系だけでなく、T リンパ球系細胞株においても、薬物代謝酵素発現を誘導し、JNK/c-Jun 経路の修飾に寄与する可能性が示唆された。

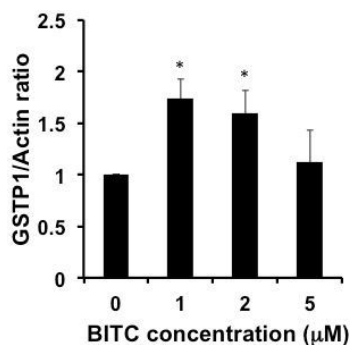


Fig. 4 GSTP1 タンパク質発現への BITC の影響

BITC による IL-13 発現抑制作用への GSTP1 の関与をさらに確認するため、GSTP1 特異的阻害剤である NBDHEX の IL-13 発現への影響を調査した。NBDHEX は GSTP1-JNK 複合体を解離させ、JNK による c-Jun のリン酸化を可能にする [7]。Fig. 5 に示すように、BITC による IL-13 発現抑制作用は、NBDHEX (1  $\mu$ M) 処理により有意に中和された。以上の結果から、BITC は、活性型 GSTP1 による相互作用を介して c-Jun のリン酸化を阻害し、IL-13 発現を抑制することが示唆された。

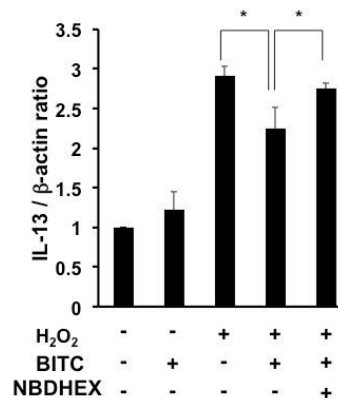


Fig. 5 BITC による IL-13 発現抑制作用への NBDHEX の影響

#### 4. 総括

アレルギー疾患への酸化ストレスの寄与が明らかになりつつあるなかで、ヒト T リンパ球細胞株においても過酸化水素により IL-13 発現が増強されたことから、本実験系が抗アレルギー因子の探索研究において有用なモデルになりうる可能性が示唆された。

また、BITC は毒性を示さない、生体で達成可能な低濃度領域において、第 2 相薬物代謝酵素である GST を誘導するとともに、過酸化水素誘導 IL-13 発現増強を抑制した。GST などの第 2 相薬物代謝酵素群は間接的に抗酸化物質として機能することから、BITC の効果に抗酸化メカニズムの寄与が予想された。しかし、BITC は JNK のリン酸化レベル自体に影響を与えずに、その下流の c-Jun のリン酸化を抑制したこと、また GSTP1 特異的阻害剤が BITC の IL-13 発現抑制作用を中和したこと、BITC の主要なメカニズムは、細胞全体の抗酸化能の上昇によるストレス耐性ではなく、細胞内シグナル伝達分子

の特異的な調節であることが明らかとなった。このような細胞及びシグナル伝達特異的な調節機構は、より安全で副作用の少ない抗アレルギー食品因子を開発する上で貴重な指針となる。

IL-13 等の Th2 サイトカインは前述したように I 型アレルギーを増強、さらに慢性化する一因であると考えられていることから、Th2 サイトカインの産生、分泌を抑制することは、Th2 に傾いた体内環境を正常化させるのに有用であると考えられている。高用量の BITC は細胞毒性を誘導することから、応用には適していないことも本研究から示唆された。

従って、BITC と同様の作用を示し、より毒性の低い食品成分を、JNK/c-Jun 経路の調節作用を指標に探索・同定することが、新しい抗アレルギー食品の開発に向けての今後の課題であると考えられる。

## 5. 謝辞

本研究の遂行にあたり、ご助成頂いたウエスコ学術振興財団に心より感謝致します。

## 6. 参考文献

- [1] Nakamura Y, Ohigashi H, Masuda S, Murakami A, Morimitsu Y, Kawamoto Y, Osawa T, Imagawa M, Uchida K. Redox regulation of glutathione S-transferase induction by benzyl isothiocyanate: Correlation of enzyme induction with the formation of reactive oxygen intermediates. *Cancer Res.*, **60**, 219-225 (2000).
- [2] Tang Y, Abe N, Yoshimoto M, Zhu B, Murata Y, Nakamura Y. Benzyl isothiocyanate inhibits IL-13 expression in human basophilic KU812 cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **79**, 159-163 (2015).
- [3] Federici L, Lo Sterzo C, Pezzola S, Di Matteo A, Scaloni F, Federici G, Caccuri AM. Structural basis for the binding of the anticancer compound 6-(7-nitro-2,1,3-benzoxadiazol-4-ylthio)-hexanol to human glutathione S-transferases. *Cancer Res.*, **69**, 8025-8034 (2009).
- [4] Wu H, Yokoyama T, Zhu B, Shimoishi Y, Murata Y, Nakamura Y. (-)-Epigallocatechin-3-gallate potentiates cytotoxicity induced by benzyl isothiocyanate and hydrogen peroxide in human Jurkat T lymphocytes.

*Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **72**, 3034-3037 (2008).

[5] Ribeiro-do-Couto LM, Boeije LC, Kroon JS, Hooibrink B, Breur-Vriesendorp BS, Aarden LA, Boog CJ. High IL-13 production by human neonatal T cells: neonate immune system regulator? *Eur. J. Immunol.*, **31**, 3394-3402 (2001).

[6] Adler V, Yin Z, Fuchs SY, Benezra M, Rosario L, Tew KD, Pincus MR, Sardana M, Henderson CJ, Wolf CR, Davis RJ, Ronai Z. Regulation of JNK signaling by GSTp. *EMBO J.*, **18**, 1321-1334 (1999).

[7] Ricci G, De Maria F, Antonini G, Turella P, Bullo A, Stella L, Filomeni G, Federici G, Caccuri AM. 7-Nitro-2,1,3-benzoxadiazole derivatives, a new class of suicide inhibitors for glutathione S-transferases. Mechanism of action of potential anticancer drugs. *J. Biol. Chem.*, **280**, 26397-26405 (2005).

## 7. 研究成果

### a. 原著論文

1. Tang Y, Abe N, Yoshimoto M, Zhu B, Murata Y, Nakamura Y. Benzyl isothiocyanate inhibits IL-13 expression in human basophilic KU812 cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **79**, 159-163 (2015).

### b. 学会発表

1. Yue Tang, Sho Naito, Naomi Abe, Yoshiyuki Murata, Yoshimasa Nakamura. Benzyl isothiocyanate inhibits IL-13 expression in human basophil KU812 cells. 第39回日本農芸化学会中四国支部講演会（福山），2014年5月31日。

2. 内藤翔, Tang Yue, 宗正晋太郎, 村田芳行, 中村宜督. Benzyl isothiocyanate の抗アレルギー作用とその分子機構. 第41回日本農芸化学会中四国支部講演会（下関），2015年1月24日。

## 岡山市西川緑道公園における持続的なまちづくりに向けた実践研究 —アメリカ・ポートランド市の BID と市民参加の国際比較—

岡山大学地域総合研究センター

岩淵 泰

本研究の目的は、岡山市中心市街地に位置する西川緑道公園のまちづくりが、持続的に展開されていくための方策を、アメリカ・ポートランド市のまちづくりを経済的視点と市民参加の双方から分析し、研究成果として、産官学と NPO の参加を通じた新しい地域自治モデルの提示を目指すことである。

岡山市中心市街地は、2014 年 12 月に岡山駅側に年間 2000 万人の集客が見込まれるイオンモールが出店した。このイオンモールの出店は、岡山県の消費構造に影響を与えるだけでなく、中心市街地の人や物の動きを変えていくと考えられている。この流れを受け、大森雅夫市長は、2014 年 2 月に賑わいの創出と魅力づくりを柱にした中心市街地政策パッケージを提示している。

本研究が西川緑道公園のまちづくりに注目するのは、1982 年に西川緑道公園が誕生して以来、様々なまちづくり活動が展開されては消えていったまちづくりの歴史的蓄積である。また、西川パフォーマー事業など、岡山市が公園の管理から活用へとまちづくりの参加を広げた結果、若者や NPO などの活動が盛り上げりを見せている点である。本研究は、このような西川緑道公園のまちづくりの変化を捉えながら、地域の資産価値を高める持続的なまちづくりへの政策提案を行う。

研究アプローチは、アメリカ・まちづくりの聖地として知られているポートランド市の成功条件を、岡山市中心市街地のまちづくりに当てはめることである。その中で、第一に、BID (Business Improvement District) の分析を進め、第二に、ポートランド市と岡山市における市民活動の比較を進めていく。

研究準備としては、2012 年度から岡山市庭園都市推進課と共同調査を進めている。また、ポートランド市にも 3 回訪れており、ポートランド州立大学のスティーブ・ジョンソン教授と西芝雅美准教授から研究支援を頂く予定である。

本研究は、第一に、西川緑道公園におけるまちづくり調査と実践、第二に、ポートランド市のまちづくりを市民参加の視点から分析し、持続可能なまちづくりの条件について検討を行った。

まず、西川緑道公園の実践について以下のような活動を行った。持続可能なまちづくりを展開するために、岡山大学地域総合研究センターは、2014 年 11 月、岡山市と岡山大学との間で西川緑道公園の境界のまちづくりを支援する協定書を結び、続けて、西川緑道公園のアイプラザの前に、岡山市・岡山大学・市民交流拠点である西川アゴラを開設した。西川アゴラを開設した理由は、本研究など西川境界のまちづくり経緯調査を進める中で、まちづくり団体や若者の活動スペースが欲しいという要望が判明したからである。

現在、西川緑道公園の活動として、NPO 法人タブ

ラサは、キャンドルナイト、リユース食器のリサイクル、有機生活マーケット・いちを開催し、若者たちは、満月 BAR などを行っているが、西川に拠点がなかったため、イベントの準備、ミーティングなど安定した活動をすることが難しかったが、岡山大学地域総合研究センターでは、岡山市の委託調査費を活用することで、西川沿いに活動スペースを確保することにした。

2014 年 12 月には、スティーブン・ジョンソン・ポートランド州立大学教授を招聘して『ポートランドまちづくり week』を開催した。産官学のワークショップを通じてアメリカにおけるまちづくりの聖地と呼ばれているポートランド市の成功の秘訣を、産官学によるワークショップから明らかにした。

調査や研究会を通じて、西川緑道公園の市民参加の特色が明らかになった。歴史的に振り返ると、西

川緑道公園のまちづくりの特徴として、1980年代はチーム 25 など若手建築士が中心となって公共交通などハードの整備を中心とした歩きやすいまちづくりを目指しており、西川フリーマーケットは、多くの人々が中心市街地に集まるための手段として行われてきたが、21世紀に入ると、まちづくり団体は、エコロジー、ローカルフード、サステナビリティなどライフスタイルを巡るまちづくりが活発化するようになり、特に、女性、若者、生産者の参加が増えるようになったことである。

多様な参加が可能となったのは、岡山市庭園都市推進課が、西川パフォーマー事業という市民協働事業を始めたからであり、岡山市は、市民参加を利用することで質の高いにぎわいづくりを目指しているが、まちづくり団体は活動の場所を求めているなど相互の利害が一致したからである。重要なことは、西川緑道公園のまちづくり活動を持続的に展開するためには、岡山市が公園の管理から活用に向けて転換を行い、市民参加を取込んでいくことなのである。

一方で、アメリカにおけるまちづくりの聖地と呼ばれるポートランド市では、まちづくりがいかに形成されて、特徴のある市民活動が生まれているのかを調査した。パットナムは、人と人との信頼関係である社会資本が全米各地で低下し、市民活動も弱まっているにも関わらず、ポートランド市では、1970年代以降むしろ増加していくというポートランドの例外を発見している。本研究を支援しているスティーブ・ジョンソン教授は、パットナムの研究に対して、ポートランドでは、カトリック団体などの伝統的な団体が少なくなっていく一方で、公共交通や環境など権利を主張するようなアドボカシー団体が増加していることを明らかにしている。ジョンソン教授によれば、ポートランド市のまちづくりには、サステナビリティ（持続可能性）、クリエイティビティ（創造性）、そして、変わり者のポートランド（Keep Portland Weird）の三つが重要であり、ポートランド市では、大量生産や消費型の社会よりも、自転車、アート、フード、ビールなどアーティザン・エコノミーが（Artisan Economy）が受け入れられていると指摘している。

また、ポートランド市では、まちづくり物語を形成してきたことが分かってきた。本研究が、ポートランド市の経験を西川緑道公園に活用させたい点は、岡山市におけるまちづくり物語を形成し、中心市街地の活性化を検討することである。ポートランド市と日本のまちづくりの違いとは、ポートランド市では、市民がまちを変えていったという成功体験をまちづくり物語として残しており、それが公共政策の裏づけとなっていることである。

例えば、1960年代から70年代にかけて、ポートランド市はモータリゼーションを迎えており、ウィラメット川に高速道路の建設計画が持ち上がっていたが、市民は建設反対の意思を明確にするために、夏の日道路でピクニックを行っており、市長は建設中止を受け入れることになる。しかしながら、車の重要は高まっており、更に、高速道路の建設費は連邦政府に返さなければならなかったのが、市長と市民は、返すべき予算を、路面電車など公共交通の整備費用に転用することを考え、それを政府は認めることになる。続けて、ウィラメット川の運動は、中心市街地のまちづくりにも飛び火している。デパートが、高層の駐車場建設計画を明らかにすると、市民は、まちづくりの広場を必要としていることを明示し、ポートランド市は、その土地を購入することになる。ただ、『ポートランドのリビングルーム』と呼ばれるパイオニア・スクウェアの建設費が足りなくなると、市民は公園の煉瓦に名前を入れるなどのファンディングで予算不足を補い、市民参加により広場を獲得することになる。

ポートランド市では、このようなまちづくり物語を土台にして、エコ・インフラなどの公共政策、市民自治の制度を作っているが、BIDの中心市街地のまちづくりにおいても、個人の活動とコミュニティがバランスを取りながら双方の発展を目指すことが重要であると言える。

平成27年度は、本研究を発展させるため環境省総合研究推進費を活用する予定であり、ポートランド市のまちづくり調査を継続していく。本研究の内容の一部は、『現代公共政策のフロンティア』岡山大学出版会の論文の中に掲載される。

## オオムギの形質転換に必要なゲノム領域の同定

岡山大学 資源植物科学研究所

久野 裕

### 【概要】

安定して形質転換が可能なオオムギ品種は「Golden Promise」に限られており、この制限要因が「Golden Promise」以外の品種・系統に特異的な形質遺伝子の効率的な解析を妨げている。筆者は、品種・系統に依存せず、しかも高効率で簡便なオオムギ形質転換系の確立を目的として、形質転換に必要な遺伝的因子の解明に取り組んでいる。本研究では、マイクロアレイ解析によって「Golden Promise」由来のカルスで特異的に発現制御されている遺伝子を抽出し、それらを染色体地図上の位置を同定（マッピング）した。マイクロアレイによる遺伝子発現解析の結果、「Golden Promise」と「はるな二条」由来のカルス間での発現量の差が2倍以上の遺伝子が合計4308個検出された。これらのうち染色体上の位置がアノテーションされている2756遺伝子について、*in silico* マッピングを行った。各染色体にマッピングされた遺伝子数は、301 (1H)、480 (2H)、431 (3H)、327 (4H)、429 (5H)、351 (6H) および437 (7H) であった。これらの遺伝子は、培養特性に関与する遺伝子である可能性があるため、今後詳細な遺伝子発現解析やマーカー化などを行う予定である。

### 【研究の背景と目的】

オオムギは、醸造用、飼料用および食用などで利用されている重要作物のひとつである。その利用特性、品質ならびに環境ストレス耐性などの育種を効率良く進めるためには、形質転換法を用いた遺伝子機能解析が必要となる。

オオムギの形質転換は、アグロバクテリウムを介した外来遺伝子導入法が用いられる。一般的には、オオムギの未熟胚にアグロバクテリウムを感染させ、遺伝子が導入されたカルス（脱分化した細胞）を抗生物質で選抜し、植物体を再生（再分化）させる方法が用いられる。そのため、オオムギの形質転換には、細胞増殖が旺盛かつカルスの再分化能が優れている品種を用いることが重要である。現在、安定して形質転換が可能なオオムギ品種は「Golden Promise」に限られており（Harwood 2012）、この制限要因が「Golden Promise」以外の品種・系統に特異的な形質遺伝子の効率的な解析を妨げている。

筆者は、品種・系統に依存せず、しかも高効率で簡便なオオムギ形質転換系の確立を目的として、形質転換の成否を決定する遺伝的因子の解明に取り組んでいる。これまでに、「Golden Promise」と「形質転換が出来ない品種」との交配集団を用いた遺伝学

的解析によって、オオムギゲノムの1番(1H)、2番(2H)、6番(6H)ならびに7番(7H)染色体上に形質転換に重要な領域が存在することを明らかにしている（未発表）。本研究では、マイクロアレイ解析によって「Golden Promise」由来のカルスで特異的に発現制御されている遺伝子を抽出し、それらを染色体地図上の位置を同定（マッピング）することにより形質転換に必要なゲノム領域の絞り込みを行う。

### 【材料および方法】

形質転換可能なオオムギ品種「Golden Promise」と形質転換が困難な品種「はるな二条」の未熟胚を用いて、カルスを誘導した。誘導開始から1ヶ月後のカルスをカルス誘導培地（MS 基本培地+5mg/L Dicamba）に継代したものを「MSD 処理区」、同様に再分化培地（MS 基本培地+3mg/L BAP）に継代し16時間日長で再分化誘導したものを「MSB 処理区」として、それぞれ処理開始から1週間後にRNAを抽出した。遺伝子発現解析には、これらのRNAならびにオオムギ用オリゴDNAマイクロアレイ（44000プローブ、アジレント社製）を用いた。

「Golden Promise」と「はるな二条」の間で発現差異が見られた遺伝子に関して、オオムギゲノム情

報を基にして *in silico* でマッピングを行った。

【結果および考察】

マイクロアレイによる遺伝子発現解析の結果、「Golden Promise」と「はるな二条」由来のカルス間での発現量の差が2倍以上の遺伝子が合計4308個検出された(表1)。そのうち、MSDあるいはMSBの片方の処理区でのみ発現差異が見られる遺伝子が3030個、品種間の遺伝子発現の強弱が処理区で逆転した遺伝子が81個それぞれ検出された。「Golden Promise」は、カルスの増殖や再分化能が「はるな二条」に比べて優れており、これらの遺伝子の一部はその表現型に関与する遺伝子であると推測される。また、MSDとMSBの両処理区で発現差が見られた遺伝子は1197個であり、これらは処理区に依らない品種間の発現差異であることを示している。

これらのうち染色体上の位置がアノテーションされている2756遺伝子について、*in silico* マッピングを行った。図1に、各遺伝子の染色体上の分布とその発現量の差を示す。縦軸は遺伝子発現量の差(Golden Promise/はるな二条の相対値)を対数( $\log_2$ )で示し、横軸はオオムギの各染色体(基本染色体数は7で、1H~7Hと表記する)の遺伝的距離(cM)を示している。青い点はMSD処理区を、赤い点はMSB処理区における発現遺伝子をそれぞれ示している。各染色体にマッピングされた遺伝子数は、301(1H)、480(2H)、431(3H)、327(4H)、429(5H)、351(6H)および437(7H)であった。また、「Golden Promise」と「形質転換が困難な品種」との交配集団を用いた遺伝学的解析によって見いだされた形質転換に重要と考えられる領域(未発表)を黄色で示した(図1)。

表1 2品種の未熟胚由来のカルス間で2倍以上の発現差異が認められた遺伝子数

発現量	両処理区	MSD処理区*	MSB処理区*	処理区で逆転
Golden Promise > はるな二条	555	294	1119	27 (MSD), 54 (MSB)
Golden Promise < はるな二条	642	631	986	54 (MSD), 27 (MSB)
小計	1197	925	2105	81
				合計 4308

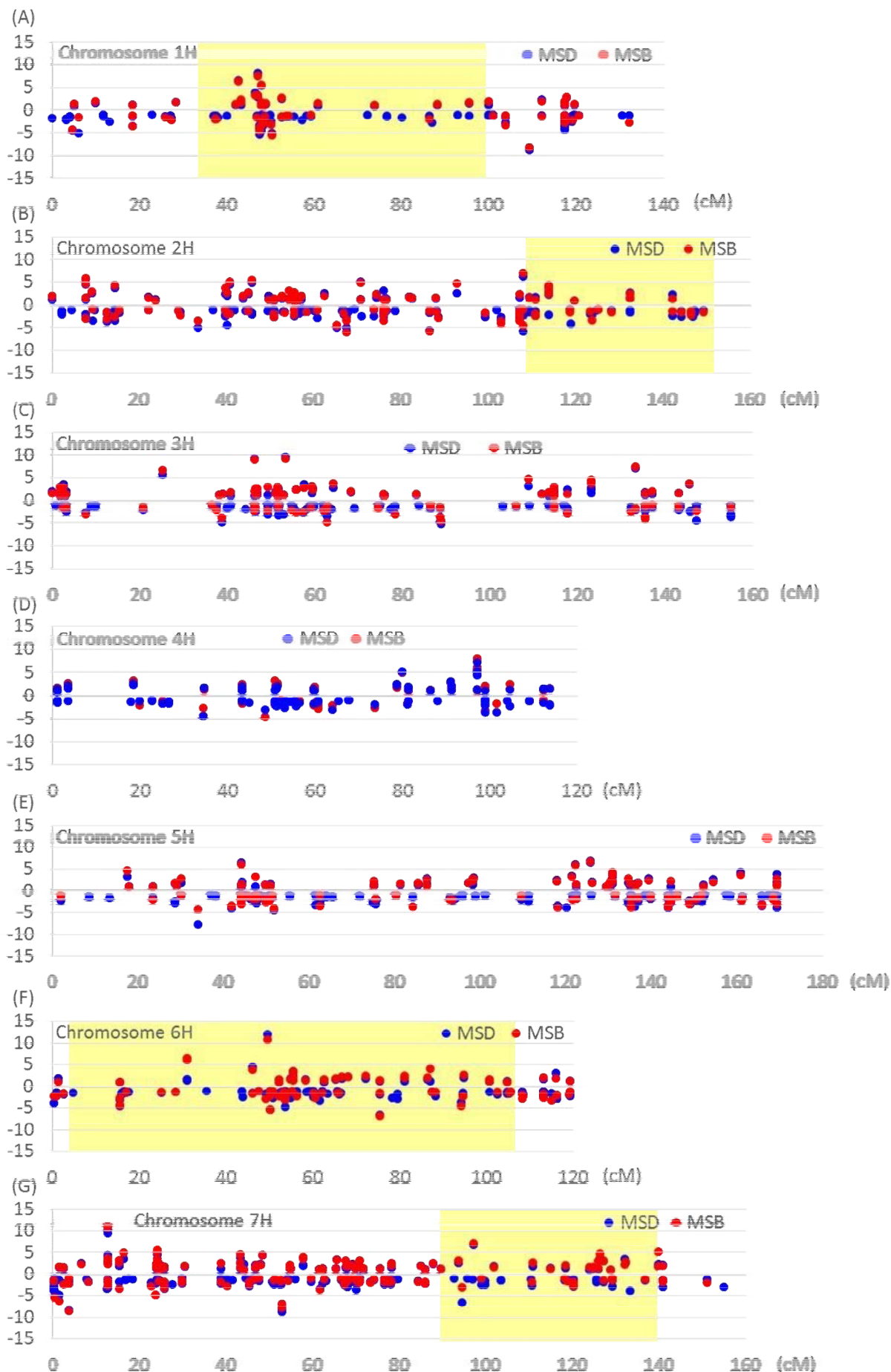
\*MSD処理区はカルス誘導培地に継代したもの、MSB処理区は再分化誘導したものをそれぞれ示す。

表2 形質転換に重要な領域に存在し、「Golden Promise」と「はるな二条」由来のカルス間で発現差が顕著な遺伝子

Prove ID	Chromosome	cM	*FC(GP/HN)		Description
			MSD	MSB	
A_13_P504734	1H	42.8	97.9	86.4	
A_13_P499744	1H	47.2	307.8	197.5	Glutaredoxin - Triticum aestivum (Wheat), complete [TC253583]
A_13_P039166	6H	49.6	4020.4	1726.3	HVSMEg0013F21f Hordeum vulgare pre-anthesis spike EST library HVcDNA0008 (white to yellow anther) Hordeum vulgare subsp. vulgare cDNA clone HVSMEg0013F21f, mRNA sequence [BE060789]
A_13_P289322	6H	54.9	-82.4	-11.0	Hordeum vulgare subsp. vulgare cDNA clone: F1Lbaf46h21, mRNA sequence [AK248293]
A_13_P521689	6H	75.5	-89.9	-103.3	
A_13_P011611	7H	94.6	-85.4	-8.3	Rep: dTDP-4-dehydrorhamnose reductase - Bordetella petrii, partial (5%) [TC251468]

\*FC(GP/HN)はFold change (「はるな二条」に対する「Golden Promise」の遺伝子発現の相対値)を示す。

遺伝子発現量の差 ( $\log_2[\text{Golden Promise} / \text{はるな二条}]$ )





## 図1 マイクロアレイによって抽出した「Golden Promise」特異的な発現を示す遺伝子の *in silico* マッピング

「Golden Promise」と「はるな二条」に由来するカルス間で2倍以上の発現差異を示した遺伝子について、ゲノム情報を基に *in silico* マッピングを行った。MSD 処理区と MSB 処理区における遺伝子発現量の差(Golden Promise/はるな二条)を対数( $\log_2$ )で示す。各染色体のゲノム上の位置は遺伝距離(cM)で表す。「Golden Promise」と「形質転換が困難な品種」との交配集団を用いた遺伝学的解析によって見いだされた形質転換に重要と考えられる領域を黄色で示した。(A)1H 染色体、(B)2H 染色体、(C)3H 染色体、(D)4H 染色体、(E)5H 染色体、(F)6H 染色体、(G)7H 染色体。

この領域内に存在する遺伝子のうち、「Golden Promise」と「はるな二条」との間で発現差が顕著なものを表2に示す。特に、1H、6Hおよび7H染色体に2品種間で大きく発現量が異なる遺伝子が存在することが示された。これらの遺伝子は、培養特性に関与する遺伝子である可能性があるため、今後詳細な遺伝子発現解析やマーカー化などを行う予定である。

### 【まとめ】

本研究では、マイクロアレイによって「Golden Promise」に特異的な遺伝子発現を網羅的に解析し、かつそれらの染色体上の位置を明らかにした。そのゲノム領域をさらに詳しく絞り込むことにより、例えば「目的形質を持つが形質転換困難な品種」に「Golden Promise」を掛け合わせて、その雑種後代の遺伝子型をDNAマーカーで確認することにより、容易に「目的形質を持つ形質転換可能な系統」を得ることができる。これにより、迅速なオオムギの形質遺伝子解析が可能となる。一方、「Golden Promise」が有する優れた培養特性(細胞増殖や再分化)に関する遺伝子単離の布石となり、iPS細胞のような植物版多能性細胞の作製に貢献できると考えている。

### 【参考文献】

1. Harwood, W. A. (2012) Advances and remaining challenges in the transformation of barley and wheat. *Journal of Experimental Botany* 63: 1791-1798.
2. 久野裕、西村秀希、佐藤和広 (2014) マイクロアレイによるオオムギカルスの網羅的な遺伝子発現

解析. 育種学研究 第16巻 別冊1号 171頁.

### 【謝辞】

本研究を遂行するに当たり、多大なご支援をいただいた公益財団法人ウエスコ学術振興財団に心より感謝申し上げます。また、マイクロアレイ解析を支援して下さった岡山大学資源植物科学研究所 西村秀希氏、ならびに *in silico* マッピング解析に必要なデータの収集を担当して下さった同研究所 吉田英哉 博士に感謝申し上げます。

## 植物の生殖細胞における DNA メチル化動態に関する研究

岡山大学 資源植物科学研究所

池田 陽子

### (概要)

植物では、動物と異なり、DNA メチル化が世代ごとにリセットされず、親の DNA メチル化状態が子に引き継がれる現象が知られており、生殖細胞系列では、受精後胚乳を形成する中央細胞のみで能動的 DNA 脱メチル化が行われるとされている。しかしながら植物の雌側の生殖細胞や、受精後の初期発生における DNA メチル化の動態については細胞が植物体内部の限定されたわずかな細胞で起こるため、解析が難しく、未だ不明な点が多い。そこで本研究では、植物の生殖細胞を単離し、DNA メチル化動態を解析するために、細胞壁分解酵素セルラーゼを含む酵素液を用いてシロイヌナズナの胚珠から生殖細胞を大量に分離する方法を検討した。一方で、生殖過程及び初期発生過程における DNA 脱メチル化酵素の機能を解析するため、シロイヌナズナ DNA 脱メチル化酵素遺伝子のプロモーター-GFP マーカーラインを作成し、DNA 脱メチル化酵素遺伝子の発現解析を行っている。また、陸上植物の基部に位置する種の 1 つであるゼニゴケの生殖細胞における DNA メチル化の機能について解析するため、生殖細胞におけるクロマチン構造の解析及び DNA メチル化酵素の変異体作成を行っている。

### (研究の背景及び目的)

DNA 塩基配列だけでなく、DNA メチル化やヒストン修飾などのエピジェネティックな情報も、遺伝子の発現制御に重要であることが知られている。動物では、初期発生過程で DNA メチル化及びヒストン修飾情報はいったん消去され、新たに書き込まれるため、世代ごとにエピジェネティックな情報がリセットされる。一方で、植物では、受精後胚乳となる中央細胞で DNA 脱メチル化が起こる一方、卵および精細胞、胚系列での DNA 脱メチル化は報告されていない。また、植物では、DNA メチル化酵素の欠損などにより低メチル化状態が引き起こされると、交配により背景を野生型に戻しても DNA メチル化が復帰しない現象が知られている。このことから、植物では、動物とは異なり、DNA メチル化の世代ごとのリセットが行われず、環境ストレスなどの何らかの要因により、低メチル化が引き起こされると、その情報が次世代に伝わりうることを示唆している。しかしながら、植物の生殖細胞、及び発生初期過程における DNA メチル化の維持機構に関しては、生殖細胞が植物体内部の限定されたわずかな細胞で起こるため、解析が難しく、未だ不明な点が多い。特に、植物の雌側の

生殖細胞や、受精後の初期発生における DNA メチル化の動態については組織単離の問題があり、依然として不明な点が多い。

そこで、本研究では、(1) 免疫組織染色及び、生殖細胞の単離により、生殖過程及び初期発生過程における DNA メチル化動態を調べる系を確立する。

(2) 生殖過程及び初期発生過程における DNA メチル化酵素及び脱メチル化酵素の発現や機能を詳細に解析し、DNA メチル化維持機構を明らかにする。以上 2 点を目的とし、研究を行った。

### (研究材料)

#### ・シロイヌナズナ

シロイヌナズナは植物として最初に全ゲノムが解読されたモデル植物である。実験室系統が確立されており、遺伝学、分子生物学の材料として利用されている。生殖細胞や生殖の分子メカニズムに関し、最も植物で研究が進められており、情報が蓄積しているため本研究でも研究材料に用いた。野生型として実験室系統 Co1-0 を使用した。

#### ・ゼニゴケ

ゼニゴケは苔類のモデル植物として近年リソースが

確立された。全ゲノムが解読され、形質転換も可能である。生活環の殆どがハプロイドかつ雄雌別個体であり、精子による有性生殖及び無性芽による無性生殖の2つの様式で増殖をおこなう。陸上植物の基部に位置する植物であり、シロイヌナズナと比較することで、植物の進化に関する考察を行うことが期待できると考え、研究材料とした。野生型として京都で採取された Tak-1 系統を用いた。

#### (研究方法)

##### 1-1 シロイヌナズナ生殖細胞単離法の検討

現在、DNA メチル化修飾を調べる方法として、ゲノムDNAをBisulfite処理し、メチル化されていないシトシンをウラシルに置き換え、塩基配列を解析してリファレンスと比較する方法が一般的である。この方法では少なくとも数十ngのゲノムDNAが必要であり、生殖細胞におけるDNAメチル化修飾について調べる為には、シロイヌナズナ生殖細胞を数千個のオーダーで単離し、ゲノムを抽出する必要がある。そのため、シロイヌナズナ生殖細胞の単離法の検討をまず行った。これまでに、私たちは細胞壁分解酵素セルラーゼを含む酵素液中にプロトプラスト化した生殖細胞を放出させる方法を報告している(文献1)。この方法では、成熟させた胚珠を生殖細胞単離用酵素液{1% cellulase (WORTHINTON CEL 125U/mg), 0.3% maselozyme (Yakult R-10) 0.05% pectolyase (Kyowa kasei co. ltd) 0.45 M mannitol}に浸し、珠孔から生殖細胞を放出させる。本研究では、この方法を利用し、大量の胚珠から生殖細胞を単離する条件を検討した。

##### 1-2 ゼニゴケ免疫組織染色法の検討

DNAメチル化とクロマチン構造は互いに相互作用していることが示唆されており、シロイヌナズナ雌側生殖細胞を用いた免疫組織染色実験により、転写に抑制的に働くヒストン修飾H3K9me2の分布が体細胞よりも分散した状態にあることが報告されている(文献3)。植物の進化過程における生殖細胞のクロマチン修飾の役割について調べるため、ゼニゴケの生殖細胞におけるクロマチン修飾を調べることを計画

した。ゼニゴケの生殖器の誘導条件(一定の遠赤色光を含む光条件)を栽培室内で整える一方で、ゼニゴケ葉状体を用いた免疫組織染色法の検討を行った。4%ホルムアルデヒドで固定し、スライドガラス上で押しつぶしてから液体窒素に浸し、PBSで2回洗浄後、3%BSAで30分処理後、3%BSAで1/100希釈したヒストン修飾抗体(H3K9me2:アブカム ab1220 またはH3ac:アブカム ab4441)で浸し4°Cで一晩静置した。翌朝PBSで3回洗浄後、1.5%BSAで1/200希釈したAlexa488 蛍光ラベル二次抗体(ライフテクノロジ)で60分処理後、PBSで3回洗浄し、Vectashield mounting solution with DAPI(フナコシ)を用いて封埋し、蛍光顕微鏡で観察した。

##### 2-1 シロイヌナズナ脱メチル化酵素の生殖細胞における発現解析

これまでに、シロイヌナズナの生殖細胞においては、中央細胞での機能が報告されている DEMETER (DME) の機能解析が行われてきたが、DMEファミリーのDNA脱メチル化酵素はシロイヌナズナゲノムに他に3つ存在し{REPRESSOR OF SILENCING1 (ROS1), DEMETER LIKE2 (DML2), DEMETER LIKE3 (DML3)}, これらの生殖細胞における機能と発現に関しては十分な検討が行われていない。そこで、私はROS1, DML2及びDML3各遺伝子にGFP蛍光マーカーをつなぎ、シロイヌナズナに導入して発現解析を行うことを試みた。ROS1, DML2及びDML3各遺伝子のプロモーターとコード領域(それぞれ長さ約8kb)からストップコドンを除いた配列をGATEWAYシステムによりInvitrogen pDONR/Zeoプラスミドにクローニングし、目的の塩基配列にエラーがないことを確認した。その後、これらをpH7FWGプラスミド(VIB plant biology group, Ghent university)にLR反応により挿入し、GFP融合タンパク質を発現させるベクターを作製した。このT-DNAベクターコンストラクトをシロイヌナズナに導入した。

#### (結果)

##### 1-1 シロイヌナズナ生殖細胞単離法の検討

生殖細胞の単離にあたり、最も大きな生殖細胞で

ある中央細胞を指標とすることとした。中央細胞で特異的に発現するシロイヌナズナ *FWA* 遺伝子のプロモーターに GFP を融合させた植物を用い、中央細胞が蛍光で判別できるようにした(文献 2)。雄ずいを取り除き、受粉が行われない条件で成熟させた *pFWA-GFP* マーカーを持つシロイヌナズナ子房を多数準備した。実体顕微鏡下でピンセットを用いて子房を切開し、胚珠を取り出して生殖細胞単離用酵素液に浸し、30分常温で静置することで、多数の胚珠の珠孔から *pFWA-GFP* による蛍光を発する中央細胞が酵素液中に放出された様子が確認できた(図 1)。

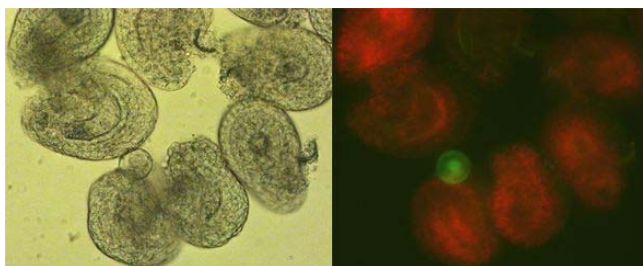


図 1 シロイヌナズナ胚珠及び放出された蛍光を示す生殖細胞(中央細胞)の写真。(左:透過光, 右: 蛍光像。緑色の蛍光が GFP マーカーが発現した酵素液中に放出された中央細胞。赤色は葉緑体の自家蛍光による。)

この酵素液の上清を回収することで、プロトプラスト化した多数の生殖細胞を含む画分を調整することができた。

#### 1-2 ゼニゴケ免疫組織染色法の検討

シロイヌナズナで一般的に用いられている核の免疫染色法を参考に、ゼニゴケ葉状体を用いた免疫組織染色を行った。蛍光試薬 DAPI で染色を行うと、核中でヘテロクロマチン化し凝縮している部分が濃く染色されることが知られている。免疫染色の結果、転写に抑制的に働くヒストン H3K9 ジメチル化 (H3K9me2) 抗体を用いた蛍光染色のシグナルと、DAPI のシグナルは大部分が一致している様子が観察された(図 2 上段)。一方、転写活性化に働くヒストンアセチル化に抗体(H3ac)を用いた蛍光染色のシグナルは核の中心部分では観察されず、DAPI によるシグナルの分布とは異なっていた(図 2 下段)。これらの分布は核内のヘテロクロマチンまたはユークロマチンの予想される分布とよく一致している。

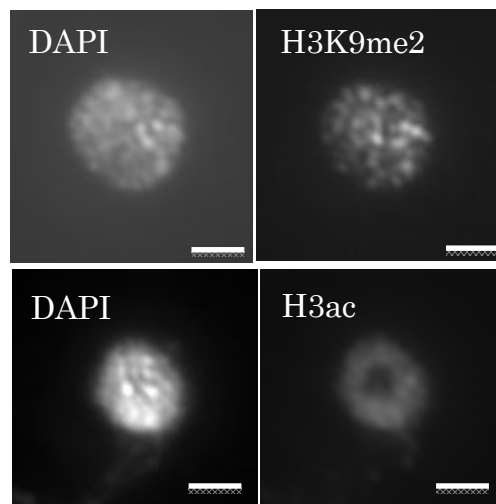


図 2 ゼニゴケ葉状体核の抗体染色像。グレースケールでスキャン。スケールバー=2μm

#### 2-1 シロイヌナズナ脱メチル化酵素の生殖細胞における発現解析

シロイヌナズナ *ROS1*, *DML2* 及び *DML3* 各遺伝子のプロモーターと、コード領域のストップコドンを除いた領域(それぞれ長さ約 8kb)について、塩基配列のエラーがないクローニングに成功した。この配列に GFP をつないだ T-DNA ベクターコンストラクトをアグロバクテリウムを介してシロイヌナズナ野生型に形質転換し、形質転換体の第一世代 (T1) を複数得た。*ROS1* 遺伝子の GFP マーカーラインに関しては、複数の T1 個体の根端付近の核で GFP の強い蛍光が見られた(図 3)。

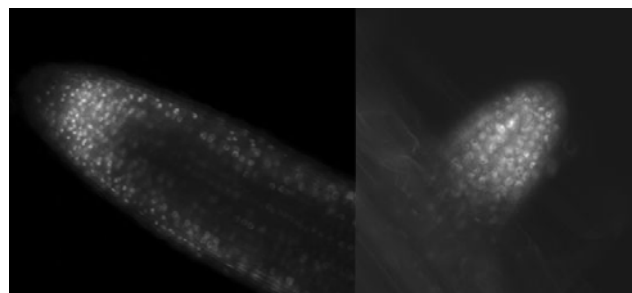


図 3 gROS1-GFP の蛍光写真。グレースケールでスキャン。(左: 主根の根端付近、右: 側根原基)根端付近の核で強い蛍光が見られた。

一方で、*DML2*, *DML3* のマーカーラインに関しては、T1 10 個体ずつを観察したが、根端で強い蛍光が観察される個体は見られなかった。現在、生殖細胞に

における GFP 蛍光観察を行うため、引き続き植物を育成中である。

(考察と今後の展望)

1-1 シロイヌナズナ生殖細胞単離法の検討

シロイヌナズナ胚珠から、セルラーゼを含む酵素液を用いて雌側生殖細胞を大量に調整することが可能となった。シロイヌナズナの子房1個中には胚珠50個程度が形成される。従って、今後 Bisulfite 法による DNA メチル化解析を行うためには、少なくとも100個の子房を準備して5000個程度の生殖細胞を得る必要がある。今後、pFWA-GFPだけでなく、各生殖細胞のマーカー遺伝子のプロモーター下で GFP が発現する植物を準備し、プロトプラスト化した生殖細胞について蛍光を指標にセルソーターで分取する予定である。セルソーターにより単離した生殖細胞からゲノムを抽出し、ゲノムワイドバイサルファイト解析を行い、DNA メチル化状態について解析を進めたい。

1-2 ゼニゴケ免疫組織染色法の検討

ゼニゴケの生殖細胞におけるクロマチン動態を調べる前段階として、葉状体における免疫染色の条件検討を行い、転写に抑制的に働く H3K9me2 及び転写活性化に働くヒストン H3 アセチル化のそれぞれの修飾の核内における分布を明らかにすることができた。ヘテロクロマチン領域に多く局在すると予想される H3K9me2 は、核内の DNA 密度の高い領域と分布が一致しているのに対し、ヒストン H3 アセチル化領域は核内の中心部には見られず、クロマチンが緩んで転写が活性化している領域と分布が一致していると考えられた。現在、ゼニゴケの生殖器を誘導する遠赤色光を含む光条件を実験室内で整えつつあり、今後、生殖器を誘導し、生殖細胞を用いた免疫染色を行い、クロマチン修飾について解析する予定である。さらに、ゼニゴケの生殖細胞における DNA メチル化の機能解析を進めるため、現在、ゲノム編集技術を用いたゼニゴケの DNA メチル化/脱メチル化酵素の機能欠損変異体の作製を開始しており、変異体の解析により、ゼニゴケ生殖細胞における DNA メチ

ル化の果たす機能に関し、今後さらなる情報が得られると期待している。

2-1 シロイヌナズナ脱メチル化酵素の生殖細胞における発現解析

シロイヌナズナ *ROS1*, *DML2* 及び *DML3* 遺伝子の GFP マーカーラインの根端における観察から、根端では主に *ROS1* が発現しており、*DML2* 及び *DML3* は殆ど発現していないことが示唆された。現在、T1 植物を育成中であり、今後生殖細胞形成過程、生殖細胞、初期発生過程においてもこれらの遺伝子の発現パターンに違いが見られるか、それぞれの遺伝子の発現を詳細に観察する予定である。さらに、今後、4つの DNA 脱メチル化酵素の変異体の生殖過程における表現形の観察を行い、発現解析の結果と照らし合わせることで、DNA 脱メチル化酵素の生殖細胞での機能についてさらに考察できると考えている。

(謝辞)

本研究を行うにあたり、ウエスコ学術振興財団の学術研究助成の支援を頂き、深く感謝致します。

(参考文献)

(文献1)

HMG domain containing SSRP1 is required for DNA demethylation and genomic imprinting in Arabidopsis. Ikeda Y, Kinoshita Y, Susaki D, Ikeda Y, Iwano M, Takayama S, Higashiyama T, Kakutani T, Kinoshita T. Dev Cell. 2011, p589-96.

(文献2)

One-way control of FWA imprinting in Arabidopsis endosperm by DNA methylation. Kinoshita T, Miura A, Choi Y, Kinoshita Y, Cao X, Jacobsen SE, Fischer RL, Kakutani T. Science. 2004, p521-3.

(文献3)

Embryo and endosperm inherit distinct chromatin and transcriptional states from the female gametes in Arabidopsis. Pillot M, Baroux C, Vazquez MA, Autran D, Leblanc O, Vielle-Calzada JP, Grossniklaus U, Grimanelli D. Plant Cell. 2010 p307-20.

コムギ種子色を決定する *R-1* 遺伝子の種子休眠への遺伝子量的効果

岡山大学資源植物科学研究所  
(現 農研機構 東北農業研究センター)

氷見英子

コムギの種子色は R2R3 タイプの MYB 型転写制御因子である *R* 遺伝子によって制御され、*R* 遺伝子が優性の場合種子色が赤粒となる。コムギは A, B, D ゲノムを持つ異質 6 倍体でそれぞれのゲノムに *R* 遺伝子が座乗しており、計 3 つのうち 1 つでも優性であれば赤粒となる。経験的に種子の色が種子休眠に関係があるといわれており、赤粒種子は白粒種子に対して休眠が強いことが知られている。これまで *R* 遺伝子の数が休眠に関係し *R* 遺伝子の数が多くなるほど休眠が深くなるといわれている。しかしながらこの根拠となる実験では遺伝的背景の異なる複数の系統を比較していたため、*R* 遺伝子以外の要因が休眠に影響している可能性が考えられた。そこで本実験では A, B, D ゲノムそれぞれに単独の *R* 遺伝子を持ち遺伝的背景がほぼ同一な準同質遺伝子系統を用い、これらを交配することで *R* 遺伝子の数の異なる系統を育成した。さらに種子色以外に休眠に影響する遺伝子の影響を除去し、*R* 遺伝子のみの休眠への影響を調査した。その結果、*R* 遺伝子の劣性系統（白粒系統）に対して、優性の *R* 遺伝子を 1 つ持つ系統では休眠が強くなることが確かめられた。優性 *R* 遺伝子を 2 つ持つ系統の休眠は *R* 遺伝子が 1 つの系統と大差なく、*R* 遺伝子は 1 つでも優性であれば種子休眠に効果があることが明らかになった。

コムギは世界三大穀類の一つであり、世界の多くの国々で主食として用いられている重要な作物である。しかしながら近年の世界的な天候不順により、収穫前の降雨によって種子が穂についたまま発芽する「穂発芽」という現象が世界各地で頻発している。穂発芽種子は内部のデンプンが分解され、パンが膨らまないなど商品価値が著しく劣化する。このことから、穂発芽に強いコムギの育成が望まれてきている。

経験的に種子の色が休眠に関係があることが知られており、種皮にプロアントシアニジン（縮合タンニン）を蓄積した赤粒コムギは、色素量の少ない白粒コムギに比べて休眠が強く、穂発芽しにくいことが知られている。そのため収穫期と梅雨が重なりやすい日本では、赤粒品種が多く栽培されてきた。

種子色は肉眼で観察出来るため古くから遺伝形質として用いられており、コムギの種子色はメンデルの法則に従って遺伝すること、また赤粒が優性であることが 1905 年には報告されている。種子を決定する因子である *R* (Red) 遺伝子の存在が示唆され、また *R* 遺伝子が種子休眠に影響することは 1914 年に

発表されている。コムギは A, B, D ゲノムを持つ異質 6 倍体作物であり、ゲノムサイズが大きいこと（イネの約 40 倍）、コムギは基本的に一年に一度しか収穫出来ないこと、種子色は母型形質であるため  $F_3$  でようやく分離することから非常に時間がかかること、6 倍体であるため分離比を見るには非常に多くの個体数を観察する必要があるなど、コムギの遺伝実験はさまざまな困難があり、*R* 遺伝子が単離されたのは 21 世紀に入ってからである<sup>1)</sup>。

種子色を制御するこの *R* 遺伝子は、R2R3 タイプの MYB 系の転写制御因子であり、種子のみで発現し、プロアントシアニジン生合成に関わる酵素遺伝子群の発現を制御している。A, B, D ゲノムそれぞれの *R* 遺伝子同士は類似性が高く、どれか一つでも優性であれば赤粒となる。しかしこれらの配列は完全に一致はしていないため、それぞれの異なる領域を用いることで、それぞれの *R* 遺伝子のみを検出出来るマーカーがすでに開発されている<sup>1,2)</sup>。

種子色が休眠に関係があると同時に、*R* 遺伝子の数もまた休眠に関係があり、*R* 遺伝子の数が多いほど休眠が強いと言われてきた。しかしながらこれら

の実験で用いられている系統は遺伝的背景が異なり、単純に比較が出来ない。そこで本実験では Novosibirskaya67 という系統を元に、*R* 遺伝子を A, B, D ゲノムにそれぞれ1つずつ持つ準同質遺伝子系統 ANK-1D, ANK-1B, ANK-1C を用いてこれらを交配することで、遺伝的背景をそろえて *R* 遺伝子の数のみ異なる系統間での休眠を調査した (表 1)。

表 1. 用いた系統と遺伝子型

系統名	<i>R</i> 遺伝子型 *1	<i>Vp-1B</i> 型
Novosibirskaya67	<i>r1r2r3</i>	<i>Vp-1Ba</i>
ANK-1C	<i>R1r2r3</i>	<i>Vp-1Ba</i>
ANK-1D	<i>r1R2r3</i>	<i>Vp-1Ba</i>
ANK-1B	<i>r1r2R3</i>	<i>Vp-1Bc</i>
AB	<i>r1R2R3</i>	<i>Vp-1Ba</i>
AD	<i>R1R2r3</i>	<i>Vp-1Ba</i>
BD	<i>R1r2R3</i>	<i>Vp-1Ba</i>

\*1) *R* 遺伝子は現在 *R-A1/R-B1/R-D1* と表記するが、煩雑になるためここでは旧表記方法を用いた

種子休眠は複合形質であり、種子色以外にも植物ホルモンの一種であるアブシジン酸(ABA)への感受性などさまざまな要因が関与している。近年単離された *Vp-1* (*Viviparous1*) 遺伝子もまた休眠に強い影響を与えることが調べられており、特に B ゲノム上の *Vp-1B* 遺伝子が重要な役割を持っていることが明らかにされている。休眠の異なる複数の系統を調査した結果、*Vp-1B* 遺伝子には複数のタイプ (現時点では3種類) があり、それぞれのタイプによって休眠が異なることが知られている。

*Vp-1* 遺伝子は *R* 遺伝子の近傍に座乗するため連鎖しやすく、本実験で用いた ANK-1B は Novosibirskaya67 の *Vp-1B* 遺伝子型とは異なるタイプを有していた。そこで準同質遺伝子系統同士を交配した際に、*Vp-1* 遺伝子マーカーを用いて Novosibirskaya67 タイプの系統を選抜した (図 1)。

さらに、*R* 遺伝子のマーカーを用いて *R* 遺伝子型を調査し、A, B ゲノムの *R* 遺伝子が優性の系統(AB)、A, D ゲノムの *R* 遺伝子が優性の系統 (AD)、B, D ゲノムの *R* 遺伝子が優性の系統 (BD)を選抜した。

選抜した系統は岡山大学資源植物科学研究所圃場で栽培した。開花した日に穂にラベルをつけ、開花後 25, 30, 35 日目の穂を採取した。穂の上部・下部を除く中間部分の第一小花および第二小花の種子のみを 9cm シャーレに置床し、6mL の脱塩水を入れ、15°Cのインキュベーターに入れ、24 時間おきに 7 日間まで、発芽種子数を計測した。

種子の「発芽しやすさ」を表す Germination Index は以下のように計算した。

$$(1 \text{ 日目の発芽種子数} \times 7 + 2 \text{ 日目の発芽種子数} \times 6 + \dots + 7 \text{ 日目の発芽種子数} \times 1) / (\text{用いた種子数} \times 7) \times 100$$

その結果、*R* 遺伝子を 1 つも持たない白粒系統 (*r1r2r3*) に対し、A, B, D ゲノムに *R* 遺伝子がそれぞれ1つずつある系統 (*R1r2r3*, *r1R2r3*, *r1r2R3*) では開花後 25, 30, 35 日目いずれの種子においても発芽しにくく、つまり休眠性が高くなっていることが明らかになった (図 2)。さらに、*R* 遺伝子が 2 つずつある系統 (*R1R2r3*, *R1r2R3*, *r1R2R3*) では *R* 遺伝子が 1 つの系統とあまり差がなく、優性の *R* 遺伝子は 1 つで休眠に強い影響を及ぼすことが明らかになった。

しかしながら今回の実験ではそれぞれの *R* 遺伝子型で 1 系統しか用いておらず、個体差による休眠の違いも考慮する必要がある。さらに今回は発芽調査を 15°C という厳しい条件で行っており、休眠のわずかな差が反映されていない可能性も考えられる。また優性の *R* 遺伝子が 3 つそろった場合にも休眠に影響が出るのかなど、今後さらなる実験が必要であると考えられる。

本研究を行うにあたりまして、岡山大学資源植物科学研究所の森泉准教授、および松浦恭和技術職員には実験のアドバイスやお手伝いを頂きました。また本研究は財団法人ウエスコ学術振興財団からご支援を賜りました。心よりお礼を申し上げます。

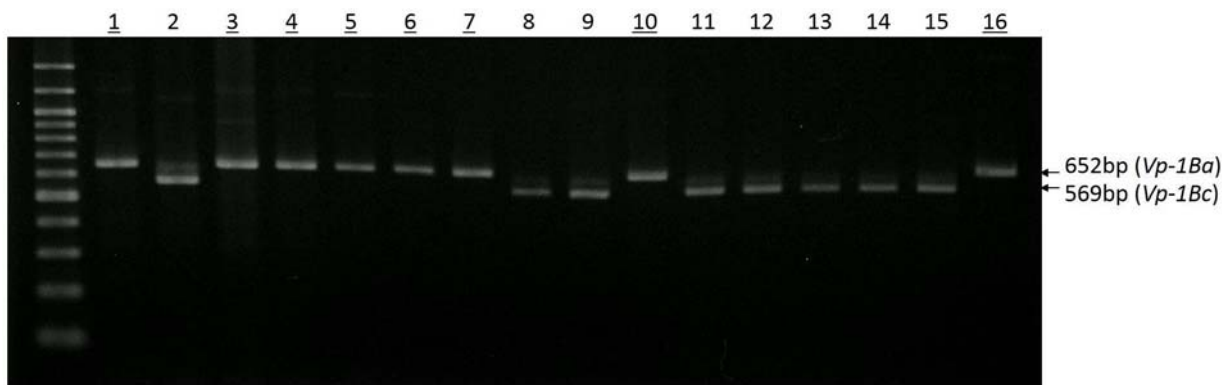


図1. Vp-1Bマーカーを用いたPCR。レーン1がNovosibirskaya67,レーン2がANK-1Bである。準同質遺伝子系統同士を交配して得られた種子を展開し、それぞれのDNAを用いてPCRを行い、Novosibirskaya67と同じタイプ(数字に下線のあるもの)を選抜した。

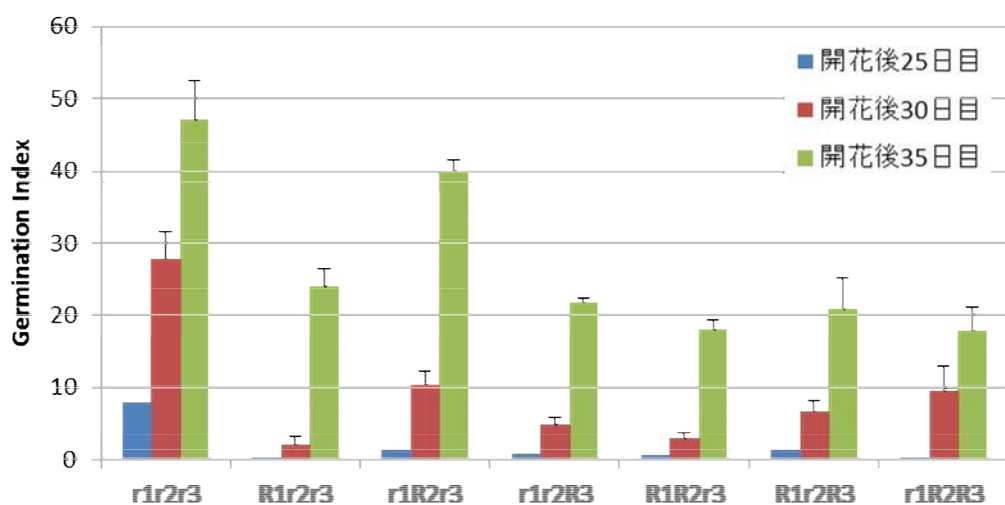


図2. R遺伝子型の異なる系統の開花後25, 30, 35日目の種子休眠。グラフの縦軸のGermination Indexは「発芽しやすさ」を示し、高いほど発芽しやすい。

参考文献

- 1) Himi E, Maekawa M, Miura H, Noda K.  
Development of PCR markers for Tamyb10 related to R-1, red grain color gene in wheat.  
Theor Appl Genet. (2011), 122(8):1561-1576.
- 2) Himi E, Maekawa M, Matsuura T, Taketa S.  
Real-time PCR-mediated diagnosis of hemizyosity at the Tamyb10-D1 locus controlling grain color in wheat  
Molecular Breeding (2015), 35:90.



## 小型半導体チップ型センサーによる土中水分量の計測手法の開発

岡山大学廃棄物マネジメント研究センター

小松 満

近年これまでの観測史上を上回る降雨強度が各地で記録されており、豪雨による土砂災害での被害は年々大きな問題となっている。現在、土砂災害の危険度を周知する方法としては、土壌雨量指数等が用いられているが、あくまで広域なエリアを対象としている。一方、個別の斜面に適用する手法としては、変動量や地下水位等を計測する手法があるが、急激に発生する現象には対応できない可能性がある。その他の計測項目には地盤のサクションがあるが、構造的なメンテナンスの必要性や地盤に封入された間隙空気の影響等の問題がある。これらの現状を鑑み、本研究では土中水分量に着目した上で、新しいタイプのセンサーを用いて対象斜面や堤防法面に対する崩壊予知システムの開発につなげる基礎的な研究を実施した。具体的には、これまで頻繁に用いられてきた誘電率を測定する方法よりも低い周波数帯を採用することで、安価で長期間稼動するメンテナンスフリーのセンサー開発を目指し、現場採取土による室内での校正試験と自然斜面および堤防における現場実証実験を実施した。

## 1. 小型半導体チップ型センサーの適用評価

## (1) センサーの仕様

本研究で用いたセンサーは二川ら<sup>1)</sup>によって開発された小型半導体チップ型センサーである。10kHzと比較的低い周波数を使うため、土中水分量の変化に対する電気抵抗成分が支配的となるが、センサー部分の消費電力の低減が期待でき、計測回路が小型化できるなどのメリットがあることが特徴として挙げられる。計測対象物の土壌や溶液に電圧を印加する電極には、耐腐食性で他の物質と結合しづらい白金を用いており、2つの電極が作る空間に電圧を印加し流れる電流を計測している。ここで、白金電極は液体と接触した場合に電気二重層ができ、直流電圧印加ができない。そのため、10kHzの正弦波で駆動させることで電気二重層の影響なく計測ができるようになっている。また、このセンサーの計測データは不破ら<sup>2)</sup>が開発した無線Ad-Hocネットワークに組み込むことができる。そのため、電力や通信の有線インフラからの自立と通信機器の一部が機能不全に陥っても残った機器で通信が維持できることから、大規模な災害が発生しても稼働し続ける通信インフラが構築できる利点がある。

## (2) センサーの校正

現場採取試料に対して吸引法を用いて段階的に水

分量を調整して各センサーの測定値を記録した。試験装置の概略図を図-1に示す。直径10cm、高さ10cmの亚克力製カラムの底に飽和させたナイロンフィルターを取り付けるとともに、カラムの中心にADR水分計及び小型半導体チップ型センサーを設置した。

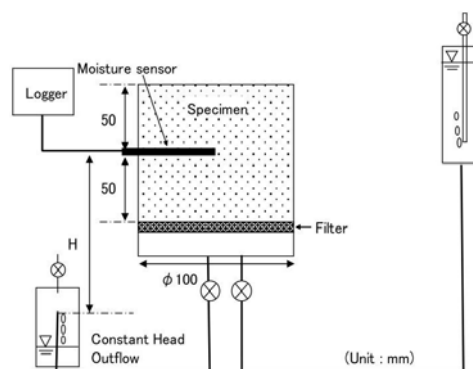
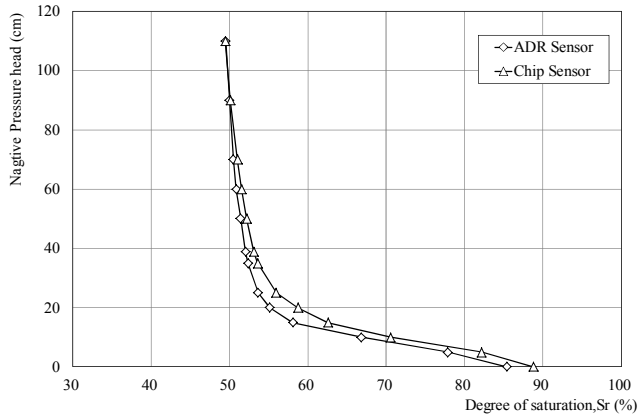


図-1 保水性試験(吸引法)装置概略図

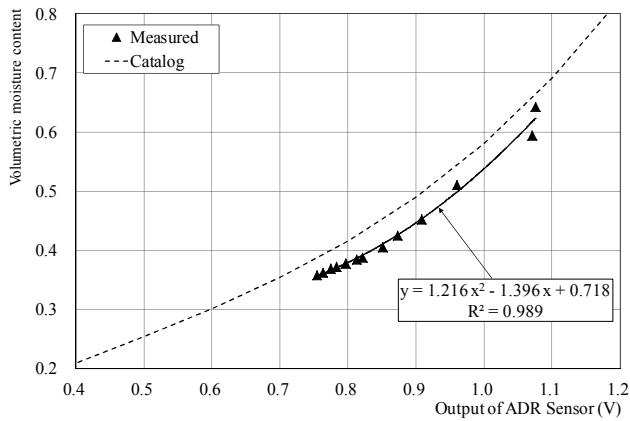
斜面現場から採取した含水比状態で締め固めて再構成した供試体に下部から注水することにより飽和度を高めた。注水後は、いずれも約90%程度の飽和度となった。試験方法は、最初に排水タンクを供試体中央高さになるように配置した後、排水タンクとの高さを段階的に増加させて供試体内に負圧を発生させる方式で行い、排水量の経時変化を測定するとともに、排水量に有意な差が見られなくなった時点で各

センサーの計測値を記録した。

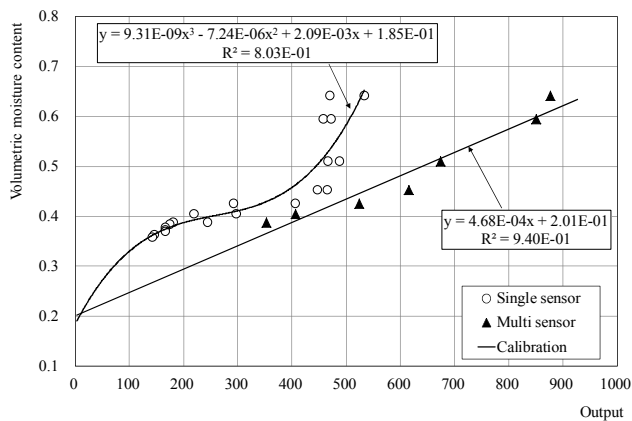
試験結果を図-2に示す。ADR水分計は多項式近似により、チップ型センサーは、センサー単体とセンサー間に分けて校正式を作成した。センサー本体の体積含水率は約0.7(各試料の飽和度で約90%程度)以下の領域でほぼ直線的に分布しているため、校正式は線形近似により求め、図中に記載した。センサー間については、多項式近似で求めた。



(a) 水頭差と飽和度の関係



(b) ADR水分計



(c) 小型半導体チップ型センサー

図-2 センサー校正試験結果

これらの結果から、センサー間でのデータは水分量の変化に対して同様の挙動を示したが、単体としてのチップ型センサーの出力値は飽和度80%以上では変化が見られなかった。これは単体のセンサーでは、計測範囲が狭いため、高い水分量の変化を捉えることができないためであると判断した。

(3) パイピング発生に関する検討

次に堤防内での水分挙動の変化とともに浸透破壊時における間隙率の変化を捉えることを目的に鉛直一次元浸透破壊実験によるボイリング発生時のセンサー挙動について検討した。試料には豊浦砂を用い、図-3に示すように、単体のチップ型センサーと従来型の静電容量センサーを用い、段階的に動水勾配を上げた際のセンサーの経時変化を記録した。その試験として、静電容量センサーの値が急激に上昇する挙動が確認できた (Case1)。つまり、地盤の間隙率の上昇による変化を捉えた結果であるが、供試体の一部でのみボイリングが起きたため計測範囲の狭いチップ型センサーには変化が現れなかった。

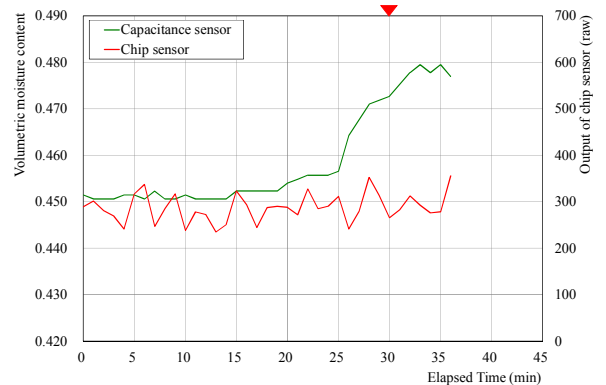
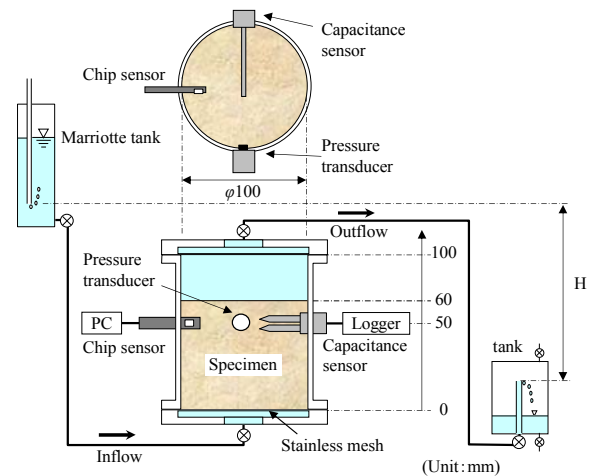


図-3 鉛直一次元浸透破壊実験 (Case1)

そこで、図-4のように2つのチップ型センサーを用い、センサー間での測定を試みた結果、急激に値が上昇する挙動を示したことから、その有用性を確認することができた (Case2)。

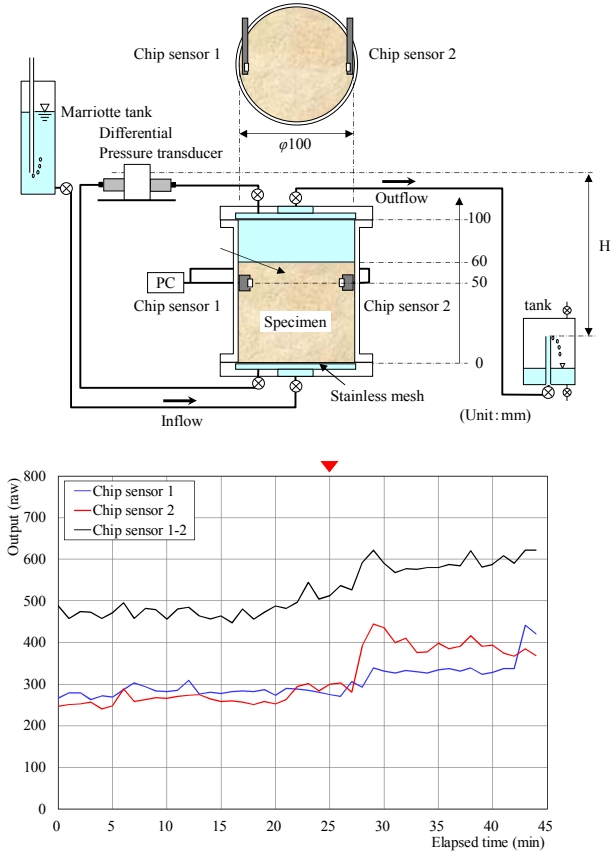


図-4 鉛直一次元浸透破壊実験 (Case2)

次に、図-5に示すように断面二次元土槽実験によって法尻付近の間隙率の変化を捉えることを試みた。試料は鉛直一次元実験と同じ豊浦砂であり、土槽は幅93cm×高さ90cm×奥行12cmの亚克力製で、定水位タンクから碎石層により一定水位で通水させる構造となっている。堤体内の浸透流解析結果に基づき、法肩から法尻までをモデル化した構造とし、表面を不透水境界とした。チップ型センサは表面の不透水境界の外側の基盤層に該当する部分に土槽の外側からセンサチップよりも若干大きい孔を設け、内部の水が漏れないように、亚克力表面にエポキシ製の接着剤を用いて貼りつけた。また、流出側は一定水位で排水できる構造とした。

試験結果を図-4に示す。Case1では鉛直一次元実験と同様にパイピングが一部で発生したため、個々

のセンサーとセンサー間のいずれとも有効な変化が得られなかった。特に土槽外側にセンサーを配置したことで計測方向の指向性を伴ったため、センサー間での計測範囲が狭くなったことが推察された。そこで、単体のセンサーをパイピングが発生した箇所を設置して再度試験を実施したところ (Case2)、急激にセンサーの値が上昇する現象が見られた。結果として、浸透破壊現象のモニタリング手法として最適なセンサ配置が必要であることが判明した。

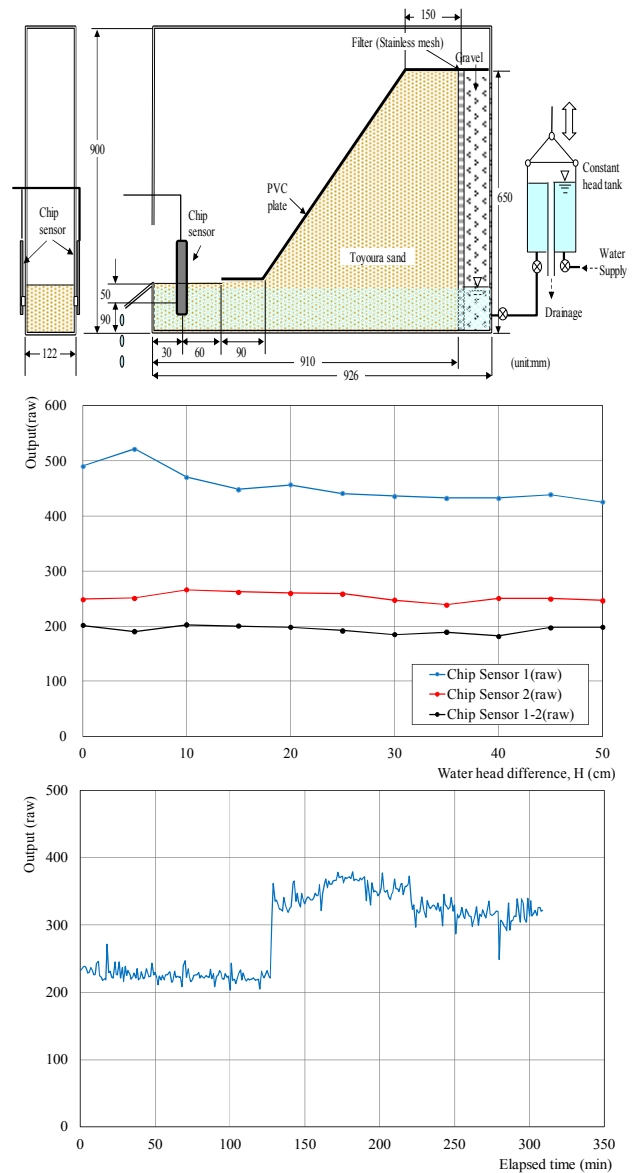


図-5 断面二次元土槽実験 (上図: Case1, 下図: Case2)

## 2. 自然斜面および堤防における現場実証実験

### (1) 岡山市内の河川堤防における現地計測

河川堤防の堤内地側の中腹地点において、表層か

らの降雨浸透挙動を評価するため、従来型の多点水分量センサーを設置した。図-6 に示す計測データ（1/7以降で途切れているのは、ロガーの不具合による欠損）から降雨による浸透量を算出した。算定方法としては、降雨開始直前の堤防内の土中水分量の分布からの増加量を面積で求め、その最大値を浸透量として算出した。また、12/4の降雨に対する計測結果を図-7 に示す。チップ型センサーの出力結果では、従来型との差異が認められたことから計測精度向上の課題が残った。

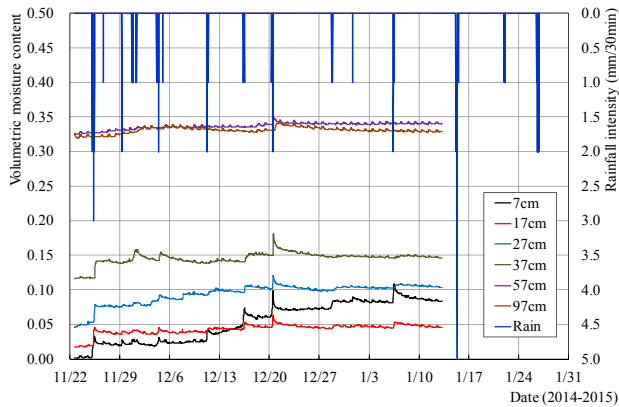


図-6 現地計測結果（上図：多点水分量センサーによる計測結果，下図：降雨浸透量算定結果）

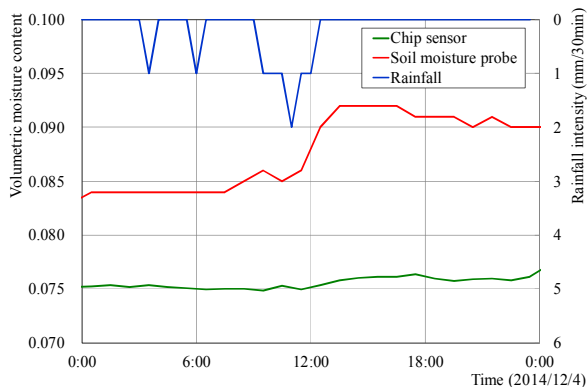


図-7 多点水分計とチップ型センサーの比較

(2) 塩尻市内の斜面における現地計測

図-8 に示す研究対象斜面現場で表層付近にセンサーを埋設して計測データの経時変化を記録した結果を図-9 に示す。小型半導体チップ型センサ（深度50cm）については従来型のADRセンサー（データが途切れているのは、ロガーの不具合による欠損）と同様に降雨後の出力値の上昇が見受けられた。しかし、一部では反応していないところもあり、大きなばらつきが見られた。

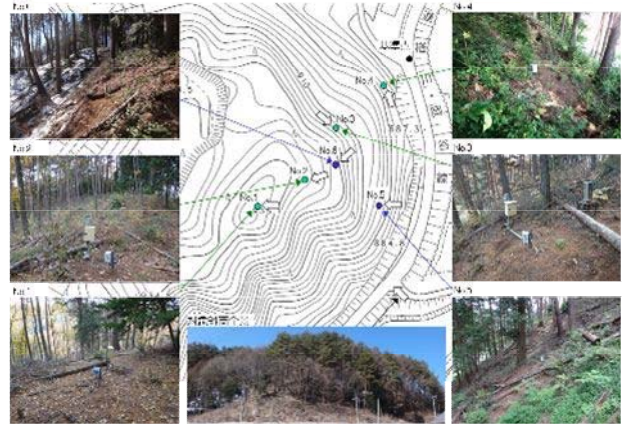


図-8 対象斜面現場と計測機器設置状況

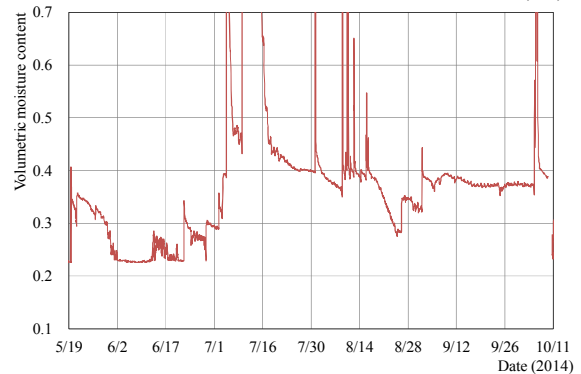
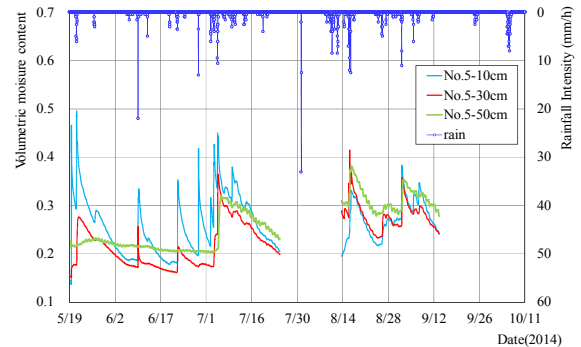
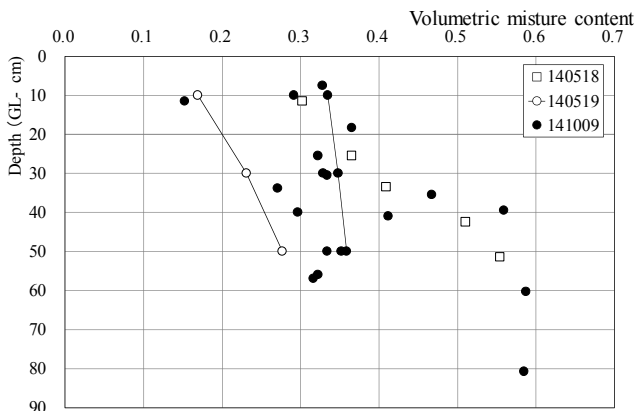


図-9 現地計測結果

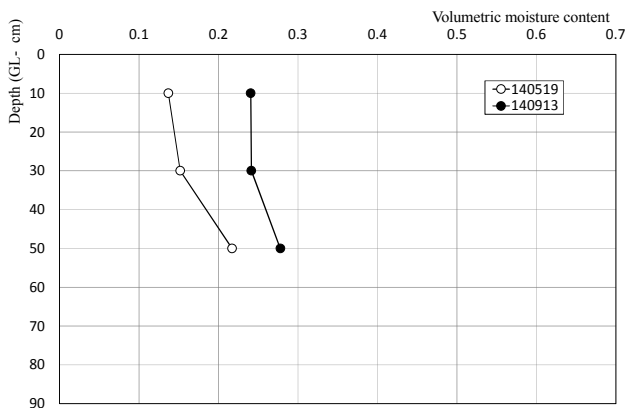
（上図：ADR，下図：チップ型センサー）

さらに、現地でのサンプリングを行い、現場計測精度の検証を行った結果を図-10 に示す。従来センサーでの測定結果はサンプリング結果よりも若干低

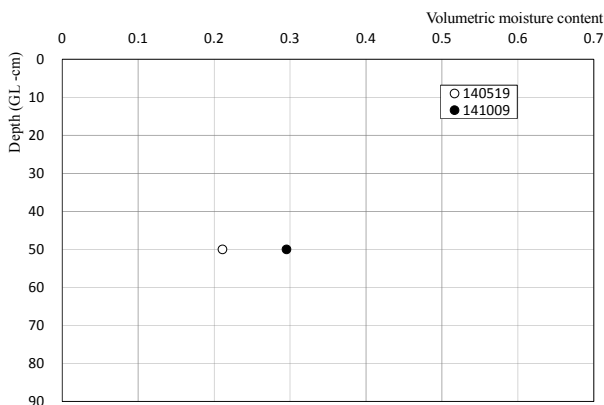
い結果となった。一方、チップ型センサーは、ADR水分計に近く、サンプリング結果よりも若干低くなった。



(a) センサー設置時と撤収時のサンプリング結果



(b) ADR水分計の設置時と撤収時の計測結果



(c) チップ型センサーの設置時と撤収時の計測結果  
図-10 サンプリングと各センサーの計測値の比較

### 3. まとめ

以下に本研究の実施内容についてまとめる。

1) 現場採取土によるチップ型センサーの校正を行った結果、センサー間でのデータは水分量の変化に

対して同様の挙動を示したが、単体としてのチップ型センサーの出力値は飽和度 80%以上では変化が見られなかった。これは単体のセンサーでは、計測範囲が狭いため、高い水分量の変化を捉えることができないためであると判断した。

2) 鉛直一次元浸透破壊実験によるボイリング発生時のセンサー挙動について、単体のチップ型センサーと静電容量センサーを用い、段階的に動水勾配を上げた際のセンサーの経時変化を記録した結果、静電容量センサの値が急激に上昇する挙動が確認できた。これは、地盤の間隙率の上昇による変化だと判断できるが、供試体の一部でのみボイリングが起きたために計測範囲の狭いセンサーでは測定できなかった。そこで、複数のチップ型センサーを用い、センサー間での測定を試みた結果、同様に急激に値が上昇する挙動を示したことから、その有用性を確認することができた。

3) 断面二次元土槽実験によって法尻付近の基盤層における間隙率の変化を捉えることを試みた結果、センサーの設置位置によって値が上昇する場合と変化しない場合が見られた。これは、実際の堤防での浸透破壊現象のモニタリング手法としては、最適なセンサ配置が必要であることを示唆している。

4) 岡山市内の河川堤防において降雨の浸透挙動を計測し原位置における土中水分量の変化について確認した結果、従来の多点水分量センサーの計測データから降雨量に近い浸透量が得られた。また、単体によるチップ型センサーの出力結果では、土中水分計とのある程度の相関が見られた。なお、現地採取した試料を基にセンサーの校正を行ったが、出力値を体積含水率に変換するだけの十分な測定結果を得ることはできなかった。

5) 自然斜面での現場計測データを評価した結果、小型半導体チップ型センサーは従来型の ADR 水分計と同様に降雨後の出力値の上昇が見受けられた。しかし、値が上昇する過程で大きなばらつきが見られたことから、校正データの再検証が必要である。

6) 現地でのサンプリングを行い、現場計測精度の検

証を行った結果、従来センサでの測定結果とサンプリング結果との間での一定の整合性を確認した。一方、チップ型センサーに対しては、単体の計測結果にサンプリング結果との整合性が見られたものの、計測データに大きなばらつきが認められた。

チップ型センサーによるセンサー間の測定は数メートル程度が可能であると考えられているが、今後の課題としては、具体的なセンサー間についての検証が挙げられる。また、センサー近傍では計測範囲が微小なため、高い水分量においては、その変化を捉えることが出来ない可能性がある。これは、センサー電極間の疎水性が影響していると考えられるため、今後はこの部分の改良が必要であることが明らかとなった。

#### 参考文献

- 1) Futagawa, M., T. Iwasaki, T. Noda, H. Takao, M. Ishida, and K. Sawada: Miniaturization of Electrical Conductivity Sensors for a Multimodal Smart Microchip, Japanese Journal of Applied Physics, Vol. 48, No. 04C184, pp. 1-4, 2009.
- 2) 不破泰:大規模災害時にも稼働する高耐障害性通信インフラとこのインフラを用いた地域見守りシステム, 日本信頼性学会誌, Vol. 34, No. 8, pp. 506-512, 2012.
- 3) 二川雅登, 小松満, 鈴木彦文, 竹下祐二, 不破泰, 澤田和明:小型ECセンサーを用いた斜面崩壊予測センサーの開発, 電気学会論文誌E (センサー・マイクロマシン部門誌), Vol. 133, No. 9, 2013.

