令和４年度研究費助成　研究成果報告書集

研究成果報告書　目次

■ 腫瘍微小環境における細胞傷害性 CD4 陽性 T 細胞の本態解明
　岡山大学学術研究院 医歯薬学域　教授　富樫　庸介 …… 1

■ がん細胞外小胞キナーゼ(EVK)と患者生存期間の相関
　岡山大学学術研究院 医歯薬学域　講師　江口　傑徳 …… 3

■ 深海に潜む超高感度光受容タンパク質の探索と深部オプトジェネティクスへの展開
　岡山大学学術研究院 医歯薬学域　助教　小島　慧一 …… 9

■ 肺癌幹細胞と腫瘍微小環境を標的とした革新的腫瘍免疫療法の開発
　岡山大学病院　呼吸器・アレルギー内科　研究准教授　大橋　圭明 …… 12

■ 非対称化を鍵とするビシクロ[3.2.1]オクタン環含有テルペノイドの迅速合成
　岡山大学学術研究院 自然科学学域　准教授　溝口　玄樹 …… 14

■ 円偏光発光材料を志向した高次アザヘリセンの開発
　岡山大学学術研究院 自然科学学域　助教　前田　千尋 …… 17

■ サプライチェーンにおけるデータ駆動型進化計算手法の開発
　岡山大学学術研究院 自然科学学域　助教　劉　子昂 …… 20

■ 不整地未知環境における自律型ロボットのための自己増殖型ニューラルネットワークに基づく環境適応型空間知覚システム
　岡山大学学術研究院 自然科学学域　助教　戸田　雄一郎 …… 23

■ ナノ微粒子材料としての各種ベントナイト材料の膨潤特性に及ぼす温度の影響に関する熱力学的研究
　岡山大学学術研究院 自然科学学域　准教授　佐藤　治夫 …… 29

■ 緊急対策外来種アメリカザリガニの防除による生物多様性回復の評価
　岡山大学学術研究院 環境生命科学学域　教授　中田　和義 …… 35

■ ＵＡＶグリーンレーザと深層学習を併用した河道の地被分類法の開発
　岡山大学学術研究院 環境生命科学学域　准教授　吉田　圭介 …… 40

■ 瀬戸内地域の観光に資する建築資産の活用手法に関する研究
　岡山大学学術研究院 環境生命科学学域　准教授　堀　裕典 …… 46

■ 斜面安定のための疎水材層の多層構造システムの検討
　岡山大学学術研究院 環境生命科学学域　准教授　金　秉洙 …… 52

■ 数値解析を用いた斐伊川放水路の沈砂池における土砂堆積特性に関する検討【特定研究分野】
　岡山大学学術研究院 環境生命科学学域　准教授　赤穂　良輔 …… 56

■ 飼料用生菌剤への応用に向けた高免疫賦活化能を有するバクテリオシン産生乳酸菌の選抜と評価
　岡山大学学術研究院 環境生命科学学域　准教授　畑生　俊光 …… 61

■ 高効率有機薄膜太陽電池を指向した新規電子欠損型骨格を有する p 型半導体高分子の開発
　岡山大学　異分野基礎科学研究所　助教　森　裕樹 …… 63

■ 可視光による短寿命活性種の発生を基盤とした複素環化合物の合成
　岡山大学　異分野基礎科学研究所　助教　田中　健太 …… 67

■ 実際の現象を確率的に考える能力の育成を目指した学校数学の確率の授業デザイン［※その他分野］
岡山大学学術研究院 教育学域　助教　石橋　一昴 …… 70

■ 三瓶火山の最新活動と噴火形態【特定研究分野】
岡山大学学術研究院 教育学域　教授　松多　信尚 …… 76

■ がん患者の療養支援に向けた中小規模施設における看護師長のパフォーマンスに関する研究
岡山県立大学　保健福祉学部　准教授　名越　恵美 …… 80

■ 仮想空間で身体性アバタを活用した看護コミュニケーション教育支援システム
岡山県立大学　保健福祉学部　助教　高林　範子 …… 85

■ 血小板型 12-リポキシゲナーゼの NASH 進展における肝線維化に及ぼす影響
岡山県立大学　保健福祉学部　助教　戸田　圭祐 …… 88

■ 人とロボットの瞬時接触動作が生み出す身体的インタラクション特性の解析
岡山県立大学　情報工学部　助教　太田　俊介 …… 92

■ ゲーム AI の深層強化学習の研究
岡山県立大学　情報工学部　助教　芝　世弐 …… 98

■ マスク着用下における様々な条件での歩行が歩容および注意に及ぼす影響
岡山県立大学　情報工学部　准教授　大下　和茂 ……103

■ 深層学習に基づく写真に対する審美的品質の推定技術と改善技術の確率
岡山県立大学　情報工学部　准教授　滝本　裕則 ……109

■ 身体ストレス簡易可視化システムのための指尖脈派解析アルゴリズムの開発
岡山県立大学　情報工学部　教授　綾部　誠也 ……115

■ オンライン会議システムにおける身体引き込みエージェントの研究開発
岡山県立大学　情報工学部　准教授　石井　裕 ……118

■ 細粒度のソフトウェア変更に伴う不具合の予測手法に関する調査
岡山県立大学　情報工学部　准教授　天嵜　聡介 ……124

■ 閑谷学校の水利技術と学びの場について－閑谷学校の環境技術に関する研究－
岡山県立大学　デザイン学部　教授　向山　徹 ……130

■ 国立台南芸術大学と岡山県立大学の工芸分野交流展における茶室での展示効果について
岡山県立大学　デザイン学部　准教授　渡邉　操 ……136

■ 福山市鞆町の場合－エリアリノベーション時代の地域建設業の役割と業態に関する研究－
岡山県立大学　デザイン学部　准教授　穂苅　耕介 ……142

■ 水を溶媒としたハロゲンフリーで低環境負荷な難燃性リグノセルロースナノファイバーの開発
岡山理科大学　理学部　准教授　大坂　昇 ……148

■ 酸化的環化反応を利用した含窒素ナノグラフェンの簡便合成と機能開拓
岡山理科大学　理学部　准教授　岩永　哲夫 ……152

■ 脳内蓄積タンパク質に着目したうつ病発症の新規メカニズムの解明
岡山理科大学　理学部　准教授　橋川　直也 ……156

■ フラーレン内包多孔亜鉛ポルフィリンダイマーに基づく光レドックス触媒の創製
岡山理科大学　理学部　教授　滿身　稔 ……159

■ 地域の防災マニュアル策定に寄与する中小河川洪水予測が可能な AI センサネットワークと避難タイミング判断システムの実装【特定研究分野】
岡山理科大学　工学部　講師　小田　哲也 ……163

■ 環境調和型オレフィン合成を活用した光電変換用色素の創製
岡山理科大学　工学部　教授　折田　明浩 ……169

■ 細胞死抑制技術を駆使した高機能立体組織の作製と応用性の検討
岡山理科大学　生命科学部　准教授　神吉　けい太 ……175

■ 鬼と日本人 －吉備文化を中心に－［※その他分野］
岡山理科大学　教育学部　教授　荻原　桂子 ……177

■ ピリジンが縮環したシロール合成法の開発とその性質
倉敷芸術科学大学　生命科学部　教授　仲　章伸 ……181

■ 岡山県産「ママカリ」がもつ遺伝的特殊性およびその要因の解明
倉敷芸術科学大学　生命科学部　准教授　山野　ひとみ ……187

■ 就学前発達障害児における口腔機能発達を目指した器具の開発
吉備国際大学　保健医療福祉学部　准教授　森下　元賀 ……193

■ 粘土鉱物と有機化合物のハイブリッドからなる高輝度円偏光発光薄膜の開発
津山工業高等専門学校　総合理工学科　講師　守友　博紀 ……199

■ 植物プロテアソームシャペロン PBAC5 の構造と機能の解析
津山工業高等専門学校　総合理工学科　准教授　高木　賢治 ……203

■ ロボット義足開発におけるばね締緩装置の回転伝達機構部製作および動作検証
津山工業高等専門学校　総合理工学科　講師　野中　摂護 ……207

■ 桃果実の成熟期決定機構の分子解析
岡山県農林水産総合センター生物科学研究所　流動研究員　深松　陽介 ……211

■ 地球温暖化による環境ストレスから作物を守る！新規バイオスティミュラントの研究開発
岡山県農林水産総合センター生物科学研究所　流動研究員　鳴坂　真理 ……215

■ モモせん孔細菌病抵抗性に関与する遺伝子マーカー探索
岡山県農林水産総合センター生物科学研究所　流動研究員　嘉美　千歳 ……220

■ 野菜の在来品種に潜在する機能性の探索およびその強化
岡山県農林水産総合センター生物科学研究所　専門研究員　逸見　健司 ……223

■ 鳥類 KIAA0319L 遺伝子の発現調節機構の解析
就実大学　薬学部　教授　工藤　季之 ……227

■ 岡山県市区町村におけるコロナ禍での災害対策の現状【特定研究分野】
就実大学　薬学部　助教　吉井　圭佑 ……233

■ 抗肺腺維化分子としての脂質メディエーター分解酵素の発生工学的研究
川崎医科大学　薬理学　教授　岡本　安雄 ……237

■ 海馬神経回路のシナプス形成を制御する分子機構の解明
川崎医科大学　解剖学　准教授　林　周一 ……241

■ 脳イメージング技術を応用した転倒リスク評価システムの開発
川崎医科大学　神経内科学　教授　三原　雅史 ……245

■ 軟骨魚類の心臓解析を通じた哺乳類の心疾患脆弱性解明
川崎医科大学　生理学 1　講師　花島　章 ……248

■ ＱＧＩＳを用いた小田川上流地域の空間データ分析【特定研究分野】
岡山商科大学　経営学部　講師　藤本　宏美 ……251

■ ウイルス感染由来の倦怠感に対する Acetyl-L-Carnitine の予防効果
川崎医療福祉大学　医療技術学部　助教　濱田　大幹 ……257

■ 軽微な骨格筋損傷後のアイシングは筋損傷の拡大を抑制し、筋再生を促進する
川崎医療福祉大学　医療技術学部　助教　川島　将人 ……262

■ 1980 年代の岡山県の方言音声に関するアーカイブ研究 －セをシェ、ゼをジェと発音する口蓋化音声の分析－［※その他分野］
ノートルダム清心女子大学　文学部　教授　尾崎　喜光 ……266

■ 保育士のキャリア・パースペクティマップの作成と離職防止介入策の考案［※その他分野］
山陽学園大学　総合人間学部　准教授　松浦　美晴 ……270

■ ダウン症児の母親に対する就労継続支援プログラムの開発～企業の人材不足改善に向けた取り組み～［※その他分野］
山陽学園大学　総合人間学部　准教授　上地　玲子 ……276

■ 災害弱者の健康管理に向けた栄養教育方法の検討【特定研究分野】
山陽学園短期大学　健康栄養学科　教授　岩崎　由香里 ……280

■ プレゴールデンエイジ期における運動学習に関する科学的動作解析［※その他分野］
中国学園大学　国際教養学部　准教授　佐々木　公之 ……284

■ 「速く走る」走り方指導法の開発
環太平洋大学　体育学部　講師　梶谷　亮輔 ……290

■ 女性競技者の腕振り動作改善を目指したトレーニング方法の開発
環太平洋大学　体育学部　講師　品田　直宏 ……294

■ デイトレーニングがアスリートの競技パフォーマンスに与える影響
環太平洋大学　体育学部　助教　明石　啓太 ……297

■ 小学生の運動能力向上を目的とした効果的な運動プログラムの開発～鬼ごっこに着目して～［※その他分野］
環太平洋大学　体育学部　助教　田中　耕作 ……301

■ 日本人サンプルにおける Attachment Affective Picture System の利用可能性の評価［※その他分野］
環太平洋大学　次世代教育学部　専任講師　中井(松尾) 和弥 ……305

■ 終末期維持血液透析患者の医療・ケア方針の検討に関わる看護実践に関する研究（2 年目）
新見公立大学　健康科学部　助教　安藤　亮 ……311

■ 成長期女子トップアスリートにおける長期トレーニングが腎機能及び骨吸収に与える影響
岡山医療専門職大学　健康科学部　教授　安田　従生 ……316

■ 胎盤形成に対する炎症抑制因子 HRG と炎症惹起因子 HMGB1 の拮抗的生理調節機構の解析
岡山医療専門職大学　健康科学部　教授　勅使川原　匡 ……321

■ 大原-児島コレクションの形成・招来・公開に関する基礎調査【特定研究分野】
公益財団法人大原美術館　学芸課　主任学芸員　孝岡　睦子 ……326

■ ゲノム編集を用いた腎臓病の病態解明と治療法の開発
重井医学研究所　分子遺伝部門　部長　松山　誠 ……331

海外渡航報告書　目次

【令和２年度海外渡航費助成】※渡航実施は令和４年度

■　岡山大学大学院　環境生命科学研究科　准教授　若井　拓哉　……344

【令和３年度海外渡航費助成】※渡航実施は令和４年度

■　岡山大学大学院　自然科学研究科　准教授　坂本　浩隆　……346

【令和４年度海外渡航費助成】

■　岡山大学学術研究院 自然科学学域　教授　寺崎　英紀　……348

長期間海外派遣滞在 研究成果報告書　目次

【令和４年度長期間海外派遣滞在費助成】

■ 植物性食品成分が生体脂質に及ぼす影響
　岡山大学学術研究院 環境生命科学学域　助教　中村　俊之　……350

腫瘍微小環境における細胞傷害性 CD4 陽性 T 細胞の本態解明

岡山大学学術研究院医歯薬学域・腫瘍微小環境学分野

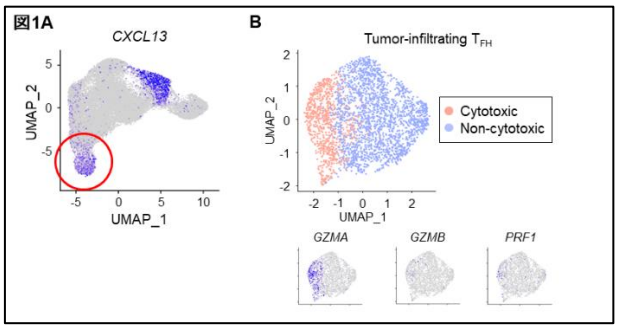
冨樫　庸介

（概要）

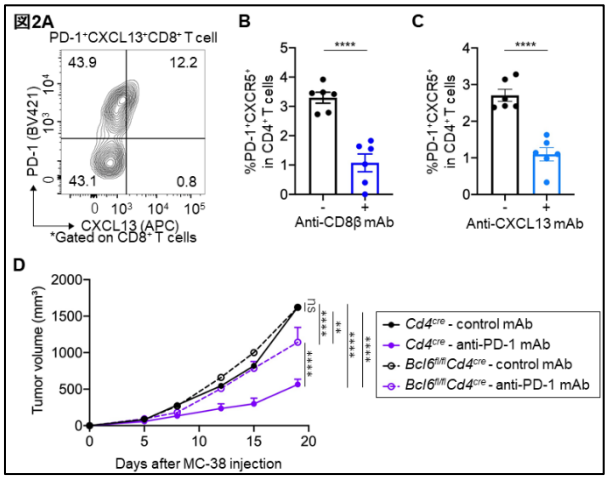
がん免疫療法の効果が証明されたが、その有効性は不十分で、抗腫瘍免疫応答の本態解明が求められている。我々は腫瘍浸潤リンパ球（TIL）のシングルセルシークエンスから exhausted CD8 陽性 T 細胞ががん細胞を直接攻撃している T 細胞であること、さらにこの分画が PD-1 陽性 CXCR5 陽性 CD4 陽性濾胞性ヘルパーT 細胞（T_{FH}）を誘導する CXCL13 を高発現していることを明らかにした。そして MHC-II 発現腫瘍では一部が細胞傷害性を有していた。そこで、その T_{FH} の一部の T 細胞受容体（TCR）配列を人工的に作成し、NFAT-luciferase を発現させた Jurkat 細胞に導入して、同一患者由来 MHC-II 発現したがん細胞との反応性を検証したところ、がん細胞への反応性が確認できた。現在、その特徴的な転写因子も同定しており、分化メカニズムを明らかにしつつある。これらの結果から CD4 陽性 T 細胞における exhaustion を再定義できると考えている。

（本文）

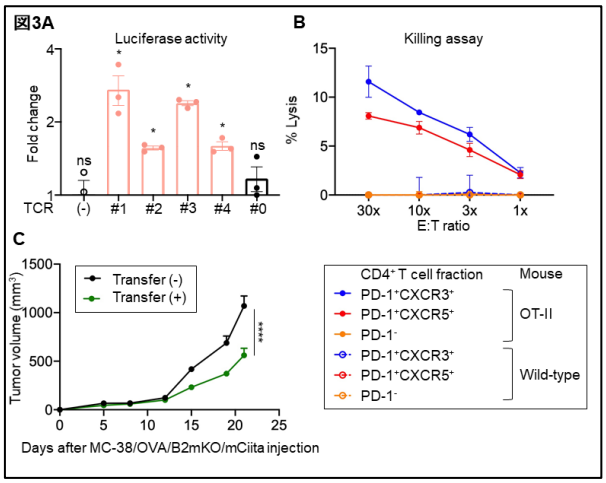
がん免疫療法の効果が証明されたが、その有効性は不十分で、抗腫瘍免疫応答の本態解明が求められている（Togashi Y, et al. *Nat Rev Clin Oncol* 2019; *Cancer Sci* 2022）。抗腫瘍免疫応答の中心とされてきた CD8 陽性 T 細胞に加え、MHC-II 発現腫瘍に対する細胞傷害性 CD4 陽性 T 細胞が注目されているが、その詳細は明らかでない（David Y, et al. *Cell* 2020）。我々は先行研究で TIL の PD-1 陽性 CD8 陽性 T 細胞（exhausted CD8 陽性 T 細胞）とがん免疫療法の効果との関係を報告した（Togashi Y, et al. *Nat Immunol* 2020）。また、ヒト TIL のシングルセルシークエンスで exhausted CD8 陽性 T 細胞ががん細胞を直接攻撃している T 細胞であること（Togashi Y, et al. *Cell Rep* 2022）、さらに T_{FH} を誘導する CXCL13 を高発現していることを明らかにした（図 1A）。



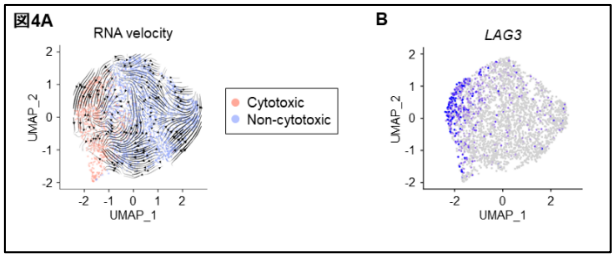
そこでマウスモデルで検証したところ、TIL の PD-1 陽性 CD8 陽性 T 細胞には CXCL13 が高発現しており（図 2A）、CD8 陽性 T 細胞を除去、もしくは CXCL13 をブロックすることで、TIL の T_{FH} が減少した（図 2B と C）。T_{FH} をノックアウトできる *Bcl6*$^{fl/fl}$*Cd4*^{cre} マウスで抗腫瘍免疫応答を検証したところ、抗 PD-1 抗体の効果は減弱した（図 2D）。



この T_{FH} をさらに 2 つのクラスターに分けたところ、MHC-II 発現腫瘍では細胞傷害性を有していることを見出した（図 1B）。そこで TCR を人工的に NFAT-luciferase を発現した Jurkat 細胞に導入し、同一患者由来 MHC-II 発現がん細胞株と反応性を確認したところ、細胞傷害性 T_{FH} 様細胞由来の TCR ががん細胞に特異的に反応することを証明した（図 3A）。さらにマウスモデルを用いて、T_{FH} をソートし、Killing assay を行ったところ、細胞傷害性が認められ（図 3B）、移入モデルでも腫瘍は縮小した（図 3C）。



また、シングルセルシークエンスの TCR 配列を追跡することでクローンの共通性を解析したところ、細胞傷害性 T_{FH} 様細胞と非細胞傷害性 T_{FH} とにはクローンの共通性があり、RNA velocity 解析では非細胞傷害性 T_{FH} から細胞傷害性 T_{FH} 様細胞への分化傾向が観察された（図 4A)。さらに、過去に報告した細胞傷害性 CD4 陽性 T 細胞と同様に（Togashi Y, et al. *Blood Adv* 2020)、この細胞傷害性 T_{FH} 様細胞は PD-1 と LAG-3 高発現の exhaustion 様で（図 4B)、CD8 陽性 T 細胞の exhaustion と似た特徴的な転写因子の発現を有していた。



そこで、さらにマウスモデルを用いて検証を行ったところ、MHC-II 発現腫瘍の TIL では LAG-3 陽性 T_{FH} は細胞傷害性があり、LAG-3 陰性 T_{FH} には細胞傷害性が認められなかった。現在シングルセルシークエンスで同定した転写因子の、これらサブセットの分化への影響をマウス等で実験的に検証しているところである。さらに抗 PD-1 抗体や抗 LAG-3 抗体のこれらサブセットへの影響も検討中である。

以上から exhausted CD8 陽性 T 細胞ががん細胞を直接攻撃している T 細胞であるが、自ら CXCL13 を介して T_{FH} を誘導していた。さらに、CD4 陽性 T 細胞の中で T_{FH} として従来定義されていた細胞分画が、腫瘍微小環境では CD8 陽性 T 細胞同様に exhaustion に近い特徴を有しており、CD8 陽性 T 細胞をヘルプする機能だけでなく細胞傷害性も有して協調的に抗腫瘍免疫応答に寄与していた。このことから CD4 陽性 T 細胞における exhaustion の再定義が可能と考えている。

がん細胞外小胞キナーゼ(EVK)と患者生存期間の相関

岡山大学 学術研究院医歯薬学域 歯科薬理学分野

江口 傑徳

近年，エクソソームをはじめとする細胞外小胞（EV：Extracellular Vesicles）は，がんの進展や患者の予後を予測できるバイオマーカーの宝庫として注目されている（Thery et al.，2018）．細胞から分泌された細胞外小胞は，タンパク質や RNA 等のさまざまな分子を別の細胞へとトランスファーすることで，受け手の細胞の性質を変容させる（Eguchi et al.，2022b）．EV を介した分子トランスファーは，腫瘍をとりまく微小環境や，癌が転移しやすい環境（転移ニッチ）を大きく変化させる（Sheta et al.，2023a）．私たちは，がん細胞が分泌する細胞外小胞をプロテオーム解析し，700 種類以上のタンパク質を同定してきた（Eguchi et al.，2020；Ono et al.，2018）．本研究では，リンパ節転移性舌がん細胞や肺転移性大腸がんオルガノイドが分泌する細胞外小胞に含まれるキナーゼ群（EVKs：EVK1－EVK6)およびホスファターゼを発見し，このうち EVK1 および EVK5 が頭頸部がんや他の癌の患者の生存期間を予測できる新規バイオマーカーであることを明らかにした．

細胞外小胞は，エクソソーム以外にもマイクロベジクル，アポトーシス小体，オートファジー様 EV などのさまざまな小胞が存在するため，論文に不用意にエクソソームと書いてはいけないと多くの専門家が唱えている（Sheta et al.，2023a；Thery et al.，2018）．実際に，一つの培養系からエクソソーム様 EV（100 nm）とマイクロベジクル様 EV（300 nm）が同時に分泌され（Taha et al.，2020），これらを完全に分離したり，定義づけることは容易ではない．そこで本研究でも細胞外小胞(EV)の呼称で統一する．

材料と方法

舌がん細胞株 HSC-3 およびそのリンパ節転移性亜株 HSC-3-M3 を単層培養した上清から既報同様に限外濾過－ポリマー沈殿（UF-PBP）法を用いて EV を抽出した（Eguchi et al.，2023）．肺転移性大腸癌細胞株 LuM1 オルガノイドおよび MMP3 欠失 LuM1 オルガノイドは既報同様にナノカルチャープレート上で形成し（Taha et al.，2020），培養上清から PBP 法で EV を抽出した．各 EV をトリプシン消化し，既報同様に，質量分析装置を用いてプロテオーム解析した（Eguchi et al.，2023）．

得られたタンパク質からキナーゼおよびホスファターゼを抽出し，これらの機能は NCBI データベースおよび Google で調査した．がん患者の臨床検体におけるキナーゼ，ホスファターゼおよびシャペロンの遺伝子発現は，GEPIA2 を用いて既報の方法でサバイバルマップ，マトリックスプロット，ボックスプロットを作成した（Ono and Eguchi，in press）．癌種別の遺伝子発現を表示するマトリックスプロットは GEPIA2 で得られたデータを Ploty で開き，MS エクセルで編集後プリズムを用いて描画した．患者予後との相関は KM Plotter を用いてカプランマイヤーグラフを作成した．

表１： 癌細胞外小胞から検出されたキナーゼ・ホスファターゼ一覧

細胞外小胞 抽出元	タンパク質 略称	タンパク質 概要	タイプ
転移性 舌がん	**EVK1**	セリン・スレオニンキナーゼ	キナーゼ
	EVK2	ミトコンドリアのキナーゼ	キナーゼ
	EVK3	オートファジー関連キナーゼ	キナーゼ
	EVK4	**筋関連キナーゼ**	キナーゼ
	EVP1	非受容体型ホスファターゼ	ホスファターゼ
がん幹細胞性 大腸がんｵﾙｶﾞﾉｲﾄﾞ	**EVK5**	代謝関連キナーゼ１	キナーゼ
	EVK6	代謝関連キナーゼ２	キナーゼ
ー	**CDC37**	Cell division control 37	シャペロン

結果

がん細胞外小胞に含まれるキナーゼの同定

転移性舌がん細胞由来 EV で検出された 4 種類のキナーゼを，EVK1，EVK2，EVK3，EVK4 とし，1 種類のホスファターゼを EVP1 とし，LuM1 オルガノイド由来 EV に含まれていた 2 種類のキナーゼを EVK5，EVK6 と命名した（表１，図１，図２）．

図１： がん細胞外小胞プロテオーム解析概要

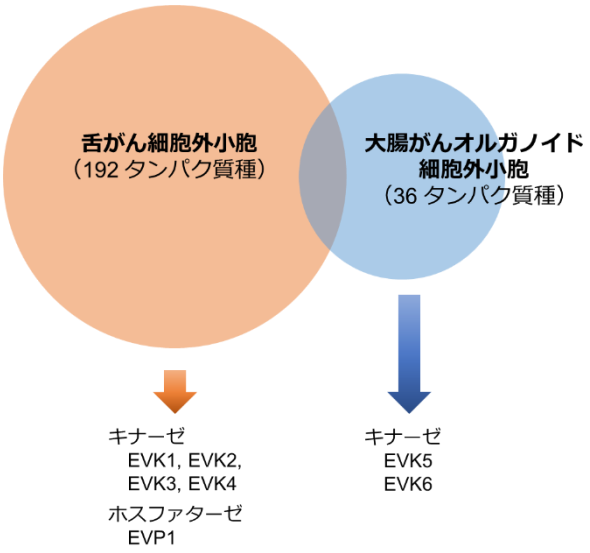
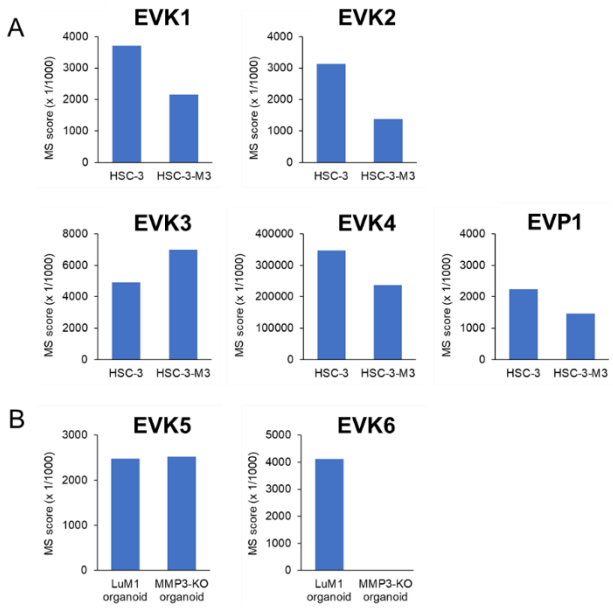


図２：細胞外小胞キナーゼおよびホスファターゼの検出．(A) 舌がん EV，(B) 大腸がんオルガノイド EV



がん細胞外小胞キナーゼ発現とがん患者予後との相関

がん細胞外小胞キナーゼが，頭頸部がん患者の生存期間の短縮または延長を予測できるバイオマーカーであるかを明らかにするために，サバイバルマップ解析とカプランマイヤープロット解析を行った（図３～５）．

図３： 各遺伝子と癌種別患者全生存期間（OS）の相関を示すサバイバルマップ

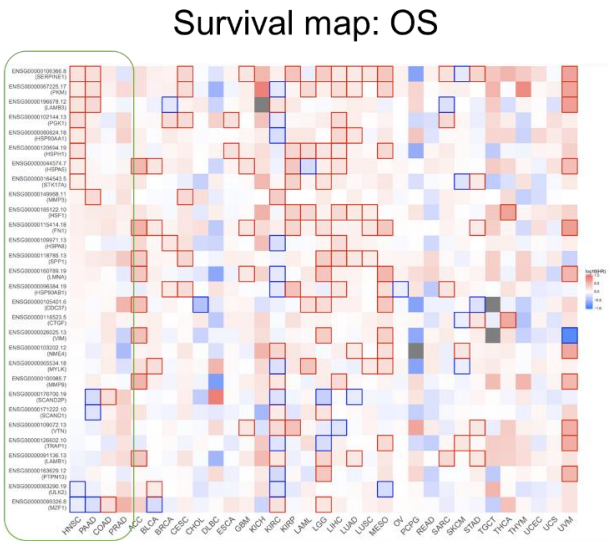
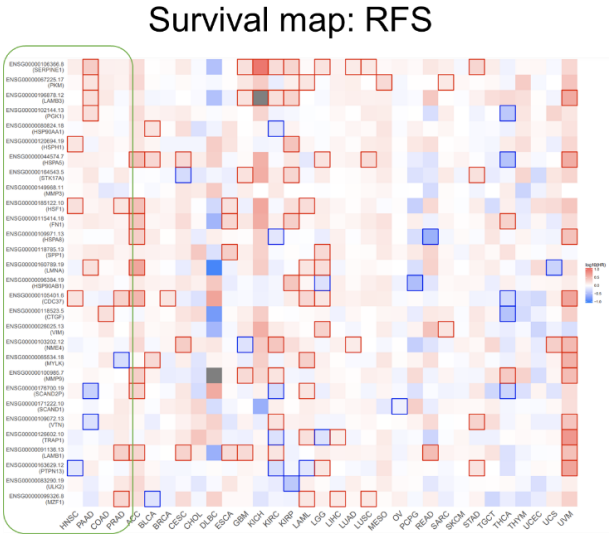


図４： 各遺伝子と癌種別患者無再発生存期間（RFS）の相関を示すサバイバルマップ



頭頸部がん患者の全生存期間短縮を予測できるバイオマーカーとして EVK6，EVK5，EVK1，CDC37 を同定した（図５，表２）．このうち CDC37 は，細胞外小胞には含まれない上にキナーゼでも無い．CDC37 は，細胞内においてキナーゼを折りたたむ分子シャペロンである（Calderwood，2015）．この CDC37 高発現

図５：頭頸部がん（HNSC）患者の生存期間・生存率とキナーゼ発現の相関．CDC37 のみシャペロン．赤線：高発現グループ，黒線：低発現グループ

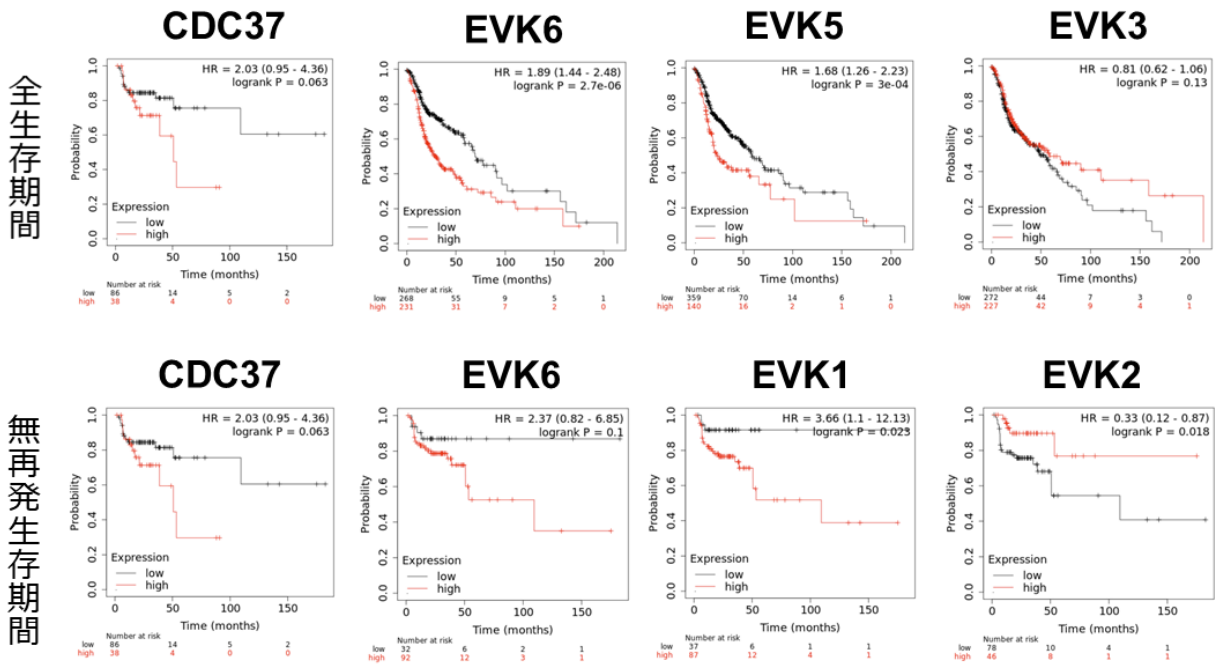


表２：細胞外小胞キナーゼと頭頸部がん患者の生存期間との相関

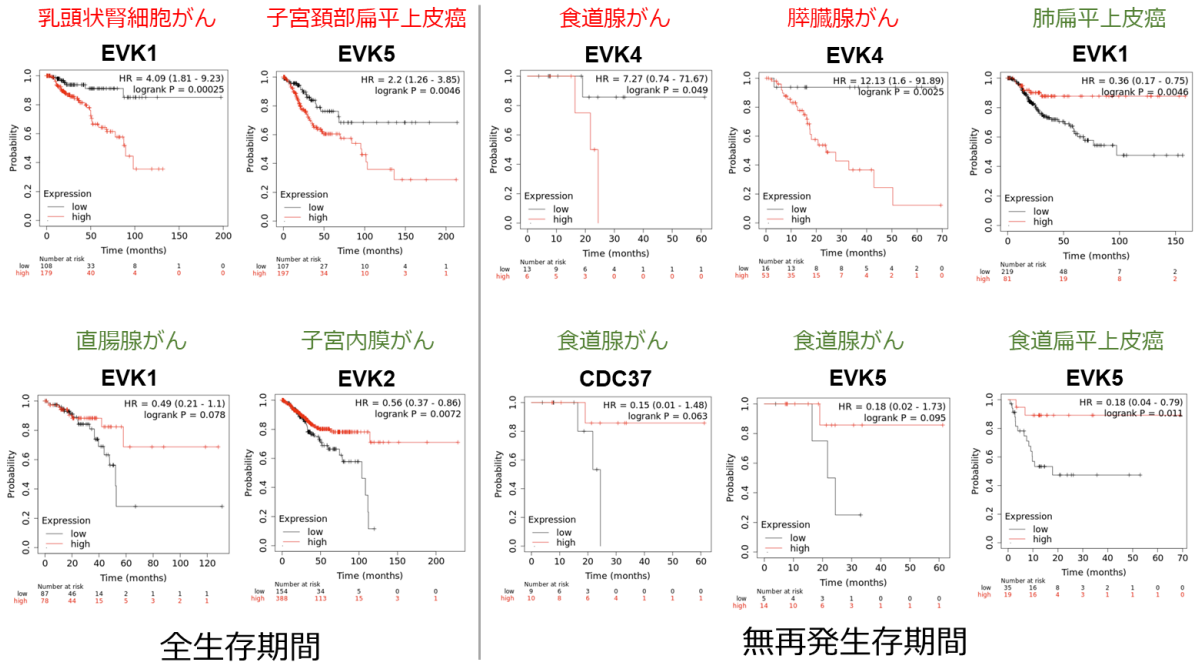
遺伝子名	タイプ	細胞外小胞抽出元	頭頸部がん全生存期間	頭頸部がん無再発生存期間	がん種特異性	発現の傾向腫瘍vs.正常
EVK1	キナーゼ	頭頸部がん	短縮	**著しく短縮**	有	腫瘍
EVK4	キナーゼ	頭頸部がん	―	―	有	癌種による
EVK2	キナーゼ	頭頸部がん	―	延長	―	癌種による
EVK3	キナーゼ	頭頸部がん	延長	―	―	正常
EVP1	ﾎｽﾌｧﾀｰｾﾞ	頭頸部がん	―	―	有	正常
EVK5	キナーゼ	大腸がんｵﾙｶﾞﾉｲﾄﾞ	短縮	延長	広範	腫瘍
EVK6	キナーゼ	大腸がんｵﾙｶﾞﾉｲﾄﾞ	短縮	**著しく短縮**	広範	腫瘍
CDC37	ｼｬﾍﾟﾛﾝ	―	**著しく短縮**	**著しく短縮**	―	癌種による

こそが頭頸部がん患者の全生存期間短縮を予測できる最も優れたバイオマーカーであった．また，EVK6，EVK1，CDC37 は，頭頸部がん患者の無再発生存期間の著しい短縮を予測できるバイオマーカーであることも分かった（図５）．

次に，頭頸部がん患者の全生存期間延長を予測できるバイオマーカーとして EVK3 を同定した．また，頭頸部がん患者の無再発生存期間延長を予測できるバイオマーカーとして EVK2 および EVK5 を同定した．これらのキナーゼおよびシャペロンの予後予測バイオマーカーとしての機能は，頭頸部がんのみならず他の癌種にも適用できる場合がある．最も顕著な数例を挙げると，EVK1 は頭頸部がんの無再発生存期間短縮因子であると同時に，乳頭状腎細胞癌の全生存期間短縮因子であり，直腸腺がんの全生存期間延長因子かつ，肺扁平上皮癌の無再発生存期間延長因子である（図６）．また，EVK5 は子宮頚部扁平上皮癌の全生存期間短縮因子であるが，食道がん（腺癌と扁平上皮癌）の無再発生存期間延長因子である．

すなわち，遺伝子発現が生存期間短縮と相関するのか，それとも生存期間延長と相関するのかは癌種ごとに異なる．また，サバイバルマップ解析で顕著であっても，それは調べた因子や癌種の中での相対的なものであるにすぎない．バイオマーカーとして

図６：　がん患者の生存期間・生存率とキナーゼ発現の相関



の有用性を調べるためには，カプランマイヤープロットを確認する必要があることが分かった．

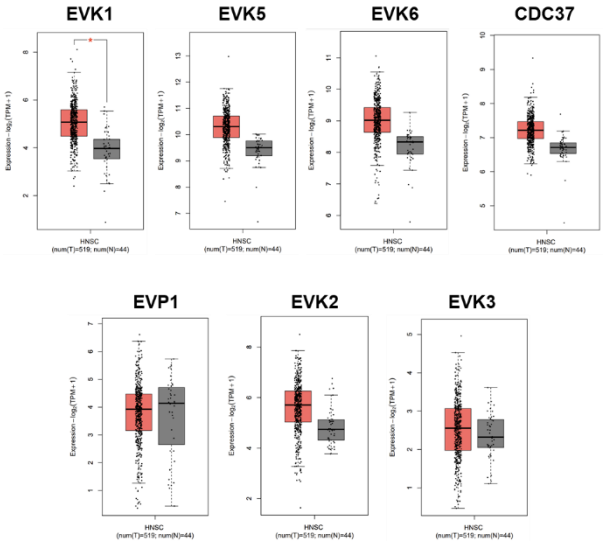
がん細胞外小胞タンパク質発現と患者予後の相関

舌がん細胞由来 EV からは 200 以上のタンパク質種が同定された．ここではキナーゼ以外のタンパク質・遺伝子や関連因子（Eguchi et al., 2022a; Eguchi et al., 2019; Sheta et al., 2023b）についても患者予後との相関を調査した．頭頸部がん患者の全生存期間短縮を予測できるバイオマーカーとしてヒートショックタンパク質（HSP90AA1，HSPH1，HSPA5，HSPA8），各種マトリックス因子を同定した．頭頸部がん患者の全生存期間延長を予測できるバイオマーカーとして MZF1 を同定した．頭頸部がん患者の無再発生存期間の短縮を予測できるバイオマーカーとしてヒートショック因子(HSF1)を同定した．

腫瘍組織で発現するキナーゼ，正常組織で発現するキナーゼ

各キナーゼが腫瘍組織で高発現するのか正常組織で発現するのかを明らかにするために，ボックスプロットを用いて異なるがん種における各遺伝子シグネチャーの組織ごとの発現をプロファイルした．概して，EVK1，EVK5，EVK6 は，頭頸部がんに限らずほとんどの癌腫において腫瘍組織で高発現していた．これに対して，EVK3，EVK4，EVP1 はほとんどの癌腫においてどちらかというと正常組織で高発現していた．EVK1 の頭頸部がんの腫瘍組織における高発現レベルは，正常組織と比べて有意（$P<0.01$）であった（図７）．他のものについては有意差が無かった．すなわち EVK1 はひとまずは頭頸部がんに特異的な予後不良因子であり新規標的候補である．

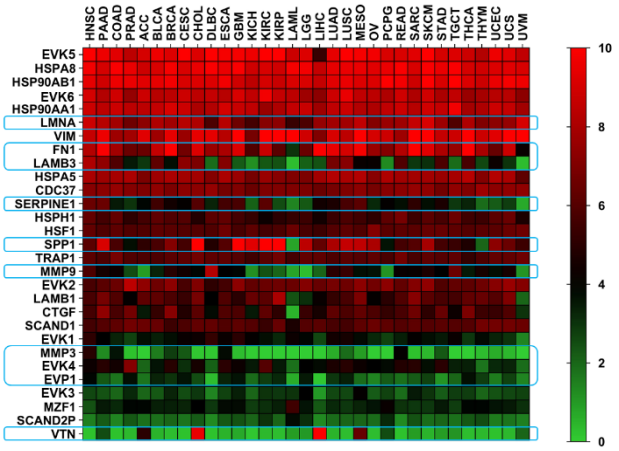
図７：　細胞外小胞キナーゼの頭頸部がん腫瘍組織と正常組織における発現レベル比較



癌種特異性

キナーゼ等の各遺伝子発現の高さを癌種別に評価するためにマトリックスプロットを作成した。EVK5, EVK6, HSPA8, HSP90AB1, HSP90AA1 はほとんどの癌種で高発現であった(図８). これに対して, EVK1, EVK4, SERPINE1 などの癌種特異的に高発現していたものも見つかった. 数多くの癌種で発現する因子は, 共通バイオマーカーおよび標的となりうると同時に, 正常組織においても高発現するハウスキーピング因子である可能性を考慮する必要がある. これに対して, 癌種特異的に高発現する因子は, 腫瘍組織をより特異的に標的とできる可能性がある.

図８： 細胞外小胞キナーゼおよび関連因子の癌種別発現レベル（マトリックスプロット）



考察

今回の研究で私たちは, 転移性頭頸部がんや癌オルガノイドが分泌する細胞外小胞には数種類のキナーゼが含まれていることを明らかにした. とりわけ, EVK1 と EVK5 は, 頭頸部がん患者の生存期間短縮と相関する新規バイオマーカーであり標的候補であることを明らかにした. また, キナーゼ特異的シャペロンである CDC37 も同様に頭頸部がん患者の生存期間短縮と相関する新規バイオマーカーであり標的候補であることを明らかにした. 一方で, ホスファターゼである EVP1 や他のキナーゼ群（EVK2, EVK3, EVK4）は, 腫瘍組織よりもむしろ正常組織においてより高発現しており, 生存期間延長と相関するものもみられたため, 新規がん抑制因子候補である. EVK1, EVK5, EVK4, EVK2 および CDC37 は, 頭頸部がんに限らず, 他の様々な癌種においても生存率短縮や延長を予測できるバイオマーカーとして有用であることを明らかにした.

細胞外小胞は, その産生細胞から受容細胞へとさまざまな分子種をトランスファーする機能を持っている. このため, 機能性キナーゼが転移性癌細胞から周囲の細胞へと渡され, 細胞に大きな影響を及ぼすと想定される. 同定したもののうち, 大腸がんオルガノイド由来 EV キナーゼは, EVK5 と EVK6 であり, いずれも解糖系を制御し, がん幹細胞性に関わるキナーゼである. 三次元培養で形成したオルガノイド（Tumoroid）は高度ながん幹細胞性を備えていることを我々は報告している(Eguchi et al., 2022b; Eguchi et al., 2018; Sogawa et al., 2020; Taha et al., 2020). EVK5 および EVK6 が EV に含まれた形で分泌され, 周囲の細胞に受け渡されてがん微小環境を大きく改変している可能性がある. 特に, がん関連線維芽細胞（CAF), M2 型腫瘍関連マクロファージ（M2 TAM), 骨髄由来抑制性細胞（MDSC), 制御性 T 細胞（Treg）を活性化してしまい, 癌促進性で免疫抑制性の微小環境や転移ニッチを形成してしまうことも想定される。

本研究で, 転移性大腸がんオルガノイド EV には筋型キナーゼが含有されており, この EVK5 は MMP3 遺伝子欠失によって EV から消失した（図１). 我々は以前に, MMP3 欠失は, 大腸がんオルガノイドおよびその EV を顕著に脆弱化させ, がんオルガノイドを壊死させることを報告した(Okusha et al., 2020; Taha et al., 2020). すなわち, 癌促進因子 MMP3 が癌の糖代謝を司る EVK5 を正に制御し, 腫瘍, 細胞外小胞, 腫瘍微小環境を癌にとって有利な環境へと変化させていることが示唆される.

同定した舌がん EV キナーゼのうち, EVK1 と EVK4 は, 筋収縮を促すキナーゼである. 舌はそのほとんどが筋細胞から成っている. これらの筋収縮性キナーゼが EV 依存性分子伝播することは, 癌細胞の運動性ひいては遊走性, 浸潤性, 転移性に関わっている可能性がある.

同定した舌がんキナーゼのうち, EVK3 はオートフ

ァゴソームのキナーゼであり，EVK2 はミトコンドリアのキナーゼである．さらに我々は，キナーゼ以外にも EV からオートファジー関連因子やミトコンドリア因子を同定している．近年，オートファゴソームやミトコンドリアが細胞外小胞を介して分泌されることが明らかになっている（Sheta et al., 2023a）．したがって，舌がん細胞において，オートファゴソームと細胞外小胞が融合して分泌されるオートファジー様細胞外小胞（Autophagic EV）や，ミトコンドリアが分泌されるマイトファジーが起こっている可能性がある．

今回の研究で我々は，リンパ節転移性舌がん細胞や肺転移性大腸がんオルガノイドが分泌する細胞外小胞に含まれるキナーゼ群（EVKs：EVK1－EVK6）およびホスファターゼを発見し，このうち EVK1 および EVK5 が頭頸部がんや他の癌の患者の生存期間を予測できる新規バイオマーカーであることを明らかにした．

謝辞

本研究を遂行するにあたり，小野喜章博士，十川千春博士，吉田国弘大学院生，エマン・タハ博士，モナ・シータ博士の技術支援や相談したことについて感謝する．

資金

本研究は，公益財団法人ウエスコ学術振興財団の研究活動費助成金の支援を受けて実施した．

参考文献

Calderwood, S.K. (2015). Cdc37 as a co-chaperone to Hsp90. Sub-cellular biochemistry *78*, 103-112.

Eguchi, T., Csizmadia, E., Kawai, H., Sheta, M., Yoshida, K., Prince, T.L., Wegiel, B., and Calderwood, S.K. (2022a). SCAND1 Reverses Epithelial-to-Mesenchymal Transition (EMT) and Suppresses Prostate Cancer Growth and Migration. Cells *11*.

Eguchi, T., Okusha, Y., Lu, Y., Ono, K., Taha, E.A., and Fukuoka, S. (2023). Comprehensive Method for Exosome Isolation and Proteome Analysis for Detection of CCN Factors in/on Exosomes. In CCN Proteins: Methods and Protocols, M. Takigawa, ed. (New York, NY: Humana), pp. 59-76.

Eguchi, T., Prince, T.L., Tran, M.T., Sogawa, C., Lang, B.J., and Calderwood, S.K. (2019). MZF1 and SCAND1 Reciprocally Regulate CDC37 Gene Expression in Prostate Cancer. Cancers (Basel) *11*, 792.

Eguchi, T., Sheta, M., Fujii, M., and Calderwood, S.K. (2022b). Cancer Extracellular Vesicles, Tumoroid Models, and Tumor Microenvironment. Semin Cancer Biol *86*, 112-126.

Eguchi, T., Sogawa, C., Okusha, Y., Uchibe, K., Iinuma, R., Ono, K., Nakano, K., Murakami, J., Itoh, M., Arai, K.*, et al.* (2018). Organoids with Cancer Stem Cell-like Properties Secrete Exosomes and HSP90 in a 3D NanoEnvironment. PLoS One *13*, e0191109.

Eguchi, T., Sogawa, C., Ono, K., Matsumoto, M., Tran, M.T., Okusha, Y., Lang, B.J., Okamoto, K., and Calderwood, S.K. (2020). Cell Stress Induced Stressome Release Including Damaged Membrane Vesicles and Extracellular HSP90 by Prostate Cancer Cells. Cells *9*, 755.

Okusha, Y., Eguchi, T., Tran, M.T., Sogawa, C., Yoshida, K., Itagaki, M., Taha, E.A., Ono, K., Aoyama, E., Okamura, H.*, et al.* (2020). Extracellular Vesicles Enriched with Moonlighting Metalloproteinase Are Highly Transmissive, Pro-Tumorigenic, and Trans-Activates Cellular Communication Network Factor (CCN2/CTGF): CRISPR against Cancer. Cancers (Basel) *12*, 881.

Ono, K., and Eguchi, T. (in press). Large-scale databases and portals on cancer genome to analyze chaperone genes correlated to patient prognosis. In Chaperones, S.K. Calderwood, ed. (Springer Nature).

Ono, K., Eguchi, T., Sogawa, C., Calderwood, S.K., Futagawa, J., Kasai, T., Seno, M., Okamoto, K., Sasaki, A., and Kozaki, K. (2018). HSP-enriched properties of extracellular vesicles involve survival of metastatic oral cancer cells. J Cell Biochem *119*, 7350-7362.

Sheta, M., Taha, E.A., Lu, Y., and Eguchi, T. (2023a). Extracellular Vesicles: New Classification and Tumor Immunosuppression. Biology *12*.

Sheta, M., Yoshida, K., Kanemoto, H., Calderwood, S.K., and Eguchi, T. (2023b). Stress-Inducible SCAND Factors Suppress the Stress Response and Are Biomarkers for Enhanced Prognosis in Cancers. International Journal of Molecular Sciences *24*.

Sogawa, C., Eguchi, T., Tran, M.T., Ishige, M., Trin, K., Okusha, Y., Taha, E.A., Lu, Y., Kawai, H., Sogawa, N.*, et al.* (2020). Antiparkinson Drug Benztropine Suppresses Tumor Growth, Circulating Tumor Cells, and Metastasis by Acting on SLC6A3/DAT and Reducing STAT3. Cancers (Basel) *12*, 523.

Taha, E.A., Sogawa, C., Okusha, Y., Kawai, H., Oo, M.W., Elseoudi, A., Lu, Y., Nagatsuka, H., Kubota, S., Satoh, A.*, et al.* (2020). Knockout of MMP3 Weakens Solid Tumor Organoids and Cancer Extracellular Vesicles. Cancers (Basel) *12*, 1260.

Thery, C., Witwer, K.W., Aikawa, E., Alcaraz, M.J., Anderson, J.D., Andriantsitohaina, R., Antoniou, A., Arab, T., Archer, F., Atkin-Smith, G.K.*, et al.* (2018). Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. J Extracell Vesicles *7*, 1535750.

深海に潜む超高感度光受容タンパク質の探索と深部オプトジェネティクスへの展開

岡山大学学術研究院 医歯薬学域（薬学系）

小島慧一

（概要）

光受容タンパク質であるロドプシンは、細胞活動や生理機能を光で操作する技術・オプトジェネティクスのツールとして生命科学分野において注目されている。しかし、ロドプシン分子が吸収する可視光は生体透過性が低く、生体深部には弱い光しか到達しない。そのため、深部オプトジェネティクスを達成するために、光への感度が高い分子を取得することが必要である。私たちが生活する環境とは異なり『深海』は光がほとんど存在しないことが知られている。そこで本研究では、光がほとんど存在しない『深海』に棲む動物のロドプシンに着目し、高感度分子を探索することを目指した。まず、申請者らのグループが独自に遺伝子配列を決定した深海に棲むエビ由来ロドプシン（6 種）の分子解析を行ったところ、3 つの分子は高い G タンパク質活性化能（＝高い感度）を示すことが分かった。今後は、これらの高感度分子を動物個体や細胞へと適用することで、深部でのオプトジェネティクス技術の開発を目指したい。

①研究の背景と目的

ロドプシンは、レチナールを発色団とする光受容膜タンパク質であり、G タンパク質共役型受容体やイオン輸送体として機能する（図１）。そのため、生物（動物や微生物）の光利用を支える分子基盤として、その分子機能の理解が進められてきた[1]。その一方で、近年ロドプシンは、細胞応答や生理応答を光で操作する技術・オプトジェネティクスのツールとしても生命科学分野において注目されている。オプトジェネティクスの発展により、主に脳神経機能の成り立ちの理解が進んできた[1]。しかし、ロドプシン分子が吸収する可視光は生体透過性が低く、生体の深部に到達する弱い光を利用することができない場合も多い。そのため、深部での光操作を行う際には、光ファイバーを生体組織に差し込み、深部へと光を行き届かせる方法がとられているものの、この方法では、組織を傷つけるなどの悪影響が生じることが問題となっていた。そのため、深部オプトジェネティクスを達成するためには、光へと高い感受性を示す『高感度型分子』を取得することが重要である。

申請者はこれまで、様々な生物に由来するロドプシン分子の解析を行い、その分子特性と機能発現メカニズムの理解を進めてきた。さらには、多様なロドプシン分子の分子特性を活かすことで、新しいオプトジェネティクスツールの開発で実績をあげてきた。私たちが生活する環境とは異なり、『深海』は光がほとんど存在しない（太陽光下と比べて光の量は 10^{-8} 倍以下）ことが知られている。そこで本研究では、深海動物のロドプシンに着目し、高感度分子を探索することを目的とした。

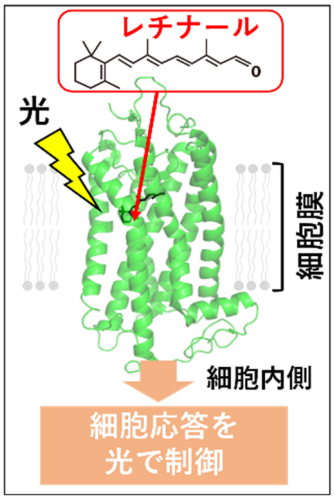


図１

②今年度の実施内容と結果

今年度は、申請者らが独自に配列を決定した深海エビ由来ロドプシン（6 種）を対象に研究を行った。

まず、既報に沿って[2]、リン酸カルシウム法またはポリエチレンイミンを用いて、哺乳類培養細胞（HEK293）へとロドプシン遺伝子をトランスフェクションし、組換え体を発現させた。そして、細胞膜を回収し、ロドプシンの C 末端に付加した Rho1D4 配列に特異的な抗体を用いてウエスタンブロッティングを行ったところ、全てのロドプシンにおいて、目的の分子量の箇所にバンドが確認できた。以上のことから、全てのロドプシン分子において、組み換えタンパク質の発現に成功したと考えられた。

次に、各ロドプシンとカルシウムセンサーである発光タンパク質を培養細胞へと共発現させ、光を照射し、Gq タンパク質の活性化に伴うカルシウム濃度変化が引き起こされるのかを検証した。その結果、2 つの分子では有意なカルシウム濃度上昇は見られなかったものの、4 つの分子（Rh1, Rh2, Rh3, Rh5）で光依存的なカルシウム濃度上昇が確認できた。そこで、カルシウム濃度変化を指標として、各オプシンの Gq タンパク質の活性化能を定量的に比較したところ、3 つの分子（Rh2, Rh3, Rh5）は、高い Gq 活性化能を持ち、オプトジェネティクスツールとしても汎用されている hOpn4 の 1/2 倍程度の活性を示すことが分かった（図 2）。すなわち、これら 3 つの分子は、高い Gq 活性化能を示すことがわかった。

さらに精製試料を用いた分光解析、および G タンパク質活性化能の作用スペクトルの測定を行ったところ、いずれのオプシンも吸収極大波長が 460~530 nm であり、可視光を吸収することが分かった。また、1 つのロドプシン（Rh6）は、光照射に伴って全トランス型レチナールを 11 シス型レチナールへと異性化する働きを持つ、すなわち光異性化酵素として機能することが分かった。

G タンパク質を活性化するロドプシンは、オプトジェネティクスツールとして汎用されている ChR と比べて、1000 倍程度高い感度を示すと考えられており[3]、また G タンパク質の活性化の効率は感度にも直結する因子である。そのため、今回同定した 3 つの分子（Rh2, Rh3, Rh5）は ChR よりも高い感度を示す可能性が示唆された。このことから、これら 3 つの分子は深部でのオプトジェネティクスに有用なツールになりうると考えられた。今後は、動物個体や細胞へと高感度分子を導入し、生体深部におけるオプトジェネティクスの実証へと繋げたい。

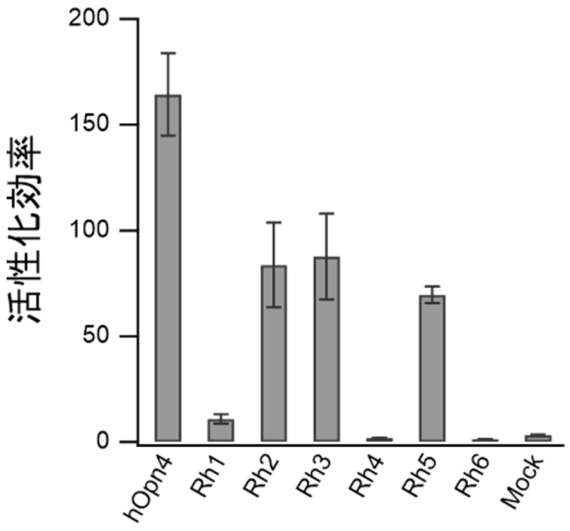


図 2：G タンパク質活性化効率の比較

③謝辞

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

④参考文献

1. 小島慧一 “光受容タンパク質・ロドプシンの生物物理化学研究” 薬学雑誌 141, 1155-1160.

2. Kojima K, Matsutani Y, Yanagawa M, Imamoto Y, Yamano Y, Wada A, Shichida Y, Yamashita T. “Evolutionary adaptation of visual pigments in geckos for their photic environment” Sci. Adv. (2021) 7, eabj1316.

3. Koyanagi M, Shen B, Nagata T, Sun L, Wada S, Kamimura S, Kage-Nakadai E, Terakita A. “High-performance optical control of GPCR signaling by bistable animal opsins MosOpn3 and LamPP in a molecular property-dependent manner” Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. (2022) 119, e2204341119.

⑤本研究に関わる研究業績

1. **Kojima K**, Nagata Y, Miyamoto N, Sato K,

Yamanaka Y, Nishimura Y, Yoshizawa S, Takai K, Ohuchi H, Yamashita T, Sudo Y. “Molecular properties of opsins from the deep-sea hydrothermal vent shrimp *Rimicaris hybisae*” 第 60 回日本生物物理学会年会 (2022 年)

2. 長田 祐也, 宮本 教生, 佐藤 恵太, 山中 悠嗣, 西村 陽介, 吉澤 晋, 高井 研, 大内 淑代, 山下 高廣, 須藤 雄気, **小島 慧一** “深海に棲むオハラエビ *Rimicaris hybisae* が持つオプシン類の分子機能解析” 第 45 回日本分子生物学会年会 (2022 年)

（表　題）肺癌幹細胞と腫瘍微小環境を標的とした革新的腫瘍免疫療法の開発

（所　属）岡山大学病院　呼吸器・アレルギー内科

（氏　名）大橋　圭明

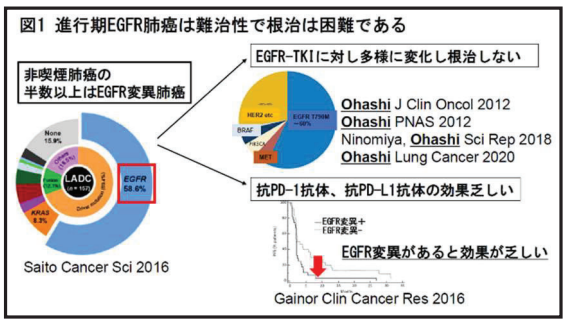
（概要）

進行期肺癌は癌死亡数が第 1 位の難治癌の代表であり、また上皮成長因子受容体（EGFR）遺伝子変異を有する肺癌（EGFR 肺癌）は、日本人の非喫煙者に発生する肺腺癌の半数以上を占める非常に重要な疾患である。EGFR チロシンキナーゼ阻害薬（TKI）は、発癌の原因である EGFR シグナルを阻害し、EGFR 肺癌を一過性に制御するが、耐性化は避けられないため、根的な新規治療戦略の開発が強く求められている。多分化能、多剤薬剤耐性能をもつ癌幹細胞（cancer stem cells：CSCs)が根治の障壁として重要な役割を担っていると考えられてるが、病態は未解明である。また、CSCs の in vivo モデルも十分に確立していない。今回、我々は幹細胞のマスター転写因子の一つである Oct4 に着目し、Oct4 発現を GFP で標識した遺伝子改変マウス(RBRC00821)（以下 C57BL/6 Oct4-GFP と標記)を岡山大学で樹立された *Egfr* 変異肺癌マウスモデルを交配した（C57BL/6 Egfr/Oct4-GFP)。マウス肺腫瘍に、Oct4 陽性腫瘍細胞の存在を確認し、Oct4 陽性細胞が CSCs の性格を有しているか、また腫瘍微小環境（tumor microenvironment: TME）の間質細胞、免疫細胞との相互関係について検討中である。

（本文）

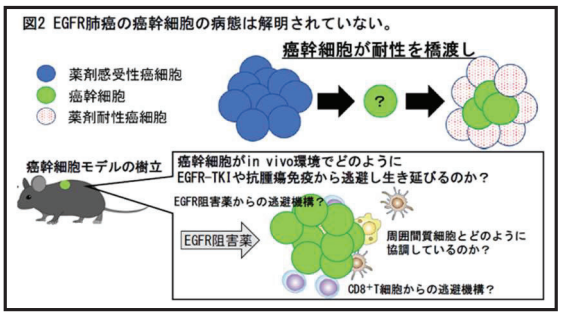
はじめに

進行期肺癌は癌死亡数が第 1 位の難治癌の代表である。その中で、上皮成長因子受容体（EGFR）遺伝子変異を有する肺癌（EGFR 肺癌）は、日本人の非喫煙者に発生する肺腺癌の半数以上を占める非常に重要な疾患である（図 1)。



EGFR チロシンキナーゼ阻害薬（TKI）は、発癌の原因である EGFR シグナルを阻害し、EGFR 肺癌を一過性に制御するが、耐性化は避けられない（Ohashi PNAS 2012, Ohashi J Clin Oncol 2012)。また、抗 PD-1 抗体など免疫チェックポイント阻害薬など腫瘍免疫を利用した新規治療は、根治が期待されているが、残念ながら EGFR 肺癌に対し効果は乏しい。そのため、根治的な効果をもたらす新規治療戦略の開発が強く求められている。

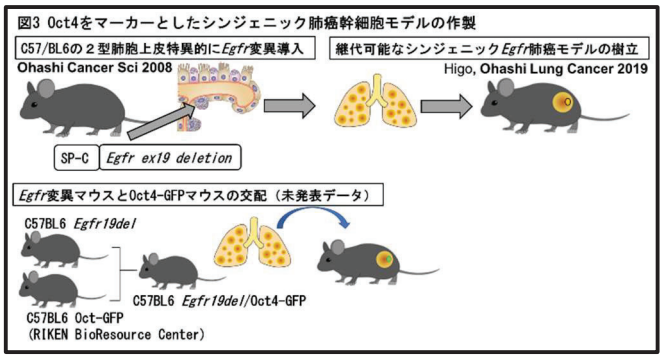
薬物療法によって、肺癌が根絶できない理由として、多分化能、多剤薬剤耐性能をもつ癌幹細胞（cancer stem cells：CSCs)が重要な役割を担っていると考えられてるが、病態は未解明である。CSCs の病態解明、新規治療開発には、in vivo モデルの確立が重要と考えるが、CSCs を再現するマウスモデルは樹立されておらず、CSCs と腫瘍微小環境（tumor microenvironment: TME）の間質細胞、免疫細胞との相互関係についても未解明である（図 2）



方法と結果

本研究のためEgfr変異をマウス2型肺胞上皮(AT2)細胞へ特異的に発現させた肺癌マウスモデル（C57BL/6 Egfrex19del Ohashi Cacner Sci 2008)、及び皮下移植により継代可能なシンジェニックマウスモデル(Higo Lung Cancer 2019)を樹立した（図

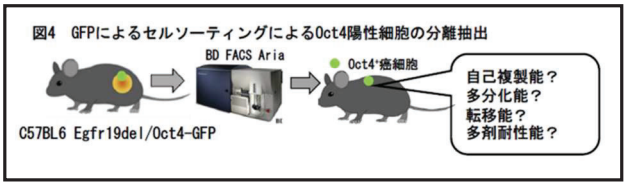
3)。さらに癌幹細胞を分離するためのマーカーとして、幹細胞のマスター転写因子の一つである Oct4 に着目し、Oct4 発現を GFP で標識した遺伝子改変マウス(RBRC00821)を理化学研究所バイオリソースセンターから供与を受けた(以下 C57BL/6 Oct4-GFP と標記)。岡山大学動物資源部門においてこれらマウスを交配し、新たに作製したマウス(C57BL/6 Egfr/Oct4-GFP) の肺腫瘍から、皮下移植にて継代できるシンジェニックマウスを作製した（図 3)。



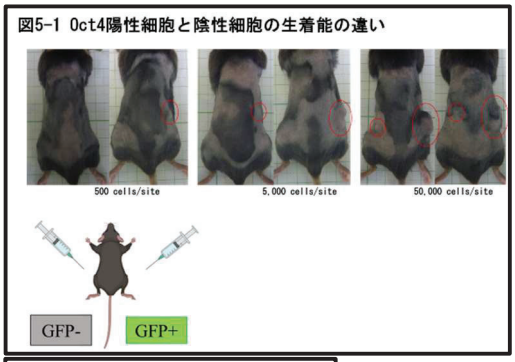
腫瘍内の GFP 発現を確認したところ、分化した正常組織では発現を認めない多能性マーカーOct4 を発現した癌細胞の存在を一定数確認することができた。in vivo で Oct4 陽性細胞が癌幹細胞の特徴（自己複製能、多分化能、転移能、多剤薬剤耐性など）を有するかどうか検証した。

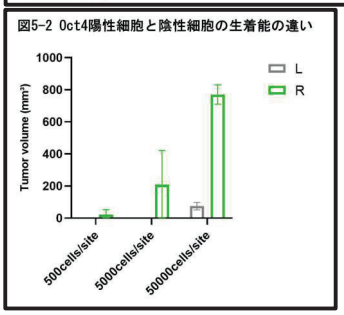
1.　生着能

セルソーティングによる Oct4-GFP 陽性(Oct4+)の癌細胞を分離、植え付け(図４)



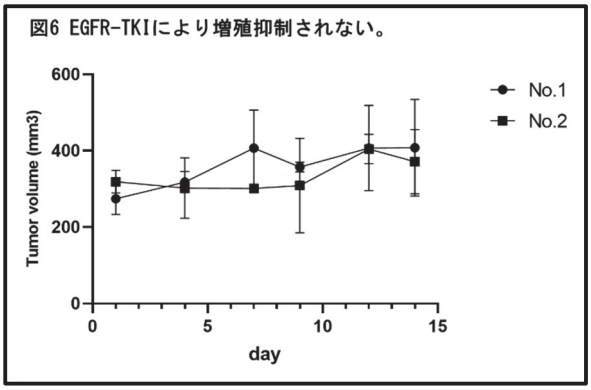
GFP 陽性細胞と陰性細胞で、生着能の差があるかどうか検証した。FACS Aria により GFP 陽性細胞と陰性細胞をそれぞれ 500 個、5000 個、50000 個と 3 パターンをソートし、右側に GFP 陽性細胞、左側に G 陰性細胞の植え付けを行い観察した。植え付け 3 週間後の評価したところ、GFP 陽性細胞集団の方が生着成功率が高かった（図５)。





2.薬剤耐性能：

ソーティングしていない状況では、EGFR-TKI により増殖能が抑制される。GFP 陽性細胞は、EGFR-TKI に腫瘍増殖が抑制されなかった（図６)。



展望

Oct4 陽性細胞が CSCs と呼称できる性質をもっているか多角的に確認し、腫瘍微小環境との相互作用について遺伝子発現解析など包括的に解析予定である。実験モデルの確立し、CSCs の治療標的の同定、新規治療戦略の確立を目指す。

非対称化を鍵とするビシクロ[3.2.1]オクタン環含有テルペノイドの迅速合成

岡山大学学術研究院環境生命自然科学学域

溝口　玄樹

本研究では、様々な生物活性が知られるビシクロ[3.2.1]オクタン環含有テルペノイドの合成法の確立を目指した。対称構造の非対称化を利用することで合成の効率化を試み、多環性の骨格を迅速に組み上げる手法を検討した。本年度の研究では、パラジウム触媒を用いる非対称化によるビシクロ[3.2.1]オクタン骨格合成法の開発、およびこれを活用する四環性骨格の合成を行った。前者については、パラジウム塩や配位子、塩基などの反応条件を最適化することで、ラセミ合成ではほぼ定量的に目的物が得られることを見出した。また、様々なキラル配位子を本反応に適用したところ、エナンチオ過剰率は低いものの、立体選択的な合成が可能であることを明らかにした。また、後者については Friedel-Crafts 反応やパラジウム触媒を用いる環化反応を利用することで、市販の原料から短段階で四環性骨格を得ることができた。脱芳香族化による天然物合成への展開は現在検討中であるものの、高度に酸化された骨格を効率的に得る手法を見出したので報告する。

【背景と目的】

ビシクロ[3.2.1]オクタン環を有する天然有機化合物には、イオンチャネルの機能を変調するグラヤノトキシンや、抗炎症・抗腫瘍活性を示すオリドニンをはじめとする特異かつ強力な生物活性を示すものが多く存在し、生薬の有効成分などとして活用されている（図１a）。これら化合物群の特徴として、ビシクロ環と縮環した多環性骨格上に多数の酸素官能基を持つことがあげられ、その配置や立体化学によって構造多様性が生み出されている(1000 種を超える類縁体)。これらの天然物やその人口類縁体を効率的に供給できれば、医薬品のシード化合物の探索や生命現象の理解などへの貢献が期待できる。このような背景から、合成化学的にも注目されてきた分子群であるが、複雑な骨格のため化合物特異的で非常に長い工程を必要とする合成が多く、物質供給上の課題となってきた。近年になり、効率的な合成戦略が次々と報告されるようになってきたが、まだまだ多様な天然物の統一的な合成法が開発されたわけではなく、独自の合成手法の開発によって初めて入手できる化合物も多いことから、新規合成手法の開拓が望まれる。本研究では、容易に入手可能でシンプルな対称分子を立体選択的に非対称化することで、これら分子に共通するコア構造であるビシクロ[3.2.1]オクタン環を構築し、続く環化反応によって多環性骨格を生み出すアプローチを基盤とする独自の合成戦略を考案した（図１b）。ここに、生合成模倣型の

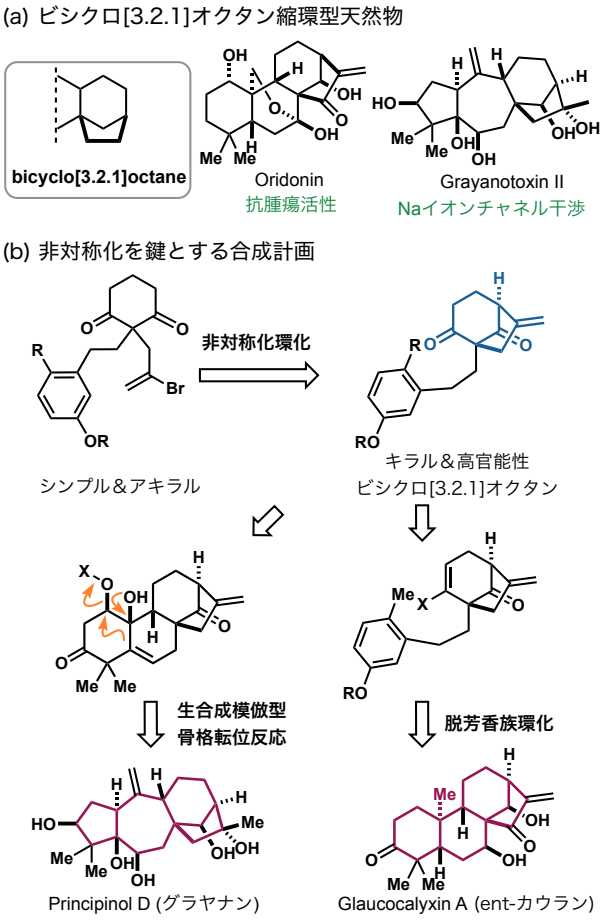


図 1. ビシクロ[3.2.1]オクタン縮環型天然物と合成計画

骨格転位反応による環構造の組み替えや、脱芳香族化反応の活用による高酸化型構造の効率的導入を組み合わせていくことで、グラヤナン骨格や *ent*-カウラン骨格を持つ複雑な分子群への効率的なアクセスが可能となると計画した。

【結果と考察】

① ビシクロ[3.2.1]オクタン骨格の構築と四環性骨格の迅速合成

まずは、骨格転位反応によるグラヤナン型天然物の合成を念頭に、非対称化によるビシクロ[3.2.1]オクタン環の合成を試みた。市販のシクロヘキサンジオンから誘導した対称のジケトンに対し、パラジウム触媒を用いるα-ビニル化反応を検討した（図 2）。酸化的付加によって生じるビニルパラジウムが、左右どちらかのケトンから生じたエノラートと結合形成し、還元的脱離することで非対称化を伴いながらビシクロ[3.2.1]オクタンが合成できると考えた。この手法では、生成物に環境の異なる二種類のケトンとアルケン、また橋頭位の四級炭素を導入できるためその後の官能基がしやすい有用な分子を合成できる。パラジウム塩や配位子、塩基の種類や反応条件を詳細に調べたところ、図に示す条件にてほぼ定量的に目的のビシクロ[3.2.1]オクタンが得られることを見出した。この際、キラルなリガンドを使うことで、左右どちらのエノラートと反応するかを制御できれば、非対称化を伴いながらビシクロ環を不斉合成できるはずである。そこで、いくつかの配位子を検討したところ、エナンチオ過剰率は低いものの（Segphos を利用したとき 16%ee）不斉化の可能性を示すことができた。

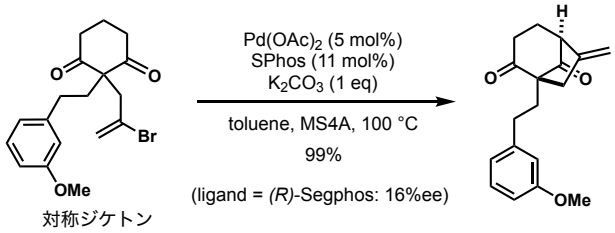


図 2. パラジウム触媒による非対称化型α-ビニル化

続いて、四環性骨格の構築に取り掛かった（図 3）。立体的に空いている左側のケトンを酸で活性化しながら Friedel-Crafts 反応を引き起こせば、望みの四環性骨格が得られると考え、様々なルイス酸および

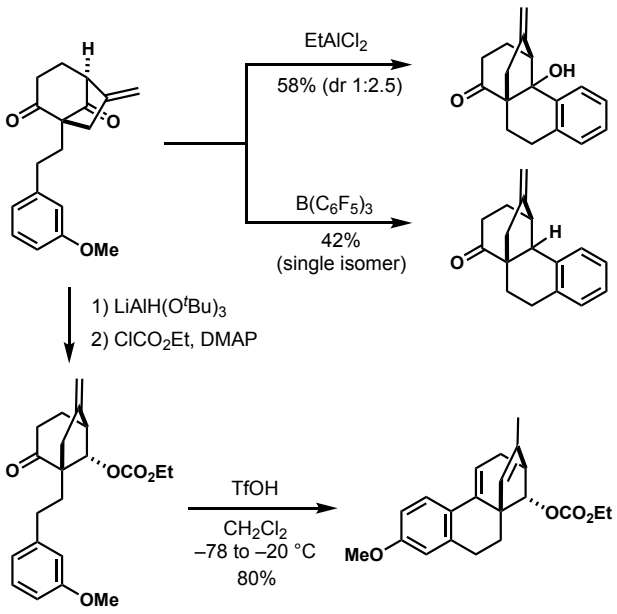


図 3. Friedel–Crafts 反応による四環性骨格の構築

ブレンステッド酸を用いて反応を検討した。その結果、予想外なことに、右側のケトンとの Friedel-Crafts 反応が位置選択的に進行し、天然物とは異なる縮環骨格が得られることが明らかになった。このことは、パラジウム触媒による非対称化を伴う環化で得られるビシクロ[3.2.1]オクタン骨格においては、その歪みにより右側のケトンの反応性が非常に高くなっていることを示唆している。また、興味深いことに、ルイス酸によっては、反応系中にて環化で生じた水酸基が還元された生成物が得られることがわかった。特に、ペンタフルオロフェニルホウ素を用いた場合、立体化学は未決定であるものの高い立体選択性で反応が進行し、還元された環化体が効率的に得られた。本反応では、基質のベンジル位水素が還元剤として働いている可能性が考えられるものの、詳細については明らかになっていない。調べた限りにおいて類似の先例も無く、興味深い反応となった。

目的の位置で環化反応を進行させるため、反応性の高いケトンを先に還元することとした。その高い反応性から、弱い還元剤を使用することで位置選択的に還元が進行すると考えた。実際、シアノ水素化ホウ素ナトリウムやリチウムトリ-*tert*-ブトキシアルミニウムヒドリドを用いると右側のケトンが選択的に還元されることがわかった。生じた水酸基を保護したのち、酸による Friedel-Crafts 環化を検討した。

様々な副反応によって複雑化する傾向にあったが、ブレンステッド酸であるトリフルオロメタンスルホン酸を活性化剤とし、–78 度から–20 度まで昇温しながら反応を行うことで、Friedel-Crafts 環化、脱水、アルケンの異性化が進行した生成物と収率 80%で得ることに成功した。また、酸性条件下でトリエチルシランを反応させることで、スチレン部位の還元にも成功している。現在は、生合成模倣型の転位前駆体の合成に向けて、酸化的脱方向族化を経る官能基化の検討を行っている。

② 脱芳香族環化によるカウラン型骨格の構築

上で示したように、非対称化によりビシクロ[3.2.1]オクタン環が合成できるようになったため、これを利用し、脱芳香族化を伴う環化を行うことで *ent*-カウラン型の天然物への合成経路を検討することとした。芳香環上にメチル基を持つ対称ジケトンに対し、パラジウム触媒を用いるα-ビニル化と選択的還元、そしてMOM基による保護を行うことでビシクロ環を持つケトンを合成した（図4）。これをビニルトリフラートへと変換し、シリル基を除去することでフェノールとした。フェノールに対し、パラジウム触媒を作用させて脱芳香族環化を試みた。ビニルトリフラート部位での酸化的付加でビニルパラジウムが生じたのち、フェノールのパラ位からの脱芳香族化を伴う求核攻撃でパラダサイクルが生じ、続く還元的脱離により *ent*-カウラン型の骨格が得られると考えた。

しかしながら、パラジウム塩や配位子、塩基の種類、反応条件、添加剤などを種々検討したものの、得られてきたものは、環化が進行したものの芳香環の残っているフェノール体ばかりであった。この生成物も同様の反応機構で生じているものと考えられるが、フェノールからの求核攻撃がパラ位ではなくオルト位から進行し、環化ののちに再芳香族化したものと考えられる。一般的に、このような炭素—炭素結合形成では、芳香環側をメタル化して活性化する必要があることから、それを必要としない本環化反応は骨格形成法として有用であると考えられるが、当初の狙いであった脱芳香族化を伴う四級炭素構築には現在のところ成功していない。ここで、目的の反応

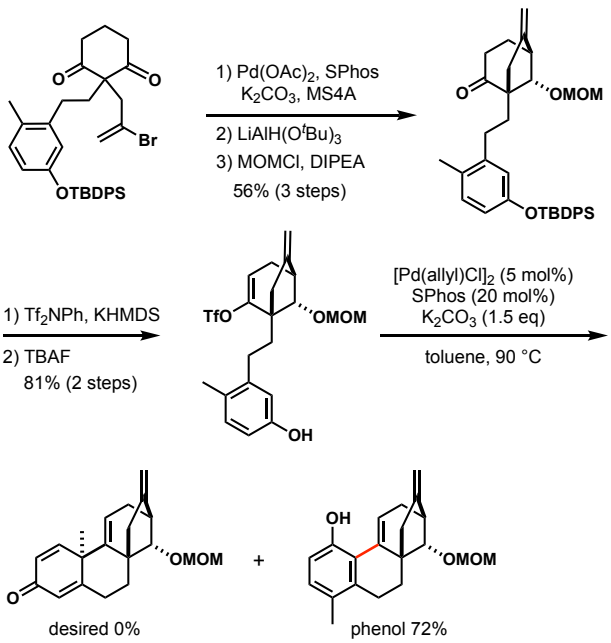


図 4. パラジウム触媒による脱芳香族環化の試み

の進行しない原因として、ビシクロ[3.2.1]オクタン環による立体障害が影響しているかどうかを確認するため、よりシンプルな基質を用いた同様の環化を検討した（図5）。しかしながら、ビシクロ環を持たない基質においても、同様にオルト位での環化が進行したフェノール体のみが得られてきたことから、このようなビニルトリフラートにおいては、脱芳香族環化は困難であると結論づけた。

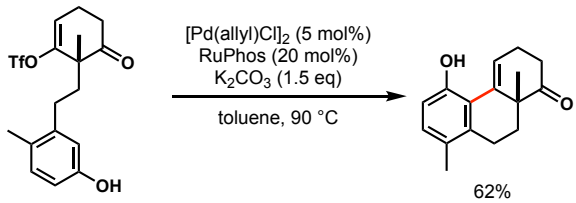


図 5. パラジウム触媒による脱芳香族環化の試み2

【結論】

以上本研究では、非対称化を鍵とするビシクロ[3.2.1]オクタン環含有天然物の合成を目指し、合成経路の開発を検討した。パラジウム触媒を用いる非対称化型α-ビニル化によりビシクロ[3.2.1]オクタン環を構築し、続く Friedel-Crafrts 環化やパラジウム触媒を用いたアリール化により四環性骨格を構築した。天然物の合成にはまだ多くの課題は残しているが、市販の原料から短工程で官能基化された四環性骨格を得る手法をいくつか開発することができた。今後は、得られた骨格の脱芳香族化と官能基化により天然物骨格の合成へと展開したい。

円偏光発光材料を志向した高次アザヘリセンの開発

岡山大学学術研究院自然科学学域

前田 千尋

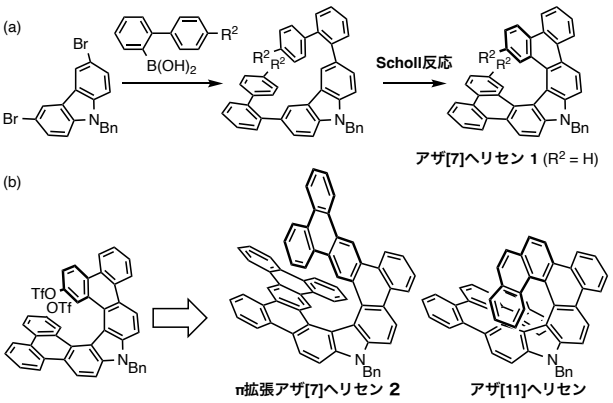
（概要）円偏光発光（CPL）とは左円偏光と右円偏光の強度差によって生じるキラル発光現象であり、CPL 色素は 3D ディスプレイや植物の成長制御への応用が期待されている。ヘリセンはベンゼン環あるいはヘテロ環がオルト位で縮環することで螺旋状に共役系が拡張したキラルπ共役系化合物であり、次世代 CPL 材料として注目されている。これまでに様々なヘリセンが報告されているが、従来のものは合成が煩雑であり置換基の導入も困難なため、機能を発現させるための誘導体の合成が難しい。さらに通常苦労して合成したヘリセンは P 体と M 体のラセミ混合物であり、それらの光学分割も困難であるため十分な量を得ることができず応用展開がほとんどできていない。最近申請者は短工程高収率（市販品から 2 段階 90%収率）での新規含窒素ヘリセン（アザヘリセン）の合成を達成し、その置換基効果についても明らかにしている。本研究ではπ拡張した高次アザヘリセンの開発を行い、ππ拡張がもとのアザヘリセンに及ぼす効果について調査することを目的としている。

1．研究目的

円偏光発光（CPL）を示す有機キラル化合物の開発が盛んに行われている。CPL は直線偏光とは異なり、円を描きながら振動する光学特性である。左円偏光と右円偏光の二種類があり、キラル色素に励起光を照射することで発現する。CPL 色素は 3D ディスプレイや植物の成長制御への応用が期待されており、高性能な CPL 色素の開発が課題となっている。

ヘリセンはベンゼン環あるいはヘテロ環がオルト位で縮環することで螺旋状に共役系が拡張したキラルπ共役系化合物であり、次世代 CPL 材料として注目されている。これまでに様々なヘリセンが報告されているが、従来のものは合成が煩雑であり置換基の導入も困難なため、機能を発現させるための誘導体の合成が難しい。さらに通常苦労して合成したヘリセンは P 体と M 体のラセミ混合物であり、それらの光学分割も困難であるため十分な量を得ることができず応用展開がほとんどできていない。

最近申請者は短工程高収率（市販品から 2 段階 90%収率）での新規含窒素ヘリセン（アザヘリセン）**1** の合成を達成し、その置換基効果についても明らかにしている(スキーム 1a)。[1,2] 今後様々な応用展開を計画しており、本研究では螺旋末端にトリフラート(OTf)基を導入したアザヘリセンを足掛かりに置換基導入・π拡張を施すことで高次アザヘリセン **2** やアザ[11]ヘリセンの開発を行い、π拡張がもとのアザヘリセンに及ぼす効果について調査することを目的としている(スキーム 1b)。本年度は **2** の合成とキラル光学特性について明らかにした。

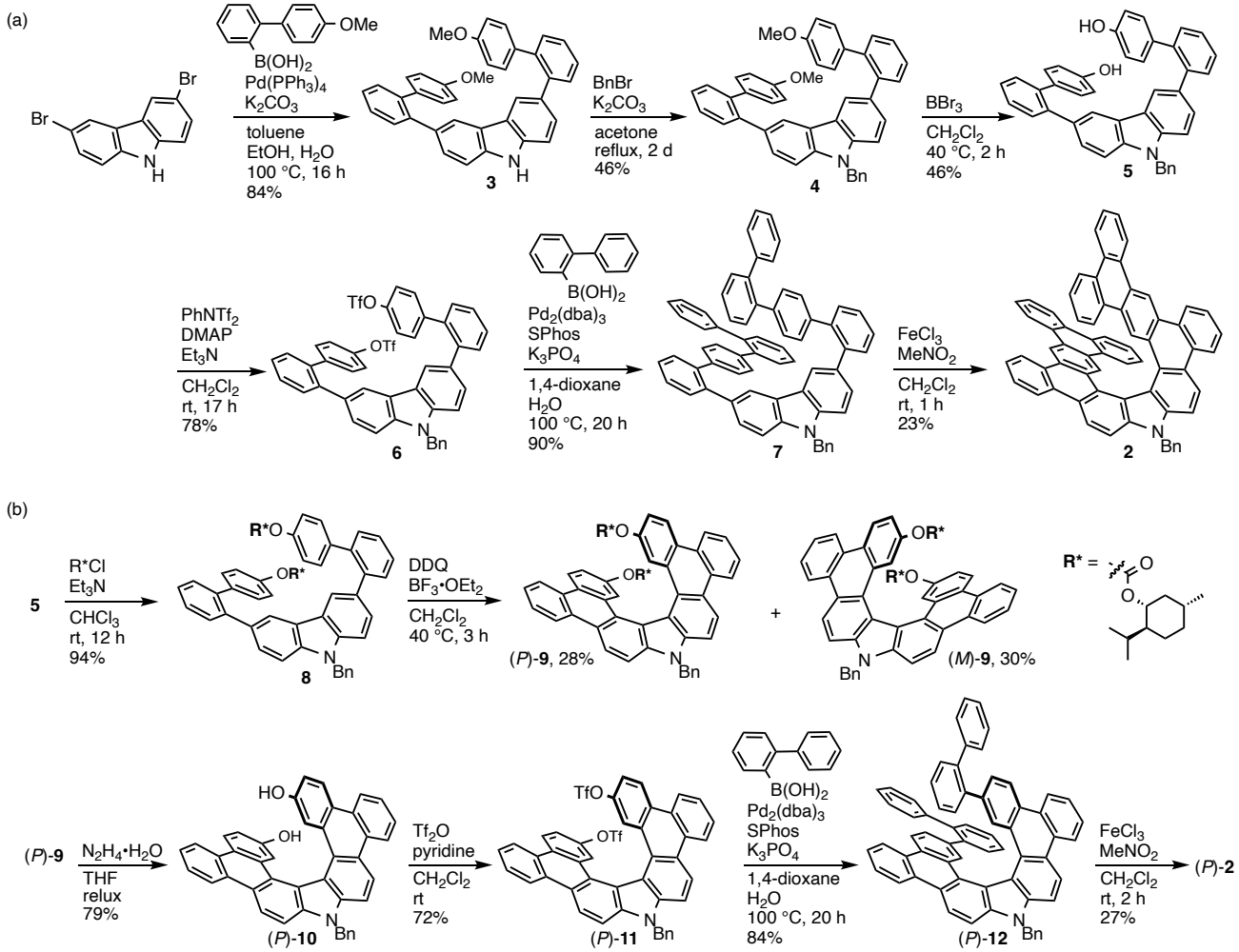


スキーム 1．π拡張アザヘリセンの合成

2．結果と考察

スキーム 2 にラセミ体の **2** の合成および光学活性なジアステレオマー中間体を経たエナンチオマー(*P*)-**2** の合成を示す。3,6-dibromocarbazole と 4'-methoxybiphenyl-2-boronic acid の鈴木・宮浦カップリングにより **3** を合成し、N 上にベンジル基を導入し、BBr_3 を用いた脱メトキシ基の後 TfO 基に変換した。さらに biphenyl-2-boronic acid との鈴木・宮

浦カップリングによりTfO部位にビフェニルを導入した **7** を得た。$FeCl_3$ を用いた **7** の分子内4箇所での Scholl 反応によってラセミ体の **2** を得た。**2** は NMR、質量分析、及び X 線結晶構造解析(図１)によって明らかにした。[7]ヘリセン部分のねじれ角は 92 度となり、もとのヘリセンの 87 度よりも増加した。さらにキラル HPLC を用いることで(*P*)-**2** と(*M*)-**2** の分離に成功した。



スキーム２．π拡張アザヘリセン **2** の合成

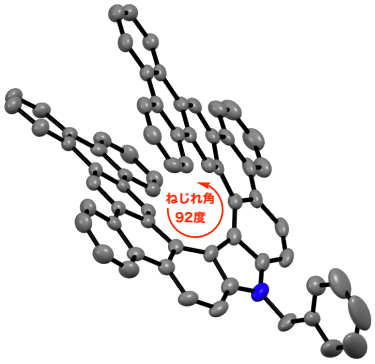


図１．**2** の結晶構造

また **5** に(1R)-menthyl chloroformate を作用させ **8** の Scholl 反応を行うことでキラル補助基をもつアザヘリセン **9** を得た(スキーム 2b)。**9** はジアステレオマーであり(*P*)-**9** と(*M*)-**9** はシリカゲルカラムで分離できた。(*P*)-**9** を脱メンチルし TfO 基に変換し(*P*)-**11** とし、ビフェニルを導入し、$FeCl_3$ を用いた(*P*)-**12** の Scholl 反応によって光学活性体の(*P*)-**2** を得た。

続いて **2** のキラル光学特性を測定し **1** と比較した(図２、表１)。π共役系を拡張した **2** の吸収及び円二色性(CD)スペクトルは **1** よりも長波長側で強い強度を示した。同様に蛍光・CPL スペクトルも長波長シフトし、強度はわずかに上昇した。結晶構造解析から明らかになったようにヘリセンのねじれ角の増大が CD と CPL の異方性因子 g_{abs} と g_{lum} 値の増加に繋がったと考えられる。

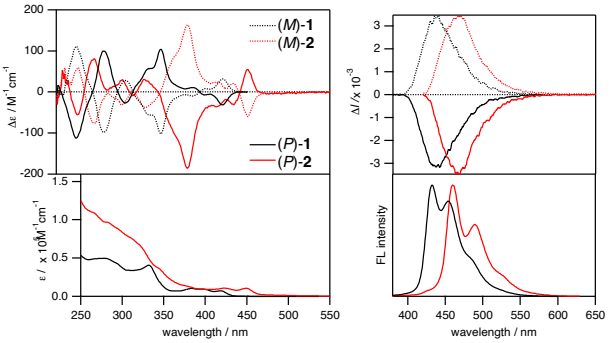


図２．**1** と **2** の光学スペクトル

表１．**1** と **2** のキラル光学特性

	λ_A (nm)	λ_F[a] (nm)	Φ_F	g_{abs}[b] (10^{-3})	g_{lum}[c] (10^{-3})
1	418	432	0.28	4.9	3.2
2	449	460	0.30	5.7	3.4

[a] Excited at λ = 320 nm. [b] $g_{abs} = \Delta\varepsilon/\varepsilon$ at the maximum wavelength of the longest Cotton effects. [c] $g_{lum} = 2(I_L - I_R)/(I_L + I_R)$.

DFT 計算の結果、**2** は **1** と類似した分子軌道を示したが、π 拡張部位まで電子的係数が存在しており、吸収スペクトルの長波長シフトと矛盾しない結果となった(図３)。また最大吸収波長は HOMO–LUMO 遷移と帰属され、**2** の振動子強度は **1** よりも向上しており、実測と計算結果が良い一致を示した。

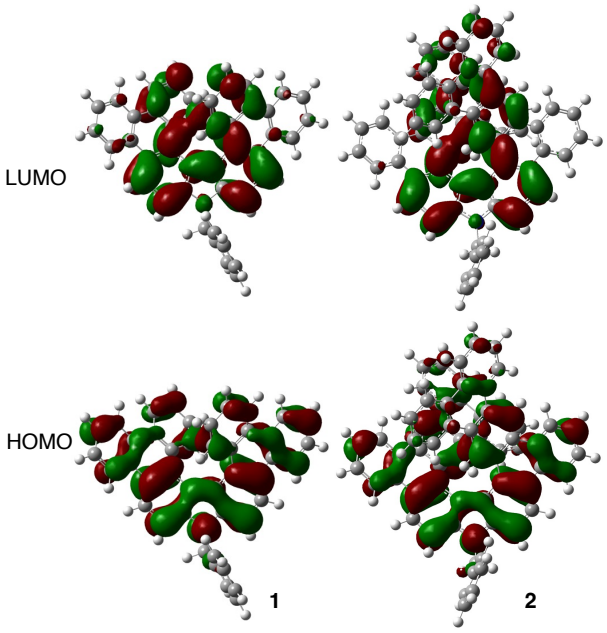


図３．**1** と **2** の HOMO 及び LUMO

３．まとめ

本研究では螺旋末端をビフェニル縮環した π 拡張ヘリセンを新規に合成した。吸収及び蛍光波長が約 30 nm 長波長シフトし蛍光強度及び CPL 強度はわずかに上昇した。この位置での π 拡張は波長の制御に有効であることがわかった。今後は異なる位置で π 拡張したアザヘリセンを合成し、それらのキラル光学特性を評価していく予定である。

４．参考文献

(1) C. Maeda, K. Nagahata, T. Shirakawa, T. Ema, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, *59*, 7813.
(2) C. Maeda, S. Nomoto, K. Akiyama, T. Tanaka, T. Ema, *Chem. Eur. J.* **2021**, *56*, 15699.

サプライチェーンにおけるデータ駆動型進化計算手法の開発

岡山大学学術研究院　自然科学学域

劉　子昂

（概要）

近年、IoT 技術が進展し、原材料の調達から消費までの情報が把握できるようになってきた。従来のサプライチェーン最適化ではビッグデータを利用せず、全体を最適化問題として記述して解を得るというモデルベースのアプローチが採用されてきた。しかしながら、モデルの不確実性に対応するためにはデータ駆動アプローチが必要となる。そこで、本研究ではデータ駆動型進化計算手法によりサプライチェーン全体を最適化するためのアルゴリズムを開発する。本研究の目的は、収集したサプライチェーンの履歴データに基づいて、サプライチェーンの多目的最適化問題を解くことである。提案手法は、シミュレーション結果からランダムフォレストを使用してサロゲートモデルを構築し、多目的進化アルゴリズム NSGA-II を使用して最適化を行う。実験結果は、80%以上の解が履歴データに対して非劣であることが示している。

1. はじめに

サプライチェーンマネジメントは、企業の成功において重要な役割を果たしている[1]。サプライチェーンマネジメントの主な目的は、経営の効率化、利益の増大、コストの削減である[2]。これらの目的を達成するために、数理計画法でサプライチェーン全体を最適化問題として記述し、解を得るという手法が一般的であった。多くの数学モデルや最適化アルゴリズムが提案され、サプライチェーンのパフォーマンスを最適化するために利用されている[2], [3]。サプライチェーン全体を最適化する数学モデルを定式化することが理想的であるが、サプライチェーンの全てのダイナミクスや複雑さを数学的アプローチで捉えることは困難であるため、簡略化された数学モデルが開発されることが多い[4]。また、サプライチェーン最適化問題を解決可能にするため、従来研究では主にサプライチェーンの局所最適化に焦点を当て、多数の仮定を持つ簡略化された最適化モデルを構築している[2]。

サプライチェーンマネジメントにおいて、もう一つよく知られたアプローチはシミュレーション手法である。従来研究[5]では、シミュレーションモデルは過度な簡略化された仮定なしにサプライチェーンの複雑さとダイナミクスを反映できることが示されている。過去の多くの研究は、シミュレーション手法をサプライチェーン分析に適用している[6], [7]。しかしながら、シミュレーションによるサプライチェーンの最適化は依然として大きな課題である。シミュレーションによる最適化は、サプライチェーンの最適化問題を解決するための一般的なフレームワークを提供し、粒子群最適化(PSO)や遺伝的アルゴリズム(GA)などのメタヒューリスティックアルゴリズムが近似最適解を提供することができる。しかしながら、メタヒューリスティックアルゴリズムは多数の関数評価を必要とするため、サプライチェーンシステムのような複雑なシミュレーションにとっては非常に時間がかかる。

本研究では、サプライチェーンの最適化問題のためのデータ駆動型進化アルゴリズムを提案する。本研究の目的は、収集したサプライチェーンの履歴データに基づいて、短時間でサプライチェーンの多目的最適化問題を解くことである。まず、仮想的なサプライチェーンを開発し、その上でシミュレーション実験を行う。そして、シミュレーション結果を訓練データとして、機械学習アルゴリズムによってサロゲートモデルを構築する。最後に、サロゲートモデル上で多目的進化アルゴリズムを使用してサプライチェーンを最適化する。

2. 問題設定

本研究では、1 つのサプライヤー、3 つの配送センター、および 20 の顧客から構成される典型的な 3 階層サプライチェーンモデルを考慮する。すべての配送センターが、(s, S)方式で管理されている。シミュレーション期間は 365 日である。各配送センターは最大 3000 個の在庫を保管できるものとする。初期在庫レベルは 1000 に設定されている。サプライチェーンシミュレーションモデルを実装するために、anyLogistix を用いる。

決定変数は、各配送センターの再発注レベルと発注上限レベルである。$i \in \{1,2,3\}$は、3 つの配送センターのインデックスであり、s_iは配送センターiの再発注レベル、S_iは配送センターiの発注上限レベルを表す。$f_1(s,S)$と$f_2(s,S)$は、それぞれサプライチェーンにおける総コストとサービスレベルを表す。在庫管理問題は以下のように定式化する。

$$\text{Min} \quad \left(f_1(\boldsymbol{s},\boldsymbol{S}),\ -f_2(\boldsymbol{s},\boldsymbol{S})\right) \tag{1}$$

$$\text{s.t.} \quad s_i \le S_i \qquad i = 1,2,3 \tag{2}$$

$$s_i,\ S_i \in \boldsymbol{N} \cup \{0\}, \qquad i = 1,2,3 \tag{3}$$

目的関数は、サプライチェーンの総コストを最小化し、サービスレベルを最大化することである。制約条件 (2) は、再注文レベルが発注上限レベルよりも小さくなければならないことを示している。制約条件 (3) は、再発注レベルと発注上限レベルが非負整数でなければならないことを示している。

3　サプライチェーンにおけるデータ駆動最適化

本研究では、機械学習を用いてサプライチェーンの履歴データからサロゲートモデルを構築し、多目的進化アルゴリズムを用いて最適化を行う。ランダムフォレストアルゴリズムをサプライチェーンのサロゲートモデルの構築に用いる。本研究ではサロゲートモデルを用いて，サプライチェーン全体の総コストとサービスレベルといった値を推定するため、回帰型ランダムフォレストを用いる。このアルゴリズムの利点は、パラメータ調整に多くの労力を必要としないことである。

さらに、NSGA-II (Non-dominated Sorting Genetic Algorithm-II)[8]を多目的最適化問題を解決するために用いる。NSGA-II は、生物進化をもとに考案された、複数の解に対し、関数評価、初期化、非優越ソート、選択、交叉、および突然変異などの操作を加えて解の探索を行う多目的最適化アルゴリズムである。

4. 数値実験

サプライチェーンシミュレーションモデルを使用し、2000 のデータサンプルを生成した。与えられた(s, S)在庫方式に対し、シミュレータの出力は、サプライチェーンの総コストとサービスレベルである。ランダムフォレストの木の数は 100 に設定されている。NSGA-II アルゴリズムでは、世代数は 500、集団サイズは 100、交叉率は 0.9、突然変異率は 0.1 に設定されている。提案手法を評価するために、10 回の実験を行った。

さらに、SBX と多項式突然変異のパラメータη_cおよびη_mを異なる値に設定し、アルゴリズムの超体積を評価するために表 1 に示すように実験を行った。

Table 1: Hypervolume for 4 parameter settings

(η_c, η_m)	(2, 2)	(2, 5)	(5, 2)	(5, 5)
Ave.	69591277	65265742	57388471	60577050
Std.	4792813	8803723	9184812	9319205

表 1 に示されるように、パラメータη_cとη_mを 2 に設定した場合、アルゴリズムのパフォーマンスが最も良くなる。このパラメータ設定では、平均計算時間は 361.7 秒であり、訓練データに対して支配されていない解の割合は 82.4%である。

5. まとめ

本研究は、サプライチェーンにおけるデータ駆動型多目的進化最適化アルゴリズムを提案した。実験結果は、82.4%の解が訓練データに対し非劣であることが示している。この結果から、データ駆動型多目的進化最適化は、サプライチェーンの性能を改善することができると考えられる。

謝辞

本研究を遂行するにあたりご支援を賜りまし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。

参考文献

[1] S. Chopra and P. Meindl, *Supply chain management: Strategy, planning, and operation*, 6th ed. Upper Saddle River, NJ: Pearson, 2014.

[2] L. V. Snyder and Z.-J. M. Shen, *Fundamentals of Supply Chain Theory*. John Wiley & Sons, 2019.

[3] N. Debuchi, T. Nishi, and Z. Liu, "Distributed Optimization for Supply Chain Planning for Multiple Companies Using Subgradient Method and Consensus Control," in *Advances in Production Management Systems. Smart Manufacturing and Logistics Systems: Turning Ideas into Action*, 2022, pp. 216-223.

[4] Y. Chu, F. You, J. M. Wassick, and A. Agarwal, "Simulation-based optimization framework for multi-echelon inventory systems under uncertainty," *Comput. Chem. Eng.*, vol. 73, pp. 1-16, Feb. 2015.

[5] X. Wan, J. F. Pekny, and G. V. Reklaitis, "Simulation-based optimization with surrogate models—Application to supply chain management," *Comput. Chem. Eng.*, vol. 29, no. 6, pp. 1317-1328, May 2005.

[6] M. Noordhoek, W. Dullaert, D. S. W. Lai, and S. de Leeuw, "A simulation-optimization approach for a service-constrained multi-echelon distribution network," *Transp. Res. Part E: Logist. Trans. Rev.*, vol. 114, pp. 292-311, Jun. 2018.

[7] R. Prinz, K. Väätäinen, J. Laitila, L. Sikanen, and A. Asikainen, "Analysis of energy efficiency of forest chip supply systems using discrete-event simulation," *Appl. Energy*, vol. 235, pp. 1369-1380, Feb. 2019.

[8] K. Deb, A. Pratap, S. Agarwal, and T. Meyarivan, "A fast and elitist multiobjective genetic algorithm: NSGA-II," *IEEE Trans. Evol. Comput.*, vol. 6, no. 2, pp. 182-197, Apr. 2002.

不整地未知環境における自律型ロボットのための自己増殖型ニューラルネットワークに基づく環境適応型空間知覚システム

岡山大学学術研究院自然科学学域

戸田　雄一郎

（概要）近年、自律型ロボットは不整地未知環境での様々な用途に期待が高まっており、そのような自律型ロボットには、周囲の 3 次元空間を適応的に知覚・認知して行動計画する能力が求められている。3 次元点群データから環境の知覚情報を抽出するために、様々な 3 次元空間知覚システムが提案されているが、状況に応じて適応的に知覚する環境適応型空間知覚システムは未だ実現していない。そこで本研究では、自己増殖型ニューラルネットワークである Growing Neural Gas（GNG）を用いた空間知覚システムに関する方法論を確立することで環境適応型空間知覚システムを実現する。具体的に本研究では、研究者がこれまでに提案してきた GNG with Different Topologies (GNG-DT)を用いることによって、3 次元不整地環境の空間的な構造を保持したまま、ロボットが走行可能な領域が知覚可能な手法を提案する。さらに、GNG-DT によって学習した位相構造を経路計画手法と組み合わせることによって、未知環境中で目的地まで到達する経路計画手法を提案する。最後に、シミュレーション環境における経路計画実験と実環境における自律走行実験を通して、本研究での有効性を検証していく。

1. 緒言

災害・施工現場や山林管理などの不整地未知環境において自律型ロボットの活躍が期待されている。不整地未知環境で効率よくタスクを遂行するためには、周囲の 3 次元環境を適応的に知覚・認知し、抽出された情報をもとに行動計画していく能力が求められる。近年のセンサ技術の発展により、ロボットは周囲の 3 次元空間を容易に計測可能となり、膨大な 3 次元点群を獲得可能となった。点群は構造化されていないため、このデータから行動計画に関する知覚情報を抽出する必要があり、様々な 3 次元空間知覚システムがこれまで提案されている。特に、近年発達の著しい深層学習を適用した方法論が国内外において展開されており、膨大なデータを用いることにより、認識精度の大幅な向上などを実現している。しかしながら、これらの手法は、ラベルにない未知の環境・対象に対する適応性が低く、環境適応型の統一的な知覚システムの方法論は未だ確立されていない。そこで、本研究では、未知データに対して位相構造を学習する自己増殖型ニューラルネットワークである Growing Neural Gas（GNG）に基づく空間知覚システムに関する方法論を確立する。

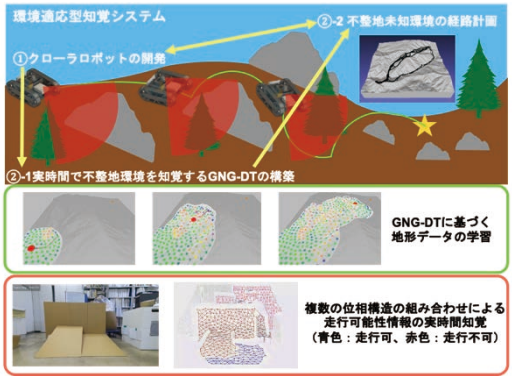


図 1　研究開発の概念図

具体的な研究内容を図 1 に示す。本研究では、不整地走行が可能なクローラロボットを開発するとともに教師なし学習の一つである GNG を用いて 3 次元距離計測センサから計測された点群データの位相構造を学習し、獲得された位相構造から未知環境に設定された目的地へ経路計画する手法を提案する。3 次元点群データを学習する GNG の手法として、先行研究において提案されており、複数の属性から構成される入力ベクトルに対して位置情報の空間構造を学習しつつ、異なる属性ごとの位相構造を構築し各属性情報に応じたクラスタリングが可能な学習アルゴリズム、GNG with Different Topologies（GNG-DT）を用いる。GNG-DT を用いることによって、3

次元不整地環境の空間的な構造を保持したまま、るロボットの身体性に応じた走行可能性に関する属性を GNG-DT の位相構造として設計し、計測された 3 次元点群データからロボットが走行可能な領域を知覚可能となる。さらに、未知環境での経路計画手法に GNG-DT によって構築された位相構造を用いることで、未知の目的地へ向かうためのサブゴールを設定し、目的地まで到達する経路計画手法を実現していく。

2. 環境適応型知覚システム

本研究では、3 次元点群データの学習に未知なデータ構造に適用可能な教師なし学習手法である GNG に基づき環境適応型空間知覚システムを構築した。GNG は、入力ベクトルの空間構造の学習と位相構造の構築を同時に行うことが可能な手法である。しかしながら、空間の位置情報や色情報などの属性を複数含む入力ベクトルを学習しようとすると、空間情報の属性以外の入力ベクトルとともに学習されるため、点群位置の空間構造を保持できないといった問題点が存在する。そこで本研究では、これまでに提案してきた位置座標空間の構造を保持しつつ、法線ベクトルなどの属性ごとの位相構造を構築する学習アルゴリズムである GNG-DT を用いることとした。GNG-DT を用いることによって、時々刻々と更新される 3 次元点群データから 3 次元の空間構造を継続的に学習しつつ、構築された位相構造を活用した法線ベクトルなどの特徴量の抽出や多解釈可能なクラスタリングが実時間オンライン学習として実現可能である。以下では、GNG-DT の学習アルゴリズムに関して説明していく。

はじめに、GNG-DT において用いる主な変数の定義を行う。まず、本研究における属性の集合を S={ 位置情報(pos), 法線ベクトル(nor), 走行可能性(mob)}とし、入力ベクトルと参照ベクトルをそれぞれ、$\boldsymbol{v}=\{\boldsymbol{v}^{pos}\}, \boldsymbol{h}_i=\{\boldsymbol{h}_i^{pos}, \boldsymbol{h}_i^{nor}, \boldsymbol{h}_i^{mob}\}$と定義する。次に、ある属性 o における入力ベクトルと i 番目のノードの参照ベクトルとの距離をd_i^oとし、以下のように定義する。

$$d_i^o = ||\boldsymbol{v}^o - \boldsymbol{h}_i^o||$$

また、ある属性 o（$\in S$） のエッジの集合を $C^o=\{c_{1,2}^o, \cdots c_{i,j}^o, \cdots\}$と定義することによって、複数の属性ごとに位相構造を構築していく。

以下では、全体アルゴリズムの詳細な内容に関して説明する。

Step0. 初期化として、二つのノードの参照ベクトル $\mathbf{h}_1$ と $\mathbf{h}_2$ をランダムに生成し、結合関係 $c^o_{1,2}$=1 ($\in S$)、エッジの年齢 $g_{1,2}$=0 とする。

Step1. 入力ベクトル $\mathbf{v}$ を計測データからランダムに 1 つ取得する。

Step2. 入力ベクトル $\mathbf{v}$ に対する第 1 勝者ノード s_1 と第 2 勝者ノード s_2 を選択する。

$$s_1 = \arg\min_{i\in A} d_i^{pos}$$

$$s_2 = \arg\min_{i\in A\setminus s1} d_i^{pos}$$

ここで、A はノード番号の集合を表す。

Step3. ノード s_1 について入力データ $\mathbf{v}$ との二乗誤差を積算誤差 Es_1 に加算する。

$$E_{s1} \leftarrow E_{s1} + (d_{s1}^{pos})^2$$

Step 4. ノード s_1 及びノード s_1 と各属性における結合関係があるノードの位置情報の参照ベクトルを更新する。ただし、η_1 と η_2 を学習係数とする（$\eta_1 > \eta_2$）。

$$\boldsymbol{h}_{s1}^{pos} \leftarrow \boldsymbol{h}_{s1}^{pos} + \eta_1(\boldsymbol{v} - \boldsymbol{h}_{s1}^{pos})$$
$$\boldsymbol{h}_j^{pos} \leftarrow \boldsymbol{h}_j^o + \eta_2(\boldsymbol{v} - \boldsymbol{h}_j^{pos}) \quad if \quad c_{s1,j}^{pos} = 1$$

Step 5. エッジの年齢を 0 にリセットし ($g_{s1,s2}$=0)、ノード s_1 と s_2 との間に位置情報のエッジが存在しなければ、新たに位置情報のエッジを作成する ($c_{s1,s2}^{pos}$ = 1)。位置情報以外の属性 o ($\in S^{pos}$) に関するエッジの作成は、以下の式によって行われる。

$$\begin{cases} c_{s_1,s_2}^o = 1 & if\ eva^o(\mathbf{h}_{s_1}^o, \mathbf{h}_{s_2}^o) = true \\ c_{s_1,s_2}^o = 0 & otherwise \end{cases}$$

ここで、$eva^o(.)$は、属性に応じた判定式の結果を表し、属性間の類似度が高い場合には true を返し、それ以外の場合には false を返す式を表す。また、ノード s_1 及びノード s_1 と結合関係があるノードに対して輪郭情報 zi (1 が輪郭、0 がそれ以外を表す。)を含む経路計画に必要な推定量を更新する。

Step6. ノード s_1 と位置情報の結合関係がある全てのエッジの年齢をインクリメントする。

$g_{s1,j} \leftarrow g_{s1,j} + 1 \quad if \quad c^{pos}_{s1,j} = 1$

Step7. 事前に設定した閾値 g_{max} を超える年齢の全ての属性

o ($\in S$) のエッジを削除する ($c^{o}_{s1,s2}$=0)。その結果、位置情報の結合関係において、他のノードと結合関係を持たないノードは、そのノードを削除する。

Step8. データ入力がλ回ごとに、次の操作を行う。

i. 積算誤差が最大のノード u を選択する。

$u = \arg\max_{i \in A} E_i$

ii. ノード u と結合関係のあるノードの中で最も積算誤差の大きいノードをfとし、u とfを結合するエッジを 2 分するようにノード r を挿入する。

$\boldsymbol{h}_r = 0.5(\boldsymbol{h}_u + \boldsymbol{h}_f)$

iii. ノード u, f 間の全ての属性 o($\in S$) に関するエッジを削除し ($c^{o}_{u,f} = 0$)、ノード u, r 及び r, f 間に位置情報のエッジを追加する ($c^{pos}_{u,r} = 1$、$c^{pos}_{r,f} = 1$)。また、位置情報以外の属性 o($\in S^{pos}$) に関して以下の式によりエッジの追加の判断を行う。

$$\begin{cases} c^{o}_{i,j} = 1 \quad if\ eva^{o}(\mathbf{h}^{o}_{i}, \mathbf{h}^{o}_{j}) = true \\ c^{o}_{i,j} = 0 \quad otherwise \end{cases}$$

iv. ノード u,f の積算誤差を減衰率 $\alpha^{dec}(0 \le \alpha^{dec} \le 1)$ を用いて以下の式により更新する。

$E_u \leftarrow E_u - \alpha^{dec} E_u$

$E_f \leftarrow E_f - \alpha^{dec} E_f$

v. ノード u, f の積算誤差の平均をノード r の積算誤差とする。

$E_r = 0.5(E_u + E_f)$

Step9. 全てのノードの誤差を減衰率 $\beta(0 \le \beta \le 1)$ により減衰させる。

$E_i \leftarrow E_i - \beta E_i (\forall_i \in A)$

Step10. 終了条件が満たされない場合は Step1 に戻る。

図 2 に全体アルゴリズムのフローチャートを示す。このような手順により本研究では、3 次元点群の地形データを学習していく。

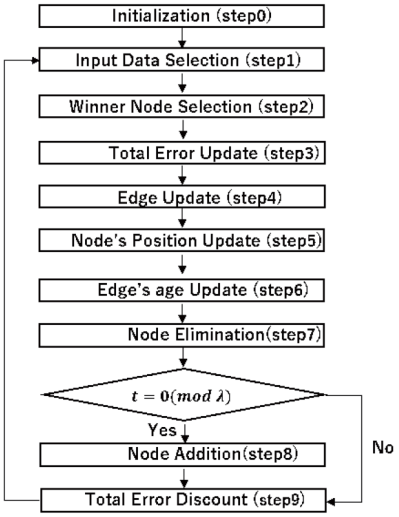


図 2 適応型知覚システムのフローチャート

3. 未知環境における経路計画

3.1 経路コスト

本研究では、経路計画手法として ダイクストラ法を用いる。ダイクストラ法は Dijkstra が提案した単一始点最短経路問題を解くためのアルゴリズムである。グラフ上でスタート地点を指定し、各ノードへの最短コスト経路をスタート地点の周辺から 1 か所ずつ確定し、最終的に全ノードへの最短コスト経路を求めることができる。はじめに、ダイクストラ法に用いる主な変数を説明する。まず、エッジの集合として GNG において構築された位相構造である C^{pos} と C^{mob} を用いる。

また、本研究では経路コストとしてノード間の距離情報だけではなく,ノード i が保有する法線情報を用いて計算した傾き度合い、R_i を以下のように計算し用いる.

$$R_i = \begin{cases} deg_i / deg^{max} \quad if \quad 0 \le deg_i \le deg^{max} \\ INF \quad otherwise \end{cases}$$

R_i は走行可能な最大傾斜角度を超えない限り $0 \le R_i \le 1$の値をとり、0 に近いほど平坦、1 に近いほど傾斜が急な場所を表す。

また、周辺の環境も考慮するために位置情報によってノード i, j とエッジを持つノードの角度も用い、平均値を以下のように算出する。

$$r^{env}_{i,j} = \frac{\sum_{c_{i,n}=1, n \in A} R_n}{N_i} + \frac{\sum_{c_{j,n}=1, n \in A} R_n}{N_j}$$

ここで、N_i, N_j はそれぞれノード i, j とエッジを持つ

ノードの個数を表す。
これらを用いて以下のように定義する。
$r_{i,j} = R_i + R_j + r_{i,j}^{env}$
つぎにダイクストラ法のアルゴリズムを示す。

Step 0. スタート地点のノード s から各ノードまでのコストを無限大に設定し、初期化する。

Step 1. 全ての 2 頂点間のコスト $d_{i,j}^{cos}$ を設定する。

$$d_{i,j}^{cos} = \begin{cases} 0 & \text{if } i = j \\ \alpha^{dan} r_{i,j} + d_{i,j} & \text{if } c_{i,j} = 1 \\ \text{INF} & \text{otherwise} \end{cases}$$

Step 2. 最小コストが未確定のノードの中から、コストが最も小さいノード i を選び、最小コストを確定する。

Step 3. Step.2 で確定したノード i と近傍関係にあり、なおかつ未確定のノード j に対して、ノード i とのコストの和が、それまでのコストより小さければ更新する。

$d_{s,j}^{cos} \leftarrow d_{s,i}^{cos} + d_{i,j}^{cos} \quad \text{if } d_{s,j}^{cos} > d_{s,i}^{cos} + d_{i,j}^{cos}$

Step 4. 全てのノードへの最小コストが確定するまで Step.2、Step.3 を行い、ノード s から各ノードへの最小コストを計算する。

このように、GNG を用いた経路計画においては、Step1 の式で用いている係数 α^{dan} を変更することによって状況に応じた経路計画を可能にする。すなわち、α^{dan} が小さいほど最短距離の経路を計画し、大きいほど傾斜が小さく凹凸が少ない経路、つまり安全性が高い経路計画をすることが可能となる。

3.2 未知環境におけるサブゴールの設定

未知環境中に設定された目的地に到達するための経路を計画していく必要があるが、GNG によって構築された位相構造は既知環境を表しているため未知環境を含む経路計画を行うことはできない。そのため自律移動ロボットは、現時刻までに構築された位相構造を基にサブゴールを設定し、サブゴールへ移動することによって環境を既知にしていき最終的な目的地へ到達する必要がある。そこで、本研究では、提案手法によって構築された位相構造の輪郭ノードをサブゴールの候補点として選択することによって、未知環境中における経路計画していくことを考える。

ここで、サブゴールの候補点の集合を $A^{sub}(=\{i|z_i = 1 \cap h_i^{mob} = 1\})$ とすることによって、走行可能なノードの中からサブゴールとなるノード s を以下の式によって選択していく。

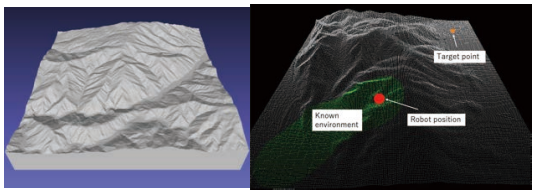
$$s = \arg\min_{i \in A^{sub}} d_i^{sub}$$
$$= \arg\min_{i \in A^{sub}} \|\mathbf{v}^{tar} - \mathbf{h}_i^{pos}\|$$

ここで、$\mathbf{v}^{tar}$ は、目的地の位置ベクトルを表す。このように、走行可能なノードを候補とし、その中から目的地に最も近いノードをサブゴールとして選択することによって目的地までの環境を既知にしながらロボットは目的地まで移動していく。選択したサブゴールの先が行き止まりの場合でも、ロボットの移動に伴い位相構造もリアルタイムで更新されるため、最良のサブゴールを再選択し、経路の再計画が可能である。

4. 実験結果

4.1 シミュレーション環境下における未知不整地環境の経路計画実験

本章では、提案手法における有効性を検証するために 3 次元のシミュレーション環境を構築し実験を行っていく。具体的には、国土地理院が提供している地図データの 3 次元不整地環境の STL ファイルを用い、3 次元点群データを生成することによって実験を行っていく。本実験で用いた STL ファイル及び 3 次元点群のシミュレーション環境を図 2 に示す。図 3 は起伏が激しい複雑な地形データでとなっている。本実験では、左下に初期のロボット位置を設定し、目的地を右上に設定した。点群数は 393,210 個となっている。また、本実験で用いたパラメータを表 1 に示す。本実験では、知覚範囲と経路計画の係数の違いによる経路計画結果の違いを確かめるため、センサ範囲 R と係数 α^{dan} は異なる値を用いて実験を行った。



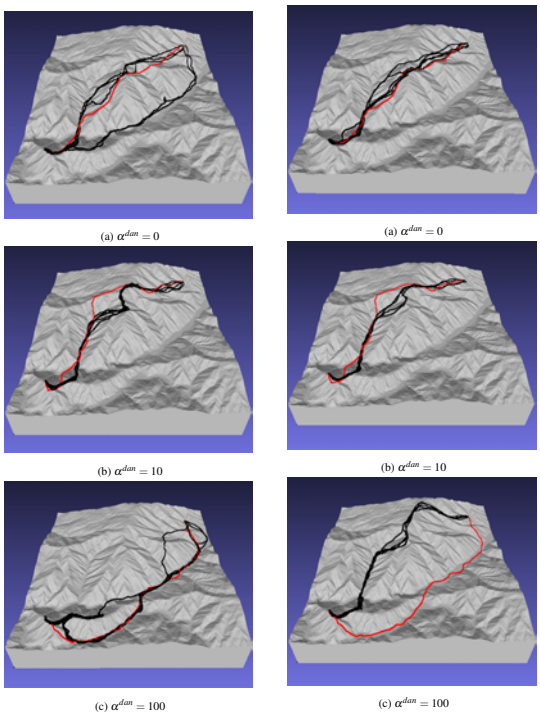
(a) STL データ　　(b) 点群データ

図 3 実験環境

表 1 実験パラメータ

	Parameters
g_{max}	88
η_1	0.005
η_2	0.00005
α^{dec}	0.5
β	0.005
λ	400
θ^{thv}	135.0 [deg]
deg^{max}	20.0 [deg]

図 4 に地形データ 2 で各条件で経路計画を 5 回行った結果を示す．各条件において異なる経路が生成されており，全ての条件において未知環境における経路計画に成功している事が分かる．赤色の経路は地形が既知環境であると仮定し，位相構造の学習が完了してからロボットを走行させた場合のものである．



(A) R=30[m]　　(B) R=50[m]

図 4　経路計画に関する実験結果

表 2　走行距離に関する実験結果

	$\alpha^{dan} = 0$	$\alpha^{dan} = 10$	$\alpha^{dan} = 100$
$R = 30$	203.86	239.85	301.11
$R = 50$	181.76	226.67	253.08
$R = inf$	172.71	203.16	210.32

表 3　走行最大角度に関する実験結果

	$\alpha^{dan} = 0$	$\alpha^{dan} = 10$	$\alpha^{dan} = 100$
$R = 30$	22.23	21.99	20.87
$R = 50$	20.86	20.37	20.82
$R = inf$	19.42	19.98	17.51

表 2、3 にそれぞれの各条件における走行距離，通過した最大の傾斜角度を示す．走行距離はα^{dan} の値が大きくなるにつれ増えており，走行経路からも迂回していることがわかる．最大傾斜角度は各条件による大きな変化はなく，今回設定した deg^{max}=20 を超えてしまっている．原因として，地形が複雑なため，生成されたノードから少しでもロボットの走行位置がずれてしまうと傾斜角度も大きく異なり，通過してしまうということや知覚精度の誤差が生じてしまったことがあげられる．しかしながら、大きな知覚精度のずれはなく、走行可能な生成経路が計画できていることから，GNG-DT によって地形データを適応的に学習し，構築された各位相構造を活用することによって未知環境における経路計画が実現可能であることを示した．

4.2 実環境における走行実験

ここでは、図 5 に示す本研究において開発したクローラロボットを用いた実環境における自律走行実験に関して説明していく。本実験では、提案手法の知覚システムが実時間で走行可能性を知覚可能であるかに関する検証を行った。本実験における GNG-DT のパラメータは、表 1 と同様のものを使用した。自律走行に関する実験結果を図 6 に示す。各画像の認識結果において、黒色と緑色のノードが走行可能な知覚結果、赤色のノードが走行不可能な知覚結果を表している。図 6(a)において、走行開始時には、密な位相構造が構築されていることが分かる。一方で、旋回時には計測データの大幅な変化から、GNG-DT によるノード削除のルールが働き、疎な構造となっている。しかしながら、床面の走行可能に関する知覚は行えており、最終的に(c)に至るまで適切に知覚し、走行を行うことが可能であった。また、知覚に関する処理時間は平均で約 18 [msec]となっており、実時間での知覚を達成できていると考えられる。

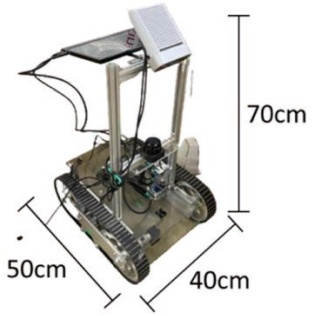
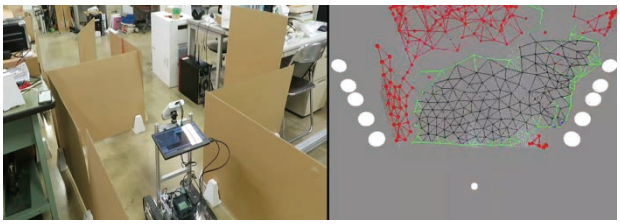
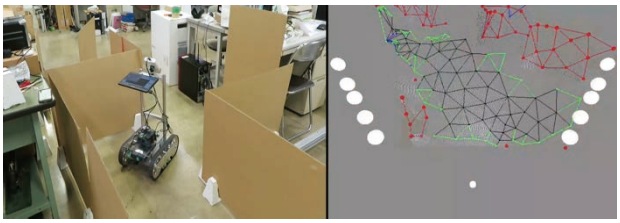


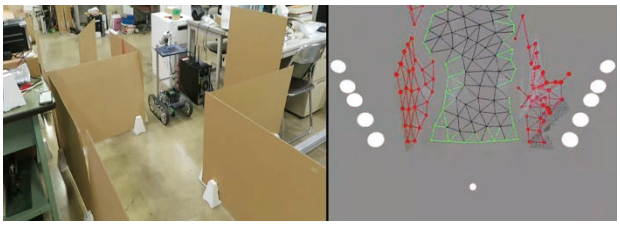
図 5 クローラロボット



(a) 開始時



(b) 旋回時



(c) 終了時

図 6　自律走行に関する実験結果

5. 結言

本研究開発では、不整地未知環境における自律型ロボットのための環境適応型空間知覚システムを実現するために、自己増殖型ニューラルネットワークの一つである GNG-DT に基づく方法論を確立した。具体的には、GNG-DT の位相構造としてロボットの身体性に応じた走行可能性に関する位相構造を定義し、実時間で学習可能な知覚の枠組みを構築した。さらに、学習した複数の位相構造を組み合わせることによって未知の地点に設定された目的地へ経路計画する方法論を確立した。

実験においては、3 次元点群を用いたシミュレーションにおいて、未知環境下での提案手法を用いた知覚と経路計画手法の有効性を検証した。さらに、本研究で開発したクローラロボットを用いた実環境の自律走行実験を行い、RGB-D カメラを用いた実時間空間知覚が可能であることを示した。

本研究開発における今後の課題としては、ロボットの旋回時など計測データの変化が大きい場合に、学習したノードがどのデータにも属さない致死ノードが多く発生してしまう状況が存在していることがあげられる。これに対しては、ロボットの自己位置推定量を学習に用いることで、今後解決していく予定である。また、本研究開発において走行可能性に関する知覚は、いくつかの手設計によるパラメータを用いた。しかしながら、真に未知環境で動作する自律移動ロボットを実現するためには、ロボット自身が走行経歴から走行可能性知覚に関して継続して学習していく枠組みが求められる。今後は、このような継続学習の枠組みを実現し、様々な環境で走行を実現する自律ロボットの環境適応型知覚システムを実現していく予定である。

本研究開発に関する業績

・投稿論文

[1] Yuichiro Toda, Koki Ozasa, Takayuki Matsuno, “Growing neural gas based navigation system in unknown terrain environment for an autonomous mobile robot”, Artificial Life and Robotics, Vol. 28, No. 1, pp.76-88, 2023.

・国際学会

[1] Koki Ozasa, Yuichiro Toda, Takayuki Matsuno, “Growing Neural Gas based Traversability Clustering for an Autonomous Robot”, International Joint Conference on Neural Networks, 2023, accepted.

・受賞

[1] 藤井雄基, 張家祺, 古田優泰, 室本達也, 戸田雄一郎, 松野隆幸, “Growing Neural Gas を用いた未知環境ナビゲーションシステムのコンポーネントの構築,” 計測自動制御学会ＲＴミドルウエア賞（最優秀賞）, RT ミドルウエアコンテスト 2022.

ナノ微粒子材料としての各種ベントナイト材料の膨潤特性に及ぼす温度の影響に関する熱力学的研究
～相対湿度法による標準状態及び圧力開放系における Na 型ベントナイト中の水の熱力学データの測定～

岡山大学学術研究院環境生命自然科学学域

佐藤　治夫

（概要）本研究では、相対湿度（RH）法により、Na 型ベントナイト及び Na 型ベントナイトの主成分である Na 型モンモリロナイト中の水の熱力学データ（水の活量、相対部分モル Gibbs の自由エネルギー）について、含水比をパラメータに測定すると共に、熱力学モデルに基づいて膨潤応力を解析し、実測データと比較することでモデルの有効性について検討した。その結果、①ベントナイト中の水の熱力学データは、モンモリロナイト含有率を考慮したモンモリロナイトに対する含水比により整理することができ、モンモリロナイト表面から影響を受ける水は全て層間水（モンモリロナイト表面から水分子 1 層程度）と解釈できること、②熱力学モデルによる膨潤応力の解析結果は、実測値と概ね一致しており、モデルは膨潤応力の解析に有効であることが示された。

1. はじめに

ベントナイトは天然の粘土材料であり、粘土鉱物であるモンモリロナイトを主成分としている。水と接触すると親水性・保水性が高く、モンモリロナイトが吸水して何倍もの体積に膨張する（膨潤）特殊な性質を持つ。これらの性質から、ベントナイトは透水性が極めて低く、一般産業においては、土木・建設工事における防水材やダムの止水用グラウト（水の流れや侵入を止める材料）、産業廃棄物処分場の遮水材、化粧品（ファンデーションや保湿クリームなど）、医薬品（軟骨の基材や入れ歯安定剤など）、食品添加剤、ペット用トイレ砂、鉛筆の芯などとして非常に幅広く利用されている高機能材料である。最近では、薄膜状の粘土が蓄電池の素材としても研究されつつある。また、ベントナイトは、原子力発電所などの原子力施設、病院などの医療施設、大学や民間の研究所などの放射性物質や放射線を使用する施設から発生する放射性廃棄物の地中処分における人工バリア材や坑道等の埋め戻し材として利用されるほか、2011 年 3 月に発生した福島第一原子力発電所事故による汚染土壌等の除染廃棄物（除去土壌）の中間貯蔵施設や最終処分場における遮水材や放射性物質に対するバリア材（吸着材）などとしても着目され、研究されている。放射性廃棄物のうち、特に、高レベル放射性廃棄物は 300m 以深の地層中に坑道を掘削し、人工バリアを設置することで長期に亘る安全性を確保している。この処分方法は、地層処分と呼ばれ、米国を始め、カナダ、英国、フランス、フィンランド、スウェーデン、スイス、ドイツ、ベルギー、スペイン、イタリアなど、世界各国で実施のための研究が進められている。高レベル放射性廃棄物は、原子力発電所で発生した使用済燃料を再処理工場でウラン（U）やプルトニウム（Pu）を分離した後の残留廃液であり、多くの核分裂生成物を含有する。我が国では、この廃液は溶融炉においてガラス原料と共に混合溶融され、安定なガラス状の固化物（ガラス固化体）とされた後、地上施設において 30～50 年程度冷却貯蔵され、その後、坑道を掘削して 300m 以深の地層中に人工バリアを設置して埋設処分される。

人工バリアは、内側から、ガラス固化体、オーバーパック（金属容器）、緩衝材で構成され、その外側は岩盤（地層）である。ガラス固化体から緩衝材までが人工バリア、その外側の岩盤が天然バリアと呼ばれる。図 1 に高レベル放射性廃棄物の地層処分における多重バリアシステムの概念[1]を示す。ガラス固化体は、オーバーパックと呼ばれる厚い金属容器に封入され、その外側は、天然の粘土（ベントナイト）に 30wt%の割合で珪

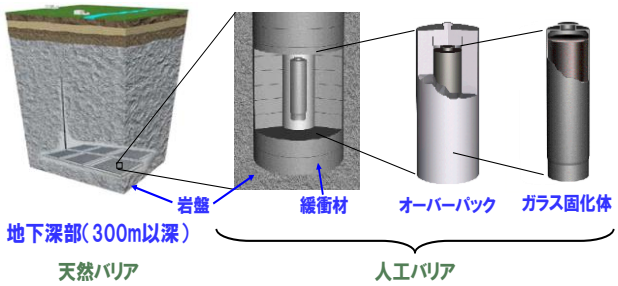


図１　高レベル放射性廃棄物の地層処分における多重バリアシステムの概念[1]

砂が混合されて圧縮成型された緩衝材が配置される。廃棄物が人工バリアと共に埋設されると周囲からは地下水が侵入し、緩衝材に接触すると膨潤することで岩盤との隙間や周辺の亀裂などがシールされ、水の流れは抑制される。水は緩衝材中を拡散し、水分分布を形成しながらやがてはオーバーパックと接触する。一方、ガラス固化体は、埋設される時点で 100℃以下を想定しているが、ガラス固化体中の核分裂生成物からの崩壊熱により、周囲よりも温度が高くなることから、埋設後は外側に向かって熱の移動が発生し、長期に亘り緩衝材中で温度分布が発生する。このように、緩衝材外側からは、ガラス固化体方向、即ち中心部に向かって水分分布が形成され、内側からは、外側に向かって温度分布が形成される。更に、ベントナイトの膨潤は水質の影響も受けることから、緩衝材の再冠水過程では、熱（Thermo）−水（Hydro）−応力（Mechanical）−化学（Chemical）が複合したプロセスが進行する。

ベントナイトの膨潤応力（圧力）については、これまでに多くの研究が報告されているものの、温度の影響に関する研究は限られている。例えば、日本原子力研究開発機構が公表している緩衝材基本特性データベース[2]に基づけば、Na 型ベントナイト（クニゲル V1®，クニゲル OT-9607®）の膨潤応力は、温度の上昇に伴って殆ど変化しないか低下することを示している。また、Villar ら[3]は、FEBEX ベントナイトの膨潤応力も同様の傾向であることを報告している。特に、低密度の条件（0.89Mg/m^3）で、温度が上昇しても膨潤応力に変化が見られない傾向である。一方、Pusch ら[4]は、MX80（Na 型ベントナイト）の膨潤応力が温度上昇に対して増加した場合と低下した場合があることを報告しており、最近では、温度上昇に伴い膨潤応力が増加したことが報告される[5,6]など、温度の影響については必ずしも議論が十分とは言えない。

著者らは、昨年度までの研究で、ベントナイトの主成分であるモンモリロナイトの層間水の熱力学特性に着目し、ベントナイトの膨潤応力に及ぼす温度の影響を評価するための熱力学モデルを開発し、温度の影響を評価するためのキーパラメータは相対部分モルエンタルピーであることを報告した[7-9]。一方、モデル解析に必要なモンモリロナイト層間水の熱力学データは限られている。

本研究では、相対湿度（RH）と温度を測定することにより蒸気圧を決定し、ベントナイト及びベントナイトの主成分であるモンモリロナイト中の水の活量と相対部分モル Gibbs の自由エネルギーを算出すると共に、熱力学モデルに基づいて膨潤応力を解析し、実測データと比較することでモデルの有効性について検討した。

2. ベントナイトの膨潤応力に関する熱力学モデル

2.1 ベントナイトの性質

ベントナイトの主成分であるモンモリロナイトは、平面的な広がりを持ったシート状の結晶構造（図 2）をしており、それらが積層した状態（積層体あるいは重層体と言う）で存在する。モンモリロナイトの結晶シートの厚さは 0.988nm（=9.88Å=9.88×10^{-10}m）と水分子 3 個分程度と薄く、比表面積は約 800m^2/g と通常の岩石や土壌などと比較してもずば抜けて大きい。結晶シート表面と結晶シート表面の間は層間と呼ばれ、そこには層間外の陽イオンと交換可能な陽イオンが存在する。この陽イオンを交換性陽イオンと言う。単位質量当たりに交換できる陽イオン量を陽イオン交換容量（CEC：Cation Exchange Capacity）と言うが、モンモリロナイトの CEC は 100～150meq/100g（モンモリロナイト 100g 当たり 100～150 ミリ当量（1 価のイオンの場合、100～150mmol に相当））と極めて大きい。ベントナイトの膨潤は、このモンモリロナイト層間中の陽イオンの水和・溶媒和エンタルピーを駆動力として、層間に水分子が選択的に侵入し、モンモリロナイト表面や陽イオンが水和することで発生する。比表面積が莫大であることと親水性・保水性が高いことから、モンモリロナイトは単位質量当たりに保持できる水の量は莫大であり、遮水材や止水材として最適な性質を有していると考え

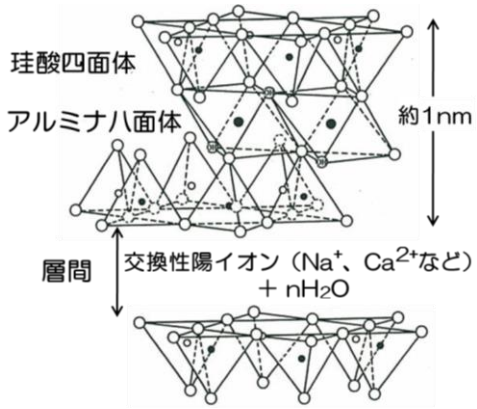


図 2　モンモリロナイトの結晶構造

ることができる。一方、水和エンタルピーは陽イオンの種類により異なることから、モンモリロナイトの親水性や膨潤性は、層間中の陽イオンの種類の影響を強く受けることも明らかである。

2.2 標準状態における膨潤応力の熱力学モデル

図 3 に標準状態（25℃）において任意の濃度の溶液（α相）とベントナイト（β相）がフィルターを介して接触し、両相が平衡状態にある時の水の化学ポテンシャルバランスの概念を示す[10-12]。両相は、フィルターを介してのみ接続しており、上部の空間も独立しているものとする。両相上部の蒸気圧は、それぞれ溶液相中の水とベントナイト相中の水と平衡状態であるものとする。

α相からβ相へ溶液が侵入すると、ベントナイトは徐々に膨潤し、含水比の増加に伴ってβ相中の水の蒸気圧は上昇する。これは、含水比の増加に伴ってβ相中の Gibbs の自由エネルギーが増加することを意味する。α相とβ相が平衡状態である時、両相中の水の化学ポテンシャルは次式のように等しくなる。

$$\mu^0(W,\alpha) = \mu^0(W,\beta) \tag{1}$$

ここで、$\mu^0(W,\alpha)$ と $\mu^0(W,\beta)$ は、それぞれ標準温度（25℃）におけるα相とβ相中の水の化学ポテンシャル（J/mol）である。

この系において、平衡状態にある両相間中の水の Gibbs の自由エネルギーの差（dG）は膨潤エネルギーとして作用する。dG は次のように求めることができる。

$$\mathrm{d}G = \mathrm{d}G_\mathrm{S} - \mathrm{d}G_\mathrm{H2O} \tag{2}$$

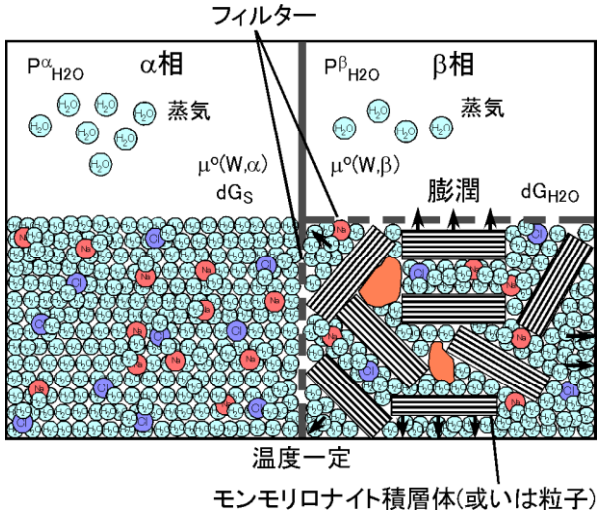


図 3　標準状態において任意の濃度の溶液（α相）とベントナイト（β相）がフィルターを介して接触し、両相が平衡状態にある時の水の化学ポテンシャルバランスの概念

ここで、dG は、平衡状態にあるα相とβ相中の水の相対部分モル Gibbs の自由エネルギーの差（J/mol）、dG_S と dG_H2O は、それぞれα相とβ相中の水の相対部分モル Gibbs の自由エネルギー（J/mol）である。ここで、α相が純水である時、dG_S = 0 である。

両相が平衡状態である時のα相とβ相中の水の化学ポテンシャルは、それぞれ以下のように記述することができる。

$$\mu^0(W,\alpha) = \mathrm{d}G_\mathrm{S} = RT\ln\left(\frac{P^\alpha_\mathrm{H2O}}{P^0_\mathrm{H2O}}\right) \tag{3}$$

$$\mu^0(W,\beta) = \mathrm{d}G_\mathrm{H2O} + \int_{P^0_\mathrm{ext}}^{P_\mathrm{ext}} V_\mathrm{w}\,\mathrm{d}P$$

$$= RT\ln\left(\frac{P^\beta_\mathrm{H2O}}{P^0_\mathrm{H2O}}\right) + \int_{P^0_\mathrm{ext}}^{P_\mathrm{ext}} V_\mathrm{w}\,\mathrm{d}P \tag{4}$$

両相中の水の化学ポテンシャルは等しいことから、ベントナイトの膨潤エネルギーは、式(1)～(4)に基づいて以下のように導出される。

$$RT\ln\left(\frac{P^\alpha_\mathrm{H2O}}{P^0_\mathrm{H2O}}\right) = RT\ln\left(\frac{P^\beta_\mathrm{H2O}}{P^0_\mathrm{H2O}}\right) + \int_{P^0_\mathrm{ext}}^{P_\mathrm{ext}} V_\mathrm{w}\,\mathrm{d}P \tag{5}$$

$$\therefore \int_{P^0_\mathrm{ext}}^{P_\mathrm{ext}} V_\mathrm{w}\,\mathrm{d}P = (P_\mathrm{ext} - P^0_\mathrm{ext})V_\mathrm{w}$$

$$= RT\ln\left(\frac{P^\alpha_\mathrm{H2O}}{P^0_\mathrm{H2O}}\right) - RT\ln\left(\frac{P^\beta_\mathrm{H2O}}{P^0_\mathrm{H2O}}\right) = \mathrm{d}G_\mathrm{S} - \mathrm{d}G_\mathrm{H2O} \tag{6}$$

よって、膨潤応力（$\mathrm{d}P_\mathrm{ext} = P_\mathrm{ext} - P^0_\mathrm{ext}$）は、最終的

には次の関係から計算することができる。

$$\mathrm{d}P_{\mathrm{ext}} = \frac{RT}{V_{\mathrm{w}}}\ln\left(\frac{P^{\alpha}_{\mathrm{H2O}}}{P^{0}_{\mathrm{H2O}}}\right) - \frac{RT}{V_{\mathrm{w}}}\ln\left(\frac{P^{\beta}_{\mathrm{H2O}}}{P^{0}_{\mathrm{H2O}}}\right)$$

$$= \frac{\mathrm{d}G_{\mathrm{S}} - \mathrm{d}G_{\mathrm{H2O}}}{V_{\mathrm{w}}} \qquad (7)$$

ここで、$P^{\alpha}_{\mathrm{H2O}}$と$P^{\beta}_{\mathrm{H2O}}$は、それぞれ 25℃におけるα相とβ相中の水の蒸気圧（Pa）、P^{0}_{H2O}は、25℃における純水の蒸気圧（3.168 kPa）、R は、ガス定数（8.314 J/mol/K）、T は、絶対温度（K）、$\mathrm{d}P_{\mathrm{ext}}$は、膨潤応力（Pa）、$P^{0}_{\mathrm{ext}}$と$P_{\mathrm{ext}}$は、それぞれベントナイトの初期（乾燥時）と含水飽和時の膨潤応力（Pa）、V_{w}は、25℃における水のモル体積（18.068 ml/mol）である。

更に、水の活量は、P^{0}_{H2O}, $P^{\alpha}_{\mathrm{H2O}}$, P^{β}_{H2O} から、次のように定義される。

$$a^{\alpha}_{\mathrm{w}} = \frac{P^{\alpha}_{\mathrm{H2O}}}{P^{0}_{\mathrm{H2O}}} \qquad (8)$$

$$a^{\beta}_{\mathrm{w}} = \frac{P^{\beta}_{\mathrm{H2O}}}{P^{0}_{\mathrm{H2O}}} \qquad (9)$$

ここで、a^{α}_{w}とa^{β}_{w}は、それぞれα相とβ相中の水の活量であり、α相が純水である時、$a^{\alpha}_{\mathrm{w}} = 1$である。

標準状態におけるβ相中の水の相対部分モル Gibbs の自由エネルギーは、次式によって与えられる。

$$\mathrm{d}G_{\mathrm{H2O}} = RT\ln\left(\frac{P^{\beta}_{\mathrm{H2O}}}{P^{0}_{\mathrm{H2O}}}\right) = RT\ln\left(a^{\beta}_{\mathrm{w}}\right) \qquad (10)$$

また、相対湿度（RH）と水の活量との関係は、次式によって与えられる。

$$a^{\beta}_{\mathrm{w}} = \frac{\mathrm{RH}}{100} \qquad (11)$$

よって、相対部分モル Gibbs の自由エネルギーは、RH と次の関係にある。

$$\mathrm{d}G_{\mathrm{H2O}} = RT\ln\left(\frac{\mathrm{RH}}{100}\right) \qquad (12)$$

ここで、RH は、標準状態（25℃）での相対湿度（%）である。

よって、(11)式に基づけば、相対湿度と温度を測定することにより、その条件での水の活量を決定することができる。また、(12)式に基づけば、相対部分モル Gibbs の自由エネルギーを決定することができる。

3. 相対湿度法による蒸気圧の測定

図 4 に相対湿度（RH）法による蒸気圧測定の概念を示す。Na 型ベントナイトのクニゲル V1®（Na 型モンモリロナイト含有率 51%）[13]とクニピア F®（Na 型モンモリロナイト含有率 99%以上）（クニミネ工業製）を 105℃の恒温槽中で 24h 以上乾燥させた後、3.00g ずつをポリエチレン容器（各試料 n=3）に分け、RH=100%の密閉容器（真空デシケーター）内（-99kPa 以下）で約 9 ヶ月間、均一に含水させるため、水蒸気を吸収させた。この間、定期的に含水重量を測定した。この期間での含水比は約 100%であった。これは、3.00g のベントナイトに対して 3.00g の水分が吸収されていることを意味する。次に、容器内の水（蒸留水）を廃棄し、RH 計と温度センサーを入れ、容器内の圧力を-101.3kPa（真空圧）まで真空ポンプで減圧して 25℃の高温水槽中に沈めた。24h 後、RH と温度を測定し、密閉容器から試料を取り出して重量を測定した後、容器内に戻し、しばらく真空引きすることで含水比を下げ、再度、高温水槽中に沈めた。この操作を、含水比をパラメータに、約 100～数%になるまで数十回に亘り繰り返した。

4. 結果及び考察

4.1 熱力学データと含水比との関係

図 5 に水の活量（a^{β}_{w}）とモンモリロナイトに対する含水比との関係、図 6 に相対部分モル Gibbs の自由エネルギー（$\mathrm{d}G_{\mathrm{H2O}}$）とモンモリロナイトに対する含水比との関係を示す。モンモリロナイトに対する含水比の算出に当たり、クニゲル V1 とクニピア F のモンモリロナイト含有率は、それぞれ 51%[13]と 99%とした。

両ベントナイトとも、含水比の減少に伴って、a^{β}_{w}と

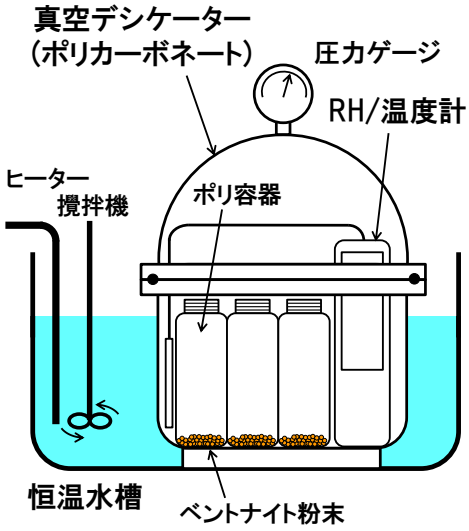


図 4 相対湿度法による蒸気圧測定の概念

dG_{H2O} は共に低下した。両ベントナイトのプロット（○, □）がオーバーラップしていることから、主成分のモンモリロナイトが水の保持に大きく関係していることが分かる。過去の研究においても、同様な傾向が示されている[14-16]。一方、今回のデータの方がやや高目である。この原因は、既存のデータが精製されたモンモリロナイト（層間中陽イオンを Na で徹底的に置換し、不純物も徹底的に除去してモンモリロナイト含有率を 100%に高めた試料）であったことによると考えられる。

4.2 ベントナイトの膨潤応力に関するモデル解析

図 7 にモンモリロナイト部分密度に対するモデルによる膨潤応力の解析結果と実測値[2, 11, 15, 16]との比較を示す。ここで、モンモリロナイト部分密度とは、モンモリロナイトのみに着目した時の密度のことであり、単位体積について考えた場合、そこに存在するモンモリロナイトの質量をモンモリロナイトの固相体積と間隙体積の和で除した値で定義される[17]。このパラメータは、モンモリロナイト含有率が異なるベントナイトに対しても同一の指標で比較できることから、様々な物性値に対しても活用されている。

モンモリロナイト部分密度 1.6Mg/m^3 以上の密度領域で、膨潤応力の解析結果は両ベントナイトとも良く一致しているが、それ以下の密度領域では、ベントナイト間でバラツキが見られる。特に、密度 1.4Mg/m^3 以下の密度領域ではデータが殆どプロットできていない。これは、含水比の高い領域では殆どの相対湿度データがほぼ 100%（活量が 1）となり、膨潤応力を解析できないことによる。図 7 に示されているように、膨潤応力の解析値は実測値と概ね一致しており、モデルは膨潤応力の解析に有効であることを示している。

現状では、熱力学データは限られていることから、更にデータ取得を継続する予定である。また、層間中の陽イオンに依存して水和エンタルピーも異なることから、地下水による変質などを考慮して、Ca や K など、異なる陽イオン種に対する熱力学データを取得する予定である。更に、これまでに、膨潤応力に及ぼす温度の影響についてのモデル開発と熱力学データの取得を実施してきたが、これらも殆ど報告値がないことから、更なるデータ取得を進める予定である。

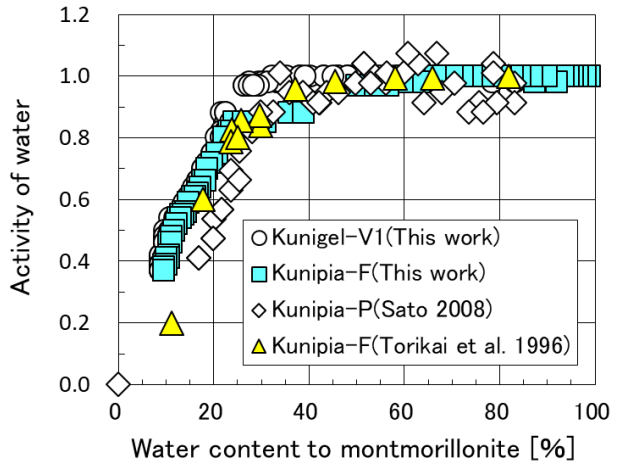


図 5 ベントナイト中の水の活量とモンモリロナイトに対する含水比との関係[14, 15]

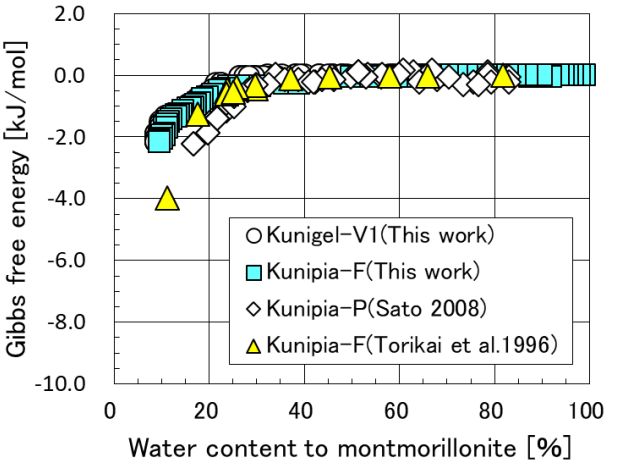


図 6 相対部分モル Gibbs の自由エネルギーとモンモリロナイトに対する含水比との関係[14, 15]

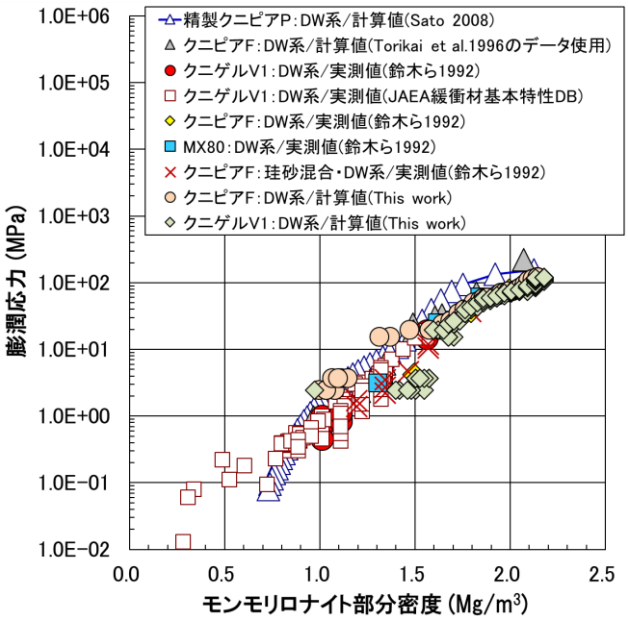


図 7 モンモリロナイト部分密度に対するモデルによる膨潤応力の解析結果と実測値との関係[2, 11, 15, 16]

5. まとめ

本研究では、相対湿度（RH）法により、Na 型ベントナイト及び Na 型ベントナイトの主成分である Na 型モンモリロナイト中の水（層間水）の熱力学データ（水の活量、相対部分モル Gibbs の自由エネルギー）を、含水比をパラメータに測定すると共に、熱力学モデルに基づいて膨潤応力を解析し、実測データと比較することでモデルの有効性について検討した。

その結果、①ベントナイト中の水の熱力学データは、モンモリロナイト含有率を考慮したモンモリロナイトに対する含水比により整理することができ、モンモリロナイト表面から影響を受ける水は全て層間水（水分子 1 層程度）と解釈できること、②熱力学モデルによる膨潤応力の解析結果は実測値と概ね一致しており、モデルは膨潤応力の解析に有効であることが示された。

一方、現状では、熱力学データは限られていること、層間中の陽イオン種に依存して水和エンタルピーも異なること、膨潤応力への温度の影響に関する熱力学データも殆ど報告値がないことから、今後も更なるデータ取得を進める予定である。

参考文献

[1] 佐藤治夫：地層処分における人工バリアとしての緩衝材の膨潤と熱力学, バックエンド研究, Vol.27, No.2, pp.105-114 (2020).

[2] 日本原子力研究開発機構：緩衝材基本特性データベース, https://www.bufferdb/jaea.go.jp/bmsb/, 最終アクセス日：12/14 (2014).

[3] M. V. Villar and A Lloret：Influence of Temperature on the Hydro-Mechanical Behaviour of a Compacted Bentonite, Appl. Clay Sci., 26, pp.337-350 (2004).

[4] R. Pusch, O. Karnland and H. Hokmark：GMM –A General Microstructural Model for Qualitative and Quantitative Studies of Smectite Clays, SKB Tech. Rep., 90-43 (1990).

[5] 武藤尚樹, 金澤伸一, 市川希：温度変化を考慮したベントナイトの膨潤圧の計測について, 原子力学会 2018 年秋の大会, 2F06 (2018).

[6] B. Akinwunmi, L. Sun, J. T. Hirvi, S. Kasa and T. A. Pakkanen：Influence of Temperature on the Swelling Pressure of Bentonite Clay, Chem. Phys., Vol.516, pp.177-181 (2019).

[7] H. Sato：A Thermodynamic Model of Effect of Temperature on Swelling Stress of Buffer Material in Geological Disposal, MRS Advances, Vol.17, Issue 7-8 (Scientific Basis for Nuclear Waste Management XLV), pp.160-164 (2022).

[8] 佐藤治夫：各種ベントナイト材料の膨潤特性に及ぼす温度の影響に関する熱力学的研究, 令和 3 年度公益財団法人ウエスコ学術振興財団事業報告書研究成果報告書集, No.10, pp.20-22 (2021).

[9] 佐藤治夫：放射性廃棄物の地層処分における緩衝材の膨潤応力に及ぼす温度の影響に関する熱力学モデルの開発, 第 55 回安全工学研究発表会講演プロシーディングス, No.70, pp.217-220 (2022).

[10] H. Sato：A Thermodynamic Approach on the Effect of Salt Concentration on Swelling Pressure of Water-Saturated Bentonite, MRS Symp. Proc., Vol.1124, 1124-Q07-11, 6 pages (in pdf format) (2009).

[11] H. Sato：Thermodynamic Approach on Effect of Salinity on Swelling Pressure of Bentonite, Proceedings of the 4th Japan-Korea Joint Workshop on Radioactive Waste Disposal 2008：Perspective of Science and Eng., May 27-28, 2008, Hakone, Japan, pp.1-17 (2008).

[12] H. Sato and M. Fukazawa：A Thermodynamic Analysis on the Swelling Stress of Na-Bentonite under Various Solution Conditions, MRS Advances, Vol.1, Issue 61, pp.4019-4025 (2016).

[13] 原子力発電環境整備機構：国内産ベントナイトおよびベントナイト混合土の基本特性データ, NUMO-TR-21-02 (2022).

[14] H. Sato：Thermodynamic Model on Swelling of Bentonite Buffer and Backfill Materials, Phys. Chem. Earth, 33, pp.S538-S543 (2008).

[15] Y. Torikai, S. Sato and H. Ohashi：Thermodynamic Properties of Water in Compacted Sodium Montmorillonite, Nucl. Technol., 15, pp.73-80 (1996).

[16] 鈴木英明, 柴田雅博, 山形順二, 広瀬郁郎, 寺門一馬：緩衝材の特性試験(I), PNC TN8410 92-057 (1992).

[17] H. Sato and S. Miyamoto：Diffusion Behaviour of Selenite and Hydroselenide in Compacted Bentonite, Appl. Clay Sci., 26, pp.47-55 (2004).

緊急対策外来種アメリカザリガニの防除による生物多様性回復の評価

岡山大学学術研究院　環境生命自然科学学域

中田　和義

在来生態系への影響が問題となっている北米産外来種のアメリカザリガニは，環境省と農林水産省により，2015 年に緊急対策外来種に選定された。その後，全国各地で深刻な生態系被害が確認されていることから，2023 年 6 月 1 日より，本種は条件付特定外来生物に指定されることが決定している。したがって，今後，各地でアメリカザリガニの防除が進められていくことが予想されるが，本種の防除による生物多様性回復への効果やその過程については，十分な知見が得られていない。そこで本研究では，アメリカザリガニが定着・増殖し，希少種を含む在来生物が消失している山口県内のため池 2 ヵ所において，2022 年 7 月から 2023 年 2 月にかけて本種の集中的な駆除を実施し，アメリカザリガニ駆除後の在来生物種の回復状況を評価した。

アメリカザリガニ連続捕獲装置と人工水草を設置して採集を実施した結果，2 ヵ所のため池で，計 1,320 個体のアメリカザリガニが捕獲駆除された。アメリカザリガニ駆除後の両池では，2021 年には確認されていなかった水生昆虫類や両生類が見られるようになった。以上の結果から，駆除によるアメリカザリガニの個体数減少は，他の在来水生動物相の回復をもたらす効果があることが示唆された。今後の研究では，両池においてアメリカザリガニの駆除を継続することで低密度化を実現し，水生昆虫類や両生類以外の水生動植物種を含む，多様な生物種の回復効果について評価する必要がある。

１．はじめに

アメリカザリガニ（*Procambarus clarkii*）は，1927 年に食用ガエルの餌として北米から我が国に移入された外来種である（川井ら，2003）。現在までに本種は，北海道から沖縄県までの日本全国において，河川・湖沼・水田・ため池・水路などの様々な水域に定着し，各地で増殖している（中田，2020）。

アメリカザリガニは，在来生態系に対して様々な悪影響を及ぼすことが認識されるようになり，絶滅危惧種を含む在来生物に対する直接的・間接的な被害のほか，農業被害も各地で確認されるようになった（苅部・西原，2011; 中田，2015, 2020; 高橋ら，2017）。例えば石川県金沢市の池では，本種による水生植物に対する摂食や切断で植生帯が消失し，国内希少野生動植物種に指定されている水生昆虫のシャープゲンゴロウモドキ（*Dytiscus sharpi*）が絶滅した事例が報告されている（苅部・西原，2011）。また，広島県内の湿地や池では，環境省レッドリスト 2020 で準絶滅危惧に選定されているアカハライモリ（*Cynops pyrrhogaster*）が本種に捕食される被害が確認されている（丸野内ら，2015）。以上のような被害例などを踏まえて，2015 年に環境省と農林水産省によって公表された「我が国の生態系等に被害を及ぼすおそれのある外来種リスト（生態系被害防止外来種リスト）」では，アメリカザリガニは緊急対策外来種に選定された。さらに本種は，2023 年 6 月 1 日より「条件付特定外来生物」に指定されることが決定している。したがって，今後，全国各地でアメリカザリガニの駆除が進められていくことが予想される。

代表研究者の研究室（岡山大学学術研究院環境生命自然科学学域応用生態学分野）では，日本に定着したアメリカザリガニの生活史を明らかにするための調査研究を進めるとともに，本種の生態を踏まえた有効な捕獲駆除手法の開発に関する研究を実施している（白石ら, 2015; 牛見ら, 2015ab; 中田ら, 2017）。2022 年 4 月に環境省自然環境局野生生物課外来生物対策室が公表した「アメリカザリガニ対策の手引き」では，代表研究者の研究室で開発した駆除手法を含

めて，アメリカザリガニの効率的な捕獲駆除手法が包括的に整理されている。このように，アメリカザリガニの駆除手法については，有効な捕獲技術が開発されてきた。

以上の背景を踏まえて，令和 4 年度公益財団法人ウエスコ学術振興財団の研究活動費助成を受けて実施した本研究では，アメリカザリガニが定着し増殖しているため池 2 ヵ所において，本種の集中的な駆除を行い，本種の駆除後における在来生物種の回復状況について評価した。

２．研究の方法

２．１．アメリカザリガニの駆除を実施したため池

本研究では，山口県山口市阿東地区に存在する 2 ヵ所のため池（花の木池および戎の木池：**図 1**）を調査地とした。両池ともに堤長 24 m・貯水量 400 m^2 の農業用ため池であり，農林水産省中国四国農政局農村環境課が 2021 年に実施した生物調査の結果から，アメリカザリガニが高密度に生息していることが判明している。一方で，両池ともに，在来生物は殆ど見られず，アメリカザリガニによる捕食等の被害を受けていると思われた。





図１　アメリカザリガニの駆除を実施したため池.
写真上：花の木池，写真下：戎の木池.

２．２．アメリカザリガニの捕獲駆除

アメリカザリガニの捕獲駆除には，NPO 法人シナイモツゴ郷の会が開発したアメリカザリガニ連続捕獲装置（以下，連続捕獲装置とする）と人工水草を用いた（**図 2**）。連続捕獲装置と人工水草は，花の木池と戎の木池のそれぞれにおいて，各 4 基ずつ設置した。連続捕獲装置については，アメリカザリガニの誘引餌としてドックフードと市販の寄せ餌を入れたタッパー（タッパーには小穴を開けている）を装置内に入れた上で，両池ともに池岸に 3 基，池の中央部付近に 1 基仕掛けた。人工水草については，両池ともに池岸に設置した（**図 3・4**）。

連続捕獲装置の設置日と設置期間は，両池に共通して， 2022 年 7 月 29 日に設置後，9 月 13 日，10 月 18 日，11 月 15 日，12 月 2 日，2023 年 2 月 16 日の計 5 回回収した。人工水草は，2022 年 10 月 18 日に設置後，11 月 15 日，12 月 2 日，2023 年 2 月 16 日の計 3 回回収した。人工水草の回収時には，人工水草の下側にさで網を入れ，人工水草に掴まっているアメリカザリガニをふるい落として捕獲した。





図２　アメリカザリガニの駆除に用いた漁具.
写真上：連続捕獲装置，写真下：人工水草.

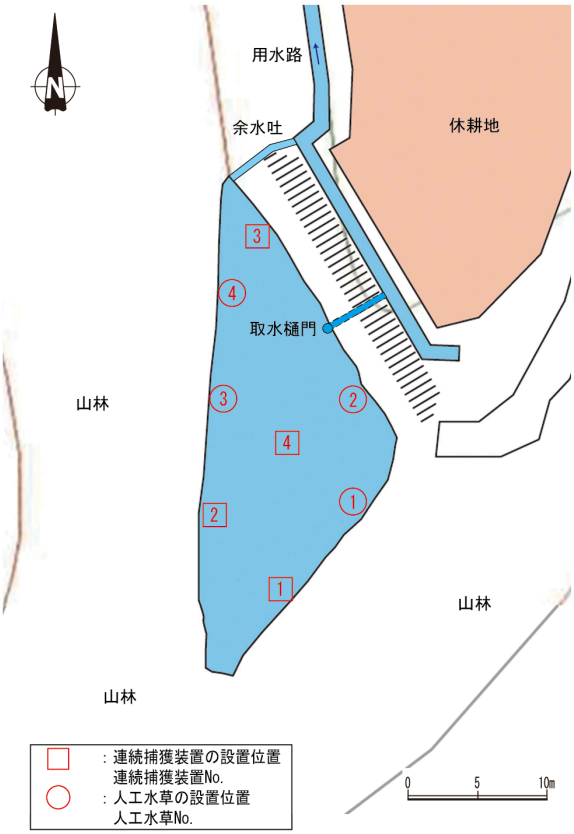


図３　花の木池における漁具設置位置.

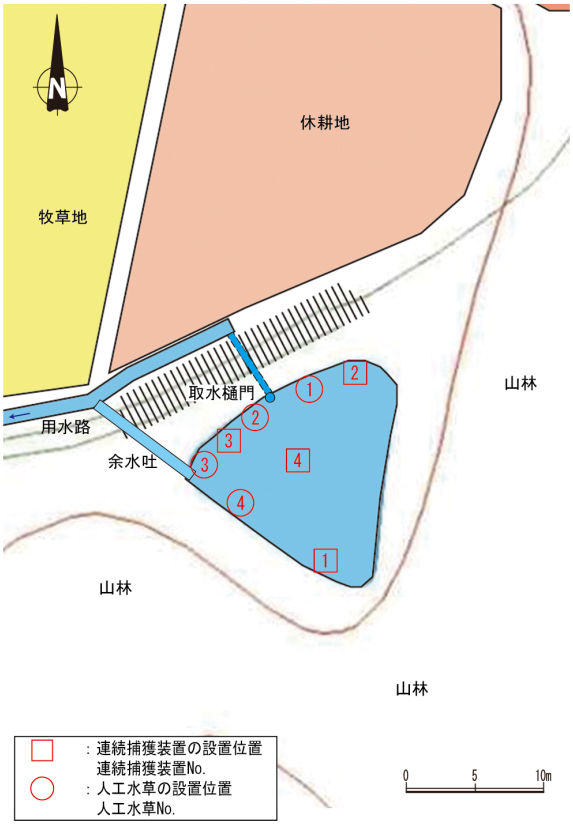


図４　戎の木池における漁具設置位置.

３．結果

３．１．連続捕獲装置で捕獲駆除されたアメリカザリガニの個体数

花の木池では, 9 月に 207 個体, 10 月に 146 個体, 11 月に 91 個体，12 月に 76 個体，2 月に 89 個体, 計 609 個体のアメリカザリガニが連続捕獲装置 4 基で捕獲駆除された（**図 5**）。また，戎の木池においては，9 月に 105 個体，10 月に 220 個体，11 月に 70 個体，12 月に 78 個体，2 月に 79 個体，計 552 個体のアメリカザリガニが駆除された。両池での合計捕獲個体数は，1,161 個体であった（**図 5**）。

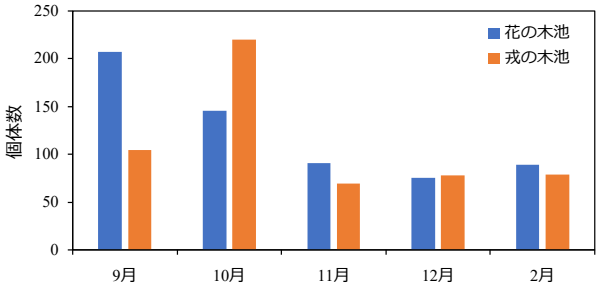


図5　連続捕獲装置で捕獲駆除されたアメリカザリガニの個体数.

３．２．人工水草で捕獲駆除されたアメリカザリガニの個体数

花の木池では，11 月に 64 個体，12 月に 25 個体, 2 月に 21 個体，計 110 個体のアメリカザリガニが人工水草 4 基で捕獲駆除された（**図 6**）。また，戎の木池においては，11 月に 28 個体，12 月に 5 個体，2 月に 16 個体，計 49 個体のアメリカザリガニが駆除された。両池での合計捕獲個体数は，159 個体であった（**図 6**）。人工水草で捕獲されたアメリカザリガニは，両池ともに主に小型個体であった。

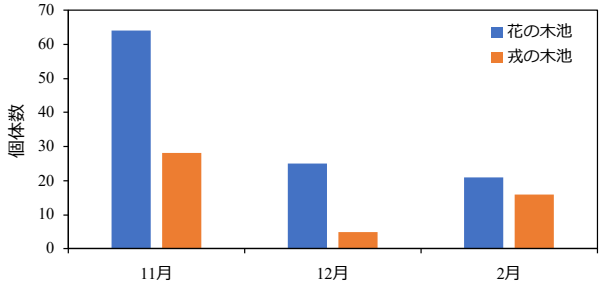


図6　人工水草で捕獲駆除されたアメリカザリガニの個体数.

