

令和6年度研究費助成 研究成果報告書集

研究成果報告書 目次

- 走流性に基づく受精に至る生体内精子の運動メカニズム
岡山大学学術研究院 医歯薬学域 助教 川合 智子 1
- 肥満糖尿病における乳癌進展の新規機序と Vaspin による制御
岡山大学病院腎臓・糖尿病・内分泌内科 講師 中司 敦子 4
- AI カウンセラーを用いた小児・AYA 世代がん患者のメンタルケア
岡山大学学術研究院 医歯薬学域 准教授 長谷井 嬢 9
- Claudin-1 を標的とした糖尿病性腎症の新規治療法の開発
岡山大学 医学部 客員研究員 福島 和彦 11
- 二酸化炭素を化学原料とする機能性ポリカーボネートの開発
岡山大学学術研究院 環境生命自然科学学域 助教 前田 千尋 13
- 抗体産生を増強する因子探索によるワクチン強化技術への展開
岡山大学学術研究院 ヘルスシステム統合科学学域 助教 曲 正樹 17
- 第一、第二近赤外光を用いた高効率アポトーシス誘導法の開発
岡山大学学術研究院 ヘルスシステム統合科学学域 准教授 渡邊 和則 23
- リハビリテーションに向けた高い柔軟性と支援力を有するソフトロボットの開発
岡山大学学術研究院 環境生命自然科学学域 助教 下岡 綜 27
- 蒸発液滴表面への分子吸着が堆積物形成に与える影響の解明
岡山大学学術研究院 環境生命自然科学学域 講師 山田 寛 33
- 洋上風力発電出力の季節変化予測：高度数理モデルと次世代流体解析による革新
岡山大学学術研究院 環境生命自然科学学域 准教授 鈴木 博貴 36
- CLT 材壁を用いた鉄筋コンクリート造建築物に対する持続可能な耐震補強工法に関する研究
岡山大学学術研究院 環境生命自然科学学域 准教授 アルワシャリ ハモード 41
- 海外諸都市における BID 活動の評価に関する研究
岡山大学学術研究院 環境生命自然科学学域 准教授 堀 裕典 47
- 河川での水中カメラ画像の深層学習による魚類の同定手法の開発
岡山大学学術研究院 環境生命自然科学学域 准教授 吉田 圭介 53
- 食品成分の有効性に寄与する生体脂質の同定
岡山大学学術研究院 環境生命自然科学学域 准教授 中村 俊之 59
- ウシ子宮腺が精子を誘引するメカニズムの解明
岡山大学学術研究院 環境生命自然科学学域 助教 河野 光平 62
- 5-アミノレブリン酸を給与した寄生虫感染ニワトリ盲腸内で増加する乳酸菌種の同定
岡山大学学術研究院 環境生命自然科学学域 准教授 畑生 俊光 68
- 植物の他感作用による自家中毒とその緩和機構
岡山大学学術研究院 環境生命自然科学学域 准教授 三村 真紀子 71

■ 基盤的な左右相称動物、無腸類の胚発生解析/原始脳の分子基盤解明に向けて 岡山大学学術研究院 環境生命自然科学学域 研究助教(特任) 中村 遼 76
■ 可視光を光エネルギー源とするアルデヒドを基質としたエステルおよびラクトン化反応の開発 岡山大学 異分野基礎科学研究所 助教 田中 健太 81
■ 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 講師 石橋 一昂 84
■ 大学院生が自らの造形行為の省察を通して保育者としての資質能力を形成するオートエスノ グラフィーの研究 岡山大学学術研究院 教育学域 講師 大平 修也 90
■ 看護学生の主体的学習を支援する教材システム構築のための基礎的研究 岡山県立大学 保健福祉学部 准教授 佐藤 美恵 96
■ 設計における因果推論に関する不確実性およびその要因の解明 岡山県立大学 情報工学部 助教 筒井 優介 99
■ 人とロボットの瞬時接触動作のためのハイタッチロボットの開発 岡山県立大学 情報工学部 助教 太田 俊介105
■ 無機繊維に金属を半含浸させた MMC による金属-FRP 異種材料接合部材の作製と力学的評価 岡山県立大学 情報工学部 助教 金崎 真人110
■ クロノタイプを考慮した若年女性の生活習慣と骨格筋指数との関係 (2 年目) 岡山県立大学 情報工学部 准教授 大下 和茂113
■ 地方都市における「まちのガス屋さん」が参画する空き家再生活動に関する研究 岡山県立大学 デザイン学部 准教授 穂苅 耕介119
■ 1900 年初頭より稼働する製糖工場が地域の都市構造に与える影響—沖縄・大東島と台湾南部 を比較して 岡山県立大学 デザイン学部 教授 西川 博美124
■ パーキンソン病様マウス脳における新規 CircRNA の探索 岡山理科大学 生命科学部 准教授 橋川 成美129
■ 病原細菌の glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase 菌体表出のメカニズムの解明とその意義 岡山理科大学 理学部 講師 松永 望131
■ 間期細胞核における DNA トポイソメラーゼ II α と β の核小体-核質間シャトリングの分子メ カニズムの解析 岡山理科大学 生命科学部 講師 河野 真二134
■ 植物の光受容体フィトクロムが持つ N 末端天然変性領域に関する研究 岡山理科大学 生命科学部 准教授 濱田 隆宏137
■ 人への利用を事前検証できる中小型動物用褥瘡防止体位変換マットの開発 岡山理科大学 情報理工学部 准教授 趙 菲菲139
■ オオバウマノスズクサ群の種子のスズメバチ類散布の実態とアリ散布の可能性 岡山理科大学 自然フィールドワークセンター 准教授 東馬 哲雄145
■ 四肢骨の栄養孔面積に基づく代謝率推定手法の確立と古生物学的応用 岡山理科大学 生物地球学部 講師 千葉 謙太郎149

■ 気候条件の異なる移入先におけるメジロの繁殖生理学的応答の解明 岡山理科大学 生物地球学部 准教授 武山 智博153
■ 検索拡張生成を用いた砂防防災業務の効率化に関する研究 岡山理科大学 生物地球学部 教授 佐藤 丈晴159
■ 土器・焼土中に含まれる鉄鉱物の動態に関する基礎的研究 岡山理科大学 フロンティア理工学研究所 教授 畠山 唯達163
■ チオフェンが縮環したシロール誘導体の新規合成法の開発 倉敷芸術科学大学 生命科学部 教授 仲 章伸169
■ 免疫チェックポイント阻害薬の治療効果と有害事象の相関を司る代謝変容の解明 倉敷芸術科学大学 生命科学部 講師 三重 慧一郎175
■ 避難行動促進を阻害する認知バイアスは模擬避難所訓練で修正されるのか？－脳波を用いた 生理心理学的検討－ 吉備国際大学 心理学部 教授 橋本 翠181
■ 成体で全能性幹細胞を健全に維持する機構の解明 津山工業高等専門学校 総合理工学科 教授 柴田 典人183
■ 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186
■ 合金組成の最適化による濃度勾配を利用した結晶成長方位の制御と機械的性質への影響 津山工業高等専門学校 総合理工学科 准教授 関 一郎189
■ 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194
■ モモにおけるゲノム編集技術の開発 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 田村 勝徳197
■ 野菜の在来品種における色と味の特徴と抗酸化の優位性について 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 楊 霊麗201
■ 肺炎症モデルマウスを用いた不安/うつ様症状に対する可溶性 RAGE の有効性 就実大学 薬学部 講師 出石 恭久205
■ 環状分子におけるキラル内孔空間構築に基づく機能開拓 就実大学 薬学部 講師 山本 浩司211
■ 「災害避難マニュアルの再確認」ガイドラインの提案－避難行動における『認知的ズレ』に 着目して－ 就実大学 教育学部 准教授 飯田 智行214
■ 情動粒度の測定方法の開発:未分化状態の情動へのアプローチ 就実大学 教育学部 教授 鈴木 国威220
■ 心理実習生の認知的柔軟性と精神的回復力を育むプログラムの開発と効果検証 その1 就実大学 教育学部 准教授 永田 忍226
■ 前立腺がんにおける小胞体ストレス応答を介した脂質メディエーター産生制御機構の解明 川崎医科大学 薬理学教室 助教 北風 圭介228
■ がん細胞由来の乳酸がT細胞のPD-1発現調節機構に及ぼす影響の検討 川崎医科大学 消化器内科学 講師 佐々木 恭231

■ 長寿蛋白質から筋ジストロフィーの治療法を開発する 川崎医科大学 神経内科学 特任准教授 大澤 裕235
■ マウスモデルを用いたムコ多糖症プラス症候群の病態解明 川崎医科大学 分子遺伝医学 特任講師 寺脇 正剛238
■ 急性白血病の進行・悪化を阻止する新規治療法の開発 川崎医療福祉大学 医療技術学部 講師 黒住 菜美241
■ AI を活用した看護師の復職支援：ダイバーシティ・マネジメントの視点からのアプローチ 川崎医療福祉大学 医療福祉マネジメント学部 講師 虫明 昌一245
■ QGIS を用いた小田川上流地域の空間データ分析 岡山商科大学 経営学部 講師 藤本 宏美249
■ 新規ビタミンD 欠乏マウスモデル作成の試みと、それを用いたビタミンD 欠乏と健康の関連解析 岡山学院大学 人間生活学部 講師 岡田 只士251
■ 島嶼部における介護予防プログラムの開発 岡山学院大学 人間生活学部 講師 平野 聡255
■ 低分子抗酸化物含有野菜による血糖コントロール組織制御機構の解明 美作大学 生活科学部 教授 渡邊 理江260
■ 岡山県産黄ニラより単離した新規抗酸化物質 (<i>Z</i> -10-Devynylajoene) による快眠誘導作用機 序の解明 中国学園大学 代生活学部 教授 坪井 誠二264
■ VR/AR を用いた災害の疑似体験と非常食の調理・試食の活動から成る小学校防災教育プログ ラムの開発と評価 中国学園大学大学院 子ども学研究科 研究科長・教授 佐々木 弘記269
■ アフターコロナにおけるフィットネス事業者のニューノーマル新たな事業戦略に関する研究 (2年目) 中国学園大学 国際教養学部 教授 佐々木 公之275
■ 地域の親集団が生み出す「ケアの本質」に関する研究 中国短期大学 保育学科 講師 清水 憲志281
■ 運動によるメカニカルストレスが骨代謝関連因子に及ぼす影響 環太平洋大学 体育学部 准教授 十河 直太287
■ AI 動作解析アプリによる競泳スタート局面分析の精度検証 環太平洋大学 体育学部 講師 明石 啓太291
■ 公益財団法人大原芸術財団所蔵の考古学分野コレクションの整理と研究 公益財団法人大原芸術財団 大原芸術研究所 学芸員 伴 祐子295

海外渡航報告書 目次

■ 岡山大学 中性子医療研究センター	准教授	井川 和代	……………301
■ 岡山大学学術研究院 環境生命自然科学学域	教授	永禮 英明	……………302
■ 岡山大学学術研究院 環境生命自然科学学域	助教	富田 朝美	……………304
■ 岡山大学 生殖補助医療技術教育研究センター	助教	田崎 秀尚	……………306
■ 岡山大学学術研究院 環境生命自然科学学域	准教授	越智 拓海	……………308
■ 岡山理科大学 理学部	講師	長尾 桂子	……………310
■ 岡山理科大学 生物地球学部	講師	矢野 興人	……………312
■ 就実大学 薬学部	准教授	山田 陽一	……………314

長期間海外派遣滞在 研究成果報告書 目次

【令和6年度長期間海外派遣滞在費助成】

■ ドレスデン工科大学とのハイブリッド氾濫予測モデルの構築に関する研究報告 岡山大学学術研究院 環境生命自然科学学域 准教授 赤穂 良輔	……………316
---	----------

走流性に基づく受精に至る生体内精子の運動メカニズム

岡山大学学術研究院医歯薬学域

川合智子

【概要】近年では、成人の6人に1人が不妊治療を経験しているほど、不妊症は重要な疾患になっています。男性不妊の90%以上は精子機能の異常が原因といわれていますが、受精に至る精子の運動メカニズムは十分に解明されていません。精子は、女性生殖器官内で運動して受精するため、本研究では、女性生殖器官内の流体環境が精子の運動に与える影響を調べました。その結果、流体刺激をうけて精子の運動が亢進されること、精子の運動や受精に重要な細胞内カルシウムイオンが増強されることが示されました。流体刺激の条件によっては、運動を亢進できる精子とできない精子があり、それらは受精率と相関がある可能性が見出されました。さらに、流体刺激に関わる因子の働きを阻害すると、精子の運動が抑制されました。引き続き、詳細なメカニズムの解析を進めており、得られた研究成果に基づき、精子機能の診断や精子運動を亢進する技術への応用も取り組んでいきます。