## 自然薯のプロスタグランジン E<sub>2</sub> 合成系抑制による抗炎症・抗腫瘍効果

岡山県立大学保健福祉学部栄養学科

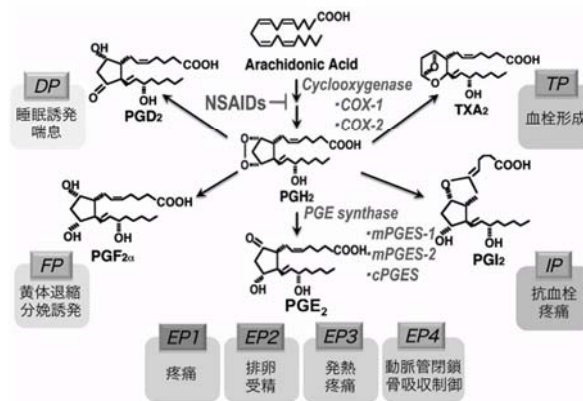
山本 登志子, 津嘉山 泉, 武田 泰典, 戸田 圭祐, 目賀 拓斗

脂質メディエーターのプロスタグランジン (PG)E<sub>2</sub> は、生体内において様々な恒常性の維持のみならず、慢性疾患の素因である炎症や、癌などの様々な病態誘発にも関与する。PGE<sub>2</sub> は、不飽和脂肪酸のアラキドン酸よりシクロオキシゲナーゼ (COX) と PGE 合成酵素 (PGES) によって生合成され、病態時には、それぞれのアイソザイムである COX-2 と mPGES-1 の発現が誘導されて過剰な PGE<sub>2</sub> が産生される。私達は、過剰な PGE<sub>2</sub> が惹起する病態の予防を目指して、PGE<sub>2</sub> 合成系をターゲットとした副作用の少ない食品機能性の探索に取り組んでいる。その中で、最近、自然薯が新規食品機能性として、COX-2 と mPGES-1 の発現抑制効果を有し、炎症や癌のモデル細胞ならびに動物において、PGE<sub>2</sub> 合成系抑制を伴う抗炎症・抗腫瘍効果を発揮することを明らかにした。

### 1. はじめに

脂質メディエーターとは、局所で一過的に産生され、近傍の細胞膜受容体に作用してシグナルを伝え、速やかに分解される脂溶性物質の総称である。その一つである PGE<sub>2</sub> は、炎症、発熱、痛覚伝達、癌、動脈硬化、神経変性疾患などの様々な病態に関与する。PGE<sub>2</sub> は、 $\omega$ 6 系不飽和脂肪酸のアラキドン酸より、COX によって代謝された PGH<sub>2</sub> を基質として、PGES によって生合成される。

COX には構成型の COX-1 と誘導型の COX-2 の 2 つのアイソザイムが存在し、PGES には膜結合型の mPGES-1 と mPGES-2、細胞質型の cPGES の 3 つのアイソザイムが存在する。病態時には、COX-2 と mPGES-1 が連関して発現が誘導されて、過剰な PGE<sub>2</sub> が産生される。PGE<sub>2</sub> の産生を抑える目的で、COX 阻害薬のアスピリンやインドメタシンをはじめとする非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) が広く臨床応用されており、炎症や発熱のみならず癌を抑えることも知られている。しかしながら、胃粘膜障害や心臓血管系障害などの重篤な副作用が報告されており、予防目的の長期服用は難しい。そこで私達は、これらの病態の予防を目指して、PGE<sub>2</sub> 合成系をターゲットとした副作用の少ない食品機能性の探索に取り組んできた。



プロスタグランジン合成経路

世界各国におけるヤマノイモに属する種は 600 種類以上あり、それらのうちの少なくとも 12 種類は、主食や強壯食として広く食されている (1)。ヤマノイモ科の植物は、喘息、リウマチ性関節炎、気管支炎、腸の攣縮、閉経後障害、月経障害の緩和、あるいは、抗酸化作用やアンチエイジングの効果を有することなどが報告されている (1-5)。我が国原産のヤマノイモ科に属する自然薯は、特有の粘りをもち、その粘性成分ムチンによる胃粘膜保護や含有するアミラーゼによる消化促進効果が知られている。古くから、滋養強壯や老化予防などの効果も期待されてきたが、これらについては、必ずしも科学的な報告がなされていない。本研究において、私達は、炎症や癌のモデル細胞ならびに動物を用いた実験を行い、COX-2 と mPGES-1 をターゲットとした自然薯の新規食品機

能性を探索した。

## 2. 実験材料・方法

### 2-1. 自然薯乾燥粉末

全ての実験で使用した自然薯の低温乾燥粉末は、皮を取り除き、天日干しで40℃以下の低温乾燥を行い、その後粉碎し、60メッシュでパウダー状にした試料である。

### 2-2. 細胞および動物

*in vitro* 実験には、癌モデルのヒト非小細胞肺癌A549細胞やヒト大腸癌Caco-2細胞と、炎症モデルのリポポリサッカライド(LPS)刺激マウスマクロファージRAW264細胞を用い、*in vivo* 実験には、17,12-dimethylbenz [a] anthracene (DMBA) と12-*O*-tetradecanoylphorbol 13-acetate (TPA)の塗布による化学物質誘導皮膚癌モデルマウスを用いた(6)。モデル細胞には、自然薯乾燥粉末の50%エタノール抽出物(DJE)を添加し、モデル動物には、DJEの塗布に加え、10%自然薯粉含有餌の自由摂食による投与を行った。

### 2-3. 定量RT-PCRによる遺伝子発現解析

細胞あるいはマウス皮膚よりtotal RNAを抽出し、High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA)を用いてcDNAを作製した。このcDNAを鋳型として各遺伝子に対する特異的プローブを用いて、SYBR green real-time PCRのComparative Ct法( $\Delta\Delta Ct$ 法)にて遺伝子の発現量を比較定量した。各遺伝子のmRNA発現量はグリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ(GAPDH)を内部標準とした相対値として算出した。

### 2-4. タンパク質発現と酵素活性測定

細胞ホモジネートの10,000xgの遠心分離より得られた上清を用いて、COX-2とmPGES-1のタンパク質発現動態をウエスタンブロットにより解析した。その解析には、rabbit anti-COX-2 antibody (Immuno-Biological Laboratories Co., Ltd., Gumma, Japan), rabbit anti-mPGES-1 antibody (Cayman Chemical Co. Ann Arbor, MI)と内部標準の解析としてrabbit anti  $\beta$ -actin antibody (Cell Signaling Technology,

Boston, MA)の抗体を使用した。また、同じ上清を用いてCOX-2の酵素活性を測定した。酵素反応は、25 $\mu$ Mのリノレイン酸を基質として、その反応生成物の9-hydroxyoctadecadienoic acids (9-HODE)と3-HODEを逆相液体クロマトグラフィーで分析した(8)。

### 2-5. 免疫組織化学

培養細胞あるいはマウス皮膚を4%パラホルムアルデヒドで固定し、皮膚組織はその後パラフィン切片を作製してその後の解析を行った(9)。培養細胞では、COX-2の転写因子であるNF- $\kappa$ B抗体(Cell Signaling Technology)を用いて細胞内局在を解析し、皮膚組織においては、先述のCOX-2とmPGES-1抗体で解析した。

### 2-6. COX-2プロモーターアッセイ

COX-2プロモーター領域とCypridina luciferase (Cluc)遺伝子を有するCOX-2/Cluc plasmid(10)をA549細胞あるいはRAW264細胞に導入し、分泌型ルシフェラーゼの酵素活性をルミノメーターで測定した。酵素反応にはBioLux™ Cypridina Luciferase Assay Kit (New England BioLabs Inc., Ipswich, MA)を用いた。

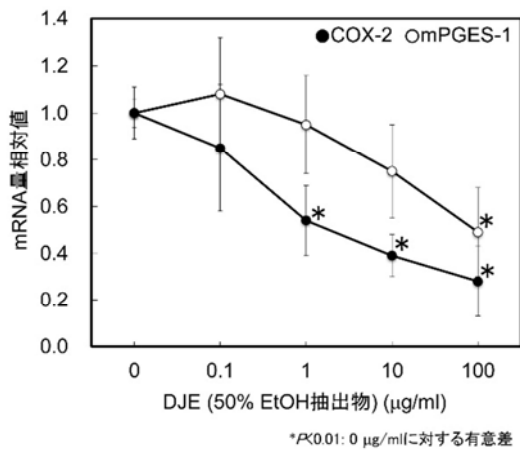
### 2-7. *in situ* アポトーシス検出TUNELアッセイ

細胞のアポトーシス検出のために、細胞内DNA断片化をterminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL)法により解析した。TUNEL染色にはPeroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit (EMD Millipore, Billerica, MA)を用いて、光学顕微鏡にて陽性細胞を観察した。

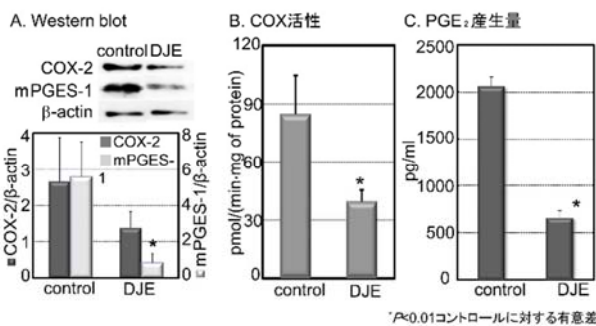
## 3. 結果

COX-2とmPGES-1を恒常的に強く発現している肺癌モデル細胞のヒト非小細胞肺癌A549細胞に、自然薯乾燥粉末の50%エタノール抽出物(DJE)を添加してPGE<sub>2</sub>合成系におよぼす影響を解析した(7)。DJEを各濃度で添加し、COX-2とmPGES-1のmRNA発現量を定量PCR法にて解析したところ、両酵素のmRNA発現量はいずれもDJE濃度依存的に抑制された。特に、100 $\mu$ g/mlでDJE添加によって最も効果が高かったため、以降の実験にはこの濃度を用いることとした。加えて、COX-2とmPGES-1のタンパク質発現レベルでの効果を





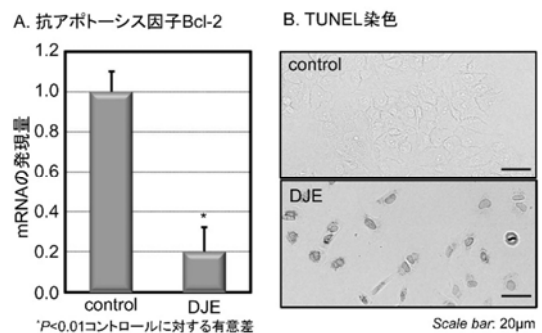
A549細胞におけるDJEのCOX-2とmPGES-1発現抑制



A549細胞でのウェスタンブロット、COX活性、PGE<sub>2</sub>産生量の解析

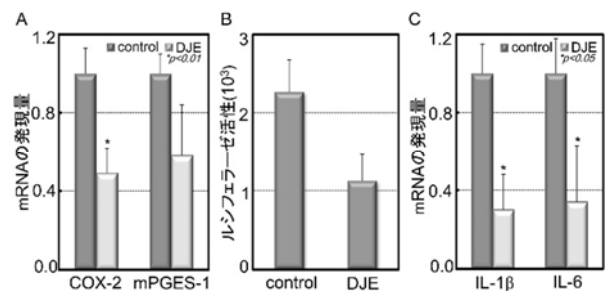
確認するために、ウェスタンブロット法によって両酵素タンパク質の発現を観察したところ、DJE添加によっていずれの酵素のタンパク質量も有意な減少が認められた。さらに、COX活性や代謝産物のPGE<sub>2</sub>量もDJEによって有意な減少が認められた。DJE添加によるCOX-2とmPGES-1の発現抑制効果は、A549細胞のみならず、ヒト大腸癌モデルCaco-2細胞でも、程度はやや弱いものの同じような効果が認められた。A549細胞におけるCOX-2の発現抑制効果について、その転写レベルでの制御を解析するために、COX-2の転写因子の一つであるNF-κBの細胞内局在を、細胞免疫染色法により観察した。COX-2の発現が高いA549のコントロール細胞においては、NF-κBは核に局在しているが、DJE添加によって細胞質へトランスロケーションしていることがわかった。さらに、COX-2の転写活性を測定するために、ルシフェラーゼをレポーター遺伝子とするプロモーターアッセイをおこなったところ、TPA刺激によって誘導されるCOX-2の転写活性

は、DJE添加によって抑制された。次に、このようなPGE<sub>2</sub>合成系酵素の発現抑制が癌細胞A549のアポトーシス誘導におよぼす影響について解析した。DJEは抗アポトーシス因子Bcl-2のmRNA発現を有意に抑制し、さらに、*in situ* アポトーシス検出TUNELアッセイにおいて、TUNEL陽性細胞の増加が観察された。以上のことから、DJE添加によって、肺癌細胞におけるCOX-2とmPGES-1の発現が抑制され、少なくともCOX-2についてはその効果が転写制御を伴うことが明らかとなった。さらに、DJE添加は、癌細胞をアポトーシスへ導くことが示された。



抗アポトーシス因子Bcl-2の発現抑制とTUNEL陽性細胞の増加

次に、DJEの効果を炎症モデルLPS刺激RAW264細胞において解析した。図6に示すように、LPS刺激RAW264細胞においても、DJEはCOX-2とmPGES-1の発現を抑制した。また、A549細胞と同様に、COX-2の発現は転写レベルで制御されていることを確認した。さらに、DJEは、炎症性サイトカインのIL-1βとIL-6の発現を有意に抑制し、抗炎症効果を有することが示唆された。



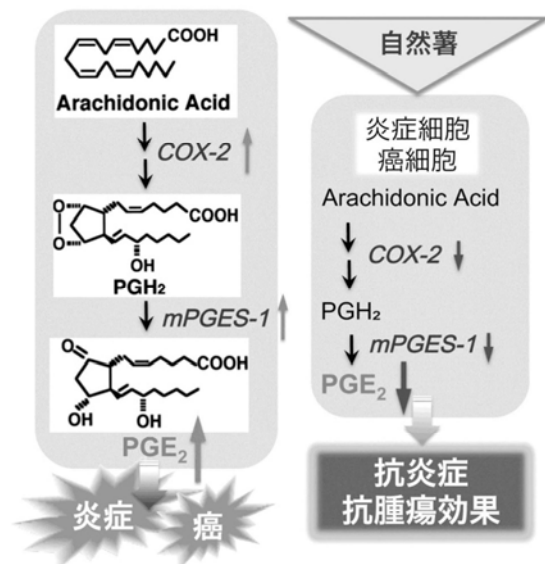
PGE<sub>2</sub>合成系酵素の発現抑制、COX-2転写活性の低下と炎症性サイトカインの発現抑制効果

そこで、このような自然薯の効果を *in vivo* で評価するために、DMBAとTPAの二段階化学物質誘導皮膚癌モデルマウスを用いて実験を行った。正常と皮膚癌誘導マウスに加え、自然薯投与群として、10%自然薯粉含有餌の自由摂食群とDJE塗布群を作製した。皮膚ポリープ形成について観察したところ、その数においては正常を除く各群間に有意な差は認められなかったが、ポリープ体積は、癌誘導コントロール群に比べて自然薯食群とDJE塗布群において有意な減少が認められた。特に、癌誘導コントロール群で見られるような大きいサイズのポリープは観察されなかった。さらに、いずれの自然薯投与群でも、皮膚のCOX-2とmPGES-1の発現が抑制され、加えて、IL-1 $\beta$ とIL-6の発現も抑制された。また、脂質メタボローム解析を行ったところ、癌誘導によって上昇するPGE<sub>2</sub>量が自然薯投与によって減少することが認められた。次に、各群から組織標本を作製し、詳細な病理組織解析と免疫組織化学解析を行った。病理組織解析においては、皮膚癌誘導によって、癌細胞による表皮の肥厚が自然薯投与によって減少していることが観察された。また、自然薯投与によって癌組織周辺への炎症性細胞の浸潤が減少した。この炎症細胞の浸潤の程度を数値化するために、好中球のマーカーであるLy6G抗体を用いた蛍光免疫染色を行い、1mm<sup>3</sup>の体積における陽性細胞数を計測したところ、正常マウスではほとんど認められない陽性細胞が、癌誘導コントロールマウスでは数百個/mm<sup>3</sup>観察され、自然薯投与群では約半分に減少した。次に、COX-2とmPGES-1の発現細胞を、特異的抗体を用いて免疫組織化学的に解析したところ、COX-2の発現は、増殖した癌細胞のみならず、表皮樹状細胞のランゲルハンス細胞に強く観察され、自然薯処理により、これらの細胞における陽性強度の低下が認められた。一方、mPGES-1の発現は癌細胞で観察されたが、ランゲルハンス細胞では特に強い発現は認められなかった。

#### 4. 考察

以上の結果より、癌や炎症のモデルを用いた *in vivo* と *in vitro* の評価系の両方で、自然薯はPGE<sub>2</sub>合成系抑制を伴う抗炎症・抗腫瘍効果を有することが

明らかとなった。これまでに、天然物由来のCOX-2発現抑制効果を有するものとして、赤ワインなどに多く含まれるレスベラトロール (11) やビールホップに含まれるフムロン (12)、プロポリスにふくまれるクリシン (13) などのいくつかの物質が報告されている。しかしながら、mPGES-1の発現抑制物質については、クルクミン(14)やスルホラファン (15) などのわずかな報告だけである。また、これらの報告については、*in vivo*での検証結果は示されていない。今回、私達が明らかにした自然薯の効果は、COX-2とmPGES-1の両方に対して認められ、さらに、その効果がモデルマウスにおいても確認され、抗炎症・抗腫瘍効果が示されたことは意義深い。



#### 自然薯によるPGE<sub>2</sub>合成系酵素の発現抑制を伴う抗炎症・抗腫瘍効果

本研究においては、自然薯あるいは自然薯の粗抽出物の食品機能性を明らかにすることができたが、次に、このような機能を有する成分を同定し、その作用機序を解明することが必要である。そこで、現在、機能性成分の同定に取り組んでいるところであるが、その一つの候補物質として自然薯に多く含まれる植物ステロールのディオスゲニンが想定された。そこで、ディオスゲニンについても同様の解析をおこなったが、COX-2に対してはDJEよりも弱い効果しか認められず、mPGES-1に対しては有意な効果は認め

られなかった (7)。したがって、現在確認されている効果は、ディオスゲニンも含めた複数の機能性成分による統合的な現象と考えられ、現在、COX-2やmPGES-1の抑制効果を有する機能性成分について、さらに単離同定をすすめているところである。今回、私達が示した研究結果において、自然薯粉含有餌の経口摂取によっても効果が十分に認められたことは、自然薯の機能性食品としての有用性が強く期待されるものである。今後は、このような高機能性を有する自然薯を用いた加工食品への応用も検討中である。

## 5. 参考文献

- (1) Liu SY, Chang TW, Lin YK, Chen SF, Wang JY, Zu GL, Wang SC. Studies on the varietal characters, production potential, phytochemical properties, and antioxidant effect of *Dioscorea* spp. *J. Agri. Res.* 8, 1-22 (1999)
- (2) Dentali S. Clearing up confusion over yams and progesterone. *Altern Ther Health M.* 2, 19-20 (1996)
- (3) Taffe AM, Cauffield J. "Natural" hormone replacement therapy and dietary supplements used in the treatment of menopausal symptoms. *Lippincott's Prim Care Pract.* 2, 292-302 (1998)
- (4) Kwon CS, Sohn HY, Kim SH, Hyun J, Son KH, Lee JS, Lim JK, Kim JS. Anti-obesity Effect of *Dioscorea nipponica* Makino with Lipase inhibitory Activity in Rodents. *Biosci Biotechnol. Biochem.* 67(7), 1451-1456 (2003)
- (5) Chen H, Wang C, Chang C, Wang T. Effects of Taiwanese yam (*Dioscorea japonica* Thunb var. *pseudojaponica* Yamamoto) on upper gut function and lipid metabolism in Balb/c mice. *Nutrition.* 19(7-8), 646-51 (2003)
- (6) Modi BG, Neustadter J, Binda E, Lewis J, Filler RB, Roberts SJ, Kwong BY, Reddy S, Overton JD, Galan A, Tigelaar R, Cai L, Fu P, Shlomchik M, Kaplan DH, Hayday A, Girardi M. Langerhans cells facilitate epithelial DNA damage and squamous cell carcinoma. *Science.* 335(6064), 104-108 (2012)
- (7) Suzuki-Yamamoto T, Tanaka S, Tsukayama I, Takafuji M, Hanada T, Arakawa T, Kawakami Y, Kimoto M, Takahashi Y. *Dioscorea japonica* extract down-regulates prostaglandin E<sub>2</sub> synthetic pathway and induces apoptosis in lung cancer cells. *J. Clin. Biol. Nutri.* 55(3), 162-167 (2014)
- (8) Kawakami Y, Nakamura T, Hosokawa T, Suzuki-Yamamoto T, Yamashita H, Kimoto M, Tsuji H, Yoshida H, Hada T, and Takahashi Y. Antiproliferative activity of guava leaf extract via inhibition of prostaglandin endoperoxide H synthase isoforms. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids.* 80(5-6), 239-45 (2009)
- (9) Suzuki-Yamamoto T, Toida K, Sugimoto Y, and Ishimura K. Colocalization of prostaglandin F<sub>2α</sub> receptor FP and prostaglandin F synthase-I in the spinal cord. *J. Lipid Res.* 50, 1996-2003 (2009)
- (10) Arakawa T, Ohta T, Abiko Y, Okayama M, Mizoguchi I, Takuma. A polymerase chain reaction-based method for constructing a linear vector with site-specific DNA methylation. *Anal. Biochem.* 416, 211-217 (2011)
- (11) Subbaramaiah K, Chung WJ, Michaluart P, Telang N, Tanabe T, Inoue H, Jang M, Pezzuto JM, Dannenberg AJ. Resveratrol inhibits cyclooxygenase-2 transcription and activity in phorbol ester-treated human mammary epithelial cells. *J. Biol. Chem.* 273(34), 21875-21882 (1998)
- (12) Yamamoto K, Wang J, Yamamoto S, Tobe H. Suppression of cyclooxygenase-2 gene transcription by humulon of beer hop extract

studied with reference to glucocorticoid.

*FEBS Lett.* 465, 103-106 (2000)

- (13) Ha SK, Moon E, Kim SY. Chrysin suppresses LPS-stimulated proinflammatory responses by blocking NF- $\kappa$ B and JNK activations in microglia cells. *Neurosci. Lett.* 485, 143-147 (2010)
- (14) Moon Y, Glasgow WC, Eling TE. Curcumin suppresses interleukin 1beta-mediated microsomal prostaglandin E synthase 1 by altering early growth response gene 1 and other signaling pathways. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 315(2), 788-795 (2005)
- (15) Zhou J, Joplin DG, Cross JV, Templeton DJ. Sulforaphane inhibits prostaglandin E<sub>2</sub> synthesis by suppressing microsomal prostaglandin E synthase 1. *PLoS One.* 7(11), e49744 (2012)

## 6. 謝辞

本研究を遂行するにあたり、研究助成を賜りました公益財団法人ウエスコ学術振興財団に深く感謝申し上げます。

# 食品素材や化粧品素材」としての「高機能化ポリフェノール誘導体」の環境に優しい「次世代型酵素的合成システム」の開発

岡山県立大学 保健福祉学部 栄養学科

中島 伸佳

## 1. はじめに

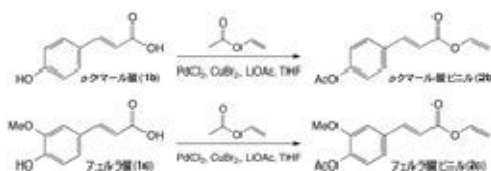
花の色の多彩さや美しさを担う天然植物色素はフラボノイドを基本骨格（アグリコン）とした配糖体構造を有し、さらに糖の特定の水酸基が位置特異的にアシル化を受けている場合が多く、このような化学構造的な修飾が植物色素の安定性や生理機能に深く関与しているといわれている。

天然植物色素は、それ自体が持つ抗酸化性などの生理機能から健康食品などとして注目される一方、それらの中には美白効果などを有する化合物も存在しており、化粧品素材や食品添加物などとしての利用や研究も試みられている。

そこで、本研究では、まず美白効果があるとされている植物性成分のひとつであるアルブチンに各種の芳香族酸を導入したアシル化アルブチンを酵素的に合成（リパーゼのエステル交換反応を利用）し、高機能で新規な食品素材や化粧品素材などを開発することを目的とした。

## 2. アシルドナーの合成

リパーゼ触媒によるトランスアシル化には、通常、芳香族酸ビニルがアシルドナーとして必要である。しかし、桂皮酸ビニル(3a)以外は市販されていないので以下のように化学的に合成した。

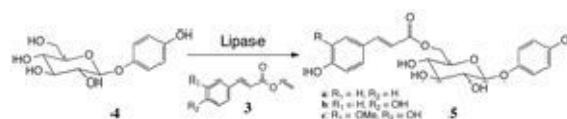


次に、フェノール性水酸基のアセチル基を脱保護するために、EtOH 存在下でのリパーゼによる位置選択的な脱保護を行った。

Table 1. Enzymatic Regioselective Alcholsis of 2b, 2c in EtOH

Lipase	2b		2c	
	3b (%)	1b (%)	3c (%)	1c (%)
Amano-A	55	11	43	21
Amano-AY	46	14	50	15
Amano-F	43	9	39	22
Amano-M	32	15	41	18
Amano-PS	85	0	78	0
CAL-B	64	6	67	5

## 3. アシル化アルブチンの酵素合成



さらに、9種類のリパーゼを用いてアルブチンへの桂皮酸エステル化に関するスクリーニングを行った。その結果、酵素としてはCAL-B (Chirazyme L-2) が、溶媒は脱水していないアセトニトリルが最適で、2日後に最大変換率 (90%) を示した。同様に、アシルドナーとして p-クマール酸ビニル(3b)とフェルラ酸ビニル(3c)を用いた場合も、2日後に最大変換率 (5b: 85%, 5c: 70%) を示した。

現在、当該研究の平成27年度の「継続申請中」であるが、これらの酵素的アシル化誘導体の生理機能の解析を実施すると共に、ポリフェノール型天然植物色素配糖体（フラボノイド系色素やアントシアン系色素など）の酵素的アシル化による機能改変に始まる「新規な食品素材や化粧品素材の環境に優しい酵素的合成」などへの、さらなる応用・利用を検討中である。

## 上肢の運動制御における筋機能に着目した左右差に関する研究

岡山県立大学 情報工学部 人間情報工学科

大山 剛史

利き手と非利き手として知られる運動制御における左右差（ラテラリティ）とは、習熟度の違いではなく運動タスクに応じた機能の分業化であることが最近の研究によって明らかになってきている。本研究は上肢の姿勢固定タスクにおける上腕二頭筋と上腕三頭筋の共収縮における利き手と非利き手の違いについて調べた。表面筋電位と手先位置の変動に関する計測データを解析した結果、非利き手の方が利き手よりも上肢の二関節筋の共収縮が起こりやすく、このことが上肢の姿勢固定に有利にはたらくことが示唆された。

### 1. 背景

非利き手の方が良い性能を発揮できる運動タスクの一つとして姿勢の固定がある (Wang & Sainburg, 2007)。一方、姿勢の固定や外力への補償には上腕二頭筋、上腕三頭筋のような二関節筋が有効であるとの報告がある (van Bolhuis et al., 1998)。二関節筋は複数の関節に作用することから拮抗する筋同士を共収縮することで複数の関節を同時に固定できるため、姿勢の固定において効率的にはたらくことができる。

姿勢の固定に関する上肢の左右差と二関節筋の共収縮という異なる二つの観点を結び付けた研究は、少なくとも著者らが知る限りではこれまでのところ行われていない。姿勢の固定における非利き手の優位性が二関節筋の共収縮と関連があるならば、その様相を明らかにすることは運動制御における利き手と非利き手の違いの要因と、それによってもたらされる運動の性質の違いを知るための一つの手がかりとなり得る。本研究は上肢の姿勢固定における利き手と非利き手の違いについて、とりわけ二関節筋の共収縮について調査した。

### 2. 実験条件

**被験者** 実験の協力を得た、健康な 20 代の被験者 6 名が実験に参加した。すべての被験者はチャップマンの利き手テストによれば右利きと判定された。被験者らは実験の目的などについてなんらの事前の知識を持たなかった。

**実験手順** 被験者は直立した状態で、床面に対して上腕を垂直に、前腕を水平に、手の平を上向きにして直径約 2.5 cm の木製の棒を握った姿勢で待機するように指示された。

木製の棒には負荷として質量 1 kg のダンベルを紐で吊り下げており、吊り下げた状態から実験者がダンベルを約 33 cm 持ち上げて、落下させたときの被験者の上肢の運動を計測することを一試行とした。

被験者には口頭で「ダンベルの落下によって手先に負荷がかかるが可能な限り前腕を水平に保つ。また、負荷がかかる前の待機中では可能な限り腕の力を抜くこと」という指示が与えられた。

条件として、使用する腕（利き手・非利き手）×視覚の条件（視覚あり・視覚なし）の 4 条件が設定され、各条件につき 10 試行が行われた。また、解析に用いた 10 試行に先立って各条件につき 5 試行程度の練習が行われた。条件の順序は、利き手視覚あり→利き手視覚なし→非利き手視覚あり→非利き手視覚なし、に設定した。同条件の前半と後半で結果に差がなかったことから、タスクの順番による学習の影響は無視できると仮定した。

視覚なし条件では被験者はアイマスクを装着した。視覚の条件は、手先に負荷がかかるタイミングの視覚を用いた予測の影響を調べるために設定した。

**計測** 手先に負荷を与えたときの被験者の上腕二頭筋及び上腕三頭筋の活動を調べるために、表面筋電計（追坂電子機器社製）によって各筋の表面筋電位をサンプリング周波数 1000 Hz で計測した。

被験者が握っている木製の棒に三次元位置計測装置 (Flock of Birds, Ascension 社製) のセンサを取り付けて、被験者の手先位置をサンプリング周波数約 144 Hz で計測した。

**前処理** 解析に先立って、筋電位のデータには通過帯域 3-150 Hz のデジタルバンドパスフィルタを適用した後に、10 ms 幅で RMS(t) を求めた。更に、各試行につき最大値による除算を行い、データの大きさを 0~1 に正規化した。

手先位置のデータには遮断周波数 5 Hz のデジタルローパスフィルタを適用した。また、解析を容易にするために計測後にサンプリング周波数 100 Hz でリサンプリングした。

**評価** 正規化した筋電位のデータについて、筋が活動している期間にわたる上腕二頭筋のデータと上腕三頭筋のデータの積の和 IP を求めた。上腕二頭筋と上腕三頭筋が共収縮するならば二つの筋は同時に活性化していることから、筋電位データの積の和の値 IP の大きさを共収縮の尺度として評価した。

負荷を与えたときの手先位置の変動  $x_{disp}$  と、負荷が与えられて手先が下がり始めてから、手先が上がり始めるまでに要する時間を変動時間  $t_{disp}$  を姿勢固定に関する定量的データとして評価した。

### 3. 結果

#### (1) 筋電位データの積の和 IP

図 1 に条件ごとの平均及び標準誤差を示す。腕の左右×視覚の有無を要因とした分散分析は、視覚の有無の主効果 ( $p < 0.01$ )、腕の左右×視覚の有無の交互作用 ( $p < 0.05$ ) が有意であることを明らかにしたが、腕の左右の主効果 ( $p = 0.228$ ) は有意ではなかった。Tukey's HSD test による多重比較によれば、利き手視覚あり vs 利き手視覚なしの間に有意差 ( $p < 0.01$ ) があったが、非利き手視覚あり vs 非利き手視覚なしの間には有意差はなかった ( $p = 0.926$ )。視覚なし条件のみに限定してデータを解析したとき、t-検定は利き手と非利き手との間の有意差を明らかにした ( $p < 0.05$ )。

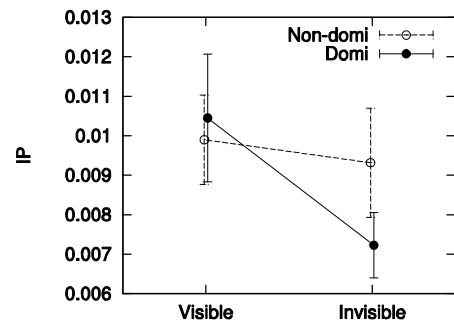


図 1 筋電位データの積の和 IP

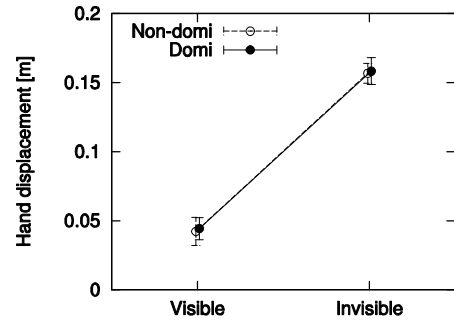


図 2 手先位置の変動  $x_{disp}$

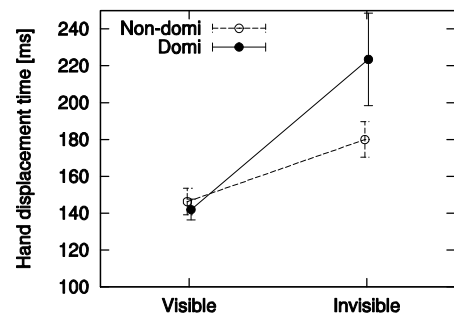


図 3 変動時間  $t_{disp}$

#### (2) 手先位置の変動 $x_{disp}$

図 2 に条件ごとの平均及び標準誤差を示す。腕の左右×視覚の有無を要因とした分散分析は、視覚の有無の主効果 ( $p < 0.001$ ) を明らかにしたが、腕の左右の主効果 ( $p = 0.682$ ) 及び腕の左右×視覚の有無の交互作用 ( $p = 0.957$ ) は有意ではなかった。Tukey's HSD test による多重比較によれば、利き手と非利き手のいずれでも視覚あり vs 視覚なしの間に有意差があった (いずれも  $p < 0.001$ )。

#### (3) 変動時間 $t_{disp}$

図 3 に条件ごとの平均及び標準誤差を示す。腕の左右×視覚の有無を要因とした分散分析は、腕の左

右の主効果 ( $p < 0.01$ ), 視覚の有無の主効果 ( $p < 0.001$ ), 腕の左右  $\times$  視覚の有無の交互作用 ( $p < 0.001$ ) が有意であることを明らかにした. Tukey's HSD test による多重比較によれば, 利き手視覚あり vs 利き手視覚なし ( $p < 0.001$ ), 利き手視覚なし vs 非利き手視覚なし ( $p < 0.001$ ), 非利き手視覚あり vs 非利き手視覚なし ( $p < 0.01$ ) の間に有意差があったが, 利き手視覚あり vs 非利き手視覚ありの間に有意差はなかった ( $p = 0.973$ ).

#### 4. 考察

本研究は上肢の運動制御における利き手と非利き手の違いをもたらす要因として二関節筋の共収縮のはたらきの違いを予想して実験を行った. 実験において, 腕姿勢を固定するように指示した状態で手先に負荷を与えたときの上腕二頭筋及び上腕三頭筋の表面筋電位, ならびに, 手先位置の変動を計測した.

筋電位のデータから共収縮を評価する指標として, 上腕二頭筋と上腕三頭筋に関するデータの積の和 IP について分散分析を行った. 使用する腕  $\times$  視覚の有無の交互作用が有意であり, また, 視覚の有無によって利き手では有意差が生じたが, 非利き手では有意差は現れなかった. また, 視覚なし条件において, IP は非利き手の方が大きく, 非利き手の方がより強く共収縮が生じていた. これらの結果より, 腕姿勢の固定において, 利き手は非利き手と比べて視覚情報により依存していること (Roy et al., 1989; Roy et al., 1994), 非利き手は上腕二頭筋と上腕三頭筋の共収縮をより利用していることが考えられる.

手先位置の変動に関する解析の結果, 手先に負荷が与えられたときの手先位置の変化量  $x_{disp}$  については利き手と非利き手でほとんど同等の傾向を示した. いずれの腕についても, 視覚を使えるときの方が手先位置の変化量は小さく, 腕の左右  $\times$  視覚の有無の交互作用が有意でなかったことから, 視覚の有無が与える左右の腕への影響に有意な違いは見られなかった. しかしながら, 手先に負荷が与えられてから手先が上がり始めるまでの時間  $t_{disp}$  については, 腕の左右  $\times$  視覚の有無の交互作用が有意であり, 視覚なし条件において非利き手の方がより短い時間で手

先が上がり始めていた. また, 手先位置の変動時間に関する結果からも, 利き手の方が視覚情報により依存していることが推測される.

非利き手の方が手先位置の変動時間が短かったことは, 負荷によって腕姿勢に外乱が加わったときに, 非利き手の方がより速やかに元の姿勢に戻ろうとしていたことを意味する. 筋を共収縮させることは関連する関節の剛性を高めることにつながる. つまり, 姿勢を固定させるときにより強い共収縮が生じているほど, 外乱によって姿勢が変化したときにより速やかに元の姿勢へ戻ろうとする. 本研究における実験によって得られた結果は, 非利き手のより強い共収縮と, それによってもたらされる速やかな元の姿勢への復帰を明らかにしていた.

共収縮は関節の剛性を高めて姿勢の固定 (等尺性運動) や未知の環境での安定性の向上 (Wang & Sainburg, 2007; Dalainy & Ostry, 2008) に寄与する一方で, 身体を動かす運動 (等張性運動) においては運動の巧緻性やエネルギー消費などの観点からは非効率的である. Heuer (2007) の実験によれば, 指先のタッピング運動において, 利き手の方が正確なリズムを生成できることと, 非利き手の方がより強い共収縮が起こることが報告されている. また, 運動実行中に運動指令に信号依存の生体ノイズが加わるという予想に従うならば (Harris & Wolpert, 1998; van Beers et al., 2004) 同じように関節を動かす運動でも, 共収縮のためにより強い運動指令が生成されれば, それだけノイズの影響は強くなり, 結果として運動の精度は低下する (variability error) と考えられる (Lenhard & Hoffmann, 2007).

二関節筋は一つの筋で複数の関節に同時に作用するため, 運動の方向によっては運動を妨げるようにはたらく. 例えば, 手先を真っ直ぐ前方に突き出すような運動においては, 肩関節の屈曲と肘関節の伸展が同時に発生するため, 上腕二頭筋の活性は肘関節の伸展を妨げ, 上腕三頭筋の活性は肩関節の屈曲を妨げる. このような理由から, 運動方向の制御においては単関節筋の寄与が大きい (van Bolhuis et al., 1998). 非利き手が二関節筋をより利用することは, 姿勢の固定で有利となる反面, 手先の運動方



向の制御には不利にはたらし、結果として巧緻性の低下をもたらしていると考えられる。本研究で行った外力に対抗して姿勢を固定するような運動タスクではなく、到達運動のような手先を動かす運動タスクにおいて、二関節筋のはたらきが利き手と非利き手で異なるかどうか今後の調査によって明らかにしていく。

## 5. まとめ

外力が与えられたときの利き手及び非利き手の腕姿勢の固定を調べた結果、利き手は視覚情報をより利用することや、非利き手の方が姿勢の固定に優れるという先行研究を支持する結果が得られた。そして、非利き手の方が姿勢の固定に優れる要因として上肢の二関節筋である上腕二頭筋と上腕三頭筋の共収縮が関与しており、非利き手は二関節筋の共収縮を利き手よりも利用していることが明らかになった。今後は本研究が扱った等尺性運動だけでなく等張性運動も対象に調査を行う。

## 参考文献

- J. Wang and R.L. Sainburg: The dominant and non-dominant arms are specialized for stabilizing different features of task performance, *Experimental Brain Research*, vol.178, pp.565-570, 2007.
- B.M. van Bolhuis, C.C.A.M. Gielen and G.J. van Ingen Schenau: Activation patterns of mono- and bi-articular arm muscles as a function of force and movement direction of the wrist in humans, *Journal of Physiology*, vol.508, pp.313-324, 1998.
- E.A. Roy and D. Elliott: Manual asymmetries in aimed movements, *The Quarterly Journal of Experimental Psychology*, vol.41A, pp.501-516, 1989.
- E.A. Roy, L. Kalbeisch and D. Elliott: Kinematic analyses of manual asymmetries in visual aiming movements, *Brain and Cognition*, vol.24, pp.289-295, 1994.
- M. Darainy and D.J. Ostry: Muscle co-contraction following dynamics learning, *Experimental Brain Research*, vol.190, pp.153-163, 2008.
- H. Heuer: Control of the dominant and nondominant hand: exploitation and taming of nonmuscular forces, *Experimental Brain Research*, vol.178, pp.363-373, 2007.
- C.M. Harris and D.M. Wolpert: Signal-dependent noise determines motor planning, *Nature*, vol.394, pp.780-784, 1998.
- R.J. van Beers, P. Haggard and D.M. Wolpert: The role of execution noise in movement variability, *Journal of Neurophysiology*, vol.91, pp.1050-1063, 2004.
- A. Lenhard and J. Hoffmann: Constant error in aiming movements without visual feedback is higher in the preferred hand, *Laterality*, vol.12, pp.227-238, 2007.

## 小中学生の学力向上に貢献する運動・スポーツの条件に関する研究 ～持久的スポーツ競技と学習の集中力の関連性の検証～

(所 属) 1. 岡山県立大学情報工学部, 2. 福岡大学スポーツ科学部

(氏 名) 綾部誠也<sup>1</sup>, 犬飼義秀<sup>1</sup>, 高戸仁郎<sup>1</sup>, 大山剛史<sup>1</sup>, 森村和洋<sup>2</sup>

### (概要)

本研究は、体力・スポーツ動作と認知機能の関係性に関する横断的分析を行い、小中学生の学力向上と心身の健やかな成長に寄与する運動・スポーツの条件を明らかにすることを目的とした。対象者は、岡山県内に在住する中学生男子30名であった。全ての対象者は、形態・身体組成、体力・運動能力の測定を行った。また、生活習慣と学業成績を調査した。スポーツ機能を測定した。学業成績は、過去1年間の成績表(通知表)から調査した。その結果、本研究の対象者の体力(スポーツテスト)の結果は、岡山県の平均値に比して高値であった。特に、20メートルシャトルランと握力については、特に、その差が顕著であった。学業成績と体力の間には有意な関連性が認められなかった。しかし、数学の学業成績と有酸素能の間には、正の相関の傾向が認められた( $p<0.10$ )。本研究においては、体力と学業成績の間に統計上有意な関連性を認めるまでに至らなかった。学習能力のみならず学習への意欲や態度を総合的に評価する学業成績の因果構造を明らかにするためには今後の研究が必要である。

### 1. 緒言

わが国では、生活習慣病をはじめとする生活習慣病の蔓延が危惧されて久しい。肥満、高血圧、糖尿病などの代謝性疾患の罹患率増大は、医療費を高騰させ、国の経済を圧迫している。また、中高年期のこれらの疾患の蔓延は、高齢期の被介護者人口を増大させ、社会的活力が失われる原因となっている。

これらの疾患の原因の一つは、運動不足である。近年の日常生活のオートメーション化は、日常生活の中における運動や身体活動の機会を減少させている。例えば、自動車の普及とエスカレータの整備は、歩行・走行の機会を減少させ、代表的抗重力運動である階段上りを不要にしている。これらの運動不足の傾向は、中高齢者の疾患の要因になっているが、これには、成人後の運動習慣だけでなく、幼少期の運動習慣も間接的に関連することが分かっている。

すなわち、幼少期に運動やスポーツに積極的に参加した経験は、中高齢期の運動・身体活動習慣の形成にも効果的であることが明らかになっている。しかし、日常生活のオートメーション化の影響は、幼少期へも進んでいる。文部科学省のスポーツテストの成績は、1990年代以降の低下が著しい。近年、その低下傾向の下げ止まりが見られるものの、十分な

体力水準が得られているとは考え難い。さらに、このような体力の低水準は、成人後の低い運動習慣だけでなく、幼少期の肥満者数の増大や骨格筋量の低下をもたらす。さらに、最近の研究成果は、運動習慣のある子どもは、運動習慣のない子どもに比して、メンタルヘルスが安定し、学習意欲や集中力が高いことを示している。これらの研究成果は、幼少期に運動習慣を形成することが生涯にわたる健康を確保するために包括的な重要な役割を担うことを示している。

定期的な運動や身体活動が学習能力や認知機能に及ぼす効果については、実験的研究や疫学的研究など様々な角度から研究が行われている。定期的な運動を行うことは、高齢者の認知症予防や認知機能の改善に効果的であることが示されている。

子供の学習効果と体力に関する研究も一部に行われている。心理学的実験的研究により、認知機能や注意力と運動能力の関係が示唆されている、しかし、学業成績との関係についての知見は限定的である。我々は、先に小学生を対象に持久的運動の好き嫌い と学習能力との間に関連性があることを見いだした。また、これらの知見においては、運動習慣や体力が認知機能や学習能力の確保に貢献するメカニズムに

については不明な点が多い。運動中の前頭前野の脳血流量の増大などが認知機能の向上の背景にあると考えられているが、子供の学業成績については、学習塾への就学や家庭環境などの社会的因子の影響も少ない。

これらの知見に基づけば、運動習慣を確保して高い体力を維持することが認知機能や学習能力の確保に貢献できることは明らかであるが、その成果を学校現場にて応用するためには、メカニズムの検証と実践的プログラムの開発が必要である。

本研究は、運動やスポーツが子供の脳機能や学習効果、ひいては学業成績に及ぼす影響を明らかにするための基礎的な研究として、持続的な運動スポーツ種目に着目し、その習熟度が学習時の集中力との関連性を検証する。集中力は、長時間にわたって他者との関係を把握して自己の技術を発揮することが求められる持続的なスポーツの場面において必要不可欠な要素である。同時に、日頃の学習の場面においても、場面（学校や学習塾など）や科目を問わず、学習効果を高めるためには、集中力が求められる。そこで、我々は、持続的なスポーツ競技において持続的に自己の運動パフォーマンスを発揮できる能力と学習の場面での集中力には関係性があるとの仮説を立てた。

## 2. 方法

### 2-1. 対象者

本研究の対象者は、岡山県内の男子中学生 30 名であった。全ての対象者は、岡山県内のサッカークラブに所属し、1 回 120 分から 240 分、週 3 から 5 回の頻度でサッカーを行っていた。本研究の全ての対象者は、研究参加に際して、事前に研究の趣旨、目的、内容、研究参加による利益と不利益などを理解し、研究参加同意書に署名した。さらに、研究参加同意書には、保護者（後見人）の署名も得た。

本研究の全てのプロトコールは、ヘルシンキ宣言に準じて行われ、事前に岡山県立大学倫理委員会の承認を得た。

### 2-2. 調査項目

形態・身体組成。全ての対象者について、身長、

体重、身体組成を測定した。身長は、標準的デジタル身長計により測定した。体重と身体組成は、多周波インピーダンス式身体組成計により測定した。体脂肪率は、電気抵抗値から算出した身体密度と体重から算出した。

体力テスト。体力は、文部科学省スポーツテスト（新体力テスト実施要項：12 歳から 19 歳）に準じて行った。テスト項目は、握力、上体起こし、長座体前屈、反復横跳び、20 メートルシャトルラン、50 メートル走、立ち幅跳び、ハンドボール投げであった。握力は、スピードレー式握力計の指針が外側になるように握り、この場合、人差し指の第 2 関節が直角になるように握りの幅を調節したのち、直立の姿勢で両足を左右に自然に開き腕を自然に下げ、握力計を身体や衣服に触れないようにして最大努力にて握りしめた。右左交互に 2 回ずつ実施した。記録はキログラム単位とし、キログラム未満は切り捨てた。左右それぞれの良い方の記録を平均した。上体起こしは、マット上で仰臥姿勢をとり、両手を軽く握り、両腕を胸の前で組み、両膝の角度を 90 度に保持された状態で、30 秒間にわたり、仰臥姿勢から両肘と両大腿部がつくままで上体を起こし仰臥姿勢に戻した回数を計測した。実施回数は 1 回とした。長座体前屈は、被測定者が長座姿勢をとり、肩幅の広さで両手のひらを下にして、胸を張って、両肘を伸ばしたまま両手で箱を手前に十分引きつけ、背筋を伸ばした姿勢から前屈し、初期姿勢から最大前屈時の箱の移動距離を測定した。記録はセンチメートル単位とし、センチメートル未満は切り捨てた。検査は、2 回実施してよい方の記録を採用した。反復横とびは、20 秒間において、中央ラインから左右の 100 cm 幅のラインを越すか、または、踏む回数を測定した。中央、右、左の 3 つのラインを通過する毎に 1 点とし、20 秒間の合計点数を得た。テストを 2 回実施してよい方の記録を採用した。20 m シャトルランは、一定間隔で 1 音ずつ鳴り続ける電子音（8 音）の間に 20 m 先の線に達し、足が線を越えるか触れたらその場で向きを変え元の位置（20 m 先）に戻る、この動作を繰り返す、徐々に早くなる電子音内で 20 m 先にたどり着けなくなるまで続けた。電子音は、

約1分毎に電子音の間隔は短くなり、すなわち、走速度は約1分毎に増加した。2回続けて線に触れることができなくなったときに、テストを終了した。50 m 走は、クラウチングスタートの体勢から、スタートの合図後、50 m 先のゴールライン上に胸が到達するまでに要した時間を計測した。実施回数は1回だった。立ち幅跳びは、踏切線上に両足のつま先を揃えて立ち、両足で同時に踏み切って最大努力で前方へ跳んだ距離（後方足の踵位置から踏切線までの距離）を測定した。2度測定し、良い記録を採用した。ハンドボール投げは、直径2 m の円内からハンドボール（2号球）を最大努力で投げ、その飛距離を計測した。測定は2度行い、良い記録を採用した。直径2 m の円中心から30度の外側に落下した投球は記録なしとした。

学業成績は、過去1年間の成績表（通知表）から調査した。全ての対象者から、過去1年間の成績表（通知表）の複写を入手し、主要五科目（英語、国数、数学、社会、理科）の成績を評価した。

### 2-3. 統計処理

本文中の数値は、平均値と標準偏差で示した。形態・身体組成ならびに体力テストの学年間の比較は、一元配置分散分析(ANOVA)ならび post-hoc (Turkey) にて行った。体力と学業成績の関連性は、Pearson の相関係数ならびに ANCOVA にて分析した。ANCOVA については、学年、学校、暦年齢、身長、体重を調整因子として用いた。

### 3. 結果

対象者の身長、体重、体脂肪率は、全体が 162.9 ± 8.0 cm, 47.9 ± 7.4 kg, 10.3 ± 3.2 であった。同様に学年別の測定値は、中学1年生が 156.7 ± 9.8 cm, 41.0 ± 6.0 kg, 9.4 ± 2.1%, 中学2年生が 165.3 ± 2.6 cm, 50.4 ± 8.2 kg, 10.7 ± 6.1 kg, 中学3年生が 165.6 ± 6.3 cm, 51.3 ± 5.2 kg, 10.8 ± 2.7% であった。一元配置分散分析の結果、身長と体重は、学年間で有意な差が認められた ( $p < 0.05$ )。体脂肪率は、学年間で有意な差が認められなかった。

体力測定の結果は、以下の通りであった。握力は、全体が 31.9 ± 7.9 kg, 中学1年生が 24.8 ± 4.3 kg, 中

学2年生が 32.0 ± 11.7 kg, 中学3年生が 36.3 ± 5.1 kg であった。上体起こしは、全体が 34 ± 8 回, 中学1年生が 26 ± 4 回, 中学2年生が 33 ± 7 回, 中学3年生が 40 ± 6 回であった。長座体前屈は、全体が 44.9 ± 8.8 cm, 中学1年生が 40.3 ± 7.5 cm, 中学2年生が 46.4 ± 13.2 cm, 中学3年生が 47.3 ± 8.0 cm であった。反復横とびは、全体が 59 ± 6 回, 中学1年生が 56 ± 2 回, 中学2年生が 56 ± 9 回, 中学3年生が 47 ± 8 回であった。20 m シャトルランテストは、全体が 107 ± 10 回, 中学1年生が 101 ± 5 回, 中学2年生が 103 ± 2 回, 中学3年生が 111 ± 11 回であった。50 m 走は、全体が 7.5 ± 0.5 秒, 中学1年生が 7.9 ± 0.3 秒, 中学2年生が 7.6 ± 0.7 秒, 中学3年生が 7.3 ± 0.4 秒であった。立ち幅跳びは、全体が 212 ± 20 cm, 中学1年生が 195 ± 13 cm, 中学2年生が 216 ± 19 cm, 中学3年生が 222 ± 18 cm であった。ハンドボール投げは、全体が 25 ± 5 m, 中学1年生が 21 ± 3 m, 中学2年生が 24 ± 8 cm, 中学3年生が 28 ± 4 m であった。体力の測定値にて、学年間で比較したところ、各種目において学年間で有意な差が認められた ( $p < 0.05$ )。

学業成績と体力の関連性を検討するために、科目毎に評価を3群に分類し、群間での体力測定の結果を個人パラメータにて調整した ANCOVA にて比較した。その結果、いずれの科目、種目においても、群間にて統計上有意な差が認められなかった。しかし、数学の成績は、3群間で 20 m シャトルランテストの成績に差がある傾向が認められた ( $p < 0.05$ )。

### 4. 考察

本研究は、持続的スポーツ競技において持続的に自己の運動パフォーマンスを発揮できる能力と学習の場面での集中力には関係性があるとの仮説を立てた。しかしながら、本研究は、この仮説を支持する結果を得られなかった。すなわち、本研究においては、学業成績と体力テストの成績との間に統計上有意な関連性を認めなかった。ただし、数学の成績は、20 m シャトルランテストの成績に関連する傾向を認めており、これまでに得られている認知機能と有酸素能の結果を支持する結果を得た。

本研究のオリジナリティーは、中学生の学業成績をIQ試験や統一試験などの客観的な方法でなく、成績表（通知表）に基づいて評価したことである。成績表は、学業成績を総合して評価したものであり、試験の成績（点数）のみならず、学習意欲、授業中の学習態度、取り組みなどを含めた評価となる。ただし、本研究は、サッカークラブに所属する中学生を対象としたため、対象者所属する学校が統一できなかった。学習成績表（通知表）は、前出のように複合的要因により決定され、一部に評価者（教員）の主観的判断に依存する部分があるため、十分な客観的なスケールであるとは言い切れない。このような学習成績表（通知表）のウィークポイントが本研究の成果に影響したことは否定できない。

これまでに、体力と学業成績の関連性を検討した研究の多くは、単一の学校での調査や全国標準学力検査の測定値を利用してきた。その結果、体力、とりわけ有酸素生作業能は、学業成績との間に有意な関連性を認めてきた。一方、本研究においては、子どもの健やかな発育や子どもの人間力や社会性を評価したいとの考えに基づいてこの指標を用いた。現在の我が国において、学校を含めた教育機関における期待は、単に学業成績を高める（知識を増やす）ことのみならず、将来的に必要とされる様々な能力を育むことである。体力やスポーツへの参画が体の成長と発達に関与することのみならず、こころの健康や社会性などを身につけるために有用であることは明らかである。今後は、集中力や学習意欲などの学習成績表（通知表）の間接的要因を直接的に評価し、子どもの健やかな人間性の発達への体力・スポーツの貢献度を明らかにしたい。

## 5. まとめ

本研究は、体力・スポーツ動作と認知機能の関係性に関する横断的分析を行い、小中学生の学力向上と心身の健やかな成長に寄与する運動・スポーツの条件を明らかにすることを目的とした。本研究は、学業成績と体力テストの成績との間に統計上有意味な関連性を認めることができず、数学の成績と20mシャトルランテストの成績が関連する傾向を認める

に留まった。学習能力のみならず学習への意欲や態度を総合的に評価する学業成績の因果構造を明らかにするためには今後の研究が必要である。

## 積層型金属スリットアレイの光学的性質とその応用

岡山県立大学 情報工学部 情報通信工学科

徳田 安紀

波長より小さい構造体を規則的に配置した人工構造物として定義されるメタマテリアルは、自然界では見られない不思議な物理現象を示すことから強い関心を集め、活発な研究が行われている。我々は、メタマテリアルの一種とみなせる金属スリットアレイの光学的性質について調べ、それを未開拓の周波数帯の電磁波として注目されているテラヘルツ光の制御に利用することを検討している。ここでは、その金属スリットアレイの特異な透過特性やその応用に関してシミュレーションを用いて検討した最近の成果について報告する。

## 1. はじめに

波長より小さい構造体を規則的に配置した人工構造物であるメタマテリアルは、負の屈折率によるクローキング現象[1]や表面プラズモンポラリトンによる異常透過現象[2]など、不思議な物理現象を示し、基礎科学の観点からも応用技術の観点からも強い関心を集めている。一方、光波と電波の境界にあるテラヘルツ (THz) 波は未開拓の周波数帯の電磁波として近年非常に注目を集め、その利用に関する研究開発が活発に行われている[3]。しかし、安価で容易に手に入る光学材料や光学素子の開発が大きな課題のひとつとなっている。

図 1 (a)に示したような金属板に周期的に溝を切った金属スリットアレイは、その体積のほとんどを金属が占めているにも関わらず、ある特定の周波数より低い領域で誘電体的な性質を示すことが分かっている[4, 5]。我々は、この金属スリットアレイの光学的性質について調べ、それを利用してテラヘルツ光に対する新しい機能材料を提供することや機能素子を創出することを目指している[6-11]。

本研究報告では、金属スリットアレイが示す擬似的な誘電体的性質について示した後、それを多段に積み重ねた構造の透過スペクトルにおける光学共鳴モードの振舞いとその裏に隠された物理的メカニズム[11]について述べる。さらに、金属スリットアレイの応用として、スリット周期の変調により得られる光フェイズドアレイ効果[7]を利用した分光機能[9]について述べる。

## 2. 構造とシミュレーション

図 1 に本研究で検討したスリット周期が一定の金属スリットアレイ構造を示す。(a)は一段構造、(b)は二段構造である。ここで、 $h$  はスリット高さ、 $d$  はスリット周期、 $w$  はスリット幅であり、二段構造においては、上下のスリットアレイは同一で、 $s$  はアレイ間のエアギャップ幅、 $l$  はアレイの  $x$  方向に対する相対ずれ量を示す。なお、対象とする周波数帯がテラヘルツ帯であるため、金属部分は完全導体と見なして計算した。

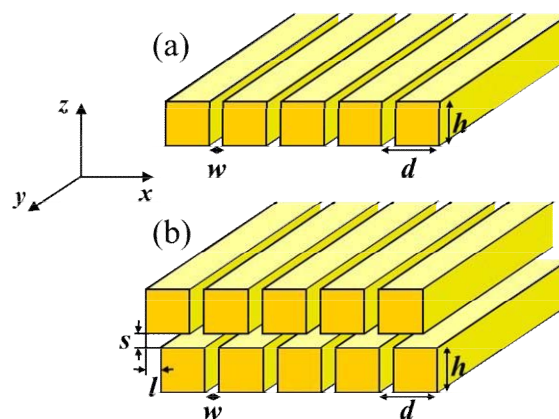


図 1 金属スリットアレイ構造。(a) 一段構造、(b) 二段構造。

光学特性のシミュレーション検討は、時間領域有限差分 (FDTD: Finite Difference Time Domain) 法に基づいて  $y$  方向に磁場成分をもつ  $p$  偏光を  $z$  方向に沿って垂直入射させた場合について行った。 $x$  方向には周期的境界条件を用い、解析領域は完全吸収体で取り囲んだ。最短時間幅は 2.35 fs、最小セルサイ

ズは  $1 \times 1 \mu\text{m}^2$  である。透過スペクトルは単パルス波に対する応答を離散フーリエ変換して求め、フィールド分布はその透過スペクトルから得られる共鳴周波数の単色光に対して計算した。

### 3. 一段構造の金属スリットアレイの光学特性

#### 3-1 透過スペクトルのスリット高さ依存性

図2に、三種のパラメータセットに対する一段構造の金属スリットアレイの透過スペクトルを示す。

スリット幅  $w$  は  $25 \mu\text{m}$  で共通である。

まず、図2(a)の  $h = 1000 \mu\text{m}$  に対するスペクトルにおいて、誘電体と同様の顕著な Fabry-Perot 的なピークが四本見られる。これらは、その共鳴波長から金属スリットアレイを疑似的な誘電体と見なしたとき、基本モード（半波長共鳴）、1次モード（一波長共鳴）、2次モード（3/2 波長共鳴）、3次モード（二波長共鳴）に対応していることが分かる。

さらに、これらの共鳴ピークが Fabry-Perot 的な共鳴によることは、図2(b)の  $h = 500 \mu\text{m}$  に対するスペクトルにおいて基本モードと1次モードが大きく短波長側にシフトし、図2(a)の  $h = 1000 \mu\text{m}$  に対する共鳴ピーク波長のほぼ半分になっていることから確かめられる。

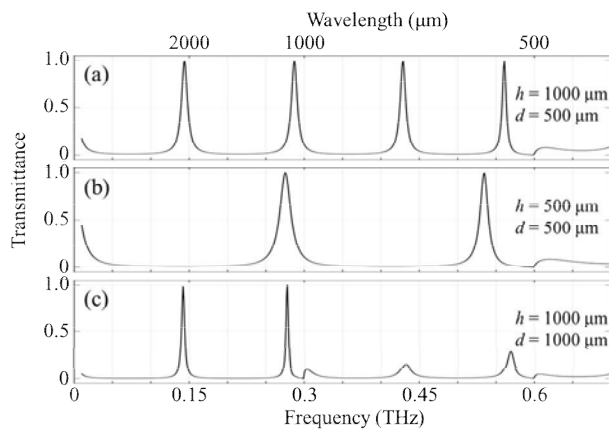


図2. 三つの異なるパラメータセットに対する一段構造の金属スリットアレイの透過スペクトル。

#### 3-2 透過スペクトルのスリット周期依存性

図2(a)と(b)の  $d = 500 \mu\text{m}$  に対するスペクトルにおいては  $0.6 \text{ THz}$  を超えると、共鳴ピーク強度が著しく減少する。この臨界周波数は、回折限界に対応した Rayleigh-Wood 周波数で、この系では  $c/d$  で与

えられる[5]。従って、図2(c)の  $d = 1000 \mu\text{m}$  に対するスペクトルでは、この臨界周波数は半分になり、 $0.3 \text{ THz}$  以上で共鳴ピークは減少していることが分かる。

さらに、この臨界周波数  $c/d$  以下の領域は、スリット周期  $d$  が波長  $\lambda$  よりも短い領域に対応しており、メタマテリアルの条件と一致する。従って金属スリットアレイはメタマテリアル条件下で擬似的な誘電体と見なせることになる。

### 4. 二段構造の金属スリットアレイの光学特性

#### 4-1 透過スペクトルに対する横ずれ効果

図3に、横ずれが無い場合 ( $l=0$ ) とある場合 ( $l = d/2 = 300 \mu\text{m}$ ) の二段構造の金属スリットアレイの透過スペクトルのエアギャップ  $s$  依存性を示す。ここで、スリット高さ  $h$ 、スリット周期  $d$ 、スリット幅  $w$  は、それぞれ  $1000, 600, \text{ および } 160 \mu\text{m}$  に固定した。なお、二段構造に対する共鳴モードの同定は、横ずれが無い  $s=0$  のとき  $h = 2000 \mu\text{m}$  の一段のスリットアレイに一致することから、図4(a)に示した一段構造の透過スペクトルを用いて行い、 $D_n$  ( $n$  はモード次数) で表した。

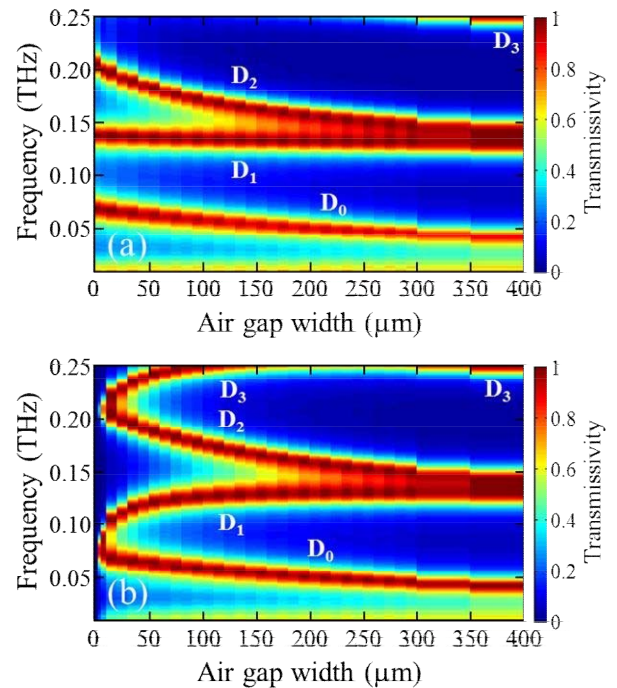


図3 金属スリットアレイの二段構造の透過スペクトルのエアギャップ厚依存性. (a)  $l=0$ , (b)  $l=d/2$ .