３．３．その他の漁具によるアメリカザリガニの捕獲駆除個体数

本研究では，アメリカザリガニによる農業水利施設の被害に着目した農林水産省中国四国農政局農村環境課と連携し，同年 6 月～11 月の間，連続捕獲装置と人工水草での駆除とは別に，タモ網と篭網によるアメリカザリガニの捕獲を両池ともに計 7 回実施した。その結果，花の木池では計 3,924 個体，戎の木池では計 1,150 個体が駆除された。

以上をまとめると，2022 年度においては，花の木池では計 4,643 個体，戎の木池では計 1,751 個体，両池の合計では計 6,394 個体のアメリカザリガニが本研究の調査で駆除されたことになる。

４．考察と今後の課題

本研究の成果により，花の木池・戎の木池ともに非常に多くのアメリカザリガニを駆除することに成功した。2022 年度の秋季と冬季に実施された農林水産省中国四国農政局農村環境課によるモニタリング調査の結果によると，アメリカザリガニ駆除前の 2021 年には確認されていなかった生物種として，花の木池ではモノサシトンボやタカネトンボ，ハイイロゲンゴロウなどの水生昆虫類が挙げられ，特にトンボ類の種数と個体数が増加していた。戎の木池においては，複数種の水生昆虫類のほか，両生類のツチガエルやアカハライモリの幼生や成体が確認されるようになった。

両池においてこれらの生物種が見られるようになった理由としては，アメリカザリガニ駆除前においては本種から強い捕食圧を受けていたが，本研究による駆除でアメリカザリガニの個体数が減少したことにより，捕食の影響が緩和されたためと考えられる。今後も継続的にアメリカザリガニの捕獲駆除を続けていくことで，両池では希少種を含む様々な分類群の生物種が出現し始める可能性があるだろう。

アメリカザリガニは，水生動物のみならず，沈水植物などの水生植物を好んで摂食することが知られている（中田，2020）。花の木池・戎の木池ともに，現時点では沈水植物は見られないが，今後も引き続きアメリカザリガニの駆除を継続し，低密度化が実現されることで，沈水植物などが復元することも期待されよう。沈水植物が見られるようになれば，それらを生息場所や繁殖場所として利用する水生昆虫類や魚類などの個体数や種数が増加すると思われる。

謝辞

本研究は公益財団法人ウエスコ学術振興財団の令和 4 年度研究活動費助成事業の助成を受けて実施した。本研究の野外調査は，農林水産省中国四国農政局，一般財団法人広島県環境保健協会，ならびに NPO 法人シナイモツゴ郷の会の高橋清孝理事長のご協力のもとで共同研究として実施した。アメリカザリガニの計測等では，岡山大学大学院環境生命自然科学研究科応用生態学研究室の学生諸氏の協力を得た。ここに記してお礼申し上げる。

引用文献

苅部治紀・西原昇吾（2011）アメリカザリガニによる生態系への影響とその駆除手法．エビ・カニ・ザリガニ : 淡水甲殻類の保全と生物学（川井唯史・中田和義編），生物研究社，東京，pp. 313‐328.

川井唯史・一寸木　肇・Japan Crayfish Club・中田和義・小林弥吉・荒井　健（2003）アメリカザリガニの移入と分布に関する考察．青森自然誌研究，8: 1‐8.

丸野内淳介・松井久実・清水則雄（2015）アメリカザリガニ移入後の生息地のアカハライモリの状態．爬虫両棲類学会報, 2: 96-107.

中田和義（2015）都市の水環境に定着した外来ザリガニが在来生態系に及ぼす影響．用水と廃水，57: 49‐54.

中田和義（2020）水田水域に定着した外来種アメリカザリガニの生態と有効な駆除手法．農業および園芸，95: 285‐290.

中田和義・竹原早恵・白石理佳（2017）外来種アメリカザリガニの駆除に用いるペットボトル製トラップの検討．日本ベントス学会誌，71: 90‐101.

白石理佳・牛見悠奈・中田和義（2015）外来種アメリカザリガニの駆除に用いる篭と使用餌．応用生態工学，18: 115‐125.

高橋清孝･長谷川政智･久保田龍二･藤本泰文(2017) アメリカザリガニによる魚類への影響−ゼニタナゴ，シナイモツゴ，メダカなど希少魚の繁殖が脅かされている−. よみがえる魚たち(高橋清孝編)，恒星社厚生閣，東京，45-52.
牛見悠奈・宮武優太・筒井直昭・坂本竜哉・中田和義（2015a）外来種アメリカザリガニの駆除に用いる人工巣穴サイズ．応用生態工学，18: 79-86.
牛見悠奈・白石理佳・中田和義（2015b）好適なサイズの人工巣穴を用いた外来種アメリカザリガニの駆除効果．応用生態工学，18: 139-145.

本研究成果の外部発表

依頼講演

中田和義 : アメリカザリガニの生態と防除対策．特定外来生物対策研修会（愛媛県県民環境部環境局自然保護課)，2022 年 8 月 3 日.

中田和義 : アメリカザリガニの生態と防除．2022 年度水辺の自然再生共同 WEB シンポジウム(水辺の自然再生共同シンポジウム実行委員会)，2022 年 10 月 23 日〜11 月 13 日.

その他

農林水産省中国四国農政局農村振興部農村環境課発行，岡山大学学術研究院環境生命科学学域応用生態学研究室作成協力 :「アメリカザリガニによる農業水利施設の被害と駆除のすすめ」，2023, 7 pp.

＊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。

UAV グリーンレーザと深層学習を併用した河道の地被分類法の開発

岡山大学学術研究院　環境生命科学学域

吉田　圭介

近年の豪雨災害は河川合流部，狭窄部や樹林化区間などで生じる傾向にあり，河道管理では水害に対して脆弱な箇所での地形や地被状態を詳細に計測・推定することで洪水疎通能力を精査し，緊急度に応じた対策や整備を講じていく必要がある．

本研究では岡山県旭川下流の国管理の約 1.2km の樹林化河道区間を対象に UAV グリーンレーザ計測を行い，これと同時に撮影された航空写真も用いて，深層学習によって河道内の地被分布を推定した．その結果，レーザ点群だけのデータに比べて，写真画像を用いた学習によって地被分類の性能は向上した．また，点群データは教師データの補正に利用することで，性能向上に寄与することが分かった．

1. はじめに

気候変動によるものと考えられる自然外力の増大により，近年，全国の河川では氾濫危険水位を超過する洪水が至る所で発生し，堤防決壊によって大規模な浸水被害がもたらされている．河道の被災機構としては，降雨強度やその継続時間の増加といった気象要因の他に，河川合流部，狭窄部や樹林化区間といった局所的に治水安全度が低い箇所で，河川水が堤防を越水する状況が報告されている [1), 2)]．そのため，河川管理では水害に対して脆弱な箇所を河道全体で定量的に把握し，また，洪水疎通能力が低い区間では優先的に樹木伐採や河道掘削などの治水対策を行っていく必要がある．

河川の長区間における河積や樹木分布を把握する上では，陸部と水部を同時に測量可能な航空レーザ測深（ALB）は有効な計測手段と考えられる [3)]．従前の航空写真の目視による地被分類に比べて，ALB は樹高や密生度の推定値などから定量的に洪水疎通能力を精査できる点において有用である．しかし，ALB 計測は一般に，計測コストや頻度，飛行条件などに制約があり，迅速かつ自由度の高い運用には不向きである．一方，ここ数年の間，機器の小型化や軽量化が検討され，UAV に登載できるグリーンレーザスキャナが国内でも開発された [4)]．UAV グリーンレーザは ALB と比べて，比較的狭い河道区間を対象に 1m^2 当たり数十から数百点といった高密度で計測できるため，自然地形や地被状態の把握のみならず，護岸などの水理構造物の点検などへの利活用も期待されている．

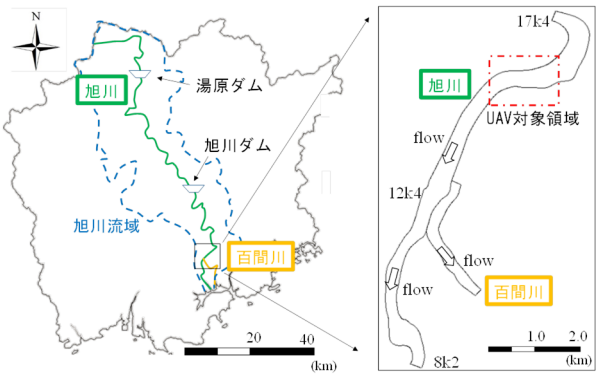


図-1 対象河川と河道区間

さて，近年，水工学分野では比較的狭い河道区間を対象に，河川の流下能力評価や植生動態のモニタリングを目的に，教師付き機械学習と UAV 写真データ等を用いた地被分類が活発に検討されている．例えば，百瀬ら [5)]は，UAV 写真，DSM 及び植生指数 NDVI に対してランダムフォレスト法を用いて地被分類を試みている．岡田ら [6)]は畳み込みニューラルネットワーク（CNN）を用いて UAV 写真から河道内の樹種判別を行い，流下能力評価を行っている．藤井ら [7)]は UAV 写真測量で得られたオルソ画像に対して，深層学習を行うことで，河道内の砂州・樹木等の領域を分類している．

以上の研究では解析アルゴリズムや用いるデータの工夫から比較的良い精度で，対象河道の地被分類が行われている．一方，一般に，地被や植生の分類に関する機械学習や推定では教師データの正確さは解析精度を左右する重要な要素であるものの，その作成には大変な労力を伴うことが多い [8)]．また，人間の作業では判断ミスがある場合や，作業者による相違が生じる可能性がある．そこで本研究では，岡山県旭川下流の国管理の約 1.2km 区間での UAV グリーンレーザ計測データを対象に，河道内の地被分類の深層学習の過程において，レーザ点群情報を用いて教師データを補正する工程を加えた新たな地被分類の手法を検討した．

2. 研究対象河川と UAV グリーンレーザ計測

図-1 に本研究で対象とする岡山県の旭川流域の概要を示す．旭川の幹川流路延長は 142km，流域面

表-1 UAVレーザ計測で用いた機器仕様と計測諸元

	項目	計測年月	
		2020.03	2020.10
仕様機材	グリーンレーザスキャナ TDOT GREEN（amuseoneself社製）		
機器仕様	レーザー波長帯(nm)	532±1	
計測仕様	レーザー照射数 (万発/秒)	6.0	
	対地高度(m)	50	
	対地速度(m/s)	2.5	
	計測点密度(1/m^2)	100以上	
写真仕様	解像度(cm/pixel)	3	
河川水質	濁度（FTU）	0.8	3.12

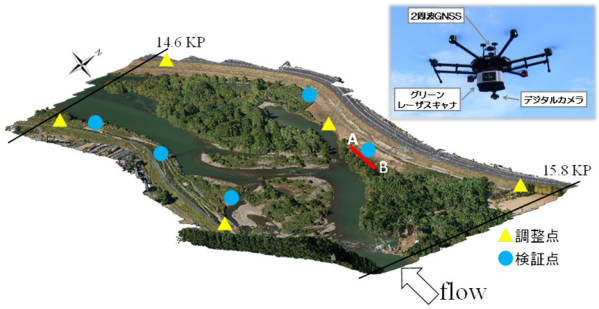


図-2 UAV計測対象の河道区間 (2020 年 10 月)

積は 1810km^2 である．国直轄区間は旭川の 17.5km と，旭川の放水路である百間川の 12.9km である．この区間の上流部では樹木や竹が密生しており，洪水疎通能力の低下が懸念されている．実際，平成 30 年 7 月西日本豪雨では，国直轄区間の基準点での洪水時のピーク流量が計画高水流量に達していないにも関わらず，この上流部ではピーク時点での水位が計画高水位付近に達した事例が発生した．そこで，本研究の対象区間は旭川本川の国直轄区間上流部の 14.4km から 15.8km とした．

UAV グリーンレーザ計測は2020年3月と10月に，amuse oneself 社のグリーンレーザスキャナ TDOT GREEN を用いて行われた．**表-1** に機器仕様と計測諸元を示す．両計測では高水敷，河床形状，植生状況を細かく再現するために，75%以上の重複区間を設けた計測航路を再現し，陸部，水部それぞれで，100 点/m^2 の点密度で計測を行った．計測時には地上に調整点及び検証点を設置し計測精度を検証した．その結果，いずれの計測も出来高管理の要求精度(±10cm)を満たしていた．UAV グリーンレーザ計測時にはドローンに搭載されたデジタルカメラによって直下の写真が鮮明に撮影され，0.03m/pix の解像度で保存された．**図-2** は計測対象領域であり，この図は得られたレーザ点群に写真の RGB を付与して描いたものである．

図-3 は**図-2** の A-B 断面上(奥行 10m)での UAV レーザ点群を描いたものである．図中には比較のため

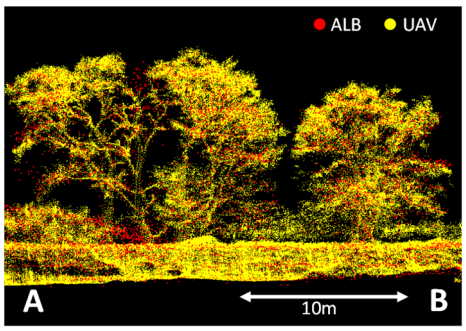
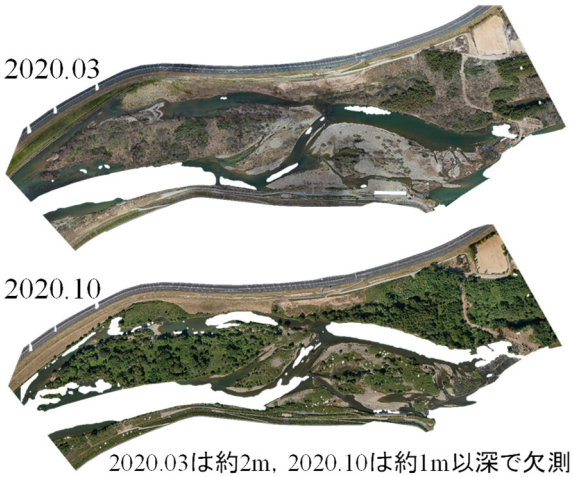


図-3 ALB と UAV のレーザ点密度の違い
(**図-2**：A-B 断面)



2020.03は約2m，2020.10は約1m以深で欠測
(写真内の空白部)

図-4 UAV 写真のオルソ画像

に同じ箇所を 2019 年 2 月に ALB で計測した際のレーザ点群を加えた．UAV レーザ点群は ALB レーザ点群に比べ点密度が高いため，樹木の三次元的な構造が詳細に計測できいる．**図-4** は UAV 写真のオルソ画像である．UAV レーザ計測では水部において 2020 年 3 月は約 2m，2020 年 10 月は約 1m 以深では欠測が生じており，図中ではその範囲を空白で示した．なお，この時期の河川の水質は ALB 計測では問題ない程度であった．以下ではレーザ計測の欠測部は解析範囲から除いた．

得られた生データに対して，以下の解析で使用するために次の前処理を行った．本研究の深層学習では計算負荷を軽減させるために，画像の解像度は 0.2m/pix とした．また，三次元レーザ点群はボクセルを用いて既往研究 [9]と同じ方法で処理し，結果として平面上の 1m 解像度のグリッド毎に植生高l，間引き操作後のレーザ点数n，下層点数割合e，及び DTM(Digital Terrain Model)の反射強度r を得た．

3. 地被分類の手法と検討

3.1 UAV レーザ点群のみを用いた地被分類

これまで著者ら[3]はALB計測から得られたレーザ点群とフローチャートに基づいて地被分類を行っ

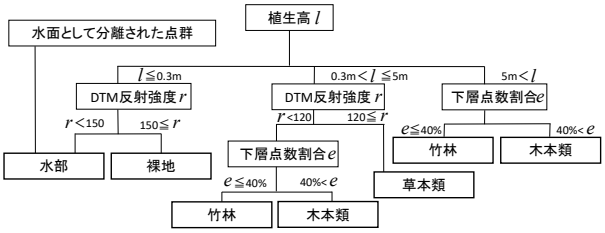


図-5 フローチャートによる地被分類

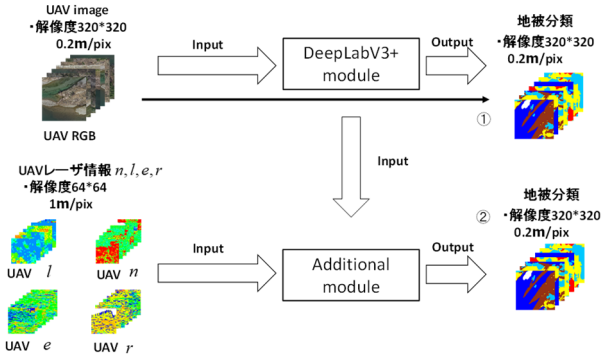


図-6 深層学習による地被分類

てきた．同じ考えに基づいて，ここでは UAV レーザから得られた上記の 4 つの情報 l, n, e, r を用いて，河道内の地被を水部，裸地，竹林，草本，木本の 5 種類に分類する．**図-5** には UAV レーザデータ用に新たに作成した分類のフローチャートを示す．

3.2 UAV 写真と UAV レーザ点群を用いた深層学習による地被分類

本研究では著者ら [10]による ALB データを用いた地被分類の方法と同様に，レーザ計測時に併せて撮影された UAV 写真画像に対して，機械学習の一種である深層学習を利用して地被分類を試みる．**3.(1)** では 5 種類の地被分類であったが，それに加えて深層学習では「裸地」に含まれていた「道路」と「その他」を別に区別し，結果として地被を 7 種類に分類することとした．ここでは画素単位での分類を行う Semantic Segmentation 法を採用し，モデルには DeepLabV3+[11] を採用した．

図-6 には解析フロー構成を示した．DeepLabV3+で扱える画像サイズにするために，解析では先ず，対象区間の UAV オルソ画像を縦 320×横 320 の画素の小領域の画像群に分割する．UAV 写真のみの深層学習では画像群を DeepLabV3+ module に与え，学習モデルを作成し，そのモデルを基に推論したい範囲の UAV 写真を与えることで地被分類の推論結果が出力される(**図-6** の①の流れ)．また，UAV レーザ点群を併用した解析では，小領域に分割した航空写真に場所と実寸サイズが一致するように，点群情報を縦 64×横 64 の画素で分割する．分割した点群情報を Additional module に与え，画像と点群を入力した



図-7 目視判別で分類を誤る例（左：3 月，破線内は樹木，周囲は草，右：10 月，破線内は竹林，周囲は草や樹木）

学習モデルを作成した [10]．その結果，推論したい範囲の UAV 写真と点群データを与えることで地被分類の推論結果が出力される(**図-6** の②の流れ)．また，著者らの既往研究 [10]では，学習や推論のデータとして植生高 l と間引き点数 n の 2 種類の点群情報しか用いていなかったが，本研究ではその 2 つに加えて，より情報量を増やし，分類性能を向上させるために下層点数割合 e と反射強度 r を追加した．

3.3 教師データの作成

著者らの既往研究 [10]と同様に教師データには航空写真から目視で正解となるラベルを作成した．一方，地被分類に関する既往研究 [8]では教師データの作成に関して労力の問題が指摘されている．また，目視による作業では間違いが生じたり，作業者により判断が異なる可能性がある．そこで，本研究では深層学習の学習モデルとは関係なく，目視から作成した教師データを 2 つの方法で手直し（補正）した．1 つ目は**図-7** のように 10 月では竹林と木本の RGB 情報が酷似しており目視で判別することが非常に困難なため，2020 年 3 月で竹林と判断した部分は 10 月でも竹林とした．2 つ目はレーザ情報による補正を行った．3 月については木本と草本の見分けがつきにくい（**図-7**）．現地調査で植生高が 2m 以上の草本が見られなかったため，植生高が 2m 以上で，草本にラベリングしている部分を木本に，逆に植生高が 2m 未満で，木本にラベリングされている部分を草本に補正した教師データを作成した．レーザ点群情報での補正前後の教師データを**図-8** に示す．

3.4 解析条件

図-9 に示す通り，深層学習では研究対象区間を小領域 (320×320) の単位で面積割合により学習 train(68%)，検証 valid(16%)，推論 test(16%)の 3 つの領域に分けた．また，この領域区分では**表-2** に示す通り各ラベルの割合がおおよそ同じになるように設定した．

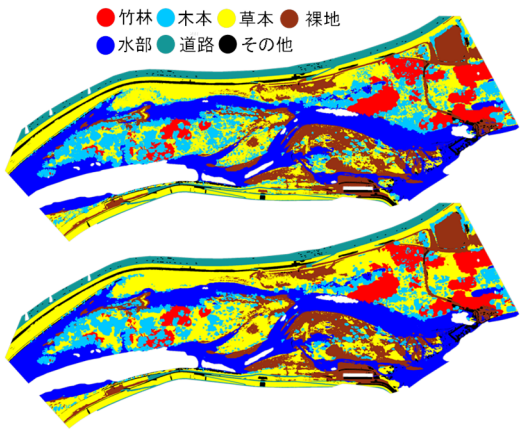


図-8 2020 年 3 月の教師データ
（上：補正後，下：補正前）

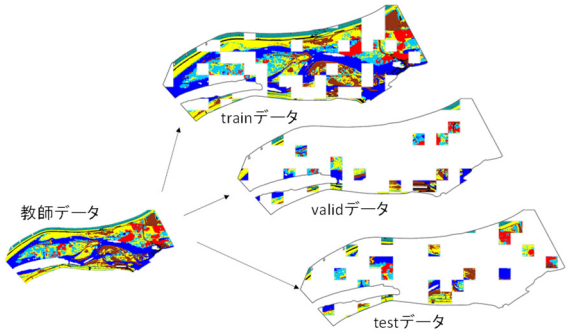


図-9 深層学習で使用するデータの領域区分
（2020 年 3 月）

表-3 は深層学習の解析条件である．Case1～4 については対象時期を 3 月と 10 月の 2 通り，学習データについては RGB 画像のみと RGB 画像+点群データの 2 通りを，それぞれ組み合わせて条件設定を行った．Case5 については 3 月と 10 月の 2 時期の RGB 画像を学習し，3 月の地被分類を推論する．なお，時期の異なるデータを相互に学習・推論しても地被分類の性能は向上しないことが既往研究 [10]で示されているので，本研究でも検討しないこととした．Case1～Case5 ではレーザ点群データで補正した教師データで学習を行った．一方，Case6～Case8 は教師データの補正の影響を確認するために検討した．また，本研究の学習は GPU のメモリサイズの制約からバッチサイズは 8 とした．

図-10 は Case1 での学習曲線の例を示す．学習曲線とは学習回数と予測性能の関係を示したグラフである．学習曲線は train loss は学習回数が増えると徐々に小さくなり，train データに対する予測性能は向上するが，validation データに対しては必ずしもそうではない．ここでは validation loss が最も小さくなるエポック数を調べるために，1000 エポックで学習を行った．validation loss が最小なるためにはエポック数が 300 必要と分かったため，解析条件は全ケースでエポック数を 300 に設定した．これら以外の深層学習の条件は著者らの既往研究 [10]と同様とした．

表-2 各ラベルの割合%(2020年3月)

	水部	裸地	草本	木本	竹林	道路	その他
train	23.2	15.2	34.7	9.1	7.1	7.9	2.8
valid	21.3	17.4	34.6	9.0	7.6	7.8	2.3
test	23.7	15.4	33.9	9.4	7.1	7.6	2.8

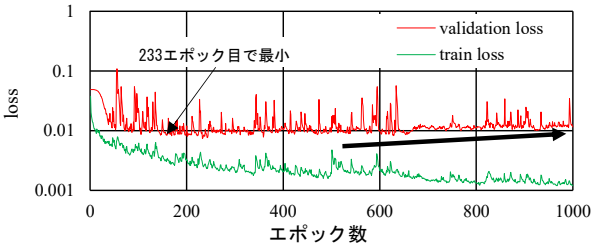


図-10 学習曲線

表-3 解析条件（Case1～Case8）

Case	学習			推論
	年月	データの種類	教師データの補正の有無	年月
1	2020.03	RGB画像のみ	有	2020.03
6			無	
2	2020.03	RGB画像 点群データ	有	2020.03
3	2020.10	RGB画像のみ	有	2020.10
7			無	
4	2020.10	RGB画像 点群データ	有	2020.10
5	2020.03 2020.10	RGB画像のみ	有	2020.03
8			無	

表-4 推論結果（%, UAVレーザ点群と正解の比較）

面積割合(%)		推論結果					
		竹林	木本	草本	裸地	水部	Total
正解	竹林	56.94	37.99	2.52	0.11	2.43	100
	木本	16.86	65.56	15.32	0.33	1.94	100
	草本	0.79	10.83	60.71	23.15	4.52	100
	裸地	1.55	4.86	21.94	53.70	17.95	100
	水部	2.20	9.44	1.12	0.60	86.63	100

4. 結果と考察

4.1 UAV レーザ点群のみによる推論結果

表-4 は**図-5** に示した方法により得られた分類結果(混同行列)である．表中，対角成分では 60%以上は緑，非対角成分では 10%以上について赤で着色している．推定範囲は**図-2** の区間である．0.2m 解像度の正解データの画像は UAV データの 1m 解像度に合わせて粗視化した．具体的には，正解データを 5×5 の範囲に分割して，最も多いラベルの割合を範囲の代表値にした．対角成分が優位であるが，竹林と木本，裸地を草本に誤判定している割合が高いことが理解できる．植生高や下層点数割合，反射強度のみで

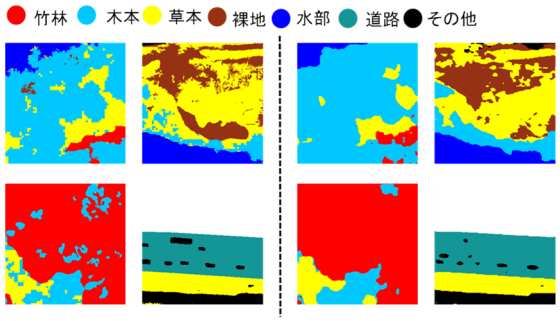


図-11 Case1の推論結果の一例
（左：正解，右：推論結果）

表-5 推論結果（%，深層学習と正解の比較, Case1）

面積割合(%)		推論結果							
		竹林	木本	草本	裸地	水部	道路	その他	Total
正解	竹林	89.20	7.73	2.88	0.06	0.14	0.00	0.00	100
	木本	4.88	77.69	13.52	2.76	0.68	0.00	0.46	100
	草本	0.93	9.74	78.86	8.54	0.32	0.73	0.88	100
	裸地	0.22	2.77	8.53	84.61	0.46	1.96	1.45	100
	水部	0.55	4.55	0.46	0.95	93.38	0.00	0.11	100
	道路	0.00	0.00	0.86	4.08	0.00	93.68	1.39	100
	その他	0.04	0.91	17.40	5.67	0.46	7.74	67.79	100

表-6 推論結果（%，深層学習と正解の比較, Case2）

面積割合(%)		推論結果							
		竹林	木本	草本	裸地	水部	道路	その他	Total
正解	竹林	89.99	7.20	1.98	0.05	0.75	0.00	0.03	100
	木本	4.21	78.32	13.47	2.80	0.77	0.02	0.41	100
	草本	0.99	9.85	77.12	9.35	0.79	0.82	1.07	100
	裸地	0.37	2.06	5.34	89.01	1.00	1.25	0.98	100
	水部	0.58	2.93	0.43	0.94	95.07	0.00	0.06	100
	道路	0.00	0.00	0.50	2.69	0.00	94.93	1.88	100
	その他	0.00	0.87	15.23	7.00	0.57	7.07	69.27	100

は十分な推論が行えないと考えられる．なお，既往研究[8]でも ALB レーザ点群のみの分類を行ったが，同様の結果であった．

4.2 深層学習 Case1，Case2 における推論結果

図-11 は Case1 の推論結果であり，教師データ(**図-8**)と比較すると概ね推論が適切にできている．一方で，木本を草本に誤判定する箇所が所々に見られる．**表-5** と **表-6** は Case1, Case2 の推論結果について，ラベルごとに**表-4** と同様に整理したものである．ここでも上記4.(1)と同様に1m解像度で精度を検証した．**表-5** の Case1 では対角優位で先にも述べた通り，木本を草本に誤判定している割合が高い．一方，UAV の植生高や反射強度の情報を与えた Case2 では同様に対角優位だが，木本を草本に誤判定する割合が高くなっている．以上より，点群情報は推論精度の向上に寄与しないことが分かった．また，頁の都合，図表は省略するが，Case3，Case4 でも Case1，Case2 と概ね同様の結果が得られた．

4.3 2 つの時期を学習している場合の推論結果

既往研究[10]では学習と推論データに異なる1つの時期を用いて解析した場合，分類結果が良くないこ

表-7 推論結果（%，深層学習と正解の比較, Case5）

面積割合(%)		推論結果							
		竹林	木本	草本	裸地	水部	道路	その他	Total
正解	竹林	88.07	7.15	4.70	0.03	0.05	0.00	0.00	100
	木本	5.50	73.46	16.57	2.73	1.10	0.00	0.63	100
	草本	1.06	7.59	82.45	7.48	0.46	0.24	0.72	100
	裸地	0.40	1.86	8.50	87.53	0.75	0.46	0.50	100
	水部	0.41	2.27	0.71	0.45	96.08	0.00	0.08	100
	道路	0.00	0.00	1.34	3.38	0.00	94.12	1.16	100
	その他	0.25	0.39	17.23	8.97	0.74	4.52	67.92	100

表-8 推論結果（%，深層学習と正解の比較, Case6）

面積割合(%)		推論結果							
		竹林	木本	草本	裸地	水部	道路	その他	Total
正解	竹林	94.79	2.21	2.44	0.01	0.48	0.00	0.07	100
	木本	8.52	67.87	18.05	3.56	1.36	0.01	0.62	100
	草本	2.36	5.48	83.92	6.47	0.61	0.34	0.82	100
	裸地	0.42	1.28	9.38	86.41	0.99	0.53	0.99	100
	水部	0.53	2.03	0.55	0.69	96.04	0.00	0.15	100
	道路	0.00	0.10	1.72	4.60	0.00	91.72	1.87	100
	その他	0.07	0.26	14.42	13.80	0.68	5.11	65.66	100

表-9 推論結果（%，深層学習と正解の比較, Case8）

面積割合(%)		推論結果							
		竹林	木本	草本	裸地	水部	道路	その他	Total
正解	竹林	84.62	6.78	8.47	0.01	0.11	0.00	0.00	100
	木本	4.89	72.02	18.11	3.77	0.96	0.00	0.26	100
	草本	1.17	5.83	85.39	6.23	0.34	0.44	0.59	100
	裸地	0.16	1.49	7.41	89.10	0.81	0.43	0.60	100
	水部	0.43	2.94	0.91	0.44	95.25	0.00	0.03	100
	道路	0.00	0.00	0.79	3.93	0.00	94.17	1.11	100
	その他	0.00	0.75	12.60	13.83	0.85	5.05	66.93	100

とが示されている．そこで本研究では Case5 のように Case1 をベースに，異なる 2 つの時期のデータを同時に学習させた場合を検討した．推論結果を**表-7** に示す．対角優位であるのは Case1 と変わらないが，木本を草本に誤判定している割合が高くなっている．これは 10 月の木本と草本の RGB 情報が酷似しているため，誤った判定をしたからだと考えられる．この結果から，推論する時期とは別の時期のデータを学習させても，学習する情報量は増えるが，推論結果は向上しないことが分かった．

4.4 教師データの点群補正前後の比較

次に，教師データの補正の効果を検討する．**表-8**, **表-9** には Case6, Case8 の推論結果について**表-4** と同様に整理したものを示す．Case6 と補正後の Case1 を比べると，木本の一致率が約 10%減少し，木本を草本に誤判定する割合が約 5%程度増加する．全体的な精度を表す F 尺度では Case1 が 83.90%，Case6 が 81.75%でこちらの指標でも Case1 の方が分類性能は高いことが分かる．また，Case2 の F 尺度は約 84.23%であり，Case1 と同程度である．したがって，深層学習のモデルの入力として，レーザ点群データは必須ではなく，画像のみで十分であるといえる．一方，手作業で教師データを作成する際に，画像の

みで作業を行うと，誤ったラベルを貼ることがあるので，レーザ点群データを参照するなどして丁寧に教師データを作成することが重要である．なお，本研究ではレーザ点群情報で補正が必要であった領域は全体の約 3%であり，Case1 と Case6 の F 尺度の差異と近い値を示したが，一般的にどのような場合でも近い値を示すとは限らない．本研究で得られた知見が一般的に成り立つかどうかは今後，検討を行う必要がある．

5. 結論

本研究では岡山県旭川下流の国管理の約 1.2km の区間を対象に，UAV 写真と UAV グリーンレーザ点群データを深層学習に利用した地被分類法を検討した．本研究で用いた 3 月と 10 月の 2 時期の UAV データに対して検討した結果得られた知見を以下に示す．

[1] UAV 写真のみを学習した場合は，UAV レーザ点群情報のみを学習した場合よりも地被分類の性能は高い．写真とレーザ点群の両者を学習した場合は UAV 写真のみの場合と同程度の分類性能が得られ，レーザ点群は写真以上に分類性能向上に寄与しないことが分かった．

[2] 教師データの作成時に UAV 写真の目視判断に加えて，目視による正確な判別が困難な箇所に対して UAV レーザ点群情報を用いて補正することで，地被分類の性能を向上させることが出来ることが分かった．

[3] 推論する時期に加えて，それとは異なる時期のデータを追加で深層学習させた場合，学習する情報量は増えるが，分類性能向上には寄与しないことが分かった．

参考文献

1) 土木学会水工学委員会：令和元年台風 19 号豪雨災害調査団報告書，2020.
2) 土木学会水工学委員会:令和 2 年 7 月九州豪雨災害調査団報告書，2021.
3) 吉田圭介，前野詩朗，間野耕司，岩城智大，小川修平，赤穂良輔：航空レーザ測深を用いた河道の植生分布の判定手法の検討，土木学会論文集 A2(応用力学)，Vol.73，No2(応用力学論文集 Vol.20)，I_607-I_618，2017.
4) 堺浩一，間野耕司，橘菊生，西山哲：UAV グリーンレーザ計測による河川構造物点検への適用検討，河川技術論文集，第 27 巻，pp.51-56，2021.
5) 百瀬文人，宮本仁志，岩見収二，永矢貴之：ウェーブレット変換と機械学習を用いた UAV 河川空撮画像の地被分類手法の検討，土木学会論文集 B1(水工学), Vol.74, No.5, I_607-I_612, 2018.
6) 岡田将治，村本遥，山崎涼太，安田晃昭：中筋川における UAV 画像を用いた河道内植生の樹種判別モデルの構築と樹木管理への応用，河川技術論文集，第 26 巻，pp.515-520，2020.
7) 藤井純一郎，吉田龍人，天方匡純，山下隆義：UAV 写真測量と深層学習を活用した河道管理手法の研究, AI・データサイエンス論文集, 1(J1), pp.558-595，2020.
8) 荒木健，箱石健太，一言正之，古木宏和，倉上健，与賀田隆史，坂本俊二，大石哲也，山口里実：空中写真を用いた深層学習による河道の水域抽出手法の研究，河川技術論文集，第 27 巻，pp.35-40，2021.
9) Md. Touhidul ISLAM, Keisuke YOSHIDA, Koichi SAKAI, Satoshi NISHIYAMA, Tomoyuki TSUDA, Kimishisa NAGATA and Shiro MAENO: Model-Induced Comparative Study of ALN and UAV-Borne Green Lidar Systems on Vegetated Lower Asahi River Assessment in Japan, *Journal of Japan Society of Civil Engineers*, Ser. B1 (Hydraulic Engineering), Vol. 76, No. 2, I_529-I_534, 2020.
10) 吉田圭介，谷口純一，潘是均，小島崇，永田貴美久，渡邊明英：ALB 点群データを援用した河川航空写真の深層学習による地被分類法の検討，土木学会論文集 B1(水工学)，Vol76，No.2，I_10003-I_1008，2020.
11) Liang-Chieh Chen, Yukun Zhu, George Papandreou, Florian Schroff, Hartwig Adam: Encoder-Decoder with Atrous Separable Convolution for Semantic Image Segmentation, *The European Conference on Computer Vision*, pp.801-818, 2018.

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謝いたします. 国土交通省岡山河川事務所ならびに株式会社パスコからは貴重なデータを提供頂きました．また，本学大学院の野村 碧都 君および潘 是均 君には現地調査のデータ整理や深層学習の解析で多くの協力を頂きました. ここに記して謝意を示します.

瀬戸内地域の観光に資する建築資産の活用手法に関する研究

岡山大学 学術研究院 環境生命科学学域

堀　裕典

人口減少下の日本において空き家やそれに伴う地域の活力低下が大きな問題となっているが、近年、地方において様々な再生手法が模索されてきている。特に、歴史的な建築物を活用したホテルやカフェ、レストランなど、観光の観点から見た建築物の活用が脚光を浴びてきている。そこで本研究では、歴史的建造物群や建築的アートを観光資産として持っている、瀬戸内エリアの玉島、直島、鞆の浦を対象に文献調査および現地調査から観光の可能性と歴史的建造物群の活用のあり方を探った。その結果、非日常を体験するためのエリアとして、直島と鞆の浦の例が挙げられる。商業施設や宿泊施設などをどこまで充実させるかという点が非常に重要となってくると考えられる。いかに宿泊観光客を獲得し、地元にお金を落としてもらうかという点が重要である。玉島においては、歴史資産として残ってはいるが、観光資産としては、まだまだ乏しいため、観光客を積極的に呼び込むに至っていない。この点では、なんからの施策とセットで検討する必要がある。瀬戸内観光という視点で考えれば、歴史的建造物群における体験を通じて非日常を体験するという観点から複数のエリアを訪問するプログラムを作成するなども一つの案であろう。

1.はじめに

人口減少下の日本において空き家やそれに伴う地域の活力低下が大きな問題となっているが、近年、地方において様々な再生手法が模索されてきている。特に、歴史的な建築物を活用したホテルやカフェ、レストランなど、観光の観点から見た建築物の活用が特に脚光を浴びてきている（神田ら 2022）[1)]。国外において、例えば、堀ら（2017）[2)]によれば、カナダ・バンクーバーにおいては、容積移転の手法を用いた歴史的建築物の保全によって、地区としての景観を維持し、観光地としての建築資産を活用していることが報告されている。しかし、日本の地方都市では容積ボーナス受け地側のポテンシャルがなく、実際の運用は難しい。そのため、ファイナンスの面から事業を支える仕組みが必要である。

また、本研究で対象とする瀬戸内地域は、雨が少なく、温暖な気候であり、観光名所も多く存在する。その中で、歴史的建築物の保全を行いながら、観光まちづくりを行っている鞆の浦の事例(阿部ら 2021)[3)]や建築やアートの視点から観光まちづくりを行う直島のような事例（西田 2008）[4)]も存在する。しかし、瀬戸内地域の観光地を一帯としてマネジメントするせとうち DMO[5)]は 2016 年から事業を開始したところであり、関連研究は見当たらない。

以上から、本研究では、瀬戸内地域を対象として、観光の視点から見た建築資産の活用手法の実態と事業スキームおよび瀬戸内地域一帯としての観光マネジメント手法について明らかにすることを目的とする。研究の特色として、観光の視点から建築資産を活用する手法を検討する点とこれまで地域一帯としての研究がなかった瀬戸内地域の建築に関する点である。

2.研究の方法

今年度の研究では、主として文献調査および現地調査を行った。現地調査の詳細は下記である。

【玉島・直島における現地調査】

日時：2023 年 3 月 25 日 午前 9 時半～午後 7 時

【鞆の浦における現地調査】

日時：2023 年 3 月 30 日 午前 10 時半～午後 5 時

3.玉島における歴史的建築物群

（1）玉島の市街化の歴史

近代以前について、玉島は元々島で干拓を繰り返し今の地形となる。玉島は北前船の寄港地であり、港町として栄えた。江戸時代に主な産業であった綿花

の品質の低下、港の水深が浅くなるなどの理由によって徐々に衰退していった。しかしながら玉島駅(現在の新倉敷駅)ができるまでは玉島の中心の町であった。明治 8 年には霞橋が完工した（図 1)。

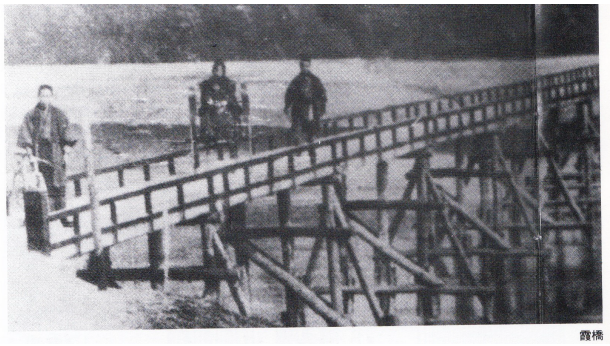


図 1. 霞橋の完工

明治 14 年には、玉島紡績株式会社の工場が設立された(図２)。玉島は干拓されてできた町であるため、塩を含んだ田畑に稲作は向かず、大量に綿が植えられた。玉島で最も早く発達した近代産業が、綿花を原料とした「紡績」であった。

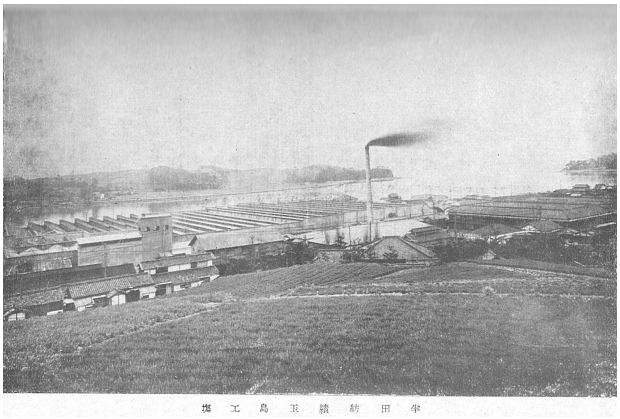


図 2. 玉島紡績の工場が設立

明治 24 年には玉島駅が開通した。鉄道は通町西側を通る計 画になっていたが、「港がさびれる」と猛反対され、3km 北の長尾に駅ができた（図３)。山陽鉄道株式会社により、倉敷-笠岡間の鉄道が開通し、玉島駅が長尾村に建設された。鉄道開通は近世玉島港の機能に終止符をうち、玉島駅が港に遠く設けられたことは、その後の玉島の発展を妨げる大きな要因となった。【鉄道は玉島港を通らせず】 鉄道唱歌の一節に、「霊験いまにいちじるしく、讃岐の国に鎮座ある、金比羅宮に参るには、玉島港に汽船あり」と歌われた。

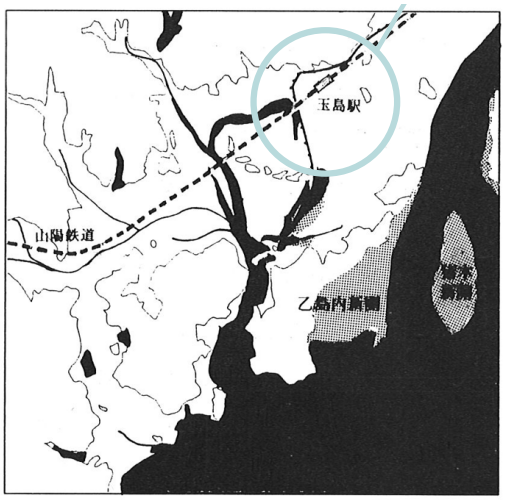


図 3. 玉島駅の開通

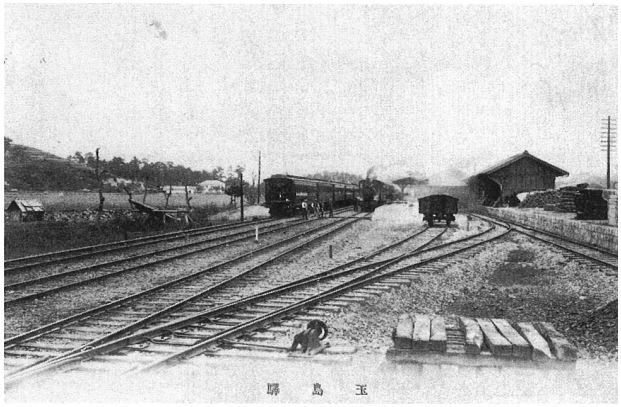


図 4. 玉島駅（現新倉敷駅）

図 5 は明治の終わりごろの玉島市街地の中心の写真である。裁判所の前にあるのが溜川で、干潮時には水門が開かれて排水された。



図 5. 玉島市街地の写真（明治）

ときは下って、昭和 40 年には、玉島海岸道路が開通した。新町筋は道幅が狭いうえ、拡張する余地もないので、海岸を新しく埋め立てて広い道路を開通、あわせて荷揚場を作ることとなった。同時に対岸の中島町-川崎間の海岸道路でき、これを連結する橋もでき、交通の便は急ピッチでよくなった。図６

の写真は捨石が行われ、埋め立てがはじまったところ。従来の県道は路幅がせまく 自動車時代の交通に支障となったので、県営で天満町海 岸道路が着工された。新町、戒町、稲荷町、天満町、船宮 間の新道が海岸沿いに開通して、美しく、電灯が彩るようになったのは 41 年。図 7 の写真は天満町海岸に捨石がはじまり、次第に埋め立てられて行くときのようすを示すものである。昭和 49 年、玉島駅が新倉敷駅に改名された。昭和 50 年山陽新幹線岡山-博多間 398km が開通し新倉敷駅が完成した。

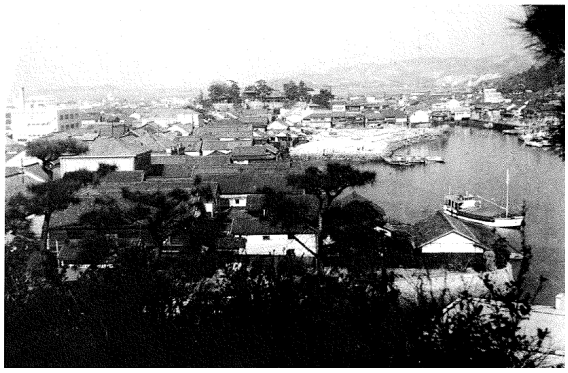


図 6. 玉島海岸道路の開通



図 7. 玉島海岸道路の開発の様子

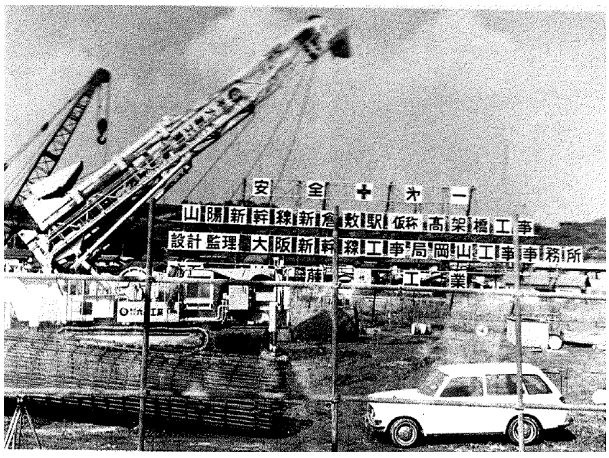


図 7. 新倉敷駅工事の様子

市街地の様子としては、図 8,図 9 に示すように、繁華街として賑わいが見られた。



図 8. 玉島繁華街の様子（1）



図 9. 玉島繁華街の様子（2）

（2）玉島町並み保存地区の現在

以上より、鉄道が港から遠く設けられたため、港町としての発展に終止符を打つことになった。現在でも、虫籠窓や格子を備えた本瓦葺の商家やなまこ壁のある土蔵が数多く残されており、歴史的な景観をとどめている。この町並みは，平成 7 年に岡山県の町並み保存地区に指定されている [6]。現在の町並み保存地区の中心部（図 10）の写真を図 11 に示す。修景がなされた建物やリノベーションが行われたと見られる建物がみられた。観光客も数組みられたものの、エリアとしてはそれほど大きくなく、町並み保存地区だけで観光客を呼ぶだけの観光資産となっているかは疑問である。一方で、隣接する商店街（図 12）は、寂れてしまっており、観光客も殆ど通らない状況となっている。観光資産として活かすには、何らかの他の施策とセットで検討する必要があると考えられる。

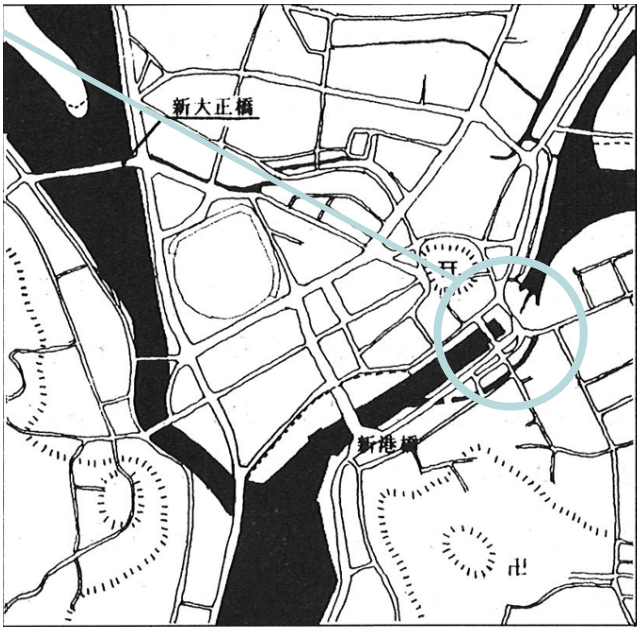


図 12. 現在の町並み保存地区のエリア



図 11. 現在の町並み保存地区の様子



図 12. 銀座商店街の現在の様子

4.直島における建築とアート

直島における建築とアートに関して、多くの観光客が訪れるとともに、そのブランディングが成功した事例と言える。多くの建築物とアートを複合化することにより観光資産としてのストックをうまく生かしている（図 13、図 14）。大きな開発が起こっていないため、古民家が多く残っており（図 15）、アートも古民家をリノベーションしたものも見られた。



図 13. 宮ノ浦のアート分布図



図 14. アート化された銭湯



図 15. 町並みと調査写真

5.鞆の浦における歴史的建造物群

鞆の浦においては､多くの観光客が訪れるとともに、歴史的建造物群が観光資産としてストックされている。なお、リノベーションや修繕などの取り組みも多く行われており、瀬戸内観光の中でも多くの可能性を秘めたエリアである。今回の調査では、歴史的建造物群が存在するエリアをすべて踏査し、建築物の状況や観光資源を把握した。



図 16. 常夜燈



図 17. 歴史的建造物群



図 18. 歴史的建造物と調査写真

6.まとめ

（1）玉島における観光資産と建築

玉島においては、新倉敷駅が港から離れたところに建設されたことにより、繁華街としての機能が低下した。一方、それにより、開発圧力が低く、歴史的建造物が残ったとも考えられる。観光資産としての建築物という点から考えれば、歴史的建造物群のエリアが小さく、何らかの他の施策とセットで考えることが重要である事がわかった。

（2）直島における観光資産と建築

直島においては、ブランディングが成功した事例ともいえる。歴史的建造物が多く残っており、それをリノベーションしたものや、銭湯の建物をアート化するなど、他にはない建築とアートの複合化が成功した事例と言える。

（3）鞆の浦における観光資産と建築

鞆の浦においては､多くの観光客が訪れるとともに、歴史的建造物群が観光資産としてストックされている。なお、リノベーションや修繕などの取り組みも多く行われており、瀬戸内観光の中でも多くの可能性を秘めたエリアであることがわかった。

（4）3 つのエリアからわかること

非日常を体験するためのエリアとして、直島と鞆の浦の例が挙げられる。商業施設や宿泊施設などをどこまで充実させるかという点が非常に重要となってくると考えられる。今回の調査では、日帰りで行ったが、いかに宿泊観光客を獲得し、地元にお金を落としてもらうかという点が重要である。玉島においては、歴史資産として残ってはいるが、観光資産としては、まだまだ乏しいため、観光客を積極的に呼び込むに至っていない。この点では、なんからの施策とセットで検討する必要がある。

瀬戸内観光という視点で考えれば、歴史的建造物群における体験を通じて非日常を体験するという観点から複数のエリアを訪問するプログラムを作成するなども一つの案であろう。

【参考文献】

1）神田 將志, 日高 優一郎, (2022)「岡山県矢掛町におけるアルベルゴ･ディフーゾの発展プロセス ―地域のマーケティングとアクターの生成 ―」, マーケティングジャーナル 41(3) pp. 105-114.

2）阿部由香里, 松井大輔, 西川亮, 石山千代 (2021)「景観紛争を乗り越えて実践される鞆の浦の町並み保全型まちづくりの現状と計画的課題 -主体関係の変化と現在の意見に着目して-」, 日本都市計画学会都市計画論文集, Vol.56-3, pp.508-515.

3）西田正憲（2008)「過疎地域の越後妻有と瀬戸内直島における現代アートの特質に関する風景論的考察」, ランドスケープ研究, 71 巻 5 号, pp.785-790.

4）堀裕典, 村山顕人, 小泉秀樹, (2017) バンクーバー市都心部における容積移転制度を活用した開発手法とその運用－既存の開発許可プロセスを通じた歴史的建造物容積バンクからのボーナス取得－、都市計画論文集、日本都市計画学会、52-3 号、pp.617-623.

5）せとうち DMO ホームページ, https://setouchitourism.or.jp/ja/setouchidmo/（2022 年 3 月閲覧）

6）倉敷市ホームページ玉島町並み保存地区 https://www.city.kurashiki.okayama.jp/6221.htm（2023 年 5 月 7 日閲覧）

【3 章参考文献】

・玉島要覧 玉島町, 玉島商工會 1937
・玉島市の展望 中国観光地誌社 1959
・目で見る倉敷・総社の 100 年 郷土出版社 2000
・たましま歴史百景 たましまテレビ株式会社 萌友出版 2017
・玉島の歴史 玉島商工会議所 1983
・ふるさとの思い出 写真集 明治大正昭和玉島 森脇正之国書刊行 会 1983
・高梁川 68 号 高梁川流域連盟 2009
・倉敷今昔写真集 昭和 23 年~平成 3 年倉敷新聞社 1991
・玉島風土記 森脇正之 1994
・玉島界隈ぶらり散策 小野敏也 倉敷ぶんか倶楽部 2007
・玉島町並み保存基本計画調査報告書 倉敷市教育委員会 1993
・玉島町の発展策 山陽新聞社(印刷)1926
・倉敷の歴史 第 11 号 倉敷市総務局総務部総務課 2001
・新修倉敷市史 第 5 巻 通史編 近代(上)2002
・新修倉敷市史第 6 巻 通史編 近代(下) 2004
・新修倉敷市史第 7 巻 通史編 現代 2005
・新修倉敷市史第 8 巻 自然･風土･民俗 1996
・新修倉敷市史第 11 巻 史料編近代(上) 1998
・新修倉敷市史第 12 巻 史料編 近代(下)・現代 2001
・岡山県南部地区交通計画調査報告書 中国地方綜合開発委員会 1954

斜面安定のための疎水材層の多層構造システムの検討

岡山大学学術研究院 環境生命科学学域

金　秉洙

本研究では現場での施工を考慮した設置条件の模型土槽実験を行い，疎水材層により降雨浸透を遮断することを目的とし，シラン処理した疎水性高炉水砕スラグ(Hydrophobic-GBFS; H-GBFS)を用いて土層構造システムを検討した。室内盛土模型実験の設置条件として総 3 ケースに分けて実施した。まず，Case 1 では再現可能な設置条件での H-GBFS の遮水機能の検討の目的として，現場で再現可能な設置条件として被覆層 20cm，疎水材層 3.0cm の層厚を設定した。Case 2 では斜面角度を変化における疎水材層の遮水機能の検討の目的として，Case 1 の条件から斜面角度だけを変更し，地盤工学会による法面勾配の設計基準内の約 22° （勾配 1:2.5）の勾配で実験を行った。最後に，Case 3 では疎水材層の多層構造システムの検討の目的として，20cm の層厚の被覆層の内部にさらに 1 層の疎水材層を設置し，疎水材層を多層（2 層）構造システムとして遮水することを検討した。

1. はじめに

近年，集中豪雨による洪水や堤防の破壊，斜面崩壊といった土砂災害が急激に増加している。土砂災害の一因として，降雨浸透が挙げられる。降雨時に，雨水が斜面内部に浸透することで土のせん断強度が低下し，河川堤防崩壊や斜面崩壊が発生している。そこで，本研究では疎水性地盤材料を用いて，斜面内部への降雨浸透の抑制し，地盤材料のせん断強度を保つことで斜面の安定性の向上を目指した。本研究で用いた材料は高炉水砕スラグ(granulated blast furnace slag ; GBFS)である。これまでの研究で，シラン処理した疎水性高炉水砕スラグ(Hydrophobic-GBFS; H-GBFS)の優れた遮水性能，十分なせん断強さを持つことが明らかとなった [1)-3)]。しかし，現場斜面での設置条件との違いがあり，さらに検討を行うこととなった。本研究では，現場で施工可能な設置条件で室内盛土模型実験を行い，H-GBFS の遮水機能の確認及び有効な多層構造システムの検討を行った。

2. 過去の研究について

これまでの研究で，H-GBFS のせん断強度特性の確認および遮水性能の検討を行っている [3)]。まず，圧密非排水三軸圧縮試験を行い，H-GBFS のせん断強度パラメーターは c'=0kPa, ϕ'=32.6°であることを確認した。次に，供試体の表層に水が浸透する瞬間の水頭を計測する水浸入水頭(WIH)試験を行い，乾燥密度 1.75g/cm^3 の条件で WIH=11.2cm という優れた遮水性能を示し，また疎水材層の必要層厚 Z_{rt} は 4.0mm であることが確認された。さらに室内模型土槽実験を行い，疎水材層の層厚を 5.0mm とした時の遮水性能の検討を行った。用いた試料の物理特性を表-1, 実験装置の模式図を図-1,

表-1 用いた試料の物理特性

項目	H-GBFS	珪砂1号	真砂土
土粒子密度(ρ_s)(g/cm^3)	2.86	2.65	2.58
最大乾燥密度(ρ_{dmax})(g/cm^3)	1.80	1.67	1.88
最小乾燥密度(ρ_{dmin})(g/cm^3)	1.44	1.45	-
最大間隙比(e_{max})	0.87	0.83	-
最小間隙比(e_{min})	0.49	0.58	0.37
平均粒径(D_{50})(mm)	0.45	4.50	0.38
均等係数(U_c)	4.64	2.24	13.7
透水係数(k_s)(cm/s)	1.2×10^{-2}	2.44×10^{-1}	1.40×10^{-4}

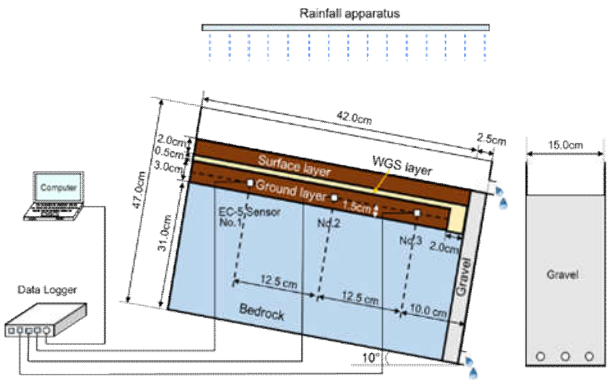


図-1 従来の研究における実験装置の模式図

表-2 従来の研究における実験条件

項目		条件
被覆層の厚さ(cm)		2.0
疎水材層の厚さ(cm)		0.5
真砂土層の厚さ(cm)		3.0
被覆層	初期乾燥密度, ρ_{di}(g/cm^3)	1.50
疎水材層		1.75
土層		1.50
排水経路(礫)		1.64
降雨強度, I (mm/h)		100
斜面傾斜角度, Φ (°)		10
測定時間, t (h)		5

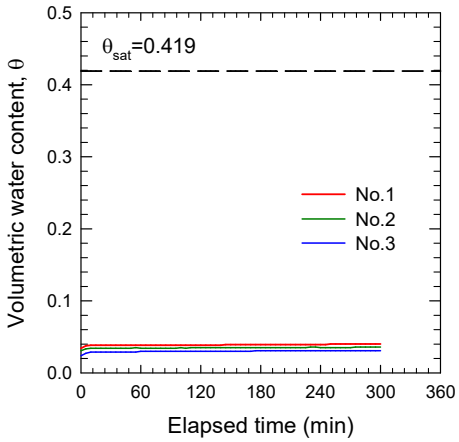


図-2 従来の研究における EC-5 センサーの測定結果

実験条件を表-2 にそれぞれ示している。遮水性能の確認のため，遮水層下の真砂土層内に土中水分計（EC-5）を 3 カ所に設置し，降雨時の体積含水率を計測した。EC-5 の測定結果を図-2 に示す。降雨強度 100mm/h で 5 時間測定を行ったが，降雨終了時点まで EC-5 の反応は見られなかった。以上の結果から，疎水材層 5.0mm（乾燥密度 ρ_d=1.75g/cm^3）の条件において，疎水材層内への降雨浸透が生じないことが確認され，H-GBFS の優れた遮水機能が明らかになった。

3. 実斜面での施工条件を考慮した室内模型土槽実験

前章で述べた実験では，設置条件として被覆層の層厚は 2.0cm であり実斜面での施工を想定した場合の条件との違いが大きいと考えられる。そこで，本研究では現場での施工を考慮した設置条件の模型土槽実験を行い，疎水材層により降雨浸透を遮断することを目的とし，これを達成できる土層構造システムの検討を行った。実施した模型土槽実験では，被覆層（真砂土）20cm，疎水材層（H-GBFS）3.0cm の層厚で模型土槽を作製した。また降雨強度 100mm/h，降雨継続時間 5 時間で計測を実施した。用いた試料の物理特性を表-1 に示している。

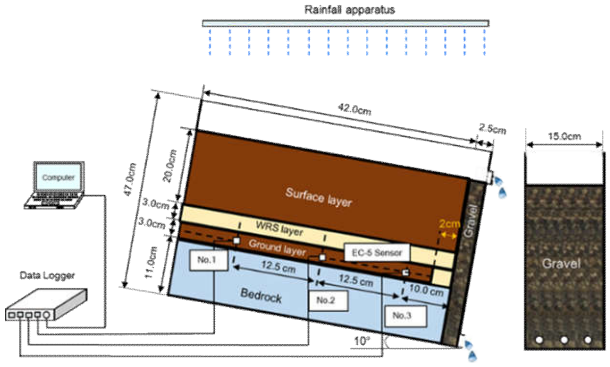


図-3 Case 1 における実験装置の模式図

表-3 Case 1 における実験条件

項目		条件
被覆層の厚さ(cm)		20
疎水材層の厚さ(cm)		3.0
真砂土層の厚さ(cm)		3.0
被覆層	初期乾燥密度, ρ_{di}(g/cm^3)	1.50
疎水材層		1.75
土層		1.50
排水経路(礫)		1.64
降雨強度, I (mm/h)		100
斜面傾斜角度, Φ (°)		10
測定時間, t (h)		5

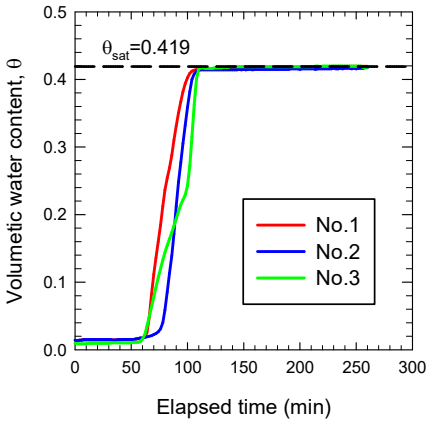


図-4 Case 1 における EC-5 センサーの測定結果

3.1 Case 1：再現可能な設置条件での H-GBFS の遮水機能の検討

現場で再現可能な設置条件として被覆層 20cm，疎水材層 3.0cm の層厚を設定し，実験を行った。図-3 に実験装置の模式図を示す。疎水材層の下には EC-5 設置のための土層を設け，その層内 3 ヶ所に EC-5 を設置した。また，土層右側面の排水面からの水の浸入を防ぐため，土層右側面に幅 2.0cm の透水性の高い疎水性高炉水砕

表-4 Case 2 における実験条件

項目		条件
被覆層の厚さ(cm)		20
疎水材層の厚さ(cm)		3.0
真砂土層の厚さ(cm)		3.0
被覆層	初期乾燥密度, ρ_{di}(g/cm^3)	1.50
疎水材層		1.75
土層		1.50
排水経路(礫)		1.64
降雨強度, I (mm/h)		100
斜面傾斜角度, Φ (°)		約 22°
測定時間, t (h)		5

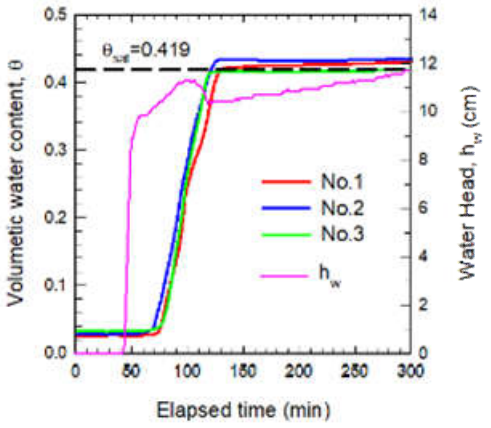


図-5 Case 2 における EC-5 と間隙水圧計の測定結果

スラグ層を設置した。なお，降雨条件，斜面角度は前章の模型土槽実験と同様である。表-3 に実験条件をまとめている。EC-5 により測定された結果を図-4 に示す。実験開始約 60 分後から EC-5 に反応が見られ，約 110 分後にはいずれのセンサーも飽和体積含水比 (θ_{sat}=0.419) を示していることが分かる。以上の結果から，Case 1 の設置条件では H-GBFS による疎水材層は遮水機能が発揮できないと判断される。

3.2 Case 2：斜面角度を変化における疎水材層の遮水機能の検討

Case 1 の条件から斜面角度だけを変更し，地盤工学会による法面勾配の設計基準内の約 22° （勾配 1:2.5）の勾配で実験を行った。EC-5 に加えて，被覆層と疎水材層の境界面近くで水頭の変化を調べるため疎水材層の上部（No.3 の EC-5 の上部）に間隙水圧計を設置した。ここで計測された水頭値と土層への水の侵入の有無を総合して，20cm 被覆層の土圧を受けても H-GBFS が浸水に対する抵抗を示すか否かを評価する。実験条件を表-4 に示す。EC-5 及び間隙水圧計の測定結果を図

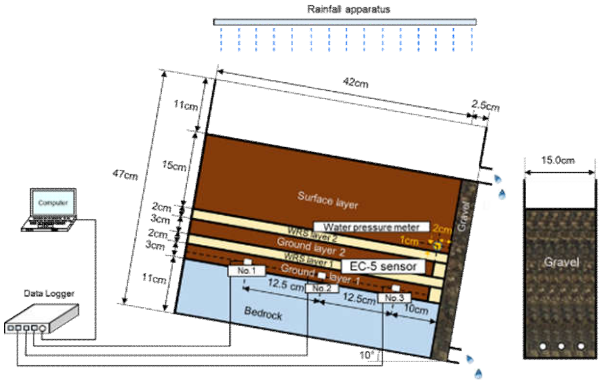


図-6 Case3 における実験装置の模式図

表-5 Case 3 における実験条件

項目		条件
被覆層の厚さ(cm)		15
疎水材層の厚さ(cm)		各 2.0
真砂土層の厚さ(cm)		各 3.0
被覆層	初期乾燥密度, ρ_{di}(g/cm^3)	1.50
疎水材層		1.75
土層		1.50
排水経路(礫)		1.64
降雨強度, I (mm/h)		100
斜面傾斜角度, Φ (°)		10
測定時間, t (h)		5

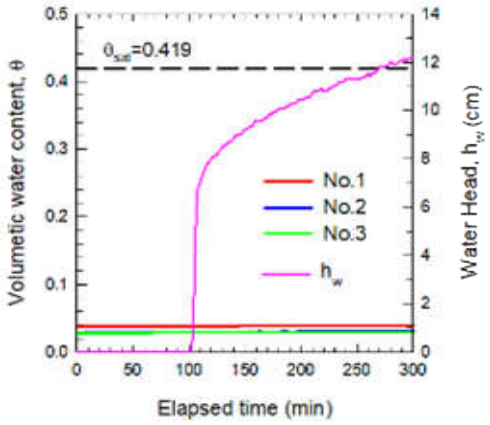


図-7 Case 3 における EC-5 と間隙水圧計の測定結果

-5 に示す。実験開始約 70 分後から EC-5 が反応し，約 120 分後には土層は飽和している。この測定結果から Case 2 でも H-GBFS による疎水材層は遮水機能を発揮することが出来なかったと判断される。また，水圧計の測定結果で水頭値が約 10cm の時に EC-5 が反応しているため，WIH 試験の結果が反映されていることが分かる。

3.3 Case 3：疎水材層の多層構造システムの検討

Case 2 で設置した間隙水圧計の測定値が H-GBFS の

WIH を超える値となったことから，1 層で遮水することは難しいと判断し，20cm の層厚の被覆層の内部にさらに 1 層の疎水材層を設置し，疎水材層を多層（2 層）構造システムとして遮水することを検討した。図-6 に Case 3 の実験装置の模式図を示す。また，実験条件を表-5 に示す。疎水材層は 1 層あたり 2cm の層厚に変更しているが，必要層厚を満たしているので問題はないものと考えられる。斜面角度は Case 1 と同じ 10°とし，より厳しい条件での遮水機能について検討した。

EC-5 と間隙水圧計の測定結果を図-7 に示す。5 時間の降雨時間内でいずれの EC-5 にも反応は見られなかった。間隙水圧計の測定値は実験開始約 100 分後から上昇し，その後 1 層目の疎水材層は水の浸入を許したが，2 層目の疎水材層は水の浸入を許さなかった。実験終了時には間隙水圧計が示す水頭は 12cm を超えたが，疎水材の多層（2 層）構造システムによりこの水頭に耐え，降雨浸透を防ぐことが出来たものと判断される。以上より，疎水材層を多層（2 層）構造システムにすることで，100mm/h の降雨強度で 5 時間継続された降雨でも遮水機能を発揮出来ることが確認された。

4. 結論

本研究では，現場で再現可能な設置条件で室内模型土槽実験を行い，シラン処理した疎水性高炉水砕スラグである H-GBFS の遮水機能の確認及び有効な層構造システムの検討を行った。以下に，本研究で得られた結果及び考察をまとめる。

(1) Case 1 では，これまでの研究で行われた被覆層 2.0cm，疎水材層 0.5cm の層厚での模型土槽実験から，各層厚を大幅に増やし被覆層 20cm，疎水材層 3.0cm の層厚にして実験を行った。従来の層厚条件では降雨浸透を防げたが，この条件では 100mm/h の強度で 5 時間継続の降雨条件で降雨浸透を防ぐことは出来なかった（約 1 時間で降雨が浸透）。

(2) Case 2 では，Case 1 と同じ層厚条件にして，斜面角度の条件を 10°から約 22°(1:2.5)に変更して実験を行ったが，降雨浸透を防ぐことが出来なかった。また，この時の水頭は約 10cm を示し，WIH 試験の結果を反映していることが確認された。

(3) Case 3 では，Case 2 で判明した水頭値から，疎水材 1 層で降雨浸透を防ぐのは不可能であると判断されたため，疎水材層を多層(2 層)設置してその遮水性能を検討した。実験結果より，降雨強度 100mm/h で 5 時間継続の降雨条件下で降雨浸透を防ぐことが確認された。間隙水圧計の測定値は H-GBFS の WIH を超える値（約 12cm）を示したが，疎水材の多層（2 層）構造により 1 層では達成できない遮水機能を発揮し，降雨浸透を防いだと判断される。この結果から，疎水材の多層構造システムは，現場斜面への疎水材による遮水層の適用に効果の高い設置方法であると考えられる。

参考文献

[1] 金 秉洙, 任 道駒, 岡本 良太, 竹下 祐二, 加藤 正司. 2020. 疎水性地盤材料の遮水性能の評価に関する研究, 第 55 回地盤工学研究発表会, 地盤工学会，京都(2020 年 7 月), 22-12-2-05.

[2] 金 秉洙, 任 道駒, 岡本 良太, 竹下 祐二, 加藤 正司. 2020. 疎水性地盤材料の斜面への適用性の評価に関する研究, 第 55 回地盤工学研究発表会，地盤工学会，京都(2020 年 7 月), 22-12-2-04.

[3] 金 秉洙, 松井 祐太, 任 道駒, 岩本 大地, 加藤 正司. 2021. 疎水性高炉水砕スラグの盛土斜面への適用性に関する研究, 第56回地盤工学研究発表会，地盤工学会，山形(2021 年 7 月), 12-4-3-02.

数値解析を用いた斐伊川放水路の沈砂池における土砂堆積特性に関する検討

岡山大学学術研究院環境生命科学学域
赤穂　良輔

本研究では，局所的な勾配地形を有する斐伊川放水路を対象とした平面二次元河床変動解析の高精度化を目的とし，上記のような地形で発生する河床近傍流速に着目した検討を行った．三次元流況解析を用いた検討から，勾配を有する箇所で発生する高速流の存在を定量的に評価し，簡易的にモデル化を図った．さらに，本モデル式を斐伊川放水路における平面二次元河床変動解析に適用することにより，局所勾配地形を考慮した河床近傍流速を平面二次元解析上で表現できることを確認した．本モデル式の適用により，従来のモデルで発生する局所勾配地形での過剰な土砂の堆積を抑制することはできたものの，ある一定の箇所に土砂が集中してしまう場合が確認された．掃流力の縦断的な分布を抽出し検討することで，水深平均流速，掃流力の時間的，空間的な変動が土砂の流入流出収支に影響を及ぼし，土砂の過剰な堆積の原因となることが明らかになった．

1.　はじめに

斐伊川放水路は，斐伊川・神戸川流域の総合治水計画の一環として建設され，斐伊川下流域の計画高水流量 4500m^3/s のうち 2000m^3/s を神戸川に分派する機能を有している．また，斐伊川は，河床材料の代表粒径は 1-2mm と比較的細かく，土砂移動の活発な砂河川となっており，分派時に放水路へ流入する土砂を補足するための沈砂池が分流堰の直下流に設置されている．

ここで，分派機能の維持管理や超過洪水に対する治水効果を検討する上で，数値解析を用いた沈砂池の堆砂機能評価が必要となるが，図-1(a)に示すように沈砂池上端部には約 6m の比高差を有する急勾配部があり，一般的に用いられている静水圧近似に基づく平面二次元河床変動解析モデルでは，急激な流速の減衰に伴う沈砂池上端部で，図-1(b)と比較し過剰な堆積が発生する．すなわち，沈砂池上流部の河床近傍にかけて発生する潜り流を考慮した解析が必要となり，流れの三次元性を考慮した高次元モデルを用いた研究[1)-5)]が進められている．ただし，超過洪水への予測や斐伊川本川を含んだ広範囲の河床動態予測を必要とする実務への利用を考えた場合，計算負荷が小さくまた複雑な地形形状を表現可能な簡易的な手法の構築が必要であると考えられる．

そこで本研究では，三角形非構造格子を用いた平面二次元河床変動解析モデルについて，沈砂池における河床近傍流速の特性を考慮した新たなモデルの構築を試みた．具体的には，三次元解析モデルを用いた数値実験より沈砂池の河床近傍流速の特徴を把握し，簡易的な河床近傍流速のモデル式を導出する．さらに，提案したモデル式を平面二次元河床変動解析へ導入し，斐伊川本川および放水路の洪水流及び河床変動解析を実施し，本モデルの妥当性について検討を行った．

2.　三次元流況解析による数値実験の実施

2.1 解析条件

本研究では，沈砂池の縦断的な河床近傍流速の特

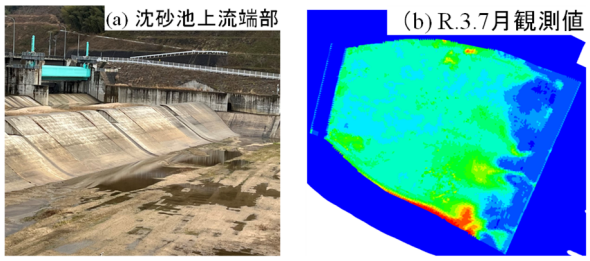


図-1　沈砂池上端部及び沈砂池の土砂堆積分布

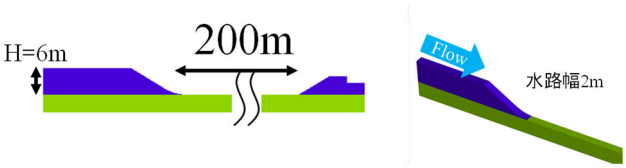
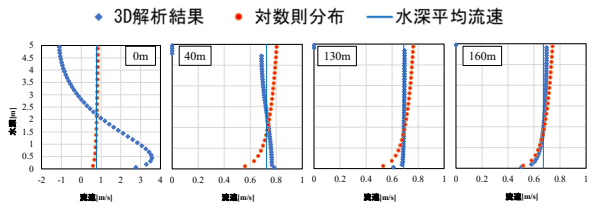


図-2 数値実験模型の概要図



図

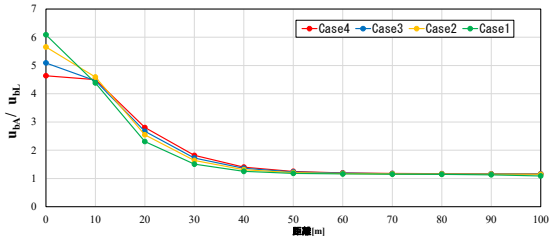


図-4 三次元流況解析結果 河床近傍流速の縦断分布

性の把握するために，三次元流況解析ソフトウェア Flow3D(株式会社フローサイエンスジャパン)を用いた数値実験を行った．水路模型は図-2 に示すように，沈砂池を模した傾斜を有する全長 200m，幅 2m の水路とした．計算ケースとして，流量条件ごとに Case1 から Case4 を用意し，それぞれ単位幅流量 1m²/s から 4 m²/s として定常的に与えた．相当粗度高さなどの条件は，斐伊川放水路の状況に準じた値とした．

2.2 解析結果

縦断距離ごとの流速の鉛直分布を図-3 に示す．沈砂池上流部では，河床近辺で高速流が発生し，その後流下距離に応じて鉛直方向に一様の流速分布になる傾向が示されている．また，図-4 に解析より得られた河床近傍流速 u_{bA} と対数則分布より得られる河床近傍流速 u_{bL} の比の縦断分布を示す．u_{bA} は沈砂池上流端で最大となり単位幅流量が大きいほど u_{bA}/u_{bL} は小さくなる傾向が確認できる．また，縦断距離に応じて減衰し，約 50m から 70m の位置で概ね 1.1 に収束する特性が確認できる．

2.3 河床近傍流速のモデル化

三次元解析結果から明らかになった，沈砂池での河床近傍流速の特徴から，本研究では，河床近傍流速 u_b を以下の式よりモデル化した．

$$\frac{u_b}{\bar{u}} = a \times \left(1 - \frac{x}{b}\right)^2 + c \qquad (1)$$

ここに，x は沈砂池の縦断距離，$\bar{u}$ ：水深平均流速，a は沈砂池上端部における $\bar{u}$ と u_b の比，b は河床近傍流速が対数則に収束するまでに有する距離，c は対数則分布より得られる河床近傍流速と $\bar{u}$ の比を示す．

本研究では，a および b を 2.2 節の数値実験結果を用いた試行計算より求めることとした．まず，図-5 に単位幅流量 q [m²/s]をマニング粗度 n [m$^{-1/3}$・s]と勾配上部と下部の比高差 H [m]で無次元化した値とモデル式における a との関係を示す．本試行結果より，以下の線形近似を用いた式(2)より a を与えることとした．

$$a = -518.69 \times \left(\frac{n \times q}{H^{5/3}}\right) + 6.5703 \qquad (2)$$

次に，図-6 にマニング粗度 n [m$^{-1/3}$・s]と勾配上部と下部の比高差 H [m]で長さの次元とした値と収束位置 b の関係を示す．a と同様に線形近似を用いた式(3)より b を与えることとした．

$$b = 795.98 \times \left(\frac{n \times q}{H^{2/3}}\right) + 21.4 \qquad (3)$$

図-7 に，式(1)及び 2.2 節の解析結果から算出した $u_b/\bar{u}$ の縦断分布を示す．提案したモデル式は，沈砂

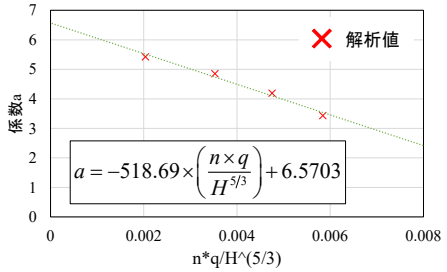


図-5　モデル式係数 a の分布と回帰直線

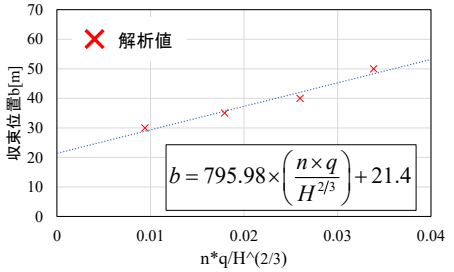


図-6　モデル式収束位置 B の分布と回帰直線

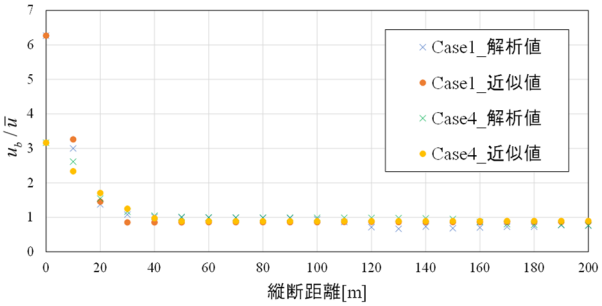


図-7　モデル式の近似値と三次元流況解析結果との比較

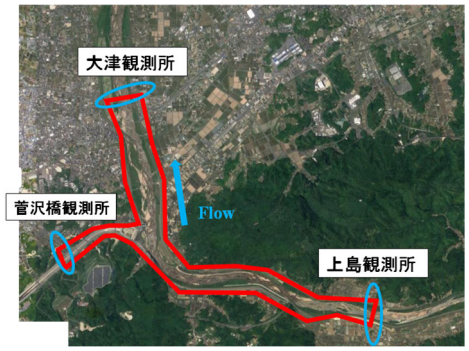


図-8　解析領域

表-1 計算ケース

Case	*a*	*b*	モデル概要
1	0	-	従来モデル
2	式(2)	式(3)	提案モデル
3	式(2)	式(3)+50m	補正モデル

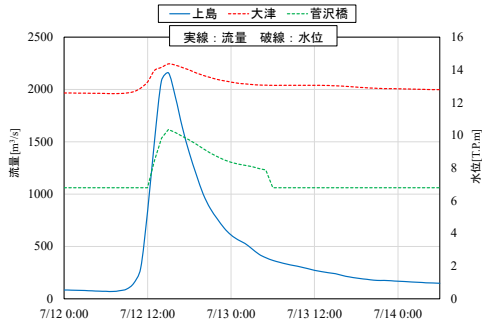


図-9　境界条件

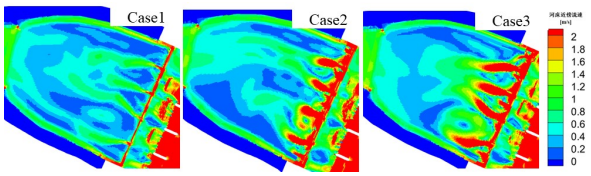


図-10　河床近傍流速分布

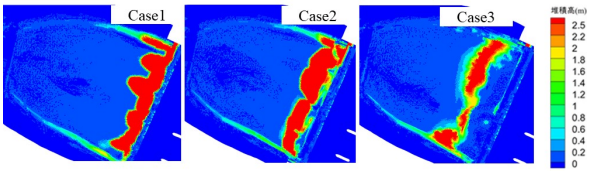


図-11　土砂堆積高分布

池の河床近傍流速の縦断変化について，良好な再現性を有することが示された．

3.　斐伊川を対象とした平面二次元河床変動解析への河床近傍流速式の適用

3.1　解析モデルの概要

本研究の解析モデルは，単一粒径を用いた二次元河床変動解析に基づき構築され，掃流砂量式には芦田・道上モデルを採用した．三角形非構造格子を用いた有限体積法より離散化を行っており，GPGPU により高速並列計算が可能となっている．

3.2　計算条件

計算領域を図-8 に示す．斐伊川本川は，上島観測所から大津観測所まで，放水路は合流地点から 1.2km までとし，三角形非構造格子で分割した．計算格子サイズは分流部付近で約 2m，その他の領域で約 20m とした．計算期間は令和 3 年 7 月 11 日 6 時から 7 月 14 日 6 時までの 72 時間を対象として解析を行った．境界条件を図-9 に示しており，河床近傍流速のモデル式について表-1 に示す 3 ケースについて検討を行った．

3.2　結果と考察

図-10 に各 Case の河床近傍流速のコンター図，図-11 に土砂堆積高のコンター図をそれぞれ示す．Case1 と比較しモデル式を用いることで，沈砂池上流部の高速流が表れていることが確認できる．一方で，収束位置 *b* を式(3)で与えた Case2 では，堆積位置が下流側に遷移しているものの，図-1(b)に示した実測値と比較して上流側となっている．これは，図-10 で示したように横断的な流速分布が現れるため，2 章の数値実験よりも高速流が拡散することが原因である

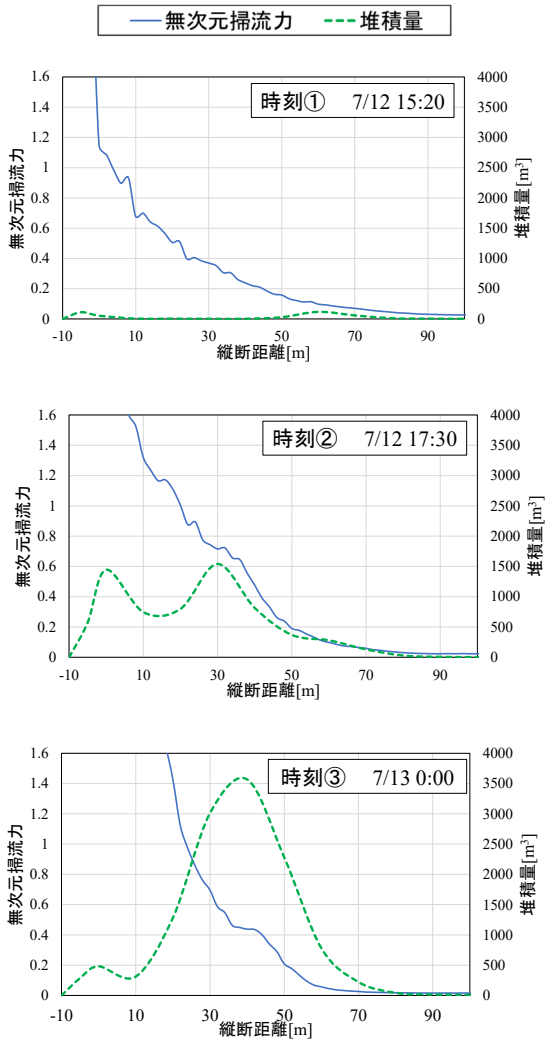


図-12　無次元掃流力と堆積量の縦断分布

と考えられる．試行的に b の値を 50m 上昇させた Case3 では，堆積位置が下流側に遷移しており，観測結果と定性的に一致する結果が得られている．面的な河床近傍流速の減衰傾向については更なる検討が今後必要ではあるが，本モデルの改善の妥当性は示されたと考えられる．

さらに，堆積位置の遷移について検討するために，Case3 の結果を用いた 3 つの時刻における無次元掃流力の縦断分布を図-12 に示す．無次元掃流力の変化傾向をみると堆積が生じている 30m 地点において変動が小さくなっていることがわかる．河床変動解析において，流入土砂量と流出土砂量の収支で堆積量が決定されることから，掃流力の変動量が，土砂の流入流出収支を堆積に転じさせることで過剰な堆積箇所を生み出していると考えられる．掃流力の変動要因については，スリットの影響で複雑に変動する水深平均流速と考えられ，水深平均流速に倍率をかけて補正する本モデル式は，この影響を大きく受け，前述した土砂の流入流出収支がバランスしなくなり，下流側への掃流が小さくなっていると考えられる．

最後に，図-13 に土砂堆積量の縦断分布を示す．従来の河床近傍流速モデルを用いた Case1 に比べ，モデル式を適用した Case3 では，沈砂池上流端で発生する河床近傍の高速流を考慮することにより，下流側に堆積位置が遷移する様子が確認できる．また，縦断的な堆積範囲も Case1 と比較して，より観測値に近づく傾向を示しており，今回検討したモデル式の適用によって，定性的にではあるが改善傾向が示された．ただし，堆積量の分布については，十分な再現性が得られていない．今後は本研究で用いた 3 次元モデルによる横断方向の河床近傍流速の特徴の考慮や浮遊砂の堆積の影響を考慮したモデル改良を行うことで，実用的な沈砂池の堆砂機能評価が可能な手法の構築を行いたいと考えている．

4. 結論

本研究では，三次元解析を効率的に使用することによる高精度な平面二次元河床変動解析モデルの構築を目的とし，河床近傍流速に着目し，三次元流況解析を使用した河床近傍流速に関する分布特性の解明とモデル化を行った．さらに，モデル式を平面二次元河床変動解析に適用し，斐伊川放水路を対象に解析を行った．以下に，結論を示す．

(1) 三次元流況解析を用いた数値実験から，急勾配地形で発生する河床近傍の高速流の存在を確認した．さらに，水深平均流速と河床近傍流速の関係を定量的に整理しすることで，簡易的なモデル式を開発した．

(2) 急勾配斜面から水深の大きな領域に向かって流入する状況では，斜面付近河床近傍で水深平均流速よりも非常に大きな流速を持つ高速流が発生している．この高速流はある一定の距離が離れた地点までに対数則で仮定される流速分布に収束していく特性を持つ．また，収束に要する距離は流入流量と線形的な関係を持っている．

(3) 三次元解析結果を基に構築したモデル式を平面二次元河床変動解析に適用した結果，勾配付近で発生する河床近傍の高速流を考慮することが可能となり，従来モデルで発生する斜面上での過剰な土砂堆積が解消された．一方で，モデル式を適用し河床近傍流速の補正を行っても，下流側で土砂の過剰な堆積が発生することを確認した．掃流力と水深平均流速の縦断的な分布を抽出し，検討することで，減勢工スリットの影響で発生する水深平均流速の横断的・縦断的に複雑な変動が，掃流力に影響を及ぼし，解析内で土砂の流入流出収支が堆積に転じさせていることが原因であると判明した．また，下流に土砂が掃流されない原因として，同様の要因から土砂の流入流出収支がバランスしなくなり，下流側への掃流が小さくなると考えられる．

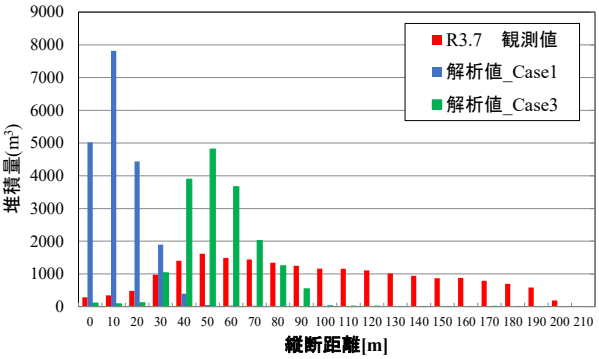


図-13　堆砂量の縦断分布

参考文献

1) 内田龍彦，福岡捷二：底面流速解法による連続する水没水制群を有する流れと河床変動の解析，土木学会論文集 B1（水工学），Vol67, No1,16-29,2011

2) 内田龍彦，福岡捷二：浅水流の過程を用いない水深積分モデルによる底面流速の解析法，土木学会

論文集 B1（水工学），Vol68, No4, I_1225-I_1230,2012
3) 内田龍彦，福岡捷二：非平衡粗面抵抗則を用いた一般底面流速解析法の導出と局所三次元流れへの適用，土木学会論文集 B1（水工学），Vol71, No2, 43-62,2015
4) 内田龍彦，福岡捷二：一般底面流速解法と非平衡粗面抵抗則に基づく水深積分型二相流解析法の適合性の検討，土木学会論文集 B1（水工学），Vol73, No4, I_937-I_942,2017
5) 梶川勇樹，檜谷治：堰下流部の潜り噴流流れの再現性に関する鉛直 2 次元モデルおよび 3 次元モデルの比較，土木学会論文集 B1（水工学），Vol72, No4,I_553-I_558,2016

飼料用生菌剤への応用に向けた高免疫賦活化能を有するバクテリオシン産生乳酸菌の選抜と評価

岡山大学学術院環境生命自然科学学域（農）

畑生俊光、荒川健佑

【概要】本年度は、約500日齢のロードアイランドレッド種成鶏雌腸管よりバクテリオシン産生乳酸菌の分離を試みた。ロードアイランドレッド種成鶏からムチン層を含む腸管内容物をできる限り無菌的に採取し、滅菌生理食塩水で段階希釈後、シクロヘキシミドを添加した各種寒天培地にて塗抹培養した。培養は嫌気的に40℃で48時間行った（実験①）。また、抗菌性株を分離しやすくするために、腸管内容物希釈液をMRSおよびTYLG液体培地にて継代培養（40℃、24時間）後、各寒天培地にて塗抹培養した（実験②）。培養後はコロニー計数と釣菌を行い、MRSまたはTYLG液体培地で継代培養（37℃、24時間）し、培養液pHを測定した。培養液pH < 5.0の菌株を乳酸菌と判断して、寒天平板拡散法による抗菌活性測定に供した。最後に、抗菌活性の見られた菌株を16S rRNA遺伝子配列解析により菌種同定した。ロードアイランドレッド各腸管内の培養生菌数は8.23-9.24 log CFU/gであった。選抜菌株の抗菌活性測定の結果、実験①からは32菌株、実験②からは48菌株で抗菌活性が見られた。最後に、抗菌性株の菌種同定の結果、3属（いずれも旧*Lactobacillus*属）10種の乳酸菌種が同定された。

【緒言・目的】感染症は、畜産業において家畜の発育不良を引き起こし、時に致死的であるため、甚大な経済損失を与えることがある。そのため、畜産業では、抗生物質を成長促進剤として使用することが一般的になっている。成長促進剤の効果は、不衛生な環境であるほど高いため、周辺環境からの微生物侵襲による免疫ストレス軽減に由来するものと考えられる。しかし、成長促進剤の多用は、薬剤耐性菌の家畜での出現率上昇や人への拡散リスクをもたらすため、代替技術への転換や新奇成長促進剤の開発が望まれている。そのような背景の中で、整腸作用や免疫賦活作用等のプロバイオティック能を有した乳酸菌が生菌剤として多々検討されており、様々な研究成果を基に実際に抗生物質に代わる成長促進剤として近年では利用されるようになってきている。

乳酸菌の中には、抗菌物質であるバクテリオシンを産生する菌株が存在する。バクテリオシンは、細菌が産生するリボソーム性抗菌ペプチドの総称であり、主にグラム陽性菌に対して広く、もしくは選択的に効果を発揮する。加えて、他の抗生物質と異なり、ペプチド性ゆえに環境中に残存する可能性が低く、耐性菌出現の可能性も低いことが知られる。そのような有用な性質を利用して、これまでバクテリオシンおよびその産生菌はとりわけ食品加工・保蔵分野で応用展開されてきた。しかし、バクテリオシンおよびその産生菌の生菌剤としての畜産利用はほとんどなされていない。昨年度は、岡山大学動物実験施設津島南施設で飼育されている白色レグホーン種 9 日齢幼雛腸管から乳酸菌の分離を試み、培養液 pH<5.0 となった乳酸菌候補の 230 菌株を得たが、いずれもバクテリオシン産生は認められなかった。

そこで、免疫賦活作用と抗菌作用の相乗効果による高度な微生物制御を実現する新奇家畜用生菌剤（成長促進剤）の開発を最終目的として、本年度はバクテリオシン産生乳酸菌の分離を第一目標として、500 日齢成鶏腸管よりバクテリオシン産生能を有する乳酸菌の分離を行った。

【材料・方法】ニワトリは、Gallus Japan 社（東広島市）で飼育されていた約 500 日齢のロードアイランドレッド（RIR）種雌を用いた。腸管は、ソムノペンチルの過剰投与によりと殺した RIR から回収した。サンプルは、回収した腸管（十二指腸、空腸、回腸、盲腸、大腸）を長軸方向に眼科はさみで切開した後、腸内容物および綿棒で腸管表面を擦過することで回収を行った。ムチン層を含む腸管（十二指腸、空腸、回腸、盲腸、大腸）内容物をできる限り無菌的に採取し、滅菌生理食塩水で段階希釈後、シクロヘキシミドを添加した MRS 寒天培地、ロゴサ寒天培地、BCP 加プレートカウント培地、GM17 寒天培地にて塗抹培

養した。培養は嫌気的に 40℃で 48 時間行った（実験①）。また、抗菌性株の分離のために、腸管内容物希釈液を MRS および TYLG 液体培地にて継代培養（40℃、24 時間）後、各寒天培地にて塗抹培養した（実験②）。培養後はコロニー計数と釣菌を行い、MRS または TYLG 液体培地で継代培養（37℃、24 時間）し、培養液 pH を測定した。また、再度寒天培地で塗抹培養し、得られたコロニーを用いてクリスタルバイオレット染色して顕微鏡にて形態観察を行った。そして、培養液 pH < 5.0 の菌株を乳酸菌と判断して、寒天平板拡散法による抗菌活性測定に供した。抗菌活性測定は、指標菌（*Listeria monocytogenes* VTU206 および *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* JCM 1002^{T}）を混釈した寒天培地にコルクボーラーで穴を開け、その中に加熱殺菌（105℃、15 分間）またはフィルター滅菌した各選抜菌株の中和培養上清を注加し、至適温度で 24 時間培養後に阻止円形成の有無を確認することで行った。選抜菌株の菌種同定は、細胞形態観察と 16S rRNA 遺伝子配列解析（使用プライマー情報： Arakawa *et al.*, J. Dairy Sci., 2008）によって行った。

【結果】 RIR 腸管内の培養生菌数は、部位ごとにそれほど差はなく、8.23-9.24 log CFU/g であった（Table 1）。分離培地ごとの生菌数も大きな差はなく、明確な傾向は見られなかった。次に、なるべく形態の異なるコロニーを釣菌・継代培養したところ、実験①からは培養可能な 418 菌株が得られ、培養液 pH < 5.0 となった 389 菌株を乳酸菌候補として選抜した。このうち、抗菌活性を示したのは 32 菌株で、*L. monocytogenes* VTU206 のみに活性を示したのは 8 菌株、*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* JCM 1002^{T} にのみ活性を示したのは 5 菌株、両方に活性を示したのは 19 菌株であった。実験②からは 296 菌株が得られ、うち 295 菌株を乳酸菌候補として選抜した。このうち、抗菌活性を示したのは 48 菌株で、*L. monocytogenes* VTU206 のみに対しては 34 菌株、*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* JCM 1002^{T} のみに対しては 6 菌株、両方に対しては 8 菌株が抗菌活性を示した。

これら抗菌活性を示した乳酸菌 80 菌株の菌種同定を行った結果、*Lactobacillus crispatus*（11 菌株）、*Lactobacillus intermedius*（9 菌株）、*Lactobacillus johnsonii*（7 菌株）、*Ligilactobacillus agilis*（9 菌株）、*Ligilactobacillus saerimneri*（3 菌株）、*Ligilactobacillus saliverius*（2 菌株）、*Limosilactobacillus panis*（1 菌株）、*Limosilactobacillus reuteri*（30 菌株）、*Limosilactobacillus urinaemulieris*（1 菌株）、*Limosilactobacillus vaginalis*（6 菌株）と同定された（1 菌株未同定）。

今後は、今回分離・選抜されたバクテリオシン産生乳酸菌株について、バクテリオシンの同定を進めるとともに、*in vitro* におけるマクロファージ株に対する免疫学的特性及び *in vivo* での免疫賦活能などの生理学的特性を解析する予定である。

Table 1：RIR 腸管部位別生菌数

	Viable cell count (Log CFU/g)			
	MRS	Rogosa	BCP	GM17
Duodenum	8.40	8.35	8.45	8.31
Jejunum	9.24	9.17	9.21	9.19
Ileum	8.66	8.65	8.63	8.51
Cecum	8.83	8.70	8.92	9.18
Colon	8.43	8.23	8.62	8.48

高効率有機薄膜太陽電池を指向した新規電子欠損型骨格を有するｐ型半導体高分子の開発

岡山大学異分野基礎科学研究所

森　裕樹

（概要）有機薄膜太陽電池（OPV）は次世代の太陽電池として期待されているが、実用化に向けてはさらなる変換効率の改善が必要不可欠である。そのためには、新たな高性能 p 型半導体ポリマー材料の開発が重要となる。われわれのグループでは、これまでに高性能 p 型半導体ポリマーを開発するための構成要素として、新たに多縮環系電子欠損型骨格であるアルコキシ置換アントラビスチアジアゾール（ATz）を開発し、これを主鎖に有する p 型半導体ポリマーを開発してきた。本研究では、現状の 9.6% の変換効率を改善する目的で、ポリマーの HOMO レベルを低下させ、結晶性の向上が可能な新たなポリマーの開発をおこなった。ポリマーに電子求引性のフッ素原子を導入したことで、HOMO レベルが低下し、起電力の改善につながった。しかしながら、可溶性側鎖を短くしたことで高すぎる結晶性を有していたため、OPV には不適切な薄膜構造を形成し、8.4% と変換効率の改善には至らなかった。

1. はじめに

有機薄膜太陽電池（OPV）は、軽量かつ伸縮可能、印刷によって大量生産可能といった点から、次世代の再生可能エネルギーとして注目されている。現在、様々な研究グループにて優れた発電層材料が精力的に開発されており、0.03 cm^2 とごく小面積ではあるものの変換効率は 18%[1] に到達している。特に、室内光下での発電効率が 20% 以上[2] と非常に高く、IoT 社会を実現する屋内用小型電源として大きく期待されている。しかしながら、実用レベルでのモジュールにおいて変換効率が著しく低下する大きな問題点を有している。そのため、これらの課題を解決し、実用化を達成するためには、より優れた新材料の開発が不可欠となる。特に、OPV の材料開発は、中国の研究グループが大きくリードしており、わが国での開発が極めて遅れていることを考慮すると、最重要課題といえる。

これまでにない p 型ポリマーを実現するため、以前われわれのグループでは新規骨格であるアルコキシ置換アントラビスチアジアゾール（ATz）骨格を開発してきた[3]。この ATz 骨格を含む新たなポリマー PBA-T1（図 1）は、市販の代表的な高性能ポリマーである PM6（図 1）[4] と比較して、300-500 nm 付近の吸収強度が増加するほか、OPV のキャリア輸送に有利な face-on 配向を形成し、PM6 よりも高い結晶性を有する。また、PBA-T1 は PM6 よりも 0.1 eV 程度浅い HOMO レベルを有するにもかかわらず、n 型半導体として Y6 を用いた場合、PM6 よりも高い開放電圧（V_{oc}）を示す。そのため、PBA-T1 は電圧損失が極めて小さな新材料であり、PM6 に代わる p 型ポリマーとなることが期待できる。しかしながら、Y6 と組み合わせた OPV において、PBA-T1 は最大で 9.6% と PM6 を用いた素子よりも低い値（15.7%）となっている。この原因は、

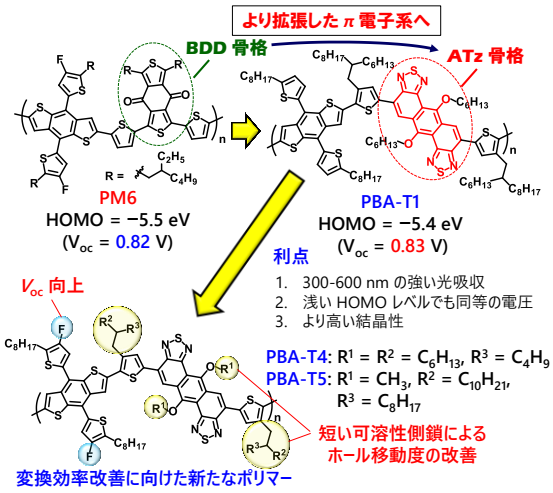
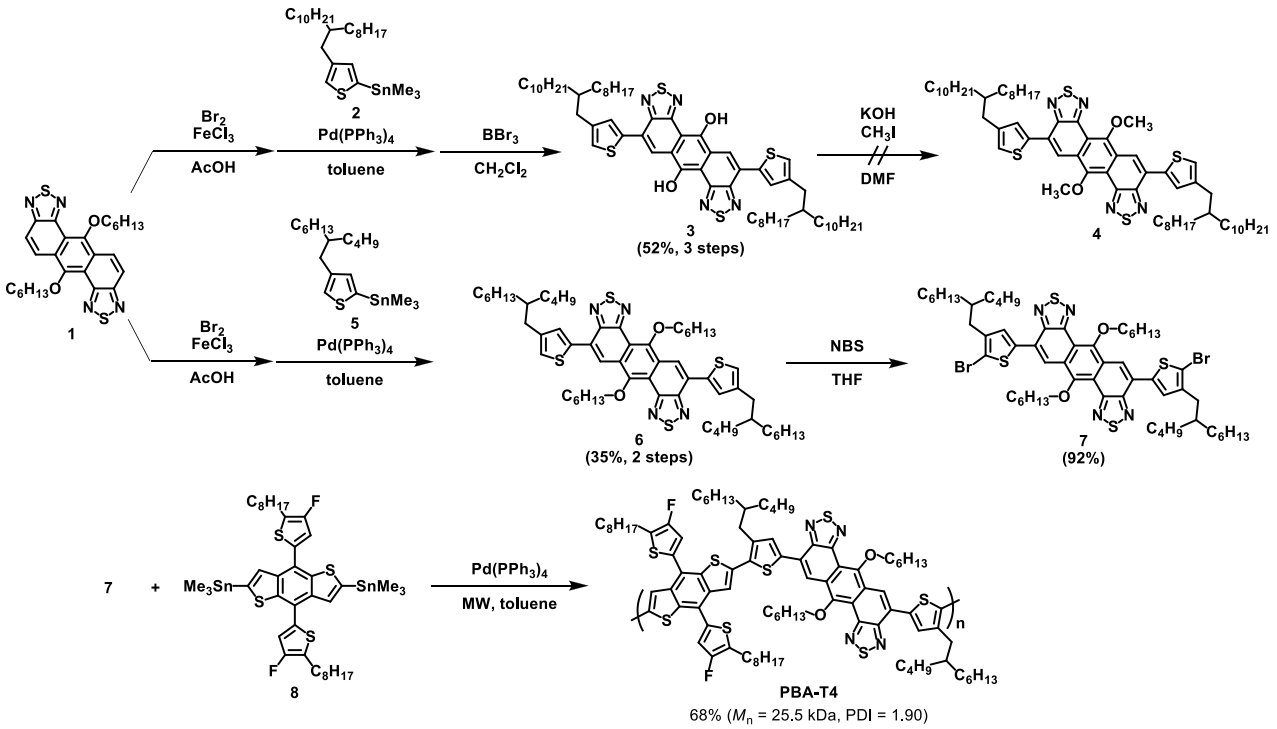


図 1. 市販ポリマー PM6 と本研究で開発してきたポリマー PBA-T1, PBA-T4, PBA-T5 の構造



スキーム 1. PBA-T4 および PBA-T5 の合成

PBA-T1 のホール移動度が低いことに起因すると考えている。さらに、PBA-T1 の HOMO レベルは -5.4 eV と開放電圧を最大化するには不十分であり、変換効率向上には 0.1-0.2 eV 程度深くする必要がある。

そこで本研究では、開放電圧とホール移動度向上によるさらなる変換効率の改善を目的に、ベンゾジチオフェン（BDT）骨格上に強い電子求引性のフッ素原子を導入し、可溶性側鎖の長さを短くしたポリマー PBA-T4 および PBA-T5（図 1）を設計した。フッ素原子の導入により、HOMO レベルが低下するため、開放電圧（V_{OC}）の向上につながる。さらに、可溶性側鎖を短くすることで結晶性が向上し、ホール移動度の改善により、変換効率が向上することが期待できる。本研究では、PBA-T4 および PBA-T5 を合成し、それらを用いた OPV 素子を作製するとともに、薄膜構造の解析により OPV 特性と薄膜構造との相関を明らかとした。

2. 結果と考察

これまでに確立してきた合成手法[3],[5] に従い、PBA-T4 および PBA-T5 の合成をおこなった（スキーム 1）。アルコキシ置換 ATz 誘導体 1 を出発原料とし、臭素化、アルキルチオフェン誘導体との右田－小杉－Stille カップリング、三臭化ホウ素を用いた脱アルキル化によって ATz 誘導体 3 を得た。続いて、メトキシ化をおこなったが、PBA-T5 のモノマー前駆体である ATz 誘導体 4 を得ることができなかった。これは、ATz 誘導体 3 の溶解性が低いために反応が進行しなかったことに起因する。この時点で溶解性が低い場合、最終的に得られるポリマーの溶解性が不足し、低い OPV 特性を示す可能性があることを考慮し、この時点で PBA-T5 の合成を断念した。一方で、ATz 誘導体 1 から臭素化、アルキルチオフェン誘導体との右田－小杉－Stille カップリング、さらに臭素化を経ることで、PBA-T4 のモノマーである ATz 誘導体 7 を問題なく合成することができた。得られたモノマー 7 は別途合成した BDT モノマー 8 [6] との右田－小杉－Stille カップリングを用いた共重合反応をおこなうことにより、目的のポリマー PBA-T4 を合成することに成功した。

得られたポリマー PBA-T4 の薄膜における紫外－可視吸収スペクトルを測定したところ、600 nm 付

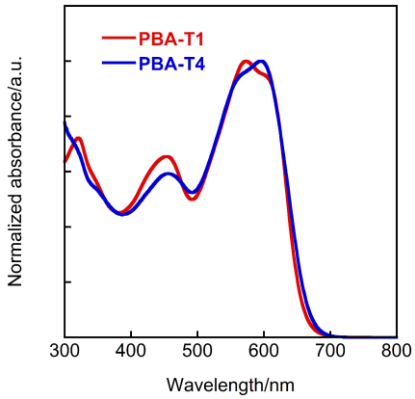


図 2. PBA-T1 および PBA-T4 の薄膜における吸収スペクトル

近に二つのピークを有する吸収スペクトルが得られた（図 2)。以前開発したポリマーである PBA-T1 と比較すると、PBA-T4 は 0-0 遷移に相当するより長波長側のピークが相対的に強くなっていることが分かる。この結果から、より短いアルキル側鎖を有する PBA-T4 は PBA-T1 よりも規則的に配列した薄膜構造を形成したことを示唆しており、期待通り結晶性が向上したことが分かった。また、吸収端から算出したエネルギーギャップは 1.80 eV であり、PBA-T1（1.79 eV）とほぼ同様であることから、強い電子求引性のフッ素原子を置換しても吸収領域はほぼ変化しないことが分かった。続いて、サイクリックボルタンメトリー法により、PBA-T4 の HOMO レベルを算出したところ、-5.49 eV と非常に深い値が得られた。PBA-T1 の HOMO レベル（-5.37 eV）と比較すると、HOMO レベルが約 0.1 eV 低下したことが分かる。そのため、強い電子求引性のフッ素原子によって期待通り HOMO レベルが低下し、より高い開放電圧（V_{oc}）を示すことが期待できる。

続いて、ITO/(PEDOT:PSS)/PBA-T4:Y6/PDINN/Ag から成る順構造型 OPV を作製し、不活性雰囲気下、擬似太陽光（AM 1.5 G, 100 mW cm^{-2}）照射下での特性を評価した（図 3)。PBA-T4 を用いた素子は PBA-T1 よりも HOMO レベルが低下したため、開放電圧（V_{oc}）が 0.82 V から 0.85 V まで向上した。しかしながら、PBA-T4 を用いた素子の短絡電流密度（J_{sc}）とフィルファクター（FF）はそれぞれ 18.58 mA cm^{-2} と 0.53 と PBA-T1 を用いた素子（PCE = 9.60%, J_{sc} = 18.58 mA cm^{-2}, FF = 0.61）よりも低下したため、変換効率（PCE）は 8.40% と改善には至らなかった。そこで、空間電荷制限電流（SCLC）法にて PBA-T4 のホール移動度を算出したところ、1.10 × 10^{-4} cm^2 V^{-1} s^{-1} の値を示した。これは、PBA-T1 のホール移動度 4.73 × 10^{-4} cm^2 V^{-1} s^{-1} よりも約 4 倍低い値であり、アルキル鎖を短くしたことで逆にホール移動度が低下したことが分かった。そこで、混合薄膜における薄膜構造を SPring-8 での微小角入射広角 X 線散乱測定により調査した結果、PBA-T4/Y6 混合薄膜は PBA-T1/Y6 混合薄膜よりも回折強度が著しく強く、高い結晶性の薄膜を形成したことが分かった（図 4)。そのため、アルキル鎖を短くしたことで期待通り結晶性を改善できたものの、逆に結晶性が高すぎるため、n 型半導体である Y6 との混合薄膜において過度な結晶化が進行し、不適切な相分離構造を形成したことが分かった。そのため、効果的な電荷輸送経路が形成できず、ホール移動度の減少によって短絡電流密度

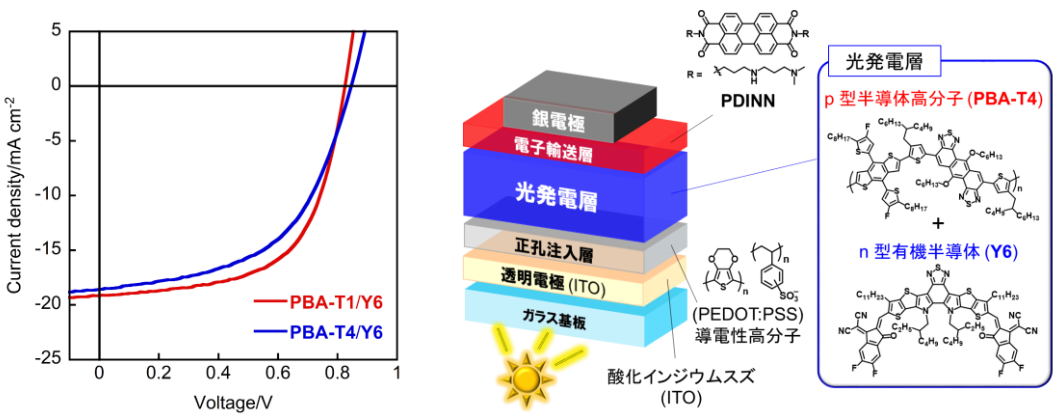


図 3. PBA-T1/Y6 および PBA-T4/Y6 系 OPV の電流密度（J)-電圧特性（V) と作製した OPV の模式図

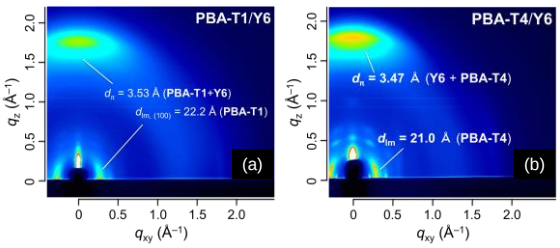


図 4. (a) PBA-T1/Y6 および (b) PBA-T4/Y6 混合薄膜の GIWAXS 像

(J_{SC}) とフィルファクター (FF) の低下、結果として変換効率が改善しなかったと結論付けた。

3. まとめ

本研究では、これまでに開発してきた ATz 系ポリマー PBA-T1 の開放電圧とホール移動度向上によるさらなる変換効率の改善を目的に、ベンゾジチオフェン (BDT) 骨格上に強い電子求引性のフッ素原子を導入し、可溶性側鎖の長さを短くしたポリマー PBA-T4 を合成した。合成したポリマー PBA-T4 はフッ素原子の導入により HOMO レベルが 0.1 eV 低下したため、開放電圧が 0.82 V から 0.85 V へと向上した。しかしながら、より可溶性側鎖の長さを短くしたことにより、結晶性が向上したにもかかわらず、短絡電流密度 (J_{SC}) とフィルファクター (FF) が低下したため、変換効率は 8.40% と改善には至らなかった。この要因は、PBA-T4 の結晶性が高すぎることにより、n 型半導体である Y6 との混合薄膜において過度な結晶化が進行したことでホール移動度が低下したことに起因する。したがって、今後はさらなる分子修飾により、結晶性を適度に抑制できる材料の開発をおこなう。

4. 参考文献

[1] Q. Liu, Y. Jiang, K. Jin, J. Qin, J. Xu, W. Li, J. Xiong, J. Liu, Z. Xiao, K. Sun, S. Yang, X. Zhang, L. Ding, *Sci. Bull.* 2020, *65*, 272.

[2] L.-K. Ma, Y. Chen, P. C. Y. Chow, G. Zhang, J. Huang, C. Ma, J. Zhang, H. Yin, A. M. H. Cheung, K. S. Wong, S. K. So, H. Yan, *Joule* 2020, *4*, 1486.

[3] H. Mori, S. Nishinaga, R. Takahashi, Y. Nishihara, *Macromolecules* 2018, *51*, 5473.

[4] J. Yuan, Y. Zhang, L. Zhou, G. Zhang, H.-L. Yip, T.-K. Lau, X. Lu, C. Zhu, H. Peng, P. A. Johnson, M. Leclerc, Y. Cao, J. Ulanski, Y. Li, Y. Zou, *Joule* 2019, *3*, 1140.

[5] H. Mori, Y. Yamada, Y. Minagawa, N. Hasegawa, Y. Nishihara, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 2022, *95*, 942.

[6] S. Zhang, Y. Qin, J. Zhu, J. Hou, *Adv. Mater.* 2018, *30*, 1800868.

可視光による短寿命活性種の発生を基盤とした複素環化合物の合成

岡山大学　異分野基礎科学研究所

田中　健太

（概要）*o*-キノンメチドなどの短寿命活性種は医薬品の合成中間体として幅広く有機合成反応に用いられる有用な活性種である。これまでに開発された短寿命活性種の発生法は、主に化学量論量の強酸、強塩基を用いたものや、高温条件下の反応であった。申請者はこれまでに、可視光と光触媒を利用した様々な環化付加反応に取り組んできた。そこで本研究では、可視光と光触媒を利用した短寿命活性種の新規発生法を基盤とした複素環合成法の開発を目標とし研究を行った。その結果、Ir 触媒存在下、基質にサリチルアルデヒドと 1,1-ジフェニルエチレンを用い Blue LED を 24 時間照射したところ、反応の進行が確認され中程度の収率で目的とする含酸素複素環化合物であるクロマンを得ることに成功した。

1. 研究背景

医薬品の開発は人々の健康を支える上で欠かせないものとなっており、それらをより効率よく安全に合成する手法の開発は重要な課題となっている。*o*-キノンメチドなどの短寿命活性種は医薬品の合成中間体として幅広く有機合成反応に用いられる有用な活性種である。これまでに開発された *o*-キノンメチドの発生法は、主に化学量論量の強酸、強塩基を用いたものや、高温条件下の反応であった。[1)]最近では光エネルギーを活用した研究も報告されているが、人体に有害な短波長側の強い光である紫外光を利用した手法が多く報告されており、より穏和な可視光を利用した例は限られている（図 1）。[2)]

一方で、近年の地球環境問題から、わが国では 2015 年 9 月に開催された国連サミットにおいて採択された「持続可能な開発目標（Sustainable Development Goals: SDGs）」を目指した活動が活発に展開されており、その中の「持続可能な消費と生産」においては、特に地球環境に配慮したものづくりが求められている。このような中にあって、有機合成化学分野においても環境に対する負荷を軽減しうる新たな合成プロセスの開発が求められている。申請者はこれまでに、可視光と光触媒を利用することにより、様々な環化付加反応の開発に成功している[3)]

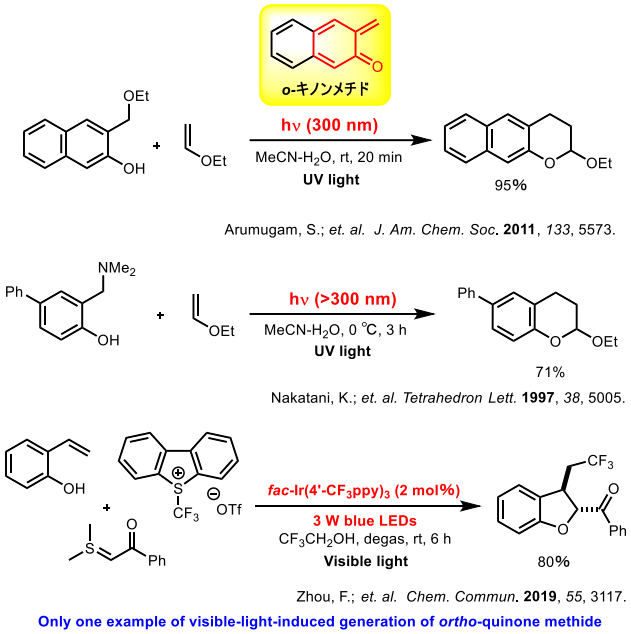


図 1：光を利用した *o*-キノンメチドの発生と反応例

このような背景から、本研究では安全で温和な光である可視光と光触媒を利用した短寿命活性種の発生を基盤とした複素環化合物の合成法の開発を目標とし研究を行った(図 2)。

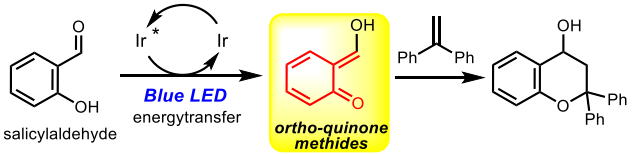
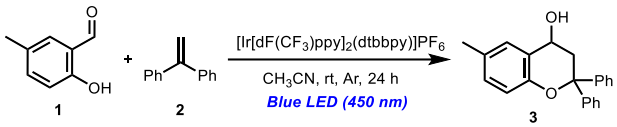


図 2：本研究の目的

2. 結果と考察

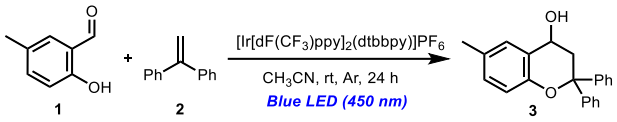
まず初めに、Blue LED 照射下、光触媒として $[Ir[dF(CF_3)ppy]_2(dtbbpy)]PF_6$ を使用し、5-methylsalicylaldehyde 1 および 1,1-diphenylethylene 2 をアセトニトリル溶媒中(4.0 mL)、24 時間反応させたところ、反応の進行が確認され目的とする含酸素複素化合物であるクロマン 3 を 21%で得ることに成功した(図 3, entry 1)。さらに、entry 2,3 において光を照射しない条件や Ir 光触媒を加えない検討を行ったところ、いずれの場合においても反応が進行しなかったことから、本反応は Blue LED と光触媒によって促進されていることが分かった。



entry	light	Ir cat.	yield (%)
1	○	○	**21**
2	×	○	0
3	○	×	0

All reactions were carried out with **1** (0.8 mmol), **2** (0.4 mmol), and photocatalyst (1.0 mol %) in CH_3CN (4.0 mL) at room temperature for 24 h under irradiation with blue light.

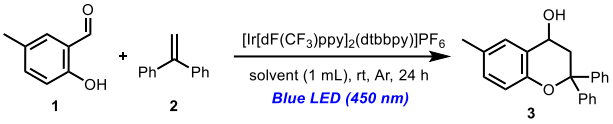
図 3: 可視光と光触媒を利用した環化付加反応による複素環化合物の合成



entry	concentration	yield (%)
1	8 mL (0.05 M)	26
2	4 mL (0.1 M)	21
3	2 mL (0.2 M)	43
4	1 mL (0.4 M)	**48**

図 4: 濃度検討

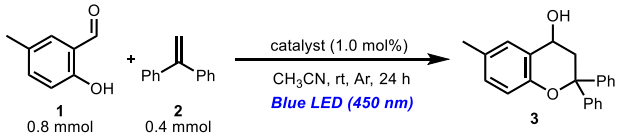
次に溶媒の濃度検討を行った(図 4)。種々の濃度を検討した結果、0.4 M に濃度を変更したところ収率が向上し、48%で目的物 3 を得た(entry 4)。これは、濃度を上げることにより、1) 光触媒と 5-methylsalicylaldehyde 1 のエネルギー移動が円滑に進行した。2) 系中で発生した *o*-キノンメチドと 1,1-ジフェニルエチレンとの環化付加反応が円滑に進行したことで収率が向上したものと考えられる。

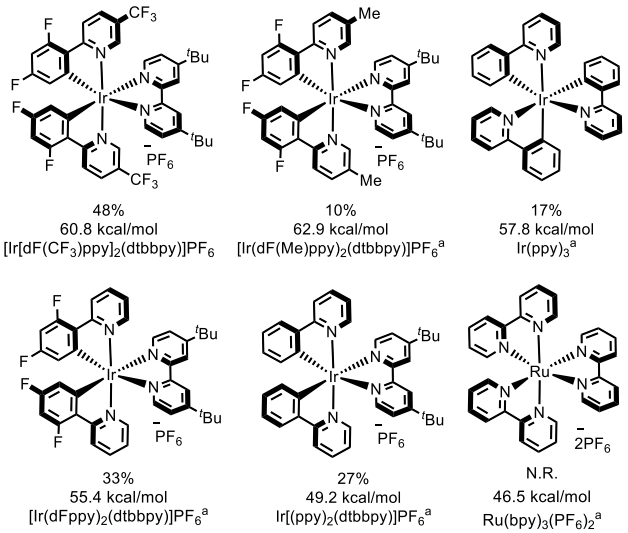


entry	solvent	yield (%) 3	yield (%) 2
1	CH_3CN	**48**	21
2	DMF	10	56
3	acetone	19	24
4	THF	**39**	43
5	1,2-dichloroethane	24	28
6	toluene	14	43
7	MeOH	**42**	40

図 5: 溶媒の検討

次に反応に使用する溶媒の検討を行った(図 5)。その結果、高極性溶媒や低極性溶媒、プロトン性溶媒においても反応が進行し、中程度の収率で目的物を得た。一方で、いずれの反応においても原料である 1,1-diphenylethylene 2 が回収されたことから、次に光触媒の検討を行うこととした。





a Blue LED (425 nm) was used.

図 6: 光触媒の検討

代表的な光触媒を検討したところ、$[Ir[dF(CF_3)ppy]_2(dtbbpy)]PF_6$ を用いた場合に最もよい結果を示し 48%の収率で目的物を得た(図 6)。しかしながら、大幅な収率改善には至らなかったことから、今後は触媒量などの検討を行う予定である。

3. まとめ

本研究では、Ir 光触媒存在下、基質にサリチルアルデヒドと 1,1-ジフェニルエチレンを用い Blue LED を 24 時間照射したところ、反応の進行が確認され、中程度の収率で目的とする含酸素複素環化合物であるクロマンを得ることに成功した。今後は触媒量の検討や基質適応範囲の検討を行うことで、収率の向上と多様な複素環化合物の合成に応用していく予定である。

4. 謝辞

本研究を遂行するにあたり、ご支援いただき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。

5. 参考文献

(1) (a) Y.-H. Ma, X.-Y. He, Q.-Q. Yang, A. Boucherif, J. Xuan *Asian J. Org. Chem.* 2021, *10*, 1233-1250. (b) W.-J. Bai, J. G. David, Z.-G. Feng, M. G. Weaver, K.-L. Wu, T. R. R. Pettus *Acc. Chem. Res.* 2014, *47*, 3655-3664.

(2) (a) S. Arumugam, V. V. Popik *J. Am. Chem. Soc.* 2011, *133*, 5573-5579. (b) K. Nakatani, N. Higashida, I. Saito *Tetrahedron Lett.* 1997, *38*, 5005-5008. (b) F. Zhou, Y. Cheng, X.-P. Liu, J.-R. Chen, W.-J. Xiao *Chem. Commun.* 2019, *55*, 3117-3120.

(3) (a) K. Tanaka, M. Kishimoto, Y. Tanaka, Y. Kamiyama, Y. Asada, M. Sukekawa, N. Ohtsuka, N.; T Suzuki, N. Momiyama, K. Honda, Y. Hoshino *J. Org. Chem.* 2022, *87*, 3319-3328. (b) K. Tanaka, Y. Asada, Y. Hoshino *Chem. Commun.* 2022, *58*, 2476-2479.

実際の現象を確率的に考える能力の育成を目指した学校数学の確率の授業デザイン

岡山大学学術研究院教育学域

石橋 一昴

社会に溢れる情報には不確実なものも多いことから，我々市民は一人ひとりが情報を取捨選択し，不確実性に対処しなければならない。そのため，全ての市民にとって，不確実性を定量的に評価する確率の理解が不可欠である。このような背景から，世界の学校数学では確率が指導されている。しかしながら，現在の学校数学の確率では，実際の現象を確率的に考える能力を育むことができないと指摘されている。そこで本研究では，中高生が実際の現象を確率的に考えることができるようになることを目指し，学校数学の確率の授業デザインを行うことを目的とした。

今年度の結果として，先行研究から，実際の現象を確率的に考えるために，市民が学校数学を通して形成すべき重要な確率概念として「大数の法則」と「期待値」を同定した。そして，「大数の法則」（試行回数と相対度数のばらつきの関係）については，ブルソーによる教授学的状況理論に基づいて中学 1 年生を対象とした授業を開発した。この成果は日本科学教育学会誌に掲載された。「期待値」については，否定論に基づく概念形成の過程を理論的枠組みとして，その概念形成過程を示した。この成果は全国数学教育学会研究発表会において口頭発表された。

１．はじめに

社会に溢れる情報には不確実なものも多いことから，我々市民は一人ひとりが情報を取捨選択し，不確実性に対処しなければならない。そのため，全ての市民にとって，不確実性を定量的に評価する確率の理解が不可欠である。このような背景から，世界の学校数学では確率が指導されている（例えば，Batanero et al.，2016）。

しかしながら，現在の学校数学の確率では，実際の現象を確率的に考える能力を育むことができないと指摘されている（例えば，小島，2013；マンクテロウ，2015）。そこで本研究では，中高生が実際の現象を確率的に考えることができるようになることを目指し，学校数学の確率の授業デザインを行うことを目的とする。

今年度の研究成果は次の 2 つの論文・学会発表資料として発表した。以下ではそれぞれについて，概要を述べる。

- 石橋一昴，西宗一郎（2022）：中学校第 1 学年数学科「多数の観察や多数回の試行によって得られる確率」の授業に関する考察－試行回数と相対度数のばらつきの関係に焦点を当てて－，科学教育研究，46，4，371-383.
- 石橋一昴（2022）：否定論の視点から見た期待値概念の形成過程の構築，第 57 回全国数学教育学会研究発表会資料.

２．石橋・西（2022）について

2.1. 背景と目的

学校数学において，試行回数が少ないうちは，ある事象の起こる相対度数のばらつきは大きいが，回数が多くなると，そのばらつきは小さくなること（以下では，「試行回数と相対度数のばらつきの関係」と呼ぶこととする）の学習を目指すことが，中学 1 年で学習する多数の観察や多数回の試行によって得られる確率の意味理解において重要であると考えられる．しかしながら文部科学省（2018）では，この重要性については言及されていない．さらに，中学校数学科教科書でも，全 7 社中 2 社（池田ほか，2021；岡本ほか，2021）では試行回数と相対度数のばらつきの関係について言及されているが，残りの 5 社（藤井ほか，2021；岡部ほか，2021；坂井ほか，2021；重松ほか，2021；相馬ほか，2021）では言及されていない．このように，多数の観察や多数回の試行によって得られる確率の意味理解のためには，試行回数と相対度数のばらつきの関係の学習が重要であるにもかかわらず，それがあまり重要視されていない．

以上より石橋・西（2022）では，中学1年生を対象に授業を設計し，その授業によって，試行回数と相対度数のばらつきの関係の学習が生じたかどうかを考察することを目的とした．

2.2. 学習の捉え方

生徒が知識を獲得するためには，主体的な学習が不可欠である（例えば，文部科学省，2018；中原，1994）．では，生徒主体の学習とはどのような学習なのだろうか．この点について，種々の数学教育研究では，ブルソーによる教授学的状況理論（Brousseau, 1997）に基づくことで規定している（例えば，濵中・加藤，2014）．そこで本稿でも，これらの先行研究に基づき学習を捉えることとする．

教授学的状況理論（Theory of Didactic Situations）は，名称のとおり，数学の指導・学習における数学知識の本性を「状況・場（situation)」という概念を通して科学的に明らかにすることを試みる理論である（宮川，2009）．この理論では，ピアジェによる構成主義の考え方に基づき，学習者が「矛盾や困難，不均衡を生成するミリュー（環境）に適応しながら学習する」（Brousseau, 1997: 30）とし，学習が学習者とミリューとの相互作用によって成立するとする．つまりミリューに対する学習者の様々な働きかけ(action) に対し，ミリューが様々な情報(information) を返す．そして，ミリューからのフィードバックにより，学習者が当初もっていた考えやストラテジーを修正することによって学習が生じるとする．この際，学習される数学知識は，与えられた問題を解決するための手段（ストラテジー）として，その必要性・有用性に応じて表出する．また，自明のことであるが，数学教育においては，学習者により学習されることが望まれる数学知識が存在し，それはミリューとの相互作用のみによって自然に発生するものではない．そのため，「教師」という構成要素が必要になる．「教授意図のないミリューは，我々が生徒に獲得するように望んでいる知識を主体に引き出させるためには，明らかに不十分である」（Brousseau, 1997: 30）．

その一方で，教師という構成要素が学習者とミリューという学習場面に組み込まれることにより，当然，学習者の学習に影響を与えることとなる．その際，学習者のミリューへの適応ではなく，学習者の教師への適応であれば，Brousseau（1997）のいう学習は成立しないことには注意が必要である．

以上が教授学的状況理論における学習の捉え方である．石橋・西（2022）ではこの学習を目指すこととした．

2.3. 授業設計

まずは図1を解かせることで，後にミリューからのフィードバックを受けるために必要な「当初の考え」を，生徒に自覚させる（5分）．個人解決の後，周囲の生徒と話し合わせ，教師が数名の生徒を指名して予想とその理由を発表させる（10分）．生徒に発表させた後，当初もっていた考えやストラテジーを振り返させる（5分）．

> 太郎さんと花子さんはそれぞれ1枚のコインを投げます．太郎さんは10回，花子さんは100回投げます．太郎さんが10回投げて7回以上表が出ることは，花子さんが100回投げて70回以上表が出ることよりも，起こりやすいでしょうか？起こりにくいでしょうか？それとも,等しいでしょうか？ただし，コインを投げて表と裏の出る確率はどちらも1/2とします．

図1．設計した課題

次に，予想を検証させる（15分）．ここでは実際のコインを用いても良いし，表計算ソフトウェアを用いても良いこととし，予想の検証方法を生徒が選択できるようにする．さらに，表計算ソフトウェアの用い方については，生徒自ら関数を入力してシミュレーションを行うことは難しいことが予想されるため，選択肢を与える．なお，シミュレーションの結果と実際のコインを用いた試行の結果とを関連づけることが難しい生徒がいることが予想されるため，実際のコインを投げて検証することもできるようにしておく．

図1の個人解決の段階では，先行研究の結果を踏まえれば多くの生徒が「等しい」を選択することが予想される．そのため検証の結果は，多くの生徒にとって予想とは違う結果となる．すなわちここで，矛盾や困難，不均衡を生成するミリューからフィードバックが与えられることとなる．そしてフィードバックが与え

られれば，学習者にとって，当初もっていた考えやストラテジーを修正する契機となり，学習が生じる．このことを踏まえ，教師は，予想の検証を終えた生徒に対し，「予想を確かめた結果，なぜ，硬貨を 10 回投げて 7 回以上表が出ることは，硬貨を 100 回投げて 70 回以上表が出ることよりも起こりやすかったのでしょうか？」と発問し，生徒が当初もっていた考えやストラテジーの修正を促す（10 分）．生徒は既習事項と予想の検証結果を踏まえながら，例えば「試行回数が少ないうちは，ある事象の起こる相対度数のばらつきは大きいが，回数が多くなると，そのばらつきは小さくなるから」と答えることが予想される．手が止まっている生徒に対しては，前時までの内容や方法を振り返るよう促したりすることで支援する．最後は，試行回数と相対度数のばらつきの関係に関して，生徒の考えに基づいてまとめる（5 分）．

2.4. 考察

授業では，当初の考えで正答（起こりやすい）以外を選択した生徒 26 名のうち 21 名が，周囲との意見交流や実験またはシミュレーションの結果，自身の当初の考えが正しくなく，正答が正しいと判断した．例えば当初の考えで「等しい」を選択していた Tomu は，周囲との話し合いの結果，ワークシートに「前回のグラフで，最初は度数にバラツキがあったけど，多くの回数ふることで集中してきているから（0.5 に），だから少しの回数の 10 回は，0.5 にちかづかないと思うから」と書いており，自分の当初の考えが正しくないと判断した．また，当初の考えで「等しい」を選択していた Rina は，シミュレーションの結果，ワークシートに「10 回で 7 はあるけど，100 回で 70 はない．何回もするほど 0.5 になるから 10 回の方が出やすい」と書いており，自分の当初の考えが正しくないと判断した．これらのことから，課題（図 1），自分以外の生徒，実験またはシミュレーションの結果が，矛盾や困難，不均衡を生成するミリューとして機能していたといえる．またそれらのミリューとの相互作用を通して，生徒の当初の考えが修正されていた．さらに，授業の最後の Ayu の「最初は散らばっているが最後は 0.5 くらいに近づいていくから」という発言からわかるように，試行回数と相対度数のばらつきの関係が，課題（図 1）を解決するための手段となった．以上より，授業を通して，試行回数と相対度数のばらつきの関係の学習が生じることが例証されたと考えてよいであろう．

3．石橋（2022）について

3.1. 背景と目的

日常生活や職場における多くの意思決定には，不確実さが伴う（Batanero et al.，2016）．我々には，その不確実さを，確率を用いて定量的に評価する能力を身につけることが求められている（Batanero et al.，2016）．さらに，例えば身近な不確実さであるくじ（lottery）の場合，価格と賞金額は異なっており，賞金も一つのくじに対して何通りが用意されているのが一般的である（小島，2013）．このような場合には，意思決定のための判断基準として，期待値が有効となる（小島，2013）．

様々な国で，期待値の計算と解釈は高校卒業までに習得すべきであると考えられており（Batanero，2020；Batanero et al.，2016），日本でも，平成 30 年告示の高等学校学習指導要領において数学 A の内容として扱われている。しかしながら，期待値概念の形成過程に関する研究は十分に行われてはいない。

そこで石橋（2022）では，期待値の概念形成過程を構築することを目的とした．理論的枠組みは，他の統計的概念の形成過程の構築にも援用されている（石橋，2021；大谷，2015，2016），「否定論に基づく概念形成の過程」を理論的枠組みとする．

3.2. 否定論に基づく概念形成の過程

「外延の限定」に至る前の状態では，数学的概念 A がどんな対象にも適用可能であると誤って認識している状態である．例えば，「全ての数はわり切れる数である」とみなしている状態といえる．この状態が，図 2 では最初の円で表されている．次に，「外延の限定」が起こった状態は図 2 の 2 番目の図で表されており，外延 E_A が限定されていることを表している．そして「内包の明確化」の状態は図 2 の 3 番目の図で表されており，点線と実線の差集合部分の性質が明確になる．最後に「概念の再構成」の段階は図 2 の 4 番目の図で表されており，この段階では，概念 A と概念 B を対比し，新しい概念（概念 B）から基となった概念（概念 A）を

否定によって特徴づける．また図 2 より，概念 A の形が変わる（再構成される）ことによって，概念 B も形が変わる（再構成される）ことがわかる．つまり概念 A が再構成されれば，それに伴って概念 B が相対的に再構成されることになる（石橋，2021）．

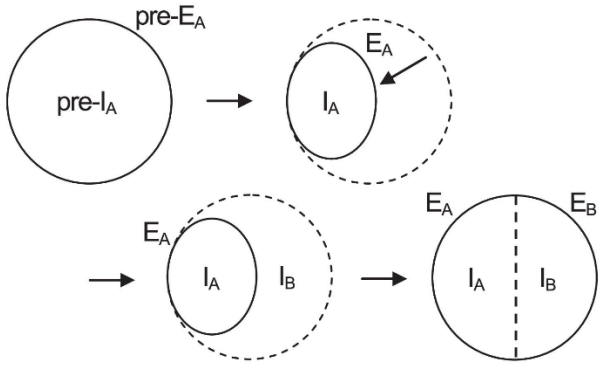


図 2．否定に基づく概念形成における内包と外延
（大谷，2015：117）

3.3．否定論に基づく期待値概念の形成過程

3.3.1．期待値とその関連概念

「否定論の視座からすれば，新しい概念は，既有の概念の本質を内包的に否定することによって性質が明確にされ，さらにそうして創られた新しい概念は外延的に否定されることによって適用範囲が明確にされる」（大谷，2016：146）．このことを期待値に適用すれば，期待値は，ある概念 A の内包的否定によって発達し，さらに概念 C によって外延的に否定されることでその適用範囲と性質とが明確になる．では，概念 A と概念 C はどのように設定することができるだろうか．

期待値とは，「各値の確からしさを考慮した加重平均」である（笠原，2010：45）．ゆえに概念 A は，各値の確からしさを考慮した加重平均ではない平均と考えることができ，それは単純平均（相加平均や算術平均とも呼ばれる）といえる（例えば，笠原，2010；金子，2022）．単純平均としては，例えば 1 つのさいころを 1 回投げて出た目が得点になるゲームの得点の平均 $\frac{1}{6}(1+2+3+4+5+6)=3.5$（点）が挙げられる．つまり，期待値は単純平均の内包的否定によって発達すると考えられる．

また，期待値による結論が現実には必ずしも適用できない場合には，期待効用が有効である（例えば，川越，2020；小島，2013；広田，2018）．期待効用とは，結果として得られることに対して感じる各人の心理的満足度のようなものである効用（utility）と，確率の積である（広田，2018）．行為 A についての期待効用（EU）は，次の式で表される．

$$EU(A)=\sum P_A(o)\,U(o)$$

o：結果の集合
$P_A(o)$：結果 o が行為 A の下で起こる確率
$U(o)$：結果 o の効用

（広田，2018：24）

つまり，期待値は期待効用によって外延的に否定されると考えられる．

以上より本稿では，期待値（概念 B）に対する概念 A として「単純平均」を，概念 C として「期待効用」を設定する．

3.3.2．単純平均から期待値へ

前節のように，さいころの出る目の平均は，単純平均によって求めることが妥当であると考えられる．しかし，例えば 1 等 10,000 円が 5 本，2 等 1,000 円が 20 本，3 等 200 円が 75 本，はずれが 900 本のくじの賞金額の平均を問われたとき，単純平均を求めると $\frac{1}{4}(10000+1000+200+0)=2800$（円）となり，2 等の倍以上の額となる．これでは，平均的な（以下では，数学の「平均」との混同を避けるため，「つり合いが取れている」と記す）値とは考えにくく，単純平均によって賞金額の平均を考えるのは不十分かもしれないと考えられる（金子，2022）．つまり，単純平均から期待値への変容の最初の段階である外延の限定は，「単純平均では，つり合いが取れていると考えるのは不十分な平均が算出される場合があることを認識する」段階である（図 2 の 2 番目の図の I_A に相当）．

外延の限定の段階より，単純平均ではつり合いが取れていると考えるのは不十分な平均が算出される場合があることが明らかとなった．そこで，単純平均でもつり合いが取れていると考えることができた場合を振り返ると，1 つのさいころを 1 回投げて出た目が得点になるゲームであれば，その平均は $\frac{1}{6}(1+2+3+4+5+6)=3.5$（点）という事例から，各値の確からしさを暗黙的に等しいと仮定していたことに気づくことが

できる．よって，各値の確からしさを暗黙的に等しいと仮定しない平均を，「期待値」として捉え直す（図 2 の 3 番目の図の I_B に相当）．例えば，前述の例（1 等 10,000 円が 5 本，2 等 1,000 円が 20 本，3 等 200 円が 75 本，はずれが 900 本）のように各値の確からしさが等しくない場合において，各値の確からしさが等しいと暗黙的に仮定するのではなく，$10000 \times \frac{5}{1000} + 1000 \times \frac{20}{1000} + 200 \times \frac{75}{1000} + 0 \times \frac{900}{1000} = 85$（円）という具合に各値の確からしさを考慮して賞金額の平均を求める．

内包の明確化の段階より，期待値の内包が明らかになったら，今度はその視点から，単純平均を否定により特徴づける．単純平均は，例えば「各値の確からしさの違いを考慮しないモデル」であり，「各値の確からしさが異なる場面には適用できない」（図 2 の 4 番目の図の I_A に相当）．この活動により，単純平均と期待値は統一的に扱われるようになる．

3.3.3. 期待値から期待効用へ

期待値を用いることで，確率の大小だけでは判断できない場合にも意思決定できるようになった．しかし期待値では判断できない場合もある．それは，例えば次のような場合である．

> ある人 A が相手 B に対して，参加費用 x 円を支払って次のゲームへの参加を誘う．ゲームでは歪みのない硬貨を裏が出るまで投げ続ける．もし裏が最初に出たら，A の負けで B に 200 円払う．2 回目に初めて裏がでたら，400 円 B に支払う．このように，k 回目に初めて裏が出た場合 A は B に $2^k \times 100$ 円支払う，というものである．B にとってこのゲームの期待値は，ゲームが無限回行われるなら無限大である．すなわち，
>
> $$200 \times \frac{1}{2} + 400 \times \left(\frac{1}{2}\right)^2 + 800 \times \left(\frac{1}{2}\right)^3 + \cdots\cdots + (2^k \times 100) \times \left(\frac{1}{2}\right)^k + \cdots\cdots = \infty$$
>
> （広田，2018：26）

このように，期待値によって判断するならば，参加費用がいくら大金であっても参加すべきであるという結論になる場合がある．しかし，大半の人がこのゲームが得であるとは考えない．大半の人が参加費用として支払ってもよいとする額はわずかである（広田，2018；川越，2020）．それゆえ，これはパラドックスとされており，「サンクトペテルブルクのパラドックス」として知られている（広田，2018；川越，2020）．つまり，期待値から期待効用への変容の最初の段階である外延の限定は，「期待値では，変量（例えば，賞金額）を考慮した選択ができない場合があることを認識する」段階である（図 2 の 2 番目の図の I_A に相当）．

外延の限定の段階より，変量の値（例えば，賞金額）と確率の積では意思決定できない場合があることが明らかとなった．そこで，ダニエル・ベルヌーイによる「サンクトペテルブルクのパラドックス」の解に注目する．ベルヌーイは，大半の人が参加費用をわずかしか支払わない理由を，金銭の価値（効用）が，勝ちとる金額や人がすでに所有している額が大きくなるにつれて減少するからであると考えた（広田，2018）．例えば，同じ賞金額 1,000 円を受け取った場合に，普段，財布に 1,000 円しか入っていない人と，いつも 10 万円を持ち歩いている人とでは，感じる効用は違うものだと考えられる（川越，2020）．よって，変量の値（例えば，賞金額）ではなく，効用を基準とするモデルを，期待効用として捉え直す（図 2 の 3 番目の図の I_B に相当）．例えば次のような活動によって，期待効用の内包を明確化することができると考える．

> 賞金額 o に対する効用 $U(o)$ を $\sqrt{o}$ とすると（川越，2020 参照），「サンクトペテルブルクのパラドックス」のゲームにおける期待効用 $EU(A)$ は，
>
> $$EU(A) = \frac{1}{2} \times \sqrt{200} + \left(\frac{1}{2}\right)^2 \times \sqrt{400} + \left(\frac{1}{2}\right)^3 \times \sqrt{800} + \cdots\cdots + \left(\frac{1}{2}\right)^k \times \sqrt{2^k \times 100} + \cdots\cdots \approx 24.14$$
>
> よって，約 24 円がこのゲームでの賞金の期待効用になる．

内包の明確化の段階より，期待効用の内包が明らかになったら，今度はその視点から，期待値を否定により特徴づける．期待値は，例えば「効用を考慮しないモデル」であり，「効用を考慮した意思決定には活用できない」（図 2 の 4 番目の図の I_A に相当）．この活動により，期待値と期待効用は統一的に扱われるようになる．

4．おわりに

今年度は，先行研究から，実際の現象を確率的に考えるために，市民が学校数学を通して形成すべき重要な確率概念として「大数の法則」と「期待値」を同定した。そして，「大数の法則」については，中学 1 年生を対象とした授業を開発した。「期待値」については，その概念形成過程を示した。今後の課題は，期待値概念の形成過程に基づいた授業を開発することである。

謝辞

本研究は，公益財団法人ウエスコ学術振興財団の令和 4 年度研究活動費の助成を受けて行われました。この場合をお借りして感謝申し上げます。ありがとうございました。

引用・参考文献

Batanero, C. (2020): Probability teaching and learning, in S. Lerman (Ed.), *Encyclopedia of Mathematics Education*, 682-686, Springer.

Batanero, C. et al. (2016): *Research on teaching and learning probability*, Springer.

Brousseau, G. (1997): *Theory of didactical situations in mathematics: Didactique des Mathématiques, 1970-1990*, Kluwer Academic Publishers.

濵中裕明，加藤久恵（2014）：高校における構造指向の数学的活動に関する考察－教授学的状況理論の視点から－，数学教育学研究，20，1，133-141.

広田すみれ（2018）：認知からのアプローチ，広田すみれほか 2 名編「心理学が描くリスクの世界　第 3 版－行動的意思決定入門－」，23-77，慶應義塾大学出版会.

池田敏和ほか 47 名（2021）：中学校 数学 1，学校図書.

石橋一昴（2021）：否定論の視点から見た条件付き確率の概念形成過程，数学教育学論究，102，116，3-16.

金子裕介（2022）：確率の哲学－因果論思考から帰納論理へ－，森北出版.

川越敏司（2020）：「意思決定」の科学－なぜ，それを選ぶのか－，講談社.

小島寛之（2013）：数学的決断の技術－やさしい確率で「たった一つ」の正解を導く方法－，朝日新聞出版.

マンクテロウ，K.（2015）：思考と推論－理性・判断・意思決定の心理学－，服部雅史，山祐嗣（訳），北大路書房.

宮川健（2009）：フランスを起源とする数学教授学の「学」としての性格，日本数学教育学会誌 数学教育学論究，94，37-68.

文部科学省（2018）：中学校学習指導要領（平成 29 年告示）解説 数学編，日本文教出版.

文部科学省（2019）：高等学校学習指導要領（平成 30 年告示）解説 数学編 理数編，学校図書.

中原忠男（1994）：数学教育における構成主義の展開－急進的構成主義から社会的構成主義へ－，日本数学教育学会誌，76，11，302-311.

岡部恒治ほか 41 名（2021）：日々の学びに数学的な見方・考え方をはたらかせる これからの数学 1，数研出版.

岡本和夫ほか 132 名（2021）：未来へひろがる 数学 1，啓林館.

大谷洋貴（2015）：統計的概念の形成過程に関する研究－否定論に着目して－，数学教育学研究，21，2，113-121.

大谷洋貴（2016）：否定論を視点とした回帰直線の学習指導に関する一考察，数学教育学研究，22，2，141-151.

坂井裕ほか 31 名（2021）：中学数学 1，教育出版.

重松敬一ほか 40 名（2021）：中学数学 1，日本文教出版.

相馬一彦ほか 25 名（2021）：数学の世界 1，大日本図書.

三瓶火山の最新活動と噴火形態【特定研究分野 A】

岡山大学大学院　教育学域

松多　信尚

三瓶山は中国地方随一の活火山であるが、明らかにマグマが伴う火山活動は 3.87ka が最後とされている一方で、山頂付近には 1.3-1.4ka に噴火があった可能性が指摘されている。本火山の最新活動を明らかにすることは、ローカルな災害リスクの把握だけでなく、原子力発電所などの安全性にも影響するため、重要である。本研究では、火山から降下したものなどが堆積し残りやすい静かな水域であった大田市鳥井地区の堆積物から三瓶火山の最新活動の全貌を明らかにすることを試みた。調査の結果、予察的調査で三瓶火山の最新活動時の噴出物の可能性があると考えられた堆積物は、年代測定と地層観察の結果、人工的に客土された土砂であることがわかった。一方、鳥井地区での掘削調査の結果、津波か洪水のイベント堆積物が発見された。これは、伝承とされる万寿の津波の堆積物である可能性があり、今後の解明が期待される。

はじめに

中国地方は地震や火山といった内的営力に伴う自然災害が比較的少ない地域である。地震に関して言えば、高知沖で発生する南海トラフ地震で被害や鳥取地震や浜田地震などの被害地震はあるものの、大きな津波を伴うような地震は歴史記録としては知られていない。火山に関しては島根県の三瓶山と山口県の阿武火山群の二つの活火山があるが、東北日本の東西断面で示されるような海洋プレートの沈み込みと火山フロントの関係といった模式的な構造と比べるとその火成活動は低調である。中国地方においては、教科書のようなプレートの沈み込みと火山の関係が必ずしも成り立っているとはいえない。この要因はフィリピン海プレートの沈み込み形状などが原因と考えられるが、中国地方の火山研究は十分にされているとはいえず、不明な点がいまだに多い。

三瓶火山は約 10 万年前に活動を開始し、プリニー式噴火とされる広域火山灰である三瓶木次テフラを東北日本にまで降らせる大噴火もしている。しかし、福岡・松井(2002)によれば、三瓶火山の最近の活動は比較的低調で、約 4000 年前に火砕流を伴う三瓶太平山テフラ以降マグマが関与する噴火はないとされている。ただし、AD 677-1624 年の黒色土壌に挟まれて最大層厚 80 センチの火山灰が山頂付近（Loc.1）で認められる（山頂火山灰堆積物）。この堆積物は水蒸気爆発の可能性や二次堆積物の可能性が指摘されているが、十分な検討はされていない。

一方、三瓶火山から 15 ㎞程度離れた大田市鳥井地区（Loc.1）は標高 2.5m 程度の閉塞された低地で水田が広がっている。この地区は万寿三年(1026 年)に石見の国を襲ったとされる津波来襲の伝承がある地域である。万寿の津波は地震の後に津波が来たと伝えられているが、浜田付近の局所的な津波の可能性も疑われており、仮に本地区の伝承を地質学的に証明すれば山陰地方に過去に大きな津波が来襲したことが実証できる。その津波堆積物を確認するために実施したハンドオーガによる堆積物調査で、浅い地下に明瞭な軽石を含む火山灰層が発見された。この火山灰層には三瓶山の火山で特徴的にみられる黒雲母が多く含まれる。軽石はマグマが関与しない水

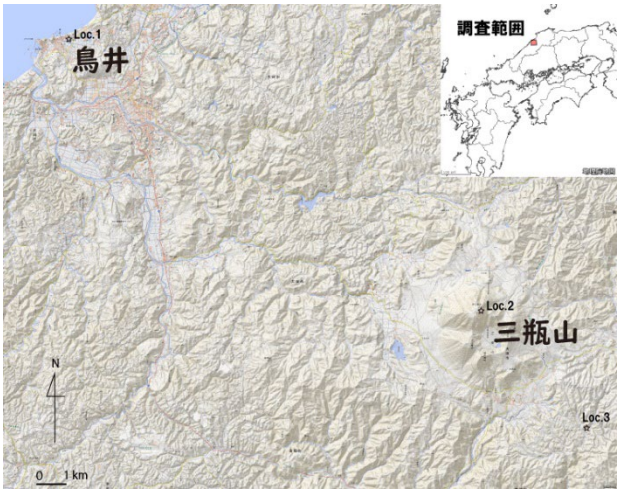


図 1 ：調査地域図

蒸気爆発では噴出されないので、既存研究に従えばこの火山灰層は最も新しくても約 4000 年前の三瓶太平山の火山噴出物となる。しかし、発見された深度である地下 60 センチ以浅は浅すぎるため、その上部が削剥され失われたか、4000 年前より新しい未知の噴火の可能性が考えられる。当該地域が堆積する環境であるため、上部が削剥されている可能性は低い。火山灰層の標高が 2m 程度でその上下に湿地性の堆積物が確認できることから、仮に上部が削剥されている場合は当該地域が隆起していると考えるのが妥当となるが、そのような証拠は報告されていない。したがって、この火山灰層は未知の噴火を示す可能性があると考え、調査を実施した。

調査概要

本研究の調査地点で堆積物の保存が良いと思われる地点を空中写真の実体視判読から選定した(図２)。それによると、この地域は、砂州によって閉塞された地域であることが読み取れ、河川の影響や土地改良工事の影響が少ないと判断できる低地北西部である八幡付近が適地であることを確認した（図３)。

まず、ジオスライサーを用いて鳥井地区で確認された火山灰層を採取し、降下軽石層をはさむ堆積物の年代を、炭素同位体比を用いて測定することで、軽石層の堆積年代を明らかにし、その火山灰と三瓶山の火山灰との対比を行うために、三瓶山の最新活動を明らかにする目的の調査を 2022 年 9 月に実施した。

また、その調査をもとに、鳥井地区八幡において、堆積物を確認するため、当該地区の３か所でピットを掘削し地層観察を 2023 年 3 月に行った。

結果・考察

2022 年 9 月調査

Loc.1 においてジオスライサーによる掘削調査を行った（図３)。その結果、深度 50 センチ付近に黒雲母を含む三瓶火山の火山灰の特徴を有する厚さ 4 センチの軽石層が確認できた。この軽石層の直上の土壌の炭素同位体年代測定の結果は表１の Beta-643349 であり、この軽石層を覆う堆積物の年代は 1950 年より新しい。

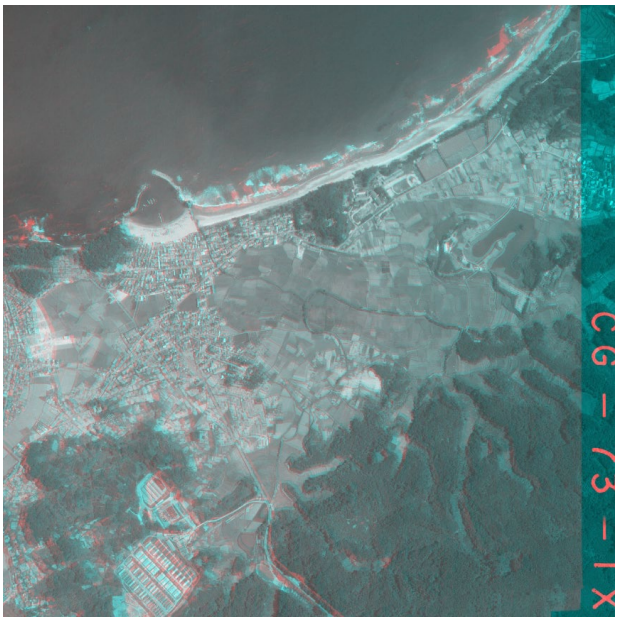


図２：鳥井地区、調査地点のアナグリフ



図３：鳥井の八幡地区、詳細調査地点

Loc.2 において、山頂火山灰堆積物を採取した(写真１)。肉眼で観察する限り、本火山灰は福岡・松井(2002)の記述にあるように、マグマの関与が認められるような証拠は見いだせなかった。

Loc.3 は、有機腐植土採取によって出現した大露頭である。本調査ではその最上部で確認された火山灰のみを対象として、地表より約 2.6m までの観察を行い（図４、Loc,3)、最上部の火山灰と火山灰を

挟む土壌の採取を行った。この土壌の炭素同位体年代測定の結果は表1の Beta-643350 と Beta-643351 である。これより、この火山灰の噴出年代は2131 cal BP 以降 575 cal AD 以前となる。

以上の結果より、三瓶山の最新のマグマが介入したと考えられる火山活動は加藤ほか（1998）などで第 7 期噴火とされている紀元前 1870 年ごろの噴火に相当することが Loc.3 より明らかになった。つまり、Loc.1 で確認された三瓶山起源と思われる軽石は、1950 年以降に人工的に埋められた可能性が高いことが明らかになった。

表１：炭素同位体結果

Beta-	sample	type of material	Measured Radiocarbon Age	cal
643349	Torii Sanbe TS-03	organic sediment	107.07	95.4% probability (81.8%) 2001 – 2004 cal AD (−52 – −55 cal BP) (7%) 2000 cal AD (−51 cal BP) (6.5%) 1956 – 1957 cal AD (−7 – −8 cal BP)
643350	UYAMA-SANBE SUS-01	organic sediment	1440	95.4% probability (95.4%) 425 – 575 cal AD (1525 – 1375 cal BP)
643351	UYAMA-SANBE SUS-03	organic sediment	3680	95.4% probability (86.9%) 2291 – 2131 cal BC (4240 – 4080 cal BP) (8.5%) 2087 – 2047 cal BC (4036 – 3996 cal BP)

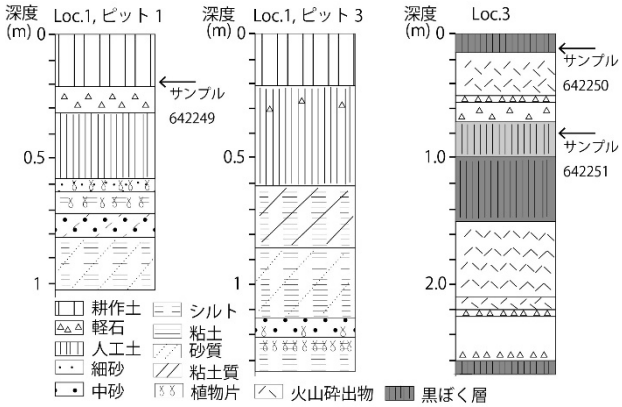


図４：調査地点の柱状図

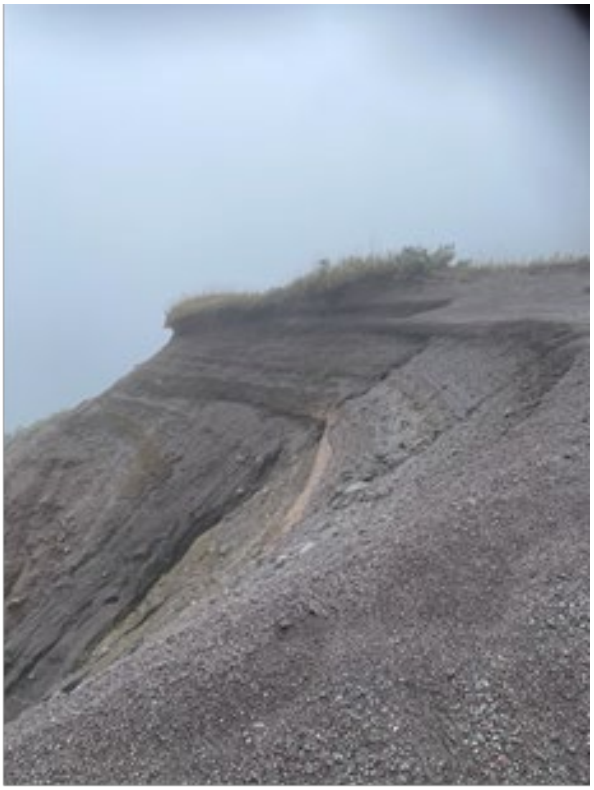


写真１：山頂付近（Loc.2）で観察できる山頂火山灰

2023 年 3 月調査

Loc.1 での軽石層が人工的なものかを確定させるために、3 か所でピット調査を実施した（図３）。その結果、ピット 1 ではハンドレベルやジオスライサーで確認できた軽石層を確認することができた（図４、写真２）。この観察によって、軽石層より下位の凝灰質な地層は客土と思われること、その下位にある黒色シルト層との境界部は明瞭で、黒色シルト層の上部には植物片が密集していることが観察された。

これは、この境界が当時の地表面で、客土された土に覆われたことで、表面に繁茂していた植物が死

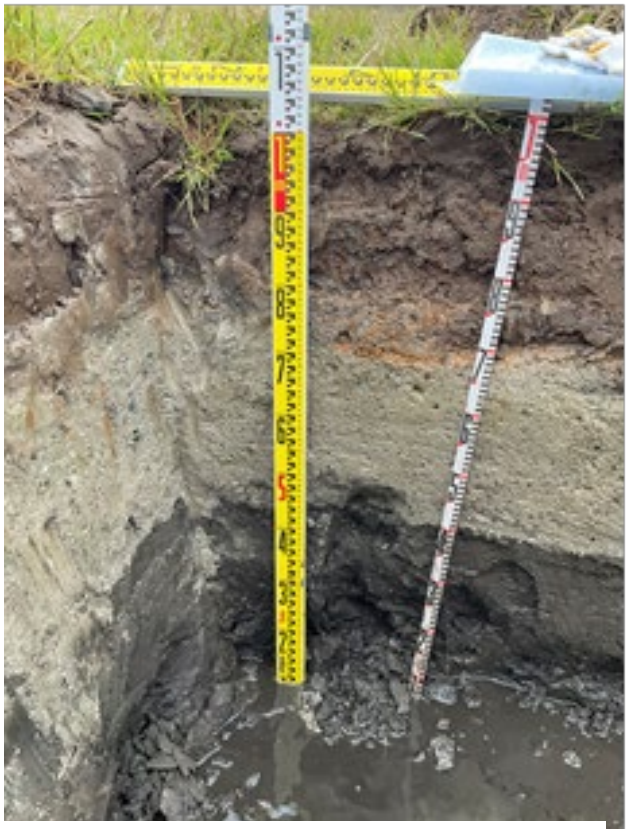


写真２：Loc.1　のピット１。灰白色の人工土と黒色シルト層の境界は明瞭である

滅したと解釈できる。

Loc.1　ピット３では､火山灰を含むピット１で見られたのと同様な人工土の下位に湿地性の黒色シルト層が分布する（図４、写真３）。この黒色シルト層に薄い砂層が挟まれており、その砂層とその下位の黒色シルト層には鉛直方向に植物根（茎）が多数入っている。

これは、黒色シルトが堆積している環境化で砂が堆積するイベントが存在したことになる。この黒色シルトと砂にまたがって植物根（茎）が見られることから、植物が繁茂する比較的浅い水域（湿地）の環境が存在し、そこに河川の洪水や津波などの砂が運ばれてくる比較的強い水流を伴うイベントがあったことがわかる。しかし、肉眼で観察する限り、この砂層が陸成の堆積物か海成の堆積物かの判断はできなかった。

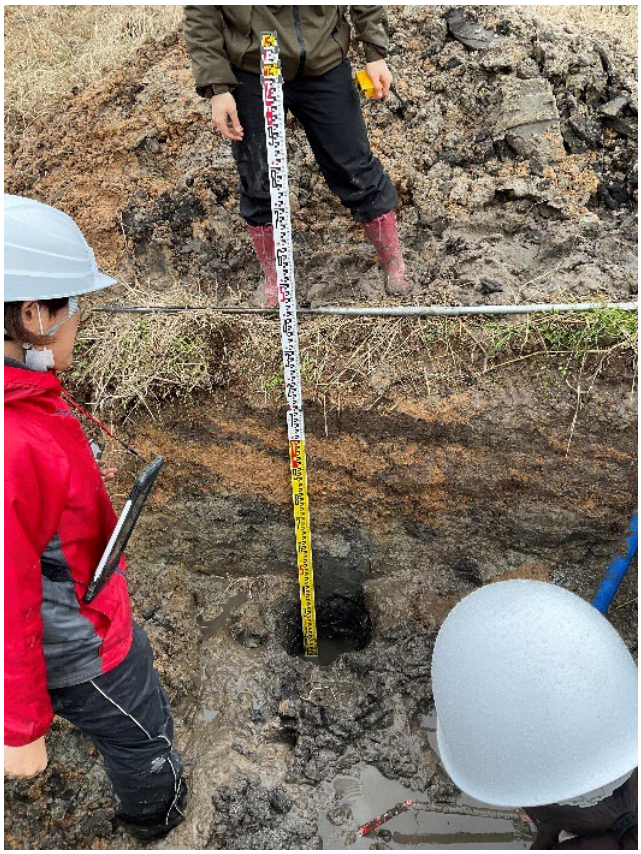


写真３：Loc.1 のピット３。人工土の下位に黒色シルト層が堆積、植物片を含む砂の薄層が狭在する。

まとめ

本助成金の目的であった、未知の三瓶山の最新噴火の発見はできなかった。しかし、従来の研究成果を確認し、新たに海岸地域を襲った洪水か津波のイベントを確認することができた。直接的には本研究目的とは合致しないが、見つかった砂層を年代測定することで、災害につながると思われるイベントの発生年代と、堆積物の微化石分析などから、イベントの成因を明らかしていくことが望まれる。

本研究を遂行するにあたり、協力的だった鳥井町の方々、ピット調査に協力してくれた石見銀山建設株式会社、本助成金事業に感謝する。本研究は山口大学の椿原京子准教授との共同研究である。

参考文献

福岡　孝・松井整司（2002）AT 降灰以降の三瓶火山噴出物の層序,地球科学 56. 105-122

加藤めぐみ・福沢仁之・安田喜憲・藤原　治（1998）年縞堆積物によって推定された三瓶大平山火山灰の降灰年代 日本第四紀学会講演要旨集 28,164-165

がん患者の療養支援に向けた中小規模施設における看護師長のパフォーマンスに関する研究

岡山県立大学　保健福祉学部　看護学科

名越　恵美

（概要）

高齢がん患者・家族が住み慣れた地域で療養生活を送るための看護師のがん患者・家族への支援状況・支援環境の改善へに向けて、本研究は、がん患者の療養支援に向けた中小規模病院の看護師長のパフォーマンスに関するチェックリストの開発を目的とする。まず、14 名の看護師長に面接調査を実施し、 質的記述的に分析した結果、がん患者の療養支援に向けた病棟師長のスタッフに対するパフォーマンスは、「がん患者の医療依存度に合わせた入退院の調整」、「意思決定支援に必要な情報収集」、「限られた人材の中で公平に研修の機会を提供」、「基本的ながん看護を実践できるよう刺激」、「終末期がん患者のエンドオブライフケアの視点の意識づけ」、「雑多な病棟の中でがん看護を行うモチベーション作り」、「自信を持てるように安心感を保障」、「終末期看護の倫理観」、「情報共有する必要性の意識づけ」、「疼痛コントロールのゴールの共有」、「患者や家族に寄り添える医療接遇」、「時間外労働・過重労働にならないような労務管理」、「多職種・同職種間での円滑な仕事に向けた調整」、「地域に根ざした病院の使命の意識づけ」の 14 カテゴリが抽出された。これらの面接調査の結果と先行研究のレビューにより，尺度のアイテムプールを行う．今後は、調査対象者等に依頼しプレテストを実施し，チェックリストの項目の表面的妥当性，内容妥当性を検討する．

Ⅰ．はじめに

わが国では，諸外国に比べ，類を見ないスピードで高齢化が進んでいる.厚生労働省において 2025 年をめどに高齢をめどに高齢の尊厳の保持と自立生活の支援の目的のもとで、可能な限り住み慣れた地域で、自分らしい暮らしを最期まで続けることができるよう、地域の包括的な支援・サービス提供体制の構築が推進されている。平成 26 年度の診療報酬改善重点目標にも「在宅医療の充実及び在宅復帰率」が導入され､治療の場が外来へ移行し､入院患者は、地域で生活を営みながら通院するスタイルへ変更した。(厚生労働委員会調査室､2014) しかしながら、核家族化、高齢者の独居・高齢夫婦世帯の増加といった家族構成の変化も著しく、人口の減少や高齢化の進展状況には地域差がみられる。平成 30 年度の診療報酬改定では､「どこに住んでいても」「安定性・持続可能性のある」「質の高い緩和ケアを含むがん医療」といった方針が明示されたが、疾患を持つ高齢患者は、住み慣れた地域で暮らしつつも不安定な療養生活を行っている状況にある。

一方、平成 18 年がん対策基本法が成立されてから、各都道府県には、地域がん診療連携拠点病院、がん診療連携拠点病院、高度先進医療機関などが設置され、質の高いがん医療を目指して、各地域のがん医療を支えてきた。しかし、二次医療圏域を見渡すとがん医療の均てん化がなされているとはいいがたく（小西、2015）同一都道府県内においても、都市部と過疎地域では配置状況の偏在がみられる。その上で、がん医療体制は第七次医療計画において令和 2 年に医療計画の中間見直しがなされた。具体的には、これまでがん医療は、均てん化を目指し体制整備を行ってきたが、がん医療の高度化・複雑化を踏まえ、均てん化・集約化が必要な分野を検討し、整備する方針が明示された（国民衛生の動向 2020/2021)。しかし、これらの視点は、政策・医療実施主体の視座であり、患者・家族の視点とは異なり、ますます地域格差が開くことが予測される。高齢がん患者は、がん拠点病院で治療を終えた後、住み慣れた地域へ帰り、在宅療養において治療を継続する。その中で、医療者不在の在宅療養や通院への不安を述べている（Nagoshi、2016)。すなわち、医療計画と治療を受ける主体としてのがん患者・家族の地域で望む療養環境とはずれが生じる。高齢がん患者ががんと共存しつつ住み慣れた地域で生活する

ためには、地域住民が通いやすい頼れる病院、質の高いがん看護が受けられる病院が在住地域の近くに存在する必要がある。そして、穏やかに人生の最終段階を暮らす高齢がん患者・家族にとっては、通院する病院が変わってもがん看護の質は維持される必要（青木､2019）があり、高齢がん患者が増加している現在において切実な課題である。二次医療圏域の地域病院の看護師は、治療期のがん患者に関わる機会が少なく、治療・疼痛緩和・症状マネジメントへの困難感や医師や他職種チームとの実働において困難感を認識している（名越、2019）が、対象となるがん患者は高齢者が多く、治療期においても看取りの視点を持ち、緩和医療への関心の高さもうかがえた。

質の高いがん看護の実施には、看護師個人の努力だけではなく、病院の在り方および病棟の在り方が影響する。すなわち、がん医療及び看護に関するサービスの品質管理である。看護師の高齢がん患者・家族への支援状況に対する困難さを低減し､｢高齢がん患者・家族の悔いのない人生への支援」への意欲を維持するために、その就業環境・教育環境を管理者が整えることは喫緊の課題である。以上のことから、自らの組織の持続可能性な成長を志向するためには、第一線でがん医療及び看護サービスを提供するための管理をしている看護師長がどのようなパフォーマンスを行っているのかを明らかにする必要がある。直接看護師の支援・指導を行う病棟看護師長のパフォーマンスを明らかにすることにより、高齢がん患者・家族が住み慣れた地域で療養生活を送るための看護師の高齢がん患者・家族への支援状況・支援環境の改善への示唆を得ることができるとともに､｢看護師の将来ビジョン」(日本看護協会､2015)に向けた看護管理者の役割の拡充へ一助となると考える。

パフォーマンスは、行動の成果または行動の達成を示す（島、2000)。行動分析学を基盤にするとパフォーマンスは、先行条件・行動・結果から成り行随伴性であり、行動を強化する正の強化子を好子・負の強化子を嫌子と言う。パフォーマンスに関す先行研究を概観すると、看護教育の中で、学生の技術評価としてパフォーマンスは行動の型の意味合いで使用されている。看護実践では、看護介入のパフォーマンスとしてリーダーシップ(5 項目)、クリティカルケア(7 項目)、教育/コラボレーション(11 項目)、計画/評価(7 項目)、対人関係/コミュニケーション(12 項目)、専門開発(12 項目)の 6 因子の評価チェックリスト（Schwirian、1978）が作成されている。また、労働時間管理の性能性の意味合いで使用されている場合もありその定義は曖昧である。看護管理においては、ハイパフォーマンスとして､｢課題達成度や組織への貢献度、利用者の満足度まで高成果をあげる」という目標志向で使用されており、ハイパフォーマーな看護管理者の行動特性やそのスキルが明らかにされている（佐藤、2017)。ハイパフォーマーは｢コンピテンシー（成果を生む行動特性)」から派生した概念である。すなわち、パフォーマンスとコンピテンシーは類似の概念として使用されている。ハイパフォーマーな看護管理者が、コンピテンシーを活用した結果としてパフォーマンスとして具現化される。しかしながら、どのようなパフォーマンスとして具現化されるのかは､明らかになっていない。以上のことから、がん医療及び看護サービスを提供する看護師への教育・病棟管理をしている看護師長がどのようなパフォーマンスを行っているのかを明らかにする。

Ⅱ.研究の目的及び意義

研究目的：本研究の目的は，がん患者の療養支援に向けた中小規模病院の看護師長のパフォーマンスに関するチェックリストの開発とその関連要因を明らかにすることである.