【背景】

近年では、成人の6人に1人が不妊治療を経験しているほど、不妊症は重要な疾患になっています。男性不妊の90%以上は精子機能の異常が原因といわれていますが、受精に至る精子の運動メカニズムは十分に解明されていません。

精子は、女性生殖器官内で運動して受精します。受精時の精子は、精子の速度と振幅が増大し、細胞内カルシウムイオンが増強することが報告されています(図1)。本研究では、女性生殖器官内の流体環境が精子の運動ならびにカルシウムイオン濃度に与える影響を解析しました。

【方法】

a) 流体刺激デバイスの作成

PDMS を用いたソフトリソグラフィ法で

デバイスを作成し、女性生殖器官内の組成を模倣した培養液を用いて流体刺激を調節できるシステムを構築しました。

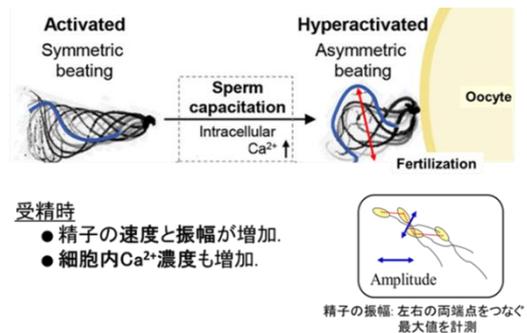


図1:受精時の精子の運動変化

b) 流体刺激が精子運動に及ぼす影響解析
作成したデバイスを用いて、異なる流体刺激を施し、精子の運動への影響を、運動精子を追尾して、精子運動軌跡を解析可能な装置を用いて解析しました(図2)。精子の運動性は、振幅、運動速度で評価

しました。

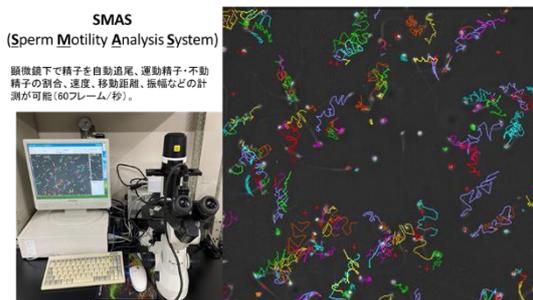


図2:精子の運動解析装置

c) 細胞内カルシウムイオン濃度の検出

カルシウムイオン指示薬 Fluo4 AM で精子を染色し、蛍光顕微鏡を用いて、精子におけるカルシウムイオン蛍光を指標に、流体刺激に対する細胞応答変化を観察可能な評価系を構築しました。

d) 流体刺激に関わる因子の発現・機能解析

流体刺激に関わる因子の発現は、特異的な抗体を用いた免疫蛍光染色と Real-time PCR 解析、ウエスタンブロット解析で検出しました。流体刺激に関わる因子の機能解析は、特異的な阻害剤を用いて、分子生物学的手法、生化学的手法を用いて解析しました。

【結果】

a) 流体刺激が精子運動に与える影響解析

流体刺激における精子は、振幅と運動率を大幅に増加され、精子の運動が亢進することが示されました(図 3)。しかし、流体刺激が高すぎると精子の運動亢進への効果は低く、最適な条件が存在することが示されました。

また、運動率が良い精子は、運動率が悪

い精子と比較して、流体刺激への影響を強く受けることが示されました。

b) 細胞内カルシウムイオン蛍光強度への影響解析

流体刺激における精子は、頭部と中片部のカルシウムイオン蛍光強度の増加が検出されました。さらに、振幅と運動率が高い精子ほど強いカルシウムイオンの蛍光強度が検出されました。

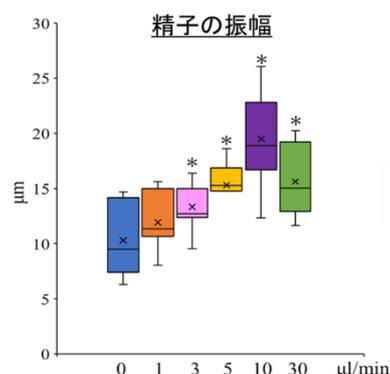


図3:流体刺激による精子の振幅への影響

c) 流体刺激に関わる因子の発現・機能解析

流体刺激に関わる因子は、精子の先体、中片部に強く局在していることが示されました(図 4)。さらに、流体刺激に関わる因子を阻害する薬剤で処理された精子では、流体刺激が精子の運動亢進に与える効果が有意に低いことが示されました。

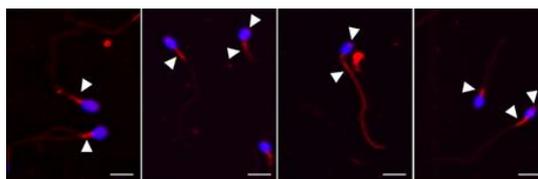


図4:流体刺激に関わる因子の発現

【考察】

本研究において、精子は流体刺激により、

頭部と中片部のカルシウムイオン強度を増強して、精子の運動を亢進し、女性生殖器官内を運動して受精するために必要なシグナル伝達を調節している可能性が示唆されました。

引き続き、詳細なメカニズムの解析を進めており、得られた研究成果に基づき、精子機能の診断や精子運動を亢進する技術への応用も取り組んでいきます。

【謝辞】

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

肥満糖尿病における乳癌進展の新規機序と Vaspin による制御

岡山大学病院 腎臓・糖尿病・内分泌内科

中司 敦子

(概要)

糖尿病は発癌や癌進展のリスク因子であり、乳癌や大腸癌、肝臓癌、膵癌、腎癌などは糖尿病との関係が良く知られている。乳腺は脂肪組織に埋没して存在し、脂肪組織は乳腺発達において重要な役割を担っている。しかし一方で乳癌細胞の発癌・進展に対しても直接的・間接的に作用することが想定される。有効な治療戦略を立てるためには、脂肪組織増大や糖尿病と乳癌進展の背景に存在し、両者を繋ぐ分子機構の解明が必要である。本研究では、我々が発見し機能解析を続けているアディポカイン Vaspin および相互作用する分子 GRP78 に着目して、肥満・糖尿病と乳癌をつなぐ新たな分子機構を解明することを目的として立案した。乳癌細胞株を Vaspin 遺伝子改変マウスに同種移植する *in vivo* 研究および、乳癌細胞株を用いた *in vitro* 研究の結果からは、Vaspin が乳癌の増殖や転移を抑制しうる可能性が示唆された。今後さらに検討を進めていく予定である。

(本文)

1. 研究の背景と目的

2 型糖尿病が癌のリスクであることは、いくつかの癌腫で明らかとなっている。世界的に、女性の癌のなかで最も多いのが乳癌であり、癌関連死の主因である。乳癌の背景は多様性を有するが、肥満および 2 型糖尿病と関連する癌として周知されている。治療も進歩しているものの、再発や転移が起こりやすい癌であり、医学的また社会的にも大きな課題であることは明らかである。

申請者らは内臓脂肪から分泌される生理活性物質である Vaspin (Visceral adipose tissue-derived serin protease inhibitor) を同定し(1)、機能解析を行ってきた。Vaspin は肥満やインスリン抵抗性、脂肪肝、動脈硬化を抑制し(2) (3)、近位尿細管細胞の保護作用(4)など、多面的な作用を有する。さらに Vaspin の相互作用分子として GRP78 を同定し、その作用機序を解明した。一方、癌に関して、子宮体癌(5, 6)では Vaspin 低値がリスクであるのに対して直腸癌(7)や甲状腺髄様癌(8)では Vaspin 高値がリスクであるなど結果は異なる。乳癌の増悪因子であるという報告も存在する(9)。染色により癌組織の Vaspin 蛋白量を評価した論文など、方法や評価が不十分な検討が多いのが現状である。さらに細胞表面 GRP78 が癌増殖に寄与する既報も存在する(10)。申請者が積み重ねてきた Vaspin に関する研究をもと

に、乳癌進展における Vaspin の作用機序を解明することは、癌と Vaspin の関係に関する既報論文結果の矛盾の解消や、癌進展や予後予測因子としての Vaspin 意義解明につながる。

本研究では、我々が発見し機能解析を続けているアディポカイン Vaspin および相互作用する分子 GRP78 に着目して、肥満・糖尿病と乳癌をつなぐ新たな分子機構を解明することを目的として立案した。

2. 方法と結果

1) 乳癌細胞の Vaspin 遺伝子改変マウスへの同種移植実験

Vaspin トランスジェニック(Tg)、野生型(WT)の雌を 8 週齢から通常食または高脂肪高蔗糖(HFHS)食で飼育し、9 週齢で E0711 細胞 1×10^6 cells/匹を mammary fat pad に移植した。Vaspin 遺伝子改変マウスへの同種移植を行うにあたり、C57BL6J 由来の乳癌細胞株である E0711 を使用した。移植後 4 週後に組織を採取し、腫瘍サイズや肺転移の数・サイズを評価した。

STD 飼育では Tg と WT マウスの腫瘍重量に差を認めなかったが、HFHS 飼育では、WT に比べて Tg マウスでは腫瘍重量が有意に小さかった (Tumor(g)/BW(g) ratio: WT 0.13 vs Tg 0.075, $p=0.0183$)。また、移植マウスでは肺転移を認め(図 1)、STD 飼育下において、WT と比べて Tg マウスでは

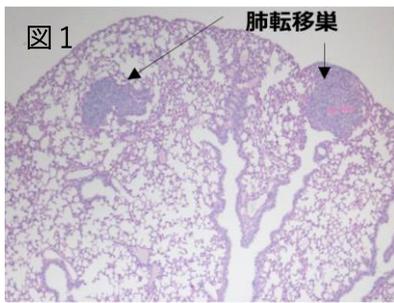
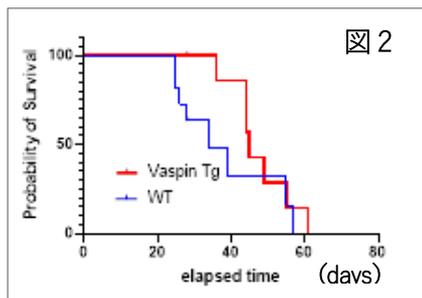


図1 転移巣の数が有意に少なかった (WT: 2.62 ± 2.07 vs Tg: 0.40 ± 0.89 , $p=0.0458$)。HFHS 飼育においても

WT と比べて Tg マウスでは転移巣の数が有意に少なかった (WT: 0.91 ± 0.13 vs Tg: 0.08 ± 1.3 , $p=0.008$)。

同種移植 STD 飼育マウスの寿命についても評価を行ったところ、図2のように Tg



マウスの方が寿命の延長を認めた ($p=0.01$)。

現在 Vaspin^{-/-}マウスについての検討を進めている。

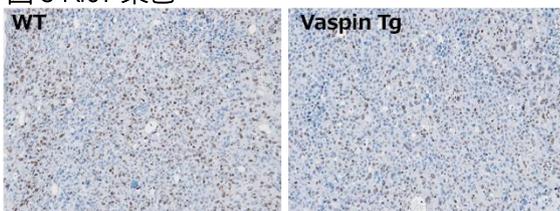
2) Vaspin による E0711 細胞増殖抑制についての検討

E0711 を通常糖濃度 (5.5mM グルコース) と高糖濃度 (25mM グルコース) で培養し、また Vaspin 蛋白を添加して 24 時間後に細胞タンパク質を抽出してウエスタンブロットを行った。高糖濃度培養による cyclin D1 の亢進を Vaspin は抑制した。また Vaspin は AMPK リン酸化を亢進させた。

The CellTiter 96® Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay (Promega)を用いた検討においても、高糖濃度による細胞増殖を Vaspin は抑制した。

E0711 細胞を移植したマウスの腫瘍組織を用いて Ki67 染色を行うと、Ki67 陽性細胞の割合は WT よりも Tg マウスの方が少なかった(図3) (WT $48.1 \pm$

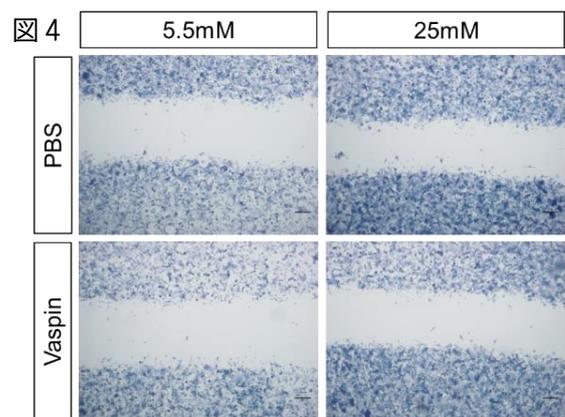
図3 Ki67 染色



16.1% vs Tg $20.4 \pm 4.6\%$, $p=0.0453$)。

3) Vaspin の腫瘍細胞転移に対する作用の検討

HFHS 食飼育マウスの肺転移巣数は Tg マウスの方が少なかったため、まず E0711 細胞に Scratch Assay による遊走能を評価した。細胞をチップ先で scratch して PBS で 2 回洗浄し、5.5mM または 25mM グルコース含有培養液で 24 時間培養し、間隔幅を測定した。この際に Vaspin 添加による変化も同時に観察した。各群 25~31 か所を測定し比較すると、25mM 培養による間隔の狭小化、また Vaspin による狭小化の抑制を有意に認めた(図4)。