まず、 $l = 0$  に対する図 3(a)において、奇数次の  $D_1$  モードの共鳴周波数は  $s$  が変化してもほとんど変わらないが、偶数次モードの  $D_0$  と  $D_2$  の共鳴周波数は  $s$  が大きくなるにつれてレッドシフトしていることが分かる。後で述べるように、これは  $z$  方向に対するフィールド分布の対称性に起因しており、 $D_{2n}$  モードと  $D_{2n+1}$  モードのフィールド分布は、エアギャップの中心線に対して、それぞれ、対称と反対称であることによる。

一方、 $l = d/2$  に対する図 3(b)において、偶数次の  $D_0$  モードと  $D_2$  モードの振舞いは、光学パスが閉じる  $s = 0$  の近傍を除いて  $l = 0$  の場合とほとんど変わらないが、奇数次の  $D_1$  モードの振舞いは  $s$  が約  $200 \mu\text{m}$  以下の領域で大きく異なっている。

ここで、 $l = d/2$  の構造でのモード消失も含めた共鳴モードの振舞いを理解するために、図 4(b)に五つの  $s$  の値に対する透過スペクトルを示した。  $s$  が  $0$  に近づくにつれて、 $D_1$  モードは  $D_0$  モードに急接近し、合体した後、 $s = 5 \mu\text{m}$  以下で急激に減衰していることが分かる。また、同様の振舞いが  $D_2$  モードと  $D_3$  モードのペアに対しても見られる。これらのことから、 $s = 0$  で起きる共鳴モードの消失は、単に各モードが単独で消えるのではなく、奇数次モードと偶数次モードのミキシングによると結論した[11]。

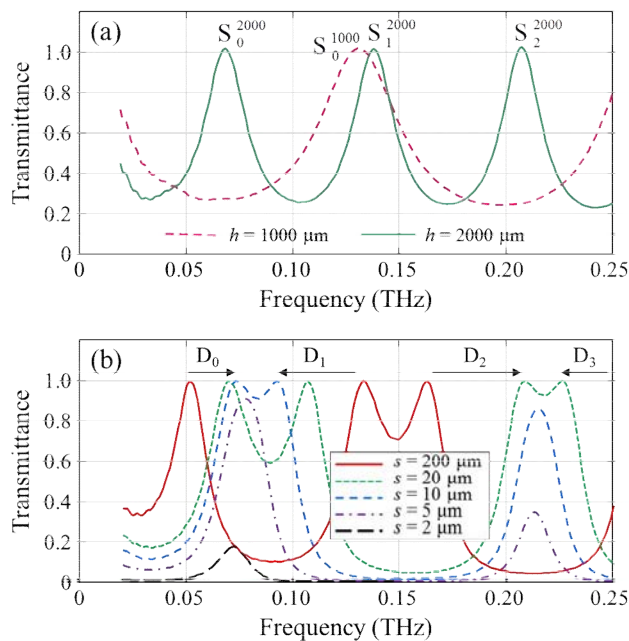


図 4 一段(a)および二段(b)構造の金属スリットアレイの透過スペクトル。

## 4-2 共鳴モードのフィールド分布

光学パスが閉じる際の共鳴モードの消失がモードミキシングによって起こる物理メカニズムを明らかにするために、FDTD 法を用いて各共鳴モードに対する電磁場分布のシミュレーションを行った。図 5 に四つの  $s$  の値に対して計算した  $l = d/2$  の構造の  $D_0$  モードと  $D_1$  モードの磁場分布の絶対値  $|H_y|$  を示す。

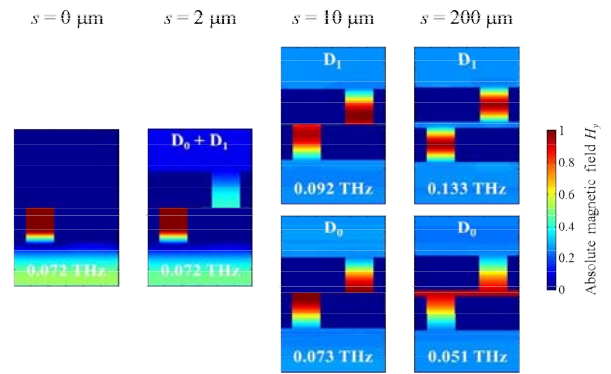


図 5  $D_0$  モードと  $D_1$  モードの磁場分布。

$s = 200 \mu\text{m}$  では、偶数次の  $D_0$  モードの分布はエアギャップ層を含んだ全領域に半波長共鳴的に広がっており、そのアンチノードはエアギャップ内にあることが分かる。従って  $s$  が大きくなると、それにつれて共鳴波長は長くなる。これが偶数次モードがレッドシフトする理由である。

一方、奇数次の  $D_1$  モードはエアギャップ内でノードをもち、上下のスリットアレイ内に半波長共鳴として閉じ込められていることが分かる（ただし、振幅の符号は上下で逆である）。これは横ずれが無い場合も同様で、 $l = 0$  の場合に奇数次モードの共鳴周波数が全ての  $s$  に対してほとんど依存性しない理由である。

ところが、 $l = d/2$  で  $s = 10 \mu\text{m}$  になると、 $D_0$  モードはエアギャップ内にアンチノードをもった半波長の共鳴を維持しているが、 $D_1$  モードのアンチノードの位置はスリットの中央からエアギャップ側にシフトし、 $D_0$  モードの分布パターンに似てきていることが分かる。すなわち、 $s$  が小さくなると  $D_1$  モードは  $h = 1000 \mu\text{m}$  に対する  $1/2$  波長共鳴から  $1/4$  波長共鳴に変化し、その結果、 $D_0$  モードの共鳴周波数に近づくことが分かる。そして  $s = 2 \mu\text{m}$  では、 $D_1$  モード



と  $D_0$  モードの共鳴周波数はほぼ一致し、これらのモードは、上のスリットアレイでは逆位相であるために destructive な干渉を起こし、 $s=0$  で完全に消えることになる。これが  $l=d/2$  の構造で起こるミキシングによるモード消失の物理メカニズムである[11]。

ここで、さらにスリットアレイ間の横方向のずれにより奇数次モードだけが大きく影響を受ける理由について述べる。横ずれがある ( $l=d/2$ ) 場合、 $s$  が小さくなるとエアギャップ側のスリット端に金属表面が接近することになる。磁場は金属表面では同相でほぼ完全に反射されるので、磁場のアンチノードの位置はエアギャップ側に移動しなければならない。従って、もともとエアギャップでアンチノードをもつ偶数次モードは分布状態を変えないが、エアギャップでノードをもっていた奇数次モードは分布状態を大きく変えることになる。特に、 $D_1$  モードは、 $h=1000\ \mu\text{m}$  に対する  $1/2$  波長共鳴から  $1/4$  波長共鳴に変化する[11]。

#### 4-3 有効媒質近似のよる透過スペクトルの計算

金属スリットアレイの等価屈折率  $n_s$  と等価膜厚  $t$  は、それぞれ

$$n_s = d/w \quad (1)$$

$$t = h/n_s = hw/d \quad (2)$$

で与えられることが分かっている[4]。さらに、我々は、図1(b)のような金属スリットアレイの二段構造において、垂直入射の TM モードに対するエアギャップ層の等価屈折率  $n_g$  が

$$n_g \cong \sqrt{2(l/s)^2 \text{sinc}^2(\pi w/d) \text{sinc}^2(\pi l/d) + 1} \quad (3)$$

で与えられることを示した[10]。従って、金属スリットアレイの二段構造は、図6に示したような誘電体の三層構造と等価と見なすことができる。

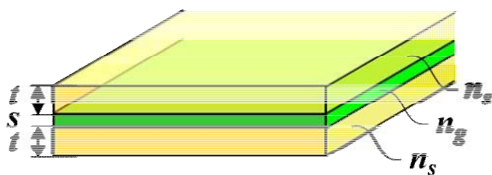


図6 二段金属スリットアレイ構造に等価な誘電体三層構造。

図7は、これらの等価屈折率と等価膜厚を用いて横ずれが無い場合 ( $l=0$ ) とある場合 ( $l=300\ \mu\text{m}$ ) に対応する三層誘電体構造の透過スペクトルのエアギャップ  $s$  依存性を計算した結果である。どちらの構造に対する計算結果も図3に示したFDTDの結果とほとんど同じであることが分かり、金属スリットアレイの二段構造は三層誘電体構造と見なせ、エアギャップの等価屈折率を与える(3)式の有効性が確認された[11]。

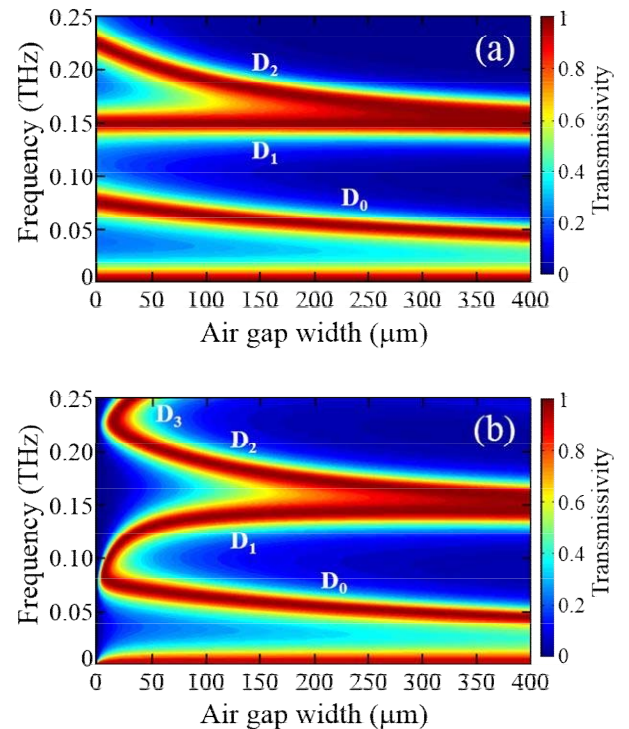


図7 二段金属スリットアレイ構造に等価な誘電体三層構造の透過スペクトルのエアギャップ厚依存性。(a)  $l=0$ , (b)  $l=d/2$ 。

## 5. 光フェイズドアレイ効果とその応用

### 5-1 位相シフト量の入射周波数依存性

擬似的な誘電体として振舞う金属スリットアレイの積層構造のテラヘルツ光制御への応用例について述べる。

図8はスリット間隔を変調した二段型の金属スリットアレイの断面図を示す。上下のアレイのスリット間隔  $q_{n+1}$  と  $p_n$  は、それぞれ、

$$q_{n+1} = (p_n + p_{n+1}) / 2 \quad (n=0, 1, 2 \dots) \quad (4)$$

$$p_n = p_0 - rn \quad (n=0, 1, 2 \dots) \quad (5)$$

と右側ほど短くなるように設計した。ここで、下側

アレイの金属部の中心を上側アレイのスリットの中心に合わせることで、下側スリットの入口から上側スリットの出口までの二つの最短光路長が一致する。従って、下側のスリットから入射した光は左側のスリット出口ほど出てくるのに時間がかかり、結果として透過光の波面制御ができることが期待される。我々は FDTD シミュレーションによりこの“光フェイズドアレイ効果”が得られることを示すとともに、その応用としてテラヘルツ光に対して凸および凹レンズ的な機能をもつプレナ型の素子が得られることを示した[7].

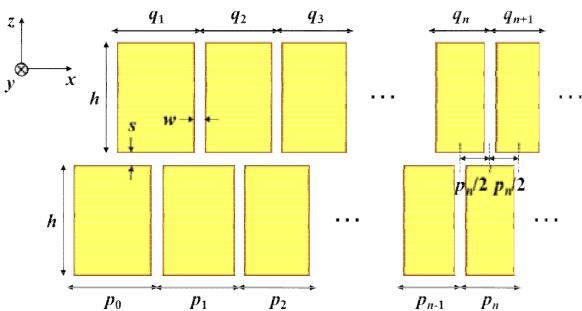


図8 スリット幅を変調した二段金属スリットアレイ構造の断面図.

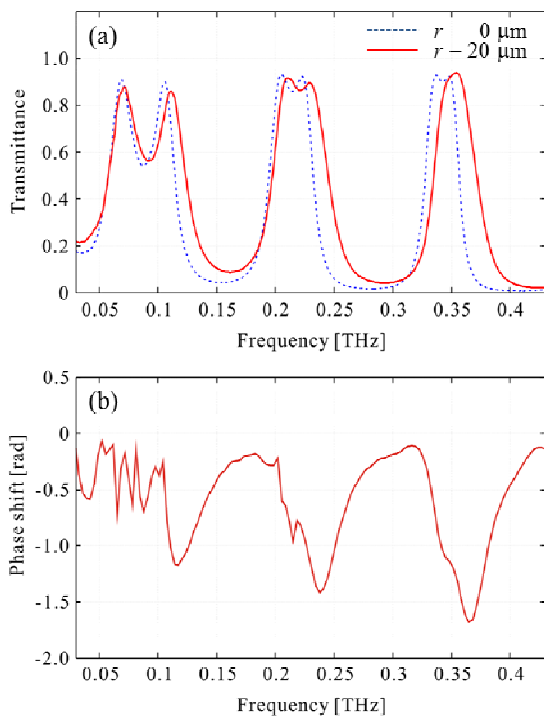


図9 スリット幅を変調した金属スリットアレイの二段構造の透過率(a)と位相シフト量(b)の周波数依存性.

さらに、我々は、この積層構造に対する透過スペクトルに加えて位相シフト量の周波数依存性も計算した。そして、図9に示したように、スリット間隔の変調にも関わらず、透過率は変調がない場合とほぼ同様のスペクトルを示し、位相シフト量も透過率に対応して顕著な周波数依存性をもつことを見出した[8].

## 5-2 多段化と分光機能への応用

図9の結果は、異なった波長の光を入射すると透過光の進む方向が変わる、すなわち、プリズムのような分光的な機能が波長オーダーの極めて薄い金属フィルムを用いて実現できることを意味する。

図10は、より大きな光フェイズドアレイ効果を得るために三段の変調スリットアレイ構造に三つの異なった周波数 (0.205, 0.215, 0.225 THz) の光波を入射したときの磁場分布  $H_y$  を FDTD 法を用いて計算した結果を示す。ここで  $h = 1000$ ,  $w = 160$ ,  $s = 20$ ,  $r = 40$ ,  $p_0 = 580 \mu\text{m}$  とし、ビームの向きが分かりやすいようにスリットアレイを両側から金属で挟んだ  $n = 7$  の構造に対してシミュレーションを行った。周波数が高くなるほど透過光はより大きく左に曲がっており、予想通り分光的な機能が得られることが分かる[9].

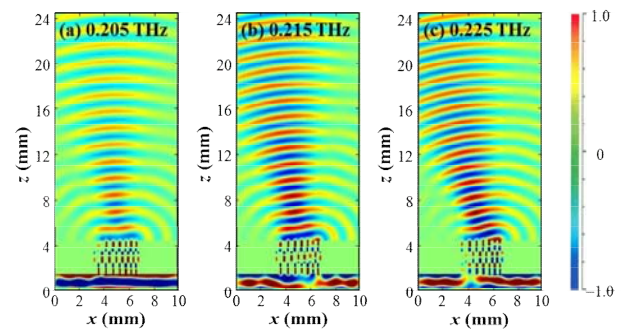


図10 三段変調金属スリットアレイを用いた分光特性. (a) 0.205 THz, (b) 0.215 THz, (c) 0.225 THz.

## 6. まとめ

本報告では、金属板に溝を切ったスリットアレイが示す疑似誘電体的な性質に関する最近のシミュレーションを用いた研究結果について述べた。

まず、一段構造の金属スリットアレイに対して、回折限界に対応した Rayleigh-Wood 周波数以下で、

金属板の厚さに対応した顕著なFabry-Perot的な共鳴モードが観測されることを示した。

次に、二段構造の金属スリットアレイに対する透過スペクトルを計算し

- ・横ずれがない場合、エアギャップの増大とともに偶数次モードの共鳴周波数はレッドシフトするが、奇数次モードの共鳴周波数はほとんど変化しない。
- ・横ずれがある場合、エアギャップの減少とともに奇数次モードは偶数次モードに急接近し、合体してミキシングにより消失する。

ことを見出した。さらに、このような共鳴モードの振舞いの裏に隠された物理的メカニズムをフィールド分布の対称性とスリット端での境界条件の変化により明らかにした。

最後に、擬似的な誘電体多層膜と見なせる積層型金属スリットアレイのテラヘルツ光制御への応用として、スリット周期を変調することで得られる光フェイズドアレイ効果を利用してレンズ的な機能に加えてプリズム的な分光機能も得られることを示した。

金属スリットアレイは、非常に安価な金属材料から作製でき、光学定数が材料パラメータではなく構造パラメータだけで非常に大きく変えられることから、テラヘルツ領域で新しい機能を生み出す光学材料として期待できる。

## 謝辞

昨年10月に急逝されました大阪大学レーザーエネルギー学研究所元副センター長、元教授 故萩行正憲氏には、広くメタマテリアルの研究に関し、ご議論ならびにご教示頂き、深く感謝致すとともに心よりご冥福をお祈り申し上げます。共同研究者として、それぞれの専門分野で積極的なご協力を頂いた岡山県立大学情報工学部准教授 福嶋丈浩氏、同助教 坂口浩一郎氏、大阪大学レーザーエネルギー学研究所元副センター助教 高野恵介氏に感謝致します。また、研究結果に関して活発なご議論を頂いた岡山大学特命教授 奈良重俊氏に感謝致します。さらに、計算機シミュレーションの一部を担当してくれた岡山県立大学大学院情報系工学研究科 山口祐生氏、橋本雅文氏に感謝致します。

## 【参考文献】

- [1] J. B. Pendry, Phys. Rev. Lett. **85**, 3996 (2000).
- [2] T. W. Ebbesen, H. J. Lezec, H. F. Ghaemi, T. Thio, and P. A. Wolff, Nature **391**, 667 (1998).
- [3] 萩行正憲, 応用物理 **81**, 271 (2012).
- [4] J. T. Shen, P. B. Catrysse, and S. Fan, Phys. Rev. Lett. **94**, 197401 (2005).
- [5] B. Hou, J. Mei, M. Ke, W. Wen, Z. Liu, J. Shi, and P. Sheng, Phys. Rev. B **76**, 054303 (2007).
- [6] K. Akiyama, K. Takano, Y. Abe, Y. Tokuda, and M. Hangyo, Opt. Express **18**, 17876 (2010).
- [7] Y. Tokuda, H. Takaiwa, K. Sakaguchi, Y. Yakiyama, K. Takano, K. Akiyama, T. Fukushima, and M. Hangyo, Appl. Phys. Express **5**, 042502 (2012).
- [8] Y. Tokuda, K. Sakaguchi, K. Takano, T. Fukushima, and M. Hangyo, AIP Advances **2**, 042112 (2012).
- [9] Y. Tokuda, K. Sakaguchi, T. Nishihara, K. Takano, T. Fukushima, and M. Hangyo, Appl. Phys. Express **6**, 062602 (2013).
- [10] K. Akiyama, K. Shibuya, K. Takano, Y. Abe, Y. Tokuda, and M. Hangyo, J. Appl. Phys. **113**, 243103 (2013).
- [11] Y. Tokuda, K. Sakaguchi, K. Takano, T. Fukushima, and M. Hangyo, J. Appl. Phys. **115**, 243104 (2014).

## エネルギー保存を考慮した超高画質画像変換手法とその応用に関する研究

岡山県立大学 情報工学部

山内 仁

今日、デジタルカメラの高精細化、テレビ放送のフル HD 化など、画像データの高解像化が進んでいる。一方で、蓄積されている低解像画像の高解像画像への変換利用や、既存設備による比較的low解像な画像の活用などのニーズも高い。これまでに提案されている高解像化手法の多くは、人の目に対して高解像に見えることが主目的であり、必ずしも本来の高解像化・高解像復元とはなっていない。これに対して報告者らは、画像データは画像センサによる撮影対象の観測データであると考え、元の撮影対象が有するエネルギーがその画素閉領域に累積保存されていることを考慮した超高画質な画素値分布推定手法、および、この手法に基づく画像の線形変換手法を提案している。本研究では、この適用可能な画像変換種別の各隊として適用可能な画像変換種別の拡大として、この原理に基づいた画像の射影変換手法を提案した。これは、画像観測における対象の三次元変化に対応したものであり、基本原理は数値積分による画素値積分関数の偏微分の積分である。元画像に対して射影変換を行い、再び逆変換を行う実証実験の結果、従来法に比べて復元性能の向上を確認した。

## 1. はじめに

広範に普及しているデジタルカメラにおいては、センサ技術の発達により、より高精細・高解像な画像を得られるようになってきている。テレビ放送においても地上デジタル放送の開始により、テレビ映像のフル HD 化が完了している。さらなる高解像を実現する 4K2K (4K Ultra High Definition; 4KUHD) や 8 倍のスーパーハイビジョン (8K Ultra High Definition Television; 8KUHD TV) の規格[1]が策定され、実用化、普及が目指されている。

一方で、既存データとして低解像画像が多く蓄積されており、これらを現在の技術水準である高解像画像に変換利用するニーズも高い。また、設備上の問題から既存設備で得られる比較的low解像な画像の活用や、画像計測用途における計測用撮像機器の性能以上の解像度への要求も高い。

低解像画像から高解像画像を推定・生成する技術としては、最近傍補間法(ニアレストネイバ法)[2]、線形補間法(バイリニア法)[2]、バイキュービック法[3]、Lanczos 法[4]などが知られている。これらの低解像画像から高解像画像を推定する従来の手法は、元画像の画素値に基づいて画素間に位置する新たな画素の画素値を推定する。これに対して報告者

らは、低解像画像は撮影対象の一つの観測データとして扱い、元の撮影対象が有するエネルギーがその画素平面に累積されて保存・観測されていることを考慮した画素値分布推定手法[5]およびこの原理に基づいた線形変換手法[6]を提案している。

本研究では、この原理に基づいた画像の射影変換手法を提案する。従来、画像の線形変換や射影変換は、逆変換により得られる変換前の画像上の座標における画素値を内挿により求めることで実現されている。これに対して本稿の手法は、提案している画素値分布推定手法に基づいて、画素値積分推定曲面の偏微分の積分値として、変換後の画素値を導出する。この積分については、ガウス・ルジャンドルの数値積分法を用いる。

## 2. エネルギー保存を考慮した画素値分布推定[5]

## 2.1. エネルギー保存を考慮した画素値分布推定の概要

既存の画素補間手法として知られている、最近傍補間法[2]、線形補間法[2]、バイキュービック法[3]、Lanczos 法[4]などにおける推定対象は画素値変化である。すなわち、入力となる元画像の画素値をその座標点における値として扱う手法である。図 1 に従来手法における画素補間の概念を示す。

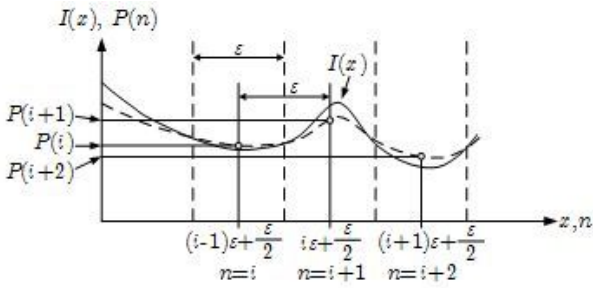


図1 既存手法における画素補間の概念

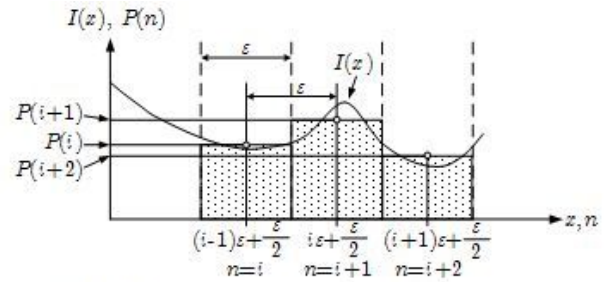
ただし、理解を容易にするために1次元の場合を示している。 $\varepsilon$ は撮像素子の大きさ(幅)であり、 $i$ は画素の番号である。また、実線 $I(x)$ は撮影対象(原信号)を示している。 $P(x)$ はこの原信号を観測して得られた画像データ(画素値)であり、 $(i-1)\varepsilon$ から $i\varepsilon$ を範囲とした $I(x)$ の積分平均である。図に示されているように、 $i$ 番目の画素値として座標 $(i-1)\varepsilon + \varepsilon/2$ に割り当てられる $P(i)$ は、一般に、原信号 $I((i-1)\varepsilon + \varepsilon/2)$ とは一致しない。したがって、従来手法のように、隣接する画素の画素値 $P(i), P(i+1), \dots$ を滑らかに接続する曲線(図中の破線)を推定し、補間画素の画素値を求めても、原信号 $I(x)$ を再現しているとは言い難い。

著者らが提案している画素値分布推定法は、入力となる元画像中の各画素の画素値を撮影対象(原信号)の観測値として扱う。すなわち、画素値(観測値)を、原信号中の対応する1点を表す点データではなく、ある一定領域から得られた領域データとして扱う。なお、従来の画素値推定手法では、隣接画素の画素値変化を近似対象としているのに対して、提案手法では、画像全体における画素値の積分値変化を近似対象としている。

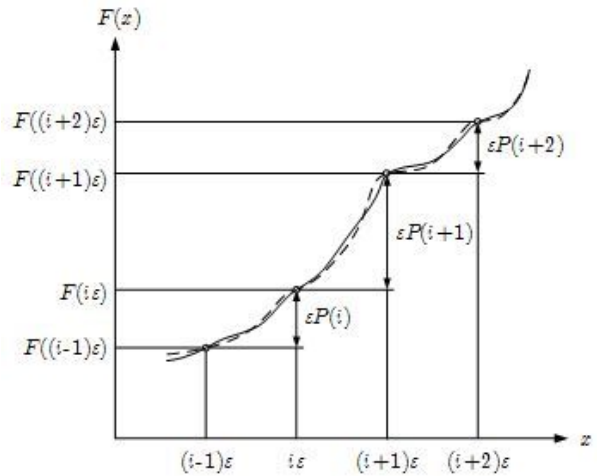
図2に提案手法における画素補間の概念を示す。ここで、 $F(i\varepsilon)$ は、原点から $i$ 番目の画素までの画素値積分を表している。

提案手法では、図2(a)に示すように、撮像素子の大きさ $\varepsilon$ を考慮して得られている画素値 $P(i)$ は、その画素領域内で捕捉された画像エネルギーの平均値であると考えられる。このとき、 $\varepsilon P(i)$ はその画素領域内で捕捉された画像エネルギーの総量であり、提案手法はこの総量を $F(x)$ とし、図2(b)に示すように入力画像から計算される離散関数 $F(x)$ を滑らかに接続

する曲線(図中の破線)を推定し、補間画素の画素値を求める。なお、図中の実線は原信号 $I(x)$ を積分したものを示している。



(a) Pixel values by averaging integration of image energy.



(b) Image interpolation based on integration value estimation.

図2 提案手法における画素補間の概念

以下、提案手法において基本的な概念となる画像エネルギーについて述べたあと、エネルギー保存を考慮した画素値分布推定手法の手順について述べる。

## 2.2. 画像エネルギーと画素値

連続な平面画像 $I$ について、原点から座標 $(X, Y)$ までの画素値を面積積分した $F(X, Y)$ は式(1)で表すことができる。

$$F(X, Y) = \int_0^X \int_0^Y I(x, y) dx dy \quad (1)$$

このとき、任意の点 $(X, Y)$ における画素値 $I(X, Y)$ が式(2)で与えられることは明らかである。

$$I(X, Y) = \frac{\partial^2 F(X, Y)}{\partial x \partial y} \quad (2)$$

ところで、画素を点ではなく小領域と考え、その小領域の幅および高さを $\varepsilon$ としたとき、 $x$ 方向に $i$ 番目、 $y$ 方向に $j$ 番目の画素における平均画素値 $\bar{I}_{ij}$ は $F_{ij} = F(i\varepsilon, j\varepsilon)$ とすると式(3), (4)で表せる。

$$\bar{I}_{ij} = \frac{1}{\varepsilon^2} \int_{(i-1)\varepsilon}^{i\varepsilon} \int_{(j-1)\varepsilon}^{j\varepsilon} I(x, y) dx dy \quad (3)$$

$$= \frac{1}{\varepsilon^2} (F_{ij} + F_{i-1, j-1} - F_{ij-1} - F_{i-1, j}) \quad (4)$$

したがって、画素の4隅における $F$ の値が既知であれば、画素内部における $F$ の分布によらず、平均画素値 $\bar{I}_{ij}$ は一定である。

### 2.3. 画素値分布推定

本節では、2.2.の定義に基づいて、画素値の面積積分 $F$ を推定する手法について述べる。

#### 2.3.1. 画素4隅における $F$ の決定

$F$ の定義式(1)より、 $x$ 軸上の任意の点 $(X, 0)$ について、式(5)が成り立つ。

$$F(X, 0) = \int_0^X \int_0^0 I(x, y) dx dy = 0 \quad (5)$$

$y$ 軸上も同様であるから、式(6)が成り立つ。

$$F_{i0} = F_{0j} = 0 \quad (6)$$

ここで、式(4)を変形すると式(7)が得られる。

$$F_{ij} = \varepsilon^2 I_{ij} + F_{ij-1} + F_{i-1, j} - F_{i-1, j-1} \quad (7)$$

したがって、 $i = j = 1$ から、式(7)に従って順次計算することにより、画像領域内の全ての画素について、その4隅の $F_{ij}$ を決定可能である。

#### 2.3.2. $F$ の補間

2.2.で述べたように、画素の4隅における $F_{ij}$ が既知であれば、どのような補間手法によっても平均画素値は保存される。しかしながら、制約条件を一切設定しない状況では補間関数の決定は困難である。そこで提案手法では、画素値の連続性を仮定し、B-Spline 曲面により補間する。

ただし、B-Spline 曲面は制御点により規定される曲面であり、一般には制御点を通過しない。従って、画素の4隅における $F_{ij}$ をそのまま制御点とすることはできない。そこで、制御点を $F_{ij}$ の定義点である画素4隅の各位置に、それぞれ対応する画素4隅の $F_{ij}$ を初期値として独立に設定する。その後、補間曲面が $F_{ij}$ を通るように制御点の値を補正する。

画像データの補間に適した B-Spline 曲面の次数は、拡大・縮小を対象とした場合、3次または4次が適当であるとの結果が実験的に得られている[5]。また、画素値 $I$ は $F$ の交差微分で与えられるので、

$n$ 次のB-Splineでは $I$ の $n-2$ 階微分までが連続である。

#### 2.3.3. 平均画素値の計算

変換後の画素の幅および高さが $\varepsilon'$ であるとき、平均画素値 $\bar{I}$ は、次式で与えられる。

$$\bar{I} = \frac{1}{\varepsilon'^2} \int_x^{x+\varepsilon'} \int_y^{y+\varepsilon'} I(x, y) dx dy \quad (8)$$

$$= \frac{1}{\varepsilon'^2} \int_x^{x+\varepsilon'} \int_y^{y+\varepsilon'} \frac{\partial^2 F(x, y)}{\partial x \partial y} dx dy \quad (9)$$

$$= \frac{1}{\varepsilon'^2} \{F(x+\varepsilon', y+\varepsilon') - F(x+\varepsilon', y) - F(x, y+\varepsilon') + F(x, y)\} \quad (10)$$

したがって、座標変換後の画素の4隅における $F$ の値を補間曲面により求めることで、容易に平均画素値 $\bar{I}$ を算出可能である。ただし、ここでの $F$ には2.3.2.で推定した値を用いる。

### 3. 画像の射影変換

#### 3.1. 射影変換の考え方

射影変換に対する提案手法と従来手法の考え方の違いをまとめる。従来手法においては、変換後の画像上の各画素点について、変換前の画像上における座標を計算し、変換前の画像上の対応画素点の画素値を内挿することによって射影変換を実現している。これに対して提案手法においては、変換後の画像上の各画素領域について、変換前の画像上における座標を計算し、変換前の画像上の対応画素領域の画像エネルギーを積分することによって射影変換を実現している。すなわち、従来手法が変換後画像、元画像ともに画素点について考えているのに対して、提案手法では、その双方において画素領域について考えていることが大きな違いとなっている。このことから提案手法は、座標変換による画素領域の変形に対応した領域を定義し、その領域内の積分計算を行うことさえできれば、適用可能ということができる。すなわち、文献[5]では拡大・縮小について、文献[6]では線形変換について検討しているが、2.で述べた提案手法は、一般の射影変換に対しても適用可能である。しかし、画像の座標変換を行う際、座標変換後の座標系 $\xi-\eta$ が座標変換前の座標系 $x-y$ に平行でない場合には、煩雑な数式処理が必要となる。

そこで線形変換を扱っている文献[6]では、式(9)を用い、ガウス・ルジャンドルの数値積分により平均画素値を計算する手法を提案している。射影変換への適用に際してもこの計算手法が基本となる。以下、まず線形変換における計算手法について述べた後、射影変換への適用手法を述べる。

### 3.2. 線形変換における平均画素値[6]

画像内の点  $(x, y)$  が式(11)の線形変換により  $(\xi, \eta)$  に写像されるとする。

$$\begin{pmatrix} \xi \\ \eta \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} a_1 & a_2 \\ b_1 & b_2 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} x \\ y \end{pmatrix} \quad (11)$$

このとき、元画像の微小面積  $dS$  は微小面積  $dS'$  に写像され、その面積比は式(12)で表される。

$$\alpha = \frac{dS'}{dS} = |\Delta| \quad (12)$$

ここで、 $\Delta = a_1 b_2 - a_2 b_1$  である。

画像エネルギーが保存されるとすれば、変換前後の画素値  $I$  と  $I'$  の間には、式(13)の関係が成り立つ。

$$I dS = I' dS' \quad (13)$$

この関係より、式(14)が得られる。

$$I' = \frac{I dS}{dS'} = \frac{I}{\alpha} = \frac{1}{\alpha} \frac{\partial^2 F}{\partial x \partial y} \quad (14)$$

変換後の画素の幅および高さが 1 であるとき、 $\xi$  方向に  $i$  番目、 $\eta$  方向に  $j$  番目の画素の画素値  $I'_{ij}$  は式(15)、(16)で求めることができる。

$$\bar{I}'_{ij} = \int_{-1}^i \int_{-1}^j I'(\xi, \eta) d\xi d\eta \quad (15)$$

$$= \int_{-1}^i \int_{-1}^j \frac{1}{\alpha} \frac{\partial^2 F(x(\xi, \eta), y(\xi, \eta))}{\partial x \partial y} d\xi d\eta \quad (16)$$

### 3.3. 数値積分による平均画素値計算[6]

3.2. で述べたように、線形変換後の画素値  $I'$  を求めるには式(16)の積分計算が必要である。しかしながら、任意の一次変換について解析的にこの積分値を求めることは困難である。そのため、有限要素法による数値積分を行う。提案手法ではガウス・ルジャンドルの数値積分法を用いる。ガウス・ルジャンドルの数値積分は、面積分について、式(17)で表される。

$$\int_{-1}^1 \int_{-1}^1 f(x, y) dx dy = \sum_{k=1}^m \sum_{l=1}^m w_k w_l f(p_k, p_l) \quad (17)$$

ここで、 $m$  は分点数、 $p_k$  ( $k=1, \dots, m$ ) は分点、 $w_k$  は重みである。また、式(17)では積分範囲が  $[-1, 1]$  であるので、 $s = 2(\xi - i + 1/2)$ 、 $t = 2(\eta - j + 1/2)$  と置換すると、式(16)は式(18)、(19)と変形できる。

$$\bar{I}' = \int_{-1}^i \int_{-1}^j \frac{1}{4\alpha} \frac{\partial^2}{\partial x \partial y} F\left(x\left(\frac{s-1}{2} + i, \frac{t-1}{2} + j\right), y\left(\frac{s-1}{2} + i, \frac{t-1}{2} + j\right)\right) ds dt \quad (18)$$

$$= \sum_{k=1}^m \sum_{l=1}^m \frac{1}{4\alpha} w_k w_l \frac{\partial^2 F(x(\xi_k, \eta_l), y(\xi_k, \eta_l))}{\partial x \partial y} \quad (19)$$

ここで、 $\xi_k = (p_k - 1)/2 + i$ 、 $\eta_l = (p_l - 1)/2 + j$  である。また、元画像の  $F(x, y)$  は B-Spline 曲面で近似されているので、座標  $(x, y)$  を指定すれば、その偏微分は容易に計算できる。

### 3.4. 射影変換における平均画素値

線形変換においては、画素形状の変形はなく、変換後画像中の各画素の画素エネルギーを決定する元画像中の面積はいずれも同一である。しかしながら、射影変換においては、対応する元画像中の面積は画素によって異なる。ここで、提案している画素値推定手法は画像エネルギーを保存するものである。そのため、変換により元画像の画素が集約される画素(縮小領域)についてはエネルギー総量が増大し、拡散される画素(拡大領域)についてはエネルギー総量が減少する。すなわち、変換後画像においては、それぞれ画素値の増大、減少が発生することになる。

画像内の点  $(x, y)$  が式(20)の射影変換により、 $(\xi, \eta)$  に写像されるとする。

$$\begin{cases} \xi = (a_1 x + b_1 y + c_1) / (\alpha x + \beta y + 1) \\ \eta = (a_2 x + b_2 y + c_2) / (\alpha x + \beta y + 1) \end{cases} \quad (20)$$

式(20)より、式(21)が得られる。

$$\begin{pmatrix} -\alpha\xi + a_1 & -\beta\xi + b_1 \\ -\alpha\eta + a_2 & -\beta\eta + b_2 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} x \\ y \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \xi - c_1 \\ \eta - c_2 \end{pmatrix} \quad (21)$$

すなわち、変換後画像内の点  $(\xi, \eta)$  に相当する元画像内の点  $(x, y)$  は、式(22)により求められる。

$$\begin{pmatrix} x \\ y \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -\alpha\xi + a_1 & -\beta\xi + b_1 \\ -\alpha\eta + a_2 & -\beta\eta + b_2 \end{pmatrix}^{-1} \begin{pmatrix} \xi - c_1 \\ \eta - c_2 \end{pmatrix} \quad (22)$$

これにより、元画像内の対応点の座標が求められ、その座標における画素値を求めれば変換画像を生成することができる。

ところで、一般に変数変換を行う場合、その微小要素の面積変化はヤコビアン  $J$  で表される。式(22)におけるヤコビアン  $J$  は、式(23)で求められる。

$$J = \begin{vmatrix} \frac{\partial x}{\partial \xi} & \frac{\partial y}{\partial \xi} \\ \frac{\partial x}{\partial \eta} & \frac{\partial y}{\partial \eta} \end{vmatrix} \quad (23)$$

提案手法では、線形変換における計算方法として3.3. で述べたガウス・ルジャンドルの数値積分をそのまま用いる。式(16)における  $\alpha$  とヤコビアン  $J$  との関係は、 $1/\alpha = J$  で表される。よって、各分点における計算に際して、式(23)により求められるヤコビアン  $J$  を式(16)中の  $1/\alpha$  に置換することで、座標変換における画素面積変化を考慮した射影変換が得られる。画素面積変化を考慮し、ヤコビアン考慮の有無による変換画像の違いの例を図3に示す。

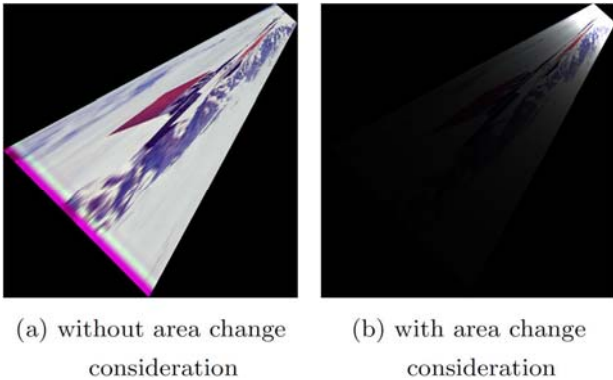


図3 画素面積変化考慮の有無による差異の例

図中(a)は、元画像中の対応する座標における画素値を従来型の補間により求めたものである。一方の(b)は、射影変換における画素面積変化を考慮し、ヤコビアンによるスケーリングを行った、元画像のエネルギーを保存したものである。(a)は、画像の射影変換結果としては適当といえる。しかしながら、エネルギー保存の観点からは、元画像が保持する画像エネルギーを変化させない(b)が適切である。そこで提案手法では、後者の画像エネルギーをそのまま維持するため、前者の見た目を維持する画像と併せ、画像エネルギーを保存した後者のデータを保持する。この保持

には、極度に集約または拡散した際のデータ保持のため、倍精度で画素値を保存する。

倍精度画素値データは、元画像の画像エネルギーをそのまま保存している。すなわち、このデータを基準として逆変換を行えば、元画像の復元が原理的に可能である。一方の図3(a)の画像では、元画像における画素値に関する情報が失われており、同様に逆変換を行っても元画像の完全な復元は保証できない。

#### 4. 検証実験

画像の射影変換における提案手法と従来手法との画質について、評価実験を行った。

##### 4.1. 実験方法

提案手法で用いる B-Spline 曲面の次数は、文献[5]において得られた結果である3次とした。また、ガウス・ルジャンドルの数値積分における分点数については、文献[6]において得られた結果に従い、補間に用いる B-Spline 曲面の次数と同数である3点とした。実験用画像としては、標準画像データベース SIDBA (Standard Image Database) [7] から、Airplane を用いた。画像は 24 ビット、256×256 ピクセルである。実験はまず、元画像の 4 隅の座標 (0, 0), (0, 256), (256, 256), (256, 0) をそれぞれ (0, 127), (127, 256), (256, 17), (237, 0) に射影する射影変換を行った。図4に射影変換の例を示す。

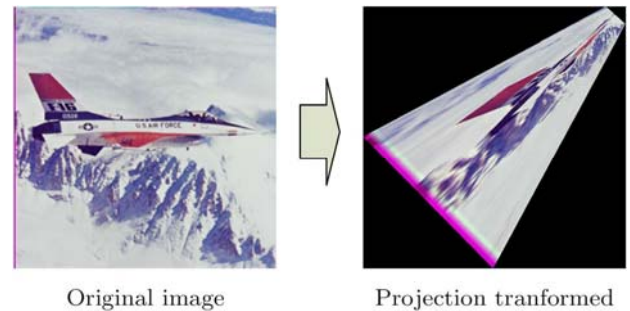


図4 射影変換例 (Airplane)

なお、この射影変換は、元画像右側を極端に小さく圧縮する形の変換である。そのため、画素数圧縮の影響による精度低下を軽減するために、4×4 倍への拡大を同時に行った。その後、得られた射影変換後画像を基として、改めて原画像と同じ 256×256 の画像へ逆変換を行った。

評価は、逆変換によって得られる画像と元画像との画質評価を行い、従来の補間点選定法による結果



との比較実験を行った。画質評価は、最終的に生成された 256×256 の画像と元画像とを PSNR 値および SSIM 値[8]で定量的に比較した。

#### 4.2. 実験結果および考察

実験結果を表 1 に示す。表中の記号 PVI33 が、B-Spline の次数 3、分点数 3 の提案手法、PVI33j は画素面積変化を考慮して射影変換画像データを倍精度とした場合を示している。また、NN はニアレストネイバ法、BL はバイリニア法、BC はバイキュービック法、LC3 は n=3 の Lanczos 法をそれぞれ示している。表より、SSIM 値、PSNR 値ともに提案手法である PVI33 および PVI33j が従来手法より高い値となっていることが確認できる。この結果より、提案手法により高精度に元画像が復元できることが確認された。また、PVI33 と PVI33j を比較すると、他の SIDBA 画像について一部で RGB での PSNR 値の逆転が見られたが、ほぼ全てについて、ヤコビアンを考慮した PVI33j が考慮しない PVI33 より良い値となっていることが確認できた。

表 1 従来手法と提案手法との比較

Image	Method	SSIM(%)		PSNR(dB)	
		RGB	YUV	RGB	YUV
Airplane	NN	91.97	95.76	26.60	30.89
	BL	93.62	96.99	29.58	33.93
	BC	94.74	97.70	30.61	35.13
	LC3	94.65	97.75	30.70	35.28
	PVI3	95.92	98.27	32.97	37.41
	PVI3j	95.94	98.30	33.02	37.52

生成された画像を確認すると、射影変換の際に元画像の縮小(エネルギー集約)が発生する右側部では、いずれの手法においても復元精度の低下が明らかであった。しかしながら、提案手法である PVI33 および PVI33j の結果においては、LC3 などで見られる輪郭部の過剰なコントラスト強調などの影響も少なく、また、元画像における滑らかな画素値変化が比較的再現できていることを確認した。これより、提案手法である PVI33 および PVI33j の SSIM 値、PSNR 値の向上に寄与していると考えられる。

#### 5. おわりに

本研究では、報告者らが提案しているエネルギー保

存を考慮した画素値分布推定手法において、射影変換を行う際を考慮した新たな手法を提案した。提案手法では、画像を画像エネルギー分布とみなし、画像データの射影変換に際してエネルギー保存を前提として定式化し、そのエネルギー推定として B-Spline 曲面によって推定する。また、推定に用いる B-Spline 曲面の偏微分の積分値を求める際にガウス・ルジャンドルの数値積分を用いている。本報告における提案手法は、既に提案している線形変換手法の基本概念を適用し、画素面積変化に相当するヤコビアンを考慮している。広く一般的に用いられている画素補間手法との比較実験として、射影変換後に逆変換によって元画像を復元する性能実験を行った結果、SSIM 値および PSNR 値の評価においていずれも良好な結果を得た。推定関数としてさらに良好な関数に関する検討、提案手法の応用に関する検討が今後の課題である。

#### 参考文献

- [1] ITU-R, "Parameter Values for UHDTV Systems for Production and International Programme Exchange", Recommendation ITU-R BT.2020, Aug. 2012.
- [2] 高木幹雄, 下田陽久, 新編 画像解析ハンドブック, 東京大学出版会, 東京, 2004.
- [3] R. G. Keys, "Cubic Convolution Interpolation for Digital Image Processing", IEEE Trans. on Acoustic, Speech and Signal Processing, Vol. 29, No. 6, pp. 1153-1160, Dec. 1981.
- [4] C. E. Duchon, "Lanczos Filtering in One and Two Dimensions", Journal of Applied Meteorology, Vol. 18, No. 8, pp. 1016-1022, 1979.
- [5] 山内 仁, 尾崎公一, 佐藤洋一郎, 福田忠生, 小武内清貴, "エネルギー保存を考慮した画素値分布推定法", 信学技報, Vol. 113, No. 20, IE2013-6, pp. 29-34, Apr. 2013.
- [6] 山内 仁, 尾崎公一, 佐藤洋一郎, 福田忠生, 小武内清貴, "エネルギー保存を考慮した画像の線形変換法", 信学技報, Vol. 113, No. 211, IE2013-44, pp. 91-96, Sep. 2013.
- [7] 坂内正夫, 大沢 裕, 曾根光男, 尾上守夫, "画像処理研究用標準画像データベース SIDBA の運用について", テレビジョン学会技術報告, Vol. 8, No. 38, pp. 7-12, Dec. 1984.
- [8] Z. Wang, A. C. Bovik, H. R. Sheikh, and E. P. Simoncelli, "Image Quality Assessment: From Error Visibility to Structural Similarity", IEEE Trans. on Image Processing, Vol. 13, No. 4, pp. 600-612, Apr. 2004.

## 実感を伴う水害用デジタル避難ガイドの開発

岡山県立大学デザイン学部

齋藤 美絵子

水害に関するハザード情報の提供形態としては、全国の自治体に作成・公開が義務付けられている洪水ハザードマップが安定供給されているツールといえる。しかし、現状のハザードマップは個々の利用者の実感にあったものとはなっておらず、記載されている情報を読み取ることはユーザにとって困難と考えられる。

本研究では、実感を伴う水害用デジタル避難ガイドの開発の前半部分として、印刷物による洪水・土砂災害ハザードマップには「状況別に異なるはずの避難所情報の抽出が困難である」という問題があることをアンケート調査および学生ディスカッションにより明らかにし、その問題を解決するために、利用者の条件・状況に合わせて適切な避難所を容易に電子地図上に視覚化できるインタラクティブな電子洪水ハザードマップについて検討し、実装について述べる。

### 1、はじめに

洪水・土砂災害ハザードマップは、洪水発生時に想定される浸水や土砂災害、避難に関する情報を地図にまとめたものであり、洪水氾濫の発生を前提に、住民の避難を促すことで人的被害を軽減することを主な目的としている。ハザードマップの効果を最大限に発揮するためには、全ての住民がハザードマップを認知し、その記載内容を十分に理解することを通して、洪水・土砂災害に関する住民間のリスク・コミュニケーションの手段として活用される必要がある。

これまでのハザードマップは、印刷物やそれを PDF ファイルに変換してインターネットで公開するといった、紙または静止画のものが主流であったが、今日、徐々に GIS(地理情報システム)による電子ハザードマップを目にするようになってきた。大分県国東市<sup>1</sup>が公開している電子ハザードマップは、洪水想定区域や土石流危険箇所など、表示させたい項目を選択することで該当区域が GoogleMap に表示されるようになっている。他にも多くの自治体が電子ハザードマップを公開しており、岡山県でも全県統合型 GIS<sup>2</sup>の中で災害情報が公開され電子ハザードマップと同様の役割を担っている。しかし、それらのほとんどは情報を種類別レイヤに分け、表示・非表示を選択する機能のみであり、多量の図形データの読み込み等のために表示に時間がかかるものも多い。

また、財団法人河川情報センターが発表した『GIS

版洪水ハザードマップの試作』<sup>3</sup>では、浸水報告地点とその観測時間を入力することで、現在および一定時間後の浸水範囲を想定・表示され、さらに浸水想定範囲が避難勧告や避難指示の発令時期であるかを判断して、避難方向、避難施設とともに表示される。この電子ハザードマップの良いところは、実際に災害が起こった際に、災害状況に合わせた避難行動および予想される被害をリアルタイムに知ることが出来る点である。本研究はこれと異なり、被害が起きる前に、適切な避難行動を検討・習得するツールとしての電子ハザードマップを対象とする。

### 2、研究の目的

従来の印刷物または静止画によるハザードマップの現状において総社市が発行する「洪水・土砂災害ハザードマップ<sup>4</sup>」を具体的な事例とし(図1)、アンケー

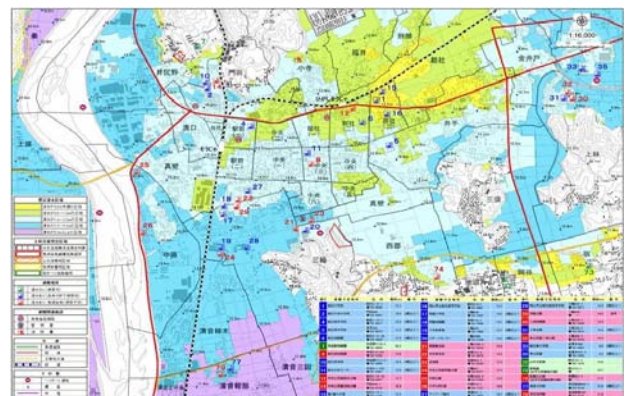


図1 総社市洪水・土砂災害ハザードマップ(印刷物)

ト調査を中心に問題点を抽出する。その結果を用い、利用者にとって内容理解が容易な「電子版 洪水・土砂災害ハザードマップ」を開発する。

### 3、現状のハザードマップの問題

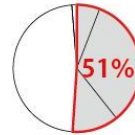
静止面の洪水・土砂災害ハザードマップにおいて、どのような問題があるのか、アンケート調査により抽出した。被験者は、岡山県在住の18歳から42歳の男女240名で、質問に対してあらかじめ用意しておいた5段階の回答の中から最も近いものを選択するという回答方法とした。紙のハザードマップ(図1)から、直感的に情報を読み取ることができるかという質問では、51%の人が「わからない～全くできない」という結果であった。被験者の年齢層は、本来、最的確に地図を読み取って欲しい層であるから、この結果は好ましいとは言えない。また、掲載されている浸水や土砂災害の想定情報などから被災状況が想像できるかを調べる質問では、64%の人が「わからない～全くできない」という結果であった。被害についてイメージすることが困難であるということは、避難行動についてもイメージできないということに繋がる。実際にハザードマップを見ることで被災時の行動を考え見ようと思う人は約半数しかいなかった。(図2)

また、自由記述欄には次のような指摘があった。

- ・避難施設の番号を見つけるのが困難
- ・避難施設の外観がわからない
- ・避難施設の個別条件が分かりにくい
- ・水害時に使用できない施設も同等に掲載されている
- ・全体的に情報量が多く読み取りにくい
- ・色と浸水深情報の関係が分かりにくい
- ・浸水の深さが実感できない
- ・地図上の距離感がつかみにくい
- ・被災時にどのように行動したらよいかわからない

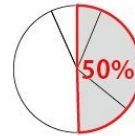
このような個別の意見から読み取れたことは、利用者が情報を得ようと思っても、必要な情報がなかなか見つけ出せない・知りたい情報が掲載されていない・不要な情報が掲載されている等の「情報量や表示の過不足に関する問題」と、浸水深の実感や地図上の距離

Q1. 図1から直感的に情報を読み取ることができますか？



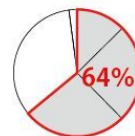
全くできない	(14名)	6%
あまりできない	(81名)	34%
わからない	(28名)	11%
ややできた	(114名)	48%
かなりできた	(3名)	1%

Q2. 図1から情報を読み取る気持ちになりますか？



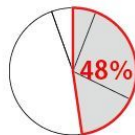
全くならない	(15名)	6%
あまりならない	(71名)	30%
わからない	(33名)	14%
ややなった	(105名)	44%
かなりなった	(16名)	6%

Q3. 図1を見て被災状況が想像できますか？



全くできない	(30名)	13%
あまりできない	(60名)	25%
わからない	(64名)	26%
ややできた	(81名)	34%
かなりできた	(5名)	2%

Q4. 図1を見て被災時の行動を考えてみようと思いますか？



全く思わない	(14名)	6%
あまり思わない	(63名)	26%
わからない	(38名)	16%
やや思う	(112名)	47%
とても思う	(13名)	5%

図2 印刷物によるハザードマップの評価

感など「避難行動の手がかりとなる情報が得られない問題」である。

前者の理由として、当該ハザードマップは、市全域を18のエリアに区分けし、それぞれのエリアごとに、『想定浸水区域(5段階)・土砂災害想定区域(5種類)・避難施設(数十カ所かつ使用条件3種類)・避難関連施設・交通情報・その他の情報』という多大な情報が、静止画という性質上、もれなく一様に記されており、利用者が自分に必要な情報のみを得ることが困難であることが考えられる。

後者の理由として、ハザードマップの見方(どこからどこへ避難するのかという状況設定)が利用者任せられており、実際には漠然とした見方しかできない利用者が多く、状況によって避難先の候補が異なるということを静止画で提示することが困難であるからだと考えられる。

このようなハザードマップが、洪水・土砂災害に関する住民のリスク受容の手段として活用されることは非常に難しい。

続いて、ハザードマップの電子化にあたり、デジタル環境の現状を調査するため、総社市民のスマートフォンやタブレット端末等の所有率や電子地図サービスの使用状況について、無作為に抽出した10代から70代までの総社市民189名にアンケートを実施した。この結果から、50代までの市民の約7割がスマートフォン等を所有しており、日常的に使用していることが分かった。また、電子地図についても60代以下の世代で平均5割以上の市民が使用しており、ハザードマップの電子化について、市民の受容環境が整っていることが明らかになった。

これらのアンケート結果とその分析を受け、先に述べた、既存の電子ハザードマップで実現されている「①表示情報量の加減機能」に加え、利用者の任意の位置を起点に、そこから避難できる「②優先度の高い避難施設の探索と表示」や「③避難施設の詳細情報が分かる機能」を備えること、さらに「④利用者が指定する任意の場所から優先度の高い避難所までの安全な経路探索機能」や「⑤利用者の状況に応じてその場に留まることや垂直避難を提案する機能」などが電子ハザードマップに必要であると考えた。本研究ではこれらのうち最初の3つについて実装した

なお、被害についてイメージすることが困難であるという問題についての解決策としてVR技術の活用などが考えられるが、これについては稿を改めて述べることとする。

#### 4、実装

本研究で開発する電子洪水ハザードマップはGISを利用し、次の3つの機能を持つ。①電子地図上に任意の想定災害地域または避難施設を表示する機能、②利用者の任意の位置を地図に示し、そこから避難できる避難施設を探し表示する機能、③表示された避難施設の詳細情報を示す機能である。

①の表示情報量を加減することができる機能は既存の電子ハザードマップと同様であるが、②と③については、既存の電子ハザードマップにおいて実装されているものは筆者らの知る限り見当たらない。

開発に必要な想定災害地域、避難施設、道路の情報は、総社市、国土交通省などが作成したオープンデータを利

用する。開発する電子洪水ハザードマップの全体構成を図3に示す。

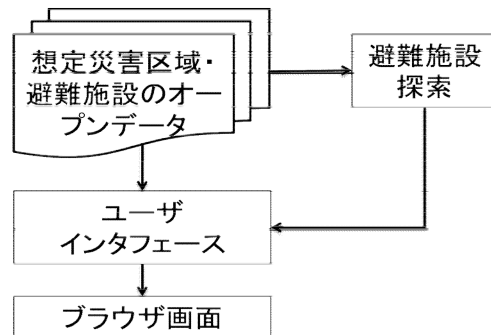


図3 全体構成

#### 4-1、オープンデータの利用

総社市の電子洪水ハザードマップを開発していくためには、総社市の想定浸水被害や避難施設の情報をまとめたデータが必要となる。それを用意するため、災害情報のオープンデータを利用する。オープンデータ（OpenData）とは、web 上にて誰でも二次利用可能なものとして公開されているデータのことであり、その種類は地理に関するものに限らず、医療や行政など様々な分野に関するものが存在する。

本研究では、総社市にある高梁川の氾濫による想定浸水区域、想定土砂災害区域、およびその際の避難施設のオープンデータを使用する。なお、使用するデータは総社市役所から提供していただいたもので非公開であるためオープンデータとは言えないが、このデータと同様のものが国土交通省のホームページ<sup>5</sup>より無料で入手できるので、本論文ではオープンデータとして記す。

総社市から提供されたデータの形式はシェイプファイル形式（.shp）であり、そのままのファイル形式では OpenLayers<sup>6</sup>で使用できない。そのため XML データの一種である KML ファイル形式（.kml）へと変換してから使用する。想定浸水区域、想定土砂災害区域のデータファイルは浸水深や土砂災害の種類別にファイルが分かれており、それぞれ該当する災害区域の経緯度情報がポリゴンデータとしてまとめられている。避難施設のデータファイルは避難施設の使用条件ごとにそれぞれ別のファイルにされており、それぞれ該当する避難施設の名称、住所避難施設としての登録番号、

電話番号、標高、経緯度の情報が施設ごとにまとめられている。

#### 4-2、ユーザインタフェース

OpenLayers ライブラリを利用して電子地図を土台に、5種類の想定浸水区域、同じく5種類の想定土砂災害区域、3種類の避難施設の計13種類をオープンデータから読み込み、レイヤとして定義・表示する。なお電子地図は、国土地理院発行の電子国土基本図<sup>※7</sup>を使用する。表示結果の例を図4に示す。



図4 電子洪水ハザードマップ基本画面

13種類のレイヤの表示・非表示の切り替えについては、電子地図の左側に13種類それぞれのチェックボックスを作成し、この操作によって利用者が任意に表示・非表示を切り替えられるようにする。

また、利用者の任意の位置を地図に示すため、利用者の位置を示す人型のマーカを表示する。利用者が地図の任意の場所を指定するとその経緯度情報を取得し、マーカの位置を更新する。一部の想定浸水区域および避難施設、利用者の位置を示すマーカが表示されている状態を図5に示す。

さらに、次項で説明する避難施設探索によって、利用が指定した位置から避難可能な避難施設が探索され、そこから返されたリストを利用して地図上にレイヤ表示の際とは異なる専用アイコンを表示する。その専用アイコンにマウスカーソルを合わせた時のみ、避難施設の名称・住所・電話番号・標高・指定された位置からの距離をポップアップとして表示する。

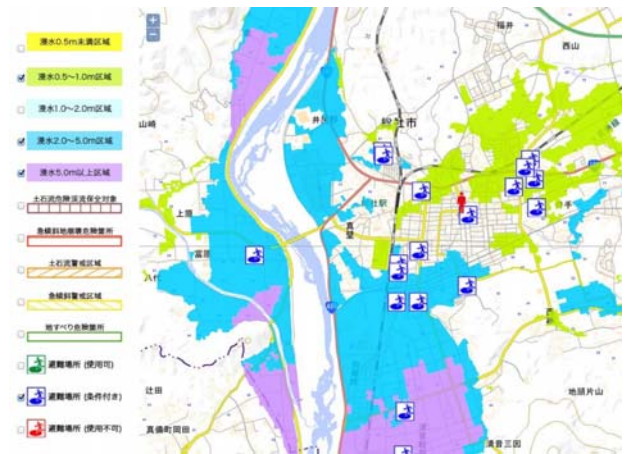


図5 利用者により情報表示が選択された画面

#### 4-3、避難施設探索

利用者が電子地図上で指定した位置を起点に、避難できる避難施設を検索するため、利用者が指定した位置の経緯度情報を受け取り、あらかじめ設定された条件を満たす避難施設を探索して緯度・経度等の詳細情報とともにリストにして返す。

避難施設を検索する際の条件として、【距離の条件】と【安全性の条件】の2つを用い、これらの両方を満たす避難施設のみを出力する。

##### 【距離の条件】

利用者の指定した位置（現在地）から2km以内に存在すること。利用者の指定した位置と避難施設との距離はこれら2地点の緯経度から計算する。尚、2kmと設定する理由は、自治体が発行している「洪水時避難計画」の多くで、避難行動時は車の使用は控え、原則徒歩で移動することとし、歩く速度は時速2km程度と想定されているからである。また、避難区域から避難施設までの移動距離は1時間以内に移動できる距離としているものが多い。しかしこれに関して、実際の避難行動としてあまり現実的な想定でないので改善すべきであるという意見もある。実際に2001年に土木学会にて発表された論文「実行性をもった洪水時の住民避難計画のあり方に関する検討」<sup>※8</sup>などで、上述の意見について述べられている。そのため、今後この数値は変わる可能性があるが、本研究ではこの数値を利用する。

## 【安全性の条件】

これは更に2つの条件に分けられる。一つ目は想定浸水深に達した場合であっても利用可能とされている避難施設のみを選ぶことである。これは避難施設によっては、想定浸水深に達すると完全浸水する（使用不可）、または浸水はするが2階以上なら利用できる（条件付き使用可）などの指定があるからである。もう一つは相対的な条件であり、利用者に指定された任意の位置の想定浸水深以下に存在する避難施設を選ぶことである。避難行動を行う際、その時居る場所より想定浸水深の深い場所へと避難することは、よりひどい災害に遭う可能性があり、かえって危険である。そのため、本研究によって開発された電子洪水ハザードマップを利用した利用者が、そのような状況に遭ってしまう可能性を減らすため、この条件を加える。

## 4-4、動作例

利用者が JR 総社駅を起点に指定した場合を例に説明する。駅から半径2 km 以内で、かつ、想定浸水深が起点と同等かそれよりも浅い場所にある避難施設のみが楔形アイコンで表示される。さらに、その専用アイコンの一つにマウスマウスカーソルを合わせると、避難施設の名称や起点からの距離などの詳細情報がポップアップ表示される。(図6)



図6 条件を満たした避難所と詳細情報を表示した画面

静止画のハザードマップにおいて、いくつかの避難

所を候補として比較検討するという見方は、掲載されている様々な情報を読み解く能力がなければできないが、本研究で実装した機能により、利用者にとって必要な情報のみをインタラクティブに提示することができ、利用者は膨大な情報に埋もれることなく容易に優先度の高い避難所情報を得ることができる。

## 5、まとめ

本研究ではインタラクティブな電子洪水ハザードマップを開発した。これにより想定災害区域や避難施設のオープンデータと GIS を組み合わせて、任意の地点を指定すると、その付近の使用可能な避難施設とその情報を知ることが出来る機能を実現した。従来の静止画では表現が難しかった段階的な情報提供が可能になり、利用者が必要な情報に容易にアクセスできるようになり、避難行動の手がかりとなる情報を得ることができるようになった。

現在、指定した位置から避難所までの経路探索を実装中である。これと併せて、提案した電子ハザードマップについて被験者実験を行い、有効性を検証したい。

## 参考資料

- \*1. 大分県国東市ハザードマップ  
<http://www.city.kunisaki.oita.jp/soshiki/somu/about-html.html>
- \*2. おかやま全県統合型 GIS  
<http://www.gis.pref.okayama.jp/map/top/index.asp>
- \*3. 財団法人河川情報センター「GIS 版洪水ハザードマップの試作」  
[http://www.river.or.jp/01kenshuu/sympo/h18/img/report\\_07.pdf](http://www.river.or.jp/01kenshuu/sympo/h18/img/report_07.pdf)
- \*4. 総社市洪水・土砂災害ハザードマップ(平成24年9月発行)  
[http://www.city.soja.okayama.jp/soumu/kurashi/bousai/bousaitaisaku/kouzuidosyasaigai\\_map\\_h2409.html](http://www.city.soja.okayama.jp/soumu/kurashi/bousai/bousaitaisaku/kouzuidosyasaigai_map_h2409.html)
- \*5. 国土交通省 国土数値情報ダウンロード  
<http://nlftp.mlit.go.jp/ksj/index.html>
- \*6. Openlayers  
<http://openlayers.org>
- \*7. 国土地理院 電子国土基本図  
<http://www.gsi.go.jp/kibanjoho/kibanjoho40025.html>
- \*8. 片田敏孝, 及川康「実行性をもった洪水時の住民避難計画のあり方に関する検討」公益社団法人土木学会, 論文集, 土木計画学研究・講演集, 2001

## 建築家ジェフリー・バワの建築言語に関する研究

岡山県立大学デザイン学部

岩本 弘光

本研究は現代建築の発展に大きな足跡を記した、スリランカ人建築家ジェフリー・バワ (Geoffrey Bawa : 以下、バワという。) の建築作品に関する建築言語と空間構成原理に関する研究を行い、モンスーン気候、稲作、仏教文化など、スリランカと建築の成立基盤を共有する我が国の建築意匠、建築計画の発展に寄与することを目的とする。1960年代のバワ初期4作品である、「ドクター・シルバ邸」、「イナ邸」、「ポロンタラワ・エステート・バンガロー」、「バンダラウエラのチャペル」は、バワ建築言語の原形と目される作品である。これらはバワ生涯唯一のパートナーであった、デンマーク人建築家ウルリック・プレスナー (以下、プレスナーという) との共作である。テル・アビブ在住のプレスナーに「ドクター・シルバ邸」の場所性、「イナ邸」の空間構成、「ポロンタラワ・エステート・バンガロー」の土着性、「バンダラウエラのチャペル」の架講と光の演出などについてインタビューを行い、バワの建築言語の生成過程と構成原理を明らかにした。(平成27年3月31日)

建築家バワは、20世紀モダニズム建築が忘れ去った土着的建築言語を再評価して、建築が拠って立つ風土や土着技術を慎重に見極めながら、岩、水、緑など根源的な自然要素と建築と新たな関係を構築することにより、スリランカばかりでなく南インドやバリで、土地に根差した建築デザインの可能性を実証した。こうした、バワの設計手法は、地域的・風土的であることが同時に建築の普遍性や汎用性に通じる、設計思想の原理的かつ始源的な方向性を指し示す結果となり、単なるローカリズムに墮することなく、20世紀モダニズムを乗り越えた。

バワは1960年代に建築家としての活動を開始し、2003年までの約40年間に100余りの建築作品を残したが、とりわけ初期60年代の作品群は、バワの建築思想と建築言語の原形が表出している。

従って、本研究では、60年代の作品群のなかで特に重要と思われる、「ドクター・シルバ邸」、「イナ邸」、「ポロンタラワ・エステート・バンガロー」、「チャペル・フォー・グッドシェファード・コンベント」の4作品に絞って調査研究を行った。

この4作品は、バワが生涯唯一のパートナーとした、デンマーク人建築家ウルリック・プレスナー (以下、プレスナーという) との共作である。

そこで、2014年11月2-3日、テル・アビブ在住のプレスナーを現地訪問して、「ドクター・シルバ邸」のオープン・プランニングと場所性、「イナ邸」の中庭空間構成と伝統的シンハラ建築との関係性、「ポロンタラワ・エステート・バンガロー」の巨岩と土着的仏跡空間との相関、「チャペル・フォー・グッドシェファード・コンベント」の建築架講と内部空間の光の演出との関係などについてインタビューを行い、バワとプレスナーの建築言語の構成原理を明らかにした。以下、4作品各々について個別に記述する。

### 「ドクター・シルバ邸」

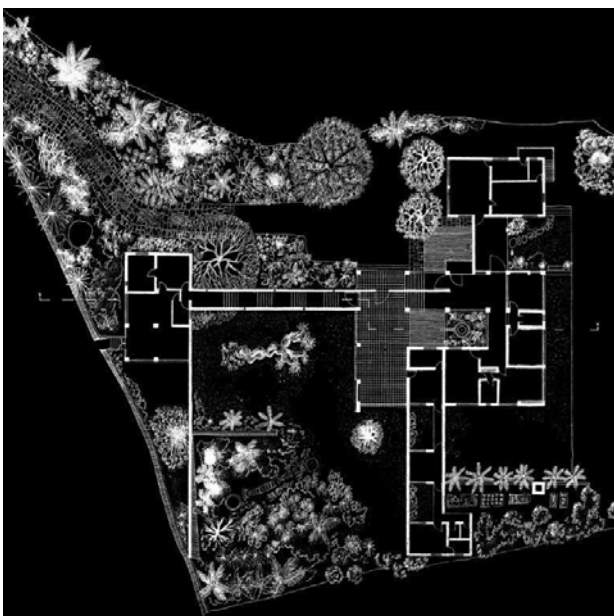
この作品はスリランカ南端の港街ガッラの北隅にあって、緩やかな丘の斜面敷地に建つ診療所兼用住宅で1960年に完成した。施主は外科診療所を開業しようとする若い医師で、これまでスリランカには存在しなかった新しいタイプの住宅が生まれた。

建物は傾斜地をいかした配置が特徴で、敷地に部屋を「ばら撒いて」それらの中庭、コリドールや壁などで連結した開放的な「オープン・プランニング」となっている。初めてバワを世界に紹介したB・B・テイラーは、著書「Geoffrey Bawa」の中で、この建物のプランを取り上げて、ミースが1924年に発表した「煉瓦造田園住宅計画案」を想起させると指摘している。また、「Geoffrey Bawa Complete Works」を著したD・ロブソンも同様の指摘しており、この建物がミースの計画案に色濃く影響されているとの理解が定着している。こうした建物の理解についてプレスナーは、以下のように回答した。

「ミースとは関係ない。この住宅は私が子供のころ父親に連れられて”ポール・ヘニングセン”の家に行った時とても感銘を受けたのだ。グレアのない照明器具を設計したあのポール・ヘニングセンだ。ポ



ドクター・シルバ邸住宅玄関（竣工当時の様子）



ドクター・シルバ邸 平面図

ールは父親の友人で、私と同じデンマーク王立アカデミーで建築を学んだ後、インダストリアル・デザインを始めたのだ。彼の家はちょうどこの家のような傾斜地に建っていて、ステップが続く家全体を一つの大屋根でくくっていた。そこで、この家ではポール邸の記憶をアレンジするいい機会だと思いついてあの断面にしたのだ。建物は湿気をつよすりランカの風土を考慮して、どの部屋にもまんべんなく採光や通風が得られ、外の景色が眺められるようにそれぞれの部屋に庭を配置した。」

敷地には診療所と住宅それぞれに独立した入口があり、斜面下から上に向かってアプローチする。斜面下の道路脇にある診療所と、斜面上の住宅はゆったりした中庭を挟んで別棟になっているが、北側のトンネル状回廊で連結されている。診療所は中庭に面した強固な意志を表すかのような長い壁によりくっきりと区画されて、住宅のプライバシーが守られている。診療所から住宅に続く壁に囲まれた薄暗い階段の回廊を登りきると、堰を切ったように住宅の開放的な中央コートヤードに解き放たれる。メインエントランス周りの水盤と光庭を囲むコートヤードの空間構成は絶妙な光の濃淡を見せており、柔らかな光に誘われて、その先のリビングや寝室に知らず引き込んでいく、シークエンスの連続が特徴的な空間構成となっている。

#### 「イナ邸」

スリランカの伝統建築とモダニズムが融合した、「スリランカ建築の近代化」を刻印した歴史的名作で1962年に建てられた。イギリス植民地から独立後のコロomboに押し寄せる急速な都市化と、鉄などの建築資材の輸入統制や価格高騰などの困難な時代を背景にして、スリランカ土着のシンハラ建築やダッチコロニアル様式などに共通する中庭形式の住居を、モダンで洗練されたコートヤードハウスに衣替えして都会によみがえらせた。

島の文化や伝統を体現した新しい建築と近代的な暮らしの提言に、多くの人に称賛を浴びて彼らの評



価を決定付けた。恐らく、バワとプレスナーが自分たちの建築にある種の確信を得た作品と目される。この家は建築家と施主イナを2つの焦点として、楕円を描くようにして生まれた。スリランカの文化人達がイギリス植民地時代に受けた高等教育が、豊かな知性とインターナショナルな世界観を育んで自国文化への伝統回帰を呼びおこし、施主と建築家双方が確かな美意識を共有して実現した建築である。

ウルリックは「イナ邸」の設計思想について、次のように述べている。

「コロomboでは昔から1エーカー以上の広い土地に家を建てていた。しかし、近代化するにつれて敷地が1/2や1/4エーカーに小さくなった。その結果、以前は敷地の周りに木を植え家を敷地の中心に据えてプライバシーを守っていたがそのやり方ができなくなった。そこで、敷地周囲に高い壁を建ててプライバシーを守り、壁の中に庭をつくって通風や採光を確保し、窓は菱形格子をはめて通風とセキュリティを確保したのだ。当時このような家は一軒もなく、イナ邸がコロomboで最初だった。全く新しいアイデアだった。しかし、その後、皆がこの家のスタイルを真似るようになって、コロomboの街並みは高い壁で要塞のようになってしまったのは良くなかった。」

都会に自然があふれた田舎暮らしを持ち込もうとするコートヤードハウス形式のこの家は、道路に面したオフィス棟、奥に位置する住居棟、それらをつなぐサービス棟の3棟が、中央の大きなコートヤード



イナ邸中庭（竣工当時の様子）

ドをコの字型に囲んだ簡潔な構成となっている。

敷地の最前列には間口一杯建てられた5本柱の列柱廊とそれに続くベランダの構成が、道路とのバッファゾーンとなって家全体を守っており、その奥の1階建てのオフィス・駐車場棟に到る。オフィスの細い路地をからは、広く明るいコートヤードからダイニングルームまで見通すことのできるビスタが真っ直ぐ貫かれていて、劇的な空間効果をもたらしている。オフィス棟と住居棟をつなぐ長い壁の裏側には細長いサービス棟があり、オフィス棟と住居棟から視線が届かないよう巧妙に配置されている。

家は湿気の多いスリランカの風土に配慮をして、全ての部屋に2ヶ所の開口部を設けて自然換気を促している。断面図からは日本の「庫裡」と同様に、垂木を伸ばして棟木上部の2重屋根のスリットから自然換気を促進したことが見て取れる。彼らの設計手法は、島の風土を正確に読み解き、スリランカの伝統とモダニズムを土着の建築言語で融合させて、「スリランカ建築の近代」を切り拓いた。

「チャペル・フォー・グッドシェファード・コンベンント」

1962年、街から逃れるように郊外の山頂に建てられた教会からは、北側の谷をはさんで反対側の丘を借景として望むことができる。敷地は東側の内陣に向かって穏やかに傾斜しており、教会内部の床は土地そのままに内陣にむかって勾配がついている。

道路側からみる教会の外観は、地元産の黒御影石を荒々しくL字型に積み上げたフォルムをみせており、組積壁はライズの低い5つのアーチに支持されている。

L字型の塔上部から突出した数本のガーゴイルが強い日差しに照らされて、組積壁に向かって投げかける強烈な陰影が印象的である。肉厚の組積造で閉ざされた様子の外観からは、ロマネスク期のシトー派修道院に似た禁欲的で抑制的な印象を受けるが、安らぎを覚える空間でもある。

教会の中に入ると、息を飲むような内部空間が眼に飛び込んでくる。外観から見えた粗石壁は南側片面だけに積み上げられており、左手北面は全面にガラスがはめ殺されて、薄ぼんやりした光を室内に投げかけながら、遠くの丘と庭の緑を映し出している。ガラスには3本の十字架が、背光をバックにくっきりとしたシルエットを浮き立たせて内部空間を支配しており、記憶を探っても類似の教会空間を思い出すことができない。

注意深く十字架を観察すると、十字架のタテ材は折上げ天井の起点と一致しており、小屋組み梁との接合が予測される。教会はひどく大胆な構造である。南外壁と内陣が粗石組積造、南面のフレームは鉄筋コンクリート造で、小屋は木造による混構造である。教会の平面はバロック教会に近い印象の単純な矩形平面を、身廊と内陣に2分割した形式となっている。プロセニウムに縁取られた組積造の内陣内部は、天井に全面ガラスを張ったトップライトから強烈な光がキリスト像に投げかけられていて光の陰影が鮮やかだ。

身廊右側の組積壁は外壁本体から「腰壁」が15センチほど離れた独立壁になっていて、壁全長に水平方向の細長いスリットを形成している。このスリットからは南道路の反射光が仄かに入り込んで、壁を下から薄墨のように上方になぞっている。教会内部の光の演出は明快である。内陣は「上」から降り注ぐ神聖な強い光、南面からは直接光を遮断しつつ



チャペル内観（竣工当時の様子）

スリットから「下方」の間接光を取り込み、北面のガラスからは終日安定した「横」からの柔らかな光を風景と共に教会いっぱいに取り込むことにより、内陣のドラマチックな陰影を主役にして、抑制かつダイナミックな光の演出を周到に計画したことが解る。教会を混構造にせねばならない理由は、光の構成にあることは明瞭である。

ウルリックは架講と光の関係を次のように述べている。「チャペルはテクニカルにはとてもシンプルな建物だ。手前は現地で採れた御影石を積んで中にコンクリートを流し込んだ。奥の十字架の躯体は鉄筋コンクリート造で、外側は木の板でカバーしているだけで木造ではない。十字架をつなぐ梁も鉄筋コンクリート造で木のカバーをした。北側は全面ガラスにして向こうの丘を見せている。北側からの光が教会全体に満ちているが、直接光は祭壇だけにした。床は土地なりに1.2m落差の水が流れるような傾きがあつて祭壇に向かっていて、内陣に空間の焦点をあてた。」

「ポロンタラワ・エステート・バンガロー」建物と呼んでいいのかすら疑問が残るこのバンガローは、その姿や空間特性を写真から把握することは至難である。そもそもこのバンガローは図面なしで作られ、現存する図面は後に作図された。バンガローは、中央のリビングルーム、玄関脇のキッチン、リビングの奥に位置する主寝室とゲストルームの3棟で構成されている。敷地をぐるりとかこむ野獣避け堀の道路に面した門をくぐると、眼前には山のような巨岩がゴロゴロと転がっているだけで、ここにバンガローがあることは皆目判らない。巨岩を回り込んで階段を下りると、ようやくリビングルームの巨大な空間が姿を現す。絶妙なアプローチと劇的に変化するシークエンスの連続がダイナミックな空間構成となっている。

中央のリビングルームは約10mスパンの巨石間に、鉄筋コンクリート製の大梁1本を架け渡してメ

インフレームとし、建物外側の木造架構と間に木製垂木を架け、切り妻型のシェルターを構成して内部空間を形成している。建物外側の列柱には建具がはめられておらず、内部が外部に吹き放たれていて内外空間の別がない。

ミヒンタレーなどの古都が位置するスリランカ北部乾燥地帯は、ほぼ平坦で山らしい山はあまり見当たらないが、平原に突如として巨大な岩が出現して周辺環境を支配している。有名なシーギリアロックはその典型例であるが、古代よりこうした巨岩はスリランカ人の精神的な拠り所や生活の場となってきた。紀元前3世紀にインドから始めて国外のスリランカに入ったとされる上座部仏教の修行僧たちは、巨岩の下で雨露をしのいで瞑想や起居の場とし、後にこれが寺院に発展した。原始小屋の誕生である。

プレスナーとバワはバンガローを、こうした岩や自然と一体になったアニミズムを淵源とする古代岩屋寺院の延長線上に見据えていたであろうが、これと現代の技術を融合させて、島のスピリチュアルな精神性を現代に蘇生することに成功した。



バンガロー外観（竣工当時の様子）



バンガローの居間（竣工当時の様子）

バンガローの空間構成の基軸である、巨石、架講ならびに古代記憶についてのウルリックは次のように述べている。

「当初施主が予定していた敷地を変えた。周りは平らなゴム園だがここだけに巨石があつて美しかったから。巨岩は古代の記憶にもつながる。建物の構想を考えたのは私だ。最初に敷地を測量しようと思ったが、岩が多くあつて、高さも違っていたために正確な測量はできなかつた。そこで自分の歩幅を基準にしてほしいの巨石の大きさや位置関係を、1/16のスケールでプロットした。コロンボに戻って、巨石間を梁でつないで小屋を架ける建物を考えた。現場では梁を渡す位置に棒をたててそれらを糸でつないで引っ張り、家形のヒモがたくさん張られ、幻想的でとても印象的だった。」

今回の研究では、バワとウルリックの建築思想と建築言語に加えて、予期しない知見を得た。先ず、初期4作品は専らバワ建築と理解されてきたが、ウルリックとのパートナー時代は作品を連名で発表しており、パートナー解消時には協議してクレジットを分けていた事実が判明した。「ドクター・シルバ邸」、「イナ邸」はバワ作。「ポロンタラワ・エステート・バンガロー」と「チャペル・フォー・グッドシェファード・コンベント」はプレスナー作である。名作と考えられた2作品が、実質的にはプレスナー作であった。次いで、プレスナーからは初期4作品の竣工時写真の提供を受けることができ、併せて貴重な研究成果となった。