研究の意義：直接看護師の支援・指導を行う病棟看護師長のパフォーマンスを明らかにすることにより、高齢がん患者・家族が住み慣れた地域で療養生活を送るための看護師の高齢がん患者・家族への支援状況・支援環境の改善への示唆を得ることができるとともに、看護師の将来ビジョンに向けた看護管理者の役割の拡充へ一助となると考える。

Ⅲ.方法

１．研究方法

①項目プールの作成

看護師長がスタッフに行うがん看護に関する行動に着目し、面接を行い内容の抽出を行った。

②研究対象者の選定方針

がん診療連携拠点病院の後方支援病院・地域がん診療病院及びがん診療連携推進病院の高齢がん患者が入院している病棟の看護師長。看護師長就任 1 年未満の病棟師長は除外した。

③研究データの収集方法及び手順

対象となる病院の看護部長に研究の依頼を行い、許可が得られた場合研究参加者となる看護師長を推薦してもらう。看護師長には、研究の目的、方法、参加・途中中断の自由、参加しない場合も不利益は生じないこと、インタビュー録音の可否、個人情報は遵守されること、結果の開示方法、データの保存について口頭と文書で説明ののち、文書で同意を得る。その後、半構造化面接をインタビューガイドに沿って、個室で実施する。面接内容は、IC レコーダーに録音し、逐語録に記載しデータとした。

⑤研究データの分析方法

研究データは、内容分析の手法でコード化、サブカテゴリ化、カテゴリ化し、アンケートの項目を抽出する。

２．項目プールの作成

試作版尺度の作成を行うにあたり，まず医学中央雑誌や PubMed などの電子データベースおよびハンドサーチにて，看護師長およびそれに関連する先行理論や先行研究を検索，収集して、パフォーマンスおよび類似概念のコンピテンシーに関連する尺度を国内外の先行研究より検索，収集し，整備された構成概念に基づき，項目プールとして選定を行った．パフォーマンス尺度はなかったため、現在は、項目プールを選定し,コンピテンシーの尺度だけでなく,その他の関連領域の尺度も幅広く検索し，必要に応じて項目内容をパフォーマンス尺度として適していると考えられる文言に修正、収集した質問項目の類似性などを考慮して，同一内容のものは統合，削除を行い，試作版尺度の項目プールの作成を行っている。

３．倫理的配慮

本研究は A 大学の倫理審査委員会の承認を受けて実施した。研究の趣旨、研究方法、主とする調査内容の説明を行う。また、研究協力は、強制ではなく自由意思であり、研究参加は拒否できる。研究を拒否することによる業務への不利益は全くないこと、研究参加者のデータは、記号により管理され所属施設や個人の特定はできないようにする。面接は、プライバシーの保持できる個室で行う。得られたデータの分析時、および結果を公表する際は匿名性を守り、得られたデータは、本研究の目的以外には使用しない。得られたデータを研究参加者所属の施設の職員などに口外しないことを口頭と文書で説明し、文書にて同意を得た。

Ⅳ.結果

１．面接調査の結果

研究参加者は、100 床から 300 床の 7 病院に所属する一般病棟師長 14 名。平均年齢は、52.5±6 歳、師長としての経験年数は、6.4±3.9 年であった。管理者研修はセカンドレベル 6 名、ファーストレベル 7 名が終了していた。また 1 名は緩和ケア認定看護師であった。

がん患者の療養支援に向けた病棟師長のスタッフに対するパフォーマンスは、「がん患者の医療依存度に合わせた入退院の調整」、「意思決定支援に必要な情報収集」、「限られた人材の中で公平に研修の機会を提供」、「基本的ながん看護を実践できるよう刺激」、「終末期がん患者のエンドオブライフケアの視点の意識づけ」、「雑多な病棟の中でがん看護を行うモチベーション作り」、「自信を持てるように安心感を保障」、「終末期看護の倫理観」、「情報共有する必要性の意識づけ」、「疼痛コントロールのゴールの共有」、「患者や家族に寄り添える医療接遇」、「時間外労働・過重労働にならないような労務管理」、「多職種・同職種間での円滑な仕事に向けた調整」、「地域に根ざした病院の使命の意識づけ」の 14 カテゴリが抽出された。

以下にサブカテゴリの一部を示す。＜忙しい看護師の代わりに患者家族の話聞くことを演示する＞、

＜患者の思いを確認し、不足部分について助言する＞、＜患者の思いを聞く時間をとるように促す＞、＜患者の療養生活にむけての意思を確認するよう助言する＞、＜患者の思いを大切にして話を聞くように意識づける＞、＜終末期患者と家族の個別性を理解するよう指導する＞＜俯瞰して患者全体を看るようにサポートする＞、＜面会制限の中でも終末期がん患者と家族の面会を実現できる機会を設ける＞、＜終末期がん患者と家族の不安と恐怖に寄り添うよう指導する＞、＜終末期看護のゴールをスタッフ同士共有するよう促す＞、＜終末期患者の状態の安定を目指す＞、＜終末期患者へのケアリングを促す＞、＜終末期の看護介入の優先順位を問いかける＞、＜がん患者の最期を引き受けられるように終末期看護の心構えを伝える＞、＜カンファレンスでリフレクションの機会を病棟単位で設ける＞、＜個別に看取りの看護を振りかえる機会を作る＞、＜患者の尊厳を守るよう倫理観を育成する＞、＜状況が変わっても患者の最善を考えるよう指導する＞、＜倫理的問題に対し整理するために臨床倫理の４分割法を活用する＞、＜がん看護に対する自己有用感を培う＞、＜病棟の中で終末期看護に対する達成感・成就感を育む＞、＜がん患者の病状の理解を促すように多方面からの視点を示す＞、＜がんの病態・治療に関する医療知識の学習を促す＞、＜がん患者の疼痛マネジメントができるよう学習を奨める＞、＜疾患・病期が混在していることの特徴に慣れるように工夫する＞、＜集団の中でがん看護に対する自分の意見が言えるようなモチベーションを育む＞、＜病院全体でがん患者を看るという意識づけを行う＞、＜麻薬使用のがん末期患者に対する緩和ケアの知識を増やす＞、＜患者の自己存在感を肯定する関わりをするよう指導する＞、＜患者にやさしく対応するよう伝える＞、＜家族の不安に対して不用意な態度･言葉遣いをしないよう指導する＞、＜患者・家族に思いやりを持ってかかわるよう指導する＞、＜がん末期患者の遺族への関心を持つよう指導する＞、病棟にいる受け持ち患者以外のがん患者の情報を得る工夫をするよう指導する＞、＜終末期のがん患者を引き受ける＞、＜地域の急変システムを活用し急変時のがん患者を受け入れる＞、＜地域病院としてがん患者の地域での療養を支援している＞、＜地域病院として住民の療養を支援している＞、＜地域の中での病院の位置づけを指導する＞等であった。

2．項目プールの結果

パフォーマンスはコンピテンシーの結果生じる事象である。そのため、前提となるコンピテンシーを選択した。現在はまだ抽出途中である。

①マネジメント能力（虎の門病院看護部、2013）

１）他の人たちに前向きな期待を示す。
２）他の人たちに問題点を指摘する。
３）他の人たちの能力や潜在的可能性に対して前向きに関わる。
４）具体的な支援助言をおこなう。
５）他の人との能力開発のために課題を与える。
６）理由と根拠を持った支持を与え、見本を示す。
７）他の人たちの能力開発のために多次元フードバックを行う
８）他の人たちが失敗したとき、安心感を与えるように関わる
９）人格を否定せず、行動に対してネガティブフィードバックを行う。
１０）他の人たちが自信を築けるような成功体験を積ませる。
１１）部下のコンピテンシーを評価し、得意な方法で業務を遂行できるように権限と責任を移譲する。

②育成力（武村，2014）

１）　長期的に部下がどのような能力を身につければよいかについて明確な到達イメージとキャリアパスを共有し、それに従った計画的な育成を行っている。
２）　部下がどのような能力を身につければよいか明確なイメージを共有し、段階的な学習の機会を提供しながら効果的にかかわり、フィードバックして育成している。
３）　部下に関心を寄せ、随時学習の機会を提供しながら効果的にかかわり、フィードバックする。
４）　部下に関心を寄せ随時学習の機会を提供

している。

Ⅴ．考察

面接の結果、病棟師長は、煩雑な業務の中でスタッフが前向きに自信を持ってがん看護の能力向上を目指せるよう機会を整えていた。さらに、「終末期がん患者のエンドオブライフケアの視点の意識づけ」、「終末期看護の倫理観」のようにがん看護の中でも終末期がん看護の視点を中心に教育内容が示された。地域にある中小規模病院の特性として高齢患者が多く、エンドオブライフケアを基盤とした学習ニーズがあると考える。そして、地域包括ケア病棟や療養病棟といった混合病棟の特性として様々な患者を受け入れている中で、専門的ながん看護から各疾患に共通する終末期看護への移行があると考える。このように病棟師長の教育は、がん治療期から緩和ケアを経て終末期に至るがん患者の経過に沿って幅広い視点て行われていることが明らかとなった。

また、地域の病院であることを第一義として、自施設や病棟の医療に関する限界を理解した上で、終末期がん患者と家族の療養生活の最期を看取るという「思いを引き受けること」が基盤にあると考える。さらに、地域病院では、がん患者が常時入院していない状況下で、がん治療・看護を円滑に行うために、医療者間の齟齬やスタッフのアセスメントへの危惧を払拭し自信を持って看護が行えるよう「整えること」が看護師長のパフォーマンスとして示された。そして、看護スタッフが多職種とのカンファレンスを通して看護の専門性を語ることは、自分自身の内省につながるため、行ってきた看護を振り返ることができ、がん看護の質向上に寄与すると考える。これらは、病棟管理の共通事項としての人材管理と、がんに特化したケアの質管理の２側面であると考える。以上のことから、地域に根ざした病院として住民に寄り添い続ける姿勢を持ち続け看護師のモチベーションを保つ必要性が示唆された。

次年度は、項目プールを精選し、チェックリストの質問項目原案を作成し、内容妥当性を確認後、構成概念の信頼性、妥当性の検証を行う。

引用文献

青木君恵、梅田君枝：がん診療の均てん化が進まない地域の診療報酬加算とがん看護の実態、千葉科学大学紀要　12、2019、237－244

金子さゆり，川﨑つま子，松浦正子他：看護管理者のキーコンピテンシー尺度の開発，日本看護科学学会誌，Vol40 ，484-494，2020.

公益社団法人日本看護協会：2025 年に向けた看護の挑戦：看護の将来ビジョン～いのち・暮らし・尊厳をまもり支える看護～P24，2015

厚生労働統計協会　国民衛生の動向・構成の指標 67 巻第 9 号　2020/2021、P186 、2020

小西敏子、丸口ミサエ：看護師からみた山間へき地の病院・診療所におけるがん患者の緩和ケアおよびがん性疼痛緩和の現状と課題―身体的苦痛の緩和に焦点を当ててー、独協医科大学看護学部紀要 Vol.9. 35－45. 2015.

Nagoshi Megumi, Kakeya Junko：The Experience of an Elderly Cancer Survivor Couple Undergoing Outpatient Chemotherapy、- CANCER NURSING, 2016

名越恵美、門倉康恵、津曲真弥：二次医療圏域の地域病院看護師のがん看護に関するニーズ、日本がん看護学会誌 33 巻 Suppl. 82、2019.

佐藤みつ子：ハイパフォーマーな看護管理者の行動特性と管理者研修、経営書院、東京都、11-22、2017

参議院事務局企画調整室編集；厚生労働委員会調査室　：医療提供体制及び介護保険制度の概要と論点―地域における医療及び介護の総合的な確保を推進するが目の関係法律の整備等に関する法律案―、立法と調査、No.351 、21-65、2014

Schwirian,P.M: Evaluating the performance of nurses: A multi-dimensional approach. Nursing Research, 27,347-351,1978

島宋理：パフォーマンス・マネジメント―問題解決のための行動分析学―，米田出版，千葉県，P7，2000

武村雪絵：看護管理に活かすコンピテンシー　成果につながる「看護管理力」の開発、メジカルフレンド社，東京，91-99，2014.

虎の門病院看護部編:看護管理者のコンピテンシー・モデル開発から運用まで，医学書院，東京，53-58，2013

仮想空間で身体性アバタを活用した看護コミュニケーション教育支援システム

岡山県立大学保健福祉学部看護学科

髙林範子

これまでリフレクション機能を付加した看護コミュニケーション教育支援システムを開発してきた．本研究では，リフレクション機能の充実を図るために，傾聴技術の振り返り機能として，新たに身体性アバタにアバタ影を重畳合成することで，うなずきなどの変化を捉えることができるシステムの開発を進めた．従来の看護システムでは影の投影や細かな調整を行うことが困難であり，操作が簡単な新たな開発ソフトを活用し，仮想の病室空間および看護実習生役と患者役の CG キャラクタとそれらの影を製作し，看護システムに実装させ，評価実験によりシステムの有効性を検証した．

１．はじめに

厚生労働省の「看護教育の内容と方法に関する検討会」の報告書(2011)では，看護師に求められる実践能力を育成するための教育方法として学内でのモデル人形を用いたシミュレーション等を行うことが提言されている．また，シミュレーターを活用する学習は，技術の獲得においては効果的であるが，コミュニケーション能力を伸ばすには限界があるとして，模擬患者 (Simulated Patient，以下 SP とする) を利用するなどでコミュニケーション能力を補完する教育方法を組み合わせる必要が提言されている．そのための教育方法として，学生同士あるいは教員とのロールプレイングおよび SP を活用したシミュレーション教育，コンピュータ画面上で指示された設問に答えることで，実際の患者とのコミュニケーションを疑似体験できる CAI (Computer Assisted Instruction)教材を活用した言語的応答力を育成する対話型シミュレーターを活用した教育などがあり，コロナ禍での対面による授業や演習，臨地での実習が制限される中，シミュレーション教育の充実が求められている．著者らはこれまで看護教育現場でのコミュニケーション教育の支援を行うため，リフレクション機能を付加した看護コミュニケーション教育支援システムを開発し，評価実験によりその有効性を示してきた[1)]．本研究では，さらに学習効果を高めるために，看護に必要な傾聴技術としてうなずきや相槌などの気づきを促すための傾聴技術の振り返り機能の開発を進めた．

２．システム概要

傾聴技術の振り返り機能として，新たに身体性アバタにアバタ影を重畳合成することで，うなずきや相づちの変化を捉えることができるシステムの開発を進める．アバタ影システム[2)]は，アバタの影が対話者の語りかけに対し反応することにより，自己アバタの身体動作と対話者の身体動作の間に矛盾を生じさせずにその反応を想起させ，アバタの影を操作することで自己アバタとアバタ影間に矛盾を生じさせて，対比的に身体動作を観察しながら対話を行うことができる．アバタ影は，自己アバタ同様に対話者に取り付けた磁気センサにより得られた位置および角度情報を基に生成された自己アバタに同期した動作に加え，対話者の発話音声に基づいてうなずきによる引き込み反応を重畳合成した動作を行う．

従来のシステム開発環境は DirectX のプラットフォームを用いていたが，アバタオブジェクトと影の表現の多様化，複雑化の実現に関する課題が発生したため，操作が簡単な新たな開発ソフトを活用し，仮想の病室空間および看護実習生役と患者役の CG キャラクタとそれらの影を製作した．製作に使用したソフトは，３D モデル製作にはメタセコイア 4，VRoid Studio，Blender，テクスチャー製作には CLIP

STUDIO を活用した．環境構築には Unity を用いた．また，本システムではモーショントラッキングに無線の磁気センサである VIVE トラッカーを使用し，ヘッドセットに装着することでロールプレイ中の拘束感を軽減した．さらに，リフレクション時は通常の影と身体引き込み動作を重畳合成した影の切り替えを可能とした．製作した仮想病室空間に，アバタ影システムを実装させ，新たな看護コミュニケーション教育支援システムのプロトタイプを作成した（図１）.本システムの使用画面一覧を示す(図２)．患者視点，看護実習生視点，３人称視点 a，３人称視点 b があり，３人称視点 a では患者の後方から俯瞰しており，３人称視点 b では看護実習生の後方から俯瞰している．両モードとも任意に４つの視点に切り替えることを可能にした．



図１新たな看護コミュニケーション教育支援システム



図２視点切り替え使用画面一覧

３．評価実験

３－１.研究方法

実験協力者は A 大学看護学科 3 年生以上の学生 9 名と模擬患者の女性 1 名であった．看護学生と模擬患者のロールプレイングによるコミュニケーション実験を行った．A：セッション直後，B：通常動作のリフレクション直後，C:患者の音声に基づき自動生成されたアバタ影の同時提示のリフレクション直後の 3 場面を用意し，各終了直後，看護学生にはシステム評価に関するアンケートに回答させた．自由記述欄にシステムを使用しての気づきや感想を記入させた．分析は 3 場面の評価点の差を比較検討し，Wilcoxon 符号順位検定を行った．有意水準は 5%とした．自由記述については，それぞれの内容の類似性を考慮しカテゴリ別に分類した．倫理的配慮は，事前に実験協力者に目的・方法を口頭と文章で説明し，文章による同意を得た．岡山県立大学倫理委員会の承認を得て実施した(受付 NO20-71)．

３－２．結果・考察

システムに関する７段階評価結果を図３に示す．

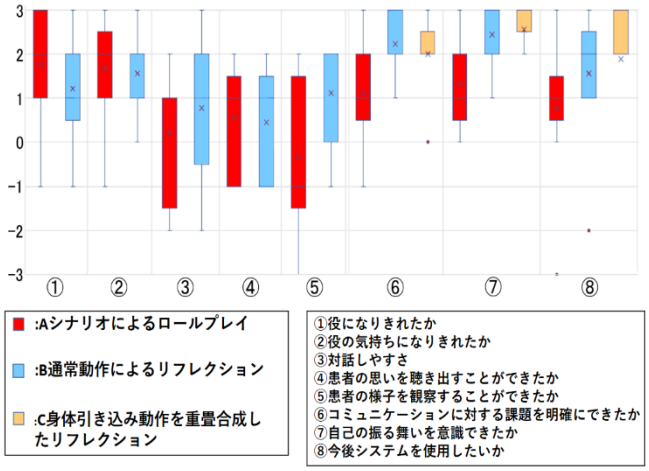


図３　７段階評価結果

検定した結果，A と B の間において，「コミュニケーションに対する課題を明確にできたか」，「自己の振る舞いを意識できたか」の項目で有意差が認められ，B が高く評価された．この結果は先行研究[1)]と同様の結果であった．A と C の間においては，「自己の振る舞いを意識できたか」の項目で有意差が認められ，「コミュニケーションに対する課題を明確にで

きたか」の項目について有意水準10%で有意傾向が認められ，Cが高く評価された．BとCの間では有意差は認められなかった．C の場面でのアバタ影と自己の動きを比較して気づいたこととして，「自分の動きよりアバタ影の方が，うなずきが多かったので，自分のうなずきは足りていなかったことに気づいた」，「アバタ影ではゆっくり動いていたが，自分は少し焦っている感じが伝わるような気がした」といった，システムを介して自己のうなずきの様子を振り返ることができ課題発見につながった等の意見がみられた．Aのセッション直後とB・Cのリフレクション直後での有意差が認められたことは，リフレクション機能としての有効性は示されたといえる．BとCの間で有意差が認められなかったのは，どちらも最高得点を付けている学生が多かったためであり，患者の音声に基づき自動生成されたアバタ影の同時提示は，学生の身体動作の理解を促すと期待できる．

４．結論

本研究では，看護コミュニケーション教育をより効果的に支援するために，リフレクション内で看護者アバタの影に対して身体引き込み動作を重畳合成する機能を開発した．システムを用いた評価実験の結果，自身の振る舞いについて理解を促すことが示唆された．看護コミュニケーション教育において，本システムを用いたロールプレイとリフレクションによる学習理解は，更に看護実践能力を向上させる一助になると期待される．

謝辞

本研究を遂行するにあたり，公益財団法人ウエスコ学術振興財団による研究助成を賜りましたことを，深く感謝申し上げます．

参考文献

1)高林，石井，渡辺：リフレクション機能を付加した看護コミュニケーション教育支援システム，人間工学(2017)．
2)石井，江崎，渡辺：アバタを介したコミュニケーションを支援する身体的引き込みアバタ影システム，ヒューマンインタフェース学会論文誌(2016)．

血小板型 12-リポキシゲナーゼの NASH 進展における肝線維化に及ぼす影響

岡山県立大学保健福祉学部栄養学科

戸田圭祐

12*S*-リポキシゲナーゼ（LOX)はアラキドン酸などの不飽和脂肪酸に酸素を添加して過酸化脂質を生成する酵素である。12*S*-LOX 生成物が非アルコール性脂肪性肝炎（NASH)に関与するという報告がされているが、詳細なメカニズムは明らかにされていない。これまでに我々は、メチオニン・コリン欠乏（MCD)食投与により作製した NASH モデルマウスの肝において血小板型 12*S*-LOX が上昇すること、この酵素が肝線維化において中心的な役割を果たす肝星細胞に局在することを明らかにしてきた。本研究では NASH 進行の過程で本酵素が線維化にどのように関わるか解明することを目的とした。血小板型 12*S*-LOX ノックアウトマウスと野生型マウスに MCD 食を 8 週間給餌したマウスの肝臓の線維化レベルをシリウスレッド染色によって比較したところ、野生型マウスに比べ、血小板型 12*S*-LOX ノックアウトマウスでシリウスレッド陽性の面積率は有意に上昇し、線維化が進行している様子が観察された。さらに血小板型 12*S*-LOX を安定的に過剰発現させたヒト肝星細胞株の TWNT-1 細胞では *COL1A1*、*COL1A2* の発現が野生型 TWNT-1 細胞より有意に低下していた。以上のことから、NASH 進行過程において血小板型 12*S*-LOX は線維化を抑制する方向に働くことが示された。

1．はじめに

非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）とは著しいアルコールの摂取がないにも関わらずアルコール性肝炎類似の肝組織所見を呈する疾患である。進行すると肝炎により肝細胞が傷害され、肝臓の線維化を引き起こし、肝硬変や肝臓癌に至る可能性がある。NASH の主な原因は、生活習慣病による肝臓への脂肪蓄積とそこから生じる脂肪毒性が引き起こす炎症と線維化があげられるが、発症・進展のメカニズムは未だに十分に解明されておらず、有効な治療薬も発見されていない。

12*S*-リポキシゲナーゼ(LOX)は不飽和脂肪酸のアラキドン酸に酸素を添加し、過酸化脂質の 12-ヒドロペルオキシ酸を生成する酵素で、血小板型、白血球型､皮膚型の 3 つのアイソザイムが知られている。12*S*-LOX がアラキドン酸と反応すると 12*S*-hydroperoxyeicosatetraenoic acid (HpETE)が生成され、その後内在性のグルタチオンペルオキシダーゼ等によって 12*S*-hydroxyeicosatetraenoic acid (HETE)へ還元される。12*S*-HpETE および 12*S*-HETE は炎症促進作用を有するが、これまでの国内外の研究で、NASH モデルマウスにおいて血清中の 12*S*-HETE の有意な増加が報告されている [1]。

我々はこれまでの研究において、正常のマウス肝臓ではほとんど検出されない 12*S*-LOX の酵素活性が、メチオニン・コリン欠乏（MCD）食投与により作製した NASH モデルマウス肝臓において検出できるレベルまで上昇すること、免疫沈降によりその活性は血小板型 12*S*-LOX 由来であること、さらに本酵素は肝線維化において中心的な役割を担う肝星細胞に発現しており、NASH 進展における肝星細胞の活性化と筋線維芽細胞への分化に伴って、その発現レベルが上昇することを明らかにした [2]。そこで本研究は、血小板型 12*S*-LOX が NASH における肝線維化にどのように関わるかを明らかにすることを目的とした。

2．実験方法

（1）動物実験

すべての動物実験は岡山県立大学動物実験指針に基づいて実施した。マウスは C57BL/6J マウスと血小板型 12*S*-LOX ノックアウトマウス（B6.129S2-Alox12tm1Fun/J)を使用した。8 週齢の雄マウスに、MCD 食を摂取させる群と普通固形飼料を摂取させる群に分け 8 週間飼育した。飼育期間中は、自由食餌および自由飲水とした。

（2）病理・組織化学解析

マウス肝臓を 4%パラホルムアルデヒドで固定した後、パラフィン切片を作製した。線維化の程度を評価するためにシリウスレッド染色を行い、染色後、オールインワン蛍光顕微鏡 BZ-X810 (keyence)で観察・撮影し、Hybrid Cell Count (keyence)を用いて全染色面積とシリウスレッド陽性面積を計測し数値化した。

（3）ヒト血小板型 12*S*-LOX 過剰発現 TWNT-1 細胞株の作製

ヒト肝星細胞株 TWNT-1 (野生型 TWNT-1 細胞)はダルベッコ改変イーグル培地 (DMEM) (SIGMA-ALDRICH)に 10%ウシ胎児血清 (FBS)、抗生物質(ペニシリン 100 U/mL およびストレプトマイシン 100 μg/mL)、300 mM グルタミン、100 mM ピルビン酸、100 mM チアミンを加えたものを基本培地として、5%CO_2存在下で 37°C、100%水蒸気中で培養した。

ヒト血小板型 12*S*-LOX 遺伝子 (Alox12)の cDNA を pCXN2 に挿入した、pCXN2-Alox12 を作製した。ヒト肝星細胞株 TWNT-1 へのトランスフェクションは Lipofectamine2000 を用い、DMEM に 10% FBS、1.5 mg/mL G418 を加えた培地で選択し、活性の異なるヒト血小板型 12*S*-LOX 過剰発現 TWNT-1 細胞 clone①と clone②を単離した。空の pCXN2 ベクターについても同様にトランスフェクションと G418 による選択後の単離を行い、Mock 細胞とした。

（4）酵素活性測定

回収した細胞を超音波破砕した後、超遠心機で 100,000×*g*、4°C、1 時間で超遠心分離を行い、上清のサイトゾル画分を得た。このサイトゾル画分を酵素源として、25 μM アラキドン酸と 37°Cで 30 分反応させた。その後、還元型グルタチオンとグルタチオンペルオキシダーゼの存在下で 37°Cでさらに 20 分反応させ、不安定な生成物である 12-HpETE から比較的安定な 12-HETE への還元を行った。塩酸を加え酵素反応を止めた後、内部標準として 15*S*-ヒドロキシエイコサジエン酸(HEDE)を加え、ジエチルエーテルで反応生成物を抽出し、逆相高速液体クロマトグラフィーを用いて分析した。高速液体クロマトグラフィーは、カラムとして 4.6×250 mm COSMOSIL (5C18-MS- II、nacalai)、移動相としてメタノール：水：酢酸＝80：20：0.01 (v/v)、流速 1 ml/min により分離し、235 nm の吸光度を連続的に追跡し、内部標準の面積と比較することにより 12*S*-HETE 生成量を求めた。

（5）遺伝子発現解析

培養細胞から TRI Reagent (COSMO BIO)を用いて total RNA を抽出した。その後、High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied biosystems)を用いて、リアルタイム PCR 法により、遺伝子発現解析を行った。反応および解析は、Step One Plus Real Time PCR SYSTEM（ライフテクノロジーズジャパン）を用いて行った。

（6）統計分析

データは複数の実験の平均±SD として表した。多重比較では Tukey-Kramer 法、または Dunnett 法を用いて検定し P 値が 0.05 または 0.01 以下であった場合を有意差ありとした。

3．結果

MCD 食を給餌した野生型マウスと血小板型 12*S*-LOX ノックアウトマウスから得られた肝臓切片のシリウスレッド染色を行った結果、普通食を給餌した野生型、12*S*-LOX ノックアウトマウスのいずれに

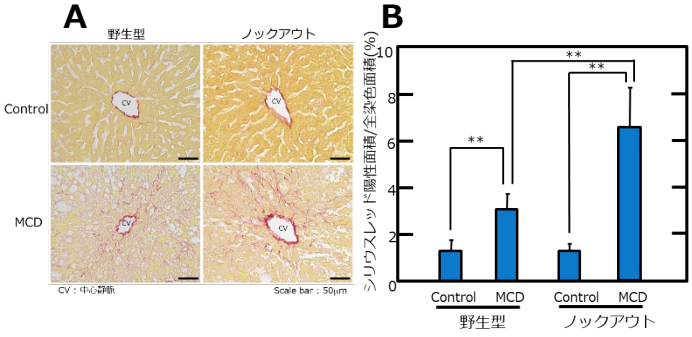


図 1　血小板型 12*S*-LOX ノックアウトマウスによる肝線維化の進行

おいても、中心静脈を構成するコラーゲンのみが赤色に染色され、肝臓実質部分は黄色に染色された。一方、MCD 食を給餌した野生型ならびに 12*S*-LOX ノックアウトマウスではいずれも肝実質部分の一部が線維化したことにより赤く染色された。また、12*S*-LOX ノックアウトマウスでは野生型に比べてより広い面積が赤色に染色され、血小板型 12*S*-LOX ノックアウトによって線維化がより進行していることが示唆された（図 1A)。

以上の結果を定量化するために、シリウスレッド陽性面積/シリウスレッド染色の全染色面積に 100 を乗じて算出した面積率を調べたところ、野生型マウスならびにノックアウトマウスで、普通食を給餌したマウスと比較して MCD 食を給餌したマウスで有意に上昇していた。また、MCD 食を給餌したノックアウトマウスは MCD 食を給餌した野生型マウスよりシリウスレッド陽性の面積率は有意に上昇した(図 1B)。

次に、血小板型 12*S*-LOX が肝線維化の抑制に働くメカニズムを解明する目的で、ヒト肝星細胞株 TWNT-1 細胞を用いてヒト血小板型 12*S*-LOX 過剰発現細胞を作製した。ヒト血小板 12*S*-LOX 発現ベクターを野生型 TWNT-1 細胞に導入し、G418 によるセレクション後、本酵素を安定的に過剰発現する clone①と clone②を得た。同様に空のベクターを野生型 TWNT-1 細胞に導入し、Mock 細胞を得た。表 1 に示す通り、細胞から調製したサイトゾルにおける 12*S*-LOX 酵素の比活性は、clone①が 22.1 nmol/mg/30min であり、clone②が 45.2 nmol/mg/30min であった。Mock 細胞では 12*S*-LOX 活性はほとんど検出されなかった。

表 1　ヒト血小板型 12*S*-LOX 過剰発現 TWNT-1 細胞株(12*S*-LOX(+))と Mock 細胞から調整したサイトゾルの 12*S*-LOX 活性

		比活性 (nmol/mg/30min)
12S-LOX(+)	clone①	22.1
	clone②	45.2
Mock細胞		ND

野生型 TWNT-1 細胞、Mock 細胞、血小板型 12*S*-LOX 過剰発現細胞 clone①と clone②から抽出した total RNA を用いて、*COL1A1* と *COL1A2* の発現量をリアルタイム PCR で測定したところ、血小板型 12*S*-LOX 過剰発現細胞では、野生型 TWNT-1 細胞と比べて発現量が有意に低下していた。一方、Mock 細胞では野生型 TWNT-1 細胞と比べて有意な差は見られなかった（図 2)。

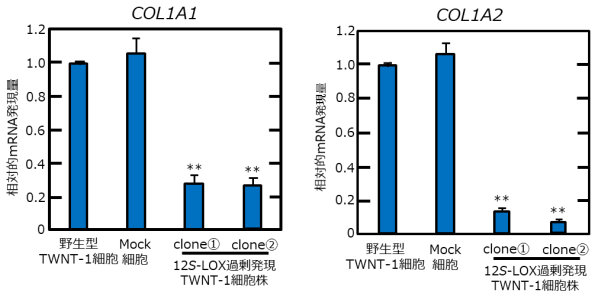


図 2　ヒト血小板型 12*S*-LOX 過剰発現 TWNT-1 細胞株における *COL1A1*、*COL1A2* の発現量の変化

4．考察

今回の研究では、NASH 病態モデルとして MCD 食給餌マウスを用いた。本モデルでは、MCD 食によりメチル基が不足し、肝臓でのホスファチジルコリンの合成ができず、肝臓からのリポタンパク質の分泌不全によって肝臓に脂肪が蓄積し、ひいては線維化へと進行することが知られている [3]。

我々の研究室では MCD 食を給餌したマウスにおける血小板型 12*S*-LOX の活性と発現の上昇ならびに肝星細胞への局在を見出した [2]。肝星細胞が肝線維化において中心的役割を果たすことから、本研究では血小板型 12*S*-LOX が NASH における線維化の進行に及ぼす影響について調べることを目的として研究を行った。

当初、12-LOX は炎症促進作用をもつ生成物を産生することから線維化促進に働くと予想したが、予想外にも血小板型 12*S*-LOX ノックアウトマウスを用いた MCD 給餌マウスで線維化の増悪化が確認された。さらに血小板型 12*S*-LOX 過剰発現 TWNT-1 細胞を用いた実験においても、血小板型 12*S*-LOX の過剰発現によってⅠ型コラーゲン遺伝子の mRNA 発現が顕著に低下したことからも本酵素が線維化抑

制に働くことが明らかとなった。

LOX はアラキドン酸や DHA、EPA から炎症収束に作用する炎症収束性脂質メディエーター（SPMs）を生成することから、SPMs によって線維化を抑えている可能性が考えられる。マレシン 1（MaR1）は DHA から 12*S*-LOX を介して生成される一方、その他の SPMs の生成には 12*S*-LOX だけでなくその他の LOX を必要とする。野生型 TWNT-1 細胞では 5*S*-LOX 活性は極めて低いレベルでしか検出されなかったことからプロテクチンやレゾルビン、リポキシンなどが生成される可能性は低いと予想される。MaR1 は高脂肪食誘導性 NASH モデルマウスにおいて NASH の進行を抑制すること [4,5] や、TGF-β1 によるヒト肺線維芽細胞の増殖、遊走、α-SMA と I 型コラーゲン発現の増加が MaR1 の処理によって抑制されることが報告されている [6]。しかし、本研究における線維化の抑制が MaR1 によるものか、また血小板型 12*S*-LOX によるコラーゲン遺伝子発現低下の詳細なメカニズムについては、今後さらなる検討が必要である。

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。

参考文献

1. Tanaka, N., Matsubara, T., Krausz, K. W., Patterson, A. D. & Gonzalez, F. J. Disruption of phospholipid and bile acid homeostasis in mice with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* **56**, 118–129 (2012).
2. Mori, Y. *et al.* Arachidonate 12*S*-lipoxygenase of platelet-type in hepatic stellate cells of methionine and choline-deficient diet-fed mice. *J. Biochem.* **168**, 455–463 (2020).
3. Corbin, K. D. & Zeisel, S. H. Choline Metabolism Provides Novel Insights into Non-alcoholic Fatty Liver Disease and its Progression. *Curr. Opin. Gastroenterol.* **28**, 159 (2012).
4. Han, Y. H. *et al.* A maresin 1/RORα/12-lipoxygenase autoregulatory circuit prevents inflammation and progression of nonalcoholic steatohepatitis. *J. Clin. Invest.* **129**, 1684–1698 (2019).
5. Jung, T. W., Kim, H. C., El-Aty, A. M. A. & Jeong, J. H. Maresin 1 attenuates NAFLD by suppression of endoplasmic reticulum stress via AMPK-SERCA2b pathway. *J. Biol. Chem.* **293**, 3981–3988 (2018).
6. Sun, Q., Wu, Y., Zhao, F. & Wang, J. Maresin 1 inhibits transforming growth factor-β1-induced proliferation, migration and differentiation in human lung fibroblasts. *Mol. Med. Rep.* **16**, 1523–1529 (2017).

人とロボットの瞬時接触動作が生み出す身体的インタラクション特性の解析

岡山県立大学　情報工学部　人間情報工学科

太田　俊介

（概要）

将来，ロボットと人間が共同生活する場では，ロボットが人間に接触しなければならない場面が存在しており，ロボットが起こす動作によって人間がどのように感じ，どのような動作特性を好むかについて明らかにする必要がある．先行研究では接触動作と非接触動作で人間が好む動作特性が異なることが示されており．その移り変わりにおける動作特性の変化については明らかにされていない．そこで，本研究では，動作の移り変わりとしてハイタッチの動作特性を明らかにするため，ロボットに動作を生成させる際の基準となるハイタッチ動作モデルの提案を行う．本年度は人間同士がハイタッチする際の振りかぶり動作時間における肘関節の動作に着目した解析を行った．得られたハイタッチする瞬間の手首速度と肩関節角度の解析から，回帰動作時間の肩関節角度については躍度最小モデルによって再現可能であることがしされた．さらに．肩関節角度の解析から動作が２パターンあることが示唆された．また，120㎝-強いハイタッチの条件が特異な動作をしていることが確認された.

1. はじめに

近年，人間とロボットが共同で生活するが期待されており，将来的には医療介護や生活支援など人間をサポートするロボットの活用が望まれている[1][2]．このようなロボットと人間が共存する場では，ロボットが人間と接触しなければならない場面が少なからず存在する．人間がロボットとの心地よい共同生活を行うためには，人間に不信感を与えないためにも，ロボットが起こす動作によって人間がどのように感じ，どのような動作特性を好むのか明らかにする必要がある．特に挨拶等の動作は，コミュニケーションの始まりを円滑にするものであり，その動作特性を明らかにするには重要である．そのため本研究室では，ロボットが行う挨拶動作の中でも，挙手といった非接触動作や，握手といった接触動作では人間がどのような動作特性を好むのか，どのように感じるかについて研究が行われている[3][4][5]．これらの先行研究では，非接触動作では音声挨拶を先に行い，手部動作が後に行うことが好まれたのに対し，接触動作では手部動作を先に行い，音声挨拶を後に行うことが好まれたことが示されている．しかし，非接触動作と接触動作の人間に好まれる動作特性の移り変わりはどこなのか，その移り変わりの最中の動作ではどのような動作特性が好まれるかについては明らかになっていない．非接触動作と接触動作の移り変わり時の境界付近における動作特性を解明することで，接触，非接触の動作特性についてより詳細に解明することが期待される．

一方，接触動作と非接触動作の中間的動作である瞬間的接触動作としてハイタッチが挙げられる．ハイタッチに関する研究は，動作に制限を設けた際のハイタッチにおける心理的変化についての研究[6]等は行われているが，ハイタッチ動作やその動作が人に与える影響について取り扱っているものは非常に少ない．そのため本研究では，非接触動作と接触動作の移り変わりとして，ハイタッチについて取り扱い，ロボットにハイタッチ動作を生成させ，人間に好まれる動作特性を明らかにすることを目的とする．ロボットにハイタッチ動作を生成させる方法の一つに，複数の人間が実際に行った動作をもとに一般化したハイタッチ動作モデルの使用が挙げられる．人間は挨拶のタイミングや接触時の強さといった条件を細かく変更することは困難である．しかし，この動作モデルを用いることで他の条件を固定したまま，細かい動作の変更が可能になり，人間が好む動作特性についてより詳細に解明することが期待され

る．そこで本研究では，ロボットにハイタッチ動作を生成させるために，ロボットの動作の基準となるハイタッチ動作モデルの提案を行う．まず人間同士がハイタッチをする際の振り上げ動作時間における肘関節角度に着目した解析を行い．向かい合う距離や強さなどの条件を変化させた際に動作の差から，動作に影響を与えている条件について検討を行った[7]．その後，ハイタッチする瞬間の手首速度と肩関節角度に着目した解析を行い，動作特性について，検討している．

2. ハイタッチ動作計測実験

ロボットに動作を生成させるための基準となるハイタッチ動作モデルを開発するため，まず人間同士のハイタッチ動作の計測実験を行った．

2.1 計測実験

本実験では，挨拶の有無，接触の強さ，向かい合う距離の 3 要素を変動させる計測実験を行った．挨拶については，挨拶ありの場合は要求側の被験者が自由なタイミングで”よろしく”と挨拶する．一方挨拶なしの場合，要求側，応答側ともに発声をしないと定めた．接触については，何も意識せずにハイタッチを行った場合を「普通」，「普通」よりも強く行った場合を「強い」，「普通」よりも弱く行った場合を「弱い」として被験者の思う強さでハイタッチをするよう，条件を定めた．向かい合う距離については，山梨医大のパーソナル・スペースの形態に関する考察[8]を基準に，向かい合う距離をお互いのくるぶしを基準に 80cm，100cm，120cm に設定をした．これらの条件に加えて，ハイタッチの要求側，応答側を入れ替えて計測を行った．被験者は 20～22 才の健常な学生の男性 26 名，女性 4 名，計 30 名，15 ペアである．

2.2 計測システム

本計測では 9 軸慣性センサ（IMU-Z2，ZMP 社製）を用いてサンプリング周波数 50Hz で計測を行った．センサの取り付け位置を図 1 に示す．一方の被験者には，頭・胸・腰・左右の肩・右上腕・右前腕・右手甲に取り付ける．もう一方の被験者には先述の 8 箇所に加え，計測システム内のモデルを区別するために左上腕にセンサを取り付ける．前者のシステム内モデルをモデル 1，後者をモデル 2 として区別する．計測システムでは被験者に取り付けた各部位のセンサから得られる加速度，角速度，地磁気から，物体の回転を表すクォータニオンを算出する．さらに，各部位のクォータニオンから，モデル 1 の腰を原点とした座標と関節の回転を表すクォータニオンを算出し，システム内のモデルに動作を反映する．計測開始と同時にセンサのデータ取得と撮影を開始する．計測風景を図 2 に，動作が反映されたモデルの様子およびシステムで定義した直交座標系(X-Y-Z) を図 3 に示す．

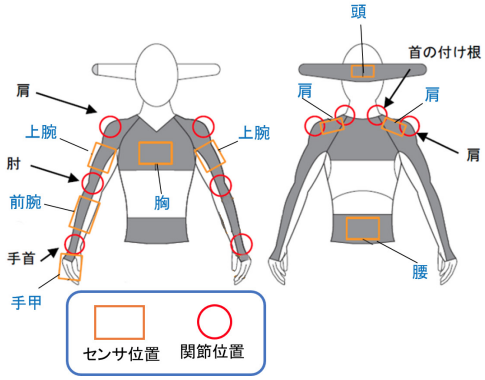


図 1　センサ取り付け位置



図 2　計測風景

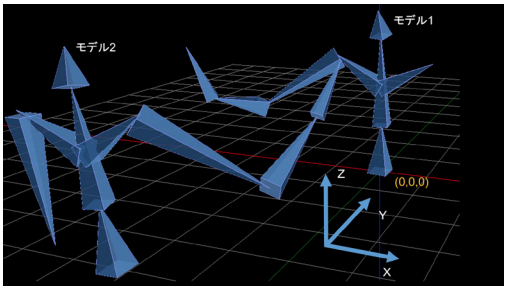


図 3　システム内のモデルの様子

2.3 計測手順

まず，2 名の被験者の決められた位置にセンサを取り付ける．8 つのセンサを取り付けた被験者が要

求動作，9 つのセンサを取り付けた被験者が応答動作を行う．屋内で両被験者のくるぶしを基準に距離を空け向かい合う．向かい合う際に右手を前に伸ばし，ハイタッチができる位置に移動する．両被験者が直立で静止した状態から計測を開始し，計測者の合図で要求側の被験者がハイタッチ動作を開始する．被験者が動作終了後に直立に戻ったところで計測を終了する．各条件につき 10 回ずつ計測し，その後，要求側と応答側を入れ替え，同様に計測した．

3.肘関節角度，角速度の解析

3.1 肘関節角度，角速度の算出

各モデルの肩の座標から肘の座標までと肘の座標から手首の座標までを 3 次元ベクトルとして扱い，ベクトルのなす角から肘の関節角度を算出した．算出に利用したモデル上の座標と概要を図 4 示す．また算出した関節角度を微分することで肘関節の角速度を算出した．肘の関節角度のグラフの一例を図 5 に，肘関節角速度の一例を図 6 示す．

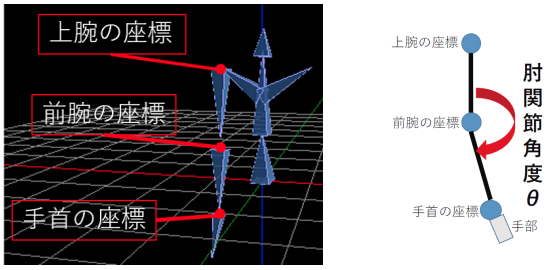


図 4　モデル上の座標と算出概要

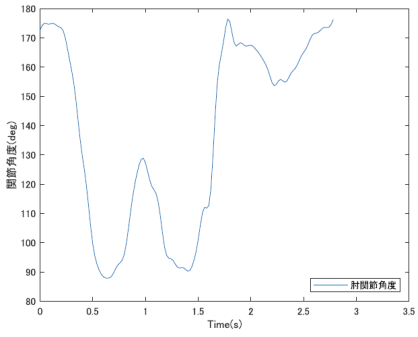


図 5　肘の関節角度の一例

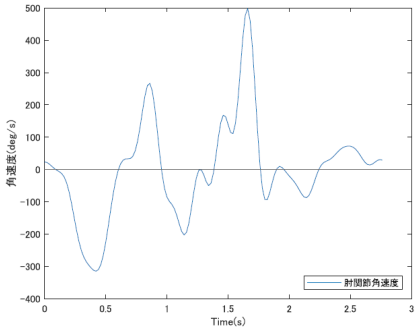


図 6　肘の関節角速度の一例

3.2 肘関節角速度波形に関する解析

要求動作における肘関節角速度波形の一例を図 7 に示す．動作開始から最大屈曲点の角速度波形は釣り鐘型をしており，多くのデータは先行研究で有効性の示されている躍度最小モデル [3][4] を用いて生成した波形と類似している．

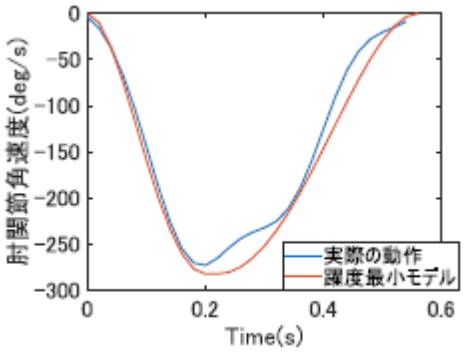


図 7　躍度最小モデルと計測波形の比較

躍度最小モデルは，開始角度r_0，終端角度r_f，動作時間T_fから釣り鐘型の速度パターンを生成する．躍度最小モデルにおける時刻tでの角速度は以下の式(1)，(2)で求められる．

$$V_{max} = \frac{15}{8T_f}(r_f - r_0) \qquad (1)$$

$$\mathrm{V}(t) = V_{max}\frac{16}{{T_f}^4}\left(t^4 - 2T_f t^3 + {T_f}^2 t^2\right) \qquad (2)$$

しかし，躍度最小モデルで生成される速度パターンは左右対称の釣り鐘型となることから，速度がピークに達するまでの時間（速度ピーク時間）を調整することができない．そこで，2 つの動作時間の異なる躍度最小モデルを結合することで任意の位置に速度のピークを有する釣り鐘型速度パターンの生成が可能である[3]．目標とする釣り鐘型速度パターンの動作時間と速度ピーク位置をそれぞれT_{max}，P と

し，ピーク位置P を動作時間を 1 として正規化した値とするとき，動作時間T_fをそれぞれ$2 \cdot T_{max} \cdot P$と$2 \cdot T_{max} \cdot (1-P)$とした躍度最小モデルを求め，2 つの躍度最小モデルを結合することにより，速度ピークがPとなる釣り鐘型速度パターンが生成できる．

そこで，各計測データにおける躍度最小モデルの生成に必要な変数である開始角度，最大屈曲時角度，振りかぶり動作時間，速度ピーク位置，最大角速度の解析を行った．

3.3 肘関節角速度波形に関する解析結果

開始角度，終端角度，動作時間，ピーク位置，最大角速度について，全条件において解析を行った．それぞれの結果の分布を図 8～図 12 に示す．また，表 1 に図中凡例の詳細を示す，

表 1　凡例の詳細

要求動作の順番	距離	強さ	条件名
先	80	強い	80A
		普通	80B
		弱い	80C
	100	強い	100A
		普通	100B
		弱い	100C
	120	強い	120A
		普通	120B
		弱い	120C
後	80	強い	80D
		普通	80E
		弱い	80F
	100	強い	100D
		普通	100E
		弱い	100F
	120	強い	120D
		普通	120E
		弱い	120F

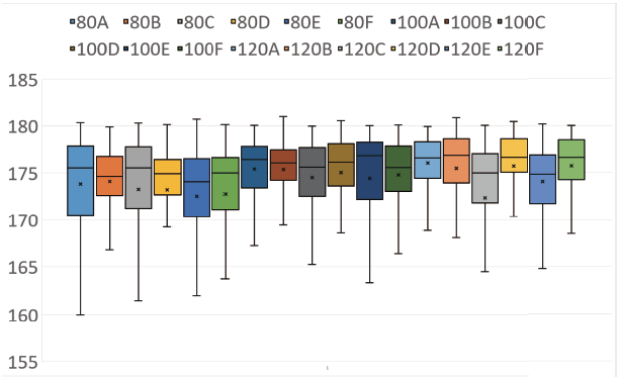


図 8　開始角度

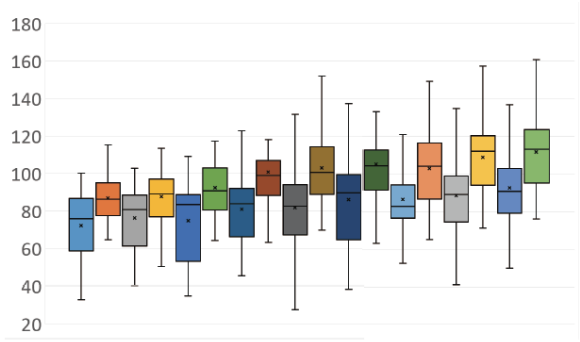


図 9　最大屈曲角度

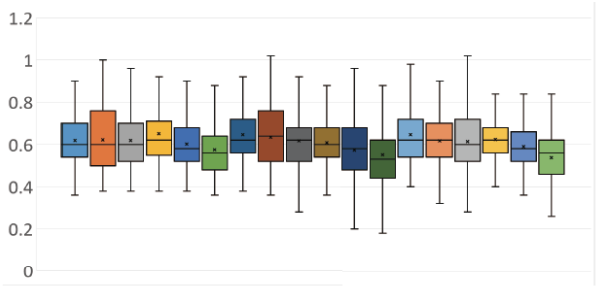


図 10　振りかぶり動作時間

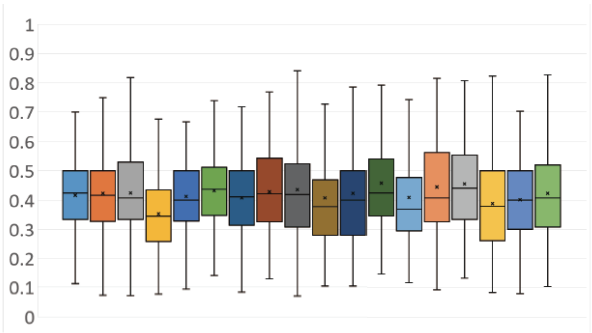


図 11　ピーク位置

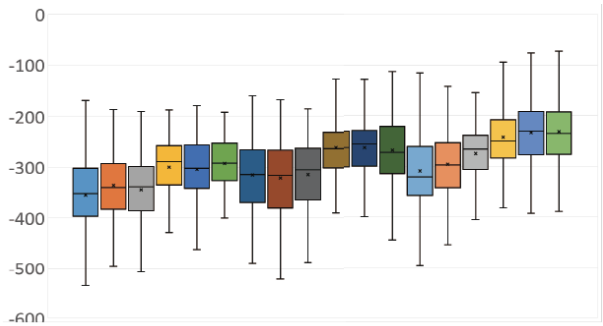


図 12　最大角速度

3.4 影響を与える条件についての検討

解析の結果，開始角度，動作時間，ピーク位置の 3 項目は強さ，距離のどちらからも大きな影響は見られず，四分位範囲は表 2 に示すようになった．また，最大角速度，最大屈曲角度については，要求動

作を先に行った被験者と後に行った被験者に分けた場合において，傾向に違いが見られた．それぞれのグループに分けた結果を図 13 に示す．この結果から，どちらのグループにおいても最大角速度は距離が大きいほど小さい値をとり，最大屈曲角度は距離が大きいほど，肘の曲げが小さいことが示された．さらに最大屈曲角度は，強さによって値の範囲に違いが見られることが示された．

表 2　変化が小さい項目の範囲

	第一 四分位数	第三 四分位数
開始角度［deg］	170.4	178.6
動作時間［s］	0.44	0.76
ピーク位置	0.26	0.54

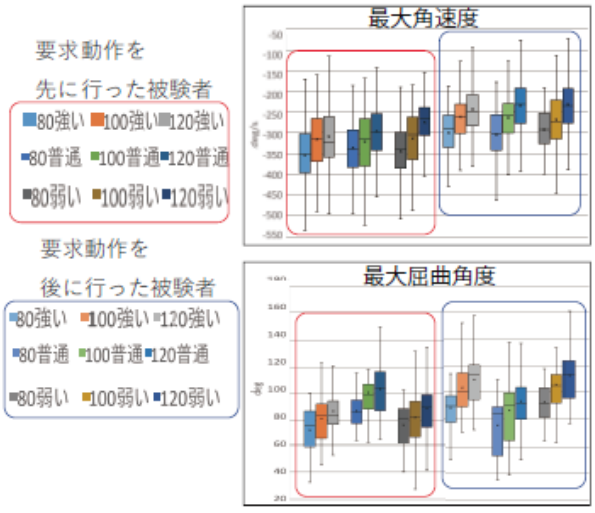


図 13　最大角速度と最大屈曲角度における実験順序による違い

4. 手首速度と肩関節角度の解析

手首速度と肩関節角度の検定

手首速度と肩関節角度について算出した結果についてペアごとに多重検定を行った．表 3 に全検定のうち有意差が認められた検定の割合を示す．ペア 1，2 のように肩関節角度よりも手首速度で有意差が認められる傾向にあるペア(以下，手先型ペア) と，ペア 3～5 のように手首速度よりも肩関節角度で有意差が認められる傾向にあるペア(以下，肩型ペア) が存在することが確認された．

表 3　有意差が出た割合

ペア	手首速度［%］	肩関節速度［%］
A	33	11
B	36	17
C	19	56
D	19	42
E	6	39

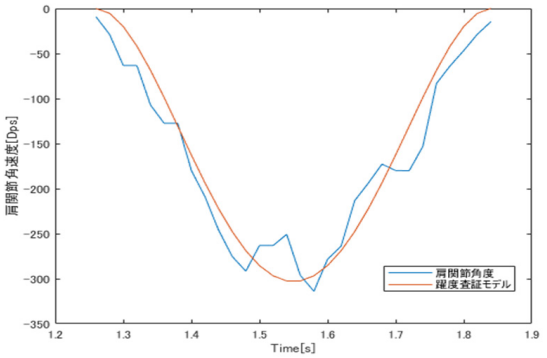


図 14　回帰動作時における肩関節角速度

モデル化への検討

手先型ペアでは，条件の違いによる肩関節角度への影響が小さいと考えられる．そこで，手先型ペアを用いて肩に関するモデルを検討する．回帰動作時における肩関節角速度波形の一例を図 14 に青線で示す．このように角速度波形が釣り鐘型をしているため，先行研究[4] で用いられた躍度最小モデルの適用可能性について検討する．躍度最小モデルで生成された速度パターンを図 14 に橙線で示す．2 つの波形は類似していることから，躍度最小モデルは回帰時における肩関節角速度に適用可能であることが示唆された．

肩型ペアのそれぞれに行った多重検定で，有意差が認められた検定は合計で 16 条件間であった．そのうち，14 条件間に「120cm で強いハイタッチ」が含まれていた．そこで肩型ペアにおいて，これを特異条件とし，それ以外の条件と分類し，手先型も含めた手首速度の平均と標準偏差を以下の表 4 に示す．特異条件では特異条件以外の肩型ペアと手先型ペアの平均と比べて結果が異なった．よって，肩型ペアにおいて「120cm で強いハイタッチ」では手首速度が速くなることが示唆された．

表 4　速度の平均と標準偏差

ペア	肩型ペア		手先型ペア
条件	特異条件以外	特異条件	全体
AVG [m/s]	0.55	0.90	0.51
SD [m/s]	0.39	0.46	0.18

5. 結論

本研究ではロボットにハイタッチ動作を生成させるモデルを開発するための基礎検討として，人間同士のハイタッチ動作を計測し，ハイタッチ要求動作の肘関節に着目した関節角度，角速度についての解析を行った．解析の結果，先行研究で示されていた躍度最小モデルのハイタッチ動作への利用可能性について検討し，ハイタッチ要求動作における肘関節の最大角度，最大角速度，最大屈曲までの時間，速度ピーク位置，動作開始時の関節角度の分布を解析した．また，振りかぶり動作時間における肘関節速度パターンは躍度最小モデルを使い，生成することができることを示した．また，最大角速度と最大屈曲角度は，ハイタッチを行う距離に影響を受けることが示された．

また，手首速度と肩関節角度について検討した．その結果，回帰動作時における肩関節角速度に躍度最小モデルが適用できることが示され，また，肩型ペアにおける手首速度は 120㎝ で強いハイタッチに特徴があることが示唆された．

今後の課題として，振りかぶり動作時間における肘関節，肩以外の動作について解析を行い，ハイタッチ動作モデルの開発，および動作を生成するハイタッチロボットを開発し、モデルを適用して動作を生成させることで有効性を確認していく予定である．

参考文献

[1] 久場景太郎, 山野辺夏樹, 原辰徳, 新井民夫, ユーザの満足度を考慮した「手渡し」サービスを実現する生活支援ロボットのための作業指示システムの構築, 精密工学会学術講演会講演論文集, 2010, 2010S 巻.

[2] 楊光, 王碩玉, 瀋博, 榎勇人, 石田健司, 和食一男, 溝渕宣誠, 猪野真吾, 生活支援ロボット～基本構造、運動制御、対象物認識, バイオメディカル・ファジィ・システム学会大会講演論文集, 2018, 31 巻, 31.

[3] Shunsuke Ota, Mitsuru Jindai, Toshiyuki Yasuda and Yoshihiro Sejima, Development of a Hand-up Request Motion Model Based on Analysis of Hand-up Motion between Humans, Proc. of the Second IEEE International Conference on Robotic Computing (IRC2018).

[4] 太田俊介，神代充，山内仁，渡辺富夫，接近を伴う握手要求動作を生成する握手ロボットシステム，日本機械学会論文集，Vol.81, No.825，2015.

[5] 神田崇行，今井　倫太，小野　哲雄，石黒　浩，人-ロボット相互作用における身体動作の解析，情報処理学会論文誌，2003,Vol.44,No.11.

[6] 今井聖也, 斎藤瑶平, 羽田久一, 制限の有無によるハイタッチにおける心理変化の考察, 画像電子学会研究会講演予稿, 2018, 17.04 巻.

[7] 太田俊介，滝聖子，神代充，佐藤洋一郎，ハイタッチロボットのためのハイタッチ動作モデルの開発，日本機械学会 2022 年度年次大会論文集, 2022, J151-08.

[8] 渋谷昌三，パーソナル・スペースの形態に関する一考察，山梨医大紀要，1985.2 巻 Vol.81，No.825，pp.1-13，2015.

ゲーム AI の深層強化学習の研究

岡山県立大学

芝　世弐

近年ゲーム AI の分野は目覚ましい発展を遂げている．本研究では深層学習モデルを強化学習の分野に取り入れた最もホットな分野である深層強化学習に関する取り組みである．2022 年度は主に将棋を題材とした成果が得られている．大きな話題としては将棋の名人戦主催社である朝日新聞社および毎日新聞社の中継において従来プロ棋士が行っていた局面評価や読み筋などに加え我々の AI のデータを表示するようになった点である．もはや一部のプロ棋士のみならず中継メディアの信頼を勝ち得たといえる．

また，ここ数年最高精度を誇る局面評価関数は更なる精度向上を達成しており，第 31 回世界コンピュータ将棋選手権準優勝，第 3 回電竜戦本戦 B 級優勝，マイナビ杯ハードウェア統一戦準優勝などコンペティションの場においても好成績を修めた．加えて現モデルを将棋倶楽部 24 という対人戦サーバに投入したところ一手の探索もなく最高レート 2949，八段認定（プロ棋士級）という評価になった．もちろん前例のない偉業である．

１．はじめに

昨今人工知能分野とりわけゲーム AI の分野の発展は目覚ましい．Google 傘下の DeepMind 社による AlphaZero においては囲碁で培ったアルゴリズムを将棋やチェスに発展させており，膨大な計算機を利用しトッププレイヤーを圧倒することに成功している．更なる応用として AlphaFold においてはタンパク質構造の推定精度を飛躍的に向上させ創薬の分野に多大な影響を及ぼしている．また計算機アルゴリズムや半導体設計といった AI 自身の強化に繋がる応用分野でも成果が出ている辺りは本分野の恐ろしい加速感を伺わせる．

我々は 2017 年から将棋の分野に挑戦しているが，上記のような膨大な計算能力を保有していないため手持ちの資源で対応可能な問題に小分けにすることで次々に解決している．2018 年には持ち時間の配分問題に前例のない発想を持ち込み第 28 回世界コンピュータ将棋選手権（以下 WCSC）優勝となり，後に CSA 貢献賞の受賞理由となった．

2019 年においては Kristallweizen と命名した深層学習モデルが第 29 回 WCSC 準優勝となったがこれをネット上で公開したため，プロアマ問わずダウンロードし幅広く利用されるに至った．もちろん当時最高精度として評価されたわけである．利用者数は群を抜いており，多くの利用者には「白ビール」の愛称で知られている．2023 年現在日本将棋連盟モバイルおよび朝日新聞社・毎日新聞社などで用いられている局面評価関数および読み筋は本モデルによるものである．

以上の将棋 AI はアルファベータ探索をベースとし，ゲーム木構造を非常に大きく展開したものにより局面評価を行うものである．アルファベータ探索自体は 1950 年代の第一次人工知能ブームの賜物であるから古典的 AI に分類されることが多い．もちろん Kristallweizen 自体はこの探索アルゴリズムに加え局面の深層学習を行ったものである．比べて AlphaZero 型の探索モデルは 2006 年 Remi らによるモンテカルロ木探索をベースとする．こちらのモデルにおいては深層学習モデルより局面評価のみならず分岐の重みを出力する点が新しい．つまり，深層学習モデルに対して局面情報を入力とし出力に局面評価と指し手予測の二つを得るものである．我々の深層学習モデルは白ビールを継ぐ者として「二番絞り」と命名した．

２．二番絞り

二番絞りは電竜戦と共に生まれた．電竜戦は 2020 年の WCSC が中止となって同日オンライン大会が開催されたのをきっかけに，オンラインなら手軽に開催

できるのではないかと比較的気軽に始まった新しい大会である．二番絞りは電竜戦第一回予行演習においてテストプログラムの一つとして作成した．同年5 月の選手権に向けて準備された強化学習モデルの副産物である数十億局面の教師データを深層学習モデルに学習させた．AlphaZero に倣い 20 ブロック256 チャンネルの ResNet 構造を用いた．

その後，我々の教師データより良いと思われるAobaZero の教師データが当時公開されており，その1474 万棋譜全て追加学習させた上，約 1 億局面分のAlphaZero 型自己強化学習を計 2 回行っている．これが 2020 年の電竜戦モデルである．決勝では停電の影響で予選時の設備が利用できなかったが，予選では当時の dlshogi を凌駕する性能を見せており製作者の期待を上回った．[4]

WCSC31 の開催時期では NVIDIA の新しい GPU であるA100 がクラウド提供されており探索性能の拡大が期待された．Remi ら一部の開発者には 20 ブロックのニューラルネットワークでは小さ過ぎて A100 の性能を生かすことができないと言われるに至った．我々は 40 ブロックへの移行を試み，20 ブロックモデルで生成した教師データ約 10 億局面を引き継ぐことで実際に高性能なモデルの学習に成功した．加えて 40 ブロックにおいて約 4 億局面分の AlphaZero型自己強化学習を計 2 回行っている．このモデルは秒 11 局面程度の探索速度で floodgate レート 3300付近を記録した．[5]

また，40 ブロックと大きなモデルを用いることによりA100 を 16 基搭載されたマシンにおいても探索速度はほぼ線形に推移することを確認している．

WCSC32 においては WCSC31 モデルをベースに強化学習を試行錯誤したが大幅な棋力向上を計測することが出来なかった．元々純粋な強化学習であることを放棄し，手段を選ばずに強いモデルを生成することを目指す基本方針であったため 2021 年末に出版された「強い将棋ソフトの創りかた」[8] において配布された教師データを流用することを試みた．結果的には棋力計測後これを持って WCSC32 モデルとした．

３．棋力計測

WCSC32 前に作成された深層学習モデルは複数バージョン存在しており，各バージョン間の対戦勝率を持って有力候補とした．その後，数個の有力候補を floodgate でレーティング計測することにより代表するモデルを最終決定した．

WCSC32 前には十分な検証期間がなかったため事後検証となったが一般的な RTX3060 搭載ノート PC で floodgate レート 4000 を大幅に超えるなど以前のモデルより大幅に強化されていることが確認された．

また，一手の探索も無く入力局面をニューラルネットで評価した方策出力のみで対戦した場合も floodgate でレーティング計測が可能となった．以前はほぼ勝つことができなかったため有用と思える数値評価できなかったレベルであるので，これは飛躍的な進歩といえる．具体的にはレート 2300 程度であり，これは 15 年前のトップレート付近，言い換えるとアマチュア高段者クラスの棋力となる．また，Yss1000k 相手に 3 割強の勝率を得た．Yss1000k は2015 年の WCSC で決勝入りしている YSS を探索ノード制限したものであると製作者のコメントを得ている．探索が全く行われていないことを考えると人智の外の大局観とも言える．

また，本モデルを一般の将棋プレイヤーの集う将棋倶楽部 24 に席主の許可を得て投入したところ，最高レート 2949，八段認定（プロ棋士級）という成績を得た．AI 同士の対戦ではアルファベータ探索モデルの方が終盤が強いとされているため上記の計測が過小評価されていることが分かる．対人戦においては一手の探索もなくプロ級である．実際のプロ棋士が対局されたらしいとの噂もあるが名誉のためにここでは結果を伏せておく．

この探索無しでの対戦でもっとも大きなパートを占めるのが詰みの場面である．以前の研究では将棋の深層学習モデルでは詰みが扱えず詰将棋で有用性を示せないなどや，対戦時の最終盤で詰みを読めずに逆転をされるなど弱点とされていた．今回のモデルにおいては革新的な結果が得られているので一例を示す．

図 1 は floodgate 上の対局で 13 手詰め局面から最短 13 手で実際に詰めた局面である．敵玉の上部を完全に制圧した形であるため勝ちを認識するのは容易であるが，最短で詰めることが出来たのは快挙である．[9]

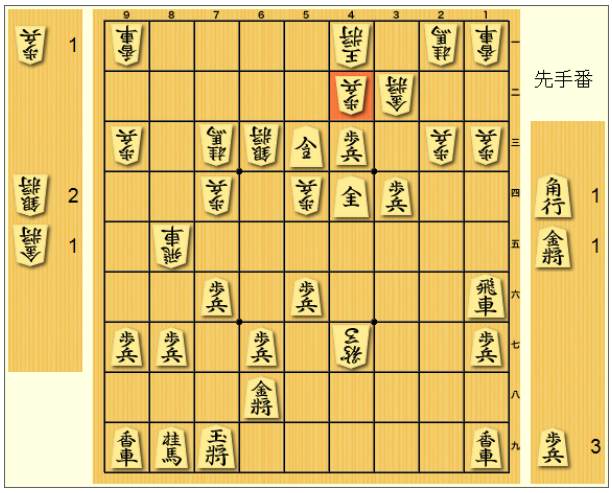


図 1　先手番 13 手詰め局面

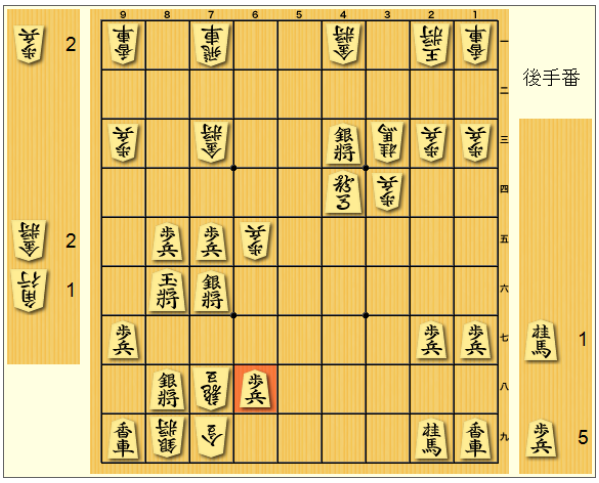


図 2　後手番 5 手詰め局面

次に，図 2 も注目すべき詰み局面である．後手番で 5 手詰めであるが，初手が 9 五金とただで捨てる手から始まる．捨て駒をせずとも完勝の局面であるが，この金捨てで即詰みにするのが最も適切である．探索なくこの即詰みを行うことができるのは過去にない精度の深層学習モデルと考える．

以上のように探索無しの二番絞りが詰み局面まで滞りなく指し切る棋譜は多く生成された．しかしながら，全ての詰み局面を読み切ったわけではなく詰みや必至の局面で無駄な手を指すようなことも見られた．勝敗に影響が無いため特に問題が無いとも言える．また，今回は探索が無いため何手詰めという概念すら AI 側には無いことも特徴である．つまり，このモデルのままさらに長手数の詰みを生成する可能性もあると言える．

4．詰み性能計測

前節の結果を踏まえ深層学習モデルが詰み局面をとらえられているかどうかの計測を行った．計測には詰み局面集[11]から同一シードのランダムサンプリングで 1000 局面を選び正確に詰ませられるかどうかで行った．対戦相手には Kristallweizen を用いた．比較対象には AobaZero の AlphaZero 追試最終モデルである w3459 および公開されている dlshogi の最新モデルである第 2 回世界将棋 AI 電竜戦エキシビジョンバージョンを用いた．計測の便宜上，詰み局面から 20 手以上続いた場合は詰めきれなかったとして扱う．また，無駄合いの定義等により設定手数より短手数のものも僅かながら存在することを確認している．偶数手数で終了しているものは逆に詰まされているものである．

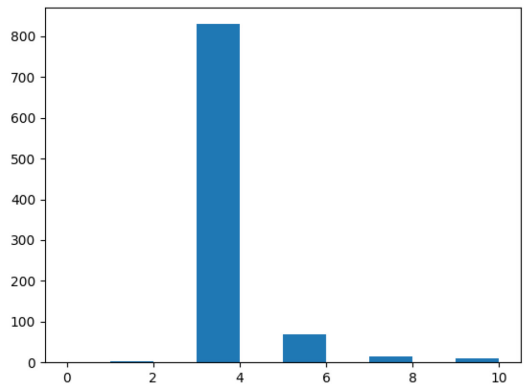


図 3　二番絞り 2022 三手詰め局面の手数分布

図 3 に 2022 年の二番絞りの三手詰め局面からの手数分布を示す．83%の局面において三手で詰ませていることが分かる．20 手未満で勝利する割合は 95%であった．

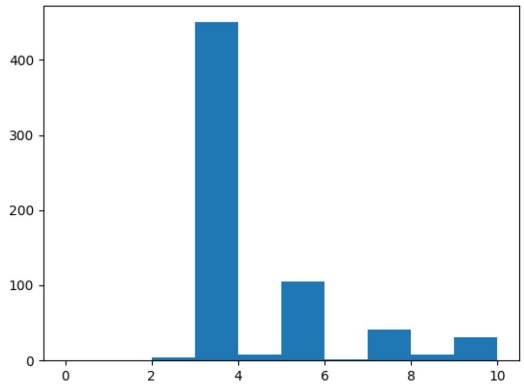


図４　AobaZero 三手詰め局面の手数分布

図４に AobaZero の三手詰め局面からの手数分布を示す．45%の局面において三手で詰ませている．20 手未満での勝利割合は 71%であった．偶数手で終了する局面も約 5%存在した．他のモデルではこのような負け局面は 1,2%程度であるため少々最終盤に甘いモデルと言える．

以上のような手続きで詰ませられた割合を表１に示す．最も三手詰め局面を三手で詰ませられないのは dlshogi となったが，これは恐らく ResNet15 ブロックと最も小さなニューラルネットワークで表現力に劣るためと思われる．対局時のレーティングの高さから比べると意外であるがニューラルネットワークの大きさが詰み局面では大きく影響すると推察される．

表１　詰み対局割合

	2022	2021	2020	DL	Aoba
三手	83.0	81.8	74.7	41.4	45.0
20 未満	95.0	93.0	91.1	74.7	71.0

左から３つが三世代の二番絞りであるが新しいモデルが優秀であることが分かる．特に 40 ブロックのニューラルネットワークを採用した左の二つは秀逸である．しかしながら，2020 年モデルは 20 ブロックの ResNet と AobaZero と同じサイズでありながら圧倒的な詰み性能を誇る．終盤力の差が定量化されたと考えてよいだろうか．

最後に 2022 年モデルの二番絞りの長手数の詰み性能を表２に示す．三手詰めは既出であるが，五手詰め局面も 6 割近く最短で詰めていることが分かる．七手詰めから急激に最短で詰められる割合が落ちるが，十一手詰め局面でも 16%程度は詰めている．20 手未満の勝利条件であれば大きく割合が増えるため恐らく勝勢時に甘い手が出て手数が伸びる傾向にあることが推察される．

表２　二番絞り 2022 の長手数詰み対局割合

	三手	五手	七手	九手	十一手
最短	83.0	59.4	31.6	21.4	16.5
20 未満	95.0	83.3	67.1	53.8	40.5

５．おわりに

二番絞りプロジェクトという将棋の深層学習モデルを生成するプロジェクトを進めて２年強になる．今年度生成されたモデルは従来言われていた詰み局面での弱点を大幅に克服し最大 13 手詰めまで実戦で確認した．また，捨て駒の手筋も理解していると考えられる棋譜も生成した．

また，ニューラルネットワークの大きさが詰み局面の特徴量を捉えるために必要ではないかと示唆される複数の結果を得た．

学習プロセスだけで一か月単位と非常に計算コストがかかるテーマであるが，今後も可能な限り比較実験を交えて深層学習モデルの差異を明らかにしていきたいと考えている．

参考文献

[1] David Silver et al. “Mastering Chess and Shogi by Self-Play with a General Reinforcement Learning Algorithm”, https://arxiv.org/abs/1712.01815

[2] R´emi Coulom. “Efficient selectivity and backup operators in monte-carlo tree search”. In International conference on computers and games, pp. 72-83. Springer, 2006.

[3] dlshogi, https://github.com/TadaoYamaoka/DeepLearningShogi

[4] 芝, “将棋の PV-MCTS に向けた深層学習モデルの最適化”, 2021-GI-45

[5] 芝, “探索アルゴリズムに適した時間利用に関する研究”, 2021-GI-46

[6] 千葉ら,” 強化学習を用いて人間の直感を再現した詰将棋解答 AI の作成”, GPW2018

[7] 芝,” コンピュータ将棋の新棋戦「電竜戦」について”, 2022-GI-GI48

[8] 山岡, 加納, ”強い将棋ソフトの創りかた”, マイナビ出版

[9] nibanshibori_1p vs. coduck_pi2_600MHz_1c (2022-07-22 19:30), http://wdoor.c.u-tokyo.ac.jp/shogi/view/2022/07/22/wdoor+floodgate-300-10F+nibanshibori_1p+coduck_pi2_600MHz_1c+20220722193005.csa

[10] coduck_pi2_600MHz_1c vs. nibanshibori_1p (2022-07-23 17:30), http://wdoor.c.u-tokyo.ac.jp/shogi/view/2022/07/23/wdoor+floodgate-300-10F+coduck_pi2_600MHz_1c+nibanshibori_1p+20220723173007.csa

[11] やねうら王公式からクリスマスプレゼントに詰将棋 500 万問を謹呈, https://yaneuraou.yaneu.com/2020/12/25/christmas-present/

[12] AobaZero, http://www.yss-aya.com/aobazero/index.html

マスク着用下における様々な条件での歩行が歩容および注意に及ぼす影響

岡山県立大学　情報工学部　人間情報工学科

大下　和茂

本研究は，不織布マスク着用の歩行時における計算課題の付加が，歩行パターン，呼吸困難感および計算成績に及ぼす影響を検討した．健康成人男性21名を対象に，マスク着用・非着用条件で時速4.0 kmおよび6.0 kmの歩行をトレッドミルで実施し，スマートフォンを用いた2桁の加算計算をできるだけ早く，かつ正確に回答する課題も加えた．マスク着用は歩行時の心拍数および歩調や下肢関節角度に有意な影響を与えなかったが，息苦しさと主観的運動強度を有意に増加させた．歩行中の計算課題について，回答数にマスク着用の有意な効果は認められなかったが，正答率は歩行速度の増加やマスク着用により有意に減少した．これらの結果は，歩行中のマスク着用は，生理反応や歩行パターンに影響を及ぼさないとしても，息苦しさを増大させ，認知・精神的要求の遂行を低下させる可能性を示している．日常生活での移動は単なる歩行だけでなく，衝突・転倒回避．道順の検討および会話など，様々な認知的・精神的要求を伴う場合が多いため，日常生活でのマスク着用はこれらの要求の遂行に与える影響を考慮するべきかも知れない．

1 はじめに

マスクの着用は，感染症予防などの衛生面，粉塵や花粉などのアレルゲン対策といった様々な場面で重要である．しかし，マスク着用は息苦しさや呼吸困難感[1]，熱変化（マスク内の皮膚温度の上昇，暑さの自覚など）[2-4]，頭痛[5,6]，皮膚反応（ニキビやかゆみなど）[7]と言った弊害も報告されている．このうち呼吸困難や息苦しさは，呼吸抵抗の増加[1,8,9]やマスク内での呼気二酸化炭素の再吸収[9]，マスクの種類によっては死腔の増加[8,10]によって起こると考えられている．そのため，呼吸パターンが変化する運動時では，運動の種類や着用状況により，安静時とは異なるマスク着用の影響が現れるかもしれない．この点について，マスク着用による運動の影響を調べた最近のReviewでは，健常成人における歩行など低強度運動中の一般的なマスクの着用（特殊な呼吸器や完全に鼻と口の周辺を覆うマスクを除く[12-14]）は主観的な息苦しさを増加させるが，呼吸パターンを除く生理的反応や運動能力には大きな影響を及ぼさないと報告している[9-12]．すなわち，日常の歩行など低強度の活動では，生理反応への影響は小さいとしても息苦しさが増すことを示している．

日常生活における歩行は，道路状況を把握して転倒を防ぐ，人や物の動きや位置を把握して衝突を避ける，目的地までのルートを考える，他者との会話など，運動に加えて様々な認知・精神的要求が実行される．このような運動時の認知的・精神的要求の実行は，デュアルタスクまたはマルチタスクと呼ばれる．単なる認知・作業課題の遂行では長時間のマスク着用の影響が懸念されている[5,15,16]．すなわち，マスク内での呼気二酸化炭素(CO_2)の再吸入により，混乱や認知機能低下などに繋がる可能性が指摘される[16]．さらに，マスク内でのCO_2再吸入は，換気量を増加させ，息苦しさの増大にも繋がる[8]．このような，息苦しさと認知機能の相互作用の観点から，実験的に呼吸困難を増加させると認知機能低下に繋がる可能性も示されている[17]．そのため，マルチタスク時のマスク着用は，運動能力に影響を及ぼさなかったとしても，CO_2再吸入や息苦しさにより，認知・精神的要求の遂行に影響を及ぼす可能性が考えられる．

そこで本研究は，マスク着用での歩行時に計算課題を実施することが，歩行パターン，息苦しさ，計算能力に及ぼす影響について検討した．

2 方法

2.1 対象者

対象者は大学または大学院で情報工学を専攻する健常男性21名（年齢22±1歳、身長1.74±0.06 m，

体重 70.0±15.2 kg）であった．研究対象者は男性のみであったが，運動時のマスク着用による生理的反応に性差を認める根拠はないとされている[9]．

対象者には実験参加に先立ち，研究の目的を説明し，実験参加に対する同意を得た．なお，本研究は，岡山県立大学 倫理委員会の承認を経て実施された（No.21-59）．

2.2 歩行課題および計算課題

参加者は，10 分間の座位安静の後，トレッドミル（Tempo T82，Johnson Health Tech）に立ち，計算課題を 2 回実施した．その後，トレッドミル上で 3 分間の通常速度（時速 4.0 km）の歩行を 2 回，次いで 3 分間の速歩（時速 6.0 km）の歩行を 2 回実施した．各速度における 2 回の歩行について，1 回目は歩行のみ（Gait-task）を，2 回目は歩行に加え計算課題（Gait+Cal-task）を，それぞれ実施した．計 4 回の歩行間には，トレッドミル上で 1 分間の立位休憩を設けた．そして，これらの実験は，次の 2 条件で実施した．1）座位安静・休憩時間を含め，実験中はマスクを着用しない条件，2）座位安静から実験終了まで，不織布製の使い捨てマスク（Fitty 7DAYS マスク EX， 玉川衛材㈱）を着用する条件．各条件は，1～7 日（平均 3±1 日）の間隔を空け別日にランダムな順序で実施した．

計算課題は，スマートフォン（AQUOS sense，シャープ㈱，144.0×72.0×8.6 mm）を用いて 2 桁の足し算を 1 分間実施した．対象者は任意の方法でスマートフォン保持し（利き手または両手），画面に表示された 2 桁の足し算を，タッチ入力でできるだけ早くかつ正確に回答するよう要求した．計算課題は，一度に 1 つの問題を表示し，回答が入力されると次の問題が表示されるようプログラムされた．Gait+Cal-task の計算課題は，歩行の開始 30 秒後に 2 回連続して実施した．なお，実験前に，参加者はトレッドミル歩行や計算課題の練習時間を設けた．

2.3 計測項目

対象者の心拍数(HR)はハートレートモニター(FT7，Polar Electro，Inc.）により測定した．参加者は安静座位の前に電極ベルトを装着し，HR は安静座位の最後の 1 分間と各歩行の終了直前 10 秒間の平均値を記録した．また，運動強度指標として，歩行時の HR は予備 HR（%HRR）も評価した．

主観的評価として，運動強度は Borg スケールを用いた主観的運動強度（RPE）を，息苦しさは視覚的アナログ尺度（VAS）を用いた．息苦しさの VAS は，アメリカ胸部学会のコンセンサス声明でも用いられている[19]，「全く息苦しくない」（0cm）から「想像しうる最もひどい息苦しさ」（10cm）の範囲とした[18]．主観的評価は，各歩行終了後の休憩時に測定した．

歩行パターン指標は，デジタルビデオカメラ（GZ-E109、JVC ケンウッド）と動作解析ソフトウェア Kinovea（ver.0.9.4）および赤外線照明付カメラ（1728×1200 ピクセル）とモーションキャプチャソフトウェア（MApro，ver.1.0.1）（㈱ヒューテック）からなる 3 次元動作解析システムにより解析した．デジタルビデオカメラは対象者の斜め前方に，赤外線照明付カメラは対象者の肩峰，大転子，膝外側関節線，外側踝，踵骨および第三中足趾節関節取り付けた反射マーカーが確実に捉えられるよう対象者の周囲に 6 台設置した．Gait-task の中間 30 秒，および Gait+Cal-task における計算中の中間 30 秒を，それぞれ解析対象とした．デジタルビデオカメラからは歩調を，3 次元動作解析システムからは股関節角度（垂直線と大腿（大転子と膝の軸）の角度），膝関節角度（大腿と下腿（膝と外側踝の軸の角度），および足関節角度（膝，外側踝，第三中足趾節関節のなす角度）をそれぞれ評価した．なお，Gait+Cal-task における 2 回の計算課題中の測定項目は，計算課題で正答率の高かった課題中のものを採用した．

歩行および計算課題に伴う近赤外空間分解分光法を用いた脳活動を，ウェアラブル脳内血量可視化装置（Hb133，㈱アステム）により測定した．2 チャンネルの計測プローブを，前頭葉領域にあたる脳波国際 10-20 法の Fp1－F7 間および Fp2－F8 間に，それぞれ固定した．安静座位を基準とし，歩行および計算課題における酸素化ヘモグロビン（Oxy-Hb）および脱酸素化ヘモグロビン（Deoxy-Hb）の変化量を，それぞれ測定した．

表1　心拍数，予備心拍数，主観的運動強度および息苦しさの平均値および標準偏差

Variables	Face mask	Gait speed		ANOVA (F (1, 20))		
		Normal	Fast	Face mask	Gait speed	Interaction
Heart Rate	w/o	91±11	105±14	0.05	147.69**	0.08
(bpm)	w/	91±10	104±12			
Heart Rate Reserve	w/o	16.7±7.8	27.2±8.5	0.06	121.20**	0.29
(%)	w/	16.4±6.5	26.7±7.7			
Rating of perceived exertion	w/o	8.0±1.9	10.3±2.2	8.47**	109.38**	0.85
(Borg Rating)	w/	8.8±1.8	11.2±2.4			
Breathlessness	w/o	1.0±0.7	2.3±1.3‡	13.59**	42.00**	5.20*
(VAS; mm)	w/	1.5±0.9	3.0±1.4†,‡			

w/o, without; w/, with; ANOVA, analysis of variance; *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$

表2　計算課題の回答数および正答率の平均値および標準偏差

Variables	Face mask	Resting	Gait speed		ANOVA (F (1, 20))		
			Normal	Fast	Face mask	Gait speed	Interaction
Quantity of responses	w/o	26.5±5.9	27.3±6.6	28.1±6.1	0.52	8.31**	0.43
(N)	w/	27.2±6.0	27.4±6.3	28.2±6.8			
Correct answer rate	w/o	95.8±4.2	93.0±3.9	92.1±5.0	5.30*	19.78**	0.30
(%)	w/	94.4±4.7	91.5±5.6	89.8±6.2			

w/o, without; w/, with; ANOVA, analysis of variance; *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$

2.4 統計解析

計算課題付加による緊張感や主観的遂行度合いがHR や主観的評価に影響する可能性が考えられるため，HR，%HRR，RPE および息苦しさは Gait-task 時のみ評価した．これらの平均値の差は，2 因子分散分析（マスクの有無×歩行速度）を用いて比較した．歩行パターン指標，Oxy-Hb および Deoxy-Hb の平均値の差は，3 因子分散分析（マスクの有無×歩行速度×計算課題の有無）を用いて比較した．計算課題の回答数と正答率の平均値の差は，2 要因分散分析（マスクの有無×歩行速度（安静座位を含む）を用いて比較した．分散分析の結果，有意な交互作用が認められた場合は，Holm の方法による多重比較を実施した．なお，統計的有意水準は 5%未満とした．

3. 結果および考察

HR および%HRR は歩行速度に有意な効果が認められたが，マスク着用の有意な効果は認められなかった（表 1）．一方，息苦しさは，マスク着用と歩行速度で有意な効果が認められ，これらの交互作用も有意であった（表 1）．運動時のマスク着用に関するReview で，マスク着用は息苦しさを増加させる一方，低強度運動中の心血管系反応，血液ガス，その他の生理学的指標に大きな影響を与えないと報告されている [9]．短時間歩行を実施した本研究でも，マスク着用により息苦しさは増加したものの，%HRR に有意な影響は認められなかった．この息苦しさの増加は，マスク着用による呼吸抵抗の増加や二酸化炭素の再吸入によるものと考えられる [1, 8, 9]．また，運動時のサージカルマスクや N95 マスクの着用で RPE が増加するとも報告されており [9]，マスク着用による不快感やストレス反応がその要因と考えられている．本研究において，RPE もマスク着用や歩行速度に有意な主効果が認められ（表 1），息苦しさの増大が影響した可能性がある．本研究は 3 分間の普通歩行と速歩をそれぞれ 2 回ずつの計 12 分間程度であったが，低強度運動であっても長時間の場合は，マスク着用が HR を上昇させることも示されており [14]，運動時間が長い場合，マスク着用は主観的な指標だけでなく，生理的な指標にも影響する可能性がある．

計算課題について，回答数に歩行速度の有意な効果が認められた（表 2）．本研究で用いたトレッドミ

表3　歩調の平均値および標準偏差

	Face mask	Gait speed				ANOVA (F (1, 20))			
		Normal		Fast					
		Gait	Gait+Cal-task	Gait	Gait+Cal-task	1 Face mask	2 Gait speed	3 Calculation task	Interaction
Cadance	w/o	1.76±0.14	1.81±0.12†	2.12±0.12‡	2.12±0.11†, ‡	0.09	498.05**	40.72**	1x2 (0.90), 2x3 (8.47**), 1x3 (0.16), 1x2x3 (0.66)
(steps/s)	w/	1.74±0.11	1.80±0.11†	2.20±0.12‡	2.19±0.12†, ‡				

w/o, without; w/, with; ANOVA, analysis of variance; **, $P < 0.01$; †, vs. Gait-task ($P < 0.05$); ‡, vs. Normal gait ($P < 0.05$)

ルでの歩行は，速度が機械的に一定に保たれ，周囲の環境に乱れが生じないため，平地での歩行に比べ自動的に実行しやすいとされる[20]．そのため，トレッドミル上でのマルチタスク歩行は，歩行から注意逸れても，自動的に安定したパターンでの歩行が可能となる[21]．本研究では，歩調に計算課題による有意な効果が認められた（表 3）．この歩調の増加は，歩行から計算課題に注意が逸れても，一定の速度で動き続けるトレッドミルに対応したものと考えられる．そして本研究では，歩行に対しては高い要求はなく，計算課題には，できるだけ早く正確に回答することが求められたため，計算課題を優先するマルチタスクだったと言える．そのため，対象者は歩調を高めることで増加するトレッドミル速度に対応しつつ，計算課題に集中することができたと言える．そして，高い歩調による速いリズムの生成は，認知・精神的な課題に対してより効率的に遂行するような刺激となったため[22]，歩行速度増加に伴う，回答数の増加に繋がった可能性が考えられる．実際に，これまでの研究でも，健康な若年成人で，トレッドミル上でのマルチタスク歩行時に認知・精神的課題の遂行が向上したことが報告されており[21, 22]，本研究でも同様の結果が得られたものと考えられる．

計算課題における回答数の増加は歩行速度に有意な効果が認められた一方，正答率の低下も歩行速度に有意な効果が認められた（表 2）．先行研究では，歩行速度の増加に伴い計算課題の成績が向上することが報告されており[22]，今回の結果とは矛盾する．本研究の対象者は，計算課題に慣れている学生（情報工学を専攻）のため，実施した 2 桁の計算が極端に難しいものではないと推測される．しかし，先行研究の計算課題は，基になる数字から単純にある数を引いていくと言うものだったのに対し，本研究では，単に回答するだけではなく，回答をスクリーンへタッチ入力しなければならないという，より高い要求であった可能性がある．そのため，認知的・精神的な要求が高いマルチタスクでは，歩行速度の上昇に伴い要求の遂行度合いは増加するものの，その正確性は低下する可能性がある．

さらに，本研究の計算課題は，回答数にマスク着用の有意な効果は認められなかったが，正答率の低下はマスク着用による有意な効果が認められた（表 2）．すなわち，マスク着用が計算課題の成績を低下させたと言える．これまでの研究で，実験的な急性呼吸困難が認知課題の遂行に悪影響を及ぼす可能性が指摘されている[17]．本研究では息苦しさについても，マスク着用の有意な効果が認められ（表 1），マスク着用による息苦しさの増大が正答率の低下に何らかの影響を与えた可能性がある．しかし，本研究では，脳活動の指標である Oxy-Hb や Deoxy-Hb にマスクの有無による歩行課題や計算課題に対する一定の傾向は認められず，詳細なメカニズムについては，今後，他の指標を用いて検討する必要がある．いずれにしても，日常生活における歩行は様々な認知的・精神的要求，すなわち，道路状況を把握して転倒を防ぐ，人や物の動きや位置を把握して衝突を避ける，目的地までのルートを考える，他人との会話などを必要とする場面があるため，本研究結果は，日常生活でのマスク着用が生理的指標に及ぼす影響は小さいとしても．これらの要求遂行への影響を考慮する必要があることを示唆しいている．さらに，本研究では，マルチタスクとして，モバイル機器を用いた計算課題を用いた．このような，いわゆる「歩きスマホ」の危険性はよく知られている．本研究結果は，マスク着用時の「歩きスマホ」は，スマホ操作の認知的・精神的要求を低下させるため，スマホ操作により集中せざるを得なくなり，周囲への判断力や注意力がより低下する可能性にも繋がることを示して

いるとも言える.（本報告書ではページ数の制約上，関節角度の結果は省略した.）

4.今後の検討課題

これまでに,健常成人を対象としたトレッドミル上での短時間マルチタスク歩行と言う本研究と類似した研究では，歩行パターンや認知・精神的課題の遂行に有意な影響を認めなかったとするものもある[23]. これは，認知課題の種類や難易度に関係しているのかも知れない．本研究では計算課題のみを用いたため,今後は他の課題との比較が必要である.また，本研究では不織布製のサージカルマスクを使用したが，現在，様々な種類のマスクが流通しており，マスクの種類の影響も検討すべきである．運動強度について，本研究では，息苦しさにマスク着用と歩行速度との有意な交互作用が認められたため，マスク着用での高強度運動では，より息苦しさが顕著になり，認知・精神的課題の遂行にも影響すると考えられる．そのため，今後はより高い強度での検討も必要である．そして，本研究では，トレッドミル上での歩行であったが，実際の生活を考えた場合では，平地歩行でも検討する必要がある.

5. まとめ

本研究は．マスク着用での歩行中に計算課題を加えることが，歩行パターン，息苦しさ，計算成績に及ぼす影響を検討した．マスク着用は歩行時の心拍数や歩調，下肢関節角度に有意な影響を及ぼさなかったが，息苦しさと主観的運動強度は有意に増加した．歩行中に計算課題を実施した場合，マスク着用により，回答数に有意な影響は認められないが，正答率は有意に低下した．そのため，歩行時のマスク着用が生理反応や歩行パターンに影響を与えなくても，息苦しさが増加することで，計算課題の遂行などの精神的要求の遂行が妨げられる可能性を示した.日常生活における歩行は，様々な認知的・精神的要求を必要とするため，マスク着用がこれらの要求の遂行に与える影響について考慮する必要があることを本研究結果は示唆している.

謝辞

本研究の実施にあたり支援を賜った，公益財団法人 ウエスコ学術振興財団に深く謝意を表します.

なお，本内容の一部は，The 15th International Congress of Physiological Anthropology 2022 にて発表し，The Journal of Physical Fitness and Sports Medicine の 12 巻･3 号(2023 年)に「Effects of wearing non-woven face mask and performing calculation task while walking on gait pattern, breathlessness, and calculation performance」として掲載予定である.

参考文献

1. Warren, D. D. W., Mayo, D. R., Zajac, D. D. J. & Rochet, D. A. H. Dyspnea following Experimentally Induced Increased Nasal Airway Resistance. *Cleft Palate Craniofac. J.* 33, 231-235 (2017).
2. Daanen, H. et al. COVID-19 and thermoregulation-related problems. Practical recommendations. *Temp. Multidiscip. Biomed. J.* 8, 1 (2021).
3. Laird, I. S., Goldsmith, R., Pack, R. J. & Vitalis, A. The effect on heart rate and facial skin temperature of wearing respiratory protection at work. *Ann. Occup. Hyg.* 46, 143-148 (2002).
4. Roberge, R. J., Kim, J. H., & Benson, S.M. Absence of consequential changes in physiological, thermal and subjective responses from wearing a surgical mask. *Respir. Physiol. Neurobiol.* 181, 29-35 (2012).
5. Ong, J. J. Y. et al. Headaches Associated With Personal Protective Equipment -A Cross-Sectional Study Among Frontline Healthcare Workers During COVID-19. *Headache* 60, 864-877 (2020).
6. Lim, E. C. H. et al. Headaches and the N95 face-mask amongst healthcare providers. *Acta Neurol. Scand.* 113, 199-202 (2006).

7. Foo, C. C. I., Goon, A. T. J., Leow, Y. H. & Goh, C. L. Adverse skin reactions to personal protective equipment against severe acute respiratory syndrome--a descriptive study in Singapore. *Contact Dermatitis* 55, 291-294 (2006).
8. Szeinuk, J., Beckett, W. S., Clark, N. & Hailoo, W. L. Medical Evaluation for Respirator Use. *Am. J. Ind. Med.* 37, 142-157 (2000).
9. Hopkins, S. R. et al. Face Masks and the Cardiorespiratory Response to Physical Activity in Health and Disease. *Ann. Am. Thorac. Soc.* 18, 399-407 (2021).
10. Glänzel ,M. H. et al. Facial mask acute effects on affective/psychological and exercise performance responses during exercise. A meta-analytical review: *Front. Physiol.* 13, 994454 (2022).
11. Shaw, K. A. et al. The impact of face masks on performance and physiological outcomes during exercise: a systematic review and meta-analysis. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 46, 693-703 (2021).
12. Engeroff, T., Groneberg, D. A. & Niederer, D. The Impact of Ubiquitous Face Masks and Filtering Face Piece Application During Rest, Work and Exercise on Gas Exchange, Pulmonary Function and Physical Performance: A Systematic Review with Meta-analysis. *Sport. Med. - Open* 7, 1-20 (2021).
13. Greenhalgh, T., Dijkstra, P., Jones, N. & Bowley, J.. Exercising and face masks: An important hypothesis buried in a selective review. *Med. Hypotheses.* 144, 110255 (2020).
14. Chandrasekaran, B. & Fernandes, S. Exercise with facemask; Are we handling a devil' s sword?" - A physiological hypothesis. *Med. Hypotheses* 144, 110002 (2020).
15. Bustamante-Sánchez, A. et al. Effects of Hypoxia on Selected Psychophysiological Stress Responses of Military Aircrew. *Biomed. Res. Int.* 2021, 6633851 (2021).
16. Elisheva, R. Adverse Effects of Prolonged Mask Use among Healthcare Professionals during COVID-19. *J. Infect. Dis. Epidemiol.* 6, (2020).
17. Lawi. D. et al. Dupuis-Lozeron E, Berra G, Allali G, Similowski T, Adler D. 2020. Experimental dyspnoea interferes with locomotion and cognition: a randomised trial. *Eur. Respir. J.* 56, 2000054 (2020).
18. Janson-Bjerklie, S., Carrieri, V. K. & Hudes, M. The sensations of pulmonary dyspnea. *Nurs. Res.* 35, 154-159 (1986).
19. American Thoracic Society. Dyspnea. Mechanisms, assessment, and management: a consensus statement. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 159, 321-340 (1999).
20. Simoni. D. et al. Different motor tasks impact differently on cognitive performance of older persons during dual task tests. *Clin, Biomech,* 28, 692-696, 2013.
21. Wrightson, J. G., Schäfer, L., Smeeton, N.J. Dual-task prioritization during overground and treadmill walking in healthy adults. *Gait Posture* 75, 109-114 (2020).
22. Penati, R., Schieppati, M. & Nardone, A. Cognitive performance during gait is worsened by overground but enhanced by treadmill walking. *Gait Posture* 76, 182-187 (2020).
23. Wrightson, J. G. & Smeeton, N. J. Walking modality, but not task difficulty, influences the control of dual-task walking. *Gait Posture* 58, 136-138 (2017).

深層学習に基づく写真に対する審美的品質の推定技術と改善技術の確立

岡山県立大学 情報工学部 情報通信工学科

滝本 裕則

（概要）写真共有型 SNS の普及により、多数の人に好印象を持たれるような審美的品質の高い写真を撮影するニーズが高まっている。しかし、写真に対する審美性の判断や審美的品質の高い写真の撮影には経験や技術が必要となるため、時間的コストが高く誰にとっても簡単ではなく、その自動化が望まれている。本研究では、深層学習モデルの精度向上に寄与する方法の一つとして注目されている Attention 機構に注目し、写真の審美的品質推定の高精度に取り組んだ。さらに、大規模な写真データセットから“審美的品質の高い写真”と“審美的品質の低い写真”のドメイン間の関係を end-to-end で学習し、得られたモデルによって任意の写真の色調を自動的に変更することにより審美的品質を改善する技術の開発に取り組んだ。

1. はじめに

近年、SNS の利用者が急増し、インターネットを介して自身が撮影した写真を第三者から評価される機会が格段に多くなったことから、多くの人が好印象を持つような写真、つまり“審美的品質が高い写真”を撮影することへのニーズが高まっている。しかし、具体的な改善点を自分で発見することは困難であることから、客観的に写真の善し悪しを評価するシステムの実現が望まれている。この課題を解決するため、深層学習に基づく畳み込みニューラルネットワーク（Convolutional Neural Network, CNN）を用いて写真の審美的品質を自動的に推定する手法が提案されている[1]-[5]。しかし、写真の良し悪しに関する感性は個人差があり、定量化は非常に困難な課題である。したがって、既存技術のさらなる高精度化が求められている。

本研究では、写真の審美的品質推定の高精度化を図るとともに、視覚的説明機能を有する推定モデルを提案した。具体的には、視覚的説明機能を有する審美的品質推定モデル実現のため，Attention Branch Network（ABN）[6]に基づく推定モデルを構築した.

一方、良い写真、いわゆる“審美的品質が高い写真”を撮影することは相応の技術や経験が必要となるため、誰にとっても簡単ではない。よって、撮影後の写真に対して審美的品質を改善する画像処理技術がこれまでにいくつか提案されている[7][8]。しかし、これら既存技術は、写真に対して色調や明度等のパラメータを手動で変更することにより審美的品質を向上させているため、撮影された写真毎にこれらの処理を手動で施すことは多大な労力と時間が必要である。

このような課題を解決するため、我々は、大規模な写真データセットから“審美的品質の高い写真”と“審美的品質の低い写真”のドメイン間の関係を end-to-end で学習し、得られたモデルによって任意の写真の色調を自動的に変更することにより、審美的品質を改善する技術の開発に取り組んだ。提案する審美的品質改善技術では、深層学習に基づく敵対的生成ネットワーク（Generative Adversarial Network, GAN）[9]の派生手法である CycleGAN[10] と DCLGAN（Dual Contrastive Learning GAN）[11] を用いて、審美的品質の高い写真群と低い写真群に対して群間の関係を学習し、審美的品質に影響を与える特徴を自動で獲得することを目的としている。そして、相互的な色調変換を実現することで、写真の審美性改善の自動化を図った。

2. ABN を用いた写真の審美的品質推定の高精度化

2.1 研究背景・目的

SNS や Web 上で写真を共有する機会の増加に伴い、魅力的な写真を撮影したいというニーズが高まっている。しかし、具体的な改善点を自分で発見することは困難であり、客観的に写真の善し悪しを評価す

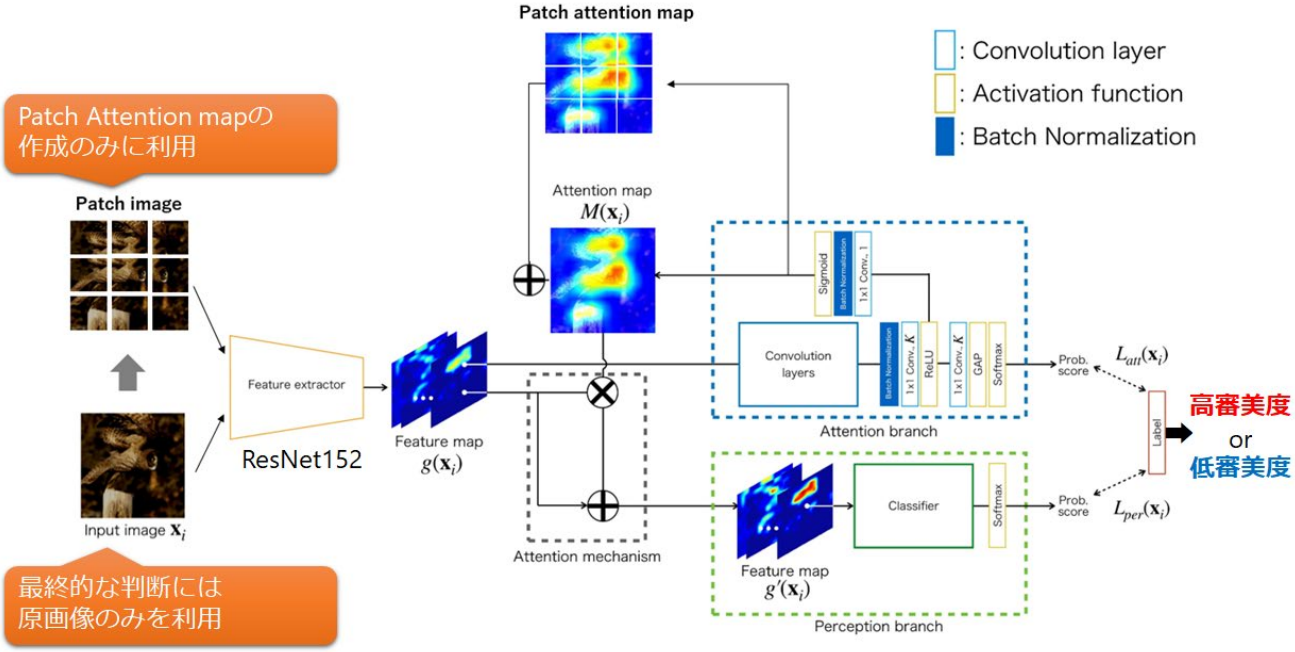


図 1　提案する ABN に基づく審美性推定モデルの概要

るシステムが望まれる。ここで、写真の審美的品質とは、人が感覚的に写真を好むかどうかを定量化したものであり、ノイズや圧縮歪みなどの画像品質とは異なる。審美的品質の推定が可能になると、写真の客観的な評価を知ることができる。さらに、品質の改善する際の基準としてだけではなく、様々なアプリケーションに活用可能である。しかし、既存の深層学習に基づく審美性推定技術では、高精度化を達成する一方で、精度向上のためモデルが複雑になり、どのような観点に基づいて評価を行っているかを知ることが困難である課題、いわゆるブラックボックス化が指摘されている。

一方で、CNN が学習した特徴を人が理解可能な画像形式で可視化し、判断根拠を解析する視覚的説明が近年活発に研究されている。代表的な視覚的説明機能を有する CNN モデルとして ABN がある。ABN では、画像認識において重要な位置を注視する機構を導入することにより、視覚的説明と精度向上の両立を実現している。

我々は、写真の審美的品質推定の高精度化を図るとともに、視覚的説明機能を有する推定手法の実現に取り組んだ。具体的には、視覚的説明機能を有する審美的品質推定モデル実現のため、ABN に基づく推定モデルを構築した。また、モデルへの入力画像について、画像全体から得られる視覚的特徴に対してパッチ抽出した局所特徴を考慮することにより、多様な解像度での審美的品質評価の実現に取り組んだ。評価実験においては、提案モデルの学習と評価用のデータセットとして AVA ： A large-scale database for aesthetic visual analysis（以下、AVA-dataset）[12]を用い、既存研究との精度比較を行うことで提案手法の有効性を確認した。

2.2 提案手法

本研究では、入力画像に対して審美的品質を推定するための特徴を抽出し、高品質と低品質の 2 クラス分類を行うモデルを提案した。ABN に基づく推定モデルを提案することにより、既存の審美的品質推定手法には無い視覚的説明機能の追加と推定精度向上の両立を図った。

提案モデルの概要を図 1 に示す。ABN は Feature extractor と Attention branch、Perception branch の 3 つのモジュールから構成される。Feature extractor は入力画像から特徴マップを抽出するための CNN から構成されており、Attention branch は特徴マップから Attention map を生成するためのモジュールである。そして、Perception branch は、抽出した特徴マップと Attention map を用いて最

終的な各クラスにおける確率を出力する。ベースとなる特徴抽出用の CNN を特定の層で分割し、それぞれFeature extractor と Perception branch として定義する。そして、Feature extractor の後層に対して Class Activation Mapping (CAM)の上位層をベースに構築した Attention branch を導入する。

提案モデルでは，特徴抽出のメインとなる CNN として ResNet152 を用いた。ResNet152 の全結合層の最終層を 2 クラスの全結合層に置き換え、最終層の活性化関数に Softmax を用いた。Convolution の最終層にあたる Residual block 4 と Residual block 5 で分割し、前半を Feature extractor、後半を Perception branchに用いて推定モデルを構築した。

また、原画像に加え、複数のパッチ抽出した画像特徴を提案モデルの入力として加えることによりさらなる推定精度向上を図った。審美的品質推定に関する既存研究では、モデルの制約により入力画像が固定サイズになっており、一般的な機材で撮影された写真のアスペクト比から外れるアスペクト比をもつ画像の予測精度が低下することや、アスペクト比の変化によって人が感じる審美的品質の変化を反映できていないなどの課題が報告されている。そこで、複数のパッチ抽出した画像を用いた学習によって問題を改善する手法[1][5]が提案されている。写真の中で審美的品質に寄与する領域は様々な解像度で存在すると考えられるため、写真全体から得られる特徴だけではなく、パッチ抽出した画像の局所特徴も考慮することにより、多様な解像度での審美的品質評価が可能となる。その結果として、推定の精度が向上すると考えられる。

複数パッチの特徴を考慮するため、図 1 の Attention mechanism において特徴マップと Attention map を足し合わせる際、画像全体から抽出した Attention map に対して、局所抽出したパッチ画像から抽出した Attention map を統合した 1 枚の統合 Attention map を用いることで推定精度の向上を図った。パッチは画像全体から重複するように過不足なく局所抽出する。なお、Attention map を統合する際、重複していない箇所はそのままの値を使用し、重複部は Attention 出力の最大値を使用する。

表1　先行研究と提案手法の精度比較

手法	正解率 [%]
DMA-Net [1]	75.4
MTRLCNN [2]	79.1
NIMA [3]	81.5
A-Lamp [4]	82.5
NP_adam [5]	83.0
提案手法（n = 9）	84.2
提案手法（n = 16）	82.0

2.3 実験結果・考察

実験条件として、審美的品質推定の 2 クラス分類タスクにおける提案手法と先行研究[1]-[5]の精度を比較することで提案手法の有効性を確認した。公平な精度比較を行うため、先行研究と同様に AVA-dataset[12]の全データ 255,000 枚を train : validation : test = 92 : 4 : 4 に分割して使用した。最終結合層を除いた ResNet152 の重みの初期値には、ImageNet で学習済みの重みを使用した。なお、入力画像サイズは 224×224 pix.にリサイズしている．また，画像の分割数（パッチ数）n について、縦横 3 分割と 4 分割の場合（n = 9，16）で精度を比較した。

実験結果として、先行研究と提案手法の精度を表 1 に示す。表 1 より、提案手法(n = 9)の推定精度が最も高いことを確認した。一方で、提案手法(n = 16)は提案手法(n = 9)よりも精度が低下していることから、最適なパッチ数の決定が今後の課題である。結果として，提案手法は既存研究と比べて同等以上の正解率を達成していることから、ABN をベースとしたモデルに対して、複数のパッチ画像から抽出した特徴を追加情報として学習させることが審美的品質推定の精度向上に有効であることを確認した。

3. GAN を用いた写真に対する審美的品質の改善

3.1 研究背景・目的

近年、写真共有型 SNS の普及により多数の人に好印象を持たれるような審美的品質の高い写真を撮影するニーズが高まっている。しかし、審美的品質の高い写真の撮影には経験や技術が必要となるため、

時間的コストが高く、誰にとっても簡単ではない。

これまでに、写真の審美的品質の改善を目的としてハンドクラフト的特徴や CNN を用いた写真の審美的品質改善法が提案されている[7][8]。しかし、特定の被写体に偏っていることや、写真内の重要領域が切り取られてしまうなどの課題が指摘されている。したがって、写真の審美的品質を改善法として、特定のカテゴリに偏らない多様な写真に対する改善を実現できるだけでなく、写真サイズの縮小や写真内の重要領域が切り取られないことが求められる。

我々は、GAN の派生である CycleGAN と DCLGAN を用いて、時間的コストが低く多様な写真に対して審美的品質の改善を行う手法を提案した。また、評価実験として、それらの GAN によって変換した画像に対する評価として、審美的品質推定 CNN モデルを用いた定量的な評価と人による主観評価を行った。

3.2 提案手法

GAN とは、生成器 G と識別器 D と呼ばれる 2 つのネットワークを互いに競合させながら学習を行い、互いの精度を高め合うモデルである。生成器 G は識別器 D を騙せる画像を生成できるように学習を進め、識別器 D は与えられた画像が本物（学習データ）の画像か、あるいは生成器 G が作り出した偽物の画像かを正確に識別できるように学習を進める。CycleGAN と DCLGAN のいずれも 2 つの生成器（G と F）と 2 つの識別器（D_X と D_Y）を持つ GAN であり、生成器 G はドメイン X に属する画像からドメイン Y に属するような画像に変換し、識別器 D_Y で本物のドメイン Y に属する画像かを判断する。逆に生成器 F はドメイン Y に属する画像からドメイン X に属するような画像に変換し、識別器 D_X で本物のドメイン X に属する画像かを判断する。この往復構造を持つことで、双方向への変換を保証するドメイン間の関係を学習する。

また、生成器の一貫性を保つ学習を行うため、CycleGAN ではサイクル一貫性損失と呼ばれる損失が導入されている。一方、DCLGAN では、変換前の画像と変換後の画像で対応する位置では同じ構造を持つと示唆されることから、変換前後で対応箇所のパッチを抽出し比較する対照学習を導入している。

本研究では、この 2 種類の GAN を用いて大規模なデータセットから審美的品質の高い画像と低い画像という二つのドメインの関係を学習し、それに基づいて入力画像の色調を自動的に変化させる手法を提案した。

表 2　CycleGAN におけるタグ毎での実験結果

タグ	審美度が向上した枚数	審美度の平均変化量
architecture	862	0.445
floral	817	0.410
Landscape	953	0.869
Seascape	886	0.585
sky	738	0.435

表 3　DCLGAN におけるタグ毎での実験結果

タグ	審美度が向上した枚数	審美度の平均変化量
architecture	910	0.904
floral	896	0.814
Landscape	961	1.267
Seascape	899	0.960
sky	795	0.647



図 2　CNN モデルを用いた評価実験において DCLGAN により審美度改善した例



図 3　主観評価実験において CycleGAN により審美度改善した例

表 4　主観評価実験の結果

(%)	1	2	3	4	5	6	7
A-architecture	4.7	13.7	23.3	16.0	**24.0**	13.3	5.0
A-floral	4.0	14.7	**29.0**	16.7	21.0	12.3	2.3
A-landscape	4.3	9.7	21.3	14.0	**31.7**	14.0	5.0
A-seascape	4.0	15.7	23.0	12.0	**26.0**	16.0	3.3
A-sky	9.7	20.3	**25.7**	10.3	19.7	10.3	4.0
B-architecture	18.7	19.0	**22.7**	8.0	18.3	8.3	5.0
B-floral	18.0	**20.3**	20.0	6.0	19.0	10.0	6.7
B-landscape	11.3	16.7	**25.0**	6.7	21.3	14.0	5.0
B-seascape	16.3	18.0	**22.0**	5.7	19.7	13.3	5.0
B-sky	12.7	23.7	**25.3**	6.3	19.7	7.7	4.7

3.3 実験結果・考察

本研究では、データセットとして AVA-dataset[12]を用いて GAN の学習およびその評価を行った。AVA-dataset において、architecture、floral、landscape、seascape、sky のタグが付与された 5 種類の写真群に含まれる写真の審美度の高い写真を上から順に 1000 枚，低い写真を下から順に 1000 枚選択し、それぞれ高審美度画像と低審美度画像として GAN の学習用画像とした。その後、学習したモデルに対して低審美度画像を入力し、高審美度画像ドメインへと変換した画像を評価に用いた。

GAN を用いて変換した写真に対する評価として、Takimoto らによって提案された顕著性特徴を用いたマルチタスク CNN に基づく審美的品質推定法[13]によって審美的品質を定量的な評価を行った。本手法は、写真の審美度と審美度評価のばらつきを同時に推定するマルチタスク CNN と、人の感性に大きく関係すると考えられる顕著性特徴を用いた CNN を組み合わせることにより、写真に対する審美的品質推定の精度向上を実現している。

CNN モデルを用いた評価実験の結果として、CycleGAN におけるタグ毎での実験結果を表 2 に、DCLGAN におけるタグ毎での実験結果を表 3 にそれぞれ示す。CycleGAN と DCLGAN に共通した結果として、全てのタグで審美度の向上を実現したことに加えて、タグ landscape と seascape の平均変化量が大きいことが挙げられる。また、それぞれの結果を比較すると、DCLGAN は CycleGAN より平均変化量が大きいことから、より優れた改善ができていることを確認した。画像変換の例を図 2 に示す。CycleGAN の場合はサイクル一貫性損失の作用によって色調の変化が抑制された結果、変換前後の写真は比較的似た色調となっている。そのため、審美度推定 CNN での推定値も近い値となり、結果として推定値の変化量が小さくなったと考えられる。

一方で、写真の審美的品質は主観的な情報であることを考慮し、複数の被験者による主観評価実験も行った。評価用のデータセットとして、各タグ 1000 枚の低審美度画像に対してそれぞれランダムに 15 枚選び、計 75 枚の画像を実験に使用した。実験被験者は 18 歳から 24 歳の男女 20 人であり、変換前の画像を原画像として、以下に示す A と B の評価を依頼した。

A. 原画像と CycleGAN で変換した画像のペア

B. 原画像と DCLGAN で変換した画像のペア

実験被験者には A と B それぞれに対してどちらが原画像・生成画像かを明示せずに画像だけを見せた。その際、どちらの画像が好印象を抱くかを数値的に示すため 7 段階評価を行ってもらった。

主観評価実験の結果を表 4 に示す。なお、表中の A は CycleGAN を、B は DCLGAN をそれぞれ意味しており、各項目は 7 つの選択肢（1:原画像が非常に良い，7:生成画像が非常に良い）が選ばれた割合をタグ別でまとめている。DCLGAN の結果として、タグ architecture、landscape、seascape、sky では 3 が最も多く選ばれており、タグ floral では 2 が最も多く選ばれた。いずれの選択肢も原画像の方が良いことを示すものであり、主観評価実験において DCLGAN は審美度の改善には至らなかった。主観評価実験において変換前後の写真を同時に見せた際、人は変換後の写真の色調に違和感を覚えやすく、結果として好印象を抱きにくい写真が多かったと考えられる。

一方、CycleGAN の結果として、タグ architecture、landscape、seascape では 5 が多く選ばれた。選択肢 5 は“やや生成画像が良い”を意味しており、主観評価実験において CycleGAN は上記 3 つのタグで審美度の改善を実現した。なお、CycleGAN によって審美度が改善した画像例を図 3 に示す。

4. おわりに

本研究では、視覚的説明機能を有する写真の審美的品質推定モデル実現のため、ABN に基づく推定モデルを提案した。審美的品質推定の 2 クラス分類タスクにおいて、提案手法と既存研究の推定精度を比較し提案手法の有効性を検証した。また、複数パッチ抽出による視覚的特徴の有効性を確認した。

一方、多様な写真に対して審美的品質の改善を行うため、CycleGAN と DCLGAN を用いた手法を提案した。また、各 GAN で生成した画像に対し、CNN モデルを用いた定量的な評価実験と主観評価実験を行った。

参考文献

[1] X. Lu, Z. Lin, X. Shen, R. Mech, and J. Z. Wang, ``Deep multi-patch aggregation network for image style, aesthetics, and quality estimation,” Proc. of ICCV, pp. 990-998, 2015

[2] Y. Kao, R. He, and K. Huang, ``Deep aesthetic quality assessment with semantic information,” IEEE Trans. on Image Processing, Vol. 26, No. 3, pp. 1482-1495, 2017

[3] H. Talebi and P. Milanfar, ``NIMA: Neural Image Assessment,” IEEE Trans. on Image Processing, Vol. 27, No. 8, pp. 3998-4011, 2018

[4] S. Ma, J. Liu, and W. Chang, ``A-Lamp: Adaptive layout-aware multi-patch deep convolutional neural network for photo aesthetic assessment,” Proc. of CVPR, pp. 4535-4544, 2017

[5] K. Sheng, W. Dong, C. Ma, X. Mei, F. Huang, and B. Hu, ``Attention-based Multi-Patch Aggregation for Image Aesthetic Assessment,” Proc. of ACM Multimedia Conference, pp. 879-886, 2018

[6] H. Fukui, T. Hirakawa, T. Yamashita, and H. Fujiyoshi, ``Attention Branch Network: Learning of Attention Mechanism for Visual Explanation,” Proc. of ICPR, pp. 10705-10714, 2019

[7] J. Mori, H. Tamura, and K. Takita, ``明度、コントラストを考慮した画像の最適強調条件”, 第 13 回情報科学技術フォーラム, 2014

[8] H. Zeng, L. Li, Z. Cao, and L. Zhang, ``Reliable and Efficient Image Cropping：A Grid Anchor based Approach,” Proc. of CVPR, pp. 5942-5950, 2019

[9] I. J. Goodfellow, J. Pouget-Abadie, M. Mirza, B. Xu, D. Warde-Farley, S. Ozair, A. Courville, and Y. Bengio, ``Generative Adversarial Nets,” Proc. of NIPS, Vol. 2, No. 27, pp. 2672-2680, 2015

[10] J. Zhu, T. park, P. Isola, and A. A. Efros, ``Unpaired Image-to-Image Translation using Cycle Consistent Adversarial Networks,” Proc. of CVPR, pp. 2223-2232, 2017

[11] J. Han, M. Shoeiby, L. Petersson, and M. A. Armin, ``Dual Contrastive Learning for Unsupervised Image-to-Image Translation,” Proc. of CVPR Workshops, pp. 746-755, 2021.

[12] N. Murray, L. Marchesotti, and F. Perronnin, ``AVA: A large-scale database for aesthetic visual analysis,” Proc. of CVPR, pp. 2408-2415, 2012

[13] H. Takimoto, F. Omori, and A. Kanagawa, ``Image Aesthetics Assessment Based on Multi stream CNN Architecture and Saliency Features,” Applied Artificial Intelligence, Vol. 35, Issue 1, pp. 25-40, 2021

身体ストレス簡易可視化システムのための指尖脈派解析アルゴリズムの開発

1．岡山県立大学，2．中村学園大学，3．就実大学

綾部誠也[1]，熊原秀晃[2]，森村和浩[3]

本研究の目的は，日常生活における断続的なANSの変動と突発的な身体活動を想定して，運動負荷後のSLならびに断続的なSLがANSに与える影響を明らかにすることとした．実験は10分間の安静， 15分間のタスク1，10分の回復，15分のタスク２，10分の回復の計60分間で構成した．実験中は，心電図，呼吸数を連続して計測した．血圧は5分毎に計測した．実験開始前，タスク後，映像視聴後に主観的感情評価を行った． SLに伴うLFは安静時からの増加と繰り返しのSL後，SL前に運動を行なった後の回復期に比して増加した．断続的なSLは安静後のSLと同様に運動時に比して高値となった．安静後のSLと断続的なSL， 運動後のSLは有意な差を認めなかった．本研究の結果は，SLに伴うLFが,”面白い”,”愉快”という主観的感情の増加に伴って増加し，低中強度運動に比して高値となることを明らかにした．加えて，SLに伴うLFは断続的なSLと運動後のSLの両者で安静時や回復期に比して増加することを明らかにした．従って，本研究はSLに伴うLFの増加から日常生活下での断続的なANSの変化に独立して自発的笑いを同定できることを示唆した．

１．はじめに

心拍数（Heart Rate ： HR）の変動（Heart Rate Variability: HRV）により推定される自律神経活動（Autonomic nerve system activity：ANS）に基づいて笑いを同定する試みがされている．このHRVに基づく笑いの同定は，従来の笑い同定法に比して，身体の内的な笑い，すなわち，自発的な笑い（Spontaneous laughter: SL）を評価できることが特徴である．ANS に基づく笑いの同定の生理的な背景は，両者が視床下部に関与することにある．視床下部は，外部刺激を受け，辺縁系，大脳新皮質を通して，笑いを調整する．その結果，HRV は，情動ストレス負荷の増加に伴う交感神経の亢進により低周波成分が増加し，高周波成分が減少することが示されている．さらに，心拍数がウェアラブルデバイスにより脈拍を用いて推定可能であることを踏まえれば，日常生活下での ANS に基づいた非拘束下で SLを計測できる可能性を含んでいる．これまで，実験的研究において，ANSがSLの指標として有効である可能性が報告されている．これらの研究は，SLを含めた情動が交感神経活動指標を亢進することを示しており，HRV に基づく自律神経機能の評価により笑いを評価できる可能性を示している．

日常生活下でのSLの同定を鑑みると,交感神経活動を賦活する生活活動から独立する SL に伴う自律神経活動の変化を明らかにする必要がある．HRV により評価された自律神経活動の各指標は，日常生活で起こり得る様々な行動や体調，情動，疾病の罹患などにより変化することが明らかにされている．これらの先行研究はANSが生活活動によって断続的に変化することを示唆している．交感神経活動を亢進させる生活活動として運動がある．運動と自律神経活動との関係性については多くの研究がされている．このように，ANSは，運動とSLの何の刺激にも亢進することが示唆されている．これまでに，SLと運動に伴うANSを直接に比較した研究は限定的である．さらに,これまでのSLに対するANSの変化を検討した研究は，主として安静時からの変化を検討しており，日常生活下などのANSが変動する中での検証結果はない．すなわち，日常生活下でのANSに基づくSLの評価に際しては，ANSの変動下での検証が課題として残されている．

本研究は,日常生活下でのANSの変動を考慮して,運動とSLでANSを変化させた条件下でのSLに伴う

ANS の変化を明らかにすることを目的とした．ANS を変化させた条件下での SL においても交感神経活動が亢進するという仮説を立てた．

２．研究方法

本研究は，二つの先行研究に基づいてデザインした．対象者は，試験前日に十分な睡眠をとり，試験当日に激しい運動や精神的な興奮を伴う行動を避け，実験開始 3 時間前に食事を済ませて検査を迎えるように指示された．試験当日は，実験室に入室後，座位にて 30 分間安静状態を保った後に実験を開始した．実験は 10 分間の安静，15 分間のタスク 1，10 分の回復，15 分のタスク 2，10 分の回復の 60 分間で構成された．実験は，静穏な室内で行った．実験中の 60 分間にわたり，心電図と呼吸を計測した．5 分毎に血圧を測定した．心電図は，胸部バンド型心電図（H10, Polar Electro 社製）を用いて計測を行った．呼吸は胸郭トランデューサを腹部に装着し，呼吸数を計測した．血圧はオシロメトリック方式デジタル血圧計（A&D Medical 社製）を用いて測定した．実験条件は，自発的笑い（Spontaneous laughter: SLA），低強度運動（Light intensity aerobic exercise: LAE），中強度運動（Moderate intensity aerobic exercise: MAE）の 3 条件とした．SLA は，先行研究に基づき，事前に調査した対象者毎の SL を誘発する映像を 15 分間視聴した．

自律神経活動は，実験中の 60 分間について 5 分毎に解析した．心電図は，1 拍ごとの RR 間隔を 1 msec 精度で測定した．測定した RR 間隔は腕時計型デバイス（V800, Polar Electro 社製）により記録された．記録された RR 間隔データを Polar 社が提供する Web サイト（Polar Flow）へ入力し，データファイルを出力した．出力した RR 間隔データを数値解析ソフト（MATLAB, MathWorks 社製）にて分析した．RR 間隔の 5 分の平均値から心拍数（Heart rate: HR）を計算した．RR 間隔は，周波数解析のために 2 Hz にてリサンプリング処理し，高速フーリエ解析を行った．実験の 5 分ごとに自律神経活動の指標として，超低周波成分（VLF），低周波成分（LF），高周波数成分（HF），総周波成分（Total）についてそれぞれの周波数を抽出した．HF と LF の比（以下 LF/HF）と，HF, LF, VLF を Total で除した値（normalized HF: nHF, normalized LF: nLF, normalized VLF: nVLF）を相対指標とした．

感情の主観的評価は Visual Analog Scale（VAS）30），Waseda Affect Scale of Exercise and Durable Activity（WASWDA），The Positive and Negative Affect Schedule（PANAS）によって質問紙評価した．笑いの主観的評価は Laughter intensity and frequency scale（LIFS）を評価した．

本文中の数値は，平均値と標準偏差（平均値±標準偏差）で示した．呼吸数と収縮期血圧は二元配置分散分析を用いて分析した．HR, Total, HF, LF, VLF, nHF, nLF, nVLF, LF/HF の比較は，呼吸数と収縮期血圧を共変量に加えた二元配置共分散分析を用いて分析した．主観的感情スコアの比較は，二元配置分散分析を用いて分析した．本研究の有意水準は $p < 0.05$ にて有意な差ありとした．

３．結果

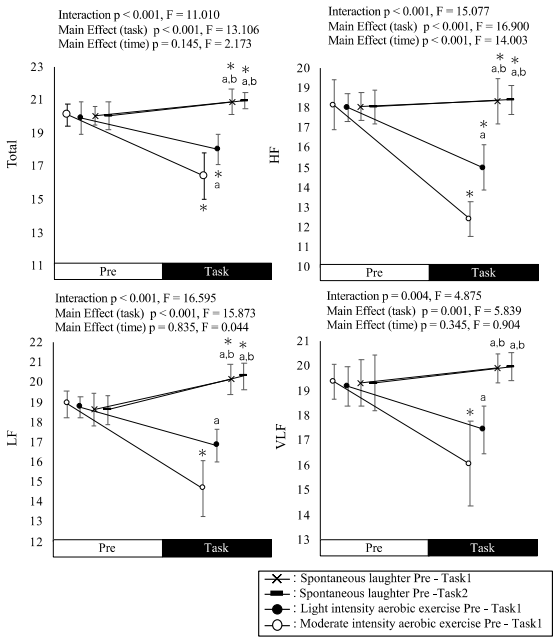


Figure 1　笑いおよび有酸素運動に伴う自律神経指標の変化

VAS による面白いスコアと愉快スコアは条件と時間の交互作用（$p < 0.001$）と主効果が認められた（$p < 0.001$）．LIFS は，タスク 1 の SLA は，合計スコア

が 31.20 ± 6.52 であった．タスク 2 の MAE は，合計スコアが 28.60±3.07 であった．タスク 2 の LAE は，合計スコアが 27.50±3.83 であった．タスク 2 の SLA は，合計スコアが 29.10±8.29 であった．実験中の4回のSLは合計スコアで有意な差が確認されなかった．HR，Total，HF，LF，VLF は条件と時間の交互作用を認めた($p < 0.05$)．

Figure 1 に全条件での安静時とタスク 1，SLA での安静時とタスク 2 の 4 条件での絶対指標の結果を示す．LF は，条件と時間の交互作用（$p < 0.001$）と 条件の主効果（$p < 0.001$）が認められた．タスク 1 とタスク 2 の SLA の LF は，タスク 1 の MAE と LAE に比して有意に高値であった（$p < 0.001$）．

Figure 2 に SLA での安静からタスク 1，全条件での安静からタスク 2 の 4 条件での絶対指標の結果を示す．LF は条件と時間の主効果（条件：$p = < 0.05$，時間：$p < 0.01$）が認められた．タスク 1 の SLA，タスク 2 の MAE，LAE，SLA の LF は安静時，回復期に比して増加した（$p < 0.01$）．

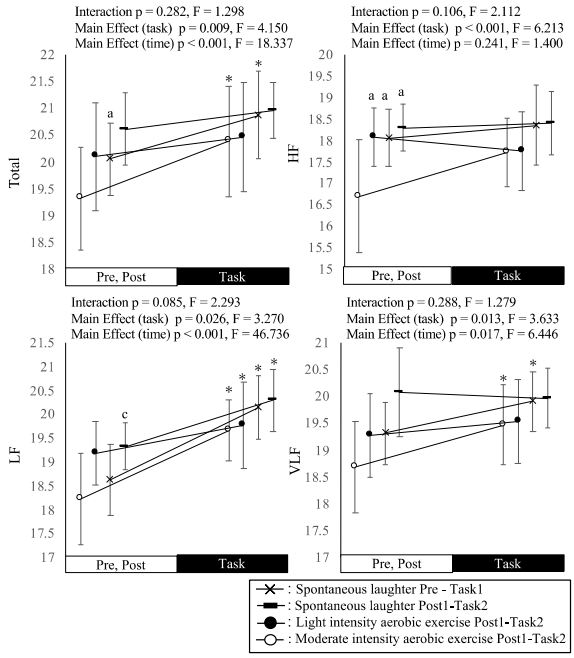


Figure 2. 笑いと運動の後の笑いが自律神経活動に及ぼす影響

4．考察

本研究の目的は，運動負荷後の SL ならびに断続的な SL が ANS に与える影響を明らかにすることであった．SL に伴う自律神経活動の変化は，運動に比して LF が顕著に増加した．LF は，タスク 1 にて確認された条件間での有意差がタスク 2 では認められなかった．これらの知見は，本研究の新規性の一つであり，断続的な SL ならびに運動負荷後の SL は LF を増加させることを示唆する．本研究の成果は，日常生活における断続的な ANS の変動と突発的な身体活動での SL の同定の可能性を示し，LF が快感情から想起される SL に伴って増加することを示唆する．

本研究の新規性の一つは，運動負荷後，断続的な SL が再度 LF を安静時や回復期に比して増加させることを明らかにしたことである．これらのことから，生活活動から独立して低中強度運動後の SL や断続的な SL は抽出が可能であることを示唆する．本研究は，このような SL における，運動条件に比した LF の増加について生理学的背景を示す結果を得ていない．LF の増加は笑いが腹式呼吸により発生することから示唆される

本研究は，日常生活における断続的な ANS の変動と突発的な身体活動を想定した，運動負荷後の SL ならびに断続的な SL が ANS に与える影響を検討した．本研究の成果は，自律神経活動に基づく日常生活下での笑いの同定の可能性を示した．本研究は SL に伴う LF の増加から日常生活下での断続的な ANS の変化に独立して自発的笑いを同定できることを示唆した．本研究の新規性は，LF は快感情と笑いを反映し，LF は SL において運動に比して増加することを示唆したことである．本研究で得られた SL に伴う自律神経活動の生理的なメカニズムは不明である．

5．謝辞

本研究の一部は，公益財団法人ウエスコ学術振興財団研究助成費の支援を受けて実施された．

オンライン会議システムにおける身体的引き込みエージェントの研究開発

岡山県立大学 情報工学部 情報システム工学科

石井　裕

本研究では，プレゼン形式の Web 会議を想定し，聴講者の代役として身体引き込みエージェントを表示するシステムを開発している．このシステムは発話音声のみを入力として，キャラクターの豊かなコミュニケーションを実現する身体引き込み動作を自動生成する iRT を用いて，聴講者の代役として発表者の音声に反応してうなずくエージェントを表示する．発表者は聞いてもらえているという感覚から発表者しやすくなり，聴講者は代わりにうなずいてくれるエージェントの存在により，聞きやすさや安心感を高める効果が期待される．男女学生男性 6 組 12 人を対象に，発表者と聴講者に与える効果について評価実験を行った．その結果，聴講者の代役として身体引き込みエージェントを表示することで，発表者に対して緊張感やストレス感では顔表示なしと同等の効果が示された．また，相手に発表が伝わったと感じたかにおいては顔表示がある時と同等の効果が示されるなど，本システムの有効性を確認した．

1　はじめに

新型コロナウイルス(COVID-19)の感染拡大により，オンライン対話の機会が増加し， Web 会議システムの需要が高まっている．そのうち資料を共有しながら説明するオンラインプレゼンテーションでは，発表者はカメラ機能を ON にして自身の顔を表示して発表することが多い．それに対して，聴講者は聴講している環境や自身の状態が映ることに抵抗があるなどの理由から，カメラ機能を OFF にして自身の顔を表示せずに聴講することがある．その場合，発表者は聴講者の様子が見えないため，発表を聞かれている感覚がなく，発表しにくく感じてしまう可能性がある．逆に聴講者が顔を表示すると，画面に映る情報が増えることや，見られているという感覚からお互い過度に緊張感を高めてしまう可能性がある．長尾らの研究では，Web 会議システムを用いたオンラインコミュニケーションにおいて，相手がカメラ機能 OFF で自分がカメラ機能 ON の状態の場合，一方的に顔の映像が見られている状況によって心理的負荷が発生し，心理的抵抗感が高まることが分かっている[1]．また葛西らの研究では，HMD を用いて対面で発表を行う際，発表者はキャラクターの画像で聞き手の姿を隠して発表を行う方が緊張感を緩和すると報告している[2]．

ここで対面でのコミュニケーションにおいては，言語によるバーバル情報だけではなく，身振りや手振り，うなずきといったようなノンバーバル情報が重要な役割を果たしている．生体情報を含めた身体全体で行われるコミュニケーションを身体的コミュニケーションと呼び[3]，話し手と聞き手の両者の身体を介することで対話者が相互に引き込み合い，対話時の一体感が生まれることで対話相手との関係が構築される．情報機械を介したコミュニケーションにおいてもこのメカニズムを導入することで，インタラクションを円滑にし，一体感のあるコミュニケーションを支援できる．一方で上述の通り，オンラインでの画像を用いたコミュニケーションでは様々な問題があり，代替する支援技術が必要である．モーションキャプチャを用いて人の動作をキャラクターに適用する合成技術により，Vtuber など新たな魅力が生み出されているように，オンラインコミュニケーションにおいてキャラクターインタフェースも広く浸透しつつある．

著者らはこれまでに，発話音声と身体動作の関係に着目し，発話音声のみを入力としてキャラクターの豊かなコミュニケーション動作を自動生成する iRT 技術を開発してきた．iRT は生成したコミュニケーション動作による身体リズムの引き込みにより

インタラクションを円滑にしてコミュニケーションを支援する技術である．この技術は，発話音声のみを入力としているため，聴講者としてのユーザの入力負荷を考慮することなく，反応動作を自動生成できる．さらに，映像対話の利点を活かしつつ，自己の代役となる CG キャラクターと周囲に配置された観客キャラクターを対話相手のビデオ映像に重畳合成した実映像対話を支援するキャラクターシステムを開発してきた[4]．このシステムでは映像対話における相手との空間的な分離感を緩和するために，相手映像に自己キャラクターおよび観客キャラクターを重畳合成している．観客キャラクターには，発話音声に基づき豊かなコミュニケーション動作を生成する機能を導入し，有効性を確認した[5]．また，仮想空間におけるアバタを介した対話において，このような観客キャラクターの存在によって，異なる主張を一つに収束させる合意形成課題によるコミュニケーションにおいて，システムを介した対話が全体的に肯定的な評価が得られたことを確認している[6]．植物型あるいは影法師型のオブジェクトを用いることで，仮想観客が議論の収束方向に影響を与える結果となり，合意形成対話において身体的引き込み効果が確認され，システムの応用可能性が示されている．このようにオンラインでのコミュニケーションにおいても，発話者への支援効果が期待できる．

そこで本研究では，プレゼン形式の Web 会議を想定し，聴講者の代役として iRT を用いた身体引き込みエージェントを表示するシステムを開発し，発表者と聴講者に与える効果について評価実験を行う．

2　コンセプト

本システムのコンセプトを図 1 に示す．オンラインでのプレゼン発表では発表者はカメラ機能を ON にして顔を表示して行うことが多いが，聴講者側はカメラ機能を OFF にし，顔を表示しないことが多い．その場合，発表者は聴講者の様子が見えず，発表しにくく感じる可能性がある．そこで，聴講者の代役として発表者の音声に反応してうなずくエージェントを表示することで，発表者は聞いてもらえているという感覚から発表者しやすくなり，聴講者は代わりにうなずいてくれるエージェントの存在により，聞きやすさや安心感を高める効果が期待される．

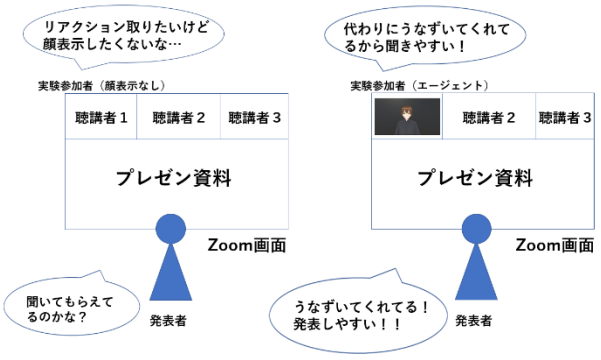


図 1 . コンセプト

3　身体引き込みエージェントシステム

3.1　システム概要

発表者の本システム使用画面を図 2 に示す．Web 会議システムには Zoom を使用し，発表者の画面表示は PowerPoint の発表者ツールを使用した時の表示方法を用いた．本システムの開発環境には，ゲームエンジンの Unity2020.3.9f1 を使用した．聴講者の代役エージェントの作成には，Pixiv が提供している 3D キャラクター制作ソフトウェアの VRoidStudio を使用し，うなずきのアニメーションは 3D モデリングソフトである Blender を用いて作成した．代役エージェントは，Unity の画面を UnityCapture 経由で Zoom に出力することで表示させている．また，発表者の音声は仮想ミキサーソフトである VoiceMeeter を用いて取得しており，取得した音声に対してエージェントは iRT によるうなずき動作の身体引き込み反応を示す．本システムでは図 3 のような人型のエージェントを使用した．これらのエージェントは実験参加者の性別に合わせて使い分けた．

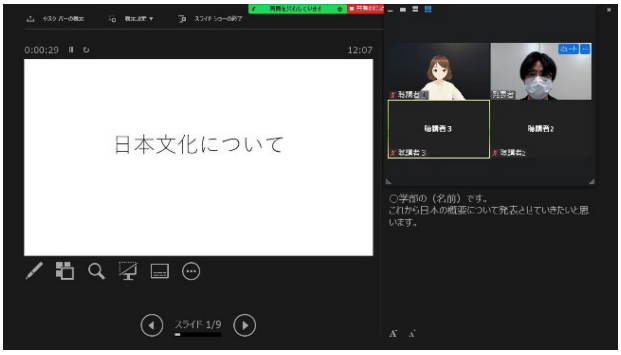


図 2 . 発表者側システム画面例



図３. 聴講者側システム画面例



図４. 開発したキャラクター

3.2　インタラクションモデル

うなずき動作に必要な聞き手のインタラクションモデルを図 5 に示す．うなずきの予測モデルはマクロ層とミクロ層からなる階層モデルである．マクロ層では音声の呼気段落区分での ON-OFF 区間からなるユニット区間にうなずきの開始が存在するかを予測する．予測には[i−1]ユニット以前のユニット時間率 R(i)（ユニット区間での ON 区間の占める割合，(2)式）の線形結合で表される(1)式の MA(Moving-Average)モデルを用いる．予測値 $Mu(i)$がある閾値を越えて，うなずきが存在すると予測された場合には，処理はミクロ層に移る．ミクロ層では音声の ON-OFF データ（30Hz，60 個）を入力とし，(3)式を用いて MA モデルでうなずきの開始時点を推定する．予測値が閾値を越えた場合にはエージェントをうなずかせる．本システムでは以上のうなずき反応モデルを用いて聴講者の代役エージェントがうなずき動作を行っている．

$$Mu(i) = \sum_{j=1}^{j} a(j)R(i-j) + u(i) \qquad (1)$$

$$R(i) = \frac{T(i)}{T(i)+S(i)} \qquad (2)$$

$a(j)$: 予測係数

$T(i)$: i番目ユニットでの ON 区間

$S(i)$: i番目ユニットでの OFF 区間

$u(i)$: ノイズ

$$M(i) = \sum_{j=1}^{k} b(j)V(i-j) + w(i) \qquad (3)$$

$b(j)$: 予測係数

$V(i)$: 音声データ

$w(i)$: ノイズ

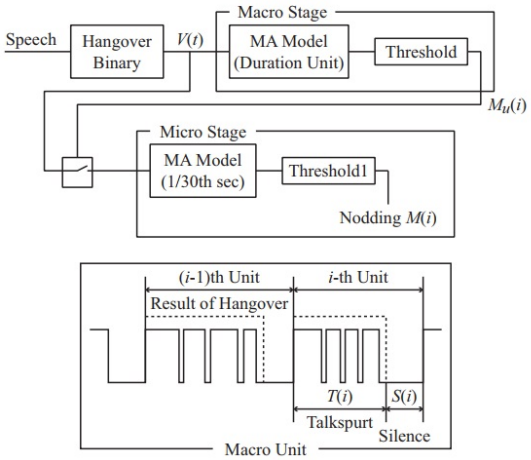


図５. 聞き手のインタラクションモデル

4　評価実験

4.1　実験方法

聴講者の代役としての身体引き込みエージェントシステムを用いて，プレゼン形式の Web 会議における発表者と聴講者に与える効果について評価実験を行った．図 6 に実験の様子を示す．本実験は 2 人 1 組で行い，それぞれ別室で行った．発表者にはこちらが用意した簡単なプレゼンの発表を行わせ，聴講者にはその発表の聴講を行わせた．本実験参加者は本学の大学生である男性 3 組 6 人と女性 3 組 6 人の計 12 人である．また，参加者 2 名の他にも「聴講者 2・3」のダミーユーザーを配置し，発表者の緊張感を高めている．



図６. 実験の様子

実験開始前に，発表者と聴講者には実験の流れ，アンケートの内容の説明を行った．その後，発表者にプレゼン内容の把握を 3 分程度行わせ，両者の準備が整い次第，プレゼンを開始した．この時，聴講者は A：カメラ機能 OFF による顔表示なし，B：カメラ機能 ON による顔表示あり，C：エージェントの表示の 3 モードでの表示方法でプレゼンを聴講させた．また，発表者は常にカメラ機能を ON にし，顔を表示した状態で発表を行わせた．なお，3 つのモードの提示順序は順序効果を考慮してランダムに提示した．発表は 2 分ごとに中断し，聴講者のモードの変更と両者にアンケートの記入を行い，3 モード全てについて評価を行ったのち，役割を入れ替えて同様の実験を行った．発表者には聴講者の 3 モードの表示方法を見ながら発表した時のそれぞれの印象，聴講者にはこの 3 モードの表示方法で聴講している時のそれぞれの印象についてのアンケートを記入させた．発表者には「発表しやすさ」「聞いてくれている感覚」「緊張感」「安心感」「ストレス感」「相手に発表が伝わったと感じたか」の 6 項目，聴講者には「聞きやすさ」「発表への参加感」「緊張感」「安心感」「ストレス感」「相手の話が理解できた」の 6 項目についてそれぞれ 7 段階官能評価を行わせた．

4.2　実験結果

発表者の 7 段階官能評価の結果を図 7，聴講者の結果を図 8 に示す．Friedman 検定の結果，発表者は「聞いてくれている感覚」，「緊張感」，「相手に伝わったと感じたか」の項目において有意水準 1%，「ストレス感」の項目において有意水準 5%で有意差が認められた．また，聴講者は「発表への参加感」の項目において有意水準 1%で有意差が認められ，「聞きやすさ」の項目においては有意水準 10%で有意傾向が見られた．

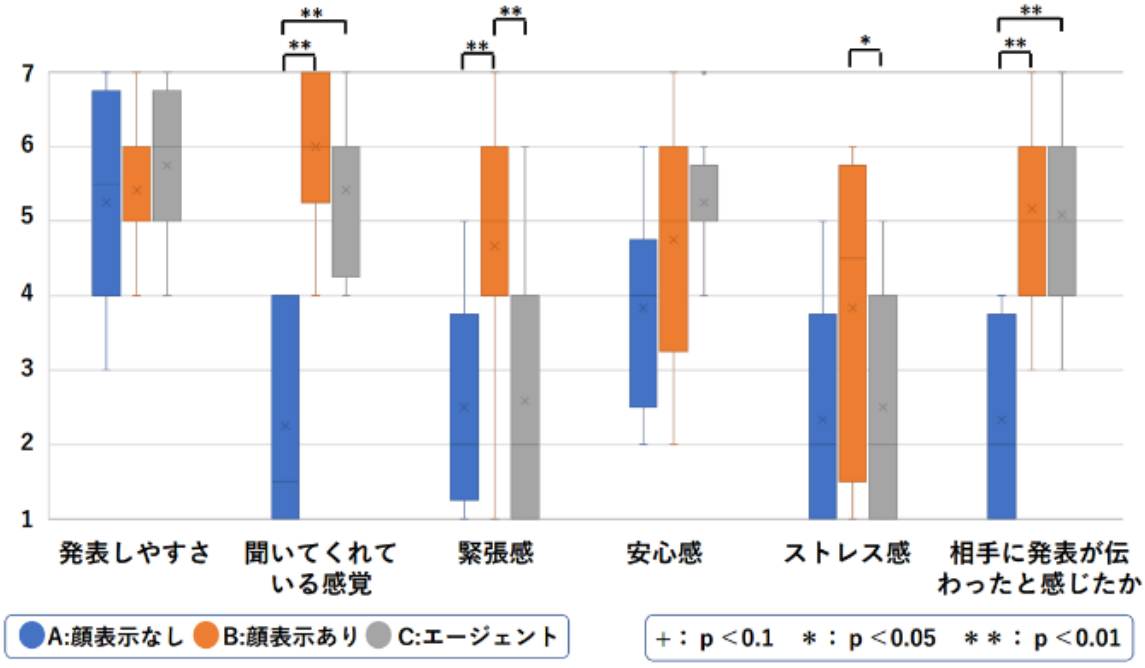


図７. 発表者の７段階評価結果

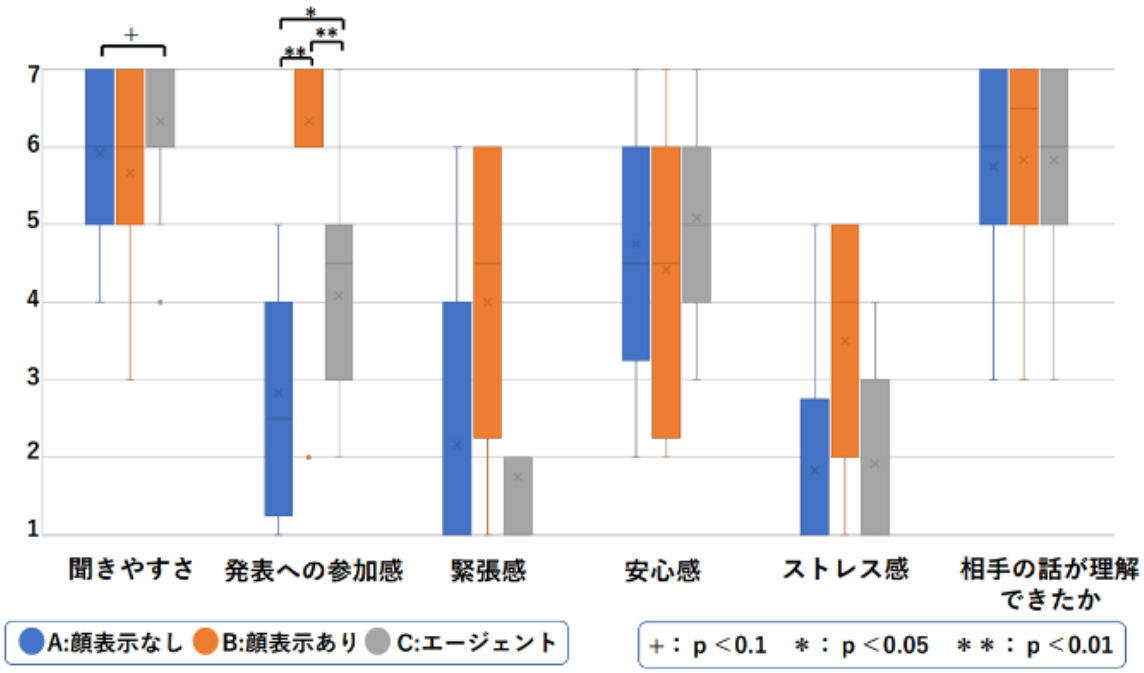


図８. 聴講者の７段階評価結果

次に，各モードの関係を調べるため Wilcoxon の符号順位検定による多重比較を行った．その結果，発表者の「聞いてくれている感覚」の項目で顔表示ありとなし，顔表示なしとエージェント間，「緊張感」の項目で顔表示ありとなし，顔表示ありとエージェント間，「相手に発表が伝わったと感じたか」の項目で顔表示ありとなし，顔表示なしとエージェント間において有意水準 1%で有意差が認められた．「ストレス感」の項目では顔表示ありとエージェント間において有意水準 5%で有意差が認められた．また，聴講者の「発表への参加感」の項目で顔表示ありとなし，顔表示ありとエージェント間において有意水準 1%で有意差が認められ，顔表示なしとエージェント間において有意水準 5%で有意差が認められた．「聞きやすさ」の項目では顔表示なしとエージェント間において有意水準 10%で有意傾向が見られた．

4.3　考察

本実験の結果より，発表者の官能評価では，「聞いてくれている感覚」，「相手に発表が伝わったと感じたか」の項目で顔表示なしとエージェント間において有意差が認められ，「緊張感」，「ストレス感」の項目では顔表示ありとエージェント間において有意差が認められた．このことから聴講者が代役エージェントを表示することで，発表者は顔を表示して聴講されるより緊張感やストレス感を感じにくく，顔を表示せずに聴講されるより発表が伝わったという感じや聞いてもらえている感覚があることが分かる．よって，本システムが発表者に対して，緊張感やストレス感を感じにくくするなどの効果があるシステムであるということが示された．聴講者は，「発表への参加感」の項目で，顔表示ありとエージェント間において有意差が認められたことから，代役エージェントを表示して聴講を行うことは，顔を表示して聴講を行う場合に比べて発表への参加感が低くなるという結果になった．顔を表示して聴講を行うと，画面に自分の聴講している様子が映ることや，聴講の様子を発表者に見られていると感じるため，顔表示せずに聴講する場合やエージェントを表示して聴講する場合に比べて発表への参加感が高くなっているのではないかと考えられる．

5　複数聴講者提示の検討

前章のシステム構成では顔表示なしのダミーユーザーを配置し，検討を行った．序章で述べた通り，著者らは対話音声に基づいて反応する影法師型オブ

ジェクトを配置したシステムを開発し，異なる主張を一つに収束させる合意形成によるコミュニケーション実験を行い，システムを介した対話が全体的に肯定的な評価を得ている[5]．聴講者以外の代役エージェントを複数配置した場合に，対話場の活性化を含めて異なる効果が得られる可能性があり，聴講者同様のエージェント表示を行うシステムを開発し，現在検討を進めている．



図９．複数エージェント表示例（聴講者側）

6　おわりに

本研究では，プレゼン形式の Web 会議を想定し，聴講者の代役として iRT を用いた身体引き込みエージェントを表示するシステムを開発し，発表者と聴講者に与える効果について評価実験を行った．その結果，聴講者の代役として身体引き込みエージェントを表示することで，発表者に対して緊張感やストレス感では顔表示なしと同等の効果が示された．また，相手に発表が伝わったと感じたかにおいては顔表示がある時と同等の効果が示されるなど，本システムの有効性を確認した．

参考文献

[1] 長尾 由伸，山崎 治：カメラ機能の有無による初対面同士のオンラインコミュニケーションへの影響; 日本認知科学会第 38 回大会, pp.766-770(2021)

[2] 葛西 響子，山本 景子，倉本 到．辻野 嘉宏：コウテイカボチャ: 聴衆に肯定的な反応を重畳する発表時緊張感緩和手法; 情報処理学会研究報告 2014-HCI-160(8), pp.1-8(2014).

[3] 渡辺 富夫：身体的コミュニケーションにおける引き込みと身体性－心が通う身体的コミュニケーションシステム E-COSMIC の開発を通して－．ベビーサイエンス,Vol. 2. pp. 4-12, (2003).

[4] 石井 裕，高田 友寛，渡辺 富夫：E-VChat：頭部動作連動型音声駆動身体引き込みキャラクタを対面合成した実映像対話システム，ヒューマンインタフェース学会論文誌，Vol.14, No.4, pp.467–476 (2012).

[5] 石井 裕，中山 志穂，渡辺 富夫：非接触計測による自己キャラクタ対面合成型実映像対話システム E-VChat の評価，ヒューマンインタフェース学会論文誌，Vol.16, No. 3, pp.179–186 (2014).

[6] 石井 裕，井上 翔太，渡辺 富夫：身体的引き込み観客システムを用いたアバタを介した合意形成対話支援，ヒューマンインタフェース学会論文誌，Vol. 16, No.4, pp.303–312 (2014).

細粒度のソフトウエア変更に伴う不具合の予測手法に関する調査

岡山県立大学情報工学部情報システム工学科
天嵜　聡介

近年、開発においてソースコード片単位での更新履歴を記録できる仕組みが広く受け入れられている。更新履歴の記録には、どの開発者がソフトウェアのどの部分の開発に貢献しているのかといった細粒度の情報を得ることができる。そのため、より細粒度の個々の開発者単位にパーソナライズされた不具合予測も実現の可能性が高まっている。パーソナライズされた不具合予測の課題の一つは予測の根拠となるデータが少なくなることである。そこで、個々のプロジェクトで利用できるデータが少ない状況を想定した技術である、プロジェクトを跨いだ予測モデル（Cross-Project Defect Prediction, CPDP）を、開発者を跨いだ予測モデル（Cross-Personalized　Defect Prediction, CPrDP)として利用した場合の有効性を調査した。複数のオープンソースソフトウェアプロジェクトで構成されたデータセットを用いた性能評価の結果、多くの CPDP 手法が CPrDP の予測精度に影響を及ぼすことが明らかとなった。多くの CPDP 手法が予測精度を低下させた一方で、少数ながら予測精度の向上に寄与する可能性がある CPDP 手法を特定できた。また、CPDP 手法によりパーソナライズされた不具合予測より良い性能を得られる可能性についても確認できた。

1.　はじめに

ソフトウェアの不具合が顕在化すると社会システムに大きな損害がもたらされる。ソフトウェア品質の重要性にもかかわらず、ソフトウェア開発に割り当てられる資源（人員、工期など）は有限である。効率的にソフトウェアの品質をチェックする必要があることから、ソフトウェアの部品が不具合を含む可能性を予測する研究が行われている。

近年、開発においてソースコード片単位での更新履歴を記録できる仕組みが広く受け入れられている。更新履歴の記録には、どの開発者がソフトウェアのどの部分の開発に貢献しているのかといった細粒度の情報を得ることができる。そのため、プロジェクト単位でなく、より細粒度の個々の開発者単位にパーソナライズされた不具合予測も実現の可能性が高まっている。

パーソナライズされた不具合予測の課題の一つは予測の根拠となるデータが少なくなることである。プロジェクトを跨いだ予測モデル（Cross-Project Defect Prediction, CPDP）は個々のプロジェクトで利用できるデータが少ない状況を想定した技術である。この技術が開発者を跨いだ予測モデル（Cross-Personalized　Defect Prediction, CPrDP)として利用できれば個人のデータが少なくてもパーソナライズされた不具合予測が利用できるようになる。

本報告書ではソフトウェア変更を対象とした開発者単位の不具合予測における CPDP 手法の性能についての調査結果を述べる。具体的には、以下の項目について報告する。

- **調査項目 1（RQ1）：** CPDP 手法は CPrDP の性能に影響を及ぼすか？
- **調査項目 2（RQ2）：**どの CPDP 手法が CPrDP の性能を向上させるか？
- **調査項目 3（RQ3）：**パーソナライズされた不具合予測は CPDP によって改善できるか？

これらの項目を調査するため、9 つのオープンソースソフトウェアプロジェクトで構成されたデータセットスイートを対象として、23 種類の CPDP 手法の性能を評価した。その結果、複数の CPDP 手法が CPrDP の予測精度に影響を及ぼすことが明らかとなった。多くの CPDP 手法が予測精度を低下させた一方で、予測精度の向上に寄与する可能性がある CPDP 手法も特定できた。また、パーソナライズされた不具合予測より良い性能を示す CPDP 手法も確認できた。よって、CPrDP には CPDP の導入が推奨される。

表 1 ソースコード片の変更履歴に関するメトリクス[2]

Dimension	Name	Definition
Diffusion	NS	Number of modified subsystems
	ND	Number of modified directories
	NF	Number of modified files
	Entropy	Distribution of modified code across each file
Size	LA	Lines of code added
	LD	Lines of code deleted
	LT	Lines of code in a file before the change
Purpose	FIX	Whether or not the change is defect fix
History	NDEV	The number of developers that changed the modified files
	AGE	The average time interval between the last and the current change
	NUC	The number of unique changes to the modified files
Experience	EXP	Developer experience
	REXP	Recent developer experience
	SEXP	Developer experience on a subsystem

表 2 データセットの概要

Project Name	Period	active developers.	average commits
Brackets	12/2011-12/2017	24	335
Broadleaf	11/2008-12/2017	14	674
Camel	03/2007-12/2017	17	1,509
Fabric8	12/2011-12/2017	10	914
Neutron	12/2010-12/2017	21	196
Nova	08/2010-01/2018	67	230
NPM	09/2009-11/2017	4	1,645
Spring-Integration	11/2007-01/2018	8	878
Tomcat	03/2006-12/2017	9	1,990

2. 方法

2.1. データセット

本調査では先行研究[1]において 9 つのオープンソースソフトウェアプロジェクトから収集されたデータセットを用いた。データセットは JIT defect prediction でよく用いられる 5 分野 14 種類のメトリクス[2]および不具合の有無を示すラベルを含む。表 1 にメトリクスの一覧および概要を示す。

パーソナライズされた不具合予測の対象を活動が活発な開発者とする。具体的には、不具合を含むコミットが 30 以上、不具合を含まないコミットが 30 以上ある開発者を活動が活発であると定義した。表 2 にプロジェクト名、収集期間、活発な開発者の数および彼らによる変更履歴の平均値を示す。プロジェクトによって活発な開発者の数が大きく異なる子ことがわかる。また、変更回数の平均値は少ないもので 200 回程度、多いものでは 2,000 回近くであり、データセットが多様であることを示している。

2.2. 実験手順

CPrDP では、個々の開発者によるソフトウェアへの変更が量的に不十分であるため、他の開発者による変更情報と不具合の有無に関するデータセットを用いる状況を想定している。詳細な分析では、個々の変更が行われた日時などを考慮して開発活動のリプレイをすることが望ましい。しかしながら、実験設定が簡素である方が CPDP の性能を評価しやすい。また、後述する性能評価のフレームワークを利用することも可能となる。本研究では、時系列的な順序にこだわらず、他の開発者による変更全てを利用して、開発者個々人の変更に対する不具合予測を実施した。

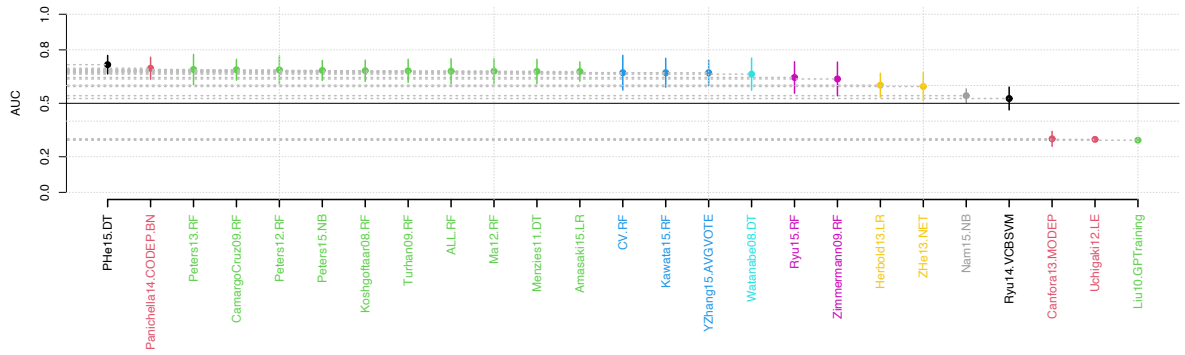


図 1　Scott-Knott ESD による CPDP 手法のランキング（Brackets）

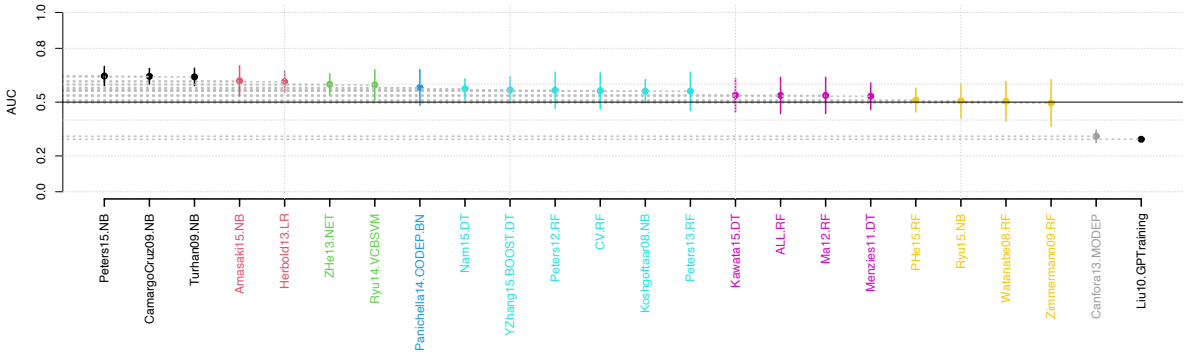


図 2　Scott-Knott ESD による CPDP 手法のランキング（Broadleaf）

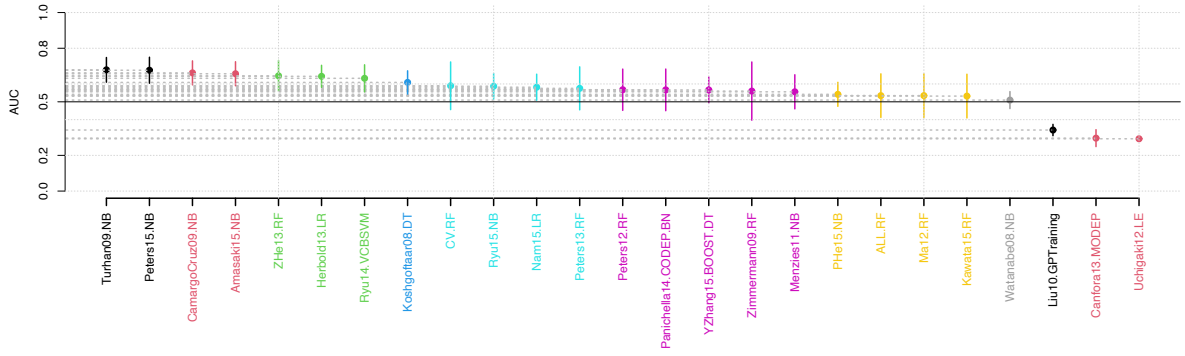


図 3　Scott-Knott ESD による CPDP 手法のランキング（Camel）

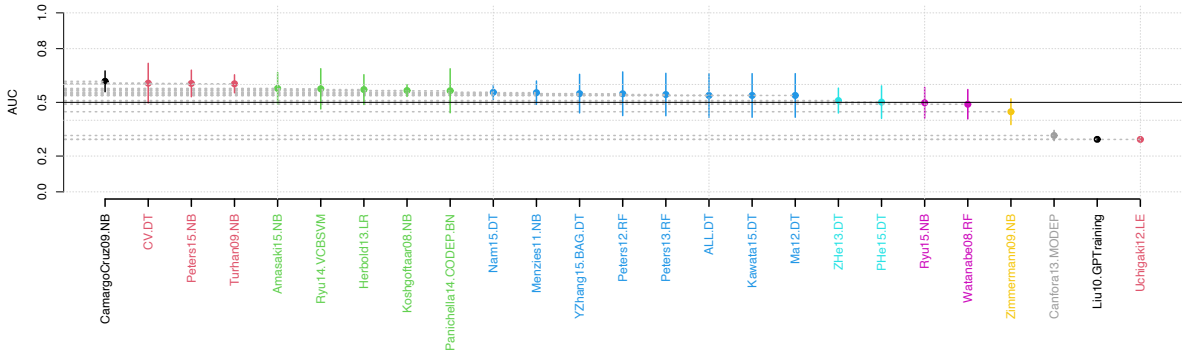


図 4　Scott-Knott ESD による CPDP 手法のランキング（Fabric8）

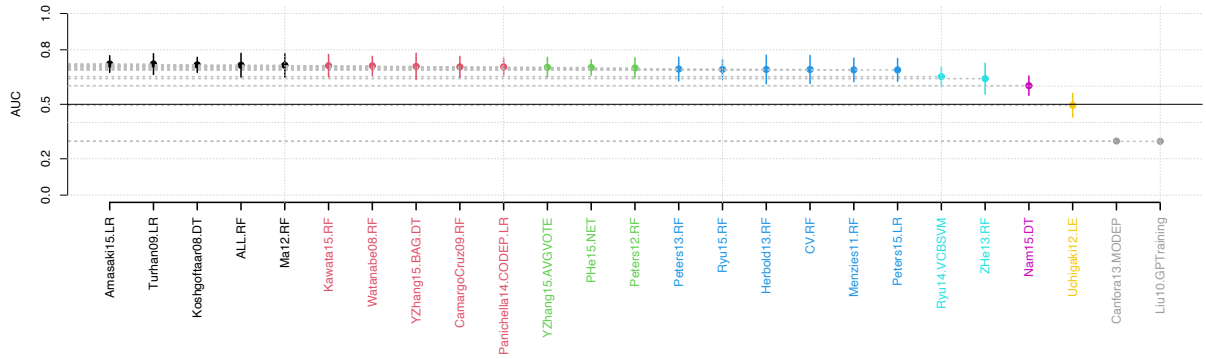


図 5　Scott-Knott ESD による CPDP 手法のランキング（Neutron）

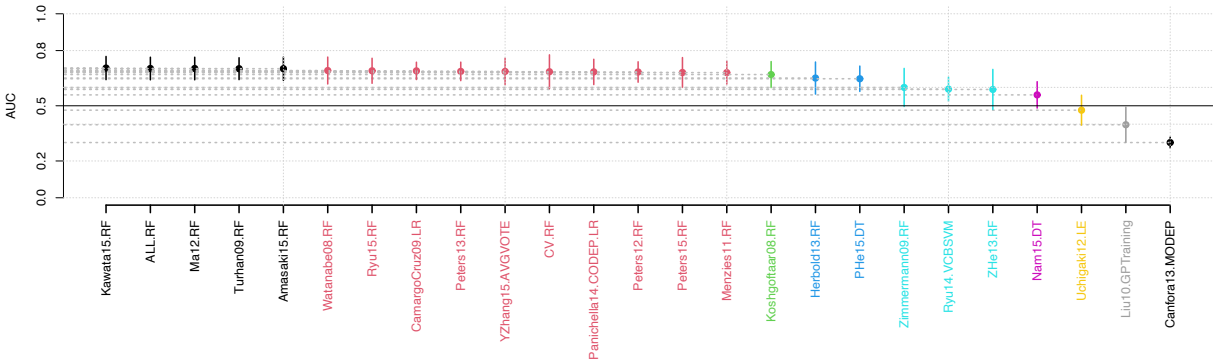


図 6　Scott-Knott ESD による CPDP 手法のランキング（Nova）

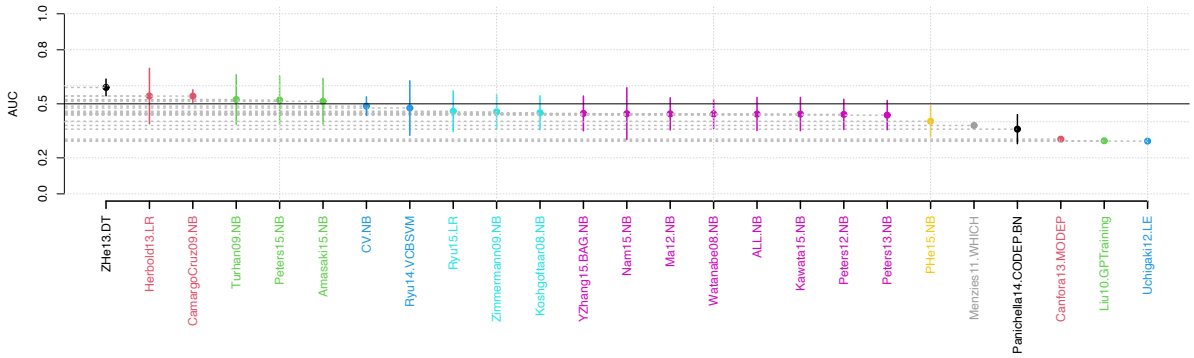


図 7　Scott-Knott ESD による CPDP 手法のランキング（NPM）

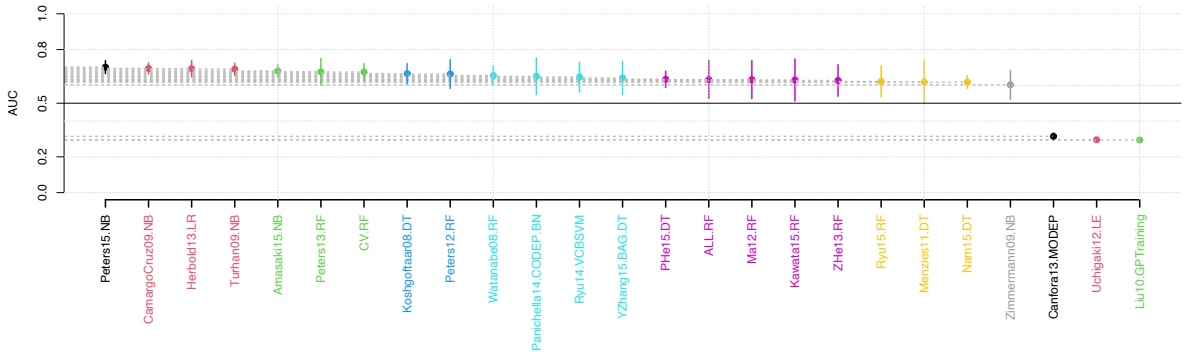


図 8　Scott-Knott ESD による CPDP 手法のランキング（Spring-Integration）

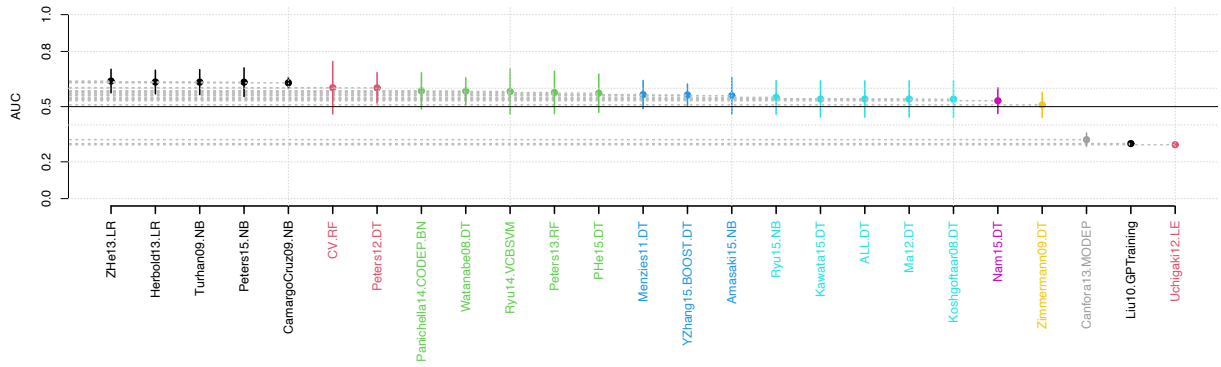


図 9　Scott-Knott ESD による CPDP 手法のランキング（Tomcat）

評価実験には CPDP 手法のベンチマーク用に開発された CrossPare を用いた。CPDP 手法としては先行研究で提案されて CrossPare で実装された 23 種類の手法を評価実験に用いた。複数の CPDP 手法は主にデータ変換に関わるものであり不具合の有無の予測には任意の機械学習手法を組み合わせることが可能である。これらの CPDP 手法については CrossPare で利用できる複数の機械学習手法と組み合わせて性能を評価した。

2.3.　性能評価指標

本調査では AUC(Area Under the Receiver Operating Characteristic Curve)を性能評価指標とした。AUC は不具合予測のような正例と負例に大きな偏りがある場合に用いられることが多い。AUC が 1.0 のとき全て正確に予測できていることを示す。また、AUC が 0.5 の時にランダムな予測の結果と一致する。

CPDP 手法および基準となる予測手法との比較には Scot-Knott Effect Size Difference (ESD) を用いた。Scott-Knott ESD は複数の CPDP 手法を性能評価指標の値の統計的に有意な差異に基づいて複数のクラスタに分割する評価方法である。各クラスタ内の CPDP 手法は互いに統計的に有意な差がない。一方、クラスタ間では一定以上の有意な差が存在する。最上位のクラスタに含まれる CPDP 手法が最も性能が高いと言える。

3.　結果

図 1~図 9 に Scott-Knott ESD によるランキングの結果を示す。多くの CPDP 手法は組み合わされた機械学習手法名と一緒に表記されている。機械学習手法として決定木 (DT)、ナイーブベイズ (NB)、ランダムフォレスト (RF)、およびロジスティック回帰 (LR) を用いた。ただし、CPDP 手法と機械学習手法の組み合わせの数は多いので、最も性能が高い機械学習法との組み合わせのみ図に示している。例えば、図 1 の最高位にある PHe15 は決定木との組み合わせのみ図に示されているが、それ以外のナイーブベイズとの組み合わせなどは省略されている。また、「ALL」は CPDP 手法を使用しない単純な CPrDP を示す。「CV」は交差検証の結果であり、本調査では通常のパーソナライズされた不具合予測の結果と見なしている。

図 1 では ALL が 3 番目、CV が 4 番目のグループにいる。つまり、単純な CPrDP がパーソナライズされた不具合予測より良いことを示す。PHe15 と Panichella14 はこれらより良い性能を示した。

図 2 では CV が 4 番目、ALL が 6 番目のグループにいる。14 の CPDP 手法によって CPrDP の有意な改善が見られた。8 の CPDP 手法はパーソナライズされた不具合予測より高い性能であった。Peter15, CamargoCruz09, Turhan09 が最も良い性能を示した。

図 3 では CV が 5 番目、ALL が 7 番目のグループにいる。16 の CPDP 手法によって CPrDP の有意な改善が見られた。8 の CPDP 手法はパーソナライズされた不具合予測より高い性能であった。Peters15 と Turhan09 が最も良い性能を示した。

図 4 では CV が 2 番目、ALL が 4 番目のグループ

にいる。8 の CPDP 手法によって CPrDP の有意な改善が見られた。CamargoCruz09 はパーソナライズされた不具合予測より良い性能を示した。Peters15 と Turhan09 が最も良い性能を示した。

図 5 では ALL が最高位のグループにいる。CV は 4 番目であった。つまり、CPrDP の性能を有意に改善する CPDP 手法は見つからなかった。

図 6 でも ALL が最高位のグループにいる。CV は 2 番目であった。つまり、CPrDP の性能を有意に改善する CPDP 手法は見つからなかった。

図 7 では CV が 4 番目、ALL が 6 番目のグループにいる。10 の CPDP 手法によって CPrDP の有意な改善が見られた。6 の CPDP 手法はパーソナライズされた不具合予測より高い性能であった。ZHe13 が最も良い性能を示した。

図 8 では CV が 3 番目、ALL が 6 番目のグループにいる。12 の CPDP 手法によって CPrDP の有意な改善が見られた。4 の CPDP 手法はパーソナライズされた不具合予測より高い性能であった。Peters15 が最も良い性能を示した。

図 9 では CV が 2 番目、ALL が 5 番目のグループにいる。14 の CPDP 手法によって CPrDP の有意な改善が見られた。ZHe13, Herbold13, Turhan09, Peters15, CamargoCruz09 はパーソナライズされた不具合予測より高い性能であった。

4. 考察

4.1. RQ1

本研究で対象とした CPDP 手法の多くが ALL と同じグループに分類された。一方で ALL より良い性能を示すもの、悪い性能を示すものも確認できた。このことから、CPDP 手法によって単純な CPrDP の予測性能は有意に変化したと言える。

4.2. RQ2

実験結果から、全てのプロジェクトにおいて単純な CPrDP より性能が良い CPDP 手法は見つからなかった。ただし、単純な CPrDP と比べて少なくとも全てのプロジェクトにおいて性能が同等以上であったものとして、Amasaki15 と Turhan09 が挙げられる。これらの手法は単純な CPrDP と比べて、6 つのプロジェクトにおいてより性能が高く、3 つのプロジェクトにおいて同等の性能を示した。

4.3. RQ3

実験結果より、9 つのプロジェクトのうち 6 つでパーソナライズされた不具合予測は単純な CPrDP より高い性能であった。一方で、これらのプロジェクトでより高い性能を示す CPDP 手法を用いた CPrDP が確認された。残りの 3 つのプロジェクトでは、パーソナライズされた不具合予測は CPrDP より性能が低かった。CPDP 手法の中では Turhan09 が CPrDP には良い手法と言える。

5. まとめ

本調査では CPrDP における CPDP 手法の有効性について検証した。その結果、多くの CPDP 手法が予測精度に影響を及ぼすことが明らかとなった。予測精度を低下させる CPDP 手法がある一方で、少数ながら予測精度の向上に寄与する可能性がある CPDP 手法を特定できた。また、CPDP 手法によりパーソナライズされた不具合予測より良い性能を得られる可能性についても確認できた。

今後の研究では、実際の開発の進み方をシミュレーションする形で性能評価を行っていく。また、ソフトウェアメトリクスに加えて自然言語処理により得られる情報を予測に用いた場合の有効性についても調査を進めていく。

参考文献

[1] G. G. Cabral, L. L. Minku, E. Shihab, and S. Mujahid, “Class imbalance evolution and verification latency in just-in-time software defect prediction,” in 2019 IEEE/ACM 41st International Conference on Software Engineering (ICSE), 2019, pp. 666–676.