4) 上皮間葉転換における Vaspin の意義について

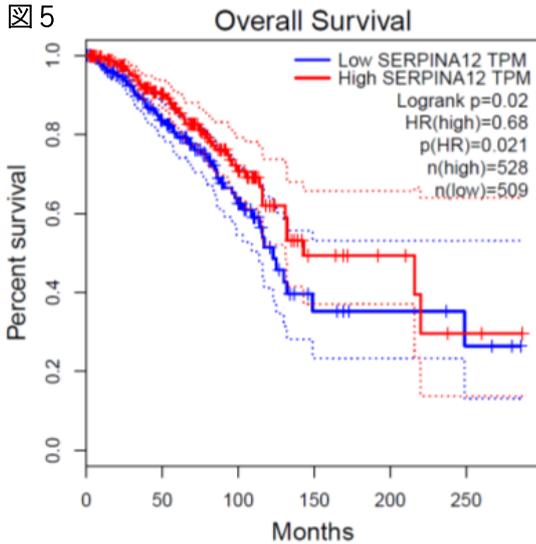
上皮間転換において Integrin の役割が知られており、癌細胞の転移にも寄与する。そこで E0711 細胞を用いて Vaspin の Integrin に対する作用を検討した。25mM グルコース培養による Integrin β 1 の増加を Vaspin は有意に抑制した。5.5mM グルコース培養においても、Vaspin 添加により Integrin β 1 の減少を認めた。現在、分解に寄与しているのか、別の機序で Integrin β 1 蛋白発現を制御しているのか検討中である。

5) Gene Expression Profiling Interactive Analysis

公開データベースを利用した Gene Expression Profiling Interactive Analysis (GEPi)では、ヒトの乳癌組織において Vaspin 高発現群 (図5:赤ライン) では、乳癌患者予後が有意に改善していた(HR 0.68, $p=0.021$) (図5)。

なお、ヒトにおける Vaspin 発現は皮膚で著明に

高く、乳腺にも発現が報告されている。



乳癌に関して、ESR1, PgR, ERBB2 の 3 遺伝子が陰性のタイプは治療抵抗性で予後不良であることが知られている。ヒト検体の乳癌部位と同じ検体の非癌部位を用いた GEPI において、非癌組織の Vaspin の発現は、PgR と $R=0.5$, $p=6.9 \times 10^{-9}$ の相関を有しているが、乳癌組織では $R=0.033$, $p=0.033$ であった。Vaspin は非癌部において ERBB2 と $R=0.29$, $p=0.0019$ の相関を認めるが、乳癌組織では相関が消失していた。ESR1 は Vaspin との相関を認めなかった。別の非疾患組織の公開データベース GTEx (The Genotype-Tissue Expression) で乳腺組織のデータを解析すると、Vaspin は PgR と $R=0.48$, $p=1.8 \times 10^{-11}$ 、ERBB2 と $R=0.34$, $p=3.2 \times 10^{-6}$ 、ERS1 と $R=0.3$, $p=4.4 \times 10^{-5}$ の相関を認めた。

3. 考察

以前我々は、ヒト Vaspin 血中濃度に関して、男性と比べて女性の方が高値であることを報告した(11)。海外からの報告においても、男性より女性は Vaspin 血中濃度が高値であり一貫した結果である(12)。さらに多嚢卵卵巣症候群の女性において Vaspin 血中濃度が上昇し(13)、Vaspin が卵胞細胞の生理的機能、すなわち黄体からのプロゲステロンやエストロゲンの合成、または黄体退縮に関わるとされる。性腺関連ホルモンやステロイドホルモンなどいくつかの因子が Vaspin の発現を調節し、また Vaspin が黄体細

胞のステロイド合成の調整因子であることが報告されている(14, 15)。これらの背景から、Vaspin が乳腺発達や機能、さらに乳癌の病態にも関与することが想定された。実際、ヒトのデータベース研究と Vaspin 遺伝子改変マウスを用いた現在までの検討では、Vaspin は乳癌進展を抑制することが示唆される結果であった。

本研究結果から、乳癌の進展において Vaspin は増殖や転移を抑制する可能性が示唆された。その機序のひとつに AMPK の活性化を介した経路を想定した。これまでに肝細胞や血管内皮細胞において Vaspin が AMPK を活性化することを明らかにしたが、今回、E0711 細胞においても、Vaspin は AMPK を活性化させた。AMPK 活性化は、細胞周期やオートファジー、ミトファジー、細胞死、また細胞内代謝に影響を及ぼすことが知られている。そして AMPK 活性化物質である AICAR やメトホルミンが癌細胞の細胞周期停止やアポトーシスを誘導することが示されている(16)。本研究において高濃度グルコース培養により cyclin D1 発現亢進を認め、Vaspin は AMPK 活性化と同時に cyclin D1 を抑制した。また増殖アッセイにおいても Vaspin は高糖濃度培養による細胞増殖を抑制した。一方で、AMPK の腫瘍に対する作用は相反する見解も存在する。グルコース欠乏や低酸素により誘発される細胞ストレスの結果として AMPK 活性が起こると、腫瘍細胞は細胞死抵抗性となる。また細胞エネルギーの枯渇状況では腫瘍細胞の増殖・生存に寄与することが示唆されている(17)。GRP78 も同様に、腫瘍細胞のエネルギー状態や周辺の低酸素環境に応じて、細胞内また細胞表面において多彩な機能を介して増殖や生存に関与している(18)。 $\alpha 2$ -macroglobulin が細胞表面 GRP78 のリガンドのひとつで癌細胞の増殖に寄与することが知られているが(19)、GRP78 と $\alpha 2$ -macroglobulin の結合を Vaspin が競合阻害することを、我々は以前明らかにした(2)。今後さらに、乳癌細胞および腫瘍微小環境における GRP78/Vaspin の意義について *in vitro*, *in vivo* で検討を進める予定である。

癌転移の有無は予後に大きく関わるが、乳癌は転移・再発が長期にわたり起こりやすく、その対策は

大きな課題である。本研究において Vaspin は肺転移を抑制した。Scratch Assay では高糖濃度培養による細胞の遊走能の亢進を Vaspin は抑制し、Integrin β 1 の蛋白量を減少させた。多くの癌細胞において上皮間葉転換は、細胞の移動性と浸潤性における重要なステップであるが、Integrin β 1 を初めとするインテグリンのリサイクルの時空間制御が、発生から細胞の移動、浸潤、転移に至るまで、さまざまな生物学的状況において重要とされる(20)。今後 Vaspin による Integrin β 1 制御を介した転移抑制機序をさらに検討予定である。

謝辞

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

5. 参考文献

1. Hida K, Wada J, Eguchi J, Zhang H, Baba M, Seida A, et al. Visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor: a unique insulin-sensitizing adipocytokine in obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(30):10610-5.
2. Nakatsuka A, Wada J, Iseda I, Teshigawara S, Higashio K, Murakami K, et al. Vaspin is an adipokine ameliorating ER stress in obesity as a ligand for cell-surface GRP78/MTJ-1 complex. *Diabetes*. 2012;61(11):2823-32.
3. Nakatsuka A, Wada J, Iseda I, Teshigawara S, Higashio K, Murakami K, et al. Visceral adipose tissue-derived serine proteinase inhibitor inhibits apoptosis of endothelial cells as a ligand for the cell-surface GRP78/voltage-dependent anion channel complex. *Circ Res*. 2013;112(5):771-80.
4. Nakatsuka A, Yamaguchi S, Eguchi J, Kakuta S, Iwakura Y, Sugiyama H, et al. A Vaspin-HSPA1L complex protects proximal tubular cells from organelle stress in diabetic kidney disease. *Commun Biol*. 2021;4(1):373.
5. Stepień S, Olczyk P, Gola J, Komosińska-Vassev K, Mielczarek-Palacz A. The Role of Selected Adipocytokines in Ovarian Cancer and Endometrial Cancer. *Cells*. 2023;12(8).
6. Michalczyk K, Niklas N, Rychlicka M, Cymbaluk-Ploska A. The Influence of Biologically Active Substances Secreted by the Adipose Tissue on Endometrial Cancer. *Diagnostics (Basel)*. 2021;11(3).
7. Kan JY, Lee YC, Lin YD, Ho WY, Moi SH. Effect of Baseline Characteristics and Tumor Burden on Vaspin Expression and Progressive Disease in Operable Colorectal Cancer. *Diagnostics (Basel)*. 2020;10(10).
8. Jabbari S, Hedayati M, Yaghmaei P, Parivar K. Medullary Thyroid Carcinoma—Circulating Status of Vaspin and Retinol Binding Protein-4 in Iranian Patients. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015;16(15):6507-12.
9. Cao XH, Chen X, Yang K, Wang YL, Liang MX, Fei YJ, et al. Vaspin accelerates the proliferation, invasion and metastasis of Triple-Negative breast cancer through MiR-33a-5p/ABHD2. *Cancer Med*. 2023;12(4):4530-42.
10. Ni M, Zhang Y, Lee AS. Beyond the endoplasmic reticulum: atypical GRP78 in cell viability, signalling and therapeutic targeting. *Biochem J*. 2011;434(2):181-8.
11. Miyatake N, Wada J, Nakatsuka A, Sakano N, Teshigawara S, Miyachi M, et al. Serum vaspin levels are associated with physical activity or physical fitness in Japanese: a pilot study. *Environ Health Prev Med*. 2014;19(3):200-6.
12. Youn BS, Kloting N, Kratzsch J, Lee N, Park JW, Song ES, et al. Serum vaspin concentrations in human obesity and type 2 diabetes. *Diabetes*. 2008;57(2):372-7.
13. Cakal E, Ustun Y, Engin-Ustun Y, Ozkaya M, Kilinc M. Serum vaspin and C-reactive protein levels in women with polycystic ovaries and

polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol.* 2011;27(7):491-5.

14. Mlyczynska E, Kiezun M, Kurowska P, Dawid M, Pich K, Respekta N, et al. New Aspects of Corpus Luteum Regulation in Physiological and Pathological Conditions: Involvement of Adipokines and Neuropeptides. *Cells.* 2022;11(6).

15. Bongrani A, Mellouk N, Rame C, Cornuau M, Guerif F, Froment P, et al. Vaspin, a novel adipokine in woman granulosa cells physiology and PCOS pathogenesis? *J Endocrinol.* 2021;249(1):57-70.

16. Keerthana CK, Rayginia TP, Shifana SC, Anto NP, Kalimuthu K, Isakov N, et al. The role of AMPK in cancer metabolism and its impact on the immunomodulation of the tumor microenvironment. *Front Immunol.* 2023;14:1114582.

17. Sadria M, Seo D, Layton AT. The mixed blessing of AMPK signaling in Cancer treatments. *BMC Cancer.* 2022;22(1):105.

18. Kabakov AE, Gabai VL. HSP70s in Breast Cancer: Promoters of Tumorigenesis and Potential Targets/Tools for Therapy. *Cells.* 2021;10(12).

19. Misra UK, Deedwania R, Pizzo SV. Binding of activated alpha2-macroglobulin to its cell surface receptor GRP78 in l-LN prostate cancer cells regulates PAK-2-dependent activation of LIMK. *J Biol Chem.* 2005;280(28):26278-86.

20. Chastney MR, Kaivola J, Leppanen VM, Ivaska J. The role and regulation of integrins in cell migration and invasion. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2025;26(2):147-67.