U・プレスナー（Plesner 事務所にて 2014, 11. 03）

## がん抑制遺伝子 REIC/Dkk-3 による表皮幹細胞のストレス応答制御機構の解明

岡山理科大学 理学部 臨床生命科学科

片岡 健

### 概要

REIC/Dkk-3 は不死化した細胞でその発現が低下し、Dkk ファミリーに属する細胞外分泌タンパク質である。アデノウイルスを用いて REIC/Dkk-3 を強制的に発現させると、小胞体ストレスを介してがん細胞のみアポトーシスが誘導される。しかし、REIC/Dkk-3 の正常な生理活性は不明で、特異的受容体もはっきりと分かっていない。REIC/Dkk-3 の正常機能に迫るため、本研究ではマウス皮膚組織の発生過程における REIC/Dkk-3 の発現を詳細に検討した。さらに予備実験から REIC/Dkk-3 の制御因子として候補にあがった炎症性サイトカイン TNF- $\alpha$  による REIC/Dkk-3 発現の制御について検討した。皮膚の発生過程における REIC/Dkk-3 の発現は、発生が進むにつれて発現が増強しはじめ、その発現部位も表皮幹細胞ニッチであるバルジ領域に局限していた。さらに感染などのストレスで分泌される炎症性サイトカイン TNF- $\alpha$  を正常ヒトケラチノサイトに添加したところ、REIC/Dkk-3 の発現が低下した。Ki-67 免疫染色法および MTT アッセイにおいて、TNF- $\alpha$  の添加により正常ヒトケラチノサイトの細胞増殖が促進される傾向を示し、それに応じて細胞数が増加することが確認された。最新の成果として、皮膚組織ではケラチノサイトが分泌する REIC/Dkk-3 が血管内皮細胞の遊走と血管形成を抑制している結果が得られた。表皮幹細胞は炎症などのストレスに応答して炎症性サイトカイン TNF- $\alpha$  を分泌するが、その結果として組織形成に大きく関わる血管内皮細胞の挙動に大きな影響を与えているとしたら、非常に有意義な発見と言える。

### はじめに

REIC/Dkk-3 (Reduced Expression Immortalized Cell / Dickkopf-3) はヒトがん細胞などの不死化した細胞でその発現が低下しているため、がん抑制遺伝子と考えられている (参考文献 1)。アデノウイルスベクターに組み込んで REIC/Dkk-3 を強制的に発現させると小胞体ストレスを介してがん細胞のみアポトーシスが誘導された (参考文献 2)。この抗腫瘍効果は前立腺がん、腎がん、乳がん、悪性中脾腫など多くのヒトがん細胞に認められ、現在 REIC/Dkk-3 を標的とした遺伝子治療は純国産の新規治療法としてヒトへの応用が進められている (参考文献 3)。

この REIC/Dkk-3 は分泌タンパク質であり、Wnt シグナルの阻害因子として知られる Dkk-1 などと同じ Dkk ファミリーに含まれるものの、REIC/Dkk-3 の正常機能が未だに解明されておらず、存在が予想されている特異的受容体もはっきりと分かっていない。

そこで REIC/Dkk-3 の正常機能に迫るため、本研究ではマウス皮膚組織の発生過程における REIC/Dkk-3

の発現を詳細に検討した。さらに予備実験から REIC/Dkk-3 の制御因子として候補にあがった炎症性サイトカイン TNF (Tumor Necrosis Factor) - $\alpha$  による REIC/Dkk-3 発現の制御について検討した。

### 材料と方法

ICR 妊娠マウス (Crea) より胎児を摘出し、実体顕微鏡下で皮膚組織を単離して実験に用いた。また正常ヒトケラチノサイト (クラボウ) に TNF- $\alpha$  (100 ng/mL) を投与し (24 時間)、タンパク質を抽出した。REIC/Dkk-3 の発現を検討するため、Anti-human REIC/Dkk-3 ポリクローナル抗体 (R&D Systems) を一次抗体、Alexa 488 donkey anti-goat IgG (Invitrogen) を二次抗体として免疫染色を行い、OLYMPUS BX-53 蛍光顕微鏡を用いて観察を行った。

細胞増殖を検討するため Ki-67 を用いた免疫染色 [一次抗体: Anti-human Ki-67 モノクローナル抗体 (Dako)、二次抗体: Alexa 488 donkey anti-mouse IgG (Invitrogen)] および MTT アッセイ [CellTiter 96®

Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay (Promega)] を行った。また、蛍光色素である Hoechst33342 (Invitrogen)、PI (Invitrogen) を用いて蛍光色素取り込みアッセイを行った。

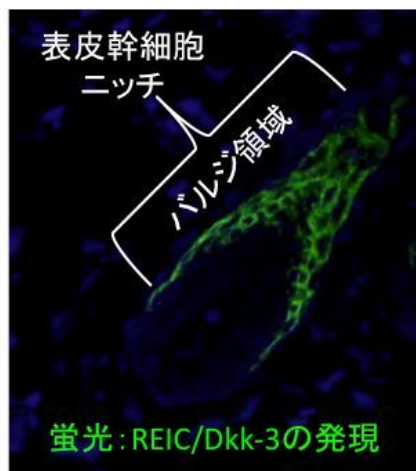
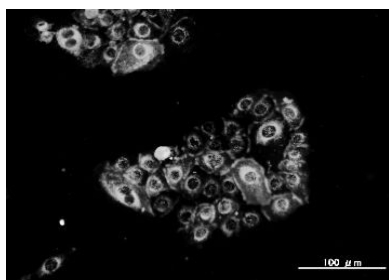


図1. 表皮幹細胞ニッチにおける REIC/Dkk-3 の局所的発現

結果と考察

皮膚の発生過程における REIC/Dkk-3 の発現は、発生が進むにつれて発現が増強しはじめ、その発現部位も表皮幹細胞ニッチ（幹細胞とそのサポート細胞により構成される細胞集団）であるバルジ領域に局限していた（図1）。さらに感染などのストレスで分泌される炎症性サイトカイン TNF- $\alpha$  を正常ヒトケラチノサイトに添加したところ、REIC/Dkk-3 の発現が低下した（図2）。この TNF- $\alpha$  による REIC/Dkk-3 発現低下は培養ケラチノサイトだけでなく培養皮膚組織でも確認された。

TNF- $\alpha$  (-)



TNF- $\alpha$  (+)

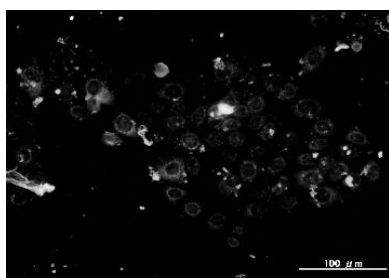


図2. REIC/Dkk-3 の発現

Ki-67 免疫染色法および MTT アッセイにおいて、TNF- $\alpha$  の添加により正常ヒトケラチノサイトの細胞増殖が促進される傾向を示し、それに応じて細胞数が増加することが確認された（図3）。また、蛍光色素取り込みアッセイにおいて、TNF- $\alpha$  の添加により NHK の PI 陽性/ Hoechst 陽性率（ケラチノサイトにおいてはアポトーシスおよび分化した細胞）の低下が確認された。以上のことから、TNF- $\alpha$  はケラチノサイトの REIC/Dkk-3 の発現を低下させ、一方で細胞増殖・分化に作用し細胞数を増加させたと考えられた。一般に Hoechst33342 では生細胞および死細胞が染まり、PI では死細胞のみが染まる。PI 陽性 / Hoechst33342 陽性率を求め、ケラチノサイトにおける TNF- $\alpha$  とアポトーシス（分化）の関係を確認した。TNF- $\alpha$  の添加により NHK の PI 陽性/Hoechst33342 陽性率（NHK においてはアポトーシスおよび分化した細胞）が低下した。この結果は、MTT アッセイにおける細胞数の増加と矛盾しない。

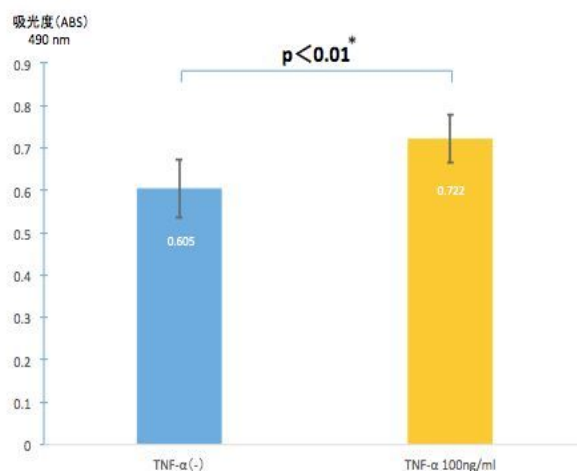


図3. 培養ケラチノサイトに与える TNF- $\alpha$  の効果

さらに最新の成果として、皮膚組織ではケラチノサイトが分泌する REIC/Dkk-3 が血管内皮細胞の遊走と血管形成を抑制している結果が得られた（論文作成中）。このことは正常から病的状態へ皮膚組織が移行する際に REIC/Dkk-3 が負のスイッチとして働き、特に血管内皮細胞に働きかけていることを示唆している。炎症などによって破壊された皮膚組織が再生される際に血管内皮細胞が遊送し、皮膚ケラチノサイトと連動して

血管新生を行うことで組織再生が円滑に進むと考えられる。我々のこれまでの研究でも REIC/Dkk-3 の発現が再生皮膚組織ではほぼ消失していることが認められており（参考文献 4）、このことは今回の結果と矛盾しない。

表皮幹細胞は炎症などのストレスに応答して炎症性サイトカイン TNF- $\alpha$  を分泌するが、その結果として組織形成に大きく関わる血管内皮細胞の挙動に大きな影響を与えているとしたら、非常に有意義な発見と言える。さらに詳細な検討が必要である。

### 結語

本研究では表皮幹細胞を用いた検討が十分には行えなかったが、皮膚組織形成の際に REIC/Dkk-3 がケラチノサイトや血管内皮細胞の挙動を制御するスイッチとして働いているという新たな概念を提示することができた。今後さらに検討を加えていく方針である。

### 謝辞

本研究は公益財団法人ウエスコ学術振興財団平成26年度学術研究費助成金により遂行いたしました。心から感謝申し上げます。

### 参考文献

- 1) Tsuji T, Miyazaki M, Sakaguchi M, Inoue Y, Namba M: A REIC gene shows down-regulation in human immortalized cells and human tumor-derived cell lines. *Biochem Biophys Res Commun* 268, 20-24, 2007
- 2) Sakaguchi M, Kataoka K, Abarzua F, Tanimoto R, Watanabe M, Murata H, Than SS, Kurose K, Kashiwakura Y, Nasu Y, Kumon H, Huh NH: Overexpression of REIC/Dkk-3 in normal fibroblasts suppresses tumor growth via induction of IL-7. *J Biol Chem* 284, 14236-14244, 2009
- 3) Watanabe M, Nasu Y, Kumon H: Adenovirus-mediated REIC/Dkk-3 gene therapy: Development of an autologous cancer vaccination therapy. *Oncol Lett* 7, 595-601, 2014
- 4) Du G, Kataoka K, Sakaguchi M, Abarzua F, Than

SS, Sonogawa H, Makino T, Shimizu T, Huh NH: Expression of REIC/Dkk-3 in normal and hyperproliferative epidermis. *Exp Dermatol* 20, 273-277, 2011

## 高効率な発光を目指した有機蛍光材料の開発

岡山理科大学 理学部 化学科

岩永 哲夫

光や熱に安定であることが知られている芳香族ビスイミド類を基本ユニットに用いて、高効率な発光を目指した有機蛍光材料の開発を進めている。今年度は、芳香族ビスイミド類として、アントラセンビスイミド (ABI) を用いた。このユニットは、イミド部位と芳香族部位に置換基を簡単に導入でき、分子の電子状態を簡単にチューニングできる。9-ブromo ABI または 9,10-ジブromo ABI を出発原料に用いて、芳香族ドナーユニットをエチニルスペーサーを介して、菌頭カップリングにより効率的に導入した。得られた化合物の分光学的性質を明らかにするために、吸収スペクトルと蛍光スペクトルをクロロホルム中で測定した。吸収スペクトルにおいて、電子供与性置換基をもつ化合物は、長波長側に電荷移動相互作用に伴う新たな吸収が確認された。パイ共役の拡張および ABI 骨格への電子供与性が大きくなることで、吸収波長が長波長シフトしていた。これは HOMO-LUMO のエネルギー差が小さくなっていることに起因する。分子軌道計算を用いて、この現象について詳細に調査し、蛍光スペクトルのデータとあわせて、発光効率を高める手法を検討した。

## 1. はじめに

現在、有望な蛍光性材料の基本ユニットとしてアントラセンやペンタセンなどのアセン系芳香族化合物が使われている。アセン系芳香族化合物は電子豊富な化合物として知られており、置換基の種類を変えることで色調をチューニングすることができる。同じ骨格をもった複数の誘導体を組み合わせることで RGB を達成しようとする研究も進められている。ところがアセン系芳香族化合物は光や空気中の酸素などに不安定な側面をもち、多くの誘導体において取り扱いを注意しなければならない問題点を抱えている。

本研究では、そのようなアセン系芳香族化合物が持つ問題点を解決できるような蛍光性色素の開発を目指す。今回、基盤ユニットとして利用するアントラセンビスイミド (ABI) は、アセン骨格を有しているにもかかわらず、光や熱に安定であることが知られている。また様々な位置に置換基を簡単に導入でき、分子の電子状態を簡単にチューニングできる。具体的な手法としては、イミド基の N 位やアントラセンビスイミドのアセン部位に芳香族ドナーユニットを導入することで、電子的特性が異なる誘導体を合成することを計画した。またイミドの N 位に自己

集積能を持つ長鎖アルキルを複数導入することで分子間の相互作用を強めたり、逆に嵩高い置換基を導入することで分子間の相互作用を抑制するなど、分子間の相互作用をたくみに操作して、新たな蛍光プロセスを持った蛍光材料の開発を目指した(Chart 1)。

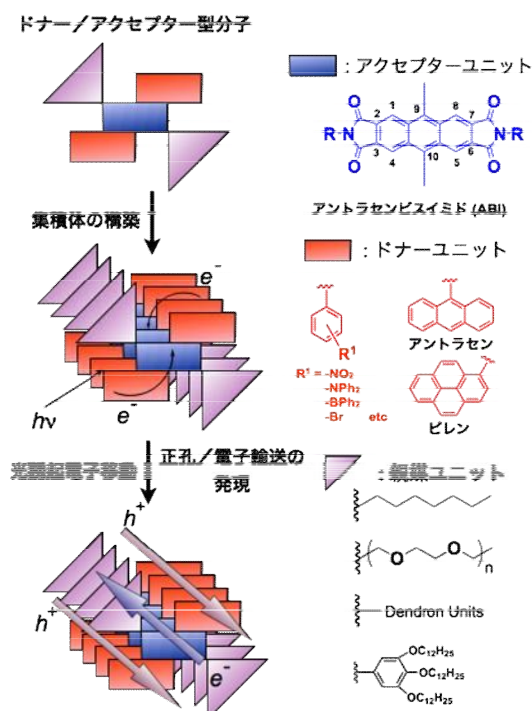


Chart 1. (左) 蛍光性芳香族ビスイミドの集積と電子移動プロセス。(右) アクセター・ドナー・親媒ユニットの候補。

規則的にユニットを配置する手法が確立できれば、光誘起電子移動を妨げない集積体を構築することが可能となる。今回、アントラセンビスイミドを基盤とした分子集積体の構成ユニットの合成とその分光学的性質を明らかにしたので、以下に報告する。

## 2. 結果と考察

今年度は安定な蛍光性をもつアントラセンビスイミド (ABI) 骨格に注目し、これをコア骨格に用いたドナー/アクセプター型分子の開発を行った。一般的に芳香族ビスイミド骨格を持つ分子は、溶解度が悪いことが知られているが、イミド基の *N* 位にオクチル基を導入することで溶解度の向上を図った。芳香族ドナーユニットの導入にはエチニルスペーサーで連結する手法を用いた。芳香族ドナーには電子供与性ジフェニルアミノ基 ( $\text{Ph}_2\text{N}$  基) や電子吸引性トリフルオロメチル基 ( $\text{CF}_3$  基) を導入し、置換基効果を検討した。合成した分子の分光学的性質や電子構造に関して置換基が及ぼす影響を調査するために、電子スペクトルの測定や構造計算などを行った。

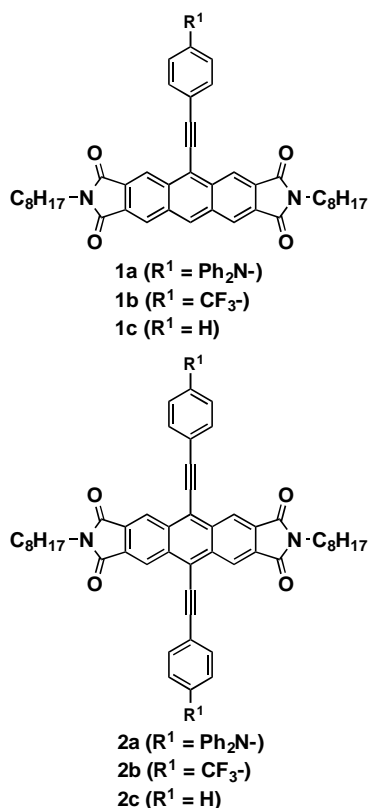
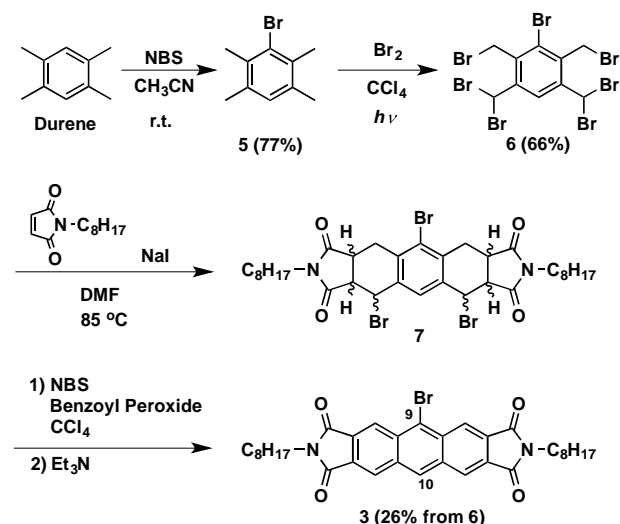


Figure 1. 蛍光性アントラセンビスイミド分子設計.

エチニル置換 ABI 誘導体 **1** と **2** は、対応する 9-ブロモ ABI **3** または 9,10-ジブロモ ABI **4** とエチニル誘導体を菌頭カップリングにより合成した。9,10-ジブロモ ABI **4** は報告されている方法を用いて合成した。<sup>[1]</sup> また 9-ブロモ ABI **3** は、当研究室で開発した方法を用いて合成した。<sup>[2]</sup> Durene を出発原料として、アセトニトリル中で *N*-ブロモコハク酸イミド (NBS) と反応させることでモノブロモ Durene **5** を得た。続けて、**5** に臭素をラジカル付加させることで、ヘプタブロモ体 **6** を得た。ヘプタブロモ体 **6** にオクチルマレイミドを Diels-Alder 反応させて付加環化体 **7** を得たあとに、NBS とトリエチルアミンで処理することで、9-ブロモ ABI **3** を得ることができた (Scheme 1)。

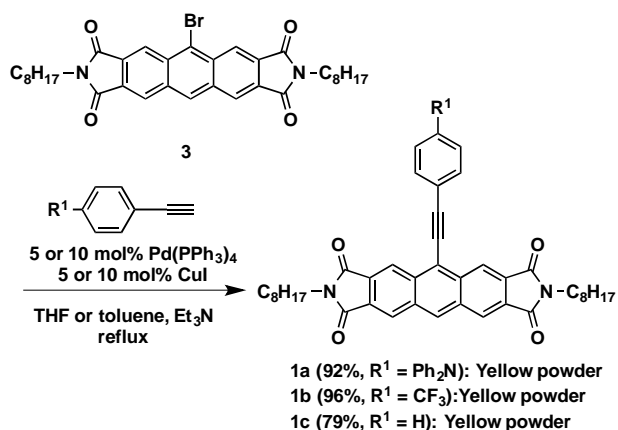


Scheme 1. 9-ブロモ ABI **3** の合成

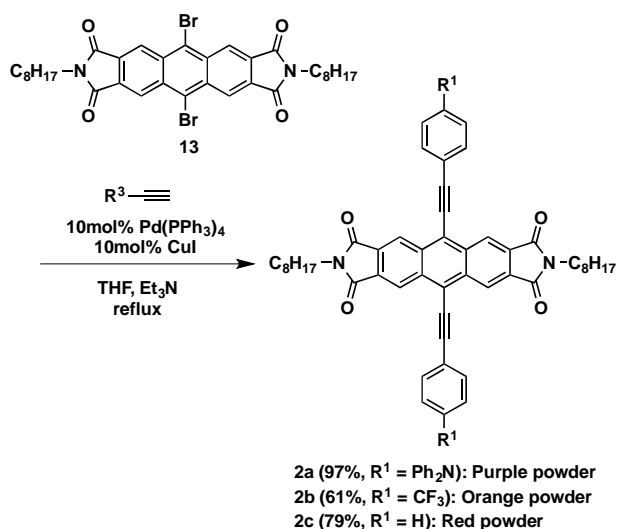
得られたブロモ ABI **3** と対応するアリールエチニル誘導体を混合し、 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  と  $\text{CuI}$  を触媒として加えて、トリエチルアミンとトルエンまたは THF 中で反応させたところ、エチニル置換 ABI 誘導体 **1** を良好な収率で得ることができた (Scheme 2)。ジエチニル誘導体についても同様に、ジブロモ ABI **4** とアリールエチニル誘導体から菌頭カップリングにより合成した (Scheme 3)。合成した化合物 **1** と **2** は、 $^1\text{H}$  NMR と  $^{13}\text{C}$  NMR スペクトルおよび FAB マススペクトルにより同定した。

化合物 **1c** と **2c** の  $^1\text{H}$  NMR スペクトル ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz) を Figure 2 に示す。化合物 **1c** は ABI のアントラセン骨格のプロトンシグナルが特徴的にみら





Scheme 2. アリールエチニル基を有するアントラセンビスイミド誘導体 1 の合成



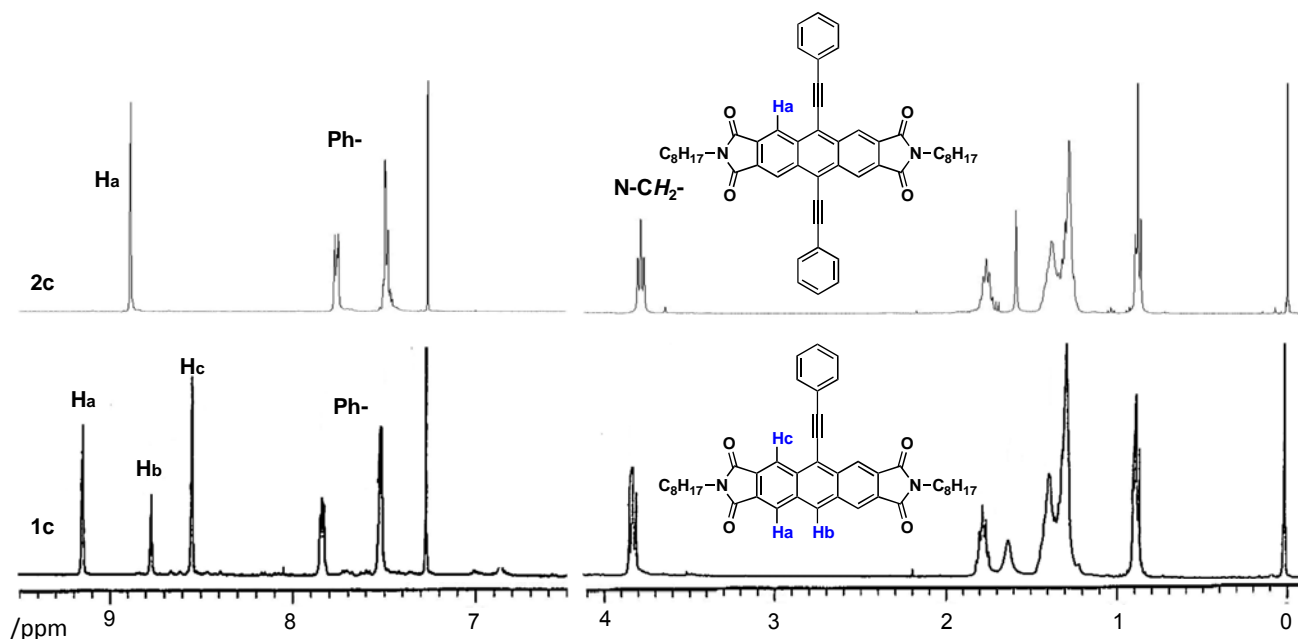
Scheme 3. 2つのアリールエチニル基を有するアントラセンビスイミド誘導体 2 の合成

れ, 9.1, 8.8, 8.5 ppm に3種類の singlet が観測され, プロトン比は 2:1:2 となった. 一方, 2置換化合物 **2c** の場合は, 対称性が高くなったため, アントラセン部位のプロトンシグナルが1種類の singlet として観察された.

合成した化合物 **1** と **2** の分光学的性質を明らかにするために, 吸収スペクトルと蛍光スペクトルをクロロホルム中で測定した (Figure 3, 4). Table 1 には電子スペクトルのデータをまとめて記載している.

9-フェニルエチニル ABI **1c** の最大吸収波長  $\lambda_{\max}$  は, 無置換 ABI アナログに比べて 21 nm 長波長シフトし, 吸光係数 ( $\epsilon$ ) も大きくなった. フェニルエチニル基への置換基効果について, 電子供与性置換基である Ph<sub>2</sub>N 基を導入した化合物 **1a** は, ドナー性の増加により 500~600 nm に分子内電荷移動 (Charge Transfer: CT) による幅広い吸収が観察された.  $\lambda_{\max}$  は **1c** と比べて 73 nm 長波長側にシフトしたが,  $\epsilon$  が全体的に小さくなった. 一方, CF<sub>3</sub> 基を導入した化合物 **1b** は, **1c** と比べても大きな変化は観測されなかった.

9,10-ジ (フェニルエチニル) ABI **2c** は, モノ置換体 **1c** と比べて 43nm ほど長波長側にシフトしており,  $\epsilon$  も増大していた. これは ABI 骨格のパイ拡張に起因すると考えられる. モノ置換体と同様に置換基効果を調べたところ, Ph<sub>2</sub>N 基を導入した化合物 **2a** は, **2c** と比べて 97 nm と大きく長波長シフトしており,

Figure 2. 化合物 **1c** と **2c** の <sup>1</sup>H NMR スペクトル (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)

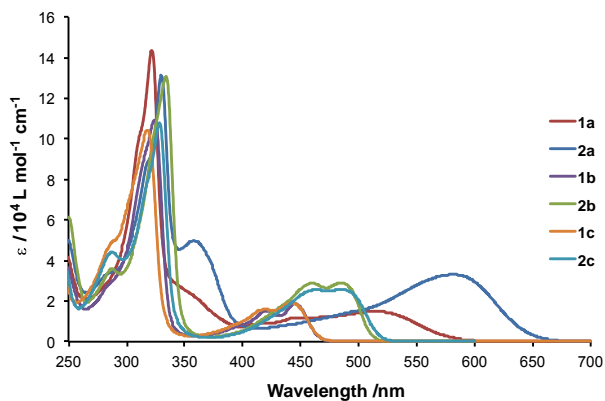


Figure 3. アリールエチニル基を有するアントラセンビスイミド誘導体 **2** の吸収スペクトル (クロロホルム)

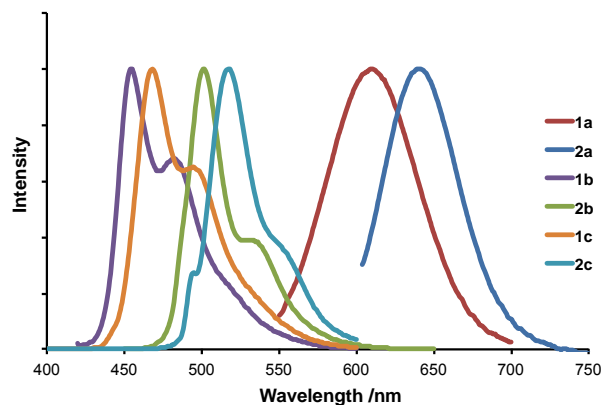


Figure 4. アリールエチニル基を有するアントラセンビスイミド誘導体 **2** の蛍光スペクトル (クロロホルム)

Table 1. 化合物 **1** と **2** の吸収スペクトルと蛍光スペクトルのデータ.

Compound	$\lambda_{\max}$ /nm ( $\epsilon$ )	$\lambda_{\text{em}}$ /nm ( $\Phi_F$ ) <sup>a</sup>	HOMO (eV) <sup>b</sup>	LUMO (eV) <sup>b</sup>
<b>1a</b>	515 (14800)	611 (0.39)	-5.16	-2.79
<b>1b</b>	446 (18700)	455 (0.49)	-6.07	-3.10
<b>1c</b>	442 (19100)	468 (0.45)	-5.85	-2.92
<b>2a</b>	582 (33200)	641 (0.53)	-4.90	-2.80
<b>2b</b>	485 (29000)	501 (0.76)	-5.91	-3.34
<b>2c</b>	485 (25600)	517 (0.85)	-5.56	-3.03
無置換 <b>ABI</b>	421 (15000)	423 (0.31)	-6.29	-2.82

a) Absolute fluorescence quantum yields. b) Calculated at B3LYP/6-31G(d) level.

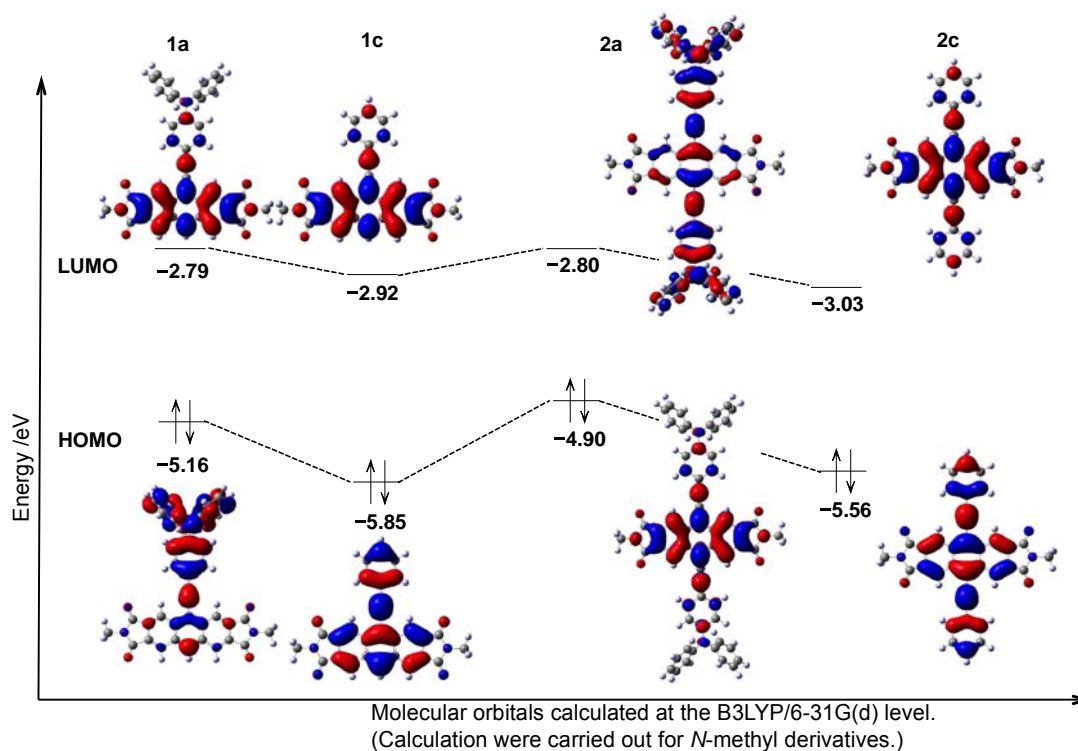


Figure 5. 化合物 **1a**, **1c**, **2a** と **2c** の HOMO—LUMO レベルと分子軌道図

置換基効果が大きく現れた。種々のエチニル基の導入によるABI骨格の分子軌道への影響を調査するために、DFT 計算を行った (Figure 5)。エチニル基の導入は、HOMO のレベルを 0.4~0.7eV 程度上昇させる効果がみられた。化合物 **1a** のようにフェニル基に電子供与性がある Ph<sub>2</sub>N 基を導入したときは、HOMO のレベルを大きく押し上げ、バンドギャップが小さくなることがわかった。これは実際の吸収スペクトルにおいて、化合物 **1c** と比べて大きく長波長シフトしていることと一致している。

蛍光スペクトルをクロロホルム中で測定したところ、化合物 **1** と **2** とともに発光ピークはシャープなバンドで確認された。二置換エチニル ABI 誘導体 **2** は、と化合物 **1** と比べて、蛍光波長が長波長側にシフトし、量子収率も大きくなった (Figure 4 & Table 1)。また今回合成した化合物の中で、電子供与性置換基を2つ有する **2a** の蛍光波長が最も大きく観測された。これはエチニル基の導入による電子的な効果に起因している。

### 3. まとめ

本研究の最終目標は、広いπ平面を有するアクセプターユニットに超分子相互作用を発現する置換基を導入して、高効率な発光機能をもつ分子機能性材料の開発を行うことである。本研究期間中に、アントラセンビスイミドを基盤とした化合物の合成方法を確立し、様々な吸収波長を持つ材料の開発に成功した。基本骨格のイミド位に複数の長鎖アルキルをもつ置換基を導入し、溶液中および固体での光特性を調べていく予定である。また、イミド骨格の有用性を確かめるために複数のイミド骨格を組み合わせた分子の開発も行っていく予定である。

本研究で達成される芳香族ビスイミドユニットを基盤とした蛍光材料の効率的な開発は、従来にない分子構造と基本物性・性能を提示することで、地域の素材メーカーや薬品メーカーを活性化し、科学技術社会の発展に貢献をしていきたいと考えている。

### 4. 謝辞

本研究は、平成26年度公益財団法人ウエスコ学術振興財団の学術研究費助成事業の助成を受けて実施したものである。本研究の遂行にあたり、岡山理科大学理学部の豊田真司教授に、有益な助言を頂いた。ここに記して感謝申し上げます。

### 5. 参考文献

- [1] H. Usta, C. Kim, Z. Wang, S. Lu, H. Huang, A. Facchetti, T. J. Marks, *J. Mater. Chem.* **2012**, 22, 4459.
- [2] T. Iwanaga, R. Tanaka, S. Toyota, *Chem. Lett.* **2014**, 43, 105.

## 情景画像と大規模点群の対応付けによる拡張現実指向 GIS の開発

岡山理科大学 工学部

島田 英之, 大倉 充, 島田 恭宏, 太田 寛志

### 概要

道路を走行しつつ各種計測を行える移動計測システム (MMS: Mobile Mapping System) が、国内において急速に普及しつつある。多くの MMS では、レーザスキャナによる 3 次元計測、各種カメラによる現況撮影などを同時に行い、走行経路に沿った広範囲の情報を大量に収集する。著者らは、屋外にて携帯端末で撮影した写真をインターネット経由でサーバに送信し、サーバがそれを膨大なパノラマ画像群と照合して写真の撮影位置や方向を推定し、写真と正確に対応する MMS の 3 次元情報を現地に提供するという一連の技術の開発を目的として研究に取り組み、画像照合のための基本的な枠組みの開発と検証、既に開発されているアプリケーションの新型 MMS への対応を行った。

### 1 はじめに

近年、道路を走行しつつ各種計測を行える移動計測システム (MMS: Mobile Mapping System) が、国内において急速に普及しつつある。MMS ではレーザスキャナによる 3 次元計測、各種カメラによる現況撮影などを同時に行い、走行経路に沿った広範囲の情報を大量に収集しているが、その情報の活用面に関しては旧来の測量機器を使った業務の枠組みから踏み出したものではない。そこで、例えば現場にてタブレット PC 等に付属のカメラを通してモニタ上で光景を見ると、その光景に対応した 3 次元情報が呼び出されて画面上で計測が行えたり、埋設物が画面上に重畳表示されたりする、拡張現実を指向した地理情報システム (GIS) があれば、蓄積された膨大な情報の更なる有効活用が期待される。

タブレット PC 等の携帯端末で撮影されたシーンに情報を重畳するには、シーンの撮影位置および方向の情報が必要になる。位置情報の取得には GPS の利用が考えられるが、全ての携帯端末に GPS 機能が備えられているとは限らず、GPS 情報が取得できない屋外環境も存在する。また、GPS では撮影時の方向を明らかにできない。そこで本研究では、MMS で収集した画像群との照合によって、ユーザの撮影したシーンの撮影位置と方向の推定を行い、さらに、撮影したシーン画像に MMS 点群を重畳するアルゴリズムを開発することを目的としている。

本稿ではまず、パノラマ画像群との照合によって任意シーンの撮影位置と方向を推定するアルゴリズムの開発と検証について報告する。

次に、本研究を遂行するにあたり、新しく導入された MMS Type-K で得た MMS データを処理できるように、従来開発したアプリケーションソフト MoMoS および OrthoPic の拡張を行ったため、これについても報告する。

### 2 任意シーンの撮影位置と方向の推定

シーンの撮影位置の検出においては、照合用画像として Point Grey Research 社製の Ladybug3 によって撮影された画像を用いる。Ladybug3 は、7 台のカメラによって全周囲を撮影することができる。これを株式会社ウエスコが保有する三菱電機株式会社製の MMS 車両のルーフに取り付け、車両の移動距離 2m ごとに撮影を行う。撮影の各地点において 7 枚の画像が得られるが、それぞれについて画像照合をしようとする画像の境界付近に位置する光景の正確なマッチングが困難になる。そこで、撮影された画像は撮影地点ごとに全周囲パノラマ画像に合成変換を行い、これを照合用画像データベースとして用いる。

#### 2.1 画像照合アルゴリズム

本研究では、ユーザが撮影した画像（以下、クエリ画像と呼ぶ）と全周囲パノラマ画像との画像マッ

チングを行うが、全周囲パノラマ画像には一般的なカメラ画像には存在しない大きな幾何学的歪みが存在する。また、パノラマ画像の撮影時間とクエリ画像の撮影時間とが異なるため、両画像間では明るさが異なる場合が多い。そこで、画像マッチングには、画像の回転、スケール、照明の変化に対して頑健な特徴量である SURF を使用する。SURF は、まず画像から特徴点を複数検出したのち、特徴点周辺の画像領域を 64 次元ベクトルの特徴量として記述する。

画像マッチングを行うにあたり、前もって、画像データベース中の全てのパノラマ画像において SURF 特徴点の検出を行い、その特徴点座標と特徴量を画像とともにデータベースに格納しておくことで、画像マッチングの際の処理時間の短縮を図る。

クエリ画像との照合の処理手順を次に示す。

1. クエリ画像の SURF 特徴点を検出し、特徴点座標群と各特徴点の特徴量を得る。
2. パノラマ画像データベース内の各画像の SURF 特徴量と、1. の特徴量とのマッチングを行い、特徴量距離が最小となる特徴点同士を対応付ける。ただし、誤対応を防ぐために、特徴量距離が 0.15 以上である場合は対応する特徴点が無いものとする。
3. 特徴量距離の総和が小さいほどパノラマ画像とクエリ画像の撮影位置が一致している可能性が高いといえる。しかし、正確に対応している特徴点でも、特徴点によっては特徴量距離に数倍の差が生じることがある。そこで、特徴量距離を次のように段階的に区切り、1 点から 3 点の得点を与えて、この総和をマッチング得点とする。
  - ・ 特徴量距離が 0.1 以上 0.15 未満の特徴点には 1 点を与える。
  - ・ 特徴量距離が 0.05 以上 0.1 未満の特徴点には 2 点を与える。
  - ・ 特徴量距離が 0 以上 0.05 未満の特徴点には 3 点を与える。
 マッチング得点が最大のパノラマ画像をクエリ画像の撮影位置と一致する画像として検出する。

4. 3. で検出されたパノラマ画像内において、クエリ画像の撮影方向を検出するために、両画像間の幾何学的関係を求める。ここでは、クエリ画像からパノラマ画像へ射影変換するホモグラフィ行列のパラメータを、両画像で対応のとれた特徴点座標から RANSAC アルゴリズムを用いて推定する。
5. クエリ画像の中央点が 4. で求めたホモグラフィ行列によってパノラマ画像中のどの座標点に投影されるかを計算する。この座標によって撮影方向がわかる。また、クエリ画像の 4 隅の点の座標を同様に変換すれば視野範囲が決定する。

## 2. 2 評価実験

照合用画像データベースとして、岡山理科大学構内を撮影した MMS のパノラマ画像を使用する。構内を A~E の 5 つの区画に分け、それぞれ 20 フレームとしている。クエリ画像はデジタルカメラで撮影した。画像処理プログラムの作成に当たっては、画像処理ライブラリ OpenCV 2.4.9 を使用した。

実験結果として、図 1, 図 2 に 2 枚のクエリ画像について画像照合した結果を示す。図 1 (a) のクエリ画像は、A~E 区間の各 20 枚、合計 100 枚のパノラマ画像と照合した結果、区間 A の 13 番画像にてマッチング得点が最大となった。このときのパノラマ画像を図 1 (b) に示す。図中に、丸でクエリ画像の中央と一致すると推定された箇所、四角枠でクエリ画像の視野と推定された範囲を示している。この結果から、クエリ画像を撮影した位置、撮影の方向が正しく推定されていることが確認できる。また、パノラマ画像の中には、クエリ画像には無い車両や人物が写り込んでいるが問題なく照合が行えている。図 2 (a) のクエリ画像 2 についても、画像の明るさがパノラマ画像とそれと異なっているが、撮影位置、方向が正しく推定が行えていることがわかる。一方、クエリ画像に特徴的な構造が存在していない場合、画像照合において失敗する場合がある。改良点として、パノラマ画像の SURF 特徴量のデータベースを作る際には、どのパノラマ画像でも類似度が高くなる

特徴点は除外し、画像固有の特徴点を優先してマッチングに利用することが考えられる。

マッチング得点について分析をすると、正解のパノラマ画像区間では得点の平均点が総じて高く、また、正解のパノラマ画像の番号に近くなるほど得点が高くなり、正解の画像のところで最大得点となる。これは、MMSのパノラマ画像が2mごとに撮影されていて、撮影位置が近傍の画像の類似度が高いためと考えられる。そこで、現手法では最高得点のみを照合の判定に使用しているが、ある一定の範囲で得点が高く、その中央で大きなピークを持つような画像撮影地点の範囲を見つけるように改良すれば、撮影位置推定の精度をさらに高められると考えられる。

### 3 MMS Type-K への対応

本研究課題に関し、道路周辺のデータ収集が可能な移動計測システムは当初、株式会社ウエスコ所有のMMS Type-Sのみであったが、2014年度に同社が新規にMMS Type-Kの導入を行ったため、本研究課題で用いるレーザ点群及びパノラマ画像などの各種データは、MMS Type-Kにより取得されたものも混在することとなった。そのために、従来開発を進めてきた各種のアプリケーションについて、MMS Type-S および MMS Type-K の双方に対応するための拡張を行うことが、本研究課題を推進するにあたっての急務

となった。

表1は、両機種が搭載しているレーザスキャナの諸元である。分解能をはじめとして、あらゆる面においてMMS Type-Kが搭載しているLMS511が優れているが、その分、処理すべきデータ量は増大する。分解能が $1/0.667=1.5$ 倍、スキャン速度が $100/75=1.33$ 倍のため、単純計算ではデータ量がちょうど2倍となる。しかし、到達距離が倍以上に延びたことから従来は取得できなかった範囲の点群まで取得でき、さらに、点ごとの属性情報として従来の座標情報、RGB色情報に加えレーザ反射強度も追加されるので、同一経路の走行であっても、実質の情報量はMMS Type-Sの場合の2倍を大幅に超えることになる。

表1 レーザスキャナ諸元

	MMS Type-S	MMS Type-K
製造元	SICK	SICK
分解能	1°	0.667°
範囲	±90°	±95°
速度	75 scan/sec	100 scan/sec
到達距離	30m	65m
反射強度	不可	可



(a) クエリ画像1



(b) 検出されたパノラマ画像 (区間 A, 13 番)

図1 照合結果1



(a) クエリ画像2



(b) 検出されたパノラマ画像 (区間 C, 8 番)

図2 照合結果2

### 3. 1 MMS 点群処理ソフトウェア MoMoS の対応

MoMoS は、MMS で取得した点群にリアルタイムに面張りし、3Dシーンとしての高速表示や各種計測などの高度な活用を可能とするソフトウェアである。2009年度と2010年度の2年間、ウエスコ学術振興財団より研究助成を受けた研究課題「道路関連事業における移動計測システムの高度利用」を通じて開発され、その後も実務担当者からの要望に即応する形で改良や機能拡充を継続してきた。

MoMoS では、MMS 点群を前処理し、スキヤンの単位でインデックスを付して管理することで、その最大の特徴ともいえる高速性能を実現している。そこで、MMS Type-K への対応を進めるため、まずは MMS Type-K で得られた点群をスキヤン単位に分離するために、データの素性の解析を行った。基本的には MMS Type-S と同等の内容であるが、MMS Type-S では点ごとのタイムスタンプがスキヤンの移行時に変化するのに対し、MMS Type-K では点ごとのタイムスタンプが点の単位で小刻みに増加するため、タイムスタンプの変化点をもってスキヤンの分離を行うアプ

ローチがそのまま適用できないことが分かった。そこで、第N点と第N+1点との時間差の統計を全データにわたって調査した結果、0.0044sec以上の時間差があった場合にスキヤンを分離すればほとんど問題ないことが明らかとなった。これにより、MMS Type-S と MMS Type-K とで、データの量こそ差があるが、処理の枠組みは同一のものが使える見通しが立った。

しかし、前述の通り処理すべきデータ量が大幅に増加したため、各部のアルゴリズムを改良し、ソフトウェアの軽快な動作をなるべく損なわないようにした。また、キャッシュ機構や描画ルールなどのパラメータを見直し、支障のない範囲で描画ポリゴン数を抑えるように調整した。

図3に、ほぼ同一地点を MMS Type-S と MMS Type-K のそれぞれで走行し、MoMoS で3Dシーンを生成した結果を示す。走行時期が異なるので日照条件は若干違うが、MMS Type-Kの方が映像の解像度が高く、また建物の上方までデータが存在することが明らかである。

また、MMS Type-K のデータが与えられた場合は、シーン描画法選択メニューに「レーザ反射強度」の選択肢が現れ、レーザ反射強度に応じた濃淡のシーンを描画できる。レーザ計測した点群にカメラから得たRGB色情報を与える方法は、結果が日照条件に大きく左右されるが、レーザ反射強度は例えばトンネル内や日陰においても取得できるため、日照に左右されない濃淡画像を取得できる。また、座標と色情報のずれも小さい。

図4に、同一個所において、RGB色情報、レーザ反射強度のそれぞれを用いて3Dシーンを生成した結果を示す。レーザ反射強度を使用した場合には、実際の色が反映されない代わりに、木の影などに左右されない安定した映像が得られていることが分かる。路面に油や水などが存在するとレーザ反射強度が極端に小さくなり、シーン中では黒い領域として現れるため、RGB色情報との相補的な用途も考えられよう。



(a) MMS Type-S 使用



(b) MMS Type-K 使用

図3 3Dシーン生成結果

### 3.2 オルソ画像生成ソフトウェア OrthoPic の対応

既存の道路台帳図と現況とを比較する際には、MMS 点群を道路台帳図上に正射影して重畳させた状態で比較を行うことが多い。しかし、MMS 点群は MMS から離れるにつれて密度が低くなり、台帳図との比較が難しくなる。そこで著者らは、前出の MoMoS の枠組みを応用して MMS 点群に面張りし、任意サイズの多数の部分画像からなる広域オルソ画像を生成するためのソフトウェア OrthoPic を既に開発し、実業務に供している。

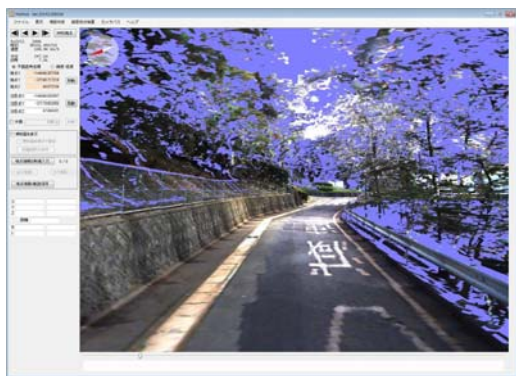
今回、MMS Type-K への移行に伴い、OrthoPic の対応及び機能拡張を行った。MoMoS と同じく、両者のデータ形式への対応とレーザ反射強度の選択肢を加えた。なお、アイサンテクノロジー社から発売されている「MMS オルソジェネレータ」は、MMS 点群から推定した平面上に撮影画像を射影してつなぎ合わせ、オルソ画像を生成するものであり、高精細な実シーンを得る手段としては OrthoPic より優位にある。しかし、今回の OrthoPic の拡張によって、レー

ザ反射強度の情報からオルソ画像を生成する手段が与えられた。これは、画像の張り合わせでオルソ画像を得るアプローチとは全く別のものであり、夜間やトンネル内などで応用可能な先駆的ツールと考えている。

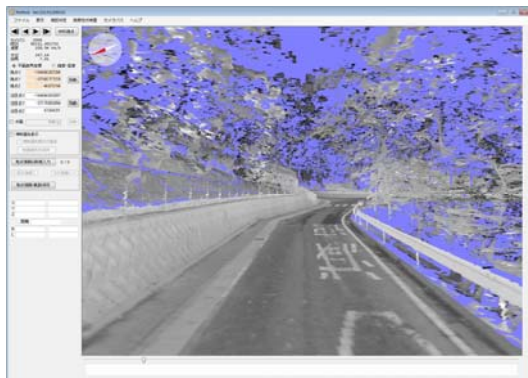
図5に、同一個所において、RGB色情報、レーザ反射強度のそれぞれからオルソ画像を生成した結果を示す。RGBの場合はMMSの複数カメラの画像錯綜や影のため地物が判別しづらいが、レーザ反射強度の場合は良好な結果が得られている。

### 4 むすび

本稿では、助成対象課題に関して行った、任意シーンの撮影位置と方向を推定するアルゴリズムの開発、および、新しいMMS Type-Kのデータ群へのアプリケーションの対応について述べた。今後は、画像照合の精度向上を図り、さらに、推定された撮影位置・方向にMMS点群を重畳する方法について研究に取り組む。最後に、財団関係者各位に深く感謝の意を表し、本報告の結びとする。

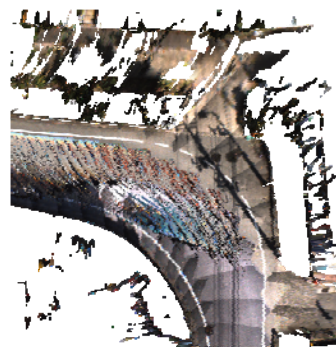


(a) RGB色情報使用

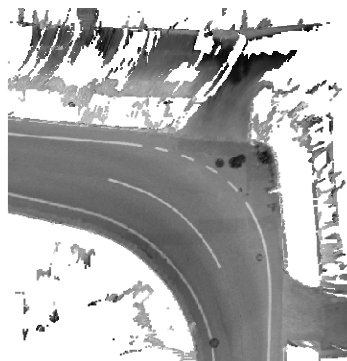


(b) レーザ反射強度使用

図4 3Dシーン生成結果



(a) RGB色情報使用



(b) レーザ反射強度使用

図5 オルソ画像生成結果



## 航空レーザ測量データに基づいた大規模崩壊危険度評価手法の開発

岡山理科大学 生物地球学部 生物地球学科

佐藤 丈晴

本研究では、河川流域の測量を目的とした比較的古い航空レーザ測量データを用いて、急傾斜地の崩壊危険度の評価を行うことを目的とした。基本的に河川堤防及びその後背地を主体として測量されているデータであるが、このデータを急傾斜地の危険度評価に用いることができれば、コスト縮減及び測量データの有効活用につながる。この航空レーザ測量データを用いて、大規模土砂災害の発生の素因となる微地形を容易に抽出できる処理方法を示した。傾斜量とラプラシアンを重ね合わせる方法である。まず、航空測量データからクリギング法に基づいて1mDEMを計算する。続いて周辺メッシュの標高値を用いて平滑化を行い、ラプラシアンと傾斜量を計算する。これらの地形要素を重ね合わせ、地形解析図を作成する。さらに、提案手法を用いて上記で検討した航空レーザ測量データを用いて地形解析図を作成し、既往災害発生箇所について災害前の航空測量データに基づいた地形解析を実施して地形的特徴の検討を行った。

## 1. はじめに

近年、河川、港湾を中心として航空レーザ測量が実施されており、面的に詳細な地形データの取得が行われている。このような測量データは、災害発生前後の地形変化、土砂量の計測等に用いられており、古いデータ程その重要性が高まっている。しかしながら、過去のデータは、河川の流域等のみに偏在しており、精度も現在のもものと比較して明らかに劣っている。そのため、土砂災害など山地部での利用については、別途測量が必要となっていた。

しかしながら、このような測量データが土砂災害に対して有効に活用できるとすれば、コスト縮減及び既往成果の有効利用となる。

そこで、本研究では、平成17年度に実施された航空レーザ測量データに基づき、斜面崩壊に関する危険度評価に活用する方法を検討し過去の崩壊箇所の判読を行った。

## 2. フィルタリング方法検討

土砂災害の危険度評価に用いるデータは、山地における地形や地表の変状を読み取る必要がある。航空レーザ測量データの中では、地表の標高を示すグラウンドデータを用いる必要があ

る。しかしながら、かなり古い時期に実施された測量においては、目的とする地域のみグラウンドデータを作成し、図郭全域において作成はされていない場合が多い。また、河川を対象として測量されていることから山地部は対象外となり、密にデータも取られていない。

土砂災害の検討に用いるために航空レーザ測量におけるオリジナルデータからグラウンドデータをフィルタリングする。今回は、手動で行わずしてグラウンドデータ点数を増やすための検討を行った。本研究では以下の3案を検討した。

方法1. 通常設定で自動フィルタリング  
地形に関わらず、一般的な処理設定である。



図-1 方法1におけるオリジナルデータ（白）とグラウンドデータ（オレンジ）

方法2. タイル単位で最低点を追加  
タイルを作成し、タイル内の標高が最も低い

表-1 グラウンドデータ抽出のための条件

最大の建物のサイズ	80m
グラウンドとして採用可能な地形の角度	88°
グラウンドとして採用される平面（グラウンド）からの角度	6度
グラウンドとして採用される平面（グラウンド）からの距離	1.4m
グラウンド取得の繰り返し処理を実施しない（グラウンドから5m以内でグラウンドを取得しなくなるまで繰り返し）	オン

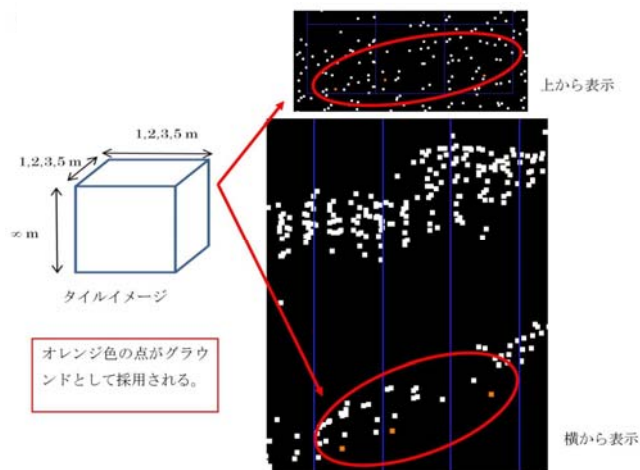


図-2 方法2におけるオリジナルデータ（白）とグラウンドデータ（オレンジ）



自動フィルタリング結果



タイルによるフィルタリング結果



上記の2つの結果を合成

図-3 方法1と方法2を合成したデータ

点をグラウンドとして出力し、上記方法1の結果と合成（タイルサイズは1, 2, 3, 5m）した。図-2で縦方向の青線に囲まれた領域について最深と考えられる点を自動抽出し、等間隔の規則的なデータを抽出した。そのデータと方法1で示した自動フィルタリング抽出による検討を重ね合わせて、データを作成した。

方法3. 自動フィルタリングのパラメータ変更  
山地での点の増加を目論み、標準的な設定を変更（自動フィルタリングの繰り返し処理を

実施）して、処理を流した。パラメータの変更については表-2に示した。グラウンド取得の繰り返しの処理を実施しない処理をオフとすることで、グラウンドを取得しなくなるまで繰り返し操作を自動で実施した。

以上の結果を表-3にまとめた。

方法1は、通常実施する標準的な設定によるもので、概ねグラウンドと思われる点を取得されている。地形の細かいところまで表現できている。



図-4 方法3におけるオリジナルデータ（白）とグラウンドデータ（オレンジ）

表-2 方法3のグラウンドデータ抽出のための条件

最大の建物のサイズ	80m
グラウンドとして採用可能な地形の角度	88°
グラウンドとして採用される平面からの角度	6度
グラウンドとして採用される平面からの距離	1.4m
グラウンド取得の繰り返し処理を実施しない（グラウンドから5m以内でグラウンドを取得しなくなるまで繰り返し）	オフ

表-3 検討結果

	取得点数	備考
方法1	3,141,871点	特になし。
方法2	3,498,089点 (タイルサイズ: 5m)	グラウンドデータは増える部分もあるが、建物等もグラウンドとして採用してしまう。
方法3	3,998,347点	方法1と比較すると点数も増え、特に異常な点を採用しているわけではない。

方法2は、いずれのタイルサイズ（1, 2, 3, 5m）の結果も、地表面でない建物等がグラウンドに採用してしまう。

方法3は、方法1よりもグラウンドと思われる点を多く取得しており、グラウンド以外の点の誤認識も無い。本検討における最適案である。

また、図-5～7は各方法で出来たグラウンドデータから作成した等高線（写真上の青線）で

あり、方法3により作成された等高線が緻密に地形を表現している事が分かる。

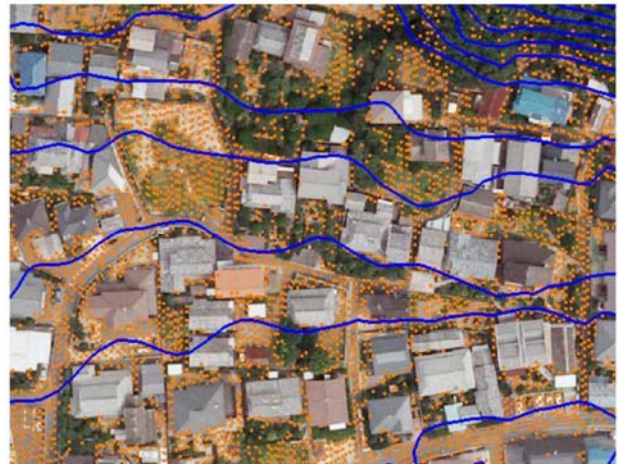


図-5 方法1による等高線



図-6 方法2による等高線



図-7 方法3による等高線

以上の検討より、本研究では方法3による自動フィルタリングでデータを作成した。

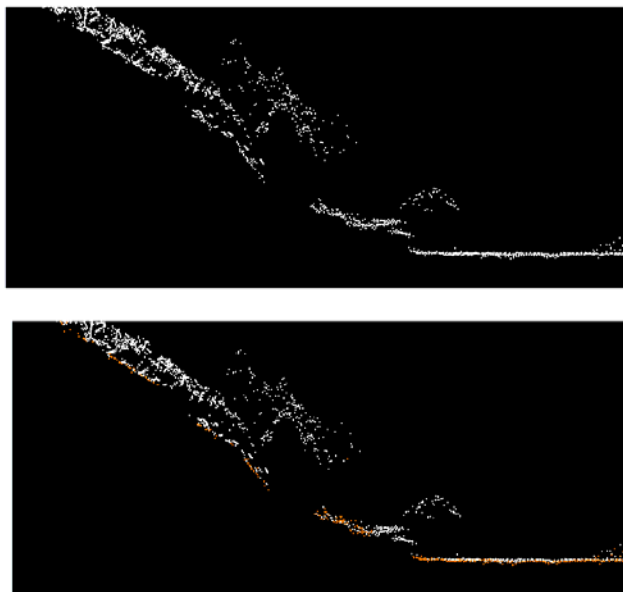


図-8 グラウンドデータ作成処理の一例  
オリジナルデータ(白)とグラウンドデータ(オレンジ)

### 3. 解析手法

本研究における微地形の抽出は、傾斜量とラプラスアンを重ね合わせる方法を提案する。傾斜量は斜面の崩壊を考えるうえで最も基本的な地形要素の一つである。神原(2010)<sup>1)</sup>は、マスマーブメントにおける発生域における斜面傾斜角によってマスマーブメントの種類が変わることを示唆した。千木良他(2012)<sup>2)</sup>は、2011年の台風12号で発生した13か所の深層崩壊について、1mDEMに基づいた冠頭部から末端部を結んだ直線の勾配は27度～36度であることを示した。深層崩壊が同様の勾配によって発生していることを示した。

斜面の微地形の表現にはラプラスアンを採用した。画像処理の分野では、エッジを表現するフィルタとして用いられており<sup>3)</sup>、地すべりブロック等土塊の縁として考えることができる。ラプラスアンは二回微分を示した指標であり、谷部、線状凹地、遷緩線等凹状地形の場合は正の値、尾根部、遷急線等凸状地形の場合は負の値を取る。

地形解析を実施するためには、DEMデータが必

要となる。航空測量データ(グラウンドデータ)はDEMのように規則性のあるデータではないため、グリiddingを行う。その手法は多様であるが、本研究では、作業規定の準則<sup>4)</sup>に従い、クリギング法<sup>5)</sup>を用いて、1m間隔のDEM(以下1mDEMと記す)を計算した。続いて求めたい地形量を算出するために平滑化を実施した。神原・佐藤(2014)<sup>6)</sup>は、対象とする地形の規模に対して、適切な範囲の周辺メッシュを用いた平滑化を行うことで、代表的な地形量を算定することを提案している。平滑化の範囲は、該当メッシュの周辺7及び19グリッドに釣鐘上のガウス関数によるウェイト付けを行った。

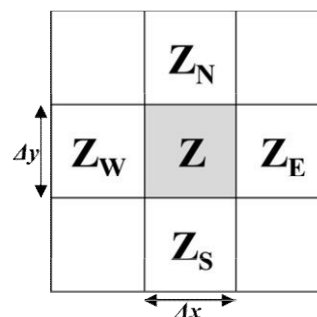


図-9 地形量を算出する該当メッシュ(中央影のメッシュ)とその周辺メッシュの定義

本研究では、平滑化した1mDEMに対して傾斜量とラプラスアンを算定した。算定式を以下に示した。算定式中の周辺メッシュの標高値 $Z$ については、図-9に該当メッシュとの位置関係を示した。

#### 【傾斜量】

傾斜量は、Mitfigovfi, Hofierka<sup>7)</sup>の考え方を参考にした。該当メッシュの南北方向と東西方向の標高差から角度を算出する。このとき、本研究では $\Delta x$ と $\Delta y$ は1mDEMのため、双方ともに1で計算する。

$$\text{Slope} = \frac{360}{2\pi} \cdot \arctan \left[ \sqrt{\left(\frac{Z_E - Z_W}{2\Delta x}\right)^2 + \left(\frac{Z_N - Z_S}{2\Delta y}\right)^2} \right]$$

## 【ラプラシアン】

ラプラシアンは、Pitas(2000)<sup>8)</sup>の考え方を参考にした。該当メッシュの東西南北に隣接した4メッシュとの標高差を基にして算出した。 $\Delta x$ と $\Delta y$ については、傾斜量と同様である。

$$\text{lap} = \left( \frac{Z_E - 2Z + Z_{WF}}{\Delta x^2} \right) + \left( \frac{Z_{NE} - 2Z + Z_S}{\Delta y^2} \right)$$

地形解析図は、傾斜量図とラプラシアン図を重ね合わせて表示した。傾斜量図は、急勾配ほど黒色とし、緩勾配ほど白色とした。この上にラプラシアン図を重ね合わせ、透過させることで傾斜量とラプラシアンの両方の地形量を示すことができる。

ラプラシアンは、1の時青色で、-1のとき橙色で表示した。谷底や線状凹地など周辺と比較して低地を示しているメッシュに対して水系をイメージするような配色としている。逆に尾根部のように突出したメッシュは、尾根をイメージして橙黄色で配色した。本研究では、これ以降ラプラシアンと傾斜量を合わせて表示した図を地形解析図と記す。また、この地形解析図に等高線図や3D画像を重ねると、さらに詳細に地形の状況を捉えることができる。

## 4. 地形解析結果

図-10は、今回解析及び現地調査を実施した現地の地形図である。航空レーザ測量データを基に地形解析図を作成した。

図中の一部分で、不自然な線が見られるが、これはデータ密度に関する問題であり、このような地域では得られた地形の信頼性は乏しい。そこで、図-10と同じ範囲で基となるグラウンドデータの分布を図-11に示した。データの分布が疎な地域では等高線が粗となり、不自然な線の入っていることが確認できる。第2章でデータ数の増加検討したものの、測量されていない地域の地形を表現することは難しい。

図中中央の破線のある斜面で平成25年に崩

壊が発生した。この斜面は平成17年当時から斜面上部に段差地形があることが見て取れる。馬蹄形上の段差地形は大規模崩壊の前兆とされているが、この航空測量データからも読み取れる。

以上より、目的の異なる測量データではあるが、グラウンドデータが密な地域についての土砂災害危険度の評価は可能であることが確認できた。

## 引用文献

- 1) 神原規也(2010): マスムーブメントに着目した斜面傾斜角分類案, 第49回日本地すべり学会研究発表会講演集, pp. 1-2.
- 2) 千木良雅弘, ツォウ・チンイン, 松四雄騎, 平石成美, 松澤真(2012): 台風12号による深層崩壊発生場—発生前後の詳細DEMを用いた地形解析結果—, 京都大学防災研究所研究集会「深層崩壊」, pp. 24-34.
- 3) 鳥脇純一郎: 画像理解のためのデジタル画像処理(I) 昭晃堂, p99, 1989
- 4) 国土交通省: 作業規定の準則, 国土交通省告示 第286号, 2013
- 5) A. G. ROYLE, F. L. CLAUSEN, and P. FREDERIKSEN(1981): PRACTICAL UNIVERSAL KRIGING AND AUTOMATIC CONTOURING, Geo-Processing, 1, pp. 377-394
- 6) 神原規也, 佐藤丈晴(2014): マスムーブメント地形解析にあたってのラプラシアン図表現手法, 砂防学会誌, Vol. 67, No. 1, pp. 41-47
- 7) Helena Mitfigovfi and Jaroslav Hofierka(1993): Interpolation by Regularized Spline with Tension: II. Application to Terrain Modeling and Surface Geometry Analysis, Mathematical Geology, Vol. 25, No. 6
- 8) Ioannis Pitas(2000): Digital Image Processing Algorithms and Applications, Wiley-Interscience, p432

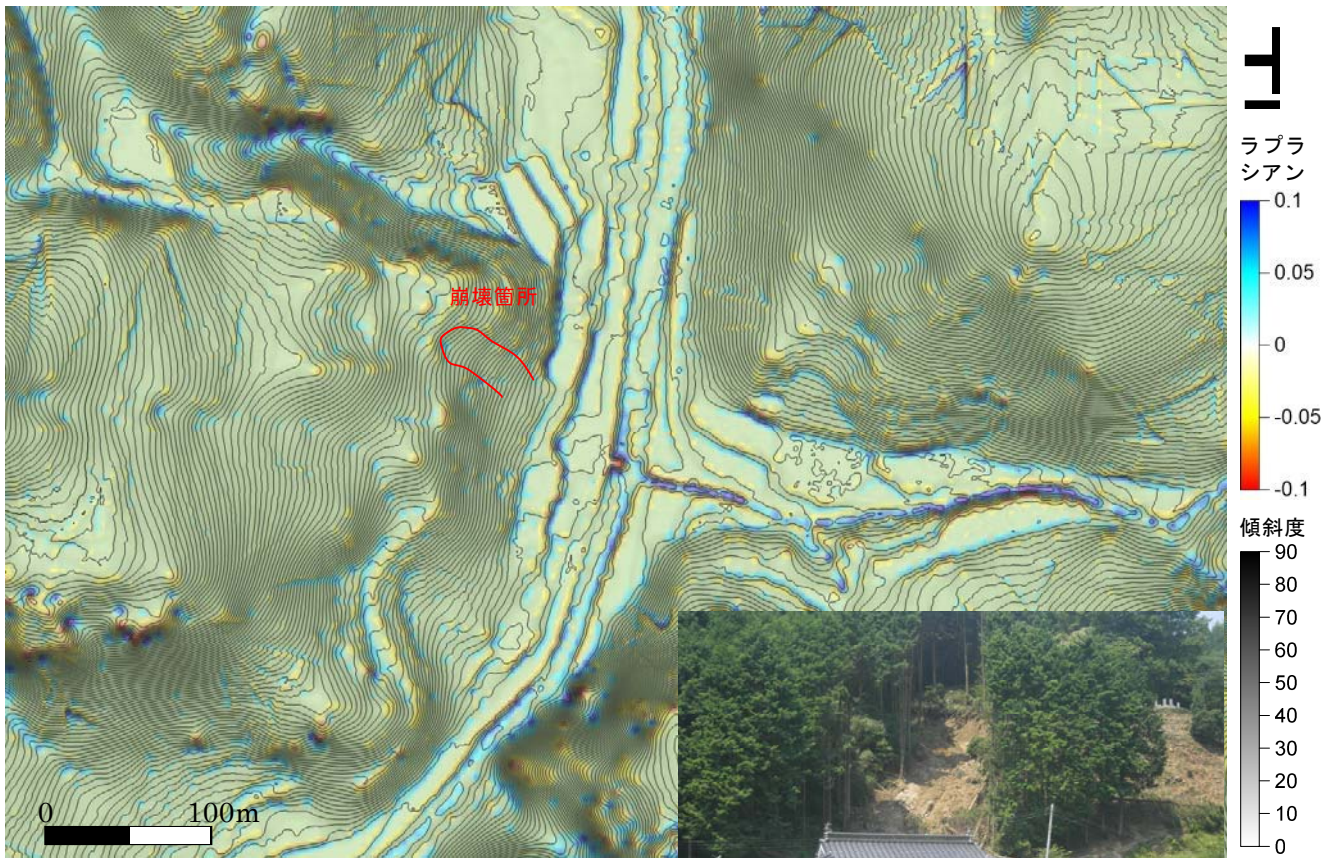


図-10 災害発生箇所の地形解析図と崩壊写真

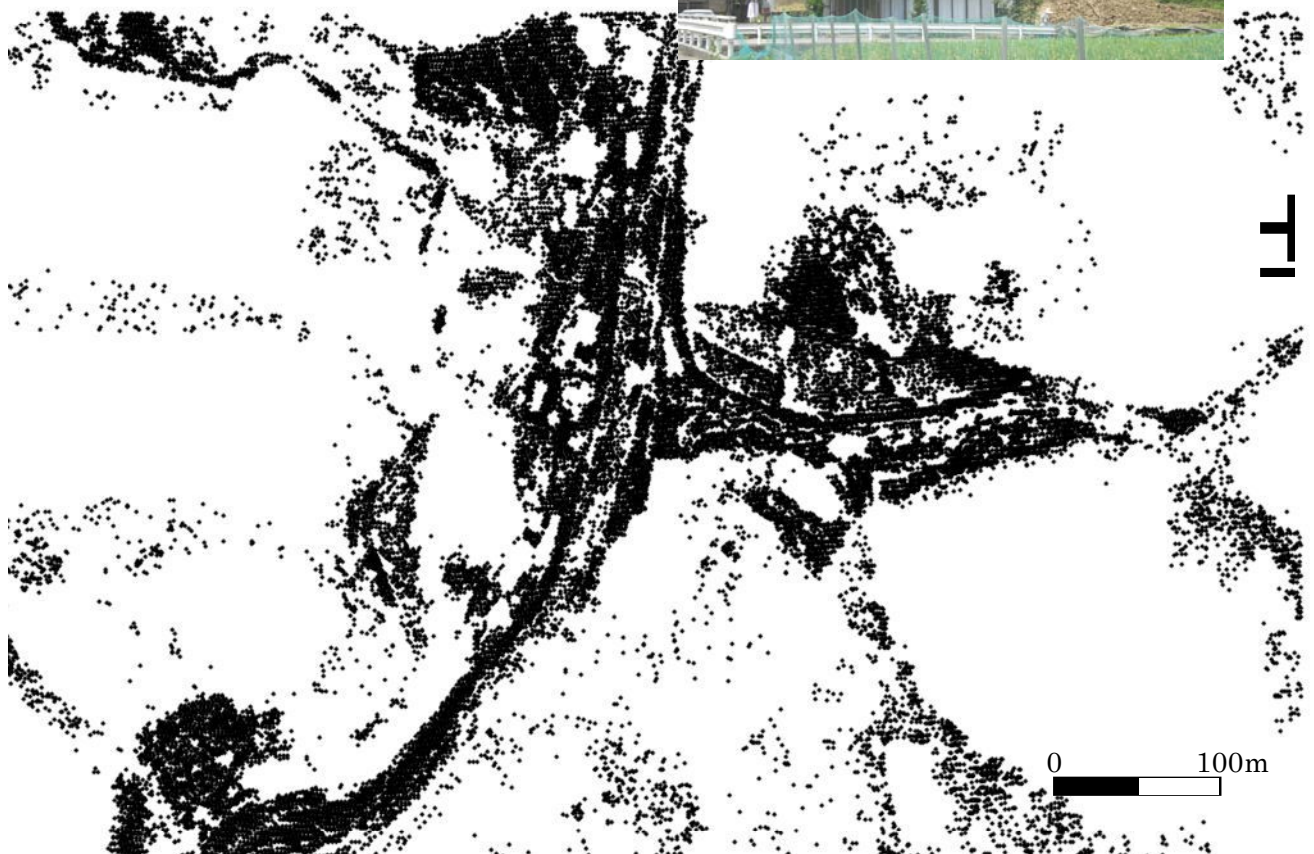


図-11 図-10 の作成に用いたグラウンドデータの分布

## 自然科学的手法により備前焼のルーツを探る — 邑久窯跡群の発掘調査から —

岡山理科大学

白石 純

邑久窯跡群は、中四国最大の須恵器窯跡群である。しかし、これまで窯構造や遺物の研究は不十分であった。そこで平成 22～25 年度に科学研究費補助金(代表：亀田)を頂き、岡山県備前市佐山地区の須恵器窯跡を発掘調査し、空白の 8 世紀後半の窯跡と備前焼の直接的なルーツとなる 10 世紀の窯跡を初めて発掘調査した。

本研究では、9～11 世紀の窯跡を地球科学、地理学などの考古学と関連する研究分野と共同調査を実施した。共同調査を行った窯跡は、平成 25 年より継続調査している佐山東山窯跡(8 世紀後半～9 世紀)である。今回の発掘調査は、平成 26 年 8 月 26 日～9 月 1 日まで実施した。なお、今回の発掘が 3 次調査となる。

発掘調査の結果、窯の規模が、大きくなり、構造は半地下式の無階段の登窯で、規模が水平長さ約 13m で、幅が 1.95m となった。遺物は、これまでに出土している須恵器と大きな違いはなく 8 世紀後半を中心とする時期で、今回の調査で注目すべき資料は、「□□十六年」ヘラ書き銘文磚である。この銘文磚の性格は墓誌または買地券の可能性があり、官人層と関わりのある人がこの地域にいたことが推測される。

### はじめに

岡山県南東部に位置する邑久窯跡群は、中国四国地方最大の須恵器窯跡群であり、備前焼へ発展した窯跡群として有名である。これまでの調査研究では、6、7 世紀の窯跡は発掘されたことはあったが、それ以降の備前焼の窯跡まで続くものはほとんどなかった。そこで、同窯跡群の実態解明のため平成 22～25 年に 8～10 世紀の備前市佐山新池窯跡群(佐山新池 1 号窯)と佐山東山窯跡群(佐山東山窯、佐山東山奥窯跡)の調査を実施した。しかし、佐山東山窯跡については、窯の構造、規模、時期が十分にわかっておらず、継続調査が必要であった。そして、このたび平成 26 年 8 月に発掘調査を行った。調査は平成 26 年 8 月 26 日～9 月 1 日の 7 日間である。