[2] Y. Kamei, E. Shihab, B. Adams, A. E. Hassan, A. Mockus, A. Sinha, and N. Ubayashi, “A large-scale empirical study of just-in-time quality assurance,” IEEE Transactions on Software Engineering, vol. 39, no. 6, pp. 757–773, 2013.

閑谷学校の水路について

岡山県立大学デザイン学部建築学科

向山　徹

（概要）

本研究では、閑谷学校における石組みの水路が、学びの場・祈りの場・そして追悼の場をつなぎながら、それぞれ固有の場所の様態をつくりだしていることを写真測量によるモデリングにより示すことを試みた。学びの場においては、水路としての物理的な境界として存在すると同時に地形と建築を融合させ、祈りの場および追悼の場においては、水路と高さを違えて交差する結界により聖性を高め、東端の沢との境界においては繊細かつダイナミックな水の動きの制御により追悼の場の大地性を引き出していた。

1　成果報告(1)

既稿[1)]に続き、本稿では、凸としての石塀・石垣による閉じた囲いの中を、雨水が東西に流れる凹としての水路が生む場所の様態について考察することを目的とする。

2　調査箇所

今回は、学びの場の文庫裏手から始まり、椿山東の沢まで続く、石組みの水路の 6 か所について写真測量によるモデリングで可視化し考察した。

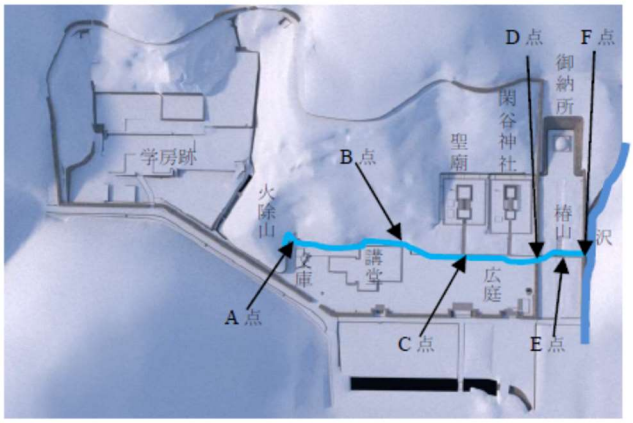


図１　調査箇所　A 点～F 点

2－1　A点：火除山と文庫裏手の水路

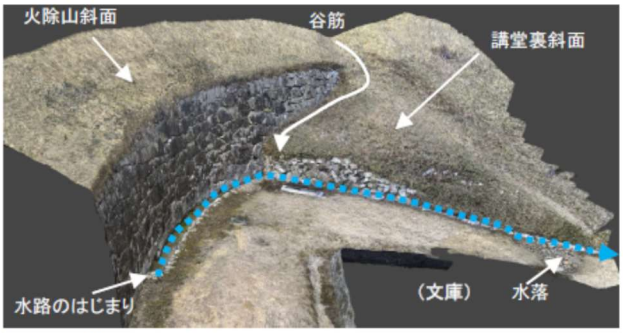


図２　火除山・文庫裏手

A点は文庫の裏手にあたり、火除山からの斜面を受ける石垣と講堂裏手の斜面を受ける大小の石垣が、両斜面を噛み合わせるように築かれている。雨水はこれらの石垣と文庫側の自然石による石組みでつくられた水路によって東に流れる。また、文庫の樋からの雨水は水落から水路に導かれる。二つの斜面と文庫が、水路を流れる雨水によって融合する場所の様態がみられる。

2－2　B点：講堂裏から広庭へ抜ける水路

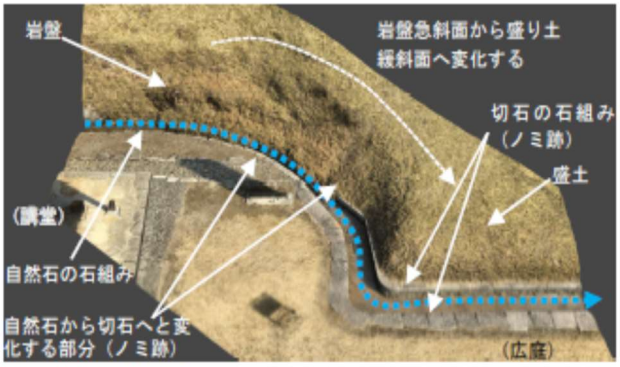


図３　講堂北東部水路

B点は、切土によって現れた岩盤斜面と講堂側の自然石の石組みの水路から、聖廟側から続く盛土による緩斜面が擦り付けられた切石と広庭側の切石による水路へと変化する場所である。講堂裏手の急斜面の岩盤によって垂直に開けた場所は、山から海へ流れ出る大河のような水路の変化と共に、聖廟側の緩斜面と広庭に水平に開けた場所へと様態が変化する。

2－3　C点：聖廟前の石橋の下を通る水路

C点は、椿山方向に流れる水路に、聖廟へ上がる石段に接続する石橋が架かる場所である。根石の上にノミ仕上の切石が並行に敷かれ、盛土による聖廟からの斜面と水平の広庭が両側から擦り付く。東西方向の水路に南北方向の石橋が交差し、雨水の流れと石段の上昇による聖性の高まりの始点としての様態がみられる。

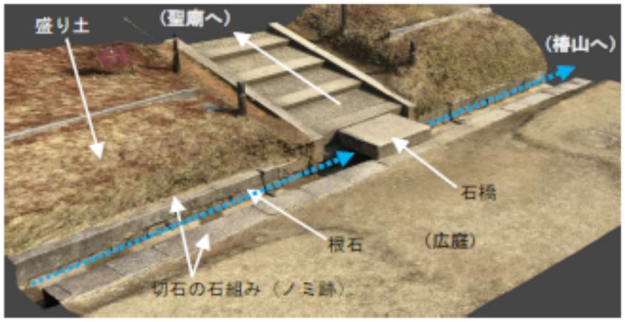


図４　広庭の水路と石橋

2－4　D点:蒲鉾型石塀の下を椿山へ貫通する水路

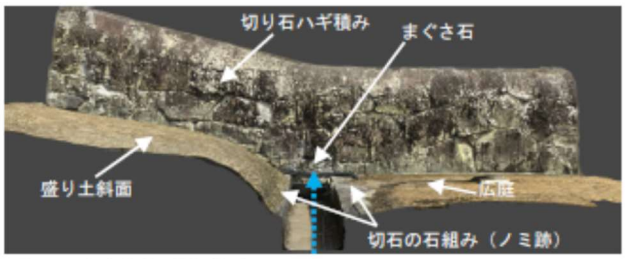


図５　広庭と椿山の境界部分

D点は、広庭から椿山方向へ水路が貫通する場所である。地盤面下 1.7m 近くまで根石が積まれている蒲鉾型塀も、水路が貫通する部分は大きめのまぐさ石を架けて上部の石塀を支えている。石塀に穴を開けるのではなく石塀の形を保持しながら水路を交差させている。聖廟や閑谷神社の石橋と同じように、水路と橋の交差の手法を見ることができる。この交差部のディテールによって、広庭と椿山の境界は、より緊密なつながりをもたらす様態へと変化している。

2－5 E点:椿山の石橋の下を通る水路



図６　御納所に向かう石段手前の石橋と水路

E点は、聖廟・閑谷神社前と同じ構成であるが、水路を囲う石組みや御納所に向かう石段も、切石ではなく自然石である。また東の沢の方向に雨水が流れてF点において蒲鉾型石塀に排水口があけられて沢に排水されているという予想に対して、石塀に開けられた孔は奥で塞がれており、雨水の流れを観察すると石橋の手前で椿山の南の地中に吸い込まれている。広庭と聖廟・閑谷神社の間に存在する雨水の流れと石橋の交差による結界としての明瞭さはなく、椿の密植と雨水の浸透を受容する大地的な場所としての様態がみられる。

2－7　F点:椿山東端石塀の沢側

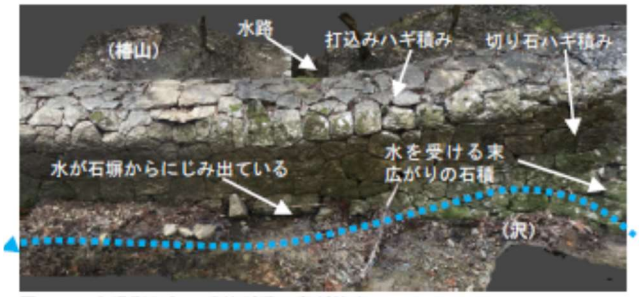


図８　G点沢側から　手前が沢　奥が椿山

F点沢側は、石塀の天端および椿山側は打ち込みハギ積であるが、沢側は大水の際に水を受け流すためか、末広がりの形状かつ切り石ハギ積の部分もあり、沢床まで石敷きが施され、深いところで 2700mm にもなる場所もある。石塀にはっきりとした排水口が見当たらないが、水路の位置にあたる沢側の石塀の隙間から水がわずかに流れ出ていることからも、水位が上がった際に椿山に水が逆流しない配慮がなされている可能性も考えられる。

3　おわりに

本稿では、火除山から始まる水路が、学びの場・祈りの場・そして追悼の場をつなぎながら、それぞれ固有の様態をもつ場所をつくりだしていることを示した。

学びの場においては、水路としての物理的な境界として存在すると同時に地形と建築を融合させ、祈りの場においては、水路と高さを違えて交差する結界により聖性を高め、追悼の場においては大地性を示唆する繊細かつダイナミックな水の動きを制御していた。石塀に見られた「学びの場」のかたち1は、水路の微細なつくられ方においても見出すことができた。

注

1）向山徹・河田智成「閑谷学校における石塀について－閑谷学校の環境技術に関する研究3－」2021 年度日本建築学会中国支部研究報告集、第 45 巻、

図版出典

1～8　研究協力者作成

本研究は（公財）ウエスコ学術振興財団の助成を受けて実施いたしました。ここに記して感謝申し上げます。

以上、2022 年度日本建築学会大会梗概集に掲載したものを成果報告(1)とさせていただきます。

1　成果報告(2)

既稿[1)]において、火除山から始まる水路が、学びの場・祈りの場・そして追悼の場をつなぎながら、それぞれ固有の場所の様態をつくりだしていることを写真測量によるモデリングにより示した。学びの場においては、水路としての物理的な境界として存在すると同時に地形と建築を融合させ、祈りの場および追悼の場においては、水路と高さを違えて交差する結界により聖性を高め、東端の沢との境界においては繊細かつダイナミックな水の動きの制御により、追悼の場の大地性を引き出していた。

本稿では、祈りの場と追悼の場における、北側の斜面との境界線を形成する水路及び石積みが生む場所の様態について考察することを目的とする。

本稿では、地形に対して掘削する、水路をつくるなど削減する形状変化の様態を凹、地形に対して土を盛る、塀をつくるなど付加された形状変化を凸と明示する。

2　調査箇所の概要

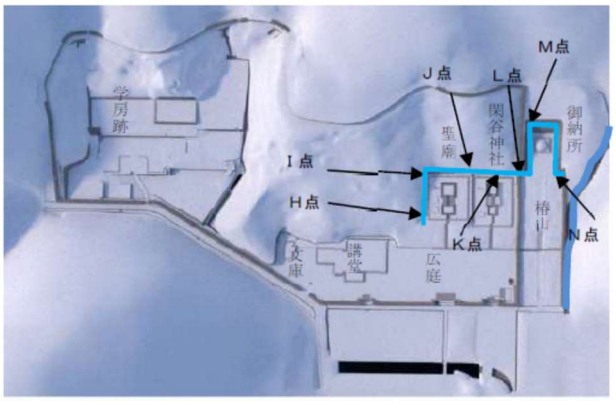


図１　調査箇所

今回は、聖廟南西角から始まり聖廟・閑谷神社の北側を経て、御納所に抜ける水路について、写真測量によるモデリングで可視化し考察した。

聖廟と閑谷神社は斜面を切り広げた切り土部分と広庭に向かう盛り土部分がすり合う地盤に、聖廟を1mほど高所に高さを違えて配置されている。

それぞれ四方を凸としての練塀に囲われ、造成する際の掘削によって現れた西と北の岩盤の掘削面との間に2m ほどの隙間をおいて配置されている。

凹としての掘削面と切り土による平地との境界線部分に、切り石によって直線状に整えられた縁石が埋め込まれ、掘削面との間に凹としての水路が形成されている。

また、聖廟・閑谷神社構内の練塀の下端部分に、切り石による集水桝が設置され、構内の雨水が凸としての練塀の下をくぐる形で切り石による凹としての水路によって前掲の水路へと接続される。この構成は、聖廟西側から閑谷神社北側にかけて踏襲されている。

水路は神社北側を東に進み、追悼の場・御納所との境界である凸としての蒲鉾型石塀の下をくぐり、塚の周囲を囲う二段の石積みの際に築かれた切り石による水路へと導かれる。この石積みの際を曲線を描いて巡る水路は、そのまま東の沢との境界を形成する蒲鉾型石塀に向かい、石塀下をくぐることはなく石塀に当たり、終端となる。この最後の終わり方に、既稿[2)]でも触れた水利における場所の読み取りが見られることも含め、以下考察する。

3－1　　H点



図２　H点（南東側より見る）

H 点は、本稿が対象とする水路が始まる場所である。北西からの斜面の掘削面が始まる場所でもある。ここを境に切土と埋め土が切り替わっている。したがって、この場所は切土による掘削による斜面の改変と、斜面からの雨水を受け止める水路が同時に始まる祈りの場形成の契機としての様態を見ることができる。

以下、前項で示した祈りの場と水路との関係性を丁寧に見てゆく。

既稿[3)]で示した講堂裏手の掘削された急斜面は、広庭に開けてゆくに従い、広庭の切り土による平坦部の上に埋め土を施した緩斜面へと変化し、学びの場から祈りの場へと広庭の水路と共に東西方向の場所の受け渡しが行われていた。この受け渡しは、H 点において凹

としての掘削面と凹としての切り石による水路のはじまりによって、南北方向の場所の受け渡しへと移り変わる。水路の石組のはじまりの先端部分は、掘削面と盛り土の緩斜面を緩やかに切り離し、切り開かれた領域に祈りの場を形成する契機となっているのである。

この水路が北向きに方向を変えて間もなく、聖廟内の集水桝から凸としての練塀下を潜り抜けた凹として



図３　H点（北側より見る）

の切り石による水路が接続する。凹としての水路によって切り開かれた領域を凸としての練塀が囲い、さらに凹としての水路によって接続されることにより、水路を流れる動的な雨水の様態が、聖廟構内に浸透・蒸散する静的な雨水の様態による場所を開いている。

3－2　　I点



図４　I点（南側より見る）

I 点では、聖廟の北西角にあたり、斜面の掘削面がさらに高さを増して岩盤の岩肌が如実に現れ、水路が直角に東方向に向きを変えている。H 点での動的な雨水の様態と静的な雨水の関係が交差する場所の様態は、そのまま引き継がれている。

水路が東に向きを変えると掘削面の岩盤が低くなる。このあたりから斜面の等高線が緩やかに北東に徐々に向きを変える。東に方向を変えた水路が 3m ほど進んだところで、掘削面の岩盤に擦り付けられるように土留めとしての石積みが始まり、御納所との境界の蒲鉾型石塀まで続き、岩盤は斜面の中に消えてゆく。

自然の斜面を掘削することによる岩肌をそのまま現わした凹としての掘削面と切り石による水路により開かれた祈りの場は、地形に対して土留めとして付加された凸としての石積みと切り石の水路で囲われた場へと変化している。

3－3　J点

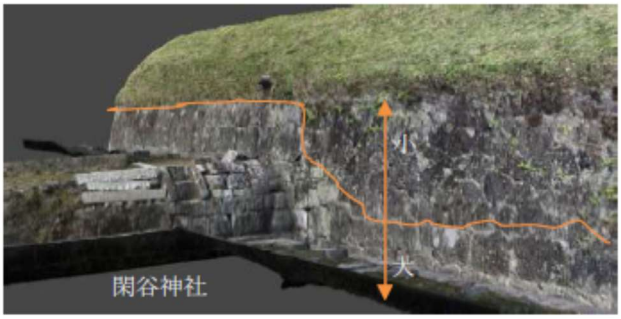


図５　　J点（南東側より見る）

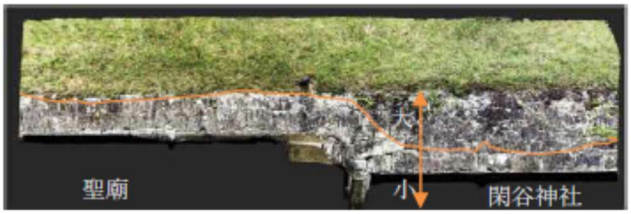


図６　　L点（南側より見る）

J点は聖廟と閑谷神社の境界の段差に設けられた南北方向の水路が、I点から続く東西方向の水路と接続する部分である。I点において、凹としての掘削面と切り石の水路から凸としての石垣と切り石の水路に変化した様態の変化は、J点においても引き継がれ、閑谷神社のレベルが聖廟より約1m低いことから、石垣の高さも聖廟裏手の 1m から 2m へと変化している。

石の大きさに着目すると、聖廟裏手の石のサイズが、閑谷神社裏手の石垣の下部に引き継がれ、その上にサイズの小さな石が積まれている（図5, 6）

ここでは、大きな石の上に小さな石を積む段階的な石積みの様態変化を読み取ることができる。

3－4　K点

K点は、J点での石積みの様態変化が受け渡されて、既存地形に合わせて大きなサイズの石がJ点より連続して積まれ、その上に小さな石が積み足されている様

態を鮮明に見ることができる。

孔子を祀る聖廟と藩主池田光政を祀る閑谷神社のレベル差は、既存の地形によるレベル差を聖人と武人の関係に置き換えていると思われるが、背後の石積みは石の大きさを大から小へと違えながらも、埋め土と石積みによって同じ高さを維持している。

ここでは、聖廟西側の凹としての掘削面と切り石による水路の様態から、凸としての埋め土と石積みと切り石による水路への様態変化の中に、祈りの場形成の契機が意識的に図られたことが読み取れる場所といえよう。



図９　K点（南東側見下ろし）

3－5　L点

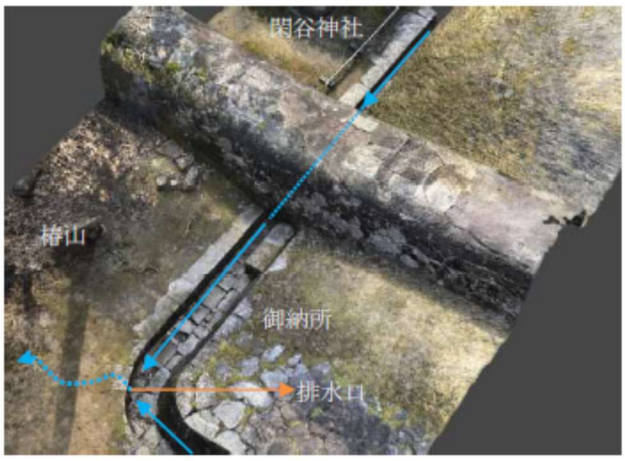


図１０　L点（北東側より見下ろす）

祈りの場からの水路が追悼の場である御納所・椿山方向へ貫通する場所である。地盤面深くまで根石が積まれている蒲鉾型石塀も、水路が貫通する部分は大きめのまぐさ石を架けて上部の石塀を支えている。石塀に穴を開けるのではなく、石塀の形を保持しながら水路を交差させている。祈りの場における凸としての練塀と凹としての水路の交差部と同様の手法を見ることができる。この交差部によって、祈りの場と追悼の場の境



図１１　L点（東側より見る）

界は、より緊密なつながりをもたらす様態へと変化している。

石塀をくぐった水路は、曲面を描く二段積の石積みに沿って御納所内へと導かれる。水路の幅は緩やかな曲線を描いて北に方向を変える。水路の曲線部分内側には椿山方向に地中に雨水を導く排水口が開けられ、大地に深く染み渡る水の様態を見ることができる。

3－6　M点



図１２　M点（東側より見る）

御納所の一段目石積は切り石ハギ積による同一傾斜の石積、二段目は打込みハギ積による三次元曲面の石積である。一段組の石積みは、既存斜面を掘削した凹としての様態、二段目の石積みは、後背地の大きな盛り土による斜面を支える凸としての様態、このふたつの様態が重ね合った石積みであることが推定される[4)]。

急勾配の二段組すり鉢型の石積みの上を、雨が石の汚れを洗い流すように速度を上げて流れ落ち、水路に導かれることにより、常に清浄な場所として保たれる様態を見ることができる。

3－7　N点

N点は、東の沢との境界である蒲鉾型石塀が徐々に地中に埋もれ、すり鉢状の三次元の石積みが勾配を緩めながらほぼ水平に近くなりながら地面と摺り合い斜

面に埋もれる。凸としての石塀と凹としての石積みによ

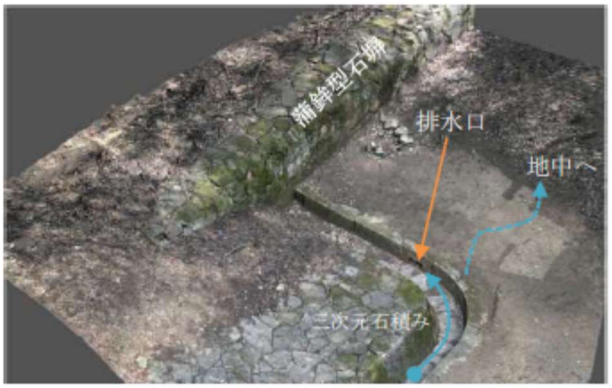


図１４　N点（北西側より見下ろし）

る共に終端としての様態が見られる場所である。

広庭から椿山との境界の石塀をくぐりぬけ、椿山を横断する水路が、沢に直接的に接合されていなかった[5)]のと同様、石塀と交差して沢に雨水を導くことなく石塀に当たって行き止まりとなる。L点同様、水路の曲がり角内側に椿山方向に地中に雨水を導く排水口が開けられている。水路が単なる水路ではなく最終的には追悼の場の地中深くにつながる様態を現わしている。

4　まとめ

閑谷学校の水路については、既稿[6)]において、火除山から始まり講堂裏から広庭を介して椿山まで続く水路について、現地の実測調査・写真測量からのモデリングによる可視化を行い、水路を形成する石組みの様態の詳細とその変化を明らかにした。本稿はそれに引き続き、祈りの場と追悼の場をつなぐ水路について同様の手法で考察を行い、次の４点に整理した。

・水路は、水路を縁どる石組だけではなく、凹としての掘削面、凸としての石積みなど、凹としての水路を成立させる凹凸の地形改変要素や石塀等によって様々な様態を現わす。

・祈りの場・追悼の場の水路は、聖域としての静謐性・清浄性などの場所形成の契機となっている。

・水路がはじまる場所は、祈りの場としての領域を開く契機となっている。

・水路が終わる場所は、追悼の場としての場所性を深める契機となっている。

次稿では、今まで明らかにしてきた石塀・水路について、その形成過程に関わる他の遺構に注目して、閑谷学校の場所形成契機について、さらなる考察を進めたい。

注

1)～3)、5)、6)向山徹・河田智成「閑谷学校における水路について(1)-閑谷学校の環境技術に関する研究5-」2022 年度日本建築学会大会学術講演梗概集

4)　閑谷学校東側を流れる沢は、当初、現在の御納所・椿山を縦断する経路で流れており、御納所・椿山建設に当たり沢を現在の位置に流れを改変し、その際に御納所の後背地が盛り土された可能性もあるとの見解（上栫武「閑谷学校の校地造成」-2022 年度閑谷学校おもしろゼミナール第１回-2022 年８月 27 日にて）を参考に推定した。「閑谷新田村図」（部分）（岡山大学蔵）には沢の流れが改変された痕跡が残されている。



「閑谷新田村図」（部分）（岡山大学蔵）　印：著者付記

図版出典

図1～図 11　筆者、研究協力者作成。

謝辞：本研究は、（公財）ウエスコ学術振興財団の助成を受けて実施いたしました。ここに記して感謝申し上げます

以上、2022 年度日本建築学会中国支部研究報告集に掲載したものを成果報告(2)とさせていただきます。

国立台南芸術大学と岡山県立大学の工芸分野交流展における茶室での展示効果について

岡山県立大学デザイン学部工芸工業デザイン学科

渡邉　操

（概要）

岡山県立大学はデザイン分野において国立台南芸術大学と国際交流をおこなってきた。近年、モノ離れが加速し遠隔コミュニケーションが増えている環境の中で、人々は情報伝達ではない心の触れ合いの重要性を今まで以上に改めて意識することになったのではないかと考え、お茶文化のある日本と台湾の工芸分野交流展（セラミックとテキスタイル）を通し、現代工芸が今後どのように人のコミュニケーションに関わることができるか検証を行った。「Tea bowl」を共通テーマに各作家が制作を行い、お茶室という一つの空間に作品を並べ展示をし、来場者を対象に質問紙にて調査を行った。お茶室という空間とお茶道具の一つである器の作品を実際に使用する距離感で作品を鑑賞することができ、鑑賞者にとって物理的にも心理的にもより近づくことができることがわかった。そして、現代工芸作品が人との会話を弾ませるきっかけとなり、コミュニケーションの「場」を形成できることが確認できた。現代工芸の新しい展覧会の観賞方法を提供することができ、人と社会を想像的につなぐことができる工芸の重要性を改めて炙り出しすることができたと考える。

1.研究背景と目的

古来より工芸は生活の中でモノとして使用されることにより現代へと継承されてきた。生活の中で機能の重要性は必然であるが、同時に、色や形、佇まいなどで工芸は生活空間を彩り、美意識ある茶道としても形成され今日に至っている。

岡山県立大学はデザイン分野において国立台南芸術大学と国際交流をおこなってきた。特にセラミックとテキスタイル分野では意欲的に研究や大学教育の場で相互授業を行うなどお互いの教育研究を推進してきた。交流し分かったことは、台湾と日本の共通文化としてお茶があり、それぞれの国で文化として昇華され、お茶は人と人のコミュニケーションの場・時間を作りだし、寄り添うように工芸は道具や空間演出要素として存在し役割を担ってきたことである。それは両国のお茶の共通部分でもありながら、気候風土、身近にある素材、そして人との関係性への考え方等の相違により独自性ある「茶道」の型として発展してきた。

近年、心の交流やコミュニケーションの場を創出してきた「お茶の時間を一緒に過ごす」ことが、精神医療分野や地域社会つくりで、世界的に改めて重要視されており、人のコミュニケーションが主体となっている。一方で、現代社会では、ヴァーチャルな存在が実体のあるモノコトを凌駕する風潮を生み出しており、2019 年からのパンデミック発生以降、人々の生活や社会の営みは選択肢も無く急変し、本物に接する機会は激減している。モノ離れが加速し遠隔コミュニケーションが増えている環境の中で、人々は情報伝達ではない心の触れ合いの重要性を今まで以上に改めて意識することになったのではないかと考える。

本研究では、この新たな潮流の狭間で、現代工芸が今後どのように人のコミュニケーションに関わることができるか、お茶文化のある日本と台湾の工芸分野交流展(セラミックとテキスタイル)を通して、検証を行うことを目的とした。

2.研究方法

「Tea bowl」という共通テーマをもとに、岡山県立大学と国立台南芸術大学のセラミックとテキスタイルの作家でもある教員が作品を制作し、お茶室という一つの空間に作品を並べ展示を行った。そして、工芸作品がどのように人のコミュニケーションに関わることができるか、一般的な作品展示様式の展覧会との関係性について来場者に質問紙にて調査を行い、考察を行った。

3.展覧会について

「現代工芸のダイアローグ-岡山県立大学×国立台南芸術大学　交流展」の一部としてお茶室での展示を行った。

出品者は以下の通りである。

＜国立台南芸術大学＞

朱芳毅　(Fang-Yi Chu)、陸佳暉 (Chia-Hui Lu)

＜岡山県立大学＞

難波久美子、島田清徳、真世土マウ、作元朋子、渡邉操、今田千裕　の合計 8 名

展示期間 2023 年 2 月 12 日（日）-2 月 19 日（日）

開館時間：10:00－17:00（最終日のみ 16：00 終了）

会場：倉敷物語館

〒710-0055　倉敷市阿知 2 丁目 23－１８

和室 5（お茶室）　面積：６畳

入場無料

交流展来場者数　651 名（8 日間）

4.お茶室展示詳細

図 1 のように 6 畳のお茶室の畳の上や床の間に直接作品を並べ、鑑賞者が座って作品を鑑賞でき、見渡すことにより作品が視野に入る工夫をし、お茶室全体の空間を楽しめるよう展示を行った。また、作品を説明するためのキャプションも、作品の横に一点一点置くと作品に干渉するため、一つにまとめたリストを作成し、作品の邪魔にならないよう工夫を行った。

5.各作品について

「Tea bowl」を共通テーマに各作家が制作を行った。

＜国立台南芸術大学＞

■ 朱芳毅　(Fang-Yi Chu) の作品 ※器のみ（図 2）

陶磁器の痕跡から時間の流れや蓄積の過程を考えることができる。これは陶磁器が持つ文化と機能の二重の使命である。 しかし、現代美術の概念的発展により、痕跡は自分の存在を証明する方法と見なすことができる。作り手の手間のかかる工程と表面のシボの積み重ねの工程は器の感性と機能美を併せ持っている。



図 1.お茶室展示風景　(倉敷物語館)



図 2.朱芳毅　(Fang-Yi Chu) の作品
素材・技法：Porcelain)

■ 陸佳暉 (Chia-Hui Lu)の作品（図 3、4、5）

日本にもイグサがあるが、台湾イグサは日本のイグサより柔らかく、その台湾イグサを使用した作品である。作品コンセプトは以下の通りである。

『真夏の夜、空は暗雲に覆われ、風のない空気の中で、カエルと夜更かしはかなり迷惑であった。お

茶を飲むと、落ち着き、眠気を洗い流してくれる。長年、藍染めされたイグサはほんのり青みがかった可愛らしい色である。マットに座って一晩中イグサを手で編んでいると、ゆったりとした時間が流れ、夜の余韻は夜明けの白とともに消えていく。』



図 3. 素材・技法：台湾イグサ、藍染・手編み



図 4. 素材・技法：台湾イグサ、藍染・手織



図 5. 素材・技法：台湾イグサ・手織

＜岡山県立大学＞

■ 難波久美子の作品（図 6）

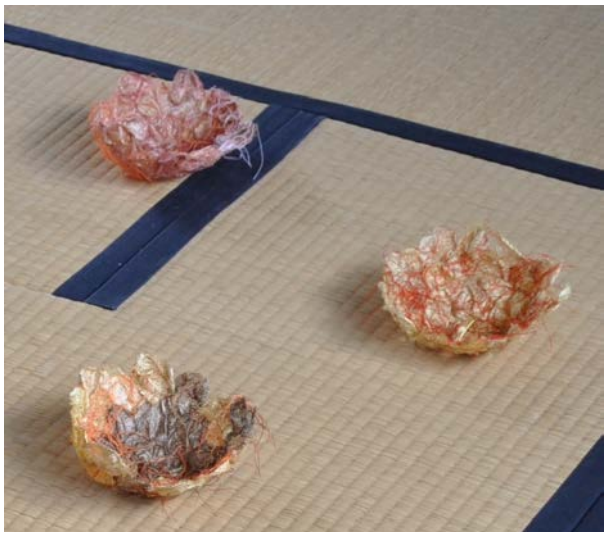


図 6. 素材・技法：台湾イグサ、藍染・手織

茶室における茶碗の役割についてまず考えた。主がお茶という粉を入れ泡立てる調理容器であり、客にお茶という液体を差し出す献器であり、客がそれを飲むための食器である。そこには、季節や客を想い・手で触れ・唇で触れ味わい・目で鑑賞するという、人の感覚がある。この 3 点の作品は、粉や液を保持できない茶碗のアイロニーを観客に提示し、お手前をすることで、お茶を飲む儀式の根底にある本質を提示することを目指した。クリキュラという黄金の繭のもつ穴により、人とモノの対話がすくい取られることに期待する。

■島田清徳の作品（図 7）



図 7. 素材・技法：綿、ナイロン、ポリエステル・ミシン縫製

日本と台湾の交流展には、日本古来の伝統的文化としての「野点」をイメージして制作した「utsuwa」

を出品した。器の形状は通常の茶道で用いられるような安定した重厚感のあるものではなく、野点が、春または秋の天気が良く、さりとて日差しが強すぎない屋外の穏やかな情景の中で催されることから、器は白く軽やかで広がりを感じさせる形とし、器の下には毛氈をイメージした赤の布を添えた。器は綿布をミシン縫製により形状を整え、器の下に敷いた布は赤のナイロン布を３枚重ねて、大地のゆったりとした起伏を表現した。

■真世士マウの作品（図 8）



図 8. 素材・技法：陶器・ロクロ成形

茶碗「朝池」は亀裂技法により制作され、氷裂釉で覆われている。制作プロセス（亀裂技法）と釉薬は自然現象で、一方では運命に任せ、他方では支配権を握る。展示では、「朝池」という茶椀は機能よりも他の茶椀との空間での出会いを目的とし制作した。結果的に、茶室では様々な形状と素材の茶碗との出会いができ、「朝池」 は陶磁器の火力と釉薬の良さを示すことができた。今回、茶室に上がるたびに全ての茶碗が踊っているような風景が印象に残っている。

■作元朋子の作品（図 9）

見込みの中は砂粒のような陶器の破片で満たされ、細い螺旋状の突起がある茶碗を制作した。中にある陶片は以前制作しひび割れてしまった作品を細かく砕いたものである。失敗作というカテゴリーに入った陶器をさらに壊していくと、焼き損じて気落ちした過去も粉々に消えていくように感じた。いっそのこと茶碗に入れて全て飲み込んで次への栄養となれば良い。そんなことを考えた。そして、螺旋状の突起は回転する素地にカンナをあて不要とされ削ぎ落とされる削り屑である。美しく螺旋を描きながら落ちていくその一瞬に、果たしてどちらが私の必要とする美しさなのだとうかと考え、その削り屑も焼成し全てを一つにまとめた。



図 9. 素材・技法：陶器・ロクロ成形

■渡邉操の作品（図 10）



図 10. 素材・技法：紙、プラスチック製マドラー・オリジナルテクニック

日本において茶道は遥か昔からある文化であり、お茶室は客をもてなし、相談やリラックスできる場所でもあった。現代においてのコーヒーショップもお茶室の役割を持つ場所の一つであると考える。コーヒーショップによっては、提供されるお茶の器はタンブラー型紙コップであり、お茶を混ぜる道具は茶筅ではなくプラスチック製マドラーである。どちらも使い捨てられるものであり、長く使用し楽しむことはない。そこでそれらを使用し、見て楽しめ、美を意識でき、捨てられない器の制作を試みた。マドラーはタンブラー型紙コップの表面に螺旋を描くように並び、全体を見ると丸みを帯びたフォルムになっている。

■今田千裕の作品（図 11）



図 11. 素材・技法：シルクオーガンジー、岩絵具、膠

お茶を注いだ時､器の中で茶葉や泡､香りが舞う。手に包むお茶碗の中に広がる踊りをゆっくり味わうことで、体の中にも踊りが広がっていく。本作品ではお茶や器、その空間から生まれる春先のように温かく穏やかな広がりを表現した。素材はシルクオーガンジーと岩絵具を用いており、それらを膠で固着させることによって立体的な造形作品へと展開している。また蝋染めと岩絵具の粒子を組み合わせて気泡をイメージした表情を生み出しており、気泡の中にお茶室の畳が透けて見えることで、器の内側からお茶室という空間への広がりに繋がる構成を試みた。

6.調査紙による調査結果

工芸作品がどのように人のコミュニケーションに関わることができるか、また、一般的な作品展示様式の展覧会との関係性について来場者に質問紙にて調査を行った。来場者のうち 53 名（女性 39 名、男性 14 名）による回答を得ることができた。

質問 4 問の内容と結果は以下の通りである。

［Q1］ 2年前と比べて、実際に人と会ってお茶をする時間は増えたか？

［A1］減った32%、変化なし30%、やや減った17%、やや増えた13%、増えた8%(図12)

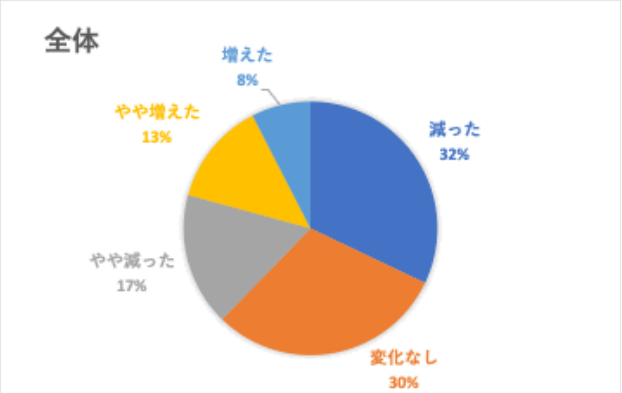


図12

［Q2］この展示をご覧になって、誰かにこの展示について話したと思ったか？

［A2］思った73%、やや思った23%、思わない2%、回答なし2%(図13)

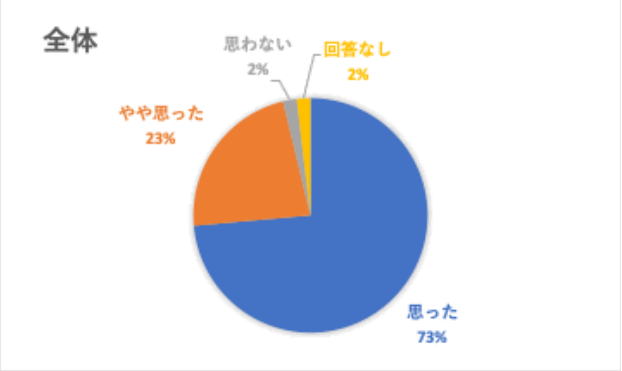


図13

［Q3］この展示をきっかけに会話が弾みそうか？

［A3］弾む56%、やや弾む40%、回答なし4%、弾まない0%(図14)

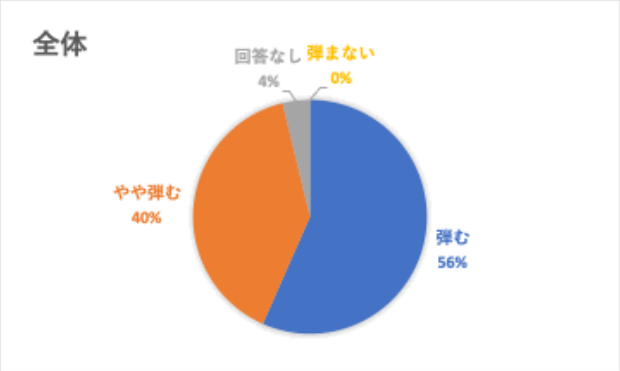


図14

［Q4］お茶室での展示は美術館などでの展示との違いはあったか？

［A4］あった94%、変わらない4%、回答なし2%、なかった0%（図15）

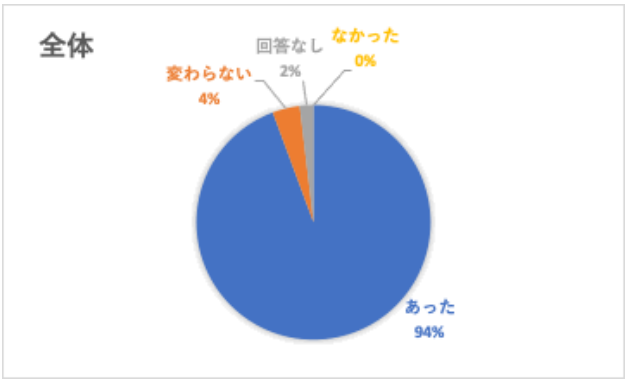


図 15

Q1 の回答から、お茶をする時間が「減った」と「やや減った」を合わせると半数を占め、半数の人が実際に人と会うことやお茶をすることでのコミュニケーションが減ったことがわかる。Q2 の回答では約７割の人が今回のお茶室展示について話したいと思い、この展示をきっかけに会話が生まれることがわかった。また、Q3 ではこの展覧会の内容で半数の人が、会話が弾むと回答を得ることができ、展示に関心を持ち、工芸作品が人とのコミュニケーションのきっかけになったということがいえる。Q4 では、ほとんどの人が美術館など一般的な作品展示様式の展示とは違うという回答を得ることができた。自由記述には『美術館の境目のある展示方法とは違い、実際に使われる場面に近い状態で見ることができて良かった。』（20 代、女性）『作品との距離が近く感じられて面白かった。』（40 代、女性）『畳の上に設置してあると作品を自身の境界や壁がないように感じられるのが新鮮だった。また、同じテーマでも雰囲気が大きく異なる印象のものが一同に並べられている様子も面白かった。』（20 代、女性）など貴重な感想を得ることができた。

7.まとめ

今回の研究では、日本・台湾の両国研究者によるテキスタイルとセラミックの現代工芸作品の展覧会において、同じテーマでそれぞれの作家が制作した現代工芸作品を一つの空間（お茶室）に展示することにより、一般的な作品展示様式の展覧会との具体的な違いを把握することができた。ガラスケース越しで鑑賞するなど距離感のある鑑賞ではなく、お茶室という空間とお茶道具の一つである器の作品を実際に使用する距離感で作品を鑑賞することができ、物理的にも心理的にもより近づくことができることがわかった。そして、現代工芸作品が人との会話を弾ませるきっかけとなり、コミュニケーションの「場」を形成できることが確認できた。現代工芸の新しい展覧会の観賞方法を提供することができ、人と社会を想像的につなぐことができる工芸の重要性を改めて炙り出しすることができたと考える。

（図１、図 10）筆者撮影
（図２ー図９）各作家撮影
（図 12ー図 15）筆者作成

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いたします。

福山市鞆町の場合
-エリアリノベーション時代の地域建設業の役割と業態に関する研究-

岡山県立大学デザイン学部

穂苅　耕介

本研究は、点のリノベーションが同時多発的に起こり、面として展開していく＝エリアリノベーションに着目し、これに関係する地域建設業の役割と業態の解明を試みるものである。本報では、エリアリノベーションの萌芽がみられる福山市鞆町の「空き家再生プロジェクト」を事例としてとりあげる。活動に参画する地域建設業からの参加者を特定の上、行政資料やインターネット公開された資料等の収集整理を通じて、参加者の所属する事業所の経営体制と業務内容の特色を把握した。また、参加者へのヒアリング調査等を通じ、活動参加の経緯と鞆町の社会情勢との相関、活動スキームの把握を行った。

その結果、1)空き家再生活動に関わる地域建設業は、小規模経営であり、建設業種とは異なる事業を主業としていること、2) 空き家再生活動の成立経緯は、人口減少にともなう主業の縮小化に対する課題意識であり、「空き家再生プロジェクト」はその課題解決に向けた事業所と地域社会との関係を見直す取り組みであること、3) リノベーション工事に至る発注方式と手続きの違いが、その地域での専門工事業の成長や多様な関わりを左右することの3点を明らかにした。

1. はじめに
1-1. 研究の背景と目的

本研究は、旧市街地の保全において、歴史的な家屋や都市施設等の日常的点検や修繕、または更新を手がけるそれぞれの地域に根付いた建設業の存在が重要であるとの立場から、市街地環境の維持・更新にたずさわる各地の建設業（以下、地域建設業）の果たす役割と業態を調べ上げることにより、その実情を明らかにしようとするものである。

前報[1)]では、エリアリノベーションの先進事例とされる長野市東町[注1]を対象とした現地踏査によるエリアリノベーションの状況や特性把握、及び官公庁の公表資料等と建築関係者へのヒアリング調査によるリノベーションと地域建設業との関係把握によって、リノベーション工事現場には、当エリアでリノベーション工事が要求された前後に開業あるいは会社設立した個人、または少人数による専門工事業が参画していること、また、それら専門工事業の担い手は、エリアリノベーションの進展にともなう工事現場での要求に臨機応変に対応する中で「多能工化」し、業種の区分にとらわれないリノベーションをとりまく工事現場への多様な関わりによって市街地環境の維持・更新に寄与していることを明らかにした。

この長野市東町の事例研究の結果との比較検討のため、本報では、近年になってエリアリノベーションに向けた動きが注目されるようになった福山市鞆町を事例として取り上げる。

前報[1)]と同様に、地域社会から放擲された空き家群の狭いエリアでの同時多発的な再生によって市街地環境の維持・更新に働きかけるエリアリノベーションに着目し、これにたずさわる地域建設業の役割と業態の解明を試みる。

1-2. 研究対象地の概要

福山市鞆町は、瀬戸内海のほぼ中央にある沼隈半島の先端部に位置する。中世より潮待ちの港として、また西回り航路の寄港地として繁栄した。その町並みは、中世の海上勢力の拠点としての町割を基盤とし近世初頭の福島正則による鞆城の建設にともなう再編によって形成されたと推測されている[注2]。

広島県による鞆港の埋め立て架橋計画に起因する景観紛争（1983-2016）を経て、2017年11月には、鞆城跡を含む旧市街地8.6haの範囲が国の重要伝統的建造物群保存地区に選定された（図1）。

この地区をまたいで 2015 年 9 月から地域建設業からの有志（個人）を主体とした「空き家再生プロジェクト」がスタート、図1に示す「第1号事例」（元個人宅を住宅兼事業所にリノベーション）において空き家と入居希望者とのマッチングと連動した空き家の再生を実現して以来、狭いエリアで面的な空き家再生活動を展開している[注3]。2021 年 1 月からは、図1に示す「旧N薬局」建物の再生にあたり、入居を希望するデザイナーらとチームを立ち上げ、まちづくり拠点としての活用が進められている。

1-3. 研究の方法

1-1. で述べた研究目的に沿い、本報では以下の【1】～【3】の方法から研究課題の解明を試みる。

まず、【1】福山市鞆町の「空き家再生プロジェクト」を推進する地域建設業からの参加者を特定の上、その参加者の所属する事業所の経営体制、業務内容を、当該事業所のホームページの他、帝国データバンク、官公庁の公表資料に基づいて整理する（第 2 章）。次に、【2】ヒアリング調査等から「空き家再生プロジェクト」に参画する地域建設業からの参加者の個人史、及び参加者の所属する事業所の沿革・事業履歴を整理し、それに既往研究に基づく鞆町のまちづくり年表上に重ね、それぞれの関係を把握する（第 3 章）。最後に、「空き家再生プロジェクト」のスキームを、ヒアリング調査から把握し、前報の長野市東町の事例に照らして考察を行う（第 4 章）。

2. 空き家再生活動に参画する地域建設業の概要

2-1. 地域建設業からの参加者の特定

調査にあたり、「旧N薬局」建物に入居希望のデザイナーと交流を深め、「空き家再生プロジェクト」を推進する地域建設業からの参加者（O氏）の紹介を得、O氏、及びO氏の所属する事業所（S社）を、本報のエリアリノベーションを推進するリノベーション工事現場を担う地域建設業として特定した。

2-2. 参加者が所属するS社の概要

S社の概要として、S社がウェブサイト上で公開している会社概要、業務内容のほかに帝国データバンク（TDB）会社情報、国土交通省の建設業者・宅建業者等企業情報検索システム、広島県建設産業課の建設業許可業者に関する公示を参照し、経営体制と業務内容を整理した（表1）。

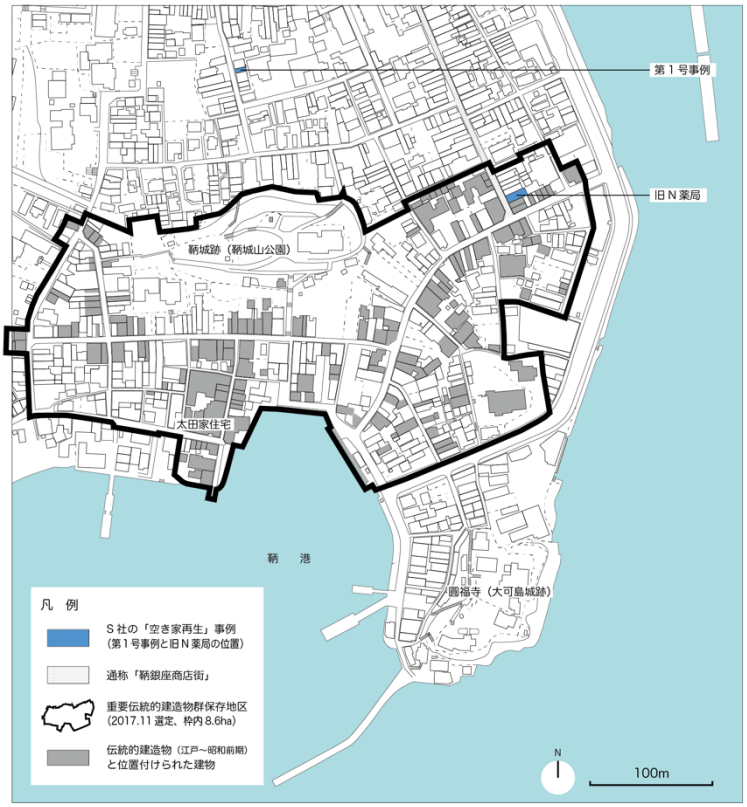


図1　S社の「空き家再生」事例（第１号事例と旧N薬局の位置）

表1　S社の経営体制と事業内容

		S社
創業年（年）／設立年（年）*1		1949／1963
従業員数（人）*1		10
資本金（千円）*1		10,000
主　業／従　業*1		燃料小売業／木造建築工事業
建設業許可業種*2	土木一式工事	(R4.9 取消)
	建築一式工事	●
	大工工事	●
	左官工事	(R4.9 取消)
	とび・土木・コンクリート工事	(R4.9 取消)
	石工事	(R4.9 取消)
	屋根工事	●
	電気工事	
	管工事	
	タイル・れんが・ブロック工事	●
	鋼構造物工事	(R4.9 取消)
	鉄筋工事	(R4.9 取消)
	舗装工事	(R4.9 取消)
	しゅんせつ工事	
	板金工事	(R4.9 取消)
	ガラス工事	(R4.9 取消)
	塗装工事	(R4.9 取消)
	防水工事	(R4.9 取消)
	内装仕上工事	●
	機械器具設置工事	
	熱絶縁工事	(R4.9 取消)
	電気通信工事	
	造園工事	
	さく井工事	
	建具工事	(R4.9 取消)
	水道施設工事	(R4.9 取消)
	消防施設工事	
	清掃施設工事	
	解体工事	
事業内容*3		・水まわりリフォーム ・住宅設備工事、水道工事、下水工事 ・LP ガス・高圧ガスの販売 ・ペレットストーブの販売、施工 ・木質ペレットの販売
会社所在地*3		鞆町内（1967 年に町郊外鉄鋼団地に移転）

注　*1　帝国データバンク会社情報（2023 年 2 月 6 日閲覧）
　　*2　国土交通省　建設業者・宅建業者等企業情報検索システム（2023 年 3 月 22 日閲覧）
　　*3　S 社ホームページ（2023 年 3 月 23 日閲覧）

ここからＳ社の経営体制、業務内容の特色として以下のことを把握した。

・事業所の創業/設立からすでに 50 年以上が経過している（リノベーションの流行以前の古参の事業所である）。
・経営規模：従業員 10 名、資本金額 1 千万円の小規模な事業所である。
・業種と事業内容：LP/高圧ガスの販売を主とする燃料小売業（主業）と住宅内装のリフォーム（特に設備機器や水回り関係）を主とする木造建築工事業（従業）を手掛けている。

3. 「空き家再生プロジェクト」の成立経緯

次に、鞆町をとりまく社会情勢の推移との関係からＳ社による「空き家再生プロジェクト」が成立した経緯を把握する。図 2 は、阿部・松井らによる既往研究[5]に基づいて国、広島県、福山市（鞆町）、市民の動きを経年的に整理した年表上に、Ｓ社ホームページとＯ氏へのヒアリング調査に基づいて整理したＳ社の沿革と事業履歴、Ｏ氏の個人史を重ね、それぞれの関係をみたものである。なお、Ｏ氏へのヒアリング調査は、2022 年 12 月 22 日に対面調査（直接調査）により実施した。

3-1. 鞆町をとりまく社会情勢の概要

阿部・松井ら[5]は、埋め立て架橋計画をめぐる鞆町をとりまく社会情勢の変化を 5 期（埋め立て計画浮上前の 1983 年までを第 1 期、計画浮上後の 1983-2003 年までを第 2 期、住民の反対運動により計画が停滞する 2003-2007 年までを第 3 期、市長の交代などを機に計画が再始動する 2007-2016 年までを第 4 期、架橋計画の廃止と重伝建地区の選定を機に町並みの見直しが図られた 2016 年以降の動きを第 5 期）に区分している。図 2 の国、県、市、市民の動きは、阿部・松井らの整理した年表を下敷きにして再構成したものである。

3-2. Ｓ社の沿革と事業履歴

Ｓ社の創業は 1949 年、刀鍛冶や造船などものづくりを担った鍛冶屋町で鉄を溶断に使用するガスを販売したことに始まる。1955 年には家庭用 LP ガスの販売も開始。鞆鉄鋼団地の完工にともない、法人化し団地に事業所を移転した。その後、2 度の社名変更を経て、1998 年からは住宅リフォーム事業を開始し、そこからガス販売事業を主業としながら、住宅リフォーム事業を兼ねる現在の事業スタイルへの移行が行われた。年表中に「空き家再生プロジェクト」の登場するのは 2015 年で、軽トラ市やペレットストーブの販売施工などのＳ社によるいくつかの試みのひとつとして実施されている。

3-3. Ｓ社Ｏ氏の個人史との関係

以上で整理した鞆町の社会情勢、Ｓ社の沿革・事業履歴とＯ氏の個人史との関係から「空き家再生プロジェクト」の成立に至る経緯をみる。図 2 中に示す①～③は、「空き家再生プロジェクト」の成立において転換点とみられる事柄を年表から抽出し、Ｏ氏へのヒアリング調査に基づいてその事由を整理したものである。

年表化したＯ氏の個人史をみると、Ｓ社先代社長の長男として 1981 年に誕生。福島県にある大学を卒業後、神奈川県にあるリフォーム会社に就職。先代の死去を機に帰郷し、事業承継し、2006 年からＳ社社長に就いている。

転換点の①は、Ｏ氏が生まれる以前の事柄である。Ｏ氏が誕生した時にはすでにＳ社含む町内の製造業の多くは鉄鋼団地に移転した後であったことが確認できる（図 2-①（ガス事業者としての背景）（町内→鉄鋼団地への移転時の様子））。

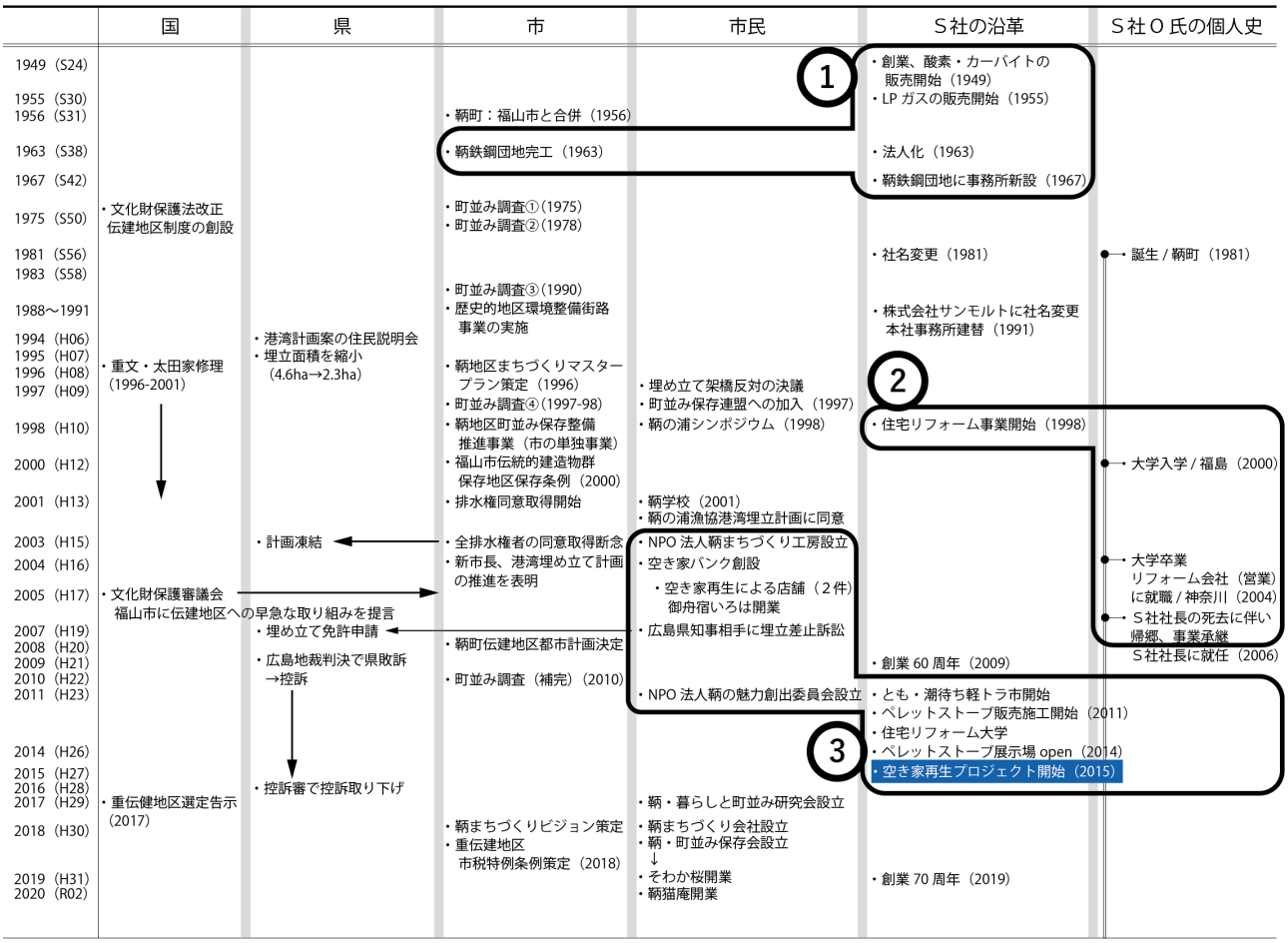
②の時期においては、Ｓ社の住宅リフォーム事業の開始とＯ氏のリフォーム会社就職・Ｓ社の継業と間に関係があること、すなわち大学進学から就職にあたっては当時Ｓ社社長であったＯ氏の父親の意向、帰郷・継業にあたってはその父親の死去に起因していることが確認できる。また、この時期のＳ社の住宅リフォーム事業の展開は、鞆町の範囲をこえ福山市やより広い地域への商圏の拡大であったことがうかがえる（図 2-②（Ｓ社の住宅リフォーム事業立ち上げ）（Ｏ氏のスキル習得、帰郷・継業の経緯））。

③の時期は、Ｏ氏がＳ社を継業して以降の事柄である。2011 年頃から開始のいくつかの取り組みは、Ｏ氏がビジネスとしての事業性を確保することよりも「*事業を通じて地域に貢献できること*」即ち地域社

会との関係を重視していること、さらに「空き家再生プロジェクト」に関しては、S社の既存事業との相性がよく一時的なものとはいえ鞆町のまちづくり活動とも結びついていたこと、そしてプロジェクトの背景には人口減少にともなうガス販売事業の縮小化に対する課題意識があることが確認できる（図2-③（空き家再生プロジェクトの背景と動機））。

4.「空き家再生プロジェクト」におけるS社の役割

ここでは、「空き家再生プロジェクト」のスキームを把握する。S社代表のO氏へのヒアリング調査にあたり、前報[1)]で明らかにした長野市東町の空き家再生活動のスキームを提示し、そこの共通点や違いの確認も行った。調査は、前の第3章のヒアリング調査と同日、対面調査で実施した。



①

（ガス販売事業者としての背景）
元はガス屋。鞆は昔から鍛冶屋があった。刀鍛冶から始まって、船具とかそのあたりも鍛冶屋さんが作っていた。鉄鋼団地が造成されるまで、町内に小さい工場がひしめきあっていた。そんな中、鉄を切ったりする酸素やアセチレンというガスの販売を始めたのがうちの会社。創業当時は、まだ家庭の主燃料は薪とか炭。プロパンガスが一般家庭に普及しはじめたのが1965年ぐらいだから、それよりも前だった。だから地元ではS社といえばガス屋のイメージがいまだに強い。

（町内→鉄鋼団地への移転時の様子）
鉄鋼団地が造成されて日本鋼管がきたことで町内の製造業が一気に盛り上がり、みなそっちに行くという感じだったと思うが、ちゃんとしたことはわからない。僕がまだ生まれていない時のことなので。ただ、いま言ったように鉄鋼団地は製造業ばかりで、市民の生活と身近に関わるような会社はあまりなかった。

②

（S社の住宅リフォーム事業立ち上げ）
あまり鞆の動きとの関連性はなかったと思う。先代の社長は鞆の動きとは一線を画しているところがあった。住宅リフォーム事業を立ち上げた頃は、福山の駅前に事業所を構えてやっていた。鞆がどうこうというより、完全に事業としてやっていた。

（O氏のスキル習得、帰郷・継業の経緯）
大学に行く時に鞆の外に出た。2000年4月に入学し、2004年3月卒業。そこからそのまま向こうで就職し、2年半後に鞆に戻って、2006年8月に事業承継。厳密には10月だが、先代が亡くなってから承継しているので、実際の承継と手続き上の承継とで時期的にズレがある。
就職は神奈川県。リフォーム会社の営業マン。そこはうまいこと親のレールが引かれていた感じ。3人兄弟で男は僕だけだった。親からしたら後継者にと考えていたと思う。直接言われたことはないけど。その当時は僕自身も特段これがやりたいということがなかった。だから言われるがままにという感じだった。

③

（空き家再生プロジェクト開始の背景と動機）
時勢的なところはあった。隣の尾道市が積極的に空き家の再生に取り組んでいたし、ガスや水道、リフォームといった事業との相性もよかった。逆にその当時は、鞆には施策があまり無かった。空き家バンクなどはあった一方、あまり動いていないという話も聞いていた中、空き家どうしようかという相談はちょこちょこあった。生活インフラを扱っているので、そういう情報は入ってきやすかった。

「鞆の魅力創出委員会」は一時は一緒に活動をしていた。そこでしていたのは空き家情報の収集と紹介（マッチング）。でもその中にいた空き家を問題視していた方が会を退かれ、NPO自体の活動が止まってしまった。

軽トラ市や火育や空き家再生は、僕個人の信条というか、その時々の思いや考え方が強く反映されている。それらを始めた時は何か新しい取り組みをしたい時期だった。だから、会社経営と直接的な関係があまりないというか、事業を通じて地域に貢献できることをやってみようと。地域での企業の価値を高めていきたかった。会社が個人かと言ったら完全に個人だが、会社の代表なので周囲から見たら同じ。ビジネスになるかもしれないけどならないかもしれない。広告宣伝とかブランディングとかに近い。なるべく他社がやっていないことをやっていた。

ガスとリフォーム事業とでは伸び代が違う。これから人口が減ってくるとガスを使う人がどうしても減る。だから、脱ガス屋というところで、いま色々と事業を行っている。

補註：年表中の「国」、「県」、「市」、「市民」の動きについては、参考文献5）から必要箇所を抜粋するなどして再整理したものである。
①〜③のコメントは、2022年12月22日に実施したO氏へのヒアリング調査の内容を精査し、整理したものである。

図2　鞆町をとりまく社会情勢の推移との関係からみた「空き家再生プロジェクト」の成立経緯

4-1.「空き家再生プロジェクト」推進のスキーム

図3は、O氏へのヒアリング調査に基づいて「空き家再生プロジェクト」推進のスキームを図式化の上、空き家の再生に至る各プロセスの内情を整理したものである。ここから、各プロセスの特色として以下のことを把握した。

① 空き家の購入・管理

S社の場合は、サブリース方式（転貸を目的とした一括借上）ではなく、買取り転貸方式（転貸を目的とした買取り）をとっている。

② 空き家の紹介・マッチング

空き家の仲介業（不動産業）は入れず、入居希望者探しは、自社の事業宣伝ツール（O氏のブログ）などを活用して行い、マッチングはボランティアで行っている。

③ 契約/工事仕様打ち合わせ

入居予定者との転貸契約は、リノベーション工事後ではなく、リノベーション工事前に交わされる。リノベーション工事の仕様（内装デザインや設備機器類のスペックなど）は、入居予定者の要望を聞きながら行われる。

④ 工事発注

工事発注は、協力関係にある専門工事業者に依頼する従来工務店に近い方式がとられている。なお、ガスや水水道設備工事、大工工事などに関わる専門工事については、自社施工により行っている。

⑤ リノベーション工事

分離発注方式（入居者が専門工事業者に直接発注する）ではなく、一括発注方式をとっている（入居者をサポートしリノベーション工事全体をまとめる役割を担う場合の担当者への負担が大きくなるため）。

4-2. 長野市東町の事例との比較考察

以上の結果について、前報[1)]の長野市東町の事例と照らして考察を行う。

長野市東町の事例では、サブリース方式などにより空き家を貸借した入居者が、適宜設計者のサポートを得ながら各々の専門工業者に直接発注する分離発注方式を採用していた。これに対し、本報の福山

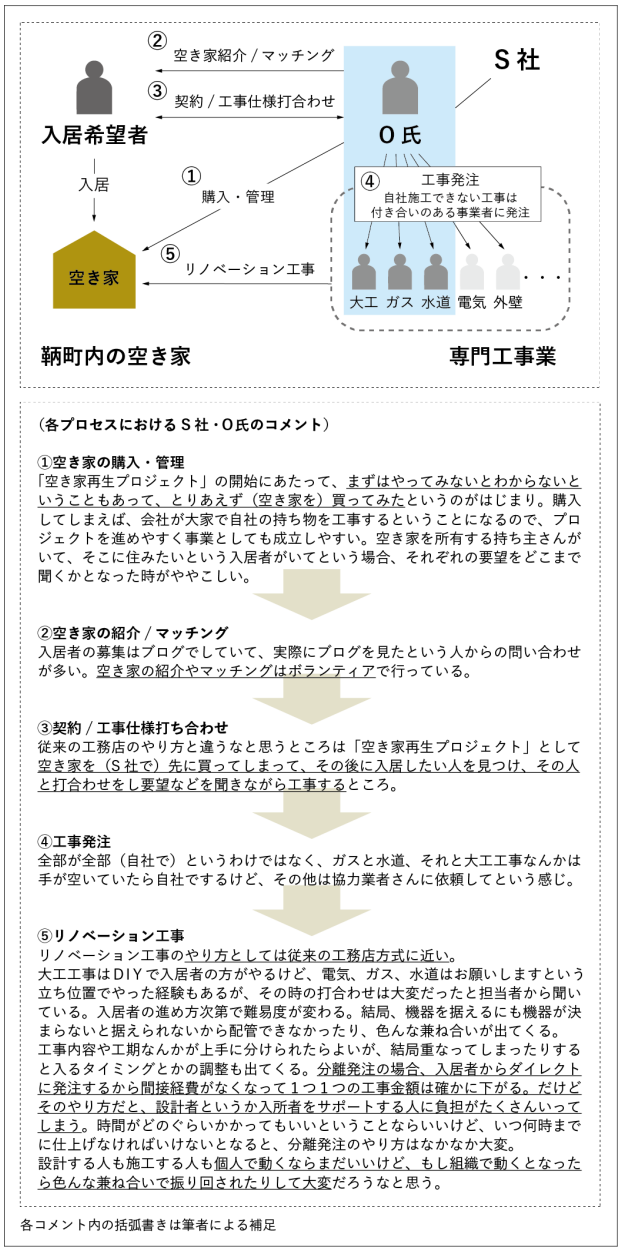


図3　S社の「空き家再生プロジェクト」推進のスキーム

市鞆町の事例では、買取り転貸方式により空き家を購入した事業者が工事全体をまとめる役割を担い、募集に応じた入居希望者と打ち合わせをしながら協力関係のある専門工事業者に発注（一部は自社で施工）する工務店の一括発注方式に近い方式を採用していた。この点で、長野市東町の事例に比べて、福山市鞆町の事例は、専門工事業がリノベーション工事に関わる範囲が限定的である。ここでは、長野市東町の事例で見られたような専門工事業の業種区分にとらわれない幅広い事業展開＝多能工化は見られなかった。長野市東町の事例にみられた専門工事業の多能工化の発現や進展は、分離発注によるリノベ

ーション工事過程における入居者あるいは入居者に代わる設計者と専門工事業との直接的なやりとりの中に分岐があり、これがリノベーション工事現場における専門工事業の成長や多様な関わりを生む重要な手続きである。福山市鞆町の事例にもし専門工事業の成長や多様な関わりを求めるのであれば、その源泉である多能工化の発現の分岐を、入居予定者と事業者との打ち合わせの手続きの中に見出し、創出する必要があるだろう。

5. まとめ

最後に各章から得られた知見を整理する。

第 2 章では、「空き家再生プロジェクト」に参画する地域建設業からの参加者を特定し、参加者の所属する事業所の経営体制、業務内容を整理した。ここから事業所の特色として、小規模経営であり、建設業種以外の事業（燃料小売業）を主業としている点を把握した。

第 3 章では、第 2 章でみた「空き家再生プロジェクト」に参画する地域建設業からの参加者の個人史、及び参加者の所属する事業所の沿革・事業履歴を、既往研究に基づく鞆町のまちづくり年表上に重ね、それぞれの関係を整理した。ここから、地域建設業から参加者が所属する事業所は、ガス販売事業で創業し、鉄鋼団地への移転、住宅リフォーム事業の開始によって商圏を拡大したが、代表者の息子の継業後は、人口減少にともなうガス販売事業の縮小への課題意識からまちづくりとしての事業が試みられるようになり、「空き家再生プロジェクト」はそのひとつであることを把握した。

第 4 章では、「空き家再生プロジェクト」における空き家の購入からリノベーション工事を経て入居希望者が入居するに至るスキームを把握し、前報の長野市東町の事例に照らして考察を行った。ここから、福山市鞆町の「空き家再生プロジェクト」は、買取り転貸方式をとられており、購入した事業者と入居希望者との間で工事仕様打ち合わせの下、自社あるいは協力関係のある専門工事業者への依頼によってリノベーション工事が行われていることを把握した。

また、前報の長野市東町の事例との比較考察から、リノベーション工事に至る発注方式と手続きの違いによって専門工事業がリノベーション工事に関わる範囲が限定されることを把握し、リノベーション工事現場における専門工事業の成長や多様な関わりを創出するあり方について考察を行った。

今後も、エリアリノベーションの進展と地域建設業との関わりについてより多くの情報を集めるとともに、リノベーション工事現場における専門工事業者の成長や多様な関わりが地域にもたらす影響や効果についても解明を試みたい。

謝　辞

本研究にあたり、公益財団法人ウエスコ学術振興財団にご支援をいただきました。また、調査にあたり、福山市鞆町の「空き家再生プロジェクト」に参画するみなさんに多大の協力をいただきました。記して感謝します。

脚　注

注1）問屋街の空き倉庫群の再生活動を発端としたリノベーションの連鎖により、エリアリノベーションの先進地として紹介されるようになった（文献 2)）。

注2）文献 3)、文献 4)を参照。

注3）2015 年の「空き家再生プロジェクト」以前にも鞆町では空き家再生の実績はあったが、活動が断続的だったため面的な展開に至らなかった。

参考文献

1) 穂苅耕介：エリアリノベーション時代の地域建設業の役割と業態に関する研究、(公財)ウエスコ学術振興財団 R3 年度研究報告書、pp.99-104、2022.

2) 馬場正尊＋Open A：エリアリノベーション-変化の構造とローカライズ、学芸出版社、pp.188-219、2016.

3) 福山市史-原始から現代まで、p.172/pp.190-197、2017.

4) 図説-福山・府中の歴史、p.142/p.256、郷土出版社、2001.

5) 阿部由香里・松井大輔ほか：景観紛争を乗り越えて実践される鞆の浦の町並み保全型まちづくりの現状と計画的課題-主体関係の変化と現在の意見に着目して、都市計画論文集 vol.56-3、pp.508-515、2021.

水を溶媒としたハロゲンフリーで低環境負荷な難燃性リグノセルロースナノファイバーの開発

岡山理科大学 理学部化学科

大坂 昇

リグノセルロースナノファイバー（LCNF）を、難燃性の高いハロゲン元素を用いずに難燃化させることを目的に、Mannich 反応を行い LCNF 表面のリグニンに難燃元素である窒素を含んだメラミンを結合させた。さらに、燃焼時にバリアー層を形成するリンを含んだポリリン酸をイオン結合でメラミンに結合させた。これら一連の反応は水を溶媒とした系において比較的簡便な方法で実施された。得られたハロハロゲンフリーな難燃性 LCNF（MPPLCNF）は難燃性を表す 1 つの指標である限界酸素指数が 26 に達し、また、燃焼試験からも自己消火性を示すことが確認できた。熱重量測定と全反射型フーリエ変換赤外分光光度計による熱分解挙動の解析から、LCNF に修飾した窒素やリンが難燃元素として機能していることが示唆された。一方、MPPLCNF を水性ウレタンに添加することで力学物性が向上することが明らかにされた。しかし、コーンカロリメーターを用いて複合塗膜の難燃性を評価すると、発熱速度の低下が観測されたが、総発熱量は LCNF を添加した塗膜と比べて 10%程度しか減少しなかった。

はじめに

セルロースナノファイバー（CNF）は植物をナノメートル単位までの直径に解きほぐした繊維状のセルロース集合体である。剛直な結晶部を多大に含むために鋼鉄の 1/5 の軽さで 5 倍以上の優れた強度をもつ。特に、日本の豊富な森林資源の有効な利活用技術になり得ると期待され、近年はバイオマス繊維の代表例として多くの注目を集めている。しかし、CNF はセルロースで形成されていることから易燃性である欠点をもつ。

CNF の表面にリグニンを含んだリグノ CNF（LCNF）は、CNF と同様の優れた性質を示す。一方で、製造工程の少なさのために CNF よりもコストパフォーマンスに優れており、また、リグニンの芳香環により豊富な反応性を示す。本申請者らは難燃元素としてリンと窒素だけでなく、臭素を多く含んだ高い難燃性を示す難燃剤を合成し、それを LCNF 表面のリグニンに結合させた難燃化 LCNF（FRLCNF）を開発した。FRLCNF は限界酸素指数（LOI=46）を達成し、高い難燃性を示した[1]。また、LCNF が本来もつ高い弾性率が寄与することで、水性塗料と複合化した際には難燃性だけでなく力学物性も向上させることができた。

本課題では、LCNF にメラミンとリン酸を結合させたハロゲンフリーな LCNF（MPPLCNF）を作製し、環境負荷の低い難燃性 LCNF を開発することを目指す。また、水性塗料に MPPLCNF を添加して複合塗膜を作製する。コーンカロリメーター測定や引張試験、透過率測定などを行い、塗膜の難燃性や力学物性、透過率を評価する。

試料と実験操作

1000 mL のセパラブルフラスコに LCNF 18 g（乾燥重量 1.0 g）、melamine monomer 0.63 g、H_2O 100 mL を超音波で 10 分間分散した。続いて、0.1 M 酢酸を用いて pH 6 にしたのち、formaldehyde 水溶液 0.5 mL をゆっくり滴下し、室温で 1 時間、50 ° C で 8 時間攪拌した。室温まで放冷後、0.5 M NaOH を用いて pH 9 にし、LCNF にメラミンが結合した MLCNF を作製した。MLCNF は 90 ° C の熱水で洗浄し精製した。精製した MLCNF 18 g（乾燥重量 1.0 g）、H_2O 100 mL を室温で 1 時間攪拌したのち、ポリリン酸（Sigma Aldrich）1.0 g をゆっくり滴下し、室温で 1 時間、90 ° C で 1 時間攪拌した。蒸留水を用いて洗浄し、MLCNF にポリリン酸が結合した MPPLCNF を作製した。

化学修飾の評価として FT-IR/ATR（FT/IR 4700、JASCO、積算回数 64、分解能 2.0 cm^{-1}）、CHN 元素分析（JM-11、ジェイ・サイエンス・ラボ）、P 元素分析（UV-1700、島津製作所）を行った。

水性ウレタン塗料（ユートンアクア SC-91、玄々化学）MPPLCNF の乾燥重量 0.5 g、H_2O 10 mL に所定濃度の MPPLCNF を加え、室温で攪拌し、溶媒キャスト法により複合フィルムを得た。

物性評価として、引張試験機（90FD、井元製作所、延伸速度 10 mm/min）、UV-Vis（V-730、JASCO、走査速度 100 nm/min、積算回数 1 回）、偏光顕微鏡観察（BX-53P、オリンパス）を用いた。また、複合フィルムの難燃性の評価としてコーンカロリーメータ（コーンカロリーメータ C3 タイプ、東洋精機製作所）を用いた。サンプルは 10.0 cm×10.0 cm×0.5 cm のステンレス板に乾燥重量 1.0 g の複合フィルムを塗布し作製した

結果と考察

化学修飾の評価として、Figure 1 に FT-IR/ATR の結果を示す。LCNF (a) と比較して MLCNF (b) は 1589 cm^{-1} (NH_2 bending vibration)、813 cm^{-1} (out of place of triazine rings) [2]のピークが現れた。これは、Mannich 反応により melamine が LCNF に結合した一方で、ポリリン酸と結合する一級アミンが残存していることを示している。また、MPPLCNF (c) では 1589 cm^{-1} のピークが消失し、一部 triazine 由来のピークが 813 cm^{-1} から 786 cm^{-1} にシフトしたことから、melamine にポリリン酸が結合していることが示唆された[3]。すべてシフトしていない理由として、MLCNF の作製段階で melamine 中の 1 級アミンが一部メチロール基となり、ポリリン酸が結合できないためであると考えられる。

また、元素分析の結果 (Table 1) からも、MPPLCNF に難燃元素である N、P が含まれていることが確認

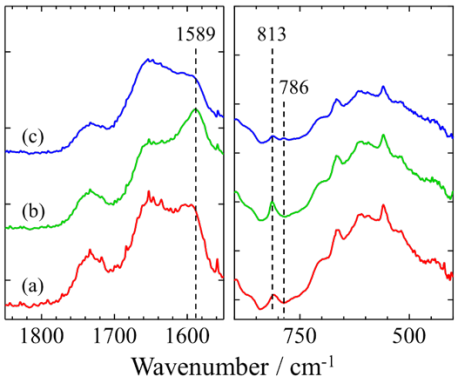


Figure 1. FT-IR/ATR spectra of (a) LCNF, (b) MLCNF, and (c) MPPLCNF

	C	H	N	P
LCNF	48.3	6.38	-	-
MLCNF	47.9	6.12	1.52	-
MPPLCNF	46.9	6.16	1.00	0.24

Table 1. Elemental analysis of LCNF, MLCNF, and MPPLCNF

できた。しかし、P の含有量が少なく、melamine 1 分子に対してポリリン酸が 1-1.5 原子しか結合していなかった。この原因としてポリリン酸によるリグニンの分解などが考えられる。

凝集体の有無やリグニンの分解を調べるために FE-SEM 観察を行った (Figure 2)。MLCNF 作製中の副反応として、phenol と formaldehyde および melamine と formaldehyde の縮合反応により CH_2 や melamine を架橋点とした LCNF の凝集が懸念点であったが、繊維幅に大きな変化はないことが確認できた (a)。また、MPPLCNF の作製段階で、強酸である PPA によるリグニンの分解が考えられたが、ファイバー形態に大きな変化はないことが明らかにされた (b)。

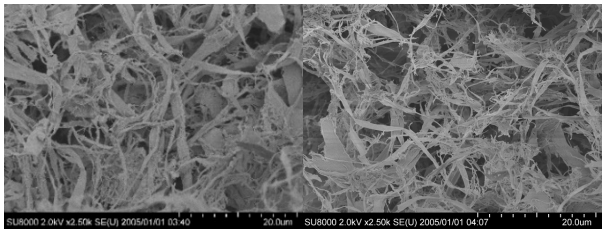


Figure 2. FE-SEM images of (a) MLCNF and (b) MPPLCNF



Figure 3. Combustion test of MPPLCNF

Figure 3 に MPPLCNF の燃焼過程および LOI を示す。MLCNF は着火しても炎は燃え広がらず緩やかに燃焼し続け、LOI=22 を示した。一方、MPPLCNF では着火直後すぐに消火し、LOI=26 を示した。MPPLCNF に含まれるリンの難燃効果が作用したためだと考えられる。

MPPLCNF の難燃化機構を理解するために TG-DTA から得られた各温度での残渣の FT-IR/ATR 測定を行った。Figure 4 の TG 曲線から、MLCNF の分解挙動は

LCNF とほぼ同じであったが、350 ° C での残渣を比較すると 32 %から 39 %に増加した。これは N の吸熱分解により MLCNF の分解が抑制されていることを示唆している。また、MPPLCNF では約 250 -320 ° C にかけての重量減少が LCNF、MLCNF よりも急になった。これは PPA の脱水縮合により炭化層が形成していることを示唆しており、それにより、320 -570 ° C の重量減少が炭化層により緩やかになったと考えられる。

Figure 5 の FT-IR/ATR 測定の結果から、255 ° C のとき 813 cm^{-1} (out of place triazine ring) のピークが減少し、320 ° C までに消失したことからこの間に melamine が分解し、気相での吸熱効果が働いていると考えられる。また、320 ° C から 1243 cm^{-1} (P=O stretching vibration)、1102 cm^{-1} (P-O-P stretching vibration)、903 cm^{-1} (P-OH stretching vibration)のピークが現れたことからポリリン酸が炭化層を形成していることがわかる。しかし、炭化層のピークは 400 ° C を極大としそれ以上の温度では強度が減少したため、炭化層の分解が示唆された。

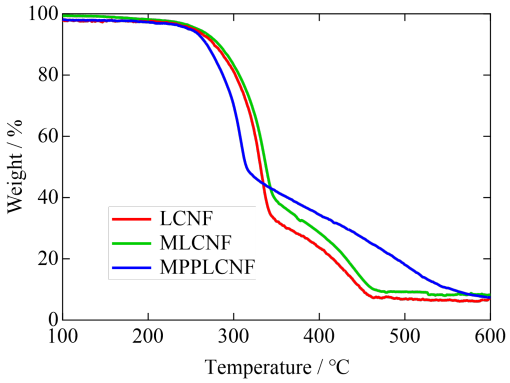


Figure 4. TG curves of LCNF, MLCNF, and MPPLCNF

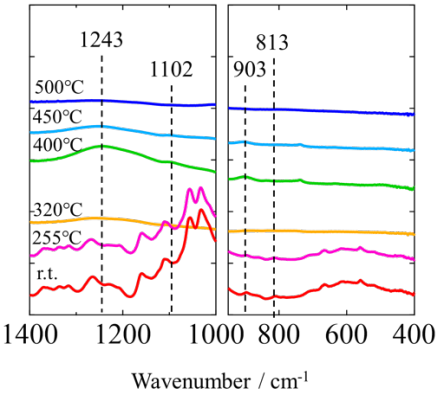


Figure 5. FT-IR/ATR spectra of MPPLCNF residues

また、600 ° C での残渣を FE-SEM 観察したところ LCNF 表面に炭化層が被膜していることが観測された（図なし）。

MPPLCNF を添加した水性ウレタンの複合塗膜を一軸引張試験により力学物性の評価を行った（Figure 6）。0 wt%と比較して MPPLCNF を 10 wt%添加した場合、破断応力は 12.8 MPa から 23.4 MPa まで増加し、ヤング率も増加した。このことから、水性ウレタンに対して MPPLCNF はファイバーによる補強効果を示した。また、LCNF を 10 wt%添加した複合体と比較した場合、破断応力は 22.4 MPa から 23.4MPa に増加し、破断ひずみも 42 %から 62 %に増加している。これは LCN 表面がリン酸基となり、分散性が向上していることを示唆している。

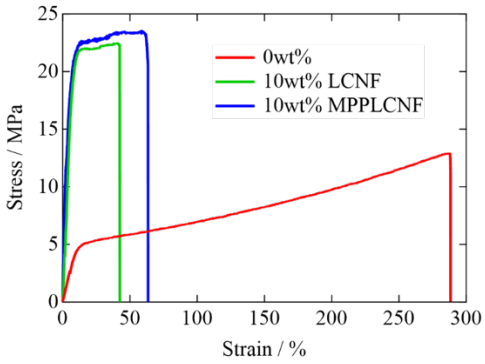


Figure 6. Stress-strain curves of water-soluble urethane composite films

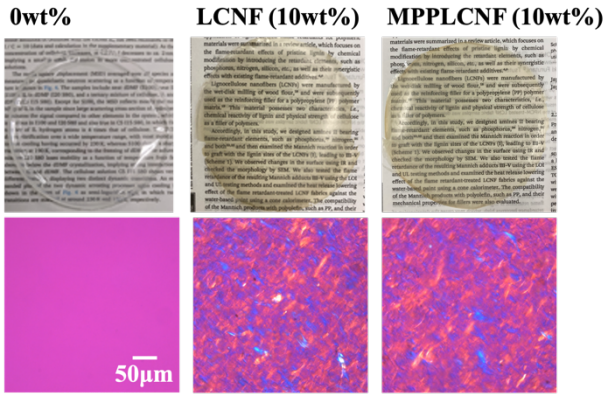


Figure 7. Stress-strain curves of water-soluble urethane composite films

フィルムの外観は LCNF を添加することで茶色に変色する。これはリグニンに由来すると考えられる（Figure 7 上段）。未修飾の LCNF を添加した場合に比べると、フィルムの外観は若干透明性が向上した

ことが伺われる。偏光顕微鏡をもちいて LCNF の分散性の評価を行った（Figure 7 下段)。LCNF を添加した場合、50μm 程度の凝集体が多く散見された。一方、MPPLCNF 添加した場合、50 μm の凝集体は見られるもののその数は LCNF との複合体と比べて減少している。この結果から、MPPLCNF はリン酸基により水性ウレタンに対する分散性が向上したことが明らかにされた。

水性ウレタンの複合塗膜の難燃性評価として、コーンカロリーメータによる発熱速度（Figure 8)、総発熱量（Figure 9）を評価した。MPPLCNF を添加した場合の発熱速度は LCNF を添加した場合と比べて 40 %減少した。しかし、総発熱量は 10 %しか低下しなかった。長時間熱輻射を受ける場合、燃焼初期では melamine の吸熱分解により水性ウレタンの熱分解温度に達する時間を遅らせることができるが、それ以降では、可燃性ガスと酸素を遮断するための炭化層の量には依存する。そのため、MPPLCNF では炭化層による urethane への被膜が不十分であり、総発熱量が大きく減少しなかったことが示唆される。

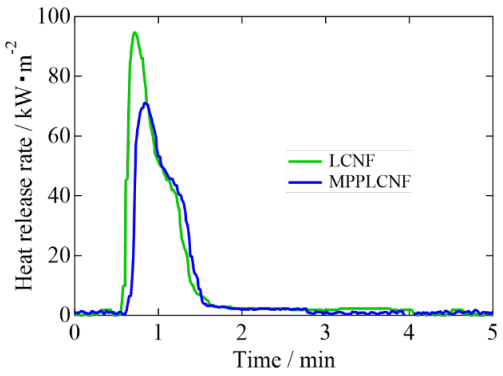


Figure 8. Heat release rates of water-soluble urethane composite films obtained by cone calorimeter

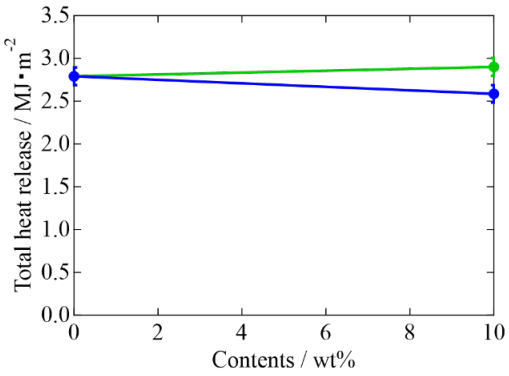


Figure 9. Total heat releases of water-soluble urethane composite films obtained by cone calorimeter

まとめ

Mannich 反応とポリリン酸とのイオン結合により、水溶媒を用いた低環境負荷なプロセスで窒素とリンからなるハロゲンフリーな難燃性 LCNF を作成することができた。得られた MPPLCNF は自己消火性を示すことが明らかにされた。一方、MPPLCNF を水性ウレタンに添加すると力学物性が向上することが明らかにされたが、コーンカロリメーターから得られた総発熱量はほとんど減少しなかった。MPPLCNF の元素分析の結果から、リンの含有量が少ないために期待していた難燃性が発揮できなかったものと考えられる。今後は、反応条件の検討による melamine、およびポリリン酸の修飾量の向上が必要だと考えられる。また、melamine に含まれる 3 つの一級アミンはすべて Mannich 反応に関与するため、LCNF 同士が架橋する可能性があり、架橋するとポリリン酸と結合するアミンが減少する。そこで Mannich 反応に関与しない 2 級アミンを基質とすることでリンの導入量が増え難燃性が向上するのではないかと考え、

参考文献

[1] F. Ono, et al., *RSC Adv.* 12, 3300 (2022).
[2] N. E. Mircescu, et al., Vib. Spectrosc. 62, 165 (2012).
[3] H. Zhu, et al., RSC Adv. 4, 55271 (2014).

謝辞

本研究を遂行するにあ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を申し上げます。

酸化的環化反応を利用した含窒素ナノグラフェンの簡便合成と機能開拓

岡山理科大学　理学部化学科

岩永　哲夫

近年，酸化的環化反応を用いた縮合多環系芳香族炭化水素(PAHs)の合成が盛んに行われている．基本的には配座がある程度固定された基質に対して本反応を用いることが多いが，多様な配座を有する基質に対して本反応を適用する際に，反応条件により 1 つの構造を持つ PAH を選択的に合成できることが報告されている．このように本反応を用いて 1 つの基質から複数の化合物を選択的に合成できることは，機能性ナノカーボン類の構築の観点からも非常に興味深い．

今回，我々はカルバゾールユニットの 3 位を窒素原子で架橋したカルバゾール二量体に対して，酸化的環化反応を行うことで様々なパイ拡張型カルバゾール誘導体の合成を試みた．反応条件を検討し，酸化剤及び添加する酸の当量を変化させることで，複数の構造異性体の選択的合成に成功した．得られた化合物の構造は各種 NMR や質量分析スペクトルから同定し，最終的には単結晶 X 線構造解析により決定した．主生成物が得られるための予想される反応機構を DFT 計算によるシミュレーションと実験データから明らかにした．

1．はじめに

近年，有機半導体の研究が盛んに行われており，フレキシブルな有機 EL 素子や持ち運びが可能な有機太陽電池など，様々な応用が期待されている．その中でもグラフェンの部分骨格である多環芳香族炭化水素(PAHs)は，多様な構造体の構築や官能基の導入によるバンドギャップの制御など，有機半導体として新たな性質を付与させることが可能なため，最近，特に注目されている化合物群である[1]．これまでに様々な構造の PAHs が合成されているが，これらを構築するためによく用いられる反応として酸化的環化反応（Scholl 反応）がある．

酸化的環化反応（Scholl 反応）[2]は，2,3-dichloro-5,6-dicyano-p-benzoquinone （DDQ）や $FeCl_3$ などの酸化剤を用いることで官能基を持たないアリール炭素同士を直接結合させることができる反応である．Scholl 反応は剛直な分子構造を持つ前駆体に適用されることが多く，複数の配座を持つ前駆体に本反応を適用すると構造異性体が生じ，精製が煩雑になるため，ほとんど報告がない．

本研究では，Scholl 反応特有の課題を解決し，含窒素パイ共役系の拡張性を容易にするため，以下の事項に取り組む．①窒素原子まわりを固定化せず配座異性体が生じる含窒素鍵中間体を合成し，②酸化剤の種類,添加する酸やその当量を制御することで，反応系中の酸化力を最適化し，反応条件により構造異性体を作り分ける簡便合成を達成できる手法の確立を目指す．

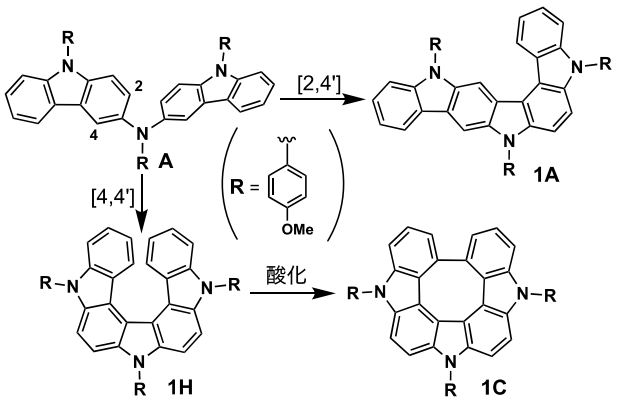


Chart 1. 化合物 **A** と Scholl 反応による誘導体の例

今回，酸化的環化反応を用いた構造異性体の選択的合成と，その反応機構を調査するために，窒素原子で 2 つのカルバゾールを架橋したカルバゾール二量体 **A** を設計した(Chart 1)．カルバゾールは酸化されやすいユニットであるため，本反応が容易に進行しやすいと考えられる．**A** の構造的特徴としてカルバゾールと窒素原子間で自由回転できるため，本

反応を用いることで様々な化合物を合成できると考えられる．今回は異なる酸化剤を用いて，これら構造異性体の選択的合成を試み，その反応機構を推測することとした．

2．結果と考察

(1)酸化的環化反応を用いた縮環型カルバゾール二量体の合成

化合物 **A** は，既知の方法で合成した *N*-(4-メトキシフェニル)-3-ブロモカルバゾール[3]と *p*-アニシジンとの Buchwald-Hartwig クロスカップリングを用いて，黄色固体として収率 79%で合成した．

得られた化合物 **A** に対して，酸化剤として Bis(trifluoroacetoxy)iodo]benzene (PIFA)を用いて Scholl 反応を検討したところ，フェノキサジン骨格を有した化合物 **1P** が収率 50%で得られた．酸化剤の当量を増やしても生成物に変化はなかった．

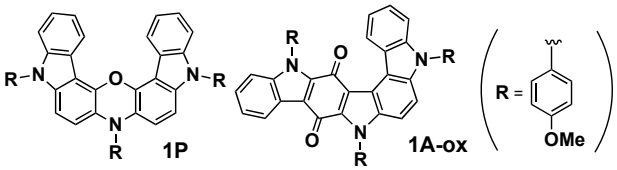


Figure 1. 化合物 **1P** と **1A-ox** の分子構造

次に 2 当量の DDQ を酸化剤として，添加する酸は CF_3COOH (TFA)を用いて反応検討した．TFA を 2 当量用いたところ，**1P** が収率 37%で得られた．次に TFA を 36 当量用いて反応を行ったところ，分子内で縮環反応が進行し，**1A** と **1C** が確認された．また **1A** がさらに酸化された構造を持つ **1A-ox** も赤色固体として得られた (収率 23%)．さらに TFA を大過剰に添加した条件で反応を行ったところ，**1C** は確認されず，**1A** が収率 64%で得られた．

一方，DDQ 6 当量に対して，TFA 36 当量を用いて反応を行ったところ，分子間でカップリングした二量体が質量分析スペクトルや ^{1}H NMR から確認されており，分子内縮環した誘導体の収率が減少した．従って分子内縮環体を効率よく得るためには DDQ を過剰量加えない条件が適切であると考えられる．

(2) **1A-ox** 及び **1P** の X 線結晶構造解析

1A-ox と **1P** において良質な単結晶が得られたため，X 線結晶構造解析により構造を明らかにした (Figures 2&3)．

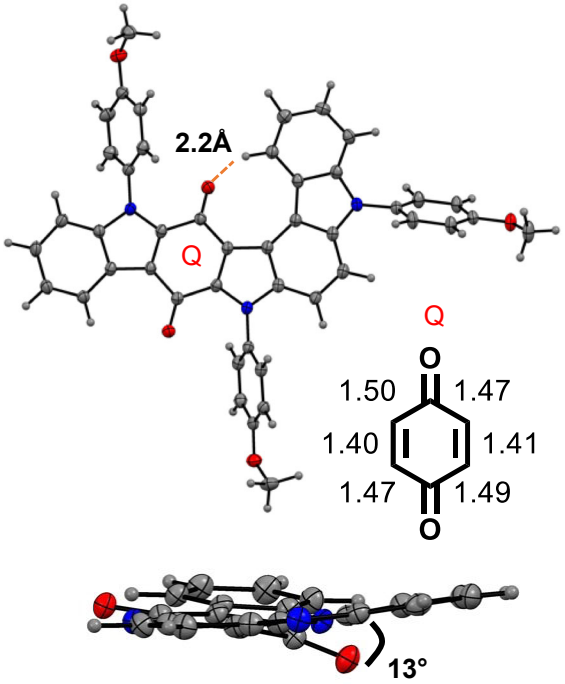


Figure 2. 化合物 **1A-ox** の ORTEP 図

1A-ox において，骨格全体はほぼ平面構造を有していた．キノン部位 (Q) の外側の酸素原子は分子平面上に位置していたのに対し，内側の酸素原子は分子平面から 12 度ほど歪んでいた．これは酸素原子と向かい合ったカルバゾールユニットの水素原子との距離が 2.2 Å と短く，立体障害によるものであると示唆された．またキノン部位 (Q) のそれぞれの結合距離は，C=O が 1.24 Å，C=C が約 1.40 Å となっており，一般的なベンゾキノン構造を維持していた．

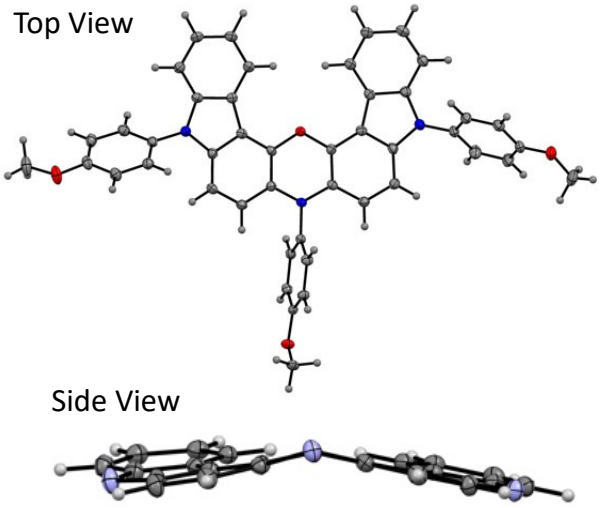


Figure 3. 化合物 **1P** の ORTEP 図

化合物 **1P** では，全体的に平面構造となることが DFT 計算より予想されていたが，フェノキサジン骨格が湾曲した構造となっていた．一方，**1P** 内のカルバゾール骨格は酸素原子が導入されたことにより，2 つのカルバゾールユニット間の距離が離れ，立体障害による歪みが小さくなった．

（3）酸化還元電位の解明

前駆体 **A** および得られた化合物 **1A-ox** と **1P** のサイクリックボルタンメトリーを測定した(Figure 4)．

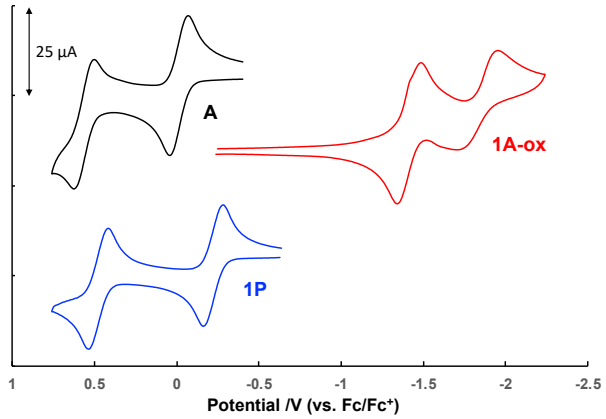


Figure 4. サイクリックボルタモグラム(0.1 M Bu_4NPF_4 in CH_2Cl_2, 電極 GC, scan rate 100 mV/s)

1A-ox はキノン部位に由来する可逆な 2 段階の還元波が観測されたが，酸化波は非可逆であった．一方，フェノキサジン骨格をもつ **1P** は，化合物 **A** と比べて酸化されやすくなっていた．これは２つのカルバゾール骨格が窒素と酸素原子で架橋されたことで，電子ドナー性が向上したことに起因すると考えられる．

（4）反応機構の解明

主生成物である **1A** が生成する反応機構を理解するために，DDQ/H^+条件による酸化的環化反応で提唱されている 2 つの反応機構で比較した．例えば，過剰に酸を用いると **1A** の選択性が向上したが，多くの H^+が存在することで，アレニウムカチオン中間体が系中に増加すると考えられ，アレニウムカチオン機構での反応進行が推定される．一方で，H^+により DDQ を活性化することで酸化能が向上し，ラジカルカチオン機構での反応進行も推定される[4]．

はじめに酸化剤により **A** のラジカルカチオン種が生成しているか，吸収スペクトルを用いて確認した(Figure 5)．基質 **A** に対し，1 電子酸化剤である magic blue (MB)を 1 当量添加したところ，650～850 nm に新たに幅広い吸収が観測された．この吸収は **A** のラジカルカチオン種に相当するものと示唆された．また DDQ を 1 当量加えた場合でも同様に長波長領域に幅広い吸収帯が観測された．このため酸を添加しない条件でも，**A** のラジカルカチオン種は生成しているものと考えられる[5]．

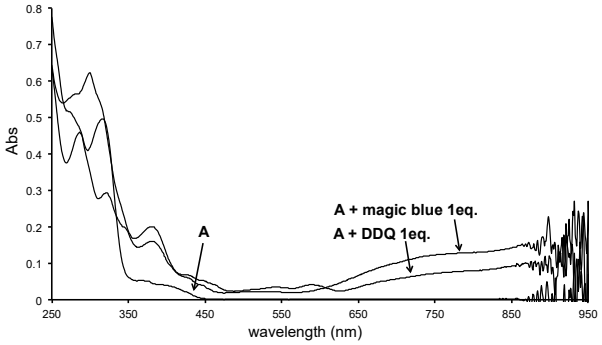


Figure 5. 酸化剤を添加した化合物 **A** の吸収スペクトル（CH_2Cl_2溶液）

この結果から酸化剤として MB のみを用いて **A** への Scholl 反応を試みたところ，1 当量では反応が進行せず，2 当量用いた際に **1A** が収率 78 %と高収率で得られた．この条件は酸を添加していない条件であるため，**1A** の生成過程にアレニウムカチオンは関与していないと考えられる．同様に DDQ のみを 6 当量用いて反応を行ったが，反応が進行しなかった．先に示した吸収スペクトルの結果より，DDQ 1 当量用いた場合で **A** のラジカルカチオン種は発生していたが，6 当量と過剰量用いた場合で反応が進行しなかったことから，縮環はラジカルカチオンを経由した機構ではなく，酸化剤が一度に **A** を 2 電子酸化したジカチオン種を経由した機構で起こったものと推測される[6]．

また今回の反応系で **1A** が選択的に得られる理由を調べるために，DFT 計算から見積もられる Mulliken 電荷から推測した(Figure 6)．ジクロロメタン中で 2 電子酸化した条件でシミュレーションした **A** の Mulliken 電荷から，カルバゾールの 2 位が正に，4 位が負に帯電していることがわかった．このことから 2,4’ 位で優先的に縮環が進行し，結果

として非対称な構造をもつ **1A** が主生成物として得られたと考えられる．

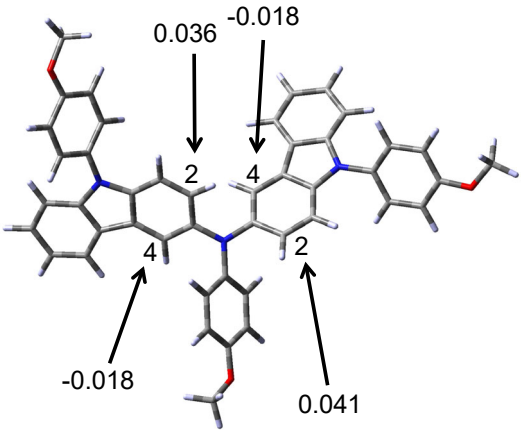


Figure 6. ジカチオン種 $\mathbf{A}^{2+}$の反応点周辺の Mullilen 電荷の分布 (B3LYP/6-31G(d)レベル)

３．まとめ

化合物 **A** に対し，Scholl 反応を適用することで，様々な位置で縮環したカルバゾール二量体の合成に成功した．反応系中の酸濃度を上昇させることで **1A** の選択性が向上することを見出した．得られた誘導体である **1A-ox** と **1P** は X 線結晶構造解析より歪んだ構造を有することを明らかにした．酸化剤を利用した反応機構の推測から **1A** の生成はアレニウムカチオンやラジカルカチオンを経由したものではなく，ジカチオンを経由して生成したものと推測される．

これらの結果は，ヘテロ原子を組み込んだ PAHs やナノグラフェン類の合成手法開発に有用な知見を与え，簡便合成や優先的に得られる構造異性体の予測など，様々な材料開発を自在に行う点から注目できる結果であると考えられる．

４．謝辞

本研究は，令和４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．また本研究の遂行にあたり，東京工業大学理学院・豊田真司教授，大阪大学大学院基礎工学研究科・鈴木修一准教授，岡山理科大学理学部化学科・若松寛准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] (a) M. Müller, C. Kubel, K. Müllen, *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 2099. (b) M. Grzybowski, B. Sadowski, H. Butenschön, D. T. Gryko, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, *59*, 2998.

[2] (a) R. Scholl, J. Mansfeld, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1910**, *43*, 1734. (b) M. Grzybowski, K. Skonieczny, H. Butenschön, D. T. Gryko, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 9900.

[3] L. Zeng, G. Liu, B. Zhang, J. Chen, Y. Chen, E. Kang, *Poly. J.* **2012**, *44*, 257.

[4] L. Zhai, R. Shukla, S. H. Wadumethrige, W. Rathore, *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 4748.

[5] T. Nishinaga Ed. "Organic Redox Systems: Synthesis, Properties, and Applications" Wiley, Hoboken NJ, **2016**.

[6] Chaolumen, M. Murata, A. Wakamiya, Y. Murata, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 5082.

６．研究成果

学会発表

(1) A. Shimizu, T. Iwanaga, Synthesis and structures of Twisted N-containing π-extended anthracene derivatives via oxidative aromatic coupling, 25th IUPAC International Conference on Physical Organic Chemistry (ICPOC-25), Hiroshima, 2022.7. (Poster)

(2) ○清水厚希，岩永哲夫，酸化的環化反応を用いた縮環型含窒素アントラセン二量体の合成と物性，2022 年度日本化学会中国四国支部大会，広島大学，2022 年 10 月．(口頭発表)

学術論文（謝辞掲載）

(1) T. Iwanaga, K. Tanaka, K. Kawano, N. Yamashita, T. Ishikawa, S. Toyota, Synthesis and Photophysical Properties of Anthracene Bisimide-Butadiynylene Linear Dimer and Trimer, *Chem. Lett.* **2023**, *52*, 233.

脳内蓄積タンパク質に着目したうつ病発症の新規メカニズムの解明

岡山理科大学　理学部　臨床生命科学科

橋川　直也

概要

うつ病は、気分がひどく落ち込んだり、何事にも興味を持てなくなる精神的な症状と、不眠症や全身倦怠感などの肉体的な症状によって強い苦痛を感じ、日常の生活に支障が現れるまでになった状態である。こうした状態は、日常的な軽度の落ち込みから重篤なものまであり、自殺の原因としても問題になっている。近年うつ病モデルマウスの作製方法として心的外傷後ストレス（PTSD）や、ヒトのうつ病発症に近いモデルである社会敗北ストレスが注目されている。過去の本研究室による研究によって、社会敗北ストレス負荷によってうつ様行動を示すマウスにおいて、脳海馬でのアミロイドβ（Aβ）増加、熱ショックタンパク質（HSP）発現量の低下が認められた。Aβ はアルツハイマー型認知症の原因物質とされ、凝集により神経毒性を示すことが知られている。また、社会敗北ストレス負荷によってうつ様行動を示すマウスの HSP を発現誘導することによってうつ様行動が治療できることを明らかにしている。そこで、マウスに Aβ オリゴマーを脳室内投与し、さらに、HSP 発現誘導剤である GGA を投与することで、うつ様行動にどのような影響を与えるか検討した。その結果、Aβ オリゴマー投与は、脳神経栄養因子の受容体である *TrkB* mRNA 発現量を減少させ、うつ様行動を引き起こすことが明らかとなった。また、HSP を発現誘導することで *TrkB* mRNA 発現量およびうつ様行動が改善することが明らかになった。以上のことより、Aβ オリゴマーはうつ様行動の原因の一つとなる可能性が示唆された。

1. 緒言

近年、現代人を取り巻く環境が劇的に変化したことで、うつ病や心的外傷後ストレス（PTSD）などのストレス起因性の精神疾患が近年急速に増加している。その中でも特にうつ病の患者数は著しく増加し続けており、自殺率も高く、大きな社会問題となっている。しかし既存の抗うつ薬による作用は、大部分が偽薬効果で、若年者においては主要な抗うつ薬 13 種類で偽薬以上の効果が認められないことが報告されているなど[1]、既存薬に代わる新たな抗うつ薬の開発が必要とされている。

以前本研究室では、社会的敗北ストレスにより作製したうつ病モデルマウスの脳海馬でアミロイドβ（Aβ）が増加することを明らかにしている。Aβ はアルツハイマー型認知症の原因物質とされており、Aβ が脳内に蓄積して神経毒性や神経新生の阻害を示すとされている。さらにアルツハイマー型認知症患者にはうつ病の既往歴が報告されているが[2]、Aβ とうつ病の詳細な関係性は明らかになっていない。また、本研究室では社会的敗北ストレスによりうつ様状態になったマウスの熱ショックタンパク質（HSP）を発現誘導することでうつ様状態が改善することを明らかにしている[3]。HSP は熱や紫外線などのストレスにより発現誘導されるタンパク質で、フォールディングを制御して細胞を保護するタンパク質であり、変性アミロイドβの凝集抑制にも関与していることが報告されている[4]。HSP は分子量ごとに分けられ、HSP72 は変性タンパク質の折り畳みに関わり、HSP90 は細胞内シグナル伝達などに、HSP105 は脳内のタンパク質凝集抑制とアポトーシス制御に関わることが知られている。また、HSP はゲラニルゲラニルアセトン（GGA）や温浴により発現誘導することができる。

本研究では、うつ病の新しい治療法や予防法を確立するため、Aβ と HSP の関係性に注目し、Aβ 投与脳室内投与におけるうつ様行動への影響を解析した。

2. 実験材料及び実験方法

2-1. 実験動物

以前の報告を参考に、Aβ のオリゴマーは 20℃で 1 日インキュベートして作製して使用した[5]。実験動物は、8 週齢の Balb/c オスマウスを用いた。対照群には生理食塩水を脳室内投与して Saline 群とした。Aβ オリゴマー（100 μM, 5 μL）を脳室内投与した群を Aβ 群とし、Aβ を投与しさらに GGA を摂取量が 500 mg/kg/day となるように混ぜた飼料を与えた群を Aβ+GGA 群とした。Saline 群と Aβ 群には通常の飼料を与えた。脳室内投与から 1 週間後に行動試験として強制水泳試験、スクロース嗜好性試験を行った。

2-2. 行動試験による評価

Aβ 脳室内投与によるうつ様状態を評価するため、強制水泳試験とスクロール嗜好性試験を行った。

2-2-2. 強制水泳試験

直径 10 cm、高さ 25 cm の透明なアクリル円柱に 30℃に設定した水を 15 cm の高さまで入れ、マウスを 6 分間強制水泳させる。6 分間のうち 1 分後からの 5 分間のマウスの不動時間を記録した。不動時間が長いほどうつ様状態が高いとされる。

2-2-3. スクロース嗜好性試験

マウスのケージに水道水と 2%スクロース溶液を入れた 2 本の試験管を挿し、1 日後のそれぞれの飲水量を記録した。スクロース溶液摂取量の割合が低いほどうつ様状態が高いとされる。

2-3. 脳海馬における遺伝子発現

マウスを安楽死後、脳を採取し、RNA 分解抑制液にて保存した。その後、AGPC 法により海馬から mRNA を抽出し、定量 RT-PCR にて解析を行った。プライマーには *HSP72*, *HSP105* および、脳神経の成長に関係する脳神経栄養因子 *BDNF* とその受容体である *TrkB* を用いた。

3. 結果

3-1. Aβ オリゴマー脳室内投与と GGA 投与によるうつ様行動への影響

Aβ オリゴマーを脳室内投与し 1 週間後にうつ様行動試験を行った結果、強制水泳試験では Saline 群と比べて Aβ 群の不動時間が有意に増加し、GGA 投与により変化が認められなくなった（Fig.1A）。また、スクロース嗜好性試験においても Saline 群と比べて Aβ 群でスクロース嗜好性に有意な減少が認められ、GGA 投与により有意な増加が認められた（Fig. 1B）。

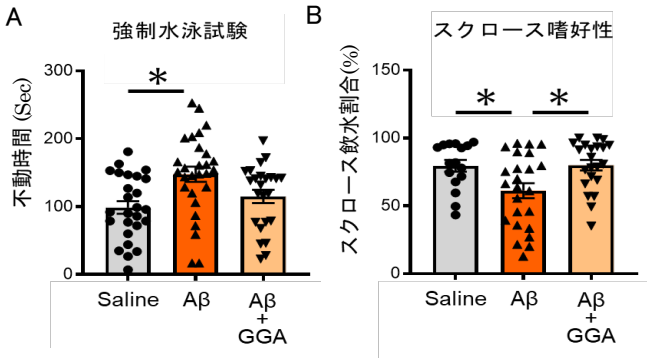


Fig.1 Aβ オリゴマー脳室内投与と GGA 投与による行動試験の結果
(A) 強制水泳試験、(B) スクロース嗜好性試験
n=16-28 *P < 0.05 (one-way ANOVA)

3-2. Aβ オリゴマー脳室内投与と GGA 投与による脳海馬遺伝子発現量の変化

Aβ オリゴマーを脳室内投与した結果、*HSP72* では Saline 群と Aβ 群に比べて Aβ+GGA 群で有意に増加した（Fig. 2A）。*HSP105* では Saline 群と比べて Aβ 群で減少傾向があり、Aβ 群に比べて Aβ+GGA 群では有意に増加していた（Fig.2B）。また、*BDNF* では Aβ 群に比べて Aβ+GGA 群で有意に増加した（Fig.2C）。一方、BDNF の受容体である *TrkB* は Saline 群と比べて Aβ 群で有意に減少し、GGA 群で有意に増加した（Fig. 2D）。

4. 考察

Aβ オリゴマー脳室内投与による強制水泳試験の不動時間の延長とスクロース嗜好性低下の結果から、Aβ オリゴマーはうつ様行動を引き起こすこと

が明らかとなった。また、海馬の mRNA 発現解析の結果、Aβ オリゴマー投与により *HSP105* で減少傾向が認められ、*TrkB* が減少した。しかし GGA 投与によって、それらの遺伝子の発現は回復した。TrkB は BDNF の受容体であり、脳由来神経栄養因子である BDNF は神経細胞の成長に必要な栄養因子である。ラット海馬に BDNF を投与すると抗うつ作用を示すことや[6]、うつ病患者の BDNF の血清値は健常者と比較し有意に減少していることなどが報告されている[7]。さらに、HSP105 は脳神経栄養因子 BDNF の発現や、シグナル伝達に関わることが明らかになっていることから[3]、Aβ オリゴマーは HSP105 の発現を抑制することで BDNF シグナルを減少させ、神経新生に影響を与えることでうつ様行動を引き起こした可能性が考えられる。

以上のことから、Aβ オリゴマーは HSP105 の発現を低下させることで、BDNF-TrkB 経路に影響を与え、うつ様行動を引き起こす可能性が示唆された。

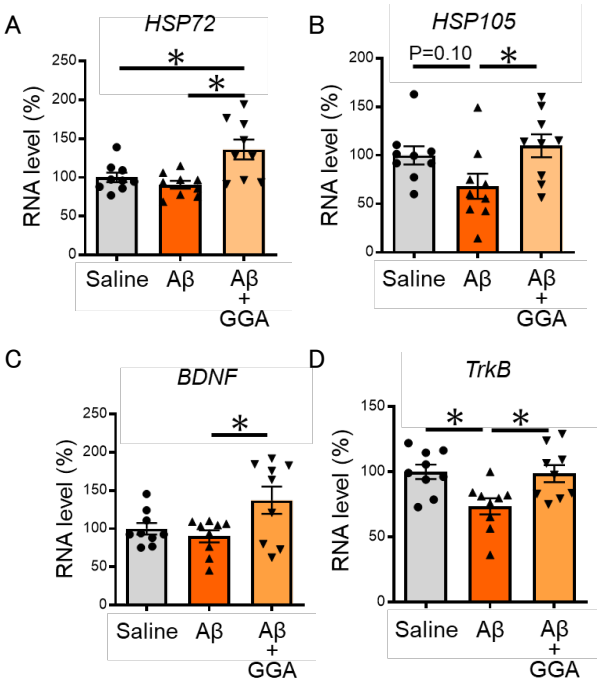


Fig.2　Aβ オリゴマー脳室内投与による脳海馬内での mRNA 発現量
Saline 群の転写量の平均を 100%とした。(A) *HSP72* mRNA、(B) *HSP105* mRNA、(C) *BDNF* mRNA、(D) *TrkB* mRNA
n=16-28 *P < 0.05 (one-way ANOVA)

5. 参考文献

[1] Cipriani A., Comparative efficacy and tolerability of antidepressants for major depressive disorder in children and adolescents: a network meta-analysis, *Lancet*, 388 (10047): 881-890, 2016

[2] Ownby R. L. *et al.,* Depression and risk for Alzheimer disease: systematic review, meta-analysis, and metaregression analysis, *Arch. Gen. Psychiatry*, 63 (5) :530-538, 2006

[3] Hashikawa N.*et al*., HSP105 prevents depression-like behavior by increasing hippocampal brain-derived neurotrophic factor levels in mice, *Science Adv*., 3 (5): e1603014, 2017

[4] Hoshino T. *et al.,* Suppression of Alzheimer's Disease-Related Phenotypes by Geranylgeranylacetone in Mice, *PLoS One*, 8 (10) :e76306, 2013

[5] Souza L. C. *et al.,* Indoleamine-2,3-dioxygenase mediates neurobehavioral alterations induced by an intracerebroventricular injection of amyloid-b1-42 peptide in mice*, Brain, Behavior, and Immunity,* 56: 363-377, 2016

[6] Jiang B. *et al.,* Antidepressant-like effects of ginsenoside Rg1 are due to activation of the BDNF signalling pathway and neurogenesis in the hippocampus, *British Journal of Pharmacology,* 166: 1872-1887, 2012

[7] Wang T. *et al.,*Serum Level of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) Associated with Depression in Patients with Rosacea: A Candidate Predictive Biomarker, *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol*., 15: 1029-1036, 2022

フラーレン内包多孔亜鉛ポルフィリンダイマーに基づく光レドックス触媒の創製

岡山理科大学　理学部　化学科

満身　稔

金属－有機構造体（MOF）や多孔性配位高分子（PCP）とよばれる多孔性金属錯体ポリマーは，光捕集を担う色素が高秩序で配列することで高効率の光捕集が期待できる．この多孔性金属錯体を電子ドナーに用いて，その細孔内に電子アクセプターを導入すれば，光エネルギー変換に必要な光捕集と電荷分離がアクセプター内包多孔性金属錯体単独で可能になると考えられる．我々は，優れた光レドックス触媒の開発を目指して，アクセプターとしてフラーレン C_{60} を細孔内に内包し，電荷分離状態を示すフラーレン内包多孔性亜鉛ポルフィリン錯体の開発を行なっている．本研究では，亜鉛ポルフィリンのダイマー化により，電荷分離により生じる電荷を非局在化させて逆電子移動を抑え，電荷分離状態を長寿命化することを期待して，二次元四角格子を形成することが可能な亜鉛ポルフィリンダイマー**ZnPD_121** を新規に合成した．この錯体を用いて光レドックス触媒として機能する C_{60} 内包亜鉛ポルフィリンダイマーの開発を行い，光水素生成に成功したので報告する．

1．序論

金属－有機構造体（MOF）や多孔性配位高分子（PCP）とよばれる多孔性金属錯体ポリマーは，細孔を有する結晶性物質であり，光捕集を担う色素が高秩序で配列することで高効率の光捕集が期待できる．この多孔性金属錯体を電子ドナーに用いて，その細孔内に電子アクセプターとなるフラーレンを導入すれば，光エネルギー変換に必要な光捕集と電荷分離がフラーレン内包多孔性金属錯体単独で実現できると考えられる（図１）．光励起状態にある電荷分離状態から，化学エネルギーを取り出せば様々な光レドックス触媒となり，電気エネルギーを取り出せば光電変換システムとなる．したがって，多孔性金属錯体に基づく電荷分離システムは様々な用途で利用可能な光エネルギー変換材料を創製でき，エネルギー問題の解決に貢献できると期待される．

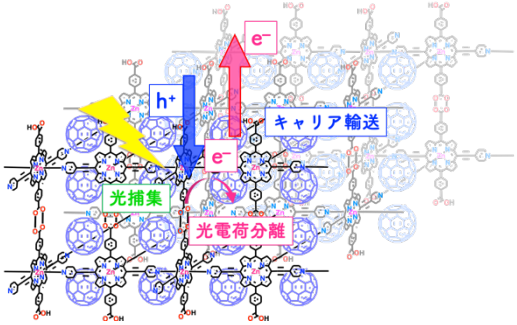


図１．フラーレン内包多孔性亜鉛ポルフィリン錯体

そこで我々は，優れた光レドックス触媒の開発を目指して，フラーレン C_{60} を細孔内に内包し，長寿命の電荷分離状態を示すフラーレン内包多孔性亜鉛ポルフィリン錯体の開発を行なっている．本研究では，亜鉛ポルフィリンのダイマー化により，電荷分離により生じる電荷を拡張π共役系に非局在化させて逆電子移動を抑え，電荷分離状態を長寿命化することを期待して，図２に示す自己集合により二次元四角格子を形成することが可能な亜鉛ポルフィリンダイマー**ZnPD_121** を新規に合成した．この錯体では，配位サイトが四つ存在するのに対し配位部位であるピリジル基が二つであるため，自己集合によって向い合った不飽和な配位サイトが形成され，πスタックによるフラーレンの内包が期待される．そこで，この錯体と C_{60} との共結晶化を行ったところ，

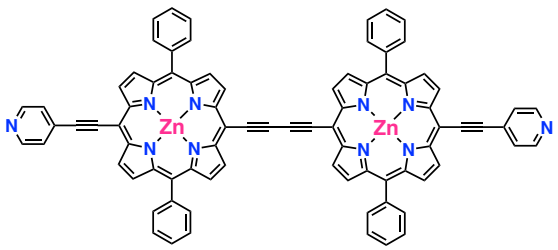


図２．亜鉛ポルフィリンダイマー **ZnPD_121**

C_{60} 包多孔性亜鉛ポルフィリンダイマー**ZnPD_121**·

C_{60}-A form の結晶化に成功した．この錯体の研究成果について報告する．

2．結果と考察

合成.

亜鉛ポルフィリンダイマー**ZnPD_121** の合成経路を図 3 に示す．ピロールとベンズアルデヒドを出発物質として，4-フェニルジピロメタンを合成し，3-(トリイソプロピルシリル)-2-プロピナールとの MacDonald 型縮合反応によってポルフィリン環を形成した．還流下，ジクロロメタン/メタノールの混合溶液中で亜鉛の導入を行い，TBAF により片方の TIPS 基のみ脱保護を行った．この化合物と 4-ヨードピリジンとのクロスカップリングを行い，得られた化合物の脱保護およびホモカップリングにより，**ZnPD_121** を得た．

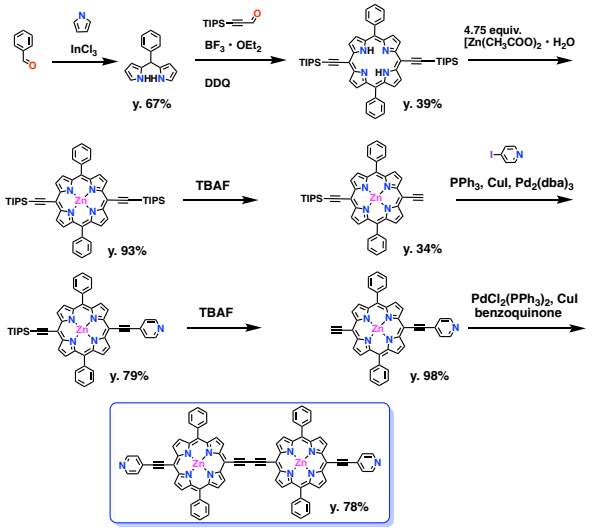


図 3．亜鉛ポルフィリンダイマー**ZnPD_121** の合成

結晶構造解析

C_{60} 内包多孔性亜鉛ポルフィリンダイマー**ZnPD_121**·C_{60}-A form の結晶構造を図 4 に示す．晶系は *orthorhombic*，空間群は *I*222 である．単位格子内には**ZnPD_121** 4 分子と C_{60} 2 分子が存在する．**ZnPD_121** は亜鉛原子の軸上に隣接分子のピリジル基が互いに逆側から配位することによって自己集合したヘリンボーンタイプのシート構造を形成しているが，二次元四角格子の短辺が小さくなることから，C_{60} は四角格子内だけに収まらず，上下のシートのポルフィリンユニット 2 つずつ，計 4 つとの $\pi-\pi$ 相互作用によって取り込まれていることが分かった．

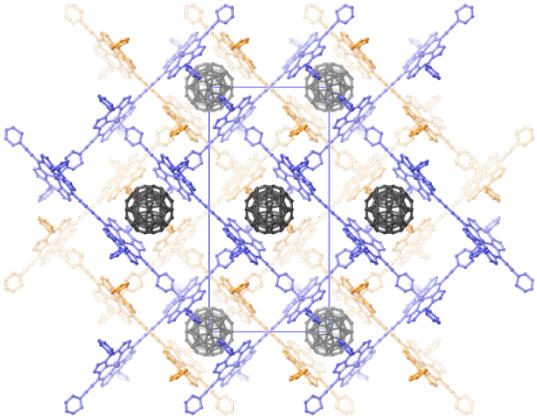


図 4．**ZnPD_121**·C_{60}-A form の結晶構造

紫外－可視吸収スペクトル・発光スペクトル

DMF 中で測定した **ZnPD_121** の紫外可視吸収スペクトルを図 5 に示す．ポルフィリン錯体に特有の Solet 帯および Q 帯はダイマー化により分裂しており，Soret 帯のピークが 458 nm と 494 nm に，Q 帯のピークが 681nm と 744 nm に観測された．これは，D_{4h} 対称であるポルフィリン骨格の対称性がブタジイン架橋によって崩れることで，二つの遷移双極子モーメント B_x と B_y が生じるためである [1]．

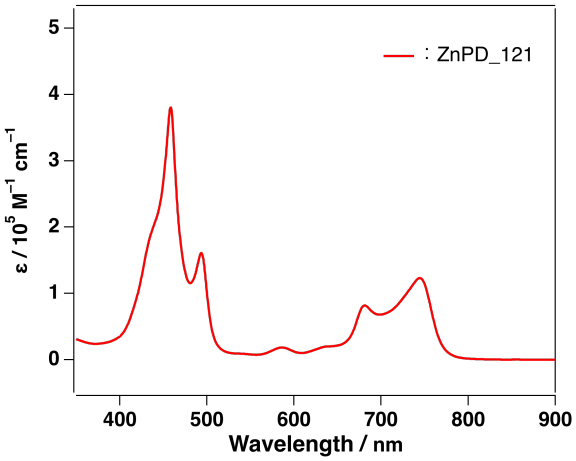


図 5．**ZnPD_121** の紫外・可視吸収スペクトル

ZnPD_121 の発光・励起スペクトルを図 6 に示す．分裂した Solet 帯の短波長側を励起すると 680nm 付近と 740nm 付近に二種類の発光が現れた(青色)．一方，分裂した Solet 帯の長波長側を励起すると，740nm 付近のみ発光が見られた（赤色）．また，それぞれ 680nm と 740nm 付近に検出器の波長を固定し，励起スペクトル測定を行うと，680nm 付近で検

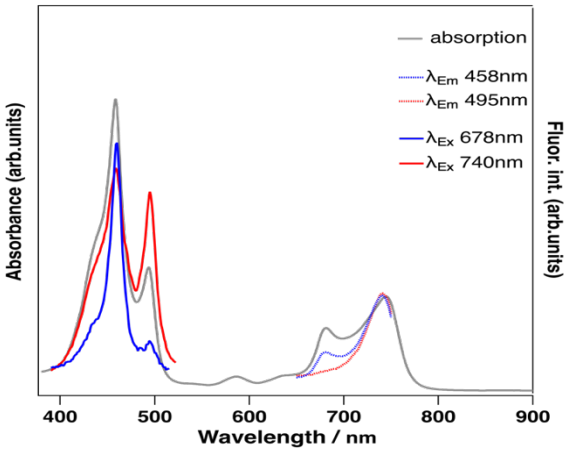


図６．**ZnPD_121** の発光・励起励起スペクトル

出された励起スペクトルは Solet 帯の短波長側である 460 nm 付近にのみピーク（青色）を示し，740 nm 付近で検出された励起スペクトルは 460 nm のピークに加え，長波長側である 500 nm のピークも示した（赤色）．これらブタジイン架橋ポルフィリンダイマーにおける特徴的な発光は，Anderson らによって次のように説明されている [2,3]．ブタジインポルフィリンダイマーは，軸周りの回転により異なる立体配座を取ることができる．しかしながら，ブタジイン架橋部位は励起状態においてクムレン性が強く，平面化が起こり，740 nm 付近からの発光が強く現れる．さらに，これらの異なる立体配座において，その励起スペクトルは一部重なり合っていないことから，選択的に平面のみを励起することも可能である（図７）．本研究で合成したポルフィリンダイマーも同様に，異なる立体配座からの発光が見られていることから，励起状態において一部，捩れ型から共平面型へのコンフォメーションの変化が起こっている可能性が示唆される．

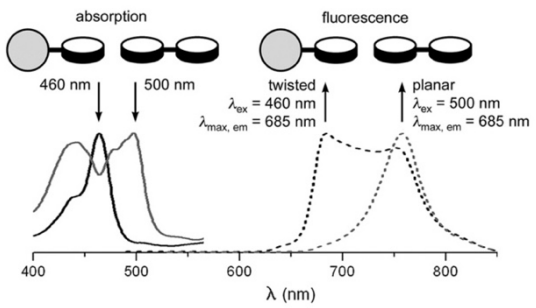


図７．ブタジインダイマーにおける異なる立体配座の選択的励起 [3]

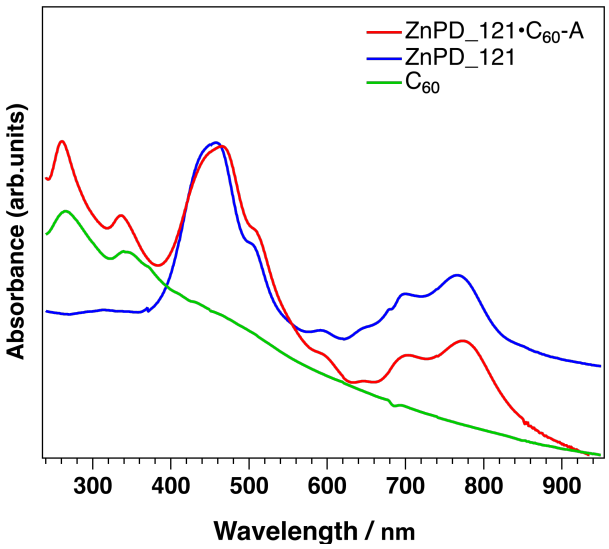


図８．**ZnPD_121**·C_{60}-A form の紫外可視吸収スペクトル

ZnPD_121·C_{60}-A form の紫外可視吸収スペクトルを **ZnPD_121**, C_{60} のデータとともに図８に示す．**ZnPD_121**·C_{60}-A form のポルフィリンの Solet 由来のピークは **ZnPD_121** と比べて 6 nm ほど red-shift しており，また，フラーレン由来のピークは 13 nm ほど blue-shift している．また，800 nm 付近に観測が予想される **ZnPD_121** と C_{60} の CT 相互作用による吸収は Q 帯の吸収が強く観測できず，CT 相互作用の有無を判断できなかった．

過渡吸収スペクトル

ZnPD_121·C_{60}-A form の固体状態における近赤外領域の過渡吸収スペクトルを図９に示す．約 3ns の寿命を持つ電荷分離によって生成したラジカル種と思われる約 1080nm のピークが観測された．現在，スペクトルの詳細について検討中である．

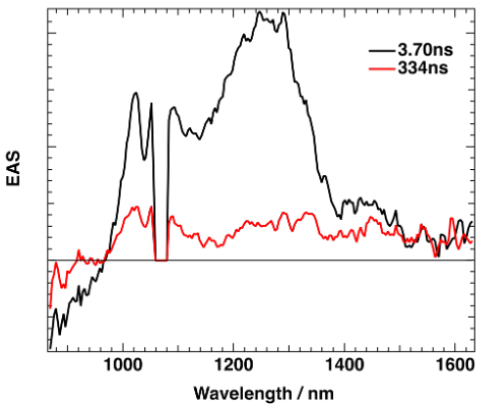


図９．**ZnPD_121**·C_{60}-A form の固体状態における過渡吸収スペクトル．

フォトレドックス触媒性能評価

ZnPD_121·C_{60}-A form 結晶のフォトレドックス触媒としての性能評価を水素生成触媒に白金コロイド，犠牲剤にアスコルビン酸を用いて行なった（図１０）．光照射開始から 24 時間まで水素の生成を確認した．今後，光水素生成の最適化条件の検討を行いながら水素生成評価を行なっていく予定である．

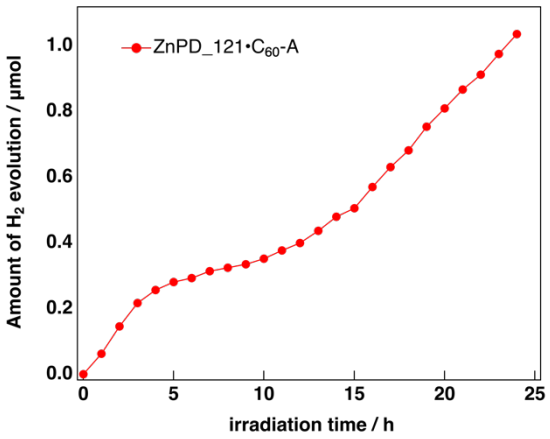


図１０．**ZnPD_121**·C_{60}-A form の光水素生成

３．まとめ

本研究では，光電荷分離後の安定化を期待して亜鉛ポルフィリンダイマー**ZnPD_121** を新規に合成し，フラーレン内包多孔性亜鉛ポルフィリンダイマー**ZnPD_121**·C_{60}-A form の合成・結晶化を行い，X 線結晶構造を明らかにすることに成功した．**ZnPD_121** の吸収・発光スペクトルでは，分子軸方向とそれに垂直な方向で遷移双極子モーメントが異なるので，Soret 帯，Q 帯の分裂が観測された．**ZnPD_121**·C_{60}-A form の過渡吸収スペクトルでは，C_{60} のアニオンラジカルに帰属される吸収が観測され，この寿命から電荷分離寿命は約 3 ns であると見積もられた．さらに，この錯体をフォトレドックス触媒，水素生成触媒に白金コロイド，犠牲剤にアスコルビン酸を用いて，光水素生成を検討したところ，光水素生成を確認した．

４．謝辞

本研究を遂行するにあたり，公益財団法人ウエスコ学術振興財団による学術研究費助成を賜りましたことを深く感謝申し上げます．また，本研究における過渡吸収分光測定は関西学院大学大学院理工学研究科 橋本秀樹教授，浦上千藍紗博士，光水素生成評価は島根大学大学院学術研究院環境システム科学系片岡祐介准教授にお世話になりました．御礼申し上げます．

５．文献

1. H. L. Anderson, *Inorg. Chem.*, **1994**, *33*, 972–981.
2. M. Drobizhev, Y. Stepanenko, Y. Dzenis, A. Karotki, A. Rebane, P. N. Taylor, H. L. Anderson, *J. Phys. Chem. B*, **2005**, *109*, 7223–7236.
3. M. U. Winters, J. Karnbratt, M. Eng, C. J. Wilson, H. L. Anderson, B. Albinsson, *J. Phys. Chem. C*, **2007**, *111*, 7192–7199.

地域の防災マニュアル策定に寄与する中小河川洪水予測が可能な AI センサネットワークと避難タイミング判断システムの実装

（所　属）岡山理科大学

（氏　名）小田　哲也

一級河川では，国や地方自治体の設置した水文観測所があり，水位等の観測データに基づき洪水予報に役立てている．一方で，河川の支流や小規模な河川では，水位等の観測データの取得が難しい．一般に，広範囲に広がる河川の流域全体の監視は困難であるが，無線センサネットワークであれば広範囲からデータを収集することが可能である．本研究では，河川における水位等の予測を目的とした，地域の防災マニュアル策定に寄与するとともに，中小河川洪水予測が可能な，水位の監視と予測を目的とする AI センサネットワークと避難タイミング判断システムを実装したことについて報告する．

1.　はじめに

一級河川では，国や地方自治体の設置した水文観測所があり，水位等の観測により洪水予報に役立てている．また，避難を図るタイミングの情報として，ライブカメラが国土交通省によって設置されており，河川の周辺住民は，インターネットから河川の状態を知ることができる．一方で河川の支流や中小規模の河川では，水位等の観測データの取得が難しい．河川の流域は，長距離かつ広範囲に広がっており，流域全体を把握し水害を予測することは困難である．一方で，センサネットワークであれば広範囲からデータを収集することができ，センサ端末の破損等を，ネットワークを経由して通知等ができる特徴がある．また，状況の把握や収集したデータに対して AI を用いることで変化の予測が可能である．

本報告書では，河川の監視を行うセンシングデバイスの開発を行い，中小河川洪水予測が可能な，水位の監視と予測を目的とする AI センサネットワークと避難タイミング判断システムを実装と実験結果について報告する．

2.　提案システム

本研究では，河川が氾濫し越水や堤防の崩壊を検知するために，冠水の検知および堤体の振動を計測することを目的とした AI センサネットワークと避難タイミング判断システムを実装する．

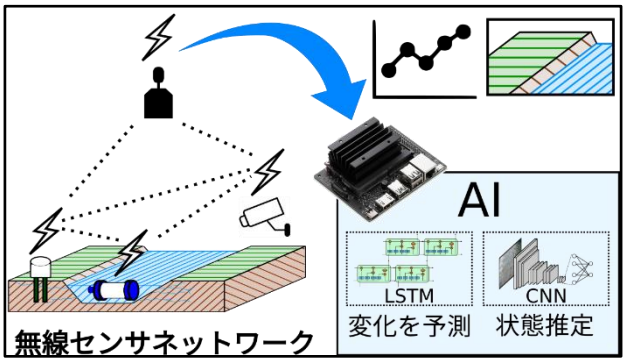


図 1 AI センサネットワークのイメージ

図 1 に提案する AI センサネットワークのイメージを示す．提案システムは，環境のセンシングを行うセンサノードとセンシングデータを集約して AI でデータを解析するシンクノードで構成される．提案システムの各ノードは，メッシュ機構に基づく無線通信で接続する．そのため，センシングを行う複数のセンサノードとセンシングデータを集約するシンクノード間でマルチホップ通信を行ってデータを収集するとともに，センサノードに障害が発生してもセンシングデータの収集を継続して行うことができる．河川や河川周辺の環境が変化することで，河川の水位等が影響を受ける可能性がある．そこで，シンクノードが収集した河川の水位や周辺環境のデータに対して AI を用いて分析することで，河川と河川周辺の環境を時系列解析に基づいて，水位等の変化を予測して避難タイミングを判断する．

2.1 AI センサネットワーク

本研究のAI センサネットワークは，河川監視システム，堤防監視システム，気象監視システム，水位監視システム，以上で構成する．センシングデバイスは防水・防塵機構により保護を行う．デバイスの外部を通るケーブルは，コルゲートチューブで保護する．一部パーツと防水防塵機構は 3D プリンタを用いて開発することで，市販されている同用途のセンシングデバイスと比較して安価に制作する．

2.1.1 河川監視システム

図 2 に，河川の水位と濁度の計測を行う河川監視システムの全体像を示す．

・超音波式水位計

図 3 に超音波式水位計を示す．超音波式水位計は，水面上部に超音波距離センサを設置し，超音波で水面までの距離を計測することで水位を導出する．超音波式水位計は，比較的小規模の河川で用いることができ，水圧を用いる水位計を設置すると漂流物などにより流れに影響を及ぼす小規模な用水路等での使用も可能であるため，農業用地での内水氾濫の監視にも用いることができる．

・透過光方式濁度計

図 4 に透過光方式濁度計を示す．濁度計は，透明なパイプの中を通過する水に対して，光を照射し透過した光を，照度センサを用いて計測することで，濁度を得ることができる．開発した濁度計は，外部からの自然光を遮断するケースの内部に LED ライトと照度センサを設置する．内部を通るパイプは透明であることから，光の遮断を行う箱の端から光が入射するためパイプに入射する光の遮断も行う．

2.1.2 堤防監視システム

図 5 に堤防監視システムの全体像を示す．また，図 6 の土壌水分計・歪計・振動計を複合したセンシングデバイスは，破損等のリスクを低減することを目的として，各デバイスを集約している．

・土壌水分計

図 6 の土壌水分計は，デバイスに取り付けたパイプ内を水で満たし，パイプの先端部分に取り付けたポーラスカップから水が染み出すことで，周囲の土壌水分を飽和状態とする．土壌中の水分量が減衰すると パイプ内の水が染み出し，パイプ内の圧力が低下する．一方で，土壌中の水分量が多くなるとパイプ内の圧力が上昇する．この変化を圧力センサで計測し，土壌水分を計測する．



図 2 河川監視システムの全体像

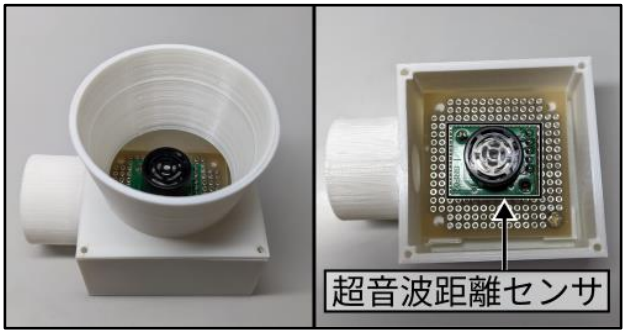


図 3 超音波式水位計

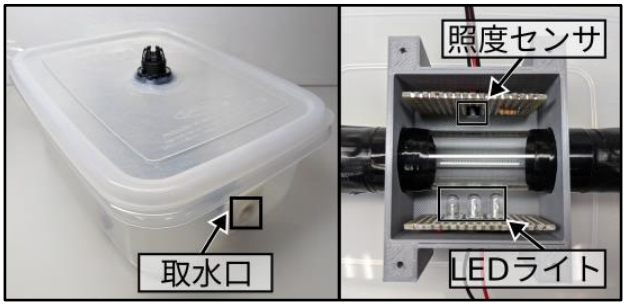


図 4 透過光方式濁度計

・歪計

図 6 の歪計は，デバイスのパイプが堤防の土砂によって押されることで湾曲し，曲げセンサを用いてセンサ本体の湾曲の大きさを計測することで，土壌中の歪を導出する．

・振動計

図 6 に振動計を示す．振動計は，加速度センサを



図 5 堤防監視システムの全体像

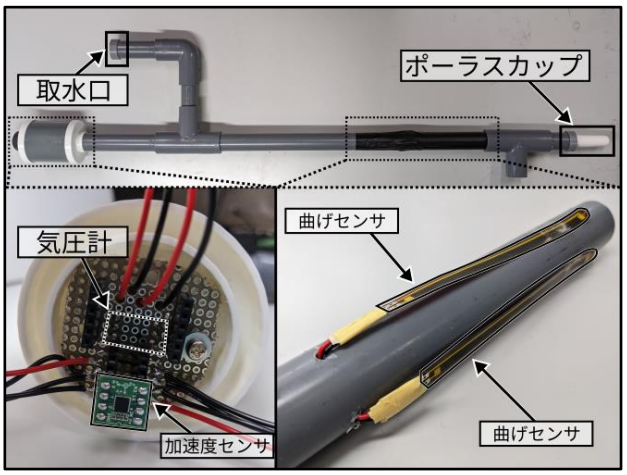


図 6 土壌水分計・歪計・振動計

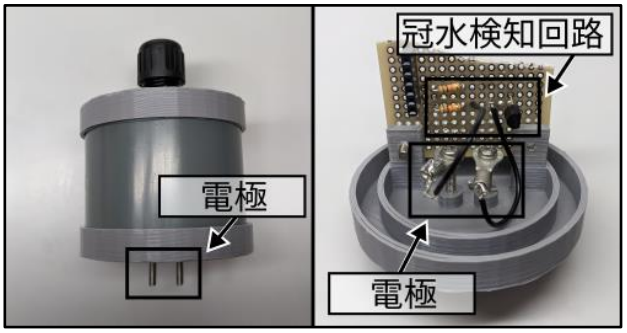


図 7 冠水計

用いて土砂崩れや土砂の流出によって発生する振動とデバイスの傾きを計測することで通常時の異なる振動とデバイスの傾きとなった場合に土砂崩れや土砂の流出が発生したと判断する.

・冠水計

図 7 に冠水計を示す．冠水計は，防水防塵機構の外部に出た金属製の電極に水が接触することで通電し，この通電を検知することで冠水を検知する.

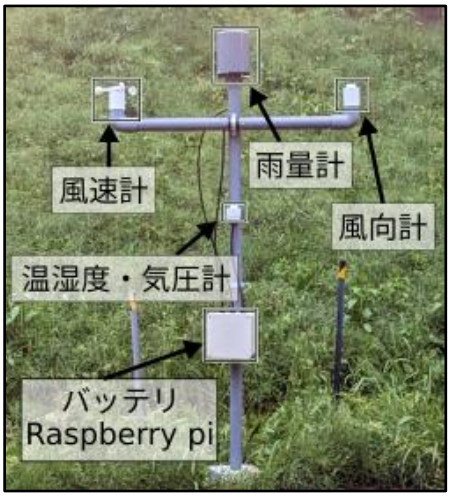


図 8 気象監視システムの全体像

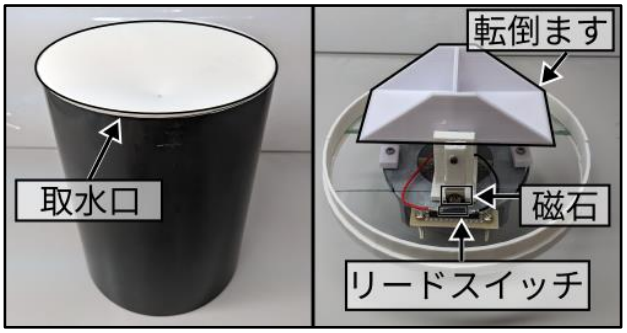


図 9 雨量計

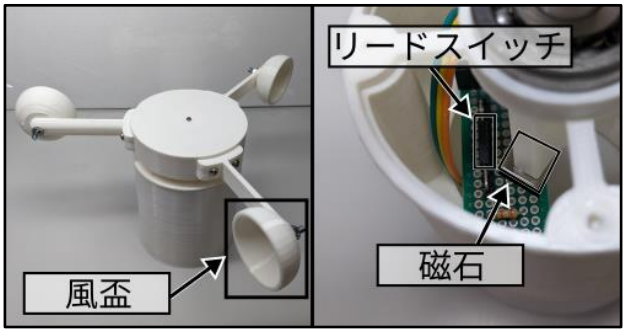


図 10 風速計

2.1.3 気象監視システム

図 8 に雨量データ取得と，雨量予測のための気象監視システムの全体像を示す.

・雨量計

図 9 に雨量計を示す．雨量計は，取水口から収集した雨水が転倒ますに溜まり，一定量毎に傾き排水する動作を繰り返す．一定時間内に傾いた回数から時間毎の降水量を導出する．傾いた回数の導出は，リードスイッチを用いる．転倒ますに取り付けた磁石がリードスイッチを通過し通電した回数を傾いた回数とする。

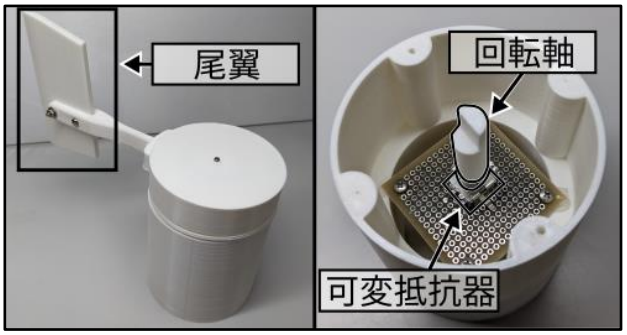


図 11 風向計

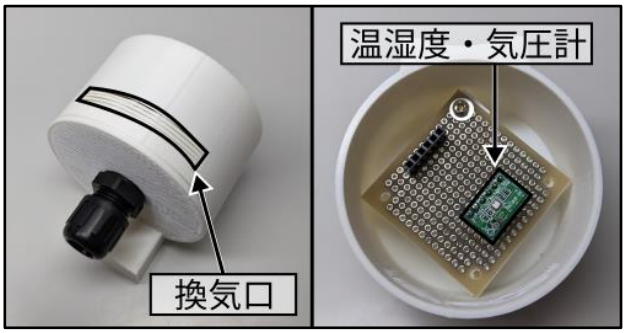


図 12 温湿度・気圧計

・風速計

図 10 に風速計を示す．風速計は，風杯に風が当たることで回転し，回転速度から風速を導出する．回転速度の導出は，リードスイッチを用いる．回転軸に取り付けた磁石がリードスイッチに通電した回数を回転回数とし，回転回数から速度を導出する．

・風向計

図 11 に風向計を示す．風向計は，風が尾翼を押すことにより尾翼の軸が回転して風向を計測する．尾翼の向きは可変抵抗器を用いることで，尾翼の軸の向きによって変化する抵抗値から導出する．

・温湿度・気圧計

図 12 に温湿度･気圧計を示す.温湿度･気圧計は，計測時は，防水防塵ケース内を換気し，外気を取り込む必要がある．本デバイスでは，ケースに換気口を設け，ケース上部にセンサを取り付けることで防水性を確保している．

2.1.4 ステレオカメラを用いた水位監視システム

図 13 にステレオカメラを用いた水位監視のイメージ図を示す．また，三角測量のイメージ図を図 14 に示す．提案手法は，河川の水面を撮像する 2 台のカメラ（ステレオカメラ）から構成される．水位の

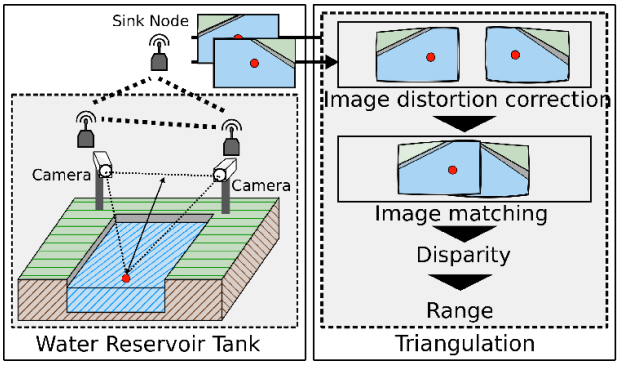
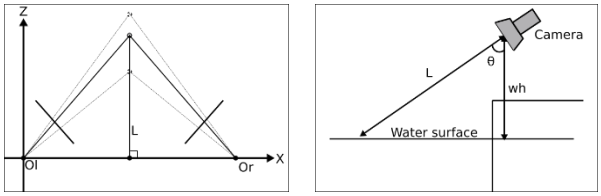


図 13 水位計測のイメージ



(a) 三角測量の概念図　(b) 水位算出のイメージ

図 14 三角測量のイメージ

計測は，ステレオカメラの視差を利用する三角測量に基づき，距離(L)を導出する．ステレオカメラは水位を計測する計測点が撮像時に画像の中心に投影され，カメラの光軸が測定点で交差する必要があるため，カメラ設置時にカメラの角度と位置を調整し，ステレオカメラの対象となる測定点の x 座標がカメラ間の中点と同じ座標に設置する．三角測量に基づく水位の計測は，取得したカメラの歪みを補正し，ステレオマッチングを行う．これによって，ステレオカメラ間の視差が得られるため，距離が計測できる．ステレオマッチングを行うには，ステレオカメラが撮像する時刻を揃える必要がある．そこで，シンクノードと各カメラノードで撮像タイミングを制御した後に，同時に水面の撮像を行う．また，水面は畳込ニューラルネットワークで認識する．

ステレオカメラを用いた水位監視システムでは，測定点とステレオカメラ間で 2 等辺三角形の座標関係となる．したがって，視差が半分の座標の延長線上の交点が計測点となり，ステレオカメラ間の中点の座標からこの交点までの距離が水面までの距離となる．カメラと水面間の距離は，水位が上がると近くなり，下がると遠くなる．カメラから水面までの高さ(y 座標)は，カメラから水面までの距離とカメラの光軸と垂直方向との角度から水位を求めている．

2.2 避難タイミング判断システム

2.1 節で示した，各監視システムで取得するデータに対してディープラーニングの一手法である Long Short-Term Memory (LSTM)を適用することで河川水位変動の予測と避難タイミング判断を行う．

3. 実験結果

提案システムの評価は，岡山理科大学内に敷設された貯水槽周辺で行う．

3.1 各種センシングデバイスの実験結果

図 15 に実験環境に提案システムを設置した図を示す．各種センシングデバイスの制御と無線通信は，シングルボードコンピュータの Raspberry pi を用いる．

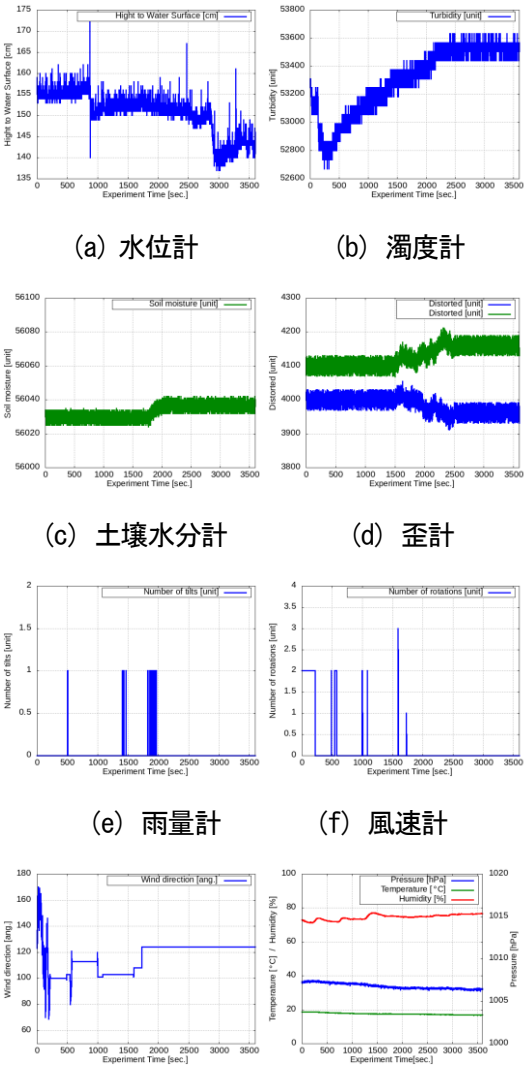
図 16 に実験結果を示す．実験結果より，開発したセンシングデバイスによって環境の状態を計測できていることが確認できる．図 16(c)と図 16(d)に示す土壌水分計の計測結果と歪計の計測結果より，降雨後に土壌水分と土壌中の歪が変化することが確認できる．また，水位は超音波式水位計から水面までの距離であるため，距離が近ければ水位が上昇していることを示す．

3.2 ステレオカメラを用いた水位計測の実験結果

図 17 にカメラ，シンクノード，計測点の位置関係を示す．カメラ間の距離は 5.000[m]，ステレオカメラの中点から測定点までの距離は，5.630[m]，水面からカメラまでの高さは，0.885[m]である．図に実験に使用したデバイスを示す．図 18(a)は，カメラノードのデバイスで，水面の画像を取得するためのカメラは C270n を用いる．カメラの制御には，Raspberry pi を用いる．図 18(b)にシンクノードのデバイスを示す．シンクノードは，データを集約し，AI で解析するための Raspberry pi で構成される．また，各デバイスは防水防塵のケースに収納されている．図 19 にカメラノードとシンクノードの周辺環境を示す．図 20 にカメラによって撮像した画像および計測の可視化結果を示す．図 20(a)は左側のカメラ画像，図 20(b)は右側のカメラ画像，図 20(c)と図 20(d)は，ステレオマッチングのための歪み補正と並行化処理で得られた画像である．



図 15　各種デバイスを適用した実験風景



(a) 水位計　(b) 濁度計

(c) 土壌水分計　(d) 歪計

(e) 雨量計　(f) 風速計

(g) 風向計　(h) 温湿度・気圧計

図 16 実験結果

図 20(e)は水位計測の可視化結果である．カメラ画像の中心が測定点であり，図中の色が黒に近いとカメラから距離が遠く，白に近いと距離が近い．

図 21 に水位の計測結果を示す．実験は 60 秒間行い，シンクノードからカメラノードへ 1 秒ごとに撮像タイミングの信号を送信し，水面の画像を取得す

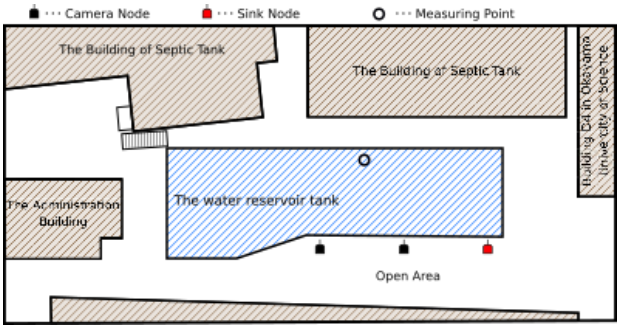
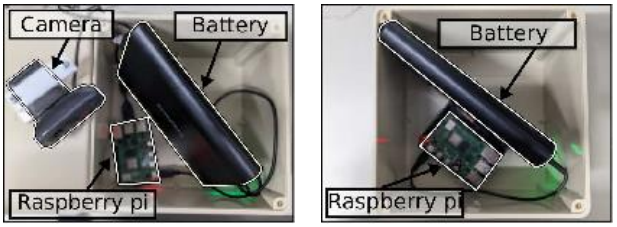
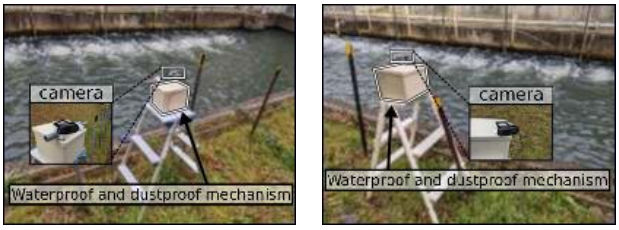


図 17 カメラノード, シンクノード, 計測点の位置



(a) カメラノード　　(b) シンクノード

図 18 実験に用いるデバイス



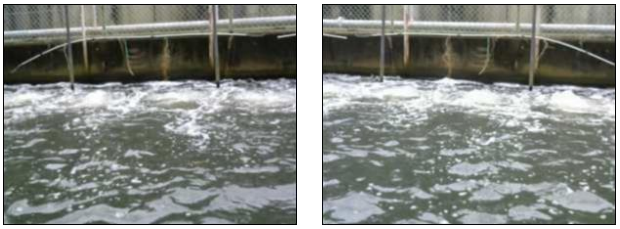
(a) カメラノード(左)　　(b) カメラノード(右)



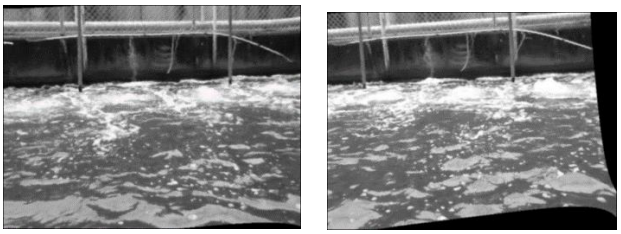
(c) シンクノード

図 19 カメラノードとシンクノードの周辺環境

る．図中の青線は，水面からカメラの中点までの高さの変化である．値が大きいほど距離が遠く，水位が低いことを表す．値が小さい場合，距離が近く水位が高いことを表す．また，緑線はステレオカメラの中央点から計測点までの距離である．計測した 60 秒間で，ステレオカメラから水面までの高さが，1.052[m]から 1.578[m]の間で変化し，その差が 0.530[m]である．加えて，ステレオカメラから観測点までの距離が 2.525[m]から 3.156[m]の間で変化している．この値の変化は，貯水槽内の水位の増減である．したがって，水位変化の計測が可能であり，河川でも水位を計測することができる．



(a) 左側のカメラ画像　　(b) 右側のカメラ画像

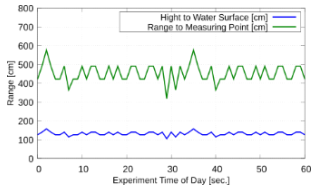


(c) 補正後の画像(左)　　(d) 補正後の画像(右)



(e) 水位計測の可視化結果

図 20 ステレオカメラを用いた水位計測の可視化



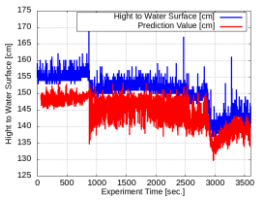


図 21 水位計測の実験結果　　図 22 水位の予測結果

3.3 避難タイミング判断システムの実験結果

避難タイミング判断システムで，LSTM に基づいて水位予測を行う．提案システムで収集した 1 秒毎の水位データを用い，60 秒間の水位データから 1 秒後の水位予測を行った．図 22 は水位予測結果であり，水位の変化が予測できていることが確認できる．

4. まとめ

本稿では，河川の監視を行うセンシングデバイスの開発と河川における水位の予測と監視を目的とした AI センサネットワークと避難タイミング判断システムを実装した．実験結果より，開発したセンシングデバイスによる監視と，カメラを用いた水位計測が可能であることを確認できた．

環境調和型オレフィン合成を活用した光電変換用色素の創製

岡山理科大学工学部　応用化学科

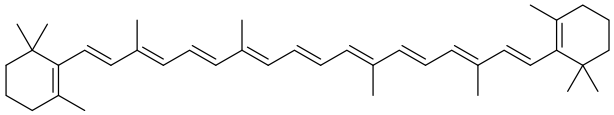
折田明浩

炭素－炭素二重結合はベータカロチンなど身近な化合物にも含まれる結合様式であり、これまでに生理活性や光機能など様々な特徴をもつオレフィンが知られている。なかでもパイ拡張したオレフィンは可視光を効果的に吸収することから、光電変換用色素に代表される光機能材料として有望である。本研究では、申請者が開発した光駆動型オレフィン合成反応をさらに発展・高度化させ、デヒドロベンゾアヌレン(DBA) (*E,E*)-1,3-(3,4:9,10-dibenzododeca-1,11-dien-5,7-diyn-1,12-diyl)benzene を合成するとともに、光学的特性および結晶構造を明らかにした。また、可視光を効果的に吸収できるアセチレン色素に対して単層カーボンナノチューブ(SWCNT)との複合化を促進する配向基を連結し，アセチレン色素－SWCNT を調製した。様々な分光学的手法からアセチレン色素が SWCNT 表面に物理吸着していることを確認するとともに，可視光照射によって光電変換が進行することを観測した。ここでは、これらパイ拡張化合物の合成反応とその応用展開について述べる。

1．研究背景

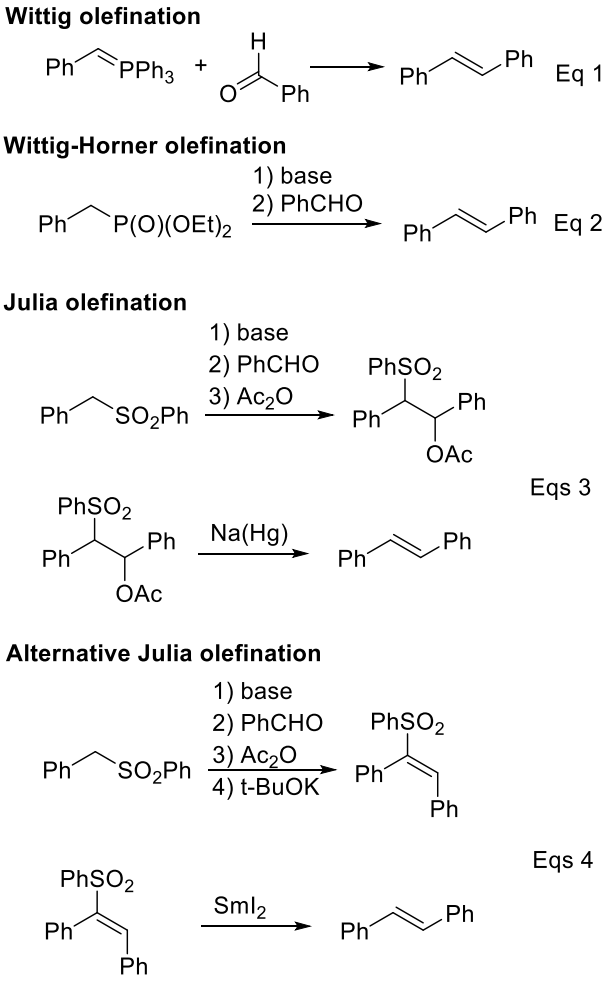
【デヒドロベンゾアヌレン(DBA)の簡便合成】

炭素－炭素二重結合をもつ有機化合物はオレフィンと呼ばれ、ビタミン A やベータカロチンなど生理活性化合物にも数多く含まれる。これら共役オレフィンは生理活性を示すだけでなく、可視光を効果的に吸収できることからオプシン中で光受容体として働くなど光機能を示すことができる（図 1）[1]。



Scheme 1. β-carotene

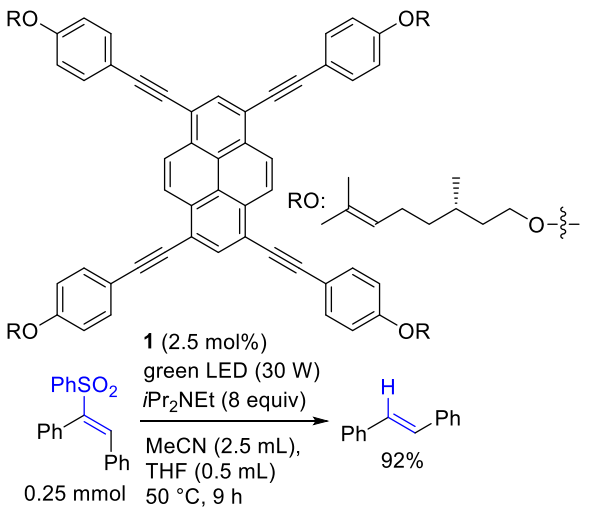
こうした光特性を示すオレフィンの合成法は古くから開発されてきた。リンイリドとカルボニル化合物を出発原料に用いた Wittig では、炭素―炭素結合反応と脱離反応を連続して行うことでオレフィンを合成する（図 2，式 1）[2]。Wittig-Horner 反応(Horner-Wadsworth-Emmons (HWE)反応)はホスホナートとカルボニル化合物を出発原料に用いたオレフィン合成反応であり、反応後に生成するリン酸塩を分液処理で除去できる（図 2，式 2）[3]。スルホンとカルボニル化合物を出発原料に用いた Julia オレフィン合成反応では、炭素―炭素結合生成反応の後に、ナトリウムアマルガム[4]やヨウ化サマリウム



Scheme 2. Conventional olefinations

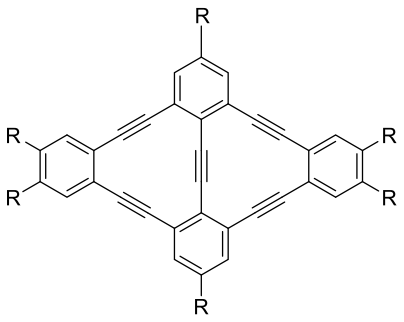
[5]による還元反応からオレフィンを調製する（図 2，式 3，式 4）。

一方我々は、独自に開発したパイ拡張ピレン誘導体 1 を光触媒に利用し、エテニルスルホンからオレフィンを収率良く合成することに成功した（図 3）[6,7]。



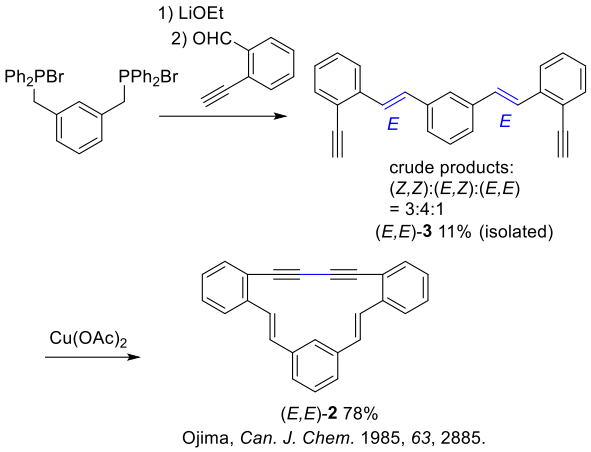
Scheme 3. Photocatalyzed reductive desulfonylation

今年度は本反応をデヒドロベンゾアヌレン(DBA)の合成へ展開した。DBA は環状共役化合物であり、これまでに数多くその合成例が報告されている（図 4）[8]。特徴ある物理的性質や光学特性を示すことから機能性有機材料として注目される化合物群である。



Scheme 4. An example of DBA

ここでターゲットに取り上げた(*E,E*)-1,3-(3,4:9,10-dibenzododeca-1,11-dien-5,7-diyn-1,12-diyl)benzene (2)はブタジイニレンンと 2 つのエテニレンを含む環状共役化合物で、これまでに Ojima らによってその合成が報告されている（図 5）[9]。しかしながら、その合成では(*E,E*)，(*Z,Z*)，(*E,Z*),3 つの合成中間体の混合物から必要な(*E,E*)-3 を単離精製し、次の環化反応に供することからプロセスを通じた全収率は低く、NMR 測定以外の分光分析は行われていなかった。

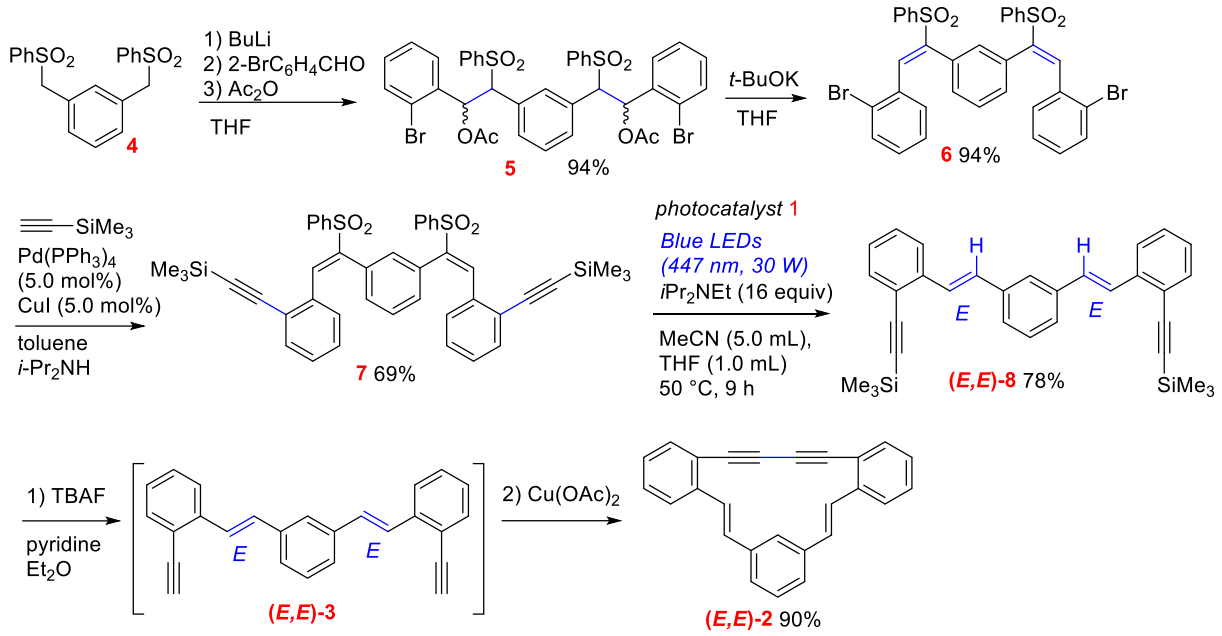


Scheme 5. Synthetic process of (*E,E*)-**2**

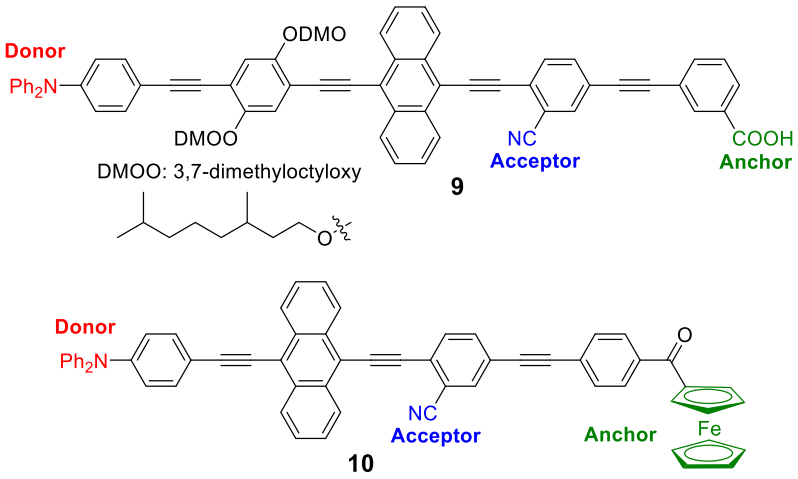
そこで我々は、(*E,E*)-2 の新たな合成ルートを立案した。このルートではジスルホン 4 を出発原料に用いてブロモベンズアルデヒドとのアルドール縮合反応からビスエテニルスルホン 6 を合成し、続く還元的脱スルホニル化、薗頭-萩原カップリングを経た後に、ワンポット脱シリル化-酸化的環化反応から(*E,E*)-2 を合成する。本反応では光触媒 1 を用いた還元的脱スルホニル化の過程で、ハロゲン官能基を損なうことなく立体選択的に(*E,E*)-8 を得ることで、合成プロセス全体を効率化し全収率の向上を図る。

【アセチレン色素複合型単層カーボンナノチューブ(SWCNT)を用いた光電変換】

我々はこれまで様々なパイ拡張アセチレン誘導体を合成し、その光学的特性や物理的性質を明らかにしてきた。例えばアントリレンを含むフェニレンエチニレンに電子供与基としてジフェニルアミノ基を電子求引基としてシアノ基を置換した可視光吸収色素 9 がチタニア上で光電変換素子として駆動し 5%の光電変換効率を示すことを明らかにしている（図 7）[10]。



Scheme 6. Our synthetic process of (*E*,*E*)-**2**



Scheme 7. Structures of acetylenic dyes **9** and **10**

本研究では 9 と類似の拡張パイ系に単層カーボンナノチューブ(SWCNT)配向基を置換した色素 10 を合成し SWCNT との複合化の後、可視光色素 10-CNT 複合体の光電変換能を評価した（図 7）[11]。

2．結果と考察

【(*E*,*E*)-2 の合成と光学的特性評価】

出発原料のジスルホン 4 は対応するジブロミドとスルフィン酸ナトリウムとの置換反応から合成した[12]。4 を THF に溶解し，BuLi、ブロモベンズアルデヒド、無水酢酸を順に加えたところ、目的のジアセテート 5 がジアステレオマーの混合物として 94%収率で得られた。本反応はアニオン発生に強塩基を用いるが、臭素官能基を損なうことなく炭素－炭素結合生成反応が進行した。続けて 5 を THF 中で、*t*-BuOK と反応させると速やかに脱離が進行し、ビスエテニルスルホン 6 が収率 94%で得られた。このとき得られたオレフィン部の立体化学は *E* 体であった。続くトリメチルシリルエチンとの薗頭–萩原カップリングからジイン 7 を 69%の収率で得た。ジイン 7 を THF とアセトニトリルの混合溶媒に溶解し、光触媒 1 と犠牲還元剤にジイソプロピルエチルアミンを加えて青色光を 9 時間照射したところ、還元的脱スルホニルを経て目的のジエンジイン (*E*,*E*)-8 が 78%得られた。我々が期待したように、本反応は立体選択的に進行し、(*E*,*E*)体だけを生成物として与えた。また、末端アセチレンのシリル保護基もまったく損なわれていなかった。なお、青色光の代わりに緑色光を用いて本反応を試みた場合には、目的の脱スルホニル化反応は進行しなかった。(*E*,*E*)-8 にテトラブチルアンモニウムフルオリド(TBAF)を加えて脱シリル化を行った後、発生した (*E*,*E*)-3 を単離精製することなく酢酸銅触媒による分子内 Eglinton 反応で酸化的環化反応を行ったと

本研究では 9 と類似の拡張パイ系に単層カーボンナノチューブ(SWCNT)配向基を置換した色素 10 を合成し SWCNT との複合化の後、可視光色素 10-CNT 複合体の光電変換能を評価した（図 7）[11]。

2．結果と考察

【(*E*,*E*)-2 の合成と光学的特性評価】

出発原料のジスルホン 4 は対応するジブロミドとスルフィン酸ナトリウムとの置換反応から合成した[12]。4 を THF に溶解し，BuLi、ブロモベンズアルデヒド、無水酢酸を順に加えたところ、目的のジアセテート 5 がジアステレオマーの混合物として 94%

ころ、標的化合物(*E,E*)-2 が 2 段階収率 90%で得られた。(*E,E*)-2 は 247-248℃に融点を示す黄色の粉末であった。クロロホルムに溶解した(*E,E*)-2 は ^{13}C NMR で 81.1 ppm と 84.9 ppm にアセチレン炭素を示した。続いて得られた(*E,E*)-2 の光特性を評価するためにクロロホルム溶液中での紫外可視吸収および蛍光スペクトルを測定した (UV-vis 10^{-5} M, PL 10^{-6} M) (Fig. 1)。

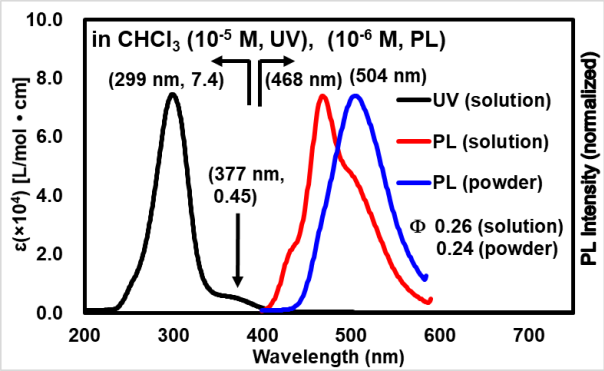
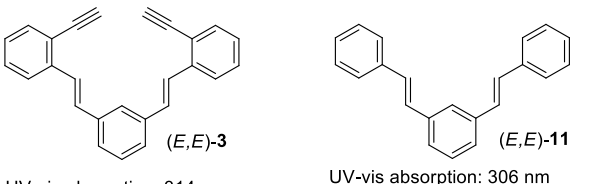


Figure 1. UV-Vis absorption and PL spectra of (*E,E*)-2.