(表題)AI カウンセラーを用いた小児・AYA 世代がん患者のメンタルケア

(所属)岡山大学学術研究院医歯薬学域 医療情報化診療支援技術開発講座

(氏名)長谷井 嬢

(概要)

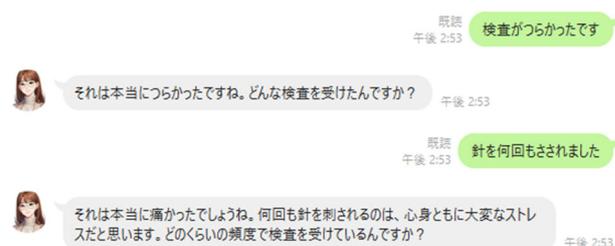
本研究は、がん患者が感じる不安や孤独感に対応するため、大規模言語モデルを活用した 24 時間アクセス可能な AI カウンセラーの開発を目指すものである。特に小児・AYA 世代のがん患者は、治療の身体的負担に加え、学業、就労、対人関係など多様な社会的課題に直面しており、専門的な心理サポートが必要とされている。本研究では LINE を通じてアクセス可能なシステムを構築し、年齢別にカスタマイズされた対話能力を持つ AI モデルを開発した。プロンプトエンジニアリングによって調整されたモデルは、臨床心理士や精神科医の監修を受けた。パイロット研究の結果、参加した小児・AYA 世代のがん患者の多くが不安やストレスの軽減を報告し、治療に対するモチベーション向上が見られた。特に夜間の不安に対するサポートや、医療従事者には相談しにくい内容を受け止めることに AI は役立ち、既存のメンタルヘルスサポートを補完する可能性が示された。

(本文)

小児および AYA (Adolescent and Young Adult) 世代のがん患者を対象とした AI カウンセラーの開発と実装について報告する。本研究は、がん患者が夜間に突然不安になり、その感情を耐え難く感じるという問題に対応するため、大規模言語モデル(生成 AI)を活用した 24 時間 365 日対応可能な AI カウンセラーの開発を目指すものであった。

研究計画では、まず LINE と大規模言語モデルの連結から始め、OpenAI の API と LINE Messaging API を連結することで LINE にテキストを入力すると AI から返答が得られるシステムを構築することを目指した。この計画は予定通り実施され、Microsoft の azure クラウド上にプロトタイプが作成された。院内職員 10 名による挙動確認では、患者を傷つけるような不適切発言は一件も発生せず、気持ちに寄り添った言葉を返答してくれるとの評価を得ることができた。

次に、小児・AYA 世代がん患者を対象とするために、年齢に応じた対話能力を有する AI カウンセラーモデルの開発を実施した。実際に、中学生を対象としたモデルから開発を始め、小学生、高校生、大学生、社会人向けのモデルも順次開発した。



各年齢層で好まれる AI の振る舞いや使用する言語表現、漢字レベルなどを調整し、それぞれ別タイプの AI カウンセラーを作成することができた。

さらに、より専門的な振る舞いを可能とするモデルの開発も計画していた。Retrieval-augmented Generation (RAG) 機能を使用して、臨床心理学についての研究論文やケーススタディからデータを収集し、専門家とのインタビューを通じてデータベースを作成する予定であった。この点については、基本的なデータベース構築は完了し、ベクトル化までは実施できたものの、完全な統合とテストまでは達成できていない段階である。

実際の患者への試用とフィードバック収集については、計画通り中学生患者を対象に試用してもらい、使用感や心理的影響についてのフィードバックをアンケートとして収集することができ、*Frontiers in Digital Health* に論文投稿を行った。このパイロット研究には 5 名の小児・AYA 世代がん患者が参加し、

うち 2 名が原発性悪性骨腫瘍、3 名が白血病と診断されていた。

研究結果として、参加者 5 名中 4 名が介入後に不安とストレスレベルの有意な減少を報告し、残りの 1 名は介入前時の不安レベルが低かったため、変化は見られなかった。利用パターンとしては、患者は平均 2~3 日に 1 回、約 10 分間 AI カウンセラーを利用しており、特に 2 名の患者は夜間の利用を好む傾向があった。全参加者が治療に対するモチベーションの向上を報告し、80%の参加者が医療提供者には開示していない個人的な懸念事項を AI カウンセラーに打ち明けたと報告した。これらの結果は、当初の研究目標であった夜間の不安軽減とメンタルサポートの提供が一定程度達成されたことを示している。

患者からのフィードバックでは、「高い不安を感じているときに迅速な返答が得られ安心できた」「不安なときに自分の状況に合わせた本の推薦や実践的なアドバイスをくれる AI カウンセラーは信頼できると感じた」といった肯定的な意見が寄せられ、AI カウンセラーの心理的サポート機能が有効に作用したことが示唆された。一方で、「時々応答が繰り返的に感じられる」「もっと個人化された対応が欲しい」といった改善点も指摘され、今後のモデル改良に向けた課題も明らかになった。

本研究には、サンプルサイズが小さいこと、対照群がないこと、長期的効果が評価されていないことなどの限界がある。しかし、AI カウンセラーの主な利点として、時間や場所に関係なく 24 時間利用可能であること、判断されることを恐れずに感情を自由に表現できる心理的安全性の提供、そして年齢や状況に応じたカスタマイズされた対応が可能である点が確認された。特に従来の医療サービスでは対応が難しい夜間の不安や、医療従事者には相談しにくい内容に対する補完的なアプローチとして、AI カウンセラーは大きな可能性を示した。

今後は、より大規模なランダム化比較試験を通じて、AI カウンセラーの効果をさらに検証する予定である。

Claudin-1 を標的とした糖尿病性腎症の新規治療法の開発

岡山大学学術研究院医歯薬学域 腎・免疫・内分泌代謝内科学

福島 和彦

(概要)

糖尿病性腎症はわが国における透析導入の原因疾患の第一位であり、病態機序に関する様々な研究が行われているが未解明の点が多く克服には至っていない。炎症性疾患や悪性腫瘍の病態下で反応性に発現する claudin-1 は Src 活性化作用などにより細胞の proliferation, invasion, および炎症反応の増幅を司る重要な分子として近年注目されている。腎臓領域では糖尿病性腎症において podocyte に claudin-1 が反応性に発現することが報告されているが、一方で claudin-1 をターゲットとした糖尿病性腎症の治療についての報告は無い。

我々は糖尿病モデルマウスに対して claudin-1 阻害薬である PDS-0330 を投与することで尿中アルブミン尿の低下が起きることを発見し、また電子顕微鏡による観察で podocyte における foot process effacement が軽減することを発見した。また western blot による評価を行い、PDS-0330 を投与することで Src シグナルの活性化が抑制されることを発見した。これらのことから claudin-1 が糖尿病性腎症における新たな治療標的となる可能性が示唆された。

1. 研究の背景と目的

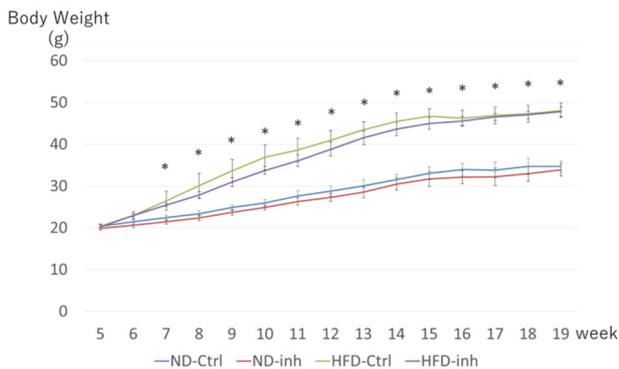
炎症性疾患や悪性腫瘍の病態下で反応性に発現する claudin-1 は Src 活性化作用などにより細胞の proliferation, invasion, および炎症反応の増幅を司る重要な分子として近年注目されている。2023 年には頭頸部腫瘍に対する抗 claudin-1 抗体製剤の治療が米国 FDA (Food and Drug Administration) で承認され (News release. Alentis Therapeutics. August 24, 2023. Accessed August 25, 2023.)、また同年に claudin-1 阻害薬である PDS-0330 の大腸癌進行・転移の抑制効果が報告された (文献 1)。腎臓領域では糖尿病性腎症において podocyte に claudin-1 が反応性に発現することが報告されているが (文献 2)、一方で糖尿病性腎症に対する claudin-1 をターゲットとした治療法についての報告は無い。我々は以前に腎臓由来細胞を用いた in vitro の実験において PDS-0330 が Src シグナルを抑制することを発見した。本研究では糖尿病モデルマウスを用いた in vivo の実験により、claudin-1 が糖尿病性腎症のターゲットとなる可能性について検討した。

2. 研究方法

5 週齢の C57BL/6NJcl マウス (雄) を高脂肪食飼料 (60 kcal%脂肪含有) またはコントロール飼料で飼育開始した。15 週齢の時点で PDS-0330 を経口ゾンデによる経口投与により週に 1 回、合計 4 週間投与した。投与完了後に全てのマウスを麻酔下に採血を行い、失血死により安楽死をさせ、腎臓を採取した。またマウスの安楽死を行う前日に 24 時間蓄尿を行い尿蛋白を評価した。

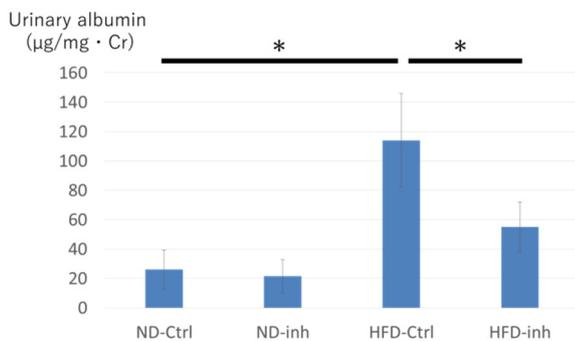
3. 結果

上記の研究方法に記載の通りマウスの飼育を行ったところ、高脂肪食飼料 (High Fat Diet; HFD) で飼育したマウスはコントロール飼料 (Normal Diet; ND) と比較して有意に体重増加を認めた。一方 HFD マウス、ND マウスのいずれにおいても PDS-0330 (claudin-1 inhibitor; inh) を投与することによる有意な体重変化は認めなかった (図 1)。



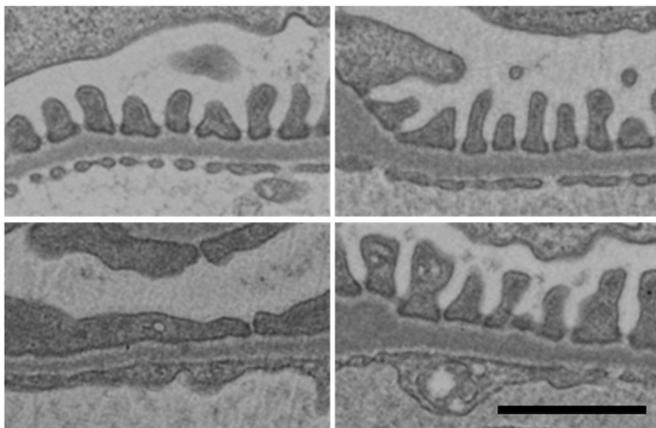
(図1; マウス体重推移. *; $p < 0.05$, ND-Ctrl vs. HFD-Ctrl)

24時間蓄尿を行ったところHFDマウスにおいて有意な尿中アルブミン尿の増加を認めましたが、inh投与群において有意な低下を認めた(図2)。



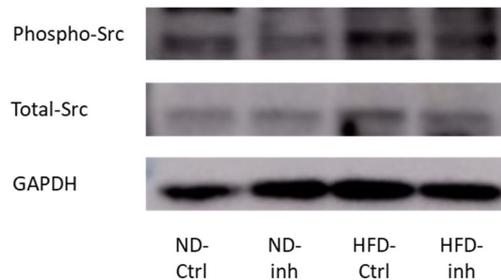
(図2; 尿中アルブミン. *; $p < 0.05$,)

また採取した腎臓を透過型顕微鏡で観察したところ、HFDマウスにおいてpodocyteのfoot process effacement(足突起融合)を認めましたが、inh投与群において軽減を認めた(図3)。



(図3; マウス腎の電顕所見. 左上; ND-Ctrl, 右上; ND-inh, 左下; HFD-Ctrl, 右下; HFD-inh. Bar; 1.0 µm)

腎臓サンプルを用いたwestern blotではHFDマウスにおいてSrcの活性化を認めたが、inh投与群においてこれらの有意な低下を認めた。これは我々が以前に行ったin vitroの実験結果と一致するものであった(図4)。



(図4; western blot)

4. 考察と今後の展望

本研究により糖尿病性腎症においてClaudin-1が治療標的となる可能性が示唆された。近年IgA腎症においてclaudin-1が治療ターゲットとして有効であるとする報告もあるが(文献3)、治療ターゲットとなるclaudin-1発現細胞は糖尿病性腎症とは異なっている。すなわちclaudin-1の発現細胞は糖尿病性腎症ではpodocyteであるのに対してIgA腎症では細胞性半月体とされている。他の腎疾患におけるclaudin-1の発現の有無、および発現細胞の同定を現在進めている。またtight junctionを構成する通常のclaudin-1と癌細胞などで反応性に発現するnon junctional claudin-1の差異の原因となる分子学的機序についても未解明である点が多く、現在研究を進めている。これらの研究を進めることで腎疾患を含めた炎症性疾患、自己免疫疾患などの病態機序の解明および新規治療法の開発が期待される。

文献

1. Biomed Pharmacother. 2023 Mar;159:114255.
2. Nat Med. 2013 Nov;19(11):1496-504.
3. Nephrol Dial Transplant. 2024 May;39(Suppl 1):gfae069-0018-2837.