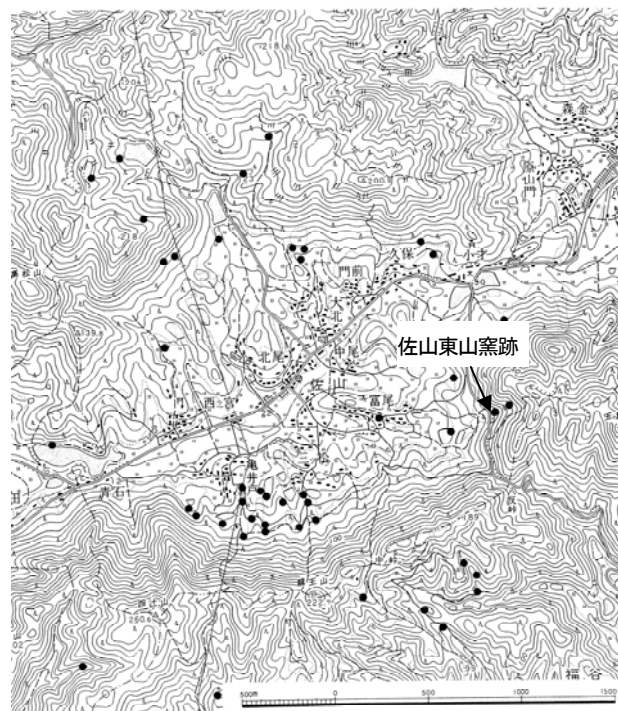
### 遺跡の位置と歴史的環境

備前市佐山地区は、備前焼で有名な伊部地区の南側、山を越えたところに位置し、東西約 2km、南北約 2.2km の盆地状を呈している。

この佐山地区を含めた邑久窯跡群は、須恵器に適した原料となる粘土(流紋岩や花崗岩が風化して生成された山土)や窯の燃料として使われたアカマツや雑木林が豊富で、生産された製品を運び出す水運

にも適したところに立地している。

この地区に窯が築かれ始めるのは奈良時代になってからのことで、まず佐山南地域に築かれ始め、8 世紀前半～中頃に佐山新池周辺に窯が築かれたと考えられる。8 世紀後半には東へ移動し、東山窯跡など佐山全域で窯が築かれた。邑久窯跡群で 8 世紀



第 1 図 備前佐山地区の窯跡位置図

後半以降に窯が築かれるのは、この佐山地区と邑久町福谷地域のみとなる。

10～11世紀には、佐山東山周辺で生産が継続するとともに、佐山地域北側(元山窯跡、宝蔵池窯跡など)や長船町磯上東側の谷奥(油杉窯跡群など)に築かれるようになる。そして、12世紀には備前焼生産開始の地である伊部に窯が築かれ始め、いわゆる「備前焼」の始まりとなり、この地域で独自に発展し現在に至っている。

### 遺跡の概要(第1・2図)

佐山東山窯跡は、備前市佐山一八反峠一瀬戸内市福谷に通じる道路脇で須恵器が採集されたことで知られていた。平成25年3月と8月の2回の発掘調査では、第1トレンチから第4トレンチまで設定した。その結果、第1トレンチを中心に窯本体とそれに伴う溝を検出した。

今回の調査では、第6トレンチまで設定し調査を行った。以下、新たにわかったことについて述べる。

#### 第3トレンチ西

灰原を確認するために設定したが、窯本体が延びることがわかり、焼き口の検出に主眼を置いた。しかし、焼き口を確認できず、窯本体が西側にやや褶曲していることが想定された。

#### 第3トレンチ西南

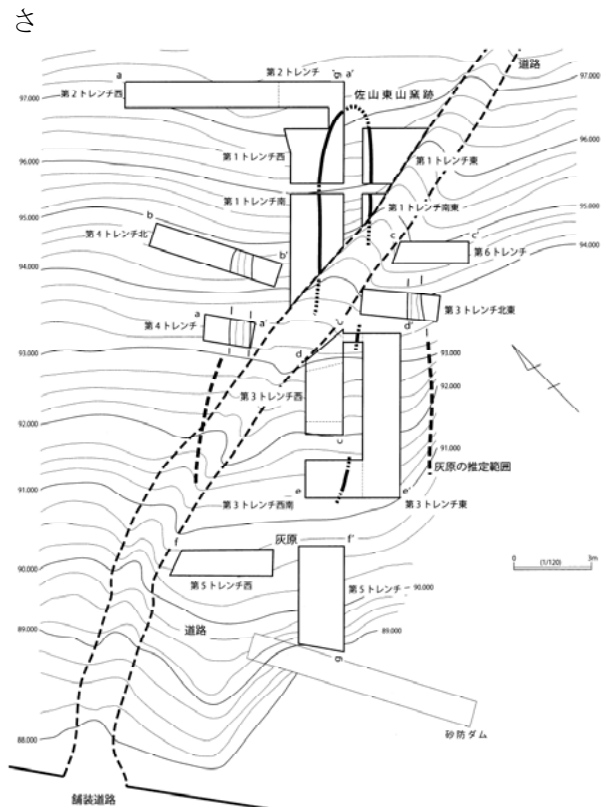
第3トレンチ西の西南側に焼き口部分を検出するため設定したトレンチである。床面まで掘り下げたところ、ほぼ水平であることから焼き口部近くであると推測される。

#### 第5トレンチー第5トレンチ西

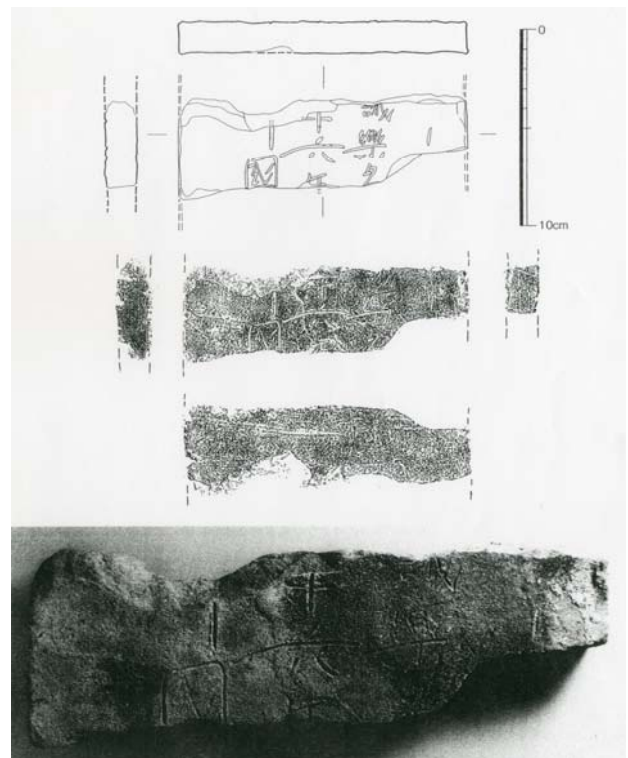
灰原層の広がりを確認するために設定した。その結果、須恵器・炭・焼土混じりの灰原層を確認した。なお、ヘラ書き銘文埴はこの灰原層より出土した。

#### 出土遺物

この調査で出土した遺物は、須恵器、窯壁、ヘラ書き銘文埴である。須恵器では8世紀後半から9世紀にかけての杯、皿、壺、甕類と10世紀頃の椀が出土している。また注目すべき遺物としては、「ヘラ書き銘文埴」である。銘文埴については現在までにわかった点について報告する。この銘文埴は第5トレンチ灰原層で出土した。幅1.47cm、残存高5.2cm、厚



第2図 佐山東山窯跡トレンチ位置図



第3図 佐山東山窯跡出土ヘラ書き銘文埴

1.6～1.7cmの須恵質の板である(第3図参照)。両側面は本来の面を残しているが、上下はどちらも割れている。この埴の一面に3行分の文字が記されていた。右から1行目「・・・議樂名・・・」、2行目「・・・十六年・・・」、3行目「・・・?國・・・」と記さ



れている。そして、2行目の「十六年」が年号と考えられる。この年号は天平16(744)年、延暦16(797)年が有力である。以上のことから、この銘文埴の性格は、墓誌または買地券が有力な候補である。そして、前回報告した「福」押印須恵器とともに、1つの窯跡から2種類の文字資料が出土したことや、他の出土遺物などからも「官人層」との関わりが想定される窯跡である。このように佐山東山窯跡は、「官人層」と関係があった人物がかかわった地域の窯跡であることを推測させる貴重な資料である。

### 佐山東山窯跡群須恵器の胎土分析

佐山東山窯跡群で生産された須恵器が、どこで消費されているか。自然科学的手法による胎土分析で検討した。検討方法は、岡山県内で発掘調査され、報告書が刊行された遺跡のうち、出土須恵器の考古学的(形態学)検討から、備前地域で生産されたと推定されている備前国府の関連遺跡である岡山市南古市場遺跡の河道砂礫中より出土した須恵器を自然科学的手法(蛍光X線分析法)による胎土分析を行ない、8世紀後半から12世紀にかけての須恵器の生産地推定を試みた。

この南古市場遺跡は、遺跡北側を推定古代山陽道が通り備前国府の推定地内に位置することなどから国府との深い関わりがあることが想定されている遺跡である。

### 分析方法・試料

測定装置、条件、試料等は以下の通りである。

測定装置：蛍光X線分析計 SEA5120A(エアアイ・ナテクト社製)を使用した。

測定条件：X線照射径 2.5mm、電流 50~200mA、電圧 50kV/15kV、測定時間 300秒、測定室は真空の条件で測定した。

測定元素：10成分の定量値は地質調査所の標準試料 JA-1(安山岩)、JG-1a(花崗岩)、JR-1(流紋岩)、JB-1a(玄武岩)、JF-1(長石)の5個の試料を用いて検量線を作成し、定量値を算出した。測定した成分(元素)は、 $\text{SiO}_2$ 、 $\text{TiO}_2$ 、 $\text{Al}_2\text{O}_3$ 、 $\text{Fe}_2\text{O}_3$ 、 $\text{MnO}$ 、 $\text{MgO}$ 、 $\text{CaO}$ 、 $\text{Na}_2\text{O}$ 、 $\text{K}_2\text{O}$ 、 $\text{P}_2\text{O}_5$ の10成分である。

測定試料：分析試料は、須恵器表面の汚れを除去後(研磨機)、乾燥した試料を乳鉢(タングステンカーバイト製)で粉末(100~200メッシュ)にしたものを加圧成形機で約15トンの圧力をかけ、コイン状に成形したものを測定試料とした。したがって、一部破壊分析である。

### 産地推定方法

分析結果からの産地推定方法は、有意な差がみられる成分を横軸と縦軸にとり、散布図を描き、生産地(窯跡)領域に消費地試料がどのように分布するか検討し、産地推定を行った。

分析した試料は、表1および図10、11に示した河道内出土の34点である。

分析の結果、胎土に差異がみられた成分は $\text{TiO}_2$ 、 $\text{Fe}_2\text{O}_3$ 、 $\text{CaO}$ 、 $\text{K}_2\text{O}$ 、の各成分であった。これらの成分を用いて散布図を作成し比較した。

岡山県内の8世紀後半から12世紀代の生産地(窯跡)須恵器の胎土分析では、備前市内の佐山地区の新池1号窯、東山窯跡、東山奥窯跡と伊部地区の東6号窯、医王山東麓2号窯の分析データを蓄積している。備前市内の各窯跡の比較では、備前市内の至近距離の窯跡でも胎土に違いがあることが推測された(亀田、白石、徳澤2014)。それは佐山地区の新池1号窯、東山窯跡、東山奥窯跡と伊部地区の東6号窯、医王山東麓2号窯の間で胎土が異なっていた。胎土に違いがみられた元素は鉄( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ )成分で伊部地区の窯は鉄成分が少ない傾向がみられた。

今回の分析では、これら備前市内の窯跡試料との胎土比較を行った。

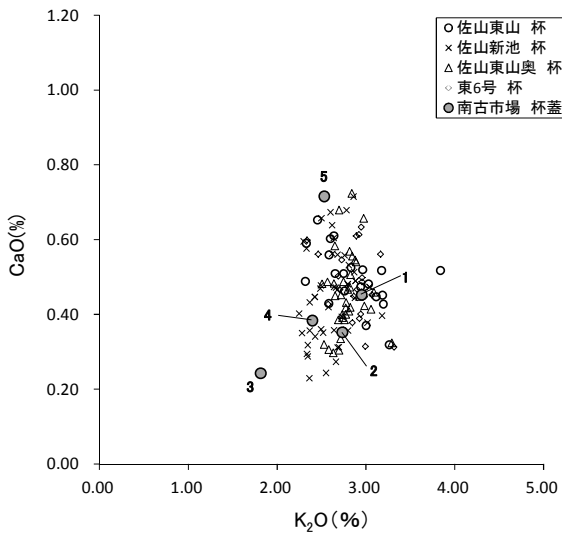
南古市場遺跡の河道砂礫中より出土した須恵器を器種別に分けて、備前市内の窯跡と比較した。

### 杯蓋(第10図1~5)

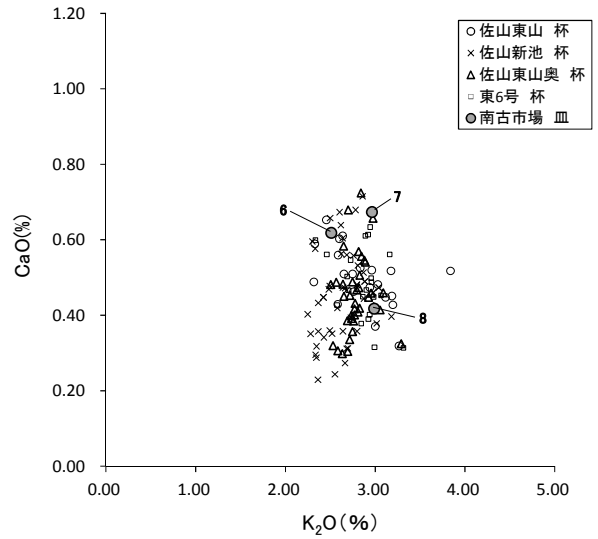
第4図 $\text{K}_2\text{O}-\text{CaO}$ の散布図から、3の輪状つまみ以外は、概ね備前地域の窯跡領域に分布している。そして、備前地域でも佐山地区の窯跡領域に分布している。なお3はこの分析では備前地域以外と推定される。

### 杯身(第10図9~21、28、29)

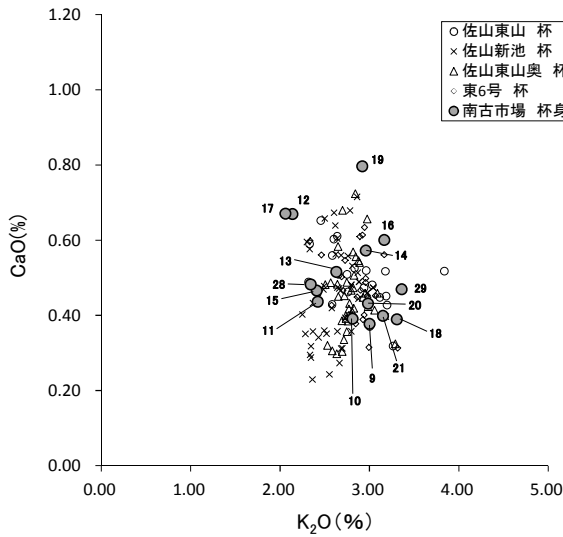
第5図 $\text{K}_2\text{O}-\text{CaO}$ の散布図より、杯身は、すべて備



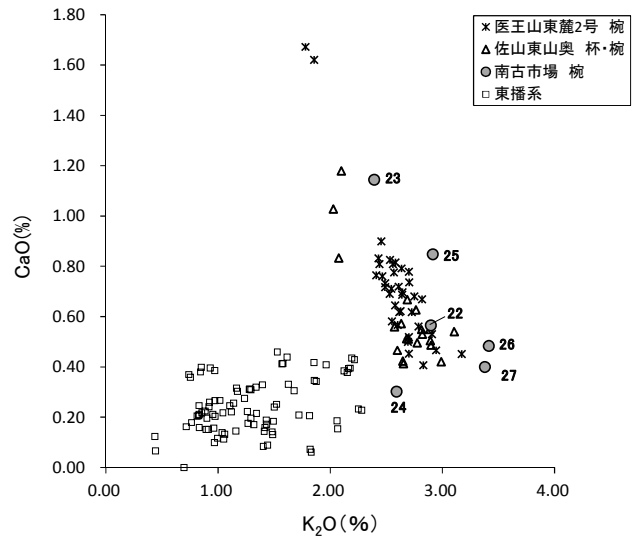
第4図 南古市場遺跡出土土杯蓋の産地推定



第6図 南古市場遺跡出土土皿の産地推定



第5図 南古市場遺跡出土土杯身の産地推定



第7図 南古市場遺跡出土土碗の産地推定

前地域の窯跡領域に分布した。また備前地域でも佐山地区の領域にほとんどが分布している。

皿 (第10図6~8)

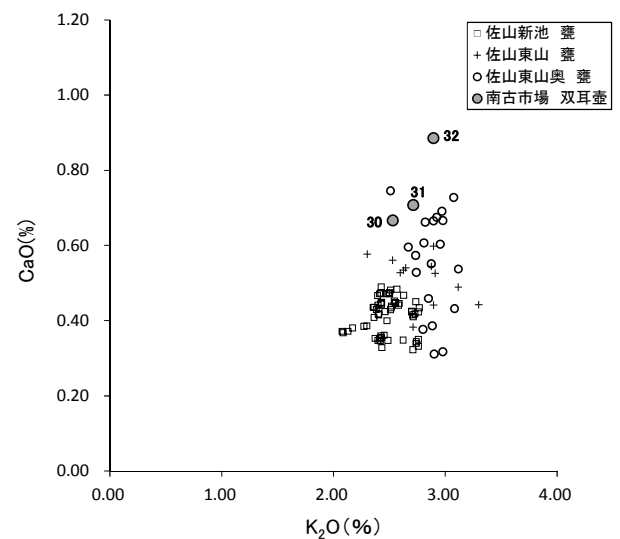
第6図  $K_2O-CaO$  の散布図から、皿類も備前地域に分布し、特に6の皿は佐山東山奥窯跡の領域に分布した。

碗 (第10図22~27)

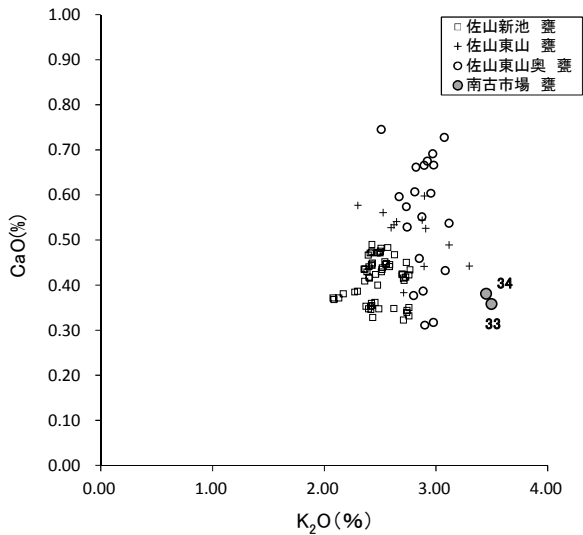
第7図  $K_2O-CaO$  の散布図より、碗は備前地域の領域に分布した。東播系には入らなかった。したがって、備前地域と推定されるが、備前地域でも医王山東麓2号窯に胎土が近いようである。

壺 (第11図30~32)

第8図  $K_2O-CaO$  の散布図より、3点の双耳壺は、備前地域の佐山地区領域に分布している。



第8図 南古市場遺跡出土土双耳壺の産地推定



第9図 南古市場遺跡出土甕の産地推定

甕 (第11図33、34)

第9図 K<sub>2</sub>O-CaO の散布図から、甕2点は佐山新池1号窯の領域近くに分布した。

まとめ

備前国府と深い関連のある南古市場遺跡の河道砂礫中より出土した8世紀後半から12世紀にかけての須恵器の生産地推定を試みた。

器種別に分類した試料を、備前地域の生産地と比較を行った。その結果、8世紀後半から10世紀の杯、皿類は、備前地域の佐山地区と胎土が類似していることが推定された。

椀類では、備前市伊部地区の医王山東麓2号窯と胎土が類似していることが推定された。これは、医王山東麓2号窯は12世紀代の時期であり、東山奥が10世紀代の時期になることから、これら平高台の椀は、12世紀代に近い椀であると考えられる。

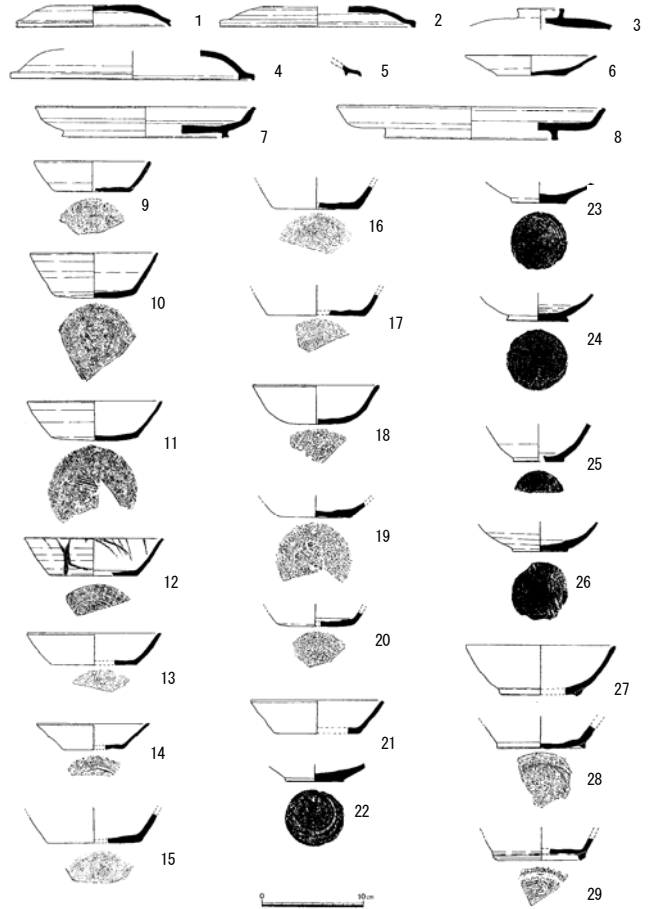
双耳壺と甕類は、備前佐山地区と胎土が類似していた。

以上のように、今回分析した南古市場の8世紀後半から12世紀にかけての須恵器は、ほとんどが備前地域で生産されたものが供給されていることが推定された。しかし、椀類は、伊部地区(医王山東麓2号窯)の椀類に、胎土が類似しており、佐山東山奥で生産された椀は、どこに供給されているか今回の分析では明確にならなかった。また、「ヘラ書き銘文博」の残りの破片が未調査区より出土することが考えら

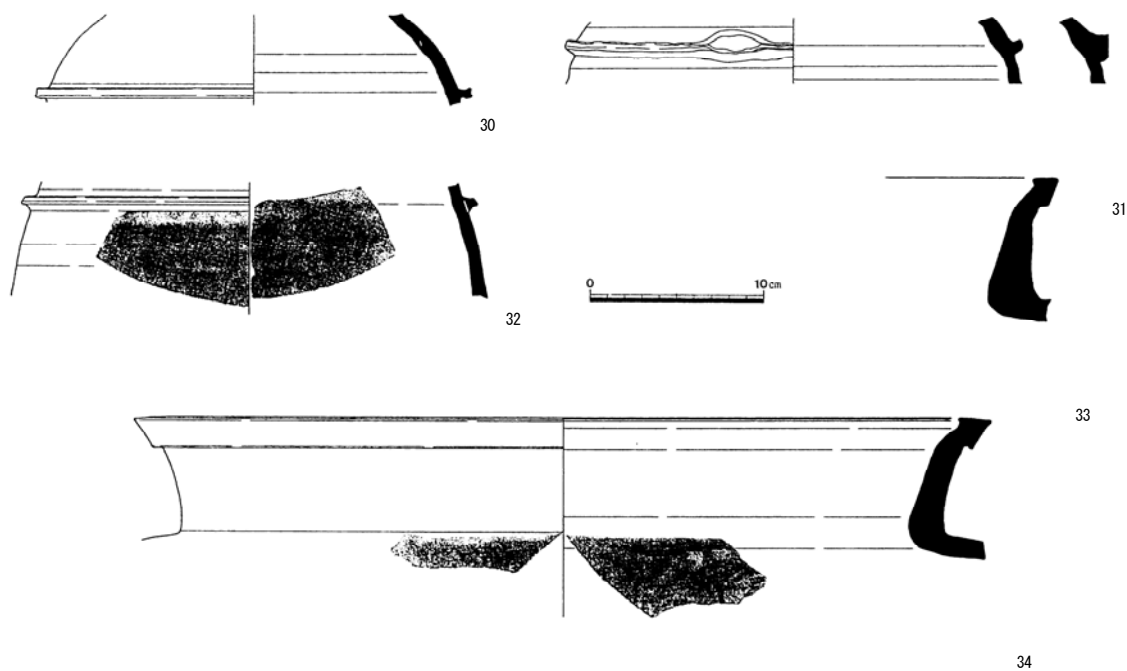
れることや、未掘区に新たな窯の存在も想定されることから、今後も佐山東山窯跡の調査を継続する必要がある。

第1表 南古市場遺跡出土須恵器の胎土分析結果(%)

試料番号	器種	SiO <sub>2</sub>	TiO <sub>2</sub>	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	MnO	MgO	CaO	Na <sub>2</sub> O	K <sub>2</sub> O	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
1	杯蓋	69.90	0.91	17.14	6.42	0.03	2.05	0.45	0.00	2.95	0.05
2	杯蓋	71.21	0.92	17.14	6.60	0.01	0.91	0.35	0.00	2.74	0.06
3	杯蓋(輪状つまみ)	81.06	0.76	12.78	2.83	0.00	0.40	0.24	0.00	1.82	0.04
4	杯蓋(かえり有り)	77.10	0.78	13.93	4.69	0.00	0.57	0.38	0.00	2.40	0.05
5	杯蓋(かえり有り)	73.52	0.77	16.16	5.26	0.04	0.51	0.72	0.33	2.53	0.04
6	皿	69.14	0.99	17.94	7.10	0.04	1.23	0.62	0.34	2.51	0.04
7	皿(高台付)	73.49	0.84	16.11	5.08	0.05	0.29	0.67	0.40	2.96	0.03
8	皿(高台付)	75.94	0.74	15.35	4.08	0.00	0.36	0.42	0.00	2.99	0.04
9	杯身	72.58	1.00	16.77	5.57	0.15	0.44	0.38	0.00	3.00	0.04
10	杯身	71.40	1.08	17.22	6.04	0.01	0.90	0.39	0.01	2.81	0.05
11	杯身	75.74	0.98	15.43	4.58	0.01	0.25	0.44	0.02	2.42	0.04
12	杯身	70.42	0.91	17.99	7.18	0.03	0.55	0.67	0.00	2.14	0.03
13	杯身	69.42	0.86	18.49	7.00	0.02	0.80	0.52	0.00	2.63	0.04
14	杯身	70.27	0.85	16.15	6.18	0.05	1.64	0.57	1.20	2.96	0.03
15	杯身	76.58	0.78	15.40	3.82	0.00	0.41	0.47	0.00	2.41	0.05
16	杯身	72.05	0.86	16.16	5.61	0.02	0.63	0.60	0.81	3.17	0.03
17	杯身	67.81	0.91	19.04	7.21	0.06	1.88	0.67	0.17	2.06	0.05
18	杯身	72.42	0.87	16.22	5.85	0.03	0.74	0.39	0.00	3.31	0.05
19	杯身	69.16	0.70	17.10	6.19	0.03	1.84	0.80	1.10	2.92	0.04
20	杯身	71.33	0.97	16.95	6.31	0.02	0.85	0.43	0.00	2.98	0.05
21	杯身	71.53	0.90	16.72	6.62	0.04	0.48	0.40	0.00	3.15	0.04
22	椀(平高台)	73.43	0.74	16.29	4.79	0.04	0.29	0.57	0.52	2.90	0.30
23	椀(平高台)	70.03	1.06	18.82	4.53	0.03	1.39	1.14	0.16	2.39	0.31
24	椀(平高台)	75.94	0.80	15.65	3.88	0.01	0.28	0.30	0.37	2.59	0.04
25	椀(平高台)	75.88	0.62	14.76	3.65	0.00	0.39	0.85	0.76	2.92	0.04
26	椀(平高台)	73.57	0.71	16.38	4.94	0.01	0.35	0.48	0.00	3.41	0.03
27	椀(高台付)	71.78	0.72	16.50	6.67	0.02	0.40	0.40	0.00	3.38	0.04
28	杯(高台付)	76.31	0.91	14.91	4.65	0.00	0.27	0.48	0.00	2.34	0.04
29	杯(高台付)	69.36	0.58	18.30	6.51	0.00	0.55	0.47	0.75	3.36	0.04
30	双耳壺	73.06	0.71	15.72	5.15	0.00	1.52	0.67	0.41	2.53	0.06
31	双耳壺	70.78	0.88	16.98	6.06	0.01	1.31	0.71	0.43	2.71	0.06
32	双耳壺	75.11	0.64	14.64	3.63	0.00	1.21	0.89	0.88	2.89	0.04
33	甕	72.90	0.70	16.71	4.26	0.01	1.08	0.36	0.24	3.50	0.06
34	甕	73.36	0.74	16.60	4.34	0.01	0.57	0.38	0.34	3.45	0.04



第10図 南古市場遺跡出土須恵器実測図



第 11 図 南古市場遺跡出土須須恵器実測図

【引用・参考文献】

- ・ 亀田修一、白石 純、徳澤啓一 2015『佐山東山窯跡群第4次発掘調査概報』岡山理科大学考古学研究室
- ・ 亀田修一、白石 純、徳澤啓一 2014『備前邑久窯跡群の研究 - 西日本における古代窯業生産の研究 -』岡山理科大学考古学研究室
- ・ 扇崎 由 2012『南古市場遺跡 - 岡山市立高島公民館建設に伴う発掘調査 -』岡山市教育委員会
- ・ 石井 啓 2006『伊部南大窯周辺窯跡群確認調査報告書Ⅱ』備前市埋蔵文化財調査報告書7 備前市教育委員会
- ・ 石井 啓、重根弘和、赤井夕希子 2012『医王山東麓窯跡群発掘調査報告書』備前市埋蔵文化財調査報告書9 備前市教育委員会

## 野生シカ多頭捕獲檻のゲート閉鎖遠隔制御装置の開発

津山工業高等専門学校

鳥家秀昭

野生のシカなどの有害動物の駆除を行うための多頭捕獲檻の普及促進を目的として、低価格で機械や電気の専門知識がない檻の管理者に使いやすいゲート閉鎖遠隔制御装置の開発に取り組んだ。檻の設置場所から遠隔地にいる檻の管理者はリモコンで遠隔制御装置に指令を送ることによりゲート閉鎖を行ない、もっと遠隔地にいる管理者は携帯電話を使って捕獲情報、ゲート閉鎖指令および捕獲確認情報の双方向伝送を行うことを着想した。透過型赤外線センサーとマイコン制御回路を組合せた頭数カウンタを内蔵した操作パネルで自動ゲート閉鎖が可能になった。檻の設置場所から80～100[m]の所からゲートを閉鎖できた。また、3[km]程度の遠隔地で、携帯電話を用いた無線通信によりゲート閉鎖に成功した。この結果、檻の管理者(猟友会の人)が有害野生動物を確実に捕獲できる低価格のゲート閉鎖遠隔制御装置の可能性が得られた。今後の研究展開として、WEBカメラと携帯電話を組合せた遠隔制御装置の開発に取り組む予定である。

### 1. 背景・目的

全国各地で野生動物による生活環境、生態系あるいは農作物の被害が深刻化している。岡山県でも野生のシカが多い勝英地域の被害額は、毎年1億円規模に達している<sup>(1, 2)</sup>。一方、野生動物の狩猟者や捕獲従事者の減少と農家の高齢化の進行が相まって、被害の対策は容易ではない。多頭捕獲檻では、最も効果的なタイミングでゲートを閉鎖することが重要である。このため檻に進入した野生シカの頭数(以下、シカ頭数)の自動計測および捕獲目標頭数の自動設定が可能な捕獲制御装置が市販されている<sup>(3)</sup>が、高価で操作方法が複雑なため、利用・普及は難しいと思われる。

そこで、本研究では、低価格で檻の管理者(捕獲従事者)が使いやすい遠隔制御装置を開発し、これより農山村地域の環境保全・活性化に貢献する。

### 2. ゲート閉鎖遠隔制御装置

夜間や早朝に檻の管理者が一度のゲート閉鎖により多数の野生シカを捕獲でき低価格の遠隔制御装置を開発する。檻の管理者は檻の設置場所から遠隔地でリモコンや携帯電話を用いて遠隔制御装置を操作

する。携帯電話を使う場合は、捕獲情報、ゲート閉鎖指令および捕獲確認情報の双方向伝送を行う。

#### (1) 遠隔制御装置の概要

透過型赤外線光電センサーとマイコンを用いて檻に進入したシカ頭数の自動計測を行い、事前に設定した捕獲目標頭数に達した時に自動でゲートを閉鎖する。また、檻に設置した携帯電話から遠隔地にいる檻の管理者の携帯電話に、野生シカが檻に進入した情報を通知する。檻の管理者は携帯電話を操作してゲート閉鎖指令を送信し、多頭捕獲を行う。さらに、野生シカの捕獲に成功した場合は、捕獲情報を檻の管理者に送信する。

具体的には、下記の機能を具備する遠隔制御装置とする。

- (a)檻内に進入したシカ頭数の自動カウントを行い、捕獲目標頭数に達すると自動でゲート閉鎖を行う。
- (b)檻の設置場所から遠隔地の管理者の携帯電話に、檻に進入したシカ頭数の情報を通知する。
- (c)遠隔地にいる管理者が携帯電話で指令を送り、檻のゲートを閉鎖する。
- (d)檻に捕獲された野生シカを検知した情報を携帯電話に通知する。

## (2) 遠隔制御装置の設計方針

本研究で取組む遠隔制御装置の設計方針を述べる。

- ①檻に進入したシカ頭数をカウントする。野生シカの出入りを監視するために透過型赤外線センサーを使用する。このセンサーの出力信号は、野生シカが檻に進入するとカウント「+1」、檻の外に出るとカウント「-1」のように、頭数カウンタが記録する。
- ②檻に進入したシカ頭数を数日間、記録する。午後6時～午前6時までに、檻に進入した最大頭数を1日分として計算する。檻の管理者は数日間のデータを参考にして捕獲目標頭数を設定する。頭数設定ボタンで捕獲目標頭数を設定した後、捕獲を開始する。
- ③設定された捕獲目標頭数の野生シカを捕獲する。遠隔制御装置は、カウントした頭数が捕獲目標頭数に達した時、扉を落下させてからゲートを閉鎖するまでの遅延時間(最長60秒間)の計測を開始する。時間が経過すると扉を落下させてゲートを閉鎖する。
- ④携帯電話に通知する。捕獲する・しないには無関係に、カウントしたシカ頭数が捕獲目標頭数に達すると、頭数カウンタを内蔵した操作パネルに設置している携帯電話から、檻の管理者の携帯電話に通知する。遠隔地にいる檻の管理者は携帯電話の着信を受取ることで捕獲目標頭数の野生シカが檻に進入したことを知る。
- ⑤携帯電話で遠隔制御装置を操作する。すなわち、遠隔地にいる檻の管理者は携帯電話を使って操作パネルに設置している携帯電話にゲート閉鎖指令を送信する。

## (3) ゲートの開放(扉の保持)・閉鎖

檻のゲート開放時は、ゲートの扉を金属製ワイヤで吊り上げ、このワイヤを電磁石で保持する(電磁石方式)。しかし、長いワイヤは野生シカが警戒して檻に近づき難い。ゲート閉鎖時に金属製ワイヤの保持具からリリース音が発生し、これを野生動物が警戒して檻に近寄らなくなるという問題がある。そこで、扉を小径のリング状の釣り糸で吊り上げて保持し、ゲート閉鎖指令によりプルソレノイドを駆動して、これに取付けたカッターで釣り糸を切断することにより扉を落下させる方法を考案した。

図1(a)、(b)に釣り糸+電動カッター方式を

示す。この方式は、(長円で囲まれた)釣り糸で扉を吊り上げてゲートの開放を保持する。プルソレノイドの可動鉄心に、アクリル製の治具でカッターの刃を取付けた電動カッターを駆動して釣り糸を切断する。校内で動作テストを行い、扉が落下することを確認した。



(a) 釣り糸



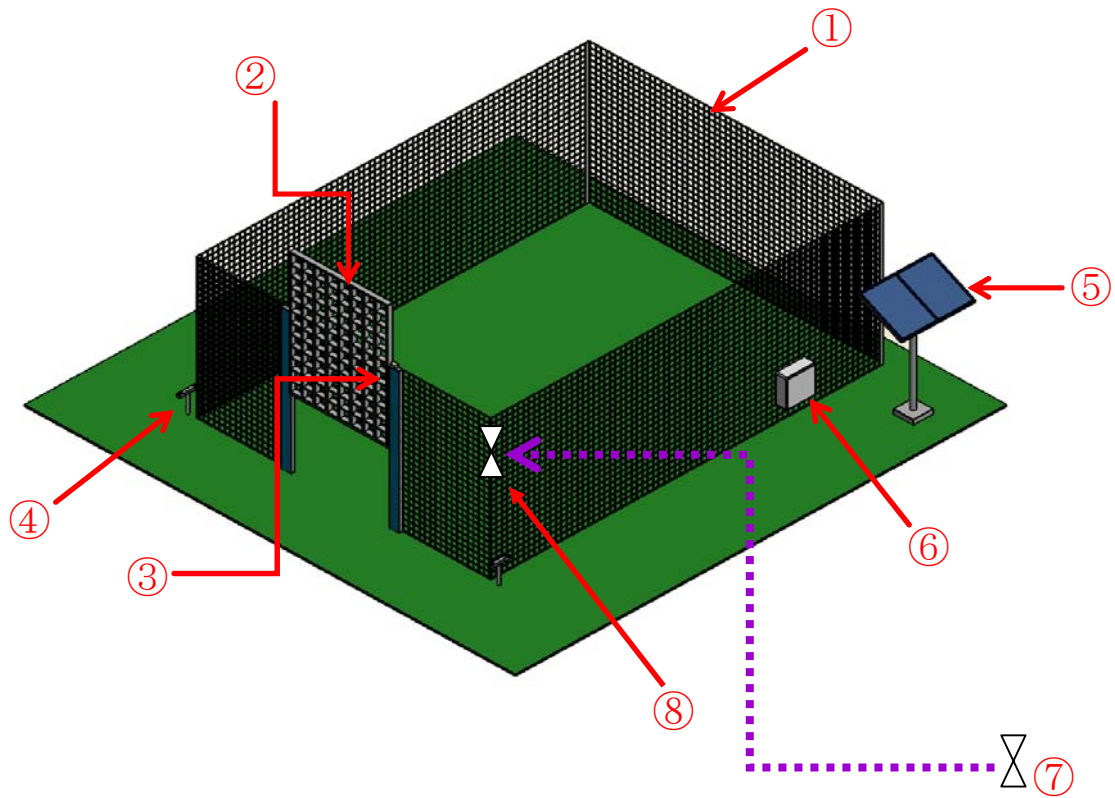
(b) 電動カッター

図1. 釣り糸+電動カッター方式

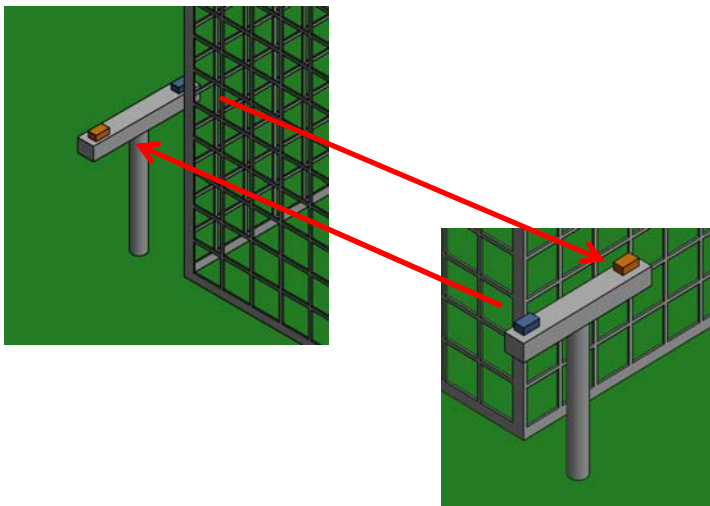
## (4) 遠隔制御装置の構成

図2に、檻と遠隔制御装置の構成を示す。(a)は檻と各々の機材の配置を、(b)は透過型赤外線光電センサーの配置を示す。

各々の機材は、①檻、②扉、③ゲートの開放・閉鎖機構、④透過型光電センサー、⑤ソーラーパネル、⑥遠隔制御装置(蓄電池)、⑦リモコン送信機、⑧リモコン受信機である。



(a) 檻と各々の機材の配置



(b) 透過型赤外線センサーの配置

図2. 遠隔制御装置の構成

(4) 頭数カウンタ機能付操作パネル

図3に頭数カウンタ機能を具備した操作パネルの外観を示す。「設定頭数以上でゲート閉鎖」と「頭数減少時にゲート閉鎖」の2つの制御モードがあり、切換えて使用できる。



図3. 頭数カウンタ機能付操作パネル

(5) 遠隔制御用リモコン

図4に、遠隔制御装置の操作に使用するリモコンの送受信機を示す。電波が到達する最大距離は約150[m]である。商品名は電気錠用リモコンユニット (SECO-LARM製) で、電源はDCまたはAC11~24[V]である。送信機のサイズは、幅: 51 [mm], 奥行: 33 [mm], 高さ: 11 [mm] で、受信機のサイズは、幅: 83 [mm], 奥行: 68 [mm], 高さ: 27.5 [mm] である。



図4. リモコン送受信機 (右: 送信機, 左: 受信機)

3. 遠隔制御装置の動作テスト

(1) 自動ゲート閉鎖

檻に進入した野生シカが捕獲目標頭数に達した後、ゲートの扉を保持する電磁石の励磁電流を止めると扉が落下してゲートが閉鎖する。電磁石を取り付けた檻の扉を、多頭捕獲用檻が設置されている場所に運び、ゲートの前に設置した2本の杭に透過型光電センサーを取付けた。

今回の遠隔制御装置の動作テストでは、野生シカの代わりに学生が透過型光電センサーを横切った。

操作パネルの捕獲目標頭数を3頭に設定し、頭数カウンタのカウンタ数が3頭に到達すると自動でゲートが閉鎖した。

(2) 携帯電話による遠隔制御

携帯電話と専用の制御装置を用いて、無線通信による動作テストを行った。頭数カウンタのカウンタ数が設定したシカ頭数に達すると、マイコンの指令により、檻の管理者の携帯電話に通知する。具体的には、檻の設置場所から約3 [km] の遠隔地において携帯電話の着信および携帯電話の指令によるゲート閉鎖に成功した。

(3) 扉の保持・落下 (釣り糸+電動カッター方式)

電磁石方式は、扉を開放している間に連続して励磁電流を供給するため、蓄電池の電力消費が大きい。そこで、2章(3)で述べたように、釣り糸+電動カッター方式を考案し、釣り糸で扉を吊り上げてゲートを開放し、ゲート閉鎖時には電動カッターで釣り糸を切断する。

これについては、手動操作の実験で正常動作を確認したが、遠隔制御の動作テストは未実施である。

(4) 捕獲情報通知装置

ゲート閉鎖に成功したことを檻の管理者に通知する装置である。扉が落下した時に発生する振動音あるいは檻の内部で野生シカがあばれて発生する衝撃音を振動センサーで検知し、自動で出力信号 (捕獲情報) を檻の管理者の携帯電話に通知する。

この装置についても、(3)と同様に遠隔制御の動作テストは未実施である。



#### 4. まとめ

野生のシカを駆除するための多頭捕獲檻の普及促進を目的として、低価格で機械や電気の専門知識がない檻の管理者に使いやすいゲート閉鎖遠隔制御装置の開発に取り組み、実施した動作テストは全て成功した。

今後の課題として、

- (1) 複数のゲートが設置された檻の遠隔制御装置の開発
- (2) WEBカメラと携帯電話を組合せた遠隔制御装置の開発

がある。

#### 謝辞

最後に、本研究の遂行にあたり、研究経費を助成していただきました（財）ウエスコ学術振興財団に感謝いたします。

#### 参考文献

- (1)<http://www.pref.okayama.jp/page/detail-83737.html>
- (2)[http://www.pref.okayama.jp/uploaded/life/83737\\_2499077\\_misc.pdf](http://www.pref.okayama.jp/uploaded/life/83737_2499077_misc.pdf)
- (3)<http://www.issei-eco.com/products/kazoemon/detail.html>

## 非同期式直列演算器に基づいた超低消費電力デジタル補聴器の開発

川崎医療福祉大学 医療技術学部 臨床工学科

近藤 真史

近年、高齢化社会の進展に伴って、難聴を改善する補聴器のニーズは急速に高まっており、特にデジタル信号処理回路(DSP)を内蔵したデジタル補聴器は広く普及している。しかしながら、補聴器の高機能化に伴って、それを処理する DSP への演算負荷が著しく増大しており、その電池寿命は2~7日程度に留まっているのが現状である。そこで本研究では、DSPを構成する積和演算回路に着目し、それを構成する加算器と乗算器の低消費電力化を図る。まず、人間の可聴域が20Hz~20kHz程度である点を勘案し、現在常識的に用いられている高速な並列演算器(加算器・乗算器)ではなく、単一の全加算器のみを用いて逐次的に演算を行う直列演算器を採用する。次に、これらの直列演算器に対して、クロックパルスを用いない非同期式回路に基づいた制御を導入することにより低消費電力化な演算器を実現する。そして、これに基づいた加算器および乗算器を設計し、シミュレーションを通じてそれぞれ所望の動作を確認した。さらに、その消費電力を解析した結果、既存の並列演算器に比して、加算器および乗算器はいずれもその消費電力を約50%削減できることを確認した。

## 1. まえがき

近年、高齢化社会の進展に伴って、日本の推定難聴者は約2000万人に達しており、デジタル信号処理回路(Digital Signal Processor : DSP)を内蔵した、いわゆるデジタル補聴器が広く普及している<sup>[1]</sup>。最近のデジタル補聴器は様々な聴覚支援機能を備えているが、相対的にそれを処理する DSP への演算負荷が増大し、デジタル補聴器の電池寿命は数日程度に留まっているのが現状である<sup>[2][3]</sup>。

この問題に対する最も単純な解決方法の一つは、電池の大容量化を図ることではあるが、デジタル補聴器はその装着形態から搭載可能な電池に物理的な限界がある。そこで、クロックの供給電圧を低減することにより電池寿命を改善する手法<sup>[4]</sup>が提案されているものの、低電圧環境下ではノイズ干渉が増大するためにこれにも限界がある。したがって、デジタル補聴器における電池寿命の改善を図るためには、デジタル補聴器用 DSP(以下、単に補聴器用 DSP という)におけるアーキテクチャの観点から低消費電力化手法を検討する必要がある。

そこで本研究では、補聴器 DSP における回路面積の大部分を占める積和演算器への応用を前提として、小面積かつ低消費電力な演算器(加算器と乗算器)を

提案する。提案する演算器では、補聴器用 DSP が処理する音声信号は高々20kHz程度である点に着目し、現在常識的に用いられている並列演算器ではなく、一対の全加算器(FA)とフリップフロップ(D-FF)のみを用いて逐次的に演算を行う直列演算器<sup>[5]</sup>を採用することで大幅な小面積化を図る。さらに、この種の直列演算器ではその制御に高速なクロックを供給する必要があるが、本研究では、これにクロックを用いない非同期式回路に基づいた制御を施すことにより、クロックに起因する消費電力の増大を抑制し、低消費電力な演算器の実現を図る。

以下本報告では、紙面の都合上、提案した演算器のうち非同期式直列加算器(以下、非同期加算器という)についてのみ述べる。これと同じく演算器を構成する非同期式直列乗算器については研究成果[C]の文献を参照されたい。

## 2. 設計方針

直列加算器の非同期化を図るには、クロックに代わって動作タイミングを制御する手法が必要となる。以下、対象となる動作タイミングとその制御手法を述べる。

**1 ビット加算の完了** 直列加算器では、FA により 1 ビットの加算が完了したタイミングで、加数、被加数および和が格納されているシフトレジスタのデータをシフトする必要がある。非同期式回路においてこの種のタイミング制御手法は、東データ方式と 2 線 4 相式に大別されるが、本研究では、補聴器用 DSP への適用を前提としていることから、環境耐性に優れ、回路遅延に応じた最適な動作を実現可能な 2 線 4 相式を採用する<sup>[6]</sup>。2 線 4 相式では、1 ビットの信号( $d$ )を表すため 2 ビットの信号( $d_1, d_0$ )を用いる。

( $d_1, d_0$ )が(0, 1)の状態は論理'0'、(1, 0)は論理'1'を表し、(0, 0)は無効な信号を表す。特に、信号線上に有効なデータが存在する状態を稼働相、存在しない状態を休止相という。そして、稼働相と休止相を交互に繰り返すことにより、各相の境界を以って処理の完了を検出できる。

**$n$  ビット演算の完了** 上述の制御に基づいて  $n$  ビットの加算処理を実現するためには、 $n$  ビット目の加算が完了したタイミングを検出し、それに応じて以降の動作を停止する必要がある。一つには加算回数を数えるためのカウンタを別途設ける手法も考えられるが、一般的に非同期式カウンタの正確な制御は困難である上に、回路面積が著しく増大することとなる。そこで本研究では、演算終了までに演算結果を格納するレジスタ(後述の SRS)が  $n$  回シフトされる点に着目し、SRS を最上位ビットのみが'1'である信号列"10...0"で予め初期化しておくことにより、最下位ビットに'1'が現れたタイミングで演算の終了を検出する方針を採る。

### 3. 非同期式直列加算器

#### 3.1. 構成

提案する非同期加算器の構成を図 1 に示し、各構成要素の機能と意味を以下に記す。また、ラベル C が付記された論理ゲートはマラーの C 素子であり、入力が共に'1'ならば'1'、'0'ならば'0'、それ以外の場合には直前の出力を保持する回路である。

**SRA, SRB および SRS**: 加数(DataA), 被加数(DataB) および和(DataS)を格納するシフトレジスタ。なお、SI および PI は直列入力および並列入力、SO および

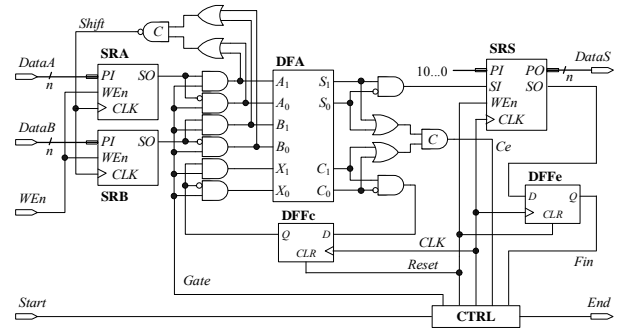


図 1 非同期式直列加算器の構成

PO は直列出力および並列出力であり、WeEn のアサートにより入力されているデータ(PI)を保持し、CLK の立上りエッジでデータをシフトする。

**DFA**: 文献[7]に基づく 2 線式全加算器。なお、X および C はそれぞれ加算前後における桁上げであり、A, B および S と同様に 2 線符号化が施されている。

**DFFc**: 演算過程で生じた桁上げを保持する非同期クリア(CLR)付の D-FF。

**DFFe**: SRS の最下位ビットから出力される演算の完了を表す信号 End を保持するための D-FF。

**CTRL**: 各シフトレジスタのシフトタイミングを制御するコントローラ。

#### 3.2. 動作手順

SRA および SRB に対するデータ格納から演算の完了に至るまでの動作手順は以下の通りである。

**手順 1. 演算データの格納** WeEn がアサートされると、SRA および SRB に DataA および DataB がそれぞれ格納される。

**手順 2. 制御信号の生成** WeEn のネゲート後、演算の開始を指示する信号 Start がアサートされると、CTRL は Gate をアサートする。

**手順 3. 1 ビット加算の開始** Gate がアサートされることで、SRA および SRB の最下位ビットのデータが 2 線符号化されて DFA に入力され、稼働相が動作する。

**手順 4. 和と桁上げの格納** 加算が終了し、桁上げ S と和 C が共に安定したことを C 素子により検出すると、Ce がアサートされる。これを受けた CTRL は CLK をアサートし、再び 1 線式のデータに変換さ

れた  $S$  および  $C$  をそれぞれ  $SRS$  および  $DFFc$  に格納する。

**手順5. 入力レジスタの制御**  $CLK$  のアサートに続けて  $CTRL$  は  $Gate$  をネゲートする。これに伴って  $DFA$  の入力全てが0'となるため、 $DFA$  に休止相が動作するとともに、図1上部の  $C$  素子により  $Shift$  がアサートされ、 $SRA$  と  $SRB$  のデータがシフトされる。

**手順6. 1ビット加算の終了**  $DFA$  において休止相が終了すると  $Ce$  がネゲートされる。これを受けた  $CTRL$  は、 $CLK$  をネゲートするとともに、再び稼働相を動作させるために  $Gate$  をアサートし、手順3に戻る。

**手順7. 演算処理の完了** 手順3～手順6の動作を  $n$  ビット分繰り返すことにより、演算結果が順に  $SRS$  に格納される。それに伴って、 $SRS$  の初期値として最上位ビットに格納していた信号1'が  $DFFe$  に格納され、演算の完了を表す信号  $Fin$  としてアサートされる。そして、 $Fin$  を受けた  $CTRL$  は  $End$  をアサートして演算の完了を通知し、非同期加算器はその動作を停止する。

### 3.3. CTRL の設計と構成

各レジスタを制御する  $CTRL$  は非同期式順序回路として設計する必要がある。本研究では、 $CTRL$  の動作が信号遷移のみで規定できる点に着目し、マラー回路に基づいて設計を行う。マラー回路の設計には、回路の動作を記述した信号遷移グラフ(STG)が用いられ、これを入力として論理合成を行うことができる<sup>[8]</sup>。図1の回路構成および3.2の動作手順に基づいて  $CTRL$  の動作を表現した STG を図2に示す。図中の○は状態、□は信号遷移(+は信号の立上り、-は立下り)、矢印は遷移関係を表し、現存の状態は●を付して表される。

まず、初期状態  $p_1$  に対して  $Start$  がアサートされると  $p_2$  に遷移し、さらに続けて稼働相に係る信号  $Gate$  をアサートする。次に、 $DFA$  による加算を経て  $Ce$  がアサートされると、 $CLK$  をアサートするとともに  $Gate$  をネゲートし、状態  $p_3$  に遷移する。これ以後の遷移は、演算が終了するか否か、すなわち  $Fin$  がアサートされるかに依存する。これがアサートさ

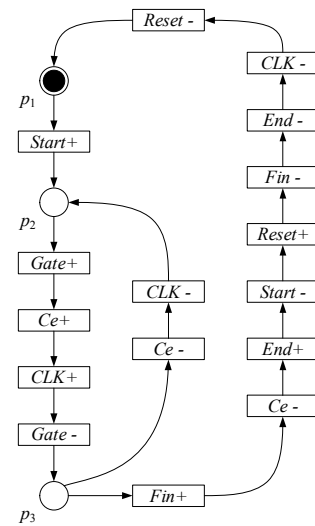


図2 CTRL の STG

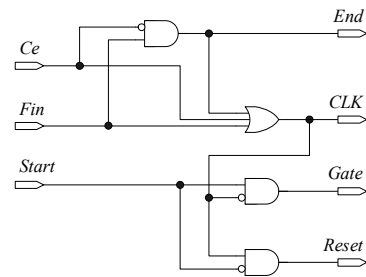


図3 CTRL の回路構成

れることなく  $Ce$  がネゲートされた場合は、 $CLK$  をネゲートし、再び状態  $p_2$  に戻って演算を継続する。一方、 $Fin$  がアサートされた場合は、 $Ce$  がネゲートされるまで待機した後に  $End$  をアサートする。そして、演算結果の退避後に  $Start$  がネゲートされると、 $SRS$  および各  $D-FF$  の初期化に係る信号  $Reset$  をアサートする。これにより  $DFFe$  が初期化、すなわち  $Fin$  がネゲートされるため、 $End$  および  $CLK$  をネゲートして状態  $p_1$  に戻る。

非同期式回路合成ツール Petrufy4.2<sup>[8]</sup>に上述の STG を入力して得られた  $CTRL$  の回路構成を図3に示す。

### 4. 休止相の隠蔽による高速化

上述の非同期加算器は、単一の  $DFA$  を用いて稼働相と休止相を交互に繰り返すことで演算を行うが、休止相において加算処理自体は行われていない。この休止相に起因する無効な信号遷移は、非同期加算器を乗算器へ応用した場合における演算時間へのオ

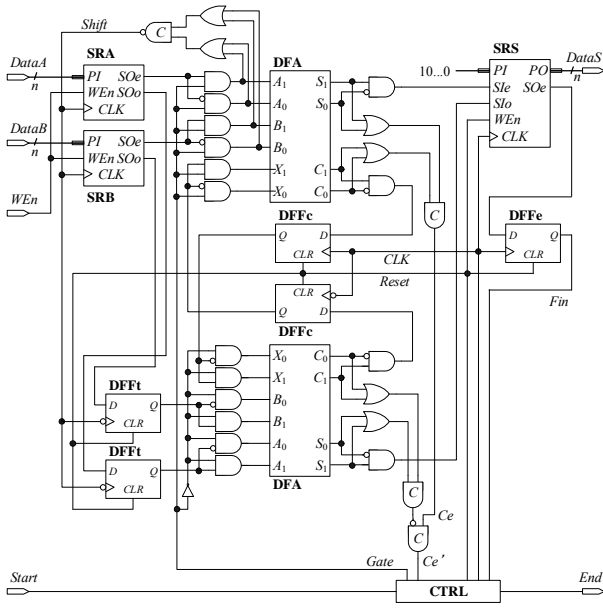


図4 隠蔽型加算器の構成

オーバーヘッドや動的な消費電力の増加を招くことが容易に推測される。これがこれまでに直列加算器の非同期化が検討されていない要因の一つと考えられる。そこで本研究では、稼動相と休止相が交互に処理される点に着目し、二対の非同期加算器を用いて相補的かつ交互に演算を行うことにより、休止相に起因する無効な信号遷移を隠蔽する手法を提案する。以下、これに基づいた非同期加算器を隠蔽型加算器といい、その構成を図4に示す。

基本的な回路構成は図1の非同期加算器を上下対称に配置した形態を採るが、下段のそれに対しては、CTRLからの制御信号が反転入力されている点、データの入力タイミングの整合性を図るためのDFFtが挿入されている点に注意する。また、上下段で排他的に処理される各相のタイミングを合わせるため、各非同期加算器から出力されるCe信号をC素子により同期化し、改めてCe'信号として生成している。この構成によれば、上下段の非同期加算器でそれぞれ稼動相と休止相が交互に動作し、常にいずれかの非同期加算器において稼動相が処理される。

ここで、上述の処理を実現するためには、上段の非同期加算器に $i$  ( $0 \leq i < n$ )ビット目のデータ、下段に $i+1$ ビット目のデータをそれぞれ異なるタイミングでDFAへ入力する必要がある。より具体的には、

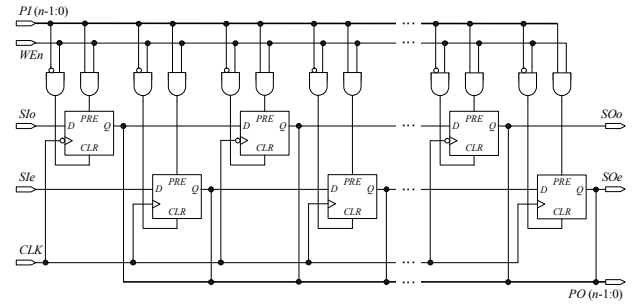


図5 隠蔽型加算器に対するシフトレジスタの構成

上段の非同期加算器には偶数ビット目( $i=0, 2, 4, \dots, n-2$ )のデータ、下段には奇数ビット目( $i=1, 3, 5, \dots, n-1$ )のデータをそれぞれ相補的にアサートすることとなる。この制御について本研究では、CTRLの構成を変更することなく、入出力シフトレジスタの配線のみを変更することで簡便に実現する方針を採る。

隠蔽型加算器に用いるシフトレジスタの構成を図5に示す。図中の直列入出力信号SI/SOの末尾に付記されたeおよびoは、それぞれ偶数ビット目および奇数ビット目のデータを表す。図5より、隠蔽型加算器に用いるシフトレジスタは、 $i$ と $i+1$ 番目のD-FFをカスケード接続するのではなく、 $i$ と $i+2, i+1$ と $i+3$ 番目のD-FFを接続し、特に後者のD-FFに対してはCLKを反転して入力する。これにより、CLKの立上りで偶数ビット目、立下りで奇数ビット目のデータがそれぞれ整合性を失うことなくシフトすることができる。

## 5. 設計と評価

### 5.1. 動作確認と演算性能

提案した非同期加算器と隠蔽型加算器をXilinx ISE14.6により設計し、同社製FPGA Virex5-LX30を対象としたタイミングシミュレーションを通してその動作確認を行った。その一例として、 $DataA = "00001111"$ 、 $DataB = "01010101"$ とした場合におけるシミュレーション結果を図6に示す。各信号の意味は図1および図4と同様であるが、非同期加算器と隠蔽型加算器のそれを区別する必要がある場合には、信号名の末尾にそれぞれ\_aおよび\_cを付している。図6より、Startのアサート(200ns)に伴って演算に係る信号群が遷移し、演算が完了すると290nsおよび

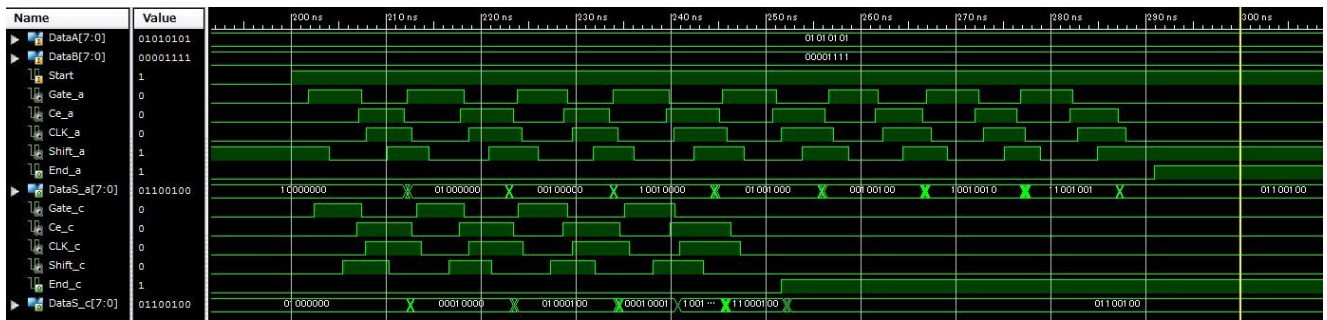


図6 シミュレーション結果

250ns付近でそれぞれのEndがアサートされている。このとき、いずれも演算結果として  $DataS = "01100100"$  が出力され、適切に演算が行われていることを確認できる。

次に、 $n=8, 16, 32, 64$  における非同期加算器と隠蔽型加算器の設計を行った。また、比較対象として4ビットを単位とした桁上げ先見加算器も同様に設計を行った。これらの加算器についてその演算時間を解析した結果を図7に示す。ここで、非同期加算器と隠蔽型加算器の演算時間は *Start* のアサートから *End* がアサートされるまで、桁上げ先見加算器はデータの入力から演算結果が確定するまでとした。図7より、上下段の非同期加算器の同期化に係るオーバーヘッドの影響があるものの、隠蔽型加算器の演算時間は非同期加算器のそれに比して約40%短縮されており、休止相の隠蔽効果を確認できる。ここで、 $n$  回の加算を繰り返す直列乗算器に対して、最も演算時間を要する64ビット非同期加算器の応用を想定した場合、その演算時間は  $730.753[\text{ns}] \times 64 = 46.768[\mu\text{s}]$  となる。これは、市販のデジタル補聴器のサンプリング周波数が20kHz程度である点<sup>9)</sup>を勘案すると、そのサンプリング周期  $50[\mu\text{s}]$  を満たしている。さらに一般的な音声信号の量子化ビット数が16ビットである点を考慮すると、提案の加算器はいずれもデジタル補聴器用DSPの演算器へ応用する上で十分な演算性能を備えている。特に、現在最も高速な加算器の一つである桁上げ先見加算器に比して、隠蔽型加算器の演算時間が20%程度の劣化に留められているのは特筆すべき点である。



図7 各加算器の演算時間

## 5.2. 消費電力

Xilinx XPower Analyzer を用いてFPGA実装時における消費電力と回路面積の解析を行った結果を表1に示す。なお、各加算器の条件を統一するため、桁上げ先見加算器の評価結果には入出力レジスタを含んでいる。まず、回路面積(LUTおよびFF)に着目すると、提案の加算器の面積は  $n$  に依存しないにも関わらず、いずれの加算器も同様の資源量と傾向を示している。これは、本研究の加算器では並列入出力機能付のシフトレジスタを利用しており、これを制御するマルチプレクサのオーバーヘッドによるものと考えられる。

一方、消費電力については、提案の加算器はいずれも桁上げ先見加算器に比して低消費電力に動作し、特に隠蔽型加算器のそれは約半分となっている。これは、隠蔽型加算器のシフトレジスタが奇数ビット目と偶数ビット目を独立に管理しているために、各ビットのデータが経由するD-FFの数が半減し、その信号遷移に係る動的な消費電力が低減された結果と考えられる。特にこれら提案加算器の低消費電力性の効果は、直列乗算器に応用した際により顕著に現れるものと考えられる。

表1 各加算器の消費電力と所要面積

	n	消費電力 [mW]	所要面積	
			LUT	D-FF
桁上げ先見 加算器	8	0.42	25	24
	16	2.04	61	48
	32	4.08	133	96
	64	7.28	277	192
非同期 加算器	8	0.18	63	26
	16	0.52	95	50
	32	1.74	159	98
	64	6.65	290	194
隠蔽型 加算器	8	0.25	89	29
	16	0.52	122	53
	32	1.20	187	101
	64	3.51	316	197

## 6. あとがき

本研究では、補聴器用 DSP に対する非同期式直列加算器の構成法を提案した。特にこの加算器では、二対の全加算器を相補的に制御することにより、休止相に起因する演算時間のオーバーヘッドを隠蔽し、補聴器用 DSP へ応用する上で十分な演算性能を実現している。そして、シミュレーションを通じて所望の動作を確認するとともに、既存の並列加算器に比して消費電力を約50%削減できることを確認している。今後の課題としては、提案の加算器を乗算器や積和演算器に応用し、その有効性を確認することが挙げられる。

## 参考文献

- [1] 日本補聴器工業会, "補聴器供給システムの在り方に関する研究," 2 年次報告書, 2003.
- [2] 成沢良幸, "デジタル補聴器を解剖する," CQ 出版, インタフェース, Vol.6, pp.109-119, 2008.
- [3] J. DiCristina, "Introduction to Hearing Aids and Important Design Considerations," Maxim integrated, 2010.
- [4] K.Sunyoung, L.Jae-Youl, S.Seong-Jun, C.Namjun and Y.Hoi-Jun, "An Energy-Efficient Analog

Front-End Circuit for a Sub-1-V Digital Hearing Aid Chip," IEEE J.

Solid-State Circuits, Vol.41, No.4, pp.876-882, 2006.

- [5] 鈴木昌治, "デジタル数値演算回路の実用設計," CQ 出版, Design Wave Advance, 2006.
- [6] 齋藤寛, "非同期式回路の設計技術," IEICE Fundamentals Review, Vol.3, No.3, pp.64-70, 2009.
- [7] 今井雅, 藤井太郎, 上野洋一郎, 南谷崇, "非同期式乗算器の設計と試作," 電子情報通信学会技術研究報告 ICD, Vol.96, No.20, pp.33-40, 1996.
- [8] J.Cortadella, M.Kishinevsky, A.Kondratyev, L.Lavagno and A.Yakovlev, "Petrify: A Tool for Manipulating Concurrent Specifications and Synthesis of Asynchronous Controllers," IEICE Trans. Information and Systems, Vol.80, No.3, pp.315-325, 1997.
- [9] H. McDermott, "SoundRecover : The importance of wide perceptual bandwidth," Phonak. Background Story, 2010.

## 本助成に係る研究成果

- [A] 松本和輝, 近藤真史, 佐藤洋一郎, "デジタル補聴器を対象とした非同期式直列加算器の一構成法," 第 65 回電気・情報関連学会中国支部連合大会, pp.356-357, 2014.10. (奨励賞受賞)
- [B] 岡本大地, 近藤真史, 佐藤洋一郎, "リングオシレータを用いた非同期式直列乗算器," 第 65 回電気・情報関連学会中国支部連合大会, pp.358-359, 2014.10. (奨励賞受賞)
- [C] 近藤真史, 岡本大地, 佐藤洋一郎, 横川智教, 有本和民, "デジタル補聴器用 DSP を対象とした非同期式直列乗算器の一構成法," 電子情報通信学会技術研究報告 CAS, Vol.114, No.312, pp.11-16, 2014.11.

## ICF を活用した在宅重症児(者)の生活実態・社会資源の調査

川崎医療福祉大学

三田 岳彦

## 概要

本研究では、ICF を活用して、複数の地域を対象に在宅重症児の生活実態と社会資源の調査を行い地域特性や支援要件（ニーズ）を包括的に解明するとともに、社会資源（シーズ）の活用を促進する社会資源マップの開発と支援基盤モデルの提案を目的とした。本研究助成の成果として鳥取県の在宅重症児(者)を対象に質問紙調査を行い、短期入所の利用実態と主たる家族介護者の健康状態の関連を明らかにした。本結果からは本人の生活機能状態に加えて介護者の健康状態や加齢を考慮した短期入所事業の整備の必要性が示唆された。

## 1. 研究の背景

## (1) 重症心身障害児(者)とは

「重症心身障害児」(以下、重症児と略す)とは、重度の知的障害(知能指数:35以下)と重度の肢体不自由が重複した18歳未満の障害児と定義され、多くの合併症を有するために生活介護だけでなく、常に健康管理や医療を必要とする人たちである。18歳以上の同様な障害をもつ成人に対しては行政上定義されていないが、重症児と同様な医療・福祉が提供されている。このような背景からここでは成人を含めて重症児と総称する。全国の重症児数は約39,000名と推計されており、約13,000名が専門の「重症児施設」の入所者である。重症児施設は児童福祉施設であるとともに、医療法に基づく病院でもある。

一方、施設入所者の2倍となる26,000名の重症児は居宅で家族によってケアされている(以下、在宅重症児と称する)。東京や大阪などの大都市では在宅重症児の割合が高く、80%以上とも推定されている。北海道を始め過疎遠隔地では近隣に適切な医療機関がないことから施設入所の傾向にあり、在宅重症児の割合は約50%といわれ、地域格差がある。また、在宅重症児と家族を支援する短期入所事業、生活介護事業や児童発達支援事業(旧通園事業)、特別支援学校などの社会資源の数や地理的分布にも地域格差が大きい。そのため、在宅重症児の生活実態、支援の要望、居住地域の特性に対応した適切な社会資源を整備する必要がある。

## (2) 国際生活機能分類

国際生活機能分類(International Classification of Functioning, Disability and Health: ICF)は、2001年5月、WHO総会において採択された健康と健康関連状況を記述するための標準的な言語と概念的枠組み(図1)を提供することを目的とした分類である。ICFを導入することによって、日常生活への支援、二次障害や合併症予防を含めた医療的な支援などの必要性だけでなく社会参加の制約となる環境面の問題を総合的にとらえることが可能となる。

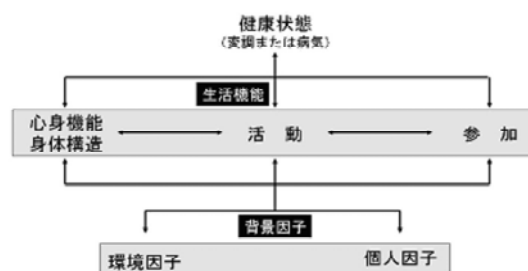


図1 ICFの各構成要素間の相互作用

## (3) 地理学的手法

在宅重症児に関する多くの調査では、機能障害の有無や生活活動の制限など実態の質的な側面に視点がおかれ、重症児の居住地や社会資源の設置地区などの地理的な側面を平面分布として把握することは皆無といっても過言ではない。社会資源へのアクセスに費やす距離や時間はその利用を妨げる極めて大



きな問題であり、本人や家族にとって大きな負担となっている現実がある。そこで、本研究では、「地理学的手法」を導入して、社会資源の地域分布の実情を把握するとともに、最適な配置や整備を検討する。

## 2. 研究目的

本研究では、ICF を活用して、複数の地域を対象に在宅重症児の生活実態と社会資源の調査を行い、また社会資源の地域分布を地理学的にも分析する。その成果をもちいて、地域特性や支援要件（ニーズ）を包括的に解明するとともに、社会資源（シーズ）の活用を促進する社会資源マップの開発と支援基盤モデルの提案を目的とした。

本稿では鳥取県の在宅重症児（者）を対象に質問紙調査を行い、短期入所の利用実態と主たる家族介護者の健康状態の関連を検討した部分について本助成の成果報告として示す。

## 2. 方法

### (1) 対象

重症心身障害の定義に用いられる「大島の分類」（図 2）の 1～4 に該当する鳥取県在住の在宅重症児（者）75 名（平均年齢 22.8 歳、最小年齢 2 歳、最高年齢 54 歳）とした。

					80
21	22	23	24	25	70
20	13	14	15	16	50
19	12	7	8	9	35
18	11	6	3	4	20
17	10	5	2	1	0
走れる	歩ける	歩行障害	すわれる	寝たきり	

図 2 大島の分類

### (2) 調査項目

①短期入所の利用の有無、②ADL(食事)、③医療的ケアの有無、④介護者の年齢および⑤介護者の健康状態の 5 項目とした。なお、上記の①、③～⑤は ICF

の環境因子に、②は活動にそれぞれ分類される。

### (3) 分析

短期入所の利用状況と本人の状況(年齢、ADL、医療的ケア)および介護者の状況(年齢、健康状態)をクロス集計した。

## 3. 結果と考察

図 3～7 は各項目についての短期入所の利用割合を示している。本人の年齢による利用割合の違いはあまり見られなかった。しかしながら学齢期にあたる年齢域の者の利用割合が低いことは、教育サービスがレスパイトの役割を果たしている可能性を示唆させる（図 3）。ADL(食事)が低く、医療的ケアが必要な者ほど利用割合が高かった（図 4、5）。介護者の年齢(平均年齢 53.3 歳、最小年齢 33 歳、最高年齢 91 歳)との関連については 30 歳代の介護者の利用割合が低かった(30 代: 38.5%、40 代: 60.9%、50 代: 54.2%、60 代: 44.4%、70 代: 50.7%) (図 6)。健康状態に問題ある介護者のほうが利用割合が高く（図 7）、介護者の年齢が高いほど健康状態に問題がある傾向が推察された。

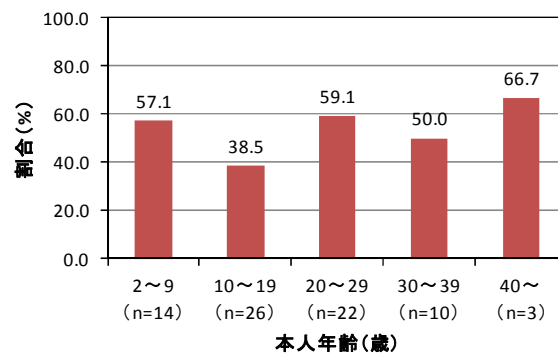


図 3 本人年齢と短期入所利用

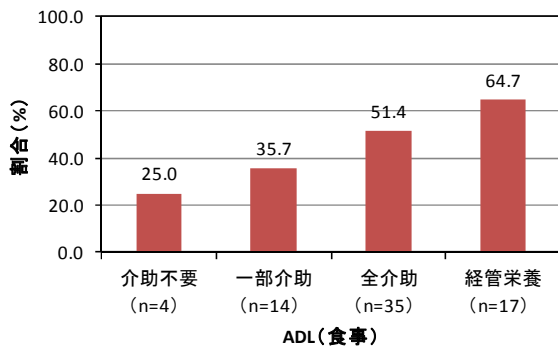


図4 ADLと短期入所利用

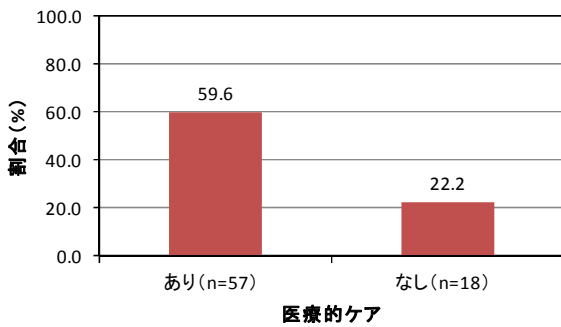


図5 医療的ケアと短期入所利用

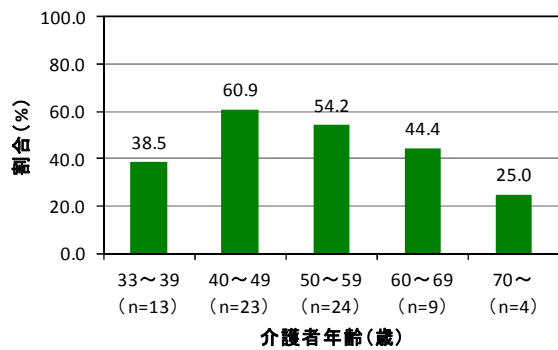


図6 介護者の年齢と短期入所利用

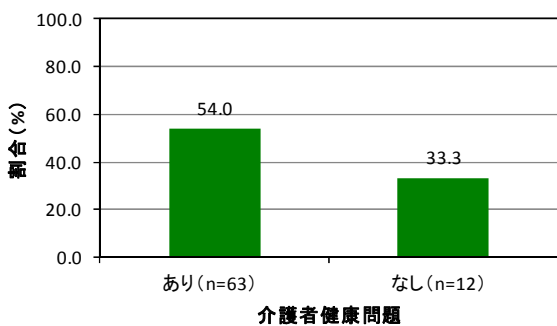


図7 介護者の健康問題と短期入所利用

## 結論

以上の結果から、本人の生活機能状態に加えて介護者の健康状態や加齢を考慮した短期入所事業の整備の必要性が示唆された。なお、近年の在宅重症心身障害児(者)に関する先行研究の多くにおいて、在宅生活を継続する理由として「子どもと一緒にいたい」という結果が示されている。介護者が希望する最小限のレベルのサービスと、実際に提供されているサービスレベルのギャップに関する介護者の認識についてのより詳細な調査研究が期待される。

## 参考文献

[1] 三田岳彦, 岩井正一, 木村希美子, 善家 誠, 三上史哲. 愛媛 県東予地区における在宅重症心身障害児(者):I. 社会資源 の利用実態. 日本重症心身障害学会誌, 2012;37(1):171-7.