(*E,E*)-2 は 299 nm と 377 nm にそれぞれ最大極大吸収と最長極大吸収を示した。B3LYP/6-31G(d)レベルを用いた DFT 計算から(*E,E*)-2 は 419 nm (f 0.042)に最低励起エネルギーを持つことが示され、377 nm を HOMO-LUMO 遷移と帰属した。また、クロロホルム中では 468 nm (Φ_F 0.26)に、粉末状態では 504 nm (Φ_F 0.24)に蛍光発光を示した。比較のために中間体(*E,E*)-3 とジエン体(*E,E*)-11 の紫外可視吸収および蛍光スペクトルを測定したところ，いずれの化合物も(*E,E*)-2 よりも短波長側に吸収と発光を示した。特にクロロホルム溶液の蛍光測定では，(*E,E*)-2 と(*E,E*)-3 との間で 76 nm もの発光極大波長の差が見られた。このことは，共役ジイン構築を鍵とする(*E,E*)-3 から(*E,E*)-2 への環化によって効果的にパイ拡張したことを示している。Fig. 2 には(*E,E*)-2 の HOMO と LUMO を示すが，いずれも分子全体にパイ系が広がっており，DBA 骨格構築によるπ拡張の有効性が示唆される。



UV-vis absorption: 314 nm
PL: 392 nm (Φ_F 0.26) in $CHCl_3$

UV-vis absorption: 306 nm
PL: 386 nm (Φ_F 0.36) in $CHCl_3$
392 nm (Φ_F 0.50) as powder

Scheme 8. Structures and optical properties of (*E,E*)-**3** and (*E,E*)-**11**

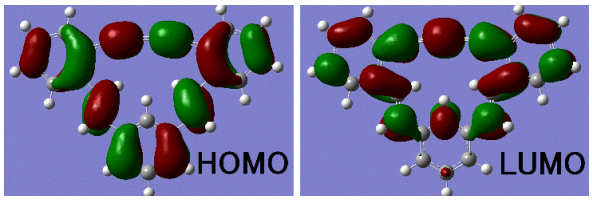


Figure 2. HOMO and LUMO of (*E,E*)-2.

続いて固体中での構造を詳細に解析するために単結晶 X 線構造回折を行った。解析に必要な単結晶はジクロロメタンとヘキサンの混合溶媒を用いた再結晶から得た。Rigaku VariMax with Saturn を用いて測定･構造解析を行ったところ，(*E,E*)-2 の ORTEP を得ることができた(Fig. 3)。(*E,E*)-2 の炭素骨格は同一平面上に位置しており，この結果は光学特性や分子軌道計算が示唆する DBA 全体に広がるパイ共役と矛盾しない。(*E,E*)-2 に含まれる 2 つのオレフィン部は *E* 体の立体化学をもつことが確認できた。また，環状構造に含まれているためにオレフィン部の結合角は本来の 120 度よりも大きく，123 度から 132 度にまで広がっている。同時にブタジイン部の結合も少し折れ曲がり，結合角は本来の 180 度から 172 度～173 度へ小さくなった。

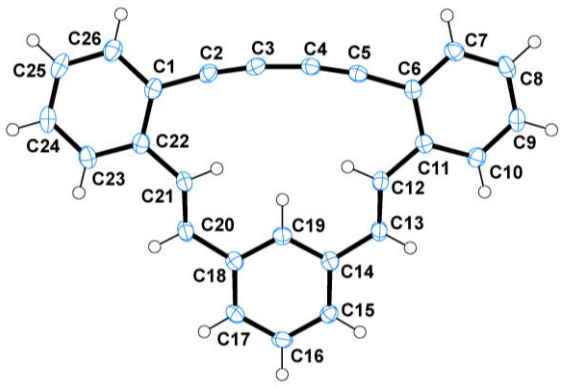


Figure 3. ORTEP of (*E,E*)-2.

結晶中で(*E,E*)-2 は *a* 軸方向に積層して層間距離 3.36 Å のカラム構造を示す。芳香族炭素のファンデルワールス半径が 1.7 Å 程度であることを考慮すると，(*E,E*)-2 は *a* 軸に沿って分子間で π-π スタックしていることが示唆される。この(*E,E*)-2 カラムは *b* 軸方向には同じ方向を向いて，*c* 軸方向には交互に向きを変えながら並んでいる様子が確認された(Fig. 4)。

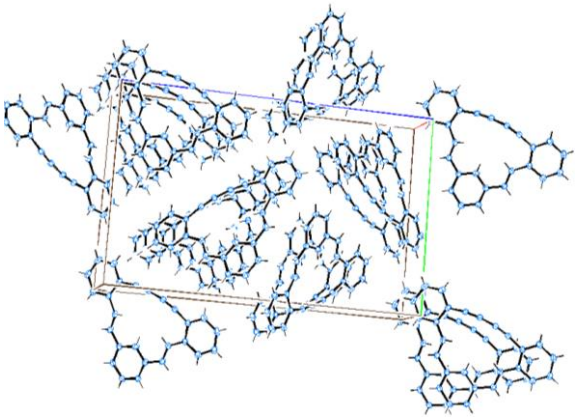
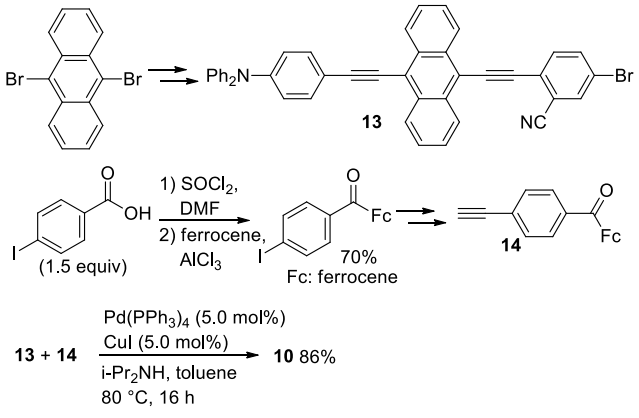


Figure 4. (*E,E*)-2 in a unit cell.

【アセチレン色素複合型カーボンナノチューブ(CNT)を用いた光電変換】

光電変化に必要な色素 10 は対応するハロゲン化アリールと末端アセチレンとの薗頭－萩原カップリングを繰り返すことで合成した（図 9)。色素 10 はクロロホルム中で 70.5, 71.7, 72.9, 78.3, 86.2, 89.5 ppm に 6 種類のアセチレン炭素に帰属されるシグナルを示した。



Scheme 9. Synthetic route of acetylenic dye **10**

クロロホルム中で色素 10 の紫外可視吸収および蛍光スペクトルを測定したところ，493 nm と 516 nm に極大吸収が観測され，579 nm (Φ_F 0.03)に弱い発光が見られた(Fig. 5)。色素 10 は小さな蛍光量子収率(3%)を示すが，これはフェロセニル基の重原子効果に起因する消光のためと考えられる。また B3LYP/6-31G(d) レベルでの DFT 計算からアミノ基側に HOMO が，シアノベンゼン側に LUMO が局在化していることが分かった(Fig. 6)。

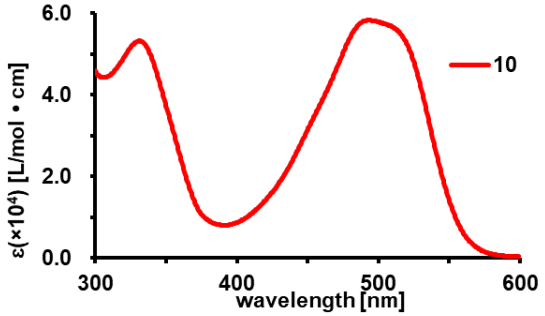


Figure 5. UV-Vis absorption spectrum of 10.

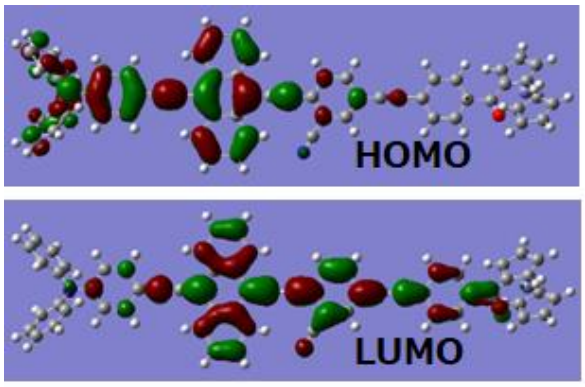


Figure 6. HOMO and LUMO of 10.

色素 10 と単層カーボンナノチューブ(SWCNT)をクロロホルムに懸濁して 110 W 超音波洗浄機で 1 時間超音波照射し，メンブレンフィルター(PTFE, pore size 0.5 μm)ろ過，続く洗浄を行ったところ，目的の色素 10-SWCNT 複合体が得られた。10-SWCNT 複合体を懸濁させた重クロロホルムの NMR 分析では有効なシグナルを得ることができなかったが，紫外可視吸収分光および Raman 分光から SWCNT 上に色素 10 が吸着されていることが分かった(Figs. 7 and 8)。

紫外可視吸収スペクトルでは，複合化により色素 10 の最長極大吸収波長が 494 nm から 566 nm へ長波長

シフトした。同様にラマンスペクトルでは，複合化によって 2172 cm^{-1} の反射が 2164 cm^{-1} へシフトした。

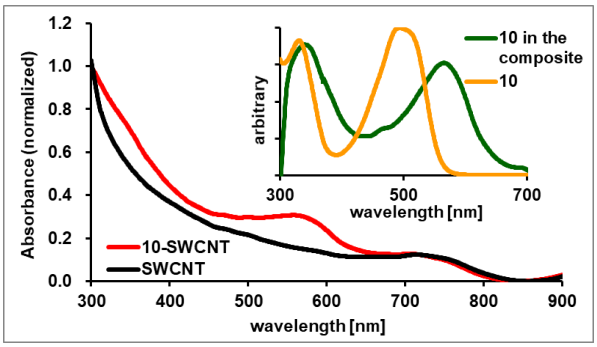


Figure 7. UV-vis absorption spectrum of 10-SWCNT.

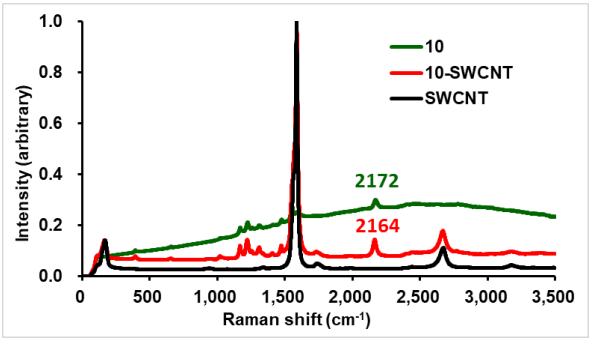


Figure 8. Raman scattering spectrum of 10-SWCNT.

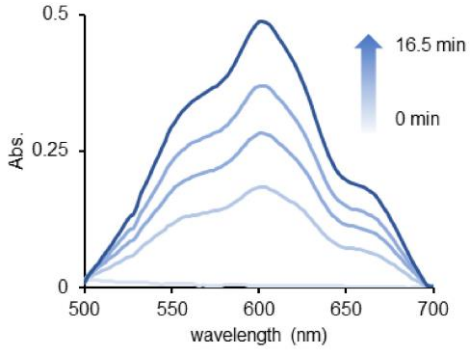


Figure 9. Time dependence of UV-vis spectra upon visible-light irradiation.

こうして得られた複合体 10-SWCNT を水溶性アミドアミンデンドロン(BDD-dendrimer)と複合化させた後，メチルビオローゲンと(MV^{2+})とベンジルジヒドロニコチンアミド(BNAH)とともに水溶液中で可視光照射したところ，速やかに溶液が青色へ変化した(Fig. 9)。これは光照射によって MV^{2+}の一電子還元が進行し 602 nm に強い吸収をもつ $MV^{+\cdot}$が生成したことを示す。

3．参考文献

[1] *Carotenoids, Vol. 2. Synthesis*, ed. by G. Britton, S. Liaaen-Jensen, H. Pfander, Birkhäuser Verlag, Boston, 1996.

[2] a) G. Wittig, U. Scholkopf, *Ber.* 1954, *87*, 1318. b) G. Wittig, U. Scholkopf, *Ber.* 1955, *88*, 1654.

[3] Recent reviews: a) P. R. Blakemore, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* 2002, 2563. b) D. Gueyrard, *Synlett* 2018, *29*, 34.

[4] a) M. Julia, J.-M. Paris, *Tetrahedron Lett.* 1973, *14*, 4833. b) P. J. Kocienski, B. Lythgoe, S. Ruston, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* 1978, 829.

[5] G. E. Keck, K. A. Savin, M. A. Weglarz, *J. Org. Chem.* 1995, *60*, 3194.

[6] H. Watanabe, M. Takemoto, K. Adachi, Y. Okuda, A. Dakegata, T. Fukuyama, I. Ryu, K. Wakamatsu, A. Orita, *Chem. Lett.* 2020, *49*, 409.

[7] H. Watanabe, K. Nakajima, K. Ekuni, R. Edagawa, Y. Akagi, Y. Okuda, A., K. Wakamatsu, A. Orita, *Synthesis* 2021, 2984.

[8] 例えば、S. Hashimoto, H. Kaneko, S. De Feyter, Y. Tobe, K. Tahara, *Nanoscale*, 2022, 14, 12595.

[9] J. Ojima, H. Kakumi, K. Kitatani, K. Wada, E. Ejiri, T. Nakada, *Can. J. Chem.* 1985, *63*, 2885.

[10] X. Yang, S. Kajiyama, J-K. Fang, F. Xu, Y. Uemura, N. Koumura, K. Hara, A. Orita, J. Otera, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 2012, *85*, 687.

[11] H. Watanabe, K. Ekuni, Y. Okuda, R. Nakayama, K. Kawano, T. Iwanaga, A. Yamaguchi, T. Kiyomura, H. Miyake, M. Yamagami, T. Tajima, T. Kitai, T. Hayashi, N. Nishiyama, Y. Kusano, H. Kurata, Y. Takaguchi, A. Orita, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 2023, *96*, 57.

[12] A. Orita, H. Taniguchi, J. Otera, *Chem. Asian J.* 2006, *1*, 430.

細胞死抑制技術を駆使した高機能立体組織の作製と応用性の検討

岡山理科大学　生命科学部　生物科学科

神吉　けい太

（概要）　生体外で細胞の集合体である組織や臓器を作り出す組織工学は、再生医療や創薬等の幅広い分野での応用が期待されている。大量の細胞を用い大型の組織を作ることは移植治療の向上や臓器構築を目指すうえで理想であるが、血管網の内装を伴わない限り酸素、栄養、老廃物の代謝が滞り、細胞凝集体は細胞死を起こし死んでしまう。血管系構築技術も研究が進んでいるものの、大型組織では血管構築に２週間近い期間を要すため、組織工学におけるブレークスルーが必要である。本研究では解糖系抑制効果を持つポリフェノール（レスベラトロール）で細胞を処理し、栄養消費を抑えることで低栄養・低酸素の環境でも細胞を生存させる効果を見出した。この効果を立体組織構築に応用することで、細胞凝集体内の細胞死を回避し、より高機能な細胞凝集体の構築が可能と考えられる。本報告では筋芽細胞および軟骨細胞での研究の結果を報告する。

研究背景・目的

in vitro 細胞培養系は細胞機能や様々な処理に対する影響を評価する簡便な系であるが、平面培養は *in vivo* で細胞が機能する立体的な環境とはかけ離れており、細胞は本来の活性を発揮できない。そのため細胞同士の凝集や足場素材と組み合わせた組織工学技術が開発され、より機能的な立体組織を体外で構築する試みが種々の組織において進められている。このような機能性立体組織は、再生医療や創薬分野をはじめ幅広い分野での応用が期待されており、組織大型化およびその長期間維持は組織工学における重要な目標である。しかしながら脈管系を持たないままの組織体は酸素、栄養の供給と老廃物の代謝が滞り、中心部は細胞死を起こしてしまう。そのため 100～200μm を超えるサイズの組織体構築には並行して脈管系構築が必要であり、これまでに血管内皮細胞との共培養、血管床からの血管新生誘導などの試みがなされてきた [1]。しかし大型組織では脈管系構築に２週間近い期間を要すため、この期間における構成細胞の逸失や、移植後生着率が低下する問題が避けられない。脈管系の整わない期間は「組織構築の死の谷」とされる課題であり、これを乗り越えるブレークスルーが必要である。

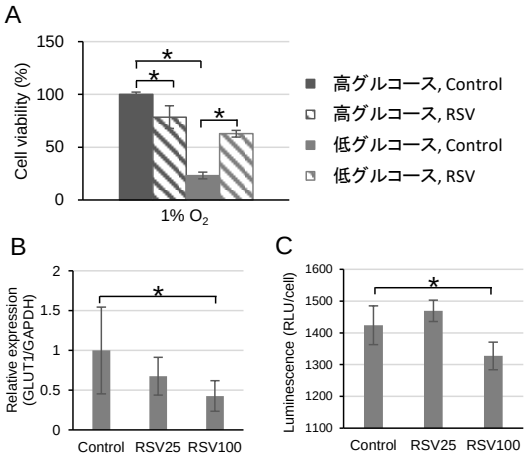
組織体に脈管系が備わらない期間、細胞は受動拡散によって酸素、栄養の供給を受けるが、中心部へ行くほど低酸素、低栄養、老廃物滞留の環境にさらされる。したがって細胞が低酸素かつ低栄養の環境に耐えつつ、老廃物排出を抑える工夫が有効と考えられる。そこで細胞内のエネルギー代謝を制御することにより、外界からの供給が少ない低栄養、低酸素の環境でも細胞を生存させる技術を確立し、よりハイバイアビリティな細胞凝集体構築につなげることを目的とした。

ポリフェノールの一種であるレスベラトロール（以下 RSV）はカロリー制限模倣物質であり、寿命延長、抗酸化、抗老化、抗炎症などの有益な効果が多く知られている。また解糖系抑制効果、ミトコンドリア生合成活性化といった細胞内エネルギー代謝の改変効果も多く報告されている。そこで筋芽細胞および軟骨細胞を使用し、RSV によるエネルギー代謝改変（解糖系抑制）が低栄養、低酸素の環境における細胞死を抑制できるか、またその効果を利用して立体組織の細胞生存率を向上できるかについて検討を行った。

研究方法・結果

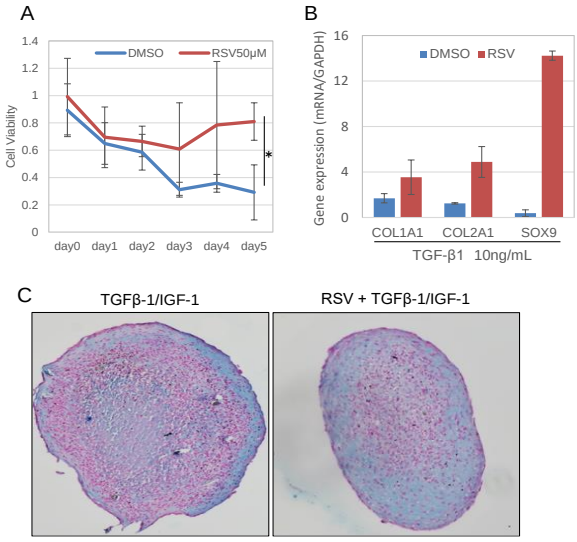
ラット筋芽細胞 H9c2 を用い低栄養条件としてグルコース 0.5mg/mL、低酸素条件として 1% O_2 の平面培養を行った。また同時に RSV 100μM 処理を行い細胞生存について検討した。その結果、RSV 処理に

より、低栄養・低酸素で誘導される細胞死が抑制され、細胞生存率が向上したことが認められた（図 1A）。また RSV 処理により筋芽細胞の解糖系関連遺伝子の発現低下およびグルコース取り込み量の減少が認められた（図 1B, 1C）。また筋芽細胞のスフェロイド培養においても RSV 処理により細胞生存促進および細胞死抑制効果が認められた。これらの結果は RSV による解糖系抑制効果が、低栄養・低酸素環境における細胞死を抑制し、立体組織構築の助けになることを示唆した[2]。



【図 1】筋芽細胞における RSV の細胞死抑制効果
(A)低栄養・低酸素環境における RSV の細胞死抑制、(B)解糖系遺伝子(GLUT-1)の発現変化、(C)グルコース取り込み量変化

一方、ラット軟骨細胞においても筋芽細胞と同様に低栄養誘導細胞死に対する細胞生存維持効果が認められた（図 2A）。また TGFβ-1 刺激による軟骨分化マーカー(Sox9, Col1A1, Col2A1)の発現誘導は、RSV の 24 時間前処理により顕著に増強された（図 2B）。したがって軟骨細胞においては RSV 処理により細胞生存率向上と軟骨組織分化の２つの効果が得られることが分かった。さらに軟骨細胞をスフェロイド培養し、TGFβ-1/IGF-1 処理による軟骨組織誘導をおこなった結果、RSV 未処理では組織内部に壊死領域が見られたが、RSV 処理の併用により組織内部がより充実し、表層にアルシアンブルー陽性の軟骨マトリクスが多く蓄積している様子が認められた（図 2C）。しかしながら、現段階では組織内部まで軟骨マトリクスが充実した組織体を得るには至っていないため、軟骨組織誘導法の改善が必要である。



【図 2】軟骨細胞における RSV の細胞死抑制効果、(A)低栄養（グルコース 0.5mg/mL）培養における RSV の細胞死抑制効果、(B)RSV 前処理の有無による軟骨マーカー遺伝子の発現差異、(C)軟骨細胞スフェロイド培養におけるアルシアンブルー染色（左：RSV 未処理、右：RSV 処理）

本研究では細胞内のエネルギー代謝機構を改変し、限られた培養環境のなかでの栄養消費を抑えることで、細胞生存を向上させる効果を複数の細胞種で確かめた。この効果を立体組織培養に応用することで、組織内部の急激な壊死を回避できる可能性が見いだされた。より大型の組織を構築するためには組織内脈管系の構築が必須であるが、それまでの期間の組織生存維持に役立つ技術として期待される。

謝辞
本研究はウエスコ学術振興財団の助成により実施されました。心から感謝申し上げます。

参考文献

1. Sekiya S, Shimizu T. Inflamm Regen.37:25. 2017 PMID: 29259724
2. Naito K, Kanki K. J Biosci Bioeng. 131(1):90-97. 2021 PMID: 32950383.

鬼と日本人―吉備文化を中心に―

岡山理科大学　教育学部

荻原桂子

吉備地方に古くから伝わる昔話「桃太郎」のアイコンである〈桃〉と〈鬼〉が、古代吉備の戦いの表象であることに着目し、「温羅伝説」の資料を実地調査から研究することでナラティブとしての昔話「桃太郎」に秘めた〈鬼〉の正体を解明することを目的とする。吉備地方に伝わる「温羅伝説」と上田秋成の「吉備津の釜」に描き出された〈鬼〉のイメージは『備中吉備津宮縁起』『備中一品吉備津彦命明神縁起』などの吉備津神社の御釜殿に関する記述の影響が大きい。人から〈鬼〉に変化した「温羅伝説」と読本「吉備津の釜」を分析することで、人から〈鬼〉になった「温羅」と「磯良」を中心に、吉備津神社に伝わる「鳴釜神事」をめぐる〈鬼〉と日本人の関係を考察した。古代吉備地方の鬼神「温羅」と神主の娘「磯良」は、利他を受け取る側の裏切りによって、人から〈鬼〉になった。「心の鬼」とは「①ふと心に思い当たる良心の呵責。②心の奥に潜んでいるよこしまな考え。」(『大辞泉』) とある。〈鬼〉の正体とは日本人の裡にある良心であると同時に邪心を発動するものである。人と〈鬼〉の関係を渉猟することで吉備文化に隠された「鬼と日本人」について文献と実地調査から論究した。

［背景］

岡山には「温羅」の居城だった「鬼ノ城」(総社市) や吉備津彦命を祀る吉備津神社(岡山市)をはじめ、「温羅」の首が埋まる釜の鳴音で吉凶を卜占するという吉備津神社「鳴釜神事」(図１) など「温羅伝説」を伝える文化遺産が各地に広く点在する。

歴史学、文学、民俗学を渉猟しつつ、古代吉備に繰り広げられた「温羅伝説」にこめられた〈鬼〉の表象を解読することで、学際的及び国際的な視点で効果的な地域課題の解決が実現できると考えた。



（図１　鳴釜神事：岡山県観光連盟提供）

鬼神「温羅」という〈鬼〉のイメージの造形には、『備中吉備津宮縁起』や『備中一品吉備津彦命明神縁起』、『備中吉備津宮御釜殿等由緒記』、『備中大吉備津宮略記』などの吉備津神社の御釜祓いと御釜殿に関する記述の影響がある。人から〈鬼〉になった「温羅」の伝説は、江戸時代の読本作家上田秋成によって怪奇小説「吉備津の釜」(『雨月物語』)となる。「吉備津の釜」では、「磯良」という神主の娘が〈鬼〉となる。本研究では、人から〈鬼〉になった「温羅」と「磯良」を中心に人と〈鬼〉の関係を考察した。『日本書紀』(『日本古典文学大系』) の〈鬼〉表記は、「おに」または「もの」と訓読みしている。また、『岩波古語辞典』には、「オニということばが文献に現れるのは平安時代に入ってからで、奈良時代の万葉集では「鬼」の字をモノと読ませている。」と述べている。さらに、折口信夫は、鬼（もの）に関して古代信仰では「たまに善悪の二方面があると考へるようになつて、人間から見ての善い部分が「神」になり、邪悪の方面が「もの」として考へられる様になつた。」（傍線は原文）と論じている。

吉備津彦命を祭神とする吉備津神社の「温羅伝説」は、吉備地方に伝わる「桃太郎」の原型にもなり、吉備津神社には「矢立神事」や吉備津彦命の凱旋を祝ったという「七十五膳据神事」などが祭事として

今に伝わっている。吉備津神社ホームページには、「鳴釜神事」についての詳しい説明がある。

「当社には鳴釜神事という特殊神事があります。この神事は吉備津彦命に祈願したことが叶えられるかどうかを釜の鳴る音で占う神事です。多聞院日記にみられるのが文献的には一番古いとされ、永禄十一年(１５６８)五月十六日に「備中の吉備津宮に鳴釜あり、神楽料廿疋を納めて奏すれば釜が鳴り、志が叶うほど高く鳴るという、稀代のことで天下無比である」ということが記されていますので、少なくとも室町時代末期には都の人々にも聞こえるほど有名であったと思われます。江戸時代上田秋成の雨月物語のなかにも『吉備津の釜』として一遍の怪異小説が載せられていることは有名です。」

「鳴釜神事」の起源である「温羅伝説」についても詳しい説明が同ページに続く。

「この神事の起源はご祭神の温羅退治のお話に由来します。命は捕らえた温羅の首をはねて曝しましたが、不思議なことに温羅は大声をあげ唸り響いて止むことがありませんでした。そこで困った命は家来に命じて犬に喰わせて髑髏にしても唸り声は止まず、ついには当社の御竈殿の釜の下に埋めてしまいましたが、それでも唸り声は止むことなく近郊の村々に鳴り響きました。命は困り果てていた時、夢枕に温羅の霊が現れて、『吾が妻、阿曽郷の祝の娘阿曾媛をしてミコトの竈殿の御饌を炊がめよ。もし世の中に事あれば竈の前に参り給はば幸有れば裕に鳴り禍有れば荒らかに鳴ろう。ミコトは世を捨てて後は霊神と現れ給え。われは一の使者となって四民に賞罰を加えん』とお告げになりました。命はそのお告げの通りにすると、唸り声も治まり平和が訪れました。これが鳴釜神事の起源であり、現在も随時ご奉仕しております。」

「温羅」の愛した阿曽女については「鳴釜神事」の方法とともに同ページで紹介されている。〈鬼〉は、物語の装置ではなく現実として認識されている。

「御竈殿にてこの神事に仕えているお婆さんを阿曽女といい、温羅が寵愛した女性と云われています。〝鬼の城〟の麓に阿曽の郷があり、代々この阿曽の郷の娘がご奉仕しております。またこの阿曽の郷は昔より鋳物の盛んな村であり、御竈殿に据えてある大きな釜が壊れたり古くなると交換しますが、それに奉仕するのはこの阿曽の郷の鋳物師の役目であり特権でもありました。」

阿曽の鋳物は近世に全盛期を迎えて、昭和の初めまで、多くの金屋と呼ばれた鋳物師の集団があったという。鬼城山途中には「鬼の釜」（図２）がある。



（図２　鬼の釜：筆者撮影）

古代吉備の遺産を文献及び実地調査から掘り起こし、「温羅」の居城であった「鬼ノ城」や吉備津彦命を祀る吉備津神社、「温羅」の首が埋まる釜の鳴音を卜占する「鳴釜神事」など、多くの「温羅伝説」を伝える文化遺産を実地調査することで「日本人と鬼」との関係が解明できる。

朝鮮半島に、「鬼ノ城」とよく似た石垣の城があることから、「鬼ノ城」は朝鮮の山城なのか、北九州や中国四国地方に見られる「神籠石」と呼ばれる山城なのか長い間論争されたが、現在では朝鮮半島式の山城説が有力である。吉備地方には、「楯築遺跡」や「造山古墳」「作山古墳」など畿内に匹敵する大規模

な遺跡が散在している。祭事に使われた土器や埴輪の原型からは大規模な墳墓が想定され、ヤマト中央政権に対して脅威となる勢力と文化が、古代吉備に存在していたことを物語っている（関裕二『古代史で読み解く　桃太郎伝説の謎』）。

「温羅伝説」は古代吉備とヤマト中央政権の対立であったことを「温羅旧跡」は物語っている（図３）。



（図３　鬼ノ城温羅旧跡：筆者撮影）

［結果と考察］

「鳴釜神事」とは、釜の上に蒸篭を置いてその中に米を入れ、釜を焚いた時に鳴る音の強弱・長短等で吉凶を占う神事である。また、初期古墳上に見られ、埴輪の起源とされる特殊器台形土器には、この御釜と関係があるのではないかとの説がある。「鳴釜神事」を主題とした「吉備津の釜」は上田秋成『雨月物語』巻之三に収録されている江戸時代後期の読本である。『雨月物語』全五巻は安永五（1776）年に刊行され、日本と中国の古典から脱化した小説九編からなる。内容は中国の白話小説の翻案によるところが大きいが、当時の古典を踏まえつつ和文調を交えた流麗な文体で書かれ、著者の思想が加えられている。「吉備津の釜」冒頭の妬婦論は明の『五雑俎』巻八による。

「吉備津の釜」のあらすじは以下のとおりである。吉備国賀夜郡庭妹（現・岡山市北区庭瀬）に井沢正太夫という男がいた。息子の正太郎は女癖の悪い男で嫁を迎え身持を固めさせようと吉備津神社神主である香央造酒の娘「磯良」との縁組がまとめられる。「御釜神事」をしたところ全く音もでなかったので婚姻は凶とされたが、そのまま縁組は進められた。正太郎はいつのころからか外に袖という遊女の愛人をつくり、家に帰らなくなった。正太郎は「磯良」を騙して袖と駆け落ちし、「磯良」はこの仕打ちに病気で寝込むようになった。一方、正太郎は袖の親戚である彦六の厄介となり、隣の家で仲睦まじく生活していたが、袖は物の怪にでも憑かれたように衰弱して死んでしまった。正太郎は悲しみつつも菩提を弔った。墓参りで主人が死んで伏せてしまった奥方の代りに墓参りをしている女中にあい、奥方に興味を持った正太郎は女の家を訪問することになるが、小さな茅葺の家のなか、屏風の向うから現れたのはまさしく「磯良」だった。慌てて家に帰って彦六に紹介された陰陽師に、正太郎は、体中に古代漢字のようなものを書いてもらい、四二日間物忌みをする。いわれた通り物忌みをしていたところ女の声が続き、恐ろしさを感じながら四二日目を迎え、やがて夜が明けたと思ったが、外はまだ真っ暗で、正太郎の家の壁には大きな血のあとが流れていた。彦六は軒に髻がかかっているのを発見するが、正太郎の行方はとうとう分らずじまいだった。このことが伝えられると、井沢も香央も悲しんだ。「鳴釜神事」の御祓いは正しい結果を示したという結末となっている。

上田秋成は、「吉備津の釜」の冒頭で、『五雑俎』巻八に述べられている儒教的家父長制の見地から「妬婦」すなわち嫉妬深い女を諫め、男のちょっとした浮気から「女の慳しき性」すなわち女の本性が発火すると、とんでもないことが起こると警告する。神主の娘「磯良」の本性は正太郎の裏切りによって物凄い鬼女へと変化してしまったことになる。「女の慳しき性」は、凄まじいものであることが、作品の後半で描かれる。〈鬼〉となった「磯良」は、神主の娘として聖域で成長し、人を疑うことを知らない。正太郎の酷い裏切りに心が壊れてしまった「磯良」は負の感情が極限に達し、利他の域を超えて生霊と

なり、死後には怨霊となってしまった。上田秋成は「磯良」を聖女から〈鬼〉へと変化させることで、凄惨な場面を描き出すことに成功する。

安曇氏の祖神であり海神「安曇磯良」にも通じる「磯良」は、古代神話的な心像でいえば聖女としてあるべき自分と人間としての妬心に引き裂かれる。吉備津神社の祭神とも連なる主人公「磯良」が霊力を発揮させていく。「磯良」は、「鳴釜神事」の「温羅」の霊力を味方にしたのである。陰陽師に〈鬼〉と名指された「磯良」は「温羅」の霊力で正太郎をとり殺したと分析できる。「温羅」と「磯良」は、神を同根とする〈鬼〉の表象なのである。

［まとめ］

後白河法皇の命で編まれた『梁塵秘抄』に「一品聖霊吉備津宮、新宮本宮内の宮、隼人崎、北や南の神客人、艮御崎は恐ろしや」と詠まれる「艮御崎」とは「温羅」の魂である。御崎とは御前神すなわち使いの神を意味する。「温羅」は、吉備津彦命の従者となり、吉備の治世を護る〈鬼〉となった。愛妻の阿曽媛に自分が眠る御釜殿の御饌を炊かせるという「温羅」の願いは切ない。〈鬼〉にならざるを得なかった「温羅」は英雄である吉備津彦命より吉備の人々に親しまれている（図４　備前焼温羅）。吉備津神社の「鳴釜神事」は、人間の根源的な記憶のなかで、怨霊となった鬼神を鎮魂する神聖なものであった。



（図４　備前焼温羅：筆者所蔵）

そして、「温羅」の霊力は、「磯良」の霊験となって表象されることになった。〈鬼〉となることで初めて「磯良」は聖女ではなく、一人の人間として自分の感情を表出することができた。理性でコントロールできなくなった心は、生き霊となり、怨霊となって祟る神となる。負の感情は聖霊を悪霊に変化させる。祟る神として〈鬼〉とならざるを得ない「温羅伝説」の「温羅」と「吉備津の釜」の「磯良」は、人間が負の感情によって、自分の心を制御できなくなったときにたどる悲劇、すなわち日本文化における〈鬼〉と日本人の深層を描き出している。私たち現代人は、吉備文化に埋蔵された死者たちに出会うことで、人から見て善い部分が「神」になり、邪悪の方面が〈鬼〉（もの）になることを体験できるのである。

［研究成果］

① 「人と鬼との切ない物語」ポスター発表
岡山理科大学「OUS ファーラム 2022－基礎から応用・未来技術への出会いと対話－」
（2022 年 11 月 28 日　於岡山プラザホテル）
② 「鳴釜神事における「温羅伝説」と上田秋成「吉備津の釜」―〈鬼〉になった「温羅」と「磯良」」
（2023 年 1 月『岡山理科大学紀要第 58 号　B』）
③ 『「吉備津の釜」を読む』（2023 年 2 月花書院）

［謝辞］

公益財団法人ウエスコ学術振興団には、本研究をご支援いただきましたことを心より感謝いたします。

［参考文献］

① 「縁起」「鳴釜神事」吉備津神社
https://www.kibitujinja.com/about/narukama.php
② 藤井駿『吉備津神社』日本文教出版 1973 年
③ 近藤喜博『日本の鬼　日本文化探求の視角』
桜楓社 1975 年
④ 中山薫『温羅伝説―資料を読み解く―』
日本文教出版 2013 年
⑤ 若井正一『邪馬台国吉備説からみた初期大和政権　物部氏と卑弥呼と皇室の鏡を巡る物語』
一粒書房 2019 年

ピリジンが縮環したシロール合成法の開発とその性質

倉敷芸術科学大学　生命科学部

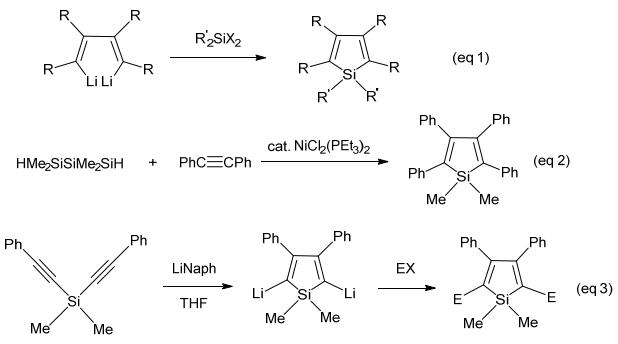
仲　章伸

（概要）これまで、遷移金属錯体触媒存在下、ヒドロシランを利用することにより、様々な含ケイ素化合物が合成されてきている。その中で、ヒドロシリル化反応を利用したケイ素化合物の合成が報告されている。本研究では、3-ジメチルシリル-2-エチニルピリジン誘導体を合成し、それらのルテニウム錯体触媒によるトランス型ヒドロシリル化を行った。その結果、分子内ヒドロシリル化によりピリジンが縮環したシロール誘導体を得ることに成功した。また、生成した化合物の紫外可視吸収スペクトルおよび蛍光発光スペクトルを測定し、光学的性質を明らかにした。

はじめに

シロールは、ケイ素を含む五員環化合物であり、低い LUMO を有することにより、電子受容性に優れていることが知られている[1]。様々なシロールを含む化合物が合成されてきており、それらの特異な電子的および光物性により、有機 LED、光起電力デバイス、半導体材料などへの応用研究がなされてきている[2-6]。

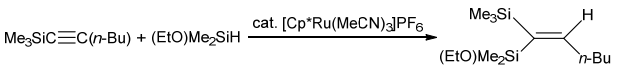
最初に、ヘキサフェニルシロールが報告されて以降、多くのシロールが合成されてきている[7]。典型的な合成方法としては、ジリチオブタジエン誘導体とハロゲン化シランの反応である(eq 1)[8]。また、ニッケル錯体触媒存在下、アルキンとハロゲン化シランの反応も報告されている(eq 2)[9]。その他、玉尾、山口らによりジエチニルシランの分子内還元的環化反応によるシロール合成も報告されてきている(eq 3)[10]。



また、シラフルオレンやシラインダセノジチオフェンなど縮環した平面性化合物の合成研究もさかんに行われてきている[11,12]。大下らは、ジチエノシロールやジピリジノシロールの合成を行い、それらの電子的および光学的性質を研究してきている[13-15]。

遷移金属錯体触媒を使用した多環式ジベンゾシロールの合成も報告されてきている[16-24]。山本らは、*o*-アルキニル置換フェニルシランのアルミニウム錯体触媒存在下での分子内ヒドロシリル化反応により、ベンゾシロールの合成を行った[25]。

[Cp*Ru(MeCN)$_3$]PF$_6$存在下、内部アルキンのヒドロシリル化は、α-アンチ付加を経由し、(*Z*)-ビニルシランを位置選択的に与えることが報告されている[26]。



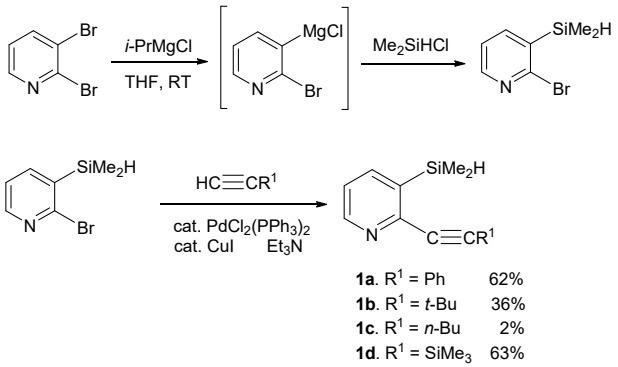
そこで、上記の反応を利用すればπ-電子系が縮環した新規なシロール誘導体が合成できるという発想に至った。本研究では、ピリジンが縮環したシロール誘導体合成法の開発と合成した化合物の光学的性質を明らかにしたので報告する。

結果と考察

まず、2,3-ジブロモピリジンをイソプロピルマグネシウムクロライドと室温で反応させ、続いてクロロジメチルシランでクエンチしたところ、2-ブロモ-3-ジメチルシリルピリジンが 71%の収率で得られ

た[27]。原料である 3-ジメチルシリル-2-エチニルピリジン誘導体(**1a-1d**)は、 2-ブロモ-3-ジメチルシリルピリジンと末端アルキンとの薗頭カップリング反応により合成した(Scheme 1)[28]。

Scheme 1

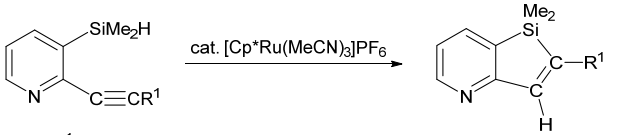


1a. R^1 = Ph 62%
1b. R^1 = *t*-Bu 36%
1c. R^1 = *n*-Bu 2%
1d. R^1 = $SiMe_3$ 63%

3-ジメチルシリル-2-(フェニルエチニル)ピリジン(**1a**)を触媒量のペンタメチルシクロペンタジエニルトリス(アセトニトリル)ルテニウム(II)存在下、THF 中で 12 時間還流させたところ、1,1-ジメチル-2-フェニル-1*H*-シロロ[3,2-*b*]ピリジン(**2a**)が 15%の単離収率で得られた。反応混合物のゲルパーミエーションクロマトグラフィー(GPC)分析では、多くのポリメリック成分が検出された。化合物 **2a** は、質量分析および各種 NMR スペクトルにより決定した。

2-(3,3-ジメチルブト-1-イン-1-イル)-3-(ジメチルシリル)ピリジン(**1b**)を同様の条件下反応させたところ、2-(*tert*-ブチル)-1,1-ジメチル-1*H*-シロロ[3,2-*b*]ピリジン(**2b**)が 17%の単離収率で得られた(Scheme 2)。この反応においても、混合物中にポリメリック成分が多くみられた。

Scheme 2



1a. R^1 = Ph
1b. R^1 = *t*-Bu

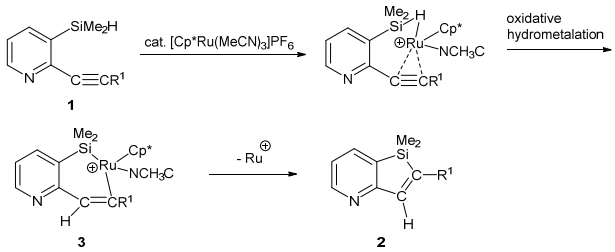
2a. R^1 = Ph 15%
2b. R^1 = *t*-Bu 17%

3-ジメチルシリル-2-(ヘキサ-1-イン-1-イル)ピリジン(**1c**)をルテニウム錯体触媒存在下、同条件下反応させた。反応後、ガスクロマトグラフィー(GLC)や GPC 分析において、多くの同定できない化合物が存在していることが明らかになった。2-(*n*-ブチル)-1,1-ジメチル-1*H*-シロロ[3,2-*b*]ピリジン(**2c**)の単離を試みたが、成功しなかった。

3-ジメチルシリル-2-(トリメチルシリルエチニル)ピリジン(**1d**)を用いての同様の反応は、まったく反応が起こらず、**1d** が定量的に回収された。

化合物 **2a** および **2b** の生成機構は、Scheme 3 に示すように考えられる。まず、ルテニウム錯体触媒から 2 分子のアセトニトリルが脱離し、エチニルユニットとヒドロシリルユニットと相互作用する。その後、σ-ビニル中間体 **3** を形成し、続いてケイ素-炭素結合の還元的脱離が起こり、化合物 **2** が生成するというものである。

Scheme 3



次に、化合物 **2a** および **2b** のクロロホルム中、紫外可視吸収スペクトルおよび蛍光発光スペクトルの測定を行った。化合物 **2a** および **2b** の紫外可視吸収スペクトルは、317 nm および 283 nm にそれぞれ極大吸収を示した。**2a** のフェニル基による π-共役の拡張により、**2a** の吸収帯が **2b** よりも長波長側にシフトしたものと考えられる。

蛍光発光スペクトルにおいては、**2a** が 387 nm、**2b** が 384 nm に発光の極大を示した。

さらに、化合物 **2a** および **2b** の蛍光発光スペクトルは、Fugure 2 および Table 2 に示すように、溶媒をシクロヘキサン、トルエン、クロロホルムと極性を変えたとき、ソルバトクロミック挙動を示すことが明らかになった。このような正のソルバトクロミックシフトは、極性溶媒中で励起状態が安定化されることに起因していると考えられる。各々の量子収率は Table 2 に記載したが、クロロホルムが溶媒として使用されたとき、**2a** の量子収率が増加した。極性溶媒中での蛍光発光量子収率の大きな増大は、Hoche らにより報告されている[29]。

Table 1. UV-Vis and fluorescence data of **2a** and **2b** in chloroform.

化合物	λ^{abs} [nm][a]	λ^{em} [nm][b]	Φ_F [%][c]
2a	317	387	15.4
2b	283	384	0.3

[a] Excitation wavelength. [b] Emission maxima. [c] Relative quantum yield using quinine sulfate as a standard.

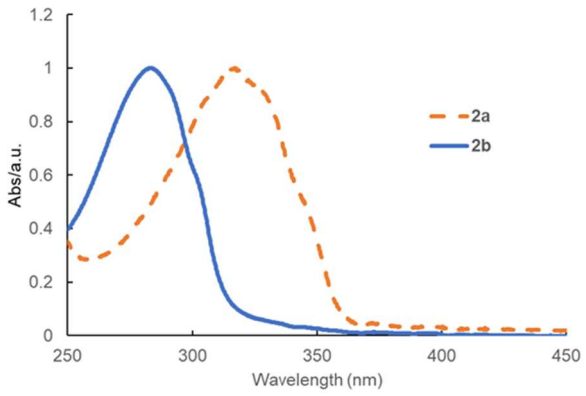
Table 2. Solvatochromic fluorescence data of **2a** and **2b**.

化合物	solvent	λ^{abs} [nm]	$\varepsilon\times10^4$ $M^{-1}cm^{-1}$)	λ^{em} [nm][a]	Φ_F [%][b]
2a	cyclohexane	314	1.5	383	1.7
	toluene	315	1.5	385	0.9
	chloroform	317	1.9	387	15.4
2b	cyclohexane	280	0.9	382	0.1
	toluene	_[c]	_[c]	_[c]	_[c]
	chloroform	283	1.2	384	0.3

[a] Excited at λ_{max}. [b] Relative quantum yield using quinine sulfate as a standard.
[c] Overlapped with solvent spectrum

Figure 1. (a) UV-Vis and (b) PL spectra of **2a** and **2b** in chloroform.

(a)



(b)

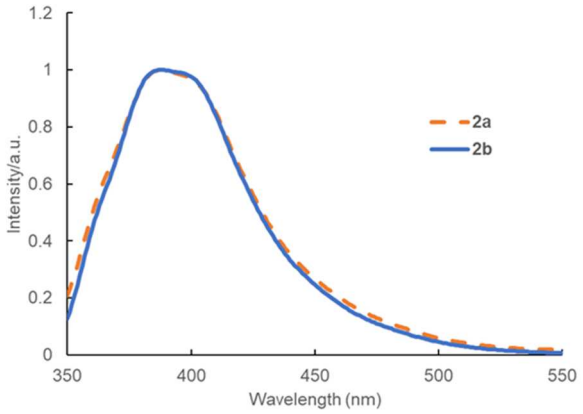
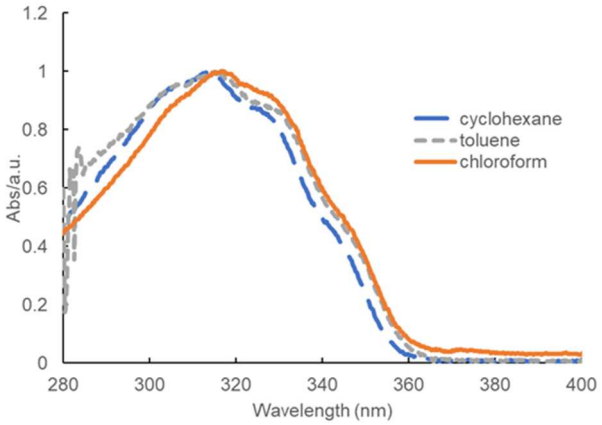
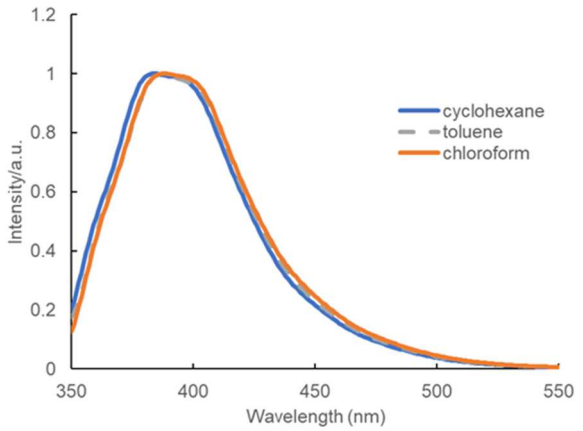


Figure 2. (a) UV-Vis and (b) PL spectra of **2a** in different solvents.

(a)



(b)



まとめと今後の展望

以上述べてきたように、本研究では、3-ジメチルシリル-2-エチニルピリジン誘導体 **1a-1d** の合成とルテニウム錯体触媒存在下での反応を行った。化合物 **1a** および **1b** のルテニウム錯体触媒反応は、分子内ヒドロシリル化反応により、シロール誘導体 **2a** お

よび **2b** が得られた。また、それらの紫外可視吸収スペクトルおよび蛍光発光スペクトルの測定を行い、光学的性質を明らかにした。その結果、溶媒の極性を上げることにより正のソルバトクロミック挙動を示すことを見出した。

今後は、今回開発した反応を用い、もっとπ-電子系を拡張したシロール誘導体を合成し、発光材料やセンサーなど新規機能性材料開発につなげていく必要があると考えている。

謝辞

本研究にご支援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。

参考文献

[1] S.Yamaguchi, K. Tamao (Chapter 11), in: Z. Rappoport, Y. Apeloig (Eds.), The Chemistry of Organic Silicon Compounds, vol. 3 Wiley, Chichester, 2001.

[2] J. Liu, J.W.Y. Lam, B.Z. Tang, Aggregation-induced emission of silole molecules and polymers: Fundamental and applications, J. Inorg. Organomet. Polym. Mater. 19 (2009) 249-285. https://doi.org/10.1007/s10904-009-9282-8.

[3] J. Sołoducho, D. Zając, K. Spychalska, S. Baluta, J. Cabaj, Conducting silicone-based polymers and their application, Molecules 26 (2021) 2012. https://doi.org/10.3390/molecules26072012.

[4] T.T. Dang, H.M.T. Nguyen, H. Nguyen, T.N. Dung, M.T. Nguyen, W. Dehaen, Advances in synthesis of π-extended benzosilole derivatives and their analogs, Molecules 25 (2020) 548. https://doi.org/10.3390/molecules25030548.

[5] J.W. Chen, Y. Cao, Silole-containing polymers: Chemistry and optoelectronic properties, Macromol. Rapid Commun. 28 (2007) 1714-1742. https://doi.org/10.1002/marc.200700326.

[6] G. Lu, H. Usta, C. Risko, L. Wang, A. Facchetti, M.A. Ratner, T.J. Marks, Synthesis, characterization, and transistor response of semiconducting silole polymers with substantial hole mobility and air stability. Experiment and theory, J. Am. Chem. Soc. 130 (2008) 7670-7685. https://doi.org/10.1021/ja800424m.

[7] E.H. Braye, W. Hübel, I. Caplier, New unsaturated heterocyclic systems. I, J. Am. Chem. Soc. 83 (1961) 4406-4413. https://doi.org/10.1021/ja01482a026.

[8] J. Dubac, A. Laporterie, G. Manuel, Group 14 metalloles. 1. Synthesis, organic chemistry, and physicochemical data, Chem. Rev. 90 (1990) 215-263. https://doi.org/10.1021/cr00099a008.

[9] H. Okinoshima, K. Yamamoto, M. Kumada, Dichlorobis(triethylphosphine)nickel(II) as a catalyst for reactions of sym-tetramethyldisilane with unsaturated hydrocarbons. Novel synthetic routes to 1-silacyclopentadienes and 1,4-bis(dimethylsilyl)2-butenes, J. Am. Chem. Soc. 94 (1972) 9263-9264. https://doi.org/10.1021/ja00781a066.

[10] K. Tamao, S. Yamaguchi, M. Shiro, Oligosiloles: First synthesis based on a novel endo-endo mode intramolecular reductive cyclization of diethynylsilanes, J. Am. Chem. Soc. 116 (1994) 11715-11722. https://doi.org/10.1021/ja00105a012.

[11] S. Bähr, H. Ogasawara, S. Yamaguchi, M. Oestreich, An expedient procedure for the synthesis of benzo[4,5]silolo[2,3-b]thiophenes and related systems, Organometallics 36 (2017) 4013-4019. https://doi.org/10.1021/acs.organomet.7b00619.

[12] C. Xu, H. Yamada, A. Wakamiya, S. Yamaguchi, K. Tamao, Ladder bis-silicon-bridged stilbenes

as a new building unit for fluorescent π-conjugated polymers, Macromolecules 37 (2004) 8978-8983. https://doi.org/10.1021/ma0486546.
[13] J. Ohshita, Group 14 metalloles condensed with heteroaromatic systems, Org. Photonics Photovolt. 4 (2016) 52-59. https://doi.org/10.1515/oph-2016-0006.
[14] J. Ohshita, M. Nodono, T. Watanabe, Y. Ueno, A. Kunai, Y. Harima, K. Yamashita, M. Ishikawa, Synthesis and properties of dithienosiloles, J. Organomet. Chem. 553 (1998) 487-491. https://doi.org/10.1016/S0022-328X(97)00643-8.
[15] J. Ohshita, K. Murakami, D. Tanaka, Y. Ooyama, T. Mizumo, N. Kobayashi, H. Higashimura, T. Nakanishi, Y. Hasegawa, Synthesis of group 14 dipyridinometalloles with enhanced electron-deficient properties and solid-state phosphorescence, Organometallics 33 (2014) 517-521. https://doi.org/10.1021/om401019b.
[16] T. Matsuda, S. Kadowaki, T. Goya, M. Murakami, Synthesis of silafluorenes by Iridium-catalyzed [2 + 2 + 2] cycloaddition of silicon-bridged diynes with alkynes, Org. Lett. 9 (2007) 133-136. https://doi.org/10.1021/ol062732n.
[17] M. Tobisu, M. Onoe, Y. Kita, N. Chatani, Rhodium-catalyzed coupling of 2-silylphenylboronic acids with alkynes leading to benzosiloles: catalytic cleavage of the carbon-silicon bond in trialkylsilyl groups, J. Am. Chem. Soc. 131 (2009) 7506-7507. https://doi.org/10.1021/ja9022978.
[18]. K. Mochida, M. Shimizu, T. Hiyama, Palladium-catalyzed intramolecular coupling of 2-[(2-pyrrolyl)silyl]aryl triflates through 1,2-silicon migration, J. Am. Chem. Soc. 131 (2009) 8350-8351. https://doi.org/10.1021/ja901622b.
[19] T. Ureshino, T. Yoshida, Y. Kuninobu, Rhodium-catalyzed synthesis of silafluorene derivatives via cleavage of silicon-hydrogen and carbon-hydrogen bonds, J. Am. Chem. Soc. 132 (2010) 14324-14326. https://doi.org/10.1021/ja107698p.
[20] Q.-W. Zhang, K. An, L.-C. Liu, Y. Yue, W. He, Rhodium-catalyzed enantioselective intramolecular C-H silylation for the syntheses of planar-chiral metallocene siloles, Angew. Chem. Int Ed Engl. 54 (2015) 6918-6921. https://doi.org/10.1002/anie.201502548.
[21] L. Omann, M. Oestreich, Catalytic access to indole-fused Benzosiloles by 2-fold electrophilic C-H silylation with Dihydrosilanes, Organometallics. 36 (2017) 767-776. https://doi.org/10.1021/acs.organomet.6b00801.
[22] Y. Kuninobu, K. Yamauchi, N. Tamura, T. Seiki, K. Takai, Rhodium-catalyzed asymmetric synthesis of spirosilabifluorene derivatives, Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 52 (2013) 1520-1522. https://doi.org/10.1002/anie.201207723.
[23] Q.-W. Zhang, K. An, L.-C. Liu, S. Guo, C. Jiang, H. Guo, W. He, Rhodium-catalyzed intramolecular C-H silylation by silacyclobutanes, Angew. Chem. Int Ed Engl. 55 (2016) 6319-6323. https://doi.org/10.1002/anie.201602376.
[24] R.-H. Tang, Z. Xu, Y.-X. Nie, X.-Q. Xiao, K.-F. Yang, J.-L. Xie, B. Guo, G.-W. Yin, X.-M. Yang, L.-W. Xu, Catalytic asymmetric trans-selective hydrosilylation of Bisalkynes to access AIE and CPL-active silicon-stereogenic Benzosiloles, iScience. 23 (2020) 101268. https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101268.
[25] T. Sudo, N. Asao, Y. Yamamoto, Synthesis of various silacycles via the lewis acid-catalyzed intramolecular trans-hydrosilylation of unactivated alkynes, J. Org.

Chem. 65 (2000) 8919-8923. https://doi.org/10.1021/jo000670n.
[26] S. Ding, L.J. Song, L.W. Chung, X. Zhang, J. Sun, Y.D. Wu, Ligand-controlled remarkable regio- and stereodivergence in intermolecular hydrosilylation of internal alkynes: experimental and theoretical studies, J. Am. Chem. Soc. 135 (2013) 13835-13842. https://doi.org/10.1021/ja405752w.
[27] A. Naka, S. Yoshima, M. Ishikawa, Platinum-catalyzed reactions of 2,3-bis(dimethylsilyl)pyridine with mono- and di-substituted alkynes, Inorg. Chim. Acta. 517 (2021) 120210. https://doi.org/10.1016/j.ica.2020.120210.
[28] K. Sonogashira, Development of Pd-Cu catalyzed cross-coupling of terminal acetylenes with sp2-carbon halides, J. Organomet. Chem. 653 (2002) 46-49. https://doi.org/10.1016/S0022-328X(02)01158-0.
[29] J. Hoche, A. Schulz, L. M. Dietrich, A. Humeniuk, M. Stolte, D. Schmidt, T. Brixner, F. Würthner, R. Mitric, The origin of the solvent dependence of fluorescence quantum yields in dipolar merocyanine dyes, Chem. Sci. 10 (2019) 11013-11022. https://doi.org/10.1039/c9sc05012d.

岡山県産「ママカリ」がもつ遺伝的特殊性およびその要因の解明

倉敷芸術科学大学　生命科学部生命科学科

山野ひとみ

概要　瀬戸内海，特に岡山ではママカリと呼ばれ郷土料理や名産品として知られているサッパには，4 つの大きく分化したミトコンドリア（mt）DNA の系統が存在し，そのうちの一つは黄海、瀬戸内海、および有明海にしか存在しない大陸沿岸性遺存系統であることが明らかにされている．また，瀬戸内海内にもある程度の地理的構造が存在することが示唆されている．そこで，本研究では，瀬戸内海の 10 地点から採集された標本を基に遺伝的集団構造を詳細に調べ，岡山県産「ママカリ」がもつ遺伝的特殊性およびその要因を明らかにすることとした．その結果，瀬戸内海における地理的構造の存在は示唆されなかったことから，サッパの卵や仔魚は，瀬戸内海の強く複雑な潮流により各地点に輸送されていると考えられた．しかし，大陸沿岸性遺存系統の出現頻度は地点により異なり，3 地点では出現しなかったことから，本系統は輸送先の干潟の環境や水質が適していないと生残できない可能性が考えれた．岡山県の笠岡や寄島における本系統の出現頻度は他の地点に比べて高かったため，本系統の存在が岡山県でママカリが名産品になったことと関係していると考えられた．

背景

サッパ *Sardinella zunasi*（図 1）は，瀬戸内海や有明海を含む北海道南部から九州南部沿岸，東シナ海，朝鮮半島南岸，渤海，黄海，杭州湾以北の中国沿岸，および台湾に分布するニシン科の魚類である．湾内の河口近くの砂泥底に通常群れで生息し，動物プランクトンを摂食する．平均 1 年で成熟し春から夏に浅海域で浮性卵を産むが，冬には深場へ移動する[1, 2, 3]．

本種は瀬戸内海，特に岡山県ではママカリと呼ばれ郷土料理や名産品として知られている（図 1b）．岡山県における本種の年間の漁獲量は，1956 年から 1989 年には 118－287 t（1981 年の 653 t を除くと平均 185 t）で推移していたが，1990－1994 年には約半分まで減少した[4]．近年，主な産地である備讃瀬戸の漁獲量は市場に出回る量の 3 割にも満たず，岡山で買われる贈呈用のママカリの多くは県外産，あるいは厳重な加工規格を満たした東南アジアからの輸入品であると言われている[5]．

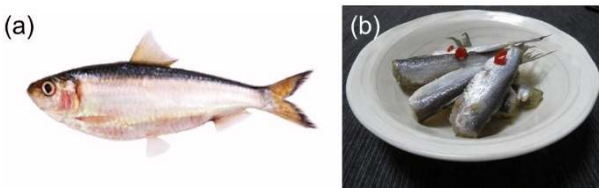


図 1 （a）サッパ *Sardinella zunasi* と（b）ママカリの酢漬け

ママカリ資源を回復するためには，資源の変動単位である時間的･空間的に均一な集団を明らかにし，それぞれの集団に適した管理や保全の対策を考える必要がある．申請者らはこれまでに，日本周辺における本種は（i）有明海を含む九州沿岸から瀬戸内海を含む伊豆半島以南の太平洋沿岸，（ii）伊豆半島以北の太平洋沿岸，および（iii）本州の日本海沿岸の 3 つの遺伝的に分化した集団（資源の管理単位）に分かれることや，本種には進化史が異なる 4 つの大きく分化した系統が存在し，そのうちの一つは黄海、瀬戸内海、および有明海にしか存在しない大陸沿岸性遺存系統であることを明らかにした[6]．昨年度はさらに，瀬戸内海における遺伝的集団構造を明らかにするために 7 地点【大分（中津）、愛媛（伊予）、広島（福山）、岡山（笠岡、寄島、岡山港）、兵庫（芦屋）】から採集された標本について分析したところ，岡山県の笠岡や寄島において大陸沿岸性遺存系統が他の地点よりも高頻度で出現し，瀬戸内海内にもある程度の地理的構造が存在することが示唆

された[7]．しかし，瀬戸内海の中での調査地点数は十分ではなかった．そこで、今年度は瀬戸内海のより多くの地点から標本を採集して遺伝的集団構造を詳細に調べることにより，岡山県産「ママカリ」がもつ遺伝的特殊性およびその要因を明らかにすることとした．

なお，これらの研究成果については，学会[a)]で発表した．

材料と方法

2022 年 8 月 3 日と 16 日に山口県防府市西浦漁港(以下,防府とよぶ)で 22 個体[体長 90.2-120.5 mm（平均 102.1 mm)]，2022 年 7 月 7 日に広島県廿日市市木材港（廿日市）で 29 個体 [72.6-123.2 mm（95.7 mm)]，および 2022 年 8 月 8 日に大阪府大阪市南港（大阪）で 32 個体 [104.8-133.3 mm (114.1 mm)] の合計 83 個体を，釣りにより採集した．各個体の筋肉組織から DNA を抽出し，ミトコンドリア DNA 調節領域（mtCR）を含む約 690 塩基対(bp) を本種専用のプライマー[2)] を用いて PCR により増幅し，増幅産物の塩基配列を DNA シーケンサーを用いて決定した．これらに加え，昨年度の研究[7)]で用いた大分（中津）32 個体，愛媛（伊予）10 個体)，広島(福山[芦田川河口])32 個体，岡山[(笠岡) 32 個体，(寄島) 32 個体，(岡山港) 32 個体]，および兵庫（芦屋 [芦屋浜]）32 個体を加えた，瀬戸内海における合計 10 地点からの 285 個体について分析した（図 2)．

塩基配列を基に,遺伝的多様性の指標としてハプロタイプ多様度（h) と塩基多様度（π）を算出した．ハプロタイプの系統樹およびネットワーク樹を推定し,各地点における各系統の出現頻度を調べた．分子分散分析 (AMOVA) により，遺伝的分化の指標である各地点間の Φ_{ST} 値を算出し，有意水準を FDR 補正した．これらの値を基に非計量多次元尺度構成法（NMDS）により各地点間の遺伝的関係を視覚化し，階層的 AMOVA により地点の最適なグループ化を検討した．

結果

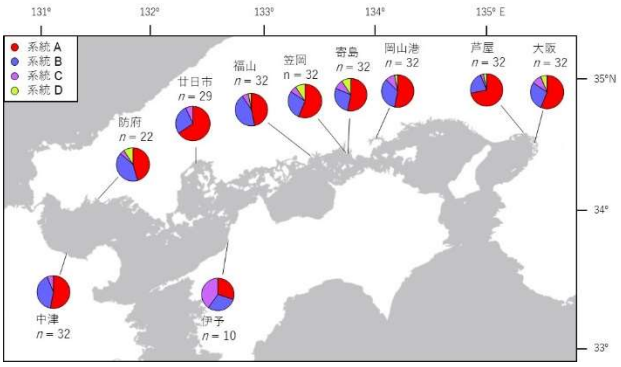


図 2　岡山県産ママカリの遺伝的特殊性の解明に用いた標本の採集地点とミトコンドリア DNA の系統の地理的分布．

瀬戸内海の 10 地点から採集した 285 個体について，mtCR の全塩基配列である相同な 649 bp が得られた．遺伝的多様性は，すべての地点において h と π は高く（h = 0.9556-0.9980，π = 0.0244-0.0715)，地点間における大きな差異は見られなかった．

合計 179 のハプロタイプが認められ，系統樹（図 3）では，Yagishita and Yamano et al.（2021）の

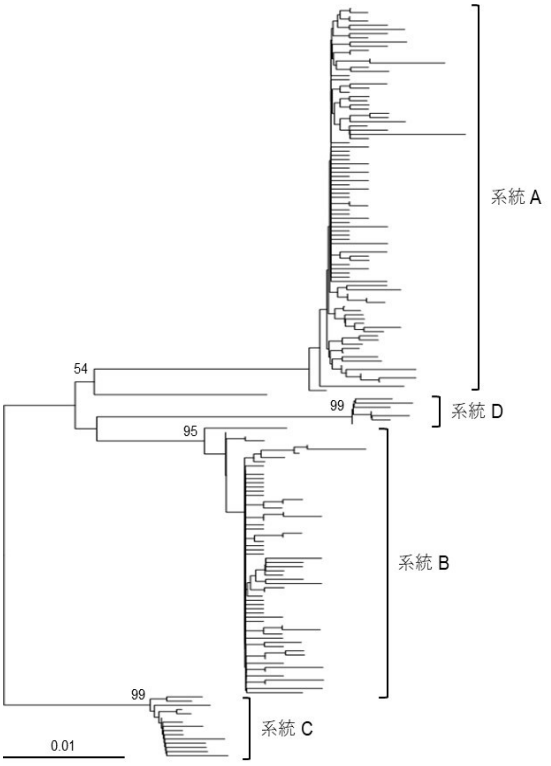


図 3　ミトコンドリア DNA 調節領域の塩基配列を基に作成した，サッパにおけるハプロタイプの系統樹

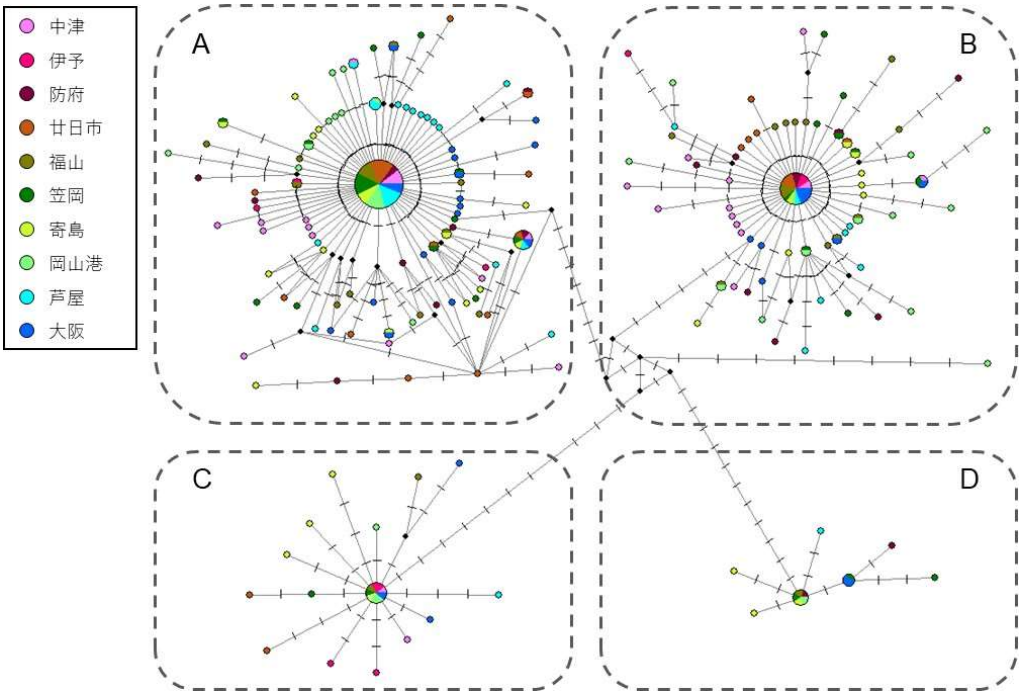


図 4　ミトコンドリア DNA 調節領域の塩基配列を基に作成した，サッパにおけるハプロタイプのネットワーク樹．それぞれの円は，ハプロタイプを示す

系統 A−D に相当する 4 つの系統が見られた．ネットワーク樹（図 4）では，系統樹と同様に 4 つの系統に分かれ，系統 A−C には 10 地点すべてが含まれたが，系統 D には中津，廿日市，および伊予は含まれなかった．

瀬戸内海の 10 地点における各系統の出現頻度を図 2 に示した．系統 A はすべての地点で出現し，その頻度は伊予を除く 9 地点で最も高かった[45.5（防府）-71.9%（芦屋)]．系統 B もすべての地点で出現し，その頻度は，伊予を除く 9 地点では系統 A の次に高かった [21.9（芦屋）-43.8%（福山)]．伊予では，系統 A と系統 B の頻度はそれぞれ 30% と等しかった．系統 C もすべての地点で出現したが，その頻度は伊予では 40% と他の 3 系統よりも高く，伊予を除く 9 地点では 3.1（芦屋）-9.4%（寄島，岡山港，大阪）と低かった．系統 D は，中津，伊予，および廿日市を除く 7 地点で出現し，笠岡と寄島では 9.4%，防府では 9.1%，大阪では 6.3%，福山，岡山港，および芦屋では 3.1% であった．

各地点の Φ_{ST} 値を，系統 A と系統 B について別々に算出した（表 1）．系統 A では，Φ_{ST} 値は FDR 補正前に中津-福山間，伊予-芦屋間，および防府-福山間で有意であったが，補正後は有意でなかった．系統 B では，Φ_{ST} 値は FDR 補正前に廿日市-芦屋間，伊予-芦屋間で有意であったが，補正後は有意でなかった．

NMDS（図 5）は，系統 A の標本のみを用いた場合も系統 B の標本のみを用いた場合も，伊予が他の 9 地点から離れて位置したが，これら 9 地点はお互いに同程度分離し，特定のグループを形成しなかった．しかし，系統 A も系統 B も，階層的 AMOVA

表 1　ミトコンドリア DNA 調節領域の塩基配列から推定した，サッパにおける瀬戸内海 10 地点間の Φ_{ST} 値（対角線より下）と有意水準（対角線より上）

	中津	伊予	防府	廿日市	福山	笠岡	寄島	岡山港	芦屋	大阪
系統 A										
中津		0.1180	0.6065	0.8713	0.0151	0.6178	0.8442	0.2013	0.2369	0.1106
伊予	0.0760		0.1597	0.3184	0.2505	0.1194	0.2223	0.1997	0.0268	0.0584
防府	-0.0063	0.0656		0.7355	0.0472	0.1201	0.6293	0.4301	0.0601	0.5746
廿日市	-0.0087	0.0199	-0.0124		0.2372	0.5707	0.9062	0.2562	0.3584	0.5755
福山	0.0236	0.0517	0.0239	0.0054		0.0626	0.1708	0.3594	0.2505	0.2768
笠岡	-0.0049	0.0904	0.0166	-0.0022	0.0114		0.9873	0.9074	0.1635	0.2115
寄島	-0.0078	0.0438	-0.0067	-0.0100	0.0071	-0.0205		0.8638	0.1961	0.7569
岡山港	0.0058	0.0096	-0.0006	0.0028	0.0020	-0.0079	-0.0041		0.2464	0.4095
芦屋	0.0053	0.1593	0.0235	0.0016	0.0054	0.0065	0.0054	0.0042		0.1207
大阪	0.0117	0.0899	-0.0053	-0.0024	0.0058	0.0077	-0.0085	0.0009	0.0090	
系統 B										
中津		0.4134	0.3240	0.9872	0.7907	0.7569	0.5659	0.3234	0.1096	0.9921
伊予	0.0238		0.6246	0.2793	0.2789	0.3570	0.3132	0.8317	0.7531	0.2536
防府	0.0044	-0.0164		0.4549	0.3635	0.9999	0.5792	0.7650	0.9220	0.7206
廿日市	-0.0181	0.1234	0.0027		0.9297	0.4690	0.6937	0.5266	0.0369	0.8271
福山	-0.0067	0.0674	0.0042	-0.0139		0.3663	0.4942	0.3967	0.1099	0.9437
笠岡	-0.0129	0.0328	-0.0186	0.0059	0.0038		0.7840	0.7702	0.7392	0.8629
寄島	-0.0010	0.0640	0.0018	-0.0040	-0.0012	-0.0063		0.6298	0.0542	0.9244
岡山港	0.0057	-0.0670	-0.0102	-0.0015	0.0035	-0.0136	-0.0057		0.9744	0.7121
芦屋	0.0181	-0.0616	-0.0221	0.0264	0.0252	-0.0117	0.0299	-0.0426		0.0602
大阪	-0.0276	0.0924	-0.0071	-0.0021	-0.0189	-0.0179	-0.0318	-0.0102	0.0276	

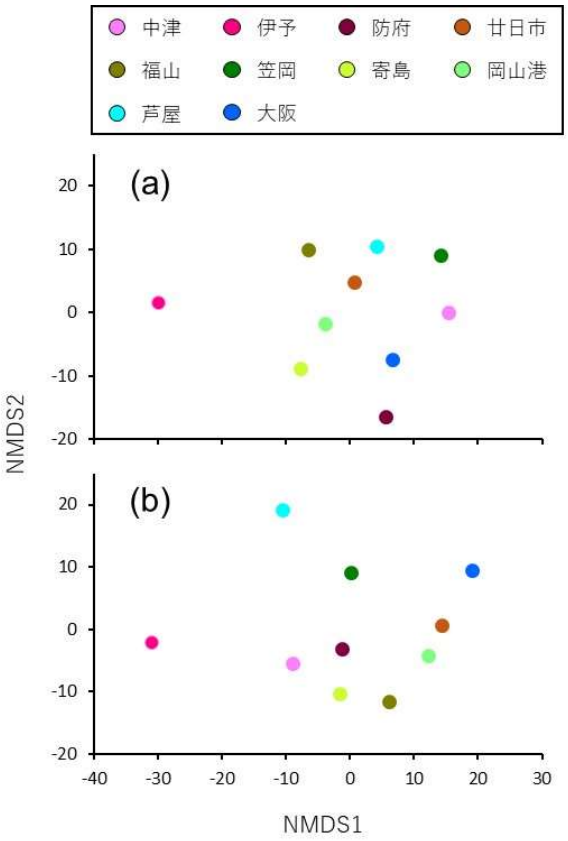


図 5　サッパのミトコンドリア DNA 調節領域の塩基配列から算出した地点間の Φ_{ST} 値を基に作成した，(a) 系統 A と (b) 系統 B における非計量多次元尺度構成法 (NMDS) による瀬戸内海 10 地点のプロット．

で伊予および他の 9 地点の 2 グループに分けた場合には，Φ_{CT} 値と Φ_{ST} 値は有意でなかった [系統 A：Φ_{CT} = 0.0748 (P = 0.0978)，Φ_{ST} = 0.0757 (P = 0.1642)；系統 B：Φ_{CT} = 0.0337 (P = 0.7410)，Φ_{ST} = 0.0288 (P = 0.6031)]．

考察

瀬戸内海の 10 地点における各地点間の Φ_{ST} 値（表 1）は FDR 補正後は有意でなかったこと，また，階層的 AMOVA では Φ_{CT} 値と Φ_{ST} 値は有意でなかったことから，瀬戸内海のサッパにおける地理的構造の存在は示唆されなかった．サッパの仔魚は成長するにつれ生活圏を汽水域にも拡大すると考えられており，河口域のように極端に低塩分となる場所は産卵場として不適であると推察されている [8]．瀬戸内海におけるサッパの産卵場についての詳細は明らかにされていないが，やや沖合に分布するサッパの卵や仔魚は，瀬戸内海の強く複雑な潮流により各地点に輸送されていると考えられる．

瀬戸内海のサッパは，各地点間で交流があると考えられるが，伊予では系統 C が他の地点よりも極めて高頻度で出現し（図 2），系統 A と系統 B における NMDS でも他の 9 地点から離れて位置した（図 5）．伊予は他の地点とは遺伝的にやや異なる可能性があるが，分析個体数が少ないため，今後，個体数を増やす必要がある．

系統 A–C は 10 地点すべてで出現したものの，系統 D は地点により出現しないか，出現したとしてもその頻度が異なっていた．大陸沿岸性遺存種と考えられている魚種の多くでは資源の減少が危惧されており，また，近年の沿岸開発による浅海域や干潟などの環境の急速な悪化により，いくつかの種では分布域が急速に縮小し，以前は各地の内湾にも生息していた種が有明海以外ではほとんどみられなくなったとの報告もある [9]．大陸沿岸性遺存系統である系統 D は，他の大陸沿岸性遺存種と同様に，環境悪化の影響を受けやすく，卵や仔魚が輸送されたとしても，輸送先の環境が適していないと生残できない可能性がある．

系統 D が他の地点よりも高い頻度（9.4%）で出現した笠岡や寄島の周辺には，環境汚染や埋め立てでその数を激減させているカブトガニが未だ繁殖できるような大きな干潟が残っている [10]．また，本系統の出現頻度が次に高い（9.1%）防府の標本の採集地点近くの佐波川河口には，広大な干潟が広がっている [11]．系統 D の生息に適した環境として，そのような大きな干潟が考えられる．福山，岡山港，および芦屋周辺にも，笠岡周辺や防府（佐波川河口）ほど大きくはないものの干潟が存在する．しかし，福山の芦田川下流域は，重化学工業主体の産業都市として発展しており，河口部ではヘドロ堆積や赤潮の発生等の問題が生じている [12]．また，岡山港が位置する児島湾に流入する都市下水や工場排水による汚染負荷量は，水量に比べ大きな比重を占めている [13]．芦屋と大阪（南港）が位置する大阪湾奥部の底質では，有意物含量が高く，このような底質では健

全な底生生物相を維持することは困難で，底生生態系の持つ機能が著しく損なわれている[14]．これらの理由により，福山，岡山港，大阪湾では，系統 D の出現頻度が低かった（3.1%）と考えられる．伊予で系統 D が出現しなかった理由として，周辺に干潟が残っていないことが考えられるが，分析個体数が少ないためである可能性がある．廿日市（木材港）が位置する広島湾の北部海域では，干潟が 40 年ほど前から 60% 以上減少した[15]．また，一級河川である太田川が流入しており，その河口部には自動車，機械，食品等の企業が立地しているため，広島湾に対する窒素，リンなどの負荷量が多い[16]．さらに，数多くの湾や灘が存在する瀬戸内海の中でも湾口部が狭く非常に閉鎖性が高い海域であり，物質の滞留時間が長く水質が悪化しやすい[17]．そのため，系統 D が出現しなかったと考えられる．中津では，中津港湾開発，山国川の開発（ダムや堰の建設），漁場整備（覆砂），河口左右岸の漁港建設，河口部の航路掘削などの人為改変を被っており[18]，“干潟再生のシンボル”とされるアオギスが危機的な生息状況にある[19]ものの，中津干潟ではカブトガニが繁殖している．しかし，系統 D は出現しなかった．系統 D が生息できる環境は干潟の存在とどの程度関係しているのか，また，本系統にはどのような水質が適しているのかについては，今後，香川県や和歌山県などからも標本を採集して詳しく解析することにより，さらに検討する必要がある．

ママカリは，少なくとも江戸期には岡山南部にその食習慣が定着し，その調理法は現代に伝承され，岡山県独自の魚食文化が形成された[20]．岡山県の笠岡や寄島における系統 D の出現頻度は他の地点に比べて高かったため，本系統の存在が岡山県でママカリが名産品になったことと関係していると考えられる．しかし，これら 2 地点における本系統の出現頻度は 9.4% と，割合としては決して高くはない．瀬戸内海の水圏環境は，日本経済の高度成長に伴う産業，人口，都市化の集中が沿岸部を中心に進行したため，1960 年代の後半頃から著しく悪化した[14]．大陸沿岸性遺存である系統 D は沿岸環境の悪化の影響を受けやすいため，その頃に大きく減少した可能性がある．現在，瀬戸内海では，干潟や藻場の保全・創造をはじめ，さまざまな環境保全が進められており，水質の改善がみられている[21]．今後，ママカリ資源が回復するとともに，特殊な進化史を持つ系統 D が護られていくことが期待される．また，岡山県産「ママカリ」がもつ特殊性およびその要因をさらに解明するためには，系統 D と他の系統との脂質含量やアミノ酸組成，味の違いなどを調べるなど，より多角的なアプローチが必要である．

研究成果

a) 柳下直己・山野ひとみ（2022）瀬戸内海におけるサッパの遺伝的特徴. 2022 年度日本魚類学会年会

引用文献

1) 山田梅芳・時村宗春・堀川博史・中坊徹次（2007）東シナ海・黄海の魚類誌．東海大学出版会，秦野．lxiii + 1262 pp
2) Wang M, Zhang X, Yang T, Han Z, Yanagimoto T, Gao T (2008) Genetic diversity in the mtDNA control region and population structure in the *Sardinella zunasi* Bleeker. Afr J Biotechnol 7:4384-4392
3) 中坊徹次（2018）サッパ属．中坊徹次（編），p. 82．日本魚類館．小学館，東京
4) 池原宏二・小川泰樹（2000）各都道府県における地方設定魚種の漁獲量：1956～1994 年の全国統計対象種以外の漁獲量．水産庁資源生産推進部，東京．241 pp
5) 窪田清一（2010）ママカリ ヒラに まったりサーラ．日本文教出版株式会社，岡山．156 pp
6) Yagishita N, Kumashiro M, Matsumoto M, Yamano H (2021) Genetic population structure of Japanese sardinella *Sardinella zunasi* around Japan. Fisheries Science 87:80-5816
7) 山野ひとみ（2022）ママカリの資源回復と食文化の保護・継承のための分子遺伝学的研究．Pages 170-175 *in* 令和 3 年度研究費助成 研

究成果報告書集．ウェスコ学術振興財団，岡山
8) 唐川純一（2001）瀬戸内海備讃瀬戸およびその周辺海域におけるサッパ卵・仔魚の出現時期と分布域．月刊　海洋，33:263-268
9) 佐藤正典（2001）有明海の重要性－危機に瀕した干潟生物の最後の砦－［要旨］．日本ベントス学会誌 56:55-57
10) 笠岡市立カブトガニ博物館（2016）カブトガニ繁殖地について：https://www.city.kasaoka.okayama.jp/site/kabutogani/3825.html．（参照 2023-2-21）
11) 国土交通省中国地方整備局（2014）佐波川水系河川整備計画【国管理区間】．国土交通省中国地方整備局，山口．68 pp
12) 清水裕太･小寺浩二･徳原知靖･中山祐介（2007）河川流域の水環境データベースに関する地理学的研究　芦田川流域の事例．Page 74 *in* 2007年度日本地理学会秋季学術大会発表要旨集．日本地理学会
13) 金政泰弘・片山　健（1974）児島湾の水質調査について（1）．岡山医学会雑誌 86:23-28
14) 松田　治（1999）瀬戸内海の水質・底質の現状と環境管理．日本海水学会誌 53:229-240
15) 広島湾再生推進会議（2012）総合的な学習の時間・社会科・理科で活用できる　私たちの広島湾　森・川・海のつながり．広島湾再生推進会議，広島．10pp
16) 山本民次・橋本俊也・松田治・郷秋雄・中口和光・原口浩一（2008）広島湾と周防灘の底質の比較－とくに季節変動と各項目間の関係について．日本水産学会誌 74:1037-1042
17) 早川典生･細山田得三･西川　誠･宝田盛康･犬飼直之（1995）ラグランジュ的粒子追跡による広島湾湾奥部の海水交換に関する研究．海洋開発論文集　11:103-108.
18) 清野聡子・足利由紀子・山下博由・土屋康文・花輪伸一（2002）大分県中津干潟における市民計画型干潟生物調査と海岸環境保全策の提案．海岸工学論文集 49:1136-1140
19) 重田利拓･冨山　毅･坂井陽一･斉藤英俊（2018）瀬戸内海周防灘中津干潟における絶滅危惧種アオギス *Sillago parvisquamis*（キス科）の危機的な生息状況（2016-2018 年）．広島大学総合博物館研究報告 10:29-36
20) 畦　五月（2016）岡山県南部地域におけるヒラ，サッパ，コノシロの食習慣の変遷．日本調理科学会誌 49:362-370
21) 中央環境審議会（2020）瀬戸内海における今後の環境保全の方策の在り方について．中央環境審議会，東京．16 pp

就学前発達障害児における口腔機能発達を目指した器具の開発

吉備国際大学保健医療福祉学部理学療法学科

森下元賀

（概要）

自閉症スペクトラムなどの発達障害をもつ幼児は口腔機能発達不全症を有する割合が定型児よりも大きい。口腔機能発達不全症は摂食、発話の問題につながるために発達障害を持つ幼児にも簡便で持続しやすいトレーニング方法を確立する必要がある。我々は児童発達支援事業所に通う 22 名の就学前幼児を対象に口腔機能測定を行い、より口腔機能発達に問題がある 4 名に対して我々が開発した棒付き飴状の器具による 1 ヵ月の介入を行った。介入デザインは AB デザインとして、ベースライン期(A 期)30 日間と介入期(B 期)30 日間での測定を行った。口腔機能測定はオーラルディアドコキネシス、口唇閉鎖力、随意的最大舌圧、飴舐めテスト(Candy-sucking test: CST)を行った。その結果として、全体の測定結果は定型児の平均を下回っていた。発達により問題がある 4 名に対して介入を行った。そのうち 1 名は全体的に B 期でのより明確な数値の向上がみられた。また、CST の結果が向上している対象児もいたため、器具によって口唇、舌の複雑な運動が獲得できた可能性がある。

はじめに

乳幼児期の口腔機能発達不全症は「食べる機能」、「話す機能」、「その他の機能」が十分に発達していないか、正常に機能獲得ができておらず、明らかな摂食機能障害の原因疾患がなく、口腔機能の定型発達において個人因子あるいは環境因子に専門的関与が必要な状態と定義されている [1)]。乳幼児期に口腔機能発達不全症に対して十分に介入が出来ていないと、成人期になっても口腔機能が十分に獲得できていないままで、高齢期になってから口腔機能低下症になりやすい [2)]。口腔機能低下症のある高齢者は身体的にも虚弱になりやすいといわれており [3)]、乳幼児期からの適切な口腔への介入が必要である。

口腔機能発達不全症は複雑な病態を呈しており、口腔習癖とも相互に関連している。その中には嚥下時の異常な舌の位置や異常な舌の運動などを示す「舌癖」、「口呼吸」、口唇を十分に閉じられず口をポカンと開けている「口唇閉鎖不全」、舌の位置の異常である「低位舌」などがあり、これらは口腔機能の発達を阻害するだけではなく歯列などの構造的異常にもつながってくる [4)]。

口唇閉鎖不全を例にとると、定型児でも 6 歳で 20%程度、10 歳で 35%程度が症状を抱えていることが報告されている [5)]。自閉症スペクトラム(Autism Spectrum Disorder: ASD)のある児では口腔機能発達不全症を有する割合が定型児よりも明らかに多く、ASD を持つ 3 歳から 6 歳の約 50%の幼児が口腔機能発達不全症にあたることが報告されている [6)]。また、発達障害児は摂食スキルに問題がある傾向がある [7)]。そのため、口腔機能発達不全症を改善する効果的なトレーニング方法の確立は特に特別支援領域で必要になる。

国内においては小児の口腔機能向上のためのトレーニング方法は舌運動の練習、安静時の舌の位置の習得、構音練習などから構成される口腔筋機能療法(Oral Myofunctional Therapy :MFT)、ガム噛みトレーニング、口唇閉鎖トレーニングが主体であり、特に舌の運動に制限がある舌小帯短縮症がある小児には有効であるとされている [8)]。海外においては口唇閉鎖不全、舌の癖などに対する MFT の効果のシステマティックレビューはあるものの [9)]、それ以外のトレーニング方法の報告はほとんどない。

MFT は口腔機能の個別の問題に対してアプローチができるものの、専門的な指導が必要であり、発達障害児の施設や家庭で広く普及しているとは言いづらい面がある。また、口腔機能の発達の促進のためには根気強いトレーニングが必要であり、途中でやめてしまう小児もいる。そのため、家庭や施設でも

簡便に用いることができて、容易に継続できる器具の開発が必要である。

今回､口にくわえてなめることによって口唇閉鎖、舌の複雑な運動を促すことができる器具を開発したので、発達障害を持つ小児に効果を測定した。

方法

就学前幼児を対象に口腔機能の測定を行い、その中で口腔機能低下がみられた幼児に対して器具を用いたトレーニングの効果を測定した。

口腔機能測定を行った幼児は、岡山県総社市の児童発達支援事業所に通う身体障害のない幼児 22 名(平均月齢: 58.7±7.6 ヵ月、男児 17 名、女児 5 名)であった。幼児の発達全般に関わる評価は養育者への質問紙調査によって行った。評価法は乳幼児発達スケール(Kinder Infant Development Scale: KIDS)[10]の Type T(0 歳 1 ヶ月～6 歳 11 ヶ月用)を使用し、評価者が総合発達指数を算出した。

口腔機能の測定は健口くんハンディ(竹井機器: T.K.K.3351)を用いたオーラルディアドコキネシス(Oral diadochokinesis: OD)、りっぷるくん(株式会社松風)を用いた口唇閉鎖力測定、舌圧測定器(JMS: TPM-02)を用いた随意的最大舌圧測定､チュッパチャプスを 2 分間舐めとる能力の測定(Candy-sucking test: CST)を行った。OD は/pa/ /ta/ /ka/をそれぞれ 5 秒間できるだけ速く連続して発音させ、1 秒間あたりの回数を算出した。口唇閉鎖力は幼児のくちびるに測定用のボタン(りっぷるぼたん)を保持させ、口唇で保持できなくなるまで引っ張り、その数値を記録した。随意的最大舌圧測定は幼児の舌の上にプローブを乗せ､舌と口蓋で押し付ける力を計測した。いずれの測定も 2 回行い､平均値を算出した｡CST はチュッパチャプスのグレープ味を用いて、幼児には 2 分間できるだけしっかり舐めるように指示して、減った重量を測定した。また、養育者の観察による口唇閉鎖不全の有無は Nogami らのアンケート [5]の日本語版を用いた。

CST に関しては評価法が確立されていないために、他の口腔機能との関連を明らかにするために、口腔機能の測定項目とチュッパチャプスを舐めた後の重さの変化の統計学的解析として Pearson の積率相関係数を算出した。

器具によるトレーニング、測定の対象児は日本歯科医学会による小児の口腔機能発達評価マニュアル[11]を参考に、2 つ以上の測定項目で年齢の標準偏差の 2 倍から逸脱しており、なおかつアンケートによって口唇閉鎖不全を認める幼児とした。口腔機能の向上を目的とした器具は長さ 10cmで先端が球形になってシリコン加工されている棒付き飴の形状をしたものとした。詳細な形状や写真に関しては特許出願の予定のために非公開とさせていただきたい。トレーニング方法は 1 日 2 回の午前と午後に 3 分間口の中に咥えておいて、器具の先端を左右に動かすように養育者に指示をした。また、唾液が口唇から出そうな場合は器具を口から出さずに嚥下することを指示した。トレーニングは 30 日間行い、使用の有無について日記で養育者に記録を指示した。

トレーニング効果の測定はシングルケースデザインの AB 法によって行い、初回の測定から 30 日間何も介入せずに再度測定(A 期)を行い、次の 30 日間でトレーニング介入を行った(B 期)後に測定を行った。

倫理的配慮に関しては、吉備国際大学倫理審査委員会で承認(承認番号 21-55)を得たうえで行い、対象児の養育者には書面で研究の趣旨を説明したうえで書面で同意を得た。また、器具の破損や誤飲等による事故に備えて臨床研究賠償保険に加入したうえでトレーニングを指示した。

結果

1. 口腔機能測定に関して

口腔機能測定を行った幼児の乳幼児発達スケールによる総合発達指数は 79.4±14.1 であった。口腔機能測定をすべて行えたのは22名中18名であった。口腔機能測定のそれぞれの項目を実施できた幼児の結果の平均は、OD では/pa/3.52±0.62 回/秒、/ta/3.53±0.54 回/秒、/ka/3.27±0.79 回/秒であった。口唇閉鎖力は 5.03±2.04N、随意的最大舌圧は 18.79±6.60kPa であった。CST は 1.44±0.42g であった。アンケートによって口唇閉鎖不全と判定されたのは、11 名であった。

CST と口腔機能との関連については、OD の /pa/(r=0.51, p<0.05)および/ta/(r=0.49, p<0.05)において、飴の減少量と有意な正の相関を認めた。その他の項目には相関を認めなかった。

2. 口腔機能のトレーニング効果に関して

口腔機能に対して器具を用いた介入の対象となったのは 4 名であった。4 名の詳細を表 1 に示す。

表1. 対象児の詳細

	性別	月齢	総合発達指数	介入実施率
A	男児	52	86.5	97%
B	男児	73	98.6	46%
C	男児	49	72.4	48%
D	女児	74	89.1	60%

※ 介入実施率は1日2回、30日間で60回として、実際に器具を使用した割合

初回測定から非介入期間である A 期と介入期間の B 期の各個人の OD(図 1)、口唇閉鎖力(図 2)、随意的最大舌圧(図 3)、CST(図 4)の結果は図の通りである。

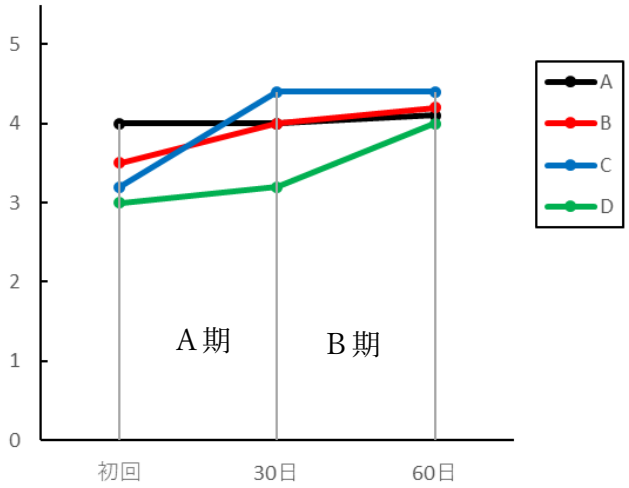


図 1. OD/pa/の個人の変化

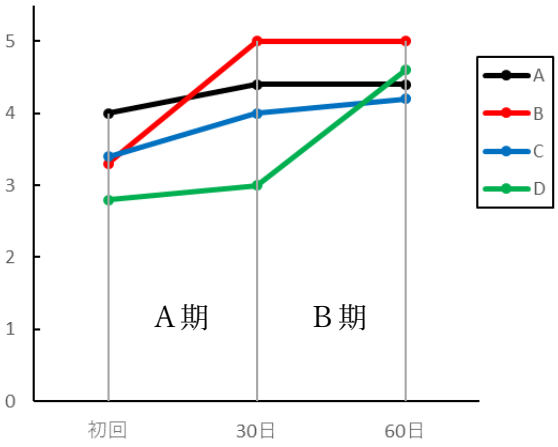


図 2. OD/ta/の個人の変化

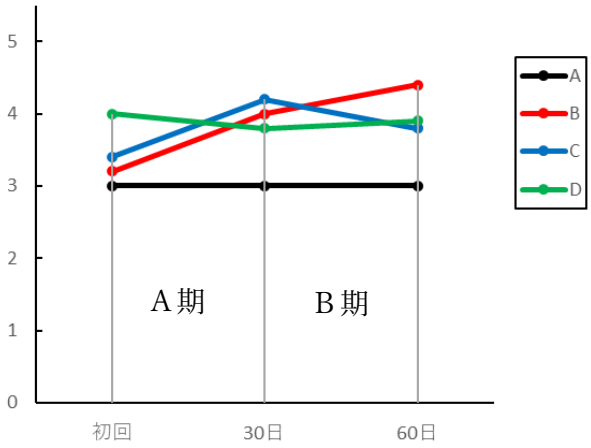


図 3. OD/ka/の個人の変化

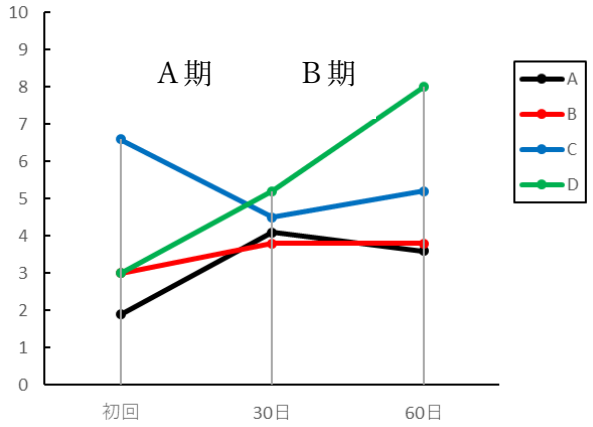


図 4. 口唇閉鎖力の個人の変化

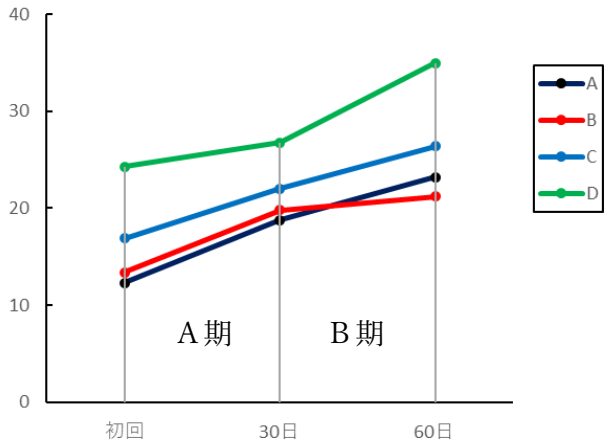


図 5. 随意的最大舌圧の個人の変化

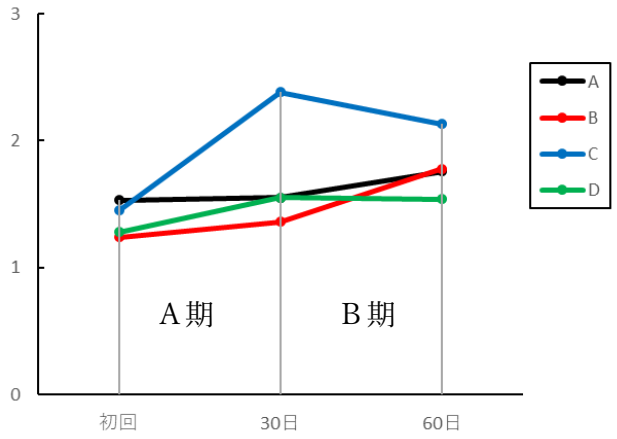


図 6. CST の個人の変化

考察

本研究で口腔機能測定の対象となった幼児は男児、17 名、女児 5 名であった。今回の対象児は児童発達支援事業所に通所しているものの、全員が ASD の診断を受けているわけではない。ASD の男女比はおおよそ 4:1 といわれており、それ以外にも身体障害以外で発達に問題を抱える幼児は男児のほうが多い[12]ことから今回の分布はそれに近い形となった。対象児の総合発達指数の平均は 79.4±14.1 であり、発達障害としては境界域にあるといえる。幼児期の口腔機能発達不全の評価においては、摂食や構音時の外部評価が中心である[11]。今回の研究のような機器を使用した評価、測定は対象児の機器の使用方法や評価者の指示が十分に理解できないと行うことは難しい。実際に今回の測定においても全ての測定項目を行えたのは 22 名中 18 名であった。発達障害児は歩行などの粗大運動は可能になったとしても、手指を使用した微細な運動制御の困難が指摘されている[13]。また、運動経験の不足などにより運動イメージが適切に構築できないことや、そのイメージの発達に脳機能の発達の問題があることが指摘されている[14]。今回の随意的舌圧測定はプローブを舌の上に乗せてプローブの根元を噛み、口唇を閉鎖してプローブを口蓋に押し付けるという難易度の高い動作であったためにできない幼児も存在した。このことは、口腔の運動においては視覚的なフィードバックが難しいために、運動イメージの構築能力が低い幼児には難しかったことが考えられる。さらに OD は 5 秒間発声を持続させられずに途中でやめてしまう幼児も存在した。注意欠如・多動症(Attention-Deficit Hyperactivity Disorder: ADHD)に特徴的な注意の持続の困難、衝動性によるものと考えられる。

今回の研究では機器を用いた測定が困難な幼児がいることも想定して、より簡単な課題である飴舐め課題(CST)も同時に行った。CST は今回の研究では OD の/pa/および/ta/との相関があった。/pa/は口唇の運動機能、/ta/は舌前方の運動機能を反映しているといわれている[15]。そのため、CST は口唇、舌前方の運動機能のテストとして有用であることが示された。また、発語に問題がある高齢患者においては/pa/ /ta/ /ka/いずれも発話明瞭度、発話の自然度に関連しているという報告[16]もあるために、CST の結果は幼児においても発話の機能と関連している可能性がある。そのため、CST は器具の測定ができない幼児においても飴を舐めるだけで口唇や舌の運動機能を簡便に測定できる指標になる可能性がある。

口腔機能測定の全体の結果としては、随意的最大舌圧、口唇閉鎖力の定型児の平均値[11]からすると、およそ 12 か月程度低い状態であった。KIDS から計算した発達指数とほぼ一致しており、総合的な発育と口腔の発育は一致していることが考えられた。今回のトレーニング介入は定型児の月齢の平均値の 2SD を複数の項目で下回り、かつ口唇閉鎖不全を認める幼児という条件で行ったために少人数となったが、口腔の発育が全体的に遅れていることから口腔機能のトレーニングが必要な発達障害児は多いことが推察される。

口腔への器具の介入に関しては、すべての対象児で A 期よりも B 期のほうが能力の向上が大きいという結果にはならなかった。A の対象児は実施率も高かったものの、OD に関しては明らかに向上しているとはいえなかった。CST に関してはわずかに B 期のほうが数値は向上している。口唇閉鎖力、随意的最大舌圧に関しては、A 期での伸びも大きい。このことは、普段の発達支援で発話への取り組みが行われており、通常発達およびそれらの支援で口腔機能が向上していった可能性は高い。B と C の対象児に関しては、実施率が低いために純粋な器具のトレーニ

ング効果は明確ではない。D の対象児に関しては、OD の/pa/ /ta/ 、口唇閉鎖力、随意的最大舌圧で B 期の向上が大きかった。実施率は 60%であるものの、器具の使用に一定の効果があったものと考える。

通常の摂食時には舌は食物の迎え入れ、口腔内での咀嚼時の歯列への移動、舌中央への集約、嚥下時の送り込みと複雑な運動を行っている。また、口唇も食物や唾液が流出しないように閉鎖する機能が必要となる。構音時にも口唇、舌は瞬発性、巧緻性が要求される。今回使用した器具は舌の複雑な運動と口唇の閉鎖を意識したもので、さらに器具を口腔内に保持しながら唾液を嚥下させることで舌と口蓋の接触圧の向上も狙っている。舌に関しては口腔内で舐めることによる舌の捻転運動を促すことによって摂食時の咀嚼効率の上昇や発話の明瞭度の改善も促している。舌の捻転運動に関しては、トレーニングすることによって舌圧や口唇閉鎖力も向上させるという報告[17]もあることから、特に重要であると考える。測定項目として、CST は舌の捻転も含めた複雑な運動を要求されるために OD や口唇閉鎖力、随意的最大舌圧という個別の口唇、舌の運動機能だけでなく、複合的な能力を測定できている可能性がある。今回、CST は B 期により数値が向上している対象児が 2 名いたが、口唇、舌の複合的な運動を獲得できている可能性もある。CST の数値と摂食嚥下機能、発話明瞭度との関連は明らかにできていないものの、器具による課題特異的な摂食、発話機能の獲得も望める可能性がある。

今回の研究の限界としては器具による介入の人数が少なかったことであり、今後は口腔機能が月齢相当に達していない幼児をすべて対象にして研究を行っていく必要がある。また、CST に関しても摂食嚥下能力、発話明瞭度との関係を明らかにして、器具の効果判定として有効なものにしていく必要がある。

引用文献

1) 日本歯科医学会 口腔機能発達不全症に関する基本的な考え方. https://www.japanpt.or.jp/upload/jspt/obj/files/journal/4_writingrules_20161221.pdf (2023 年 4 月 5 日引用)
2) 中央社会保険医療協議会 総会（第 352 回）資料　歯科医療（その 1 ）について. https://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-12404000-Hokenkyoku-Iryouka/0000166451.pdf (2023 年 4 月 5 日引用)
3) Tanaka T, Takahashi K, Hirano H, et al. Oral frailty as a risk factor for physical frailty and mortality in community-dwelling elderly. J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 73(12):1661-1667. 2018
4) 富永敏彦、安富豊、森由香里、他. 口腔習癖と不正咬合に関する経年的研究　第 1 報不正咬合の発現について. 小児歯科学雑誌. 32(5):1122-1131. 1994
5) Nogami Y, Saitoh I, Inada E, et al. Prevalence of an incompetent lip seal during growth periods throughout Japan: a large-scale, survey-based, cross-sectional study. Environ Health Prev Med.26(1):11.2021
6) 原田瞬、立山清美、日垣一男、他. 自閉スペクトラム症児の口腔機能の特徴―捕食機能，咀嚼回数，咀嚼時の口唇閉鎖に着目した定型発達児との比較―. 日本摂食嚥下リハ学会誌.21(3):165-172. 2017
7) 西尾正輝. 小児の摂食・嚥下リハビリテーションにおける最近の国際的動向. 日本摂食嚥下リハ学会誌.12(1): 11-19. 2008
8) 大野粛英、大野由希粛、土屋さやか、他. 舌小帯短縮症における小帯切除と MFT による機能訓練の評価. MFT 学会会誌. 10(1):44-56. 2021
9) Koletsi D, Makou M, Pandis N. Effect of orthodontic management and orofacial muscle training protocols on the correction of myofunctional and myoskeletal problems in developing dentition. A systematic review and meta-analysis. Orthod Craniofac Res. 21(4):202-215. 2021
10) 三宅和夫(監). KIDS(キッズ)乳幼児発達スケー

ル<手引き>（第 5 版）. 発達化学研究教育センター. 東京 1991
11) 日本歯科医学会 小児の口腔機能発達評価マニュアル. https://www.jads.jp/date/20180301manual.pdf （2023 年 3 月 2 日引用）
12) 高橋三郎、大野裕. DSM-5 精神疾患の診断・統計マニュアル, 医学書院, 東京, pp49-57. 2014
13) Sugama K, Sengoku Y, et al. A new device for measuring motor control ability by a visual stimulus: Toward the analysis of clumsiness for eye-hand coordination task corresponding to a visual target. Sapporo Medical University Bulletin of School of Health Sciences. 6:59-67. 2007
14) 新井信隆. 脳の微小形成不全と発達障害. 医学のあゆみ 239(6):621-626. 2011
15) 水口俊介、津賀一弘、池邉一典、他. 高齢期における口腔機能低下. 老年歯学. 31(2):81-99. 2016
16) 杉本智子、葭原明弘、伊藤加代子、他. オーラルディアドコキネシスを用いた構音機能の評価と発声発語器官障害との関連. 口腔衛生学会雑誌. 62(5):445-453. 2012
17) Arakawa I, Koide K, Takahashi M, et al. Effect of the tongue rotation exercise training on the oral functions in normal adults - Part 1 investigation of tongue pressure and labial closure strength. J Oral Rehabil. 42(6):407-413. 2015

粘土鉱物と有機化合物のハイブリッドからなる高輝度円偏光発光薄膜の開発

津山工業高等専門学校　総合理工学科　先進科学系

守友博紀（E Mail; moritomo@tsuyama-ct.ac.jp, Twitter; @MoritomoHiroki）

Thin films exhibiting circularly polarized luminescence (CPL) have potential applications in electronic devices such as 3D displays. In this study, we fabricated hybrid thin films comprising a binaphthyl derivative exhibiting CPL in an aqueous solution together with clay minerals and investigated the relationship between the molecular structure and CPL properties of the binaphthyl derivative. The efficiency of CPL, glum value, of the binaphthyl derivative intercalated within clay minerals was found to be greater than that of the aqueous solution of the binaphthyl derivative. The enhancement of the glum value of the binaphthyl derivative is likely a result of the constriction of the dihedral angle of the binaphthyl derivative induced by intercalation between the clay layers

Introduction

固体状態で円偏光発光（CPL）を示す材料は、3D ディスプレイや LED 素子への応用の可能性から、さまざまな分子を用いて開発がされつつある [1]。このような光学デバイスへCPL発光材料を用いる場合、デバイスの高品質化・小型化・薄型化の観点から、CPL 発光材料は光散乱の小さな薄膜状であることが望ましい。このような背景のもと我々は、薄膜状態でCPL を示す材料開発の方法論として、無機層状化合物の一種である粘土鉱物と、有機化合物とのハイブリッドに着目した。

粘土鉱物は層状の構造を持つ珪酸塩であり、中でも水を含めば粘性を有する粘土鉱物はスメクタイト系粘土鉱物と呼ばれている [2]。スメクタイト系粘土鉱物の層と層との間には、水分子や水和した無機カチオンが取り込まれており、この無機カチオンは容易に他のカチオン種と交換する。そのため、有機カチオンの水溶液と、スメクタイト系粘土鉱物の水分散液とを混合するだけで、粘土鉱物-有機化合物ハイブリッドが生成する。このハイブリッドの水分散液をろ過することにより、ハイブリッドフィルムが得られる。このとき、うまく作成条件を整えれば、フィルムの光散乱を限りなく小さくでき [3]、有機カチオンを無会合かつ高密度に取り込ませることができる [4]。そのため、スメクタイト系粘土鉱物と有機カチオンとのハイブリッドにより、有機カチオンの発光量子収率を損なうことなく光透過性に優れるフィルム状の材料を得ることができる。そこで本研究では、水溶液中で円偏光発光を示す有機カチオンとして Figure 1 に構造を示す有機カチオン CBNC[5] に着目し、CBNC と粘土鉱物とのハイブリッドにより光透過性に優れるCPL性薄膜を創出することを試みた。

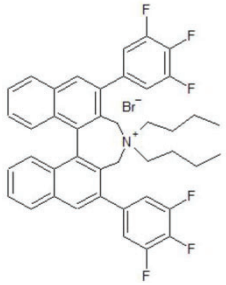


Figure 1 CBNC の構造式

Experiment

粘土鉱物にはスメクトン SA (SSA) を用いた。SSA の陽イオン交換容量は 0.997 meq g^{-1} である。SSA-CBNC ハイブリッドフィルムは、既報に基づき作成した [3]。得られたフィルムの外観を Figure 2 に示す。SSA に取り込まれた CBNC の量は、粘土鉱物の CEC に対する CBNC の量で評価し、本研究では 5%CEC、20%CEC のハイブリッドフィルムを作成した。



Figure 2 SSA-CBNC ハイブリッドの写真。点線部分にフィルムが圧着されている。

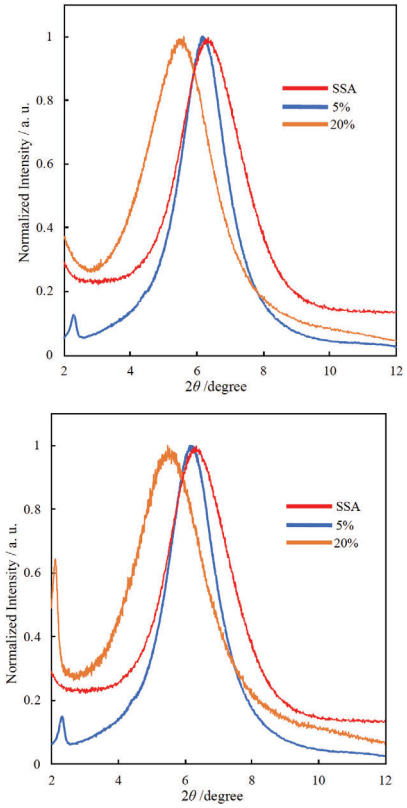


Figure 3 SSAのみのフィルムと SSA-CBNCハイブリッドフィルムの XRD プロファイル (上;SSA-(R)CBNC ハイブリッド、下; SSA-(S)CBNC ハイブリッド、赤線、青線、オレンジ線はそれぞれ SSA のみ、5%CEC、20%CEC CBNC ハイブリッドを表している。)

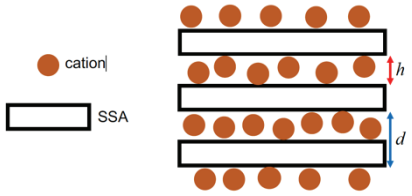


Figure 4 回折角 2θに対応する格子面間隔 d と層間隔 h の関係

Table 1 各試料の回折角、格子面間隔、層間隔

Sample	2θ /degree	d /nm	h /nm
SSA	6.335	1.395	0.425
5%CEC SSA-(*R*)CBNC	6.150	1.437	0.467
20%CEC SSA-(*R*)CBNC	5.600	1.578	0.608
5%CEC SSA-(S)CBNC	6.145	1.438	0.468
20%CEC SSA-(S)CBNC	5.480	1.613	0.643

Results and Discussions

CBNC が SSA の層間に取り込まれたことを確認するため、作製したフィルムの XRD プロファイルから SSA の層間距離を見積もった。得られた XRD プロファイルを Figure 3 に、格子面間隔と SSA の層間距離の関係を Figure 4 にそれぞれ示す。観測された回折は SSA の(001)面に由来し、にこの回折角から

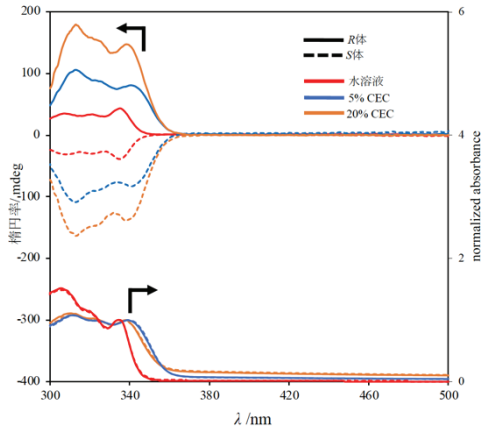


Figure 5 SSA-CBNC ハイブリッドフィルムの CD スペクトル(上)と吸収スペクトル(下)(実線は R 体、破線は S 体を表している。赤線、青線、オレンジ線はそれぞれ CBNC 水溶液、5%CEC、20%CEC CBNC ハイブリッドを表している。縦軸左は CBNC ハイブリッドフィルムの楕円率、縦軸右は CBNC ハイブリッドフィルムの規格化した吸光度を示している。)

求めた格子面間隔 d は SSA 層の端面から、層間に含まれる物質をまたいだ次の端面までの距離に相当する。なので、格子面間隔 d から SSA の厚み（0.97 nm）を差し引くことで、層間隔 h を見積もることができる。各試料の回折角 2θ、格子面間隔 d、層間隔 h を Table 1 にまとめた。CBNC のキラリティに関わらず、ハイブリッドフィルムの層間隔は SSA フィルムの層間隔よりも大きくなった。これは、SSA 層間に存在する水和水や無機カチオンの一部がより大きな有機分子である CBNC と入れ替わり、SSA 層間に CBNC が取り込まれていることを示している。また、キラリティによらず、同じ%CEC のフィルムにおいて層間隔は同程度となった。これは、SSA 層間に取り込まれる CBNC の量がキラリティには依存しないこと、異なるキラリティであっても分子の体積が同じであることが理由だと考えられる。さらに、%CEC が増加するほど層間隔が大きくなっていた。%CEC の増加に伴い、SSA 層間に取り込まれる CBNC の量が増加したためであると推測できる。

CBNC 水溶液と SSA-CBNC ハイブリッドフィルムの CD スペクトルと吸収スペクトルを Figure 5 に示す。 (*R*)CBNC 水溶液、(*S*)CBNC 水溶液の吸収極大波長は、335 nm、335 nm であり、5%CEC SSA-(*R*)CBNC、5%CEC SSA-(*R*)CBNC、20%CEC SSA-(*R*)CBNC、20%CEC SSA-(*S*)CBNC ハイブリッドフィルムの吸収極大波長は、それぞれ 339 nm、339 nm、

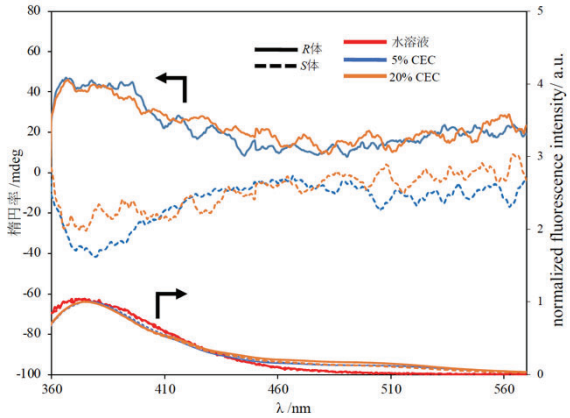


Figure 6 SSA-CBNC ハイブリッドフィルムの CPL スペクトル(上)と発光スペクトル(下)(実線は R 体、破線は S 体を表している。赤線、青線、オレンジ線はそれぞれ CBNC 水溶液、5%CEC、20%CEC CBNC ハイブリッドを表しており、縦軸左:CBNC ハイブリッドフィルムの楕円率、縦軸右:CBNC ハイブリッドフィルムの規格化した発光強度を示している。)

Table 2 各試料の発光量子収率と g 値。*水溶液の値は参考文献 5 から引用。

Sample	Fluorescence quantum yield	$\|g_{lum}\|$
(*R*)CBNC powder	0.003	
(*S*)CBNC powder	0.015	
(*R*)CBNC aq.	0.131	0.2×10^{-4} *
(*S*)CBNC aq.	0.122	0.2×10^{-4} *
5%CEC SSA-(*R*)CBNC	0.058	2.9×10^{-3}
20%CEC SSA-(*R*)CBNC	0.056	3.2×10^{-3}
5%CEC SSA-(S)CBNC	0.065	2.9×10^{-3}
20%CEC SSA-(S)CBNC	0.056	2.0×10^{-3}

338 nm、339 nm であった。このように、CBNC の吸収極大波長は SSA 層間で水溶液に比べレッドシフトしていた。粘土鉱物の層間に有機分子が取り込まれると、その平面性が向上することが知られている[2]。CBNC が SSA 層間に取り込まれることにより、ナフタレン環同士の二面角が狭まり平面性が向上し、π共役系が広がったことを反映していると考えられる。水溶液とハイブリッドフィルムの両方で、CD スペクトルは鏡像関係となった。また、CBNC ハイブリッドフィルムの UV-vis 吸収スペクトルにおいて観察された波長域と同じ波長域に CD シグナルが観察された。SSA-(*R*)CBNC、SSA-(*S*)CBNC ハイブリッドフィルムは CBNC 水溶液と楕円率の符号が同じであった。したがって、CBNC は粘土層間中でもラセミ化や立体反転を起こさなかったと考えられる。このように、CBNC のキラリティは粘土層間中において維持されているため、CPL を示しうるフィルムが作製できたと言える。

CBNC 水溶液と SSA-CBNC ハイブリッドフィルムの蛍光スペクトルと CPL スペクトルを Figure 6 に示す。Table 2 には、各資料の蛍光量子収率、異方性因子($|g_{lum}|$)をまとめた。ハイブリッドフィルムの蛍光スペクトルには、溶液ではみられなかった 500~560 nm 付近での発光帯が観測された。粘土の層間中では、有機分子は取り込まれる量によってはエキシマー発光を示すことが知られているため[6]、この発光帯は CBNC からのエキシマー発光であると考えられる。CBNC の粉末の発光量子収率は 0.015 以下である一方、いずれの CBNC ハイブリッドフィルムも発光量子収率は 0.050 ほどとなった。このように、粉末ではほぼ発光を示さない CBNC を、発光性の薄膜にすることができた。

円偏光発光の効率は$|g_{lum}|$で表され、ハイブリッドフィルムの$|g_{lum}|$は水溶液のものより大きくなっていた。ここで、CBNC のようなビナフチル系化合物の$|g_{lum}|$は、その二面角の大小と相関があることが知られている[8]。そのため、CBNC の SSA とハイブリッドによる$|g_{lum}|$の増強は、励起状態におけるビフェニル部位の二面角が水溶液中と比べて狭まることに起因すると、現段階では推測している。

Conclusion

本研究では、スメクトン系粘土鉱物と、水溶液中で CPL を示すビナフチル誘導体 CBNC からなるハイブリッド材料を作成し、その CPL 特性を調査した。CBNC は SSA 層間に取り込まれてもそのキラリティを維持しており、ハイブリッドは確かに CPL を示していた。CBNC の$|g_{lum}|$は SSA 層間中において水溶液中よりも大きくなっていた。これは、粘土層間中で励起状態の CBNC の二面角が水溶液と比べて狭まっていることに起因すると推察された。このように、粘土層間という環境の下でビナフチル誘導体の二面角が狭まったことでビナフチル誘導体の CPL 特性は、水溶液とは異なった挙動を示すことが明らかとなった。このように、粘土層間という環境を用いれば、有機合成化学的に分子そのものを変化させて二面角を調整せずとも、ビナフチル誘導体の二面角を

簡単に制御し得ることがわかった。有機物/粘土鉱物ハイブリッドは、ビナフチル誘導体が本来示すであろうCPL特性を引き出す一つの方法論となり得るだろう。

Acknowledgments

CD スペクトルの測定には、山口大学 川俣純教授、鈴木康孝准教授、谷誠治准教授のご協力をいただきました。また、CPL スペクトルの測定には広島大学自然科学研究支援開発センター(N-BARD)の JASCO CPL-200 を利用させていただきました。ここに感謝の意を表します。

Reference

1. Y. Yang, *et al.*, *Adv. Mater.*, 25, 18(2013) 2624−2628; J. R. Brandt, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 138, 31(2016) 9743−9746; F. Zinna, et al., *Adv. Mater.*, 27, 10(2015) 1791−1795.
2. 川俣 純 , 鈴木 康孝, *化学と教育*, 63, 3(2014) 108-111.
3. J. Kawamata, *et al.*, *Philos. Mag.*, 90, (2010) 2519-2527.
4. S. Takagi, *et al.*, *J. Phys. Chem. B*, 106, (2002) 5455-5460.
5. T. Kitatobe, *et al.*, *Tetrahedron*, 73, (2017) 6856-6862.
6. M. Tominaga, *et al.*, *J. Phys. Chem. C*, 120, 41(2016),
7. K. Takaishi, *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed*, 60(2021), 9968 – 9972.

植物プロテアソームシャペロン PBAC5 の構造と機能の解析

津山工業高等専門学校　総合理工学科　先進科学系

高木　賢治

（概要）

プロテアソームは細胞内でタンパク質の分解を担う巨大な分解酵素複合体である。シロイヌナズナにおいて、本複合体の分子集合を補助するプロテアソーム専用シャペロンとして PBAC5（Proteasome Biogenesis-Associated Chaperone 5）が新規に発見された。本研究では、PBAC5 の発現系を作製し、PBAC5 の安定性評価と結晶構造解析に向けた試料の精製方法の検討を行った。

PBAC5 は単独では安定に発現せず、PBAC1 と複合体を形成することでダイマーからテトラマー程度の会合状態をとっていると考えられる。また、PBAC5/1/2 三者複合体の発現系構築から、PBAC2 の存在が PBAC5/1 複合体の安定化に寄与することが示唆された。このとき、PBAC1/5 と共発現した PBAC2 から可溶化タグの切断が進まなかったことから、PBAC2 のN末端領域が PBAC5/1 複合体との結合面に隠れるような配置で働くことも考えられる。

今回の結果をもとに、PBAC2 に可溶化タグをつけない発現系を作製し PBAC5/1/2 三者複合体の精製条件を確立して結晶構造解析に取り組むとともに、安定な精製条件を構築できた PBAC1/5 複合体発現系を使用して、変異体実験を行うことで、相互作用界面の特定などをする予定である。

1. 研究の背景と目的

プロテアソームは細胞内でタンパク質の分解を担う巨大な酵素複合体である。本複合体は少なくとも 33 種 66 個のサブユニットから構成されるが、それぞれのサブユニットの位置は厳密に規定されており、その配置に間違いは起こらない。本複合体の形成は自発的には起こらず、複数のプロテアソーム専用シャペロンが関与することがこれまでに明らかとなっている[(1)]。

プロテアソームは真核生物に広く保存されており，分解活性を直接担う 20S プロテアソームとその両端に位置する 19S 制御因子複合体から構成される。20S プロテアソームはα1～α7の７つのαサブユニットからなるαリングと、β1～β7の７つのβサブユニットからなるβリングがαββαの順で並んだ中空樽状の複合体であり、その内部でタンパク質の引き延ばされたペプチドの分解が行われる。20S プロテアソームの形成には 3 組のシャペロン複合体（Pba1/2, Pba3/4, Ump1）が関与することが報告されている[(2)]。

Pba1/2（ヒトでも PAC1/2 として保存）はそれぞれ分子量 3 万程度からなるヘテロダイマーで、その C 末端尾部にある HbYX モチーフ（疎水性アミノ酸－チロシン－任意のアミノ酸）を、α5-α6 サブユニット間、およびα6-α7 に形成されるポケットにはめ込むようにしてαリングに結合し、形成途中の未完成なαリングが 19S 制御因子複合体と結合しないように監視していると考えられている。最近の報告から Pba1/2 は C 末端 HbYX モチーフをαリングのポケットに差し込み、N 末端が 20S プロテアソーム中空への gate を開くことが示唆されている[(3)]。

最近になって、モデル植物であるシロイヌナズナのゲノム解析が進み、Pba1/2 と相同性の高い分子（PBAC1/2）が保存されていることが報告された。またヒトや酵母には保存されていない、新たなシャペロンの存在が示唆され、このシャペロンは PBAC1/2 と複合体を形成して作用することが確認され PBAC5 と命名された[(4)]。PBAC5 には Pba1/2 と同様に HbYX モチーフが保存されていることから、αリング上での位置決めと gate の形成に寄与していると考えられるが、ヒトや酵母と比較したときの PBAC5 の必要性は不明である。

本研究では､新規シャペロンである PBAC5 の構造･機能解析のための発現系構築などを行った。

2. 研究方法

理研バイオリソースセンターからシロイヌナズナの PBAC1，PBAC2，PBAC5 の cDNA の提供を受けた。

まず PBAC1，PBAC2，PBAC5 のそれぞれの単独発現系として pET28-SUMO1-PBAC1，pCold1-SUMO1-PBAC2，pCold1-SUMO1-PBAC5 を作製し､PBAC1，PBAC2，PBAC5 の安定性の評価を行った。次に、上記発現系を用いて共発現系を構築し､PBAC1/2 複合体および PBAC5/1 複合体の安定性評価を行った。

以上の結果をもとに、PBAC1 と PBAC5 を同時に発現する pET28-SUMO1-PBAC1-SUMO1-PBAC5 を作製し、PBAC5/1 複合体の安定性を評価した。さらに上記発現系と pCold1-SUMO1-PBAC2 を用いて共発現系を構築し PBAC5/1/2 複合体の安定性評価を行った。

3. 結果

PBAC1，PBAC2，PBAC5 はそれぞれ、pET28-SUMO1-PBAC1，pCold1-SUMO1-PBAC2，pCold1-SUMO1-PBAC5 の各発現系を用いて、タンパク質精製を試みた。Ni-NTA アフィニティ精製の結果、PBAC1，PBAC2 については可溶性各分として得られたが、ゲルろ過クロマトグラフィにより、大部分が多量体形成していることが分かった。PBAC5 については Ni-NTA アフィニティ精製の時点で、可溶性ではないことが分かった（Fig.1）。

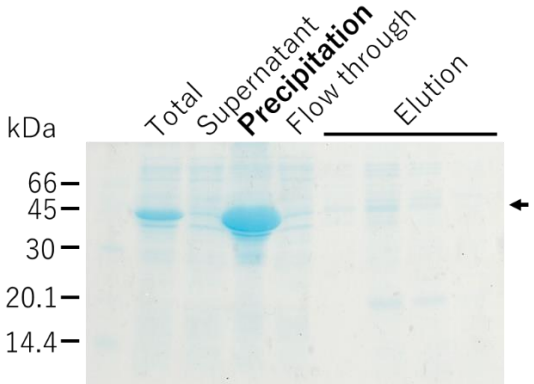


Fig. 1 PBAC5 の Ni-NTA アフィニティクロマトグラフィ
矢印の位置が His6-SUMO1-PBAC5 にあたる。大腸菌破砕後の遠心分離沈殿物(Precipitation)に目的タンパク質がほとんど含まれているのがわかる。

単独発現で用いたプラスミドを組み合わせ、複合体での精製が可能か確認した。PBAC1/2 は単独でのタンパク質精製と同じく、Ni-NTA アフィニティ精製では可溶性各分として得られた。しかし、ゲルろ過クロマトグラフィにより、大部分が多量体形成していることが分かった。PBAC5/1 は Ni-NTA アフィニティ精製では可溶性各分として得られた。またゲルろ過クロマトグラフィによりヘテロダイマーもしくはテトラマー程度の分子量で会合状態を取っていることが分かった（Fig.2）。

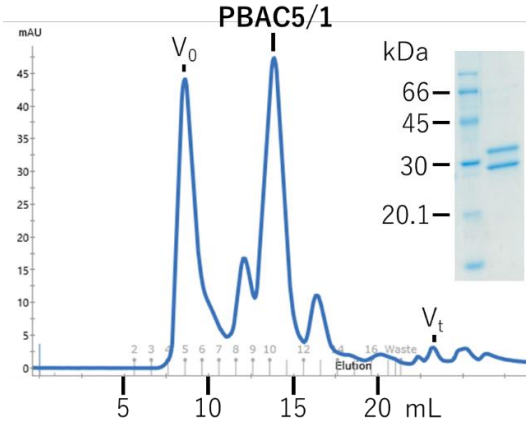


Fig. 2 PBAC5-PBAC1のゲルろ過クロマトグラフィ
Superdex 200 Increase (Cytiva)による PBAC5/1 複合体の分画の結果､14mL程度のピークに 30 kDa 程度のバンドが2本確認された。

構造解析に向けて、PBAC5/1 複合体は大量精製し最終濃度 10 mg/mL で結晶化スクリーニングを行っているが、現時点で X 線回折実験可能な結晶は析出していない。

PBAC5/1/2 三者複合体としての精製を視野にいれ､pET28-SUMO1-PBAC1-SUMO1-PBAC5 を構築した。これを用いて、PBAC5/1 の精製を試みた。Ni-NTA アフィニティ精製では、pET28-SUMO1-PBAC1，pCold1-SUMO1-PBAC5 の 2 つのプラスミドを使用した場合と比較して、SUMO1 タグ部分のみで発現している状態が多く見られた（Fig.3）。

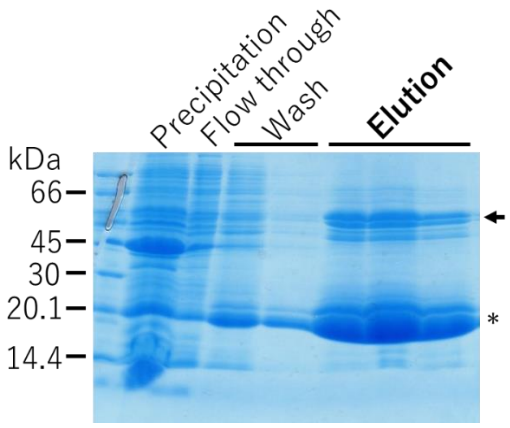


Fig. 3 PBAC5-PBAC1のタンデム共発現
1つのプラスミドベクターにPBAC5, PBAC1の両方を導入し発現確認を行った。矢印の位置がHis6-SUMO1-PBAC5およびHis6-SUMO1-PBAC1にあたる。*印はSUMO1タグに相当する。

pET28-SUMO1-PBAC1-SUMO1-PBAC5 と pCold1-SUMO1-PBAC2 を用いて PBAC5/1/2 の精製を試みたが PBAC5/1 精製の時と同じく SUMO1 タグ部分のみで発現している状態が多く見られた。His6-SUMO1 タグ部分の切断を行う酵素 Ulp1 を加えると、PBAC5/1 についてはタグ切断が確認できたが、PBAC2 については十分にタグ切断されていないことが確認された。ゲルろ過クロマトグラフィの結果、ピークには3本のバンドが含まれた。

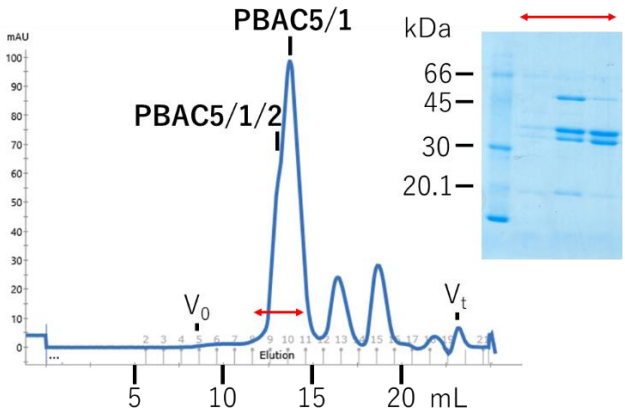


Fig. 4 PBAC5-PBAC1-PBAC2 のゲルろ過クロマトグラフィ
1つのプラスミドベクターに PBAC5, PBAC1 の両方を導入し、PBAC2 のベクターと共発現させた。赤の両矢印の部分の電気泳動結果を右上に示す。45 kDa～30 kDa の間に3本のバンドが確認され、PBAC1, PBAC5 および His6-SUMO1-PBAC2 ではないかと考えられる。

4. 考察と今後の展望

単独では精製困難であった PBAC5 が PBAC1 との共発現により、安定に獲得できることが分かった。この結果は新規シャペロン PBAC5 が PBAC1 と相互作用していることを裏付ける結果といえる。

酵母ホモログである Pba1/2 はすでに報告されている通り安定に存在するにもかかわらず、PBAC1/2 は多量体形成していることが分かった。このことから、PBAC1/2 の安定化に PBAC5 が必要である可能性が考えられる。このことは PBAC5 の新たな機能の可能性として期待される。

PBAC5 と PBAC1 の2つの遺伝子を一つのプラスミドに導入した共発現系の場合、2 つプラスミドを使用した場合と比較して、PBAC5/1 の十分な発現は見られなかった。これは、下流にある PBAC5 の翻訳が滞り、C 末端まで届かないために、SUMO タグが多く得られたと考えられる。しかし、PBAC5/1/2 の3者複合体精製では SUMO タグのみの不良な発現は減少し、PBAC5/1/2 三者複合体での発現が増加したと考えらえる。ただ、PBAC2 の His-SUMO1 タグが切断されなかった。このことは His-SUMO1-PBAC2 の Ulp1 認識領域に PBAC5 もしくは PBAC1 が入り込んで SUMO1 タグ切断を妨げている可能性も示唆している。

今回の結果をもとに、PBAC2 に可溶化タグをつけない発現系を作製し PBAC5/1/2 三者複合体が安定に精製できないか確認する。また、安定な精製条件を構築できた PBAC1/5 複合体発現系を使用して、変異体実験を行うことで、相互作用界面の特定などをする予定である。

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謝いたします。

参考文献

(1) Schnell, H.M. et al. (2022) Chaperone-mediated assembly of the proteasome core particle - recent developments and structural insights. J. Cell Sci. 135(8).

(2) Bard, J.A.M. et al. (2018) Structure and Function of the 26S Proteasome. Annu. Rev. Biochem. 87. 697-724
(3) Schnell, H.M. et al. (2022) Mechanism of proteasome gate modulation by assembly chaperones Pba1 and Pba2. J. Cell Sci. 135(8).
(4) Marshall, R.S. et al. (2020) An evolutionarily distinct chaperone promotes 20S proteasome a-ring assembly in plants. J. Cell Sci. 135(8).

ロボット義足開発におけるばね締緩装置の回転伝達機構部製作および動作検証

津山工業高等専門学校　総合理工学科　機械システム系

野中　摂護

近年益々，モータや制御が組み込まれた新たな義足に関する開発と研究が盛んになっている．いくつかの企業からは足部にアクチュエータを搭載した製品が出されるなど実用的な開発についても高い注目が集まっている．研究の分野からみるとこれらの報告は年々増加しており，新たな技術との融合が試みられている．本研究では，可変剛性機能を有するロボット義足開発のため，ばね締緩装置の検討を行っている．本機構は螺旋型のボルトの様な形状を有しカバーとしてばねを把持する．これまで提案機構の動作の達成と有効性を確認しており，今後電動駆動による実現化を目指している．本申請では，提案する構造に有効な動力伝達機構の開発を行った．今回は，角柱の重ね合わせ構造をベースとし，伝達部の可変長に対応した機構を提案および試作した．精度の課題などいくつか明らかになったが，ばね圧縮量の可変が達成でき，提案する機構の有効性を示した．

1．はじめに

近年下肢切断者の活動レベル向上のため，義足の研究や技術向上が行われている[1，2]．従来の義足では，一般的に弾性体として空圧や油圧などが用いられている．しかしこれらの弾性体では事前に設定された単一方向の剛性設計しか行えない．そこで先行研究にて，二重ばね構造を用いて双方向への可変剛性機構を提案し，この構造を基に設計・試作と歩行実験を行った[3，4]．これにより先行提案義足での，剛性の可変と弾性の活用を確認した．この検証の中で問題点として，重量化・大型化，重心の偏りなどが挙げられた．改善のためには，圧縮の動力伝達部のスペースを抑える必要があり，また同時にばね部のスペース確保が必要となった．そこで，ばねを外骨格の様にカバーし，螺旋状にばねの締めと緩める機構を提案した[5].本申請ではこの提案機構を設計し，3D プリンターでパーツを生成することで製作した．これにより，圧縮距離を固定しながら回転により効率的な可変ができ，また動力伝達部により常に反力を得ることができることを確認した．また外骨格構造のため，多くのギアや軸などの金属部品の使用を抑えることができ，軽量化とスペース確保も期待できる．

しかしながら，次のステップとして，この機能と利点を活かしたまま，電動化による自動制御を目指す必要がある．そこで，本稿では，これらの機構の特性をそのままに，電動駆動可能な機構の検討と，動作が可能か検証をする．3D　プリンター等で作製した機構を用い，モータで駆動し，動作の可否で本機構の有効性を確認する．

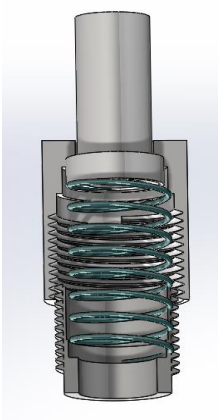


図 1　提案機構 3D 設計モデル

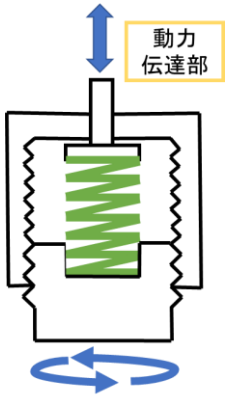


図 2　ばね締緩装置の構造

2　提案機構の現状と課題

2.1　提案機構

先行研究において，図 1 の様に，螺旋状での剛性変化が可能な螺旋型ばね締緩機構を提案した．本機構は雌ねじや雄ねじの役割をするばねカバーを製作し，提案機構の影響を受けずにばねからの力を受けられる動力伝達部品ハンコ型の形状で製作し，装置の概要（図 2）の上部に示すパーツのような形状で配置した．また回転方向のねじり方向へ力を加えること

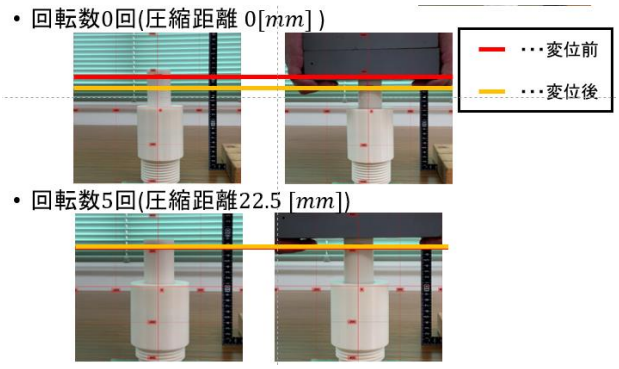


図 3 Kinovea による動画解析の様子

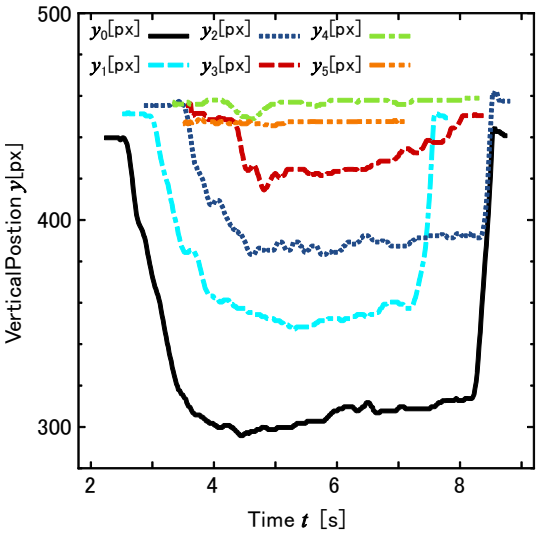


図 4 各圧縮距離に対する y 方向変位の応答

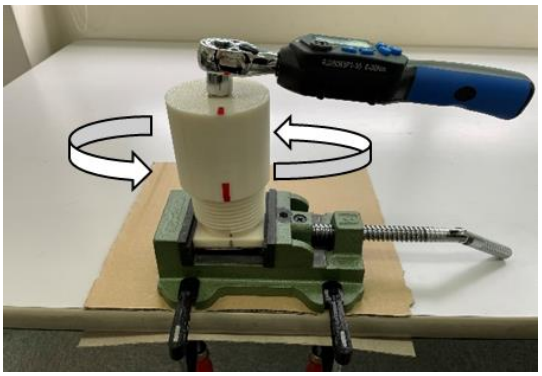


図 5 トルク測定実験の様子

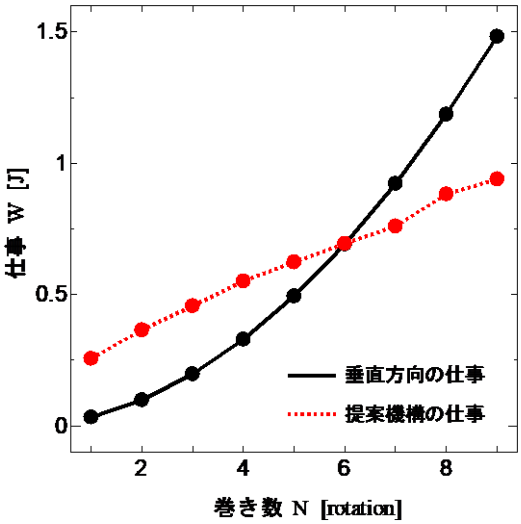


図 6 計測したトルクと垂直変位の仕事比較

で，ばねの剛性変化が起こり，動力伝達部に出力するような機構を提案する．また提案機構では，右方向への力を加えるとばねが硬くなり，左方向への力が働くとばねが柔らかくなる．本稿ではこの機構を螺旋型ばね締緩機構と呼称する．

2.2 先行研究での検証

完成した提案機構に対して，2 つの検証を行った．一つ目は，機構伝達部における剛性の変化について確認した．確認のため，図 3 のように，各カバーの回転量によるばねの圧縮量ごとに，一定の負荷をかけた際の伝達部の変化量を計測した．これにより得られた結果から，図 4 に示すように，剛性の変化が確認できた．

二つ目は，実際にばねカバーの回転に必要なトルクを計測し，これと計算により求められるばねが機構を介さずに圧縮する場合の仕事量（理論値）の比較を行った．計測のための実験は図 5 の様に装置を固定し，デジタルトルクレンチを用いた．これにより得られた，計算結果は，図 6 のようになり，本機構の有用性を示した．

2.3 目標と課題

これらの検証から製作した提案機構は，スライダ機構やギアの使用を抑えられ，また内部に空洞が出来ることから，モータやばねの構造を内部に格納できると考える．しかしながら，これらを満たしながらカバーを回転させるには，また機構の工夫が必要であることがわかった．

3 可変伝達機構の検討

3.1 可動方法

本機構のモータ駆動による可動を考えると，上部もしくは下部のカバーに動力伝達用のパーツを取り付ける必要がある．しかしながら，中心に軸を通すことや，ギアを取り付けるのは本機構のメリットを消

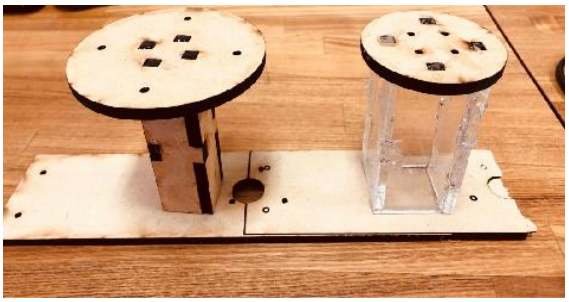


図 7 モータ駆動力伝達部

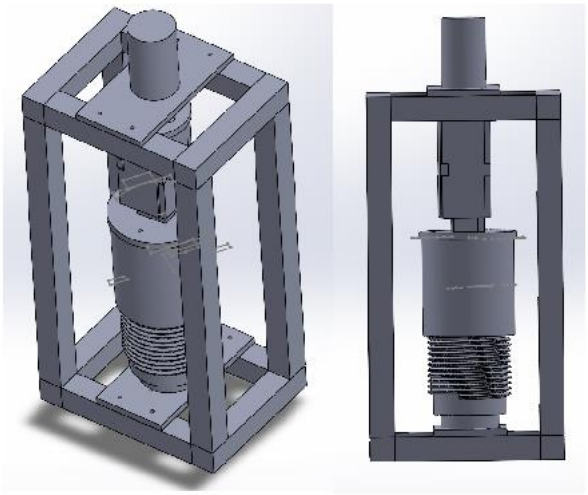


図 8 伝達機構の 3 次元モデル設計図

失してしまう可能性がある．また，機構及びばねは伸び縮みするため，伝達部はこれに柔軟に対応する必要がある．通常この対応を検討するには複雑な機構やパーツ数の増加が見込まれる．そのため，軽量な作りと省スペースな設計を活かすために，シンプルかつ軽量な構造でこれらに対応し，現在の機構構造と同様に円柱等の内部を空洞にしつつ，それ自体が伝達部になることが望ましい．そこでまず，伝達部の位置が変化しても接点を持つ構造を検討し，円柱同士の重ね合わせに着目した．円柱の中に円柱を入れる構造では，お互い円柱同士が重なる長さを確保する中では，位置が変わっても接し続けることが出来る．しかしながら，円柱同士では回転した際に空転し，お互いに動力を伝えられない．そこで，角柱構造でこれを実現することを考えた．これにより，中に空洞の余地を残したまま，角柱同士の重なりでは，空転せずかみ合うため，動力を伝達できる．この構造を活かした伝達部の機構設計および試作することにした．

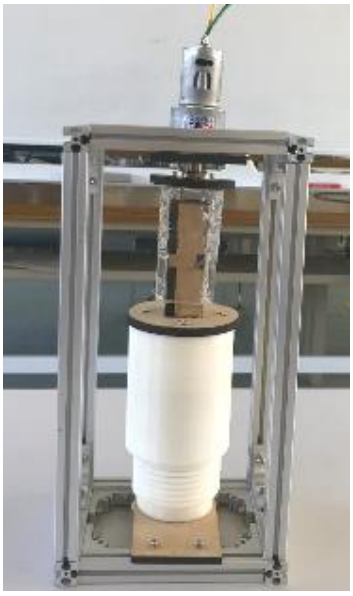


図 9 伝達機構の試作機

3.2 伝達機構の試作

今回伝達部の試作には，図 7 のように，内部の角柱には滑りにくい材質である MDF を用いた．外部の角柱には，内部の構造が良く見え，逆に上下にスライドする際に滑りやすくなるようアクリルを用いた．また今回は各々，機構のばねカバーおよびモータへ接続するための円盤部品が付いている．これらの構造を今回は，3D 設計図 8 のように，フレームで囲い，上部のモータから接続した伝達部上角柱を可変剛性機構へ接続された伝達部下角柱に被せる構造にしている．上部のモータが回転すると下部の可変剛性機構下カバーはフレームに固定され，上カバー部のみが回転する仕組みとなっている．このとき製作した試作機を図 9 に示す．

4 動作実験

4.1 回路構成

駆動用の回路には，マイコンとモータドライバを組合せ，バッテリー駆動による可動を実現する．アクチュエータにはモータとして，今回タミヤギヤードモータ 380K75（電源電圧 7.2 V,無負荷時回転数 242 rpm，無負荷時電流 0.67 A，最大効率時トルク 5.0 kg・cm ）を用いた．今回は安全のため，計算するトルクより少し低めの設定のモータとした．これらの構成を図 10 に示す．

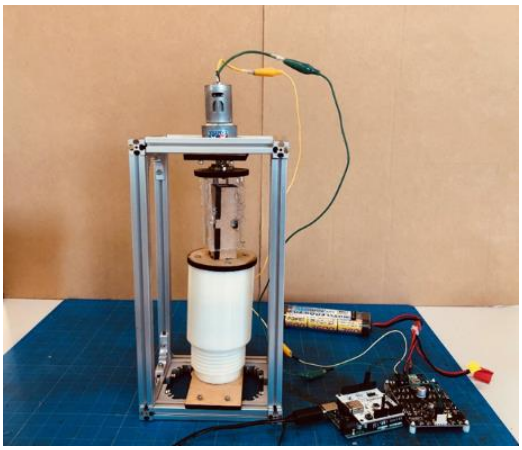


図 10 伝達機構と回路の実験装置構築

4.2 動作検証

今回，モータの出力を順次上げていく形で，動作可能か検証した．今回使用したモータは若干仕様上，低めの設定にしていたが，上下にばねカバーが動作することを確認出来た（図 11）．これにより本機構の有効性を確認出来た．しかしながら，ばねが硬くなる下部に圧縮される部分では，出力不足で動けなくなる様子も確認された．そこで，一時的に電流量を上げて確認を行ったところ，最下部までの到達を確認出来た．ただし，想定した以上の過電流が流れ発熱した．これは，最下部でのばねの硬さを十分に考慮できていないことと，装置自体が精度不足であること，また角柱同士の隙間が空きすぎていることなどにより，動力伝達に無駄な力が必要となっていることが考えられる．今後は製作上の精度を上げるとともに，より効率的に伝達できる機構を考える必要がある．

5 おわりに

本研究では，可変剛性機能を有するロボット義足開発のため，ばね締緩装置の検討を行った．本機構は螺旋型のボルトの様な形状を有しカバーとしてばねを把持する．これらの構造に有効な動力伝達機構の開発を行った．今回は，角柱の重ね合わせをベースとした，伝達部の可変長に対応した機構を提案，および試作した．これについて動作確認を行い，機構の有効性を確認した．また，精度上の課題などが明らかになり，今後より効率的な動力伝達のための改善を検討する必要があることがわかった．しかしながら，機構の電動化と動作検証においては達成することが出来たと考える．

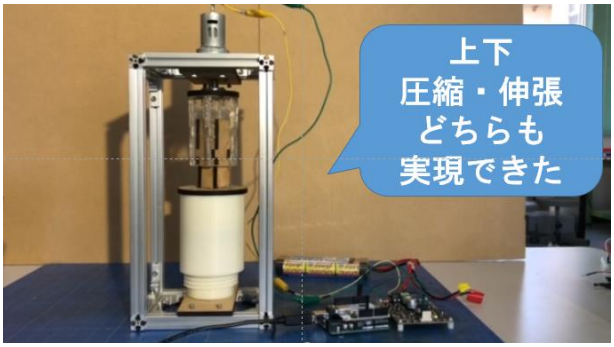


図 11 実験の様子

謝辞

この度，本研究の遂行にあたりご支援を賜りまし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．

参考文献

[1] Sanghamitra Debta, Kaushik Kumar : “Biomedical Design of Powered Ankle-Foot Prosthesis - A Review”, ICMPC, March17--19, 2017.

[2] Corey Pew, Glenn K. Klute : “Second generation prototype of a variable stiffness transverse plane adapter for a lower limbprosthesis”, Medical Engineering and Physics Vol. 49, pp. 22-27, 2017.

[3] 野中摂護，井上勝登：“二重ばね構造を用いた義足における剛性制御機構の開発”，日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演会講演概要集，2P1-C16，pp. 1-2，2019.

[4] 井上勝登，野中摂護：“剛性制御機構を有するバイオニック義足の開発と構造及び身体的基礎評価の検討”，日本ロボット学会学術講演会講演予稿集，3H2-02，pp.1-4，2020.

[5] 野中摂護，内田雄大：“ロボット義足における螺旋型ばね締緩機構の検討”，日本ロボット学会学術講演会講演予稿集，2D3-01，pp.1-4，2022

桃果実の成熟期決定機構の分子解析

岡山県農林水産総合センター生物科学研究所

深松　陽介

岡山県の特産品であるモモは、6 月後半から 9 月前半に収穫されるが、各品種で見ると収穫期間は 2 週間程度と短い。このため、どの時期に果実が成熟するかは、最も重要な農業形質の一つとされる。これまでに、F1 交配樹を用いた解析から、日本品種の熟期を強く支配する遺伝子座を 4 番染色体中央付近の 718kb の範囲に絞り込んできた。本研究では、ゲノム変異探索や遺伝子発現解析により、熟期決定機構の分子解析を試みた。まず、中生品種の果肉および葉を材料に RNAseq 解析を行い、当該領域内の遺伝子の中から、果肉特異的に強く発現する遺伝子を探索したところ、一つの候補遺伝子が見出された。この遺伝子は、果実が成熟するほど、また、熟期が早い品種ほど、発現量が上昇する傾向があった。さらに、トマトの果実成熟に関わる NAC 転写因子（non ripening）と高い相同性を示し、モモの果実成熟を規定する遺伝子と考えられた。次に、ゲノムリシーケンスにより、極早生、早生、中生、晩生品種の当該領域内の変異を探索したが、この遺伝子に品種間でアミノ酸置換変異は存在しなかった。一方、遺伝子の 10kb 以上上流に熟期に相関する変異を一つ見出すことができた。

1．はじめに

岡山は‘岡山白桃’のブランドで知られるモモの主産地の一つである。販売時期は、図 1 の主要卸売市場取扱量に示されるように、6 月下旬頃～9 月中旬頃の夏季に限定されている。これは、長期保存ができないため、販売期間が収穫シーズンにほぼ限られてしまうためである。一方、モモの一つの品種に着目すると、収穫時期はわずか 10 日～せいぜい 2 週間程度しかない。このため、モモ栽培農家は、収穫時期の微妙に異なる品種を連続的に栽培し、収穫シーズンをカバーすることで対応している。図 1 には、岡山で栽培される代表的品種の収穫時期を重ねて示している。このようなことから、モモの品種にとって、熟期は最も重要な農業形質の一つと考えられている。

モモの果実成熟に関し、これまで多くの研究が報告されてきた。QTL 解析や GWAS 解析のような遺伝統計学的アプローチの解析結果はさまざまで、8 本の染色体のほぼすべてで遺伝子座が報告されているものの、4 番染色体中央付近に強い遺伝子座が存在するとの報告が多い[(1)(2)]。我々はこれまでに、岡山県農業研究所で栽培されている数多くの品種や F1 交

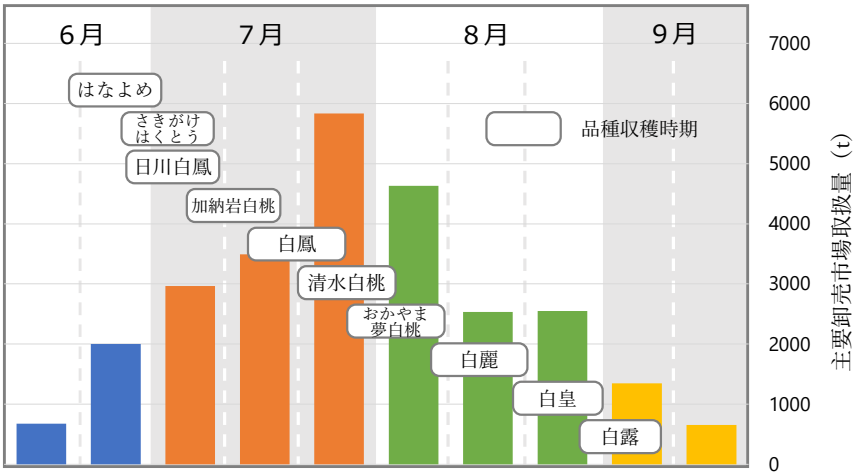


図 1．モモの主要卸売市場取扱数量と岡山での主要品種の収穫時期

配樹について解析を行い、日本品種でも 4 番染色体に熟期を強く規定する遺伝子座が存在することを確認し、その領域を約 718b の範囲に絞り込んでいる。

2. 材料と方法

実験に用いたモモの材料（果実、葉）は、岡山県農林水産総合センター農業研究所から供与された。ゲノム DNA 抽出は葉を液体窒素で凍結後、マルチビーズショッカー（安井器械）で破砕し、DNeasy Plant mini kit(QIAGEN)によって行った。葉からの total RNA の抽出は液体窒素で凍結後、マルチビーズショッカー（安井器械）で破砕し、RNeasy Plant mini kit（QIAGEN)により行った。果肉からの total RNA の抽出は液体窒素で凍結後、マルチビーズショッカー（安井器械）で破砕し、Hot Borate 法により行った。ゲノムリシーケンス、RNA シーケンスは次世代シーケンス受託解析により行った。データ解析は次世代ゲノム解析ソフト、CLC Genomics Workbench（QIAGEN）により行った。定量 PCR は、QuantStudio 6 Pro（Life Technologies）を用いて行った。

3. 結果と考察

① 発現解析による熟期遺伝子の探索

モモ果実の成熟を規定する熟期遺伝子が、4 番染色体の 718kb 領域にコードされていると考えており、この領域に同定されている 114 遺伝子についてのトランスクリプトーム解析行った。熟期遺伝子は、果肉で強く発現すること、および、果肉特異的に発現することが期待されることから、そのような発現パターンを示す遺伝子（図 2a で右上にプロットされる遺伝子）を探索した。その結果、有力な候補遺伝子として、一つの遺伝子（Prupe.4G187100）を見出した。次に、果肉成熟に伴う遺伝子変化を調べたところ、候補遺伝子は果実成熟に伴って発現量が上昇することが明らかとなった（図 2b)。また、候補遺伝子の発現の品種間差について定量 PCR 法により解析を行ったところ、有意差が十分になかったものの、熟期の早い品種ほど発現量が高い傾向が認められた（図 3)。

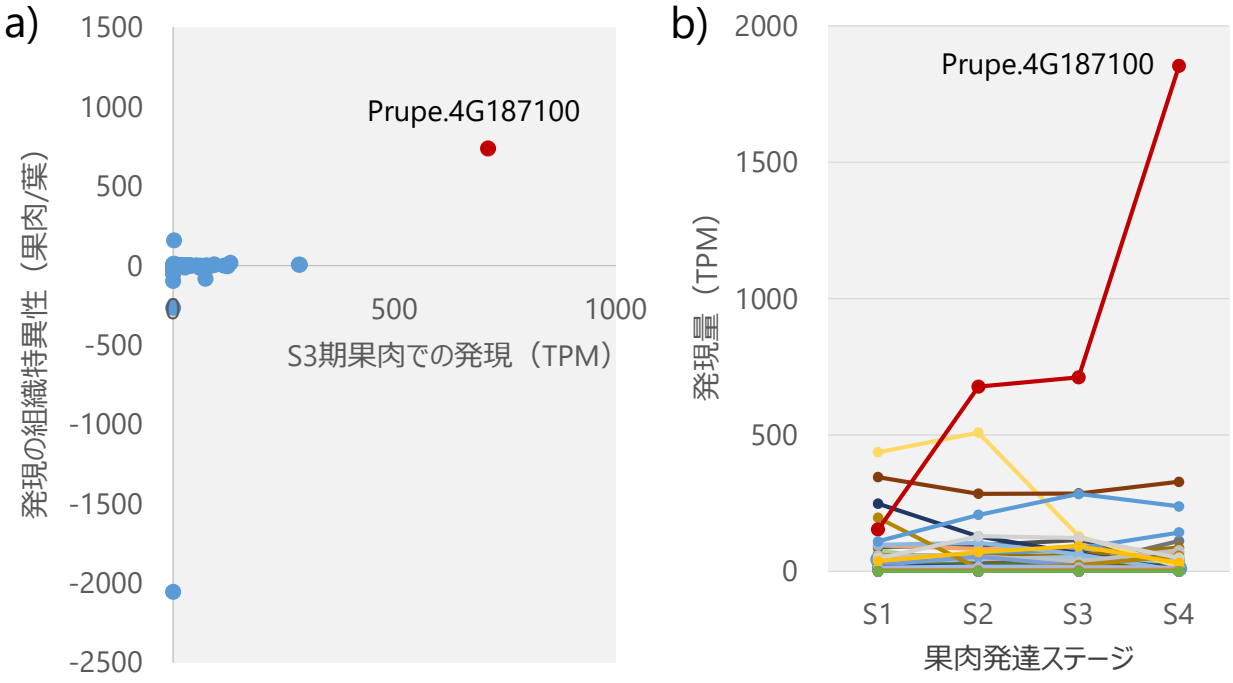


図 2. 清水白桃の 4 番染色体 718kb 領域にコードされる遺伝子の発現解析
a）果肉での発現の強さ（横軸）と果肉特異性（縦軸）　b）果肉での発現の時期特異性

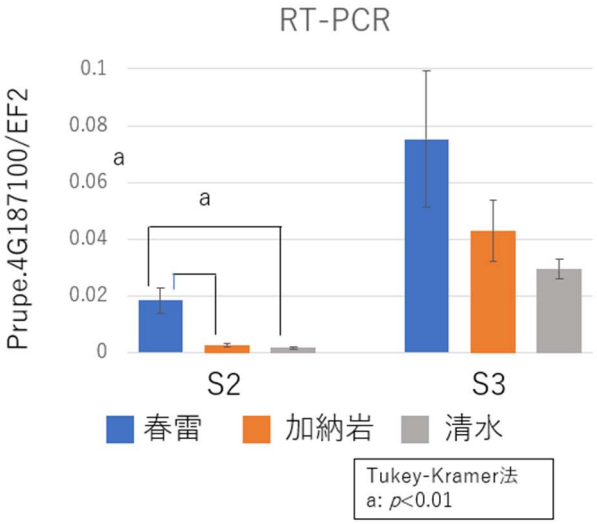


図 3. 候補遺伝子の発現の品種間差

② 候補遺伝子の相同性検索

候補遺伝子にコードされるタンパク質について、BLAST により相同性検索を行ったところ、N 末側に DNA 結合ドメインをもつ NAC 転写因子であることが明らかとなった。そこで、相同性の高い NAC 転写因子を、モモ、トマト、シロイヌナズナから抽出し、分子系統樹を作成した（図 4）。その結果、候補遺伝子は、果実成熟に関わることが報告されているトマトの *non ripening* 遺伝子（*NOR*）と最も相同性が高い遺伝子であることが明らかとなった[3]。また、この遺伝子は、最近報告されたリンゴの熟期候補遺伝子 NAC18.1 の相同遺伝子でもある[4]。これらのことから、Prupe.4G187100 がモモの成熟に関わる可能性が高いと考えられる。

③ 極早生、早生、中生、晩生品種のゲノム変異

極早生、早生、中生、晩生形質を示す品種を 2 つ選び、次世代シーケンサーを用いたゲノムリシーケンスによりゲノム配列を解析した。Lovell のゲノム配列を参照配列とし、CLC Genomics Workbench を用いて、718kb 領域の変異を抽出してみると、各品種から Variants(SNV, MNV, Small Indel), Indel(おおきな Indel), SV（構造変異)が多数検出された（表 1)。そこで、上記で見出した候補遺伝子について、品種間での変異の違いを詳細に調査した。しかし、この遺伝子には、どの品種からも、機能変化をもたらすようなミスセンス変異はもとより、ナンセンス変異もまったく見出すことができなかった。発現解析の結果、この遺伝子には、弱いな

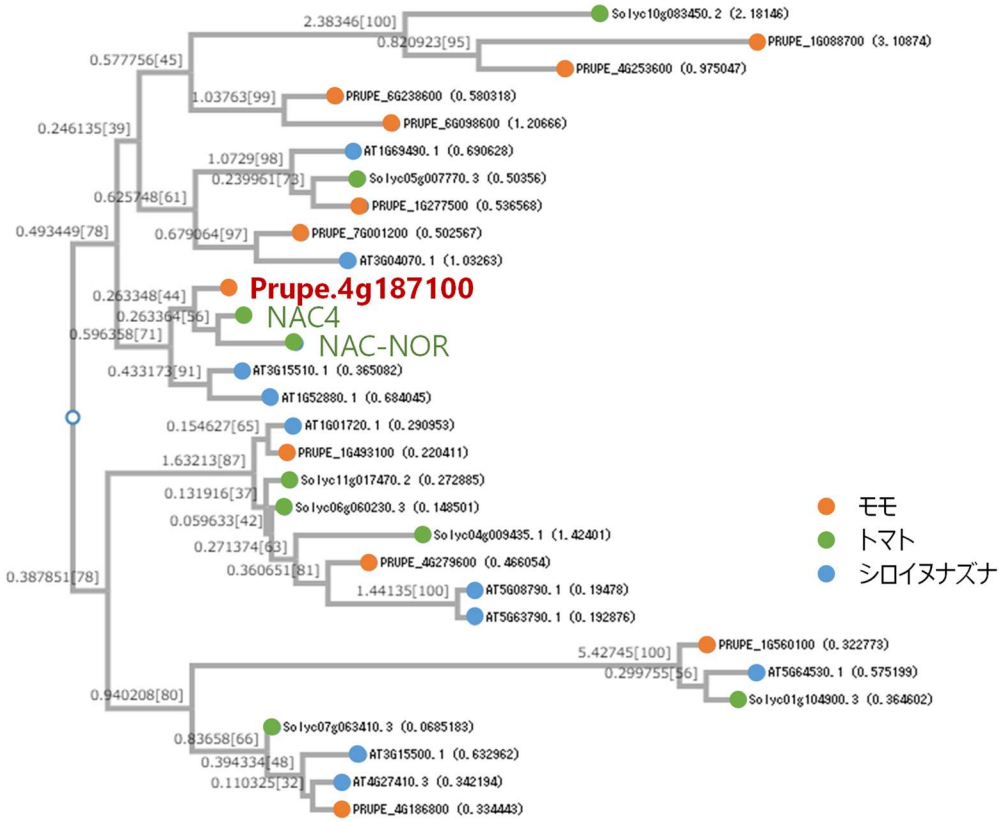


図 4. 候補遺伝子の進化系統樹

表 1. 各品種の 4 番染色体 718kb 領域に検出されるゲノム変異

熟期	品種	Variants			Indel			SV
		Homo	Hetero	Total	Homo	Hetero	Total	
極早生	春雷	767	328	1,095	6	2	8	3
	西農 18	742	441	1,183	5	7	12	3
早生	加納岩	731	407	1,138	4	5	9	2
	華清水	750	388	1,138	5	8	13	2
中生	清水	190	4,490	4,680	2	30	32	13
	白鳳	192	4,498	4,690	2	27	29	9
晩生	白皇	1,696	468	2,164	16	8	24	7
	白露	1,748	536	2,284	13	11	24	11

がらも熟期が早くなるに従って発現量が高くなる傾向が認められたことから、プロモーター領域における変異を調査した。遺伝子の上流 1.5kb の範囲に、一部の品種で変異が認められたものの、熟期形質と相関する変異は見つからなかった。一方、11kb 離れた上流に熟期形質と相関する変異が見出すことができた。

4. まとめ

モモの果実成熟に関わる遺伝子座から、遺伝子発現解析により、果肉で特異的に強く発現し、成熟に応じて発現が上昇する遺伝子 Prupe.4G187100 を選抜した。この遺伝子の内部および近傍には熟期形質に応じた変異が見出されなかったが、上流 11kb に熟期形質に対応した変異が存在した。今後、この変異が果実成熟に関わる可能性を検討する予定である。

5. 謝辞

実験に供した材料、形質データは、岡山県農林水産総合センター農業研究所からご提供いただきました。本研究の一部は、公益財団法人ウエスコ学術振興財団による令和 4 年度研究活動助成金の支援を受けて実施されました。ここに感謝申し上げます。

6. 参考文献

[1] Pirona, Raul, et al. "Fine mapping and identification of a candidate gene for a major locus controlling maturity date in peach." BMC plant biology 13 (2013): 1-13.