二酸化炭素を化学原料とする機能性ポリカーボネートの開発

岡山大学学術研究院環境生命自然科学学域

前田 千尋

脱炭素社会の構築を目指し二酸化炭素(CO₂)の排出実質ゼロを目指す取り組みが求められている。CO₂は温室効果ガスである一方で、自然界に豊富に存在する安価で低毒性のC1炭素源であることから、CO₂を有用な化合物に変換する技術の開発が注目されている。CO₂とエポキシドからポリカーボネートを合成する触媒反応は副生成物を生じない原子効率の高いことからグリーンケミストリーの観点においても優れている。特にジフェニルエポキシド(CHO)とCO₂から得られるポリジフェニルカーボネート(PCHC)は高いガラス転移温度や引張強度を持つことから有用なポリカーボネートの一つであり、安価なCHOとCO₂から1段階で合成可能である。一方でトリメチルエポキシド(TMO)とCO₂から得られるポリトリメチルカーボネート(PTMC)はCO₂含有率43wt%の柔らかい材料として注目されている。そこで本研究ではCHO、TMO、CO₂の三元共重合により硬いPCHCユニットと柔らかいPTMCユニットを持つ三元ポリマーを合成し、CO₂含有率が高く、幅広い領域で硬度制御可能なポリカーボネートの開発を行った。

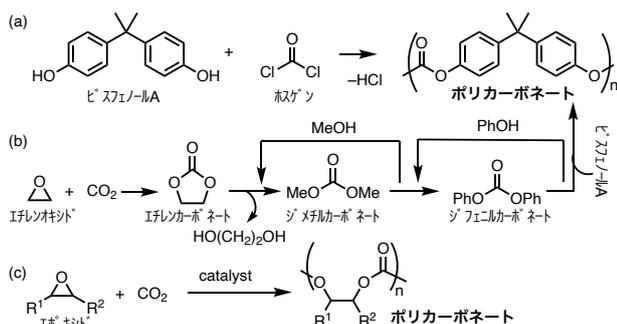
1. 研究目的

ポリカーボネートは様々なプラスチックあるいはガラスなどとして利用されている有用な材料である。従来の合成ではジオールと毒性の高いホスゲン¹を原料として用い、塩化水素を廃棄物として生じる環境負荷の高い方法が主流である(Scheme 1a)。最近二酸化炭素(CO₂)を用いる新規高原子効率なポリカーボネート合成が注目されており、実用化もされている(Scheme 1b)。すなわちエポキシドとCO₂からエポキシカーボネートを合成し、ジメチルカーボネート、ジフェニルカーボネートを経てビスフェノールAとの重縮合によってポリカーボネートを得る多段階反応である。

一方でエポキシドとCO₂から1段階でポリカーボネートを得る触媒反応が注目されている(Scheme 1c)。この反応は副生成物を生じない原子効率の高い反応でありグリーンケミストリーの観点においても

優れている。特にジフェニルエポキシド(CHO)とCO₂から得られるポリジフェニルカーボネート(PCHC)は高いガラス転移温度や引張強度を持つことから有用なポリカーボネートの一つであり、安価なCHOとCO₂から1段階で合成可能であることから事業化・製品化の見込みがある(Scheme 2a)。近年CHOとCO₂の共重合条件に第3のモノマーを添加する三元共重合反応が注目されている。¹ 得られる三元ポリマーの構成ユニットとその配分や配列を変えることで元のPCHCの物性を変化させることができる。ただし、多くの場合第3のモノマーを添加するほどCO₂含有率が下がる問題点が挙げられる。

トリメチルエポキシド(TMO)とCO₂から得られるポリトリメチルカーボネート(PTMC)はCO₂含有率43wt%の柔らかい材料として注目されている(Scheme 2b)。そこで本研究ではCHOとCO₂の共重合条件にTMOを添加した三元共重合反応を行うこととした(Scheme 2c)。得られる三元ポリマーは硬いPCHCユニットと柔らかいPTMCユニットから成るため、構成比率や配列を変えることで硬さ制御可能なポリカーボネートを1段階重合反応によって得ることができる。

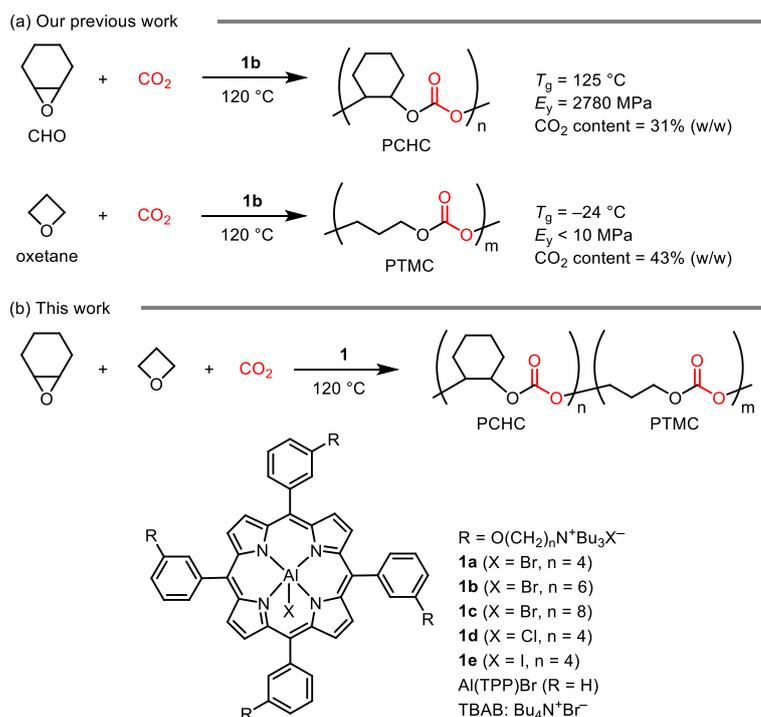


Scheme 1. Synthesis of polycarbonates.

本研究では CHO、TMO、CO₂ の三元共重合により硬い PCHC ユニットと柔らかい PTMC ユニットを持つ三元ポリマーを合成し、CO₂ 含有率が高く、幅広い領域で硬度制御可能なポリカーボネートを開発する。当研究室では PCHC および PTMC 合成において優れた触媒活性を示す二官能性 Al ポルフィリン触媒を開発しており、この触媒を用いることで三元ポリマーの開発を達成する (Scheme 2)。²⁻⁵ 得られる三元ポリマーは硬い PCHC 部分と柔らかい PTMC 部分から構成するため、構成比率や配列を制御することで硬さ制御が可能である。触媒の構造や重合条件を精査し目的とする三元ポリマーを得る。得られたポリマーは示差走査熱量測定装置によるガラス転移温度測定や引っ張り試験による強度測定を行い評価する。仕込み比率や重合条件を変えることで硬さ制御可能なポリカーボネートの 1 段階合成を達成する。

2. 結果と考察

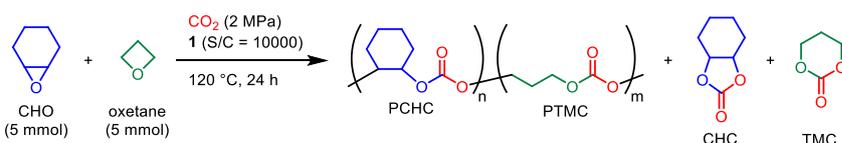
まず、三元共重合において効率よく PCHC と PTMC を合成できる触媒の探索を行った (Table 1)。はじめに、基質の当量を [CHO]:[オキセタン] = 1:1、反応温度 120 °C、反応時間 24 時間の反応条件で触媒側鎖のリンカー長の影響を調査した (entries 1-3)。側鎖の炭素数が 4 個の **1a** を触媒に用いると CHO から PCHC が 99%、オキセタンからは PTMC が 17% 精製したのに加え、環状副生成物のトリメチレンカーボネート (TMC) が 59% 生成した。リンカー長が延長されると CHO とオキセタンの変換率は低下し、炭素数が 8 の触媒 **1c** では CHO から PCHC が 90%、オキセタンからは PTMC が 13% に加え TMC が 29% と活性が低下していることが示された。よって触媒側鎖の炭素数は 4 個が最適と



Scheme 2. Synthesis of polycarbonates.

決定された。次に、対アニオンの効果について検討した (entries 1, 4, and 5)。いずれの触媒を用いた際にも CHO は効率的に PCHC へと変換された。しかし、臭化物イオンもしくはヨウ化物イオンを対アニオンとする **1a** と **1e** では、オキセタンが TMC へと優先的に変換されたのに対して、塩化物イオンを対アニオンとする **1d** では TMC をほとんど生成せず高い PTMC 選択性を示した。最後に、二

Table 1. Screening of catalysts.



entry	catalyst	polymer yield (%) ^a		byproduct yield (%) ^a		M _n ^b (kg/mol)	PDI ^b
		PCHC	PTMC	CHC	TMC		
1	1a	99	17	0	59	16.1	1.6
2	1b	94	10	0	50	17.4	1.2
3	1c	90	13	0	29	8.3	1.5
4	1d	98	21	0	2	12.5	2.0
5	1e	99	7	0	47	7.8	1.2
6 ^c	Al(TPP)Br	19	0	0	5	1.3	1.4

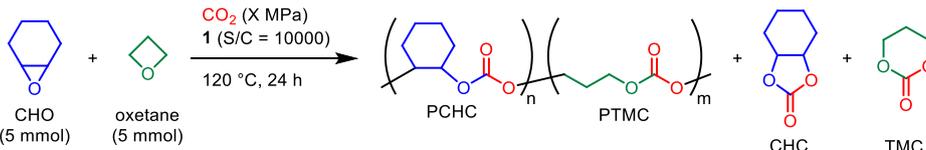
a: Determined by ¹H NMR using 2-methoxynaphthalene as an internal standard.

b: Determined by SEC analysis. c: TBAB (4 equiv of Al(TPP)Br) was added as a cocatalyst.

官能性触媒の有用性を確認するために Al テトラフェニルポルフィリン (**Al(TPP)**) とテトラブチルアンモニウムブロマイド (TBAB) からなる二成分系触媒を用いて三元共重合を行った (entry 6)。二成分系触媒では CHO から PCHC が 19%、オキセタンからは TMC が 5% 生成し PTMC は一切生成しなかった。この結果より、二官能性触媒が CHO、オキセタン、CO₂ の三元共重合に有用であることが示された。以降では、高い活性を示した **1a** と、オキセタンの変換で高い PTMC 選択性を示した **1d** について更なる重合条件の検討を行った。

続いて、CO₂ 圧力の検討を行った (Table 2)。まずは、**1a** を用いて検討を行った (entries 1–4)。CO₂ 圧力が 2 MPa 以上の場合は PTMC は 15% 程度生成し、TMC は 60% と優先的に TMC を生成する結果となった (entries 1 and 2)。圧力を 1 MPa まで低下させると PTMC の収率は 39% まで向上し、TMC は 50% と収率の低下がみられた (entry 3)。更に圧力を 0.5 MPa まで低下させると、PCHC の収率が 70% まで大幅に低下したことに加え、PTMC が 62% 生成し、TMC の生成はほとんど見られなかった (entry 4)。この結果から、**1a** を用いた場合には TMC を経由した PTMC の生成が進行していることが示唆された。次に、**1d** を用いて検討を行った (entries 5–8)。その結果 **1a** を用いた重合とは対照的に、圧力の変化による選択性の大きな変化は見られず、いずれの条件においても TMC はほとんど生成しなかった。圧力を 0.5 MPa まで低下させた場合には **1a** 触媒と同様に PCHC の収率が 79% まで低下した。このことから、0.5 MPa では反応に必要な CO₂ の当量が不足していることが示唆された。また、得られた三元共重合体

Table 2. Effect of CO₂ pressure on the terpolymerization.



entry	catalyst	CO ₂ pressure (MPa)	polymer yield (%) ^a		byproduct yield (%) ^a		M _n ^b (kg/mol)	PDI ^b
			PCHC	PTMC	CHC	TMC		
1	1a	3.0	92	14	0	60	14.9	1.6
2	1a	2.0	99	17	0	59	16.1	1.6
3	1a	1.0	95	39	0	50	15.6	1.7
4	1a	0.5	70	62	0	2	4.2	2.7
5	1d	3.0	99	17	0	5	11.8	1.6
6	1d	2.0	98	25	0	5	13.6	1.5
7	1d	1.0	99	26	0	1	17.5	1.7
8	1d	0.5	79	24	7	1	7.6	1.8

a: Determined by ¹H NMR using 2-methoxynaphthalene as an internal standard.

b: Determined by SEC analysis.