[2] 三田岳彦, 岩井正一, 木村希美子, 善家 誠, 三上史哲. 愛媛 県東予地区における在宅重症心身障害児(者):II. 居住形態 の希望. 日本重症心身障害学会誌 2012;37(3):413-8.

## HTLV-1 由来の HBZ 蛋白を標的とした新規 HTLV-1 関連疾患の発症予防・治療法に関する研究

川崎医科大学 微生物学教室

塩浜 康雄

HTLV-1 は、感染者の約 5% に成人 T 細胞白血病 (ATL)、0.25~4% に HTLV-1 関連脊髄症 (HAM/TSP)、および HTLV-1 ぶどう膜炎 (HU/HAU) などの疾患を引き起こすレトロウイルスである。HTLV-1 関連疾患の発症や病態形成には、ウイルス由来の遺伝子や蛋白質が重要な働きをしているが、その 1 つである HTLV-1 basic leucine zipper (HBZ) は、宿主の制御性 T 細胞を増加させてその機能を抑制すると共に、エフェクター T 細胞の機能を阻害することで発がんや炎症形成の双方に関与している。末梢血単核球中の HBZ mRNA 発現量が HTLV-1 プロウイルス量、HAM/TSP 患者の重症度、および髄液中炎症マーカー濃度と正の相関を示すことが報告されている一方で、HBZ 蛋白質はその生体内での発現がきわめて微量のため、病態との関連は現在のところ不明である。そこで本研究では、多数の新規抗 HBZ モノクローナル抗体を取得して HBZ 蛋白質の鋭敏な検出系 (サンドイッチ ELISA) を作製した。引き続き、HBZ 蛋白質発現の病態マーカーとしての意義を評価するとともに、HTLV-1 感染ヒト化マウスモデル系を用いて抗 HBZ モノクローナル抗体による治療効果を評価することで、HTLV-1 関連疾患の新規発症予防法・治療法の開発を目指す。

## 1. 緒言

HTLV-1 (Human T cell leukemia virus type 1: HTLV-1) は、日本人によって発見され、世界で初めてヒト疾患との関連が示されたレトロウイルスである。HTLV-1 の主な感染経路は、母子感染 (垂直感染)、性感感染 (水平感染) および輸血 (現在はスクリーニングにより消滅) の 3 つであり、HTLV-1 感染者の約 5% に成人 T 細胞白血病 (Adult T-cell leukemia: ATL)、0.25~4% に HTLV-1 関連脊髄症 (HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis: HAM/TSP) および HTLV-1 ぶどう膜炎 (HTLV-1 uveitis: HU/HAU) などの疾患を引き起こす。我が国は先進国における唯一の HTLV-1 浸淫国であり、その感染者数は国内に約 108 万人と推定され、今後も持続した ATL や HAM/TSP の新規発症例の増加が予測されていることから、HTLV-1 の感染予防法、関連疾患の発症予防法・治療法の確立は重要な課題である。また、全世界における HTLV-1 感染者は、カリブ海諸国やアフリカ等の途上国を中心に約 2,000 万人以上にもものぼることが推定されており、HTLV-1 に関する研究成果は、国際的にも高い貢献が可能であると期待される。これまでの研究によって、HTLV-1 関連疾患の発症や病

態形成には、HTLV-1 由来の転写制御因子である Tax や HTLV-1 basic leucine zipper (HBZ) が重要な働きをしていることが明らかとなっている (1-4)。HBZ は、その遺伝子発現が ATL 細胞の増殖に関与すること (5)、HBZ を CD4 陽性 T リンパ球に強発現するトランスジェニックマウスが、制御性 T 細胞 (Treg) を増加させてその機能を抑制すると共に、エフェクター T 細胞の機能をも阻害することで発がんや炎症形成の双方に関与すること (6) などから、ATL のみならず、HAM/TSP、HU 等の慢性炎症性疾患の病態形成にも必須の遺伝子とされている。また、HAM/TSP 患者末梢血単核球 (PBMC) における HBZ mRNA 発現量が、HTLV-1 プロウイルス量、疾患重症度、および髄液中炎症マーカー濃度と正の相関を示す (7) ことが報告されている一方で、HBZ 蛋白質については、生体内での発現がきわめて微量であり、従来 HBZ 蛋白質に対する優れた抗体がなかったこともあり、研究が十分に進展していなかった。

本研究では、多数の HBZ モノクローナル抗体を取得することで HBZ 蛋白質の鋭敏な検出系を作製し、病態マーカーとしての HBZ 蛋白質発現の意義を評価する。一方、HTLV-1 感染ヒト化マウスモデル系を用

いて抗 HBZ モノクローナル抗体による治療法の効果を評価することで、HTLV-1 関連疾患の新規発症予防法・治療法の開発を目指す。

## 2. 材料と方法

### (1) 抗 HBZ モノクローナル抗体の作製

HBZ アミノ酸配列由来ペプチドまたはコムギ無細胞蛋白発現系により作製した組換え HBZ 蛋白質(セルフリーサイエンス)を抗原に用いて、ハイブリドーマ法により抗 HBZ モノクローナル抗体の作製を行った。C57BL/6 マウスまたは WKAH ラットに、抗原と完全フロイントアジュバント (SIGMA-ALDRICH) を混和して作製したエマルジョンを皮下投与した。2 週間後、抗原と不完全アジュバント (SIGMA-ALDRICH) を混和して作製したエマルジョンを皮下投与した。さらに2週間後、抗原を PBS に溶解して腹腔内投与し、その3日後に脾臓細胞を回収して、脾臓細胞とミエローマ細胞 (SP2/0) をポリエチレングリコール (PEG4000; Merck) により細胞融合した。HAT 培地 (SIGMA-ALDRICH) による選択を行い、ハイブリドーマの培養上清を、免疫に使用した抗原を固相化した ELISA でスクリーニングして、目的抗体を産生するハイブリドーマを限界希釈法によりクローン化した。さらに、ハイブリドーマをマウス腹腔に接種して腹水化し、アフィニティカラムにより精製した抗体を実験に使用した。

### (2) 細胞溶解液の調整

HTLV-1 感染および非感染細胞株を 10 % FCS (SIGMA-ALDRICH)、100units/mL ペニシリン G、および 100  $\mu$ g/mL ストレプトマイシン硫酸塩 (Wako) を添加した RPMI1640 培地 (SIGMA-ALDRICH) を用いて、37 °C の 5 % CO<sub>2</sub> インキュベーター内で十分な数になるまで培養した。培養後、細胞を PBS で 3 回洗浄し、1 $\times$ 10<sup>8</sup> cells/mL の濃度になるようにプロテアーゼ阻害剤 (Thermo Fisher Scientific) を含む含む RIPA バッファー (Thermo Fisher Scientific) を加えて十分に懸濁し、バイオラプター (コスモバイオ) の推奨プロトコールに従ってソニケーション処理を行った。14,000 $\times$ g、4 °C の条件で 15 分間遠心操作を

行い、上清を回収して細胞溶解液として使用した。

### (3) HBZ 蛋白質検出・定量サンドイッチ ELISA

PBS で 5  $\mu$ g/mL 濃度に希釈したラット由来の抗 HBZ モノクローナル抗体を、Nunc イムノプレート マキシソープ平底 96 ウェルプレート (Thermo Fisher Scientific) の各ウェルへ 50  $\mu$ L 加えて、室温で 1 時間、または 4°C で一晩インキュベーションして固相化した。次に、PBS-T (0.05 % Tween-20 を含む PBS) で各ウェルを 3 回洗浄した後、5 % スキムミルク / PBS-T を 200  $\mu$ L 加えて、室温で 30 分間ブロッキングを行った。さらに PBS-T で各ウェルを 3 回洗浄し、0.1 % BSA/PBS-T で 4 倍に希釈した細胞溶解液を 50  $\mu$ L 加えて、室温で 1 時間反応させた。再び、各ウェルを PBS-T で 3 回洗浄し、HRP を標識したマウス由来の抗 HBZ モノクローナルを 50  $\mu$ L 加えて室温で 1 時間反応させた。この時の抗体希釈液には、検出増感試薬 (TaKaRa 社: Western BLoT Immuno Booster solution1) を使用した。各ウェルを PBS-T で 5 回洗浄した後、TMB 溶液 (KPL) を 100  $\mu$ L 加えて、室温で遮光しながら 5 分間の発色反応を行った。各ウェルへ 1N の H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> を 50  $\mu$ L 加えて酵素反応を停止した後、吸光マイクロプレートリーダー (Thermo Fisher Scientific) を用いて 450 nm、参考波長として 620 nm の吸光度を測定した。検量線を、HBZ 蛋白質をスタンダードに用いて作製し、得られた吸光度より、各細胞溶解液中の HBZ 蛋白質濃度を計算した。

## 3. 結果

### (1) 抗 HBZ モノクローナル抗体を用いた HBZ 蛋白質の発現解析

まず、得られた抗 HBZ モノクローナル抗体の HBZ 蛋白質に対する特異性を確認した。実験には、293T 細胞に HBZ 蛋白質発現ベクターを導入した HBZ 強制発現株 (293T-HBZ)、およびコントロールベクターを導入した 293T 細胞株 (293T-Mock) を用い、1 次抗体に抗 HBZ モノクローナル抗体、2 次抗体に蛍光または酵素標識された抗マウスまたは抗ラット抗体を用いて、フローサイトメトリー、ウェスタンブロット、および間接蛍光抗体法による解析を行った。そ

の結果、いずれの解析においても、抗 HBZ モノクローナル抗体は 293T-HBZ に陽性反応を示し、コントロールである 293T-Mock には反応を示さなかった。さらに、内在性に HBZ 遺伝子を発現する複数の HTLV-1 感染細胞株とその発現の見られない HTLV-1 非感染細胞株を用いてウエスタンブロット解析を行った結果、HTLV-1 感染細胞株のレーンにおいて、HBZ 蛋白質のバンドが検出されたが、非感染株のレーンにはバンドは検出されなかった。以上の結果から、我々が作製した抗 HBZ モノクローナル抗体は、HBZ 蛋白質を特異的に認識することが確認された。また、これらの抗体の中には、他の抗体と比較して HBZ 蛋白質に対して高い親和性を持つものがあることも明らかとなった。

## (2) HBZ 蛋白質を検出・定量するサンドイッチ ELISA の構築

次に、抗 HBZ モノクローナル抗体を用いて HBZ 蛋白質の検出が可能なサンドイッチ ELISA の構築を行った。サンドイッチ ELISA は、プレートに吸着させた抗体（固相化抗体）で抗原を捕らえ、さらに酵素などを標識した抗体（検出抗体）で抗原を検出し、最終的に発色試薬による反応で抗原を検出する方法である（図 1）。我々のサンドイッチ ELISA は、SH 基に HRP を直接標識した検出抗体を用いることで、検出抗体反応以降の操作手順をより簡便にした。な

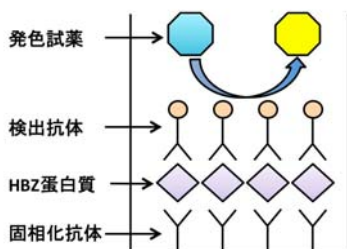


図1. サンドイッチELISAの模式図

お、検出抗体への HRP 標識には DOJINDO 社の HRP 標識キットを用いた。サンドイッチ ELISA の構築にあたっては、まず、濃度が既知の組換え

HBZ 蛋白質や HBZ 蛋白質を高発現する 293T-HBZ 細胞溶解液を用いて、固相化抗体と検出抗体に用いる抗体の至適な組み合わせを検討した。抗体の組み合わせには、認識エピトープや HBZ 蛋白質に対する親和性、さらにヒト血清にみられる抗異種抗体による偽陽性反応の防止に配慮して、マウスおよびラッ

ト由来の2種類の抗 HBZ モノクローナル抗体を用いた。組み合わせによっては、検出感度や特異性が得られにくいものが存在したが、最終的に特異性の高い抗体の組み合わせを見出すことに成功した。また、複数のブロッキング試薬や反応試薬を用いて検出感度の向上について検討した結果、検出抗体の反応時に、特定の検出増感試薬を用いることで、サンドイッチ ELISA の抗原検出感度を増幅することが可能となった。

## (3) HBZ 蛋白質サンドイッチ ELISA による HTLV-1 感染細胞株の HBZ 蛋白質発現解析

構築した HBZ 蛋白質サンドイッチ ELISA が HTLV-1 感染細胞における HBZ 蛋白質の発現を測定可能かどうか調べるため、内在性に HBZ 遺伝子を発現する複数の HTLV-1 感染細胞株、およびその発現の見られない HTLV-1 非感染細胞株由来の細胞溶解液を用いて実験を行った。その結果、HTLV-1 感染細胞株由来の細胞溶解液に対する陽性反応が見られたが、非感染細胞株由来の細胞溶解液に対する反応は見られなかった。また、濃度が既知の組換え HBZ 蛋白質をスタンダードに用いて検量線を作製することで、HTLV-1 感染細胞株由来の細胞溶解液に含まれる HBZ 蛋白質濃度の算出も可能であった。HBZ 蛋白質サンドイッチ ELISA で得られた結果を検証するため、ウエスタンブロット法を用いて、これらの細胞溶解液の解析を行った。その結果、HTLV-1 感染細胞株由来の細胞溶解液においては HBZ 蛋白質特異的なバンドが検出されたが、HTLV-1 非感染細胞株由来の細胞溶解液においてはそのバンドは検出されなかった。また、それぞれの細胞溶解液で検出されたバンドの濃さは、HBZ 蛋白質サンドイッチ ELISA で得られた値と相関を示すことが明らかとなった。これらの結果より、HBZ 蛋白質サンドイッチ ELISA は HTLV-1 感染細胞における HBZ 蛋白質の発現を検出できるだけでなく、その濃度を定量することも可能であることが明らかとなった。

#### 4. 考察

HTLV-1 由来の HBZ 蛋白質を測定する方法として、フローサイトメトリー、ウエスタンブロット法、および間接蛍光抗体法などが挙げられるが、HBZ 蛋白質は生体内での発現量がきわめて微量のため、従来、これらの方法で、特に患者検体 (PBMC) を用いて HBZ 蛋白質発現を検出することは極めて困難であり、病態との関連についての解析も進んでいなかった。本研究で我々が開発した HBZ 蛋白質検出サンドイッチ ELISA は、検出感度や特異性に優れ、HTLV-1 感染細胞に発現する HBZ 蛋白質を簡便、迅速に検出、定量することが可能である。HTLV-1 プロウイルスのマイナス鎖にコードされる HBZ は、遺伝子のプロモーター領域における欠損やメチル化は認められず、全ての ATL 症例においてその発現が認められる (5)。また、HAM/TSP 患者の PBMC における HBZ mRNA の発現量が HTLV-1 プロウイルス量および病態マーカー濃度と相関を示すことから (7)、HBZ 蛋白質の生体内での発現が HTLV-1 関連疾患における発症・病態・予後予測の新規バイオマーカーとなる可能性もある。今回開発した HBZ 蛋白質検出サンドイッチ ELISA を用いて、今後検討する予定である。

一方、HTLV-1 感染者の生体内には、HBZ を標的とする細胞傷害性 T 細胞や抗体産生細胞が存在し (8-11)、同種造血幹細胞移植を受けた患者において HBZ 反応性の CD4<sup>+</sup> T 細胞が誘導されるとの報告もあることから (12)、HBZ 蛋白質を治療標的とした免疫療法により、HTLV-1 関連疾患を効果的に予防または治療できる可能性がある。本研究により作製した抗 HBZ モノクローナル抗体を用いて、HTLV-1 感染ヒト化マウスモデル系により免疫療法の効果を検討することで、HTLV-1 関連疾患の新規発症予防法・治療法の開発を目指したい。

#### 5. 謝辞

本研究の一部は、平成 26 年度ウエスコ学術振興財団 学術助成事業の助成を受けて実施しました。ここに感謝申し上げます。

#### 6. 参考文献

1. Kannagi M, Ohashi T, Harashima N, Hanabuchi S, Hasegawa A. Immunological risks of adult T-cell leukemia at primary HTLV-I infection. *Trends Microbiol.* 2004 Jul;12(7):346-52. PubMed PMID: WOS:000222863000008. English.
2. Matsuoka M, Jeang KT. Human T-cell leukaemia virus type 1 (HTLV-1) infectivity and cellular transformation. *Nature reviews Cancer.* 2007 Apr;7(4):270-80. PubMed PMID: 17384582.
3. Yoshida M. Mystery of Human T-cell Leukemia Virus Type 1: Commentary on Two Viral Genes, Tax and HBZ. *Journal of Leukemia.* 2014;02(02).
4. Saito M, Bangham CR. Immunopathogenesis of human T-cell leukemia virus type-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis: recent perspectives. *Leukemia research and treatment.* 2012;2012:259045. PubMed PMID: 23198155. Pubmed Central PMCID: 3505925.
5. Satou Y, Yasunaga J, Yoshida M, Matsuoka M. HTLV-I basic leucine zipper factor gene mRNA supports proliferation of adult T cell leukemia cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2006 Jan 17;103(3):720-5. PubMed PMID: 16407133. Pubmed Central PMCID: PMC1334651. Epub 2006/01/13. eng.
6. Satou Y, Yasunaga J, Zhao T, Yoshida M, Miyazato P, Takai K, et al. HTLV-1 bZIP factor induces T-cell lymphoma and systemic inflammation in vivo. *PLoS pathogens.* 2011;7(2):e1001274. PubMed PMID: 21347344. Pubmed Central PMCID: 3037353.
7. Saito M, Matsuzaki T, Satou Y, Yasunaga J, Saito K, Arimura K, et al. In vivo expression of the HBZ gene of HTLV-1 correlates with proviral load, inflammatory markers and disease severity in HTLV-1 associated myelopathy/tropical spastic

paraparesis (HAM/TSP). *Retrovirology*. 2009;6:19. PubMed PMID: 19228429. Pubmed Central PMCID: 2653460.

8. Hilburn S, Rowan A, Demontis MA, MacNamara A, Asquith B, Bangham CR, et al. In vivo expression of human T-lymphotropic virus type 1 basic leucine-zipper protein generates specific CD8<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup> T-lymphocyte responses that correlate with clinical outcome. *The Journal of infectious diseases*. 2011 Feb 15;203(4):529-36. PubMed PMID: 21208912. Pubmed Central PMCID: 3071236. Epub 2011/01/07.

9. Rowan AG, Bangham CR. Is There a Role for HTLV-1-Specific CTL in Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma? *Leukemia research and treatment*. 2012;2012:391953. PubMed PMID: 23259066. Pubmed Central PMCID: 3504207. Epub 2012/12/22.

10. Suemori K, Fujiwara H, Ochi T, Ogawa T, Matsuoka M, Matsumoto T, et al. HBZ is an immunogenic protein, but not a target antigen for human T-cell leukemia virus type 1-specific cytotoxic T lymphocytes. *The Journal of general virology*. 2009 Aug;90(Pt 8):1806-11. PubMed PMID: 19423550. Epub 2009/05/09. eng.

11. Enose-Akahata Y, Abrams A, Massoud R, Bialuk I, Johnson KR, Green PL, et al. Humoral immune response to HTLV-1 basic leucine zipper factor (HBZ) in HTLV-1-infected individuals. *Retrovirology*. 2013;10:19. PubMed PMID: 23405908. Pubmed Central PMCID: 3584941.

12. Narita T, Ishida T, Masaki A, Suzuki S, Ito A, Mori F, et al. HTLV-1 bZIP Factor-Specific CD4 T Cell Responses in Adult T Cell Leukemia/Lymphoma Patients after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Journal of immunology*. 2014 Feb 1;192(3):940-7. PubMed PMID: 24363428. Epub 2013/12/24.

## 創薬基盤のための後期エンドソームの内リン脂質ドメインの機能解析に関する研究

就実大学薬学部

松尾 浩民

エンドサイトーシス経路はいずれの細胞においても共通して存在しており、細胞の生命活動において重要な機構である。後期エンドソームはエンドサイトーシス経路によって細胞内に取り込まれた物質の最終選別場として機能する。その内膜系にはリゾビスホスファチジン酸 (LBPA) が局在し、特殊な領域が形成されており、タンパク質や脂質の細胞内輸送において重要な役割を果たしている。一方、コレステロールは生体にとって重要な脂質である。一般に、コレステロールは細胞外より LDL としてエンドサイトーシス経路により取り込まれ、一連の分解過程を経て遊離する。したがって、細胞内脂質輸送の破綻は遺伝的脂質蓄積症（ニーマンピック病 C 型 ; NPC）における細胞内での異常なコレステロール蓄積を引き起こす。本研究は、後期エンドソームの内膜系局在する LBPA と細胞内コレステロールとの関連性について検討を行い、NPC に対する治療法構築の可能性について探ることを目的とした。その結果、LBPA をリポソーム化して投与することにより、NPC におけるコレステロールの異常蓄積が改善される可能性が示された。

### 【研究の背景と目的】

細胞内小胞輸送機構はあらゆる生命現象の基礎をなす機構であり、物質を細胞内に取り込むためのエンドサイトーシス経路は、細胞内に取り込まれた内因性あるいは外因性物質の選別輸送と分解に関わる重要な機構である。エンドサイトーシス経路はエンドソームと呼ばれる膜小胞を介して行われており、とりわけ後期エンドソームは細胞内物質輸送の最終選別所として機能し、その形態は特徴的な多重小胞構造を示す。しかしながら、多重小胞構造の形成機構や内膜と外膜との関係については全く不明であった。近年、細胞内小胞輸送機構における脂質ドメインの重要性が示唆されている。動物細胞において後期エンドソームの内膜系に独特な脂質であるリゾビスホスファチジン酸 (LBPA) が局在し、後期エンドソーム内で特殊な領域を形成することが明らかとなり、LBPA が後期エンドソームを介したタンパク質や脂質の輸送と密接に関連していることが示された<sup>1,2</sup>。さらに、LBPA の機能やその調節因子について検討を行った結果、後期エンドソームの構造的特徴である多重小胞構造の形成に膜脂質である LBPA そのものが形成因子として関与し、エンドサイトーシス経路にも関わることを示された<sup>3</sup>。このように、

LBPA は細胞内において特殊な膜領域を形成し、エンドソームを介したタンパク質や脂質の選別輸送に重要な役割を果たすことが明らかとなった。

コレステロールは細胞にとって重要な脂質であり、様々な物理化学的性質により生体膜の流動性に影響を与え、さらにはステロイドホルモンの前駆物質となっている。一般に、コレステロールは細胞外より低密度リポタンパク質 (LDL) としてエンドサイトーシス経路を介して細胞内に取り込まれ、後期エンドソームへ輸送された後、リソソームとの融合により遊離される。したがって、細胞内脂質輸送の破綻はエンドソーム内でのコレステロールの異常蓄積を引き起こすこととなり、ニーマンピック病 C 型 (NPC) に代表される遺伝的脂質蓄積症などの重篤な疾患の原因となる。前述のように LBPA は脂質 (コレステロール) の細胞内輸送において重要な役割を果たしており<sup>2</sup>、LBPA とコレステロールとの関連性が培養細胞を用いた検討により明らかにされつつある<sup>4</sup>。

本研究は、後期エンドソームの内膜系に局在する LBPA と細胞内コレステロール動態との関連性について生化学的手法により、細胞内コレステロールの恒常性維持における LBPA の役割について検討を



行う。さらに、有効的な治療法が現存しない NPC に対する治療法構築の可能性を探ることを目的とする。

【実験方法】

・培養細胞を用いた細胞内コレステロール蓄積の誘導：仔ハムスター腎由来 BHK 細胞を用い、3β-(2-Diethylaminoethoxy)androst-5-en-17-one (U18666A) 存在下にて培養することにより、細胞内へのコレステロール蓄積の誘導を行う。コレステロール蓄積の確認はステロールプローブであるフィリピンを用いた染色を行い、蛍光顕微鏡による観察を行った。

・細胞内コレステロール蓄積部位の検討：BHK 細胞を U18666A 存在下にて培養した後、ホルムアルデヒド固定を行った。後期エンドソームはマーカーとしての LBPA に対する抗体を用いた免疫蛍光染色を行い、コレステロールはフィリピン染色を行った後、蛍光顕微鏡による後期エンドソームとコレステロールとの共在性を観察し、細胞内コレステロールの蓄積部位について検討を行った。

・後期エンドソームの単離：U18666A 未処理および処理後の BHK 細胞をモホジネートし、遠心分離によりエンドソームを含む後核画分 (PNS) の調製を行う。PNS からショ糖密度勾配遠心法により後期エンドソーム画分の単離を行った。

・エンドソーム膜リン脂質の変化：U18666A 処理および未処理細胞から調製したエンドソームを用い、クロロホルム/メタノール混液による膜脂質の抽出を行った。膜リン脂質の変化について、抽出した膜脂質を一次元薄層クロマトグラフィー法 (TLC) による分離を行い、発色により同定したリン脂質の分離パターンを基に正常細胞との比較検討を行った。

・リポソームの調製：後期エンドソームと同様のリン脂質組成を有するリポソームを逆相蒸発法により調製し、超音波処理を行った。

・エンドソーム内コレステロール蓄積の改善：U18666A 処理後の BHK 細胞に対して調製したリポソームを投与後一定時間培養し、エンドソームの単離を行った。各エンドソームに蓄積したコレステロール量を酵素測定法により測定し、U18666A 処理および未処理細胞から調製したエンドソーム内コレ

ステロール量との比較を行った。

【結果】

1) 培養細胞を用いた細胞内コレステロール蓄積の誘導：BHK 細胞を U18666A 存在下にて培養し、細胞内へのコレステロール蓄積の誘導を行った結果、後期エンドソームにおける LBPA の顕著な増加が観察された (Fig. 1 A, B)。また、LBPA の増加に伴いコレステロール量の著しい増加も認められ (Fig. 1 C, D)、LBPA とコレステロールは非常に良い共在性を示した。また、後期エンドソームにおける LBPA の増加は TLC 分析によっても認められた (Fig. 1 E)。

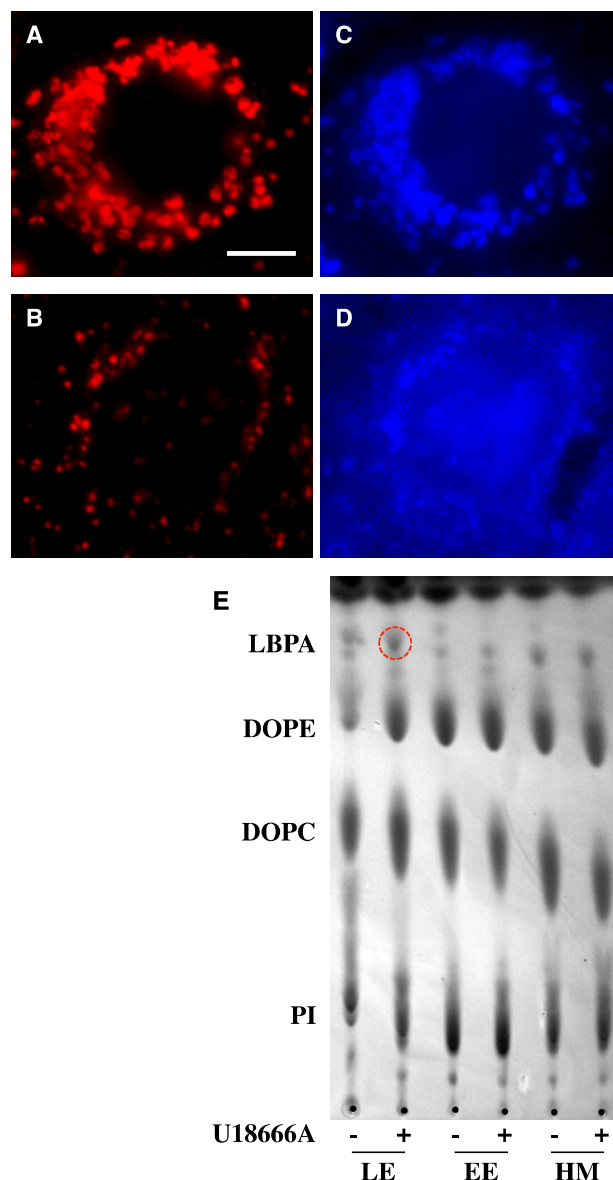


Fig. 1 LBPA and cholesterol in BHK cells. BHK cells were incubated with (A and C) or without (B

and D) U18666A. Cells were fixed with formaldehyde and stained with anti-LBPA antibody (A and B) or filipin (C and D). (E) TLC analysis of phospholipids extracted from BHK cells treated with or without U18666A.

Bar; 10  $\mu$ m.

2) BHK 細胞によるリポソームの取り込み：脂溶性蛍光試薬 octadecyl rhodamine B chloride (R18) で標識したリポソームを BHK 細胞に投与し、4  $^{\circ}$ Cにて 1 時間インキュベートした後、37  $^{\circ}$ Cにて一定時間培養を行い、後期エンドソームマーカーである Lamp1 との共存性を観察することにより細胞内への移行挙動について検討を行った。

10 分後ではリポソームの指標である R18 と Lamp1 との共存性は観察されなかった。一方、45 分後では R18 由来の蛍光が Lamp1 と非常に良く一致した局在性を示した (Fig. 2)。

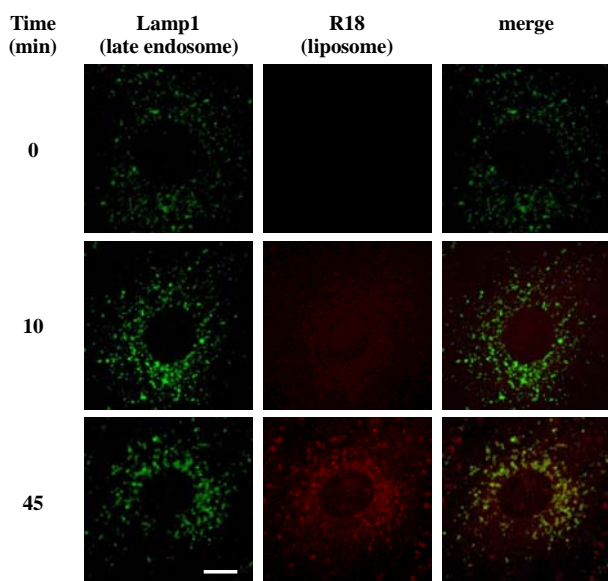


Fig. 2 Intracellular localization of liposomes in BHK cells.

BHK cells were incubated with liposomes containing self-quenching amounts of R18 at 4  $^{\circ}$ C for 1 h, and then incubated at 37  $^{\circ}$ C for the indicated time periods.

Bar; 10  $\mu$ m.

3) エンドソーム内コレステロール蓄積の改善：U18666A 処理による BHK 細胞での後期エンドソームにおけるコレステロールの異常蓄積に対するリ

ポソームの効果について検討を行った。

リポソームを投与後一定時間培養した BHK 細胞から後期エンドソームを単離し、そのコレステロール量を測定した。その結果、LBPA を含むリポソーム (LBPA リポソーム) の投与により後期エンドソーム内のコレステロール量に減少が認められた (Fig. 3 A)。一方、LBPA を含まないリポソーム (コントロールリポソーム) の投与ではコレステロールの減少はほとんど認められなかった (Fig. 3 B)。

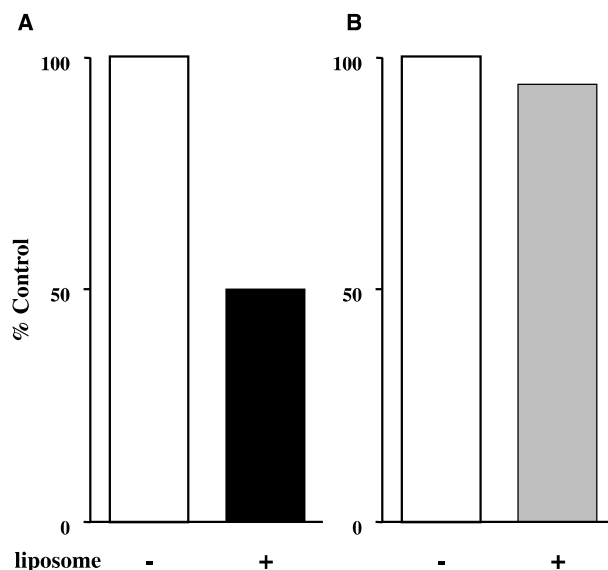


Fig. 3 Effects of liposomes on U18666A-treated BHK cells.

BHK cells treated with U18666A were incubated with LBPA liposomes (A) or control liposomes (B). After the subcellular fractionation, the amounts of cholesterol in late endosomes were measured.

【考察】

培養細胞を U18666A 存在下で処理することにより細胞内でのコレステロール輸送が阻害され、NPC フェノタイプが誘導されることが報告されている<sup>5</sup>。同様に、BHK 細胞を U18666A 存在下にて培養することにより細胞内でのコレステロール蓄積が認められた。このコレステロール蓄積部位が後期エンドソームマーカーとしての LBPA の局在性と非常に良く一致していることから、細胞内でのコレステロール蓄積部位は後期エンドソームであることが明らかとなった。さらに、LBPA の増加に伴いコレステ

ロール蓄積も増加したことから、細胞内でのコレステロール動態に LBPA が関与することが示唆された。

LBPA はエンドソームにおけるコレステロール蓄積を調節することが報告されている<sup>4</sup>。そこで、NPC に対する新規治療法の候補として LBPA を応用するにあたり、リポソーム化の有効性について検討を行った。脂溶性蛍光試薬 R18 で標識したリポソームを BHK 細胞と 4 °Cにて 1 時間インキュベートし、37 °Cにて一定時間の培養を行った。10 分後では、細胞内に取り込まれた物質の大部分が初期エンドソームへ移行し、45 分後では後期エンドソームへ移行する。投与したリポソーム由来の蛍光と後期エンドソームマーカーである Lamp1 との共存性について、10 分後では共存性を示さなかったが、45 分後では非常に良い共存性を示した。したがって、投与したリポソームは BHK 細胞に取り込まれた後、エンドサイトーシス経路に従って細胞内を輸送されることが示された。

U18666A 処理後の BHK 細胞にリポソーム化した LBPA を投与し、細胞内コレステロールの異常蓄積に対する影響について検討を行った。LBPA リポソームを投与することにより後期エンドソーム内のコレステロール量に減少が認められた。しかしながら、LBPA を含まないコントロールリポソームの投与ではその減少はほとんど認められなかった。したがって、LBPA をリポソーム化し、外因性の LBPA として付加することにより、後期エンドソームに蓄積した過剰なコレステロールを正常な状態に戻すように機能し、コレステロールの異常蓄積が改善されることが推察された。

臨床への応用に際しては、投与量や投与方法などの解決すべき点が存在するが、遺伝的脂質蓄積症に対する治療法の確立に寄与することが期待される。

#### 【謝辞】

本研究を遂行するにあたりご支援いただきましたウエスコ学術振興財団に深謝申し上げます。

#### 【引用文献】

1. Kobayashi T, Stang E, Fang KS, de Moerloose P, Parton RG, Gruenberg J.: A lipid associated with the antiphospholipid syndrome regulates endosome structure and function. *Nature*, **392**, 193-197 (1998).
2. Kobayashi T, Beuchat MH, Lindsay M, Frias S, Palmiter RD, Sakuraba H, Parton RG, Gruenberg J.: Late endosomal membranes rich in lysobisphosphatidic acid regulate cholesterol transport. *Nat. Cell Biol.*, **1**, 113-118 (1999).
3. Matsuo H, Chevallier J, Mayran N, Le Blanc I, Ferguson C, Faure J, Blanc NS, Matile S, Dubochet J, Sadoul R, Parton RG, Vilbois F, Gruenberg J.: Role of LBPA and Alix in multivesicular liposome formation and endosome organization. *Science*, **303**, 531-534 (2004).
4. Chevallier J, Chamoun Z, Jiang G, Prestwich G, Sakai N, Matile S, Parton RG, Gruenberg J.: Lysobisphosphatidic acid controls endosomal cholesterol levels. *J. Biol. Chem.*, **283**, 27871-27880 (2008).
5. Lusa S, Blom TS, Eskelinen EL, Kuismanen E, Mansson JE, Simons K, Ikonen E.: Depletion of rafts in late endocytic membranes is controlled by NPC1-dependent recycling of cholesterol to the plasma membrane. *J. Cell Sci.*, **114**, 1893-1900 (2001).

#### 【成果発表】

松尾浩民：細胞内コレステロールの異常蓄積に対するリポソームの効果 日本薬剤学会第 30 年会（長崎、2015 年）。

## 高脂肪食摂取による肥満の形成は Gas6 阻害により抑制できるか？

倉敷芸術科学大学 生命科学部 健康科学科

椎葉 大輔

### [概要]

本研究では、「高脂肪食摂取による肥満形成にはGrowth-arrest specific gene 6 (Gas6)が関与する」との仮説のもと、高脂肪食摂取によるGas6の発現変化と、Gas6阻害の脂肪組織肥大に対する抑制効果について検討した。その結果、16週間高脂肪食摂取したマウスの脂肪組織では、Gas6の遺伝子発現が亢進する傾向が観察されたものの、顕著な差ではなかった。一方で、マウス脂肪前駆細胞モデルであるNIH3T3-L1 (L1) 細胞を用いた検討から、L1細胞を脂肪細胞への分化させることにより、Gas6産生が顕著に亢進することが明らかとなった。さらに、この分化誘導L1細胞に対してGas6の働きを阻害する中和タンパク質を加えた結果、細胞死が促進する結果が観察された。以上の結果は、高脂肪食摂取により脂肪組織においてGas6発現が亢進する可能性があること、Gas6が分化する脂肪細胞の細胞死を阻害することで脂肪組織の形成に貢献している可能性を示唆するものであった。

### [緒言]

近年、経済発展による飽食化や便利な生活活動がもたらす身体運動不足などによる生活習慣病

(life-style related diseases)が増加した。肥満症は、生活習慣病の初期に観察され、その後の糖尿病、脂質異常症、高血圧症、動脈硬化症などの発症に大きく影響する。また、世界の肥満人口が先進国を中心とした増加傾向であることが社会的な問題となっており、我が国も例外ではない。肥満症自身は、脂肪組織の肥大を除いて強い自覚症状はないものの、糖尿病や高血圧症等への進展を考えれば、患者自身のQOLのみならず、医療費を含む社会保障の観点から鑑みても、早急に対処すべき課題である。

肥満の原因は、主に過食、運動不足であることが知られている。食事においては、特に脂質の過剰摂取が問題とされている。これは、脂質から得た摂取エネルギーが生活活動に必要な消費エネルギーを上回ることによって、余剰エネルギーが脂肪組織に蓄積されるからである。実験動物を用いた研究では、脂質エネルギー比の高いエサほど肥満を発症することが報告されている。これにより、同量のエネルギーを摂取しても、脂質を過剰摂取することで肥満になりやすいことが示されている。また、高脂肪食摂取による肥満では、脂肪組織において、炎症反

応が観察される。これらの炎症応答にはTNF- $\alpha$ やMCP-1などの炎症性因子が関与していることが知られている。これらの応答は、インスリン抵抗性や、その結果引き起こされる糖尿病の発症に深く関与していることが知られている。この炎症性因子は、脂肪組織に浸潤した免疫細胞のみならず、肥大した脂肪細胞からも産生されることが知られている。このことは逆説的に、脂肪細胞(組織)の肥大を抑制することが出来れば、これら炎症応答亢進を抑制し、重度生活習慣病への進展を阻害できる可能性を示唆している。

脂肪組織の肥大は、構成する脂肪細胞自身の肥大と脂肪細胞数の増加によりなされる。脂肪細胞の増殖は脂肪組織幹細胞や脂肪前駆細胞を中心とした細胞集団からなされていると考えられるが、その制御機構は明らかではない。Gas6 (Growth arrest-specific gene 6) は、分泌型のタンパク質であり、1977年、Schneiderらによって、NIH3T3細胞の増殖停止時に特異的に発現される遺伝子 (growth arrest-specific gene) の一つとして発見された。先行研究では、Gas6が標的細胞膜上のGas6受容体群 (Tyro3, Axl, Merの3種類で構成、TAM受容体群) に作用して、細胞死を抑制する効果を示すことが報告されている。実際に申請者らも、脂肪組織と同じ

く組織再構成が起こる骨格筋において、Gas6発現が増強されることを観察している（未発表データ，ウエスコ財団助成課題による成果）。このことから、脂肪組織においてもGas6発現が亢進しており、脂肪細胞の生存を維持することで脂肪組織肥大に関与している可能性が考えられるが、そのような検討は見られない。そこで、本研究では、マウス高脂肪食摂取性肥満モデルマウスを用いて、脂肪組織におけるGas6発現について検討した。さらに、脂肪前駆細胞モデルであるNIH3T3-L1 (L1) 細胞を用いて、Gas6阻害の成熟脂肪細胞への影響について、検討を行った。

#### [方法]

##### 動物実験プロトコール

雄性6週齢のC57BL/6Jマウスを計10匹、13日間予備飼育をした。C57BL/6Jマウスを高脂肪食摂取群（HFD：n=5）および対照食摂取群（ND：n=5）の2群に分けた。摂取飼料は、HFD群がカロリー当たり60%の脂肪を含有する高脂肪飼料（5.2kcal/g）、ND群がカロリー当たり10%の脂肪含有量で35%のスクロース含有量を使用したコントロール飼料（3.8kcal/g）とした。飼料および給水は、自由摂取とした。体重および摂取飼料測定は毎週行った。採血は2週間に1回行った。採取方法は17時間以上絶食の後、麻酔下でマウスの尻尾血管より血液を採取した。血糖値測定は採血時に合わせて全血を用いて行った。測定にはニプロフリースタイルフリーダムライト血糖測定器とニプロFC血糖センサーライトを用いた。高脂肪および対照飼料摂取16週後に、安楽死処置ののち、組織を採取した。採取した組織は液体窒素で直ちに凍結させた後、分析まで-80°Cで保存した。

##### 細胞実験プロトコール

NIH3T3-L1細胞を増殖させた後、分化誘導培地（2日間、デキサメタゾン、IBMXおよびインスリン含有）および促進培地（6日間、インスリン含有）で成熟脂肪細胞様へ分化誘導した。で37°Cおよび5%CO<sub>2</sub>環境にて行った。成熟脂肪細胞様への分化度合いは、オイルレッドO色素での細胞内トリグリセ

リド染色により評価した。この際、一部の細胞にはAxl-Fcを3μg/mlの濃度で分化誘導期から分化促進期まで添加した。細胞は回収し、各分析に用いた。

##### 血液、組織および細胞分析

回収した各試料は、免疫学および分子生物学的手法を用いて分析した。即ち、血液および細胞培養液中のGas6濃度はELISA法、組織Gas6遺伝子発現は、RT-qPCR法、細胞Gas6受容体発現はウエスタンブロット法を用いた。

##### 統計処理

実験結果は平均値±標準値偏差で示した。各条件の比較は二元配置分散分析ののち、多重比較検定としてBonferroni testを行った。有意水準は5%とした。

なお本研究は、倉敷芸術科学大学動物委員会の審査・承認を経て実施された。

##### [結果および考察]

HFD群の体重はND群の体重に比べて、7週目以降から有意に高値を示した（図1A）。エサの摂食量は両群に顕著な差は観察されなかった（図1B）。空腹時血糖値は、HFD群においてND群に比べ、10週目以降で有意に高値を示した（図1C）。血液中のGas6濃度は、測定期間内において有意な差は認められなかった（図1D）。組織におけるGas6遺伝子発現は、脂肪組織において亢進する傾向があるものの、顕著な差は観察されなかった（図2A）。この結果は、既に体重増加のピークを超えた時期の組織であったため、Gas6遺伝子発現が鈍化していた可能性も否定できない。一方で、Gas6受容体であるAxlの発現はHFD群において亢進しており（図2B）、高脂肪食摂取によりGas6感受性が亢進している可能性が考えられた。本研究の結果は、16週目の遺伝子発現（mRNA）であるが、現在8週目および16週目タンパク質レベルでの分析を進めているところであり、更なる詳細な検討によりGas6の応答変化がより明らかになると考えられる。

細胞実験において、脂肪前駆細胞様L1細胞では

増殖期に比べて、分化促進期ではオイルレッド O 陽性細胞が多く観察された (図 3A, B)。次に、それらの Axl の発現を検討したところ Axl の発現は分化の有無にかかわらず観察された (図 3C)。一方、その発現強度は分化期間によって違いが見られた。即ち、Axl の発現は増殖期に比べて、分化促進 1 日目の方が強く観察された。一方で、分化促進 6 日目では増殖期よりも低く観察された。また、分化期の違いによる培養上清中の Gas6 濃度について検討したところ、分化促進 6 日目では増殖期に比べて Gas6 濃度が高く検出された (図 3D)。さらに Axl-Fc により Gas6 作用阻害処理を行ったところ、総細胞数が非処理群 ( $3.36 \times 10^5/\text{ml}$ ) の 73.8% ( $2.48 \times 10^5/\text{ml}$ ) であった (図 3D)。また、死細胞割合についても、非処理細胞は 25.0% であったのに対して、Gas6 作用阻害処理細胞は 35.3% であり、高値を示した (図 3E)。この結果は、Gas6 阻害により L1 細胞から成熟脂肪細胞様細胞への分化および生存には Gas6 が重要な役割を担うことを示唆しており、脂肪組織の肥大において、Gas6 が一定の役割を担っている可能性を示唆するものであった。

以上、本研究により脂肪組織肥大を伴う肥満の形成に Gas6 が関与している可能性が示唆された。現在、本研究結果を受けて生体内、特に脂肪組織における Gas6 阻害の研究を進めており、より詳細な肥満形成における Gas6 の影響について新たな知見が報告できるものと、鋭意研究を進めている。

#### [謝辞]

本研究を遂行するにあたり、助成課題として採択いただいた、(財)ウエスコ学術振興財団 山地弘理事長をはじめ、選考委員の先生方および関係各位に心より深謝する。

#### [参考文献]

Takahashi M, Ikemoto S, Ezaki O: Effect of fat /carbohydrate ratio in the diet on obesity and oral glucose tolerance in C57BL/6J mice. *J Nutr Sci Vitaminol* 45: 583-593,1999

下田 純一, 濱本 高義. 2001, Gas6 Deficient Mice. *血栓止血誌*, 12 : 514-521.

Higashiura K, Ura N, Ohata J, Togashi N, Takagi S, Saitoh S, Murakami H, Takagawa Y, Shimamoto K. Correlations of adiponectin level with insulin resistance and atherosclerosis in Japanese male populations. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2004; 61: 753-9.

Hotamisligil, G. S.: Inflammation and metabolic disorders. *Nature*, 444, 860-867 (2006)

Dandona P, Aljada A, Bandyopadhyay A : Inflammation : the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends Immunol* 2004, 25 : 4-7.

Schenk, S., Saberi, M. & Olefsky, J. M.: Insulin sensitivity: modulation by nutrients and inflammation. *J. Clin. Invest.*, 118, 2992-3002 (2008)

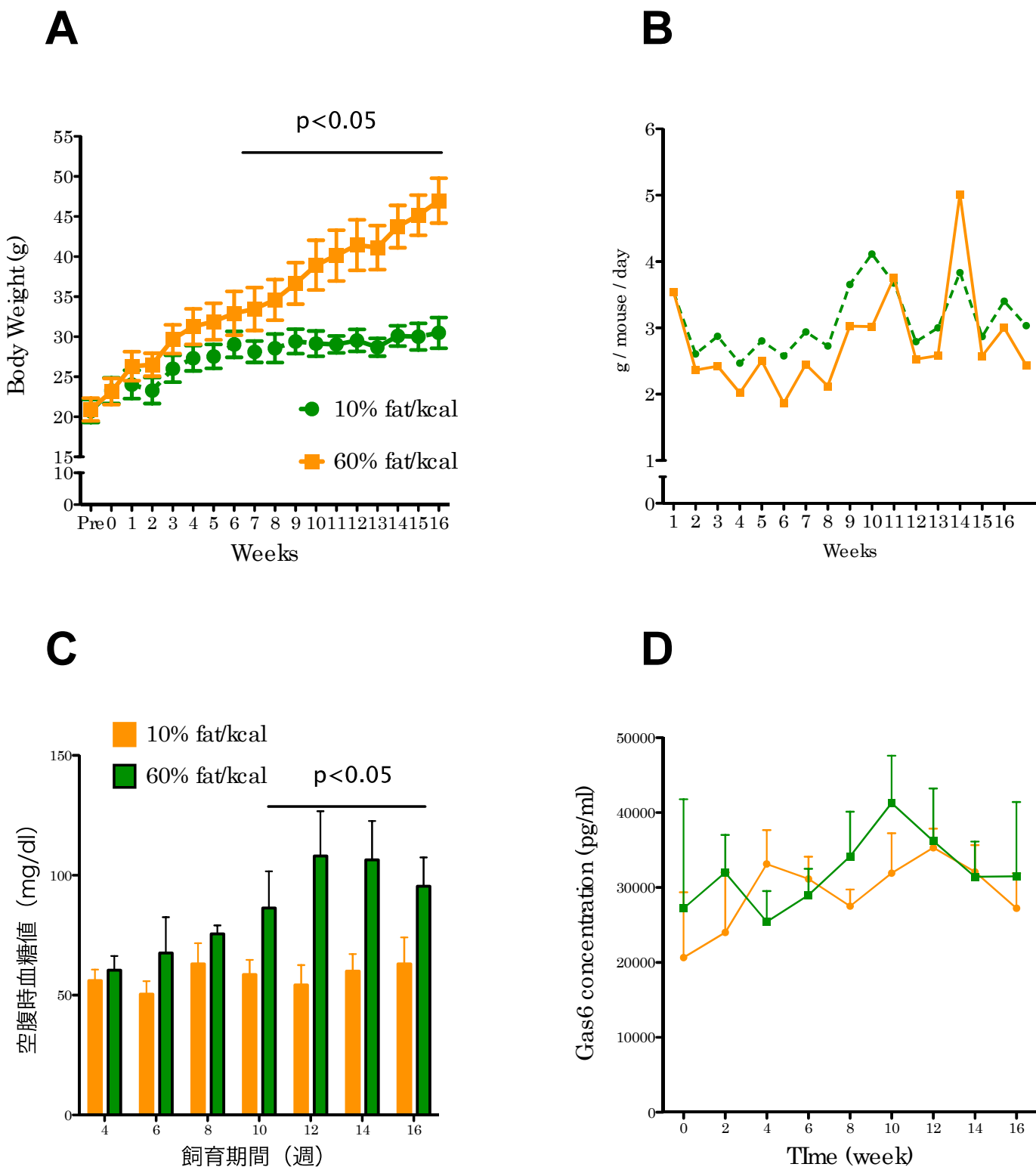


図1 高脂肪食摂取マウスの体重，摂食量，血糖値  
および血清中Gas6濃度の推移

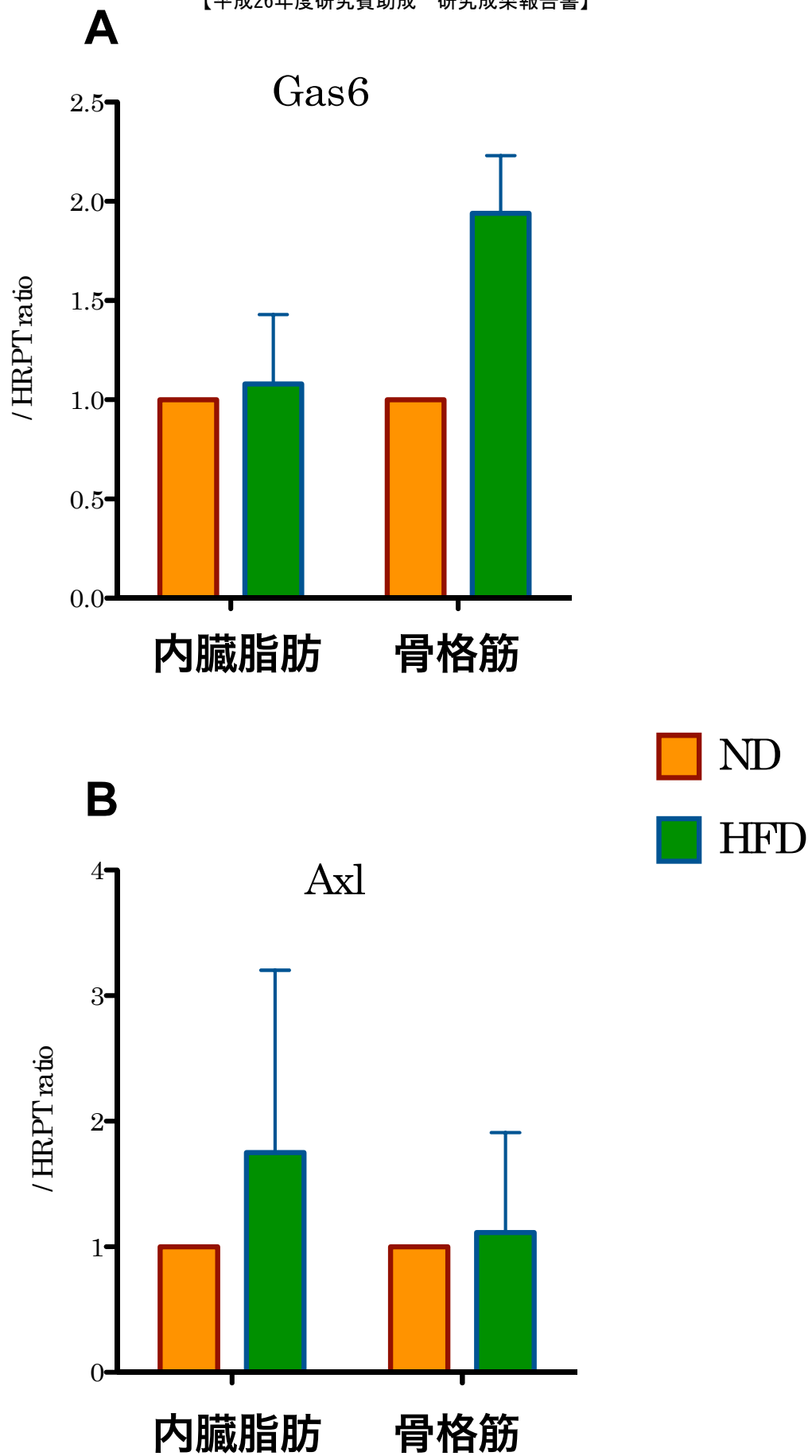
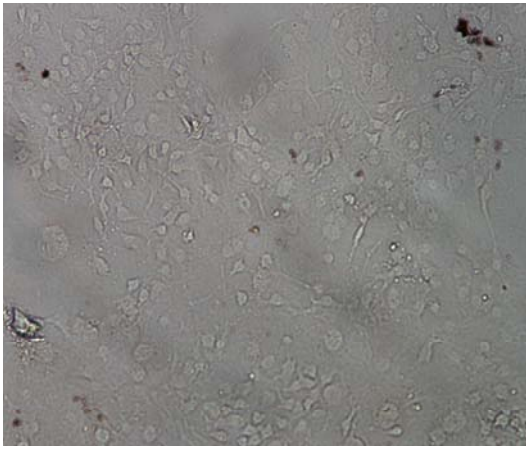


図2 高脂肪食摂取マウスにおける  
組織Gas6遺伝子発現

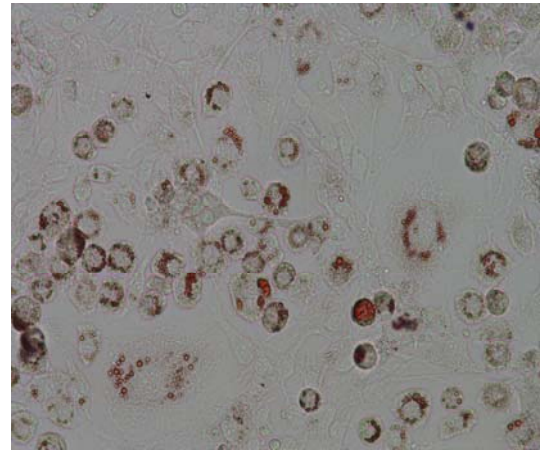


**A**



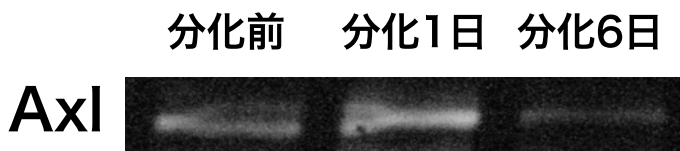
分化前L1細胞

**B**

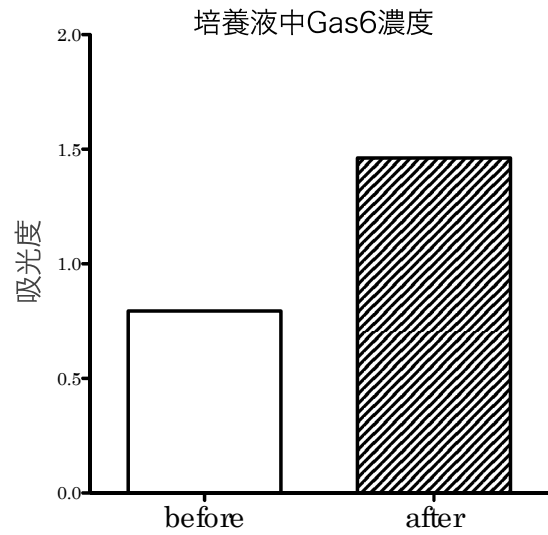


分化後L1細胞

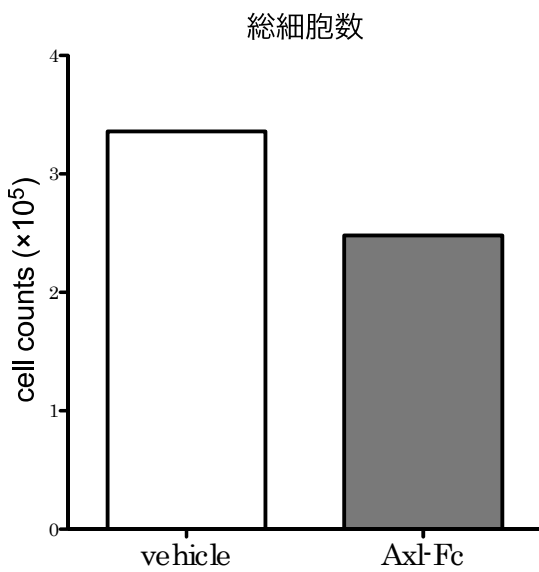
**C**



**D**



**E**



**F**

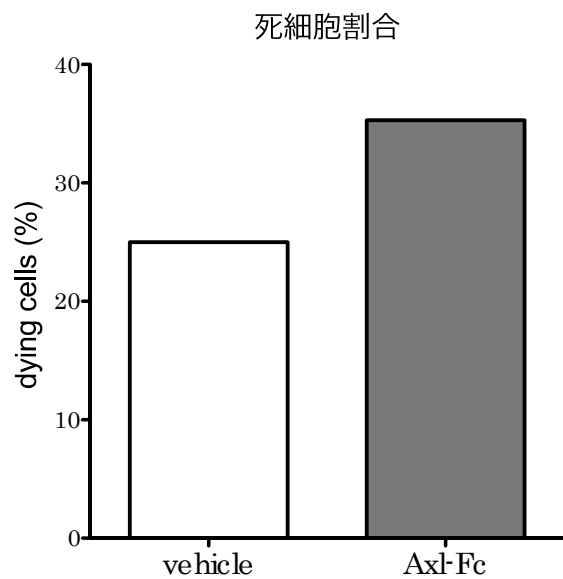


図3 L1細胞におけるGas6, Axl発現と阻害の影響

## ソーシャル・ビジネスの評価の在り方 —インドの事例から社会開発へのインパクトを測定する

吉備国際大学、外国語学部  
橋本由紀子

### 概要

本研究の目的は、社会開発におけるソーシャルビジネス（SB）の役割とその評価の在り方を探求するものである。今回は特にインドの都市廃棄物管理に焦点を当て、社会的側面からごみ収集者の生活向上と都市衛生改善に関して、自治体と組合の協働システムと、この分野で急に活躍が期待されはじめた民間セクター（SB）の役割と効果、社会へのインパクトを比較し、廃棄物管理に最適なシステムの考察を行う。また、SBの効率性、評価を現地調査に基づき実施・分析し、より効果的なSBの評価の在り方を探求する。調査結果から、SB方式はごみ収集者の収入増と地域の環境衛生改善に有望な方式であるが、規模の観点から自治体と組合の連携による対象地域拡大の要素も必須であることが判明した。SB起業家は主に女性が多く、単なる組合員時よりも収入が向上し、女性の社会的地位も向上したと評価している。また、SB方式がサービスの質の向上、地域の意識化に有効であるとの意見が多かった。しかし、廃棄物処理問題は、多様な文化的社会的要因を含み官民（地方自治体とSBによる）パートナー方式が有効である可能性もある。これらについては今後の研究課題である。

キーワード：ソーシャルビジネス、インドの都市廃棄物管理、ごみ収集者組合と自治体の協働

### 問題の所在：都市廃棄物激増と管理

インドは急速な経済発展と都市人口集中のため、一般家庭ゴミと産業廃棄物のいずれもが急増している。2011年のインド国勢調査によれば、人口12億1,000万人のうち、都市部の住民は31.16%で、その割合は増加の一途をたどっている。しかし、予算不足や制度上の弱点、一般市民のごみ問題に対する無関心のために、廃棄物管理の状況は劣悪で、都市周辺での野放しの廃棄物投棄は公衆衛生や環境に深刻な問題をもたらしている。大都市での一般廃棄物排出量は、年率1.33%で増加すると予測され、2047年までに廃棄物排出量は、年約2.6億トンになる予測である。都市ごみの種類は、堆肥化可能な有機物（果物・野菜くず、残飯）、リサイクル可能物（紙、プラスチック、ガラス、金属など）、有害物質（塗料、殺虫剤、薬品）、固体廃棄物（生理用ナプキン、使い捨て注射器）があり、都市部の多くで発生元のごみの保管能力が不足し、ゴミが分別なしで収集され、処分場に捨てられている。さらに、ごみ収集は道路沿いで行われ、未許可の屋外収集所がいたるところで作られ、衛生面、交通上の危険性が懸念されている。最近ではNGOや民間部門の支援（企業のCSR）を受けて、ニューデリー、ムンバイなど大都市で、戸別収集が導入されている。しかし、周辺環境衛生の悪化は深刻さを増すばかりである。

#### 「きれいな清潔な国インド」キャンペーン

モディ新首相は2019年10月2日までに都市集中がもたらす廃棄物増加や衛生設備の不備が健康に与える悪影響を解決するために同キャンペーンを達成すると宣言した。その骨子は、\*清潔なトイレの普及 \*科学的な廃棄物処理整備、\*民間セクター（ソ

シャルビジネス）の参入促進（競争原理の導入）である。インドにおけるSBの歴史は浅く、インドのSBの68%が設立以来5年未満であり、年収益は約90%が5000万円以下である。（Beyond Profit 2010 survey）しかしながら、2009年と比較し2010年には約3分の1のSB企業で50%収益増を報告している。このようにSBを促進した場合の、産業の事業性、雇用増加、ステイクホルダー利益、社会問題解決に大いに役立つと期待されていることがうかがえる。

#### ソーシャルビジネスの定義（経済産業省2007）：

ソーシャルビジネスの定義は、社会的課題の多様性と深刻度、経済発展や社会発展の水準、主体の成熟度、経済社会システムの多様性に起因し、分野や国ごとで異なる。本稿では、以下の日本の経産省の定義を採用する。経産省は「様々な社会的課題を市場として捉え、その解決を目的とする事業であり、『社会性』『事業性』『革新性』を要件とし、社会課題の解決、経済活性化や雇用の創出に寄与する効果が期待される、としている。『社会性』とは、解決が求められる社会的課題に取り組むことを事業活動の使命とし、社会問題解決に貢献が期待できる。『事業性』とは、社会課題解決というミッションをビジネスの形に表し、継続的（ビジネスとして成立し慈善事業ではない）に活動を進めていく。『革新性』とは、新しい社会的商品・サービスや、提供の仕組みを開発・活用する。これらの活動が社会に広がることを通して新しい社会的価値を創出する、と定義している。

#### インドの都市廃棄物管理システム

近年、インドの都市廃棄物管理システムは、地方自治体と他セクターとのパートナーシップが推進され、その型は3つに分類できる。1. 地方自治体と民間

セクター（SB）の協働、2. 地方自治体と地域コミュニティの2主体協働、3. 地方自治体、民間セクター、地域コミュニティの3主体協働である。モディ新首相のキャンペーンのもと、民間部門（ソーシャルビジネスSB）が、都市部で料金徴収による戸別収集を導入し、環境と雇用の両面での成果が期待されている。

#### インドの現状：

いまだ国民の三分の一が絶対的貧困状態にある影の面を持つインドにおいて事業性と社会性を同時に追求し、「さまざまな社会的課題を市場としてとらえ、その解決を事業的に目指す」SB方式を導入することは、まさに、期待される有望な形態であるとされている。

主要環境悪化要因である廃棄物の管理はインドでは、少数派に属する特定の階層に偏り、清掃業は清掃人カースト集団の伝統的な職業であった。また、農村から都市部へ流入した貧困層が、インフォーマルセクターを形成し廃棄物回収を行ったり、地方政府に清掃人として雇用されている。機械化等による廃棄物管理の効率化及び合理化は、これら人々の職を奪うことにもつながるといわれていた。しかし、これ以上ゴミ捨て場を増やすことが物理的に不可能で、革新性を持ったSBの方法論が期待されている。

#### （1）ジェンダーに配慮した廃棄物管理

従来、インドでは、家庭でゴミを管理するのは女性が多く、ウェイストピッカー（有価廃棄物回収人）や手分別作業従事者も女性が多く、廃棄物管理とジェンダーは密接な関わりがある。従来、家庭廃棄物や糞尿の清掃は女性の役割と考えられていたため女性はコミュニティにおける環境問題を熟知し、改善の方法や適切な廃棄物集積場の設置場所等、貴重な情報を有している。廃棄物の収集、処理をサービスとして提供するシステムが導入され、収集業務や掃除業務が有償となった。業務にまじめに取り組む貧困女性は作業効率が高いと評価され、貧困女性の収入獲得機会を増加し、エンパワーメントにつながる観点から廃棄物処理への女性の参入推進は重要であり、SB起業家も女性の割合が増加している。廃棄物の資源としての価値判断や再利用状況に関し、ジェンダー分析は分別やりサイクルの方法を決定する際に必要な情報となる。廃棄物の収集、処理の改善を含む都市環境改善事業を進める際には、ジェンダーの視点からの分析が必要となる。

#### （2）インフォーマルセクターへの対応

収集運搬過程では作業員が、最終処分場では、ウェイストピッカーが有価物を収集・回収しており、このインフォーマルな経済活動は、経済に大きな比重を占め、有価物を有効に循環させ、社会経済的観点

からも、貧困者に対し雇用機会や収入源を提供している。この有価物回収活動をフォーマルな廃棄物管理システムの中に取り込む事例もある。インフォーマルセクターとの連携に向けた最終処分場管理者とウェイストピッカーとの運営ルールの設定、ウェイストピッカーやインフォーマルな有価物回収人による組合設立への支援が重要との認識である。その一方で、衛生知識の提供や健康被害予防用具・用品の支援といった福利厚生の実施・労働環境の改善も必須である。さらにはウェイストピッカーへの職業訓練による代替生計手段の確保の支援の取り組みも重要である。



写真1：ごみ捨て場で有価廃棄物を探し集めるウェイストピッカー

#### \*ウェイストピッカー：

有価廃棄物回収人を意味し、最終処分場や路上で、非公式に廃棄物の中から有価物や動物のエサとなる厨芥を集め生活の糧にしている。インドではカーストにより職業が固定化されているケースがあり、社会の最下層の扱いを受けている。彼女らの労働環境は劣悪で有害物質への暴露や病原菌との接触、呼吸器、皮膚の疾患や鉛中毒、ガラスや釘によるけがも多い。彼女らは資源の有効再利用に貢献しているにもかかわらず、重機の妨げになったり、転圧、覆土作業の遅延を招き、排除されたり、非合法化される傾向があった。現在では貧困層のセイフティーネットであるという認識が高まり、フォーマルな廃棄物処理システムに位置づけ、福利厚生の実施・労働環境の改善対策に力点が置かれるようになった。インフォーマルセクターとの連携に向けた最終処分場管理者とウェイストピッカーとの運営ルールの設定、ウェイストピッカーの組合設立と統合である。それら取組により衛生知識の提供や健康被害予防用具・用品の支給等の福利厚生の実施・労働環境の改善も実現方向にあり、職業訓練等の実施により、代替生計手段の確保を支援する等の取り組みもある。しかし多くの場合、労働環境は劣悪で、有害物質や病原菌との接触も頻繁であり、胃腸、呼吸器、皮膚の疾

患や鉛中毒、怪我も多い。ウェイトピッカーには子どもも多く、知能、感情、身体的な発達が阻害されるため、廃棄物問題の解決は急務である。ウェイトピッキングが貧困層のセーフティネットであるという認識に基づき、ウェイトピッカーをフォーマルな廃棄物管理システムの中に統合し、福利厚生 の充実・労働環境の改善を図る取り組みと SB 方式による民間競争力導入事業が並行して進んでいる。

**ブネ市の事例、空気汚染：**ごみ収集所からの汚染が 19%を占める。

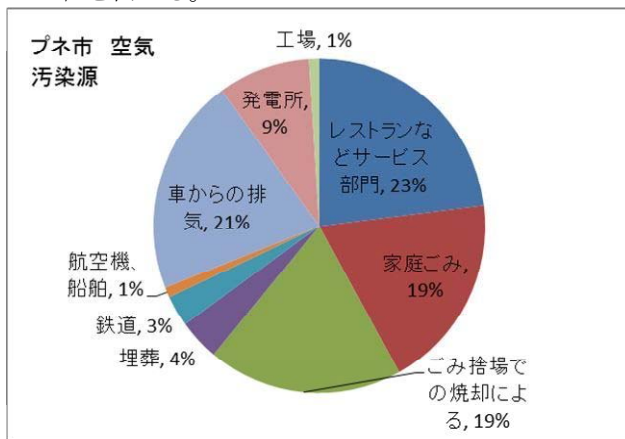


図1 ブネ市の空気汚染源

### 1) ブネ市の事例と取組

ブネ市の廃棄物管理は他市と比較し、自治体と組合の連携、民間セクターの導入も含め、技術やシステムが効率的であり、事業性と社会性を同時に追求し、「様々な社会的課題を市場として捉え、その解決を目的とする事業SB」の発展による環境問題解決への成果が評価を得ている。

以下は、従来の廃棄物処理者組合を公的部門に統合し、ウェイトピッカーを組合化し、組合員の労働条件や生活の向上を目的として家庭ごみの徴収料獲得権を組合に認め、半ソーシャルビジネスとしてスタートした、SWaCh と、廃棄物処理管理SBでも事業性が高いと評価されている INORA（都市と農村の連携、家庭農園、微生物堆肥、廃棄物からエネルギーを創造、等に取り組んでいる）の組合員にソーシャルビジネスとしての自団体への評価をしてもらい、改善点や今後の方向性を調査した結果である。

#### 調査：

SWaCh: 地方自治体と連携するごみ収集者組合（半SB）SWaChは‘97年設立のブネ市の自営廃棄物収集・処理業者の組合で、9000人の組合員を有し80%以上が女性である。2000年にブネ市は戸別収集権と家庭からの費用徴収をSWaChに認可し、半SBとして独立

した。3Rs（Reduce, Reuse, Recycle）に基づく地域や学校での環境教育に焦点を当て活動し、ナプキン専用袋製造販売、E-廃棄物リサイクル等、業務は多様化し、労働条件改善、収入増、健康保険や社会サービス充実を可能にしつつある。



写真2：路上でごみ分別をするSWaChの組合員



写真3：INORAのワーカー（規模は小さいが、新製品の開発やサービスの向上に務め、利益性、事業性は高いと評価されている）

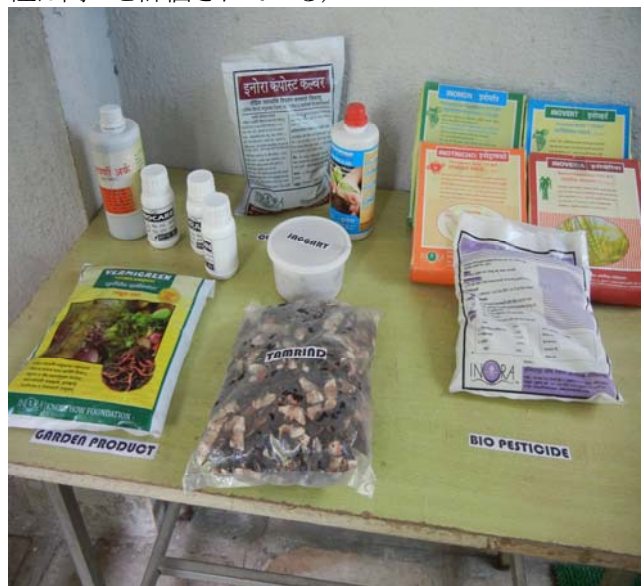


写真4：INORAの新製品、環境にやさしく化学薬品を使用せず、家庭生ごみの再利用化製品が多い

**調査目的:** SWaCH と INORA の組合員がそれぞれ自団体をどう評価しているかを調査し、その効率と今後の方向性を提案する。

**調査期間:** 2014年12月、2015年1月、

**方法:** アンケートとグループディスカッション、

**調査対象者:SWaCH;** 女性22名、男性8名合計30名、勤務年数3年以上、主な仕事内容は、団地と契約し、手押し車で各家庭を訪問し、ごみを収集する。その後、売却用の有価廃棄物と、プラスチック、堆肥用生ごみなどに手分別する。

**INORA:** 女性20名、男性2名、合計22名、勤務年数平均1年程度、主な仕事は、収集した家庭ごみからバイオ堆肥を製造、狭い場所での野菜や植物の栽培技術開発、無駄のない農業、無駄のないごみ処理支援などを行う。

**調査方法:** 下記の質問票を基に1人30分程度面接聞き取りによるアンケート調査を行い、調査項目に関し6点満点で評価してもらった。非識字者には口頭でわかりやすく説明し、また、質問内容を異なって理解しないように、統一を図って質問した。質問者は、インド、プネのカルベ社会サービス大学院教員と学生が英語で質問し、回答の記録は筆者が行った。

**調査項目:** (2002 Virtue Value LLC, Licenced under Creative Commons Attribution-Share Alike 3.0 Licence) を修正した。

社会性・地域性:

1. Mission fit with public ミッションの公共性
2. Project fit with Public 事業の公共性
3. contribution to solution of social issues 社会課題改善への貢献
4. Perception of External Stakeholder 外部利害関係者の評価
5. Efficient use of local capital/capacity 地域の人材活用
6. Fit with Client Needs 顧客ニーズ
7. Fit with local needs priority 地域ニーズ

事業性:

8. Public communication 情報発信
9. Organization/leadership 組織力
10. Networking ネットワークの幅
11. Management ability 経営能力
12. Market Potential 販売拡大の可能性
13. Profitability 利益率

革新性、と成功の秘訣:

14. Innovativeness 新製品、新技術の開発
15. Expansion possibility 市場拡大の可能性
16. Supporters /Mentors 支援者、専門的指導者
17. shared value creation 共通価値の創造

18. Secret of success /How to survive 成功の秘訣、ノウハウ

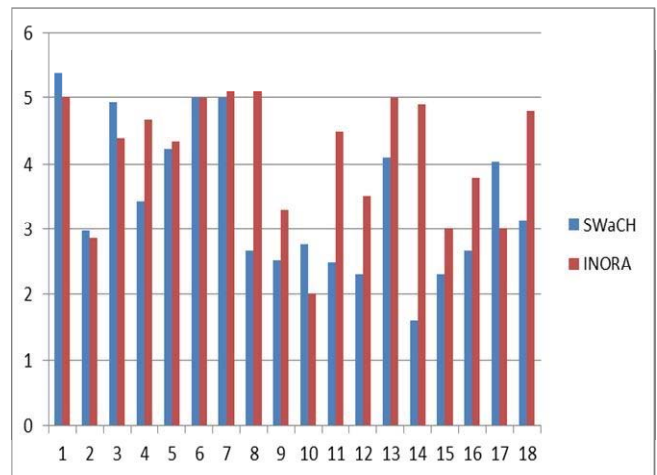


図2 両団体組合員による項目ごとの評価

**結果と考察:** 図2のように、SWaCH 組合員の評価は1. 使命の公共性、3. 社会課題改善への効果、6. 顧客ニーズへの適合性、7. 地域性(いずれも社会性を評価する項目)の評価平均が約5点で高いといえる。一方14. 新製品、新技術の開発2. 3、16. 支援者、専門的指導者は1. 6とやや低い結果となった。従ってSBの第1義的評価社会性評価は高いが、事業性、革新性は今後の課題となる。一方INORAは8. 情報発信、11 経営能力、13利益率、14新製品、新技術の開発、18成功のノウハウの項目がいずれも6点満点中約5点と組合員は高い評価をつけていることが分かる。

両者を比較すると SWaCH は社会性の面で評価が高く、社会問題改善に貢献・寄与率が高いと評価されているが、事業性や革新性は低いと評価されている。一方、INORA は事業性、革新性が高いが規模が小さく、社会問題改善、ごみ問題改善への貢献度には限界があると評価していることが判明した。

**グループディスカッション:**

次にグループディスカッション方式で自由に要望や今後の方向性を2時間ほどかけてSWaCH, INORA 別々に実施し、以下のような意見がでた。

SWaCH: 1. 必需品の安価での支給。2. 収集手押し車の修理専門担当者の任命。3. 専用の分別場の設置。4. 健康被害が多く、定期的健康診断を無料で行う。5. 次世代も同じ仕事をしなくて済むように、子どもへの教育費補助をしてほしい。6. 監督者の質の向上。7. 地域の理解が少なく、学校などでの環境教育方法を改善する。8. 家庭ごみを分別して出す仕組みに変更する。9. 対象団地世帯の拡大。  
INORA: 1. SBとして個人に経営方法が任せられ、独自

に工夫できる。2. サービスを向上することにより利益率が上がった。3. 主体的に新製品を開発し、採用され、動機づけになる。4. 規模を拡大するために、投資が必要であるが、フランチャイズ形式にして融資を支援してほしい。5. メンバー同士が競争相手であり組合の横のつながりができにくい。以上がグループディスカッションからでた意見である。SWaCH では、これまで、会合で提案された事項、(健康保険制度への加入、年金積立、緊急時のローン) が徐々に達成されており、組合から独立したSBスタイルは、自由な意見交換の場となり、ジェンダーの視点を含んだこの SB 方式は有効であると感じた。しかし、グループディスカッションからは技術革新や事業性向上の提案が少なく、競争意識が低い。INORA のグループディスカッションからは、他との連携、情報共有、ネットワーキング、リーダー研修と組織拡充が必要であるとの意見がでて、INORA は規模は小さいが、個人の能力、やる気を伸ばし、エンパワメントに成功している。これこそソーシャルビジネスを持続可能にするための重要要因であると考えられる。

まとめ

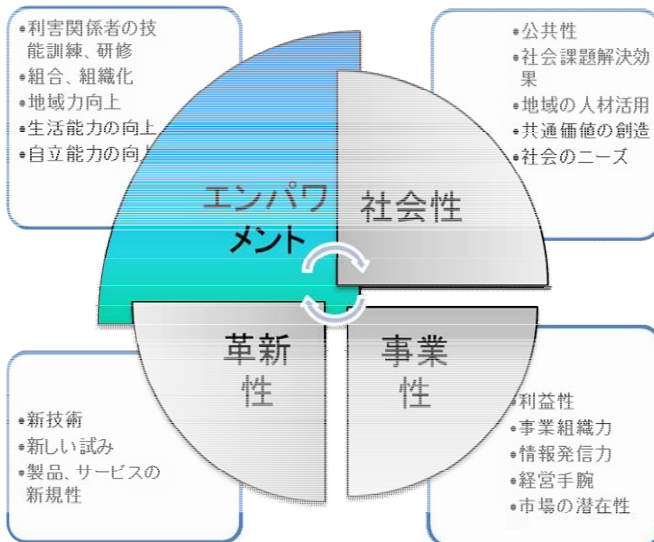


図3 ソーシャルビジネスの成功要因

すでに都市におけるごみ捨て場スペースは限界に達し、焼却技術革新、各家庭の生活様式の改善、廃棄源での分別、環境教育の充実が必須である。廃棄物からエネルギーへの概念を普及するには、ジェンダーの視点、ごみ処理業者のエンパワメント、地域との連携、ソーシャルビジネス促進と民営化による効率性の向上、3Rs のコンセプトに基づく統合的廃棄

物管理計画策定のための官民連携、計画を推進するための専門的人材育成が重要なカギとなる。ソーシャルビジネスの方法導入で、組織のエンパワメント、社会性、事業性、革新性を促進できる人材が確保できる。調査の結果ソーシャルビジネスが発展を遂げるための重要要素は図3のように社会性、事業性、革新性に人材育成のための組合員のエンパワメントが追加されるとの結論に至った。

参考文献：

- 1) Public Private Partnerships in Municipal Solid Waste Management, Potential and Strategies Sustainable Urban Solid Waste Management- a case study of Pune, Vaishali Anagal, 2014.
- 2) Durga Surekha and Deepa Siddharth Donde (2014), SUSTAINABLE ENVIRONMENT MANAGEMENT THROUGH ENVIRONMENTAL EDUCATION WITH RESPECT TO A CASE STUDY OF GARBAGE CONCERN WELFARE SOCIETY, VSRDIJBMR, Vol. IV (IV) April 2014 / 108
- 3) Public Private Partnerships in Municipal Solid Waste Management, Potential and Strategies Sustainable Urban Solid Waste Management- a case study of Pune, Vaishali Anagal, 2014.
- 4) Pune Municipal Corporation (2014), “Biogas plants hardly a help in clearing garbage” , available at : <http://timesofindia.indiatimes.com/city/pune/Biogas-plants-hardly-a-help-in-clearing-garbage/articleshow/30365428.cms> Dec. 3rd accessed
- 5) Towards social inclusion and protection of informal waste pickers and recyclers Best practices#91 / 10KKPKP and SWaCH, Pune India 2014
- 6) Kagad Kach Patra Kashtakari Panchayat (KKPKP) website. 2012. Available at [www.wastepickerscollective.org](http://www.wastepickerscollective.org) Dec. 1st 2014 accessed.
- 7) Ahmed, Dr. S. I. 2011. Kagad Kach Patra Kashtkari Panchayat Health Insurance Scheme Casestudy. Centre for Insurance and Risk Management for the ILO. Available at: [http://www.ifmr.co.in/wpcontent/uploads/2011/03/CIRM\\_Kagadkachpatrakashtkaripanchayat.pdf](http://www.ifmr.co.in/wpcontent/uploads/2011/03/CIRM_Kagadkachpatrakashtkaripanchayat.pdf) (accessed May 9 2014).
- 8) A key trend in collection of MSW that is unique to low to middle income countries like India is the presence of a large informal sector that plays an active role in collection. The rag pickers work

day and night to collect the recyclable materials from the streets, bins and disposal sites for their livelihood, thereby significantly reducing the role of the Government in recovering secondary materials from the waste.