[2] Tan, Qiuping, et al. "Chromosome-level genome assemblies of five Prunus species and genome-wide association studies for key agronomic traits in peach." Horticulture research 8 (2021).

[3] Ma, Xuemin, Salma Balazadeh, and Bernd Mueller-Roeber. "Tomato fruit ripening factor NOR controls leaf senescence." Journal of Experimental Botany 70.10 (2019): 2727-2740.

[4] Migicovsky, Zoë, et al. "Apple ripening is controlled by a NAC transcription factor." Frontiers in genetics 12 (2021): 671300.

地球温暖化による環境ストレスから作物を守る！新規バイオスティミュラントの研究開発

岡山県農林水産総合センター　生物科学研究所

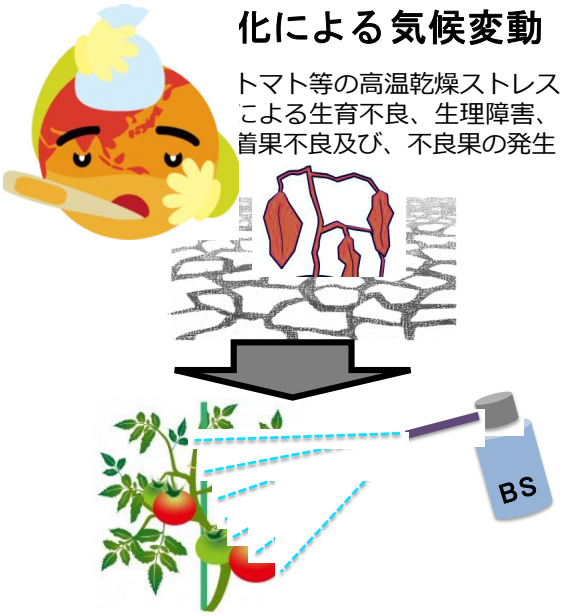
鳴坂　真理、鳴坂　義弘

近年、地球温暖化を起因とした環境ストレスによる作物の生育障害や品質低下などの影響が顕在化している。この不可避な地球温暖化に備えて各種対策を迅速かつ計画的に進める必要がある。バイオスティミュラント（BS）はこの問題の解決の切り札として注目されており、環境ストレス下で作物を安定的に生産できる技術の一つとして世界的に開発が進められている。本課題では、特に岡山県の主要な農産物であるトマトの環境ストレスを緩和し、かつ、生育促進する農業資材としての BS 資材の開発とその施用法の確立をめざした。これまでに BS 資材として、腐植物質・有機酸、海藻・海藻抽出物・多糖類、アミノ酸・ペプチド、ミネラル・ビタミン、微生物資材などが知られているが、本課題ではミネラル（微量要素）を主材とした BS 資材候補を得て、本資材が乾燥ストレスにどの程度の緩和効果や生育促進（または抑制）効果があるかを明らかにし、環境ストレスに対して効果を最大化するように資材およびその処方箋の開発を試みたので報告する。

1．はじめに

近年の地球規模の気候変動による高温、干ばつおよび、病害の頻発化は、穀物生産の大幅な低下や不安定化を引き起こしており、気候変動による主要穀物の生産被害は世界で約 5 兆円/年とされている。例えば、岡山県の主要な農作物であるトマトでは、高温による着色・着果不良、裂果、イチゴでは花芽分化の遅延、ブドウでは、黒色品種の着色不良、モモでは、暖冬による生育不良といった問題が既に発生している。また、2100 年までに、世界の平均地上気温は 0.3～4.8℃上昇すると予想されており、岡山地方気象台の発表によると岡山県では、①年平均気温が 100 年で約4℃上昇、②猛暑日が年間55 日程度増加、③大雨（50mm/時間）の発生回数が 3 倍になる、④無降水日数が増加すると予測されている。また、農林水産省が推進する「みどりの食料システム戦略」や、「農林水産研究イノベーション戦略 2021」にも示されているとおり、持続可能な農林水産業を実現する上で、地球環境変動への対策は大きな課題となっている。

近年、気候変動による農業生産の不安定化リスクを低減し、収益性を高める技術としてバイオスティミュラント（biostimulant 、BS 資材、生物刺激剤）が注目されている（図１）[1)]。BS 資材は、「植物の活力を高め、植物に本来備わっている力を利用することで、様々なストレスを緩和させて健全な植物の生長をサポートする物質」（生物刺激制御研究会、HP：https://bio-stimulant-research.org）と定義され、病害虫などに直接作用して予防・防除する農薬や、栄養素を供給する肥料とは異なる（図２）。しかしながら、多くの既存の BS 資材は作用機作および科学



高温、乾燥障害等の環境ストレスを緩和する
バイオスティミュラントの活用

図1　バイオスティミュラントの活用の概念図

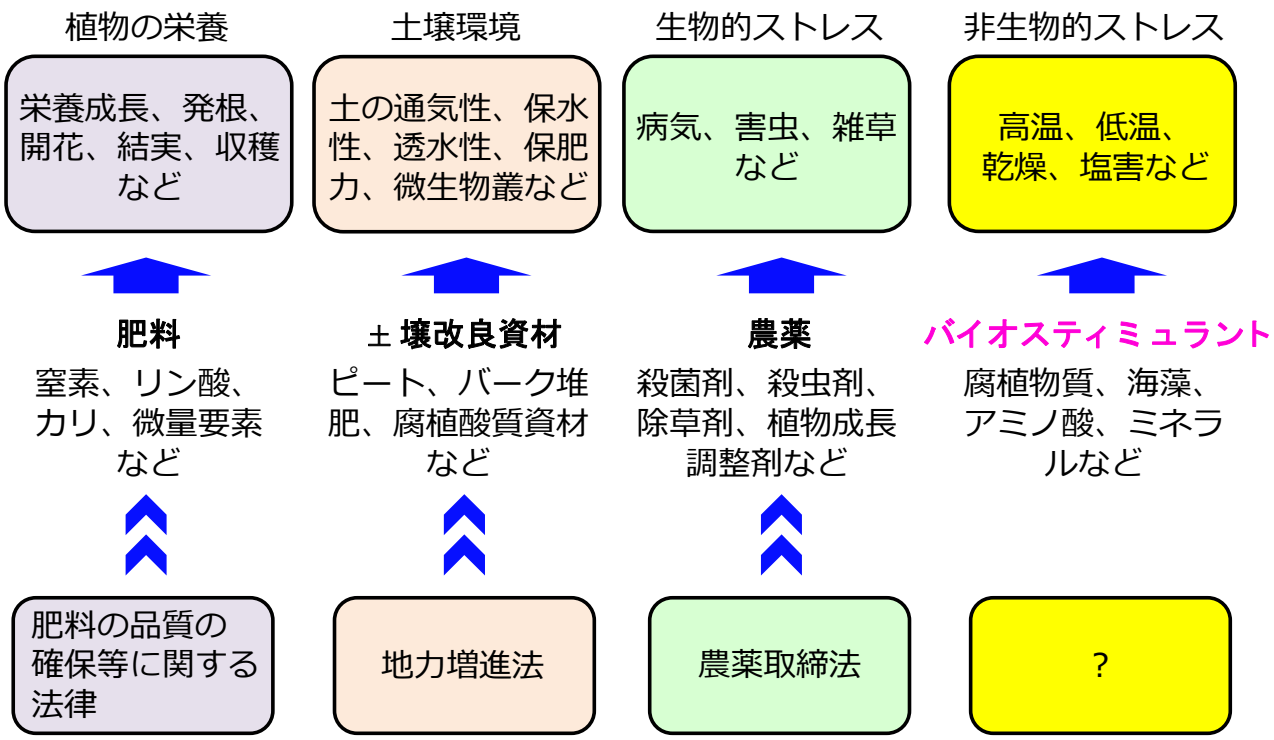


図2 バイオスティミュラント の位置付け

的根拠が不明で、規格化、標準化ができていないことが問題である。

私たちは、これまでにミネラル（微量要素）にストレス防御応答、生育促進、根の活着促進、収量を向上する効果があることを発見した（特許第 6634325 号、特許第 6713117 号、特願 2020-080169）。また、ミネラルを至適の比率で混合することで、「植物の環境ストレスに対する防御応答の強さと生産性（生長性）間のトレードオフ（一得一失）」を回避することに成功した。

2．研究の目的

既存の BS 資材の多くは作用機作が解明されていないため、効果の科学的根拠が薄弱であり、BS 資材の汎用性や持続性を向上するための設計技術が確立されておらず、社会実装のボトルネックとなっている。一方、欧州で 2022 年から施行された EU 新肥料法では BS 資材も包含されることになり、BS 資材の機能を科学的に定義する必要性に迫られている。

本課題において対象とするトマトは、夏場の酷暑により、着果不良、不良果、尻腐れ果、日焼け果といった高温障害による減収が問題になっている。現在、既に生産量の 20%以上の損失（約 515 億円）がでており、本課題で開発する BS 資材により被害を 20%減じることが出来れば、約 103 億円の被害を軽減できる。

これまでに BS 資材として、腐植物質・有機酸、海藻・海藻抽出物・多糖類、アミノ酸・ペプチド、ミネラル・ビタミン、微生物資材などが知られている。本課題では、ミネラルを主材とした BS 資材候補を作製し、本資材が様々な環境ストレスにどの程度の緩和効果や生育促進（または抑制）効果があるかを明らかにしながら、多様な環境ストレスに対して効果を最大化するように資材およびその処方箋を最適化していく。特に、トマトの高温・乾燥ストレスを緩和する BS 資材を開発し、その作用機作を科学的に明らかにすることで、これまで困難であった BS 資材の開発における規格化・標準化に向けた指標を提案することをめざす。

３．研究成果

植物の生長に必要な栄養素のうち､必要量が多い要素を多量要素（窒素、リン酸、カリウム)、必要量が少量でよいものを微量要素(鉄、マンガン、ホウ素、モリブデン、亜鉛、銅、塩素など)という。これらの微量要素は植物の生体内の生理活性（光合成、酸化還元、代謝など）や、植物の防御応答に強く関与しており、これらが不足（欠乏症）しても過剰（過剰症）になっても生長に負の影響を及ぼす。本課題では、微量要素の生長への効果と環境ストレスに対する防御応答の向上効果[2-5]に着目し､生長と防御応答のトレードオフを打破するBS資材の開発を試みた。

個々のミネラルの単独での施用は過剰症による薬害（葉の褐変、斑点、萎れ、生育障害など）を生じた｡そこで､植物の環境ストレスを緩和するために、個々のミネラルの特性を考慮し、複数のミネラルを至適濃度で配合することで、生長と防御応答間のエネルギーバランス効果を図った。いくつかの組み合わせを試行した結果、マンガン、ホウ素、鉄、銅、亜鉛を混合した微量要素資材を作製した｡本資材は、岡山県農林水産総合センター生物科学研究所と企業との共同開発によりバイオスティミュラント資材・液体微量要素複合肥料｢ストロングリキッド」（以下｢ストリキ」）（製造:片倉コープアグリ株式会社）として販売しているが、その科学的な特性は未知であったため以下の実験を行った。

微量要素（マンガン、ホウ素、鉄、銅、亜鉛）などの金属類は植物体内を移動しにくい特徴があり、根で吸収しても葉の先に供給することは困難である。そこでストリキを水で500倍に希釈してイチゴに葉面散布した。その結果、ストリキ処理区は実の収量が20%向上した（図３)。また、岡山県の主要な農産物であるナスにストリキを水で500倍に希釈してイチゴに葉面散布した。その結果、ストリキ処理区は実の収量が30%近く向上した（図４)。

次いで､ストリキの乾燥ストレスに対する耐性付与効果を検討した。図５はトマト苗（品種：レジナ）を用いた乾燥実験の結果である。水のみを与えた苗に対し、ストリキを与えた苗は、乾燥ストレス条件下で元気さを維持していた。同様な結果はハクサイ苗でも得られており、ストリキは植物に乾燥耐性を付与することができた。現在、マイクロアレイを用いて、ストリキ処理により発現誘導される遺伝子の網羅的な発現解析を行っており、その作用機作の解析を試みている。

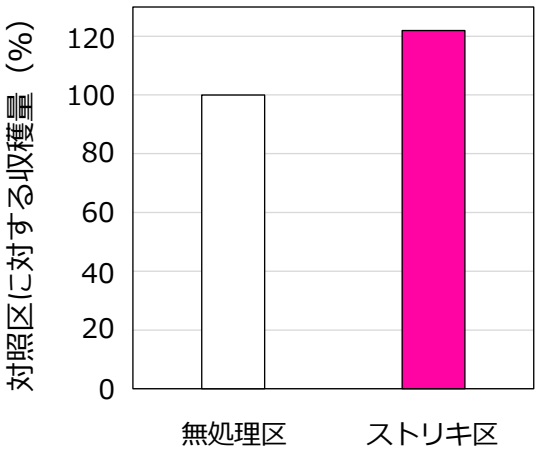


図3　微量要素資材を処理したイチゴの収量調査
12月から2～3週間おきに500倍に希釈した微量要素資材ストリキ(0.1%界面活性剤添加）をイチゴ（品種：おいCベリー）に8回散布し、収量を調査した。おいCベリーは各区54株を用いた。ストリキ区の収穫量は対照区の収穫量を100%とした場合の相対値で示した。

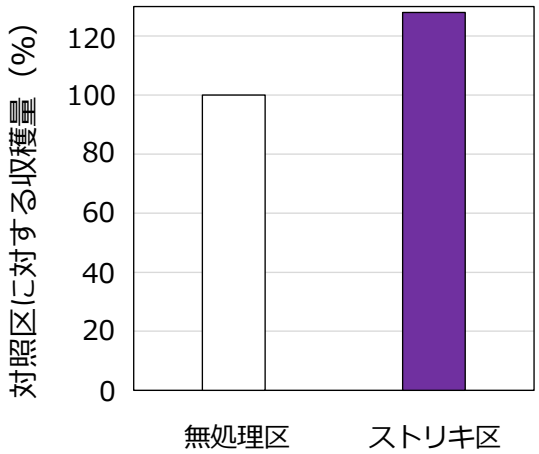


図4　微量要素資材を処理したナスの収量調査
5月にナス（品種:千両2号）を定植（各区20～23株）した後、約2週間毎に500倍に希釈した微量要素資材ストリキ(0.1%界面活性剤添加）を8回葉面散布し、収量を調査した。ストリキ区の収穫量は対照区の収穫量を100%とした場合の相対値で示した。



水処理区　　ストリキ処理区

図5 トマト苗を用いた微量要素資材の乾燥ストレス耐性付与効果
播種後26日のトマト苗（品種:レジナ）を用いて、それぞれ水または250倍に希釈した微量要素資材ストリキを灌注したのち、温度24℃、湿度30～40%、16時間明下/8時間暗下の条件にて乾燥処理を行った。７日後には水のみを与えた苗（左）は萎れているのに対して、ストリキを与えた苗（右）は健全さを維持していた。

４．まとめと今後の展望

本課題において､微量要素資材を処理することでトマトに乾燥ストレス耐性を付与し、かつ、収量を向上することが明らかになった。植物はストレスに遭遇すると個体、組織および細胞レベルで速やかに応答し、ストレスに対する耐性を獲得する。一方で、植物は防御応答に必要なエネルギーを作るため、自らの生長を抑制する。そのため、植物の生長（バイオマス）とストレスに対する防御応答はトレードオフ（一方を追求すると他方を犠牲にしなければならないという、二律背反の状態）の関係にある。バイオスティミュラントによりストレスに対する植物の抵抗力を高めても生長を大きく阻害して収量を減じては本末転倒である。バイオスティミュラントの創薬には、植物のストレス耐性と生長のトレードオフの関係を科学的に理解し、これを打破する技術の開発が必要である。本研究で明らかになった通り、微量要素資材(ストリキ)は植物のストレス耐性と生長のトレードオフの関係の科学的な解明のツールとしても興味深い。

今後は、BS 資材の主材となるミネラルについて、複数の異なる栽培条件や施用法により処理したトマトを調製し、BS 資材成分の短期および長期的な作用について､生理応答の変化(遺伝子発現の変動など)や外的変化（形態や成長の変化、薬害の有無など）を調査するとともに、BS 資材成分による高温･乾燥などのストレス耐性および生産性の向上に関わる作用機作を解明する必要がある。本評価指標は BS 資材の規格化・標準化に資すると考えられる。

欧州委員会が 2020 年 5 月に公表した「農場から食卓まで戦略（Farm to Fork Strategy)」など、国際的に持続可能な開発目標（SDGs：Sustainable Development Goals)を重視する動きが加速しており、世界的に化学農薬や化学肥料を削減する目標が掲げられている。日本においても、2021 年 5 月に農林水産省が発表した「みどりの食料システム戦略」において、2050 年までに化学農薬の 50%低減、化学肥料を 30%低減および、耕地面積に占める有機農業の取り組み面積の割合を 25%に向上するとの目標が掲げられた。これらを解決するための一つの技術としてバイオスティミュラントの使用が考えられている。

我が国の農業では古来より腐植物質および海草類が農業資材として使われてきた。今後、科学的に作用機作および効果が解明されたバイオスティミュラントを農業生産に積極的に取り入れることで生産性が向上し、安定的な食料生産に貢献することが期待される。

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心より感謝申し上げます。

参考文献

1) バイオスティミュラントガイドブック　第二版, 日本バイオスティミュラント協議会編, 日本バイオスティミュラント協議会（2022）
2) 鳴坂義弘, 鳴坂真理, *最新農業技術　土壌施肥*, 14, 183-188（2021）
3) 鳴坂義弘, 谷口伸治, 鳴坂真理, バイオスティミュラントハンドブック －植物の生理活性プロセスから資材開発、適用事例まで－, 山内靖雄, 須藤修, 和田哲夫（監修）, pp.421-428, エヌ・ティー・エス（2022）

4） 鳴坂義弘，*作物生産と土づくり*，54(571)，59-64（2022）
5） 鳴坂義弘，鳴坂真理，化学農薬・生物農薬およびバイオスティミュラントの創製研究動向，梅津憲治（監修），pp.459-470，シーエムシー出版(2023)

モモせん孔細菌病抵抗性に関与する遺伝子マーカー探索

岡山県農林水産総合センター生物科学研究所

嘉美千歳

近年、遺伝子マーカー利用による果樹の新品種育成が効率化されつつある。本研究では、モモ生産現場で最も深刻な被害をもたらすモモせん孔細菌病抵抗性に関与する遺伝子マーカー探索を目的に基礎情報収集を行った。まず、岡山県内で分離したモモせん孔細菌病菌野生株から 2 種の非病原性株を作出し、非病原性株はモモ本葉に病斑を形成しないことを確認した。またモモ本葉接種で抵抗性系統は、感受性系統よりも病斑の程度が低いことを明らかにした。本葉接種後の菌増殖と病斑形成の経時的変化について，感受性系統と抵抗性系統を比較した結果、接種 3 日後の菌増殖はほぼ同じであったが、5-10 日後でわずかに抵抗性系統での増殖抑制が認められた。しかしながら、接種 10 日以降に抵抗性系統の病原菌は再び増殖し，感受性系統とほぼ同じ菌数に到達した。このことから、抵抗性系統は、「菌増殖の抑制」のほかに「感染拡大の抑制」効果も有する可能性が考えられた。今後はこれらの知見を確認するとともに RNA シーケンスによる遺伝子発現解析を進めることで本病に対する抵抗性判定に利用可能な遺伝子マーカーの候補の選定および検証を行う予定である。

（はじめに）

日本産のモモは、国内外で人気の高いフルーツの１つである。しかしながら近年、モモの国内総生産量は減少傾向にある。その要因の一つに「モモせん孔細菌病の多発」が挙げられ、岡山県内でも平成 30 年度から３年連続で 70%以上の圃場で発生した。

モモせん孔細菌病(*Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*) は、農薬のみの防除が難しく、台風や雨の多い年には深刻化しやすい「難防除病害」として知られている（図 1A, B)。このためモモ生産には強風対策や枝病斑のせん除など「耕種的防除」が必須で、生産者にとって大きな労働負担となっている。さらに現在、主要モモ生産地での農薬耐性株の拡大が問題となっており、岡山県内でもストレプトマイシン耐性菌株が分離されている。農薬耐性菌株が全国的に蔓延すれば、モモの生産量は大きく減少する可能性が高い。このような現状改善のため、新しい防除技術の開発や抵抗性品種の育成が求められている。

近年、遺伝子マーカーを活用して果樹の新品種育成が効率化されつつある。モモにおいても様々な遺伝子マーカーが整備されてきているが、現在、日本でモモせん孔細菌病に対して抵抗性を判定する遺伝子マーカーはない。世界的に生産量の多い北米や欧州では、本病の多発・深刻化は日本よりも早く、

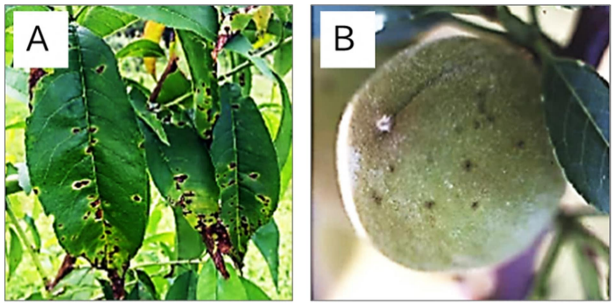


図1. モモせん孔細菌病の症状
A：葉, B：幼果. 写真は岡山県病害虫防除所提供.

抵抗性遺伝子マーカー候補や抵抗性関連の候補遺伝子が報告されているが、研究材料に台木系統や黄桃系統を使っており、必ずしも日本の白桃種に適応するとは言えない (Socquet-Juglard et al., 2013, Fleming et al., 2022)。また国内では、枝に傷を付けて菌を接種する枝接種法が報告されている（Suesada et al., 2013, 2019)。しかしながら、枝接種法は抵抗性判定に 120 日以上を要し、枝接種後の周辺組織から RNA を抽出して遺伝子発現解析を行うことが難しい。そこで我々は、モモ本葉を用いて日本の白桃種に適応する抵抗性遺伝子マーカー探索を目的に基礎情報収集を行った。

（材料および方法）

１）モモ系統およびモモせん孔細菌病菌の接種

本実験で使用したモモは、感受性系統 A、B と

抵抗性系統 C、D を用いた。モモせん孔細菌病菌は、岡山県内で分離された S2 株と S2 にリファンピシリン耐性変異をもつ S2R（以下、野生株）を用いた。菌接種は、シリンジ法（Socquet-Juglard1, et al., 2012）に改変を加えた本葉接種法を用いた。

２）非病原性株の作製

非病原性株の作製には、まず、プラスミドベクターpARO191 に病原性遺伝子である *hrcC* 遺伝子および *hrcV* 遺伝子それぞれの一部を挿入し、大腸菌 S17-1 に導入した（Parke 1990; Siman et al., 1983）。得られた組み換え大腸菌株と野生株をメンブレン上で 48 時間の混合培養し、接合伝達と相同組換えによって野生株の *hrcC* 遺伝子、*hrcV* 遺伝子に挿入変異をもつ *hrcC* 変異株、*hrcV* 変異株を作出した。

３）病原菌接種後の菌増殖モニター

病原菌接種後の菌増殖モニターには、野生株と *hrcC* 変異株それぞれをモモ本葉に接種し、経時的に葉組織を採取し、菌を再分離することで菌濃度を算出した。すなわち、接種部位の面積、葉組織抽出液の希釈度と検出したコロニー数から計算することで１センチ平方あたりに存在すると予想される菌数を算出した。調査は接種日を 0 日として 3-5 日毎に 20 日まで行った。また葉の病斑形成についても経時的に写真撮影を行った。

（結果および考察）

１）非病原性株はモモ本葉に病斑を形成しない

モモせん孔細菌病菌は、他の病原性細菌にも共通するタイプ III 分泌機構をもち、病原性に必須であることが知られている（Timilsina et al., 2020）。そこで、タイプ III 分泌機構の必須遺伝子 *hrcC* と *hrcV* にそれぞれ挿入変異を導入した非病原性株を作製した。これらの非病原性株をモモ本葉に接種すると、野生株では２週間後には病斑が観察されたが、*hrcC* 変異株、*hrcV* 変異株は、どちらも接種 4 週間後も病斑を形成しなかった（図 2A, B）。このことから、本葉接種法で形成される病斑は、野生株の病原性に起因することが確認できた。今後に予定している病斑形成抑制に関与する遺伝子発現解析は、野生株と非病原性株を接種した周辺葉組織の RNA を用いて実施できると考えられる。

２）抵抗性系統は本葉の病斑形成を抑制する

感受性系統 A、B と抵抗性系統 C、D を用いて各濃度に調整した野生株を本葉接種し、病斑を比較した。その結果、接種 14 日目には野生株 5×10^8 CFU / m^2 および 5×10^6 CFU / m^2 の菌濃度の接種部位で感受性系統だけでなく抵抗性系統にも病斑形成が認められた。しかしながら、抵抗性系統の病斑は感受性系統のものよりも病斑の程度が小さいことが分かった（図 3A,B）。このことから、モモ本葉を用いた接種法で抵抗性の判定が可能であることが明らかとなった。

３）抵抗性系統の葉組織における菌増殖

先の実験結果（図 2B）より、病斑形成と病原菌の病原性との関連が確認された。そこで、病原菌増殖と病斑形成との相関について調べた。その結果、感受性系統 A、B の本葉について、野生株の菌濃度 5×10^6 CFU / m^2 を接種した場合、接種 7 日後で病斑は認められないが、葉組織内では接種 3 日後で既に 1000 倍以上の病原菌が増殖していることが分かった。一方、同じ菌濃度の *hrcC* 変異株を接種した場合は緩やかな増殖ではあったが、葉組織内で排除されず維持されていることが明らかとなった（図 3C）。次に、「抵抗性系統は接種後の葉組織内での菌増殖を抑制するか」について感受性系統 A、B と抵抗性系統 C、D の菌増殖を比較した。その結果，接種 3 日後の菌増殖はほぼ同じレベルに増殖したが、5-10 日後でわずかに抵抗性系統 C、D の増殖抑制が認められた。しかしながら接種 10 日以降に病原菌は再び増殖し，感受性系統 A、B とほぼ同じレベルの菌数に

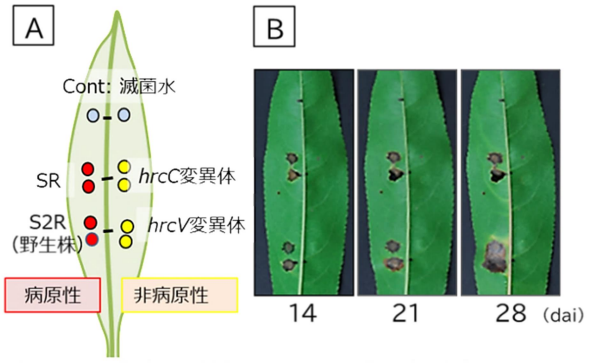


図2．病原性株および非病原性株のモモ本葉接種で形成される病斑
A: 本葉上の接種部位と対照（滅菌水）、接種菌株の接種位置を示した図.
B: 感受性系統A本葉の接種後14，21，28日目の病斑（dai =day after inoculation）.

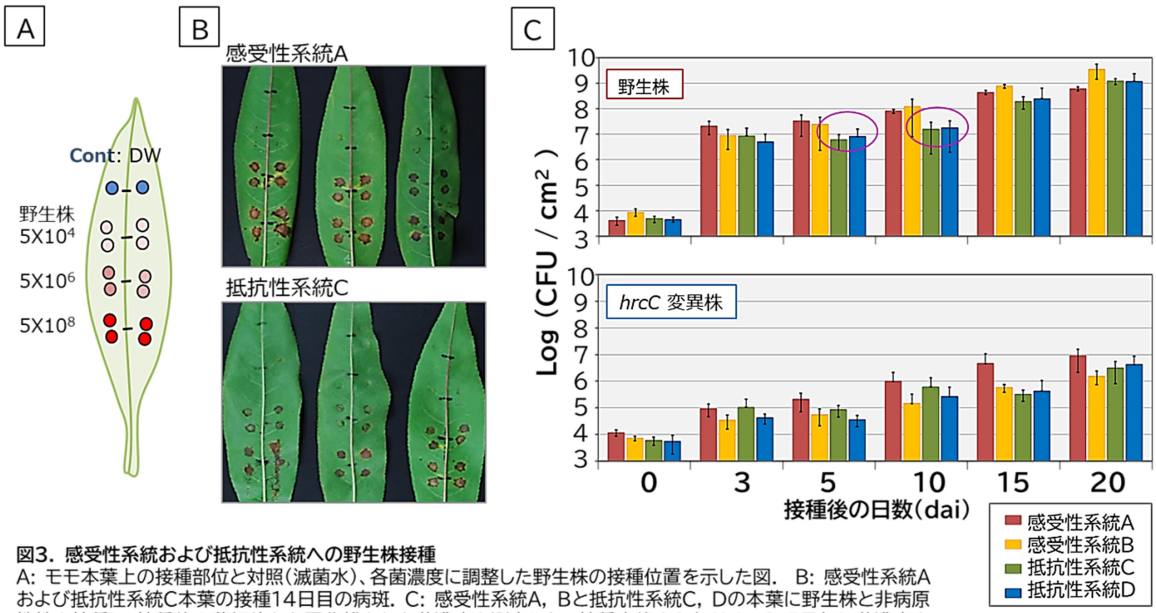


図3. 感受性系統および抵抗性系統への野生株接種
A: モモ本葉上の接種部位と対照(滅菌水)、各菌濃度に調整した野生株の接種位置を示した図. B: 感受性系統Aおよび抵抗性系統C本葉の接種14日目の病斑. C: 感受性系統A, Bと抵抗性系統C, Dの本葉に野生株と非病原性株を接種し, 接種後の葉切片から再分離された菌濃度を測定した. 接種直後を0daiとし, 3-5日毎に菌濃度を測定した (bar=SD, dai=day after inoculation).

到達した。また感受性系統と抵抗性系統に対する非病原性株接種では、ほぼ同程度の増殖がみられた(図3C)。このことから、抵抗性系統は、ある程度は菌増殖を抑制するが、それだけでは抵抗性を説明できないことが判明した。植物病害の感染防御は、初期感染である 1) 病原菌の植物組織侵入から 2) 増殖、3) 感染拡大、と、時間の経過によって異なる防御反応が予想される。モモには現在、全く病徴を示さない強い抵抗性系統がないことから、初期感染の防御に関する抵抗性遺伝子は期待できない。今回の結果から、抵抗性系統は強く菌増殖を抑制していなかったため、3) の「感染拡大の抑制」効果も有する可能性が高いと考えられる。この仮説を検証するため、抵抗性系統と感受性系統との本葉組織内の病原菌の「増殖と感染領域の拡大」を経時的に調査する予定である。そして抵抗性系統の効果的な抑制が認められるタイミングを確定し、接種部位周辺組織の RNA をそれぞれ抽出し、遺伝子発現解析を行いたい。

(今後の展望)

本研究によりモモ本葉を用いた接種法によってモモせん孔細菌病の抵抗性判定が可能であることが分かった。また抵抗性系統では感染拡大の抑制が関与している可能性が示唆された。今後はこれらの知見を確認するとともに RNA シーケンスによる遺伝子発現解析を進めることでモモせん孔細菌病抵抗性の判定に利用可能な発現遺伝子マーカー候補の選定および検証を行う予定である。さらに、現在、岡山県農林水産総合センター農業研究所ジーンバンクで維持されているモモの栽培系統および育種用系統から抵抗性系統の選定を行っている。これら抵抗性系統のゲノムシーケンスデータを用いたゲノムワイド関連解析を行い、抵抗性に関与する遺伝子マーカーの候補選定および検証を行う予定である。そしてモモ育種選抜への速やかな活用を目指したい。

(謝辞)

本研究遂行にあたり、岡山県農林水産総合センター農業研究所果樹研究室よりモモ本葉を御提供いただきました。また公益財団ウエスコ学術振興財団の研究助成を賜りました。これらの御支援に厚く御礼申し上げます。

(引用文献)

Fleming et al. (2022) PLoS One. 17(2): e0264543.
Parke (1990) Gene. 93: 135-137.
Simon et al. (1983) Bio/ Technology. 1:784–791.
Socquet-Juglard et al. (2012) J. Plant Pathol. 94: 1-91-S1. 96
Socquet-Juglard et al. (2013) PLoS One. 8: e54196.
Suesada et al. (2013) J. Japan. Soc. Hort. Sci. 82: 293-300
Suesada et al. (2019) Breed Sci. 69: 11-18.
Timilsina et al. (2020) Nat Rev Microbiol. 18: 415-427.

野菜の在来品種に潜在する機能性の探索およびその強化

岡山県農林水産総合センター生物科学研究所・食農研究グループ

逸見　健司

（概要）健康な長寿社会の実現は強く求められており、食品の生体調節機能に対する関心や期待が高まっている。ヒト体内で有益な生理作用をもつ代謝物や機能特性の研究は進展しており、情報が蓄積されてきている。この一方で、県産野菜の在来品種では、機能的な代謝物や特性はほとんど不明である。本研究では、県産野菜の在来品種を対象として、機能的な代謝物や特性を分析することで、機能的な優位性を見出すことを目的とする。今年度は、鏡野町奥津地区のトウガラシ在来品種である姫とうがらしを対象として、成熟果に特徴的なカロテノイドに着目した分析を実施した。カロテノイドは、一重項酸素の消去能が高いことから、SOAC 法により一重項酸素消去能を一般流通品種と比較した。調べた品種間では、姫とうがらしの SOAC 値は高い傾向を示し、一重項酸素消去能が比較的高い品種であると考えられた。また、品種間比較によって、SOAC 値と果皮色の彩度 C^*とに負の相関関係が見出された。この関係を利用することで、カロテノイド含有野菜の SOAC 値を非破壊で推定する技術へ展開することも期待できる。

1　はじめに

農作物に対する消費者ニーズは、時代とともに変化してきている。食糧難の時代には増産が求められ、生産量がある程度満たされるとおいしさが求められ、飽食ともいわれる近年にあっては、健康な長寿社会への関心から、生体調節機能に期待や関心が移ってきている。

野菜の主な流通品種は、戦後経済の発展に伴って、安定的な大量生産に適した品種へと転換が進んだ。本課題では、生産のしやすさが求められたあまり、見過ごされがちだった在来品種の機能性に着目した。県内の在来品種における機能的な代謝物や特性（ヒト生体への影響を評価する指標）は、ほとんど不明である。

ヒト生体内で有益な生理作用をもつ代謝物の研究は進展しており、情報が蓄積されてきている。カロテノイドには、生体内でビタミンＡに代謝されるもの（プロビタミンＡ）や抗酸化作用を示すものがあり、疾病の予防や改善に寄与することが期待される（Saini et al. 2022)。アルギニンはタンパク質を構成するだけでなく、血流を促進する働きが知られている。アルギニンによって一酸化窒素の産生が高められ、血管が拡張する。タンパク質を構成しないアミノ酸にも、オルニチンのように、肝臓においてアンモニアを解毒するなど、機能性が示されているものもある（Wu 2009; Nie et al. 2018)。

本研究では、県産野菜の在来品種を対象として、機能的な代謝物や特性を分析することで、機能的な優位性を見出すことを目的とする。これによって、①健康や機能性食品に対する消費者ニーズや、②農作物の高付加価値化に対する生産者ニーズへ応えることも期待できる。

今年度は、鏡野町奥津地区のトウガラシ在来品種である姫とうがらしを主な分析対象とした。秋に成熟果（赤姫)、初冬に未熟果（青姫）が収穫され、いずれも食用として出荷されている。このうち、成熟果に特徴的なカロテノイドに着目した分析をここに報告する。

カロテノイドは、抗酸化作用のうち、特に一重項酸素の消去能が高いことが示されている（向井と大内 2013)。そこで、一重項酸素消去能を５種類の一般流通品種（赤品種４種類および黄品種１種類）と品種間比較した。

カボチャの総カロテノイドやルテイン含量、あるいはトマトのリコペン含量と果実の色彩値との相関関係が示されている(Itle and Kabelka 2009; Arias

et al. 2000; D'Souza et al. 1992)。この一方で、一重項酸素消去能と色彩値との関係は未知であるため、これらの相関の程度についても評価した。

2　材料および方法

（1）トウガラシの栽培および果実の調査

トウガラシは「鷹の爪」(サカタのタネ)、「やまと紅」「黄とうがらし」(以上、中原採種場)、「沖縄島とうがらし」(フタバ種苗卸部)、「朝天唐辛子」(野口種苗研究所)および姫とうがらしを用いた(図1)。姫とうがらし以外の品種は、生物科学研究所の隔離圃場において栽培した。姫とうがらしは、NPO 法人てっちりこの2戸の生産契約農家(鏡野町奥津地区)において栽培され、現地にてサンプリングした。

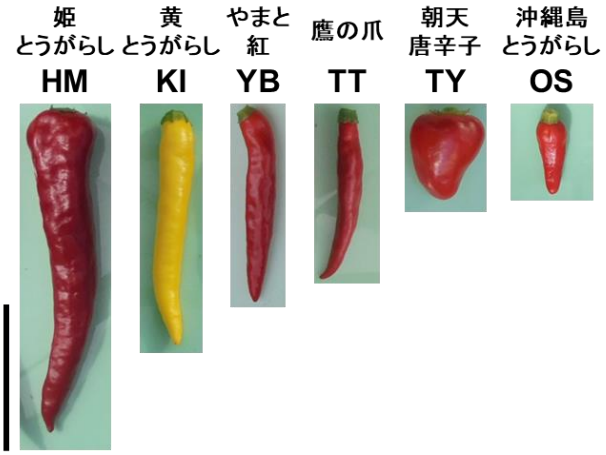


図1　本研究で用いたトウガラシ品種

本研究に用いたトウガラシ品種と本文中で使用する記号を示す。スケールバーは5 cm を示す。

果皮の色彩は、色彩色差計 CR-400（コニカミノルタ）を用いて、明度 L^*、赤と緑方向の色度 a^*および黄と青方向の色度 b^*を測定した。また、色度 a^*および b^*から彩度 C^* (=$[(a^*)^2+(b^*)^2]^{1/2}$) を算出した。

生重量および果皮の色彩を測定後に、果実を液体窒素で凍結させ、凍結粉砕まで-80℃の冷凍庫にて保管した。凍結した状態の果実を破砕装置 Shake Master（バイオメディカルサイエンス）を用いて粉砕し、凍結乾燥機 FDU-1110（東京理化器械）を用いて乾燥させた。乾燥後の微細粉末を以下の分析に供した。

（2）一重項酸素消去能の評価（SOAC 法; Singlet Oxygen Absorption Capacity Assay Method）

赤品種は、4-5 mg の凍結乾燥物あたり 1 ml のクロロホルム/エタノール/重水(50:50:1, v/v/v)で抽出液を調製し、測定に供した。黄品種（黄とうがらし）は赤品種の 10 倍量の凍結乾燥物を供した。向井と大内 (2013) の方法に従って測定した。α-トコフェロールの一重項酸素消去能に対する相対値として評価した。

（3）カロテノイドの TLC 展開

赤品種は、50 mg 程度の凍結乾燥物あたり 500 μl の抽出液でカロテノイドを抽出した。SOAC 法と同じ抽出液を用いた。約 20 μl の抽出液を silica gel 60F254 プレート (Merck) にスポットした。黄品種は赤品種の 10 倍の濃縮液をスポットした。乾燥後に、アセトン/酢酸エチル/トルエン(1:4:95, v/v/v) で展開した。パプリカ抽出物標品（植物油溶液）（東京化学工業）と比較した。

3　結果および考察

（1）果実の大きさ

姫とうがらし（成熟果、赤姫）の果実の長さおよび生重量を他の5品種と比較した（図2）。

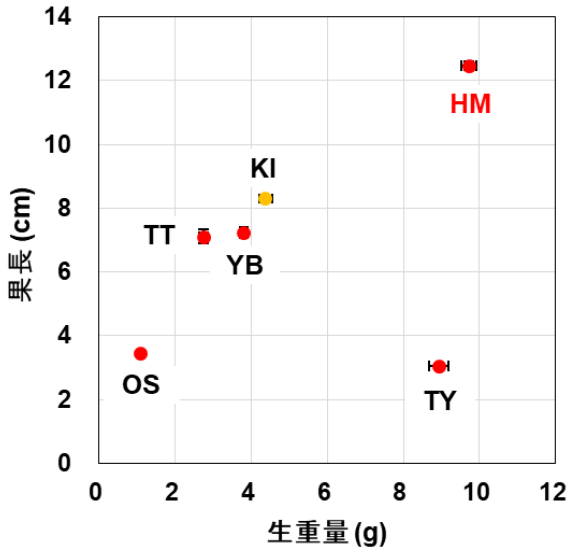


図2　果実の大きさの品種間比較

HM: 姫とうがらし（赤姫）; KI: 黄とうがらし; YB: やまと紅; TT: 鷹の爪; TY: 朝天唐辛子; OS: 沖縄島とうがらし

鷹の爪と比較した場合では、果長は2倍弱、生重量は3倍程度であった。６品種間でも比較的大型の果実であった。朝天唐辛子において果長に対して生重量が比較的重いのは、肉厚であることが影響していると考えられた。

（２）SOAC 値の品種間比較および彩度 C^*との相関関係

姫とうがらし（赤姫）の SOAC 値は、他の５品種と比較すると高い傾向を示した。彩度 C^*値は、低い傾向を示した（図３）。

また、調べた６品種間において SOAC 値と彩度 C^*との間に、負の相関関係が見出された（r=-0.904、図３）。彩度 C^*は数値が大きいほど鮮やかで、小さいほどくすんだ色を示す。したがって、果皮色がくすんでいるほど、SOAC 値が高い傾向があると示唆された。

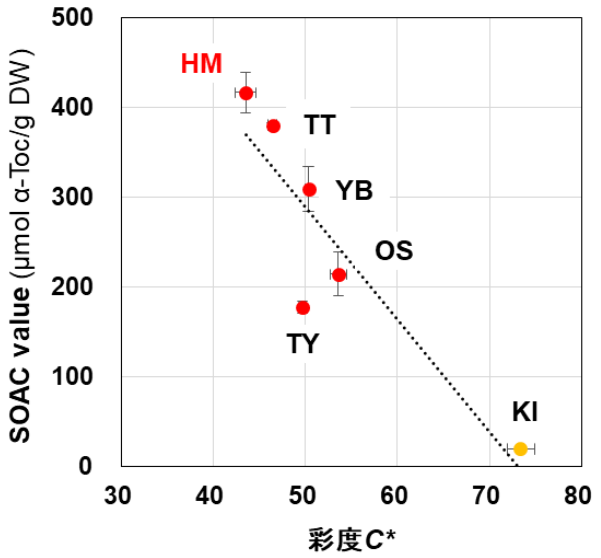


図３　SOAC 値の品種間比較および彩度 C^*との相関関係

SOAC 値と彩度 C^*との相関関係。品種を示す記号は図２と同様。

（３）カロテノイドの TLC 展開

６品種間のうち、朝天唐辛子は、近似直線から最も外れていた（図３）。これがカロテノイドによるものか検討するために、果実の凍結乾燥物からカロテノイドを抽出し、TLC 展開した（図４）。朝天唐辛子では、β-カロテンを示すバンドがほとんど検出されなかったことから、少なくとも β-カロテン組成の低さが影響していると考えられた。

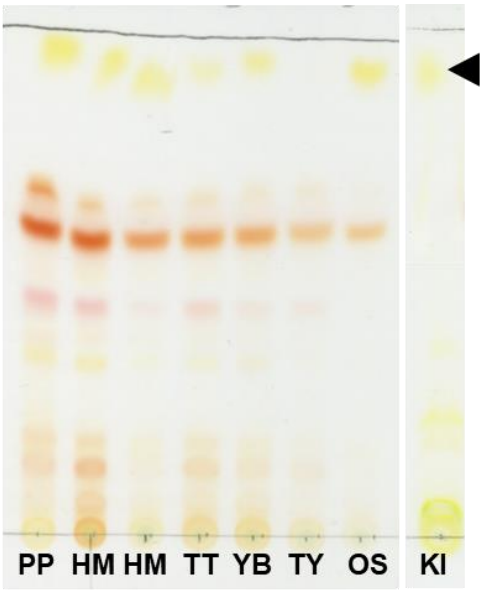


図４　カロテノイドの TLC 展開

PP はパプリカの標品、矢印は β-カロテンを示す。品種を示す記号は図２と同様。

調べた６品種の中では、姫とうがらし（赤姫）の SOAC 値は高い傾向を示し、一重項酸素消去能は比較的高い品種であると考えられた（図３）。品種間比較したことで、SOAC 値と彩度 C^*とに負の相関関係が見出された（図３）。この関係を利用することで、SOAC 値を非破壊で推定する技術へ発展する可能性がある。収穫時期の判断材料など、品質や生産管理に資する技術への応用も考えられる。また、トウガラシ以外のカロテノイド含有野菜への展開も期待できる。

４　謝辞

本研究をご支援いただい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。姫とうがらしの生産管理者である NPO 法人てっちりこのご理解のもと、生産者様よりサンプルを提供いただきました。現地でのサンプリング作業および果実の調査は、ノートルダム清心女子大学・吉金研究室と共同で実施しました。ここに厚くお礼申し上げます。

５　引用文献

Arias R et al. (2000) J. Agric. Food Chem. 48: 1697-1702.
D’ Souza MC et al. (1992) HortScience 27: 465-466.
Itle RA and Kabelka EA (2009) HortScience 44: 633-637.
Nie C et al. (2018) Int. J. Mol. Sci. 19: 954-969.
Saini RK et al. (2022) Antioxidants 11: 795-828.
Wu G (2009) Amino Acids 37: 1-17.
向井和男、大内綾 (2013) オレオサイエンス 13: 371-378.

鳥類 KIAA0319L 遺伝子の発現調節機構の解析

就実大学　薬学部

工藤　季之

ヒト KIAA0319L 遺伝子は，2016 年にアデノ随伴ウイルス受容体（AAVR）として同定されたが，それ以前には，失読症（Dyslexia）の原因遺伝子の 1 つとして知られていた．KIAA0319L 遺伝子はユビキタスに発現しているものの，神経細胞や精細胞で重要な役割をもつ．また，同遺伝子は Neurochondrin（NCDN）遺伝子と逆方向に近接し，転写調節領域を共有している．本研究では，5'RACE により，ニワトリの KIAA0319L 遺伝子および NCDN 遺伝子の転写開始点を同定し，ニワトリ雄肝がん細胞株 LMH を用いてプロモーター活性を解析した．chKIAA0319L 遺伝子の主要な転写開始点は，データベースのエキソン 1 のより上流に存在する別のエキソン 1 として同定された．chNCDN 遺伝子の転写開始点は，データベースのエキソン 1 とほぼ同じであった．これらの遺伝子の転写調節領域は完全に重なっており，同じ CpG アイランドに含まれていた．典型的な TATA ボックスは認められず，プロモーター活性の解析により，chKIAA0319L 遺伝子では 2 ヶ所の CCAAT ボックスが転写に関与することが示唆された．また，chNCDN 遺伝子についても同等のプロモーター活性が確認された．

1. はじめに

アデノ随伴ウイルス（AAV）は，非病原性でありながら，様々な細胞に対して高い感染性を示すことから，外来遺伝子導入のためのウイルスベクターとしての研究が進んでいる．ヒトにおいては遺伝子治療薬としての開発も進んでおり，すでに日本国内でも医薬品として認可されているものもある．ウイルスの感染には，細胞がもつ受容体タンパク質が重要な役割を果たしているが，AAV においても複数の受容体タンパク質が知られている．その中でも，2016 年に S. Pillay らによって報告された KIAA0319L は多くの AAV の感染に必須のタンパク質と考えられており，AAV 受容体とも呼ばれている [1]．

KIAA0319L 遺伝子は，読字障害（dyslexia）の原因遺伝子の一つとしても知られており [2]，発生期における中枢神経系の構築に重要な役割を果たしていると考えられている [3]．また，遺伝子破壊による研究から，精子形成においても重要な役割をもつことが判明している [4]．しかしながら，その遺伝子の発現は，広く他の器官の細胞にもおよび，タンパク質の細胞内局在から，ゴルジ体を含む細胞内タンパク質輸送系に関与していることが示唆されている [5]．従って，AAV はこの輸送系を利用することで，細胞への感染を成し遂げていると考えられる．

さらに，KIAA0319L 遺伝子は，ゲノムにおいて Neurochodrin（NCDN）遺伝子と逆方向で近接していることが知られている．NCDN は，神経伸長，代謝型グルタミン酸受容体 5（mGluR5）シグナル伝達，およびシナプス可塑性にとって重要な細胞質神経タンパク質と考えられている [6]．マウスにおいて，神経組織での NCDN 欠損が抑うつ様行動，空間学習障害，およびてんかん発作を引き起こすことが報告されている [7]．

そこで本研究では，ニワトリを用いてこの KIAA0319L 遺伝子の発現調節機構を解析することで，AAV 感染機構の一端を解明することを目的とした．

2. 材料と方法

（1）細胞の培養

ニワトリ雄肝がん細胞株（leghorn male hepatoma, LMH）は，Waymouth 培地（Thermo Fisher Scientific）に非働化したウシ胎児血清（FBS, Hyclone）10％および抗生物質（最終濃度：50 units/mL ペニシリン，50 μg/mL ストレプトマイシン，Nacalai Tesque）を添加したものを用い，37°C,

表1．プロモーター領域の調製に使用したプライマー等

name	sequence
chKIAA0319L_F1	CTCGGCGGCCAAGCTTAAACGGACCTCCACACAAG
promoter_5	CTCGGCGGCCAAGCTCTGGGGCCTCTGGGAGTGGC
promoter_4	CTCGGCGGCCAAGCTCAGCCCGGCGGCGCCTGCCT
promoter_3N	CTCGGCGGCCAAGCTTCCACCCGAACGCCGCCACC
promoter_2	CTCGGCGGCCAAGCTGACCCCGCCCGGGGCTGCGG
promoter_1	CTCGGCGGCCAAGCTAGCCGGGGCAGCCGGCAGCG
chKIAA0319L_R1	CCGGATTGCCAAGCTCAGGGCCGCATGGTGCTCCG
chKIAA0319L_R2	CCGGATTGCCAAGCTCTTCTGCACGAGGGACAAAC
chKIAA0319L_R3	CCGGATTGCCAAGCTCGGCACGGGGAGGGGCCTCGCGCTG
promoter_mut1	CTCGGCGGCCAAGCTTCCACCCGAACGCCGCCACCGCGGCC CCGCAACGCCTCTCGGAAAATCAG
promoter_mut1-1	CTCTCGGAAAATCAGAGTGCTCGCACCGCGCCCCC
promoter_mut1c	CTGATTTTCCGAGAGGCGTTGCGGGGCCGCGGTGGCGGCGT TCGGGTGGAAGCTTGGCCGCCGAG
promoter_mut2	GCACCGCGCCCCCAGAAAATCGGCCGCCTCCTTGTTGCGT
promoter_mut2-1	CTGGGGGCGCGGTGCGAGCACTCTG
chNCDN_F1	CTCGGCGGCCAAGCTCAGTATCGTGGCAGAAATGGAGCAC
chNCDN_R1	CCGGATTGCCAAGCTGGCGACCGGCGCGGCTCCACGCGGA

5%CO_2下で培養した．培養にはブタ腱由来タイプⅠコラーゲンでコートされたプラスチックディッシュ（AGC Techno Glass）等を使用し，3 日ごとに0.05%トリプシン/0.53mM EDTA（Nacalai Tesque）により培養容器の底面から剥がし，4 分の 1 希釈して植え継いだ．

（2）5’RACE による転写開始点の決定

ニワトリ成体の肝臓，卵巣，精巣の全 RNA は ISOGEN（Nippon Gene）を用いて調製した．LMH の全 RNA は，NucleoSpin® RNA Plus（TaKaRa Bio）を用いて調製した．

5’RACE は，SMARTer® RACE 5’/3’ Kit（TaKaRa Bio）を用いて行い，プロトコルに従って操作した．全 RNA 1 μg を鋳型とし，cDNA 溶液を作製し，PCR により増幅した．chKIAA0319L 遺伝子に対しては，chKIAA0319L_R2（5’-GATTACGCCAAGCTTGGAGCACAAGGCACACAGGCAGGCGCAC-3’）プライマーを，chNCDN 遺伝子に対しては，chNCDN_R1（5’-GATTACGCCAAGCTTAAGCCGATCGCGTCGAAGATCTGGCGCC-3’）プライマーおよび chNCDN_R2（5’-GATTACGCCAAGCTTAGGGCTGCCAGCTGCTCGCTGTCGTTCC-3’）プライマーを使用した．

増幅した cDNA 断片は，In-Fusion® Snap Assembly Master Mix（TaKaRa Bio）を用いてプラスミドベクターにサブクローニングした後，塩基配列を確認した．

（3）プロモーター領域の調製

chKIAA0319L 遺伝子および chNCDN 遺伝子のプロモーター領域は，ニワトリゲノム DNA を鋳型として，PCR により増幅し，プラスミドベクターに導入した．PCR には，PrimeSTAR® GXL DNA Polymerase（TaKaRa Bio）および Tks Gflex™ DNA Polymerase（TaKaRa Bio）を使用し，プロトコルに従って増幅した．プラスミドベクターは，ホタル改変ルシフェラーゼベクターpGL4.10[luc2]を HindIII で切断したものを使用し，各プライマー（表１）で増幅した DNA 断片を，In-Fusion® Snap Assembly Master Mix（TaKaRa Bio）を用いてプラスミドベクターに導入した後，塩基配列を確認した．

変異型プロモーターの作製は，変異導入部位を含むプライマー等を用い，DNA 断片を PCR 等により調製して，In-Fusion® Snap Assembly Master Mix（TaKaRa Bio）でプラスミドベクターに導入した後，塩基配列を確認した．

（4）塩基配列の解析

塩基配列の確認は，BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit（Thermo Fisher Scientific）および 3100-Avant Genetic Analyzer（Applied Biosystems）を用いて行った．

（5）細胞への遺伝子導入

LMH は，遺伝子導入時に 70%コンフレントになるようにコラーゲンⅠコート 12 well プレート（AGC Techno Glass）に継代した．1 ウエルあたり，無血清培地 100 μL，プロモーターベクター 1 μg，内部対照ベクターとして pGL4.74[hRluc/TK] 0.1 μg，遺伝子導入試薬 Avalanche-everyday（EZ Biosystems）2.2 μL を加えて混合し，15 分間静置した後，各ウエルに添加した．4 時間後に培地を交換し，そのまま約 48 時間培養した後，培地を取り除き，Passive Lysis Buffer（Promega）を 250 μL 加えて細胞を溶解した．回収した試料は−80°Cで凍結した．

使用したプラスミド DNA は，プラスミド DNA 精製キット（NucleoBond Xtra Midi，TaKaRa Bio）を使用して調製した．

（6）ルシフェラーゼ活性測定とタンパク質定量

凍結した試料は，融解した後に撹拌し，20,000×g で 5 分間遠心した．この上清をルシフェラーゼ活

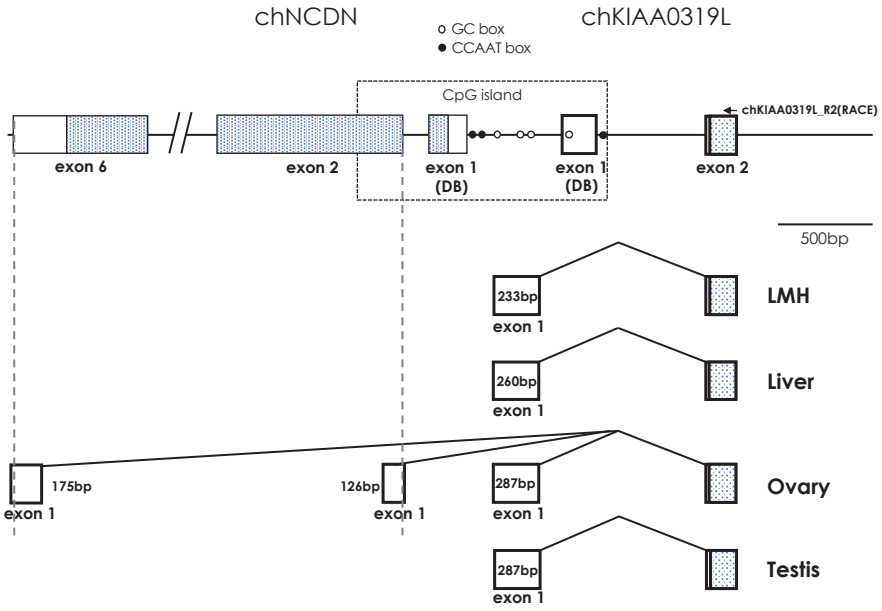


図 1．5’ RACE による chKIAA0319L 遺伝子の転写開始点の決定

性測定とタンパク質定量に供した．ルシフェラーゼ活性測定は，Dual-Luciferase® Reporter Assay System (Promega) を基質とし，Sirius Liminometer（Berthord Detection Systems）で行った．タンパク質定量は，Protein Assay（BIO RAD）を用いて行った．

3. 結果

（1）chKIAA0319L 遺伝子および chNCDN 遺伝子の転写開始点

chKIAA0319L 遺伝子の転写開始点を，ニワトリ成体の肝臓，卵巣，精巣および LMH の RNA を用いて，5’RACE により解析した（図 1）．いずれから得られた cDNA 断片も，データベースに登録されているエキソン 1 ではなく，より上流の配列をエキソン 1 として含んでいた．卵巣では，これらに共通するエキソン 1 だけでなく，さらに上流の配列を含んでいる cDNA 断片もいくつか認められた．

chNCDN 遺伝子の転写開始点を，LMH の RNA を用いて，5’RACE により解析したところ，得られた cDNA 断片は，データベースに登録されているエキソン 1 とほぼ同じ領域の配列を含んでいた（図 2）．

（2）chKIAA0319L 遺伝子および chNCDN 遺伝子のプロモーター活性

5’RACE で得られた共通のエキソン 1 と転写開始点を基準とし，chKIAA0319L 遺伝子のエキソン 1 と 5’上流配列を含むレポーターベクターを作製し，そのプロモーター活性を確認した（図 3）．約 1.3 kb の 5’上流領域を含むプロモーターの活性を基準とした場合，約 0.8 kb，約 0.6 kb と欠失させても，その活性に大きな変化はなく，約 0.2 kb まで欠失させると，わずかな活性の上昇が認められた（図 4）．さらに，約 50 bp にまで欠失させると，プロモーター活性は著しく低下した．エキソン 1 を除いて，転写開始点から約 1.3 kb の領域のみを含むプロモーターの活性を確認したところ，エキソン 1 を含む場合と大きな違いは認められなかった．また，データベースに登録されているエキソン 1 まで含む領域のプロモーター活性を確認したところ，極めて低い活性しか示さなかった．

5’上流配列の約 0.2 kb と約 50 bp の間には，2 つの CCAAT ボックス配列が存在する．そこで，これらの配列に変異を導入したプロモーターを作製し，その活性を確認した（図 5）．転写開始点に近い部位に変異を導入したもの，遠い部位に変異を導入したもの，いずれも野生型に比べるとわずかに活性の低下が認

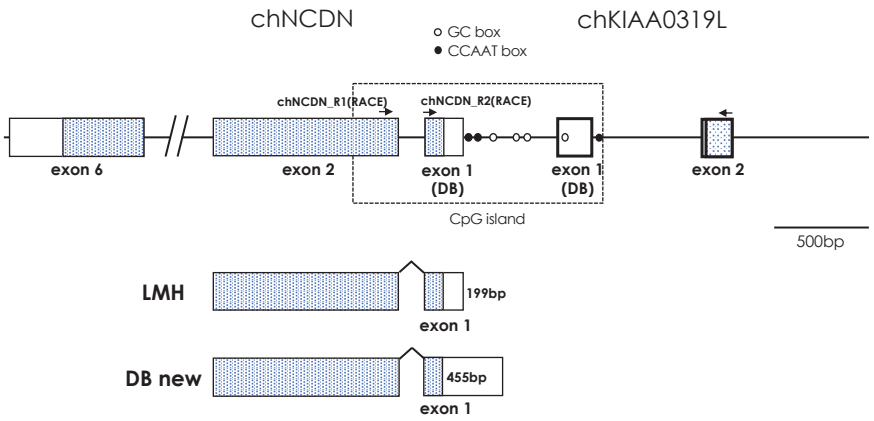


図 2．5’ RACE による chNCDN 遺伝子の転写開始点の決定

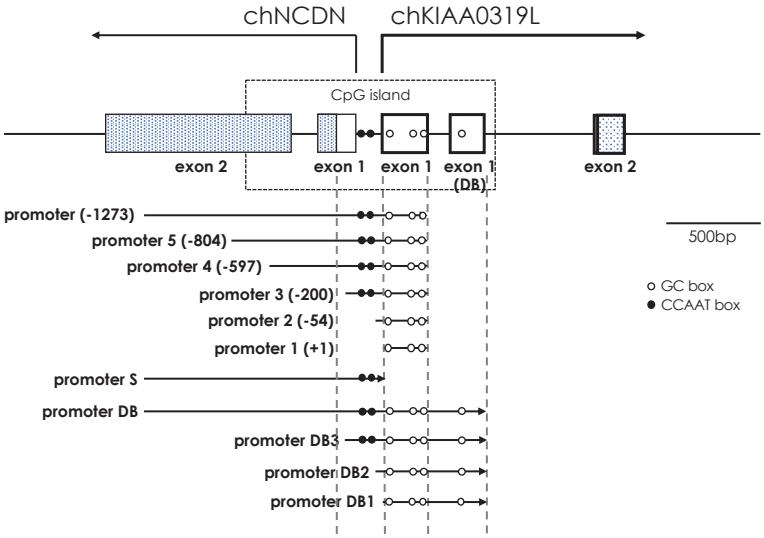


図 3. chKIAA0319L 遺伝子のプロモーター領域と解析した配列

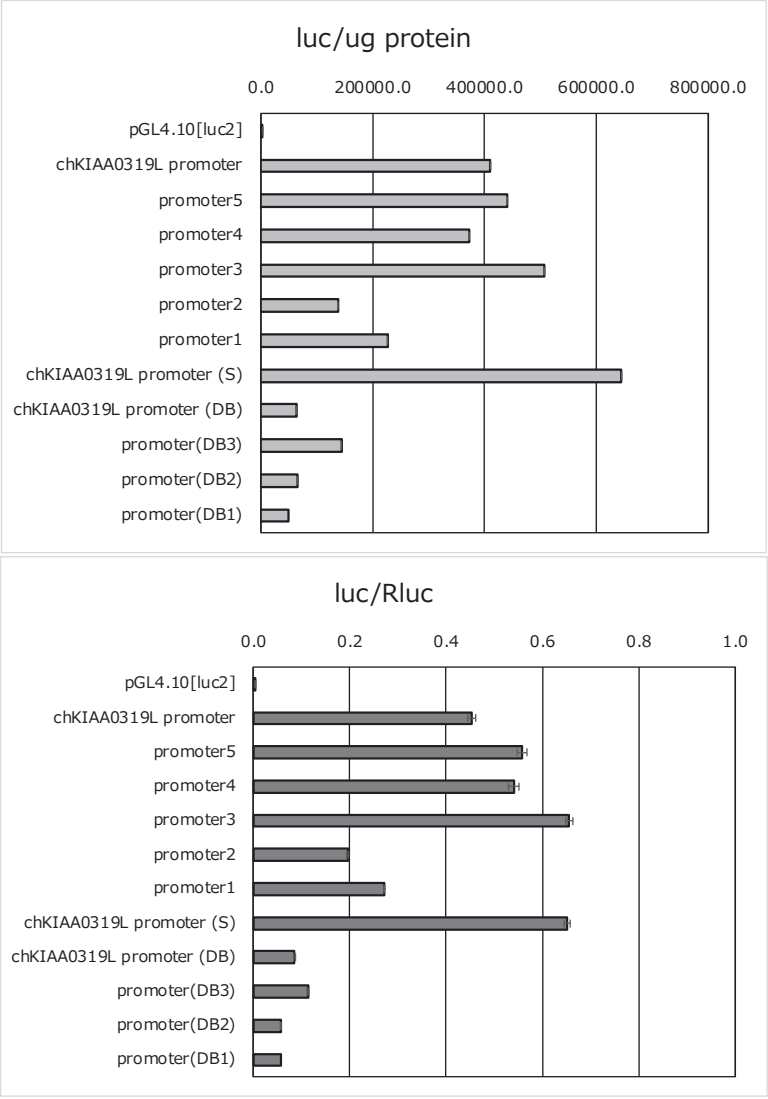


図 4. chKIAA0319L 遺伝子のプロモーター活性

められ，両方に変異を導入したものでは，これらよりやや大きな活性の低下が認められた（図 6）．

chNCDN 遺伝子のエキソン 1 の 5'UTR とその 5'上流配列約 1.4 kb を含む領域のプロモーター活性を確認したところ，chKIAA0319L 遺伝子よりも高い活性が認められた（図 5，6）．

4．考察

chKIAA0319L 遺伝子の転写開始点を確認したところ，データベースに登録されているエキソンとは明らかに異なるエキソン 1 から転写されていることがわかった．それらのプロモーター活性を比較したところ，今回新たに同定した転写開始点と比べて，データベースに登録されている転写開始点からの活性は著しく低かった．この結果から，少なくとも LMH では今回新たに同定した転写開始点が機能しているものと考えられる．また，卵巣においては，さらにいくつかの転写開始点が存在することが示唆された．今回同定された転写開始点は，必ずしも正確に 1 ヶ所に集約されているわけではない．このプロモーター領域には TATA ボックス配列が含まれておらず，一般に TATA レスプロモーターでは転写開始点が揺らぐことはよく知られた現象である．それに対して，chNCDN 遺伝子の転写開始点は，データベースに登録されている転写開始点とほぼ同じ場所が同定された．ただ，やはり TATA レスプロモーターとなっているため，転写開始点の揺らぎが認められた．

chKIAA0319L 遺伝子と chNCDN 遺伝子は，逆向きにかなり近接した状態で存在している．今回，これらのエキソン 1 の間は，わずか 150 bp 程度であり，そのプロモーター領域が互いの遺伝子領域と重なっていることが判明した．この 150 bp の領域には 2 つの CCAAT ボックス配列があり，2 つの遺伝子の発現に関与している可能性が考えられる．今回の chKIAA0319L 遺伝子の解析では，この領域がプロモーター活性に重要な働きをも

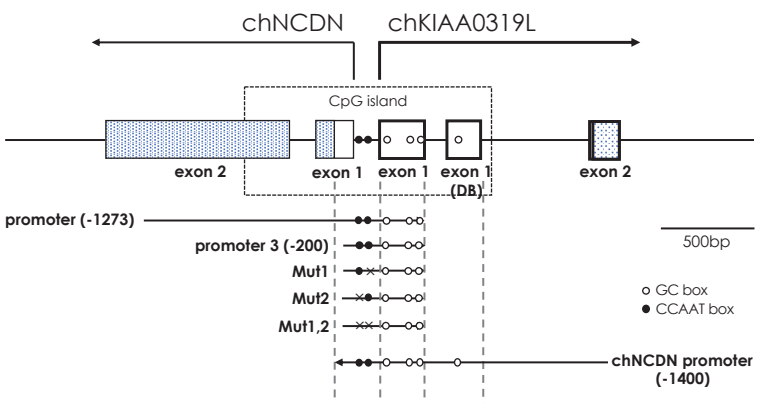


図 5. chKIAA0319L 遺伝子の変異プロモーターと chNCDN 遺伝子のプロモーター

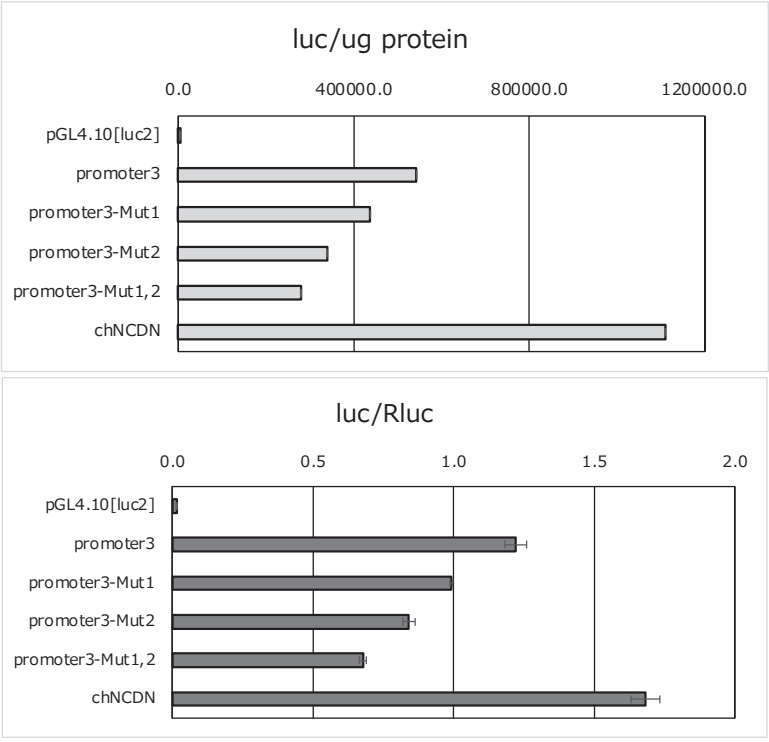


図 6. chKIAA0319L 遺伝子の変異プロモーターと chNCDN 遺伝子のプロモーターの活性

っており，その一部が CCAAT ボックス配列によることが示唆された．chNCDN 遺伝子に関しても，chKIAA0319L 遺伝子のエキソン 1 を含む逆向きの領域が，プロモーターとしての活性をもつことが示された．

さらに，chKIAA0319L 遺伝子と chNCDN 遺伝子のエキソン 1 を含む領域は，CpG アイランドとなっており，TATA レスプロモーターと合わせて，典型的なハウスキーピング遺伝子のプロモーター構造を示している．これらの遺伝子は，広範囲な細胞で発現が認められているもののその発現量は低く，神経系の細胞で高い発現が知られている．そのため，CpG アイランドのメチル化状態などが，これらの遺伝子の発現量に関与している可能性が考えられる．

本研究において，chKIAA0319L 遺伝子および chNCDN 遺伝子の発現調節機構の一部が明らかになった．これらの機構をさらに詳細に解析することにより， AAV 感染機構の一端が明らかになるものと考えられる．

謝辞

本研究にあたり，公益財団法人ウエスコ学術振興財団による研究助成を賜りましたことを，深く感謝申し上げます．また，本研究を行うにあたりご協力頂きました近藤紘太氏，小嶋真奈美氏に，心から感謝いたします．

引用文献

1) Pillay S, Meyer NL, Puschnik AS, et al. An essential receptor for adeno-associated virus infection [published correction appears in Nature. 2016 Nov 17; 539(7629):456]. Nature. 2016; 530(7588): 108-112.

2) Couto JM, Gomez L, Wigg K, et al. The KIAA0319-like (KIAA0319L) gene on chromosome 1p34 as a candidate for reading disabilities. J Neurogenet. 2008; 22(4):295-313.

3) Platt MP, Adler WT, Mehlhorn AJ, et al. Embryonic disruption of the candidate dyslexia susceptibility gene homolog Kiaa0319-like results in neuronal migration disorders. Neuroscience. 2013; 248:585-593.

4) Guidi LG, Holloway ZG, Arnoult C, et al. AU040320 deficiency leads to disruption of acrosome biogenesis and infertility in homozygous mutant mice. Sci Rep. 2018; 8(1):10379. Published 2018 Jul 10.

5) Zengel J, Carette JE. Structural and cellular biology of adeno-associated virus attachment and entry. Adv Virus Res. 2020;106:39-84.
6) Wang H, Nong Y, Bazan F, Greengard P, Flajolet M. Norbin: A promising central nervous system regulator. Commun Integr Biol. 2010;3(6):487-490.
7) Fatima A, Hoeber J, Schuster J, et al. Monoallelic and bi-allelic variants in NCDN cause neurodevelopmental delay, intellectual disability, and epilepsy [published correction appears in Am J Hum Genet. 2022 Mar 3;109(3):542-546]. Am J Hum Genet. 2021; 108(4):739-748.

岡山県市区町村におけるコロナ禍での災害対策の現状

就実大学　薬学部

吉井 圭佑

内閣府により防災基本計画が作成され、それを基に各都道府県や市区町村は地域防災計画を作成している。「平成 30 年 7 月豪雨」及び新型コロナウイルスを経たことによる岡山県及び各市区町村の防災計画がどのように変化・対応しているかを調査した。調査は岡山県及び各市区町村のホームページで公開されている地域防災計画、特に風水害対策を比較検討した。その結果、風水害対策全 192 項目のうち岡山県と岡山市では計 6 項目、岡山県と倉敷市では計 33 項目の相違が認められた。岡山市は岡山県の防災計画の内容に沿って内容を策定しているが、倉敷市は岡山県が対応する項目や、「平成 30 年 7 月豪雨」の被災経験があったからこそ具体的な記載があったのではないかと思われる。今後、岡山県内にある他の市区町村における調査を進めると共に、各地区の住民に求められ、なおかつ実感しやすい防災対策に繋げて行く必要がある。

背景と目的

内閣府の中央防災会議により防災基本計画が作成され、それを基に各都道府県や市区町村は地域防災計画を作成しており、これらの防災計画は各ホームページで開示され、誰でも閲覧することが出来る[1)]。

2018 年 7 月、岡山県は集中的な豪雨に見舞われ、特に倉敷市真備町では甚大な被害を受けた（以下、「平成 30 年 7 月豪雨」）。

内閣府では定期的に中央防災会議を開催し、防災に関する重要事項を検討し、防災基本計画の見直しを行っている。2020 年に入り、新型コロナウイルスのパンデミックにより、各都道府県は新型コロナウイルスに対応した防災計画や災害時対応が求められた[2)]。各都道府県が作成した防災計画を基に、各市区町村は防災計画の見直しを行っているが、山間・沿岸部などの自然特性や人口・交通・産業・構造物などの社会特性によって各市区町村の防災計画の内容が様々である。さらに、地域単位での防災計画は新型コロナウイルス感染拡大や被災経験の有無に応じて防災計画の見直しが必要である。

一方で、各都道府県が作成した防災計画と各市区町村が作成した防災計画を比較し、差異を調査し重点的に教育すべき内容について不明確である。

そこで、「平成 30 年 7 月豪雨」及びコロナ禍を経た岡山県の防災対策の変化が各市区町村でどのように対応しているのかを調査し、地域特性に応じた防災計画の充実及び今後必要な防災計画立案の一助とするために、岡山県の各市区町村における地域防災計画の相違点を明らかにすることを目的とした。

方法

2022 年 11 月から 2023 年 2 月の間、岡山県、岡山市、倉敷市のホームページに公開されている地域防災計画の内容について調査・検討を行った。岡山県が公開している地域防災計画として、風水害・地震・津波及び原子力対策があるが、今回は風水害対策（予防対策計画・応急対策計画・復旧復興計画）を調査した。得られた各地域防災計画中の風水害対策に関して、表計算ソフト Excel を用いて項目ごとに整理し、岡山県の地域防災計画と比較して、岡山市及び倉敷市で不足あるいは追加されている項目を列挙した。項目名の異なるもの、不足項目及び追加項目について、地域防災計画の本文を確認し、記載内容の違いについて、その概要と詳細な内容について、それらの共通点及び相違点について確認した。

結果と考察

風水害対策の全 192 項目のうち、岡山県と岡山市の相違が認められた項目は計 6 項目であり、岡山県

表１　風水害における岡山県と岡山市の相違点

A. 風水害**予防計画**; **2項目／全76項目**

項目名	岡山県	岡山市
第2編　災害予防計画 第3章　**自然災害**予防対策 第5節　**雨水出水**対策	雨水の量が下水道管の排水能力を上回り、マンホールなどから水があふれる危険性を未然に防止し、被害の軽減を図るための対策が明記されている。	**記載なし**
第2編　災害予防計画 第4章　**事故災害**予防対策 第12節　**火災**予防対策	**記載なし**	消防署、出張所等の適正配置及び消防車両・装備の強化等、実態に即した体制確保、防火対象物の査察の強化・防火思想の高揚・啓発・指導について記載されている。

B. 風水害**応急対策計画**; **3項目／全106項目**

項目名	岡山県	岡山市
第3編　災害応急対策計画 第4章　**罹災者の救助保護** 第３節　**救助**	災害により生命、身体が危険となった者を緊急に救助し、負傷者については、医療機関に収容する必要があるので、その方法について記載されている。	**記載なし**
第3編　災害応急対策計画 第20章　**災害弔慰金**及び**災害障害見舞**金並びに**援護資金等の支給・貸付け**	**記載なし**	災害弔慰金及び災害障害見舞金並びに援護資金等の支給・貸付けの対象者、負担区分について記載されている。
第3編　**災害**応急対策計画 第21章 **区の応急対策**	**記載なし**	区が災害発生時にすべき応急対策の実施内容、被災者の救助保護、避難及び避難所の設置、医療・救護対策、応急復旧活動、緊急輸送について記載されている。

C. 風水害**復旧・復興計画**; **1項目／全10項目**

項目名	岡山県	岡山市
第4編　災害復旧・復興計画 第７節　**復旧・復興推進本部**	復旧・復興推進本部の設置理由、復旧・復興推進本部の役割及び災害対策本部との関係、復旧・復興推進本部の本部長や副本部長など、組織の内容について記載されている。	**記載なし**

と岡山市の地域防災計画は概ね類似していた。従って、岡山市は岡山県の内容に沿って地域防災計画を策定していると考えられる。しかし、火災予防、弔慰金・見舞金及び区として行う応急対策等の岡山市として実施する項目については岡山県での項目がなく、また、岡山県としての組織体制や方針に沿って行う事項については岡山市に記載がない等の相違が認められた(表１)。

一方、倉敷市は岡山市と比較して、より多くの岡山県との相違が認められた。岡山県と倉敷市の相違が認められた項目は計 33 項目であった(表２)。雪・強風被害、農林関係被害及び地盤沈下等の自然災害対策や、大規模火災、道路・交通・航空機事故等に伴う対策は、岡山県が対応するものとして、倉敷市としての記載はなかったと思われる。また、岡山県には記載がなく、倉敷市には記載があった項目については、「平成 30 年 7 月豪雨」の被災経験があったからこそ、風水害に伴う二次的あるいは、複合的な火災や危険物による災害について具体的な対策及び被災地への医療や公衆衛生に関する援助や復興支援について、倉敷市には具体的な記載がなされていたと考えられる。

以上により、岡山県の各市区町村は、県として定めた地域防災計画を基本として、地域の被災経験も踏まえて改訂されていたと考えられる。今後、岡山県内にある他の市区町村における調査を進めると共に、各地区の住民に求められ、なおかつ実感しやすい防災対策に繋げて行く必要がある。

参考文献

1)内閣府　防災情報ページ　防災基本計画 https://www.bousai.go.jp/taisaku/keikaku/kihon.html

2)内閣府 防災情報ページ 中央防災会議 第 40 回議事次第(1)防災基本計画等の修正について https://www.bousai.go.jp/kaigirep/chuobou/40/index.html

表 2-1　風水害における岡山県と倉敷市の相違点

A. 風水害**予防計画**; **16項目／全76項目**

項目名	岡山県	倉敷市
第2編　災害予防計画 第1章　**防災業務施設・設備等の整備** 第7　**その他の施設・設備等**	ブルドーザーやダンプカー等の**土木機械や防災活動上必要な公共施設等及び指定避難所に指定されている施設の点検**、また**防災機能を有する道の駅を地域の防災拠点として位置付け、その機能強化**についても明記されている。	**記載なし**
第2編　災害予防計画 第3章　**自然災害**予防対策 第２節　**造林**対策	**森林の有する国土の保全及び水源かん養機能等の公益的機能**を高度に発揮させるための内容が記載されている。	**記載なし**
第2編　災害予防計画 第3章　**自然災害**予防対策 第８節　**都市防災**対策	**強風による屋根瓦の脱落・飛散防止を含む落下物の防止対策**について明記されている。	**記載なし**
第2編　災害予防計画 第3章　**自然災害**予防対策 第9節　**地盤沈下**対策	地盤沈下の主要原因と考えられる**地下水の採取の規制**、**既に沈下して被害の発生のおそれのある地域の防災対策等**必要な措置について記載されている。	**記載なし**
第2編　風水害等対策 第1章　災害予防計画　第4節　災害予防対策 第4　**火災予防**対策	**記載なし**	火災予防査察、危険物の貯蔵・取扱いに関する指導、建築物の審査、**消防用設備等に関する指導、火気使用に関する制限・届出・検査、森林火災予防、住宅防火対策**について記載されている。
第2編　災害予防計画 第4章　**事故災害**予防対策 第4節　**大規模な火災**予防対策	**大規模な火災の発生の防止**や大規模な火災から**県民を守るための災害に強いまちづくり**の推進、**消防施設・設備等の整備**について記載されている。	**記載なし**
第2編　災害予防計画 第4章　**事故災害**予防対策 第6節　**高層建築物・地下街等の保安**対策	**高層建築物**及び不特定多数の者が出入りする**百貨店等特定防火対象物の地階、並びに地下街における災害の発生及び拡大を未然に防止**するための対策が記載されている。	**記載なし**
第2編　災害予防計画 第4章　**事故災害**予防対策 第7節　**危険物等保安**対策	危険物、毒物劇物等化学薬品類による災害の発生及び拡大を防止するための保安意識の高揚、取締りの強化、自主保安体制の強化について記載されている。	**危険物、毒物劇物等化学薬品類**による災害の発生及び拡大を防止するための保安意識の高揚、取締りの強化、自主保安体制の強化について**詳細な記載なし**
第2編　災害予防計画 第4章　**事故災害**予防対策 第8節　**高圧ガス保安**対策	高圧ガスによる災害の発生及び拡大を防止するための保安意識の高揚、保安の強化、自主保安体制の強化について記載されている。	**高圧ガス**による災害の発生及び拡大を防止するための保安意識の高揚、保安の強化、自主保安体制の強化について**詳細な記載なし**
第2編　災害予防計画 第4章　**事故災害**予防対策 第9節　**火薬類保安**対策	火薬類による災害の発生及び拡大を防止するための保安意識の高揚、取締りの強化、自主保安体制の強化について記載されている。	**火薬類**による災害の発生及び拡大を防止するための保安意識の高揚、取締りの強化、自主保安体制の強化について**詳細な記載なし**
第2編　災害予防計画 第4章　**事故災害**予防対策 第10節　**有害ガス等災害予防**対策	事業活動中の事故等により排出された、ばい煙若しくは特定物質、ダイオキシン類又は有害ガスにより、人の健康又は生活環境に著しい被害が発生することのないよう予防措置を行っており、その対策について明記されている。	事業活動中の事故等により排出された、**ばい煙若しくは特定物質、ダイオキシン類又は有害ガス**により、人の健康又は生活環境に著しい被害が発生することのないよう**予防措置について詳細な記載なし**
第2編　風水害等対策 第1章　災害予防計画　第4節　災害予防対策 第8　**危険物災害等特殊災害**予防対策 4 **陸上交通**災害予防	**記載なし**	**事故多発地域対策、交通安全普及対策**について記載されている。
第2編　風水害等対策 第1章　災害予防計画　第4節　災害予防対策 第8　**危険物災害等特殊災害**予防対策 5　**流出油**災害予防	**記載なし**	重油等が河川、用排水路等へ流出すると農産物、水産動植物に悪影響を及ぼすので、**重油等が流出しないための対策が流出油災害予防に記載**されている。
第2編　災害予防計画 第1章　災害予防計画 第3節 **要配慮者等の安全確保** 第2　**帰宅困難者**対策	**公共交通機関が運行を停止した場合**、自力で帰宅することが困難な**帰宅困難者**が発生するため、その帰宅困難者対策の基本原則や**安否確認手段、都市の安全確保対策**について記載されている。	**記載なし**
第2編　災害予防計画 第8章　**防災対策の整備・推進** 第1節　防災に関する**調査研究**の推進	地域防災計画の効率的推進を図るため、防災に関する調査研究が行われており、**危険地域の実態把握、危険地域の被害想定、防災研究成果の活用**について記載されている。	**記載なし**
第2編　風水害等対策 第1章　災害予防計画 第5節　**防災対策の整備，推進** 第５　**応急体制の整備**関係	**記載なし**	災害により**庁舎が損壊等の被害を受けた場合の代替本部室の確保について、防災中枢機能を果たす施設・設備の充実及び災害に対する安全性の確保，総合的な防災機能を有する拠点・街区の整備，推進**について記載されている。

表 2-2　風水害における岡山県と倉敷市の相違点

B. 風水害**応急対策計画**; **14項目／全106項目**

項目名	岡山県	倉敷市
第3編　災害応急対策計画 第4章　**罹災者の救助保護** 第6節　**被服・寝具・その他生活必需品**の給与又は貸与	日常生活に欠くことができない被服・寝具・その他生活必需品を喪失又はき損し、直ちに入手することができない状態にある者に対して給与、又は貸与し、一時的に被災者の生活の安定を図る必要があるので、その方法について記載されている	日常生活に欠くことができない**被服・寝具・その他生活必需品**を喪失又はき損し、直ちに入手することができない状態にある者に対して**給与、又は貸与し、一時的に被災者の生活の安定**を図る必要があるが、その方法について**詳細な記載なし**
第2章　災害応急対策計画 第３節 **罹災者救護及び市民保護** 第9　**医療，助産，公衆衛生**活動	**災害により医療、助産等の機関の機能が停止**し、被災地の住民が医療又は助産の途を失った場合は、**応急的に医療を施し、また、助産に関する処置を確保し、その保護を図る**必要があるが**医療，助産，公衆衛生活動について詳細な記載なし**	災害により医療、助産等の機関の機能が停止し、被災地の住民が医療又は助産の途を失った場合は、応急的に医療を施し、また、助産に関する処置を確保し、その保護を図る必要があるので、その方法について記載されている。
第3編　災害応急対策計画 第5章　**社会秩序の維持**	災害発生時には、陸上又は海上の災害現場の混乱、人心の動揺等により不測の事案の発生が予想されるので、**災害現場及び避難地域を中心とした犯罪の予防、警戒及び社会秩序の維持**について記載されている。	**記載なし**
第2章　災害応急対策計画 第5節　**災害の拡大，二次災害，複合災害の防止及び応急復旧活動**	**記載なし**	**災害の拡大防止と二次災害の防止活動、ライフライン及び公共施設の応急復旧、複合災害発生時の体制**について記載されている。
第3編　災害応急対策計画 第9章　**防災営農**	災害による農林関係被害の防除活動を的確に実施するため、**農地、農業用施設、農作物、家畜、林産物に対してなすべき措置**が記載されている。	**記載なし**
第3編　災害応急対策計画 第11章　**流木の防止**	貯木場に所在する木材は、洪水、高潮等によりいったん流出するとその危害は極めて大きくなるので、その安全を確保するための**貯木場における措置及び流木に対する措置**について記載されている。	**記載なし**
第3編　災害応急対策計画 第12章　**雪害**対策	**雪崩災害の防止活動、道路交通の確保、除雪体制の整備、雪崩災害発生後の活動**について記載されている。	**記載なし**
第3編　災害応急対策計画 第13章　事故災害応急対策 第1節　**道路**災害対策	**道路構造物の被災等**により、多数の死傷者等が発生した場合の応急措置について記載されている。	**記載なし**
第3編　災害応急対策計画 第13章　事故災害応急対策 第2節　**鉄道**災害対策	**鉄軌道における列車の衝突等**、多数の死傷者の発生する事故災害に対する応急措置及び交通の確保等について記載されている。	**記載なし**
第3編　災害応急対策計画 第13章　事故災害応急対策 第4節　**航空機事故**災害対策	**航空機の墜落炎上等**による災害から乗客、地域住民等を守るための措置について記載されている。	**記載なし**
第3編　災害応急対策計画 第13章　事故災害応急対策 第5節　**大規模な火災**対策	**大規模な火災の発生、又は火災発生時の形態や状況等から大規模化が予測される場合の消防活動**について記載されている	**記載なし**
第3編　災害応急対策計画 第13章　事故災害応急対策 第6節　**林野火災**対策	**林野火災**が発生した場合の応急活動及び活動体制の確立、消火・避難活動、交通の確保・緊急輸送、救助・救急活動について記載されている。	**記載なし**
第3編　災害応急対策計画 第13章　事故災害応急対策 第7節　**地下街等におけるガス災害**対策	地下街等においてガス等による災害から不特定多数の者及び地域住民を守るための措置が記載されている。	**地下街等においてガス等による災害**から不特定多数の者及び地域住民を守るための措置について**詳細な記載なし**
第2章　災害応急対策計画 第14節　**救援物資等**の受入れ，集積，搬送，配分計画	**記載なし**	**物資の把握・情報提供、受入体制、輸送方法、配付方法**について記載されている。

C. 風水害の**復旧・復興計画**; **3項目／全10項目**

項目名	岡山県	倉敷市
第3章　災害復旧・復興計画 第２節 **迅速な原状復旧**の進め方	**記載なし**	**被災施設の復旧、災害廃棄物の処理**について記載されている。
第3章　災害復旧・復興計画 第3節　**計画的復興**の進め方	**記載なし**	**復興計画の作成、市民の安全と環境保全等に配慮した防災まちづくり**について記載されている。
第4編　災害復旧・復興計画 第6節　**災害復旧事業に必要な資金**及びその他の	**農林漁業災害資金、中小企業復興資金、住宅復興資金、更生資金、県税**についての負担軽減措置、被災者生活再建支援金	**記載なし**

抗肺線維化分子としての脂質メディエーター分解酵素の発生工学的研究

川崎医科大学薬理学教室

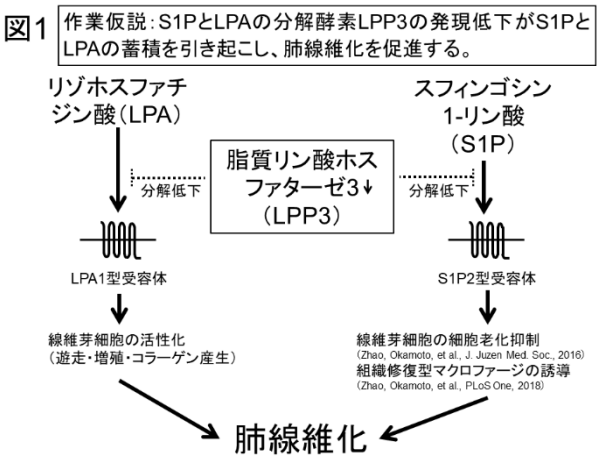
岡本安雄

（概要）

2022 年度の研究では、「線維化肺では、スフィンゴシン 1-リン酸（S1P）とリゾホスファチジン酸（LPA）の分解酵素脂質リン酸ホスファターゼ 3（LPP3）の発現低下が S1P と LPA の蓄積を引き起こし、線維化を促進する。」という仮説を検証するために、肺で LPP3 を高発現するマウスおよび組換えアデノ随伴ウイルスゼロタイプ 6（AAV6）.2FF の作製を行った。Rosa26 遺伝子座に CAG プロモーター制御下で、Cre 組換え酵素により loxP 配列に挟まれた発現阻止配列を除去すると LPP3 を高発現するように遺伝子操作した LPP3 ノックインマウスを 2021 年度に作製したが、Cre マウスと交配後、細胞特異的な LPP3 の発現が認められなかったため、2022 年度にドナーベクターの再構築を行い、上記のマウスを再度作製した。また、肺に指向性の高い AAV6 を用いて、肺で LPP3 を高発現する組換え AAV6.2FF を作製した。今後、2022 年度に作製した LPP3 を高発現するマウスあるいは組換え AAV6.2FF を用いて、肺線維化の発症・進展に関与する肺胞上皮細胞あるいはマクロファージ特異的な LPP3 タンパク発現の促進が肺線維化を抑制するか否かを明らかにし、上記の作業仮説を検証する予定である。

【背景・目的】

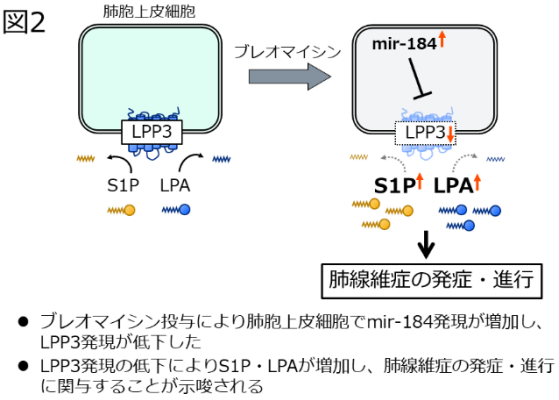
線維化（症）はアンメット・メディカル・ニーズの臨床経過をたどる予後不良の疾患で、新たな治療法の開発は急務である。スフィンゴシン 1-リン酸（S1P）とリゾホスファチジン酸（LPA）は特異的 G タンパク質共役型受容体を介して多彩な生理作用を発揮する重要な脂質メディエーターである（1）。私たちは抗がん薬ブレオマイシン反復投与肺線維症モデルマウスの肺を用いて DNA マイクロアレイ解析を行った（2）。S1P および LPA の受容体や代謝酵素の遺伝子変動を検討したところ、S1P および LPA の分解活性を持つ脂質リン酸ホスファターゼ 3（LPP3）の遺伝子発現が生理食塩水投与群と比較して、ブレオマイシン投与群の肺で 2 分の 1 以下に低下していた。LPP3 は 6 回膜貫通型のエクト型脂質リン酸ホスファターゼで、触媒部位は細胞膜外表面に露出し、細胞外 S1P および LPA を分解し、S1P および LPA による情報伝達を減衰させる機能を持つと考えられている（1）。以上の結果から、「線維化肺では、S1P と LPA の分解酵素 LPP3 の発現低下が S1P と LPA の蓄積を引き起こし、線維化を促進する。」という作業仮説を立てた（図 1）。2021 年度は、肺を構成するどの細



胞で LPP3 の発現が低下しているかを検討し、ブレオマイシン投与群の肺から単離した肺胞上皮細胞で、LPP3 の mRNA 発現が低下していることを明らかにした。複数のマイクロ RNA が LPP3 の発現抑制に働いていることが報告されているが、mir-184 の発現がブレオマイシン投与群の肺および肺胞上皮細胞で増加していた。実際に A549 細胞を miR-184 で処理したところ、LPP3 の発現が抑制された。以上の結果から、ブレオマイシン投与により肺胞上皮細胞で mir-184 発現が増加し、LPP3 発現が低下したことにより LPA および S1P が増加し、肺線維症の発症・進行に関与することが示唆された（図 2）。さらに、Rosa26 遺伝子座に CAG プロモーター制御下で、Cre 組換え

酵素により loxP 配列に挟まれた発現阻止配列を除去すると LPP3 を高発現するように遺伝子操作した LPP3 ノックイン（LPP3-KI）マウスの作製を試みたが、Cre マウスと交配後、細胞特異的な LPP3 の発現が認められなかった。2022 年度は、LPP3 遺伝子発現を促進する方法が肺線維症に有効な治療法となるか否かを明らかにする目的のため、肺で LPP3 を高発現するマウスおよびを組換えアデノ随伴ウイルスゼロタイプ 6（AAV6）.2FF の作製を行った。。

図2



【方法】

（1）ドナーベクターの再構築

分子生物学的手法を用いて、ROSA26 遺伝子座に導入する約 3 kb の条件付き LPP3 発現フラグメントを作製した（図 3）。ドナーベクターの再構築は、川崎医科大学組換え DNA 実験安全委員会（20-37、 20-38）の承認を受け、川崎医科大学組換え DNA 安全管理規定に基づいて研究を実施した。

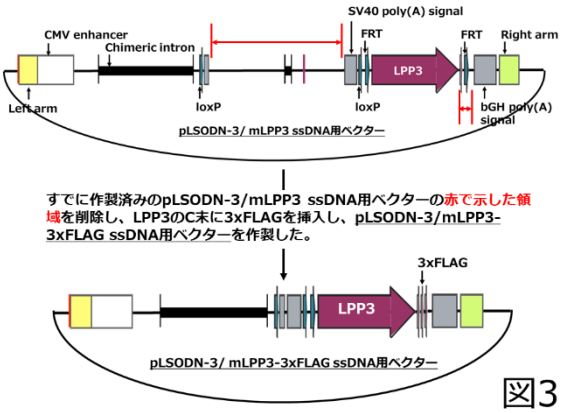


図3

（2）LPP3 ノックインマウスの作出

CRISPR/Cas9 を用いたノックイン技術で作製した条件付き LPP3 発現フラグメントを導入し、作出した（2022 年度文部科学省新学術領域先端モデル動物支援プラットフォーム・モデル動物作製支援）。LPP3 ノックインマウスの作出は川崎医科大学動物実験委員会（22-67）および川崎医科大学組換え DNA 実験安全委員会（20-37、 20-38）の承認を受け、川崎医科大学動物実験指針、川崎医科大学組換え DNA 安全管理規定に基づいて研究を実施した。

（3）遺伝子・タンパク質発現解析

マウスの尾あるいは単離マウス胎仔線維芽細胞をから DNA あるいは細胞ライセ―トを調製し、PCR を用いた genotyping、qPCR を用いた遺伝子発現、ウエスタンブロット法を用いたタンパク質発現解析を行った。解析は川崎医科大学動物実験委員会（22-67）および川崎医科大学組換え DNA 実験安全委員会（20-37、 20-38）の承認を受け、川崎医科大学動物実験指針、川崎医科大学組換え DNA 安全管理規定に基づいて研究を実施した。

（4）アデノ随伴ウイルスゼロタイプ 6（AAV6）.2FF の作製

肺に指向性の高いアデノ随伴ウイルスゼロタイプ 6（AAV6）を用いた肺で LPP3 を高発現するマウスを作製するために、肺で LPP3 を高発現する AAV6.2FF を作製した。組換え AAV6.2FF の作製は川崎医科大学組換え DNA 実験安全委員会（22-11）の承認を受け、川崎医科大学組換え DNA 安全管理規定に基づいて研究を実施した。

【結果】

（1）LPP3 ノックインマウスの作出

Rosa26 遺伝子座に CAG プロモーター制御下で、Cre 組換え酵素により loxP 配列に挟まれた発現阻止配列を除去すると LPP3 を高発現するように遺伝子操作した LPP3 ノックイン（LPP3-KI）マウスを 2021 年度に作製したが、Cre マウスと交配後、Cre-loxP システムによる細胞特異的な LPP3 の発現が認められなかった。用いた ROSA26 遺伝子座に導入する条件付き LPP3 発現フラグメントは約 5 kb と大きいた

め、発現阻止配列内の不必要と考えられる箇所を削除し、約 3 kb の条件付き LPP3 発現フラグメントを作製した（図 3）。CRISPR/Cas9 を用いたノックイン技術を用いて作製した条件付き LPP3 発現フラグメントを ROSA26 遺伝子座に導入し、マウスを作出した。2022 年 11 月 10 日、2022 年 11 月 16 日および 202 年 12 月 23 日の 3 回施行し、計 17 匹が生まれ、そのうち 11 匹が生存した。生存したマウスの尾からゲノム DNA を抽出し、PCR を用いて条件付き LPP3 発現フラグメントが挿入されているかどうか検討した。2022 年 12 月 5 日に生まれた雄マウス 1 匹のみが挿入部位の N 末および C 末のアウトサイドプライマーを用いた PCR で予想されるバンドが増幅されたことから、このマウスを候補マウスとした（図 4,5）。

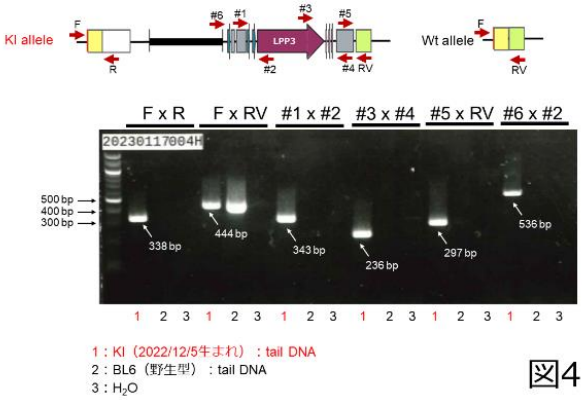


図4

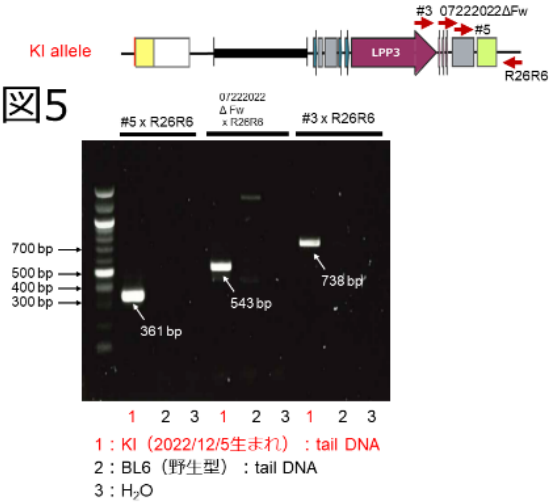


図5

また、作出された候補マウスと BL/6 マウスを交配し、得られた LPP3-KI マウスから胎仔線維芽細胞を単離し、Cre 組み換え酵素を導入することにより Cre-loxP システムによる発現阻止配列の除去の確認（図 6）および LPP3 タンパク発現を確認した（図 7）。

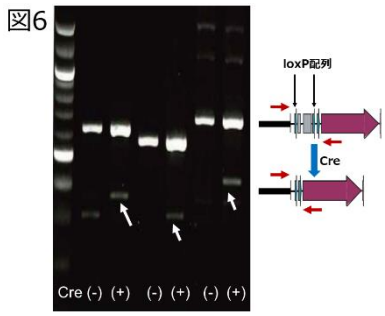


図6

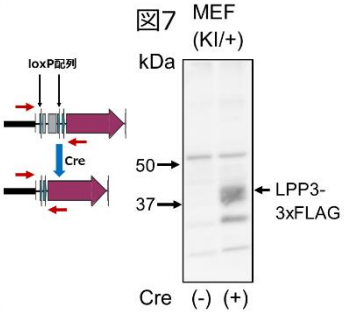


図7

（2）組換え AAV6.2FF の作製

マウス LPP3（C 末端に 3xFLAG タッグを付加）、IRES および EGFP 遺伝子を pAAV-MCS プラスミドに組みこみ、AAV ベクターを作製した。AAV には各種ゼロタイプが存在し、それぞれ異なる臓器親和性を示す。市販の AAV ベクターのなかでは AAV ゼロタイプ 6 の肺親和性が比較的高いと報告されている(3)。さらに 3 箇所の変異によりさらに肺親和性が高くなるとの報告から、AAV6 ベクターに 3 箇所の変異を導入した pRC6.2FF(F129L、Y445F、Y731F)を作製した(4)。pAAV-LPP3、pAAV-EGFP(コントロール)のいずれかを pHelper、 pRC6.2FF プラスミドとともに 293 細胞に共トランスフェクションし、72 時間後、細胞を回収し、組換え AAV6.2FF を調製した。使用時まで－80℃で保存した。

【考察】

今回作製した細胞特異的に LPP3 を高発現するマウスあるいは経気管的に組換え AAV6.2FF を投与したマウスを用いて、LPP3 遺伝子発現を促進する方法が肺線維症に有効な治療法となるか否かを明らかにする予定である。

【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。

【参考文献】

1. Lysophospholipid mediators in health and disease. Kano K、 Aoki J、 Hla T. Annu. Rev. Pathol. 17: 459-483 (2022)

2. Growth differentiation factor 15 facilitates lung fibrosis by activating macrophages and fibroblasts. Takenouchi Y、Kitakaze K、Tsuboi K、Okamoto Y. Exp. Cell Res. 391: 112020 (2020)
3. Transduction efficiencies of novel AAV vectors in mouse airway epithelium in vivo and human ciliated airway epithelium in vitro.Limberis MP, Vandenberghe LH, Zhang L, Pickles RJ, Wilson JM. Mol. Ther.17: 294-301 (2009)
4. A lung tropic AAV vector improves survival in a mouse model of surfactant B deficiency. Kang MH, van Lieshout LP, Xu L, Domm JM, Vadivel A, Renesme L, Mühlfeld C, Hurskainen M, Mižíková I, Pei Y, van Vloten JP, Thomas SP, Milazzo C, Cyr-Depauw C, Whitsett JA, Nogee LM, Wootton SK, Thébaud B. Nat. Commun. 11: 3929 (2020)

海馬神経回路のシナプス形成を制御する分子機構の解明

川崎医科大学　解剖学教室

林　周一

生後期の脳では、シナプスの形成と成熟、余分なシナプスの削除が起こることによって、機能的な神経回路がつくられる。この一連の過程の制御には、接着因子や分泌性因子だけでなく、神経活動が重要であることが示唆されてきたが、各因子がどの過程を制御しているのかについては不明な点が多い。そこで本研究では、神経活動に必要なシナプス小胞放出を制御する Synaptosomal Associated Protein 25 (SNAP25)に着目し、マウスにおいて *Snap25* 遺伝子を欠損させた際の海馬のシナプス発生への影響を調べた。海馬の歯状回は、大脳皮質の嗅内野からの入力を受け、アンモン角 CA3 へ苔状線維を通して強力な出力をする。この苔状線維は特徴的な巨大シナプス終末を形成し、強力な出力を CA3 に伝える。苔状線維の CA3 への投射は記憶形成に重要であることが示唆されているが、そのシナプス終末形成の制御機構については未解明である。本研究は、海馬の歯状回特異的に *Snap25* 遺伝子を欠損させたマウスを用いて、海馬の苔状線維のシナプス終末形成機構を明らかにし、記憶形成の形態的・分子的基盤を解明することを目指した。

【背景】

海馬は記憶の形成や空間学習に重要である。自閉症や若年で発症する統合失調症患者では、前頭葉や海馬などで神経回路の接続に異常が疑われており、このことは、海馬の神経回路の発生異常が青年期以降の脳機能に大きく影響することを示唆する [1]。したがって、海馬の神経回路の形成制御、特にシナプスの形成や成熟の制御の分子機構を解明することは、正常な記憶の形成や消失の仕組みだけでなく、統合失調症などの精神疾患の発症機序を解明するためにも重要である。

海馬の歯状回は大脳皮質の嗅内野からの入力を受け、アンモン角 CA3 へ苔状線維を通して強力な出力をする。この強力な出力を生み出すのは、苔状線維が CA3 につくる巨大シナプス終末であり、各巨大終末が CA3 ニューロンの樹状突起上から伸びるスパイン様突起（棘状瘤）を包み込むという特徴的な形態をもつ。この苔状線維-CA3 巨大シナプス終末が記憶形成に重要であることが示唆されているが、その形態基盤となるシナプス終末の形成機構については未解明のままである。そこで本研究は、*Snap25* 条件欠損マウスを用いて、海馬の苔状線維のシナプス終末形成機構を明らかにし、記憶形成の形態的・分子的基盤を解明することを目的とした。

【材料と方法】

本研究は、川崎医科大学組換え DNA 実験安全委員会(承認番号：川換 19-19)および動物実験委員会(承認番号：19-065,19-066, 21-047, 21-048)の承認を得て実施した。

マウス

C57BL/6 と Rbp4-Cre マウス(GENSAT)、Snap25flox マウス(New Mexico 大学 Michael Wilson 研究室作製)、Cre 依存的に蛍光タンパク質 tdTomato を発現するレポーターマウス(Ai14, Jackson 研究所)をかけ合わせた Rbp4-Cre;Ai14;Snap25flox [2] を使用した。プラグを確認した日を妊娠 0.5 日(E0.5)とした。

子宮内穿孔法

吸入麻酔下の妊娠 15.5 日目のマウスから子宮を取りだし、胎仔の片側の脳室に、CAG プロモーター下で蛍光タンパク質 Enhanced Yellow Fluorescent Protein (EYFP)を発現するプラスミドと 0.1% Fast green の混合液を～1 μl 注入した。ピンセット型 5 mm 径電極(NEPA GENE,CUY650P5)と遺伝子導入装置（Super Electroporator NEPA21 TypeⅡ, NEPA GENE）

を用いて電圧 35V、パルスオン 50 msec、パルスオフ 950 msec、回数 5 回の条件で電気パルスを与えた。

脳標本の作製と観察

生後 3 週のマウスに対して、深麻酔下で 4%パラホルムアルデヒド液による灌流固定を行い、取りだした脳を、4℃ の同固定液の中で一晩固定した。固定した脳をスライサー（VT1200S, Leica）で 80 μm の厚さにスライスし、CA3 に EYFP が発現しているスライスを選択して免疫染色を行った。核は Hoechst(1:1000, Invitrogen)で染色した。共焦点レーザー顕微鏡（LSM-700,CarlZeiss)を用いて画像を取得し、ImageJ software (https://imagej.nih.gov/ij/index.html)を用いて画像の解析を行った。

シナプス終末の 3 次元微細形態解析

Serial Block-Face Scanning Electron Microscopy（SBF-SEM)解析は、自治医科大学の大野伸彦教授（生理学研究所客員教授）との共同研究により、生理学研究所で行った。手法は、以前に著者がスイスの Graham Knott 博士らと開発した光－電子相関顕微鏡法を一部改変して用いた[3,4]。3－4 か月齢のマウスを 4%パラホルムアルデヒド/2.5%グルタルアルデヒドを含むリン酸バッファーの固定液で灌流固定し、さらに同液中で一晩固定を行った。脳を 80 μm の厚さにスライスし、メスを用いて海馬周辺の組織を切り出した。tdTomato 陽性の苔状線維の蛍光像と周囲の血管の明視野像を取得後に、組織を樹脂包埋した。血管の走行を指標にして、蛍光像を取得した領域を SBF-SEM 上で探し、30 nm 間隔で連続電子顕微鏡像を取得した。画像は Image J のプラグインである TrackEM2 を用いて解析し、3 次元モデルは Blender（https://blender.jp/）を用いて解析した。

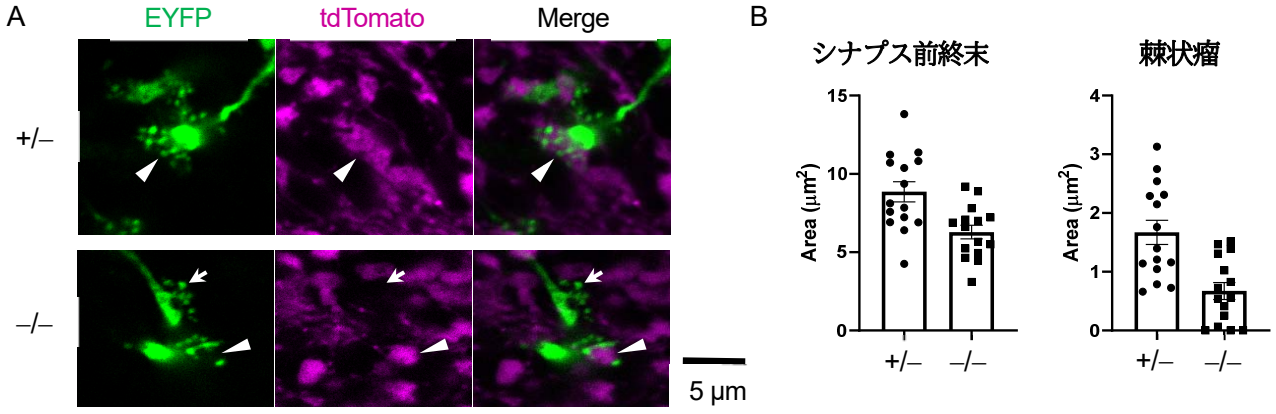
海馬のスライス培養

生後 5-7 日のマウスの脳から海馬を取り出し、ティシューチョッパーで 300-400 μm の厚さのスライスを作製した。スライスをミリセルカルチャーインサート（Millipore, PICM01250）上で 2－3 週間培養し、抗 VGluT1 抗体（1：2000, Millipore）で免疫染色を行った。

【結果と考察】

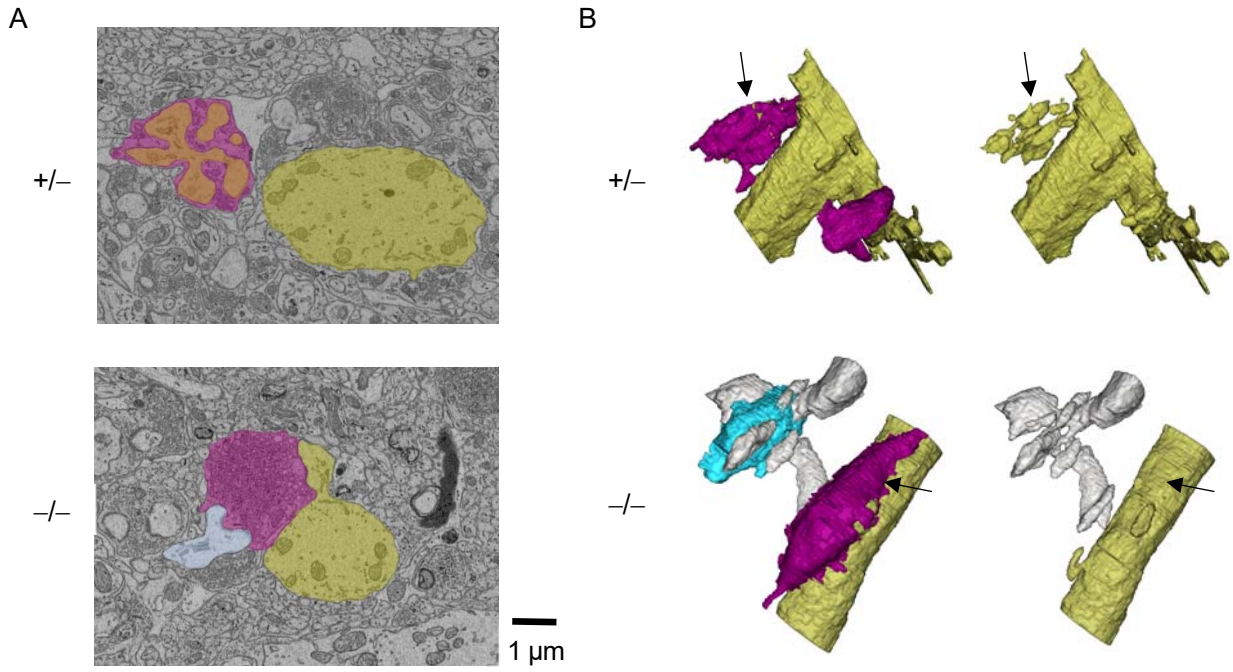
1. *Snap25* 条件欠損マウスにおける苔状線維のシナプス終末発生の解析

Rbp4-Cre の発現により海馬特異的に *Snap25* 遺伝子を欠損したマウス（以下、*Snap25* 条件欠損マウス）の胎生 15.5 日の胎仔の海馬 CA3 領域に対して、子宮内穿孔法を用いて EYFP を導入した。このマウスでは、歯状回から CA3 領域に伸びる苔状線維が tdTomato で標識され、CA3 ニューロンの一部が EYFP



（図 1）生後 21 日の *Snap25* 条件欠損マウスにおける苔状線維シナプス終末の形態

A. *Snap25* 条件欠損マウスのヘテロ接合型（+/–）（上段）とホモ接合型（–/–）（下段）のシナプス終末。B. ヘテロ接合型とホモ接合型におけるシナプス前終末（左）と棘状瘤（右）の断面面積の比較。どちらも *Snap25* 欠損マウスでは減少した。



（図２）成獣 *Snap25* 条件欠損マウスにおける苔状線維のシナプス終末の 3 次元形態解析

A. *Snap25* 条件欠損マウスのヘテロ接合型（+/–）のシナプス終末（上段）とホモ接合型（–/–）のシナプス終末（下段）の SBF-SEM 画像の例。B. ヘテロ接合型（+/–）（上段）とホモ接合型（–/–）（下段）のシナプス終末の 3 次元再構築モデル。左はシナプス前終末とシナプス後終末、右はシナプス後終末のみを示す。マゼンタと水色はシナプス前終末を、黄色と灰色はシナプス後終末および樹状突起を示す。

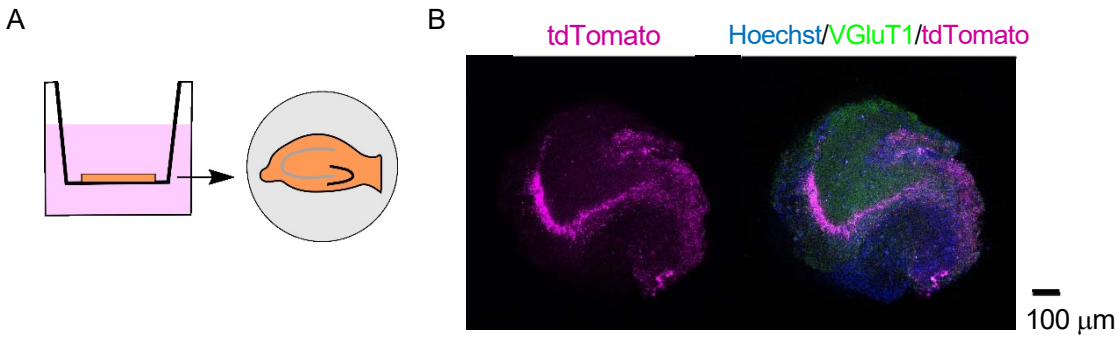
で標識される。*Snap25* 条件欠損マウスのヘテロ接合型では、EYFP で標識された棘状瘤が苔状線維のシナプス前終末に包まれるように存在する様子が観察された（図 1 A 上段）。一方、ホモ接合型では、*Snap25* を欠損した苔状線維に対して棘状瘤の形成が不完全、または形成されなかった（図 1A 下段、矢尻）。一方、ホモ接合型の海馬でも *Snap25* を欠損しない（tdTomato 陰性の）苔状線維に対しては、棘状瘤が正常に形成された（図 1 A 下段、矢印）。このことは、*Snap25* を欠損した苔状線維とその接続する樹状突起の棘状瘤に対して、特異的に表現型が生じることを示す。以上より、棘状瘤の形成には、シナプス前終末である苔状線維からの SNAP25 を介した小胞放出が必要であることが示唆された。

2. SBF-SEM を用いたシナプス終末の 3 次元形態解析

Snap25 条件欠損マウスのシナプス終末の形成異常の詳細を明らかにするために、SBF-SEM を用いたシナプス終末の 3 次元微細形態解析を行った。その結果、*Snap25* 条件欠損マウスのヘテロ接合型では、シナプス終末の中に CA3 樹状突起からの棘状瘤が複数含まれるのに対し（図２A、B 上段、矢印）、ホモ接合型では棘状瘤が形成されなかった（図２A,B 下段、矢印）。この結果は、*Snap25* が棘状瘤の形成に重要であるという結論を支持する。現在、他の個体も用いて解析を進めている。

3. 海馬のスライス培養の系の確立

Snap25 条件欠損マウスでは、棘状瘤の形成誘導が阻害されているのだろうか？それとも、形成された棘状瘤が安定化せずに退縮するのだろうか？この問いに答えるためには、リアルタイムで棘状瘤形成を観察する必要がある。それには、組織のスライス培養を用いたタイムラプスイメージングが有用である。そこで、海馬のスライスを培養し、苔状線維の発達を顕微鏡下で経時的に観察する系の確立を試みた。生後 6－8 日のマウスの脳から海馬を取り出し、スライスを作製して 2－3 週間培養を行った。その結果、スライスでは生体内と同様に苔状線維と VGluT1 陽性のシナプスが形成された。今後は、この系を用



（図３）海馬スライスの培養
A, 海馬のスライス培養の模式図。**B,** 14 日間培養した海馬のスライスの免疫染色画像。tdTomato は苔状線維を示す。

いて棘状瘤の形成の有無や、*Snap25* 条件欠損のマウスから摘出した海馬のスライスでのシナプス終末の形態変化を検証する予定である。

【まとめ】

Snap25 条件欠損マウスのホモ接合型においては、苔状線維と CA3 ニューロンの間に形成されるシナプス終末の形態が異常になることが明らかになった。本研究で用いたマウスの海馬では、歯状回のみで *Snap25* を欠損し、CA3 ニューロンでは正常に *Snap25* を発現する。その条件下で CA3 ニューロンの棘状瘤の形成が阻害されることは、苔状線維（歯状回）における *Snap25* 欠損が非細胞自律的（non-cell-autonomous）に CA3 ニューロンの表現型を誘導したことになる。この結果は、シナプス前終末からの SNAP25 を介した小胞放出がシナプス後終末の形態変化、すなわち棘状瘤形成に必須であることを示唆する。SNAP25 を介した小胞放出はシナプス伝達そのものにも重要であるが、brain-derived neurotrophic factor (BDNF)のような神経成長因子の放出に関わることも知られている。CA3 のシナプス後終末に対して、苔状線維から SNAP25 を介してどのようなシグナルが送られるのかを解明することが今後の課題である。

【謝辞】

自治医科大学の大野伸彦教授（生理学研究所客員教授）には、SBF-SEM 解析のサンプル調整と観察、解析の過程で大変お世話になりました。この場をお借りして御礼申し上げます。また、本研究をご支援頂きました公益財団法人ウエスコ学術振興財団に御礼申し上げます。

【文献】

1. Birnbaum, R. and Weinberger, D. R. Genetic insights into the neurodevelopmental origins of schizophrenia. Nat. Rev. Neurosci., 2017;18(12):727-740
2. Hoerder-Suabedissen, A., Korrell, K., Hayashi, S., Jeans, A., Ramirez, D., Grant, E., Kavalali, E., Weick, J., Wilson, M. and Molnár, Z. Cell-specific loss of SNAP25 from cortical projection neurons allows normal development but causes subsequent neurodegeneration.
Cerebral Cortex 2019; 29(5):2148-2159
3. Maclachlan, C., Sahlender, D., Hayashi, S., Molnár, Z., Blanc, J. and Knott, G. Block face scanning electron microscopy of fluorescently labelled axons without using near infra-red branding.
4. Hayashi, S., Hoerder-Suabedissen, A., Kiyokage, E., Maclachlan, C., Toida, K., Knott, G., Molnár, Z. Maturation of complex synaptic connections of layer 5 cortical axons in the posterior thalamic nucleus requires SNAP25. Cerebral Cortex, 2021;31(5): 2625-2638

（表　題）脳イメージング技術を応用した転倒リスク評価システムの開発

（所　属）川崎医科大学　神経内科学

（氏　名）三原雅史

（概要）18 名の健常成人を対象に姿勢保持課題と認知課題の二重課題を実施した。認知課題は 3 難易度で行われ、重心および筋電図による姿勢保持能力と姿勢保持課題関連皮質活動の評価を行った。行動学的指標では、認知負荷の増加に伴い、姿勢揺動後の COP 移動距離と筋電活動が増加し、同時に施行する認知課題によって姿勢保持課題の成績の低下が明らかであった。姿勢関連脳活動では、低認知負荷条件において先行研究と同様の両側前頭前野を中心とした皮質活動が観察されたが、高認知負荷条件では補足運動野（SMA）の活性化が有意に減少し、認知負荷依存性の SMA 活動低下と揺動時の COP 変化の間に有意な相関があった。高認知負荷条件では、右前頭前野（PFC）から SMA への機能的結合も低下し、あわせて姿勢の安定性が悪化した。また右 PFC 活動変化と認知課題難易度に伴う姿勢への影響が有意に相関があったことと併せて右 PFC は姿勢制御のための注意配分に重要な役割を果たし、SMA および姿勢調節に関連する神経ネットワークとの機能的結合を介して働いていることが示唆された。本研究で用いた画像指標は、動的姿勢制御能力の代用指標として有用であると考えられた。

（本文）

背景：

ヒトの二足歩行姿勢制御において大脳皮質が重要な役割を果たしていることはよく知られており、認知課題を同時に行うと姿勢や歩行課題の遂行に支障をきたすことが多い（二重課題コスト）。最近の研究では、認知・姿勢二重課題における二重課題コストに前頭前野が関与していることが明らかにされているが、その正確な神経機構はまだ不明である

対象と方法：

健常成人被験者 18 名（26.4±9.5 歳、男性 11 名）を対象とした。

課題としては参加者全員が姿勢摂動中に認知課題を実施した（姿勢–認知二重課題）。

姿勢保持課題：台の前後方向への素早い揺動が断続的に行われるなか、直立姿勢を保つように指示した。

認知課題：画面に表示さ[文書の重要な部分を引用して読者の注意を引いたり、このスペースを使って注目ポイントを強調したりしましょう。このテキストボックスは、ドラッグしてページ上の好きな場所に配置できます。]れる数字を用いた計算（足し算、引き算）を、以下の 3 つの難易度で行った。

1）　COUNT　（0 や 1 を使った単純な足し算）。

2）　EASY（-9～9 を使った計算）

3）　COMPLEX（-99～99 を使った計算）。

画面には 2 秒ごとに数字が表示され、被験者は表示された数字をすべて合計するよう求められた。1 回に 60 個の数字が登場し、20 個ごとに計算結果を確認した（1 回に 3 回）。

姿勢の測定：

両側の前脛骨筋および腓腹筋の筋電図と立位保持の

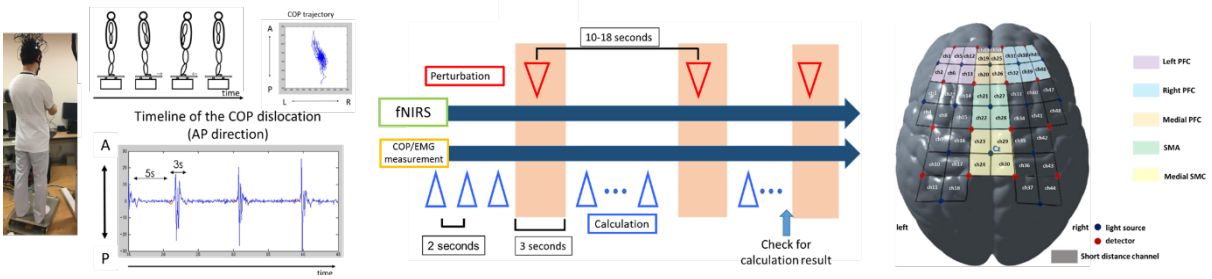


図１：実験セットアップ。プラットフォームの前後揺動に対して姿勢を保持しながら前方の画面に出てきた数字を加減していく課題を行った。

際の重心（COP）を測定し、静止時（REST）および揺動前 0.5 秒から 3 秒間（PERTURBATION）における COP の移動距離と筋電活動の平均値を評価した。大脳皮質活動の評価：fNIRS 装置（FIORE-3000、島津製作所）を用いて前頭葉を中心とした領域の皮質活性を測定し、Oxy-Hb 由来信号を用いてで姿勢課題関連の大脳皮質活動を評価した。姿勢保持課題関連活動は、heamodynamic response function を用いた GLM ベースの統計解析で評価した。

また、Granger causality analysis を用いて、姿勢保持課題中の運動関連皮質領域間における機能結合の変化を評価した。

結果：

計算課題の正答率はは Count が 100%、Easy が 86.9%、Complex が 25.8%と課題ごとの難易度は明らかであった。重心移動距離及び筋電活動はともに認知課題の難易度上昇によって増加していた。また、二重課題において認知課題負荷による姿勢保持課題への影響（Dual-Task Cost:DT-cost）を検討したところ、Complex と Count 間,および Complex と Easy 間で有意な DT-cost の上昇が認められ、認知負荷に伴う姿勢制御への影響が明らかであった。（図 2）

姿勢保持課題関連脳活動に関して、Count 条件など低認知負荷条件においては、先行研究（Mihara et al 2007）での姿勢保持課題単独での皮質活動パターンと同様に、両側前頭前野（PFC）、内側 PFC,補足運動野（SMA）、内側感覚運動野（SMC）の活動が認められた、しかしながら、Easy や Complex など認知負荷の高い条件においては、姿勢保持課題に伴う大脳皮質活動は低下傾向であった。条件間の比較では、特に、Complex 条件では、Counting 条件と比較して、SMA の活性化が有意に減少しており、DT-cost の変化は、SMA 活動の低下と有意な相関があった。

皮質間の機能的結合性解析でも、認知負荷の低い条件と比較して、認知負荷の高い条件では皮質間の機能結合性が低下している傾向が示唆され（図 4）、特に Complex 条件と Count 条件の比較においては、右 PFC と SMA 間の機能的結合が有意に低下していることが明らかになった。

	Count	Easy	Complex
Calculation accuracy	100%	86.9 ± 23.5%	25.8 ± 35.2%
Normalized COP dislocation during postural perturbation (Perturbation / Rest)	2.19 ± 1.02	2.13 ± 1.00	2.57 ± 0.89
EMG activation increase during postural perturbation (Perturbation / Rest)	1.12 ± 0.08*	1.17 ± 0.11	1.26 ± 0.17

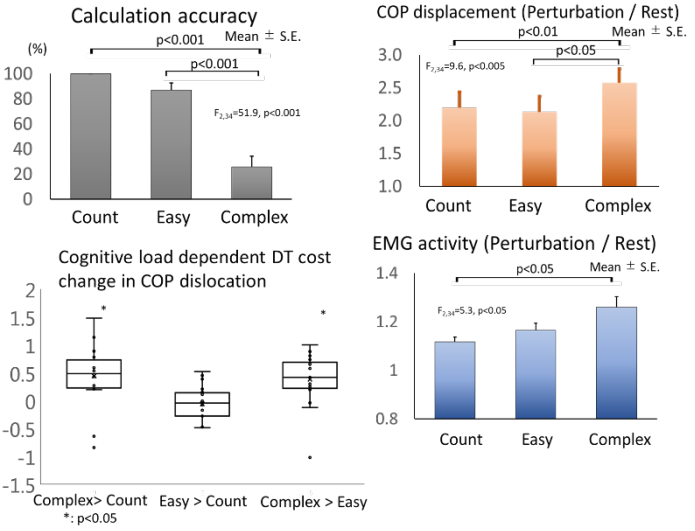


図 2：認知課題難易度ごとの重心移動距離、筋電活動の変化。認知課題難易度変化に伴う姿勢保持課題への影響（Dual-task Cost：DT-cost）

考察：

本研究でぇあ認知―姿勢二重課題条件において、認知負荷が高い条件では、同時進行する姿勢課題に対する皮質活性が低下し、姿勢の安定性が悪化する傾向が認められた。

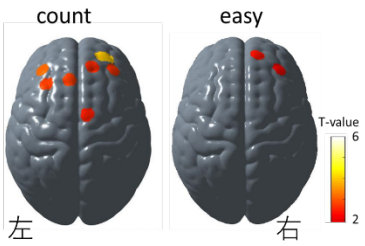
この結果は、高い認知負荷によって注意資源が大きく占有されると、同時進行の姿勢保持課題への使用が制限されることによってもたらされている可能性が考えられた。また、認知負荷の高い条件下で、姿勢保持課題に関連する SMA 活性が低下し、右 PFC から SMA への機能的結合が低下していたことから、右 PFC は姿勢制御のための注意配分に重要な役割を果たしていることが示唆された。

このことは、認知負荷の変化に伴う右 PFC の活動変化と DT-cost の変化とに有意な相関を認めたこととも一致する。

Postural perturbation related cortical activation

	Count	Easy	Complex
Left PFC	0.91±1.46*	0.48 ± 1.31	0.25 ± 2.06
medial PFC	0.25±1.69	0.27 ± 1.66	-0.51 ± 1.25
Right PFC	1.59 ± 1.37***	1.09 ± 2.08*	0.46 ± 2.71
SMA	1.81± 2.79*	-0.07 ± 2.81	-1.12 ± 2.90
medial SMC	2.08±3.33*	-0.34 ± 4.04	-0.62 ± 3.58

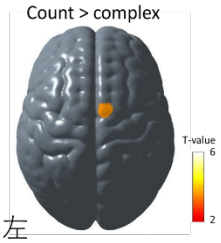
*:p<0.05, ***:p<0.005



Cognitive load dependent postural perturbation related cortical activation change

	Count>Complex	Count>Easy	Easy>Complex
Left PFC	0.43 ± 2.31	0.16 ± 1.84	0.02 ± 2.88
medial PFC	0.81 ± 2.69	-0.17 ± 2.81	1.21 ± 2.63
Right PFC	0.96 ± 3.01	0.45 ± 2.40	0.37 ± 2.40
SMA	2.66 ± 4.23*	1.40 ± 3.60	0.46 ± 3.16
medial SMC	1.98 ± 5.24	2.17 ± 4.47	-1.01 ± 5.13

*:p<0.05



Correlation between DT cost change and cortical activation change

	Count>Complex	Count>Easy	Easy>Complex
Left PFC	n.s.	n.s.	n.s.
medial PFC	n.s.	n.s.	n.s.
Right PFC	r=0.554 *	n.s.	r=0.677 *
SMA	r=0.516 *	n.s.	n.s.
medial SMC	r=0.598 *	n.s.	n.s.

*:p<0.05

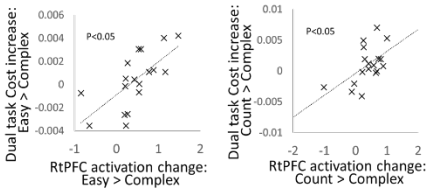


図 3：認知課題難易度ごとの姿勢保持課題関連脳活動。難易度が低下するほど姿勢保持関連脳活動が増加し、Complex 条件と Count 条件の比較では有意な補足運動野の活動低下が認められた。、Complex 条件と Count 条件間での脳活動変化と DT-cost の変化との相関解析では、⇒前頭前野、補足運動野、内側感覚運動野などで DT-cost と脳活動との間に相関が認められた。

姿勢保持課題中の皮質間機能的結合

認知負荷に依存した機能結合の変化

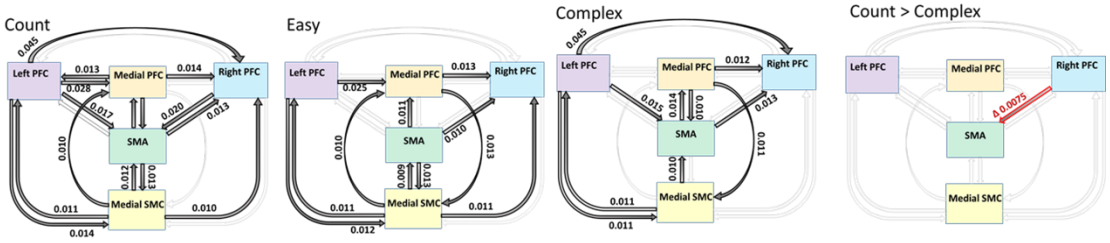


図 4：各認知課題難易度における、姿勢保持課題時の皮質間機能結合。太字が有意な結合を表す。認知負荷が高まるほど、姿勢保持課題中の機能結合が低下している傾向が認められる。また、Count 条件と Complex 条件では、右 PFC から SMA への機能結合が有意に低下していた。

結論：

本研究の結果から、右 PFC は、SMA および姿勢調節に関連する神経ネットワークとの機能的結合を介して、姿勢と認知の二重課題における注意資源の分配に重要な役割を果たしていることが示唆された。今後の検討は必要ではあるが、本研究で用いた画像指標は、個人の動的姿勢制御能力の客観的なバイオマーカーとして転倒リスク評価などに応用できる可能性がある。

軟骨魚類の心臓解析を通じた哺乳類の心疾患脆弱性解明

川崎医科大学生理学１教室

花島　章

哺乳類の心臓は、酸素や栄養を冠循環で心筋に供給することで心筋を緻密に配置し、強い血液ポンプ機能により活発な活動を可能としているが、その代償として心疾患に脆弱である。一方、軟骨魚類も巨大な体で高い活動性を持ち、その心臓も哺乳類と同様に冠循環を持つ緻密心筋であるが、長寿で心疾患に強い可能性が考えられる。近年、軟骨魚類の全ゲノム情報が解読され、遺伝情報を用いた軟骨魚類心臓分子の研究基盤が整ってきた。そこで本研究では、軟骨魚類の心臓構造および、心筋細胞弛緩時の拡張性を規定することで心臓ポンプ機能を支えている弾性蛋白質コネクチンを解析することで、哺乳類の心疾患脆弱性についての知見を得ることを目的に研究を行った。心臓解析、心筋解析、コネクチン遺伝子構造解析および一次構造解析の結果、哺乳類と軟骨魚類は独立に弾性蛋白質コネクチンを短縮することで心臓の拡張性を制限し、心筋細胞を緻密に配置することで心機能を向上させたことが示唆された。哺乳類は進化の過程で心房が退化し心室が能動的に血液を吸引する必要があるため疾患を発症しやすくなった可能性が考えられる。

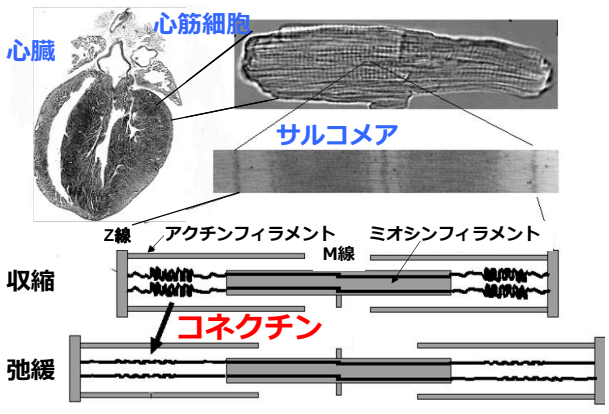
【背景】

脊椎動物は約 5.2 億年前の出現以降、心臓の構造及び血液ポンプ機能を高機能化することで、地球上で最も繁栄した動物となった。特に哺乳類の心臓は、酸素や栄養を冠循環で心筋に供給することで心筋を緻密に配置し、強い血液ポンプ機能により高い活動性を可能としているが、その代償として心疾患に脆弱である。

弾性蛋白質コネクチンは心筋細胞弛緩時の拡張性を規定することで心臓ポンプ機能を支えており（図１）、その変異は拡張型心筋症や拡張機能障害性心不全の主要な原因である。哺乳類の胎児では長い弾性領域を持つコネクチンアイソフォームが発現するが、成体では弾性領域が短いコネクチンアイソフォームの発現へと転換することが知られている。私たちは、コネクチンが各動物の心形態や機能により弾性構造を変化させていることを明らかにしてきた。特に、脊椎動物及び近縁な無脊椎動物のうち、頭索類ナメクジウオ横紋筋(Ohtsuka and Hanashima et al. 2011)、尾索類ホヤ心臓(Hanashima et al. 2012)、硬骨魚類ゼブラフィッシュ心臓(Hanashima et al. 2017)、爬虫類カメ心臓(Honda et al. 2018)の構造と弾性蛋白質コネクチンについて解明した。

一方、軟骨魚類のサメなども巨大な体で高い活動性を持ち、その心臓も哺乳類と同様に冠循環を持つ緻密心筋であるが、400 歳以上生存可能な長寿で心疾患に強い可能性が考えられる。最近、軟骨魚類のゾウギンザメ(Venkatesh et al. Nature 2014)、イヌザメ・トラザメ・ジンベイザメ(Hara et al. Nature Ecol Evol 2018)、ホオジロザメ(Mara et al. PNAS 2019)の全ゲノム情報が解読され、遺伝情報を用いた軟骨魚類心臓研究の研究基盤が整ってきた。そこで本研究では、軟骨魚類の心臓構造とコネクチン構造を明らかにすることで、哺乳類の心疾患脆弱性についての知見を得ることを目的に研究を行った。

図１　心臓構造と弾性蛋白質コネクチン



【方法】

１．軟骨魚類の心臓と心筋組織

ネズミザメ（Lamna ditropis）の成体心臓は、宮城県気仙沼港で陸揚げされ急速特殊冷凍されたものを購入した。ゾウギンザメ（Callorhinchus milii）の心筋組織は、オーストラリア・ビクトリア州の Western Port Bay で採集され、液体窒素で急速冷凍し、-80℃で保存されていたものを分与頂いた。

２．組織解析

ネズミザメの心臓はパラホルムアルデヒド固定後、パラフィンに包埋し、4μm の切片に切り出し、マッソントリクローム染色後、オールインワン蛍光顕微鏡（BZ-X700、キーエンス）を用いて観察した。

３．遺伝子構造解析

ゾウギンザメのコネクチン遺伝子は、ヒトコネクチンの配列を用い、Callorhinchus milii (Venkatesh et al. Nature 2014) のゲノムデータベースから検索した。Callorhinchus_milii-6.1.3 scaffold_14 (NCBI accession GPS_003798154.1) の配列中にゾウガメのコネクチン遺伝子は含まれており､エクソン-イントロン構造をヒトコネクチンの遺伝子構造（Bang et al 2001）を参考に視覚的に決定した。各タンパク質ドメインは、SMART プログラム（Schultz et al. 1998）を用いて同定した。

４．コネクチン配列決定

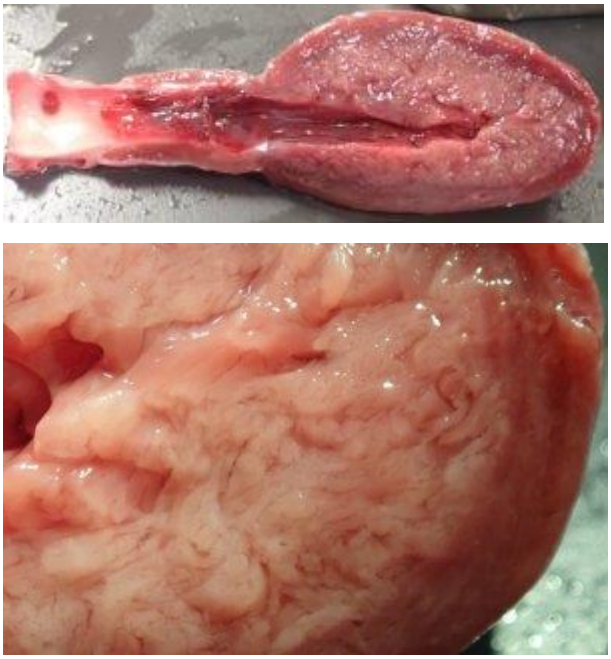
ゾウギンザメの心筋組織を小さく切り、Kinematica™ Polytron™ homogenizer (PT1600E; Fisher Scientific, MA, USA) を用いてホモジナイズした。RNeasy® Plus Mini Kit (QIAGEN)を用いて Total RNA を単離した｡NanoDrop spectrophotometer (ND-1000; Thermo-Fisher)を用いて RNA の収量と品質を評価後、PrimeScript-II Reverse Transcriptase (Takara Bio)を用いてランダムプライマーで cDNA をメーカーの方法に従い合成した。Phusion polymerase (New England Biolabs), PrimeSTAR HS DNA Polymerase (Takara Bio) または Tks Gflex DNA polymerase (Takara Bio) を用いて PCR によりコネクチンの各部を増幅し、GEL/PCR Purification Mini Kit (Favorgen) を用いてアガロースゲルから分離し、シーケンス解析を行った。コネクチン PEVK 領域をコードする PCR 断片はベクターに挿入し、形質転換後、シングルコロニーを分離して塩基配列を決定した。

【結果】

１．軟骨魚類の心臓構造

軟骨魚類の心臓構造を明らかにするために、ネズミザメの心臓を縦切りにして写真撮影した。その結果、心室は硬く心筋が緻密に詰まっていることが観察された（図 2)。

図２ ネズミザメ心臓の構造

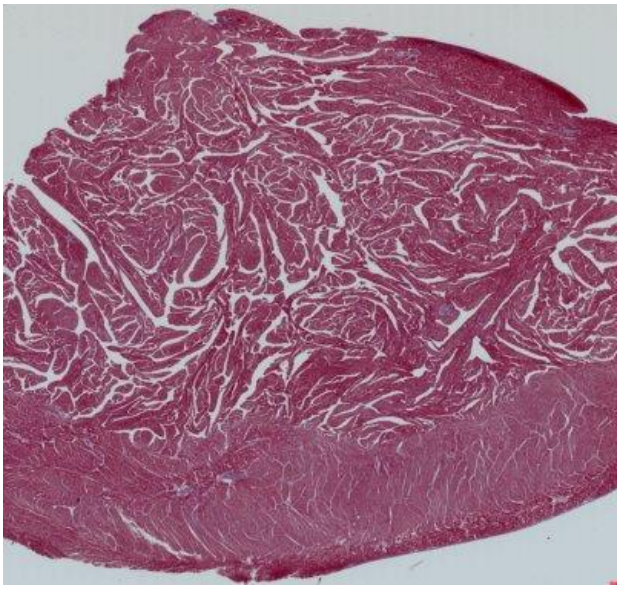


２．軟骨魚類の心筋組織

次に、軟骨魚類心室の心筋組織や、心筋に酸素や栄養を供給する冠血管の有無を明らかにするために、心室の切片をマッソントリクローム染色した。心筋細胞は赤色で、膠原繊維は青色で染色された。結果として、軟骨魚類の心室は全体的に心筋細胞が緻密に配置されており、特に外側で密度が高かった（図３)。さらに、緻密心筋の所々に青色で染色された微細な血管が配置されているのが観察された。従って軟骨魚類の心臓は、哺乳類の心臓と同様に、血管を

介して心筋に酸素や栄養を供給する冠循環心臓であることが明らかとなった。

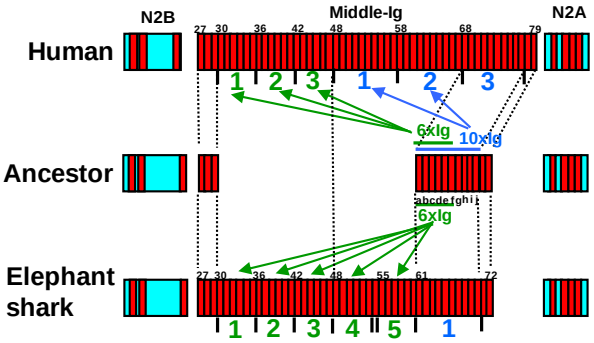
図３　ネズミザメ心室切片の組織染色



３．軟骨魚類のコネクチン遺伝子構造

続いて軟骨魚類コネクチンの構造を明らかにするために、ゾウギンザメのゲノム情報からコネクチン遺伝子構造を予測した。そして予測エキソンを連結してコネクチン分子の特に Middle-Ig 領域のドメイン構造を推定した結果、哺乳類のコネクチンと類似していた。しかし、哺乳類は６個の Ig ドメインから構成されるスーパーリピートが３回と、１０個の Ig ドメインから構成されるスーパーリピートが３回で構成されるところ、ゾウギンザメは６個の Ig ドメインのスーパーリピートが５個、１０個の Ig ドメインのスーパーリピートが１個となっている点で異なっていた。従って軟骨魚類と哺乳類は各々独自にコネクチンを進化させたことが明らかとなった。

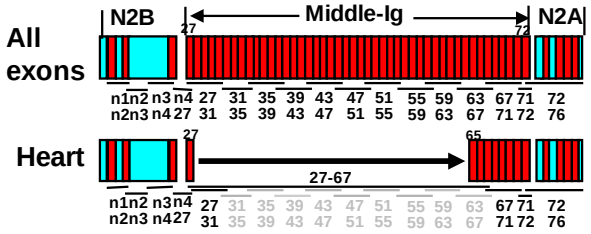
図４　ゾウギンザメコネクチンの予測構造



４．軟骨魚類心室のコネクチン弾性領域

最後に、軟骨魚類の心室で発現しているコネクチンの一次構造を明らかにするために、予測配列を基にコネクチン各部位にプライマーを設計し、ゾウキンザメ心室の RNA を抽出して逆転写した cDNA から PCR で増幅した。その結果、ゾウギンザメ心室のコネクチンは、哺乳類とは異なって進化した middle-Ig 領域の大部分をスプライシングで読み飛ばすことで、哺乳類成体心室のコネクチンと類似した短いコネクチンを発現していることが明らかとなった。

図５　ゾウギンザメ心室のコネクチン



【考察】

哺乳類と軟骨魚類は独立に弾性蛋白質コネクチンを短縮することで心臓の拡張性を制限し、心筋細胞を緻密に配置することで心機能を向上させたことが示唆された。しかし、哺乳類は進化の過程で心房が退化し心室が能動的に血液を吸引する必要があるため疾患を発症しやすくなった可能性が考えられる。

本研究成果は、特にヒト全出生児の約１％に生じ心臓発生が軟骨魚類類似段階で停止する先天性心疾患 CHD や、拡張型心筋症・拡張機能障害性心不全などのコネクチン変異による心疾患の病態生理解明と治療法確立の一助に繋がることが期待される。

【謝辞】

本研究を御支援頂いた公益財団法人ウエスコ学術振興財団、ゾウギンザメの凍結心筋組織を御提供頂いた東京大学大気海洋研究所、組織染色の技術支援を頂いた川崎医科大学バイオイメージングユニットに御礼申し上げます。

QGIS を用いた小田川上流地域の空間データ分析

藤本 宏美

今日ではいつどのような災害が起こるか予測できない. 平成 30 年 7 月豪雨では, 西日本を中心に全国的に広い範囲で記録された台風 7 号および梅雨前線等の影響による集中豪雨となり, 地震による災害以外では, 近年では未曽有の災害となった. 井原市では 125 年前に起きた「井原の大水」など水害が度々起きている. 定住者は祖先からの口承や町の昔話等で知識がある場合もあるが, 近年の家族形態の変化や地域社会等との関係の変化によって説話を伝えられること自体も減少している状態である. そこで本研究では, 説話の調査により昔話の語り手の高齢化による伝承の消滅を防ぎ補完することと, 空間データを用いることにより洪水等の災害における重要ポイントの洗い出しを目的とした QGIS を用いた空間データを作成及び分析を行う. 2年目である今年度は, フィールドワークとして笠岡市甲弩の北川地区の水没地域の水位調査を行った. 次に井原町の古地図と現在の地図を重ね合わせて川の流れと治水工法を行った場所の特定を行った. 浸水した地域では, 言い伝えよりも高い水位まで水が入りこんでいたこと, 道路の破損状況などが分かり, 古くから川の凶とされる場所が平成 30 年 7 月豪雨の被害地域と一致していることが判明した.

1.はじめに

世界において, 今日ではいつどのような災害が起こるか予測できない. 平成 30 年 7 月豪雨では, 西日本を中心に北海道や中部地方など全国的に広い範囲で記録された台風 7 号および梅雨前線等の影響による集中豪雨となり, 地震による災害以外では, 近年では未曽有の災害となった. 西日本豪雨で岡山県の犠牲者 61 人のうち, 51 人の犠牲者を出した倉敷市真備町では河川の増水によるバックウォータ現象が発生した. この真備町を流れる小田川では, 真備町以外にも矢掛町でも堤防の決壊が確認され, 井原市でも支流の河川の堤防の決壊が確認されたほか, 川沿いの道路の陥没や川水の勢いによる道路側面の浸食や堆積も確認された. 小田川では, 60 年に一度, もしくは 100 年に一度起こるか起こらないかと言われていた洪水であり, 定住者は祖先からの口承や町の昔話等で, 知識がある場合もあるが, 近年の家族形態の変化や地域社会等との関係の変化によって説話を伝えられること自体も減少している状態である. 二瓶の「平成 30 年7月豪雨 小田川における洪水氾濫状況」[1]のように真備地域は取り上げられることも多いが, 上流地域についての研究は少ない. また, 真備地域の河川の流れが変わっていることは, 取り上げられているが江戸時代の井原・後月の地図と現在では, 少しながらではあるが川の流れが変わっていることもわかる. そこで, 本研究では, 井原地域(旧井原・後月地域)を中心とした地域に伝わる口承や昔話などの説話の調査を行う.

次に説話を基とし, QGIS を用いた空間データを作成する. 最後に空間データを用いて洪水等の災害における重要ポイントの洗い出しを行いシミュレーションすることを最終目的としている.

本研究により,

a 説話の調査により昔話の語り手の高齢化による伝承の消滅を防ぎ, 補完すること.

b 空間データを用いることにより洪水等の災害における重要ポイントの洗い出しをすること.

その2点の成果が得られる. また, 洗い出しを行うことにより, 災害時におけるフォールトツリーやベイジアンネットワークの事象発生確率の計算に役立つのではないかと考えられる.

2年目である今年度の研究では, フィールドワークとして笠岡市甲弩の北川地区の水没地域の水位調査を行った. 次に井原町の古地図と現在の地図を重ね合わせて川の流れと治水工法を行った場所の特定と検証を行った.

2.フィールドワーク

2.1 笠岡市甲弩の北川地区

平成30年7月の西日本豪雨の際に報道ではなかなか取り上げられなかった笠岡市甲弩の北川地区の水没地域の水位調査を行った. 調査場所は北川公民館をはじめ正源寺地区前の池田付近などである. 「北川の昔を訪ね

る会」の方にお話しを聞いた際に貴重な当時の写真と共に水没地域を歩いた．北川小学校付近は井立川と尾坂川と小田川の3つの川が流れ，北川第一排水機場付近で他の何本かの小さい水路と交わる真ん中に位置している．この付近では尾坂川の一部（貝原パイル製造（株）笠岡工場付近）で決壊しており，井立川は氾濫したため北川第二排水機場より東側は浸水をしている．また小田川においても辻付近で氾濫したため床上浸水以上の被害が相次いでいる．図1・図 2 に示すように北川小学校付近ではやっと膝あたりまで水が引き歩けるようになっていたのが 7/7 の 9 時過ぎ（場所によっては 10 時頃）でそれから 15:15 以降も水がほぼ引かなかったことが写真と話より判明した．また最大時に水にどのくらいつかったか明らかになった．正源寺前は少し高くなっているため，水の被害は北川の交差点付近に比べ少なかった．この地方では海だったころの言い伝えが残っており，検証した結果，言い伝え通り小北中学校の向かいにある田んぼを境界に上流に流れる尾坂川の水が流れ込んでいたが正源寺付近の少し高い地帯では水害がなかったことが判明した．

辻付近では，甲怒村の庄屋の吉岡家の屋敷があったが小田川堤防改修により土蔵一棟だけになっていたが現在は撤去され石碑のみ残っている．この場所は古くより洪水の影響を受けていた地域である．平成 30 年 7 月の豪雨災害では付近にあるお宅では，床上浸水以上となり，床から水が上がって畳がうげるという被害に遭っている．現在でも水位がどの程度だったか分かるくらい家の至るところに水痕が残っていた．

辻の少し南の皿出の付近でも氾濫の影響があり，7/8 の 6 時時点でも水が引かなかったことが明らかとなった．またこの場所から見える尾坂川の決壊場所からの流水と小田川の流水と井立川の流水の交わっているだろう田んぼ付近の浸水状況もうかがえた．旧小倉皿出公会堂付近には昔より船場があり，洪水の際にはこの船を使うという風習が残っていたが，平成 30 年には，近年は洪水もないという理由から撤去されていたそうである．「北川の昔を訪ねる会」が昔ばなしを基に浸水の高さと船場の説明の看板を建てていたが，現在残っている水痕より，昔の言い伝えよりも 10cm ほど高い場所まで水が入ってきたことが判明した．尾坂川の決壊場所付近の住居前では，下より冷蔵庫が流れてきたという話や今回の調査で倉の土壁が浸水した場所より下は剝がれていたことが判明した．



図 1 7/7 10 時頃北川交差点付近（上）と
15 時頃北川交差点付近（下）



図 2 北川交差点付近水位の位置（写真比較）



図 3 旧小倉皿出公会堂付近から見た 7/8 の甲弩地区



図 4 尾坂川の決壊場所付近の土蔵

2.2 芳井町

芳井町宇戸川地内で 2022 年に道路工事が行われていた. この工事を担当していた名合建設の方にお話しを伺うことが出来たので, 工事前の写真を見せていただくことが出来た. 場所は国道 313 号線芳井町宇戸川地内(河川名は一級河川宇戸川)である. この工事現場は道路上では, どこも壊れていないように見えていたが, 川側に降りてみると川に 1mほどの高さ古い石垣(堤防代わり?)がありその石垣の一部が崩れ, そこから道路を支えている土が崩れて空洞が出来道路のコンクリートが浮いている状態であった. 名合建設の方は「人目のつかない場所は河川調査を行って発見されることが多い. ほとんどの河川災害現場は, 豪雨時に起こり少しずつ壊れていく. これがすべてではないが, 水量が減ってくるとそれ以上災害が大きくなる確率は少ないと言えます.」と言われていた. 他にも, 名合建設様がご担当された豪雨災害の現場は,

1. 砂防指定地 鳴滝川 芳井町花滝地内
2. 一級河川 宇戸川 芳井町吉井地内
3. 砂防指定地 大段川 芳井町梶江地内

どれも古い石垣が壊れている. 土がなくなって大きな落とし穴ができている状態であった.



図 5 宇戸川地内道路崩壊部分

3.古地図との照合

3.1 井原村街道絵図[2]

岡山大学付属図書館所蔵されている安政 4 年以降に描かれている井原村街道絵図と現在の井原町の地図を重ね合わせた(図 6). 重ね合わせる方法としては, 寺社は, ほぼ移設されていないと仮定し, 絵図に書かれている八幡神社, 皇太子神社, 総司稲荷社, 足次山神社, 正脈寺, 井原陣屋(現井原小学校)を中心に距離を測った. ただし, 絵図については正確な距離間がつかめないことからほぼ一致するあたりとする.

古地図と図 6 より何点か判明したことを報告する.

① 岩野の不言渓

枝益六が著作した「後月の地理」[3] で『岩野の不言渓 桃の林の木の間より 見ゆる民家はさながらに 花に埋もれし如くなり』と紹介されているように古地図にも描写されていた. この場所は茨八幡神社より少し南東の位置にあったことが判明した.

② 川の流れと古川筋

小田川の流れは古地図と合わせた結果, 現在の川と流れはほぼ変わらないものの湾曲や蛇行などしていた箇所も見られた. 昭和橋付近に関しては, 同じように湾曲はしているものの猪原側もっと湾曲するように川の流れ自体を変えた可能性が高いことが分かった. 今回の地図には

入っていないが，岩野・飯名間の道路沿いも現在とは流れが違う部分も確認できた．なお，この区間の国道 313 号線についても平成に歩道の幅員確保のため，山側から川に向かって幅寄せを行っている．

写真上部の向町あたりから井原高校方面に向かう箇所と，井原生コン付近から西江原方面に向かう箇所には古川が流れていたと推測される．写真上部の古川の先は井森神社から井原市民病院あたりまで灰色の塗りつぶされている．またこの付近を「舞鶴」と呼ぶように鶴が飛来する地だったということもあり，川より流れた出た水により付近が湿原地帯だったことも読み取れる．

③　鬼ヶ渕・石渕

新橋から北山町の山沿い側の川のほとり（いばらサンサン交流館付近まで）は，近年でもがけ崩れなどで交通止めになることもある場所である．それだけ岩が崩れやすい地帯であるが，古地図にはこの付近の鬼ヶ渕・石渕の近くには複数の巨石の絵が描かれていた．近年のがけ崩れの現状と等高線の幅と巨石という条件を考え合わせると北海道釧路町の「入境学の巨石」などに見られるようにこの場所でも地すべりによって岩が運ばれた可能性が考えられる．またそれは図 6 の写真の範囲の少し上にあたる岩野-飯名間の道路沿い牛ノ子岩他複数の巨石と石垣などが古地図で確認できた．

④　猿尾他治水工法と防水植物

古地図では村を守るためにを守るために作られただろう複数の石堤や二重の堤が見られる．さらに水の流れを変えるために設置されたとみられる5か所の猿尾，4 か所の蛇籠などの水制が確認できる．

その中でも，正脈寺付近に猿尾が見られる．この場所は正脈寺付近に一部現存している猿尾と推測される（図 6 の丸印の地点）．この場所に書いてある猿尾は蛇行している川の流れ（現在は井原生コン付近）を真っ直ぐに，また古川筋を止めるための役割のために設置されていたと仮定できる．

⑤　倉垣（倉掛）

倉垣は古くは神武天皇東征の折から里として存在しており，大江匡房（1041-1111）によって歌に詠まれていたりと古くから栄えていたと推測される．①と同じく「後月の地理」では『数を数へて君が為　八千代を積まむと倉垣と詠せし里は名勝にて　松吹く風も声清き　足次の神は郷社在り』と紹介されている．古地図には総司稲荷より足次山付近には樹木の描写があった．また，どちらも川の水勢を抑えるための猿尾や石垣や二重の堤など治水工法の付近に見られることより，『海岸地の防潮林として造成されることが多い。』という松の特性から護岸強化のため植樹されていたのではないかと考えられる．なお，現在の井原町の土手一帯は桜（ソメイヨシノ）並木となっている．

⑥　足次山神社と総司稲荷

⑤でも述べたように，足次山神社と総司稲荷付近では川の水勢を抑えるための猿尾や石垣や二重の堤など治水工法を他の地点と比べてもさらに重点的に行っている地点であった．それを地点ごとに a～g に分けて述べる

a.総司稲荷付近では現在では確認できない水路らしき描写とそれに架かる橋と湾曲した石堤がある．

b.総司稲荷と川の間は二重堤となっており間には松と思われる植樹が絵描かれている．この植樹並木の北側には街道と植樹並木を真横に区切るように小さな石堤がある．

c.総司稲荷付近の川沿いには猿尾がある．正脈寺付近の猿尾とこの猿尾の区間が蛇行している地点である．

d.総司稲荷より少し南にいくと木を束ねた水制と猿尾がある．（総司稲荷付近の猿尾と水制の間が現在の大正橋付近と推測される）

e.足次山神社の境内を囲むように北面と西面を囲むように堤が描写されている．

f．足次山神社の付近の川沿いの堤の近くには松と思われる植樹が絵描れている．

g.川沿いに新猿尾と書かれて猿尾が3つ重なって描写されている．

と，確認できるだけでも7か所に治水工法が用いられているため，この地点で小田川の水の流れを古くから変化させる努力がなされていたことがわかった．

その中でも g 地点の新猿尾に注目したい．この古地図が書かれたとされる安政 4 年（1857 年）以降に3つも並べてそれを新猿尾と名付けたということは，描かれた時点では他にある猿尾に比べて比較的新しいもので，それ以外の猿尾は安政4年よりも昔から程度あり，土地に定着しているものだと推測される．その推測を元に安政 4 年より10年以内に起こった水害がないかインターネットを利用し検索をしてみたところ寛永 3 年（1850 年）に小田川流域で堤防が決壊した水害があったことが分かった．

この水害は倉敷市の記録で，上流の井原市でも同じように水害があったとすれば，「寛永 3 年に起こった水害で，堤防が崩れた．」または，「現在の出部地区方面への被害が発生した」ため，新たにこの猿尾を造成したために新猿尾という名称にしたのではないかと推測される．下出部町にある八幡神社（出雲神社）には，足次山神社の御神体が流れ着いた場所という言い伝えもあるそうだ．

4. まとめと今後の展望

今回調査を行った笠岡市甲弩地区では，昔より言い伝えの残っている地域において，大量の水⇒過去の水害よりも雨量が多かったため，至るところで河川の氾濫や決壊がみられた．そのため浸水した地域では，言い伝えよりも高い水位まで水が入りこんでいたことが判明した．近年水害がなかったため，災害用の船を撤去していたが，また，井原市の飯名－岩野間の道路では，平成の工事により川幅を変更した場所（現在は撤去されている防水林を兼ねていた竹林の対岸）が元の川に戻ろうとしたためか川底から抉る形での道路の破損（図 5 の崩壊写真と同じような状況）があった．「水は情報を記憶する可能性がある」とも言われる所以がわかる災害であったのではないかとも言える．

風水[4]に掲載されている青烏『葬経』によると

① 「川の曲がり目の外側，あるいは接近してくる流れの正面にある土地は，洪水の被害を受ける危険が高いので凶」
② 「真っ直ぐな川，流れの速い川のそば」
③ 同じく風水（3）に掲載されている『水龍経』にも凶とされる図が掲載されている．

この『葬経』と『水龍経』に描かれている凶とされる場所と，フィールドワークを行った場所については表1のように分類できた． なお，今年度の計画当初では，集まった資料について，テキストマイニングを行い，新たな災害要素となるような言葉や場所がないか検証を行う予定であった．しかしながら，サンプル数が少なかったためか，分かち書きなどの語句の整理がうまくできなかったためか，結果表示がうまくいかず検証を行うところまでできなかった．そのため現在手法を見直しているため記載することを見送ることとする．

「郷社（足次山神社）の池の水が枯れていても，池に入って遊ぶな」という言い伝えがある．井原町には豊富な地下水が流れていると言われているため，この池が自噴井の可能性もあるが，足次山神社付近の治水工法の多さから考えると古川の存在の可能性も考えられるのではないか．今後としては，今年度判明した凶とされる場所や古地図より判明した川のシミュレーションを行い，猿尾がない場合の川の流れを考え，西域説の調査・検証を行っていきたい．

表 1 川の凶とされる場所

『葬経』または『水龍経』に描かれている凶とされる場所	フィールドワークを行った土地
川の曲がり目の外側（弓状）	今回は不明 古地図では井原生コン付近，昭和橋付近
接近してくる流れの正面（カーブの先）にある場所	辻付近，皿出付近，宇戸川（崩壊部分）
真っ直ぐな川	小北中学校の向かい，飯名－岩野間の道路
真っ直ぐな川と曲がり目のある川の間にある場所	甲弩・千田など
1つの川が 2 本に分かれた先の山際？	川の流れと逆ではあるが尾坂川の決壊場所付近の住居付近（この地帯でもバックウォーター現象発生した場合）

謝辞

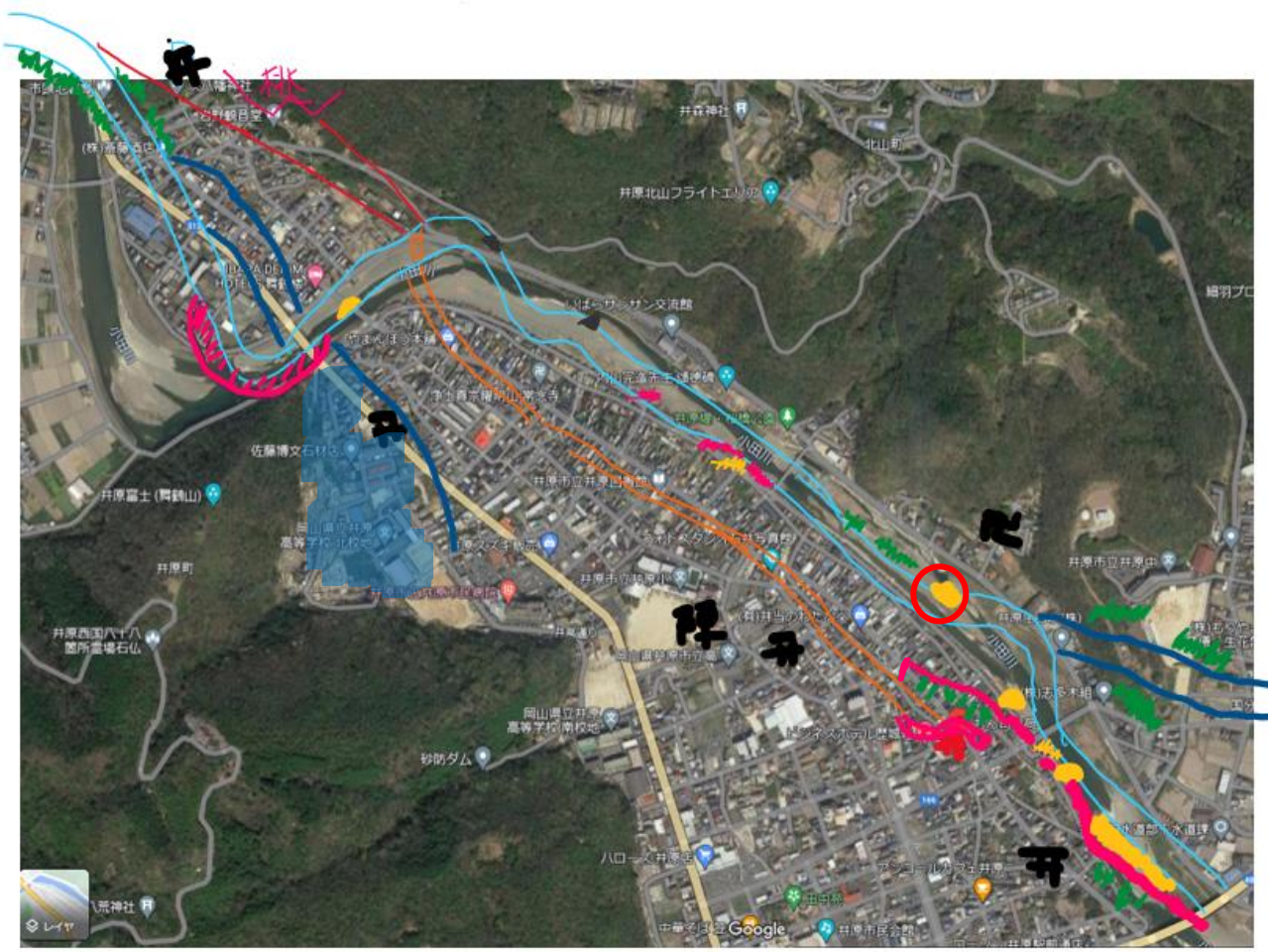
本研究を遂行するにあたり，公益財団法人ウエスコ学術振興財団による研究助成を賜わりましたことを深く感謝申し上げます．

また井原語りの会「話輪和会」井上晴正氏ならびに「北川の昔を訪ねる会」森山 上志氏をはじめ本研究にご協力を賜わりました皆様に深く感謝申し上げます．

[参考文献]

[1]二瓶泰雄，平成 30 年 7 月豪雨 小田川における洪水氾濫状況，消防防災の科学，№136 2019（春季），pp.12-18，2019

[2]井原村街道絵図(安政4年以降), 岡山大学付属図書館所蔵
[3]藤井定市, 川相誌　全, pp.309-320, 1959
[4]リチャード・クレイトモア著　山田美明訳, 風水 気と古代風景学の秘密, pp.12-13, 2013



ピンク:石垣や石堤, ライトブルー:川, 濃い青:古川筋, 緑:松・防水藪など植物, 黒:寺社や神社や陣屋
黄:猿尾や蛇籠などの治水工法, 濃い灰色:大石, オレンジ:街道(石垣含む)

図 6　古地図より読み解いた小田川の流れと治水工法

ウイルス感染由来の倦怠感に対する Acetyl-L-Carnitine の予防効果

川崎医療福祉大学

濱田大幹、小栁えり

（概要）COVID-19 は、感染時の発熱や咳だけでなく、倦怠感が生じ日常生活に影響を与えている。Acetyl-L-Carnitine（ALC）摂取による倦怠感の軽減が報告されており、ALC の効果が期待できる。コロナウイルスなど ssRNA ウイルスの感染疾患モデルである R-848 投与は、Toll-like receptor（TLR）7/8 を介して、活動性の低下を生じる。本研究は、R-848 投与マウスを用いて ALC の予防効果、および作用機序について検討することを目的とした。実験には、9 週齢の C3H/NeN 系雄マウスを用い、ALC（100 mg/kg, i.p.）を R-848(5mg/kg, i.v.) 投与前 5 日間、R-848 投与後 5 日間投与した。その結果、継続的な ALC 投与による疲労軽減は観察されず、血漿および脳内の炎症性サイトカイン、活動性に関与する Bdnf、神経保護作用を有する Tspo、の遺伝子発現にも ALC の効果を示さなかった。したがって、R-848 投与によるウイルス感染由来の倦怠感への ALC 予防効果は、本研究からは明確とならなかった。

【背景】

2019 年より世界中に猛威を奮っている COVID-19 は、未だ各国で流行している。人々を悩ませる症状として、感染時の発熱や咳だけでなく後遺症として倦怠感が生じ日常生活に影響を与えている [1]。倦怠感は、sickness behavior の一つであり、ほとんどの病原体感染症に共通する行動である。動物実験モデルでは、このような感染後の病的行動を評価するため自発的活動量を用いる [2–6]。活動性低下の原因としてサイトカインなどの炎症物質の亢進、および疼痛のシグナルとして脳すなわち中枢への影響、あるいは肝臓、骨格筋、関節などへ疼痛として末梢への影響することが推測される。

自然免疫系は、パターン認識のため Toll 様受容体（Toll-like Receptor: TLR）ファミリーが病原体分子の認識を行う。現在までに哺乳類では 13 種類が確認されており [7]、TLR7/8 は一本鎖（ss）RNA を認識する受容体であり、例えば、インフルエンザウイルス、単純ヘルペスウイルス、HIV の主要な受容体として特徴づけられている [8,9]。COVID-19 に対する生体防御においては、自然免疫機構として TLR3 と TLR7 が関与する [10]。コロナウイルスが増殖する際、一時的に二本鎖 (ds) RNA になる時に認識するのが TLR3 であり、コロナウイルスの主たる認識は TLR7/8 による。これまで我々は、ウイルス感染モデルマウスとして R-848 を用いて、TLR7/8 を介した Interferon（IFN)- α , Tumor necrosis factor (TNF)- α の亢進とともに活動性低下が生じることを報告している [6]。

一方、ヒトを対象とした研究において、Acetyl-L-Carnitine（ALC）摂取による慢性疲労症候状態の軽減 [11]が報告されており、ALC の疲労軽減、あるいは回復に対する効果が期待できる。しかし、メカニズムについては明らかになっていないことが多い。ミトコンドリアへの脂肪酸取り込みに必須とされる carnitine は、赤身の多い肉に多く含まれ [12]、生体内でも主に肝臓で生成されるジペプチドであるが、加齢に伴い合成量は減少する。また我々は、ポリオウイルスやロタウイルスなどの dsRNA ウイルス感染モデルである Poly I: C 投与マウスを用いて、ALC の習慣的摂取により身体活動量低下を抑制することを明らかにした。すなわち、自然免疫系 TLR 3 を介した免疫反応により生じる活動性低下に対し、ALC が有効であることを示唆した [13]。

本研究は、ウイルス感染様疾患モデルである R-848 投与マウスを用いて ALC の予防効果、および作用機序について検討することを目的とした。

【方法】

1. 実験動物

実験動物には、9 週齢の C3H/NeN 系雄（n=32）マウスを用いた（日本クレア、東京、日本）。固形標準飼料 MF（オリエンタル酵母、東京、日本）および飲水は自由摂取とした。体重、自発活動量の測定は、実験期間中、毎日行った。自発活動量は、13:00 - 13:00 の 24 時間の総距離（count/day）とし、データ集録用ソフトウェア（Med Associates, inc., fairfax, VT）を用いて行なった。11:00 - 13:00 の間にリン酸緩衝生理食塩水（Phosphate buffered saline: PBS）、ALC（100 mg/kg）をイソフルラン麻酔下にてそれぞれ腹腔内へ 100 μl 投与した。投与期間は R-848 投与前 5 日間、R-848 投与日および R-848 投与後 5 日間の計 11 日間であった。なお、本研究は、川崎医療福祉大学動物実験委員会の承認を得て実施した(承認番号: 22-002)。

2. 試薬の調製

O-Acetyl-L-Carnitine hydrochloride （ALC）、(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)、R-848 (Santa Cruz, CA)を使用し、それぞれ、投与前に PBS で希釈した。

3. 試薬投与

6 日目の PBS、ALC（100mg/kg）投与 1 時間後に、R-848（5mg/kg）をイソフルラン麻酔下にて眼窩静脈叢より投与した。

4. 組織のサンプリング

6 日目の R-848（5mg/kg）投与 1 時間後、イソフルラン麻酔下にて採血し、頚椎脱臼後、脳を摘出した。回収した血液はチューブおよびヘパリンコートしたチューブに回収し、氷上で 20 分静置した。その後、遠心分離（4°C、3000rpm、20 分間）を実施し、血清および血漿を回収し、-80°Cで保存した。

5. ELASA 法

血漿中の TNF-α濃度は、市販のキット（Mouse TNF- α Quantikine ELISA Kit, R&D Systems, Minneapolis, MN）を用いて ELISA 法により測定した。

6. Real-time quantitative PCR

TRIzol Reagent（Invitrogen, Carlsbad, CA）と RNeasy Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA）を用いて Total RNA を抽出し、NanoDrop system (Nano technologies, Wilmington, DE）を用いて純度を評価した。RT-PCR は、逆転写キット（Applied Biosystems）および Fast SYBR Green PCR master Mix Kits（Applied Biosystems）を用いた step one plus real-time PCR system（Applied Biosystems）を用いて予備的に実施した。95°Cで 10 分間の初期変性、95°Cで 3 秒間の変性と 60°Cで 15 秒間のアニーリングを 40 サイクル行った。ハウスキーピング遺伝子として Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) mRNA を使用し、すべての測定値はその発現量に対する相対値で評価を行った。

7. 統計

自発活動量の結果は、平均値±標準誤差で表した。遺伝子発現の結果はボックスプロットにて表した。統計処理には R（ver. 4.2.3）および Rstudio (ver. 2023.03.0+386) を用いた。2 群間の平均値の比較は、データの分布（Levene 検定、Shapiro-Wilk 検定）に従い、T 検定またはウィルコクソンの順位和検定を行った。体重および自発活動量の検定には繰り返しのある二元配置の分散分析を用い、その後の検定には Bonferroni を用いた。統計学的有意差は 5%未満とした。

【結果】

1. R-848 誘導性の活動量低下に対する ALC の影響

R-848 投与前の ALC 反復投与による体重の変化は観察されなかった。また、R-848 投与後の体重変化は、時間経過に対する主効果は観察された（$p < 0.05$）が交互作用は観察されなかった。R-848 投与前の ALC 反復投与による自発活動量の変化は観察されず、ALC 投与の影響がないことを確認した。その後、R-848 を投与し、24 時間毎のマウスの活動量

を 6 日間測定した。R-848 投与前の活動量を 100%として評価すると（Fig. 1A）、時間経過に対する主効果は観察された（$p < 0.05$）が交互作用は観察されず、ALC 投与による 2 群間の差は観察されなかった（Fig. 1B）。

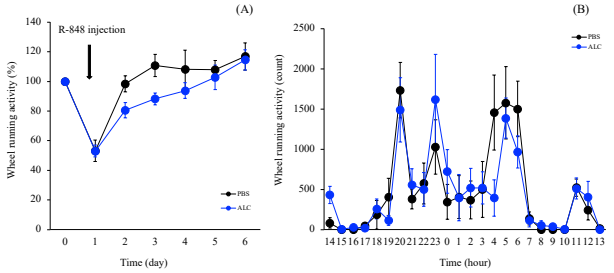


Fig. 1 Effect of R-848 injection on the wheel-running activity during (A) 6day (B) during 24h in ALC-treated mice and PBS-treated mice.