は ¹H、¹³C NMR から精製を確認し、DOSY NMR から単一の拡散係数が検出された。加えて、MS 測定により PCHC と PTMC の 1 ユニットに相当する m/z 間隔でピークが検出されたことから、三元共重合体であることを確認した。

反応機構の解明のために、**1a** と **1d** それぞれの触媒を用いて ¹H NMR による経時変化の観察を行った (Figure 1)。基質の当量を [CHO]:[オキセタン] = 1:1、CO₂ 圧力を 1 MPa、反応温度を 120 °C、として経時変化を観察した。**1a** を用いた場合、反応の初期段階で PCHC と TMC のみが生成し、徐々に PTMC が得られることが分かった (Figure 1a)。反応開始から 12 時間で CHO はおおよそ 90% が PCHC へと変換し、反応時間を延長することで TMC の減少を伴いながら PTMC の収率が向上した。このことから、**1a** を用いると TMC の開環重合を介した PTMC の生成が進行していることが明らかとなった。加えて、PCHC の生成と同時に PTMC の生成がみられることから、グラジエント性もしくはランダム性のポリマー配列となっていることが示唆される。一方、**1d** を用いた場合、反応の初期段階から PCHC と PTMC のみが生成し、TMC の生成はほとんど確認できなかった (Figure 1b)。

また、CHO は **1a** を用いた際よりも素早く PCHC へと変換され、反応開始から 6 時間で CHO の変換が完了した。その後、PTMC の生成がみられることから **1a** を用いる場合と比較して、ブロック性の高いポリマー配列を示すことが示唆された。また、従来のオキセタンと CO₂ による PTMC の合成では TMC の開環重合を経る反応機構が一般的だが、**1d** を用いて TMC を介さず一段階での PTMC を重合達成した。

3. 結論

本研究では二官能性 Al ポルフィリン触媒を用いて CHO、オキセタン、CO₂ の三元共重合を初めて達成した。触媒の対アニオンが重合の反応機構に影響し、**1a** を用いるとオキセタンが TMC へと優先的に変換されるため TMC の開環重合を介して二段階で三元共重合体を与え、**1d** を用いると TMC を介さずオキセタンが直接 PTMC へと変換されることから、一段階で三元共重合体を与えた。

4. 参考文献

- (1) K. Nakaoka, T. Ema, *Chem. Commun.* **2025**, 61, 46-60.
- (2) J. Deng, M. Ratanasak, Y. Sako, H. Tokuda, C. Maeda, J. Hasegawa, K. Nozaki, T. Ema, *Chem. Sci.* **2020**, *11*, 5669–5675.
- (3) C. Maeda, H. Inoue, A. Ichiki, T. Okihara, T. Ema, *ACS Catal.* **2022**, *12*, 13042–13049.
- (4) C. Maeda, K. Kawabata, K. Niki, Y. Sako, T. Okihara, T. Ema, *Polym. Chem.* **2023**, *14*, 4338–4343.
- (5) C. Maeda, H. Inoue, T. Ema, *Macromolecules* **2025**, *58*, 1571–1577.

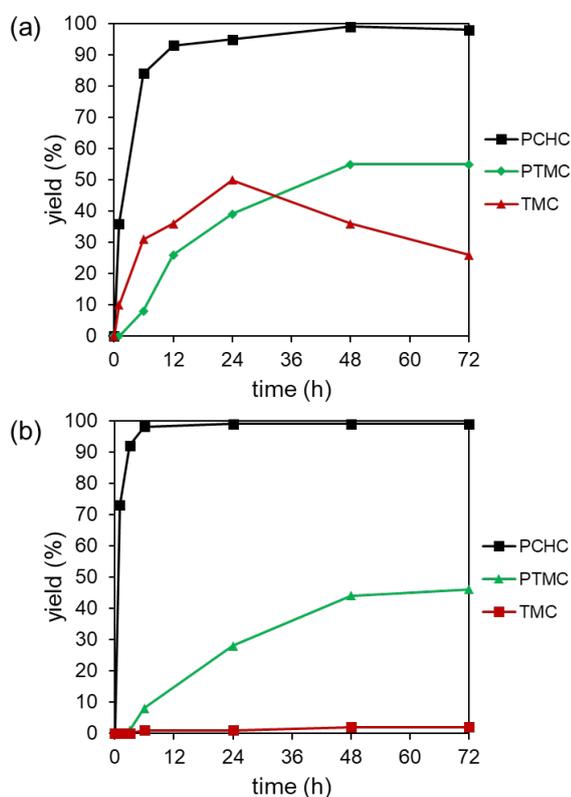


Figure 1. Time courses of the terpolymerization catalyzed by (a) **1a** (X = Br) and (b) **1d** (X = Cl).

抗体産生を増強する因子探索によるワクチン強化技術への展開

岡山大学学術研究院ヘルスシステム統合科学学域

曲 正樹

B 細胞が産生する抗体の病原体への結合力の向上(抗体の親和性成熟)は、効率の良い病原体の排除に有効である。抗体の親和性成熟は、B 細胞が様々な細胞から厳密な制御を受けることにより達成されており、特に、濾胞樹状細胞(FDC)は、抗体の親和性成熟を調節する中心的な細胞である。本研究では、免疫賦活作用をもつ機能性分子開発のため、FDC の産生する B 細胞活性化因子の探索を目的とした。マウス FDC 株(FL-Y)において活性化に伴う免疫調節受容体 SLAMF5 メンバーの遺伝子発現変化を解析したところ、活性化に伴い *Slamf5* mRNA の発現上昇が認められた。発現量の異なる SLAMF5 発現 FL-Y 細胞を作製し、SLAMF5 発現 FL-Y 細胞上でリンパ球刺激培養したところ、SLAMF5 低発現 FL-Y 細胞上で培養した場合のみ、活性化 B 細胞数及び抗体産生量の低下が見られた。また、リコンビナント SLAMF5 タンパク質の添加においても、低濃度での抗体産生抑制が見られた。これら結果は、FDC における SLAMF5 の発現量がリンパ球の活性化調節に関与することを示唆する。一方で、SLAMF5 高発現 FL-Y 細胞および高濃度でのリコンビナント SLAMF5 タンパク質の B 細胞に対する直接的な作用を解析したところ、SLAMF5 による B 細胞の活性化促進が見られた。これらの結果は、FDC の発現する SLAMF5 が、B 細胞の活性化調節において、その発現量により多面的な作用をもつ可能性を示唆する。

研究背景と目的

体内に病原体などの抗原が侵入した際、B 細胞より産生される抗体は生体防御において重要な役割を担う。抗原の侵入に伴い産生される特異的抗体は、抗原に結合したのちに様々な免疫経路を活性化する。そのため、抗体の抗原認識能力とその結合親和性は、抗原の排除を行う免疫システムの活性化効率に大きな影響を及ぼす。

B 細胞は抗原により活性化されると抗体産生細胞へと分化するが、一部の B 細胞は末梢リンパ組織に胚中心と呼ばれる微小構造を形成する。胚中心において B 細胞は活発に増殖するとともに自身の抗体遺伝子に変異を導入し、多様な抗原特異性をもつ B 細胞集団を形成する。その後、抗原に対して高い結合能力を有する B 細胞がクローン選択され、抗体産生細胞へと分化する。これにより、時間と共に抗体の抗原結合能力が向上し病原体の認識能力が高まる(抗体の親和性成熟)^{1,2)}。上述したように、抗体の抗原認識能力の向上は病原体の排除効率につながるため、抗体の親和性成熟は免疫応答において重要な反応であると言える。さらに、ワクチンの原理の一つでもある2次免疫応答で活躍する記憶 B 細胞も胚中心において抗体の親

和性成熟機構を経たのちに産生される。そのため、胚中心反応の理解とその操作は、ウイルスの感染や発がん等に対する予防効果を高める技術開発へつながる可能性がある。

胚中心は、主に活性化した B 細胞で構成されるが、B 細胞を制御する様々な免疫系細胞も存在する。濾胞樹状細胞(FDC)は、胚中心の形成から胚中心での B 細胞応答の一連の反応の制御を担う中心的な細胞として以前から知られている。実際、FDC を欠損したマウスでは、胚中心の形成異常や抗体の親和性成熟の障害が認められる^{3,4)}。これまでの報告から、FDC の胚中心反応の重要性については周知であるが、B 細胞制御における詳細な分子機構については明らかとなっていない。その原因として、体内に FDC が少数しか存在しないため高純度での単離が難しいことや単離しても維持することができないため、細胞培養系を用いた再現性の良い FDC の解析系が存在しないことが挙げられる。この問題に対し筆者らは、免疫したマウスのリンパ節細胞から独自に開発したコーラゲンゲル培養法を用いて FDC を増殖させ、その中から安定に維持可能な FDC 株、FL-Y を樹立した⁵⁾。FL-Y 細胞は、FDC に特徴的な遺伝子や分子を発現することや

B 細胞活性を有するなど FDC の性質を非常によく再現できる細胞株であり、現在 FDC の機能解明において有用なツールとなっている。実際、これまでに FL-Y 細胞を用いて、胚中心における B 細胞のクローン選択機構や、胚中心 B 細胞の分化における T 細胞の作用機構の解明など、胚中心反応における新たな制御メカニズムの発見へとつながっている^{6,7)}。さらに、FDC の新規な機能として B 細胞活性化能力を有する単球系細胞(FDMC)の分化を誘導することを発見した⁸⁻¹⁰⁾。FDMC は、細胞培養系を用いた解析により B 細胞の増殖を促進すると同時にアポトーシスを誘導することが明らかとなっており、生体内における胚中心 B 細胞と類似の特徴を誘導する。これは、FDC による胚中心 B 細胞の活性化における FDMC を介した間接的なメカニズムの存在を示唆する。上述の様に、FL-Y 細胞は胚中心反応の理解大きく貢献している。

本課題では、FDC が抗体の親和性成熟機構の制御に重要な役割を持つことに着目し、FDC の発現する B 細胞調節因子の探索を目的とした。これまでの研究で、活性化した FL-Y 細胞において SLAM family member 8 (*Slamf8*) を含むいくつかの遺伝子が発現上昇することを見出している¹⁰⁾。SLAMF は、9 つのメンバーから構成される膜タンパク質であり、その多くは同一分子間で相互作用することで免疫調節機能を有する。しかし、FDC における SLAMF 分子の発現および役割については明らかとなっていない。そこで本研究では、活性化 FDC における *Slamf* mRNA の発現変化を解析し、発現変化が見られた SLAMF 分子の抗体産生に与える影響を解析した。

材料と方法

1. 細胞

免疫したマウスリンパ節より樹立した FDC 株、FL-Y を使用した。また、B 細胞活性化因子(BAFF)を遺伝子導入した FL-YB 細胞を用いた。FL-Y 細胞および FL-YB 細胞は、10%牛胎児血清および 50 μ M 2-メルカプトエタノールを含む RPMI-1640/DMEM 培地中で培養した。また、FL-Y 細胞の培養には終濃度 5 ng/mL の TNF- α を添加した。FL-Y 細胞の刺激培養では、24 穴プレートに播種しておいた FL-Y 細

胞に Fc-LIGHT もしくは抗 LT β R 抗体(2.5 μ g/mL) を添加し、4 日間培養した。

2. qRT-PCR

培養した FL-Y 細胞をトリプシン処理したのちに回収し、TRI reagent を用いて mRNA を抽出した。抽出した mRNA をテンプレートとし ReverTra Ace を用いて cDNA を合成した。Thunderbird SYBR qPCR Mix と *Slamf* および *Actb* に特異的なプライマーを用いて qRT-PCR を行なった。

3. FL-Y 細胞への遺伝子導入

24 穴プレートに播種しておいた FL-YB 細胞に、ネオマイシン耐性遺伝子を含む SLAMF5 発現ベクターをレトロウイルス遺伝子導入法を用いて導入した。遺伝子導入翌日にネオマイシンを含む選択培地に交換し、ネオマイシン耐性細胞を選別した。その後、限界希釈法を用いてクローン化し、各クローンの SLAMF5 タンパク質発現量をウェスタンブロット法を用いて評価した。

4. リンパ節細胞の培養

4 日前に足裏に TNP-KLH を免疫したマウスから膝下リンパ節を摘出し細胞懸濁液を調整した。前日に播種しておいた FL-YB 細胞および SLAMF5 発現 FL-YB 細胞(2×10^3 cells/mL) 上で、調整したリンパ節細胞 (4×10^5 cells/mL) を培養した。その際、抗原として TNP-KLH(10 μ g/mL)を加えた。培養 6 日目にフローサイトメーターを用いて活性化 B 細胞数を評価した。さらに、培養 7 日目に培養上清を回収し、ELISA 法を用いて培養上清中に含まれる抗体量を測定した。また、FL-Y 細胞上でリンパ球を培養する際、SLAMF5-Fc タンパク質を培養初日に添加し、同様に解析した。

5. マウス脾臓 B 細胞の培養

前日に播種しておいた FL-YB および SLAMF5 発現 FL-YB 細胞 (1×10^4 cells/mL) 上で、T 細胞を除去した脾臓細胞 (1×10^6 cells/mL) を培養した。培養 3 日目にフローサイトメーターを用いて B 細胞数