9) Chikarmane, P., M. Deshpande, and L. Narayan. 2001. Report on Scrap Collectors, Scrap Traders and Recycling Enterprises in Pune. Geneva: ILO-UNDP.

10) Wainwright, Hilary, 2012. Transformative Resistance: The Role of Labour and Trade Unions in Alternatives to Privatisation, ed. McDonald David and Ruiters,

11) Purnima Chikarmane 2012 WEIGO Policy Brief Urban Policy No. 8 1-12, Integrating waste pickers into Municipal Solid Waste Management in Pune.

12) Varanasi Municipal Corporation (2014), "Solid waste management system a failure in Varanasi", available at:

<http://timesofindia.indiatimes.com/city/varanasi/Solidwaste-management-system-a-failure-in-Varanasi-saysreport/articleshow/29980955.cms>

13) SWaCH. 2011. OHS Report. Internal document. SWaCH/ Pimpri Chinchwad Municipal Corporation (PCMC). April - November 2011. Injury Data. Internal document.

(<http://articles.timesofindia.indiatimes.com>)  
Nov. 2014 accessed.

## 油彩画、日本画、染色品に使用される色材の簡易分析法の開発

吉備国際大学 外国語学部

大下 浩司

油彩画、日本画、染色品などの文化財に使われる色材の反射スペクトルを測定できる簡易分析システムの開発を目指した。初年度の平成25年度には、顔料や染料などの色材の色相、明度、彩度を測定可能な簡易分析システムの開発に成功した。顔料の一つであるベロ藍を本システムにより分析したところ、市販の分析システムと同等レベルの反射スペクトルを測定できた。本システムの分析性能を評価するために、他の顔料についても試料調製し反射スペクトルの標準データを得た。第二年度の平成26年度には、初年度に開発した簡易分析システムの精度、確度、再現性を向上するために、システム構造の改良や測定方法の最適化に取り組んだ。染料の一つであるアイを本システムで分析した結果、アイに特徴的な反射スペクトルを測定できた。さらに、本システムの改良、最適化のために、天然染料25種を調製、準備して、それらの反射スペクトルの標準データを得た。市販の反射スペクトル分析システムに比べて波長分解能は劣るものの、二カ年の研究期間に、従来に比べて極めて安価な簡易分析システムを開発し、実用化への目途をつけた。

### 1. はじめに

油彩画、日本画、染色品などの文化財に使用される色材の分析は、それらの復元や模写、修復や保存の際に行なわれることがある。文化財に使われている色材の成分を把握し、同じ色材を用いて復元・模写したり、色材成分を知りその変退色や毒性を把握し修復・保存に役立てることができるといえる。色材の分析は非破壊であることが望ましく、先人の遺した貴重な文化財を傷つけることなく色材を非破壊分析することが大切といえる。

色材を二つに分類すれば顔料と染料に分けられる。顔料は金属や非金属から組成される化合物であり、染料は有機化合物であることが多い。油彩画や日本画には水や油に溶けにくい顔料が色材に用いられる。油彩画の場合には顔料を乾性油で練った油絵具が用いられ、日本画には顔料を膠で練った日本画絵具が使用される。染色品には水に溶けやすい染料が用いられ（染料染）、顔料を染め付けることもある（顔料染）。

一般には、顔料を分析する際には蛍光X線分析が行われる。蛍光X線分析により検出された元素と絵具の色相を照らし合わせて、顔料成分を推測する。

染料を分析する際には、NMRやIRにより分析することもあるが、不純物も同時に検出されるため染料構造の解析は難しい。最近では、三次元蛍光スペクトル分析法により行なわれている。染料に照射した光の励起波長と染料から発した光の蛍光波長に対し、蛍光強度をプロットした三次元蛍光スペクトル（蛍光強度の等高線グラフ）をもとに、蛍光性の天然染料を同定できるようになった。蛍光X線分析法や三次元蛍光スペクトル分析法のように顔料や染料などの色材を同定することはできないが、顔料や染料の色相、明度、彩度などの色情報を得るために、反射スペクトル分析法や測色分析法が行われている。本研究では、この反射スペクトルを簡易分析するためのシステムを開発しようとした。

初年度（平成25年度）は、顔料や染料などの色材の色相（極大反射波長）、明度（反射率の高低）、彩度（反射率の高低差）を測定するための簡易分析システムの開発に取り組み、その性能評価のために顔料40種の反射スペクトルの標準データを得た。第二年度（平成26年度）は、研究初年度に開発した簡易分析システムの精度、確度、再現性を向上するために、システム構造の改良や測定方法の最適化に取り組む、システム性能の評価のために染料25種の反射



スペクトルの標準データを得た。二カ年の研究期間に、色材の反射スペクトルを測定できる簡易分析システムの開発に成功した。本報告書では、本研究の着想の経緯から初年度（平成 25 年度）の研究内容や成果を概説しながら、第二年度（平成 26 年度）の研究内容や成果を中心に報告する。

## 2. 研究内容

研究初年度（平成 25 年度）に開発した反射スペクトルを測定するための簡易分析システムの精度、確度、再現性の向上を目指して、システム構造の改良ならびに測定方法の最適化を行なった。そして、本システムの分析性能を評価するために、天然染料 25 種の反射スペクトルを測定して本システムの性能評価のための標準データを得た。平成 25 年度から平成 26 年度の二カ年の研究期間に、油彩画、日本画、染色品などに使用される顔料や染料等の色材の反射スペクトルを測定できる簡易分析システムの開発に成功した。

本研究の課題は、反射スペクトル分析システムの構造を簡便化して、ローコスト化することにあった。本研究は、油彩画や日本画、染色品などの文化財を復元や模写する現場、そして博物館や美術館などにおける保存や修復の現場への、文化財に使用された顔料や染料等の色材の色相、明度、彩度を測定できる反射スペクトル分析システムの普及や実用のために、科学分析に関する専門知識や技術を要しない簡便化されたシステムを構築し、色材調査を手軽に導入しやすいようローコスト化することを視野に入れていた。

従来の反射スペクトル分析システムは、タングステンハロゲンランプを光源に用いて光ファイバーを通じて色材に光を照射し、色材の反射光を再び光ファイバーに通じて分光器で反射スペクトルを検出していた。そのため分析システムは複雑でその操作には専門的な知識や技術を要し、高価なため科学分析の専門家でなければシステムの入手をためらい、そのような分析システムは普及しにくかった。本研究ではこれらの課題を解決するために、研究初年度の

平成 25 年度には、まず分析システムの簡便化とローコスト化に取り組んだ。

具体的には、LED ランプを光源に用いて、光感応素子を検出器に使用し、光ファイバーレスの反射スペクトル分析システム（簡易分析システム）を開発した。本システムは、各波長の LED ランプを順次点灯して光源から光ファイバーを介さず色材に特定波長の光を間欠的に直接照射し、色材が反射した各波長の光を順次光感応素子で直接検出する。波長の異なる LED ランプを順次照射し測定するため分光器レスのシステム構造が可能となり、色材に光を直接照射し反射光を直接検出するため光ファイバーレスの構造も実現することができた。検出部に分光器を用いた従来の反射スペクトル分析システムに比べて波長分解能に劣るものの、装置価格を大幅に抑えローコスト化に成功した。必要に応じて光源の LED ランプ数の種類（波長の異なる LED ランプ）を増やせば波長分解能を高めることも可能である。また、システム構造がシンプルなため、分析操作を簡便化することができた。本システムの構造は申請書の内容に準じており、本報告書執筆時現在、論文や学会に未発表のためシステムの詳細な記述は控える。

本分析システムの分析性能を評価、改善するために、天然染料 25 種の染色試料を準備、調製し、それらの反射スペクトルを測定して標準データを得た。天然染料として青色のアイ、黄色のウコン、クチナシ、カリヤス、ツルバミ、キハダ、ヤマモモ、エンジュ、ハジ、ズミ、ザクロ、ミロバラン、橙色のクルミ、アセン、チョウジ、ヤシヤ、フシ、タンガラ、ビンロウジ、ウメ、赤色のスオウ（椿灰）、スオウ（ミョウバン）、ベニ、アカネ、紫色のシコンの反射スペクトルを分析した。それらの結果を図 1 に示す。各種天然染料の分析には、Ocean Optics 製の反射スペクトル分析システム一式を用いた。380～950 nm の可視～近赤外領域の反射率を測定した。本システムは、LS-1 型タングステンハロゲン光源、USB2000-VIS-NIR マルチチャンネル型分光器、R400-7-VIS-NIR 二分岐型の光ファイバー、RPH-1 型遮光ホルダーから構成される。反射率 100%の白色校正には WS-1 型波長校正用標準白色板を用い、反射ス

ペクトルのデータ解析には00IBase32ソフトを使用した。横軸に波長、縦軸に反射率を示している。これらの反射スペクトルは染料の色相、明度、彩度に応じて特徴がみられた。例えば、青色染料は400～500 nmに反射率の極大を示し、黄色染料は500 nm辺りから近赤外線域にかけて反射率が上昇し、赤色染料では600 nm付近から近赤外線域まで反射率が高く、紫色染料では青色と赤色の反射スペクトルの特徴がみられ、橙色では黄色と赤色の反射特性が認められた。以上の結果から、反射スペクトルに基づき天然染料の色相を判断できることがわかった。また、明度の高い染料は可視光線領域の反射率が全体的に高く、彩度の高い染料はその反射率の高低差が大きいことが明らかになった。これらの標準データから天然染料の反射スペクトルを測定すれば、その色相、明度、彩度を把握できることがわかった。本研究で開発した簡易分析システムの波長分解能は低いものの天然染料の反射スペクトルを分析できると考えた。

次に、本研究で開発した簡易分析システムと市販の反射スペクトル分析システムの性能を比較検討した。一例として、これらのシステムを用いて青色染料のアイの反射スペクトルを分析した結果を図2に示す。アイの反射スペクトルは、400～500 nmの波長域の反射率が高く、700 nm付近から赤外域にかけて反射率が高い特徴がある。本研究で開発した簡易分析システムでもアイに特徴的な反射特性を捉えることができた。光源に使用したLEDランプの個数の制約から波長分解能は低いものの、LEDランプの数

を増やし反射率を測定できる波長数を増せば、波長分解能は改善され、市販の反射スペクトル分析システムに近い分析性能を実現できると考えた。

### 3. おわりに

本研究は、平成25年度～平成26年度の二カ年で、油彩画、日本画、染色品などの文化財に使用される顔料や染料の色材の反射スペクトルを測定できる簡易分析システムの開発に成功した。当初の予定通りの成果を得ることができた。システムの構造を簡便化し、ローコスト化したことによって、科学分析の専門知識や技術を要することなく色材の反射スペクトルを分析し、色相、明度、彩度を評価できるようになった。更に、システムの原価を抑えたことによって普及しやすくなり、専門家でもシステムを導入しやすくなった。波長分解能の課題が残されるため、今後も本システムの最適化を検討し、実用化を目指していく。

### 謝辞

本研究は公益財団法人ウエスコ学術振興財団から研究助成をいただいて実施した。ここに記して深甚なる感謝の意を表します。

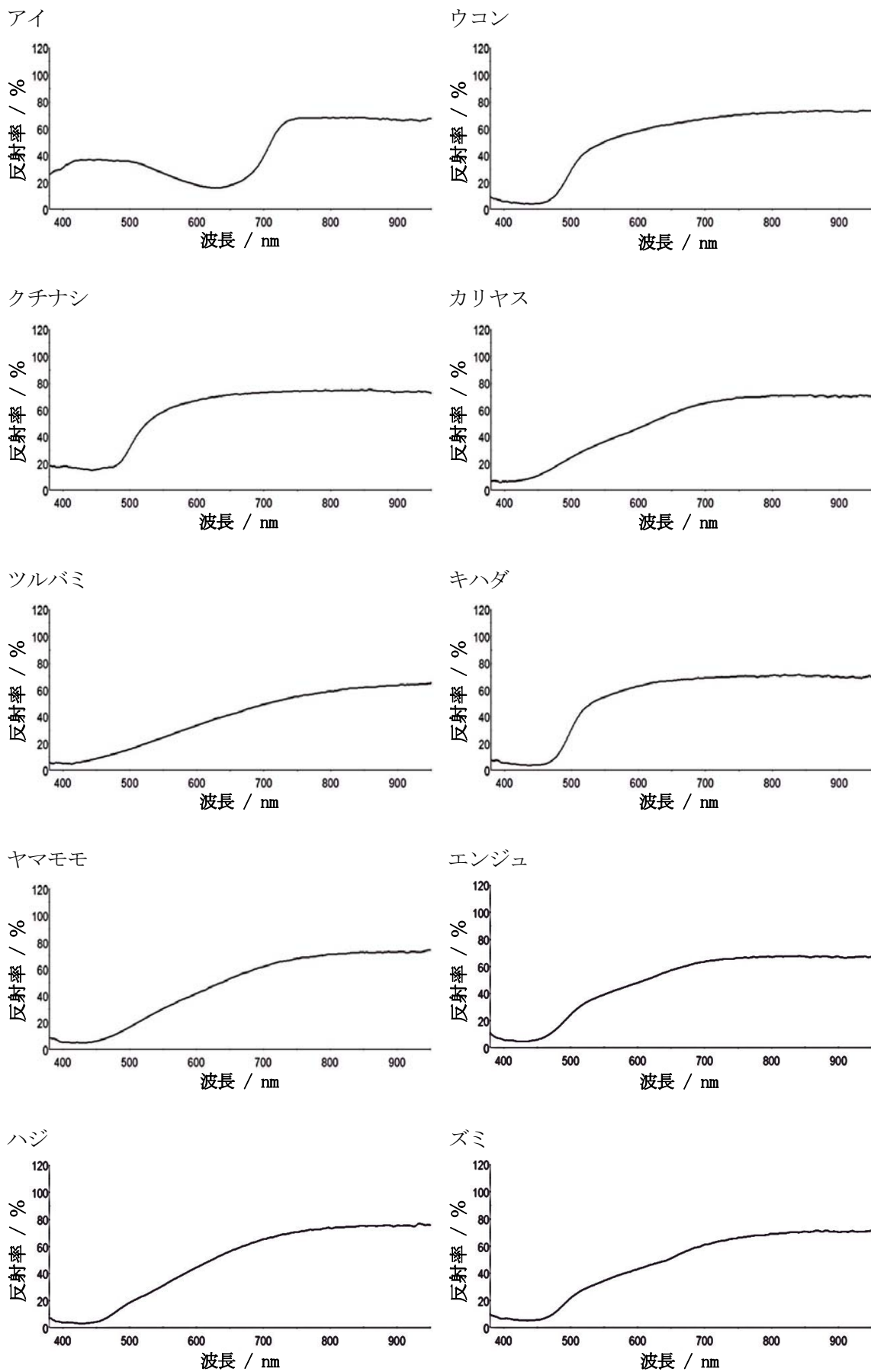


図1 天然染料の反射スペクトル (次頁へ続く)

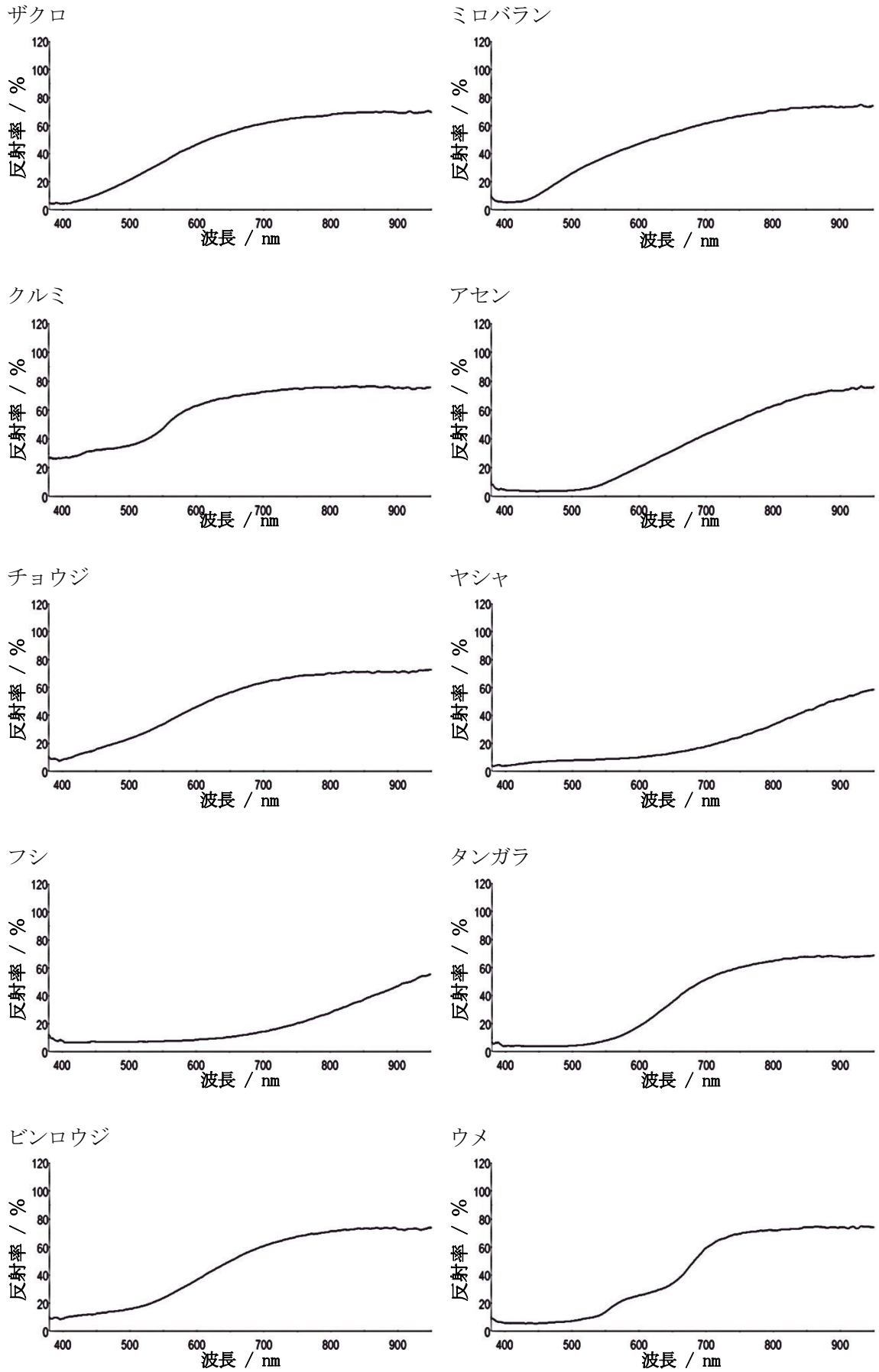


図1 天然染料の反射スペクトル (次頁へ続く)

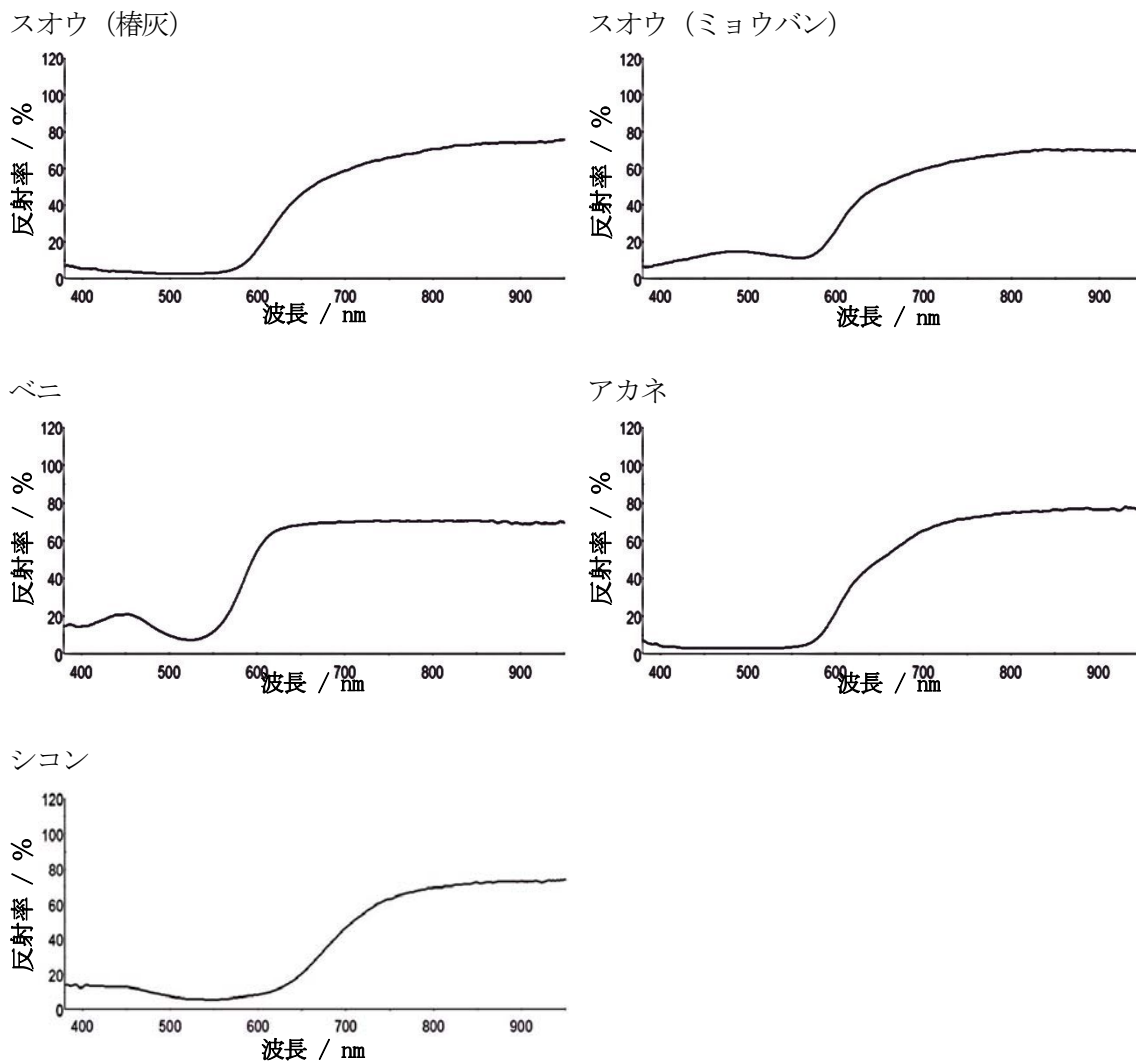


図1 天然染料の反射スペクトル

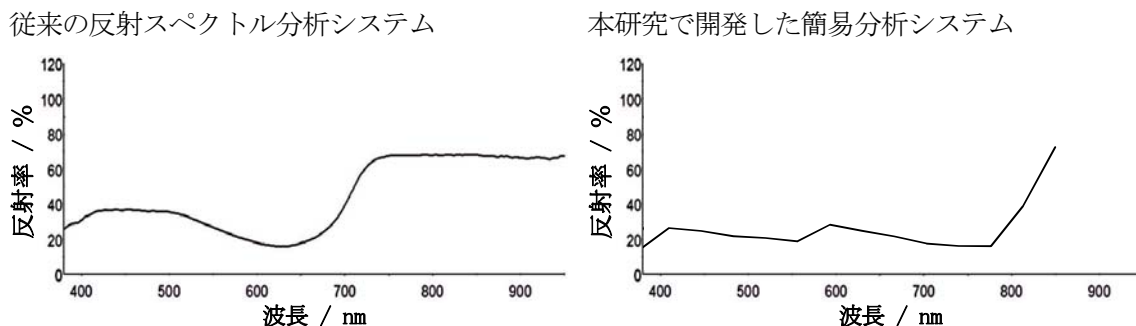


図2 天然青色染料アイの反射スペクトル

## パルミトオレイン酸誘導性心筋ミトコンドリア機能障害と性差の関連性

吉備国際大学 保健福祉研究所

小柳 えり

(概要) 本研究では、パルミトオレイン酸由来の心筋障害に対する性差との関連性についてミトコンドリア機能から検討することであった。実験には 25 週齢前後の雌雄 SD ラットを使用し、血漿カルニチン濃度、脂肪酸代謝関連分子の遺伝子発現、単離心筋ミトコンドリア機能について性差の比較を実施した。その結果、脂肪酸の毒性に対するミトコンドリア保護作用を有する血漿カルニチン濃度（総カルニチン、アセチルカルニチン、遊離カルニチン）は、雌ラットと比較して雄ラットで有意に高い値を示した ( $p < 0.01$ )。しかし、心筋脂肪酸代謝関連分子 endothelial nitric oxide synthase (eNOS)、CD36、organic cation/carnitine transporter 2 (OCTN2)、carnitine palmitoyltransferase I (CPT1)、および CPT2 の遺伝子発現には明らかな性差は観察されなかった。パルミトオレイン酸によるミトコンドリア膨潤は、活性酸素スカベンジャーである Tiron 処理によって雌のミトコンドリアで劇的に抑制された。以上の結果から、パルミトオレイン酸誘導性心筋ミトコンドリア機能障害の性差は、ラジカル消去環境下では生じる可能性が示唆された。

### 序論

心臓血管病、悪性新生物および慢性肺疾患等の非感染性疾患 (Non - Communicable Diseases: NCDs) は、日本における全死亡率の約半数を占め、今後も増加することが予測されている。健康寿命の延伸の観点から健康増進の栄養、適度な運動、休養が推奨されている。特に健康増進における、運動習慣やスポーツ活動の位置付けは、大変効果的であることが明白な事実としてある。

しかしながら、健康づくりのための運動はしばしリスクを伴う。空腹時の運動は、心疾患に関連する血中遊離脂肪酸濃度を上昇させるからである。また、脂肪酸の習慣的過剰摂取は心筋梗塞や重篤な循環器疾患の発症に至るリスクの高まりも報告され、脂肪酸のもつ毒性そのものが心筋機能障害のリスクファクターとして作用機序が報告されている。通常脂肪酸は、ミトコンドリアで $\beta$ -酸化され、体温維持や活動エネルギーとして重要な役割を果たす。しかしながら、過剰な脂肪酸はミトコンドリア膜電位の低下と膨化を誘発し、結果としてアポトーシスをもたらしることが実験的に示されてきた<sup>1)</sup>。

一方、Utsumi らのグループによって、L-カルニチンやアセチル-L-カルニチンのミトコンドリア保護作用と抗アポトーシス機能が解明され<sup>2-5)</sup>、さらに

心筋ミトコンドリアでも、脂肪酸による機能低下および形態的变化に対してL-カルニチンが抑制的に作用することが示された<sup>6)</sup>。また、最新のメタ解析研究によると、L-カルニチンの抗不整脈作用がエビデンスレベルの高い知見として示されている<sup>7)</sup>。

脂肪酸の中でも、一価の不飽和脂肪酸であるパルミトオレイン酸 (C16:1) には、運動時の心筋への毒性が示されている<sup>8)</sup>。現在では過酸化脂質ノネナール(加齢臭の原因物質)の前駆体として知られるようになったものも、心筋に対する毒性解明は進んでいない現状である。また、未解決の問題として、各種脂肪酸の中でも加齢に伴って増加するパルミトオレイン酸由来の心筋障害に対する L-カルニチンの効果、さらには、男性は女性と比較して心筋障害発症の確率が 2 倍以上とされる事実<sup>9)</sup>と L-カルニチンとの関連性についての研究も未だ残されたままである。

我々は、心筋ミトコンドリア内でのパルミトオレイン酸由来の活性酸素種産生・消去機構、さらにはミトコンドリア ATP 合成酵素  $F_1F_0$ -ATPase 活性の雌雄差が影響するものと考えているが、未だ知見は報告されていない。

そこで本研究では、パルミトオレイン酸由来の心筋障害の性差について、ラット心筋の関連遺伝子発現、および単離ミトコンドリア機能から検討するこ

とを目的とした。

## 方法

### 実験動物

実験には25週齢前後の雌雄SDラット(各n=11)を使用した。ペントバルビタール麻酔下で大静脈より採血後、心臓を摘出した。本研究は、川崎医療福祉大学動物実験委員会の承認を受けて実施した(承認番号:13-014)。

### 血漿カルニチン濃度

採取した血液は、EDTA処理後、遠心分離を行い、血漿を回収し、凍結保存した(-40°C)。血漿カルニチン濃度の測定には、酵素サイクリング法を使用し、遊離カルニチン、アシルカルニチン2分画測定を行い、その総和を総カルニチン濃度とした。

### 心臓遺伝子発現

心臓からのRNA抽出には、RNeasy Mini Kit (QIAGEN, Veneta, California, USA)を用いた。その後、NanoDrop systemを用いてTotal RNA濃度を測定し、High Capacity cDNA Reverse Transcription kit (Applied Biosystems, Carlsbad, California, USA)を用いて、逆転写反応によりcDNAを作製した。その後、cDNAは、Power SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, Carlsbad, California, USA)を用いて、Fast real-time PCR Step one Plus (Applied Biosystems, Carlsbad, California, USA)によりPCRを行った。PCR条件は、cDNAの変性に95°C、3秒、アニーリングに60°C、30秒の条件を用いて、40サイクル繰り返した。標的遺伝子のプライマーはラット遺伝子 eNOS (endothelial nitric oxide synthase): forward, TGA CCC TCA CCG ATA CAA CA; reverse, CTG GCC TTC TGC TCA TTT TC. CD36: forward, GCG ACA TGA TTA ATG GCA CA; reverse, TGG ACC TGC AAA TGT CAG AG. OCTN2 (organic cation/carnitine transporter 2): forward, TGG GCA AGT TTG GAA TCA CC; reverse, CAC CAA AGC TCT CTG GGA AG. CPT1 (carnitine palmitoyltransferase I) forward, CTC AGC CTC TAC GGC AAA TC; reverse, CTT

CTT GAT CAG GCC TTT GC. CPT2: forward, GGC GAG CTT CAG CAC ATG AT; reverse, GGC CCA TCG CTG CTT CTT.を使用した。ハウスキープ遺伝子には、ラットGAPDH (glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase): forward, GGC ACA GTC AAG GCT GAG AAT G, reverse: ATG GTG GTG AAG ACG CCA GTA.を使用した。

### ミトコンドリア機能

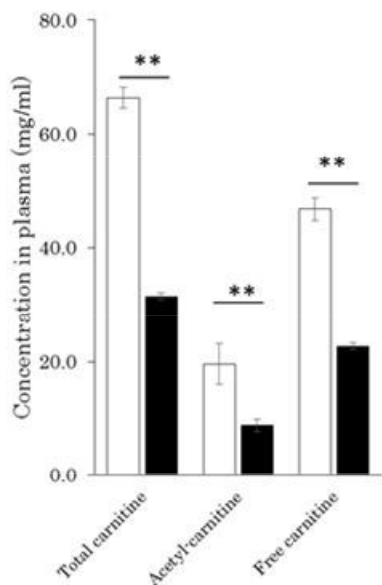
摘出した心臓の一部を用いてミトコンドリアを単離した。ミトコンドリアの酸素消費は、あらかじめ25°Cにて還流したクラーク型酸素電極を用いてポログラフィーにて測定した<sup>6)</sup>。ミトコンドリア酸素消費は、 $\alpha$ -ケトグルタル酸を基質としたState3, State4の呼吸を記録した。この酸素消費の実測値より、呼吸調節率(RCR)およびADP/O比を算出した<sup>6)</sup>。パルミトオレイン酸に対するミトコンドリアの膨潤は、ミトコンドリア内膜の電子伝達系複合体IVタンパク質であるシトクロムcの光波長540nm光散乱を25°C還流下で連続的に測定した<sup>6)</sup>。

## 結果と考察

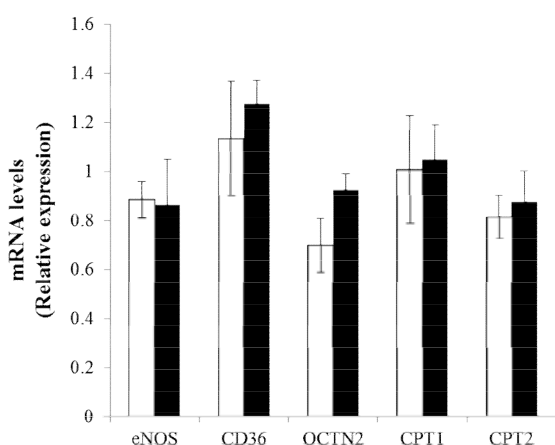
雄ラットの血漿総カルニチン、アシルカルニチン、遊離カルニチン濃度は、雌ラットと比較していずれも有意に高い値を示した(Fig. 1, p<0.01)。この結果は、Borum<sup>10)</sup>の研究報告と一致し、また、TakiyamaとMatsumoto<sup>11)</sup>のヒトを対象とした研究結果とも一致するものであった。通常エストロゲンによってカルニチンの血中濃度は抑制されているものと考えられており<sup>11)</sup>、心筋保護作用を有するカルニチン<sup>7)</sup>の濃度が雄よりも雌のほうが低いことから、少なくとも男性は女性と比較して心筋障害発症の確率が高いとされる事実<sup>9)</sup>とは矛盾する結果であると思われる。さらに、Ostadalら<sup>12)</sup>の指摘するeNOS活性との関連性についてmRNA発現から比較検討を行ったが、これにも性差は示されなかった(Fig. 2)。

そこで、心筋細胞内への脂肪酸取り込みに関連するCD36、および心筋細胞内へのL-カルニチン取り込みに関与するOCTN2のmRNAの発現の比較を行った。その結果、雄と雌では明らかな差は無く、血中カルニチン濃度は必ずしも心筋内濃度に反映され

るものではないことが示された。さらに細胞質からミトコンドリア内への脂肪酸取り込みに関与するCPT1およびCPT2のmRNA発現にも性差は観察されなかった (Fig. 2)。したがって、血中レベルで観察されるカルニチン濃度の有意な差は、細胞内カルニチン濃度、加えてミトコンドリアへの脂肪酸の取り込みに必要となるカルニチンの有無を反映するものではない可能性が示唆された。



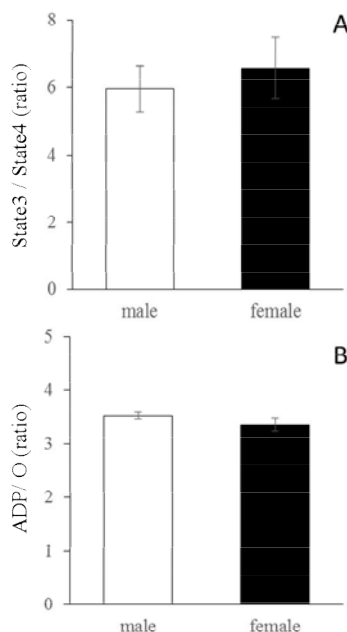
**Figure 1** The effect of gender on plasma concentration of total, acetyl, and free L-carnitine. White bar shows male and black bar shows female. The values are expressed as the mean  $\pm$  S.E.M. \*\* $p < 0.01$



**Figure 2** The effect of gender on rat heart mRNA. White bar shows Male and black bar shows Female.

次に単離ミトコンドリアレベルでの性差についての検討を行った。まず、 $\alpha$ -ケトグルタル酸を基質として用いることでComplex Iからの電子伝達系と酸

化的リン酸化反応を State3/State4 比 (RCR) (Fig. 3A)、およびADP/O比 (Fig. 3B) で比較を行ったが、顕著な性差は観察されなかった。Colom ら<sup>13)</sup>は、ピルビン酸・リンゴ酸誘導による State3、State4、さらにはATPaseの酸化的リン酸化反応には性差が見られなかったとしており、今回の結果も、NADHからのミトコンドリア電子伝達系、酸化的リン酸化反応には違いが無いことが示された。



**Figure 3** Gender effect of alpha-ketoglutaric acid induced mitochondrial oxygen consumption in rat heart

しかし、これらの結果は、脂肪酸毒性に対するミトコンドリア機能の性差を必ずしも示すものではないことから、さらにカルニチン存在下であっても高い脂肪酸毒性を有するパルミトオレイン酸を用いて、ミトコンドリア膨潤の比較を行った。その結果、一定の条件下 (カルニチン存在下、パルミトオレイン酸 CoA 50  $\mu$ M 添加条件) では顕著な性差が観察された。すなわち、ミトコンドリア膜透過性遷移を意味する膨潤<sup>14)</sup>が、活性酸素スカベンジャーであるTiron処理によって、雌のミトコンドリアでは劇的に抑制された。さらにADP添加によって、その膨潤抑制はさらに高い効果を示したことから (Fig. 4)、ラジカル消去とATP産生亢進による強いミトコンドリア膨潤抑制が雌の心筋ミトコンドリアで明らかとなった。雌ラットの心筋では、ミトコンドリア内で活性酸素産生の顕著なComplex IIIからの酸化的リン酸



化反応が雄と比較して低く、実際に  $H_2O_2$  などの活性酸素種産生も低いことが報告されており<sup>13)</sup>、このこと自体が心疾患のリスクを雄と比較して低く抑えているメカニズムであると考えられてきた。本結果も、活性酸素を抑制することで、雌のミトコンドリアは高い ATP 合成を介してエネルギー供給とミトコンドリア膜透過性遷移の制御を可能にしているのかもしれない。さらに Ostadal ら<sup>12)</sup> は心筋の虚血再還流障害に対する雌ラットの高い抗不整脈作用に eNOS 活性との関連も示唆しており、今後、心臓内皮細胞機能についても注目していく必要がある。

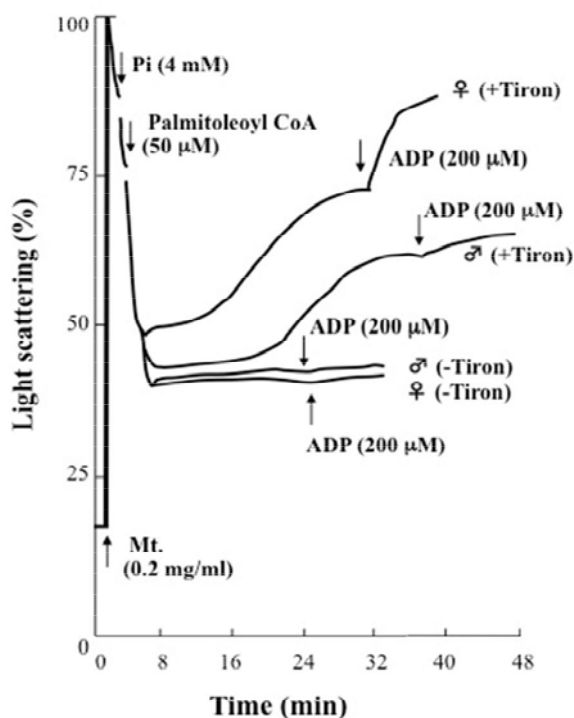


Figure 4 Gender effect of radical scavenger Tiron on fatty acid-CoA-induced mitochondrial swelling in rat heart

## 結論

本研究は、パルミトオレイン酸由来の心筋障害に対する性差の関連性について検討した。その結果、血漿カルニチン濃度は、雌ラットと比較して雄ラットで有意に高い値を示したが、心筋脂肪酸代謝関連分子遺伝子発現に明らかな性差は観察されなかった。パルミトオレイン酸によるミトコンドリア膨潤は、Tiron 処理によって雌のミトコンドリアで劇的に抑制された。したがって、パルミトオレイン酸誘導性心筋ミトコンドリア機能障害の性差は、ラジカル消去環境下では生じている可能性が示唆された。

## 謝辞

本研究は、平成26年度公益法人ウエスコ学術振興財団 学術研究助成事業の支援により遂行された。ここに記し、深謝する。

## 参考文献

- 1) Oyanagi E, et al, L-Carnitine suppresses oleic acid-induced membrane permeability transition of mitochondria. *Cell Biochem Funct*, 2008, 26: 778-786.
- 2) Chang B, et al, L-Carnitine inhibits cisplatin-induced injury of the kidney and small intestine. *Arch Biochem Biophys*, 2002, 405: 55-64.
- 3) Nishimura M, et al, Mechanism of 3-nitropropionic acid-induced membrane permeability transition of isolated mitochondria and its suppression by L-carnitine. *Cell Biochem Funct*, 2008, 26: 881-891.
- 4) Yano H, et al, L-Carnitine is essential to beta-oxidation of quarried fatty acid from mitochondrial membrane by PLA<sub>2</sub>. *Mol Cell Biochem*, 2010, 342: 95-100.
- 5) Hanada H, et al, Acetyl-L-carnitine suppresses thyroid hormone-induced and spontaneous anuran tadpole tail shortening. *Hereditas*, 2013, 150: 1-9.
- 6) Oyanagi E, et al, Protective action of L-carnitine on cardiac mitochondrial function and structure against fatty acid stress. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 412: 61-67.
- 7) DiNicolantonio JJ, et al, L-Carnitine in the secondary prevention of cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis. *Mayo Clin Proc*, 2013, 88: 544-551.
- 8) 小野三嗣, 他, パルミトオレイン酸の不整脈誘発作用. *体力科学*, 1978, 27: 31-36.

- 9) Marijon E, et al, Incidence of sports-related sudden death in France by specific sports and sex. *JAMA*, 2013, 310: 642-643.
- 10) Borum PR, Variation in tissue carnitine concentrations with age and sex in the rat. *Biochem J*, 1978, 176: 677-681.
- 11) Takiyama N and Matsumoto K, Age-and sex-related differences of serum carnitine in a Japanese population. *J Am Coll Nutr*, 1998, 17: 71-74.
- 12) Ostada B, et al, Gender differences in cardiac ischemic injury and protection --experimental aspects. *Exp Bio Med*, 2009, 234: 1011-1019.
- 13) Colom B, et al, Caloric restriction and gender modulate cardiac muscle mitochondrial H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production and oxidative damage. *Cardiovasc Res*, 2007, 74: 456-465.
- 14) 矢野博己, 他, L-カルニチンの脂肪酸に対する心筋ミトコンドリア保護作用. *川崎医療福祉学会誌*, 2013, 23: 27-36.

## アケビ由来発酵酵素液中に含まれる微生物の同定と機能性の検討

美作大学短期大学部栄養学科

桑守 正範

アケビ発酵液分析の結果、*Fructobacillus pseudoficulneus* (果実、花などからの分離例がある乳酸桿菌で2008年にEndoらにより同定)、*Leuconostoc pseudomesenteroides* (グルコースからガスを生成する乳酸球菌で植物、牛乳、乳製品から分離)、*Candida zemplinina* (ワインおよびワインの発酵過程からの分離例がある)が検出された。アケビ発酵液は二酸化炭素発生力が強いことがこれまでの経験から判明していたが、本細菌叢はこのことを裏付ける結果であった。

### 序論

アケビは自然界でも特に強力な酵母を有する。葉ら<sup>1-2)</sup>はアケビ果実は中身が露出しているにもかかわらず、実が腐ることがないのは酵母膜による保護がなされているから、と報告している。また、図1に示すように、アケビ発酵液を稲作初期に用いると、用いないものに比して根の張り方が良好になる、という知見も得ている。ただし、本酵母がどのようなものなのか、どのような生成物を生じているのかは未だ解明されていない。本研究ではアケビ発酵液に含まれる酵母をはじめとする微生物を同定し、生成物の種類を特定すると共に、稲作以外の用途、たとえば食用への転化などの可能性を検討した。



写真-1. イネにおけるアケビ発酵液の発根促進効果  
左がアケビ発酵液を使用した苗代(2014年5月撮影)

### 方法

#### 1. 試料

試料には2013年に津山市北部で採取したアケビを20%ショ糖液を用いて追発酵させたものを用いた。発酵に於いては発行状況を観察し、適宜ショ糖を加えた。発酵は常温下において蓋をした容器内で行い、二酸化炭素生成による容器の変形を防ぐため、容器内部の空気の逃げ口を確保した。容器内は半密閉状態に有り、発生する二酸化炭素の影響下においてはゆるやかな嫌気的条件下にあったものと考えられる。

#### 2. アケビ発酵液のマイクロフローラ(細菌叢)の分析

アケビ発酵液のマイクロフローラの分析は日本食品分析センター(大阪)に依頼した。依頼内容は検体1g当たりの生菌数、検体中の主な介在微生物を測定後、検出された乳酸菌・酵母に関してはDNA鑑定を行い、種の同定を行った。

##### 2-1. 介在微生物の検索

各種培地を用いて検体の生菌数を測定した後、培養平板上に優勢に生育した集落を釣菌して分離菌とし、各分離菌について携帯観察を行った。生菌数測定における培養条件は以下の通りである。

好気性細菌：アンホテリシンB加SCD寒天培地に於いて30℃、4日間、好気

高温性細菌：アンホテリシン B 加 SCD 寒天培地に於いて 55℃, 4 日間, 好気

耐熱性芽胞：アンホテリシン B 加 SCD 寒天培地に於いて 30℃, 4 日間, 好気

腸内細菌：DHL 寒天培地に於いて 35℃, 1 日間, 好気

グラム陰性菌：アンホテリシン B 加 CVT 寒天培地に於いて 30℃, 4 日間, 好気

グラム陽性菌：アンホテリシン B 加コロンビア CAN 寒天培地に於いて 30℃, 4 日間, 好気

乳酸菌：アンホテリシン B 加 MRS 寒天培地に於いて 30℃, 4 日間, 嫌気

嫌気性細菌：アンホテリシン B 加ゲンタマイシン加 GAM 寒天培地に於いて 35℃, 4 日間, 嫌気

中温性放線菌：アンホテリシン B 加アルブミン寒天培地に於いて 30℃, 1 4 日間, 好気

高温性放線菌：アンホテリシン B 加アルブミン寒天培地に於いて 55℃, 1 4 日間, 好気

カビ・酵母：クロラムフェニコール加 PD(10%) 寒天培地に於いて 25℃, 7 日間, 好気

好気性細菌、グラム陽性菌、乳酸菌、酵母であり、乳酸菌はこの中で最も生菌数が多かった。次に検体中の主な介在微生物数を表-2 に示す。1 g 当たりの概数は乳酸桿菌と乳酸球菌が共に  $2 \times 10^8$  で最も多く、 $4 \times 10^4$  の酵母がこれに続いた。

分離された乳酸球菌・乳酸桿菌・酵母の最近縁種

分離された乳酸球菌・乳酸桿菌・酵母の最近縁種および決定された塩基数を表-3 に、乳酸球菌および乳酸桿菌の性状試験結果を表-4 に、相同性検索の結果を表-5~7 に示した。また近隣結合法 (NJ 法) により作成した系統樹を図-1~3 に、顕微鏡下の分離乳酸桿菌、乳酸球菌、酵母の形態を写真-2-4 に示した。

表-1 検体 1 g 当たりの生菌数

寒天培地	培養条件	対象菌	検体 1 g 当たりの生菌数
アンホテリシンB加SCD	30℃, 4日間, 好気	好気性細菌	$3.8 \times 10^8$
アンホテリシンB加SCD	55℃, 4日間, 好気	高温性細菌	100以下
アンホテリシンB加SCD	30℃, 4日間, 好気	耐熱性芽胞*	$1 \times 10^2$
DHL	35℃, 1日間, 好気	腸内細菌	100以下
アンホテリシンB加CVT	30℃, 4日間, 好気	グラム陰性菌	$3.2 \times 10^3$
アンホテリシンB加コンピアCNA	30℃, 4日間, 好気	グラム陽性菌	$2.1 \times 10^8$
アンホテリシンB加MRS	30℃, 4日間, 嫌気	乳酸菌	$3.9 \times 10^8$
アンホテリシンB加ゲンタマイシン加GAM	35℃, 4日間, 嫌気	嫌気性細菌	100以下
アンホテリシンB加アミノ	30℃, 14日間, 好気	中温性放線菌	100以下
アンホテリシンB加アミノ	55℃, 14日間, 好気	高温性放線菌	100以下
クロラムフェニコール加PD(10%)	25℃, 7日間, 好気	カビ 酵母	100以下 $3.6 \times 10^4$

\* 80℃, 10分間の加熱処理を行った後、試験した。

## 2-2. 乳酸球菌・乳酸桿菌・酵母の塩基配列分析

検体から得られた乳酸桿菌および乳酸球菌について生理的性状試験を行った。また同菌については DNA を抽出し、PCR 法により 16SrRNA 領域の DNA を増幅した。公算については DNA を抽出し、PCR 法により Large subunit rRNA の D2 領域 DNA を増幅した。増幅した各 DNA について、ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (Life Technologies Corporation) を用いて塩基配列を解析した。得られた配列を国際塩基配列データベース (DDBJ/EMBL/GenBank) に登録されている配列、および MicroSeq ID Analysis Software (Life Technology Corporation) のデータベースと相同性検索を行い、近縁種との系統樹を近隣結合法 (NJ 法) により作成した。

## 結果および考察

アケビ発酵液のマイクロフローラ分析結果

アケビ発酵液のマイクロフローラの分析結果を表-1 に示す。検体 1 g 当たりの生菌数が多かったのは

表-2 検体中の主な介在微生物

分離菌群	1 g 当たりの概数
乳酸桿菌	$2 \times 10^8$
乳酸球菌	$2 \times 10^8$
酵母	$4 \times 10^4$
非発酵性グラム陰性桿菌	$3 \times 10^3$
好気性芽胞菌 中温性	$1 \times 10^2$

表-3 分離菌の最近縁種及び決定された塩基数

分離菌	分類	最近縁種	決定された塩基数 (bp)
a	乳酸桿菌	<i>Fructobacillus pseudoficulus</i>	480
b	乳酸球菌	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	473
c	酵母	<i>Candida zemplinina</i>	190

表-4 分離菌a及びbの性状

試験項目	試験結果	
	a	b
形態	桿菌*1	連鎖球菌*2
グラム染色性	+	+
孢子	-	-
運動性	-	-
酸素に対する態度	通性嫌気性	通性嫌気性
カタラーゼ	-	-
集落の色調	NP*3	NP

\*1 写真-1

\*2 写真-2

\*3 NP：特徴的集落色素を生成せず

表-5 分離菌aの同源性検索結果

菌種	% Match
<i>Fructobacillus pseudoficulneus</i> <AY169967>	100.00
<i>Fructobacillus tropaeoli</i> <AB542054>	99.36
<i>Fructobacillus ficulneus</i> <AF360736>	95.68
<i>Leuconostoc palmae</i> <AM940225>	90.24
<i>Leuconostoc mesenteroides dextranicum</i> (ATCC=19255)	90.13
<i>Leuconostoc mesenteroides mesenteroides</i> (ATCC=8293)	90.13
<i>Leuconostoc holzapfelii</i> (DSM=21478)	90.09
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> (ATCC=12291)	89.94
<i>Leuconostoc mesenteroides cremoris</i> (ATCC=19254)	89.92
<i>Leuconostoc gasicomitatum</i> (DSM=15947)	89.90
<i>Leuconostoc gelidum</i> (ATCC=49366)	89.89
<i>Leuconostoc kimchii</i> <AF173986>	89.84
<i>Leuconostoc carnosum</i> (ATCC=49367)	89.47
<i>Leuconostoc citreum</i> (ATCC=49370)	89.45
<i>Leuconostoc inhae</i> (DSM=15101)	89.28
<i>Leuconostoc lactis</i> (DSM=8581)	89.05
<i>Fructobacillus fructosus</i> (ATCC=13162)	88.88
<i>Fructobacillus durionis</i> <AJ780981>	88.71
<i>Leuconostoc fallax</i> (DSM=10614)	85.17
<i>Weissella ghanensis</i> <AM882997>	80.41

<>内はGenBank accession numberを示した。

表-6 分離菌bの同源性検索結果

菌種	% Match
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> (ATCC=12291)	100.00
<i>Leuconostoc mesenteroides dextranicum</i> (ATCC=19255)	99.39
<i>Leuconostoc mesenteroides mesenteroides</i> (ATCC=8293)	99.39
<i>Leuconostoc mesenteroides cremoris</i> (ATCC=19254)	99.18
<i>Leuconostoc gelidum</i> (ATCC=49366)	97.32
<i>Leuconostoc gasicomitatum</i> (DSM=15947)	97.09
<i>Leuconostoc holzapfelii</i> (DSM=21478)	96.97
<i>Leuconostoc lactis</i> (DSM=8581)	96.74
<i>Leuconostoc kimchii</i> <AF173986>	96.49
<i>Leuconostoc citreum</i> (ATCC=49370)	96.49
<i>Leuconostoc carnosum</i> (ATCC=49367)	96.48
<i>Leuconostoc inhae</i> (DSM=15101)	96.47
<i>Leuconostoc palmae</i> <AM940225>	95.38
<i>Fructobacillus ficulneus</i> <AF360736>	91.01
<i>Fructobacillus tropaeoli</i> <AB542054>	90.45
<i>Fructobacillus pseudoficulneus</i> <AY169967>	89.81
<i>Fructobacillus fructosus</i> (ATCC=13162)	87.99
<i>Fructobacillus durionis</i> <AJ780981>	87.35
<i>Leuconostoc fallax</i> (DSM=10614)	86.54
<i>Listeria grayi</i> (ATCC=19120)	81.66

<>内はGenBank accession numberを示した。

表-7 分離菌cの同源性検索結果

菌種	% Match
<i>Candida zemplinina</i> <AY160761>	100.00
<i>Candida davenportii</i> <AJ310447>	95.44
<i>Starmerella meliponinorum</i> <AF313354>	95.12
<i>Candida stellata</i> (ATCC=10673)	94.19
<i>Candida bombi</i> (ATCC=18811)	92.26
<i>Candida riocensis</i> <AY861674>	91.10
<i>Candida apicola</i> (ATCC=24617)	90.81
<i>Starmerella bombicola</i> (ATCC=22214)	89.61
<i>Candida etchellsii</i> (ATCC=60119)	88.77
<i>Metschnikowia bicuspidata</i> var. <i>bicuspidata</i> (ATCC=22297)	64.28
<i>Candida intermedia</i> (ATCC=14439)	62.31
<i>Candida pseudointermedia</i> (ATCC=60126)	61.97
<i>Kluyveromyces wickerhamii</i> (ATCC=24178)	56.17
<i>Ogataea minuta</i> (ATCC=16760)	55.73
<i>Ogataea deakii</i> <GQ265921>	53.94
<i>Ogataea angusta</i> (ATCC=14755)	51.90
<i>Ogataea pignaliae</i> (ATCC=36592)	51.42
<i>Candida llanquihuensis</i> (ATCC=58894)	50.18
<i>Ogataea pini</i> (ATCC=76276)	49.11
<i>Pichia philodendri</i> (DSM=70276)	48.54

<>内はGenBank accession numberを示した。

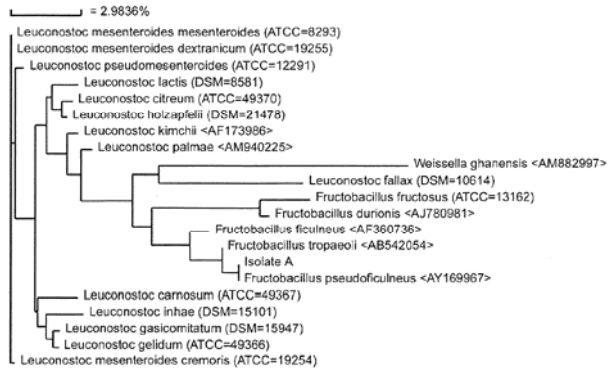


図-1 分離菌aとその近縁種の系統樹

Isolate A: 分離菌a

< >内はGenBank accession numberを示した。

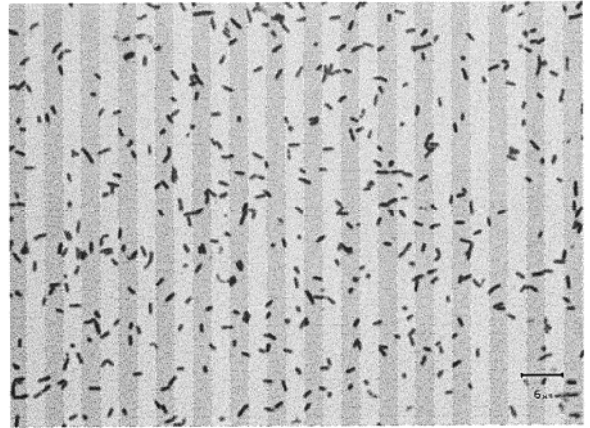


写真-2 分離乳酸桿菌の形態の一例

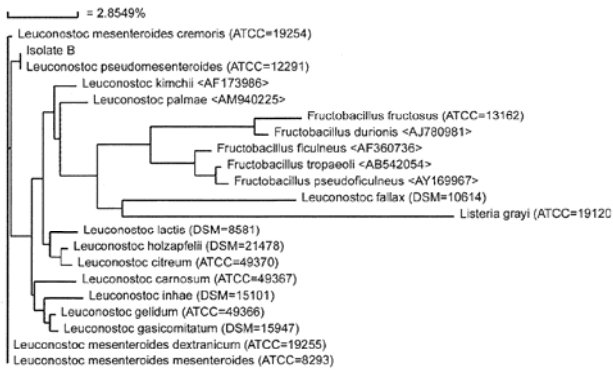


図-2 分離菌bとその近縁種の系統樹

Isolate B: 分離菌b

< >内はGenBank accession numberを示した。

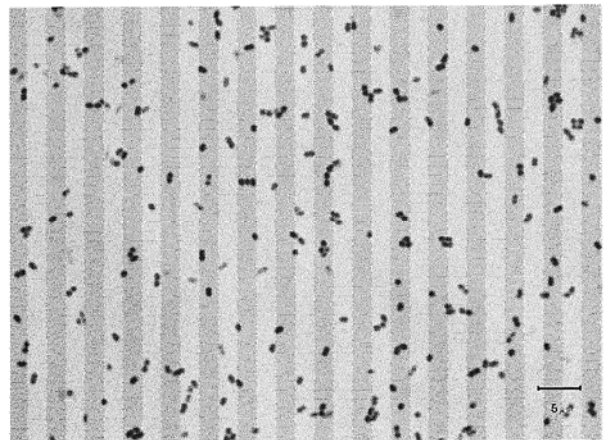


写真-3 分離乳酸球菌の形態の一例

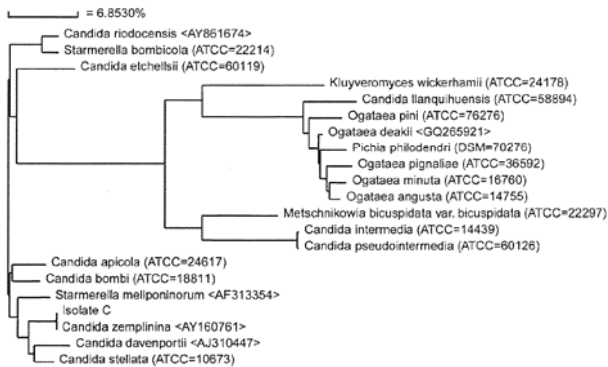


図-3 分離酵母とその近縁種の系統樹

Isolate C: 分離菌c

< >内はGenBank accession numberを示した。

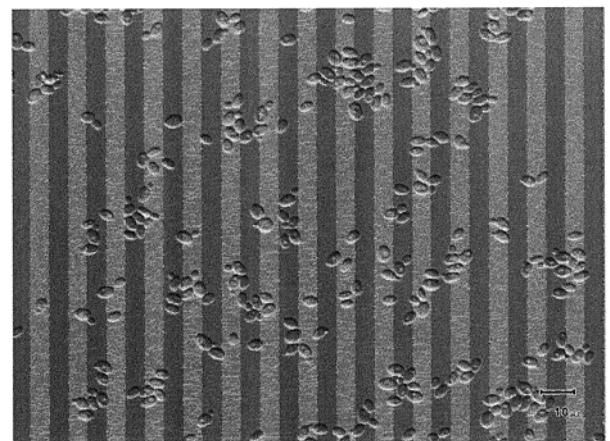


写真-4 分離酵母の形態の一例

YM 液体培地, 25°C, 1 日間培養

Fructobacillus とは果物、花などからの分離例がある乳酸桿菌で、2008 年に Endo らによって Leuconostoc から移行した属である。F. pseudoficulneus も 2008 年に Endo らによって

Leuconostoc から移行した属であり、果物からの分離例がある。

Leuconosto はグルコースからガスを生成する乳酸球菌で、植物、牛乳、乳製品から分離される。また、Leuconosto の中には粘性物質を生成し、畜肉加工品や魚肉加工品においてネトを発生させる菌種や、豆腐の黄変の原因となる菌種も知られている。アケビ発酵液自体にも同様のネトは頻出するため、同菌が作用している可能性は高い。

一方 *L. pseudomesenteroides* は食品、臨床材料からの分離例がある。

*Candida* は子嚢菌酵母で有性生殖は見られない種である。栄養細胞は主として球形、楕円形、円筒形、伸長形となり、多極出芽で増殖し、射出胞子を形成しない。自然界に広く分布し、土壌、大気、水などの一般環境や植物、食品の他ヒトを含む動物からも分離例が知られている。一方、*C. zemplinina* はワインの発酵過程からの分離例がある。

アケビ発酵液分析の結果、*Fructobacillus pseudoficulneus* (果実、花などからの分離例がある乳酸桿菌で 2008 年に Endo ら<sup>3)</sup> により同定)、*Leuconostoc pseudomesenteroides* (グルコースからガスを生成する乳酸球菌で植物、牛乳、乳製品から分離)、*Candida zemplinina* (ワインおよびワインの発酵過程からの分離例がある) が検出された。アケビ発酵液は二酸化炭素発生力が強いことがこれまでの経験から判明していたが、本細菌叢はこのことを裏付ける結果であった。

アケビ発酵液は固有の乳酸菌を中心とした細菌叢を持つユニークな素材であることが今回の研究で明らかとなった。農業資材として用いた場合に観察される強い抗菌力は固有の乳酸菌や酵母による可能性も見いだせた。食用への応用としてはその旺盛な二酸化炭素発生力を利用し、製パン資材としての応用も可能性が高い。今後も継続して細菌叢を明らかにし、アケビ発酵液を多分野に応用可能な新素材として提案していきたい。

## 謝辞

研究を進めるに当たり、多額の資金を助成してい

ただいた公益財団法人ウエスコ学術振興財団に謝意を表します。

## 参考文献

1. アケビ果実の成長に伴う果肉組織の形態的变化  
Anatomical and Histological Changes of the Pulp Tissue in Developing Akebi (*Akebia pentaphylla*) Fruit, 葉麗紅, 宋陽, 中尾 義則, 新居 直祐,  
名城大学農学部学術報告 = Scientific reports of the Faculty of Agriculture, Meijo University (48), 1-5, 2012-03
2. 山形県におけるアケビの最新動向 (特集 特産果樹をめぐる最近の動き), 金田 紀子, 果実日本 68(12), 47-50, 2013-12
3. Endo, A. and Okada, S.: Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 58, 2195-2205 (2008)

## 糖尿病性腎症モデルマウスを用いた Sfrp1 の病態的意義の解明

重井医学研究所 分子遺伝部門

松山 誠

### 要約

Sfrp 分子は直接 Wnt に結合し、Wnt シグナルを阻害する分泌性因子と考えられている。本研究では Sfrp サブファミリーの中でも腎臓に強い発現が見られる Sfrp1 に注目して、マウス成獣の腎臓における役割を明らかにすることにした。片側尿管結紮 (UUO) を施したマウスを用いて、腎臓における Sfrp1 タンパクの量を検討したところ、腎不全を起こさせない腎臓に比べ、腎不全を起こさせた腎臓では、有意に Sfrp1 タンパクの発現量の増加が認められた。次に、UUO により腎不全を起こさせた時、野生型と比べ Sfrp1 が欠損したマウスでは腎不全の特徴である上皮の線維化が重篤化していた。また、UUO を施した Sfrp1 ノックアウトマウスでは、線維化のマーカである SMA や間質のマーカである Vimentin の発現量が増加し、上皮のマーカである E-cadherin の発現量が減少していた。以上の結果から、腎不全時において Sfrp1 が腎臓の修復において必要な役割をしていることが示唆された。現在、Sfrp1 が腎臓病に対する治療薬の新規標的候補になることを想定し研究を進めているところである。

### はじめに

日本の腎不全による透析患者は、約 30 万人とも言われている。透析患者の増加は、莫大な医療費を国が負担することになり、社会的な問題となっている。腎不全の発症の機序を理解し、早期の治療につながる事が期待されている。

腎不全は腎臓の線維化というプロセスをとり、線維化と腎予後が深く関連する。そのことから、腎線維化が腎不全の治療に対する標的として考えられている。これまで、腎線維化は上皮間葉転換 (EMT) によって起きることが示唆されており、EMT に関する遺伝子として、Wnt や Tgf/ $\beta$  などの増殖因子の関与が明らかになっている<sup>1,2)</sup>。

細胞間のシグナル分子の調節は、形態形成・細胞分化・細胞の機能維持などの制御に不可欠である。Wnt はさまざまなシグナル伝達経路を作動させる。しかし、このシグナルが異常をきたすと、発生異常やがんを引き起こす<sup>3)</sup>。一方、Sfrp 分子は直接 Wnt に結合し、Wnt シグナルを阻害する分泌性因子と考えられている<sup>4)</sup>。Sfrp 分子種の中でも、Sfrp1, Sfrp2, Sfrp5 はアミノ酸配列の上で相同性が高く、サブ・

グループ (Sfrp1 サブ・ファミリー) を構成している<sup>5)</sup>。Sfrp1 は、腎臓に強い発現が見られるが、腎臓における Sfrp1 の機能はほとんどわかっていない<sup>6)</sup>。そこで本研究では、Sfrp 関連遺伝子 Sfrp1 の腎臓における役割を明らかにすることを目的とした。

### 材料と方法

#### 1. 実験動物

C57BL/6 マウスと Sfrp1 欠損マウスを用いた。

片側尿管結紮 (UUO ; 図 1A) はマウスの左側の尿管を外科的に結紮後、切断した。その後、7 日目に右側 (Sham) と左側 (UUO) の腎臓を摘出して、以下の解析を行った。

#### 2. モノクローナル抗体の作製

マウス Sfrp1 リコンビナントタンパクは、pET-28a ベクターと BL21 (codonRP) 株大腸菌を用いて作製した。Sfrp1 マウスモノクローナル抗体は、文献にしたがって作製した<sup>7)</sup>。

#### 3. マウス腎臓の免疫染色



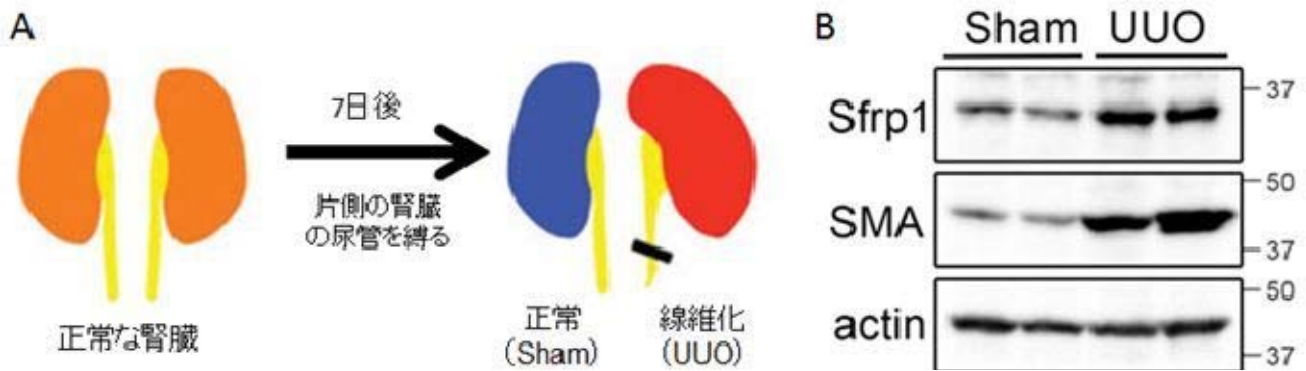


図1 腎不全時 Sfrp1 遺伝子が増加する

(A) 片側尿管結紮 (UUO) を用いた腎不全の模式図 (B) 腎不全時における Sfrp1 タンパクの挙動

採取した腎臓は、4%パラホルムアルデヒド溶液を用い1晩4°Cで固定した。固定後、パラフィンブロックを作製し、3μmの厚さで切片を作製した。作製した切片は、過酸化水素水処理 (0.3% $H_2O_2$ /MeOH; 室温 30分)・クエン酸処理 (1mMクエン酸 (pH=6.0); マイクロウェーブ 15分)・ブロッキング (5%血清/TBST; 室温 30分) を行った後、1次抗体 (SMA, Vimentin, E-cadherin) を1晩4°Cで反応させた。洗浄後、二次抗体を室温1時間で反応させたのち、DABを用いて発色反応を行った。

### 結果

#### 1. Sfrp1 モノクローナル抗体を用いた腎臓における Sfrp1 タンパクの解析

はじめに、Sfrp1 リコンビナントタンパクを用いて、Sfrp1 モノクローナル抗体を作製した。今回作製した Sfrp1 モノクローナル抗体は、他の Sfrp タンパクには反応しない抗体であった。片側尿管結紮

(UUO) を施したマウスを用いて、腎臓における Sfrp1 タンパクの量を検討したところ、腎不全を起こさせない腎臓に比べ、腎不全を起こさせた腎臓では、有意に Sfrp1 タンパクの発現量の増加が認められた (図1B)。以上の結果から、Sfrp1 が腎線維化時に何らかの役割を果たしていることが示唆された。

#### 2. Sfrp1 ノックアウトマウスを用いた腎不全における Sfrp1 の機能解析

正常時における野生型と Sfrp1 ノックアウトマウスの腎臓を比較したところ、ほとんど違いが見られなかった。次に、腎不全における Sfrp1 の役割を解析するために、Sfrp1 ノックアウトマウスを用いて片側尿管結紮 (UUO) を行った。UUOによって腎不全を起こさせた時、野生型と比べ Sfrp1 が欠損したマウスでは、腎不全の特徴である上皮の線維化が重篤化していることが明らかになった (図2)。これらの結果から、Sfrp1 は腎線維化の修復を制御している事が強く示唆された。