2. R-848 誘導性の血漿中サイトカインおよび脳内遺伝子発現に及ぼす ALC の影響

R-848 投与後の血漿 TNF-α 濃度は、2 群間に有意な差は観察されなかった（Fig. 2）。

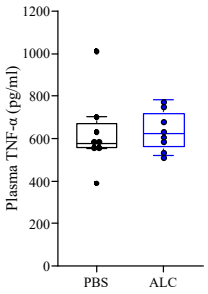


Fig. 2 Effect of ALC in administration on plasma TNF-α concentration in response to R-848 injection mice

R-848 投与後の大脳における遺伝子発現は、炎症性サイトカインである *Tnf-α*（Fig. 3A）、脳由来神経栄養因子である *Bdnf*（Fig. 3B）、グリア細胞株由来神経栄養因子である *Gdnf*（Fig. 3C）、炎症抑制に関与する *Tspo*（Fig. 4A）、脳内マイクログリアのマーカーである *Tmem119*（Fig. 4B）、細胞内で一酸化窒素を生成する酵素である *iNos*（Fig. 4C）の遺伝子発現は、2 群間に有意な差は観察されなかった。

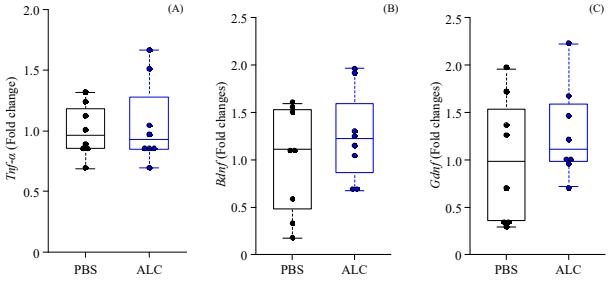


Fig. 3 Influence of ALC in administration on the mRNA expression of *Tnf-α* (A), *Bdnf* (B) and *Gdnf* (C), in the cerebrum of R-848 injection mice

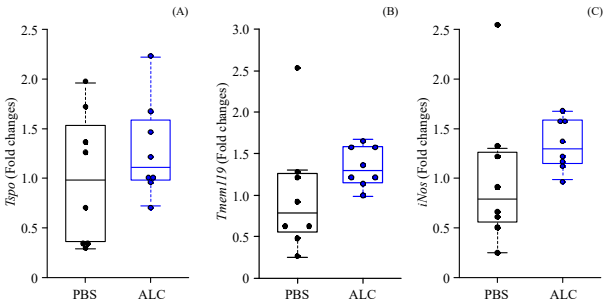


Fig. 4 Influence of ALC in administration on the mRNA expression of *Tspo* (A), *Tmem119* (B) and *iNos* (C), in the cerebrum of R-848 injection mice

R-848 投与後の海馬における遺伝子発現は、*Tnf-α*（Fig. 5A）、*Bdnf*（Fig. 5B）、*Gdnf*（Fig. 5C）、*Tspo*（Fig. 6A）、*Tmem119*（Fig. 6B）、*iNos*（Fig. 6C）の遺伝子発現は、2 群間に有意な差は観察なされなかった。

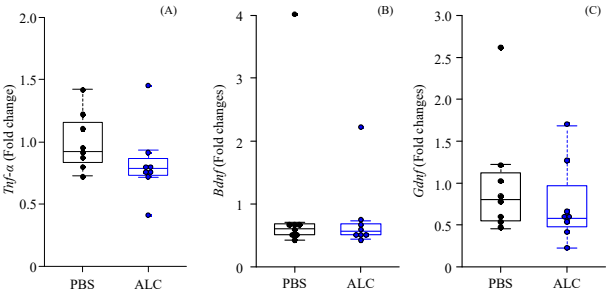


Fig. 5 Influence of ALC in administration on the mRNA expression of *Tnf-α* (A), *Bdnf* (B) and *Gdnf* (C) in the hippocamupas of R-848 injection mice

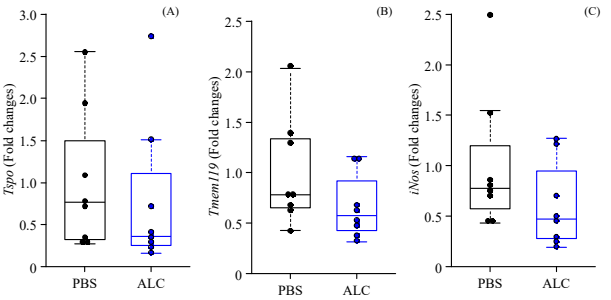


Fig. 6 Influence of ALC in administration on the mRNA expression of *Tspo* (A), *Tmem119* (B), and *iNos* (C), in the hippocamupas of R-848 injection mice

【考察】

本研究で用いた Acetyl-L-Carnitine や Carnitine と COVID-19 に関する先行研究は、いくつか散見される[14,15]。いずれの研究も、COVID-19 の影響に対する Acetyl-L-Carnitine の効果を示している。本研究では、COVID-19 の偽ウイルスである R-848 を用いて、身体活動低下に対する ALC の抑制効果について検討した。その結果、R-848 誘導性の身体活動量低下に対し、ALC の効果は示されずなかった。血漿の TNF-α および脳内遺伝子発現に対する ALC の効

果も示されなかった。

これまで我々は、疲労モデルとして dsRNA ウイルスのリガンドである Poly I:C を用いて、ALC の効果を検討した結果、Poly I:C 誘導性の身体活動低下は、ALC 投与によって抑制され、さらに ALC による脳内 *Bdnf*、および *Tspo* 遺伝子発現増強によるミトコンドリア保護作用を報告した[13]。すなわち、自然免疫系 TLR3 を介した免疫反応により生じる活動性低下に対し、ALC が有効であることを示唆した。しかしながら、本研究で用いた R-848 は異なる結果を示した。自然免疫系 TLR 3 および TLR7/8 を介した R-848 に対し、ALC の効果を示さず、両群ともに血漿 TNF-α の亢進、すなわち R-848 に対する反応性を示した。TLR3 の炎症性サイトカインを産生する pathway として、TRIF pathway が存在する。これは、TLR4 も同じ pathway で炎症性サイトカインを産生する。TLR4 のリガンドであるリポ多糖（LPS）に対し、ALC が神経保護作用を示すことが報告されている[16, 17]。TLR4 によるシグナル伝達は、2 つのアダプタータンパク質、すなわち MyD88 または TRIF のいずれかを介している[18]。また、TLR4 同様に ALC の効果が観察された TLR3 も、その下流には、MyD88 経路と TRIF 経路が確認されている[19]。一方、TLR7/8、あるいは TLR9 の下流には、MyD88 経路の存在のみが報告されており[20]、ALC の効果が観察されなかった理由として、R-848 の TLR7/8-MyD88 を介した細胞内シグナル伝達系には、ALC は作用しないのかもしれない。TLRs-TRIF 系への ALC の作用については今後の研究成果に期待したい。

R-848 投与は、中枢神経系の炎症だけでなく肝臓など、末梢の炎症反応を示すことが報告されている[21]。本研究は、脳内遺伝子発現をターゲットに R-848 に対する ALC の効果を検討したが、今後は末梢の評価も行う必要があるかもしれない。

新型コロナウイルスなど ssRNA ウイルスの偽ウイルスアナログである R-848 に対する ALC の効果を検討した研究は、いまだ詳細なメカニズムは明らかになっていないため、本研究が今後の発展に寄与できるものと考える。

【謝辞】

本研究は、公益財団法人ウエスコ学術振興財団による研究助成を受けて実施された。

【利益相反開示】

本研究に関して利益相反関係にある企業等はない。

【参考文献】

1. Mehandru, S. & Merad, M. Pathological sequelae of long-haul COVID. Nat Immunol 23, 194–202 (2022).
2. Harden, L. M., Plessis, I. du, Poole, S. & Laburn, H. P. Interleukin (IL)-6 and IL-1β act synergistically within the brain to induce sickness behavior and fever in rats. Brain, Behavior, and Immunity 22, 838–849 (2008).
3. Matsumoto, T. et al. Salmonella administration induces a reduction of wheel-running activity via a TLR5-, but not a TLR4, dependent pathway in mice. Exerc Immunol Rev 14, 38–50 (2008).
4. Matsumoto, T. et al. The reduction of voluntary physical activity after poly I:C injection is independent of the effect of poly I:C-induced interferon-beta in mice. Physiol Behav 93, 835–841 (2008).
5. McCusker, R. H. & Kelley, K. W. Immune-neural connections: how the immune system's response to infectious agents influences behavior. J Exp Biol 216, 84–98 (2013).
6. Oyanagi, E., Uchida, M., Kremenik, M. J. & Yano, H. Reduction of voluntary physical activity in mice induced by toll-like receptor 7 agonist R-848. JPFSM 7, 177–184 (2018).
7. Yano, H., Kremenik, M. J., Uchida, M. & Oyanagi, E. Benefits of post-stress immunosuppression: a viewpoint from exercise immunology. JPFSM 7, 153–159 (2018).
8. Baum, A. & García-Sastre, A. Induction of type I interferon by RNA viruses: cellular receptors

and their substrates. Amino Acids 38, 1283–1299 (2010).
9. Xagorari, A. & Chlichlia, K. Toll-like receptors and viruses: induction of innate antiviral immune responses. Open Microbiol J 2, 49–59 (2008).
10. Bortolotti, D. et al. TLR3 and TLR7 RNA Sensor Activation during SARS-CoV-2 Infection. Microorganisms 9, 1820 (2021).
11. Malaguarnera, M. et al. Acetyl L-carnitine (ALC) treatment in elderly patients with fatigue. Arch Gerontol Geriatr 46, 181–190 (2008).
12. Owen, L. & Sunram-Lea, S. I. Metabolic Agents that Enhance ATP can Improve Cognitive Functioning: A Review of the Evidence for Glucose, Oxygen, Pyruvate, Creatine, and l-Carnitine. Nutrients 3, 735–755 (2011).
13. Miura, S. et al. Acetyl-L-carnitine attenuates Poly I:C-induced sickness behavior in mice. Biosci Biotechnol Biochem 86, 1423–1430 (2022).
14. Bellamine, A. et al. L-Carnitine Tartrate Downregulates the ACE2 Receptor and Limits SARS-CoV-2 Infection. Nutrients 13, 1297 (2021).
15. Naureen, Z. et al. Proposal of a food supplement for the management of post-COVID syndrome. Eur Rev Med Pharmacol Sci 25, 67–73 (2021).
16. Jamali-Raeufy, N., Alizadeh, F., Mehrabi, Z., Mehrabi, S. & Goudarzi, M. Acetyl-L-carnitine confers neuroprotection against lipopolysaccharide (LPS) -induced neuroinflammation by targeting TLR4/NF κB, autophagy, inflammation and oxidative stress. Metab Brain Dis 36, 1391–1401 (2021).
17. Kazak, F. & Yarim, G. F. Neuroprotective effects of acetyl-l-carnitine on lipopolysaccharide-induced neuroinflammation in mice: Involvement of brain-derived neurotrophic factor. Neuroscience Letters 658, 32–36 (2017).
18. Kolb, J. P., Casella, C. R., SenGupta, S., Chilton, P. M. & Mitchell, T. C. Type I interferon signaling contributes to the bias that Toll-like receptor 4 exhibits for signaling mediated by the adaptor protein TRIF. Sci Signal 7, ra108 (2014).
19. Fitzgerald, K. A. et al. IKKepsilon and TBK1 are essential components of the IRF3 signaling pathway. Nat Immunol 4, 491–496 (2003).
20. Kawai, T. et al. Interferon-alpha induction through Toll-like receptors involves a direct interaction of IRF7 with MyD88 and TRAF6. Nat Immunol 5, 1061–1068 (2004).
21. Yates, A. G. et al. Nafamostat reduces systemic inflammation in TLR7-mediated virus-like illness. J Neuroinflammation 19, 8 (2022).

軽微な骨格筋損傷後のアイシングは筋損傷の拡大を抑制し、筋再生を促進する

川崎医療福祉大学　健康体育学科

川島　将人

近年の動物実験において、骨格筋損傷後のアイシングは筋再生に悪影響であることが明らかにされてきた。しかし、これらの筋損傷動物モデルでは筋線維の壊死が広範囲に及ぶ。一方で、スポーツで頻発する筋損傷は軽微（筋線維の壊死は多くても全体の数%）にとどまる。そこで本研究は、臨床応用を視野に、筋線維の壊死が全体の数%にとどまる損傷モデルを作成し、アイシングの効果を検討することを目的とした。先行研究に倣い、8 週齢 Wistar 雄ラットの長趾伸筋に重錘付き鉗子で挫滅損傷を与えるが、重錘の重量を従来の半分（250g）にしたところ、損傷直後の壊死筋線維の割合が全体の 4.0±0.5%となった。本モデルを使用し、筋損傷のみの筋損傷群（non-icing 群）と筋損傷＋アイシング群（icing 群）に分けた。icing 群にはアイシング（30 分間を 90 分おきに 3 回）を損傷直後、1、2 日後に行った。筋再生の評価として、損傷 14 日後における再生筋線維の横断面積を測定すると、icing 群の方が non-icing 群より有意に大きかった。icing 群の損傷後早期では、細胞傷害性を有する表現型のマクロファージの集積減少とともに損傷範囲の拡大抑制が観察されていた。以上より、軽微な筋損傷の場合、アイシングは損傷範囲の拡大を抑え、筋再生を促進させる可能性が示唆された。

【背景】

骨格筋損傷はスポーツ現場で頻発し、受傷後にはアイシングを実施することが一般的である。しかしながら、近年の動物実験では、アイシングは筋再生に悪影響を与えてしまうことが相次いで報告されてきた（e.g., 1, 2）。ただ、それらの研究では、大部分の筋線維が壊死するような骨格筋損傷モデルでの検証のみに留まっている。その一方で、スポーツ活動によって生じる筋損傷においては、生じる筋線維の壊死は全体の10%以下と軽微な場合が多い（3）。すなわち、スポーツ現場におけるアイシングの有用性を包括的に理解するには、軽微な筋損傷での検証が必要だと考えられる。

損傷骨格筋の再生は、組織特異的な幹細胞である衛星細胞が再生筋線維を形成することでなされる（4）。この筋再生過程において損傷部に浸潤するマクロファージは、筋再生を促進する役割を果たす(4)。筋損傷後にアイシングを行うと、マクロファージの集積が遅延し、この現象が再生不良へとつながる可能性が示されている（2, 5）。しかしその一方で、マクロファージには、誘導型一酸化窒素合成酵素（iNOS）を発現し、産生した一酸化窒素により正常な筋線維を傷害してしまうという負の側面もある（6）。そのため、軽微な筋損傷に対するアイシングの効果検証にあたっては、マクロファージの集積や損傷程度の経時変化、そしてその後の筋再生を評価することが重要であると考えられる。

そこで、本研究では、筋線維の壊死が全体の数%にとどまる軽微な筋損傷モデルを用い、iNOSを発現するマクロファージの分布と損傷の範囲を経時的に精査し、軽微な筋損傷後に施すアイシングが筋再生に有用となるのか否かを検討することを目的とした。

【方法】

実験動物と筋損傷の惹起、アイシング方法

8週齢のWistar雄ラットを筋損傷群（non-icing群）と筋損傷＋アイシング群（icing群）に分けた。先行研究に倣い、長趾伸筋に重錘付き鉗子で挫滅損傷を与えた(5)。その際、重錘の重量を従来の半分(250g)とし、挫滅で生じる壊死筋線維の割合を全体の4.0±0.5%に調整し、軽微な損傷モデルとした。icing群に実施するアイシングは、先行研究と同様に、アイスパックによるアイシングを30分間×3回（90分おき）、これを損傷直後、1、2日後に行い、アイシングの実施回数は合計9回とした（2, 7）。損傷から1、2、3、5、7、14日後に筋を採取し、各種解析を実施した。なお、本研究は、神戸大学の動物実験に関する指針

に従い、動物実験委員会の承認を得た上で実施した（承認番号：P200906）。

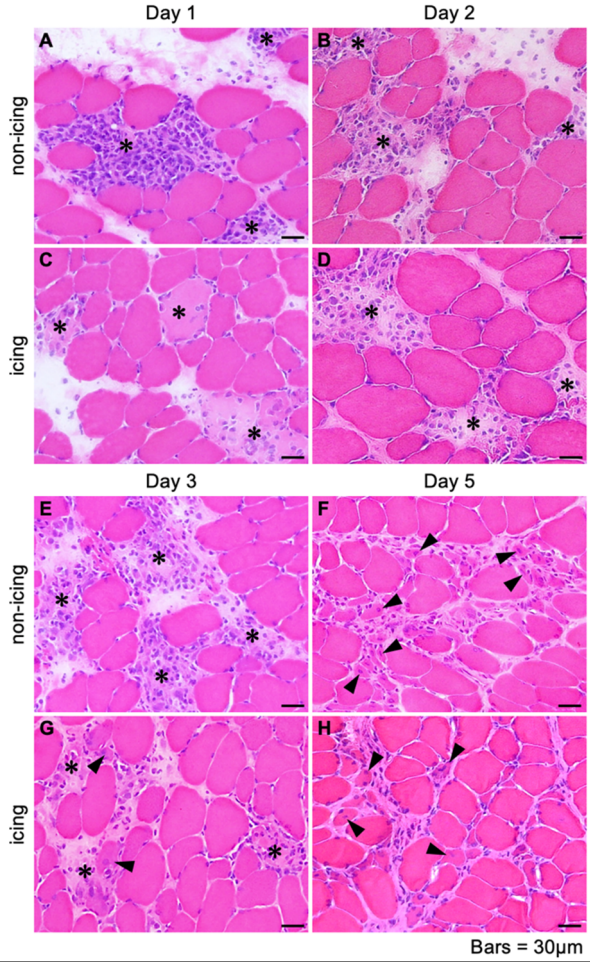


図 1. 筋再生過程の形態学的観測.
A, B, E, F：non-icing 群の損傷 1, 2, 3, 5 日後の HE 所見. C, D, G, H：icing 群の損傷 1, 2, 3, 5 日後の HE 所見. ＊：損傷（壊死）筋線維. 矢頭：再生筋細胞.

組織学的解析

筋再生過程の形態観察のためにHE染色を行った。さらに、先行研究（8）に倣い、全体の筋線維に対して、筋線維に損傷・壊死が起こり、その後再生筋線維へと置き換わる範囲が占める割合（損傷範囲）を定量化した。算出された損傷範囲には、壊死筋線維と再生筋線維が含まれる。そして、筋再生の評価として、損傷7、14日後における再生筋線維の横断面積を測定した。また、免疫組織化学を行い、iNOS陽性（iNOS^{+}）マクロファージと活性化衛星細胞を定量化した。

損傷筋におけるiNOSタンパク発現の解析

ウエスタンブロット法を用いて、損傷筋内のiNOSタンパク発現を定量化した。

統計解析

データはプロット付きの箱ひげ図で示した。統計解析は、R ソフトウェア（version 4.1.1; R Foundation for Statistical Computing Platform, Vienna, Austria）を用いて実施した。群間の比較には、対応のない Student の t 検定あるいは、2 元配置分散分析を用い、有意水準は危険率 5%未満（$p<0.05$）とした。

【結果】

筋再生過程の形態学的観測

図 1 に non-icing 群と icing 群の HE 染色像を示した。筋再生過程を通して、損傷部に集積する細胞は icing 群の方がまばらであり、icing 群でのみ、損傷 3 日後に再生筋細胞の出現がみられた。損傷から 7、14 日後における筋再生の評価として、中心核線維の横断面積を測定したところ、icing 群が non-icing 群よりも有意に中心核線維が大きかった（図 2）。

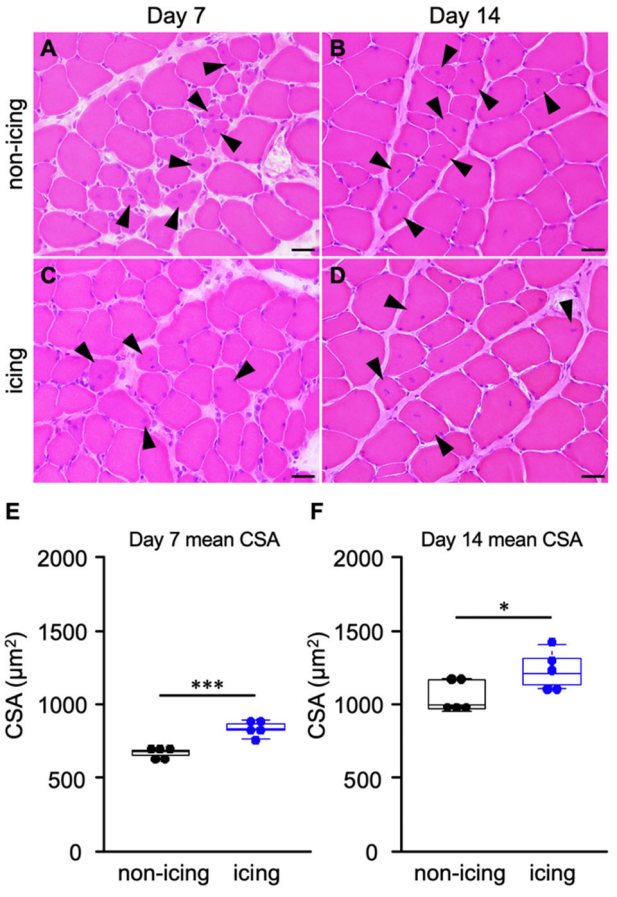


図 2. 損傷 7, 14 日後における筋再生の比較.
A, B : non-icing 群の損傷 7, 14 日後の HE 所見. C, D : icing 群の損傷 7, 14 日後の HE 所見. 矢頭：中心核を有する再生筋線維. E, F：再生筋線維の横断面積（CSA）の比較. *p<0.05; ***p<0.001.

損傷後早期の iNOS⁺マクロファージの集積および損傷筋内の iNOS タンパク発現

図 3 に損傷 1〜3 日後における iNOS⁺マクロファージの蛍光免疫染色像と量的比較を示した。icing 群では、これらの時期における iNOS⁺マクロファージの集積がまばらであり、損傷 1 日後と 3 日後において、non-icing 群よりも有意に集積が少なかった（図 3G）。また、iNOS マクロファージの集積と一致して、icing 群の損傷筋内における iNOS タンパク発現は non-icing 群よりも有意に低値であった（図 4）。

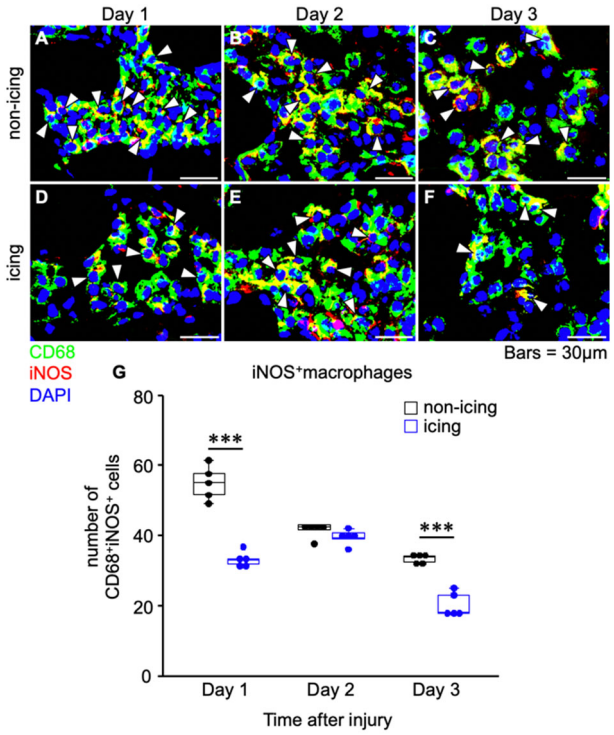


図 3. 損傷後早期の iNOS⁺マクロファージの集積.
A-C : non-icing 群の損傷 1-3 日後の iNOS⁺マクロファージの分布. D-F : icing 群の損傷 1-3 日後の iNOS⁺マクロファージの分布. G : iNOS⁺マクロファージ数の比較. 矢頭 : iNOS⁺マクロファージ. ***p<0.001.

損傷範囲の経時変化

図 5 に損傷 1、3、7、14 日後における損傷範囲を示した。non-icing 群では、損傷 3 日後にかけて損傷範囲が増加する傾向がみられたのに対して、icing 群では増加がみられなかった。また、icing 群の損傷範囲は non-icing 群よりも有意に小さかった。

活性化衛星細胞の集積

図 6 に損傷 3、5、7 日後における活性化衛星細胞の集積を示した。non-icing 群では、損傷 3 日後の損傷部に活性化衛星細胞はほとんどみられなかったのに対して、icing 群では既にいくつかの活性化衛星細胞が集積しており、群間に有意差がみられた。損傷 5、7 日後になると、non-icing 群でも活性化衛星細胞の集積が icing 群と同じ程度みられるようになった。

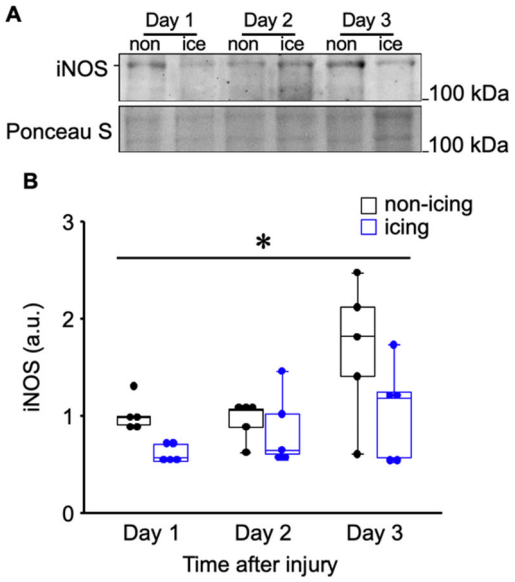


図 4. 損傷筋内の iNOS タンパク発現.
A : 損傷 1-3 日後における損傷筋内の iNOS タンパク発現の代表的なウエスタンブロットの結果. タンパク質染色剤である Ponceau S をコントロールとして使用. B : 損傷筋内の iNOS タンパク発現の比較. Ponceau S 発現の相対値として定量化した. *p<0.05 (群の主効果).

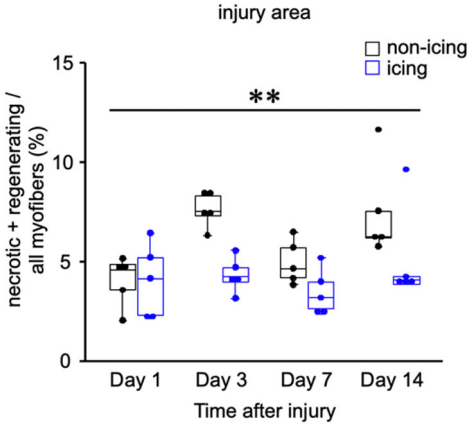


図 5. 損傷後の損傷範囲の経時変化.
損傷 1, 3, 7, 14 日後における損傷範囲 (injury area). **p<0.01 (群の主効果).

【考察】

本研究では、筋線維の壊死が全体の数%にとどま

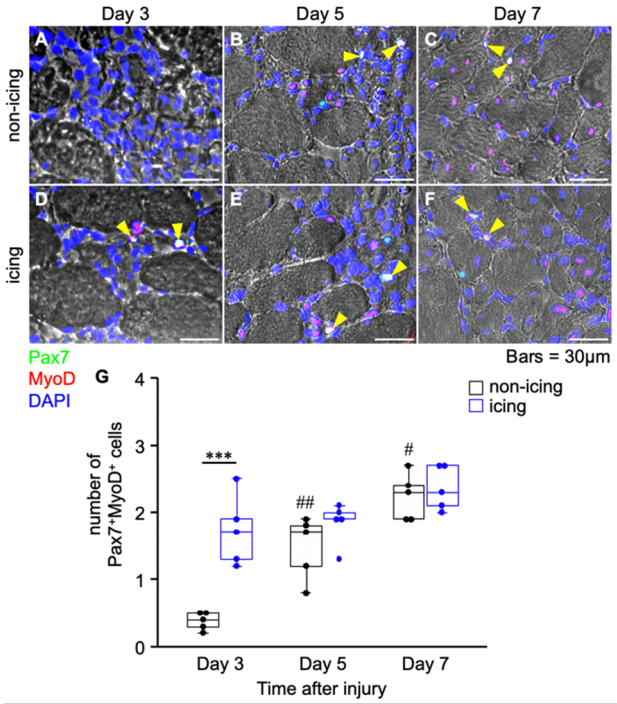


図 6. 損傷後の活性化衛星細胞の集積.
A-C : non-icing 群の損傷 3, 5, 7 日後の活性化衛星細胞の分布. D-F : icing 群の損傷 3, 5, 7 日後の活性化衛星細胞の分布. G : 活性化衛星細胞数の比較. 矢頭 : 活性化衛星細胞. ***p<0.001. #p<0.05; ##p<0.01 vs. 同群 3 日後.

る軽微な損傷モデルを作成し、細胞傷害性を有する iNOS⁺マクロファージの集積と損傷範囲の経時変化に注目して、アイシングの有効性を検討した。その結果、軽微な筋損傷後のアイシングは、損傷 7、14 日後における再生筋線維の横断面積を増大させた（図 2）。この再生過程の早期において、アイシングは iNOS⁺マクロファージの集積減少（図 3）、ならびに損傷筋内の iNOS タンパク発現の減少を引き起こしていた（図 4）。また、アイシングを施した群では、iNOS⁺マクロファージの集積減少に伴って、損傷範囲の拡大抑制がみられた（図 5）。さらに、アイシングによって、損傷部における活性化衛星細胞の集積が早期化されていた（図 6）。これまで、重度の筋損傷後のアイシングは筋再生に悪影響であると示されてきたが（1, 2, 5）、本研究によって、軽微な筋損傷の場合には、逆にアイシングが筋再生を促進させるということが明らかとなった。

本研究では、アイシングによって、細胞傷害性の作用を持つことで知られる iNOS⁺マクロファージおよび iNOS タンパク発現が減少していた（図 3、4）。おそらく icing 群では、損傷後早期のこの現象を介して、non-icing 群でみられたような損傷範囲の拡大が抑制されたものと推察される。icing 群でみられた損傷範囲の拡大抑制は、再生すべき範囲を限局化していると捉えることができ、その後の再生過程を早めることにつながる可能性が高い。事実、icing 群では、活性化衛星細胞が早期から数多く集積していた（図 6）。先行研究では、iNOS⁺マクロファージの集積減少が起こる時期に、再生筋線維の形成を担当する衛星細胞の損傷部への集積が観察されることが報告されており（9）、本研究でも同様の現象が損傷 3 日後に観察された。以上より、アイシングでみられた損傷後早期の iNOS⁺マクロファージの集積減少および損傷範囲の拡大抑制が、活性化衛星細胞の早期集積につながり、筋再生が促進されたのではないかと考えられる。

【結論】

軽微な骨格筋損傷後のアイシングは、損傷後早期において、iNOS⁺マクロファージの集積減少および損傷範囲の拡大抑制を引き起こし、筋再生を促進させる可能性が示唆された。

【利益相反開示】

本研究に関し、利益相反関係にある企業等はない。

【謝辞】

本研究は、令和 4 年度公益財団法人ウエスコ学術振興財団の研究活動助成を受けて実施された。

【参考文献】

1) Shibaguchi T et al., 2016. *J Physiol Sci* 66, 345–357.
2) Kawashima M et al., 2021. *J Appl Physiol* 130, 1410–1420.
3) Crenshaw AG et al., 1993. *Acta Physiol Scand* 148, 187–198.
4) Tidball JG. 2017. *Nat Rev Immunol* 17, 165–178.
5) Takagi R et al., 2011. *J Appl Physiol* 110, 382–388.
6) Nguyen HX and Tidball JG. 2003. *J Physiol* 547, 125–132.
7) Ramos GV et al., 2016. *Sci Rep* 6, 18525.
8) Melton DW, et al., 2016. *J Leukoc Biol* 100, 1011–1025.
9) Kawashima M et al., 2020. *Histochem Cell Biol* 154, 355–367.

1980 年代の岡山県の方言音声に関するアーカイブ研究
ーセをシェ、ゼをジェと発音する口蓋化音声の分析ー

ノートルダム清心女子大学

尾 崎　喜 光

方言音声の一つに「口蓋化」と呼ばれる音声がある。たとえば「汗」をアシェ、「風」をカジェのように、セをシェ、ゼをジェとする発音である。じつはこれらは本来の日本語の発音であるが、ここから変化したセ・ゼが現代日本語の共通語音声とされたため、今ではこうした発音は方言音声という位置づけになっている。

岡山県でもシェ・ジェが使われていたが、共通語化の影響により現在ではほとんど聞かれなくなった。

しかし、今から 40 年近く前となる 1985 年秋から約 1 年間放送された地域紹介テレビ番組において、インタビューに応える岡山県民の言葉を聞くと、口蓋化音声がときどき観察される。

そこで、「放送ライブラリー」（横浜市）において、当該番組約 1 年分を全て視聴し、共通語でセないしはゼを含む語を網羅的に調査し、セと発音したかシェと発音したか、ゼと発音したかジェと発音したかを判定してデータベースとして蓄積し、それを分析した。

分析の結果、明確にシェ・ジェで発音されたケースが 14%、シェ・ジェの要素が多少なりとも含まれるケースを含めると 2 割以上となり、口蓋化した方言発音がまだ一定の割合聞くことができること等を明らかにした。

1. 研究の背景と研究目的

言葉の変化は音声においても見られる。

現代日本語のサ行のセは［se］と発音されるが、昔の日本語ではセは[Se]（シェ）と発音されていた。たとえば「汗」はアシェ、「背中」はシェナカという発音であった。同様にザ行のゼは、現代日本語では［ze］と発音されるが、かつては［Ze］（ジェ）と発音されていた。たとえば「風」はカジェ、「全部」はジェンブであった。

現代日本語のセ・ゼの子音は、上の前歯裏の歯茎に舌先を接近させて発音する。これに対しシェ・ジェの子音は、舌先の後ろの前舌面を硬口蓋（上あごの前半部分）に接近させて発音することから「口蓋化」と呼ばれている。

ところがその後、地域によってはシェ・ジェの発音がセ・ゼに変化した。共通語の基盤となった東京においてもそれらの音声に変化したことから、現在はセ・ゼの発音が共通語の発音とされることとなった。(歴史的に見れば「口蓋化」ではなく「非口蓋化」という音声変化である)

その結果、伝統的なシェ・ジェの発音は、現在では方言的な発音という位置づけになっている。

昭和 30 年代頃のシェ・ジェの発音、セ・ゼの発音の地理的分布は**図 1** のとおりである。本研究が注目する岡山県も、かつては全域でシェ・ジェという音声が使われていた。

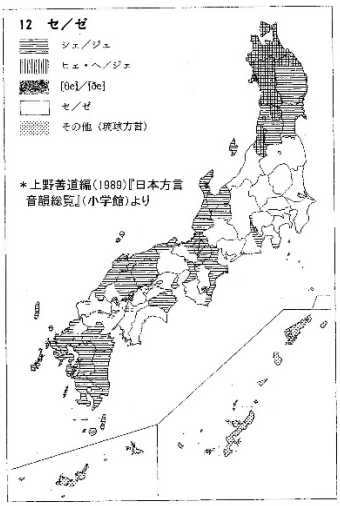


図 1　セ・ゼの発音

しかしその後、共通語の発音がセ・ゼであることから、こうした伝統的なシェ・ジェを保つ地域でも、セ・ゼへの変化、すなわち置き換えとしての共通語化が急速に進んだ。その結果、現在の岡山県では、

「背中」をシェナカ、「風」をカジェとする発音はほとんど聞かれなくなった。

こうしたシェ・ジェの発音が、共通語化の過程において、共通語のセ・ゼとどのように対立しつつ用いられていたか、語による違いや話し手の性別・年齢層による違いはどうであったかを知ることができれば、言語変化の在り方の一端を明らかにすることができる。

そのためには、岡山県民の発話を多数含む、過去に放送されたドキュメンタリー番組があれば、それを視聴してデータ化し、分析すれば可能である。

じつはそうしたテレビ番組がある。岡山市に本社を置く民間放送局・テレビせとうちが、1985 年秋の開局と同時に、自社制作番組（30 分）として毎週日曜日に放送していた『くろーずＵＰせとうち』がそれである。

2. 研究方法と研究経過

過去に放送されたテレビ番組やラジオ番組、CM など約 3 万本を無料公開している「放送ライブラリー」という施設が横浜市にある。

そのテレビ番組の一つに『くろーずＵＰせとうち』がある。アナウンサーによるインタビューに答える県民の発話が多数含まれているが、こうした発話を言語分析のためのデータと位置づけ、約 6 年間にわたり、全番組（54 番組）を丁寧に文字化・データベース化し、2022 年 2 月には文字化資料『地域紹介番組『くろーずＵＰせとうち』のインタビュー場面完全文字化資料－岡山県・香川県在住者を中心とするのべ 455 人の 1980 年代の話し言葉－』（全 114 ページ；非売品）を発行した。現在から 40 年近く前となる 1985 年頃の、岡山県民を中心とする人々の言語使用の一端を知ることのできる貴重な資料である。

この文字化資料を見ながら、改めて全ての番組を聞き直し、共通語においてセないしはゼの音を含む語について、かつての日本語の発音であり現在では方言の音声とされているシェ・ジェで発音されたか、それとも共通語のセ・ゼで発音されたかをチェックしデータベース化した。

本研究で分析対象とするデータには、インタビュアーとしてのアナウンサーの質問の言葉も含めることとした。なお、テレビせとうちの放送エリアは岡山県に加え香川県も含まれることから、番組の取材対象地域には香川県も含まれる。また、岡山県でのインタビューであっても、インタビュイーは岡山県出身者のみとは限らない。全国展開している企業の岡山支社などでインタビューに答えた人の中には、口蓋化音声を持たない他県出身者も少なくないかもしれない。逆に、地元の企業や自治体などに勤務する人が取材対象であった場合は、岡山県出身者が多いかもしれない。こうしたインタビュイーの地理的バックグラウンドは、出身地等に関する内容が応答発話に含まれない限り知りえない情報である。ここに、本データを言語資料として用いて分析する上での限界があるが、「取材時に岡山県（ないしは香川県等）に住んでいた人々の言葉」というくくりで分析を行うこととする。

該当するデータの総数は 1,078 件である。なお、「全然」のように、一語に該当音声が複数個所ある場合は、それぞれ別データとした。

3. 分析結果

セがどのように発音されたかについて分析した結果は**図 2** のとおりである。セとシェの中間に聞こえたケースも 1 割ほどあった。このうち「セ（～シェ）」はどちらかと言えばセに近い発音、「シェ（～セ）」はどちらかと言えばシェに近い発音である。

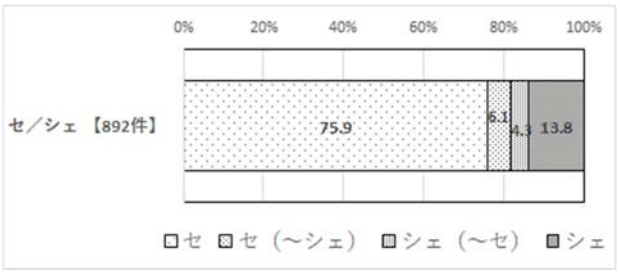


図 2　セ／シェの発音

これによると、1985 年当時、共通語のセで発音されたケースがすでに 8 割近くと多いことがわかる。もっともこの数値の高さは、インタビューを受けて

答える人々が、テレビ番組で放送されることを承知していたため、ふだんはシェで発音していても、ここでは共通語のセで発音したということもおおいに考えられる。

逆に、こうした改まった場面であるにもかかわらず、はっきりとシェで発音されたケースが 14%、シェの要素が多少なりとも含まれる音を含めると 2 割以上のケースになることが注目される。全体としては共通語のセが優勢であるが、方言のシェもまだ一定の割合聞くことができたのが、今から 40 年前の状況である。

図 3 は、ゼがどのように発音されたかについて分析した結果である。

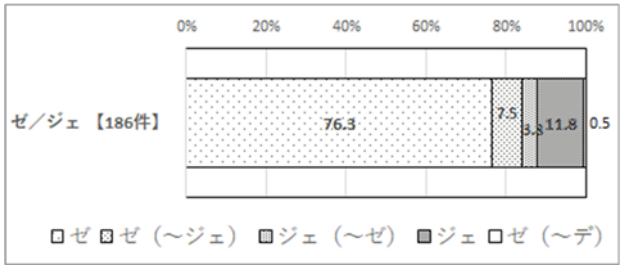


図 3　ゼ／ジェの発音

傾向は、先に見たセと似ている。はっきりとジェで発音されたケースが 12%、ジェの要素が多少なりとも含まれる音を含めると 2 割以上になる。

なお、わずかに見られる「ゼ（～デ）」(1 件) は、デのようにも聞こえるゼである。たとえば「全然」をデンデンのようにする発音は、中国地方の一部に聞かれる。破擦音が破裂音化した発音である。ゼであってもデであっても口蓋化はしていないため、本研究の分析ではゼに分類されうる発音であるが、念のため分けて示した。

以上のセ・ゼをあわせて分析した結果が**図 4** である。データ数は、両者を合わせた 1,078 件である。凡例のうち○は口蓋化のない共通語の発音、●は口蓋化した方言の発音を示している。「○（～●）」はどちらかと言うと口蓋化のない発音、「●（～○）」はどちらかと言うと口蓋化した発音であることを示している。

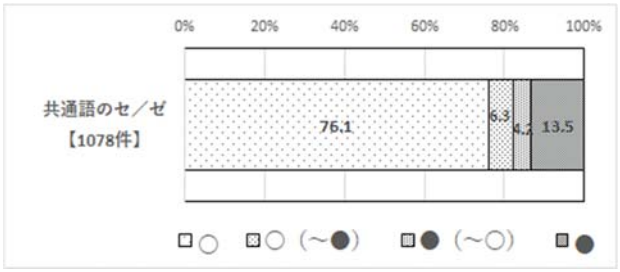


図 4　口蓋化の総合分析

これによると、上記の分析と同様の傾向が認められる。はっきりと口蓋化した発音のケースが 14%、口蓋化の要素が多少なりとも含まれるケースを含めると 2 割以上となる。全体としては口蓋化のない共通語の音声が優勢であるが、口蓋化した方言の音声もまだ一定の割合聞くことができる。これが今から 40 年前の状況である。

口蓋化の状況は、発話者の属性により異なるかもしれない。**図 5** はセについて、男女別・年齢層別に分析した結果である。なお、話し手の年齢層は、応答の中で自分の年齢について言及しているごく一部の者を除き、筆者の推定による。「高年層」は 60 代以上に見える者（最高は 70～80 代に見える者）、「中年層」は 40 代から 50～60 代に見える者、「若年層」は 30 代以下に見える者（最低は 10 歳未満）である。

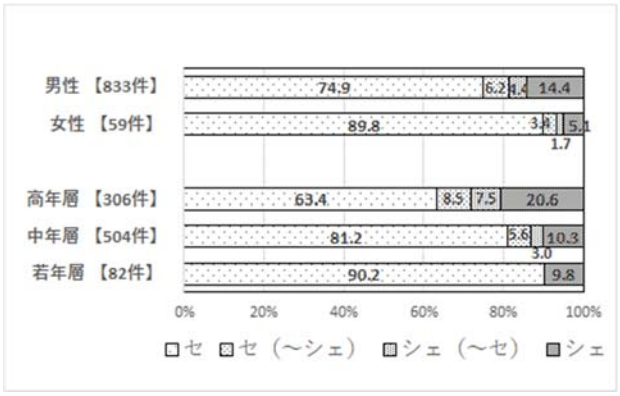


図 5　セ／シェの発音（属性別分析）

これによると、口蓋化したシェで発音される割合は、女性よりも男性の発話で相対的に多いことがわかる。

年齢層別に見ると、口蓋化したシェで発音される割合は、若年層よりも中年層で、中年層よりも高年

層で多いことがわかる。高年層では、はっきりとシェで発音したケースが約 2 割、シェの要素が多少なりとも含まれるケースを含めると 4 割近くに達し、テレビ番組のインタビューで話すような改まった場面であっても、当時の高年層では比較的多くのケースでシェが発音されている。現在と比べると 1985 年頃は、岡山県の高年層においてシェはまだ日常的に使われる発音であったことがわかる。

図 6 はゼについて同様に分析した結果である。

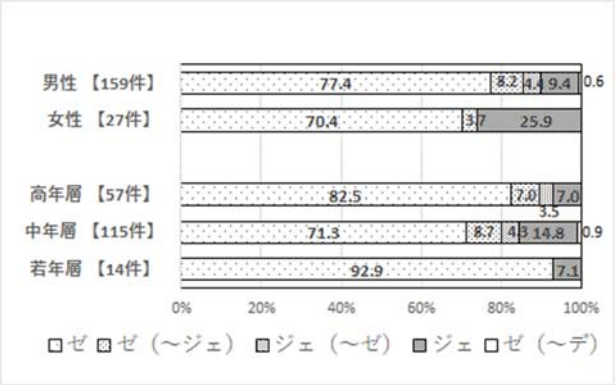


図 6　ゼ／ジェの発音（属性別分析）

これによると、先ほど見たセと異なりゼは、口蓋化したジェで発音される割合は、男性よりも女性の発話で相対的に多い。ただし女性の該当データの件数は 27 件にとどまることから、この違いが安定したものと考えてよいかについては慎重を要する。

年齢層別に見ると、口蓋化したジェで発音される割合は中年層で最も多いことがわかる。はっきりとジェで発音したケースが 1 割半、ジェの要素が多少なりとも含まれるケースを含めると 3 割近くに達する。なお、該当データの件数が先に見たセよりも少なく、若年層では 14 件、高年層でも 57 件にとどまることから、中年層が高いこうした傾向を安定したものと考えてよいかについては慎重を要する。

5. おわりに

本稿では、分析の第一段階として「件数」に注目し、1985 年頃の岡山県を中心とした地域におけるセとシェの対立、ゼとジェの対立を分析した。その結果、シェ・ジェのような口蓋化した方言音声は、テレビ番組のインタビューに答えるような改まった場面においても、現在と異なりまだ一定の割合聞くことができることを明らかにした。口蓋化音声の非口蓋化という、音声の共通語化における終盤の状況であったことを明らかにした。

今回は「件数」について分析した。ということは、同一人物が、たとえば共通語においてセを含む語を 10 回発話し、10 回ともシェであったらシェが 10 件というカウント方法で分析した。

しかしながら、これについては、セをシェで発音する人物が一人いたというように、「件数」ではなく「人数」でカウントし、その観点から分析することもまた必要である。また、同じくセを含む語であっても、「背中」のような語頭にセが来る場合と、「汗」のような語末にセが来る場合とでは、口蓋化した音声の残存割合が異なるかもしれない。

こうした、「人」の観点からの分析や、「言葉の構造」の観点からの分析は今後の課題である。

参考文献

尾崎喜光（2022）『地域紹介番組『くろーずＵＰせとうち』のインタビュー場面完全文字化資料－岡山県・香川県在住者を中心とするのべ 455 人の 1980 年代の話し言葉－』（非売品）

保育士のキャリア・パースペクティマップの作成と離職防止介入策の考案（２）

山陽学園大学　総合人間学部

松浦 美晴

（概要）保育士の離職要因には，外的要因と，当事者の内面に存在する内的要因の要因が含まれると想定できる。本研究では，保育士の離職予防のための新たな視点として「保育士にとっての多様な選択肢の中での保育職の選択」に焦点を当てる。中心となるのは，「キャリア・パースペクティブ」の概念である。本調査は，保育士の離職・転職に関わる要因を，「保育士のキャリア・パースペクティブマップ」に含めるべきものとして抽出することを目的として行われた。外的要因と内定要因の布置からそれぞれ 2 次元を抽出し，5 つの行動選択との関連を検討した。

背景と目的

待機児童問題は，自治体の取り組みによって軽減されつつある。保育環境をめぐる問題は，保育施設定員の確保から，保育の質の向上へと移りつつある。厚生労働省（2020）の「保育の現場・職業の魅力向上に関する報告書」によれば，女性の就業率の向上等に伴い保育ニーズが増えたため，保育の担い手の確保が困難であることは変わらない。質の高い保育を行うためには保育士の確保が必要である。養成校卒業時に就職した保育士の数は，離職によって減少する（厚生労働省，2015）。この段階での離職・就業継続の選択要因を明らかにしておくことが，保育士確保に有効といえる。離職時の選択要因が回避されれば，離職を防ぐことにつながるだけではなく，離職後の業種内での転職や，再就職へもつながる。先述の厚生労働省の報告書（2020）では，令和元年度の東京都保育士実態調査の結果から，保育士の離職理由を紹介している。挙げられた離職理由として「職場の人間関係」，「給料が安い」，「仕事量が多い」「労働時間が長い」，「健康上の理由（体力含む）」，「妊娠・出産」，「結婚」がある。また，離職者の約 7 割，そのうち 30 代の女性では 8 割が，短時間勤務での復職意向を持っている。離職理由としての人間関係，待遇，労働環境等の問題を回避しながら，個人要因やライフイベントによる生活の変化に合わせることのできる働き方として，彼らは短時間勤務を選択するのだと考えることができる。有資格者が個人の生活上の利便・都合に合わせて離職・再就職を選択するということである。保育士も一個人であり，キャリア選択の当事者であることを考えれば当然である。

さて，離職要因には外的要因と，当事者の内面に存在する内的要因が含まれる。さらに単なる個々の要因だけではとらえきれない保育士のキャリア選択のプロセスと，当事者の内面で作り出される内的状態の報告がある（神谷，2010；傳馬・中西，2014；香曽我部，2018）。当事者の内的状態と離職・就業継続の選択との関わりを検討することは，保育士確保のために有効と考えられる。

本研究では，保育士の離職予防のための新たな視点として「保育士にとっての多様な選択肢の中での保育職の選択」に焦点を当てる。中心となるのは，「キャリア・パースペクティブ」の概念である。キャリア・パースペクティブとは「自分の人生における，職業生活を中心とした生き方の，実現可能性が加味された短期的・長期的見通し」（矢崎・金井，2005）と定義される。この見通しの中には，保育士の離職要因となる，外的要因と，内的状態を含めた内的要因が含まれると想定される。

本研究の最終目的は，保育士のキャリア・パースペクティブを視覚化したマップを作成し，保育士の離職予防のための介入策を考案することである。そのために，保育士資格保持者を対象とする量的調査を実施した。離職・就業継続の行動選択の経験，および，行動選択の外的要因や内的要因となった経験を項目とし，経験の有無を尋ねた。選択行動類型と項目の経験頻度の関連から，保育士の離職・転職に関わる要因を，キャリア・パースペクティブマップに含めるべきものとして抽出した。本報告書は，その結果の報告である。

方法

対象者

特定の居住地域や施設に対象者が偏ることなく全国的な調査を行うため，調査会社を通じてインターネット調査を行った。調査会社のモニター登録者の中で，保育士資格を保持し保育士として勤務経験のある者を対象とした。性別は問わず，年齢は 20 歳以上とした。後述の離職・就業継続の選択経験の選択肢毎に 240 名，合計 1,200 名の回答を得た。

調査項目

プロフィール項目　居住地，年齢，性別，幼稚園教諭免状の有無，現在勤務しているまたは最後に勤務した施設の種類，そこでの雇用形態，施設の職員数を尋ねた。

離職・就業継続の選択経験　離職・就業継続の選択経験を，次の 5 つから選択するよう求めた。「勤務する施設を変えたいと考えたが，考え直し，変えないことにした」，「勤務する施設を変えた」，「保育職そのものを辞めたいと考えたが，考え直し，辞めないことにした」，「保育職そのものを辞めた」，「これまでに，勤務する施設を変えたくなったり，保育職を辞めたくなったりしたことはない」。複数の経験がある場合は，一番最近の経験に当てはまるものを 1 つ選択するよう求めた。

外的要因と内的要因　外的要因，内的状態要因の選択肢は，神谷 (2010)，傳馬・中西 (2014)，澤津・鎌田・山根(2015)，工藤･久保･髙木(2017)，香曽我部(2018)，東京都福祉保健局 (2018)，厚生労働省 (2020)，國田・槙尾 (2020) を参考に検討し決定した。また，研究代表者らの行った保育士資格保持者へのインタビュー調査（未発表）から抽出した要因を加えた。外的要因については，「＜離職・就業継続の選択経験の＞理由に関係のあるものを，いくつでも選んでください。」と教示し，58 項目からから該当するものをいくつでも選択するよう求めた。内的要因については，「＜離職・就業継続の選択経験の＞理由に関係のある，あなたの気持ちや考えを，いくつでも選んでください。」と教示し，59 項目から該当するものをいくつでも選択するよう求めた。さらに外的要因，内的要因それぞれに，「その他」という選択肢を加えた。その場合は内容を記述するよう求めた。

自由記述　「＜離職・就業継続の選択経験の＞状況や当時の思いについて，簡単にお書きください。」と教示し，自由記述を求めた。これについては分析中のため，本報告書では結果の報告は行わない。

結果と考察

回答者プロフィール

回答者の居住地は 47 都道府県全てに跨っていた。東京都が最も多く 149 名，大分県が最も少なく 4 名であった。年齢は平均値 40.85 歳，中央値 38.0 歳であった。性別は男性 67 名，女性 1124 名であった。987 名が幼稚園教諭一種または二種免許状を所持していた。最後に勤務した，または現在勤務している施設は，認可保育所が最も多く 654 名（54.5%），認定こども園 242 名（20.2%），児童福祉施設 55 名（4.6%），事業所内保育施設や院内保育施設を除く認可外保育所 34 名 (2.8%)，院内保育施設 33 名（2.8%），放課後児童クラブ 32 名（2.7%），企業が経営する民間保育施設 31 名（2.6%），事業所内保育施設 30 名（2.5%），地域子育て支援拠点施設 13 名（1.1%）と続き，その他が 76 名（6.3%）であった。

分析の手続き

外的要因と内的要因について，離職・就業継続の行動選択の類型ごとに選択頻度の高い項目を抽出するため，次の手続きを行った。まず，行動選択類型ごとに要因各項目の選択頻度を集計しクロス集計表を作成した。次にコレスポンデンス分析により，2 次元布置としてクロス集計の可視化を行った。クロス集計とコレスポンデンス分析には，SPSS for Windows のバージョン 25 を使用した。なお，要因のうち「その他」については，分析から外した。

離職・就業継続の行動選択類型と外的要因

コレスポンデンス分析による離職・就業継続の行動選択類型と外的要因の布置を図 1 に示す。原点付近に布置する項目は，行動選択類型間での偏りが小さい項目である。横軸の次元 1 の説明率は，全体の 66.1%であった。縦軸の次元 2 の説明率は，全体の 15.6%であった。

象限の解釈　軸の解釈を行うために，まず，象限の内容を検討し解釈する。第 1 象限は，「28：保護者との

関係性」「29：保護者からの感謝」「42：家族の理解と協力」「43：家族等の意向」「44：悩みを相談する相手の有無」等が布置しているため，「周囲の人がサポーティブかどうか」を表す象限と解釈できる。第 2 象限は，「19：転勤の自由度」「48：保育士不足による再就職の容易さ」「55：他の職の求人情報」等が布置しているため「勤務の流動性」を表す象限と解釈できる。第 3 象限は，「17：施設の理念や運営方針」「32：結婚」「36：妊娠・出産」「37：転居」「56：他の職の選択へのサポート」等が布置しているため，「ライフイベントと職務の両立が可能な職場かどうか」を表す象限と解釈できる。第 4 象限は，「39：通勤時間」「40：働くことが可能な家庭の状況」「45：地域との関係性」「58：定年」等が布置しているため，「勤務可能な環境にあるかどうか」を表す象限と解釈できる。

軸の解釈　象限の内容から，次元 1 は正方向が「現職を続けやすい環境」，負方向が「現職を続けにくい環境」と解釈できる。次元 2 は正方向が「自らの裁量の及ぶ環境」，負方向が「自らの裁量の範囲外の環境」と解釈できる。

選択行動の解釈　選択行動の布置を象限・次元との関係から考察する。まず「C：これまでに，『勤務する施設』を変えたくなったり，『保育職』を辞めたくなったりしたことはない」は，次元 1 の正方向，次元 2 の 0 付近やや負方向に布置している。「現職を続けやすい環境」により，転職・離職への意向が生じず，この選択に至ったと考えられる。

「A1：『勤務する施設』を変えたいと考えたが，考え直し，変えないことにした」「B1：『保育職』そのものを辞めたいと考えたが，考え直し，辞めないことにした」は，次元 1 の 0 付近，次元 2 の正方向に布置している。「自らの裁量の及ぶ環境」において，現職を続けにくくも続けやすくもない環境であることから，一旦転職・離職を考えながらも決断ができず，転職・離職を行わない選択に至ったと考えられる。

「A2：『勤務する施設』を変えた」「B2：『保育職』そのものを辞めた」は，次元 1，次元 2 とも負方向に布置している。「現職を続けにくい環境」であり，かつ，それが「自らの裁量の範囲外の環境」であることから，転職・離職を行う選択に至ったと考えられる。ただし，既に述べたように，次元 2 の説明率は全体の 15.6%と高くない。裁量性の影響は限定して考える必要があり，行動選択の大部分が現職の続けやすさに依存していると考えるべきかもしれない。また，「A2」と「B2」はともに第 3 象限に布置することから，「ライフイベントと職務の両立が可能な職場かどうか」により，離職もしくは転職が行われたと考えられる。

「A1」・「A2」と「B1」・「B2」の違い，つまり他施設への転職意向と保育職からの離職意向の違いを次のように考えることができる。他施設への転職意向は保育職からの離職意向に比べ，より原点に近い。ここから，他施設への転職意向は保育職からの離職意向に比べ，特有の理由を持たず生じたといえる。保育職からの離職意向は，次元 1 ではより負方向，次元 2 ではより正方向に布置する。そのため，保育職からの離職は他施設への転職に比べ，「現職を続けにくい環境」「自らの裁量の及ぶ環境」との関連がより大きいと考えられる。「自らの裁量の及ぶ環境」の方向には，「48：保育士不足による再就職の容易さ」「55：他の職の求人情報」などが布置する第 2 象限「勤務の流動性」があり，これが保育職からの離職をうながすと解釈できる。なお，「A1」は「21：職員数」「12：給与・賞与等」，「A2」は「17：施設の理念や運営方針」「25：職員間の上下関係」，「B1」は「5：保育士の権限範囲」「35：子育て・家事」，「B2」は「14：職員のための相談体制の充実度」「15：職員への評価制度」と隣接している。保育職からの離職はワークライフ・バランスとより関わりがあり，他施設への転職は施設の待遇とより関わりがあることが示唆される。

離職・就業継続の行動選択類型と内的要因

コレスポンデンス分析による離職・就業継続の行動選択類型と内的要因の布置が図 2 である。横軸の次元 1 の説明率は，全体の 54.5%であった。縦軸の次元 2 の説明率は，全体の 25.7%であった。

象限の解釈　第 1 象限は，「19：周囲からの期待に応えたい」「22：家族が応援してくれている」「25：保育士として働く必要がある」等が布置しているため，「保育士として期待されている」を表す象限と解釈できる。第 2 象限は，「20：周囲からの期待が負担になる」「44：保育士になるために時間やお金や労力を費やした」

「45:保育士として就職したことを後悔している」「47:離職に対する世間の目が気になる」「48:離職が次の就職に不利に働くと思う」等が布置しているため,「仕方なく保育士を続けている」を表す象限と解釈できる。第 3 象限は,「4:仕事と給与のバランスがとれているかどうか」「5:勤務上のストレスがあるかどうか」「52:自分が望む生活のイメージがある」「53:将来への希望がある」「57:他の土地で暮らしてみたい」等が布置しているため,「今と異なる生活への憧れ」を表す象限と解釈できる。第 4 象限は,「1:職場の状況に満足しているかどうか」「9:保育士としてのスキルアップができる職場かどうか」「15:職場が保育士の仕事を正当に評価しているかどうか」が布置しているため,「現在の職場で保育士としてやっていけそうか」を表す象限と解釈できる。

軸の解釈　象限の内容をもとに，次元 1 は正方向が「現職への肯定感」，負方向が「現職への否定感」となった。次元 2 は正方向が「保育職を続ける理由」，負方向が「将来への展望」であると解釈できる。

選択行動の解釈　選択行動の布置を象限・次元との関係から考察する。まず「C:これまでに,『勤務する施設』を変えたくなったり,『保育職』を辞めたくなったりしたことはない」は，次元 1 の正方向，次元 2 の 0 付近に布置している。「現職への肯定感」により，転職・離職への意向が生じず，この選択に至ったと考えられる。

「A1:『勤務する施設』を変えたいと考えたが，考え直し，変えないことにした」「B1:『保育職』そのものを辞めたいと考えたが,考え直し,辞めないことにした」は,次元 1 の 0 付近,次元 2 の正方向に布置している。一旦転職・離職へを考えながらも,「保育職を続ける理由」があり，現職への肯定感も否定感も小さいことから決断ができず，転職・離職を行わない選択に至ったと考えられる。

「A2:『勤務する施設』を変えた」「B2:『保育職』そのものを辞めた」は，次元 1，次元 2 とも負方向に布置している。「現職への否定感」があり，かつ，それが「将来への展望」と結びつくことで，転職・離職の選択に至ったと考えられる。

「A1」・「A2」と「B1」・「B2」の違い，つまり他施設への転職意向と保育職からの離職意向の違いを次のように考えることができる。保育職からの離職意向は次元 1 ではより負方向，次元 2 ではより正方向に布置している。そのため，保育職からの離職は他施設への転職と比べ,「現職への否定感」「保育職を続ける理由」との関連がより大きいと考えられる。「A1」が次元 2 上に布置するのに対し,「B1」が第 2 象限に布置することから，離職を思いとどまることは,「仕方なく保育士を続けている」状態であると考えられる。実際に「B1」は,「32:養成校を出たのだから保育士として働くのが当然と思う」と隣接している。「A2」と「B2」はともに第 3 象限に布置することから「今と異なる生活への憧れ」があるため，離職・転職が成されたと考えられる。「B2」は「5:勤務上のストレスがあるかどうか」「38:他の施設で生き生き働く自分を想像する」「52:自分が望む生活のイメージがある」「57:他の土地で暮らしてみたい」と隣接している。「A1」「A2」は特定の項目と隣接していない。他施設への転職は，保育職からの離職に比べると，特定の要因との関連は小さいと考えられる。

総合考察

本調査の結果，次のことが示された。(1) 外的要因の「現職を続けやすい環境」と，内的要因の「現職への肯定感」があれば，保育職からの離職や他施設への転職の行動選択が生じにくい。(2) 保育職からの離職や他施設への転職を考えながら思いとどまるという行動選択は，外的要因として現職を続けにくくも続けやすくもない環境であり，内的要因として保育職を続ける理由があり現職への肯定感も否定感も小さい，という場合に生じる。ただし，保育職からの離職を思いとどまるという行動選択は，内的要因においては「仕方なく保育士を続けている」状態でもある。(3) 保育職からの離職や他施設への転職に至るという行動選択は,外的要因の「現職を続けにくい環境」，具体的には「ライフイベントと職務の両立」が難しい環境において，内的要因の「現職への否定感」と「将来への展望」，具体的には「今と異なる生活への憧れ」がある場合に生じる。(4) 保育職からの離職は他施設への転職に比べ,外的要因の「現職を続けにくい環境」，特にワークライフ・バランスとの関連がある。また，内的要因の「現職

への否定感」「保育職を続ける理由」との関連，さらに特定の内的要因との関連がある。そして，保育職からの離職は「勤務の流動性」により促される。(5) 外的要因において「自らの裁量の及ぶ環境―自らの裁量の範囲外の環境」の次元が見出された。この次元は，説明率が小さいため，行動選択との関連も小さいと考えられるが，次の可能性もある。離職・転職を考えながら実行しないという行動選択が「自らの裁量の及ぶ環境」と関連した一方で，離職・転職に至るという行動選択が「自らの裁量の範囲外の環境」と関連した事から，自分ではどうにもならない環境の要因から，離職・転職を選択する可能性である。一方，保育職からの離職は他施設への転職に比べ，「自らの裁量の及ぶ環境」との関連が大きかった。

さて，以上をふまえると，離職・転職を考えながら実行しないという行動選択と，離職・転職にまで至る行動選択とは，途中まで共通のプロセスを経て分岐するのではなく，始めから別のプロセスである可能性がある。前者に関しては，上記結果の(2)から，離職・転職という選択肢が，現職を続けやすくも続けにくくもなく，現職への肯定感も否定感もない，いわば中途半端な状態で思い浮かぶと考えることができる。一方，実際の離職・転職の行動選択は，上記結果(3)から，現職の妨げとなる環境があり，現職への否定感に加え今と異なる生活への憧れによってなされるといえる。現職の妨げとなる環境とは具体的には，妊娠・出産や結婚などのライフイベントとの両立ができない職務環境である。また，2 つのプロセスの違いには，自らの裁量が及ぶ環境であるかどうかも関わる可能性がある。

上記結果(4)から，現職の妨げとなる環境や現職への否定感がより深刻な場合には，他施設への転職ではなく保育職からの離職が行われると考えられる。ただし，自らの裁量が及ぶ環境であることが，転職より離職を選択させている可能性がある。保育士の確保を目標とした場合，保育職からの離職は問題となる。しかし，今回の結果は，一旦離職を考えながら思いとどまるという選択は，仕方なく保育士を続けていることであり，離職に至る選択は，将来への展望と関わっていることが示唆された。ここから，個人の幸福追及という視点では，離職の選択は必ずしもネガティブなものとは限らないといえる。最初に述べたように，保育士も一個人であり，キャリア選択の当事者である。保育士を確保したいという保育行政の立場と，個人の幸福追及の立場とが，利益相反を起こさないよう，対策を講じる必要がある。今回の結果はまた，保育職からの離職に至る選択とワークライフ・バランスとの関連を示唆しており，私生活上の要請を妨げない勤務環境の整備が求められる。より詳細な考察のために，今後は自由記述の分析を進めてゆく予定である。

文献

傳馬淳一郎・中西さやか (2014). 保育者の早期離職に至るプロセス：TEM（複線径路・等至性モデル）による分析の試み 地域と住民 : 道北地域研究所年報 32, 61-67.

神谷哲司 (2010). 保育系短期大学生の進学理由による保育者効力感の縦断的変化 保育学研究, 48 (2), 92-201.

厚生労働省 (2015). 保育士等に関する関係資料 第３回 保育士等確保対策検討会 https://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-11901000-Koyoukintoujidoukateikyoku-Soumuka/s.1_3.pdf (2023 年 4 月 27 日)

厚生労働省 (2020). 保育の現場・職業の魅力向上に関する報告書 保育の現場・職業の魅力向上検討会 https://www.mhlw.go.jp/content/11907000/000677595.pdf (2022 年 1 月 20 日)

香曽我部 琢 (2018). 保育者が潜在化するプロセス：潜在保育士の後悔という感情に焦点を当てて 宮城教育大学情報処理センター研究紀要：COMMUE, 25, 47-53.

工藤 歩・久保隆志・髙木博史 (2017). 保育人材確保に関する現状と課題：保育士雇用環境アンケート調査の結果から 日本福祉大学社会福祉論集, (136), 127-142.

國田祥子・槙尾真佐枝 (2020). 保育者のやりがいは何によって支えられているのか 中国学園紀要, 19, 141-147.

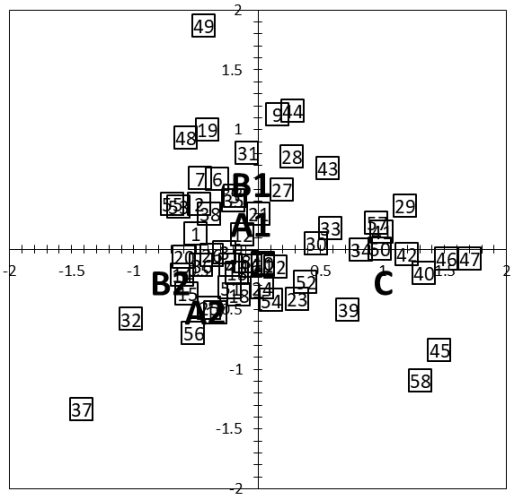
澤津まり子・鎌田雅史・山根薫子 (2015). 潜在保育士の実態に関する調査研究：離職の要因を探る 就実論叢, 45, 191-200.

東京都福祉保健局 (2018). 平成 30 年度東京都保育士実態調査結果（報告書） https://www.fukushihoken.metro.tokyo.lg.jp/kodomo/shikaku/30hoikushichousa.html (2022 年 1 月 17 日)

矢崎裕美子・金井篤子 (2005). キャリア・パースペクティブ尺度作成の試み 日本社会心理学会第 46 回大会発表論文集, 308-309.

図1　コレスポンデンス分析による離職・就業継続の行動選択類型と外的要因の布置

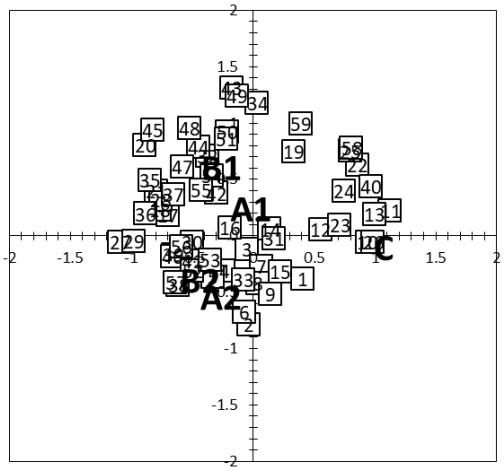
1　業務負担の量	30 自分の趣味と仕事の両立
2　保育以外の雑務	31 奨学金の縛り
3　業務の内容	32 結婚
4　労働時間	33 離婚
5　保育士の権限範囲	34 配偶者の意向
6　保育士の責任範囲	35 子育て・家事
7　業務負担を軽減する業務支援システムの有無	36 妊娠・出産
8　勤務シフト	37 転居
9　時間単位の勤務が可能かどうか	38 家族の介護
10 休暇日数	39 通勤時間
11 有給休暇取得のしやすさ(しにくさ)	40 働くことが可能な家庭の状況
12 給与・賞与等	41 自分の子どもの独立
13 研修の充実度	42 家族の理解と協力
14 職員のための相談体制の充実度	43 家族等の意向
15 職員への評価制度	44 悩みを相談する相手の有無
16 施設・上司からの自分への評価	45 地域との関係性
17 施設の理念や運営方針	46 保育する子どもとのふれあい
18 施設の保育内容	47 保育する子どもの成長
19 転勤の自由度	48 保育士不足による再就職の容易さ
20 職場からの退職へのプレッシャー	49 世間の経済状況(景気の良し悪し)
21 職員数	50 保育士の専門性
22 職員間のコミュニケーション	51 有期雇用
23 職員同士の共感や連携	52 雇用形態
24 職場の人間関係	53 保育施設の求人情報
25 職員間の上下関係	54 保育施設就職へのサポート
26 自身の健康状況	55 他の職の求人情報
27 自分の職業適性	56 他の職の選択へのサポート
28 保護者との関係性	57 雇用の安定
29 保護者からの感謝	58 定年



A1「勤務する施設」を変えたいと考えたが，考え直し，変えないことにした
A2「勤務する施設」を変えた
B1「保育職」そのものを辞めたいと考えたが，考え直し，辞めないことにした
B2「保育職」そのものを辞めた
C　これまでに，「勤務する施設」を変えたくなったり，「保育職」を辞めたくなったりしたことはない

図2　コレスポンデンス分析による離職・就業継続の行動選択類型と内的要因の布置

1　職場の状況に満足しているかどうか	31 保育士資格は役に立つ
2　職場の運営方針に納得しているかどうか	32 養成校を出たのだから保育士として働くのが当然と思う
3　給与・賞与に満足しているかどうか	33 自分のキャリアアップの可能性を考える
4　仕事と給与のバランスがとれているかどうか	34 保育士として勤務することより資格を持つことに意味がある
5　勤務上のストレスがあるかどうか	35 他の職について生き生きと働く自分を想像する
6　人を育てようという職場環境かどうか	36 他のやりたい・やりたかった職業がある
7　職場の雰囲気がよいかどうか	37 保育士以外のキャリアへのあこがれがある
8　職場の人間関係に満足しているかどうか	38 他の施設で生き生き働く自分を想像する
9　保育士としてのスキルアップができる職場かどうか	39 他の施設では良い環境があるのではと思う
10 保育士の仕事が充実しているかどうか	40 保育士を目指したときの気持ちを思い出す
11 保育士としての使命感があるかどうか	41 過去に様々な進路選択のチャンスがあった
12 保育士の仕事の楽しさがあるかどうか	42 過去に保育士になろうか迷った
13 保育士の仕事への誇りがあるかどうか	43 過去に保育士以外の選択肢がなかった
14 保育士としての自信があるかどうか	44 保育士になるために時間やお金や労力を費やした
15 職場が保育士の仕事を正当に評価しているかどうか	45 保育士として就職したことを後悔している
16 社会が保育士の仕事を正当に評価しているかどうか	46 勤務施設を選択したことを後悔している
17 仕事をやらされている感じがする	47 離職に対する世間の目が気になる
18 気合が入らない，頑張れない	48 離職が次の就職に不利に働くと思う
19 周囲からの期待に応えたい	49 環境を変えるのが怖い
20 周囲からの期待が負担になる	50 新しい人間関係を作るのが苦手
21 家族に負担をかけていると思う	51 自分の希望する勤務年数が決まっている
22 家族が応援してくれている	52 自分が望む生活のイメージがある
23 保育士の仕事にやりがいを感じている	53 将来への希望がある
24 保育している子どもへの思いがある	54 楽しみたい趣味がある
25 保育士として働く必要がある	55 お金のゆとりが欲しい
26 保育士として働く意欲がある	56 時間のゆとりが欲しい
27 他の職で働く必要がある	57 他の土地で暮らしてみたい
28 他の職に興味がある	58 今の土地に住み続けたい
29 他の職で働く意欲がある	59 都会で暮らしてみたい
30 保育士資格があればいつでもどこでも仕事に就	



A1「勤務する施設」を変えたいと考えたが，考え直し，変えないことにした
A2「勤務する施設」を変えた
B1「保育職」そのものを辞めたいと考えたが，考え直し，辞めないことにした
B2「保育職」そのものを辞めた
C　これまでに，「勤務する施設」を変えたくなったり，「保育職」を辞めたくなったりしたことはない

ダウン症児の母親に対する就労継続支援プログラムの開発
～企業の人材不足改善に向けた取り組み　その１～

山陽学園大学

上地玲子・稲田正文

（概要）
就労意欲のある女性が結婚や出産後も仕事を継続するためには安心できる育児・保育環境の確保が必要である。とりわけ子どもに障がいがある場合,個々の発達的課題に応じた適切な保育を求められるが,早期離職などにより経験値の高い保育士が不足しているのが現状である。
このような状況で，障がい児を出産した母親の就労実態についての調査は少なく，また，障がい児の母親がどのような支援によってワーク・ロスを回避できるのかに関する研究もない。本研究では，ダウン症児の母親の就労状況について，当事者へのアンケートならびにインタビューによって明らかにし，就労継続に必要な支援を検討することにより，支援プログラムを構築する。行政の支援については都道府県によって差があるため，今回は岡山県を中心に調査を実施する。

はじめに

平成 27（2015）年に「女性活躍推進法」が策定され，女性が仕事を続けやすくするための環境づくりが求められている。また,令和 4(2023)年に改正がなされ，男女間賃金格差の縮小を図ることが追加された。この背景には，少子高齢化によって企業等における人材不足が深刻化しており，就労意欲のある女性が結婚や出産後も仕事を継続できる仕組みへの期待がある。

出産後も仕事を継続するためには保育施設が必須であり，政府も保育士待遇改善に向けて種々の政策を実施しているが，現状では，保育士不足が深刻化し，早期離職問題もあるためにベテラン層が少なく，質の良い保育環境を確保することが困難である。子どもたちの置かれている多様な状況に合わせた保育が求められ，特に子どもに障がいがある場合，個々の発達的課題に応じた適切な保育を提供できる経験値の高い保育士も不足している。

筆者らは，これまでに保育士のリアリティショック等の研究を通して保育環境の充実について考察してきた。一方目を転じると，利用する母親側の問題については検討できておらず,特に障がい児を育てている母親の就業については，研究が少ないことに気づく。

近年，母体血胎児染色体検査（noninvasive prenatal genetic testing，以下 NIPT)によって,胎児に染色体異常(多くは 21 トリソミーであるダウン症候群）かどうかを調べる検査が増加しており,2022 年度からは 35 歳以上とされてきた条件を撤廃し，すべての妊婦が受けられることになった。また，臨床遺伝専門医や遺伝カウンセラーのいない施設において十分な情報を得られる機会が少ないまま検査が実施されている。このことは,多くの妊婦が NIPT によって「陽性（染色体異常があると判定)」となった場合，現実的な情報を知ることなく，安易な中絶をしてしまう懸念が想定される。また，出産しても，仕事を続けることを断念した場合は，母親の精神的健康にもネガティブな影響を及ぼすだけではなく，家庭経済の問題や企業等における人材不足にもつながる。

出生前検査によって，胎児に障がいがあることが判明すると，妊娠をあきらめるケースが多い。川名ら(2000)は，出生前検査を受けようと思う理由は,「障がい児を育てる自信がない」および「日本ではまだ障がい児・者その家族に対する行政の援助が乏しいため」と回答する割合が 80%弱であることを報告している。行政の援助の中に，保育施設の利用が可能であるかどうかが含まれているのかについては明確ではないが，いわゆる健常児であった場合の暮らしと同等にできないことを不安に感じていることが考えられる。

障がい児の出産が母親の就労状況にどのような影響を与えるのかについての実態について調査しているものは少ない。内閣府男女共同参画局(2019)に示されているように，第一子出産前後の女性の離職率が高いことは知られている（図１)。しかし，障がい児の出産と離職とは関連するのか，また，障がい児の母親がどのような支援によってワーク・ロスを回避できるのかに関する研究は少ない。

本研究では障がい児の中でも，出生前検査でターゲットとされがちであるダウン症児について焦点を当て，ダウン症児を出産した母親の就業状況について明らかにし，就業継続にはどのような支援が必要であるのかを検討することによって，支援プログラムを構築する。また，行政の支援については，都道府県によっても差があるため，今回は岡山県を中心に調査を実施する。

なお，倫理的配慮については，山陽学園大学倫理審査の承認を経て実施している。

(A2022U010)

方法

日本ダウン症協会岡山支部（以下，JDS 岡山支部）にアンケートの協力を依頼し，会員約 150 家族のうち，ダウン症児の母親に対して Google フォームにて実施した。

アンケート内容は，選択式 5 項目，記述式 3 項目であり，個別インタビューの協力可否も併せて尋ねた。調査時期は，2023 年 4 月 1 日から 2023 年 4 月 19 日であった。統計処理は単純集計を行った。

結果

有効回答数 33 名であった。子どもの年齢は，3 歳から 36 歳であり，平均 11.6 歳であった。

回答時の母親の年齢は 36 歳から 64 歳であり，平均 48.3 歳であった（表 1）。

表 1.回答時の母親の年代

回答時の母親の平均年齢 48.3 歳		
30 歳代	40 歳代	50 歳以上
(12%)	(52%)	(36%)

子どもの年齢から母親がダウン症児を出産したときの平均年齢は，36.7 歳であった(表 2)。

表 2.ダウン症児出産時の母親の年代

母親の出産時平均年齢 36.7 歳		
20 歳代	30 歳代	40 歳代
(9%)	(61%)	(30%)

回答時の母親の就労形態は，正規職員および非正規職員の割合が同じであり，無職がそれに続いた(表 3)。

表 3.回答時の母親の就労形態

回答時の母親の就労形態			
正規職員(33%)	非正規(33%)	個人事業主・自営業(6%)	無職(27%)

結果の概要をまとめたものは，表４に示す。出産後に就労の変化があった場合に自由記述を求めたところ，24%が就労時間の短縮を経験していた。

考察

本研究の目的は，ダウン症児の母親の就労状況について明らかにし，就労継続に必要な支援を検討することであり，その結果を今後の支援プログラムの構築に資することである。

有効回答数 33 名で子どもの年齢が 3 歳から 36 歳と広く分布しているが，20 歳以上が 3 名と少数であり，子どもの平均年齢は 11.6 歳と低くなっている。

母親がダウン症児を出産したときの年齢は 30 歳代が 61%であり，平均年齢は 36.7 歳であった。本調査の回答時の母親の就労形態については，正規および非正規職員を合わせると 66%，無職が 27%である。厚生労働省の調査では女性雇用者数の割合は 45%前後であることから，本調査の回答者に有職者が多い傾向を示している。内閣府報告の出生数と就業継続 (2017) によれば，30 代前半の出産・育児を理由とした離職者の数が他の年代に比較して高く，インタビューを通じて回答者の就業継続・離職の理由など状況を明らかにする必要がある。

インタビュー協力者の人数が予想よりも少なかったので，協力者全員に依頼する。そのため子どもの年齢構成が予定とは異なることになる。

今後の課題

インタビュー対象者は，本アンケート回答者のうち，インタビュー協力が可能であると回答したもの 14 名を対象に実施し，詳細を聞き取る。

文献

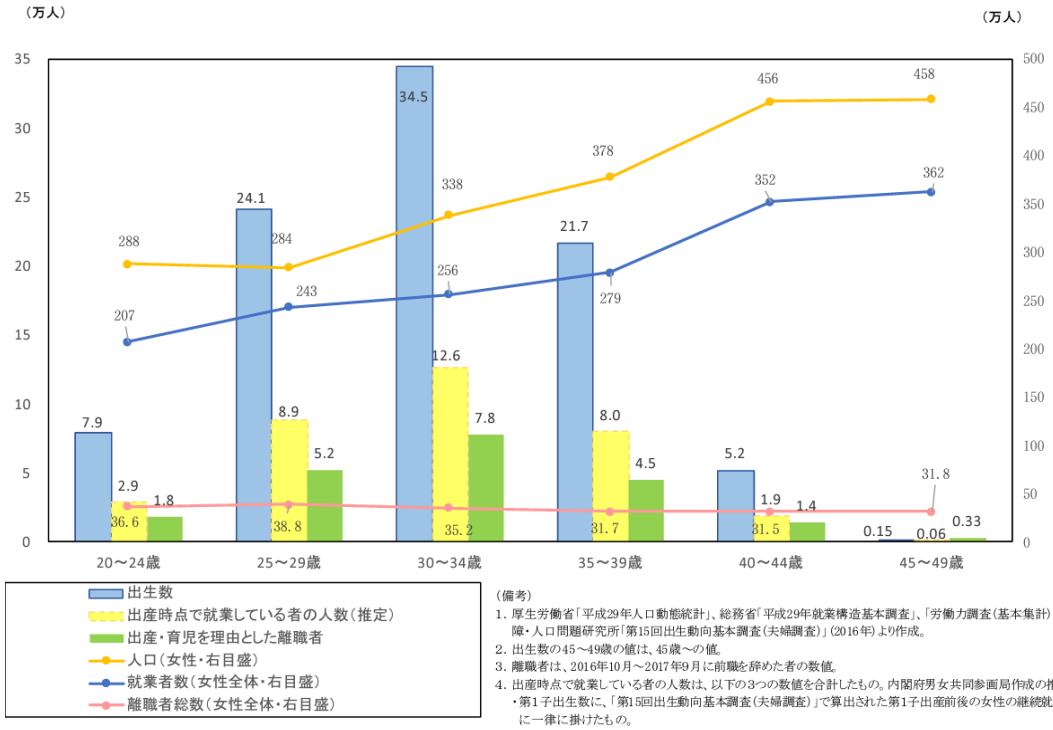
上地玲子 ・松浦美晴・岩永誠(2023). ダウン症児の母親におけるリアリティショック尺度の信頼性と妥当性の検討. 日本保健医療行動科学雑誌（投稿中).

川名はつ子・菊地潤・中村泉 (2000). 出生前診断についての人びとの意識の現状. 日本保健福祉学会誌 7,31-40.

厚生労働省　仕事と育児等の両立に関する実態把握のための調査研究事業　令和２年度厚生労働省委託事業
https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000200711_00003.html(2023.4.27)
厚生労働省　女性活躍推進法特集ページ
https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000091025.html(2023.4.27)
内閣府男女共同参画局　「共同参画」2019 年 5 月号
https://www.gender.go.jp/public/kyodosankaku/2019/201905/201905_02.html(2023.4.27)
松浦美晴・上地玲子・皆川順・岡本響子・岩永誠(2022)．新人保育士のリアリティショック尺度の開発 －ストレス尺度との関連－．中国四国心理学会第 50 回大会発表論文集 67.
松浦美晴・上地玲子(2023)．民間企業を運営母体とする保育所が持つ保育士にとっての魅力の検討．山陽論叢 29,74-79.

表４　アンケート回答者の属性概要

子どもの年齢		回答時の母親の年齢			母親の出産時年齢			回答時の母親の就労形態				出産後に就労形態の勤務時間減少
年齢(歳)	対象人数	30歳代 (12%)	40歳代 (52%)	50歳以上 (36%)	20歳代 (9%)	30歳代 (61%)	40歳代 (30%)	正規職員 (33%)	非正規 (33%)	個人事業主・自営業 (6%)	無職(27%)	(24%)
3	2	2				2		1			1	
4	2		2				2				2	1
5	3		3			1	2	3				
6	1	1				1		1				
7	3		2	1		1	2	2			1	1
9	2		2			2		1	1			
10	3		2	1		2	1		3			1
11	4	1	2	1	1	2	1				4	2
12	1		1			1			1			
13	3		1	2		2	1	1	1	1		
14	1		1			1			1			
15	1			1		1			1			1
17	1			1		1				1		1
18	2		1	1	1	1		2				
19	1			1			1		1			
23	1			1		1			1			1
24	1			1		1			1			
36	1			1	1						1	



（備考）
1. 厚生労働省「平成29年人口動態統計」、総務省「平成29年就業構造基本調査」、「労働力調査（基本集計）」（平成29年）、国立社会保障・人口問題研究所「第15回出生動向基本調査（夫婦調査）」（2016年）より作成。
2. 出生数の45～49歳の値は、45歳～の値。
3. 離職者は、2016年10月～2017年9月に前職を辞めた者の数値。
4. 出産時点で就業している者の人数は、以下の3つの数値を合計したもの。内閣府男女共同参画局作成の推定値。
・第1子出生数に、「第15回出生動向基本調査（夫婦調査）」で算出された第1子出産前後の女性の継続就業率（38.3％）を各年齢階級に一律に掛けたもの。
・第2子出生数に、「第15回出生動向基本調査（夫婦調査）」で算出された第2子出産前後の女性の継続就業率（32.6％）を各年齢階級に一律に掛けたもの。
・第3子～の出生数に、「第15回出生動向基本調査（夫婦調査）」で算出された第3子出産前後の女性の継続就業率（41.5％）を各年齢階級に一律に掛けたもの。出生数は、第3子のみではないが、便宜的に第3子の継続就業率を掛けている。
5.「出生数」、「出産時点で就業している者の人数（推定）」、「出産・育児を理由とした離職者」は、小数点第2位（45～49歳は小数点第3位）で四捨五入している。

図1　出生数と就業継続の状況（女性・年齢階級別，2017）

災害弱者の健康管理に向けた栄養教育方法の検討

（所　属）山陽学園短期大学　健康栄養学科

（氏　名）岩崎由香里

（概要）災害はいつ起こるか予想ができない状況にあり、災害が起こった際には、通常の食事とは違う形態の食事が提供される場合が多い。しかし、被災者の中には、嚥下や咀嚼の困難な高齢者、育児用ミルクを飲んでいる乳児、離乳食を食べている乳幼児など、食に対しての配慮が必要な人々（以降「災害弱者」と言う）がいる。これらの災害弱者に対する食材備蓄状況を調査した研究はみられず、災害弱者への栄養教育の実施が行われているかどうかも定かではない。そこで、給食施設や学生に対して、災害弱者への備蓄状況や災害弱者の栄養教育についての意識を調査し、分析を行った。給食施設の担当者や学生は、災害弱者の栄養教育の重要性を理解していたが、実際に備蓄を行うところまではできていない状況がみられた。

また、災害弱者が活用できる災害食レシピを開発し、地域で説明会や栄養教育（災害食の調理実習等）を実施した。災害弱者の栄養教育を定着していくためには、地域での実践活動を増やすとともに、短大の栄養士養成のカリキュラムの中に、災害弱者の栄養教育の内容を取り入れていく必要があると考える。

1. 背景

災害はいつおこるか予想ができない状況にある。災害が起こった際には、水道、ガス、電気などのライフラインが止まることが多く、その場合、まず空腹を満たすことが優先され、パンやおにぎりなどの簡易な食事が提供されることが多い。

しかし、このような栄養バランスを考慮していない食事が長期化すると、体に必要な栄養素を補うことができず、健康を損なう恐れがある。

被災者の中には、嚥下や咀嚼の困難な高齢者、育児用ミルクを飲んでいる乳児、離乳食を食べている乳幼児、食に関連した疾患をもつ人など、食に対しての特別な配慮の必要な人々（以降「災害弱者」と言う）がいる。これらの災害弱者のことを念頭に、日ごろから適切な備蓄等の準備を進めておくことが重要である。災害弱者は、地域の高齢者施設・保育園・小学校等の給食施設に所属している場合が多いことから、給食施設での適切な食材備蓄や利用者に対する災害時の健康管理に向けた栄養教育が重要であると考えられる。

しかし、給食施設の食材備蓄状況のみを調査した研究はあるが、災害時に備えた栄養教育の実施状況まで調査した研究は見られない。災害時に人々の健康を守るためには、給食施設の栄養教育担当者（栄養士等）が適切な栄養教育を実施することが望まれる。

そこで、給食施設の食材備蓄状況や災害弱者の健康管理に向けた栄養教育の実施状況や実施内容を明らかにしていきたい。さらに、給食施設の栄養士を目指す学生に対しても調査することで、災害弱者の健康管理に向けた栄養教育に必要な因子を分析していきたい。この分析結果を元に、災害弱者の健康管理に向けた栄養教育方法を検討していく。

災害弱者への栄養教育の方法としては、どのような場面でも栄養教育を行うことができるＩＣＴ教材の食事診断ソフトを活用することが効果的ではないかと考える。災害弱者を想定した活用方法を検討する。また、災害時には、限られた道具・食材で、食事提供を行うことが想定される。そこで、災害弱者の健康管理ができるレシピを考案し、災害弱者への栄養教育に取り入れていく。

効果的な災害弱者の栄養教育方法を給食施設に広めることで、給食施設での災害に対する意識が高まり、平常時以外でも利用者の健康管理を行っていくことができるようになると考えられる。さらに、こうした観点を栄養士養成の教育に取り入れていくことで、学生が給食施設に就職した際にも、災害弱者の健康管理に向けた栄養教育を実施することができ

るようになると考える。

給食施設の栄養教育担当者(栄養士等)をはじめ、多くの人々が災害弱者への栄養教育の知識を身に付けることで、平常時、災害時に関わらず、利用者や地域の人々の健康を守っていくことを目指したい。

2.方法

1）対象と調査方法

研究デザインは断面調査とし、0 市内の高齢者施設・保育園・小学校の管理者・給食担当者に、自記式質問紙調査用紙を郵送し、記入後に調査用紙を返信してもらった。

【対象給食施設】

小学校 85 校
介護老人保健施設 25 施設
介護老人福祉施設　29 施設
病院 34 施設　私立保育園 42 園
公立保育園 55 園　中学校 38 校
計 308 施設

【返信のあった施設数】

学校 44 校　　保育園 40 園
病院 12 施設　高齢者施設 21 園
計 117 施設

【調査内容】

災害時の準備性
備蓄の有無、量、内容
災害に遭遇の有無
災害訓練等の経験の有無
災害に対する学習機会の有無
災害弱者についての知識の有無
災害弱者への配慮の知識の有無
災害弱者用の備蓄の有無、内容
災害時の栄養教育の必要性
防災意識への影響
ソーシャルキャピタルの状況
災害弱者への備蓄の必要性
災害弱者への栄養教育の必要性

栄養士を目指す学生には、授業後に、自記式質問紙調査用紙を配付し、記入後にボックスに提出してもらった。

【対象学生】

栄養士を目指す学生（2 年生）　68 名

【調査内容】

災害時の準備性
備蓄の有無、量、内容
災害に遭遇の有無
災害訓練等の経験の有無
災害に対する学習機会の有無
災害弱者についての知識の有無
災害弱者への配慮の知識の有無
災害弱者用の備蓄の有無、内容
災害時の栄養教育の必要性
防災意識への影響
ソーシャルキャピタルの状況
災害弱者への備蓄の必要性
災害弱者への栄養教育の必要性

2）調査期間

給食施設への調査用紙送付：2022 年 11 月～12 月
学生の調査用紙記入：2022 年 12 月
災害食レシピの開発：2022 年 5 月～11 月
説明・栄養教育の実践：2022 年 11 月～2 月

【倫理的配慮】

本調査は、山陽学園大学・短期大学の研究倫理審査委員会の審査・承認を得て実施した。

【解析方法】

SPSS ver.27（IBM）を使用し、有意水準は 5%とした。

3）栄養教育（災害食の調理実習等）の実施方法

（1）災害食レシピの開発

災害弱者の健康管理に向けた栄養教育方法の検討を行い、災害弱者が活用できるレシピの考案及びレシピ集を作成した。

調理方法は、災害時の限られた道具で調理できるパッククッキングを利用した。食材は、備蓄に適した食材を活用し、簡易にできるレシピとした。災害時に不足しがちな栄養素を補うために備蓄に適したトマト果汁を活用した。

参加学生：3 名
試作回数：5 回
レシピ数：9 品
「トマトカレー」「トマトオレンジ寒天」
「トマ玉ごはん」「マッシュポテト」
「ボロネーゼ」「高野豆腐の麻婆豆腐」
「フルーツ白玉」「すいとん」「トマトスープ」



図 1　パッククッキングの様子

（2）短大でのカリキュラムの考案及び導入

分析した結果をもとに、栄養士を目指す学生教育の中に、災害弱者の健康管理に向けた栄養教育をどのように取り入れるかを検討した。その学修内容を授業に取り入れた。

授業科目：栄養指導実習Ⅱ

栄養教育の中に、災害時の栄養教育を盛り込んだ。学生に、災害時に必要な食の知識と栄養教育方法、特に災害弱者への配慮や栄養教育の必要性について講義を行った。

（3）説明会・栄養教育の実施

災害食レシピを活用して、災害弱者の健康管理に向けた栄養教育（調理実習を含む）を実施した。

①学童とその保護者

「食育実践活動」

日時：2022 年 11 月 26 日 10 時～12 時
場所：せとうち農園
内容：災害時の食支援の講話
　　災害食の調理実習と食育実践

学童とその保護者に対して、災害時の食支援についての講話と災害食の調理実習を行った。参加学生は、学童や保護者に対しての指導方法を身に付ける機会となった。



図 1　栄養教育の様子

参加者の感想
・災害時の備蓄が大切だとわかった。
・こどもと一緒にできるのがとても良い。など

学生の感想
・参加者とともに活動できて楽しい。
・参加者への伝え方の勉強になった。など

②岡山市民

「災害時の食支援
～命と心をつなぐ　災害食づくり～」
日時：2023 年 2 月 24 日 10 時～12 時
場所：岡山市立東公民館
内容：災害時の食生活・栄養の効果や食事の工夫についての講話、調理実習

岡山市が進める「安全安心ネットワーク」（各地域団体の連携組織）を支援する事業で地域活動を担う人材育成をめざす「地域応援人づくり講座」として実施した。

参加者の感想
・平素から備蓄しないといけないと感じた。
・調理実習のある講座は、効果があると思う。
・災害についての知識が身に付いた。　など

4）学会発表及び論文投稿

今回の調査結果について、論文を作成中であり、災害食学会に投稿する予定である。

3.結果

表 1 基本属性

	給食施設管理者・給食担当者（n=117）	栄養士を目指す学生（n=68）
	n（%）	n（%）
年齢		
10 代	0	28（41.1）
20 代	10（8.9）	38（55.9）
30 代	11（9.7）	1（1.5）
40 代	25（22.1）	1（1.5）
50 代	60（53.1）	
60 代	7（6.2）	
	無回答 4	
性別		
男性	29（24.8）	3（4.4）
女性	88（75.2）	65（95.6）

表 2 災害弱者について

	給食施設管理者・給食担当者（n=117）	栄養士を目指す学生（n=68）
	n（%）	n（%）
災害弱者の備蓄の有無		
あり	64（54.7）	4（5.9）
対象者なし	21（17.9）	53（77.9）
対象者がいるがなし	32（27.4）	11（16.2）
災害弱者の栄養教育が必要だと思うか		
強く思う	31（26.5）	21（30.9）
思う	75（64.1）	39（57.4）
どちらでもない	9（7.7）	3（4.4）
思わない	0	1（1.4）
全く思わない	0	0
分からない	2（1.7）	4（5.9）

1）基本属性

給食施設の担当者の年代は、50 代 60 人（53.1%）が多かった。一方、学生の年代は、20 代 38 人（55.9%）が多かった。

給食施設の担当者の性別は、男性の方が多かった。一方、学生の性別は、女性の方が多かった。

2）災害弱者について

災害弱者の備蓄の有無は、給食施設の担当者では 64 人（54.7%）、学生では 4 人（5.9%）が備蓄ありと答えていた。給食施設の担当者では 21 人（17.9%）が、学生では 53 人（77.9%）が、対象者がいないため備蓄なしと答えていた。給食施設の担当者では 32 人（27.4%）が、学生では 11 人（16.2%）が、対象者がいるが備蓄なしと答えていた。

災害弱者の栄養教育が必要だと思うかについては、「強く思う」と「思う」をあわせた割合が、給食施設の担当者 106 人（90.6%）、学生 60 人（88.3%）とともに高い割合であった。

4.結論

給食施設及び学生に対して、調査を行った結果、災害弱者についての備蓄や栄養教育の重要性は理解できていても、実際に備蓄を行うところまではできていない状況がみられた。さらに結果を詳細に分析し、学会等で発表する予定である。

また、災害食のレシピを考案し、レシピ集にまとめ、地域において栄養教育を実施した。しかし、栄養教育の回数が少なかったため、災害弱者の栄養教育の地域への定着は、十分とは言えない。

今後も災害弱者の栄養教育を定着していくために、地域での実践活動を増やすとともに、短大の栄養士養成のカリキュラムの中、に災害弱者の栄養教育の内容をさらに取り入れていきたい。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、ご支援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いたします。

プレゴールデンエイジ期における運動学習に関する科学的動作解析

佐々木　公之[1]、大田　住吉[2]、 桃原　司[3]、後藤大輔[3]、梶西将司[1]
[1]中国学園大学、 [2]筑波学院大学、 [3]川崎医療福祉大学

（概要）
2020 年以降の新型コロナウィルス感染拡大は、子どもたちの運動習慣にも大きな影響を与えた。しかしながら、こうした環境下においても次世代を担う地域の子ども達の体力増強や運動能力向上を図る必要がある。
本研究チームは、過去 3 年にわたり、プレゴールデンエイジ期（1 歳半～5 歳）にフォーカスし、「キンダートーネン（ドイツ式子ども体操）運動学習」による効果について、科学的な測定・検証を行ってきた。一方で、全国的に 4 ～5 歳児の体力測定は行われておらず、地元岡山県内におけるプレゴールデンエイジ期の子どもの体力測定、運動習慣等について、今一度検証する必要があることが課題として浮上した。
こうした課題を解決するため、本研究では本年度、岡山県総社市において運動測定会を開催し、参加者 85 名の形態測定、体力測定、保護者へのアンケート調査等を実施し、統計解析による分析・検証を行った。その結果、身体的特性や運動能力の性差による特徴に加え、運動経験（習い事）の有無による差異、平日・休日における運動習慣の状況等が明らかになった。

I. 本研究の背景

子どもにとって、6～12 歳の時期（ゴールデンエイジ期）は神経系の発達がほぼ完成に近づく時期であると言われるが、実はこの年齢に到達する「前の年齢期」（プレゴールデンエイジ期、1 歳半～5 歳）に、いかに子どもの自主性、積極性、協調性を育成・支援できるかが、その後の運動能力を左右する大きな分岐点となる。しかしながら、このプレゴールデンエイジ期において、具体的にどのような運動学習が有効であるかについては、従来の先行研究では十分明らかにされてこなかった。


写真 1　幼児期の運動

そのため、本研究チームは2019年度より（公財）ウエスコ学術振興財団の研究活動費助成を受け、プレコールデンエイジ期(1 歳半～5 歳）の子ども運動学習にフォーカスし、キンダートーネン（ドイツ式子ども体操。以下、「KT」）運動教室に通う子どもの運動効果に関する調査・研究を行ってきた。キンダートーネン（Kinder Turnen）とは、ドイツ体操をもとに生まれた 200 年以上の歴史を持つ子ども向けの運動学習である。

Kinder はドイツ語で「子ども」、Turnen は「体操」を意味する。

本研究チームは、体育学、社会学、経営工学、統計学など専門分野の異なる研究者で構成され、過去 3 年間、KT 運動学習の科学的な測定・検証を行ってきた。

その結果、KT 運動学習教室に通っている子どもは、①外遊びの時間が増えるなど生活習慣が改善された、②一定期間以上通う子どもの運動能力に全国平均値を上回る有意差が見られた、③4～5 歳児において運動スキルと運動能力(走・跳・投)の間に有意な相関関係が確認されたなど、科学的かつ有効な検証結果が得られた。

また、2021 年度には KT 運動学習効果の科学的検証するため、KT 運動学習教室の通学者を対象に体力測定を行った。そして、得られたデータと全国的なプレゴールデンエイジの体力を比較し、一定の研究成果を得た【1】。

しかしながら、一方で、

①比較対象の公表データは 2008 年度と古く、全国的に 4，5 歳児の体力測定は行われていない。
②上記を踏まえ、地元岡山県内におけるプレゴールデンエイジ期の子どもの体力測定、運動習慣等について、今一度検証する必要がある。
③近年では、日本だけではなく、諸外国においても自閉スペクトラム症など, 発達に問題を抱える子

どもが増えている。これらの子どもの運動面での特徴として，運動時間が短いことや運動が苦手であること等があげられる。したがって、このような子どもたちをサポートするためには，子どもたちの身体活動や生活習慣の実態，体力・運動能力の発達について把握することが重要である。

等の課題が残された。

Ⅱ　本研究におけるテーマおよび研究手法

上記の課題をクリアするため、本研究では本年度、岡山県総社市において体力測定会を開催し、プレゴールデンエイジ期の子どもの体力測定および運動習慣等について、データ収集・分析、検証を試みた。



図１　総社市での体力測定会募集チラシ

その概要は、以下のとおりである。

・日時　2022 年 10 月 23 日(日)10:00～16:00

・会場　総社市スポーツセンター・きびじアリーナ

・参加者　85 名(3～6 歳児)、保護者

・内容

①形態測定(身長、体重)

②体力測定(25m 走、立ち幅跳び、ボール投げ)

③保護者へのアンケート調査

(「1 日あたりの運動時間」「どのような運動が好きか」「睡眠時間」など 21 項目)

なお、本測定会の開催にあたっては、総社市スポーツ振興課、NPO 総社市スポーツ協会のほか、㈱エヌ・シー・ピー（岡山市北区、以下、「N 社」）と連携・協力し、企画・運営にあたった。N 社は、総社市スポーツセンターの指定管理者を務めるほか、中国・近畿地区に 4 つの KT 運動学習教室（岡山市、広島市、宝塚市、伊丹市）を展開しており、本研究チームの専門家 5 名と共同で研究チーム(名称：おかやま子ども未来体育研究会）を立ち上げ、研究活動を行うこととした。

Ⅲ　データの検証

Ⅲ-１　研究対象者（データ母数）

体力測定会に参加した幼児 85 名（男児 47 名、女児 38 名）のうち、アンケート調査に協力が得られ、かつ回答に不備等がない有効回答数 58 名を研究対象者とした（**図２**参照)。データ整理のため、年少クラス（3 歳－4 歳)、年中クラス（4 歳－5 歳)、年長クラス（5 歳－6 歳）の 3 つに分けた。各クラスのの内訳は、以下のとおりである。

①　年少クラス 20 名（男児 10 名、女児 10 名）

②　年中クラス 23 名（男児 8 名、女児 15 名）

③　年長クラス 15 名（男児 8 名、女児 7 名）

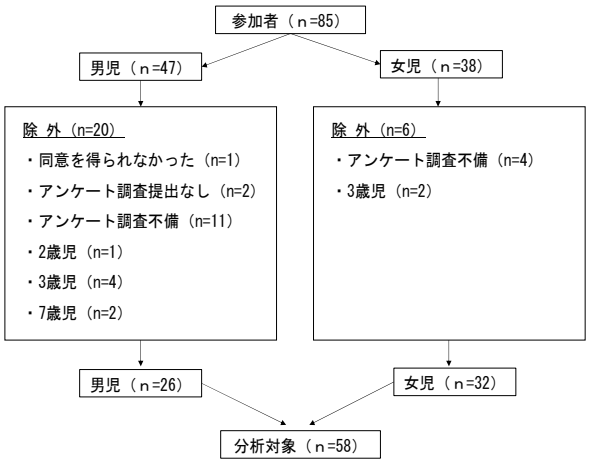


図２　研究対象者

Ⅲ-2　被験者の身体的特性

体力テストで得られた結果について、統計ソフト SPSS Statistics 2（IBM 社）を用いて分析した。対応のない t 検定を用いて、各クラスにおける男女の値を比較した。

参加者の身体的特性として、各クラスにおいて男

女間で、身長、体重およびカウプ指数（式＝体重（g）÷（身長（cm）×身長（cm））×10）に有意な差は認められなかった（**表１**参照）。なお、カウプ指数は乳幼児の栄養状態や体格を表す指数であり、正常値はおおよそ 15～17 である【2】。

結論としては、本研究に参加した子どもたちのカウプ指数の平均値は、各クラスの男女とも「ふつう」の範囲内であり、身体的特性が運動能力の性差に与える影響は少ないと示唆された。

表１　参加者の身長・体重（クラス・男女別）

クラス	性別（人数）	身長（cm）	体重（kg）	カウプ指数（g/cm²*10）
年少	男児（n=10）	102.3±4.6	17.1±2.4	16.2±1.4
	女児（n=10）	99.4±4.7	16.2±2.7	16.4±1.9
年中	男児（n=8）	106.3±6.3	17.7±2.4	15.6±1.0
	女児（n=15）	106.7±4.0	18.8±2.5	16.4±1.6
年長	男児（n=8）	113.3±5.1	21.0±3.4	16.3±1.8
	女児（n=7）	108.5±4.8	20.0±4.3	16.8±2.1

平均値±標準偏差
n.s.

Ⅲ-3　体力測定の結果

参加者の体力テストの結果を、クラス別および男女別に分析した結果、以下の 2 点が検証された（**表２**参照）。

①年長クラスの男児は、女児よりもボール投げの値が有意に高かった。

②年少クラスにおける 25m 走および年中クラスにおける立ち幅跳び以外は、男児の方が女児に比べて平均値では優れた値ではあった。ただし、統計学的な処理では有意な差は認められなかった。

表２　体力測定の結果（クラス・男女別）

クラス	性別（人数）	25m走（秒）	立ち幅跳び（cm）	ボール投げ（m）
年少	男児（n=10）	8.6±2.4	76.0±24.4	3.7±1.2
	女児（n=10）	8.5±0.9	73.8±17.3	2.8±0.9
年中	男児（n=8）	7.2±0.6	89.6±10.6	3.9±0.9
	女児（n=15）	7.5±0.6	90.1±11.5	3.6±0.8
年長	男児（n=8）	6.3±0.4	112.0±13.0	8.8±2.4*
	女児（n=7）	6.4±0.4	107.1±8.3	5.3±1.2

平均値±標準偏差
p<0.05

Ⅲ-4　アンケート調査結果（運動経験の有無）

アンケート調査では、現在または過去に運動やスポーツに関する習い事（体操、水泳、ダンス、トランポリン等）に通っている（または通っていた）幼児を「経験あり群」、習い事をしたことがない幼児を「経験なし群」に分類し、体力テストの結果を対応のない *t* 検定を用いて比較した。その結果、以下の 3 点が検証された。



写真２　総社市における体力測定会

①年少クラスの立ち幅跳びでは、「経験あり群」が「経験なし群」で、立ち幅跳びの記録に関して有意に高い結果となった（$p < 0.05$）（**図３**参照）。

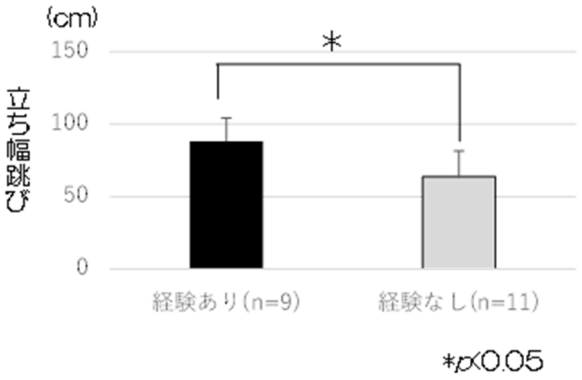


図３　年少クラス経験あり・なし比較（立ち幅跳び）

②年少クラスの 25m 走において走タイムが速い傾向がみられた（p=0.062）。また、年中クラスの立ち幅跳び（**図４**参照）の記録に高い傾向がみられた（p=0.090）。ただし、いずれも統計学的な処理では有意な差は認められなかった。

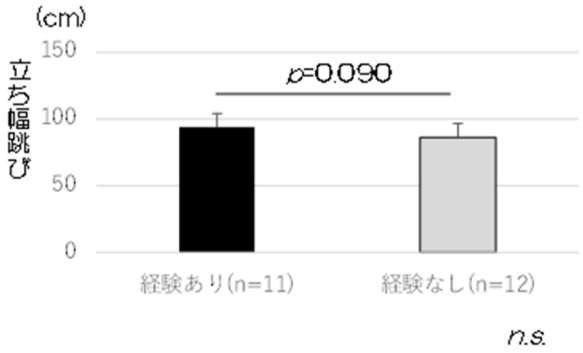


図４　年中クラス経験あり・なし比較（立ち幅跳び）

③上記以外の各クラスでは、「経験あり群」「経験なし群」で、基礎運動能力においては数項目以外、大きな差異はなかった。

Ⅲ-5　アンケート調査結果（運動時間、習慣）

運動の好き嫌い、運動時間などに関するアンケート調査結果では、以下4の点が検証された。

①運動の好き嫌いでは、58人中57人（98.3%）が「運動が好き～まあまあ好き」と回答した（**表3～5**参照）。

②息が上がる程度の運動を行っているは、79.3%（58名中46名）が「よくする～まあまあよくする」と回答した（同）。

③運動時間に関しては、回答者の全員(58名)が「1日1時間以上の運動をしている」と回答した(**表6**参照)。

④休日の運動時間では、87.9%（58名中51名）が1日1時間以上の運動をしていると回答した(同)。

表3　身体活動に関する調査結果（年少クラス）

	年少クラス（n=20）			
	男児（n=10）		女児（n=10）	
	好き（よくする）～まあまあ好き（まあまあよくする）	あまり好きではない（あまりしない）～まったく好きではない（まったくしない）	好き（よくする）～まあまあ好き（まあまあよくする）	あまり好きではない（あまりしない）～まったく好きではない（まったくしない）
Q1運動することが好きですか？	10（100%）	0（0%）	10（100%）	0（0%）
Q2息の上がる程度の運動をしますか？	6（60%）	4（40%）	7（70%）	3（30%）
Q3お友達と一緒に運動しますか？	7（70%）	3（30%）	8（80%）	2（20%）
Q4お友達と運動することは好きですか？	9（90%）	1（10%）	10（100%）	0（0%）
Q5ボールを投げる運動をしますか？	4（40%）	6（60%）	5（50%）	5（50%）
Q6家の人（大人）と一緒に運動しますか？	7（70%）	3（30%）	9（90%）	1（10%）

表4　身体活動に関する調査結果（年中クラス）

	年中クラス（n=23）			
	男児（n=8）		女児（n=15）	
	好き（よくする）～まあまあ好き（まあまあよくする）	あまり好きではない（あまりしない）～まったく好きではない（まったくしない）	好き（よくする）～まあまあ好き（まあまあよくする）	あまり好きではない（あまりしない）～まったく好きではない（まったくしない）
Q1運動することが好きですか？	7（87.5%）	1（12.5%）	15（100%）	0（0%）
Q2息の上がる程度の運動をしますか？	6（75%）	2（25%）	12（80%）	3（20%）
Q3お友達と一緒に運動しますか？	8（100%）	0（0%）	15（100%）	0（0%）
Q4お友達と運動することは好きですか？	8（100%）	0（0%）	15（100%）	0（0%）
Q5ボールを投げる運動をしますか？	4（50%）	4（50%）	6（40%）	9（60%）
Q6家の人（大人）と一緒に運動しますか？	8（100%）	0（0%）	11（73.3%）	4（26.7%）

表5　身体活動に関する調査結果（年長クラス）

	年長クラス（n=15）			
	男児（n=8）		女児（n=7）	
	好き（よくする）～まあまあ好き（まあまあよくする）	あまり好きではない（あまりしない）～まったく好きではない（まったくしない）	好き（よくする）～まあまあ好き（まあまあよくする）	あまり好きではない（あまりしない）～まったく好きではない（まったくしない）
Q1運動することが好きですか？	8（100%）	0（0%）	7（100%）	0（0%）
Q2息の上がる程度の運動をしますか？	8（100%）	0（0%）	7（100%）	0（0%）
Q3お友達と一緒に運動しますか？	8（100%）	0（0%）	7（100%）	0（0%）
Q4お友達と運動することは好きですか？	8（100%）	0（0%）	7（100%）	0（0%）
Q5ボールを投げる運動をしますか？	5（62.5%）	3（37.5%）	2（28.6%）	5（71.4%）
Q6家の人（大人）と一緒に運動しますか？	6（75%）	2（25%）	5（71.4%）	2（28.6%）

（人数（%））

表６　平日および休日の運動時間（年少・年中・年長）

		年少クラス（n=20）		年中クラス（n=23）		年長クラス（n=15）	
		男児（n=10）	女児（n=10）	男児（n=8）	女児（n=15）	男児（n=8）	女児（n=7）
Q1平日の運動時間	1時間未満	0（0%）	0（0%）	0（0%）	0（0%）	0（0%）	0（0%）
	1時間以上2時間未満	2（20%）	2（20%）	1（12.5%）	2（13.3%）	1（12.5%）	0（0%）
	2時間以上3時間未満	5（50%）	3（30%）	3（37.5%）	5（33.3%）	3（37.5%）	4（57.1%）
	3時間以上	3（30%）	5（50%）	4（50%）	8（53.3%）	4（50%）	3（42.9%）
Q2休日の運動時間	1時間未満	2（20%）	1（10%）	0（0%）	1（6.7%）	1（12.5%）	2（28.6%）
	1時間以上2時間未満	6（60%）	5（50%）	4（50%）	6（40%）	4（50%）	4（57.1%）
	2時間以上3時間未満	1（10%）	2（20%）	2（25%）	6（40%）	2（25%）	1（14.3%）
	3時間以上	1（10%）	2（20%）	2（25%）	2（13.3%）	1（12.5%）	0（0%）

人数（%）


Q2-5. お子様は、普段 息のあがる程度の運動を行っていますか?
① よくする　② まあまあよくする　③ あまりしない　④ まったくしない
Q2-6. お子様は、お友達と一緒に運動をしますか?
① よくする　② まあまあよくする　③ あまりしない　④ まったくしない
Q2-7. お子様は、お友達と運動することは好きですか?
① 好き　② まあまあ好き　③ あまり好きではない　④ まったく好きではない
Q2-8. お子様は、ボールなどを投って、投げる運動をすることがありますか?
① よくする　② まあまあよくする　③ あまりしない　④ まったくしない
Q2-9. お子様は、家の人（大人）と一緒に運動をしますか?
① よくする　② まあまあよくする　③ あまりしない　④ まったくしない
Q2-10. お子様に、兄弟・姉妹はいますか?
① 兄　② 弟　③ 姉　④ 妹　⑤ いない
Q2-11.「Q2-10」兄弟・姉妹がいるとご回答された方にご質問です。お子様は、兄弟・姉妹と一緒に運動をしますか?
① よくする　② まあまあよくする　③ あまりしない　④ まったくしない
Q2-12. お子様は、運動やスポーツに関する習い事（例：水泳、体操、ダンス、サッカー、空手など）に通っていますか?
⑪・②に該当する場合は、具体的な運動を（ ）内にご記入ください。
① 現在、運動系の習い事に通っている（具体的に　）

図５　幼児の運動に関するアンケート調査

Ⅳ. 総括

2020 年以降の新型コロナウィルス感染拡大は、子どもたちの運動習慣にも大きな影響を与えた。全国の運動関連施設はいずれも厳しい経営状況下にあり、事業縮小等を余儀なくされた。

しかし一方で、こうした環境下においても次世代を担う地域の子ども達の体力増強や運動能力向上を図る必要がある。

プレゴールデンエイジ期は，運動の基となる多様な動きを獲得する大切な時期である。この時期に運動習慣を身につけることは、将来、子どもたちが健康的で活動的な生活習慣を形成することに役立つ可能性が高くなると考えられる。また，幼児期における、走る・跳ぶ・投げるなどの基礎的な運動の発達は，スポーツスキルを学習する上でとても重要である。

このような社会情勢等を踏まえ、本年度は新たな研究として、岡山県総社市の 3～6 歳児の基礎運動能力、身体活動や生活習慣および発達の現状のデータ収集にフォーカスし、研究を行った。本研究を通じて、大きく３つのことが判明した。

(1) 年少、年中、年長の 3 クラスで、年長クラスのボール投げ以外では有意差がないことが分かった。年長クラスの男児が女児よりボール投げの値が高い要因として、先行研究では男女における遊びの違い（ボール遊びをよくしているかどうか）が影響しているとされる【3】。

(2) 運動の経験の「あり」と「なし」での運動能力の比較分析においては、全体的に運動やスポーツの習い事の「経験あり群」が「経験なし群」に比べ高い数値となったものの、統計学的には年少クラスの「立ち幅跳び」以外は有意な差は認められなかった。しかしながら、秋武ら（2021）が 4～5 歳の幼児 66 名を対象に「運動系の習い事群」と「非運動系の習い事群」で、運動能力テスト（25m 走、立ち幅跳び、ボール投げ、両足連続跳び越し、体支持持続時間、捕球）を比較分析し、総得点で「運動系の習い事群」が有意に高かったことが報告されている【4】。

今回の体力測定で運動の習い事経験の有無で大きな差が生じなかった要因として、参加した幼児

のほとんど(57 名)が運動好きだった。このため、わざわざ運動系の習い事に通わなくとも運動能力に障害がないため大きな差が生じなかったことも一つの要因として考えられる。

(3) 参加した幼児の 98.3%が「運動を好き～まあまあ好き」(98.3%) と回答した。全体で 79.3% (参加者 58 名中 46 名) が「息の上がる運動を、よくする～まあまあよくする」と回答した。また、平日には被験者全員が 1 時間以上に運動を行い、休日にも多くの幼児 (84.5%) が 1 時間以上の運動を行っていた。

文部科学省 (2012 年) が定める幼児期運動指針では、多くの幼児が体を動かす実現可能な時間として「毎日、合計 60 分以上 (1 時間以上)」が目安として示している【5】。今回のアンケート調査を通じて、総社市の幼児が平日・休日ともに幼児期運動指針の目安となる 1 時間以上の運動を行う環境にあることが判明した。

Ⅴ. 今後の研究に向けて

現代の幼児は、自然発達的な体力向上が望めない社会環境に置かれている可能性があり、幼児の体力発達を促すためには、身体活動量を確保することに加えて、発達特性に応じた様々な動きを経験させる試みが重要とされている【6】。

本年度の研究成果を踏まえ、本研究チームとしては、今後も以下の研究に取り組む計画である。

(1) 生体力学(バイオメカニクス)の視点から、プレゴールデンエイジの運動学習効果について、科学的に定量解析・検証を行う。

(2) 発達障害児に対する効果的な運動支援については、今後も新たな体力測定会を開催し、事例にもとづく定性的分析を行う。

(3) 統計学の専門家を中心に、体力測定データベース「子ども運動カルテ (仮称)」の整備など、KT 運動学習における DX 推進に向けた調査研究に取り組む。

(4) 体力測定イベントの開催定例化等により、自治体および地域社会に対し、KT 運動学習効果の普及・啓発活動を展開する。

本研究で得られたデータを活用しながら、今後も引き続き、残された課題の解決を図りたい。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、研究課題として採択頂いた(財) ウエスコ振興財団の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いたします。

また、アンケート調査および基礎運動能力テストにご協力頂いた総社市役所、NPO 総社市スポーツ協会、体力測定に参加いただいた児童と保護者の皆様、また N 社の指導員スタッフの皆様にも厚く御礼申し上げます。

参考文献

【1】 森司朗 他「幼児の運動能力における時代推移と発達促進のための実践的介入、平成 20～22 年度文部科学省科学研究費補助金 (基盤研究B) 研究成果報告書」2011 年、pp8－9.

【2】厚生労働省「21 世紀出生児縦断調査 (特別報告) 結果の概況」URL : https://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/syusseiji/tokubetsu/yougo.html 令和 5 年 3 月 11 日閲覧.

【3】竹安知枝「幼児の運動能力の性差に関する一考察」神戸海星女子学院大学研究紀要 51, pp.39-44, 2013.

【4】秋武寛, 鉄口宗弘, 三村寛一「幼児期における保護者が期待する運動・学習習慣および習い事が運動能力に及ぼす影響」Educare, 42, pp.13 - 18, 2021.

【5】文部科学省「幼児期運動指針」2012 年 URL : https://www.mext.go.jp/a_menu/sports/undousisin/1319771.htm 令和 5 年 3 月 11 日閲覧。

【6】宮田洋之, 辻川比呂斗, 熊倉拓巳, 鈴木宏哉「幼児の生活習慣および保護者のサポートが体力発達に及ぼす影響」東京福祉大学・大学院紀要 第 11 巻 第 1-2 合併号, pp. 13－23, 2021.

（「速く走る」走る方指導法の開発）

（環太平洋大学）

（梶谷亮輔）

（概要）本研究の目的は，長期的なトレーニング実践によって短距離競技者のステップパラメータや体力的要因の変化を検討することであった．そこで，短距離競技者 9 名を対象に，スプリント走およびジャンプの測定を実施し，約 3 ヶ月トレーニングを実施した後に，再度測定を行なった．結果として，スプリント走における疾走速度，ピッチ，およびストライドの向上が認められた．また，疾走速度と RJ_{index} の関係を検討したところ両者の間には有意な相関関係が認められた．指導内容は足首の力発揮能力を向上させることを狙いとしてプライオメトリックトレーニングを中心に実践した．このようなトレーニングを実施することで，足首周りの力発揮能力が向上し，それがスプリント走における接地時間の短縮に影響を及ぼし，ピッチおよびストライドが向上した可能性が考えらえる．これらのことから，2021 年度および 2022 年度に実践したトレーニングは多くのスポーツ種目を対象とした際にもスプリント能力を向上させるために汎用性の高い方法であることが考えられる．

背景

走ることは，児童からトップ選手まで数多くの人々が経験している運動である．そして，速く走ることは，人間が競争の中で追求している重要課題である．これを達成するために，陸上競技の世界では，一流短距離選手のバイオメカニクス的要因（動作や力発揮），体力的要因（筋力やジャンプ能力），あるいは形態的要因（身長や下肢長）などを調査し（Delecluse et al.，1995 伊藤ほか，1998；岩竹ほか，2002；Young et al.，1995），得られた報告が，現場で実践しているトレーニングの根拠となっている．しかし，これらの根拠をもとにどのようなトレーニングによってどのような変化が起きるのかを明らかにした研究は少ない．

これらのことから，長期的なトレーニング実践によって短距離競技者のステップパラメータや体力的要因の変化を検討することを目的とした．

方法

1. 対象者

陸上競技部に所属する短距離競技者 9 名とした．

2. 測定内容

陸上競技場トラックにて，スタンディングスタートからの 60m の全力疾走を 2 回実施した．このとき，対象者の側方から高速度ビデオカメラ（CASIO 社製，EX-F1）を用いて，毎秒 300 コマ，露出時間 1/2000 秒で撮影した．さらに，60m のタイムを測定するために光電管を設置した（図 1）．

また，マルチジャンプテスタ（DKH 社製）を用いて，カウンタームーブメントジャンプ（垂直跳　以下「CMJ」と略す）とリバウンドジャンプ（5 回連続ジャンプ　以下「RJ」と略す）の 2 つのジャンプをそれぞれ 2 回測定し，下肢の力・パワー発揮特性を評価した．なお，このとき，CMJ は反動を利用してできる限り高く跳ぶことを意識し，RJ はできる限り接地時間を短くし高く跳ぶことを意識させた．

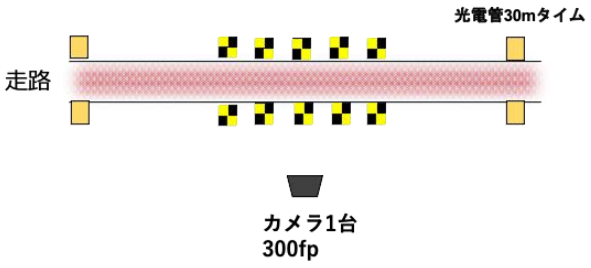


図1 スプリント測定の設定

3. 算出項目

スプリント走は，60m の疾走速度，ピッチ，ストライド，接地時間，滞空時間を算出した．

CMJ と RJ は，マットスイッチから跳躍中の滞空時間（s）と接地時間（s）を求め，跳躍高（m）を以下の式によって算出した．

跳躍高（m）=1/8・g・(滞空時間)^2

また，“RJ_{index}”（図子ほか，1993）を以下の式によって算出した．これは，できる限り短い接地時間で高い跳躍高を獲得する能力を示す指標であり，RJ の評価指標である．

RJ_{index}（m/s）=跳躍高（m）/接地時間（s）

4. 短距離走のトレーニング

トレーニングは，足首の力発揮を高めるプライオメトリックトレーニング，腕振りを改善し遊脚の遅れを少なくするなどを中心に実践した．なお，1 回目の測定（1st）から 2 回目の測定（2nd）までは 3 ヶ月の期間であった．

5. 統計処理

各測定項目の平均値および標準偏差を算出した．また，各測定項目間の pre と post の比較には対応のある t 検定を用いて有意差を検定した．なお，いずれの統計処理においても，有意性は危険率 5%未満で判定した．

結果

図 1 には 1st と 2nd の疾走速度の比較を示した．1st と比較して 2nd では有意に高い値を示した．

図 2 には 1st と 2nd のピッチ，ストライド，接地時間の比較を示した．1st と比較して 2nd ではピッチおよびストライドにおいて有意に高い値を示し，接地時間は有意に短い値を示した．

図 3 には 2nd における疾走速度と RJ_{index} の関係を示した．その結果，両者の間には有意な正の相関関係が認められた（r=0.804;p<0.05）．

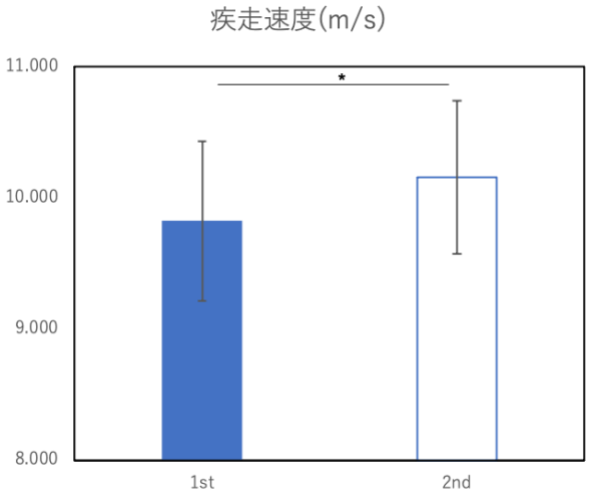


図 1 1st と 2nd の疾走速度の比較

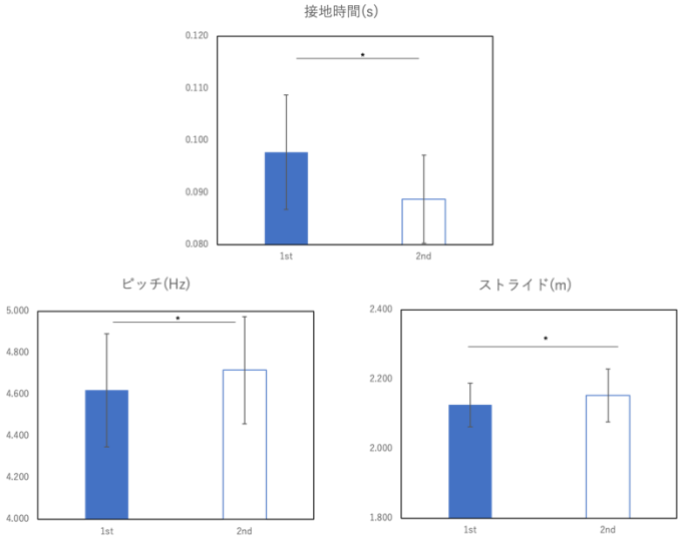


図 2 1st と 2nd のピッチ，ストライド，および接地時間の比較の比較

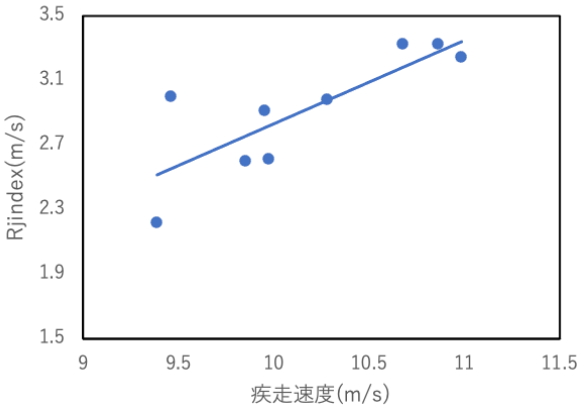


図 3 2nd における疾走速度と RJ_{index} との関係

考察

本研究の目的は，長期的なトレーニング実践によって短距離競技者のステップパラメータや体力的要因の変化を検討することであった．

まず，短距離競技者を対象に足首の力発揮能力を向上させるためのトレーニングを継続的に実践していなかった競技者を対象に，プライオメトリックトレーニングを週 2 回取り入れた．これは 30㎝ の台高から跳び降りて再び跳び上がるトレーニングであった．このトレーニングを 10 回 5 セット実施し，その後にスプリント走を実施するという流れである．このトレーニングの狙いは，足首の力発揮能力の向上はもちろん，腕振りのタイミングを合わせることも同時に強く意識させ，脚と腕のタイミングが合うようにトレーニングをさせていた．結果として，足関節の力発揮能力を評価する指標である RJ_{index} の値が向上した．また，2nd の疾走速度との関係を検討したところ，両者の間には有意な相関関係が認められている．これは，RJ_{index} が高いほど疾走速度が高いことを示しており，スプリント走の能力を高めるためには必要であると考えられる．

また，ステップパラメータの下位要因として，接地時間の短縮が認められた（図 2）．これも足関節の力発揮能力が高まったことが影響を及ぼしている可能性もある．さらに，接地時間が短くなったことでピッチが高まっている．また，ストライドも増大しており，ストライドの増大には足関節の力発揮能力の向上が重要であることは広く知られている．したがって，ある程度短距離走のトレーニングをしている集団においても，集中的（週 2 回、3 ヶ月）にプライオメトリックトレーニングを実践することで，足関節の力発揮能力が高まり，疾走速度およびステップパラメータが向上することが明らかとなった．

なお，RJ_{index} とスプリントパフォーマンスとの間に有意な相関関係が認められていない報告も存在する（Nagahara et al.，2014）．つまり，対象とする集団のレベルに応じてこの関係が変化することが予想される．本研究の対象者はパフォーマンスレベルにばらつきがあった集団で有意な相関関係が認められているという点に注意する必要がある．

まとめ

本研究の目的は，長期的なトレーニング実践によって短距離競技者のステップパラメータや体力的要因の変化を検討することであった．3 ヶ月のトレーニングによって RJ_{index} が高まり，ステップパラメータが向上した．ある程度の短距離走のトレーニングをしている集団においても，集中的（週 2 回、3 ヶ月）にプライオメトリックトレーニングを実践することでそれぞれの能力が高まることが明らかとなった．

参考文献

伊藤　章・市川博啓・斉藤昌久・佐川和則・伊藤道朗・小林寛道（1998）100m中間疾走局面における疾走動作と速度との関係．体育学研究 43:260-273.

Delecluse, C., Coppenolle, H. V., Willems, E., Leemputte, M. V, Diels, R. and Goris, M.（1995）Influence of high-resistance and high-velocity training on sprint performance. Med. Sci. Sports Exerc. 27: 1203-1209.

岩竹　淳・鈴木朋美・中村夏実・小田宏行・永澤健・岩壁達男（2002）陸上競技選手のリバウンドジャンプにおける発揮パワーとスプリントパフォーマンスとの関係．体育学研究，47: 253-261.

Barnes, C., Archer, D. T., Hogg, B., Bush, M., and Cochrane, J. L.（2001）Anticipatory effects on knee joint loading during running and cutting maneuvers. Med. Sci. Sports Exerc., 33(7): 1176-1181.

Young, W., Wilson, G. and Byrne （1995）Relationship between strength qualities and sprinting performance. J Sports Med. Phys. Fitness, 35: 13-19.

女性競技者の腕振り動作改善を目指したトレーニング方法の開発

環太平洋大学　体育学部　体育学科
品田　直宏

（概要）本研究の目的は，女性競技者を対象とし腕振り動作改善を目指したトレーニングを考案し，その効果および腕振りの縦断的変化を明らかとすることであった．トレーニングを介入した結果，VJ および RJ 変化率といった腕の振込技術が含まれる垂直跳躍運動が有意に向上しており，競技パフォーマンスも有意に向上していた．腕振りの縦断的な変化や疾走動作との関係については明らかにすることができなかったものの，特にパフォーマンスを向上させた対象者は競技会における加速能力が向上しており，腕の振込技術向上がパフォーマンス向上に影響を与えた可能性が本研究の結果から示唆された．

【背景】

スポーツ庁では，女性アスリートの国際競技力向上に向けた支援や，ジュニア層を含む女性アスリートが健康でハイパフォーマンススポーツを継続できる環境を整備することを目的に，女性アスリートの育成･支援のための事業を実施している(スポーツ庁，2021)．しかし，世の中のトレーニング理論は男性中心のもの,トレーニングの背景となるデータなども，性差が考慮されていないことがいまだに多く(須永，2018),女性競技者に対して適切なコーチングが十分にできていない可能性がある．特に腕振り動作における性差は顕著であり，女性では「横振り」動作を行う者の割合が多いことが報告されているが，腕振りのタイプによるタイム差，および腕振り動作の経年的な変化は見られず，疾走動作の合理性を適切に評価できない可能性が考えられる（比留間･苅山，2019）とし，女性における腕振り動作の縦断的研究の必要性を述べている．疾走動作中の腕振り動作に関する研究では，肩関節伸展動作は同調する股関節の過度な伸展動作を招き,結果として「脚が流れる」動作を引き起こす原因であること（田村･久保田，2004),積極的に肘関節を伸展させることが疾走速度に影響を与える（木越ら，2014）等，腕振りが下肢および疾走速度に与える影響を検討している．腕振り動作に関し，動きのタイミングに着目した指導書も見られ,「接地に合わせて腕を振り下ろす」(朝原，2015)や「引いた腕を素早く前に振り下ろす」(安井，2016）といった内容が示されているものの，具体的な方法は提示されていない．このように，短距離走において腕振り動作の重要性は認識されているものの，疾走中の下肢の動作と比べて研究は進んでおらず，数少ない先行研究においても横断的な比較のみに留まり，縦断的な変化を検討した研究は見当たらない．女性選手に男性選手を対象とした研究から得られた示唆を適用することは，形態的特性などに差異があることから必ずしも有用ではなく，女性選手を対象とした研究の必要性は高いと考えられる．

本研究は，これまで女性においては経年的な変化がほとんどないとされた疾走動作について，腕振りに主眼をおいたジャンプトレーニングを介入することにより，腕振り動作の縦断的な変化の有無を明らかにし，女性競技者におけるパフォーマンス向上の為の有益な知見を得ることを目的としている．

【方法】

1．対象者

大学で短距離走を専門にトレーニングを行なっている大学 1～4 年生の 11 名とした．

2．トレーニング

品田･梶谷（2021）の研究により，女性選手を対象とし腕振り改善を試みたジャンプトレーニングを応用して競技パフォーマンスを向上させた事例を応用し，ジャンプトレーニングを介入し，腕振りの変化およびパフォーマンスの変化を検討していく.NISHI 製の Box（高さ 20cm）を用いたジャンプトレーニン

グ，肩甲骨の柔軟性を養うストレッチトレーニングを介入した．

3．測定項目

(1)競技パフォーマンス

対象者の競技パフォーマンスを WORLD ATHLETICS SCORING TABLES OF ATHLETICS（2021 年度版）を用いてトレーニング介入前後の最高値を算出した．

(2)垂直跳躍運動

トレーニングの介入前後に，立位姿勢から上肢の振込動作を利用した垂直跳び(Vertical Jump,以下VJ)，両脚で上肢の振込動作を用いた 5 回連続して跳躍する運動（遠藤ら，2007）であるリバウンドジャンプ（Rebound Jump，以下 RJ）とし，RJ は腕振りを制限したものと 2 パターンを行なった．なお，測定項目は全てマルチジャンプテスタ（DKH 社製）を用いて測定を行った．RJ は腕振りを制限したものと振込動作を用いたものの変化率を算出した．

(3)疾走動作

疾走動作はオールウェザー走路を利用し，スパイクを着用した 80m走の全力疾走を 2 本行ない，10m付近および60m付近を 2 台の固定カメラ(FDR-AX45A, SONY 社製）を用いて撮影を行なった．撮影した映像は動作解析システムを用いて動作解析を行なった．

4．統計処理

測定項目の平均値の差を検討するために t 検定を用いた．なお，有意水準は危険率 5%とした．

【結果】

トレーニング介入後，競技パフォーマンス，VJ，RJ の変化率が有意に向上していた(図 1～3)．しかし，疾走動作に関しては対象者のコンディション不良により Post の測定を実施することができず，比較を行うことができなかった．

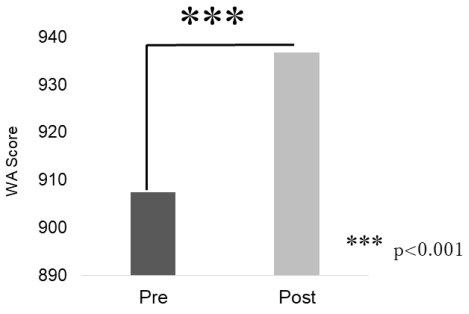


図1　パフォーマンスの変化

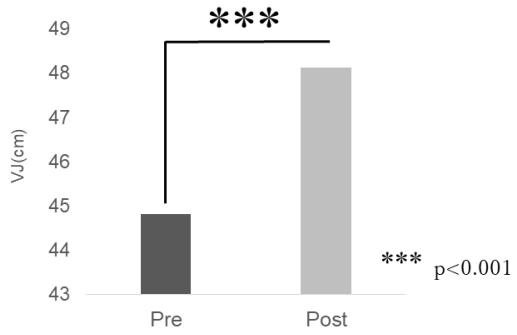


図2　VJの変化

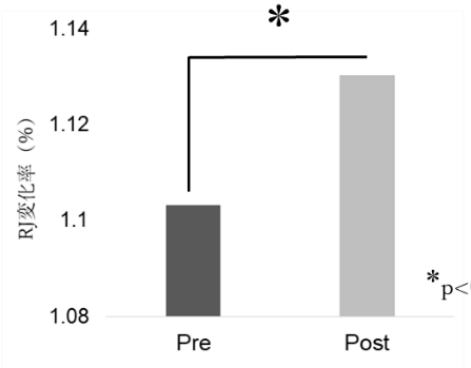


図3　RJ変化率の変化

【考察】

VJ は女性においては膝関節伸展筋力を計る上で重要な種目であり，パフォーマンスを高める上で重要な要素となり，腕の振込動作といった技術的要因が含まれる（品田ほか，2020）．VJ 能力の向上に伴い，対象者のパフォーマンスも向上していた．また，RJ の変化率も変化していたことから，パフォーマンス向上には単純な下肢パワーおよび下肢の SSC 能力の向上に伴うものではなく，腕の振込技術の向上が何らかの影響を与えたことが考えられる．しかし，本研究では当初疾走中の腕振りの変化を明らかにすることを目的としていたが，新型コロナウィルスの影響で当初計画していたタイミングでの測定ができなかったこと，また長期的なトレーニング介入実験の為，介入後の測定に関して被験者のコンディションが整っていないといったことで，被験者の縦断的な変化，および横断的な動作の比較を行うことができなかった．しかし，特にパフォーマンスが向上した

対象者の 100mH における競技会での速度曲線推移を見てみると，加速局面の能力が向上しており，腕の振込技術の向上が加速局面に何らかの影響を与えたことが推察される（図 4）．腕の振込技術が含まれる跳躍運動の向上に伴い，パフォーマンスも向上していたことから，腕振り技術の向上がパフォーマンス向上に何らかの影響を与えていたことが示唆された．今後より詳細な動作分析を行い，腕振りの縦断的な変化を明らかにするとともに，横断的な比較により腕振りが下肢に与える影響を明らかとする必要性が考えられる．

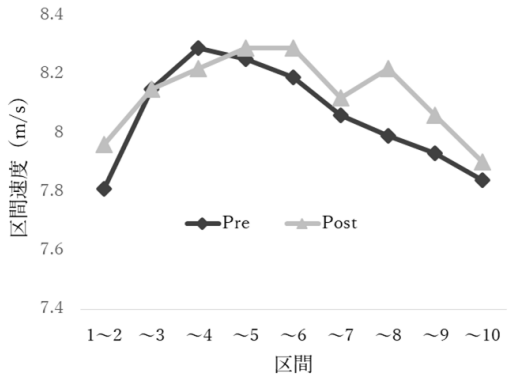


図4　100mHにおける区間速度変化

【まとめ】

本研究の結果から，腕振り動作改善を目的としてジャンプトレーニングを行うことで，腕の振込技術が含まれる跳躍能力が向上し，パフォーマンス向上に繋がる可能性が示唆された．

【参考文献】

朝原宣治（2015）ダッシュ博士のスプリント教室．ベー スボール・マガジン社，p.22．

木越清信・関慶太郎・近江秀明・山元康平・尾縣貢（2014）小学生における腕振り動作が疾走速度に及ぼす影響．　陸上競技研究，97(2)：9-16

品田直宏，熊野陽人，田中耕作，梶谷亮輔（2020）学生跳躍競技者におけるジャンプ能力とパフォーマンスとの関連性-性差に着目して-．陸上競技研究，122:34-43.

須永美歌子（2017）月経周期を考慮したコンディショニングサポート．女性心身医学，22 (2)：145-148.

田村孝洋・久保田康毅（2004）100m の最高速度局面に おける腕動作機能.陸上競技研究,59(4):13-19.

安井年文（2016）「走り」が変わる ！ 陸上スプリント 最 強のコツ 50．メイツ出版，p.43

（表　題）ディトレーニングがアスリートの競技パフォーマンスに与える影響

（所　属）環太平洋大学体育学部

（氏　名）明石啓太

（概要）

本研究の目的はディトレーニングが運動パフォーマンスおよび競技パフォーマンスに与える影響を明らかにすることであった。大学男子ハンドボール選手 18 名をディトレーニング群とコントロール群に二分し，約 5 週間のディトレーニング期間（またはトレーニング期間）を設け，その前後で走・跳・投の運動パフォーマンステスト，ジャンプシュートの動作分析，記述的競技パフォーマンス分析を行った。その結果，運動パフォーマンスと競技パフォーマンスについてディトレーニングによる低下はほとんど認められなかった。一方で，ジャンプシュート動作における投球碗の動作やゲーム中の戦術について部分的な影響が認められた。よって，5 週間程度のディトレーニングから復帰する際にはパフォーマンスが低下していない場合でも動作や戦術への局所的な変化が生じている可能性があることを考慮してトレーニング計画を立てる必要があるといえる。

（本文）

緒言

アスリートは競技力向上に向けて日々努力を積む存在であるが、故障や病気、シーズンオフ、進学など様々な理由で大小さまざまなトレーニング中断（ディトレーニング）を経験する。ディトレーニングが体力に与える影響については 1－ 2 週間で最大酸素摂取量が低下すること，3 週目以降に最大筋力や最大パワーが大きく低下することなどが報告されている（McMaster et al., 2013, Bosquet et al., 2013)。一方で，ディトレーニングが走・投・跳といった動作のパフォーマンス（運動パフォーマンス）に与える影響や実際の競技中に発揮されるパフォーマンス（競技パフォーマンス）に与える影響は十分に解明されていない。

そこで本研究では走・投・跳という代表的な動作を多く含む競技であるハンドボールの選手を対象に，ディトレーニングが運動パフォーマンスおよび競技パフォーマンスに与える影響を明らかにすることを目的とした。

方法

3 年以上の競技歴を持つ大学生男子ハンドボール選手 18 名を被験者とし，ディトレーニング群 9 名とコントロール群 9 名に分けた。全被験者は 2022 年 11 月 3 日まで同じトレーニングを積んだ後， 11 月 4 日から 12 月 11 日までの約 5 週間においてディトレーニング群はトレーニングを中断し，コントロール群はトレーニングを継続した。この期間の前後に運動能力テスト，動作分析およびゲームパフォーマンスの記述分析を実施した。

運動パフォーマンステスト

30m 走のタイム，カウンタームーブメントジャンプ（以下，CMJ）のジャンプ高，ステップシュートおよびジャンプシュートの投球速度を測定した。得られた値について２元配置分散分析によって検定を行った。主効果は群（ディトレーニング群とコントロール群）と測定タイミング（Pre と Post）であった。統計処理の有意性は 5%で判定した。

動作分析

モーションキャプチャーシステム（Qualisys 製）を用いてジャンプシュートを撮影した。得られた身体座標値から動作分析ソフト（C-motion 製）によって踏切後の投球腕における関節角度を算出した。得

られた値について２元配置分散分析によって検定を行った。主効果は群（ディトレーニング群とコントロール群）と測定タイミング（Pre と Post）であった。統計処理の有意性は 5%で判定した。

競技パフォーマンス分析

球技におけるゲームパフォーマンスを分析するには量的分析と質的分析の 2 つの種類がある。これらのうち前者の量的分析は、ゲームパフォーマンスを特定の項目を定めて記録し数量的に分析することであり、球技の中では「記述分析」とされている。本研究ではディトレーニング群とコントロール群でそれぞれチームを作りゲームを行わせた(前後半 25 分，ハーフタイム)。ゲームをビデオカメラで撮影し，①攻撃の全体像，②攻撃が完了した局面，③シュートエリア，④シュート結果について分析を行った。

ディトレーニングの影響を明らかにするために、プレイ結果をそれぞれカイ 2 条検定と残差分析を行なった。統計処理の有意性は 5%で判定した。

結果

運動パフォーマンスの変化

30m 走タイムおよび CMJ 高において時間の主効果が認められたものの,交互作用は認められなかった. 一方で，ステップシュートおよびジャンプシュートの球速においては有意な主効果および交互作用は認められなかった（表 1)。

表 1　運動パフォーマンスの変化

		DT群		Con群	
		pre	post	pre	post
30m走タイム	[s]	4.08	4.31	4.14	4.28
		(0.15)	(0.21)	(0.13)	(0.18)
			*		
CMJ高	[cm]	45.8	43.4	43.0	41.7
		(4.5)	(5.82)	(3.7)	(3.94)
			*		
ステップシュート球速	[km/h]	78.3	79.7	79.8	81.9
		(5.1)	(5.2)	(2.4)	(3.8)
ジャンプシュート球速	[km/s]	73.0	73.5	73.4	76.2
		(5.7)	(5.5)	(3.8)	(3.3)

DT群はディトレーニング群，Con群はコントロール群を示し，各種目の上段は平均値，括弧内は標準偏差示す．　*：時間の主効果あり（p<0.05）.

ジャンプシュート動作の変化

肩最大水平屈曲角度および肩最大外旋角度について有意な時間の主効果が認められ,肘最大屈曲角度,水平屈曲角度および肩最大外旋角度について有意な交互作用が認められた（表 2).

表 2　ジャンプシュート動作の変化

		DT群		Con群	
		pre	post	pre	post
肘最大屈曲角度	[deg]	-17.1	-9.4	-13.6	-15.5
		(16.5)	(14.2)	(8.5)	(9)
			#		
肘伸展角度_リリース	[deg]	47.5	48.2	52.3	57.3
		(11.7)	(15.2)	(9.3)	(7.3)
肩最大水平伸展角度	[deg]	-26.0	-25.5	-25.8	-26.9
		(9.8)	(13.7)	(11.5)	(11.1)
肩最大水平屈曲角度	[deg]	20.2	21.9	20.3	14.8
		(6.9)	(4.6)	(4.4)	(5.1)
			*#		
肩最大外旋角度	[deg]	-49.6	-45.1	-55.6	-54.4
		(11.6)	(12.2)	(10.1)	(9.8)
			*#		
肩外旋角度_リリース	[deg]	-14.1	-9.0	-8.9	-9.3
		(9.1)	(9.3)	(6.5)	(5.3)

DT群はディトレーニング群，Con群はコントロール群を示し，各種目の上段は平均値，括弧内は標準偏差示す．*：時間の主効果あり，#：交互作用あり（p<0.05）.

競技パフォーマンス分析

表 3 にディトレーニング前後の攻撃の全体像を示した。いずれの項目においても有意な差は認められなかった。

表 3　攻撃の全体像

	コントロール群		介入群	
	前	後	前	後
攻撃回数（回）	63	73	62	73
シュート数（本）	48	59	49	54
ミス率（%）	23.8%(15)	19.2%(14)	21.0%(13)	26.0%(19)
シュート成功率（%	56.3%(27)	67.8%(40)	67.3%(33)	75.9%(41)
攻撃成功率（%）	42.9%	54.8%	53.2%	56.2%

n.s

表 4 にディトレーニング前後の攻撃が完了をした局面を示した。コントロール群において介入前は 3 次速攻の生起率が有意に大きく、ディトレーニング群において介入前は 3 次速攻、介入後はクイックスローオフの生起率が有意に大きいことが明らかになった。

表4　攻撃が完了した局面

	コントロール群		介入群	
	前	後	前	後
1次速攻	17.5%(11)	20.5%(15)	21.0%(13)	12.3%(9)
2次速攻	7.9%(5)	12.3%(9)	9.7%(6)	17.8%(13)
3次速攻	7.9%(5)*	0.0%(0)	12.9%(8)*	4.1%(3)
クイック	4.8%(3)	11.0%(8)	14.5%(9)	34.2%(25)*
セット	61.9 %(39)	56.2%(41)	41.9%(26)	31.5%(23)

*有意に大きい

$\chi 2$ =8.052

$\chi 2$=11.124

表5にシュートエリアの生起率を示した。コントロール群において介入前はディスタンスシュート、介入後はカットインシュートの生起率が有意に大きいことが明らかになった。ディトレーニング群においてはいずれも有意な差は認められなかった。

表5　シュートエリアの生起率

	コントロール群		介入群	
	前	後	前	後
サイド	2.1%(1)	5.1%(3)	14.3%(7)	16.7%(9)
カットイン	14.6%(7)	35.6%(21)*	30.6%(15)	42.6%(23)
ディスタンス	54.2%(26)*	22.0%(13)	18.4%(9)	7.4%(4)
ポスト	8.3%(4)	10.2%(6)	14.3%(7)	13.0%(7)
速攻	18.8%(9)	23.7%(14)	20.4%(10)	18.5%(10)
その他	2.1%(1)	3.4%(2)	2.0%(1)	1.9%(1)

*有意の大きい

$\chi 2$ =13.162

表6にシュート結果を示した。いずれの項目においても有意な差は認められなかった。

表6　シュート結果

	コントロール群		介入群	
	前	後	前	後
ゴール	56.3%(27)	67.8%(40)	67.3%(33)	75.9%(41)
被セーブ	27.1%(13)	22.0%(13)	24.4%(10)	14.8%(8)
枠外	16.7%(6)	10.2%(5)	12.2%(6)	9.3%(5)

n.s

考察

運動能力テストの結果からディトレーニングの有無による運動パフォーマンスの変化の違いは認められなかった。よって，ハンドボール選手の約5週間のディトレーニングは走・投・跳という基本的な運動パフォーマンスを低下させることはないと考えられる。最大筋力および最大パワーは3週間のディトレーニングによって低下することが報告されていることから，CMJ やスプリント，投球といった一定のスキルが求められる動作については最大筋力や最大パワーの低下が直接的にパフォーマンスの低下を招くとは限らないといえる.

また，投球動作の分析からはディトレーニングのよる肘最大屈曲角度，水平屈曲角度および肩最大外旋角度の有意な減少が認められた．このことから，ディトレーニングは投球パフォーマンスの低下を招かずとも，投球動作には影響を与えることが分かった。交互作用の認められた関節角度のうち，肩最大外旋角度は投球速度との有意な相関があると報告されている（Matsuo et al., 2001)。本研究では関節可動域の測定を実施していないため，肩最大外旋角度の減少が柔軟性に起因するものなのかは明らかにできないものの，ディトレーニングから復帰する際には肩最大外旋角度を増加させるためのトレーニングを取り入れる必要があると考えられる。

また，競技パフォーマンス分析の結果から，コントロール群において、攻撃の全体像に大きな変化は見られなかったが、攻撃回数の増加が見られた。その理由としてディトレーニング群の3次速攻の生起率が増加したことが考えられる。速攻は、相手の防御が組織化される前に行われるため得点獲得に有効な方法（長岡・土井、1985）であり、少ない人数で短時間にシュートまでつなげる場合、その成功率が高い（河村ほか、1985)。また3次速攻は相手の防御が完全に組織されていない数的同数を攻める戦術であり、セットに移行するか否はチーム戦術に依存する（仙波、2016)。つまりディトレーニング群は速攻の戦術を採り、攻撃回数が増加したことが考えられる。しかしながら、コントロール群においては3次速攻の生起率は有意に小さいことが明らかになった（前7.9%、後0.0%)。これは、成功率の高い1次および2次速攻のみを選択し、速攻とセット攻撃の状況判断を素早く行う戦術を採っていたことが考えら

れる。さらにセット時においては、コントロール群はシュート成功率の低いディスタンスシュートの生起率（前 54.2%、後 22.0%）を減少させ、シュート成功率の高いカットインシュート（前 14.6%、後 35.6%）を増加させていることが明らかになった。ケルン（1998）はチームにおける攻撃戦術の共通課題は、防御ラインを破ること（ノーマーク）、数的優位を作ること、空間的優位を作ること（オーバーナンバー）であると述べている。また、運動技術と戦術は結びついていると考えられ（岡村ら、2009）、確実に安定して行えるように反復練習することで身につけた（吉田ら、1996）運動技術を、実際の試合の中で「どんな状況で」「相手や味方との関係はどなっているのか」そして「何を用いて」「どう行動するのか」といった状況判断に基づいた戦術行動が重要と述べられている。一般にトレーニングを行わなければ体力および技術は低下していくことが考えられるが、反復練習で身につけた運動技術は約 5 週間という期間においては低下しない可能性が考えられる。また、低下した体力を補うために、適した状況判断をしている可能性が示唆された。

結論

本研究の結果から，約 5 週間のディトレーニングが運動パフォーマンスおよび競技パフォーマンスを大きく低下させることはないことが分かった。一方で，投球動作やゲーム中の戦術には変化があったことから，ディトレーニングから復帰する際にはパフォーマンスが低下していない場合でも局所的な変化が生じていることを考慮してトレーニング計画を立てる必要があるといえる。

小学生の運動能力向上を目的とした効果的な運動プログラムの開発
～鬼ごっこに着目して～

環太平洋大学 体育学部 体育学科

田中 耕作

（概要）本研究の目的は，小学生の運動能力向上に効果的な運動プログラムとして鬼ごっこを用いた運動プログラムを考案しその効果を明らすることであった．そこで，小学生 4 年生を対象に強度を確保しつつ短時間で行える鬼ごっこのトレーニングを考案し，実際にトレーニングとして 1 年間介入した．その結果，トレーニング前後における新体力テストにおける各項目の変化率は男女ともに，反復横跳び，立ち幅跳び，握力，上体起こし，および 20mシャトルランにおいて全国平均の変化率を上回った．さらに，これらの項目は対象者の過去 4 年における 1 年間の変化率と比較しても変化が大きい傾向にあった．本研究の結果から 5 分間の鬼ごっこは小学生児童における敏捷性や跳躍能力，および持久力を向上させる可能性が示唆された．

【背景】

子どもの運動能力は低下しており，特に令和 4 年の新体力テストの合計点は男女ともに過去最低の数値であった（文部科学省，2022）．その理由として，授業時間外の運動時間の減少，肥満である児童生徒の増加，さらにコロナ禍の影響が要因であると考えられる．子どもの走・跳躍能力，および持久力は日常生活での身体活動量と関連する（Armstong et al.,2001）子どもの運動能力を向上させるための方策の 1 つとして,フィジカルトレーニングを処方し，意図的に身体活動量を増やす方法がある．多くの先行研究では，器具を用いる方法や 30 分以上の時間がかかる方法が推奨されている．しかしながら，これらの方法では，時間的および空間的な制約がある小学校の教育現場では実施できない．

近年，学校教育で簡便にかつ短時間で実施できる自体重負荷運動が，子どもの筋サイズ，運動能力および持久力を改善させることが報告されている．先行研究では，5 分間の自重負荷スクワット運動を週 5 回の頻度で 8 週間実施した結果，膝関節伸展動作における等尺性最大筋力および垂直跳びの跳躍高が改善した（Takai et al.,2013；Yoshimoto et al.,2016）ことや，小・中学生における 5 分間のジャンプ運動トレーニングを行うことで，全身持久力が改善した（原村ほか，2018）との報告がなされている．これらの先行研究は，短時間でかつ特別な器具を用いなくても子どもの運動能力が改善することを示唆するものである．しかしながら，先行知見の運動処方は，スクワットや数種類のジャンプを繰り返すような単調な運動で構成されており，実施者が飽きてしまい，継続性が難しいという問題がある．これらの問題を解決するために遊びの要素を含む必要があると考えられる．本研究は，様々な運動能力が必要とされる鬼ごっこに着目した．鬼ごっこは，爆発的なパワー発揮や急激な速度変化を伴う運動である（大﨑，2018）ことや，スペースがあれば，一度に多くの子どもの運動量を確保できるため，学校教育現場で取り組みやすく，継続して実施できると考えられる．そこで，本研究では，5 分間の鬼遊びが小学生の新体力テストの成績に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした．

【方法】

（1）対象者

本研究は小学 4 年生 13 名（男子 5 名，女子 8 名）を対象とした．

（2）トレーニング

2021 年 5 月から 2022 年 5 月までの 1 年間，体育授業の時間に鬼ごっこを行った．鬼ごっこは，縦 10m および横 10m の範囲で，1 セット 2 分間としたもの

で，1 分間の休息を挟んで 2 セット実施した（計 5 分）．また，鬼ごっこは 6 人程度を 1 グループとして数種類の鬼ごっこをランダムに行った（一般的な鬼ごっこや，手つなぎ鬼など）．さらに，教師から児童に対して，できるだけ鬼にならないようにすることと，コート全体を使って行うよう指示をした．

（3）測定項目

トレーニング介入前後に身長，体重，新体力テスト（握力，上体起こし，立ち幅跳び，20m シャトルラン，反復横跳び，50m走，ソフトボール投げ，長座体前屈）の 8 項目を文部科学省の新体力テスト要項に従って測定を実施した．

本研究では，対照群を設定することができなかったことから，対象者の 1 年間の縦断データ（介入群）と対象者の過去 4 年間の新体力テストの成績，文部科学省が報告している新体力テストの全国平均値から対応する歳（自然発育群），および対象校介入前における同年代の縦断データ（対象群）の変化率を比較から，トレーニングの効果を検討した．

（4）統計処理

統計処理は全て SPSS26 を用いて実施した．測定項目の変化率間のピアソンの積率相関係数を求め，相関関係を確認した．

【結果】

トレーニング前後における新体力テストにおける各項目の変化率は男女ともに，反復横跳び，20mシャトルラン，握力，上体起こし，および立ち幅跳び（図 1）において全国平均の変化率を上回った．さらに，これらの項目は，対象者の過去 4 年における 1 年間変化率と比較しても変化が大きい傾向にあった（図 2）．

どのような運動能力の児童がよりトレーニングによって運動能力を変化させているかを検討するために、トレーニング前（令和 3 年度）の記録と令和 3 年度から令和 4 年度にかけての変化率との関係性をみた結果、より向上した反復横跳びにおいてはトレーニング前の記録と変化率との間に関係性がみられなかったものの，20m シャトルランでは有意な負の相関関係がみられ（$p<0.05$），トレーニング前の 20m シャトルランが劣っているものほど変化率が大きい傾向にあった（図 3，図 4）．

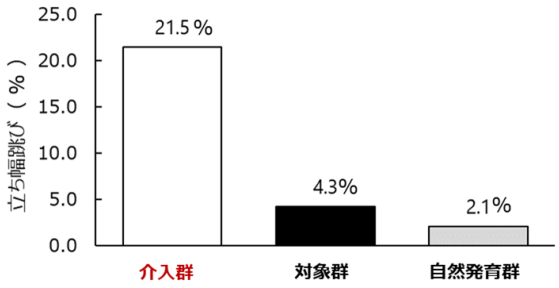


図1．男子児童における各郡の変化率

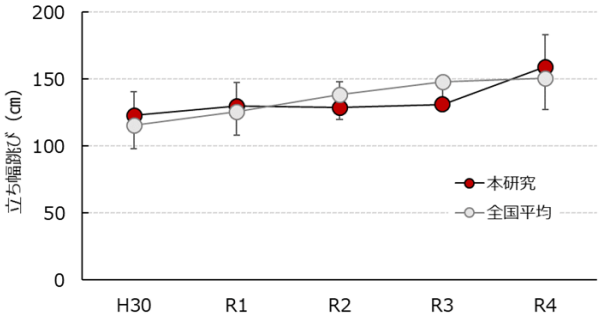


図2．男子児童介入群における4年間の変化率

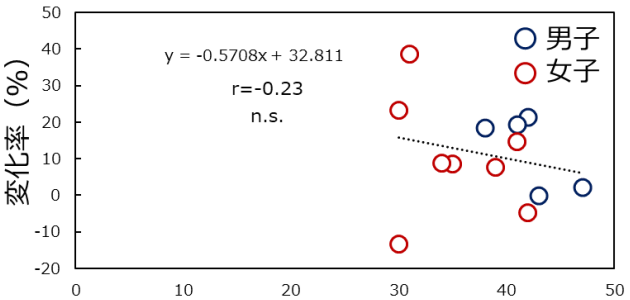


図3.トレーニング前の反復横跳びの記録と変化率の関係

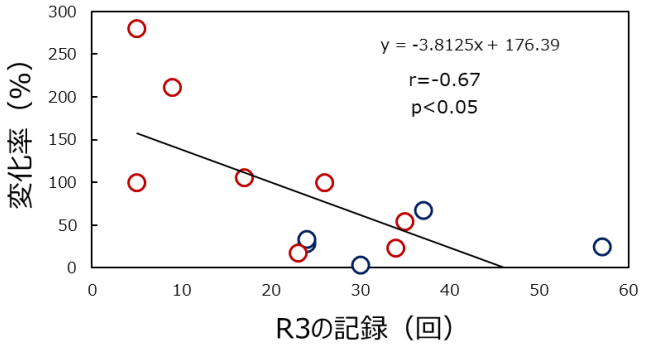


図4.トレーニング前の20mシャトルランの記録と変化率の関係

【考察】

本研究では，5 分間の鬼ごっこが小学生の運動能力に及ぼす影響を検討した．その結果，多くの測定項目にて自然発育群と対照群より大きく向上する傾向にあった．以下に，新体力テストに対する鬼ごっこの効果を，特に大きく向上した測定項目について述べていく．

立ち幅跳びや反復横跳びなどの敏捷性や下肢パワーに関する項目の向上が他の群より著しい傾向にあった．鬼ごっこは，高強度の運動であり，爆発的なパワー発揮や急激な速度変化を伴う運動である（大﨑，2018）ことから，トレーニング効果として鬼ごっこの特異性が反映され敏捷性や下肢パワーに関する項目が向上した可能性が考えられる．一方で，握力も向上傾向がみられた.鬼ごっこの運動特性から，鬼ごっこの効果が直接握力向上に繋がった可能性は考えにくい．先行研究では，握力は筋力指標であるものの，全身の骨格筋量と関係する（Doyle et. al.，1970）ことが報告されている．本研究では鬼ごっこ中の上肢の動きを観察していないことから断言できないものの，下肢パワーの向上が結果的に上肢筋力の向上にも寄与した可能性が高いと考えられる．

男女ともに 20m シャトルランが大きく向上した．今回行った鬼ごっこは，決められた範囲（10m×10m）で行った．決められた範囲で行うことで対象者の動きが活発になり結果的に運動量が多くなった可能性が考えられる．一方で，50m走の記録は大きな変化がみられなかった．すなわち，範囲が規定されたことで鬼ごっこ中の走速度は最高速度に到達できず，最高速度を向上させるようなトレーニングにはならなかった可能性がある。

次にどのような特徴を持った児童がより効果があったかを検討するために，トレーニング前の記録と令和 3 年度から令和 4 年度にかけての改善率との関係性を各種目検討した．その結果，特異的に向上した反復横跳びにおいては関係性がみられなかったものの，20m シャトルランでは有意な負の相関関係がみられた．すなわち，運動介入時の能力に関係なく反復横跳び（敏捷性）を向上させる可能性がある．一方で，持久力は運動介入時の持久力が劣っていたものほど記録が向上したことになる.このことから，より持久力を向上させるためには，運動能力に応じてグループ分けを検討する必要があると考えられる.