および抗体産生細胞数を評価した。また、FL-Y 細胞上で B 細胞を培養する際、培養初日に SLAMF5-Fc タンパク質を添加した。

6. フローサイトメトリー解析

培養したリンパ球を回収し、洗浄操作を行なった後に PE 標識した抗 CD138 抗体および PE-Cy5 標識した抗 B220 抗体で 30 分間染色した。染色した細胞は FACSCalibur および Flowjo を用いて解析した。

結果と考察

1. FL-Y 細胞の活性化に伴う遺伝子発現変化

FDC は細胞表面に発現する LTβR からの刺激に伴い活性化し、B 細胞調節能力を獲得する。そこで、FL-Y 細胞を抗 LTβR 抗体を用いて刺激し、免疫調節作用をもつ SLAM ファミリー (SLAMF) の mRNA 発現変化を評価した。その結果、活性化に伴いの SLAMF メンバーの一つである *Slamf5* mRNA の発現上昇が見られた (図 1)。これまでに、FDC における SLAMF5 の免疫学的機能の報告はない。

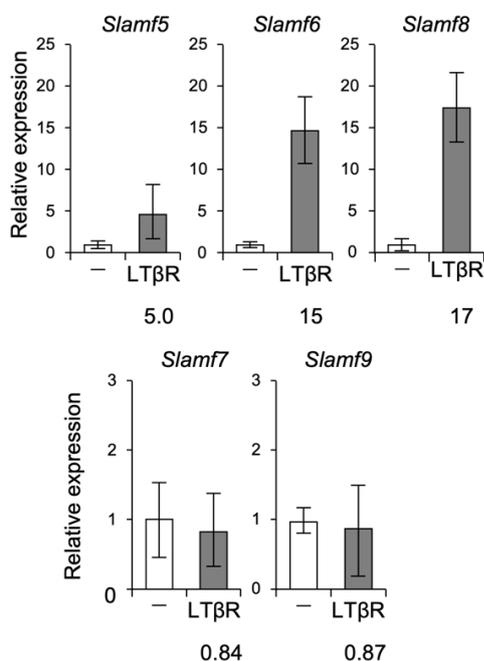


図 1 FL-Y 細胞における LTβR 刺激に伴う遺伝子発現変化

(A) 未刺激 (-) もしくは抗 LTβR 抗体刺激 (LTβR) した FL-Y 細胞から mRNA を抽出し、*Slamf* 発現量を qRT-PCR により解析した。なお、内部標準として *Actb* 遺伝子を用いた。

2. FL-Y 細胞の発現する SLAMF5 の活性化リンパ球に対する作用の解析

これまでに、SLAMF5 は B 細胞と T 細胞において発現し、それらの相互作用において活性化調節を担うことが報告されている。そこで、FDC における SLAMF5 の抗体産生に対する作用を明らかにするため、B 細胞の生存促進因子の一つである B cell activating factor (BAFF) を発現する FL-Y 細胞 (FL-YB) を親株として、レトロウイルス遺伝子導入法を用いて恒常的に SLAMF5 を発現する FL-YB 細胞を作製した (YBS5) (図 2 A)。今回の研究では、SLAMF5 発現量の異なる 2 種類の YBS5 株を樹立した (低発現型: YBS5(L), 高発現型: YBS5(H))。また、YBS5 株における BAFF の発現量をウェスタンブロットにより比較したところ、SLAMF5 により BAFF 発現量に変化は見られなかった (図 2 B)。

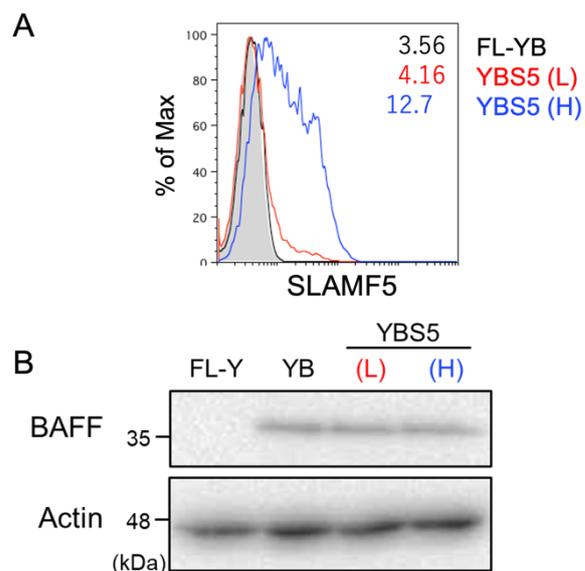


図 2 SLAMF5 を高発現する FL-YB 細胞の樹立

(A) FL-YB 細胞 (FL-YB) と SLAMF5 導入 FL-YB 細胞 (YBS5) における SLAMF5 発現をフローサイトメトリーにより解析した。(B) 各細胞から全細胞抽出液を回収し、BAFF タンパク質の発現をウェスタンブロットにより評価した。図中の数値は平均蛍光強度を示す。

次に、TNP-KLH で免疫したマウスより調整したりんパ節細胞を YBS5 細胞上で培養し、B 細胞数、形質細胞数および培養上清中の抗体量を評価した。その結果、YBS5(L) 細胞上でリンパ球を培養すると、FL-Y 細胞と比較し抗体産生細胞数および培養上清中の抗

体量の低下が見られた。一方で、高発現細胞である YBS5(H)細胞では、逆にB細胞数および抗体産生細胞数の増加が見られた(図3 A, B)。これらの結果は、FDC の発現する SLAMF5 はその発現量により抗体産生機構に対して多面的な作用をもつことを示す。

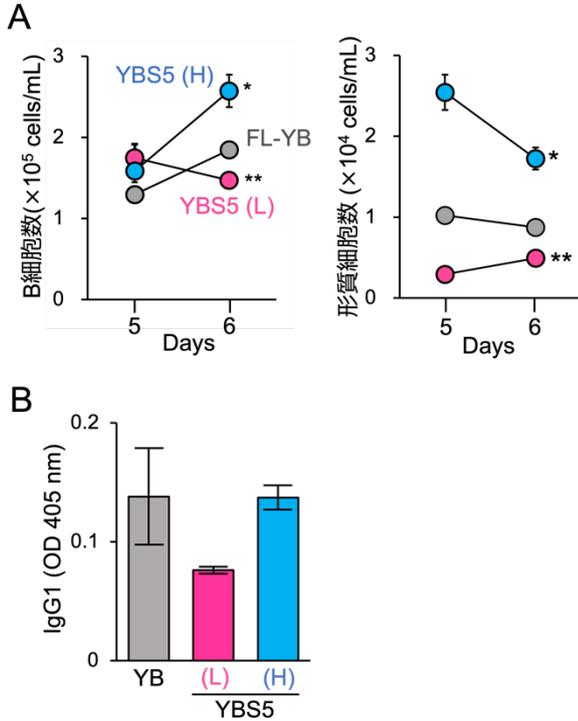


図3 FL-Y細胞において発現する SLAMF5 の抗体産生に与える作用

(A) FL-YB細胞 (FL-YB) と SLAMF5 導入 FL-YB細胞 (YBS5(L), YBS5(H)) 上で、免疫したマウスから調整したリンパ節細胞を培養し B細胞数と抗体産生細胞数 (A) と培養上清中の抗体産生量 (C) をフローサイトメーターと ELISA 法を用いて評価した。* $p < 0.01$, ** $p < 0.05$

3. SLAMF5-Fc融合タンパク質の活性化リンパ球に対する作用の解析

SLAMF5 は、ホモフィリックな相互作用を介して免疫系細胞の機能調節を行うことが報告されている。そこで、SLAMF5 の作用機構を解明するため、SLAMF5 とヒト IgG1Fc 融合タンパク質 (SLAMF5-Fc) を作製しリンパ球の活性化に与える作用について検討した。

まず、SLAMF5 の細胞外領域、ヒト IgG1 定常部と His タグにより構成される融合タンパク質 (SLAMF5-Fc) を作製するための発現ベクターを構築した。Expi293 発現系を用いて培養上清中に

SLAMF5-Fc 融合タンパク質を発現させた後、培養上清からニッケルカラムを用いて SLAMF5-Fc タンパク質を精製し、本実験に使用した。

次に、免疫したマウスリンパ節細胞を抗原とともに培養する際に、SLAMF5-Fc を添加した。その結果、低濃度での SLAMF5-Fc (5 $\mu\text{g/mL}$) の添加により B細胞数が有意に抑制されたが、添加濃度の増加とともにその抑制効果は低下していた(図4 A)。一方、ヒト IgG1 定常部 (Human IgG1) では、B細胞数の変化は見られなかった。さらに、FL-YB細胞上で活性化リンパ球を培養する実験系に SLAMF5-Fc タンパク質を添加したところ、SLAMF5-Fc (10 $\mu\text{g/mL}$) の添加により B細胞数の減少が見られた(図4 B)。これらのことから、FDC の発現する SLAMF5 は、B細胞と T細胞の相互作用を阻害することにより、抗体産生系を抑制している可能性がある。

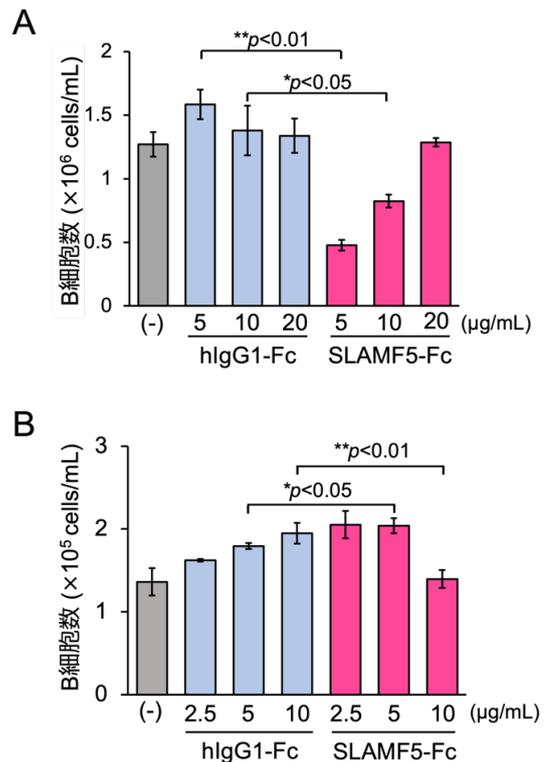


図4 FL-Y細胞において発現する SLAMF5 の抗体産生に与える作用

(A) 免疫したマウスリンパ節より調整したリンパ球を抗原 (TNP-KLH) と共に培養する際に、図中に示す濃度で hIgG1-Fc もしくは SLAMF5-Fc を添加した。その後、B細胞数を生存細胞数の計数とフローサイトメーターにより評価した。(B) マウスリンパ節細胞を FL-YB細胞上で抗原 (TNP-KLH) と共に培養し、(A)と同様の解析を行なった。

4. SLAMF5 の B 細胞に対する直接的作用の解析

SLAMF5 の B 細胞に対する直接的な作用を解析するため、FL-YB および YBS5 細胞上でマウス脾臓 B 細胞を培養し、生存 B 細胞数を評価した。その結果、YBS5(H) 上で B 細胞を培養した場合、FL-YB 細胞と比較し、生存細胞数の増加が見られた(図 5 A)。さらに、この増加は T 細胞からの刺激を模倣した抗 CD40 抗体刺激条件においてより顕著であった(図 5 A)。一方で、YBS5(L)では抗 CD40 抗体刺激条件においても B 細胞数の増加は認められなかった(図 5 B)。これらの結果は、FDC からの SLAMF5 を介した B 細胞の刺激は、T 細胞からの補助刺激が存在する条件では活性化促進に働くことを示唆している。

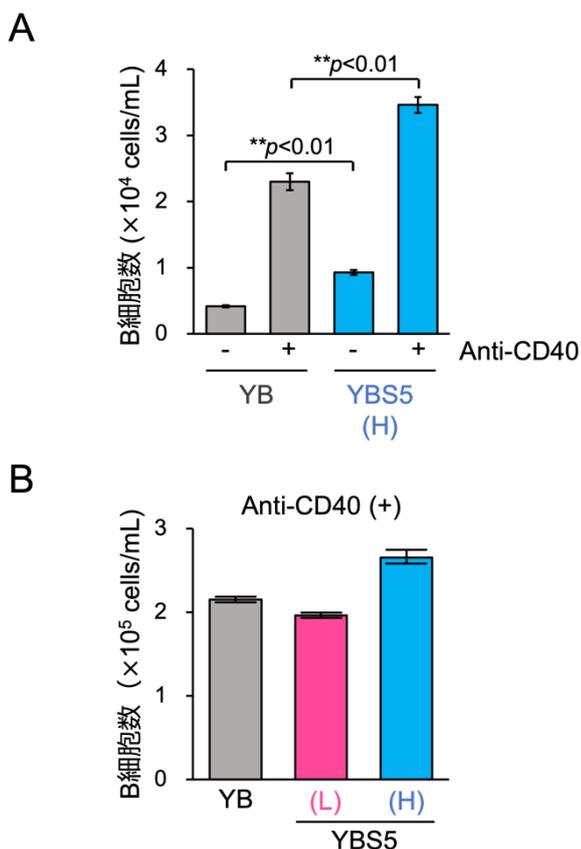


図 5 FL-Y 細胞において発現する SLAMF5 の抗体産生に与える作用

(A) FL-YB 細胞(YB)と SLAMF5 導入 FL-YB 細胞(YBS5(H)) 上で、マウス脾臓から調整した B 細胞を未刺激(—)もしくは抗 CD40 抗体刺激存在下(+)で培養した。その後、B 細胞数をフローサイトメーターを用いて評価した。(B) FL-YB 細胞(YB)と SLAMF5 導入 FL-YB 細胞(YBS5(L), YBS5(H)) 上で、マウス脾臓 B 細胞を抗 CD40 抗体刺激条件下で培養し、(A)と同様の解析を行なった。