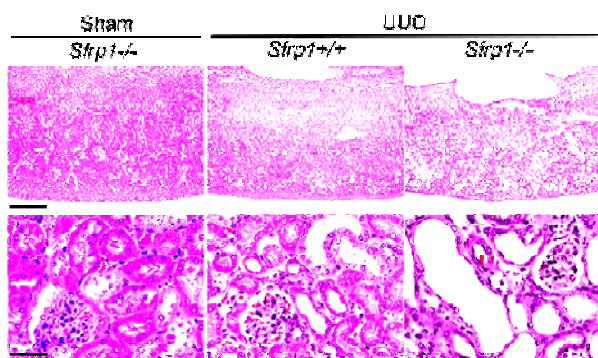


図2 Sfrp1 の欠損したマウスは腎不全の症状が重くなる。Sfrp1 ノックアウトマウスの正常な腎臓 (左: Sham-Sfrp1<sup>-/-</sup>) と腎不全時の野生型 (中央: UUO-Sfrp1<sup>+/+</sup>) と Sfrp1 ノックアウトマウス (右: UUO-Sfrp1<sup>-/-</sup>) の腎臓  
スケールバー: 500μm (上), 50μm (下)

#### 3. Sfrp1 は EMT を介した腎線維化に関与する

腎不全時において Sfrp1 の欠損が線維化を悪化させることから、腎不全時における Sfrp1 ノックアウトマウスの線維化の状況を、上皮間葉転換 (EMT) の遺伝子マーカーを用いて検討した。その結果、線維化のマーカーである SMA や間質細胞のマーカーである Vimentin が、野生型と比べ Sfrp1 が欠損したマウスの腎臓では増加していることが分かった。逆に、上皮のマーカーである E-cadherin は減少していた。

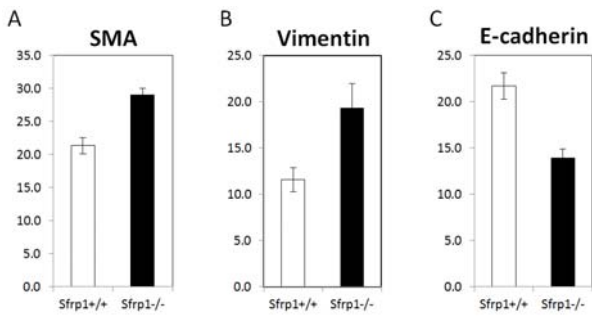


図3 Sfrp1 は EMT を介した腎線維化に関与する (A-C) 腎不全時における野生型 (Sfrp1<sup>+/+</sup>) と Sfrp1 ノックアウトマウス (Sfrp1<sup>-/-</sup>) におけるタンパク量の比較 (A) SMA, (B) Vimentin, (C) E-cadherin で腎臓の切片を免疫染色後、陽性の領域をパーセンテージで表した。有意差: P<0.05

以上の結果から、腎不全時における Sfrp1 の欠損により、EMT が亢進していることが示唆された。

### 考察

Sfrp 関連遺伝子は、以前からシグナルの抑制因子という観点から重要性が認識されていた。たとえば過去の筆者らの研究による Sfrp 遺伝子変異マウスの解析から、初期発生<sup>8,9)</sup>、腸管形成<sup>10,11)</sup>などに重要であることが示されている。しかし、Sfrp 分子は分泌性の因子であり技術的な困難を伴うことから、病態との関連に関する研究が遅れていた。しかし近年、Sfrp5 が肥満に伴う代謝異常の病態解明に関する新たな標的分子になりうることを示された<sup>12)</sup>。また、腎臓癌をはじめとする主要ながんにおいて、Sfrp1 の関連性が指摘され、新しいがん標的薬として脚光を浴びている<sup>13)</sup>。今回の研究も含め、今後も Sfrp 遺伝子と病態との関連の解明がより一層進んでいくことが期待される。

今回の研究から、Sfrp1 遺伝子が急性腎不全時において重要な役割を果たしていることが強く示唆された。今後、本研究のような腎臓病の研究が発展すれば、透析を必要とする患者が減少、もしくは透析回数を減らすことができる可能性があり、医療に貢献できると思われる。最終的には、Sfrp1 が腎臓病に対する治療薬の新規標的候補になることを想定し研究を進めているところである。

### 文献

1. Boor P, Ostendorf T, Floege J: Nat Rev Nephrol, 6: 643-656 (2010)
2. Kawakami T, Ren S, Duffield JS: J Pathol, 229: 221-231 (2013)
3. Clevers H: Cell, 127: 469-480 (2006)
4. Kawano Y, Kypta R: J Cell Sci, 116: 2627-2634 (2003)
5. Cruciat CM, Niehrs C: Cold Spring Harb Perspect Biol, 5: a015081 (2013)
6. Trevant B, Gaur T, Hussain S, Symons J, Komm BS, Bodine PV, Stein GS, Lian JB: J Cell Physiol, 217: 113-126 (2008)
7. Sado Y, Inoue S, Tomono Y, Omori H: Acta Histochem Cytochem, 39: 89-94 (2006)
8. Satoh W, Gotoh T, Tsunematsu Y, Aizawa S, Shimono A: Development, 133: 989-999 (2006)
9. Satoh W, Matsuyama M, Takemura H, Aizawa S, Shimono A: Genesis, 46: 92-103 (2008)
10. Matsuyama M, Aizawa S, Shimono A: PLoS Genet, 5: e1000427 (2009)
11. Matsuyama M, Shimono A: Methods Mol Biol, 839: 229-237 (2012)
12. Ouchi N, Higuchi A, Ohashi K, Oshima Y, Gokce N, Shibata R, Akasaki Y, Shimono A, Walsh K: Science, 329: 454-457 (2010)
13. Cooper SJ, von Roemeling CA, Kang KH, Marlow LA, Grebe SK, Menefee ME, Tun HW, Colon-Otero G, Perez EA, Copland JA: R Mol Cancer Ther, 11: 2105-2115 (2012)

### 3Dレーザー測量を利用した斜面崩壊危険箇所抽出法の開発

岡山大学大学院

鈴木茂之・西垣 誠

(概要) 航空レーザー測量によって1mあるいはそれ以上の大きさのものや地形を感知することが出来る。本研究では、航空レーザー測量図の判読と現地調査を合わせて行うことによって①画像イメージと地形や構造物との対比、②斜面崩壊や落石の発生源になりうる箇所の画像イメージの確認、③防災のための航空レーザー測量図の活用法の検討に取り組んだ。その結果測量地域内の危険箇所の抽出を効率的に行うことができた。調査地域内で抽出できたのは落石危険箇所と土石流を引きおこす可能性がある斜面崩壊危険箇所である。

#### 1. 調査地域及び地形



図1：調査位置図 玉柏地域

調査地域は岡山市北区玉柏の斜面である(図1)。周辺の山地の頂部はややなだらかで、吉備高原の一部をなす。旭川がこの高原地形を浸食しV字型の谷を形成している。調査地域あたりから谷底平野が広がり、岡山平野になる。旭川は曲流し側方侵食するため、地域内の斜面は30度を超える急傾斜部が多い。

#### 2. 調査地域内の地質

古生代末期の地層と推測されている超丹波帯に属す江尻層と白亜紀後期の花崗岩および石英斑岩からなる。江尻層は泥岩と砂岩からなる。砂岩は細粒で

厚い部分があるが、一般に薄く成層する。級化層理をなすものはタービダイトとみなされる。薄く微粒で淘汰が良い層はコンターライトと考えられる。泥岩は沈積による平行葉理が特徴的に発達する。これらは深海に堆積したものと考えられる。厚い砂岩は海底谷付近に堆積したものであろう。これらの岩石は花崗岩の貫入による熱でホルンフェルス化しており堅硬である。花崗岩は江尻層に貫入している。塊状をなし堅硬であるが、地表部付近で風化し、風化し残った部分が玉石状をなす。石英斑岩は幅数m程度の薄い岩脈をなして局部的に分布する。

#### 3. 人工物の識別

植生におおわれているためまったく見えないが、傾斜量図にはその存在が現れていた。以下にいくつかの例をあげる。

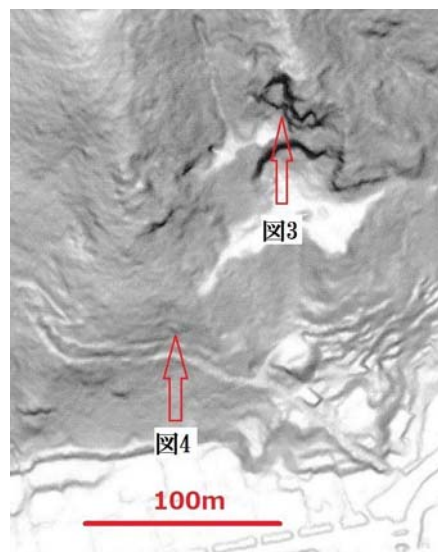


図2：採石場跡(図3)および落石対策箇所(図4)

採石場跡は傾斜図に砕石による法面と平場が明瞭に現れている。



図3：採石場跡、落石の危険がある

落石対策が施された露岩も図2中に現れている。



図4：ネットで対策された不安定岩塊

また図5に現れているように古墳も識別できる。古墳の石棺が露出しているものがあるが(図6)、図5には点として現れている。灯籠の基礎として造成した高さ1m弱の段(図7)も識別できる。図8の石垣群は図5には線として現れている。かつてここに段々畑が存在していたと考えられる。

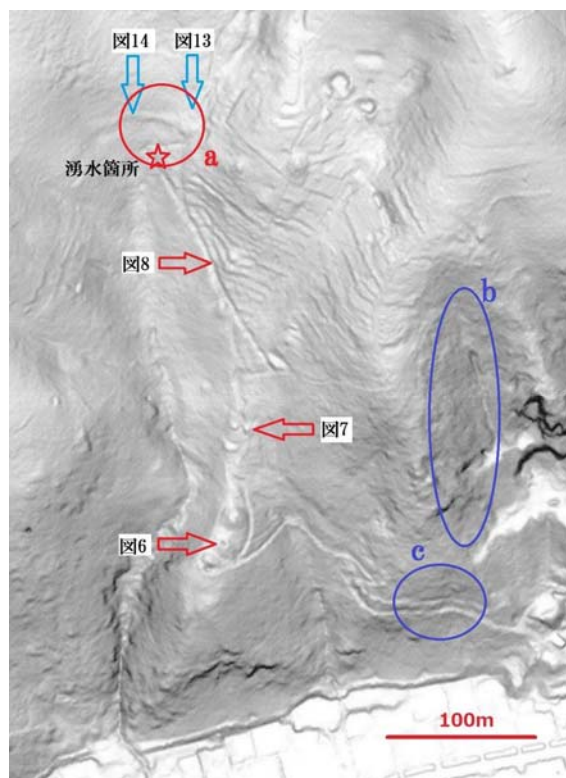


図5：調査地域西部の傾斜量図



図6：露出している古墳の石棺



図7：灯籠基礎の人口的な段



図8：石垣群、段々畑があったと推測される

#### 4. 露岩や岩塊の識別

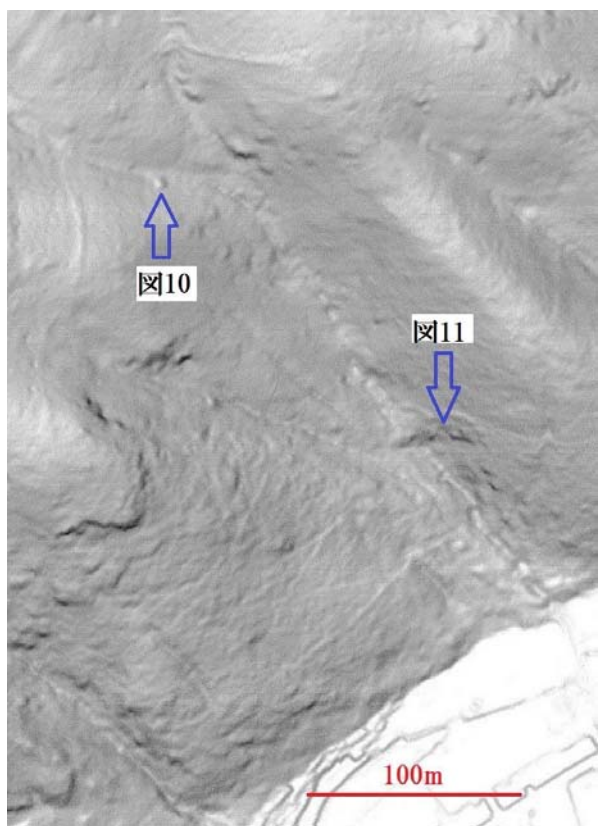


図9：露岩や岩塊が傾斜量図に現れている様子

#### 4：露岩や岩塊の識別

沢の上流部に直径3m程度の孤立した岩塊が存在していたが(図10)、傾斜量図(図9)にはよく現れている。図11のように比高が2~3m程度の露岩があり、現地でも植生や落ち葉に覆われて目視しにくい状態であったが、図9では影として現れ「崖」と識別できる。この形状から類推して、図9の左側に見られる影も露岩群であると考えられる。図の表面がなめらかな部分は落ち葉や表土に覆われている

部分であることも類推できる。



図10：孤立した岩塊



図11：斜面の露岩

#### 5. 危険個所の抽出

これまでに示したように人口構造物や露岩・岩塊などの自然状況が判別できるため、崩壊などの災害をもたらす異常な地形があるかどうか検討した。まず図5中の図14で示した「円弧状の段」が初生的な滑落崖ではないかと考え現地で確認した。



図13：傾いて変状があることを示す狛犬



図14：円弧状の段は石垣だったとみなされる。崩れていることから移動していると考えられる。

現地調査した結果、図5中の図13のように狛犬が傾き変状が認められる。また図14のように、円弧状の崖は石垣であったが、崩れているため移動していると考えられる。また図5中星印の位置で湧水しているのを見出した。これらのことから大雨があれば図5中のまるで囲んだ(a)の範囲で崩壊が起こり、土石流の発生源になる危険性がある。急傾斜地を踏査したところ図5中のまるで囲んだ(b)(c)の範囲で落石が発生しており、木の枝にかかっている石もある。これらの場所の画像イメージは「露岩」のイメージと共にガサガサしている。これは新しく落下した石が落ち葉などにおおわれた地表面上に多数存在するためではないかと解釈される。一方図9の沢では急傾斜で露岩があるにも関わらず地表に落石は認められなかった。この落石が認められなかった部分の画像イメージはなめらかである。急傾斜地域においてこのようなイメージの違いから、落石危険個所を推測することが出来る。

#### 6：航空レーザー測量図の活用による危険個所の抽出方法の提案

以下のように航空レーザー測量図と現地踏査を組み合わせて調査することによって、ある地域の危険個所のかんりの部分を効率的に抽出することが可能であると考えられる。

①航空レーザー測量図を判読し、特徴的な画像イメージを抽出する。また災害に結びつきそうな要素に着目する。

本研究では「円弧状の段」と急傾斜地での「崖」を判読した。

②着目したイメージが実際何であるか、現地で確認する。

本研究では採石場跡、古墳、石垣など人口物が多く検出出来、自然地形では露岩、岩塊が確認出来た。

③災害と関わると推測した画像イメージ周辺を精査する。

本研究では「円弧状の段」と「露岩」のイメージに着目した。円弧状の段は石垣であったが、変状があり、人工物も傾いていることから、現在動いていることが判明した。また湧水箇所があることから、豪雨があった場合、斜面崩壊をおこし土石流が発生する危険個所であると判定できる。露岩のイメージのある急斜面を踏査した結果、ザラザラした画像イメージで落石が多く発生している場所と、スムーズなイメージで落石が認められない場所に区分できた。ザラザラしたイメージの領域は落石危険個所と見なすことが出来ると考えられる。

本報告を書く段階では、半日の野外調査を3回行ったのみである。以上のように航空レーザー測量図を利用すると、短期間で、ある地域の危険個所を抽出出来ることが示されたと言える。今後はさらに成果品としてどのようなハザードマップにすべきか検討したい。

## オープンソースライセンスおよびユーザコミュニティに注目した 3D データ活用に関する調査研究

岡山理科大学総合情報学部情報科学科

山根 信二

2013 年度から 2014 年度にかけての 3D データ活用の注目すべき動向として、ゲーム分野で起こったユーザー主導のイノベーションについて報告する。本報告ではまず、現在起こっているユーザー主導のイノベーションを「イノベーションの民主化」から説明する。次に、注目すべき各事例について紹介する。各事例ではホビイストやアマチュアからゼネコンにまたがる開発者コミュニティが大きな役割を果たしており、また VR, MR, 建設、ゲーム開発などいくつもの分野を横断したコラボレーションが行われている。そして最後に今後の展望を述べる。

### 1 背景: イノベーションの民主化 2008-2014

はじめに、本研究報告の背景となるイノベーションの考え方について説明する。

#### 1.1 ユーザー主導のイノベーション

ユーザー主導のイノベーションが世に知られるようになったのは、インターネットを支えるソフトウェアの存在によるところが大きい。ソフトウェア領域ではソースコードを公開して開発者コミュニティを形成する「フリーソフトウェア(自由ソフトウェア) 運動」「オープンソース開発」が行われてきた。そしてこの活動がソフトウェアを開発するプログラマだけでなく、様々な分野で起こっていることを示したのがフォン・ヒッペルが提唱する「イノベーションの民主化」である。

フォン・ヒッペルは 2005 年に出版された著書の中で「イノベーションの民主化」(Democratizing Innovation) について以下のように説明している。

「イノベーションの民主化」とは何か。筆者はそれを製品やサービスの作り手であるメーカー(製造業者)ではなく、受け手であるユーザー自身の、イノベーションを起こす能力と環境が向上している状態と定義する。ここでのユーザーとは、個人か企業かを問わない。ユーザー中心のイノベーション・プロセスは、何百年も経済活動の中心だったメーカー主体のイノベーション・システムに対

して、大きな優位性を持っている。イノベーションを起こせるユーザーは、メーカーに「代理人」(しかも、それは不完全な代理人であることが多い)として行動してもらわなくても、自分の望むものを正確につくることができ、しかも、個々のユーザーはすべてを独力で開発する必要がなく、他人が開発したものをお互いに共有し合い、自由に使うことができる。イノベーションの民主化へと向かう傾向は、ソフトウェアのような情報製品(無形製品)の場合ばかりではなく、有形製品(コンピュータ・ハードウェアのような物理的実態を伴った製品)の場合にもあてはまる。<sup>[11, 邦訳 p. 14]</sup>

そして自らも同書をオンライン公開して、イノベーション研究の古典としての位置づけを確立した。特に同書の第 11 章にはアプリケーション分野の事例としてゲーム開発ツールについてとりあげられており、欧米のデジタルゲーム産業が新たなイノベーションを起こしつつあることを示している。

#### 1.2 ゲーム分野でのイノベーションの民主化

ただし、ゲーム業界そのものがイノベーションの民主化に自覚的だったわけではない。1990 年代からパーソナルコンピュータ用ゲームでは 3D の FPS を開発していた id software 社はソースコード配布を行っていたが<sup>[12][8]</sup>、これはすでに収益を回収したあとのゲームであり開発中のタイトルの品質に影響す

るものではなかった。

自覚的に「イノベーションの民主化」を企業戦略のキーワードとして使いはじめたのは、2008年のMicrosoftのゲーム部門によるXBox Liveが最初である。弱小勢力ではなく、ゲーム機のプラットフォームの一角が新戦略としてイノベーションの民主化を提唱したのは画期的だった。このMicrosoftのビジョンが示された2008年のGDC(Game Developer Conference)の基調講演(図1, 2)は、国内でも衝撃的に受け入れられている<sup>[3]</sup>。



図1 ゲーム開発・配信の民主化(GDC08)[3]



図2 Games for the people, by the people (人民による人民のためのゲーム)[3]

ただし、この時点でMicrosoftが想定する流通は限られていた。Microsoftが提供する的是自社ゲーム開発ツールの配布やユーザーが開発したゲームの流通であり、3Dデータやサウンドを含む素材(アセット)については語られていなかった。これは2008年当時はやむを得ないことだったが、今日の視点ではゲーム開発の民主化は素材(アセット)開発者についても考える必要があるだろう。

### 1.3 3Dデータ活用のイノベーション研究

イノベーションの民主化を起こせるのは、ユーザーフレンドリーなツールキットを提供して、品質の高い素材を共有することができる企業である。そして何よりも、ツールキットで開発し提供する開発者(ユーザー)コミュニティの形成が不可欠となる。

これらの条件が3Dデータ活用の領域で揃い、イノベーションの民主化の波が2013-2014年に起こったというのが本研究の立脚点である。以下ではその事例について明らかにする。

## 2 活用事例

### 2.1 事例研究の枠組

イノベーションの民主化を起こす条件として、本研究では以下の4点に注目する。

1. オープンな利用許諾規程：  
素材を活用するオープンソースライセンスの整備
2. ツールの活用：  
ユーザーフレンドリーなツールキットの提供
3. 高品質データの活用：  
品質の高い素材の提供と共有
4. コミュニティの形成：  
ツールキットで開発し成長するユーザーコミュニティの形成

### 2.2 2次創作コミュニティのためのライセンス：2008-

日本ではある作品をもとにしてファンによる作品が生まれる「2次創作」と投稿文化が広く行われてきた。その中でもインターネット上で発達した代表的な事例が2007年に発売された歌声制作ソフト(VOCALOIDソフトウェア)を使った楽曲データや画像データを発表する「ボカロP」<sup>1</sup>のコミュニティである。

基本的に、著作物である画像データをベースとして別の画像をつくることは著作権者の許諾が必要で

<sup>1</sup> VOCALOIDコミュニティでは、それ以前から動画投稿コミュニティを形成していたゲーム『アイドルマスター』の表記にならって、呼び名に「プロデューサー」の略である「P」をつける。



ある。ソフトウェア産業ではフリーソフトウェアのための一般共有ライセンス(ソフトウェア利用許諾)<sup>[1]</sup>が機能してきたが、ソフトウェア本体ではなく初音ミクをはじめとするキャラクターのパッケージ画像にまで利用許諾が多数寄せられることは販売元には予想外の事態だった<sup>[4]</sup>。このため発売元はキャラクター画像の二次利用を認めるピアプロ・キャラクター・ライセンス(PCL)と共有サービスとを発表する。このPCLライセンスはクリエイティブ・コモンズ・ライセンス(フリーソフトウェア運動のライセンスをベースにいくつかの利用規程を選べるようにしたもの)を参考にしており、のちに海外からの利用許諾にも対応するかたちで国際的なライセンスとしてクリエイティブ・コモンズ・ライセンスを採用することになる<sup>2</sup>。

このVOCALOIDの事例より、ユーザー主導のイノベーションにはライセンスの採用が重要であるとの認識が定着し、国の産業振興にも反映されるようになる。たとえば経済産業省は「平成25年度我が国経済社会の情報化・サービス化に係る基盤整備(CG・VFX産業クラウド活用・高連携実証事業)」の成果として、クラウドを利用した3DCGデータ利活用実験「Ark Project」の成果を公開した。これは、二次利用、及び改変可能な3Dモデルデータをクリエイティブ・コモンズ・ライセンスに基づき公開・共有する事業である<sup>3</sup>。

また、独自ライセンスの模索も行われている。2014年には、TVアニメ『シドニアの騎士』の公式3Dモデルを独自ライセンスで販売する試みも行われた<sup>4</sup>。これは日本アニメ初の試みであり、一定期間を過ぎたら値段を9割引以下に下げるなど試行錯誤を行っている。

国内ではこうした著作権者によるライセンス(利用許諾)を通じたユーザーへの取り組みが先行したが、それ以外のツール、高品質データ、コミュニティの取り組みがさらに続くことになる。

### 2.3 イノベーション事例: VR+3D データ活用

フォン・ヒッペルが指摘したように、ユーザー主導のイノベーションでは個々のユーザーはすべてを独力で開発するのではなく、他人が開発したものを自由に使うことが強みとなる。こうしたメーカーが予想もしなかったユーザー主導のイノベーションが起こっているのがインディーゲームや同人ゲームと呼ばれる、近年の自主制作のゲーム領域である。本節ではオープンな地図データと利用ツール、そしてVR(ヴァーチャルリアリティ)を用いた事例を紹介する。

現実空間にCGマップを重ねて表示する、またはその反対にCGマップを拡大すると現実空間が表示される「現実データと仮想データの重畳」はこれまでVRやMR(Mixed Reality, 複合現実感)の研究テーマだったが、いよいよ実用レベルに入っている。たとえばGoogleが提供するサービスでは、Google Earthで世界の各都市を表示し、「建物の3D表示」で現実空間にCGが重ねて表示される。またGoogle Mapで2Dの地図画面を拡大すると現実空間(Street View)が現れる。これらはMixed Realityの実現と言える。

そしてこうしたデータを活用した事例として、ゲーム『水没都市』に注目する。このゲームはいくつかのサービスを組みあわせている。まずOpenStreetMap(OSM)。これは、道路地図などの地理情報データを誰でも利用できるよう、フリーの地理情報データを作成することを目的としたプロジェクトである。誰でも自由に参加して、誰でも自由に編集でき、誰でも自由に利用する事が出来るが、次にOSMをAPIを介して取得するツール「シマダシステム」が開発される。そしてこのシマダシステムを使って、世界中の現実の都市をステージにした宝探しゲーム『水没都市』(DropCity)が有志によって開発された。このゲームはアップデートしながら定期的にゲームイベントで展示されており、開発者向けに配布されているOculus Riftのゴーグル(ヘッドマウントディスプレイ)をつけて仮想空間を泳ぐ体験も可能にしている。

このゲームはVRデバイスを用いるためにイベン

<sup>2</sup> <http://blog.piapro.net/2012/12/post-608.html>

<sup>3</sup> <http://www.dcaj.or.jp/news/2014/02/3dcgark-project.html>

<sup>4</sup> 販売期間: 2014年11月5日-2015年10月30日(予定), <https://sidonia-3dmodel.com/>

トに出かけて体験する必要があるが、東京ゲームショウ<sup>5</sup> や IGDS2015<sup>6</sup>に出展され注目を集めた。

#### 2.4 イノベーション事例：ゲームジャム運営

ゲーム開発で起こるイノベーションに注目して、企業が自社データをゲーム開発用に提供するだけでなく、ゲーム開発者コミュニティとの積極的な関係形成に取り組んだのが地図のゼンリンである。

ゼンリンはこれまでゲーム应用の実績がなかったために、開発者コミュニティからの認知を得ることから着手した。特に、セミナー開催や素材提供にとどまらず、2014年からゲーム開発イベント「Global Game Jam」の会場の一つとして「お台場ゼンリン会場」を開設したこと<sup>7</sup>はゲーム開発メディアの注目を集めた<sup>6</sup>。報道によれば温泉、仮眠室、シャワー室などが使える日本一の開発環境を学生からプロまでのゲーム開発イベント参加者に提供し、さらにゲームで使うためのデータ容量の削減など開発現場のニーズを把握している<sup>7</sup>。この取り組みを通じて、会場ではさっそくいくつかのゲームでこのデータが利用された。さらにこのイベントの成果はさらに開発者のカンファレンスでも展示発表され<sup>8</sup>、一年間で広い認知を獲得した。最近のGlobal Game Jam2015では開催にあわせて秋葉原以外の3都市のデータの提供も発表し(利用条件として、ゲームジャム終了後のゲーム配布は構わないが生データは消去しなければならない)、地方会場からも注目を集めた<sup>9</sup>。

#### 2.5 イノベーション事例：産学連携

同じような開発イベントを主催する試みとしては、竹中工務店の「スマートライフハッカソン」もあげることができる<sup>9</sup>。これはゼネコン大手の竹中工務店と3D CADソフトを販売しているエアアンドエー、ならびにゲームエンジン開発企業であるユニティ・テクノロジーズ・ジャパンの三者が協力して行って

おり、「プロフェッショナルだけでなく学生や趣味人も」対象にしている<sup>10</sup>。これはゲーム開発者コミュニティよりも大学との産学連携を意識したものとなっている。こうした事例はゲーム開発技術が非エンタテインメントへと転用される流れの始まりであり、今後さらに増えていくと考えられる。

#### 2.6 アセットストアの発展と「アセット作家」の誕生

前節のゼンリンや竹中工務店のプロモーションで鍵となったのが、ゲーム開発環境の「ゲームエンジン」上ですぐに試せるような形態での素材(アセット)の提供である。これは近年のゲーム開発環境「ゲームエンジン」の発達によるところが多い。

最新の技術が投入されるゲーム開発では、ゲーム開発企業に開発ツールを提供する企業がいち早くたちあがった。フォン・ヒッペルが「イノベーションの民主化」で注目したゲーム開発企業もその一つである。やがて開発ツール群はミドルウェアからゲームエンジンへと発達し<sup>5</sup>、異なるゲーム機(あるいはVR環境)への移植も支援するようになった。さらには開発環境だけでなくゲーム素材を配布できる「アセットマーケット」たちあがり、ゲームエンジンの拡張機能として提供されるようになった。

アセットマーケットの価格は自由に設定でき、人気アセットが評判になる仕組みも取り入れられたことで、ゲームエンジンUnityの国内法人であるユニティ・テクノロジーズ・ジャパンは2013年以降から「アセット作家になろう!(図3)」という新たなプロモーションをはじめている。これはゲーム開発者だけでなくさらに広い範囲のクリエイターを対象としている。

そしてアセット作家に企業がロールモデルとして脚光をあてるだけでなく、アセット作家がブログで自作アセットの評判を報告したり、さらには「海外から音楽の依頼が来た」<sup>11</sup>といったアセットマーケットの中に止まらない活動も起こっている。

<sup>5</sup> <http://www.gamespark.jp/article/2014/09/30/51931.html>

<sup>6</sup> <http://www.igda.jp/?p=555>

<sup>7</sup> 世界最大級のゲームハッカソン『Global Game Jam 2014』に協賛 <http://www.zenrin.co.jp/news/140109.html>

<sup>8</sup> ゼンリン、地図データをゲームや災害シミュレーションに活用するためのコラボ施策を披露 <http://response.jp/article/2014/09/05/231708.html>

<sup>9</sup> <http://htn.to/7iLT9x>

<sup>10</sup> <http://www.smartlife-hackathon.jp/wordpress>

<sup>11</sup>

[https://twitter.com/gt\\_k\\_2014/status/534895972048842753](https://twitter.com/gt_k_2014/status/534895972048842753)



図 3 アセット作家になろう!(2015) [10]

### 3 GDC2015 に見る今後の展開

ここまで見たように、従来の 3D データサービスからゲーム開発というプラットフォームに進出することで新しいイノベーションが起こっている。この動向調査として、GDC (Game Developers Conference) を視察した。

GDC は毎年 3 月にカリフォルニアで開催される世界最大のゲーム開発者の国際会議で、ゲーム開発の大きなニュースはまずこの会議で発表されることが多い。たとえば第 1.2 節でとりあげたマイクロソフトによるゲーム開発の民主化は GDC08 の基調講演で発表されている<sup>[2]</sup>。そして今回は元 id software 社で Oculus VR 社 CTO に転じた伝説的ゲーム開発者のジョン・カーマックの講演<sup>12</sup>も開催前から注目を集めた。

今回はゲームエンジンの一部無料化が講演前に発表されたこともあり、参加して目を引いたのは講演よりもむしろ展示スペースであった。たとえばゲームエンジン企業 (Unity, Epic Games (Unreal Engine), Crytek) がゲーム機プラットフォームに匹敵するスペースをとり、Unity や Unreal Engine の無料版だけでなく高品質なサンプルが素材や作り方も含めて同時に配布されていた。また Oculus などの VR 企業もゲームエンジン企業との連携をアピールし、ゲームエンジンを使うことで、従来のコン

テンツの VR コンテンツ化や新規 VR コンテンツ開発にすぐに着手できることをアピールしていた。こうした映画産業が 3D 映画製作を取り入れたように、ゲーム開発と VR コンテンツ開発も次の段階へと進みつつあることを印象づける展示発表だった。

日本の開発イベントとの違いとしては、「アセット作家になろう!」に相当するセミナーもあったのだが、日本では同人活動の文脈や審美的なアピールが強いものに対して、GDC ではプロ志向、機能面でのアピールが強いと感じた。アセット作家もアセットの日本語説明と英語説明とで口調を変えることが当たり前になるかも知れない。

GDC の内容は日本国内でも注目されており、本視察の成果は国内の報告会でも発表した<sup>13[13]</sup>。大学教員からの講演者は筆者のみで、最新動向を国内の第一線の開発者と共有する貴重な場をもつことができた。

こうして、企業や大学の壁を越えたゲーム開発者コミュニティのつながりは、国内外ともに今後ますます強くなっていくだろう。

### 4 まとめ

2013 年度から 2014 年度にかけての 3D データ活用の注目すべき動向として、ゲーム分野で起こり、ゲーム以外の分野にもひろがりつつあるユーザー主導のイノベーションについて報告した。

「イノベーションの民主化」や過去の事例を見ると、このイノベーションはたんにデータを公開するだけではなく、上述したように以下の側面からなりたっている。

1. オープンな利用許諾規程:  
素材を活用するオープンソースライセンスの整備
2. ツールの活用:  
ユーザーフレンドリーなツールキットの提供
3. 高品質データの活用:  
品質の高い素材の提供と共有

<sup>12</sup> <http://www.gdevault.com/play/1022304/The-Dawn-of-Mobile>  
<http://www.4gamer.net/games/195/G019528/20150311030/>

<sup>13</sup> <http://www.igda.jp/?p=408> この報告会ではゲーム開発・VR コンテンツでは別に報告者があったため、アカデミック領域の報告を担当した。

#### 4. コミュニティの形成:

ツールキットで開発し成長するユーザーコミュニティの形成

これらの動きをまきこんだイノベーションは今後ますます強くなり、とりわけゲーム開発技術は(VRコンテンツ開発への転用に見られるように)多くの分野に拡大していくと期待される。

今回はおよそ半年間の調査報告を行ったが、今後は本研究が示唆する展望にもとづき、岡山および周辺地域にて、大学や企業そしておよびホビイストにまたがる開発者コミュニティの形成について、長期的に取り組んでいく計画である。

#### 謝辞:

本報告書は、平成26年度ウエスコ学術振興財団助成事業の研究助成の研究成果報告書として作成された。

#### 参考文献

- [1] 引地信之, 引地美恵子(編). 『Think GNU: プロジェクトGNU日記とソフトウェアの憂鬱』. ビレッジセンター出版局, 1993. ISBN 4-938704-10-2. Online version except for illustrations available at <ftp://ftp.sra.co.jp/pub/gnu/sra/think-gnu-book.tar.gz> (visited March 31, 2015).
- [2] 西川善司. Game Developers Conference 2008 現地レポート: Microsoft, チーフXNA アーキテクト クリス・サッチェル氏インタビュー. *GAME Watch*, February 2008. Online article available at <http://game.watch.impress.co.jp/docs/20080222/sat.htm>.
- [3] 西川善司. Microsoft基調講演: MicrosoftはXbox LIVE上にゲーム民主国家を建国する. *GAME Watch*, February 2008. Game Developers Conference 2008 現地レポート. Online article available at <http://game.watch.impress.co.jp/docs/20080221/mskn.htm>.
- [4] 岡田有花. 「出口がない」「権利者は誰」: 初音ミク2次創作の課題. *ITmedia ニュース*, 2008. 2008年03月27日. Online article available at <http://www.itmedia.co.jp/news/articles/0803/27/news128.html>.
- [5] 大前広樹. ミドルウェア. 『デジタルゲームの教科書: 知っておくべきゲーム業界最新トレンド』, 第21章, pp. 369-393. ソフトバンククリエイティブ, May 2010.
- [6] 小野憲史. 地図のゼンリンが参戦「48時間でゲームを作ろう!」レポ. *エキサイトレビュー*, 2014. 2014年1月28日. Online article available at <http://www.excite.co.jp/News/reviewapp/20140128/E1390846863959.html>.
- [7] 小野憲史. GlobalGameJam2015 直前企画: 会場責任者に聞くGGJの魅力とは? *GAMER'S EXPRESS*, 2015. 2015年01月16日. Online article available at <http://g-x.jp/54b87b94-96d8-48f3-b2d7-05e9caac1ca2>.
- [8] 新清士. MOD 及びオープンコミュニティについて調査. 『デジタルコンテンツ制作の先端技術応用に関する調査研究報告書』, 第9章, pp. 265-293. デジタルコンテンツ協会, March 2008. 平成19年度 日本自転車振興会デジタルコンテンツの保護・活用に関する調査研究等補助事業. Available online at [http://www.dcaj.or.jp/project/report/pdf/2007/dc08\\_07.pdf](http://www.dcaj.or.jp/project/report/pdf/2007/dc08_07.pdf) (visited September 30, 2013).
- [9] 高橋睦美. ゲーム嫌いも知っておきたい3D CG/VRのエンタープライズ活用事例: Unity Solution Conference 2014 まとめ. *ITmedia*, 2014. 2014年12月25日. Online article available at [http://www.atmarkit.co.jp/ait/articles/1412/25/news056\\_4.html](http://www.atmarkit.co.jp/ait/articles/1412/25/news056_4.html).
- [10] 常名隆司. アセット作家になろう!: 作ったキャラクターやスクリプトをアセットストアに出品しよう! Presentation at Unite 2015 Tokyo, April 2015. <http://www.slideshare.net/takashijona/ss-47008518>, Also available online at <http://japan.unity3d.com/unite/unite2015/schedule>.
- [11] Eric von Hippel. *Democratizing Innovation*. MIT Press, 2005. <http://web.mit.edu/evhippel/www/books.htm> 邦訳はサイコム・インターナショナル監訳『民主化するイノベーションの時代: メーカー主導からの脱皮』(ファーストプレス, 2005).
- [12] 山根信二. Hackers 1950s-1990s. *The Basic*, No. 166, pp. 64-67, April 1997. 技術評論社.
- [13] 山根信二. GDC 視察報告. GDC2015 報告会(IGDA 日本主催), 2015年3月21日新宿での発表. <http://www.igda.jp/?p=408>, March 2015.

## 平成26年度 海外渡航報告書

岡山大学 大学院自然科学研究科

前田 千尋

私は公益財団法人ウエスコ学術振興財団のご支援を賜り、2014年6月22日から6日間の日程でトルコ国イスタンブールにおいて開催されたICPP-8(Eighth International Conference on Porphyrins and Phthalocyanines) に出席し、“Highly Active Bifunctional Triporphyrin Catalysts for the Synthesis of Cyclic Carbonates from Epoxides and CO<sub>2</sub>”という題目で口頭発表を行った。

## 1. 会議の概要

本渡航にて参加した研究会ICPP-8はポルフィリンとフタロシアニン類縁体に関する国際会議である。これらの類縁体の研究を行っている世界中の研究者が集まり、発表・討論を行ない最新の知見を共有することを目的としている。また関連する国内外の一流の研究者の招待講演が行なわれる。本研究会は第8回目であり、世界各国からの参加者が集まり、口頭発表約300件、ポスター発表約300件行われた。申請者の研究内容に最も関連する会議であり、過去2回(ICPP5,7)に参加した際にも有意義な成果を収めている。

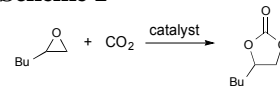
本発表で対象とする二酸化炭素固定化のための二官能性ポルフィリン多量体触媒は、最近申請者らが開発した非常に高い活性を示すものである。“Sustainable Chemical Processes Catalyzed by Metal Porphyrins and Phthalocyanines”というテーマに合致したセクションで口頭発表することができ、大きな価値があった。

本発表では“触媒”のカテゴリーで口頭発表を行ったが、申請者はその他構造有機化学、光化学に関するポルフィリンの研究も展開しており、他の発表を聴講し情報収集したことは、申請者の今後の研究の発展に大きく貢献できる。また普段会うことのない国外の研究者と対話し交流を深めた。

## 2. 研究発表の内容

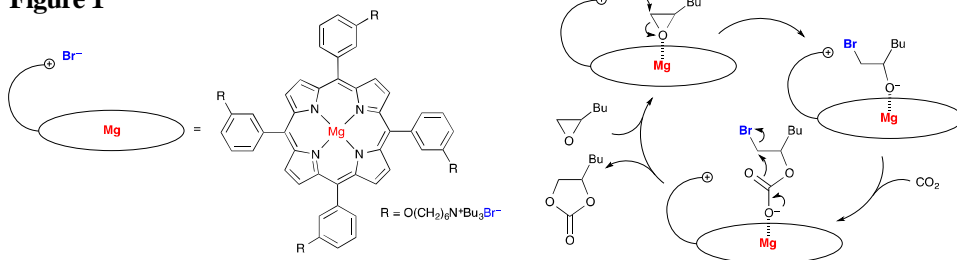
二酸化炭素は豊富に存在する再利用可能な炭素源であるため、近年二酸化炭素の固定化反応が有機合成化学分野で注目されている。二酸化炭素の固定化の一つとして二酸化炭素とエポキシドを用いた環状炭酸エステルの合成が挙げられる

Scheme 1



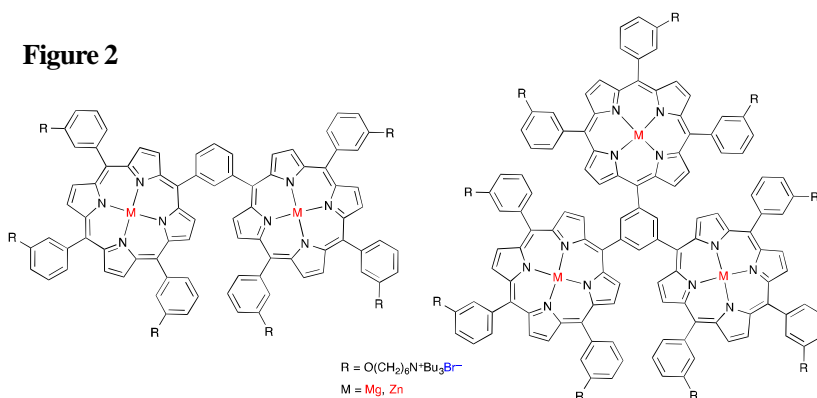
(Scheme 1)。環状炭酸エステルはポリカーボネートの原料、リチウムイオン二次電池の電解質、極性非プロトン性溶媒として利用されている。しかしながら二酸化炭素は安定で反応性が低いため、反応を促進させるための適切な触媒が必要である。申請者らの研究室では側鎖に第四級アンモニウムブロミドを有する二官能性ポルフィリン錯体触媒の開発に成功している(Figure 1)。この触媒では、Lewis酸として働く中心金属と求核剤として働くブロミドがエポキシドに対して協同的に作用することで高い反応加速効果(TON = 103,000, TOF = 12,000 h<sup>-1</sup>)を示した。

Figure 1



今回新たに側鎖に第四級アンモニウムブロミドを6個有するポルフィリン二量体および9個有するポルフィリン三量体触媒を開発した(Figure 2)。いずれも単量体よりも高い触媒活性を示し、特にポルフィリン三量体触媒がこれまでで最も高い活性(TON = 310,000, TOF = 46,000 h<sup>-1</sup>)を示した。本発表ではこれらの触媒の合成と触媒活性について口頭発表を行った。

Figure 2



### 3. 感想等

はじめは10分間の一般講演の予定であったが、1つ余っていた招待講演の枠に入れてもらったため20分間の発表となり、研究内容をより詳細に発表でき好評を得た。

### 4. おわりに

最後になりますが本国際会議に参加するにあたりご支援を頂いたウエスコ学術振興財団に厚く御礼を申し上げます。この会議で得た経験を生かして今後の研究により一層励む所存であります。

## 平成 26 年度 海外渡航報告書

(所 属) 岡山大学大学院環境生命科学研究科

(氏 名) 西本俊介

下記のとおり、報告します。

### 記

#### 1. 渡航先

65th Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry (電気化学会国際会議)

会場：スイス連邦工科大学ローザンヌ校、スイス、ローザンヌ

#### 2. 渡航期間 (移動日も含む)

自 平成 26 年 8 月 30 日

至 平成 26 年 9 月 7 日 (宿泊先 L Hotel)

#### 3. 渡航の用務内容

電気化学的手法によって作製されたセラミックス表面の濡れ特性に関する成果を報告するとともに、各種電気化学的表面解析手法および多孔質表面作製方法についての情報を得る。

- ・添付書類：学会アブストラクト表紙、プログラムの一部を添付する。

#### 4. 内容

発表テーマ「Underwater superoleophobicity of anodized TiO<sub>2</sub> nanotube」

- ・概要：油水分離フィルターとして利用可能な新規表面特性に関する報告を行った。

聴講テーマ①「We like it orderly – Anodic growth and use of highly aligned metal-oxide nanostructure」

- ・概要：陽極酸化処理によるナノチューブ表面の作製および太陽電池などへの各種応用に関する報告を行っている。

聴講テーマ②「Scanning Droplet Cell Microscopy: Reading and Writing of Functional Interfaces」

- ・概要：金属板表面のマイクロメートルサイズの微小領域に自在にナノチューブ表面を作製できる新手法について報告を行っている。

#### 5. 所感

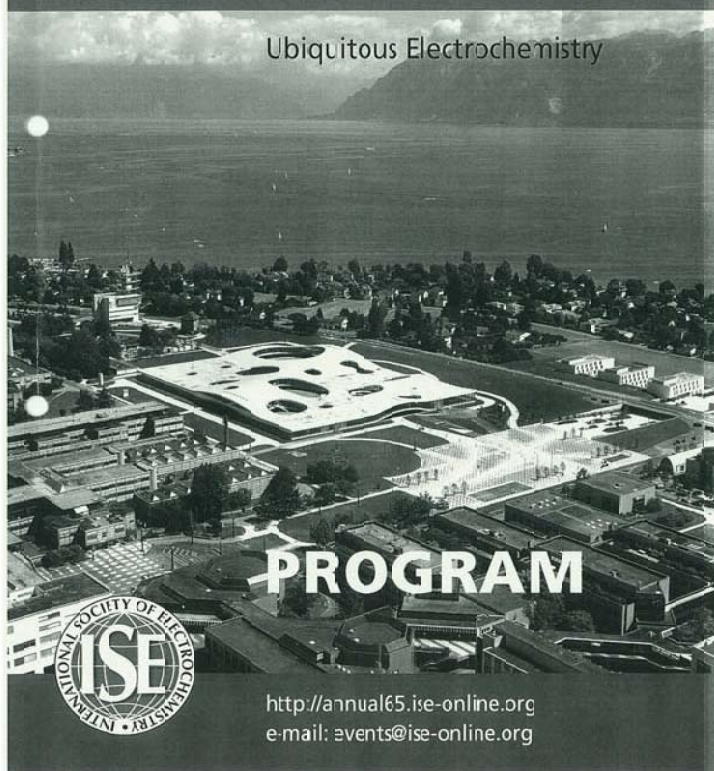
本渡航により、申請者の研究成果を十分にアピールすることができた。また、ヨーロッパの研究者とのディスカッションは貴重な経験であった。また、今後の研究開発に役立つ有益な知見を得た。

公益財団法人ウエスコ学術振興財団に深く感謝申し上げます。

# 65<sup>th</sup> Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry

31 August - 5 September, 2014  
Lausanne, Switzerland

Ubiquitous Electrochemistry



## PROGRAM



<http://annual65.ise-online.org>  
e-mail: [events@ise-online.org](mailto:events@ise-online.org)

Thursday, 4 September 2014 - Morning

### Plenary

Auditorium A - Campus

Chaired by: Mary Ryan

08:30 to 09:30

**Patrick Schmuki** (Materials Science, Uni Erlangen, Erlangen, Germany)

We like it orderly – Anodic growth and use of highly aligned metal oxide nanostructures

09:30 to 09:50

Coffee Break

### Symposium 2: Scanning Electrochemical Microscopy: Reading, Writing, Monitoring of Functional Interfaces

Room 4 - Garden

Chaired by: Shigen Anamiya

05:50 to 10:30 Keynote

**Karl Mayrhofer** (Department of Interface Chemistry and Surface Engineering, Max-Planck-Institut für Eisenforschung GmbH, Düsselorf, Germany), **Serhiy Cheevko**, **Angel Topalov**, **Anna Schuppert**, **Aleksandar Zrazdjanin**, **Ioannis Katountzos**

Combinatorial study of fundamental electrocatalyst performance - The scanning flow cell coupled to online analytics

10:30 to 10:50 Invited

**Adim Walter Hassel** (Institute for Chemical Technology of Inorganic Materials, Johannes Kepler University Linz, Linz, Austria)

Scanning Droplet Cell Microscopy: Reading and Writing of Functional Interfaces

10:50 to 11:00

**Kim McKevey** (Department of Chemistry, University of Warwick, Coventry, United Kingdom), **Sophie Kinear**, **David Perry**, **Dmitry Momtenko**, **Joshua Byers**, **Patrick Urwin**

Nanoscale Surface Charge Mapping using a Nanopipette

THURSDAY AM

s11-072

**Laura Mals** (Department of Mechanical, Chemical and Materials Engineering, University of Cagliari, Cagliari, Italy), **Sara Monasterio**, **Federica Dessi**, **Michele Mascia**, **Annalisa Vacca**, **Simonetta Palmas**  
Electrochemical Treatment for the Removal of *Chlorella vulgaris* and Microcysts *Aeruginosa* by Using a Fixed Bed Jingle Cell

s11-073

**Takayuki Man** (Department of Material and Energy Science, Okayama University, Okayama, Japan), **Shunsuke Nishimoto**, **Yoshikazu Kameshima**, **Michihiro Miyake**  
Wastewater Treatment by Electrochemically Assisted Photocatalytic Ozonation Using TiO<sub>2</sub> Photocathode

s11-074

**Manuel César Martí Calatayud** (Chemical and Nuclear Engineering, Universitat Politècnica de València, Valencia, Spain), **Montserrat Garca Gabaldón**, **Emma Ortega Valentin Pérez Herranz**  
Role of Electrolyte on the Overlimiting Ion Conductance of Cation-exchange Membranes

s11-075

**Jorge Matsushima** (Laboratório Associado de Sensores e Materiais (IAS), Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE), São José dos Campos, Brazil), **Neidenei Ferreira**, **Maurício Baldan**  
Oxide cobalt electrodeposited on boron-doped diamond electrodes for application in electroanalysis of nitrile

s11-076

**Luca Mattarozi** (Institute for Energetics and Interphases, National Research Council of Italy, Padua, Italy), **Sandro Catarin**, **Nicola Conisso**, **Pao Guzziero**, **Marco Musiani**, **Lourdes Vázquez-Cómea**, **Enrico Verlotto**  
Electrodeposition of Compact and Porous Cu-Zn Alloys and their Test in the Cathodic Reduction of Nitrate

s11-077

**Elena Mejía Lilosova** (Advanced Water Management Centre, The University of Queensland, Brisbane, Australia), **Jörg Keller**, **Yvan Pousade**, **Stefano Freguia**  
A Novel 2-Stage Process for the Recovery and Recycling of Ferric from Ferric Sludges Generated in Water and Wastewater Treatment

s11-078

**Francisca Moreira** (Department of Chemical Engineering, LSRE - University of Porto, Porto, Portugal), **Rui Boaventura**, **Enric Brillias**, **Vitor Vilar**  
Combination of Biological Oxidation and Electrochemical Advanced Oxidation Processes to the Remediation of a Winery Wastewater

s11-079

**Francisca Moreira** (Department of Chemical Engineering, LSRE - University of Porto, Porto, Portugal), **João Escoda**, **Rui Boaventura**, **Enric Brillias**, **Vitor Vilar**  
Electrochemical Advanced Oxidation Processes Applied to the Treatment of Leachate from Sanitary Landfill

s11-080

**Francisca Moreira** (Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering University of Porto, Porto, Portugal), **Sergi Garcia-Segura**, **Rui Boaventura**, **Enric Brillias**  
Degradation of Trimethoprim Antibiotic by Anodic Oxidation, Electro-Fenton, UVA PhotoElectro-Fenton and Solar PhotoElectro-Fenton Processes

s11-081

**Antonio Moya** (Department of Física, Universidad de Jaén, Jaén, Spain), **Philippe Sissat**  
Chronoamperometric Characterization of Ion-exchange Membrane Systems

s11-082

**Shunsuke Nishimoto** (Department of Material and Energy Science, Okayama University, Okayama, Japan), **Yusuke Sawai**, **Yoshikazu Kameshima**, **Michihiro Miyake**  
Underwater superoleophilicity of anodized TiO<sub>2</sub> nanotube

POSTERS



## 平成 26 年度 海外渡航報告書

岡山大学大学院環境生命科学研究科  
永禮 英明

「イオン液体のオゾン分解に関する国際会議発表と共同研究推進」と題し、海外渡航に関する助成をいただいた。本課題では、H26年8月に米国サンフランシスコで開催された米国化学会（American Chemical Society）の全国大会に出席し、イオン液体の分解に関する研究成果を発表することを目的としている。

イオン液体とは、不揮発性、不燃性、低粘性、高導電率の液体の塩であり、従来の溶媒にはない特徴をもつことから近年利用が進みつつある比較的新しい化学物質である。しかし、生物への有害性が懸念される一方、分解処理技術が確立されていない。筆者らはイオン液体の一種であるbmimClという物質を対象とし、オゾンを用いた分解処理について検討を行っており、今回はこの研究成果について発表した。

発表は、学会の中のEnvironmental Chemistry分科会のAdvanced Oxidationセッションで行った。本セッションでは4日間にわたり合計72編の発表が行われ、非常に活発な討議が行われていた。筆者らの発表に対しても多数の質問が寄せられた。

当初、会議終了後に共同研究者であるミシガン工科大学・南方大輔博士を訪問する予定であったが、博士の都合により訪問はとりやめ、会議開催中に最新情報を共有し、今後の実験・解析方法について議論した。

最後に、本助成により海外において最新の研究成果を発表する一方、米国での研究動向をみる機会を得ることができた。助成に対し心より感謝を申し上げる。

表1 旅程

日程	内容
2014. 8. 10	移動：岡山→羽田→成田→サンフランシスコ
2014. 8. 11-13	会議参加 (American Chemical Society 248th National Meeting)
2014. 8. 14-15	移動：サンフランシスコ→成田→羽田→岡山

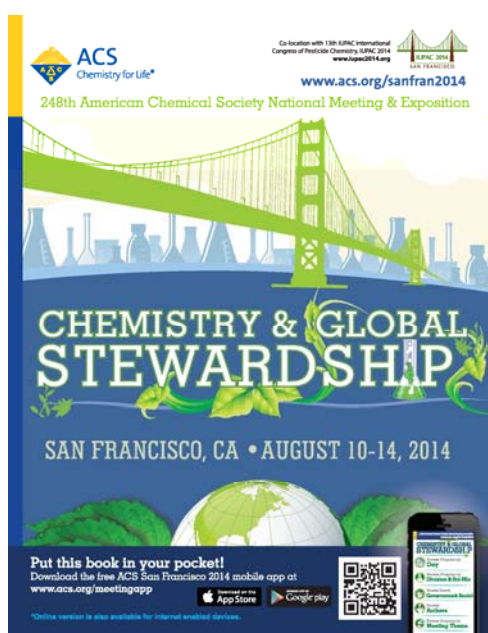


図1 会議パンフレット

平成26年度 海外渡航報告書

岡山大学

山本 ゆき

渡航先 : パリ (フランス)

渡航日程 : 2015年1月8-14日 (7日間)

渡航目的 : 国際学会 “41st Annual Conference of the International Embryo Transfer Society” での研究成果発表

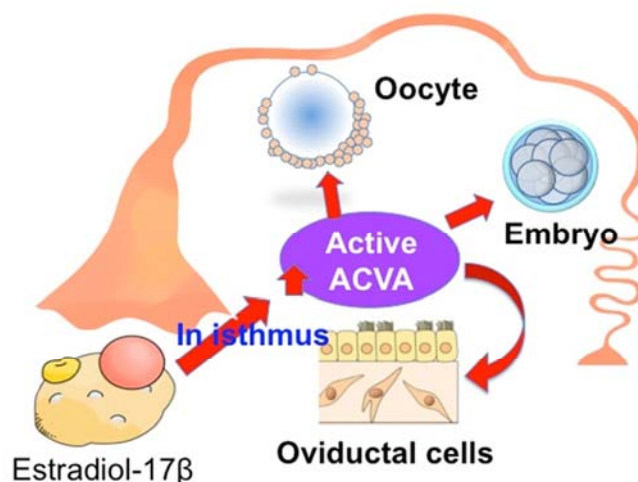
平成27年1月10-13日に行われた “41st Annual Conference of the International Embryo Transfer Society (第41回国際胚移植学会)” に指導学生 (博士前期課程1年) とともに参加した。本学会は動物 (家畜、コンパニオンアニマル、希少動物など) の生産性向上を目指し、胚移植技術向上ならびに科学研究の推進を目的として研究者や教育者らによって設立されたものである。研究については、胚の生存・発育に関するエピジェネティクス制御機構や胚移植時に必要な超音波画像診断技術、体外胚培養のサプリメントとして効果的な物質の探索といった内容が主である。今回渡航者は、”Expression of activin A as a local regulator in the bovine oviduct (ウシ卵管における局所調節因子としてのアクチビン A の発現)” という内容で研究成果発表を行った。

<発表内容>

[目的] 卵管は受精および初期胚発育にとって最適な環境を提供する役割を担う。アクチビン A は局所調節因子として卵胞発育や着床に関与する糖タンパク質であり、体外胚培養法においてアクチビン A を培養液中に添加したところ、ウシ初期胚発育が促進されることが報告されている。そこで卵管内の環境を調節する候補因子としてアクチビン A に着目し、ウシ卵管におけるアクチビン A の役割を検討することを目的に関連因子の発現を調査した。

[結果] ウシ卵管中にアクチビン A およびアクチビン A の作用を阻害する因子 「フォリスタチン」 の各タンパク質が確認された。それぞれの遺伝子発現を検討したところ受精や初期胚発育が起こる時期にアクチビン A 発現が最も高くなることが明らかとなった。細胞培養法を用いた実験によって、ウシ卵管上皮細胞においてエストラジオール17βがアクチビン A ならびにフォリスタチン遺伝子発現を制御することが示された。また、アクチビン A の標的を検討したところ、卵管組織にアクチビン受容体発現が確認された。

[考察] これらの結果から、ウシ卵管内のアクチビン A 活性は、排卵直前に卵巣からの分泌量が増加するエストラジオール17βの制御を受け、排卵前後に最も高くなるよう調節されている可能性が示された。さらにアクチビン受容体の発現が卵管で確認されたことから、アクチビン A はウシ卵管内において受精前の卵母細胞および初期胚に直接的に、また卵管細胞に作用して細胞



図：ウシ卵管におけるアクチビン A (ACVA) の役割に関する仮説

機能を制御することにより間接的に、受精や初期胚発育に関与することが推察された。

初期胚発育に関する研究は、国内外において主に体外胚培養法を用いて進められている。体外胚培養は、不妊や低受胎といった問題を抱えるヒトや家畜にとって効果的な手段となり得るため、その技術向上に関する研究報告は非常に多い。卵管の機能制御の解明は、体外受精および胚培養技術の向上にも貢献する。他の生殖関連学会では卵管の研究発表は少ないが、今回参加した学会では卵管機能に関する発表が多く、他国の研究者と深くディスカッションを行う機会があった。また、卵管機能と密接に関係する配偶子や初期胚に関する研究を知ることができたため、今後の自身の研究について新しい着想を得ることができた。本学会の前には Pre-conference として Equine Reproduction (ウマの生殖) に関わるシンポジウムにも参加した。欧米ではウマの生殖に関わる研究が盛んであり、日本においてもウマは家畜や愛玩動物としての需要が高まってきていることから、ウマの生殖制御技術についての最先端の研究を学ぶことができたことは今後研究を展開して行く上で有意義であった。また、同行した修士学生の発表指導も行った。本人にとって初めての国際学会・英語発表であったために難しいことも多かったと思うが、今後国際的に活躍できる研究者候補の一人として良いきっかけになったと思われる。

折しも渡航直前～滞在中に、パリでテロおよびデモ騒ぎが起りやや不安があったものの、特に大きな問題もなく今回の目的を達成し、渡航を終了することができた。渡航費助成を頂いた公益財団法人ウエスコ学術振興財団と関係者各位には、この場を借りて感謝申し上げたい。

## 平成26年度 海外渡航報告書

岡山大学資源植物科学研究所

杉本 学

2014年8月2～10日の9日間にわたりロシア連邦モスクワで開催された第40回宇宙空間研究委員会 (Committee on Space Research 2014, COSPAR 2014) 総会に参加した。本委員会はフランスに本部を置く国際学術団体であり、米国、ロシア、日本等の44ヶ国が加入している。本総会は2年に1度世界各地で開催されており、40回目となる本総会会場のモスクワ大学には世界40ヶ国以上から約2,500人の参加者が集まり、4,000題を超える発表が行われた。また、オープニングセレモニーではプーチン大統領とメドヴェージェフ首相の祝辞が披露された。

本総会では9つの科学コミッションと1つのパネルディスカッションに別れて研究発表が行われた。私は科学コミッションF「Life Sciences as Related to Space」で以下の研究成果を口頭発表した。

Sugimoto, M., Oono, Y., Gusev, O., Matsumoto, T., Yazawa, T., Levinskikh, M. A., Sychev, V. N., Bingham, G. E., Wheeler, R. and Hummerick, M. Genome-wide expression analysis of reactive oxygen species gene network in Mizuna plants grown in long-term spaceflight.

ミズナ種子を国際宇宙ステーション (ISS) のロシアモジュール内ある植物栽培装置「LADA」のルートユニットにセットし、日照24時間、気温25°C、湿度70%の条件下で栽培を行った。栽培27日目に収穫したミズナは直ちに超低温庫で保存し地上に搬送した。地上にあるLADAで気温、湿度、給水量等ISS中での栽培条件と同じにして栽培したものを対照とした。葉全RNAからcDNAライブラリーを作成しNGSによるリード長100塩基ペアエンドシーケンスの結果、7千万余リード数を得た。ハクサイゲノムデータベースにマッピングし統計学的に発現変動した遺伝子を検出したところ、宇宙栽培ミズナで発現量が増加、減少した遺伝子それぞれ8,258個と14,170個を得た。そのうちROS酸化マーカー遺伝子32個中20個とROS消去遺伝子であるThioredoxin、Glutaredoxin、AOXが5倍以上増加し、宇宙環境がミズナに酸化ストレスを引き起こすことが示唆された。また、MEKK1-MKK4-MPK3、OXI1-MKK4-MPK3、OXI1-MPK3カスケード、MEKK1-MKK4-MPK3によるWRKY22の発現誘導、Zat12によるWRKY25の発現誘導とZat7の抑制から、宇宙栽培ミズナでは宇宙環境に適応するためにabiotic/bioticストレスで誘導される共通の遺伝子や特定の遺伝子を発現し、ROS gene network 遺伝子をコントロールしていることを明らかにした。



COSPAR 2014の会場となったモスクワ大学

また、共同研究として以下に示す3つの研究成果を発表した。

Tanaka, S., Kihara, M., and Sugimoto, M. Expression of nudix hydrolase genes in barley under UV irradiation.

28種類のシロイヌナズナ由来Nudix hydrolase (NUDX)のアミノ酸配列と相同性を示すアミノ酸配列をコードするオオムギ由来遺伝子をBLAST検索したところ、14種類のNUDX遺伝子を得ることができた。これら遺伝子の紫外線応答について、オオムギ幼芽に340、312、260nmの紫外線を24時間照射後に全RNAを抽出してリアルタイムPCR法により解析した。その結果、AtNUDX9相同性遺伝子はUV-AとUV-Bでそれぞれ、1.3、1.4倍、AtNUDX12、13、16相同性遺伝子はUV-BとUV-Cでそれぞれ7.8、14.9倍、AtNUDX14相同性遺伝子はUV-Cで2.6倍、AtNUDX15相同性遺伝子はUV-Cで2.0倍、AtNUDX25相同性遺伝子はUV-Cで1.2倍増加した。以上の結果から、オオムギ由来NUDX遺伝子は紫外線の種類により応答性が異なること、4種類のNUDX遺伝子がUV-Cに応答することを明らかにした。

Novikova, N., Orlov, O., Polikarpov, N., Deshevaya, E., Sychev, V., Levinskikh, M., Poddubko, S., Alekseev, V., Okuda, T., Sugimoto, M., and Gusev, O. Results of studies on long-term exposition of dormant forms of various organisms in outer space environment.

大麦種子、ネムリユスリカ乾燥幼虫、バチルス属細菌をISS船外に13ヶ月間曝露したところ、大麦種子は、発芽率、生育、農業特性に影響がなかった。ネムリユスリカ乾燥幼虫は、80%以上の蘇生率を示し、蛹、成虫へと成長した。また、コメット解析から曝露後の乾幼虫のDNAにはニックが入っているが水に戻し再生する段階で修復が行われることを明らかにした。細菌は、*Bacillus subtilis* #2335, #20, #24, #25, *Penicillium expansum*は13ヶ月、18ヶ月、31ヶ月曝露後増殖したが、*Aspergillus sydowii*, *Aspergillus versicolor*, *Penicillium aurantiogriseum*は完全に死滅することを明らかにした。

Katayama, N., Yamashita, M., Sugimoto, M., Kihara, M., and Hashimoto, H. Low GI food with barley in space foods.

主食である米に対して食物繊維を多く含む大麦（はるな二条）を30%混合し、食事摂取後の血糖値の測定を行った。食材料は主に低GI食材である玄米、麦、大豆、サツマイモ、青菜、ドジョウ、キノコを用いて、献立は主食（玄米70%+麦30%）、ドジョウハンバーグ、キノコスープ、トマトサラダを使用した。その結果、本献立摂取後の血糖値はグルコース摂取後に比べ血糖値の上昇が低くなることが明らかとなり、宇宙食としてふさわしい血糖値の上がりにくい献立ができた。

宇宙環境は宇宙放射線、微小重力等地上とは全く異なる環境が複合したものであり、宇宙植物科学研究ではISSを利用した宇宙環境での実験が重要である。ISSを利用した我々の研究発表では、多くの質問が寄せられ有意義な討論ができた。また、ロシア科学アカデミー生物医学研究所とNASAケネディ宇宙センターの共同研究者たちと会合し、ISSでの研究計画について情報交換をおこない、今後の研究についての打合せをすることができ、「宇宙環境における植物の生存能力とライフサイクルの解析」に関する研究をさらに進展させる機会となった。



科学コミッションFでの口頭発表

## 平成26年度 海外渡航報告書

(所 属) 岡山県立大学 情報工学部

(氏 名) 瀬島 吉裕

(概要) 2014年8月25日(月)から29日(金)までの5日間、イギリスにおけるスコットランドの首都であるエジンバラで IEEE International Symposium on Robot and Human Interactive Communication (RO-MAN2014) が開催された。上述の国際会議に、申請者は公益財団法人ウエスコ学術振興財団からの助成金を得て研究成果を発表した。ここに、関係者の皆様に感謝の意を示すとともに、渡航報告を行う。なお、申請者の渡航日程は、2014年8月24日(日)に出国して、4日間エジンバラに滞在し、8月31日(日)に帰国した。

申請者が研究成果発表を行ったのは、IEEE International Symposium on Robot and Human Interactive Communication (略称 RO-MAN) というロボットと人間とのコミュニケーションを対象とした国際会議で、今回で23回目の開催となった。これまでに欧州では数回開催されているが、イギリスでは初めての開催であった。開催地であるエジンバラは、イギリス北部(北緯56°)に位置し、北海道札幌市(北緯43.05°)よりも遥か高い緯度に位置している。エジンバラでの8月の平均気温は18度で、夏場でも快適に過ごせる気候であった。さらに、8月下旬には「エジンバラ・フェスティバル」と呼ばれる芸術と文化の祭典が毎年行われており、滞在期間中は音楽や芸術を披露するアーティストや多くの観光客で賑っていた。また、会場である Heriot-Watt University (ヘリオット・ワット大学) は、エジンバラ中心部から南西に少し離れた位置にあり、市街地からバスに約40分程度乗車するが、アクセスは良い場所であった。

RO-MAN2014は5日間開催された。初日はワークショップが開催され、これからのロボットと人間とのかかわり方や教育分野での役割等が紹介された。翌日から4日間に渡って研究発表がなされた(図1)。本年は一般講演122件、ポスター発表64件が行われた。欧州での開催であったが、日本人の参加率も高く、活発に議論がなされていた。申請者は3日目にポスター発表を行った(図2)。ポスター発表の会場は、少し狭い展示スペースであったが、参加者の多くが来場し、活発な議論が行われていた。また、RO-MAN2014では、3種類の賞(Best Paper Award, Kazuo Tanie award, RSJ/KROS Distinguished Interdisciplinary Research Award)が設けられており、受賞された研究は全て研究着想が豊かな研究であった。



図1 会場の様子

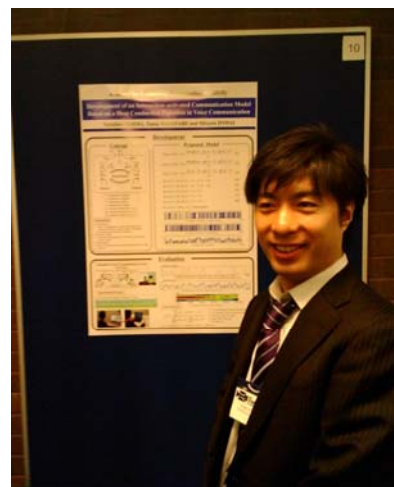


図2 ポスター発表

申請者は、RO-MAN2014において、「Development of an Interaction-activated Communication Model Based on a Heat Conduction Equation in Voice Communication」という題目で研究成果発表を行った。この研究は、ロボットと人間との円滑なコミュニケーションを実現するために、互いの共感を高めるのに重要な役割を果たしている場の盛り上がりに着目し、伝熱工学における熱伝導方程式を用いて対話音声から場の盛り上がりを推定するモデルを提案したものである(図3)。さらに、モデルの有効性を確認するために、コミュニケーション実験を行い、人間が感じる場の盛り上がりと、推定モデルとの時系列相互相関解析を行った(図4)。その結果、人間が感じる場の盛り上がりと、提案モデルによる推定値が強い相関関係にあることが示された。この内容をポスター発表で行い、来場した参加者と議論した。また「熱工学の考えを場の盛り上がりにも適用するのはユニークな発想だ」、「音声以外にも場の盛り上がりのパラメータがあるのではないか」等のコメントをいただく等、有意義な議論の場となった。さらに、ロボットを介した子ども遊びの提案や生活支援ロボット等、一般発表およびポスター発表において、本研究を発展・応用させる可能性がある研究が数多く紹介され、今後の研究を展開するために重要な情報が収集できた。なお、第24回会議となる次回のIEEE RO-MAN2015は、日本の神戸国際会議場で8月31日から9月4日の期間に開催される予定である。(参考URL: <http://ro-man2015.org/>)

末筆になるが、このような貴重な機会を与え、ご支援いただいた公益財団法人ウエスコ学術振興財団の関係者各位に感謝したい。

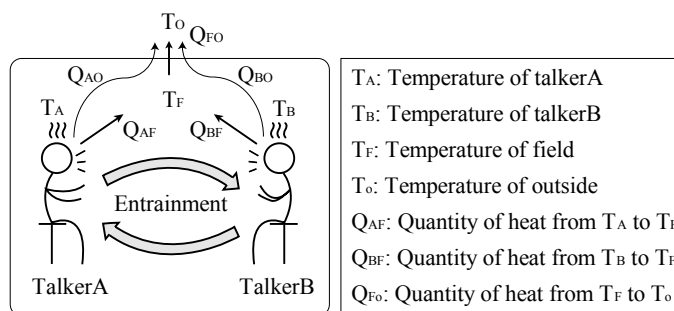


図3 研究のコンセプト

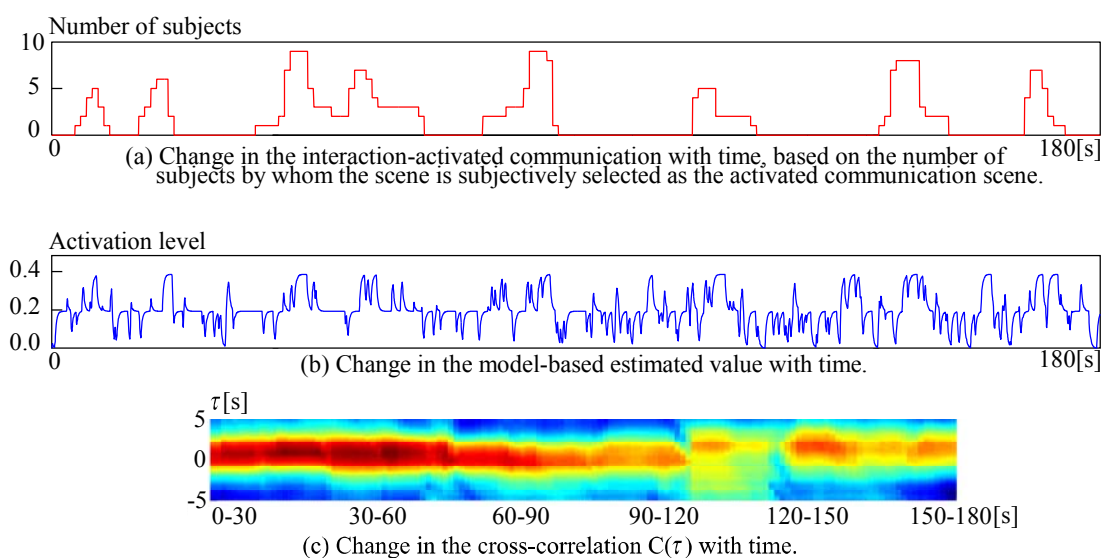


図4 人間が感じる場の盛り上がりと提案する推定モデルとの時系列相互相関解析の一例

## 平成26年度 海外渡航報告書

(所 属) 岡山理科大学 生物地球学部

(氏 名) 大橋 唯太

(概要)

渡航期間：平成26年10月11日 ～ 平成26年10月17日

渡航場所：イタリア・ベネチア

参加会議：Third International Conference on Countermeasures to Urban Heat Island

発表題目：Numerical Simulations of Influence of Heat-Island Countermeasures on Outdoor Human Heat Stress in the 23 Wards of Tokyo, Japan.

著者：Yukitaka OHASHI, Tomohiko IHARA, Yukihiro KIKEGAWA, and Nanami SUGIYAMA

本研究では、東京23区をモデルケースに、夏季屋外の熱中症リスクを評価できる数値モデルを開発した。このモデルでは都市気象・建物排熱・熱中症リスクの関連を地域メッシュ・マップとして計算することが可能である。シミュレーションでは、建物の緑化や高反射塗装といった主要なヒートアイランド対策技術が大規模に導入された場合の、熱中症リスクの低減を定量的に予測評価することを試みている。都市の広域について熱中症リスクをマッピングし、対策導入時の熱中症リスクの変化を予測する数値モデルであり、会議内でも独創的な研究手法として注目された。結果の一部では、高反射塗料を都市建築物群に広域導入した場合に、日射の反射光増加によって熱中症リスクが増加する恐れが予測された。本研究は海外研究者にも興味をもってもらうことができ、知り合った何人かの研究者と引き続き情報交換していく予定である。

近年、地球温暖化やヒートアイランド現象の影響で、人口が集中する都市部での気温が上昇している。これは日本に限らず高緯度帯の欧米諸国でも問題となってきており、熱中症患者や死亡者の増加が深刻化している。このような背景から、今回のヒートアイランド対策国際会議でも熱ストレスの評価手法や将来予測などの研究が報告され、本研究の日本を対象にした熱中症リスクの数値シミュレーション手法も海外諸国での適用に期待できる。そういった意味でも今回の会議で報告できたことは大きな成果であったと同時に、諸外国における熱ストレスの実態や対策研究の進展状況についても知ることができた。

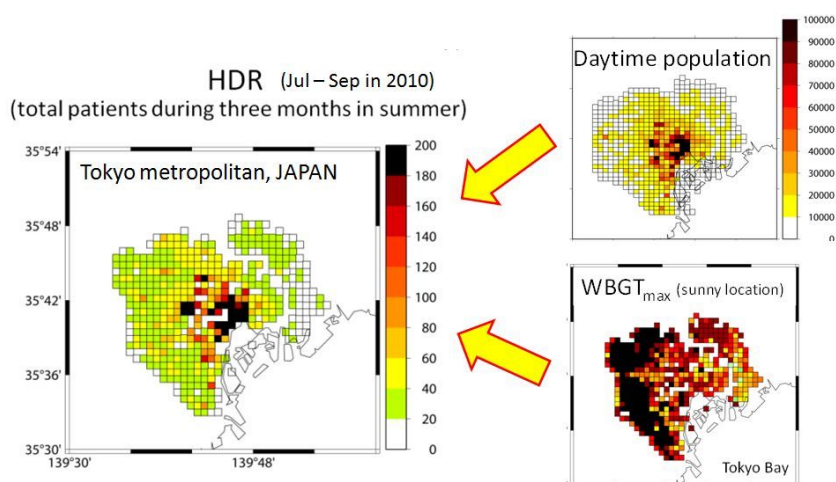


図 東京23区における熱中症リスクのマッピング結果(左図)。2010年7～9月の3か月の熱中症患者数の再現。数値モデルで計算された日最高WBGT(熱ストレス指標)の結果(右下図)に昼間人口分布(右上図)を組み合わせることで、作成された。