【まとめ】

本研究の結果から 5 分間という短時間であっても継続的に鬼遊びのようなトレーニングを行うことで，小学生の運動能力(特に下肢パワーや有酸素性能力)を向上させることができる可能性が示唆された.

【参考文献】

文部科学省 (2022) 令和 4 年度全国体力・運動能力，運動習慣等調査報告書

Armstrong, N. and Welsman, J: Peak oxygen uptake in relation to growth and maturation in 11- to 17-year-old humans. Eur J Appl Physiol, 85: 546-551, 2001.

Takai, Y., Fukunaga, Y., Fujita, E., Mori, H., Yoshimoto, T., Yamamoto, M., Kanehisa, H: Effects of body mass-based squat training in adolescent boys. J Sports Sci Med 12: 60-65, 2013.

Yoshimoto, T., Takai, Y., Fukunaga, Y., Fujita, E., Yamamoto, M., Kanehisa, H: Effects of school-based squat training in adolescent girls. J Sports Med Phys Fitness 56: 678-683, 2016

Doyle, Frank, Jean Brown, and Claude Lachance. Relation between bone mass and muscle weight. : 391-393, (1970)

原村未来，高井洋平，吉本隆哉，中谷深友紀，藤田英二，山本正嘉，小・中学生男子における 5 分間の自体重負荷ジャンプトレーニングが 全身持久力に与える効果, スポーツパフォーマンス研究, 10, 162-174, 2018

大﨑恵介，山梨学院大学 スポーツ科学研究, 競技環境下におけるスポーツ鬼ごっこの運動強度：トップリーグを事例に，1, 65-72, 2018

日本人サンプルにおけるAttachment Affective Picture Systemの利用可能性の評価

環太平洋大学

中井（松尾）　和弥

我々の感情は，養育者・親友・配偶者といった親密な他者との相互作用によって多分に影響を受ける。近年，このような親密な対人関係におけるポジティブ・ネガティブな感情は，画像刺激によって容易に操作できることが分かってきた。つまり，親密な他者と実際に相互作用を行わなくても，そのような関係性を想起させる画像刺激に曝露するだけで，一定程度の安心感もしくは不安が喚起されるのである。本研究では，Attachment Affective Picture System（AAPS）と呼ばれる，親密な対人関係に関する899枚の画像刺激データベースの利用可能性を日本人で検討した。Lancers 社のクラウドソーシングサービスを用いて最終的に 599 名（女性 268 名，男性331名）のデータが収集された。調査協力者には，AAPSの画像刺激を一枚ずつ呈示し，感情価・覚醒度・アタッチメントの3次元について評価するよう求めた。その結果，AAPSは想定どおり，調査協力者のポジティブな感情とネガティブな感情を喚起するものであった。また，899枚のAAPSは，おおむね原版通りのクラスタリングが可能であることも明らかとなった。

序論

我々の感情は，養育者・親友・配偶者といった親密な他者との相互作用によって左右されているといっても過言ではない。親密な他者からの受容や励ましは安心感をもたらすのに対して，親密な他者からの拒絶や無視は不安や悲しみをもたらすだろう。実際，親密な他者との関係性は，うつ病や不安障害といった感情障害の発症リスクにも影響を及ぼすことが分かっている（Mikulincer et al，2016）。近年，このような親密な対人関係におけるポジティブ・ネガティブな感情は，画像刺激によって容易に操作できることが分かってきた。つまり，親密な他者と実際に相互作用を行わなくても，そのような関係性を想起させる画像刺激に曝露するだけで，一定程度の安心感もしくは不安が喚起されるのである。しかしながら，そのような感情を喚起させるための標準的な画像刺激はこれまで存在していなかった。そのため，親密な対人関係に関する研究を国際的に統一的な枠組みで進めていくことも困難な状況であった。そこでLiu et al.（2016）は，親密な対人関係に関する標準的な画像刺激としてAttachment Affective Picture System(AAPS)を開発した。AAPSは，Neutral Nonattachment（166枚），Parental Negative（171枚),Parental Positive(212枚),Romantic Negative（172枚）とRomantic Positive（170枚）という5つのカテゴリから構成される899枚の画像刺激セットである。AAPSは中国人のサンプルにおいては，親密な対人関係を表す画像刺激としての妥当性が担保されており，親密な対人関係に関する実証研究を進めるための有用なツールとなっている。

本研究では，AAPSの利用可能性を日本人サンプルで検討することにより，我が国の親密な対人関係の研究者らに新たな研究ツールを提案することを目的とした。そのために本研究では，Liu et al.（2016）と同様に，AAPSに含まれる画像刺激が想定通りの感情を喚起するのかどうかを検証した。また，AAPSの利用可能性を評価するその他の手続きも，極力 Liu et al.(2016)に倣った。ただし，Liu et al.(2016)においては，調査協力者自身が有する親密な対人関係の質によって，AAPSの画像刺激によって生じる感情も異なるのかどうか，つまり，親密な他者に嫌悪感を抱く人々が，ポジティブな AAPS の画像刺激を見てもポジティブな感情を抱きにくいのかどうかが不透明であった。そこで本研究では，親密な対人関係の質であるアタッチメント・スタイルと AAPS の画像刺激の評定の個人差の関連も検討した。

方法

調査協力者

Lancers 社のクラウドソーシングサービスを用いて調査協力者を募集した。一人当たりの謝礼は 110 円であった。最終的に 599 名（女性 268 名，男性 331 名）のデータが収集された。平均年齢は 41.54 歳（*SD* =9.80）であった。居住地域は北海道が 32 名，東北が 39 名，北陸が 17 名，関東が 207 名，中部が 71 名，近畿が 122 名，中国が 30 名，四国が 11 名，九州・沖縄が 61 名，海外が 9 名であった。最終学歴は中学が 11 名，高等学校が 120 名，短期大学が 47 名，専門学校が 67 名，高等専修学校が 1 名，高等専門学校が 10 名，大学が 308 名，大学院が 34 名，その他が 1 名であった。既婚（離別・死別を含む）が 71 名，未婚が 381 名であった。子どもの数は 0 人が 406 名，1 人が 78 名，2 人が 102 名，3 人が 11 名，4 人が 2 名であった。前年度の世帯年収は 200 万円未満が 73 名，200 万円～400 万円未満が 170 名，400 万円～600 万円未満が 144 名，800 万円～1000 万円未満が 43 名，1000 万円以上が 14 名であった。

アタッチメント・スタイル尺度

アタッチメント・スタイルを測定するために，the Experience in Close Relationships inventory-Relationship Structure（古村他，2016）を用いた。本尺度は 9 項目から構成されており，各項目に対して，「1＝全くあてはまらない」から「7＝非常にあてはまる」の 7 件法で回答を求めた．本研究では，不安定なアタッチメント・スタイルの指標であるアタッチメント不安とアタッチメント回避の 2 つの下位尺度得点を得た。アタッチメント不安は，得点が高いほど親密な他者から拒絶されることへの不安が高いことを，アタッチメント回避は得点が高いほど親密な他者に近接することへの回避や嫌悪が強いことを意味する。

AAPS

AAPS の開発論文の筆頭著者である Ying Liu 氏の許諾を得て AAPS の信頼性と妥当性を検討した。Liu et al.（2016）は，プロトタイプ版の AAPS に含まれた 902 枚全ての画像刺激を一枚ずつ調査協力者に呈示し，毎回 3 つの次元（感情価・覚醒度・アタッチメント）の評定を行うよう求めていた。しかしながら，全ての画像刺激を評定することは，調査協力者にとって極めて負担が大きいと考えられた。そこで本研究では，調査協力者への負担を低減する目的で，Soares et al.（2015）を参考に，AAPS の最終版に含まれる 899 枚の画像刺激を 18 のセットへと分割した。1 セットには 49 枚または 50 枚の画像刺激が含まれていた。それぞれのセットの中には，AAPS の Neutral Nonattachment，Parental Negative，Parental Positive，Romantic Negative と Romantic Positive が均等に含まれるよう分割した。各調査協力者には，18 のセットのうちのいずれか一つをランダムに割り付け，当該セットに含まれる画像刺激のみを評定するよう求めることとした。

手続き

まず，アタッチメント・スタイルに関する尺度について回答を求めた後に，AAPS の画像を一枚ずつ呈示し，感情価（「写真を見て，あなたはどの程度ネガティブ・ポジティブな感情を感じていますか」）と覚醒度（「写真を見て，あなたはどの程度興奮していますか」），アタッチメント（「ポジティブかネガティブかに関係なく，この写真にはどの程度，深くて特別な間柄（あいだがら）が表れていますか。」）それぞれについて 9 件法で評定を行うよう求めた[1]。具体的には，感情価は「1：ネガティブ」から「9：ポジティブ」までの，覚醒度は「1：眠い・退屈」から「9：激しい興奮」までの，アタッチメントは「1：浅くて特別ではない間柄」から「9：深くて特別な間柄」までの 9 件法で評定を行うよう求めた。AAPS の画像評定課題の終了後に，デモグラフィック特性を尋ねた。

統計解析

データハンドリングと主な統計解析には R 4.2.2（R Core Team，2022）を使用したが，一要因参加者間分散分析とクラスター分析には HAD17_003（清水，2016）を用いた。

倫理的配慮

本研究は，東海学院大学「人対象とする研究」に関する倫理審査委員会の承認（ID 番号 2022-13）を得て実施された。すべての調査対象者には，調査の趣旨と回答データの取り扱い，調査協力の任意性，

中断が可能であることを説明し，同意が得られた者にのみ調査への参加を求めた。

結果

AAPS の記述統計量の算出と比較

まず，AAPS の全画像刺激それぞれの平均評定値を感情価・覚醒度・アタッチメント別に算出した。その結果を Table 1 に示した。評定次元ごとに刺激の種類を要因とした一要因参加者間分散分析を実施した結果，感情価・覚醒度・アタッチメントそれぞれにおいて，刺激の種類の主効果が有意であった（感情価：$F(4, 894)=2159.04$, $p<.001$, 偏$\eta^2=.91$；覚醒度：$F(4, 894)=125.53$, $p<.001$, 偏$\eta^2=.36$；アタッチメント：$F(4, 894)=1012.08$, $p<.001$, 偏$\eta^2=.82$）。Holm 法による多重比較の結果，感情価においては Parental Negative と Romantic Negative，Parental Positive と Romantic Positive という 2 つ以外，覚醒度においては Neutral Nonattachment と Romantic Negative，Parental Positive と Romantic Positive という 2 つ以外，アタッチメントにおいては Parental Negative と Romantic Negative，Parental Positive と Romantic Positive という 3 つ以外の組み合わせにおいて 0.1%水準の有意な差が確認された。つまり，感情価においては Parental Positive と Romantic Positive の評定値が高く，その次が Neutral Nonattachment であり，最も低い評定値であったのは Parental Negative と Romantic Negative であった。覚醒度においては Parental Positive と Romantic Positive が最も評定値が高く，その次が Parental Negative であり，最も低い評定値であったのは Neutral Nonattachment と Romantic Negative であった。アタッチメントにおいては Parental Positive と Romantic Positive が最も評定値が高く，その次が Parental Negative と Romantic Negative であり，最も低い評定値であったのは Neutral Nonattachment であった。

Table 1. Descriptive Statistics of the Three Dimensions of AAPS

	Valence		Arousal		Attachment	
	M	*SD*	*M*	*SD*	*M*	*SD*
Neutral Nonattachment	5.94	0.94	5.13	1.16	3.39	1.65
Parental Negative	2.98	1.05	5.47	0.80	7.41	0.82
Parental Positive	8.06	0.31	6.43	0.48	8.50	0.38
Romantic Negative	2.87	0.82	5.13	0.92	7.42	0.58
Romantic Positive	7.92	0.33	6.44	0.55	8.40	0.33

Note. AAPS = the Attachment Affective Picture System

AAPS の評価次元同士の関連性の検討

続いて，感情価・覚醒度・アタッチメント別に算出された AAPS の各画像刺激の平均評定値を用いて散布図を作成した（Figure 1-3）。その結果，感情価と覚醒度（Figure 1），感情価とアタッチメント（Figure 2）それぞれの散布図はやや V 型となっており，感情価の評定値が低いまたは高いほど，覚醒度またはアタッチメントの評定値は高くなる傾向が見出された。覚醒度とアタッチメント（Figure 3）についても，アタッチメントの評定値の高さが覚醒度の評定値の高さと関連することが示されている。

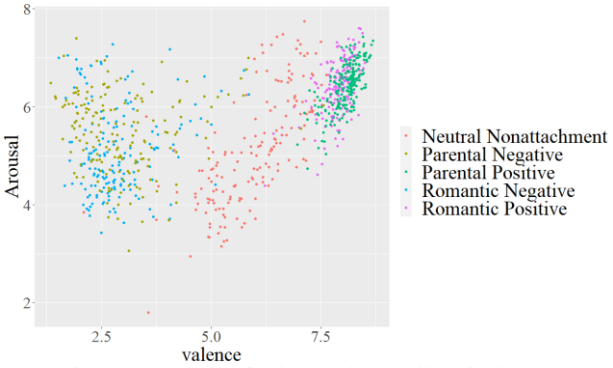


Figure 1. Scatter plot of Valence and Arousal by StimulusType

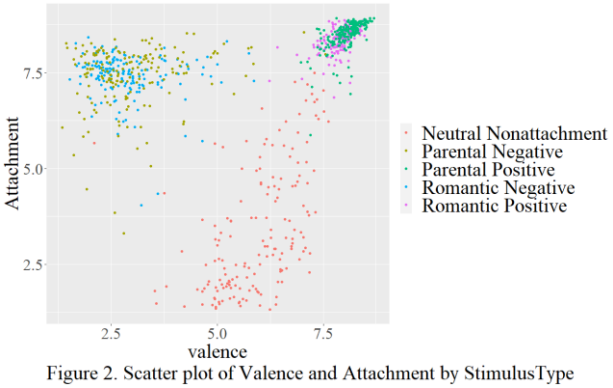


Figure 2. Scatter plot of Valence and Attachment by StimulusType

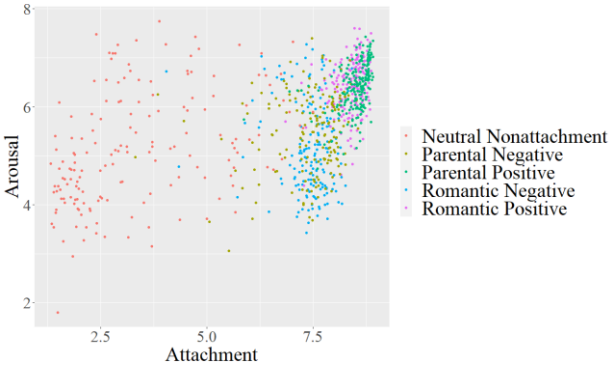


Figure 3. Scatter plot of Attachment and Arousal by StimulusType

クラスター分析

Liu et al.（2016）と同様に，AAPSの899枚の画像刺激がポジティブ・ネガティブ・ニュートラルという3つに分類可能かどうかを検討するために，ウォード法による階層的クラスター分析を実施した。なお，抽出するクラスター数はLiu et al.（2016）を参考に3とした。得られた3クラスタとAAPSの5種類の刺激タイプのクロス集計表を作成した(Table 2)。それぞれのクラスターに含まれていた刺激タイプの枚数を考慮すると，クラスター1はネガティブ，クラスター2 はポジティブ，クラスター3 はニュートラルの画像刺激を意味すると考えられる。

Table 2. Cross-tabulation table of the Type of stimuli and the Cluster

	Cluster			
	1	2	3	Sum
Neutral Nonattachment	2	153	11	166
Parental Negative	167	2	2	171
Parental Positive	0	1	211	212
Romantic Negative	170	2	0	172
Romantic Positive	0	1	177	178
Sum	339	159	401	899

ECR-RS-GOの記述統計量・信頼性分析

ECR-RS-GO の記述統計量を算出したところ，アタッチメント不安の平均値は10.06（*SD*=4.12），アタッチメント回避の平均値は22.59（*SD* =6.97）であった。また，信頼性分析の結果，アタッチメント不安のα係数は.90，アタッチメント回避のα係数は.89であった。

アタッチメント・スタイルと AAPS の各評定値の関連の検討

最後に，アタッチメント・スタイルとAAPSの各評定値の関連を検討した。調査協力者によって，評定した画像刺激は異なっていたものの，全調査協力者がAAPS の 5 種類の画像刺激を評定していたことから，各調査協力者の評定値を画像刺激の種類別かつ評定次元別に平均した。つまり，調査協力者につき，15 種類（5 種類の画像刺激×3 つの評定次元）の評定平均値を算出した。当該評定平均値とアタッチメント・スタイルの関連を相関分析で検討した（Table 3）。その結果，アタッチメント不安が Parental Positive の感情価（r =−.12，p <.001）とアタッチメント（r =−.13，p <.001），Romantic Positive の感情価（r =−.14，p <.001）とアタッチメント（r =−.11，p =.001）と有意な負の相関を示した。一方，アタッチメント回避は Non attachment のアタッチメントと Romantic Negative の覚醒度・アタッチメントを除くすべて変数と有意な相関を示した（rs =|.09－.25|，p =.004－.000）。

考察

本研究は，AAPSの利用可能性を日本人サンプルで検討することを目的としていた。まず，AAPSの評定に関する記述統計量を算出し，刺激の種類によって比較を行った結果，ポジティブな感情価を含んだ Parental Positive および Romantic Positive の感情価の評定値が高かった。それに対して，ネガティブな感情価を含んだ Parental Negative と Romantic Negative の評定値は低かった。Liu et al.（2016）では，統計的に AAPS の種類別の比較を行っていなかったものの，得られた結果において本研究と同様の傾向がみられていた。よって，AAPSの画像刺激はおおむね想定通りの感情価を喚起する刺激であることが日本人においても確認された。アタッチメントに関しても同様に，Parental Negative と Parental Positive，Romantic Negative，Romantic Positive の評定値が，Neutral Nonattachment よりも高かったことから，AAPSは日本人においても親密な対人関係を表す画像刺激データセットであるといえるだろう。一方，覚醒度に関しては，感情価とアタッチメントほど，AAPSの種類による明瞭な差はみられなかったが，他の画像刺激と比してポジティブな感情価を含んだ Parental Positive および Romantic Positive の得点が有意に高かった。覚醒度に関する Parental Positive および Romantic Positive の *SD* が，他の画像刺激と比して小さいことを考慮すると，Parental Positive および Romantic Positive の画像刺激の中には，曝露者に覚醒をもたらすものが多いと考えられる。一方で，その他の種類の画像刺激は，*SD* の値が相対的に大きかったことから，これらの画像刺激の覚醒度は刺激によって比較的異なると考えられる。

続いて，感情価・覚醒度・アタッチメント別に算

Table 3. Correlations of Attachment style with the ratings of the AAPS

		Valence					Arousal					Attachment				
		Non attachment	Parental		Romantic		Non attachment	Parental		Romantic		Non attachment	Parental		Romantic	
		Neutral	Negative	Positive	Negative	Positive	Neutral	Negative	Positive	Negative	Positive	Neutral	Negative	Positive	Negative	Positive
Attachment Anxiety	Pearson's r	-0.04	0.04	-0.12	0.02	-0.13	-0.03	0.00	-0.03	-0.02	-0.03	0.05	-0.07	-0.14	-0.07	-0.11
	p-value	0.28	0.36	0.00	0.72	0.00	0.53	0.92	0.48	0.64	0.47	0.24	0.10	< .001	0.10	0.01
	Upper 95% CI	0.04	0.12	-0.04	0.10	-0.05	0.06	0.08	0.05	0.06	0.05	0.13	0.01	-0.06	0.01	-0.03
	Lower 95% CI	-0.12	-0.04	-0.20	-0.07	-0.21	-0.11	-0.08	-0.11	-0.10	-0.11	-0.03	-0.15	-0.22	-0.15	-0.19
Attachment Avoidance	Pearson's r	-0.20	0.09	-0.25	0.09	-0.24	-0.10	-0.10	-0.13	-0.06	-0.17	-0.04	-0.11	-0.12	-0.05	-0.11
	p-value	< .001	0.02	< .001	0.04	< .001	0.02	0.01	0.00	0.14	< .001	0.29	0.01	0.00	0.26	0.01
	Upper 95% CI	-0.12	0.17	-0.17	0.16	-0.16	-0.02	-0.02	-0.05	0.02	-0.10	0.04	-0.03	-0.04	0.03	-0.03
	Lower 95% CI	-0.27	0.01	-0.32	0.01	-0.31	-0.17	-0.18	-0.21	-0.14	-0.25	-0.12	-0.19	-0.20	-0.13	-0.19

出された AAPS の各画像刺激の平均評定値を用いて散布図を作成した。その結果，感情価と覚醒度，感情価とアタッチメントそれぞれの散布図はややV型となっており，感情価の評定値が低いまたは高いほど，覚醒度またはアタッチメントの評定値は高くなる傾向が見出された。一方，覚醒度とアタッチメントについては，アタッチメントの評定値の高さが覚醒度の評定値の高さとやや関連することが示されている。これらの結果は，おおむねLiu et al.(2016)と同様の結果であった。また，階層的クラスター分析を行った結果，おおむねAAPS のすべての画像刺激がポジティブ・ネガティブ・ニュートラルという3クラスターに分類された。AAPS の全画像刺激899枚のうち878枚（98.66&）が想定通りのクラスターに分類された。以上の結果は，AAPS の各評定次元間の関連，およびAAPS のポジティブ・ネガティブ・ニュートラルという分類が，中国人だけでなく，日本人にも一般化可能であることを示している。

最後に，アタッチメント・スタイルとAAPS の評定値の関連を検討した結果，有意な相関係数が多数得られた。ただし，それらの多くは絶対値が.20 以下の弱い相関係数であった。比較的大きな相関係数が得られたのは，アタッチメント回避と3つの感情価（Neutral Nonattachment，Parental Positive，Romantic Positive）の関連であった。具体的には，アタッチメント回避が高いほど，これらの画像刺激に対する評定値が低いという結果が得られていた。Parental Positive とRomantic Positive の画像刺激は，Parental Negative とRomantic Negative の画像刺激と比べれば，平均評定値が高く，ポジティブな感情を喚起しやすかった。そのため，本研究の結果は，アタッチメント回避の高い人々が，Parental Positive とRomantic Positive の画像刺激を見て，ネガティブな感情を抱いたと解釈するのではなく，ポジティブな感情を抱かなかったと解釈するのが妥当なのかもしれない。アタッチメント回避の本質は，親密な関係性に心地よさを感じないことである。そのような特性を持つがゆえにアタッチメント回避の高い人々は，Parental Positive とRomantic Positive のような温かさや信頼感を想起させる画像刺激を見てもポジティブな感情を抱きにくかったのかもしれない。ただし，アタッチメント回避は，親密な関係性を表さない Neutral Nonattachment とも負の関連を示した。これは，本研究で使用したアタッチメント回避が，特定の親密な他者ではなく，より広い人間関係である親密な他者全般に関するものであったことが原因であった可能性がある。つまり，本研究のアタッチメント回避の得点が高かった人々は，特定の他者でなく，他者を広く忌避する傾向があったがために，親密な関係性を表さないNeutral Nonattachment を呈示された際にもポジティブな感情を抱きづらかった，またはネガティブな感情を抱きやすかった可能性があるだろう。

本研究の限界と課題を述べる。本研究では，AAPS のParental Positive とRomantic Positive がポジティブな感情を喚起しやすいことが明らかになった。しかしながら，このポジティブな感情がアタッチメント理論で議論されている「安心感」と同一のものとはいえないだろう。つまり，安心感はポジティブ感情という広範な感情の一部に過ぎないと考えられる。したがって，AAPS の Parental Positive とRomantic Positive が安心感を喚起する刺激であると本研究より述べることはできない。今後は安心感

に焦点を絞り，AAPS の妥当性を検証すべきであろう。

脚注

1　ただし，アタッチメントの評定次元については，追加の説明が必要であると考え，3 つの次元について評定を行う本試行の前に，アタッチメントの次元のみを評定する 12 回の練習試行を実施した。

謝辞

本研究課題の推進にご支援いただいたウエスコ学術振興財団に深く感謝いたします。

引用文献

古村健太郎・村上達也・戸田弘二 (2016). アタッチメント・スタイルの階層構造の検討 (1) ―ECR-RS-GO の作成― 日本パーソナリティ心理学会第 25 回大会発表論文集, *91*

Liu, Y., Chen, X., Zhai, J., Tang, Q., & Hu, J. (2016). Development of the attachment affective picture system. *Social Behavior and Personality: an international journal*, *44*, 1565-1574.

Mikulincer, M, & Shaver, P, R. (2016). *Attachment in Adulthood, Second Edition: Structure, Dynamics, and Change.* Guilford Press.

R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL https://www.R-project.org/.

清水 裕士 (2016). フリーの統計分析ソフト HAD―機能の紹介と統計学習・教育，研究実践における利用方法の提案― メディア・情報・コミュニケーション研究, *1*, 59-73.

Soares, A. P., Pinheiro, A. P., Costa, A., Frade, C. S., Comesaña, M., & Pureza, R. (2015). Adaptation of the international affective picture system (IAPS) for European Portuguese. *Behavior Research Methods*, *47*, 1159-1177.

終末期維持血液透析患者の医療・ケア方針の検討に関わる看護実践に関する研究（2 年目）

新見公立大学健康科学部看護学科

安藤　亮

近年の高齢化とともに維持血液透析患者の高齢化も年々進んでいる．高齢化の進行に伴い，最期までどう生きたいかを引き出し，それを支えるケアであるエンドオブライフケアの重要性も増している．終末期の維持血液透析患者との関わりについて，透析の中止はすなわち死を意味し，つらい決断である家族の思いを尊重したうえで話し合いを行う等の困難があることや，透析の中止を決定するうえで看護師の困難として中止の判断について葛藤があることが明らかとなっている．このような看護師の葛藤により倫理的悩みが生じている恐れがある．そこで本研究では，倫理的悩みを減少させることができる医療者の能力である「Ethical competence：倫理的コンピテンシー」に着目し，研究 1 にて開発した終末期維持血液透析患者の医療・ケア方針の検討に関わる看護実践尺度を用い，終末期維持血液透析患者の医療・ケア方針の検討に関わる看護実践の関連要因についての因果関係モデルを作成し，その検証により関連要因を検討することを目的とした．

はじめに

近年の高齢化とともに，維持血液透析患者の高齢化も年々進んでおり，日本透析医学会の調査によると，特に 70 歳以上の透析患者が増加していることが明らかとなっている（花房ら，2021）．高齢化の進行に伴い，最期までどう生きたいかを引き出し，それを支えるケアであるエンドオブライフケアの重要性が維持血液透析患者についても増している．

終末期の維持血液透析患者との関わりについて，透析部門に勤務する看護師への調査(本田ら,2010)では,「透析の中止はすなわち死を意味し，つらい決断である家族の思いを尊重したうえで話し合いを行う」等の困難があることが明らかとなっている．また，海外の研究（Hussain J.A，et al，2015）においても，看護師の困難として透析の中止の判断について葛藤があり，中止することが患者の真の要求（genuine request)なのか判断しかねることが明らかとなっている．

透析の差し控えはすなわち死を意味すること，透析は患者の日常生活の一部となっている一方で，終末期においては苦痛を伴い生活の質を下げるものにもなり得る等の特徴があり，がんや心不全などの他の慢性疾患とは異なる特性があり，終末期にある維持透析患者の医療・ケアの方針決定には，専門的な看護実践が必要であると考えられる．

加えて，その人の命にかかわる状況において多くの看護師はジレンマや曖昧さを抱えており，これらは「看護師の倫理的価値観と対立する倫理的障壁に反応して生じる身体的・感情的反応」である倫理的悩みにつながっている恐れがある．倫理的悩みは看護師の仕事の質，満足度，離職に加え，患者の安全やケアの質にも関連しており，看護実践上の重要な課題となっている．

そこで本研究では，倫理的悩みを減少させることができる医療者の能力である「Ethical competence：倫理的コンピテンシー」に着目し，研究 1 にて開発した終末期維持血液透析患者の医療・ケア方針の検討に関わる看護実践尺度を用い，終末期維持血液透析患者の医療・ケア方針の検討に関わる看護実践の関連要因についての因果関係モデルを作成し，その検証により関連要因を検討することを目的とした．本研究の成果により，終末期維持血液透析患者の医療・ケア方針の検討に関わる看護実践の促進，および看護実践に伴う看護師の葛藤，困難の軽減への示

唆を得ることができると考える.

目的

終末期維持血液透析患者の医療・ケア方針の検討に関わる看護実践の関連要因についての因果関係モデルを作成し，その検証により関連要因を検討すること.

方法

1. 対象者

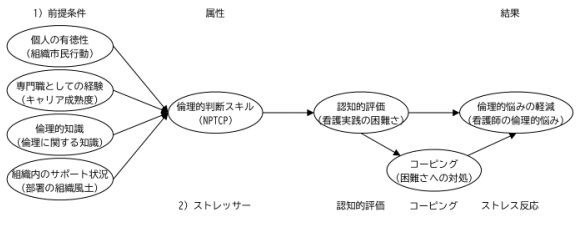
対象者は全国の日本透析医学会の認定施設，教育関連施設より無作為に抽出した入院病床を有する500 施設の外来透析部門に勤務する看護師各 4 名，計 2000 名である. 対象者の選定条件は，看護師の経験年数が 5 年以上，かつ透析看護の経験年数が 3 年以上の者とした.

2. 調査方法

調査は無記名自記式質問紙調査およびオンライン調査により行った. 調査期間は 2022 年 4 月～5 月.

3. 研究枠組み

本研究では Kulju らによって行われた倫理的コンピテンシーの概念分析の結果(Kulju, Stolt, Suhonen, & Leino-Kilpi, 2016)および Lazarus らの心理学的ストレス認知理論(Lazarus & Folkman, 1984)を援用し，図 1 に示す因果関係モデルを設定した.



注 NPTCP：終末期維持血液透析患者の医療・ケア方針の検討に関わる看護実践尺度
（ ）内は測定尺度
1）Kuljuらの Ethical competence の概念分析の概念，2）Lazarusらの心理学的ストレス認知理論の概念

図1 終末期維持血液透析患者の医療・ケア方針の検討に関わる看護実践の関連要因の因果関係モデル

4. 調査内容

1）基本属性

基本属性は年齢，看護師経験年数，透析看護経験年数，透析看護に関する資格の有無，所属施設におけるクリニカルラダーを調査した.

2）個人の有徳性：組織市民行動

組織市民行動とは,「組織の効果的機能の促進に貢献する様々な行動で，強制されたものではなく，従業員の正式な職務でもないもの」(Organ, 1988, pp1-14)と定義されている. 本研究では，武石の研究(武石，2010)で使用されている項目により対象者の組織市民行動を測定した. 具体的には,「愛他主義」に関する６項目,「対人的援助」に関する３項目,「対人的促進」に関する４項目，計 13 項目である. これらについて,「まったく行わない：１点」～「つねに行う：５点」の５件法にて尋ね，得点が高いほど組織市民行動を行っていることを示す.

3）専門職としての経験：キャリア成熟度

キャリア成熟とは,「成人が自分のこれからの人生や生き方，職業生活，余暇生活について，どの程度成熟した考えを持っているかを表す考え方」(坂柳, 1999)とされている. 本研究では，狩野らの開発した看護職者の職業キャリア成熟度尺度(狩野ほか, 2012)を使用した. これは職業キャリアを「関心性」,「自律性」,「計画性」の３因子各４項目ずつ，計 12 項目により測定する尺度であり，回答と得点化は「全くあてはまらない：１点」～「よくあてはまる：５点」とし，得点が高いほどキャリア成熟していることを示す.

4）倫理的知識：倫理に関する知識

倫理に関する知識については，倫理理論に関する質問１項目（「知らない：０点」～「どのような理論か知っている：２点」），倫理に関するガイドラインや指針に関する５項目（「知らない：０点～内容を読んだことがある：２点」）について独自に項目を作成し尋ねた.

5）組織内のサポート状況：部署の組織風土

組織風土とは,「特定の組織やそのシステムに関して，その職員と環境との相互作用に基づいて知覚される一連の属性である」(Hellriegel & Slocum, 1974)とされている. 本研究では塚本らの病棟の組織風土尺度を組織風土(塚本・野村，2007)の測定に使用した. これはコントロール感，スタッフのモラール，親密さ，学習雰囲気の４因子 19 項目からなる尺

度である．回答と得点化は「いつもそうである：５点」～「まったくそうでない：１点」とし，得点が高いほど組織風土が良いことを示す．

6) 倫理的判断スキル：終末期維持血液透析患者の医療・ケア方針の検討に関わる看護実践とその困難さ

先述のように，スキルが十分でなければ，実践自体がストレッサーにもなり，困難感を生じさせることも考えらえるため，本研究では終末期維持血液透析患者の医療・ケア方針の検討に関わる看護実践尺度（Nursing Practice Scale for Treatment and Care Policies for Terminal-Stage Patients on Maintenance Hemodialysis: 以下，NPTCP）（安藤・名越・實金，2022)とその困難さ（以下，看護実践の困難さ）を調査した．NPTCP は【医師との橋渡し】，【合意形成の促進】，【意思形成支援】，【意思表明支援】，【症状のマネジメント】の５因子 19 項目からなる．回答と得点化は「行っていない：０点」～「行っている：４点」とし，得点が高いほど実践していることを示す．

看護実践の困難さは NPTCP と同様の項目とし，回答と得点化は「看護実践を行ったことがない，もしくは全く感じない０点」，「あまり感じない：１点」「やや感じる：２点」，「とても感じる：３点」とし，得点が高いほど困難感を感じていることを示す．

7) 終末期維持血液透析患者の医療・ケア方針の検討に関わる看護実践の困難さへの対処

終末期維持血液透析患者の医療・ケア方針の検討に関わる看護実践の困難さへの対処（以下，困難さへの対処）については，対処行動として同僚・部署のカンファレンス・上司や専門看護師・院外の専門職へ相談している頻度について４項目を設けた．回答と得点化は「しなかった：０点」～「頻繁にした：２点」とし，対処行動をとっているほど得点が高くなるよう配点した．

8) 看護師の倫理的悩み

看護師の倫理的悩みについては，實金らの看護師の倫理的悩み尺度（實金ほか，2019）を用いた．これは倫理的悩みを「組織の理念・労働環境」（５項目），「医療者の力量」（５項目），「患者・家族の理解」（２項目）の３つの下位概念とし，計 12 項目からなる尺度であり，それぞれの項目について頻度とストレスの程度を尋ねるものであり，本研究ではストレスの程度のみ測定した．回答と得点化は「感じない：０点」～「とても感じる：３点」とし，得点が高いほど倫理的悩みを感じていることを示す．

5. 分析方法

分析方法は，使用した各尺度について，本研究の対象者における構造的側面からみた妥当性を確認するために確認的因子分析を行い，信頼性はω信頼性係数を算出した．設定した因果関係モデルへのデータの適合性を構造方程式モデリングによる確認的因子分析を用いて検討した．推定法はロバスト重みづけ最小二乗法を用い，確認的因子分析におけるモデルの適合度指標は，Root Mean Square Error of Approximation（以下，RMSEA），Comparative Fit Index（以下，CFI）を算出した．適合度の基準値は，RMSEA <0.05 （良好），<0.08（良），<0.1 （可），CFI>0.90 とした（友利・京極・竹林，2019）．

データの分析には Mplus7.4，SPSS Statistics 27 を使用した．

6. 倫理的配慮

本研究の実施にあたり，研究対象施設の看護管理者宛に，研究の説明書及び調査への協力依頼に関する文書とともに対象者用の説明文書，調査票，返信用封筒を郵送し，研究に同意する場合，対象者に配布してもらった．調査は無記名，研究への参加は自由意思であり，紙媒体，及び Web 上の調査票のいずれにも冒頭に同意のチェック欄を設けた．研究協力の拒否により対象者に不利益は生じないこと，収集したデータは厳重に管理し，研究終了後は所定の期間保存した後に直ちに廃棄すること，研究成果の発表について文書にて説明した．

本研究は岡山県立大学倫理審査委員会の承認を得たうえで実施した（受付番号 21-62）．

結果

2,000 部配布した調査票のうち，613 名の回答が得られた（回収率 30.7%）．このうち，調査への同意に

チェックがあり，回答に不備のない 530 部(回収数に対する有効回答率 86.5%)を分析対象とした．

1. 対象者の基本属性（表 1）

対象者の平均年齢は 46.1±7.5 歳，看護師経験年数の平均は 22.3±7.9（範囲：5-49）年，透析看護経験年数の平均は 10.8±6.8（範囲：3-43）年であった（表 1）．

透析看護に関する資格（複数回答）については，資格なしが 365 名，日本看護協会の認定資格として透析看護認定看護師が 18 名，腎不全看護認定看護師が 1 名，専門看護師が 4 名，学会等の各種団体による認定資格として透析技術認定士が 69 名，慢性腎臓病療養指導看護師が 46 名であった．クリニカルラダーについては，ラダー4 が最も多く 150 名（28.3%），次いでラダー3 が 144 名（27.2%），ラダー5 が 74 名（14.0%）であった．

表1　対象者の基本属性

		n=530
	Mean	±SD
年齢	46.1	±7.5
看護師経験年数	22.3	±7.9
透析看護経験年数	10.8	±6.8
	n	(%)
透析看護に関する資格（複数回答）		
資格なし	365	(68.9)
透析技術認定士	69	(13.0)
慢性腎臓病療養指導看護師	46	(8.7)
腎臓病療養指導士	24	(4.5)
透析看護認定看護師	18	(3.4)
腹膜透析認定指導看護師	13	(2.5)
糖尿病療養指導士	7	(1.3)
専門看護師	4	(0.8)
腎不全看護認定看護師	1	(0.2)
その他	6	(1.1)
無回答	8	(1.5)
	n	(%)
クリニカルラダー		
1	35	(6.6)
2	49	(9.2)
3	144	(27.2)
4	150	(28.3)
5	74	(14.0)
わからない	65	(12.3)
無回答	13	(2.4)

2. 使用尺度の構造的妥当性，信頼性の検証（表 2）

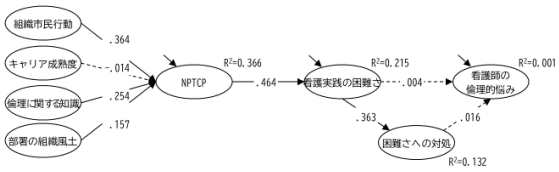
測定尺度の確認的因子分析の結果である適合度指数と信頼性係数を表 2 に示した．看護師の倫理的悩みについては，確認的因子分析の結果，初期モデルでは不適解がみられた．そこで尺度開発者の許諾を得た上で，それぞれの項目の因子負荷量，交差負荷の有無，修正指標を参考に慎重に検討を重ね 4 項目を削除し，本研究においては 8 項目を使用することとした．再度確認的因子分析を実施し，適合度指標，ω信頼性係数ともに良好な値となった．

表2　測定尺度の適合度指数と信頼性係数

	CFI	RMSEA	ω信頼性係数	備考
組織市民行動	0.088	0.974	0.893	観測変数の誤差間に数か所相関を認めた
キャリア成熟度	0.097	0.957	0.854	
倫理に関する知識	0.077	0.970	0.704	
部署の組織風土	0.082	0.980	0.901	観測変数の誤差間に数か所相関を認めた
NPTCP	0.077	0.962	0.932	
看護実践の困難さ	0.099	0.966	0.950	観測変数の誤差間に数か所相関を認めた
困難さへの対処	0.001	1.000	0.704	
看護師の倫理的悩み	0.084	0.981	0.833	修正し8項目とした

3. 終末期維持血液透析患者の医療・ケア方針の検討に関わる看護実践の関連要因モデルの検討（図 2）

終末期維持血液透析患者の医療・ケア方針の検討に関わる看護実践の関連要因に関する因果関係モデルのデータへの適合度は RMSEA=0.035，CFI=0.938 であり，統計学的許容水準を満たした（図 2）．変数間の関連性に着目すると NPTCP への組織市民行動，倫理に関する知識，部署の組織風土の有意な正の関連がみられた．さらに NPTCP は，看護実践の困難さ，および困難さへの対処に有意な正の関連を示した．しかし看護実践の困難さ，および困難さへの対処の倫理的悩みへの関連は有意ではなかった．



注：n=530　X²=7049.547　df=4317　RMSEA=0.035　CFI=0.938　推定法：WLSMV
下位因子および観測変数は図の煩雑化を避けるため表記を省略した

図2　終末期維持血液透析患者の医療・ケア方針の検討に関わる看護実践の関連要因モデル

考察

本研究にて仮定したモデルのデータへの適合性は良好であり，モデルは実証的に検証された．因果関係モデルの変数間の関連に着目すると，NPTCP には，組織市民行動，倫理に関する知識，部署の組織風土が有意な正の関連を示した．このことは組織市民行動がとれているほど，倫理に関する知識を持っているほど，部署の組織風土がサポーティブであるほど看護実践ができていることを意味する．

今後，詳細な考察を行い，学会誌に投稿予定である．

謝辞

本研究を遂行するにあたり，支援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いたします.

引用文献

・ 安藤亮，名越恵美，實金栄(2022)．終末期維持血液透析患者の医療・ケア方針の検討に関わる看護実践尺度の開発．日本看護科学学会誌，42，263-270.
・ 花房規男，阿部雅紀，常喜信彦，他 (2021)：わが国の慢性透析療法の現況 (2020 年 12 月 31 日現在)．日本透析医学会誌，54(12)：611-657.
・ Hellriegel, D, Slocum, J.W.(1974). Organizational Climate: Measures, Research and Contingencies. Academy of Management Journal, 17(2), 255-280.
・ 本田智子，高橋良幸，谷本真理子，他：終末期維持血液透析患者にかかわる看護師の実践知．日本腎不全看護学会誌，12(2)，72-79，2010.
・ Hussain J.A., Flemming K, Murtagh F.E., et al(2015): Patient and Health Care Professional Decision-Making to Commence and Withdraw from Renal Dialysis: A Systematic Review of Qualitative Research. CJ of the American Society of Nephrology 10: 1201-1215.
・ 伊藤大幸，谷伊織，平島太郎(2019)：心理学・社会科学研究のための構造方程式モデリング：Mplus による実践　基礎編，ナカニシ出版，京都.
・ 狩野京子，李志嬉，中島望，實金栄，山口三重子，中嶋和夫(2012)．看護職者の「職業キャリア成熟測定尺度」に関する構成概念妥当性の検討，岡山県立大学保健福祉学部紀要，19(1)，19-29.
・ Kulju, K, Stolt, M, Suhonen, R, Leino-Kilpi, H.(2016). Ethical competence: A concept analysis. Nursing Ethics, 23(4):401-412.
・ Lazarus, R.S., Folkman, S.(1984)/ 本明寛，春木豊，織田正美監訳(2001).ストレスの心理学;認知的評価と対処の研究.22-23,32-38,155-160，東京:実務教育出版.
・ 實金栄，萬木早苗，井上かおり，上野瑞子，小薮智子，白岩千恵子，村松百合香,竹田恵子,清水ミシェルアイズマン，山口三重子(2019).看護師の倫理的悩みを測定する尺度の妥当性と信頼性の検討．臨床倫理，7，10-23.
・ Organ, D.W.(1988). Organizational Citizenship Behavior, The Good Soldier Syndrome, 1-14, Lexington: Lexington Books.
・ 坂柳恒夫(1999)．成人キャリア成熟尺度 (ACMS) の信頼性と妥当性の検討．愛知教育大学研究報告，48，115-122.
・ 武石智香子(2010)．職場環境要因と職場いじめの傾向,および組織市民行動(OCB)との関連--大学教員･職員を対象とした WHS 尺度の適用.中央大学社会科学研究所年報，15，65-79.
・ 友利幸之助,京極真,竹林崇(2019).作業で創るエビデンス　作業療法士のための研究法の学びかた，医学書院，東京.
・ 塚本尚子，野村明美(2007)．組織風土が看護師のストレッサー，バーンアウト離職意図に与える影響の分析．日本看護研究学会雑誌，30(2)，55-64.

成長期女子トップアスリートにおける長期トレーニングが腎機能及び骨吸収に与える影響

岡山医療専門職大学健康科学部

安田従生

本研究は成長期(第二次急伸期後の 15 歳～18 歳)の女子トップアスリートを対象として、エストロゲン濃度からみた長期間(10 ヵ月)のトレーニング（部活動）が、腎機能と骨吸収に及ぼす影響を検討することを目的とした。被検者の身体的特徴に関して、体重における有意な変化は認められなかった。さらに、腎機能の指標である尿中アルブミン濃度及び尿中 L 型脂肪酸結合蛋白濃度においても有意な差は見られなかった。加えて、骨吸収の指標である尿中Ⅰ型コラーゲン架橋 N-テロペプチド濃度においても、統計的に顕著な差は認められなかった。本研究の結果は、成長期女子トップアスリートにおける長期トレーニング後の腎機能及び骨吸収において、有意な変化は認められなかったが、各指標は正常値の上限内であったことから、潜在的にトレーニング適応に起因している可能性を示した。

【緒言】

成長期女子トップアスリートの部活動における練習時間が長く、さらに運動強度、運動期間も高いことから、身体への高負荷状態（脱水症状、栄養不足、オーバートレーニング等）が懸念されている(Brenner and Kelly, 2015)。特に、運動の繰り返しで誘発される様々な障害について、あらかじめ非侵襲的方法（尿・唾液検体の分析・評価）を用い、アスリートの至適コンディション管理が可能になると、アスリートのパフォーマンスの維持・向上が期待できる。その点で、ステロイドホルモンの一つであるエストロゲン（17β-estradiol）は、体細胞内で抗酸化物質として機能することが明らかとなっている(Oosthuyse et al., 2023)。また、長期トレーニングが抗酸化作用を高め、腎機能が強化される可能性も報告されている。さらに、抗重力運動及び跳躍運動を繰り返すことで骨密度（カルシウム）や骨質（コラーゲン）が増加（骨形成の増大）することも報告されているが、骨損傷時に密接に関連する骨吸収（カルシウムの放出）に関するデータは限られている(Yasuda and Yano, 2018)。

これらのことから、エストロゲンの分泌が顕著になる成長期女子の体細胞へのストレスについて、長期トレーニングが抗酸化能を高め、腎機能を強化し、エストロゲンが抗酸化物質であるならば、長期トレーニングによる体力レベルの向上と高濃度のエストロゲンは、腎機能を強化させ、同時に骨吸収の度合を減少させると推察できる。しかしながら、身体活動量の多い成長期女子トップアスリートの運動後における腎機能とエストロゲン分泌量に関する作用機序ついては未知な部分が多い。さらに、オーバートレーニングによる骨損傷が起きやすくなる成長期の女子スポーツ選手における骨吸収の度合いにおいても不明瞭な点が多い。そうしたことから、上記に示す関連性を解明することで、トレーニング時に抱える特有の生理学問題を解決する手掛かりを得ることが可能になり、部活動(オーバートレーニングの予防等)・学校保健(月経前症候群の軽減等)・体育スポーツ現場に有益性の高い情報を提供することが可能になる。

そこで、本研究は成長期(第二次急伸期直後の 15 歳～18 歳)の女子トップアスリートを対象として、エストロゲン濃度からみた長期間(10 ヵ月)のトレーニング（部活動）が、腎機能及び骨吸収に及ぼす影響を検討することを目的とした。

【方法】

1. 被検者

被検者は女子バレーボールクラブに所属し、国内トップレベル(インターハイ、国体出場クラス以上)

で活躍する第二次急伸期後（15～18 歳）の健康な女子バレーボール部員 21 名[被検者の身体的特徴ベースライン； 年齢： 16.4±0.8 years, 身長：161.9±5.8, 体重: 55.6±5.7 kg, BMI: 21.8±1.2 kg/m^2, 体脂肪: 24.5±3.0 %（平均±標準偏差)]を対象とした。すべての被検者は抗酸化ビタミン剤を摂取しておらず、正常月経が認められ、過去においてステロイド剤や避妊薬等の常用薬を服用した経験のない者であった。また、被検者は、バレーボールを少なくとも 3 年以上継続的に行っており、体力トレーニング及び技術トレーニングを 6～7 回/週、2～3 時間/回の頻度で実施していた選手であった。

すべての被検者にはヘルシンキ条約に基づき、研究の目的及び方法を十分説明し、研究に参加することの同意を得た。また、本研究は岡山医療専門職大学の「人間を対象とした研究に関する倫理委員会規程」に基づいて実施された。

2. 実験の手順

各選手における日常のバレーボールトレーニングは、体力強化（瞬発的・断続的・持久的運動)、技術系トレーニング（ボールハンドリング）および実践形式（ゲーム形式）から構成された。トレーニングサイクルは週 6～7 日で、1 日あたり約 2～3 時間のバレーボールトレーニングを行った。トレーニング期間における 1 日あたりの食事摂取において、栄養素の割合は炭水化物約 50～60%、脂質約 20～30%、蛋白質約 15～20％を維持した(Yasuda et al., 2021)。また、日常トレーニング中における水分摂取は自由飲水とし、その摂取量を記録した。

腎機能及び骨吸収における累積的影響を検討するため、0 ヶ月（ベースライン）と 12 ヶ月後でそれぞれ、1 日置きに連続する 3 日間のタイムポイント(月曜日、水曜日、金曜日)を選定し、被検者はバレーボールの部活動前後で、遮光ポリチューブを用い、尿検体採取を実施した(本研究課題の解析に用いられたのは、部活動前で採取された尿検体のみ)。採取した尿検体はドライアイスで凍結保存し、さらに後の生化学分析に備えるため、-80℃の超低温槽にて貯蔵した。

加えて、体育館におけるトレーニング環境要因の変化を検討するため、部活動開始 1 時間前から部活終了後まで 30 分おきに、温度、湿度、WBGT (Daanen et al., 2011)をそれぞれ経時的に記録した。

3. 腎機能マーカー[尿中アルブミン濃度(albumin)、尿中 L 型脂肪酸結合蛋白濃度(L-FABP)]、骨吸収マーカー[尿中Ⅰ型コラーゲン架橋 N-テロペプチド濃度(NTx)]及び女性ホルモン[尿中エストラジオール濃度(17β-estradiol)]の測定

尿中アルブミン濃度は免疫比濁法、尿中 L 型脂肪酸結合蛋白濃度と尿中Ⅰ型コラーゲン架橋 N-テロペプチドは化学発光酵素免疫測定法、尿中エストラジオール濃度は電気化学発光免疫測定法により、それぞれ解析した。

4. 統計処理

統計パッケージ（Statistica V5.1, Statsoft, Tulsa, OK）を用いて、すべての従属変数について有意差を検討するために、0 ヶ月（ベースライン）と 12 ヶ月後で、部活動前に採取した尿検体の解析データで、連続する 3 日間の平均値として算出された値を用いて、スチューデントの T 検定を行った。また、ピアソンの相関分析を用いて、長期トレーニング後のデータに基づき、腎機能及び骨吸収マーカーと女性ホルモンとの関連性を検討した。全体のαレベルは $p<0.05$ とし、すべてのデータは、平均値±標準偏差（SD）で示した。

【結果】

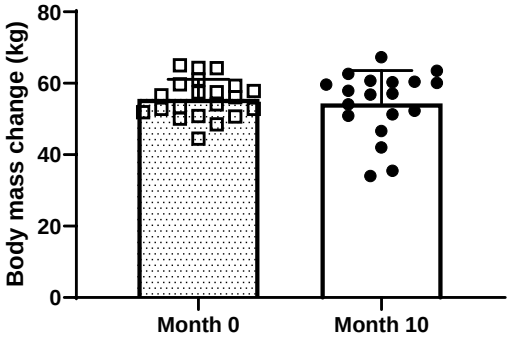


Figure 1. Body mass change after 10 months of volleyball training

被検者の身体的特徴に関して、体重における有意な変化は認められなかった(Figure 1)。さらに、腎機能の指標である尿中アルブミン濃度及び尿中Ｌ型脂肪酸結合蛋白濃度においても有意な差は見られなかった（Figure 2-A and 2-B)。

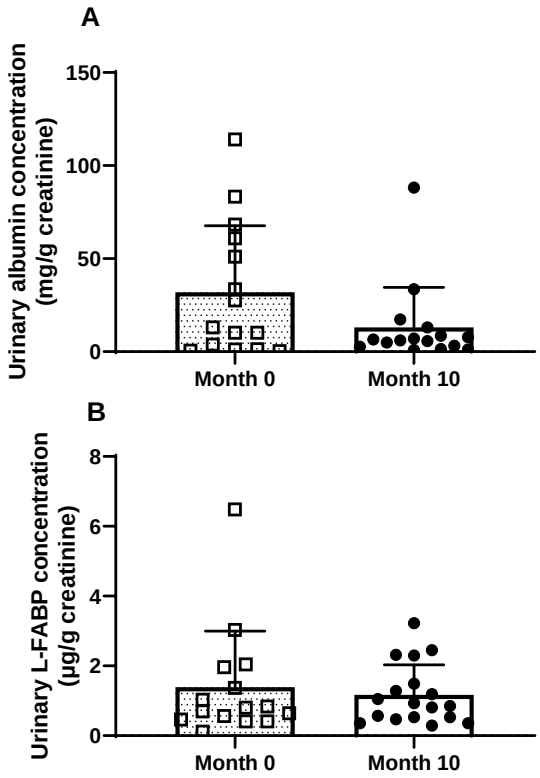


Figure 2. Urinary albumin (A) and urinary L-type fatty acid binding protein (B) concentrations after 10 months of volleyball training

加えて、骨吸収の指標である尿中Ｉ型コラーゲン架橋 N-テロペプチド濃度においても、統計的に顕著な差は認められなかった（Figure 3)。

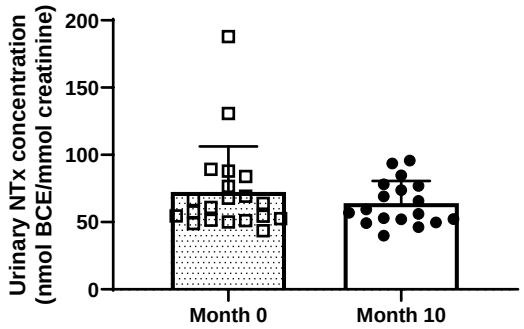


Figure 3. Urinary type I collagen cross-linked N-telopeptide concentration after 10 months of volleyball training

さらに、ピアソンの相関分析により、腎機能及び骨吸収マーカーと女性ホルモンとの間に、有意な関連性は認められなかった（Table 1)。

Table 1. Association of urinary 17β-estradiol with urinary albumin, liver-type fatty acid binding protein and type I collagen cross-linked N-telopeptides concentrations following 10 months of volleyball training in adolescent female athletes

	Urinary 17β-estradiol (ng/ml)		
	r	p	Significance
Urinary albumin (mg/g creatinine)	0.093	0.733	ns
Urinary L-FABP (μg/g creatinine)	-0.033	0.903	ns
Urinary NTx (nmol BCE/mmol creatinine)	-0.299	0.189	ns

r: correlation coefficient, p: probability value, ns: no significance, L-FABP: liver-type fatty acid binding protein, NTx: type I collagen cross-linked N-telopeptides

【考察】

エネルギー制限を伴う急性・慢性的な体重減少は骨吸収が増加することが証明されている(Prouteau et al., 2006)。しかし、骨吸収がどのようなメカニズムで増大するのかについては、未だ解明されていない。尿中Ｉ型コラーゲン架橋 N-テロペプチドは、骨分解に由来する架橋ペプチドを測定するため、ヒドロキシプロリン、ピリジノリン、デオキシピリジノリンなどの既知のマーカーと比較して、より感度の高い骨吸収のマーカーとして認識されている(Hanson et al., 1992)。さらに、尿中Ｉ型コラーゲン架橋 N-テロペプチド濃度は、尿中ピリジノリンやデオキシピリジノリンと比較して、身体活動により反応するマーカーであることが示されている（Iwamoto et al., 2002)。

本研究では、長期バレーボールトレーニングによって、尿中Ｉ型コラーゲン架橋 N-テロペプチド濃度に関する有意な変化は観察されなかった。骨吸収マーカーがこのような現象になった理由として、エネルギー制限が比較的緩やかであったため（長期トレーニング期間中は類似した食事摂取を実施)、体重の変化が少なかったことが考えられる(Yasuda and Yano, 2018)。Zanker and Swaine (2000)によると、有意な骨吸収を引き起こすには、より大きなエネルギー制限（3 日間 50%以上）が必要であると考えられる。また、骨吸収マーカーの変化を検出するために、尿採取のタイミングが適切でなかった可能性も考えられる（各選手の諸事情を考慮した部活動前の検体採取)。女性ステロイドホルモンの骨リモデリングバランスに対する機能は実証されているが、尿中エストラジオール濃度の尿中Ｉ型コラーゲン架橋

N-テロペプチド濃度への影響についてはほとんど情報がない（Balasch et al., 2003)。本研究では、長期バレーボールトレーニングにおいて、尿中エストラジオール濃度とⅠ型コラーゲン架橋 N-テロペプチド濃度の間に有意な相関は認められなかったので、骨吸収と女性ホルモンとの間に直接的な因果関係があるとは断定できない。

ヒトにおける尿中エストラジオール濃度と尿中アルブミン濃度や尿中Ｌ型脂肪酸結合蛋白濃度に関する作用機序についてのデータは不足しているが、先行研究では、女性ホルモンが腎保護作用を持つ可能性を示すいくつかのデータが得られている（Bairey Merz et al., 2019)。本研究では、成長期女子アスリートにおける長期トレーニング後の尿中エストラジオール濃度と尿中アルブミンや尿中Ｌ型脂肪酸結合蛋白濃度との間に有意な相関関係が認められなかった。その理由については、潜在的にトレーニングによる適応が含まれるかもしれないが、明確に結論付けることはできない。今後、性周期と性ホルモンおよびトレーニング環境（運動強度・頻度・時間、栄養・水分摂取の量やそのタイミング、温度・湿度等の環境要因)の条件をより詳細に検討することで、腎機能の適応についての作用機序を解明することが可能となる。

以上のことから、本研究の結果は、成長期女子トップアスリートにおける長期トレーニング後の腎機能、骨吸収において、有意な変化が見られず、各指標は正常値の上限内であったことから、潜在的にトレーニング適応に起因している可能性を示した。これらのデータは、各選手のパフォーマンス向上やオーバートレーニング予防のための至適トレーニングプログラムを作成する際に貴重な情報となる。

【謝辞】

本研究の遂行にあたり、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謝致します。

【参考文献】

Bairey Merz CN, Dember LM, Ingelfinger JR, Vinson A, Neugarten J, Sandberg KL, Sullivan JC, Maric-Bilkan C, Rankin TL, Kimmel PL, Star RA; participants of the National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases Workshop on “Sex and the Kidneys”. Sex and the kidneys: current understanding and research opportunities. Nat Rev Nephrol. 2019;15(12):776-783.

Balasch J. Sex steroids and bone: current perspectives. Hum Reprod Update. 2003;9(3):207-22.

Brenner JS, Kelly AW. Overuse and Overtraining Injuries in Teenage Athletes. Adolesc Med State Art Rev. 2015;26(1):79-99.

Daanen HA, Jonkman AG, Layden JD, Linnane DM, Weller AS. Optimising the acquisition and retention of heat acclimation. Int J Sports Med. 2011;32(11):822-8.

Hanson DA, Weis MA, Bollen AM, Maslan SL, Singer FR, Eyre DR. A specific immunoassay for monitoring human bone resorption: quantitation of type I collagen cross-linked N-telopeptides in urine. J Bone Miner Res. 1992;7(11):1251-8.

Iwamoto J, Takeda T, Ichimura S. Relationships among physical activity, metacarpal bone mass, and bone resorption marker in 70 healthy adult males. J Orthop Sci. 2002;7(1):6-11.

Oosthuyse T, Strauss JA, Hackney AC. Understanding the female athlete: molecular mechanisms underpinning menstrual phase differences in exercise metabolism. Eur J Appl Physiol. 2023;123(3):423-450.

Prouteau S, Pelle A, Collomp K, Benhamou L, Courteix D. Bone density in elite judoists and

effects of weight cycling on bone metabolic balance. Med Sci Sports Exerc. 2006;38(4):694-700.

Yasuda N, Yano T. Concomitant assessment of DNA oxidation and bone resorption over a rapid body mass reduction period in female judokas. J Biol Regul Homeost Agents. 2018;32(4):781-790.

Yasuda N, Yamamoto K, Iwashita N. Concurrent evaluation of salivary and urinary α-amylase activity following prolonged exercise with or without carbohydrate solution in aerobically active men. Neuro Endocrinol Lett. 2021;42(4):265-276.

Zanker CL, Swaine IL. Responses of bone turnover markers to repeated endurance running in humans under conditions of energy balance or energy restriction. Eur J Appl Physiol. 2000;83(4 -5):434-40.

胎盤形成に対する炎症抑制因子 HRG と炎症惹起因子 HMGB1 の拮抗的生理調節機構の解析

岡山医療専門職大学 健康科学部

勅使川原　匡

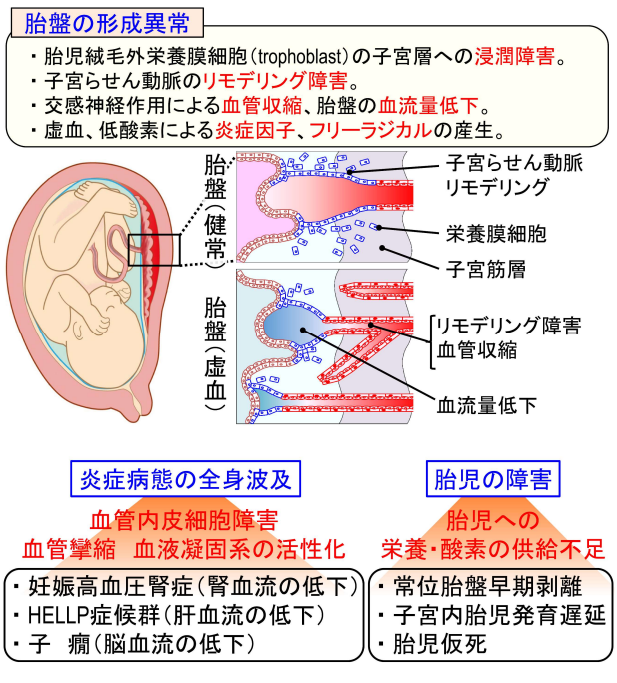
胎盤の形成異常によっておこる妊娠高血圧症候群（HDP）は、発症機序に不明な点が多く、根本的な治療法・予防法が確立していない。重篤化した HDP は、妊娠高血圧腎症、子癇、子宮内胎児発育遅延などを合併し、母児の予後不良につながる。近年、ヒト妊婦において血漿高ヒスチジン糖タンパク（HRG）の著しい減少が、妊娠高血圧腎症の進展と相関することが報告されている。血漿 HRG は、全身性炎症病態の進行を制御する抗炎症因子である。平成 31 年度 ウエスコ学術振興財団研究助成において、本研究は、健常妊娠マウスにおける血漿 HRG の生理的動態が、子宮組織（胎盤）に由来するマトリックスメタロプロテアーゼ（MMPs）の HRG 分解作用であることを明らかとした。また、妊娠 HRG 遺伝子欠損マウス（HRG KO マウス）が、母体の高血圧や胎盤過形成などの HDP 様病態を呈することを明らかとした。令和 4 年度 ウエスコ学術振興財団研究助成による本研究では、HRG KO マウスの HDP 様病態が、胎盤の血管リモデリング障害をおこしていることを明らかとしている。これらの結果は、血漿 HRG によって制御される胎盤形成機構の異常が、HDP 発症に関与する可能性を示唆している。

1.はじめに

妊娠高血圧症候群（hypertensive disorders of pregnancy, HDP）は、胎盤の形成異常による高血圧・血管内皮細胞障害(炎症)を伴った病的状態であり、全妊婦の約５％が罹患する。健常な妊娠母体は、胎児由来の絨毛外栄養膜細胞（extravillous trophoblast, EVT）が子宮内膜層・筋層に浸潤し、子宮らせん動脈の血管壁細胞が栄養膜細胞と置換される。このリモデリング機構によって血管が拡張することで、胎盤の絨毛間腔に十分な血液が供給される。一方、HDP では、栄養膜細胞の子宮内浸潤・血管リモデリングが障害されることで、交感神経作用による血管収縮がおこり、胎盤循環血流量の低下が生じる。この代償として、母体血圧は上昇するが、胎盤の虚血・低酸素状態は、各種の炎症性サイトカインやフリーラジカルの産生を亢進し、免疫細胞の活性化や血管内皮細胞障害を誘導する。胎盤から全身へ波及する炎症因子は、妊娠高血圧腎症、HELLP 症候群、子癇などを合併させ、HDP 病態を重篤化させる。また、胎児への栄養・酸素の供給不足は、常位胎盤早期剥離、子宮内胎児発育遅延、胎児仮死などの障害を引き起こす（図 1）[1-3]。

臨床的に HDP は、絶対安静・栄養管理・降圧薬などの治療が施される。しかし、栄養膜細胞の子宮内浸潤･血管リモデリングが障害される分子機序は、未だ十分な解明に至っておらず、HDP の根本的な治療法・予防法は確立していない。

図 1 : 妊娠高血圧症候群（hypertensive disorders of pregnancy, HDP）



2．高ヒスチジン糖タンパクと妊娠高血圧腎症

高ヒスチジン糖タンパク（histidine-rich glycoprotein, HRG)は、肝で産生される分子量 75kDa の血漿糖タンパクである。血漿 HRG は、自然免疫系炎症において、血液・血管の病態イベントを抑制的に制御する多機能タンパクと考えられている。これまでに我々は、血漿 HRG が炎症惹起因子 HMGB1(high mobility group box protein 1）[4]と結合親和性があり、HMGB1 誘導性の血管新生を抑制すること、好中球過剰活性の抑制、血液凝固線溶系の制御、血管内皮保護作用などを報告してきた(前職 岡山大学に在職時の医学部 薬理学教室 西堀正洋教授の研究業績である）[5-10]。

血漿 HRG は、ヒト健常妊娠期に減少することが古くに報告されている[11-12]。近年、ヒト妊娠期における血漿 HRG の著しい減少が、妊娠高血圧腎症(現在は、妊娠高血圧症候群（HDP）と定義されている）の進展リスクと相関することが報告された[13-14]。しかし、HDP 発症における血漿 HRG の関与は、これまで基礎研究に基づいた解析がほとんどない(図２)。

本研究では、周産期生理および妊娠高血圧症候群に対する血漿 HRG の関与を明らかとすることを目的とし、野生型健常マウス（C57BL/6N）の周産期における血漿 HRG の動態、及び、HRG 遺伝子欠損マウス（HRG KO）の妊娠期表現型を解析した。

3.健常マウスと HRG KO マウスにおける HRG 動態

これまでの本研究において、健常マウスの妊娠期における血漿 HRG タンパクが、ヒト妊婦と同様に減少すること、及び、その生理機序を明らかとしてきた。妊娠期の血漿 HRG タンパクの減少は、出産によって未妊娠の血漿 HRG 量まで回復する。一方、妊娠期間を通して、肝 HRG 遺伝子の発現量は、変化しない。妊娠期の血漿 HRG は、タンパクレベルの代謝回転が亢進していることが示唆される。

この血漿 HRG の減少は、子宮組織（おそらくは胎盤）に発現するマトリックスメタロプロテアーゼ（MMPs）に起因すると考えられた。妊娠母体は、穏やかな慢性炎症状態にあるとみなすことができる。胎盤では、トロンビンや MMPs などの各種プロテアーゼ発現が亢進し、絨毛外栄養膜細胞の子宮内浸潤・血管リモデリングの調節機序に寄与している[15-17]。実際、本研究において、健常妊娠マウスから子宮を除去したところ、妊娠マウスの血漿 HRG は、未妊娠マウスのレベルまで回復した。また、健常妊娠マウスに MMPs 阻害剤(batimastat)を投与すると、血漿 HRG の減少は有意に回復した（図３)。一方で、トロンビン阻害剤の投与は、妊娠マウスの血漿 HRG 減少に対して、回復効果を示さなかった。

次に、HRG 遺伝子欠損マウス（HRG KO）の妊娠期表現型を検討した。未妊娠の HRG KO マウスの平均

図２：高ヒスチジン糖タンパク（Histidine-Rich Glycoprotein, HRG）

・肝において産生される血漿糖タンパク。*Z Physiol Chem, 353:1133-40. (1972)* *Biochemistry,* 25(8):2220-5. (1986)

・炎症惹起因子HMGB1（High mobility group box-1）と結合親和性があり、HMGB1誘導性の血管新生を抑制する。*Eur J Pharmacol,* 623:89-95. (2009)

・好中球過剰活性の抑制、血液凝固線溶系の制御、血管内皮保護作用など、多機能な抗炎症作用をもつ。*EBioMedicine,* 9:180-94. (2016) *Br J Pharmacol,* in press. (2019)

ヒト妊娠期において、
血漿HRGの減少量と妊娠高血圧腎症の進展は相関する。

Proc Soc Exp Biol, 158:647-51. (1978)
Am J Hypertens, 24(4):496-501. (2011)

妊娠期高血圧の発症における血漿HRGの関与は、基礎研究に基づいた報告が皆無である。

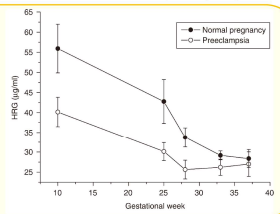


図３：血漿HRGの妊娠期減少は 胎盤のMMPsに依存する

健常妊娠マウスへのMMPs阻害剤（Batimastat）投与

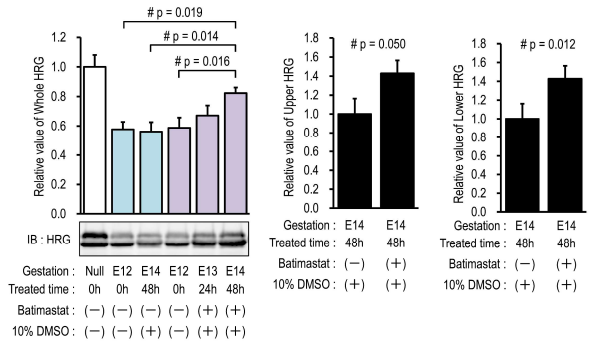
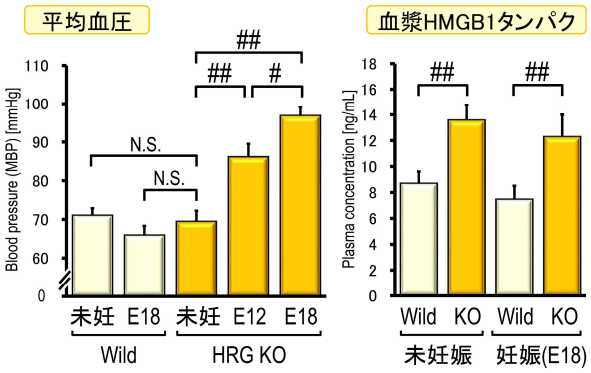


図４：HRG KOマウスは 恒常的に血中HMGB1濃度が高い
また、妊娠HRG KOマウスは 高血圧を発症する



血圧は、健常マウスの平均血圧と差がみられない。しかし、HRG KO マウスは、妊娠期間が 12～18 日目（E12～E18）と進むに従って、平均血圧値の有意な上昇を呈した。加えて、HRG KO マウスは、炎症惹起因子である血中 HMGB1 量が、妊娠に関係なく恒常的に高値を示していた（図４）。妊娠 18 日目の HRG KO マウスの胎盤は、胎盤の過形成、血管新生因子（PlGF と VEGF）の発現亢進と生理的 NO 合成酵素（eNOS）の発現減少（図６）がみられた。

一般に HDP の発症は、絨毛外栄養膜細胞（EVT）の血管リモデリング障害による胎盤微小血管の収縮（血流障害）が主原因と考えられている。そこで、妊娠HRG KO マウスの胎盤における血管リモデリングを、免疫化学的手法によって定量解析した（図５-１/２）。HRG KO マウスの胎盤は、EVT の子宮内膜への浸潤能低下がみとめられ、この血管リモデリング障害が妊娠母体の血圧上昇（HDP 様病態）をおこしている可能性が示唆された。また、妊娠 HRG KO マウスへの精製 HRG タンパクの補充療法は、胎盤組織における HMGB1 や血管新生因子の発現量を改善させた（図７）。

これらの結果から、妊娠期の HRG の減少は、生理的な胎盤形成の要因と考えられるが、過剰な HRG の減少は、胎盤微小血管の血流障害を引き起こし、母体の高血圧を発症させる可能性が示された。

５.現在までの HDP 病態解析

現在、HDP の病態は、「Two step theory」によって理解されている（図８）[18-19]。第１段階は、胎盤形成不全（血管リモデリング障害）がおこる。虚血・低酸素状態による胎盤の組織障害は、胎盤の血管新生・血管拡張をさらに抑制し、胎盤循環血流量の低下を増悪化させる。第２段階は、血管内皮細胞障害（胎盤組織のアポネクローシスによる炎症）がおこる。胎盤への免疫細胞の浸潤・活性化も亢進する。胎盤で産生される炎症因子は、血液循環によって母体全身に波及し、他の末梢臓器や中枢組織においても血管内皮細胞障害を惹起する。また、胎児への栄養・酸素の供給不足は、常位胎盤早期剥離や子宮内胎児発育遅延などの障害を引き起こす。

図5-1：HRG KOマウスの胎盤は 血管リモデリング障害がある

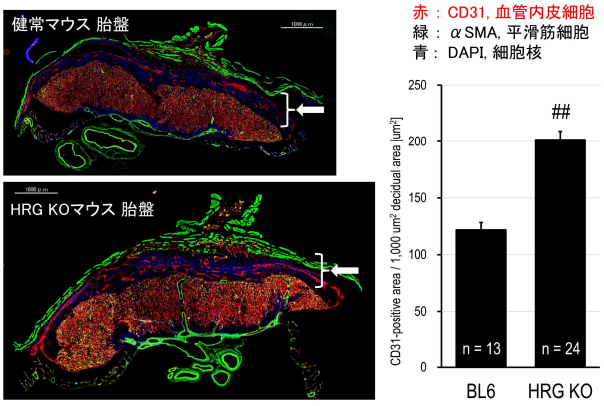


図5-2：HRG KOマウスの胎盤は 血管リモデリング障害がある

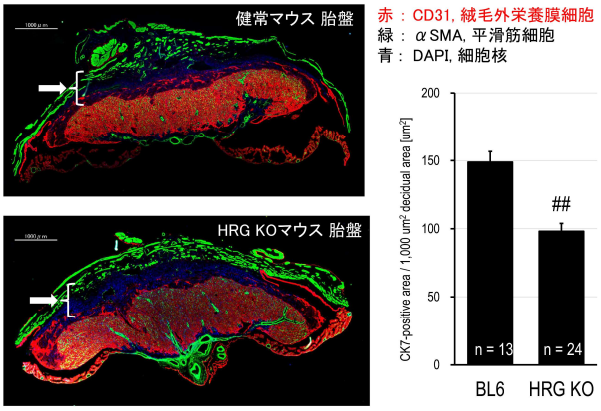


図6：HRG KOマウスの胎盤は 血管新生因子の発現亢進と血管内皮型NOSの発現減少がみられる

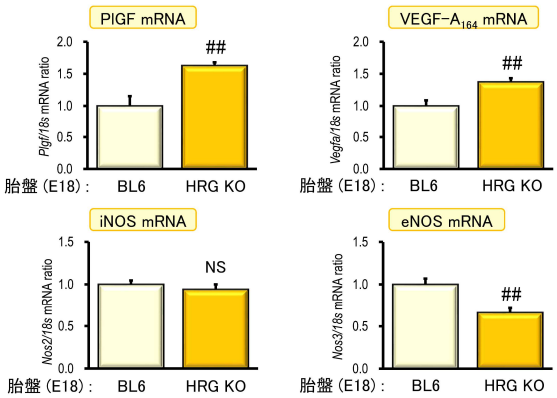
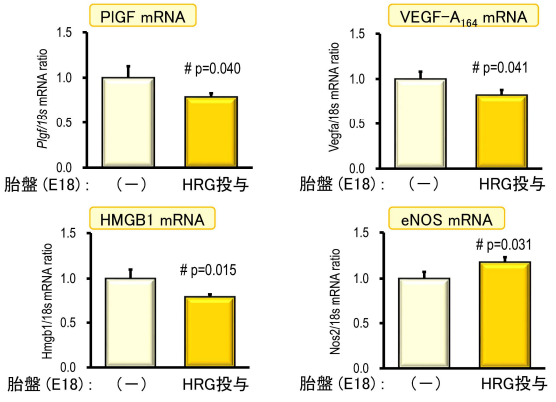


図7：HRGタンパク補充療法は 妊娠HRG KOマウスにおける胎盤の血管新生因子・炎症因子の発現異常を改善する



HDP における妊娠母体の全身性炎症反応の亢進は、健常妊娠でもみられる現象である。このことから、「正常または異常」という対立的原因によって HDP が発症するのでなく、健常周産期でおこる生理的な免疫活性の過剰亢進した状態が、HDP 病態であると考えられる[20]。実際、糖尿病や高血圧、自己免疫疾患などを合併しているヒト妊婦は、HDP の発症率が高い。これは、妊娠前から発症している血管内皮細胞障害が、妊娠期の炎症負荷を増大させるためと考えられる。

胎盤形成不全は、絨毛外栄養膜細胞（EVT）の子宮内浸潤と血管リモデリングの障害が主要因と考えられているが、その機能障害がおこる原因は未だ明らかとなっていない。妊娠期に胎盤産生量や血中濃度が変動するいくつかの炎症因子・血管新生因子・血圧制御因子は、HDP の発症・重篤化と相関性をもつことが報告されており、HDP の早期診断・治療を目的としたバイオマーカータンパクとなる可能性が示唆される[21-23]。

図8Two step theoryによるHDPの病態機序

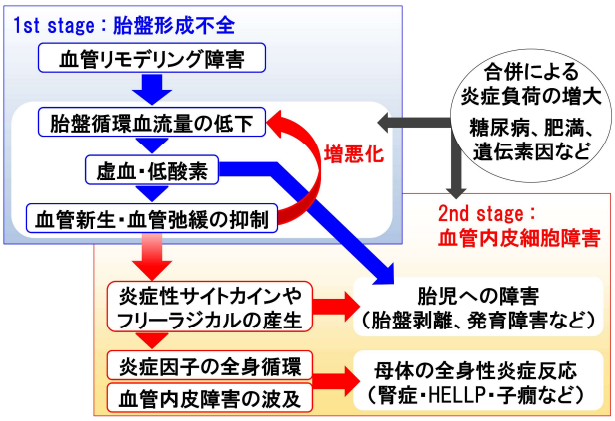
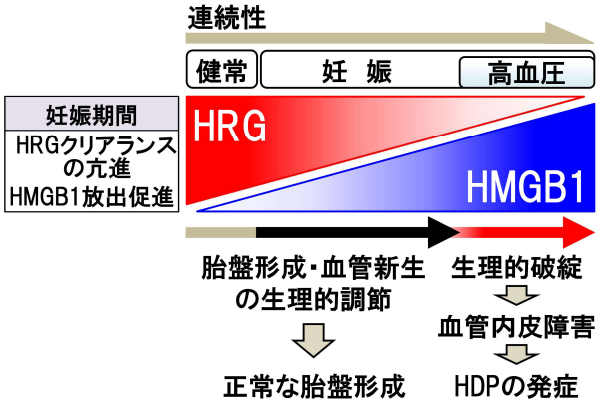


図9：妊娠高血圧症候群（HDP）の新規病態仮説



6. HRG 作用に基づく HDP 治療戦略の展望

自然免疫活性に起因する血管内皮細胞障害や血液凝固・線溶系活性において、HRG と HMGB1 は、全身性炎症病態の進行を制御する拮抗的因子である。一方、これらの血液・血管にみられる病態イベントは、周産期の胎盤形成・妊娠の維持においても重要な生理現象である。もし、組織・細胞傷害によって顕在化する病態制御因子の HRG と HMGB1 が、健常周産期の胎盤形成に生理調節因子として作用するなら、周産期生理学領域に新しい知見を提唱できる可能性がある。HDP の治療戦略として、HRG 補充療法も期待できる。抗炎症因子ではなく、胎盤形成における生理因子としての血漿 HRG の機能解析は、世界的にみても本研究が先駆性の高い試みとなる。

本研究は、胎盤の形成・維持における血管新生の制御が、HRG と HMGB1 の生理的拮抗作用にあると考え、妊娠期における HRG と HMGB1 の調節異常が HDP 病態の本態であるという新規病態仮説を提唱している（図９）。妊娠期の血漿 HRG の減少によって、胎盤では HMGB1 が相対的優位に作用して、胎盤形成（血管新生）が誘導されると考える。この調節機構の破綻は、HMGB1 の過剰刺激による血管内皮細胞障害（HDP 発症）を惹起するかもしれない。妊娠期は、母体のあらゆる生理機能が劇的に変化しながら、その恒常性を維持している。HRG と HMGB1 の生理作用の量的過不足が恒常性を破綻させるという発想は、独創的といえる。

6. おわりに

HDP は、母体や胎児の生命予後に関わる周産期管理上の重要疾患である。重篤化した場合は、緊急の胎児娩出によって妊娠継続を終了させることもある。HDP の発症リスクが高い妊婦を早期に診断し、治療介入する医療を確立するためにも、HDP の発症機序を解明することは、重要な研究課題といえる。

7. 謝辞

本研究の推進にご支援頂いたウエスコ学術振興財団に深く感謝致します。

8.参考文献

[1] Faas MM, Spaans F, De Vos P. Monocytes and macrophages in pregnancy and pre-eclampsia. Front Immunol. 298(5):1-11.(2014)

[2] Hod T, Cerdeira AS, Karumanchi SA. Molecular Mechanisms of Preeclampsia. Cold Spring Harb Perspect Med. 5(10):a023473.(2015)

[3] Nissaisorakarn P, Sharif S, Jim B. Hypertension in Pregnancy: Defining Blood Pressure Goals and the Value of Biomarkers for Preeclampsia. Curr Cardiol Rep. 18(12):1-14.(2016)

[4] Wang H, Bloom O, Zhang M, Vishnubhakat JM, Ombrellino M, Che J, Frazier A, Yang H, Ivanova S, Borovikova L, Manogue KR, Faist E, Abraham E, Andersson J, Andersson U, Molina PE, Abumrad NN, Sama A, Tracey KJ. HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. Science. 285:248-51.(1999)

[5] Wake H, Mori S, Liu K, Takahashi HK, Nishibori M. Histidine-rich glycoprotein inhibits high mobility group box 1 in complex with heparin-induced angiogenesis in matrigel plug assay. Eur J Pharmacol, 623:89-95, 2009.

[6] Wake H, Mori S, Liu K, Morioka Y, Teshigawara K, Sakaguchi M, Kuroda K, Gao Y, Takahashi H, Ohtsuka A, Yoshino T, Morimatsu H, Nishibori M. Histidine-Rich Glycoprotein Prevents Septic Lethality through Regulation of Immunothrombosis and Inflammation. EBio Medicine. 9:180-94.(2016)

[7] Zhong H, Wake H, Liu K, Gao Y, Teshigawara K, Sakaguchi M, Mori S, Nishibori M. Effects of Histidine-Rich Glycoprotein on Erythrocyte Aggregation and Hemolysis: Implications for a Role under Septic Conditions. J Pharmacol Sci. 136(3):97-106.(2018)

[8] Terao K, Wake H, Adachi N, Liu K, Teshigawara K, Takahashi H1, Mori S2, Nishibori M. Histidine-Rich Glycoprotein Suppresses Hyperinflammatory Responses of Lung in a Severe Acute Pancreatitis Mouse Model. Pancreas. 47(9):1156-64.(2018)

[9] Gao S, Wake H, Gao Y, Wang D, Mori S, Liu K, Teshigawara K, Takahashi H, Nishibori M. Histidine-rich glycoprotein ameliorates endothelial barrier dysfunction through regulation of NF-κB and MAPK signal pathway. Br J Pharmacol. In press. (2019)

[10] Nishimura Y, Wake H, Teshigawara K, Wang D, Sakaguchi M, Otsuka F, Nishibori M. Histidine-rich glycoprotein augments natural killer cell function by modulating PD-1 expression via CLEC-1B. Pharmacol Res Perspect. 7(3):e00481.(2019)

[11] Morgan WT, Koskelo P, Koenig H, Conway TP. Human histidine-rich glycoprotein. II. Serum levels in adults, pregnant women and neonates. Proc Soc Exp Biol Med. 158(4):647-51.(1978)

[12] Tatra G, Nasr F, Hoyer E. Histidine-rich-3,8S-alpha 2-glycoprotein in normal pregnancy and EPH-gestosis.[Article in German] Z Geburtshilfe Perinatol. 187(3):124-6.(1983)

[13] Kårehed K, Wikström AK, Olsson AK, Larsson A, Olovsson M, Akerud H. Fibrinogen and histidine-rich glycoprotein in early-onset preeclampsia. Acta Obstet Gynecol Scand. 89:131-9.(2010)

[14] Bolin M, Akerud P, Hansson A, Akerud H. Histidine-rich glycoprotein as an early biomarker of preeclampsia. Am J Hypertens. 24:496-501.(2011)

[15] O'Brien PJ, Koi H, Parry S, Brass LF, Strauss JF 3rd, Wang LP, Tomaszewski JE, Christenson LK. Thrombin receptors and protease-activated receptor-2 in human placentation: receptor activation mediates extravillous trophoblast invasion in vitro. Am J Pathol. 163(4):1245-54.(2003)

[16] Harris LK. Review: Trophoblast-vascular cell interactions in early pregnancy: how to remodel a vessel. Placenta. 31:S93-8.(2010)

[17] Chen J, Khalil RA. Matrix Metalloproteinases in Normal Pregnancy and Preeclampsia. Prog Mol Biol Transl Sci. 148:87-165.(2017)

[18] Roberts JM, Hubel CA. The two stage model of preeclampsia: variations on the theme. Placenta. 30:S32-7.(2009)

[19] Pollheimer J, Vondra S, Baltayeva J, Beristain AG, Knöfler M. Regulation of Placental Extravillous Trophoblasts by the Maternal Uterine Environment. Front Immunol. 9:2597.(2018)

[20] Redman CW, Sacks GP, Sargent IL. Preeclampsia: an excessive maternal inflammatory response to pregnancy. Am J Obstet Gynecol. 180(2 Pt 1):499-506.(1999)

[21] Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF, Schisterman EF, Thadhani R, Sachs BP, Epstein FH, Sibai BM, Sukhatme VP, Karumanchi SA. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. N Engl J Med. 350(7):672-83 (2004)

[22] Holmlund U, Wähämaa H, Bachmayer N, Bremme K, Sverremark-Ekström E, Palmblad K. The novel inflammatory cytokine high mobility group box protein 1 (HMGB1) is expressed by human term placenta. Immunology. 122(3):430–7(2007)

[23] Keelan JA, Mitchell MD. Placental cytokines and preeclampsia. Front Biosci. 12:2706-27(2007)

大原-児島コレクションの形成・招来・公開に関する基礎調査

大原美術館

孝岡睦子・吉川あゆみ・塚本貴之・長谷川祐里・大塚優美

大原美術館開館の礎となった西洋美術コレクションの形成、招来とその公開は、我が国における西洋美術の受容を考える上で極めて重要な意義を持つが、残念ながら、関係者による日記や書簡類、収集作品、領収書などの購入関係書類、同時代文献といった資料の基礎的調査が十分に行われているとは言いがたい状況であった。本研究では、これらの一次資料の調査を、大原美術館が所蔵する作品と資料類、関係者遺族が所蔵する資料類の調査を中心に実施し、それらの情報が参照可能なデータとなるよう整理を進めた。調査を進めていく中で、予想以上に多種多数な資料が現存することが確認できた。中心人物である児島虎次郎の日記の記録を軸に、これらの資料の情報を紐付けていくことによって、大原-児島コレクションの形成・招来・公開だけでなく、それらをとりまく社会的背景までをも立体的に描き出すことが可能であるとの見通しを得る事ができた。

1. 研究の背景

大原美術館は、1930（昭和 5）年、日本初の西洋美術の常設公開施設として、岡山県倉敷市に開館した。その礎となった西洋美術コレクションは、岡山県高梁市出身の洋画家児島虎次郎（1881-1929）と倉敷市出身の実業家・社会事業家である大原孫三郎（1880-1943）との協力によって実現したものである。児島は、大原の理解と資金提供、また、画家エドモン＝フランソワ・アマン＝ジャン（Edmond-François AMAN-JEAN, 1858-1936）をはじめとするフランスの美術関係者の協力を得て、1920 年代初頭、フランスを中心にヨーロッパ各地で美術品の収集を行った。こうして形作られたコレクション（以下、「大原-児島コレクション」と記す）は、1921（大正 10）年から 23（同 12）年にかけて倉敷で開催された 3 回の展覧会、続いて京都、東京で開催された展覧会により一般公開され、大きな反響を呼んだ。

大原-児島コレクションの形成・招来・公開は、我が国における西洋美術の受容を考える上で極めて重要な意義を持ち、多くの研究者が様々な視点から関心を寄せている。同時期に形成された代表的西洋美術コレクションとして、現在、主に国立西洋美術館が管理する松方コレクションがあるが、松方コレクションについては同館の精力的な調査活動の成果として、近年、その形成・招来に関するデータが整理・公開され、広く美術史研究に資するところとなった。一方、大原-児島コレクションについては、残念ながら次のような状況にある。

- 作品購入の際の請求書や領収書、為替の控え、通関許可書など、作品収集に関わる重要な書類が多く残されている。しかし、これらの情報が整理されておらず、研究に活用できる状態になっていない。
- 児島の日記や書簡など、当事者による記録の調査が部分的なものに留まっているため、収集活動全体を知るための材料となり得ていない。
- 作品本体に付随する情報（カンバスの裏面や木枠に残されたラベルや書き込みなど）は作品の成立や来歴を知る重要な手がかりとなる。これらの情報については、既に一応の整理がなされているが、画像による記録が不完全であるため、研究への活用がしにくい状態にある。

- 児島が作成した収集作品リストが存在するが、後年手放された作品もあることから、作品の同定が完了していない。また、他の関係者が作成したリストとの対照も完了していない。

- 収集された作品の作者には、今日あまり知られていない作家も含まれている。文献資料が乏しく、研究に必要な作家・作品情報を得られていない。

このように、大原-児島コレクションの形成・招来・公開に関わる重要な一次資料群の存在が認識されながら、その活用は困難な状態であった。

2. 研究の目的

以上を踏まえ、本研究では、児島による記録（日記、書簡など）、収集作品、収集関連書類等を対象に基礎的調査を実施し、大原-児島コレクションの形成・招来・公開に関わる情報を活用可能なデータとして整備することを目指した。これによって、大原-児島コレクションの意義を検証するための確かな素材を提供し、これらの資料に期待を寄せる多くの研究者によってその成果が活用され、美術史のみならず、幅広い研究活動に寄与できればと考える。

さらに、本研究の成果を展覧会をはじめとする大原美術館の諸活動に活かし、我が国の文化史に残る美術コレクションの形成・招来・公開が、東京や大阪といった大都市ではなく、瀬戸内の小さな町倉敷を舞台に、あるいは起点にして実現されたことを広く周知していきたいと考える。大原-児島コレクションをめぐる物語が、地域の人々に「わがまちのストーリー」として受け入れられ、定着し、そのアイデンティティーの一部となれば幸いである。

3. 研究の内容と成果

本研究では次のことを行った。なお、①および③に関しては前年度までに着手済みであったものを、本助成事業によりその作業を継続したものである。

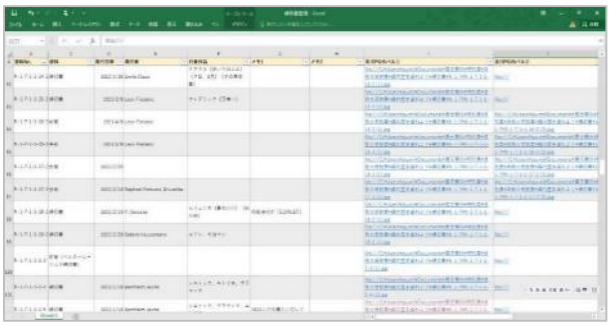
① 収集関係書類の撮影およびリスト化

大原美術館が所蔵する請求書、領収書、為替の控え、通関許可書など、作品購入に関わる書類の撮影、ナンバリングおよびリスト化を進めた。また、新たに追加書類の寄贈を受けたため、それらについても同様の作業を行った。

手書き部分の解読が容易でないものも多いため、リストとしては未だ不完全な状態であるが、発行者や発行日などの情報をもとに領収書の画像を参照することが可能となった。



撮影した収集関係書類の画像（ベルネーム＝ジュヌ画廊発行、児島虎次郎宛、1923 年 1 月 18 日付領収書）

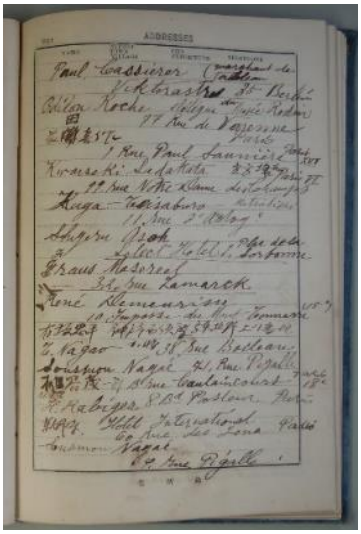


作成した収集関係書類のリスト（部分）

② 人名・施設名・住所のリスト化

児島のアドレス帳、児島の日記巻末に記された住所録、および前述（3-①）の収集関係書類をもとに、人名、店舗などの施設名、住所、およびそれらの出

典となる資料をリスト化した。住所の入力は作業途上であるが、関係する人物や店舗の検索、それらの活動地の特定が速やかに行えるようになった。



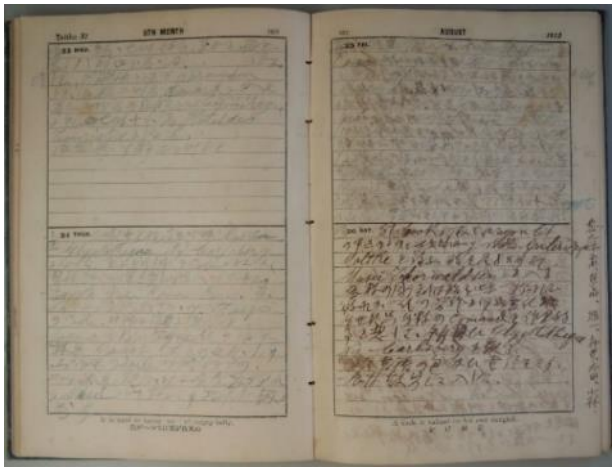
児島虎次郎日記巻末の住所録（部分）



作成した人名・施設名・住所のリスト

③　児島虎次郎日記の解読

児島虎次郎日記のうち、1919（大正 8）年から 1923（大正 12）年まで、即ち、大原-児島コレクションの本格的収集が開始される児島の第二次滞欧期から、それが完了する第三次滞欧期までの日記の解読を進めた。個人的な覚えとして記されているため、筆跡は粗雑でスペルミスも多く、解読は容易ではないが、前述の 3-①および②によって関連資料の参照が可能となり、このことが読解の大きな助けとなった。児島虎次郎日記は、言うまでもなく、大原-児島コレクションの研究にとって最重要資料のひとつである。1912（明治 45・大正元）年から 1928（昭和 3）年までのものが現存しており、その全ての解読に至るまで先は長いが、児島本人が記録した内容が理解可能な形となってきたことには大きな意義がある。



児島虎次郎日記－1922 年（部分）

④　児島家所蔵資料調査

児島虎次郎のご遺族の協力を得て、同家で保管されている各種資料の撮影を行った。資料はご遺族の手でファイルや保存箱などにまとめられているが、ここから一部の資料を抜き出すのではなく、ひとまとまりの資料群として扱うことが適切であると判断し、ファイルや保存箱毎に中に納められている全ての資料を調査することとした。

現時点までに、デッサン類、スケッチブック、美術作品の写真や複製画、印刷物の切り抜き、ハガキ、名刺、紹介状など、約 500 点の資料の撮影を行った。これまでの大きな収穫として、大原-児島コレクションのうち売却などによって手放され、画像資料もない作品（つまり、どんな絵なのか分からなかった作品）の写真と推測されるものが数点、1921（大正 10）年に倉敷で開催された「現代仏蘭西名画家作品展覧会」または 1928（昭和 3）年に東京府美術館で開催された「大原孫三郎氏蒐集泰西美術展覧会」の展示プランと推測される図面など、大原-児島コレクションの大きな「空白」を埋める可能性のある資料の確認をあげたい。

調査した資料のリスト化であるが、現時点では撮影画像のメモ程度に過ぎない状態である。ご遺族のもとにはまだ多くの資料が大切に保管されており、ご厚意によりさらに調査を続けさせて頂くことになっている。息長く、たゆまず作業を進めて行きたい。

⑤　作品の撮影

大原-児島コレクションのうち、現在大原美術館が所蔵している絵画は 107 点である。そのうち、画面（表面）・裏面ともに細部を拡大確認できる精度でのデジタル撮影が済んでいる作品は 1 割程度しかなかったため、残る作品の撮影を進めた。撮影のための作品運搬、作品裏面を保護するバックパネルや額の取り外しなど、作品にとっても人にとっても負担の大きな作業を伴うため、加えて、撮影場所確保のためのスケジュール調整が困難な状況だったこともあり、2022（令和 4）年度内に新たに撮影できた作品は 55 点に留まった。ようやく 6 割の作品の画像が揃ったところであるが、裏面の書き込みや木枠に貼付されたラベル類など、作品の成立や来歴、公開歴に関わる重要な情報を、鮮明な画像として記録できたことは、今後研究を進めるにあたって大きな助けとなるであろう。



撮影した作品画像（ジャン＝フランソワ・ラファエリ《アニエールの街路》）



同裏面（部分）の画像

⑥　関連書籍情報の収集・購入

収集作品の作家のうち、情報の乏しい作家を中心に、作品レゾネ、展覧会カタログ、モノグラムなどの関連書籍の情報を収集し、その一部、33 冊を購入した。実際にこれらの書籍を活用する段階には至っていないが、今後本研究を継続していくにあたっての大切な土台づくりができたと考えている。

4.　今後の課題・展望

今回取り組んだ 3-①～⑥の調査・作業の全てが、現時点では未完となっている。力不足を悔やむところであるが、一方、それは、児島・大原らが成し遂げたプロジェクトの大きさと、質量ともに想定以上に豊かな一次資料が残っているという喜ばしい事実のためでもある。完了に向けて息長くとり組んでいくことが肝心であり、継続への意欲を新たにしているところであるが、今回、ある資料群の調査が進み、そのデータが参照可能となることで、他の資料群の調査が飛躍的に進むという事例をたびたび経験したことから、作業途上であっても、「信頼できるデータ」として活用できる形に丁寧に整えつつ、調査を進めていくことも有益であると考えている。

当初、大原-児島コレクションの形成・招来・公開を、それらの受容という側面から検証するため、あらためて国内の同時代文献の調査を行いたいと考えていたが、手つかずに終わった。上記の調査の進捗を睨みながら着手したい。

将来的には、中心人物である児島の日記を軸に、各種資料の情報を紐付けていくことができれば、大原-児島コレクションの形成・招来・公開だけでなく、それらをとりまく社会的背景までをも立体的に描き出すことが可能であるとの見通しを得る事ができた。

5.　おわりに

これまでの調査を通して、我々調査者は、今日に伝えられたこれらの資料が互いに結び合い、当時の

状況を広くかつ立体的に浮かび上がらせてくれることを実感した。この実感を我々だけの形のない体験にすべきではない。高いポテンシャルを秘めた豊かな資料群の情報を、アクセスと参照の可能な情報として提供できるよう、引き続き作業を進めて行きたいと考える。

今回、ウエスコ学術振興財団の助成を得たことにより、本研究を進めることが可能となっただけでなく、この先息長く本研究に取り組んでいくための土台づくりができたと考えている。あらためて心より御礼申し上げたい。あわせて、本研究に惜しみないご協力を頂いた児島家ご遺族に感謝申し上げるとともに、貴重な資料群を今日まで大切に伝えてこられたことに心より敬意を表したい。

ゲノム編集を用いた腎臓病の病態解明と治療法の開発

重井医学研究所　分子遺伝部門

松山　誠

アルポート症候群は，糸球体基底膜の異常を特徴とする進行性遺伝性腎疾患である．本疾患は，*Col4a3*, *Col4a4*, または *Col4a5* の変異により発症する．アルポート症候群の研究では，これまでに *Col4a3*, *Col4a4*, *Col4a5* ノックアウトマウスが開発され，研究されてきた．しかし，病気の進行速度や薬物治療の効果は遺伝子変異や系統によって異なり，まだ不明な点が多い．

本研究では，rGONAD 法を用いて *Col4a5* を欠損させたラットを作製し，新規のアルポート症候群モデルラットを作製した．*Col4a5* 欠損ラットのヘミ変異体雄は，血尿，蛋白尿，高濃度 BUN，Cre を示し，18-28 週齢で死亡した．腎臓切片を顕微鏡下で観察すると，糸球体・尿細管の線維化，基底膜の菲薄化や緻密板の分裂・断片化など，異常が認められた．さらに，*Col4a5* 欠損ラットでは，IV 型コラーゲンの α3/α4/α5 (IV) 鎖，α5/α5/α6 (IV) 鎖が破壊されていることが確認できた．以上のことから，*Col4a5* 欠損ラットは，アルポート症候群の病態を再現しており，アルポート症候群モデルラットとして有用であることが示唆された．

（本文）

はじめに

IV 型コラーゲンは，基底膜構造の基盤となるコラーゲンで，COL4 α 1 から COL4 α 6 の 6 種類の α 鎖で構成されている．IV型コラーゲンは生体内において 3 本の α 鎖が 3 重らせんを巻いたロープ状の構造をしており，その組み合わせは α1/α1/α2, α3/α4/α5, α5/α5/α6 の 3 種類が存在する．腎臓においては，すべての基底膜に α1/α1/α2 が存在し，糸球体基底膜 (GBM)は α3/α4/α5，ボーマン嚢 (BC) には α5/α5/α6 が存在している．

アルポート症候群(Alport syndrome)は予後不良の進行性遺伝性腎疾患である．その病態の原因は，IV 型コラーゲンの異常である．アルポート症候群は X 染色体連鎖型と常染色体型に分類され，X 染色体連鎖型の原因遺伝子は *Col4a5*，常染色体型の原因遺伝子は第 2 染色体上の *Col4a3*, *Col4a4* である．アルポート症候群ではその約 8 割が X 染色体連鎖型で最も多く，X 染色体を 1 本しか持たない男性の場合，病態は重篤なもので 10 代後半から 20 代前半で末期腎不全へと進行する．

実験用ラット(*Rattus norvegicus*) は，哺乳類の中でよく使用される実験モデル動物である．ラットはマウスと比較して，体が大きく，尿量も多いなど，実験を行う上で取り扱いが容易であり利点が多い．しかし遺伝子改変技術という点では，マウスより作製が困難で，近年までノックアウトラットの作製は積極的に行われてこなかった．また，昨今の CRISPR/Cas9 というゲノム編集技術の登場により，ノックアウトラットの作製は以前に比べれば格段に容易になったが，その敷居は未だに高く，胚操作や生体外でのマニピュレーションなど，高価な装置や高度な技術を要することが大きな障壁となっていた．

そこで今回は，このような研究者にとって負担のかかる実験ステップを省略し，かつ高効率にノックアウトラットを作製できる，rGONAD (Genome-editing via Oviductal Nucleic Acids Delivery)法を使ってノックアウトラットを作製した．rGONAD 法は，Cas9 タンパク，ガイド RNA，一本鎖 DNA（ssDNA）を含む溶液を卵管に直接注入し，その後，エレクトロポレーションを行うことでノックアウトラットを作製する [1-5]．rGONAD 法を処置された母親ラットを利用すれば，妊娠から出産，そして育児まで，通常通りの飼育方法で繁殖させることが可能である．さらに，rGONAD 法は，ノックアウトラット，ノックインラットともに高効率で作製できることも報告されている [5]．

そこで本研究では，腎炎感受性のある WKY ラット系統において，rGONAD 法を用いて *Col4a5* 欠損ラットを作製し，アルポート症候群モデルとして有

用となりうるか検討したのでその報告を行う．*Col4a5*欠損ラットは，アルポート症候群の病態を再現しており，アルポート症候群モデルラットとして有用であることが示唆された[6]．

材料と方法

1．実験動物

WKY ラットを Charles River 社から購入した．12:12h の明暗時間で，自由飲水・自由給餌で飼育した．

2．*Col4a5*欠損ラットの作製

上述の通り，*Col4a5*欠損ラットを，rGONAD 法により作製した．CRISPR/Cas9 溶液を，Alt-RTM CRISPR-Cas9 system (IDT 社)の取扱説明書に従って作製した．ガイド RNA の配列を CHOPCHOP ホームページ(https://chopchop.cbu.uib.no/)のアルゴリズムを利用して作製した(図 1,a)．

交配後 0.75 日の雌ラットの卵管に，調整した CRISPR/Cas9 溶液を注入し，NEPA21（ネッパジーン社）を使用してエレクトロポレーションを行った．

3．尿および血清による腎機能評価

尿は，ラットを個別に代謝ケージに入れ，16 時間畜尿を行うことで回収した．尿蛋白は，3%スルホサリチル酸を用いて吸光度を測定し，蛋白量を計算した．

血清は，ラット尾静脈から血液を採取し，3000rpm で 5 分間遠心分離したのち上清を回収することで得た．

血清中の血中尿素窒素（BUN）は Colorimetric Detection Kit (Arbor Assays 社)を用いて測定した．血清または尿中のクレアチニン (Cre) 濃度は，Jaffe 法（富士フイルム和光純薬社）を用いて測定した．クレアチニンクリアランスは，(尿クレアチニン［mg/dl］×尿量［dl］）／血清クレアチニン［mg/dl］で算出した．測定はすべて，メーカー推奨のプロトコールに従って実施した．

4．組織学的分析

ラット腎臓を 10%緩衝中性ホルマリンに一晩以上浸漬し，脱水後，パラフィン包埋した．埋没した腎臓を 1-2μm の厚さにし，Hematoxylin and Eosin (HE)，Periodic Acid Schiff (PAS)，Periodic Acid Methenamine silver (PAM)，Masson's Trichrome (MT)法にて染色し，低真空走査電子顕微鏡(LVSEM)および透過電子顕微鏡（TEM)を用いて，腎組織を観察した．

5．リコンビナントタンパクの調製

COL4α1 から COL4α6 の NC1 ドメインに，His タグおよび MBP タグを付加したリコンビナントタンパクは，それぞれ pET-28a（Invitrogen 社）および pMAL（New England Biolabs 社）プラスミドを使用し BL21-CodonPlus-RP（Agilent Technologies 社）に形質転換して，タンパク発現させた．His, MBP 融合タンパクは，それぞれ TALON 金属アフィニティ樹脂（Clonetech 社）またはアミロース樹脂（New England Biolabs）を用いてアフィニティークロマトグラフィー法により精製した．

6．抗体作製

ラットモノクローナル rCOL4α6 は，これまでの報告にある通りに作製した．rCOL4α6 を抗原としたエマルジョンを *Col4a5* 欠損ラット雄に注入し，注入後 21 日目にリンパ球を取り出した後，SP2/0-Ag1 骨髄腫細胞と融合させた．細胞融合後，培養上清を ELISA によりスクリーニングし，陽性クローンを得た．

7．ウェスタンブロッティング

ラット腎臓と血清を SDS-PAGE サンプルバッファーでホモジナイズしサンプル調整を行った．コラゲナーゼ可溶化腎基底膜については，ラット腎臓をホモジナイズし，プロテアーゼ阻害カクテル（ナカライ）の入った緩衝液（20mM HEPES，10mM $CaCl_2$）中に腎臓抽出液とコラゲナーゼ（Brightase-C；日飛）を加え，37°C で 4 時間インキュベートした．タンパク濃度は，Coomassie

Brilliant Blue 染色によって決定した．ライセートを泳動，トランスファーし，ウェスタンブロッティングを行った．

8．免疫染色

ラット腎臓を OCT コンパウンドに浸し，液体窒素中で凍結させた．その後，5 μm の厚さで凍結切片を作製した．アセトンで固定後，5 %ロバ血清を用いて室温でブロッキングし，その後一次抗体と反応させた．PBS で洗浄後，二次抗体と室温で 1 時間反応させた．共焦点顕微鏡（オリンパス，FV1200）を用いて観察・撮影を行った．

結果

1．*Col4a5* 欠損ラット作製

rGONAD 法で，*Col4a5* 欠損ラットを作製した．*Col4a5* 遺伝子の最初の ATG の後の 27 塩基にタンデム STOP コドンを組み込んだ（図 1a）．この変異を PCR，シーケンスで確認したところ，N 末端の 9 アミノ酸のみが発現していた（図 1b,c）．IV 型コラーゲンの NC1 ドメインに対するモノクローナル抗体を用いて免疫染色およびウェスタンブロッティングを行うと，*Col4a5* 欠損ラット雄では COL4α5 タンパクの発現が認められなかった（図 6,7）．

2．*Col4a5* 欠損ラットは早期より尿蛋白・血尿が認められる

Col4a5 欠損ラットは通常繁殖が可能で，その産子はメンデルの法則に従って産まれることが確認できた．しかし，生存週齢において，ラットは通常 2 - 3 年生存するのに対し，X 染色体を 1 本しか持たないヘミ変異体雄は 18 週齢から 28 週齢で死亡した（n=58）．また，ヘテロ変異体雌は 35 週齢から 100 週齢で死亡し，100 週を超えても生存している雌は全体の約 30%にとどまった．(n=33)(図 2a)．*Col4a5* 欠損ラットは寿命が正常ラットより短く，特に X 染色体を 1 本しか持たないヘミ変異体雄では短命となることがわかった．

次に，腎機能を評価するため，*Col4a5* 欠損ラットの尿を検討した．ヘミ変異体雄では生後 21 日から血尿となり，6 週齢までに尿蛋白が認められた(約 6.0 mg/16 時間)．また，ヘテロ変異体雌では生後 4 週から血尿が認められた．12 週齢以降はヘミ変異体雄の全て（n=35）で，16 週齢ではヘテロ変異体雌の 62%（n=28/45）で尿蛋白量が 20.0 mg/16 時間以上に増加した．一方，正常ラットでは，雄雌に関わらず，いずれの週齢でも血尿・蛋白尿は検出されなかった（図 2b）．

続いて，体重変動と尿量変化について検討した．ヘミ変異体雄は，正常な雄と比べ，体重が減少し，尿量が増加した（図 2c, d）．血中尿素窒素(BUN)および血清クレアチニン(Cre）濃度は，ヘミ変異体雄で 20 週齢になると顕著に上昇した（図 2e,f）．ヘミ変異体雄の蛋白／クレアチニン比はで 8 週齢から高値となり，クレアチニンクリアランスは 20 週齢までに有意に低下した（図 2g,h）．

3．*Col4a5* 欠損ラット腎臓の病理学的所見

正常ラットと *Col4a5* 欠損ラットの腎臓切片を Hematoxylin and Eosin (HE), Periodic Acid Schiff (PAS), Periodic Acid Methenamine silver (PAM), Masson's Trichrome (MT)で染色した（図 3）．ヘミ変異体雄では，8 週齢で糸球体が崩壊しはじめるが，尿細管はまだ全体的に保持されていた（図 3a）．しかし，20 週齢に近づいてくると，糸球体の多くが，半月体形成性壊死性糸球体腎炎や巣状分節性糸球体硬化を呈し，また尿細管も破綻している様子が確認された（図 3b）．ヘテロ変異体雌の腎臓切片でも，ヘミ変異体雄ほどではないが，糸球体および尿細管に局所的な異常がみられた（図 3a,b）．

糸球体基底膜の 3 次元構造を解析するため，低真空走査電子顕微鏡（LVSEM）および透過電子顕微鏡 (TEM)を用いて，腎組織を観察した(図 4a,b)[31]．LVSEM では，正常な雄の基底膜表面が滑らかで整っているのとは対照的に，ヘミ変異体雄では多数の小孔が空いた粗い網目構造が確認された．TEM の画像では，ヘミ変異体雄の基底膜は 8 週齢から部分的に肥厚となり，加齢に伴って肥厚が広がっていく様子が確認された．さらに，20 週齢になると基底膜の菲薄化や緻密板の分裂・断片化が見られた．

4. 糸球体および尿管の線維化

糸球体および尿細管の線維化を観察するため，正常ラットおよび *Col4a5* 欠損ラットの腎臓の切片をα-SMA 抗体およびフィブロネクチン抗体で染色した（図 5）．免疫染色の結果，20 週齢のヘミ変異体雄の糸球体では，線維化マーカーである α-SMA の発現量が正常ラットと比較して増加していたが，尿細管にはほとんど検出されなかった．一方，ヘテロ変異体雌の腎臓切片では，20 週齢になっても α-SMA はほとんど検出されなかった（図 5a）．また，細胞外マトリックス（ECM）のフィブリルを検出するマーカーであるフィブロネクチンは，ヘミ変異体雄では 12 週齢以降，発現量が増加していった．ヘテロ変異体雌でも 12 週齢から発現を確認することができた（図 5b）．

5. *Col4a5* 欠損ラットにおける IV 型コラーゲン α1 から α6 の発現

正常なラットの糸球体には，全ての基底膜に α1/α1/α2, GBM に α3/α4/α5, ボーマン嚢に α5/α5/α6 という IV 型コラーゲンのネットワークが形成されている．そこで，*Col4a5* 欠損ラットにおいて，これらのタンパク局在や発現レベルが変化しているか調べるため, COL4α1 から COL4α6 のモノクローナル抗体で蛍光染色やウェスタンブロッティングを行った．

まず，ラット COL4α6 タンパクを特異的に認識するモノクローナル抗体を作製した．ヘミ変異体雄に抗原エマルジョンを注射してモノクローナル rCOL4α6 抗体を得た．

また, COL4α1 から COL4α6 のモノクローナル抗体を使い, *Col4a5* 欠損ラットの腎臓において蛍光染色を行ったところ, 8-20 週齢のヘミ変異体雄では COL4α5 の発現が消失し，ヘテロ変異体雌ではモザイクパターンとなった．また，COL4α3，COL4α4, COL4α6の発現もヘミ変異体雄では見られず，ヘテロ変異体雌ではモザイクパターンとなった（図 6a,b）．一方，*Col4a5* 欠損ラットでは，COL4α1 および COL4α2 の発現が認められ（図 6a），20 週齢になると，GBM とボーマン嚢ともに，COL4α1 および COL4α2 タンパクの蓄積が見られた．以上の結果から，*Col4a5* 欠損ラットにおいて，IV 型コラーゲン α3/α4/α5 および α5/α5/α6 のらせん構造が消失していることが示唆された．

蛍光染色の結果を踏まえて，正常ラット雄およびヘミ変異体雄の腎臓を用いて，ウェスタンブロッティングを行い，NC1 ドメインの COL4 タンパク発現を調べた（図 7）．ヘミ変異体雄の腎臓では，α3/α4/α5 由来の IV 型コラーゲン α3，α4，α5 の NC1 ドメインは検出されなかった．そして，α5/α5/α6 由来の IV 型コラーゲン α5 および α6 の NC1 ドメインも存在しなかったが，α1/α1/α2 由来の IV 型コラーゲン α1 および α2 の NC1 ドメインは，正常雄ラットと同様にヘミ変異体雄でも検出された．以上の結果は，蛍光染色の結果を裏づけるものとなった．

考察

アルポート症候群は，*Col4a3*，*Col4a4*，*Col4a5* のいずれかの変異によって発症する．これまでにも *Col4a3*，*Col4a4*，*Col4a5* 変異モデルマウスが作製され，研究されてきた．アルポートモデルマウスの生存率は，*Col4a3* または *Col4a4* 変異マウスでは 13～26 週齢，*Col4a5* 変異マウスでは 6～34 週齢[10]との報告があり，変異によってばらつきがあることがわかっている．

本研究で作製した *Col4a5* 欠損ラット雄は 18 週齢から 28 週齢で死亡し，約 95 %の個体が 20 週齢から 26 週齢の間に死亡した．今後は，この *Col4a5* 欠損ラットに対し，薬剤治療や給餌などが寿命にどのように影響するか検討していく予定である．

本研究では WKY 系統の *Col4a5* 欠損ラットを作製した．ヘミ変異体の雄では，8 週齢で糸球体の一部が崩壊し，20 週齢になると，糸球体の多くは半月体形成性壊死性糸球体腎炎や巣状分節性糸球体硬化を呈し，また尿細管も破綻していた．また，血清中の BUN と Cre 濃度は 20 週齢で高値となり，その後，約 24 週齢で死亡することがわかった．

今回，実験動物としての汎用性を広く認識されて

いるラットを対象とした遺伝子改変を行ったが，実験にラットを使用することによる利点をいくつか挙げておく．まず，ラットはイヌに比べて繁殖・維持が安価であり，妊娠期間も短い．また一腹あたりの産子数が多く，遺伝学を行う上で統計的信頼が非常に高い．そしてラットはマウスに比べて腎組織，血液，尿量が十分にあるため，タンパクや尿などの検体を大量に必要とする実験が可能である．さらに，単回の組織採取，採血，採尿で行うことができる検査の種類や実験回数が多くなり，より多角的で正確なアプローチが可能となる．

またラットは血圧測定が可能であり，その数値はマウスに比べて信頼性も高いことが知られている高血圧の症状を呈する SHR のような，特定の研究を行うためのラット系統もいくつか存在している[46]．よって，この *Col4a5* 欠損ラットはアルポートモデルラットとして，アルポート症候群のような腎疾患と血圧関連疾患との関係性を研究する上でも，新たな知見をもたらすことが期待される．

以上のことから，*Col4a5* 欠損ラットは，腎疾患のメカニズムを解明し，治療標的を特定するためのアルポート症候群モデルラットとして，有力な候補となりうる．

文献

1. Takahashi G, Gurumurthy CB, Wada K, Miura H, Sato M, Ohtsuka M: Sci Rep, 5: 11406 (2015)
2. Ohtsuka M, Sato M, Miura H, Takabayashi S, Matsuyama M, Koyano T, Arifin N, Nakamura S, Wada K, Gurumurthy CB: Genome Biol, 19: 25 (2018)
3. Gurumurthy CB, Sato M, Nakamura A, Inui M, Kawano N, Islam MA, Ogiwara S, Takabayashi S, Matsuyama M, Nakagawa S, Miura H, Ohtsuka M. Nature Protoc. 14(8): 2452, (2019)
4. Koyano T, Namba M, Kobayashi T, Nakakuni K, Nakano D, Fukushima M, Nishiyama A, Matsuyama M. Sci Rep. 9(1): 12059, (2019)
5. Kobayashi T, Namba M, Koyano T, Fukushima M, Sato M, Ohtsuka M, Matsuyama M: BMC Biotechnol, 18: 19 (2018)
6. Namba M, Kobayashi T, Kohno M, Koyano T, Hirose T, Fukushima M, Matsuyama M. Creation of X-linked Alport syndrome rat model with Col4a5 deficiency. Sci Rep. 11: 20836 (2021)

図の説明（図は別途）

図 1　*Col4a5* 欠損ラットの作製
(a)ゲノム編集の概要 (b)*Col4a5* 欠損ラットの変異箇所の塩基配列 (c)*Col4a5* 欠損ラットの遺伝子判別 (d)rGONAD 法を用いた *Col4a5* 欠損ラットの作製効率

図 2　*Col4a5* 欠損ラットは早期より尿蛋白・血尿が認められる
(a)生存率 (b)尿蛋白 (c)体重 (d)尿量 (e)血中尿素窒素(BUN)濃度 (f)血清クレアチニン(Cre)濃度 (g)蛋白／クレアチニン比 (h)クレアチニンクリアランス

図 3　*Col4a5* 欠損ラット腎臓の病理学的所見
(a)8 週齢および (b) 20 週齢における *Col4a5* 欠損ラット腎臓の HE,PAS,PAM,MT 染色

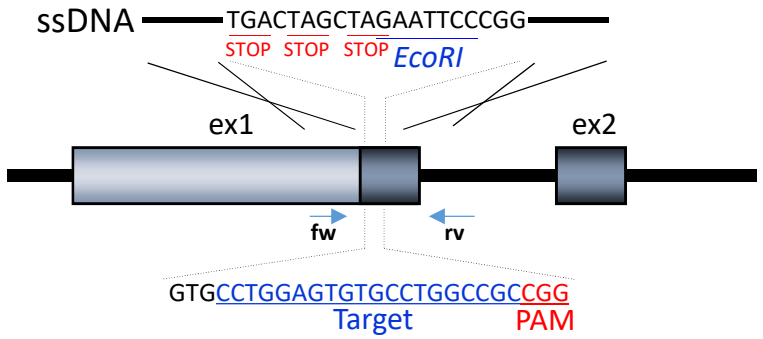
図 4　低真空走査電子顕微鏡（LVSEM）および透過電子顕微鏡（TEM）
(a)8 週齢のヘミ変異体雄の基底膜は部分的に肥厚となった (b)20 週齢のヘミ変異体雄では基底膜の菲薄化や緻密板の分裂・断片化が見られる

図 5　*Col4a5* 欠損ラットは糸球体および尿細管が線維化している
(a) 20 週齢のヘミ変異体雄の糸球体では，α-SMA の発現量が増加していたが，尿細管にはほとんど検出されなかった (b)フィブロネクチンはヘミ変異体雄で 12 週齢以降，発現量が増加した

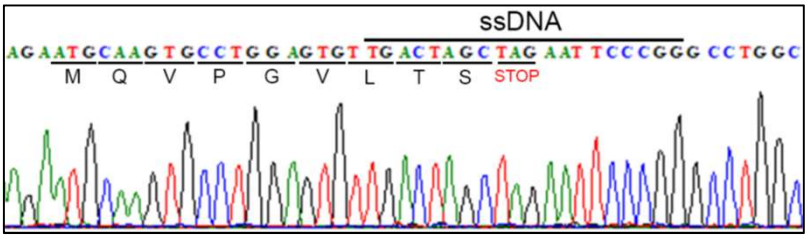
図 6　*Col4a5* 欠損ラットは IV 型コラーゲン α3/α4/α5 およびα5/α5/α6 のらせん構造が消失している
(a,b) 8 週齢(a)および 20 週齢 (b)における COL4α1 から COL4α6 の蛍光染色

図 7　正常ラットと *Col4a5* 欠損ラットの腎臓における COL4α1 から COL4α6 の発現

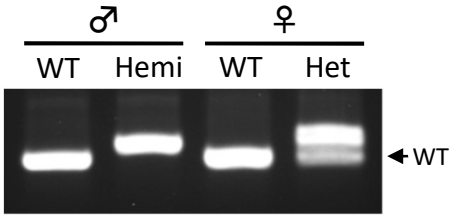
a *Col4α5* Locus



b



c



d

Stain	Treated female	pregnant mice	Newborns	modified allele	deletion	ssODN insertion
WKY	16	14	100	37 (37%)	29 (29%)	8 (8%)

図 1

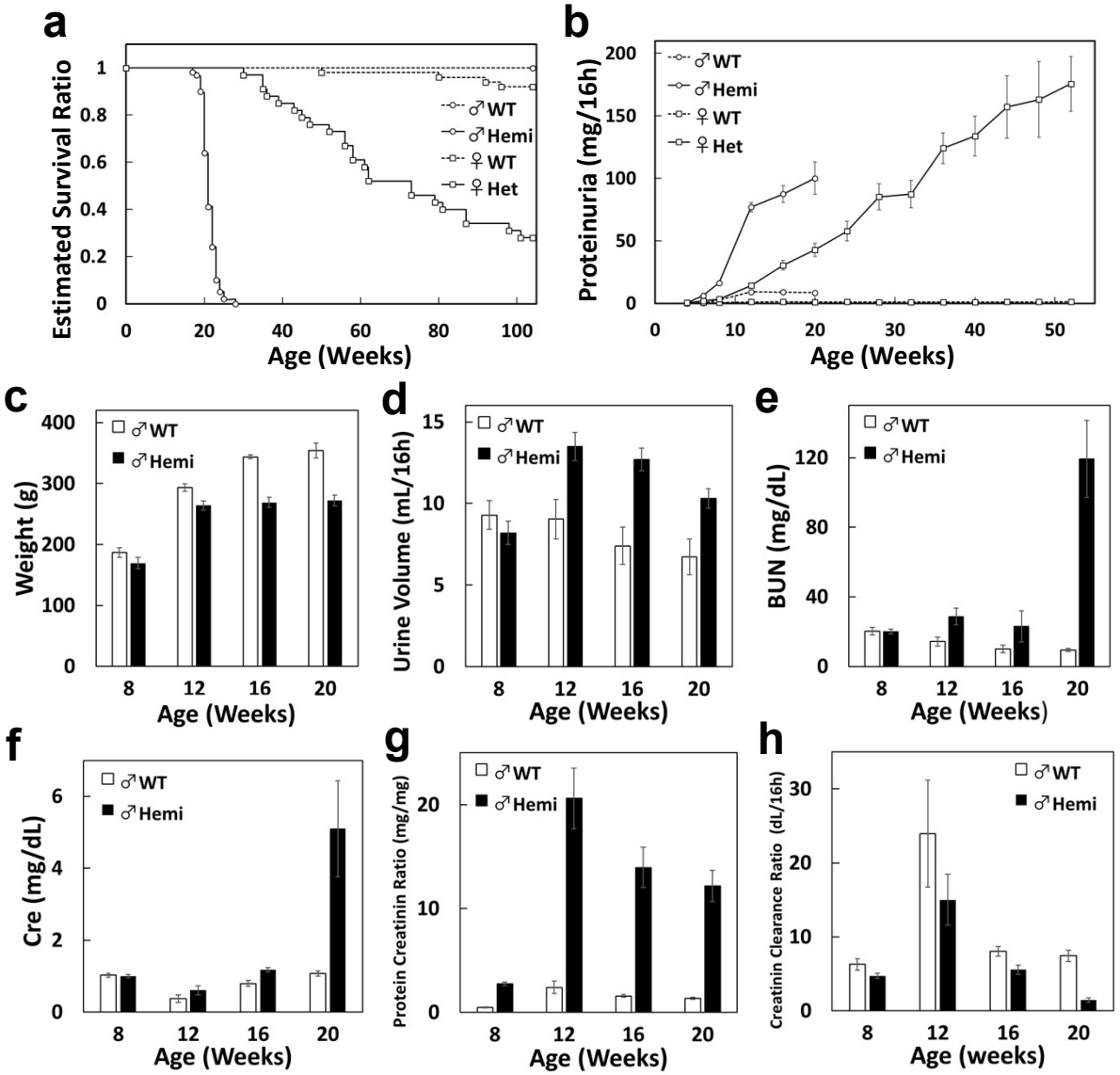

a
Estimated Survival Ratio
Age (Weeks)
♂WT
♂Hemi
♀WT
♀Het
b
Proteinuria (mg/16h)
Age (Weeks)
c
Weight (g)
d
Urine Volume (mL/16h)
e
BUN (mg/dL)
f
Cre (mg/dL)
g
Protein Creatinin Ratio (mg/mg)
h
Creatinin Clearance Ratio (dL/16h)
Age (weeks)

図 2

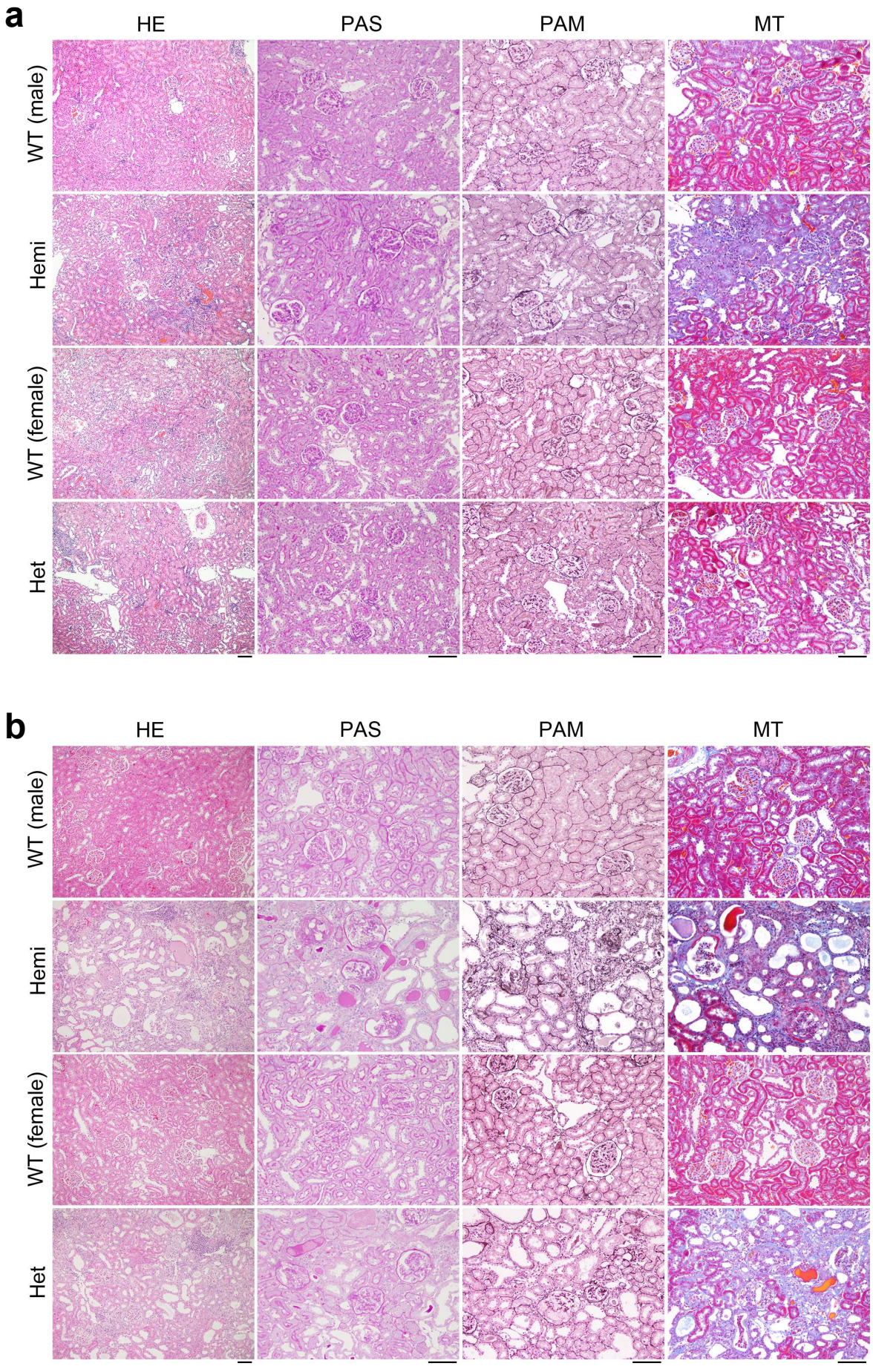

a
HE
PAS
PAM
MT
WT (male)
Hemi
WT (female)
Het
b
HE
PAS
PAM
MT
WT (male)
Hemi
WT (female)
Het

図 3

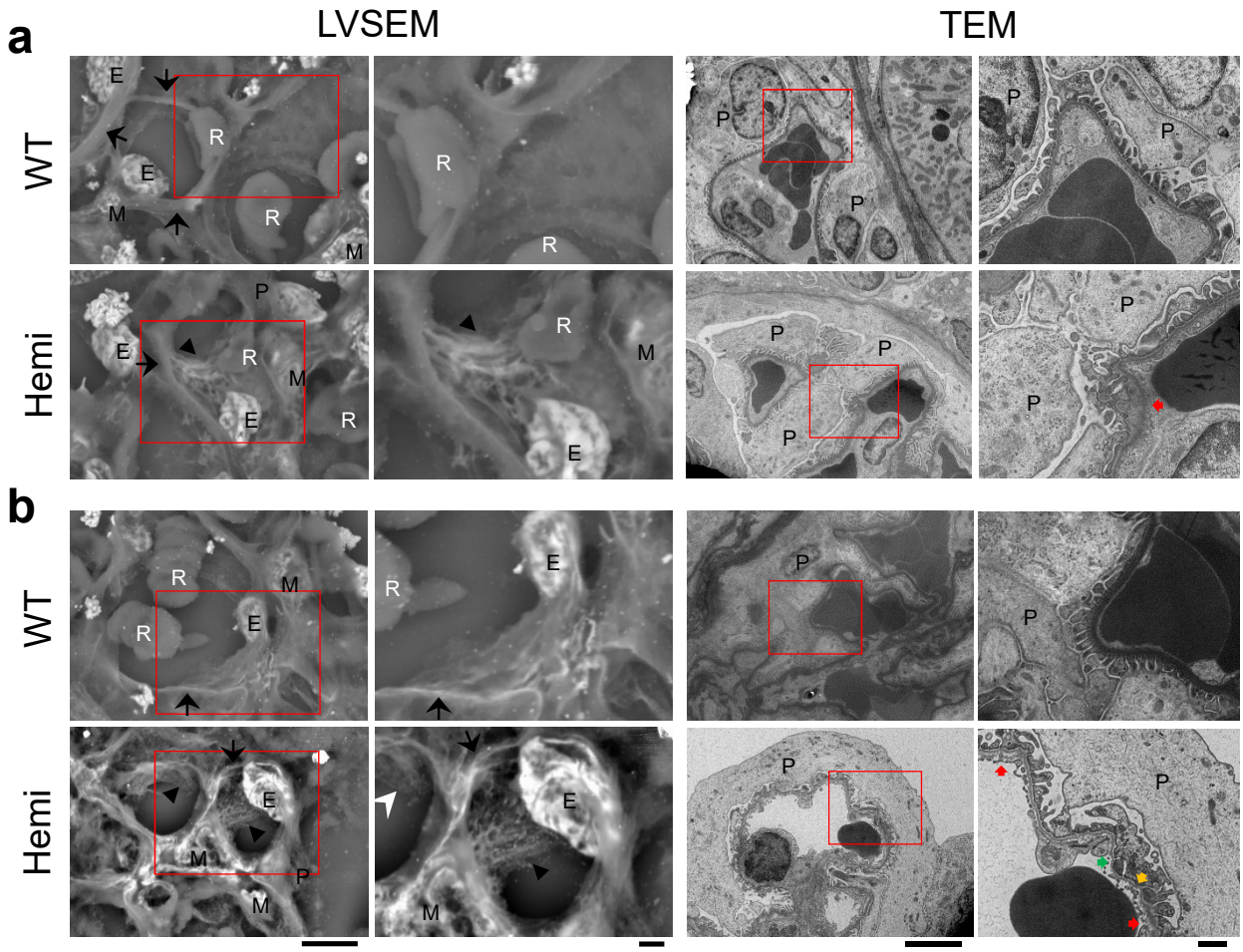


図 4

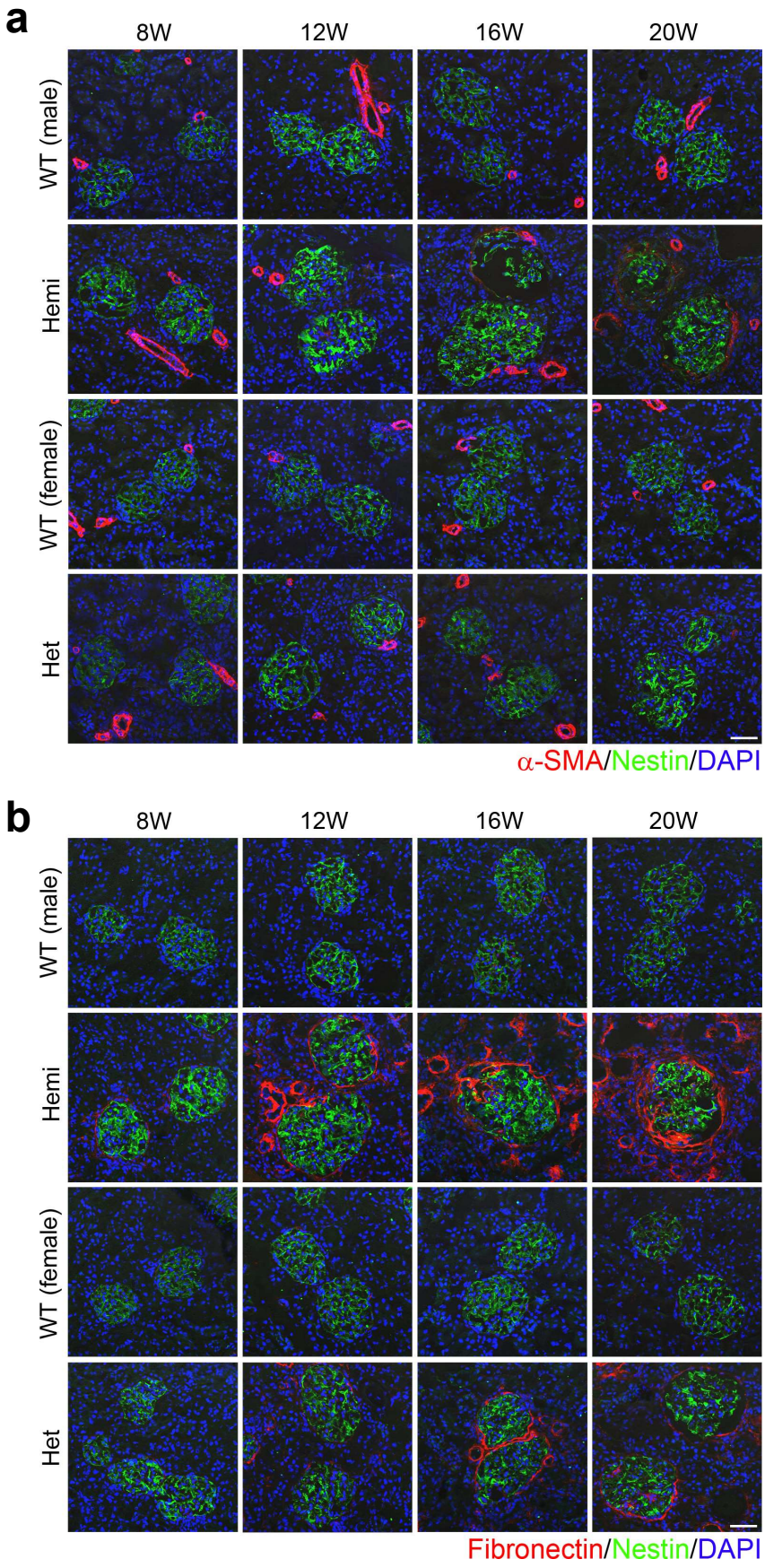

a
8W
12W
16W
20W
WT (male)
Hemi
WT (female)
Het
α-SMA/Nestin/DAPI
b
8W
12W
16W
20W
WT (male)
Hemi
WT (female)
Het
Fibronectin/Nestin/DAPI

図 5

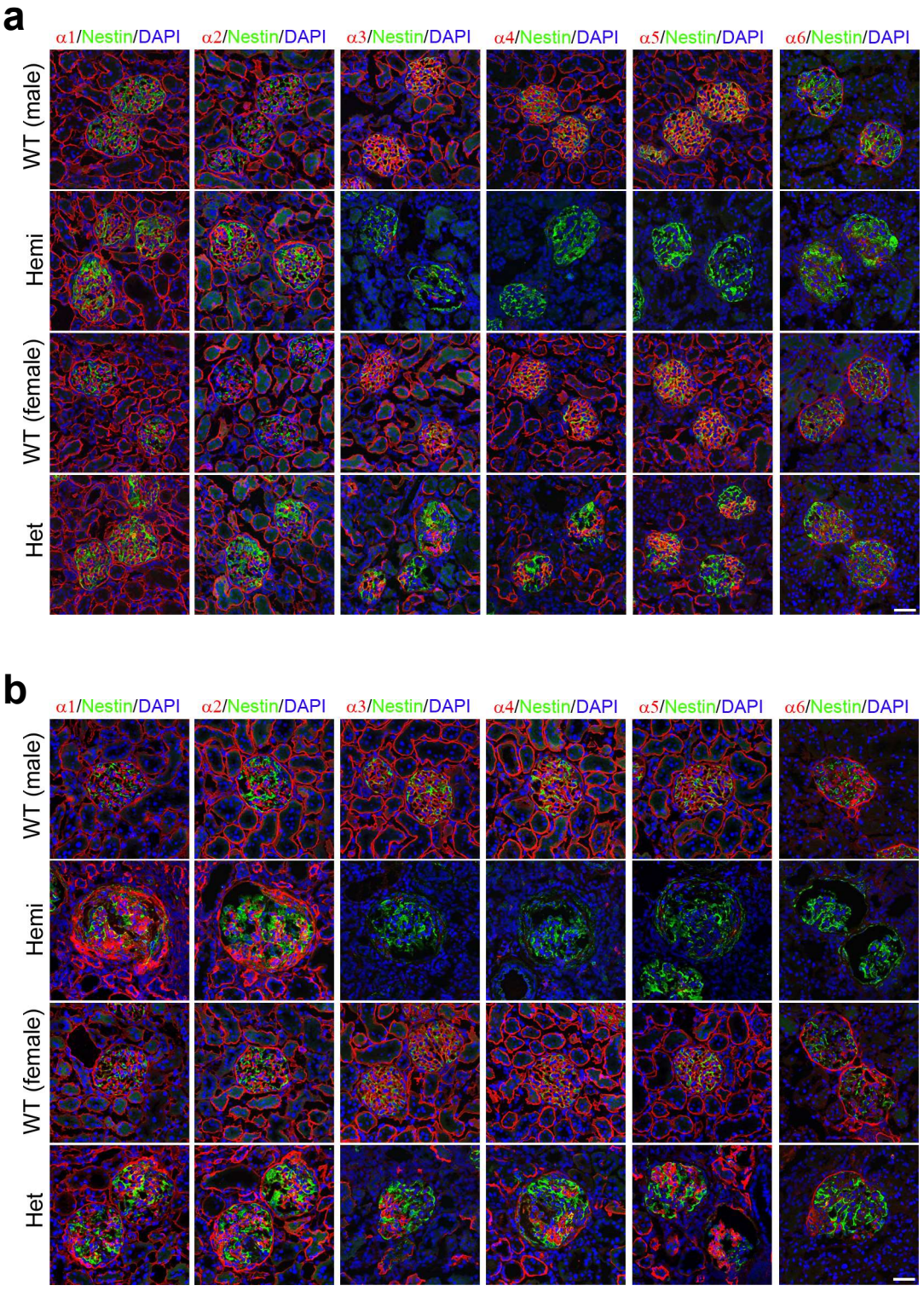

a
α1/Nestin/DAPI
α2/Nestin/DAPI
α3/Nestin/DAPI
α4/Nestin/DAPI
α5/Nestin/DAPI
α6/Nestin/DAPI
WT (male)
Hemi
WT (female)
Het
b
α1/Nestin/DAPI
α2/Nestin/DAPI
α3/Nestin/DAPI
α4/Nestin/DAPI
α5/Nestin/DAPI
α6/Nestin/DAPI
WT (male)
Hemi
WT (female)
Het

図 6

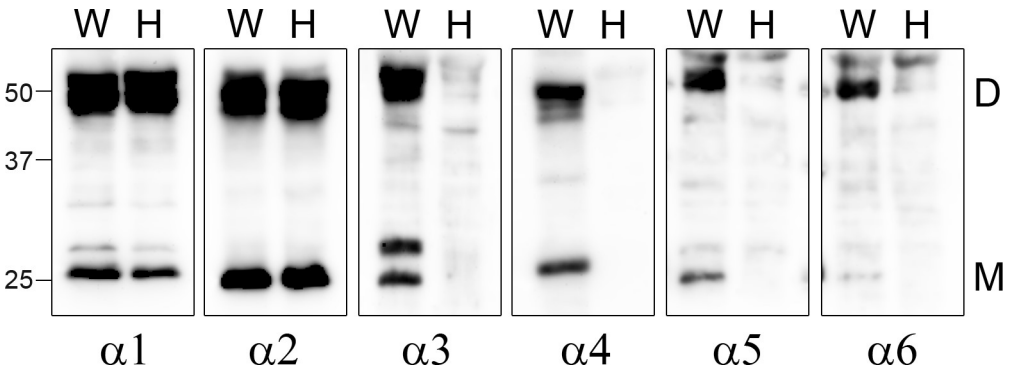


図 7

令和３年度　海外渡航報告書

（所　属）岡山大学環境生命科学研究科

（氏　名）若井拓哉

（概要）

渡航先：オーストラリア・モナシュ大学（住所：Development and Stem Cell Program and Department of Anatomy and Developmental Biology, Monash Biomedicine Discovery Institute, Monash University, Melbourne, Victoria 3800, Australia.）

日程：2022 年 8 月 15 日～8 月 21 日

8 月 15 日（移動日：日本・成田国際空港→オーストラリア・ケアンズ）

8 月 16 日（移動日：オーストラリア・ケアンズ→メルボルン）

8 月 17 日（モナシュ大学にて共同研究打ち合わせ）

8 月 18 日（モナシュ大学にて研究セミナーで発表）

8 月 19 日（モナシュ大学にて共同研究打ち合わせ）

8 月 20 日（移動日：オーストラリア・メルボルン→日本・成田国際空港）

8 月 21 日（移動日：日本・成田国際空港→関西空港）

ライフスタイルや価値観の変容により女性の晩婚化・晩産化が進行し、我が国を含む先進国を中心として体外受精などの生殖補助医療技術(Assisted reproductive technologies: ART)の需要が高まっている。卵子は生涯で排卵される数に限りがあり、また母体の加齢に伴い品質低下することが広く知られている。我々はこれまで、加齢卵子の機能や品質を解明する研究に取り組んできたが、基礎的理解の向上のために最先端の研究を取り入れる必要がある。また国際的に ART 技術の進展は急速であるが、広域連携が構築されつつある欧米と比べ我が国の組織的な国際連携はやや遅れている感がある。我が国ならびに世界の ART 研究拠点の構築を目指すことを最終的な目的として、今回の渡航では、これまで渡航先機関と行ってきた共同研究と今後の体制強化について意見交換を行った。

本事業の渡航先であるオーストラリアは ART の先進国である。世界初の体外受精児は 1978 年にイギリスで誕生したが、1973 年に世界で始めて体外受精による妊娠に成功したのはビクトリア州の州都メルボルンの医師達である。また 1983 年に凍結受精卵による妊娠に初めて成功したのは、同じくメルボルンにある本研究の渡航先機関モナシュ大学である。共同研究相手の John Carroll 博士らの研究グループは、哺乳類の卵子研究で世界をリードする研究成果を挙げている（Nabti et al., Nat Commun 2017; Marangos et al., Nat Commun 2015; Nabti et al., J Cell Biol. 2013; Homer et al., Science 2009)。John 博士との交流は 2014 年の国際学会において発表演題について討論したことに始まるが、互いに卵子のミトコンドリアに関する研究に興味を持っていたこともあり 2017 年より共同研究を開始した。2017 年と 2018 年には実際にモナシュ大学を訪問し、John 博士の研究室の博士研究員である Deepak Adhikari 博士と共同で実験を行った。その後、共同研究のプロジェクトは着実に進展し、更なる研究発展のため本事業に応募・採択に至ったが、2019～2020 年から始まった Covid-19 パンデミックによって海外渡航が極めて困難な状況になった。渡航を計画した 2020～2021 年はオーストラリアの入国制限のため渡航が不可能であり、2022 年になりようやくワクチン接種下で入国制限が緩和され、渡航計画を組めるようになった。

8 月 16 日の夕刻に現地に到着し、翌日の研究打ち合わせのために Adhikari 博士と電話したが、研究室内での

人数制限など大学内でも厳しい活動制限を課される日本の大学とは異なり、Monash 大学内ではマスク着用等の一般的な感染対策を徹底すれば割合自由に活動することができ、3 日間の短い滞在期間を最大限利用できると感じた。

8 月 17 日は 9:00～12：00 まで研究室にて共同研究の打ち合わせを行った。John 博士と Adhikari 博士、および博士課程の大学院生と互いの研究の近況についてデータを見せ合いながら討論を行った。我々は、加齢マウスから採取した受精卵のミトコンドリアの動態を解析したが、John 博士らはミトコンドリアの動態を制御するタンパク質のノックアウトマウスを所持しており、両実験データ間に相似性があることが明らかとなった。午後は研究施設内を見学し、また大学院生が行っている実験を手伝った。修士課程の大学院生が中心となっている我々の研究室とは異なり、John 博士の研究室に所属する大学院生は基本的に博士課程に在籍している。卵は希少な細胞であり、また培養や操作に熟練するために長い時間を要する。日本の修士課程は基本的に 2 年間であり、実験に習熟した頃に卒業の時期となってしまうため、基礎研究を強力に推進するためには現在の教育体制を見直す必要があると感じた。

8 月 18 日は 9:00 からノックアウトマウスを用いた実験に参加した。我々の研究室で用いる顕微鏡などの一般的なハード機材と比べて、彼らの用いているものは一世代古いものが多い。一方で、最先端の機器については研究室間で共同管理されており、コストが重点的かつ効率的に配分されていると感じた。昨今は外部資金の獲得について世界的に厳しさが増しているが、今後はより効率的な研究予算の運用が必要となるであろう。午後は 2：00 から研究セミナーに参加し、「加齢胚におけるミトコンドリア動態の染色体異常への関与」というタイトルで発表を行った。John 博士の研究室から 5 名の研究者が参加し、発表内容について貴重な助言を得ることができた。

8 月 19 日は 9:00 から今後の共同研究と将来の交換留学の可能性について話し合った。今後の共同研究については、現在進めているプロジェクトを国際誌に論文投稿し、また John 博士らが進めているヒト卵子を用いた研究についても協力できる点を話し合った。現在、John 博士はモナシュ大学の Monash Biomedicine Discovery Institute において Director を務めている。元々メルボルンは多文化主義が浸透している都市であり、モナシュ大学も非常に多数の留学生が学んでいる。特に Joint research awards というプログラムでは、モナッシュ大学およびパートナー機関の研究者の共同指導を受けながら、海外で研究の一部を行うことが可能となる。2 つの大学のリソースを活用しながら行うことで、国際的な感覚とより質の高い人材の育成に繋がる可能性がある。今後、我々の研究室に所属する大学院生を派遣する方法を模索したい。以上、当初計画していた日程を大幅に変更したが、予定していた業務を効率よく達成することができた。Covid-19 の収束により活発な国際交流が再開できる日が戻ることを切に願いながら帰国した。

令和３年度　海外渡航報告書

岡山大学学術研究院自然科学学域（理）

坂本 浩隆

（概要）第 10 回国際神経内分泌会議出席と成果発表（2022 年 8 月 6 日～10 日、グラスゴー）、エジンバラ大学の Gareth Leng 教授退官記念シンポジウム参加（2022 年 8 月 11 日～12 日、エジンバラ）、オックスフォード大学 Antony Galione 教授、および同大 John F. Morris 教授と研究打合せを行った（2022 年 8 月 13 日～18 日、オックスフォード）。結果として、今回の渡航が起爆剤となり、今後の飛躍的な国際共同研究の加速が期待できる。

貴財団の海外渡航助成の援助を受けて、2022 年 8 月 6 日～19 日の日程でイギリスの三都市（グラスゴー、エジンバラ、オックスフォード）をめぐり、非常に有意義な海外渡航を行うことができた。結果として、日英国際共同研究の発展にも大きく寄与することができたので以下報告する。

【グラスゴーにて】

まず、2022 年 8 月 7 日～10 日の日程で、英国グラスゴーにて開催された第 10 回国際神経内分泌会議（ICN2022）に出席し、シンポジストとして発表した（A localised volume transmission of oxytocin controls male sexual activity in the spinal cord）。4 年に一度開催される ICN は、神経内分泌の研究コミュニティーでは、ワールドカップにも例えられる一大イベントである。今回、大変名誉なことにシンポジストとして招待されたこともあり、コロナ禍とは言え、是が非でも参加したい気持ちがあった。コロナ禍での開催となったが、対面で多くの議論を海外の研究者らと行うことができ、対面学会の醍醐味を再確認できた良い機会となった。現在、本発表の内容は、総説論文として Journal of Neuroendocrinology 誌に投稿中である。

【エジンバラにて】

その後、Gareth Leng 教授（エジンバラ大学）退官記念シンポジウムへ参加するために、約 80 キロ離れたエジンバラへ移動した。コロナ感染症の世界的蔓延を受けて、延期されていた当該記念シンポジウムは、世界中から多くの研究者が集まれるようにと配慮され、ICN2022（グラスゴー）の後に開催された経緯がある。Festschrift Symposium in Honour of Professor Gareth Leng と題して、St Cecilia's Hall（エジンバラ）に於いて開催された。発表者と発表順は以下のとおりだが、世界の名だたる神経内分泌研究者が集結した素晴らしいシンポジウムであった。

Mike Ludwig (UK), Anne Duittoz (France), Allan Herbison (UK), Susan Wray (USA), Quentin Pittman (Canada), Patrice Mollard (France), Tom Cunningham (USA), David Murphy (UK), Javier Stern (USA), Suzanne Dickson (Sweden), Simon Luckman (UK), Dave Grattan (New Zealand), Duncan MacGregor (UK), Charles Bourque (Canada), John Menzies (UK), Gareth Leng (UK)

筆者は、僭越ながら日本から唯一の現地参加となったが、内容もさることながら多くの世界的なトップサイエンティストに懇意にしてもらうことができ、国際的な視野が拓けたのは大きな収穫であった。12 日の夜にはエジンバラ市内の Vittoria's において開催されたディナーパーティーにも参加させていただいた。多くの方々と深く研究、プライベートなことに至るまで、さまざまなお話しをさせていただき、とても楽しい時間を過ごさせていただいた。改めて感謝申し上げる。その中で、とても印象的だったのは、このシンポジウムには常に人と

人のつながりがあり、特にその中心には Leng 博士のお人柄があるということである。現在、Leng 博士はエジンバラのラボをたたみ、すでにフランスでの新しい生活を始められているとのことであった。
“ご存知の通り、次回の ICN2026 は日本での開催が決まりました。是非 Leng 博士もご参加を検討ください”と筆者がお伺いしたところ、
“私は日本が大好きだ！ My little boy がまだ日本に行ったことがないので、是非連れて行ってやりたい。それまで健康でいられるように頑張るよ！”とのお言葉を賜った。また、ICN2026 名古屋の地で Leng 博士とサイエンスについて熱く語りあかせる日を楽しみにしている。

【オックスフォードにて】
さて、エジンバラを後にして、オッスフォードへ約 600 キロの道のりを陸路で移動した。およそ、グレートブリテン島を縦断するかたちとなった。放牧と牧草が延々と広がり、牛、馬、羊たちが悠々と闊歩する光景は懐かしくもあり、「イギリスへ戻ってきた！」という心豊かな気持ちにさせられる、長くも贅沢な旅路であった。昼前に出発して、到着したのは夕刻であったが、今回の最終目的地となるオックスフォードは、筆者の留学先でもあり、馴染みの地であった。周知の通り、オックスフォード大学は 11 世紀に設立され、英語圏では最古の大学と考えられており、大学を中心に街が形成された学園都市としても名高い。貴族の融資から始まった学問もあるらしく、オックスフォード大学が国立なのか、私立なのか、ということすら曖昧なのだそうだ。その辺りも非常に興味深い。設立約 800 年の学際建造物なども含み、オックスフォードは、街全体が美術館のようで、美しくも気高いたたずまいに、訪問のたびに新たな発見があるのも楽しい。オックスフォードでは、オックスフォード大学にて現在進行中の国際共同研究について、Antony Galione 教授、および John F. Morris 教授と研究打合せの場を設けていただいた。私のプレゼンテーションに対して、厳しくも非常に有意義なコメントを沢山いただき、今後の研究に大いに参考になった。さらに、投稿予定の国際共著論文の執筆に係る最終打合せも行うことができた。

今回、イギリスの三都市をめぐり、各所、各々で密度の濃い有意義な時間を過ごすことができた。このような貴重な機会を与えていただいた貴財団の海外渡航助成の援助に対して、改めて御礼申し上げる。以上、結果として、今回のイギリス渡航が起爆剤となり、今後の飛躍的な国際共同研究の加速が大いに期待できる。



Gareth Leng 博士（左）、John F. Morris 博士（中）、筆者（右）、Festschrift@エジンバラにて。

令和４年度　海外渡航報告書

（所　属）岡山大学学術研究院自然科学学域

（氏　名）寺崎　英紀

（概要）

渡航日程：2022 年 9 月 19 日～28 日

渡航先：イギリス　エジンバラ大学　地球科学科 (School of Geoscience, The University of Edinburgh)

本渡航では、イギリス・エジンバラ大学地球科学科(School of Geoscience)を訪問し、微惑星～原始惑星といった小天体内部の高温高圧条件で実験した惑星内部模擬試料をエジンバラ大学設置の X 線トモグラフィー(XCT)装置を用いて測定を実施した。本研究は小天体内部の中心核（コア）とマントルの分化の物理・化学過程を明らかにすることを目指した日英共同研究としておこなった。XCT 測定により 15 個の試料について詳細な３次元組織観察をおこない、FeS メルトの分布を観察することができた。具体的な内容については以下に記載した。

近年の小惑星探査により、太陽系には様々な組成を持つ小惑星が存在することが明らかとなり、原始太陽系は化学的に不均質であった可能性が考えられる。小惑星は、惑星の前段階の微惑星～原始惑星といった小天体に相当する惑星の直接の材料物質と考えられている。これらの小天体同士の集積により惑星が形成される。これまでの天体内部の鉄合金の中心核（コア）と珪酸塩物質のマントル分化過程の研究は、いずれも惑星サイズの大規模に溶融が起こる場合の分化過程が検討されてきた。筆者もこれまで惑星内部の分化過程の研究に携わってきた[1-3]。しかし、惑星前段階の大規模溶融の起こらない微惑星での分化過程の実験的研究は、世界的にも少ない。一方で小天体を対象とした探査が近年実施され、また予定される探査計画もあり、今後小天体に関する情報の必要性が高まっていくことは必至である。そこで本研究では、小天体内部のコア・マントル分化過程を実験的に解明することを目的として、小天体内部環境で実験したコアとマントル模擬物質について X 線トモグラフィー(XCT)測定により三次元組織観察を実施した。本研究では、高圧鉱物の相平衡や化学反応が専門の Geofrey Bromiley 博士と XCT 測定技術を専門とする Ian Butler 博士と共同研究を行った(Fig.1)。両博士は、これまで XCT 装置を用いて、高圧変形実験からの回収試料（金属と珪酸塩の混合物質）の三次元組織観察を実施し、試料の変形によりケイ酸塩鉱物中の金属メルトの分布が変化する事を見出してきた実績がある[4,5]。本研究で用いた試料も金属と珪酸塩の混合試料であるため、両博士のこれまで実施してきた金属・珪酸塩混合試料の測定に関する XCT 測定条件や測定最適化を参考とし同じ装置を用いることで、本研究の測定を実施した。

試料は、コア物質には FeS とマントル物質には斜方輝石を用いた。両相を混合した試料と層状に分離して配置した試料の２種類を用いた。試料は、岡山大学惑星物質研究所であらかじめピストンシリンダー高圧装置を用いて、微惑星～原始惑星内部条件に相当する 0.5-3.0 GPa, 1250 ℃の圧力・温度条件で実験を行い、回収した試料を用いた。XCT 測定は、エジンバラ大学地球科学科設置の装置を用いた。装置の写真を Fig.2 に示す。XCT 測定は、X 線源（COMET 社製）から X 線を試料に照射し、試料からの透過 X 線をフラットパネル検出器(Parkin Elmer 社製)で受けて X 線投影像を観察する。試料は回転ステージ上に固定してあり、回転ステージを 0-360° 回転させ、0.18° 毎に撮像し、１試料につき 2000 投影像を撮像した。各角度での試料の投影像から、画像を再構築させることで、試料の三次元像が得られる。またコーンビーム光学系であるため線源と試料間の距離が近いほど解像度が高くなる。本測定では、3.3-4.3 μm/voxel の解像度を使用した。本測定で 15 個の試料について測定することができた。

XCT 測定の結果、X 線投影像では輝石鉱物中の FeS メルトの分布が不明瞭であった。一方、各角度での投影

像を再構築して CT 断面像を作成したところ、CT 断面像では明瞭に FeS メルトを判断することができた。例として 0.5 GPa での試料の X 線投影像と CT 断面像を Fig. 3, 4 にそれぞれ示す。今回測定した全ての試料において、ケイ酸塩（斜方輝石）鉱物中の FeS メルトを観察することができた。これら測定結果について、これまでの予察的な画像解析結果から、FeS メルトの形状は、低圧下で長細くメルト同士が繋がった状態から、圧力増加に伴いメルト形状が球状に変化して点在している様子が観察された。今後は画像解析を進め、メルトの形状およびメルト分布をアスペクト比やメルト分率などから定量的に評価し、FeS メルトの分離過程の圧力による影響を明らかにし、小天体内部の分化過程を考察していく予定である。

エジンバラ大学は 1583 年に設立された非常に歴史のある大学で、5 つあるキャンパスのうち地球科学科は King's building というキャンパスにある。大学の建物も重厚で歴史を感じさせ、その中で多数の新しい様々な実験・分析装置が活発に稼働し、最新の研究が進行している様子は非常に興味深かった。

(謝辞)
本研究にご支援いただいたウエスコ学術振興財団に深く感謝致します。

（参考文献）

[1] Terasaki, H., D.J. Frost, D.C. Rubie, F. Langenhorst, Earth and Planetary Science Letters, 232, 379-392, 2005.

[2] Terasaki, H., D.J. Frost, D.C. Rubie, F. Langenhorst, Earth and Planetary Science Letters, 273, 132-137, 2008.

[3] Terasaki, H., S. Urakawa, D.C. Rubie, K. Funakoshi, T. Sakamaki, Y. Shibazaki, S. Ozawa, E. Ohtani, Physics of Earth and Planetary Interiors, 202-203, 1-6, 2012.

[4] Berg, M.T.L., G.D. Bromiley, I.B. Butler, M. Frost R. Bradley, J. Carr, Y. Le Godec, L.G.J. Montési, W. Zhu, K. Miller, J.-P. Perrillat, E. Mariani, D. Tatham, S.A.T. Redfern: Physics of Earth and Planetary Interiors, 263, 38-54, 2017.

[5] Berg, M.T.L., G.D. Bromiley, Y. Le Godec, J. Philippe, M. Mezouar, J.-P. Perrillat, N.J. Potts, Frontiers in Earth Science, 6, 77, doi: 10.3389/feart.2018.00077, 2018.

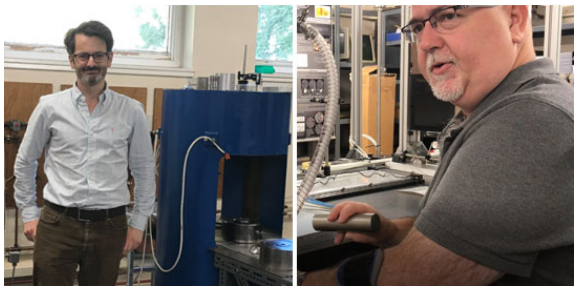


Fig.1. 共同研究者 Bromiley 博士(左)と Butler 博士(右)

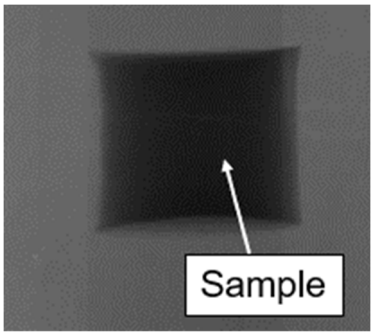


Fig.3. 0.5 GPa の試料の X 線投影像

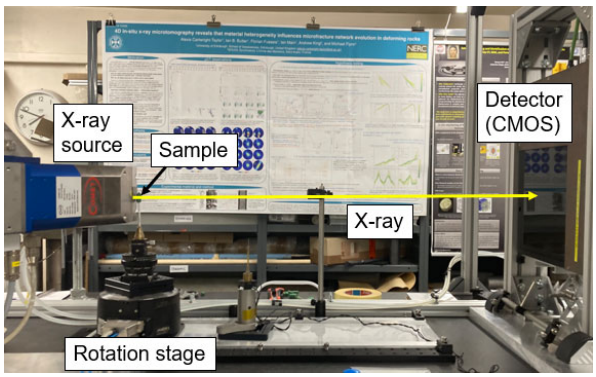


Fig.2. XCT 装置の概要

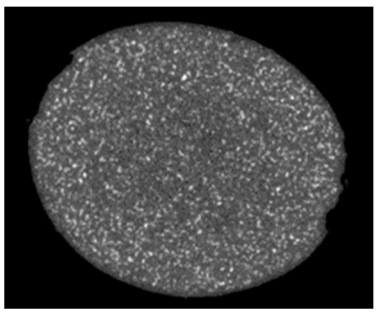


Fig.4. 0.5 GPa の試料の CT 水平断面像
（白い部分: FeS, 灰色部分:斜方輝石）

植物性食品成分が生体脂質に及ぼす影響

岡山大学学術研究院環境生命科学学域

中村俊之

（概要）

食品成分の有効性は生体内分子に変化をもたらすことで惹起されると考えられており、これまでに数多くの食品成分が生体タンパク質と直接相互作用することや細胞内シグナル伝達を誘導することが報告されている。一方、食品成分が生体脂質に及ぼす影響は十分に検討されていない。そこで本研究では、食品成分としてベンジルイソチオシアネート（BITC）を用い、BITC が生体脂質に及ぼす影響を評価した。マウスマクロファージ様細胞株 RAW264.7 に BITC を処理後、細胞を回収し、有機溶媒により脂質を抽出後、液体クロマトグラフィー質量分析計を用いて分析を行なった。その結果、リン脂質、スフィンゴ脂質や中性脂質など様々な生体脂質を検出することができた。BITC 処理した細胞と未処理細胞の脂質を比較したところ、BITC 処理によりいくつかの脂質に有意な増減が見られた。このことから、BITC の有効性は生体タンパク質の修飾だけでなく生体脂質への直接的または間接的な修飾を介しても惹起されている可能性が示唆された。

１．背景

脂質は、タンパク質や炭水化物と並んで生体に必要不可欠な栄養素であり、細胞膜やホルモンの構成成分である。脂質は生理活性物質としても知られており、プロスタグランジンやロイコトリエンといったエイコサノイドが炎症反応に重要な役割を有することが示されている。また、一部の脂質は特定保健用食品や機能性表示食品の有効成分として含まれており「機能性脂質」として注目されている。

野菜や果物には、三大栄養素に加え、生体に有益な効果が期待される「機能性成分」が含まれる。これら植物性食品成分は、これまでに数多くの臨床試験が実施され、生活習慣病の予防に有効である可能性が示されてきた。その有効性の作用機構として、食品成分と生体分子の直接的な相互作用や細胞内シグナル伝達の誘導が報告されている（1, 2）。

イソチオシアネート（ITC）類は、がん予防に有効であることが示唆されている代表的な機能性成分の一つであり、特徴的な官能基（-N=C=S）を有する化合物群である。ITC の作用機構は、その特徴的な官能基とタンパク質中のアミノ酸残基との相互作用と、それに伴う細胞内シグナル伝達であると考えられている（2）。ITC 類は核酸とも反応し得ると考えられるものの、その反応物が検出されなかったという報告から、核酸は ITC 類の主なターゲットではないことが示唆されている（3）。一方、生体の主要な構成成分である脂質においては、ITC 類とリン脂質の付加体が確認されているものの（4）、非常に限定的な知見しかない。

そこで本研究では、ITC 類の一つであるベンジル ITC（BITC, 図 1）を用いて、BITC が生体脂質に及ぼす影響について評価を行なった。

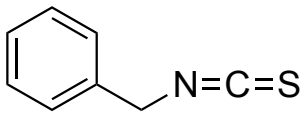


図1：BITCの構造

２．方法

<u>培養細胞の維持および食品成分の処理</u>

培養細胞としてマウスマクロファージ細胞株 RAW264.7 を用いた。細胞は、10% Fetal Bovine Serum と 1% Penicillin-Streptomycin を添加した

Dulbecco's Modified Eagle Medium（DMEM）培地を用い、5% CO_2 インキュベーター内で培養した。BITC は Dimethyl sulfoxide（DMSO）で希釈し、DMSO の最終濃度が 0.1%になるよう培養細胞に 5 μM 処理した。

脂質の抽出および分析

BITC 処理した RAW264.7 細胞株を回収後、methyl tert-butyl ether を用いて脂質を抽出し、Information Dependent Acquisition（IDA）法を用いて分析を行なった（5）。測定条件は以下のとおりである。

HPLC: Shimadzu UHPLC Nexera

Mass Spectrometry: Sciex Triple TOF 6600

Solvent A: 10 mM ammonium acetate in water: acetonitrile (60:40) for negative mode, 10 mM ammonium formate in water:acetonitrile (60:40) for positive mode

Solvent B: 10 mM ammonium acetate in isopropanol:acetonitrile:water (88:10:2) for negative mode, 10 mM ammonium formate in isopropanol:acetonitrile:water (88:10:2) for positive mode

Column: CORTECS（UPLC C18 column, 1.6 μm, 2.1 mm i.d. × 100 mm）

Gradient: 0 min (B 40%), 10 min (B 100%), 12 min (B 100%), 13 min (B 40%), 20 min (B 40%).

3．結果と考察

RAW264.7 細胞株の脂質分析

RAW264.7 細胞株の脂質抽出物を IDA 法を用いて分析したところ、ホスファチジルコリンやホスファチジルエタノールアミンなどのリン脂質、スフィンゴミエリンやセラミドなどのスフィンゴ脂質、トリアシルグリセロールやコレステロールエステルといった中性脂質など、様々な生体脂質を検出することができた（図 2）。

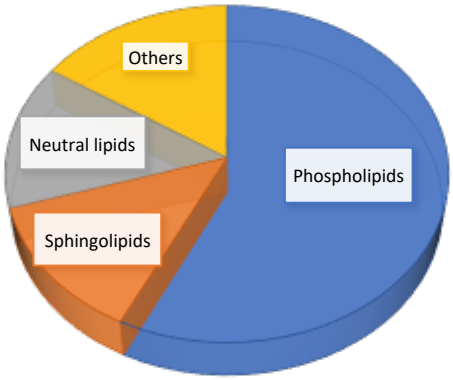


図2：RAW264.7細胞株の脂質分析

BITC 処理による細胞内脂質の変化

BITC 処理した細胞と未処理細胞の脂質を比較したところ、BITC 処理によりいくつかの細胞内脂質に有意な増減が見られた（図 3）。その脂質の中には機能性脂質と考えられている脂質も含まれていた。一方で、検出された総脂質量に有意な違いは見られなかった。以上のことから、BITC の有効性は抗酸化や抗炎症に関連するタンパク質の修飾だけでなく、生体

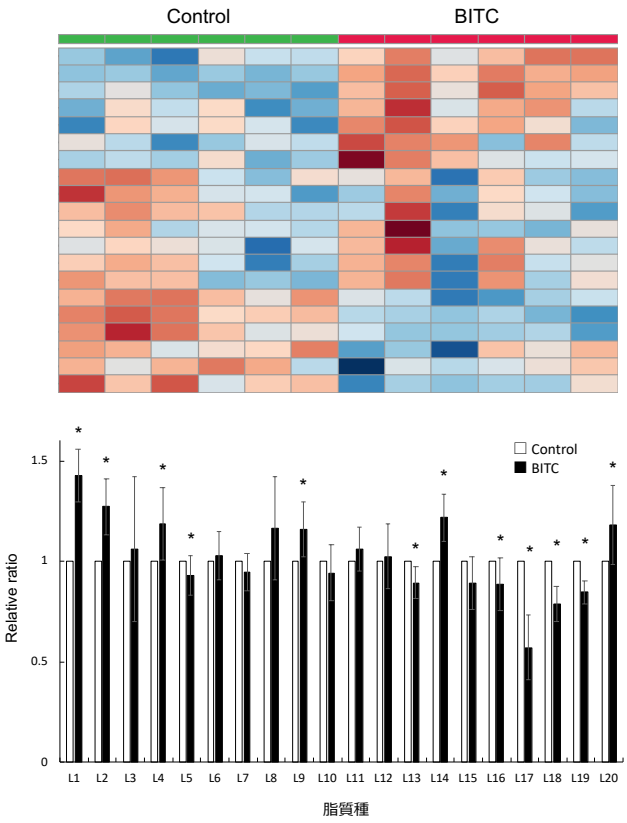


図3：BITCによる細胞内脂質の変化

脂質への直接的または間接的な修飾を介して惹起されている可能性が示唆された。

４．まとめ

BITC は、細胞内総脂質量に変化は及ぼさないものの、脂質組成を変化させることが示唆された。この結果から、BITC の有効性は生体タンパク質の修飾だけでなく、生体脂質への直接的または間接的な修飾を介しても惹起されている可能性が示唆された。

謝辞

本研究を遂行するにあたりご支援を賜りまし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.

参考文献

1, Lewandowska H, Kalinowska M, Lewandowski W, Stępkowski TM, Brzóska K. The role of natural polyphenols in cell signaling and cytoprotection against cancer development. J Nutr Biochem. 2016, 32, 1-19.

2, Nakamura T, Abe-Kanoh N, Nakamura Y. Physiological relevance of covalent protein modification by dietary isothiocyanates. J Clin Biochem Nutr. 2018, 62(1), 11-19.

3, Mi L, Wang X, Govind S, Hood BL, Veenstra TD, Conrads TP, Saha DT, Goldman R, Chung FL. The role of protein binding in induction of apoptosis by phenethyl isothiocyanate and sulforaphane in human non-small lung cancer cells. Cancer Res. 2007, 67(13), 6409-6416.

4, Nakamura T, Hirakawa M, Nakamura Y, Ishisaka A, Kitamoto N, Murakami A, Kato Y. Covalent Modification of Phosphatidylethanolamine by Benzyl Isothiocyanate and the Resultant Generation of Ethanolamine Adduct as Its Metabolite. Chem Res Toxicol. 2019, 32(4), 638-644.

5, Chaves-Filho AB, Pinto IFD, Dantas LS, Xavier AM, Inague A, Faria RL, Medeiros MHG, Glezer I, Yoshinaga MY, Miyamoto S. Alterations in lipid metabolism of spinal cord linked to amyotrophic lateral sclerosis. Sci Rep. 2019, 9(1), 11642.