まとめ

本研究では、マウス FDC 株 FL-Y を利用し、FDC の活性化に伴い発現上昇する分子の解析から、B 細胞活性化を調節する因子として SLAMF5 を同定した。これまで FDC で発現する SLAMF5 の免疫学的機能は明らかになっていないが、今回の研究により FDC の発現する SLAMF5 が抗体産生機構を多面的に調節することが明らかとなった。これは、抗体産生機構を調節するための標的分子として SLAMF5 が有効である可能性を示すものである。また、今回の研究により SLAMF8-Fc タンパク質が抗体産生機構を抑制する可能性が示唆された。今後、生体内での SLAMF5-Fc タンパク質の効果を評価することにより、免疫抑制効果をもつ新規分子の開発に発展する可能性がある。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、多大なご支援を賜りました公益財団法人ウエスコ学術財団に心より感謝申し上げます。

参考文献

1. Rajewsky K. Clonal selection and learning in the antibody system. *Nature* **381**, 751–758 (1996).
2. Allen C. D. C. and Cyster J. G. Follicular dendritic cell networks of primary follicles and germinal centers: Phenotype and function. *Semin. Immunol.* **20**, 14–25 (2008).
3. Fütterer A., Mink K., Luz, A., Kosco-Vilbois M. H., and Pfeffer K. The lymphotoxin β receptor controls organogenesis and affinity maturation in peripheral lymphoid tissues. *Immunity* **9**, 59–70 (1998).
4. Koni P. A., Sacca R., Lawton P., Browning J. L., Ruddle N. H., and Flavell R. A. Distinct roles in lymphoid organogenesis for lymphotoxins α and β revealed in lymphotoxin β -deficient mice. *Immunity* **6**, 491–500 (1997).
5. Nishikawa Y., Hikida M., Magari M., Kanayama N., Mori M., Kitamura H., Kurosaki T., and Ohmori H. Establishment of lymphotoxin β receptor signaling-

- dependent cell lines with follicular dendritic cell phenotypes from mouse lymph nodes. *J. Immunol.* **177**, 5204–5214 (2006).
6. Magari M., Nishikawa Y., Fujii Y., Nishio Y., Watanabe K., Fujiwara M., Kanayama N., and Ohmori H. IL-21–dependent B cell death driven by prostaglandin E₂, a product secreted from follicular dendritic cells. *J. Immunol.* **187**, 4210–4218 (2011).
 7. Zhang T. T., Gonzalez D. G., Cote C. M., Kerfoot S. M., Deng S., Cheng Y., Magari M., and Haberman A. M. Germinal center B cell development has distinctly regulated stages completed by disengagement from T cell help. *eLife* **6**, (2017).
 8. Yamane F., Nishikawa Y., Matsui K., Asakura M., Iwasaki E., Watanabe K., Tanimoto H., Sano H., Fujiwara Y., Stanley E. R., Kanayama N., Mabbott N. A., Magari M., and Ohmori H. CSF-1 receptor-mediated differentiation of a new type of monocytic cell with B cell-stimulating activity: its selective dependence on IL-34. *J. Leukoc. Biol.* **95**, 19–31 (2014).
 9. Ogawa S., Matsuoka Y., Takada M., Matsui K., Yamane F., Kubota E., Yasuhara S., Hieda K., Kanayama N., Hatano N., Tokumitsu H., and Magari M. Interleukin 34 (IL-34) cell-surface localization regulated by the molecular chaperone 78-kDa glucose-regulated protein facilitates the differentiation of monocytic cells. *J. Biol. Chem.* **294**, 2386–2396 (2019).
 10. Magari M., Nishioka M., Hari T., Ogawa S., Takahashi K., Hatano N., Kanayama N., Futami J., Tokumitsu H. The immunoreceptor SLAMF8 promotes the differentiation of follicular dendritic cell-dependent monocytic cell with B cell-activating ability. *FEBS Lett.* **596**, 2659-2667 (2022).

第一、第二近赤外光を用いた高効率アポトーシス誘導法の開発

岡山大学学術研究院ヘルスシステム統合科学学域

渡邊 和則

(概要)

がん治療法の1つとして、光温熱剤を用いた光温熱療法 (Photothermal therapy; PTT) の開発が進められている。PTT で用いる光温熱剤は、近赤外光照射により発熱することで細胞死を誘導する。PTT で用いる近赤外光は第一近赤外光 (NIR-I) が主に用いられているが、近年では第二近赤外光 (NIR-II) に応答する光温熱剤の開発が進められている。しかしながら、NIR-I や NIR-II に応答する光温熱剤を用いた細胞死誘導効率には改善の余地がある。そこで本研究では、本研究では NIR-I 照射に応答して発熱する ICG もしくは、NIR-II 照射に応答して発熱する有機色素 II と pre-miR-664a を担持させたラクトソームを開発し、細胞死誘導効率の改善を試みた。

その結果、pre-miR-664a@ICG@ラクトソームは、約 40 nm の粒径であり、NIR-I 照射により発熱することが明らかになった。また、NIR-I 照射により高い細胞死誘導効率を示すことも明らかになった。

NIR-II 照射により発熱する有機色素 II@ラクトソームの調製にも成功した。また、有機色素 II@ラクトソームは NIR-II 照射により細胞死を誘導することも明らかになった。今後、pre-miR-664a@有機色素 II@ラクトソームを調製し、高い細胞死誘導効率を示すのか検証する。

【はじめに】

がんのスタンダード治療法として、手術療法、化学療法、放射線療法がある。しかしながら、手術療法は患者の身体的負担が大きく、化学療法や放射線療法は正常細胞にもダメージを与えるため、副作用が現れてしまう。これらの課題を解決するために、光温熱療法 (Photothermal therapy; PTT) の開発が進められている。

PTT は、腫瘍に光温熱剤を蓄積させたのち、生体組織透過性が高い近赤外光を照射することで光温熱剤が発熱し、がん細胞を死滅させる方法である。PTT の特徴として、PTT で用いる近赤外光単独では細胞へのダメージが小さいため、光温熱剤が蓄積していない細胞へのダメージが小さい点が挙げられる。また、PTT では疾患部位の切除が不要なため、低侵襲である。さらに、アメリカで前立腺がんを対象に PTT の臨床試験 (Phase I) が進められており、良好な結果が得られている⁽¹⁾。このように PTT は既存のがん治療法よりも利点が多いため、注目を浴びている治療法の1つである。

これまでに開発されてきた光温熱剤は、enhanced

permeability and retention effect (EPR 効果) で腫瘍へ輸送されることが想定されているため、腫瘍への蓄積効率が低く、がん細胞への細胞質への輸送効率も低いいため、近赤外光照射による細胞死誘導効率が低いことが問題となっている。

PTT で用いる近赤外光は第一近赤外光 (650-900 nm, NIR-I) が中心である。例えば、PTT として臨床試験で用いられている金ナノ粒子は NIR-I を用いている。近年、NIR-I よりも長波長域である第二近赤外光 (1000-1700 nm, NIR-II) を用いた光温熱剤の開発が進められつつある。NIR-II は NIR-I よりも組織透過性が高く、医療の現場においては NIR-I よりも強いエネルギー照射が認められている。これまでに NIR-II 照射により発熱する有機色素 IR-1061 を担持したナノミセルは、NIR-II 照射によりアポトーシスを誘導できることが報告されている⁽²⁾。しかしながら、これらのナノミセルは細胞質への輸送効率が低く、アポトーシス誘導効率が低いことが課題となっている。

我々はこれまでに、生体適合性が高く、EPR 効果により腫瘍へ蓄積し、細胞膜透過性ペプチド (Cell

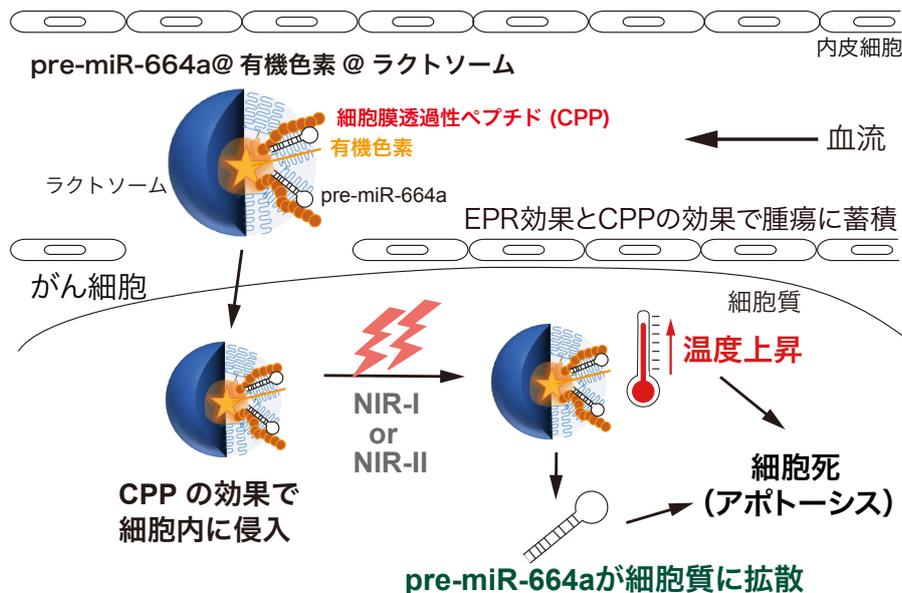


図1 pre-miR-664a@有機色素@ラクトソームによるアポトーシス誘導機構

penetrating peptide (CPP) の効果により高い細胞質輸送効率を示すラクトソームを開発している^(3,4)。また、アポトーシスを誘導するマイクロ RNA 前駆体として、pre-miR-664a を同定している⁽⁵⁾。そこで、本研究では NIR-I 照射に応答して発熱する ICG もしくは、NIR-II 照射に応答して発熱する有機色素 II を担持したラクトソームを開発する。また、ラクトソームに pre-miR-664a を担持させることで細胞死誘導効率の改善を試みる (図 1)。

【結果と考察】

1. pre-miR-664a@ICG@ラクトソームの調製

ポリ乳酸と ICG を結合させたポリ乳酸、ポリサルコシン、CPP、pre-miR-664a もしくは非標的 RNA である pre-miR-control を混ぜることで pre-miR-664a@ICG@ラクトソーム、pre-miR-control@ICG@ラクトソーム (以降、両方のラクトソームを示す時には pre-miRNA@ICG@ラクトソームと表記する)

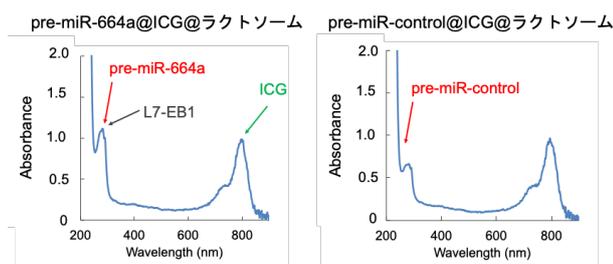


図2 pre-miR664a@ICG@ラクトソーム (左) と pre-miR-control@ICG@ラクトソーム (右) の吸収スペクトル

の調製を行った。その結果、吸収スペクトルから pre-miRNA@ICG@ラクトソームを調製することができたことが示された (図 2)。

2. NIR-I 照射による pre-miRNA@ICG@ラクトソーム溶液の温度変化

NIR-I 照射により、pre-miRNA@ICG@ラクトソームを含んだ溶液の温度上昇が起こるのか検証した。その結果、ICG を担持したラクトソーム溶液では、NIR-I 照射エネルギー依存的に 11~14 度程度の温度上昇が起こった (図 3)。一方で、ICG を担持していないラクトソーム溶液では 2 度程度の温度上昇であった。また、ラクトソームを含んでいない溶液では温度上昇を観察することはできなかった。このことから、近赤外光照射により ICG が発熱することで溶液

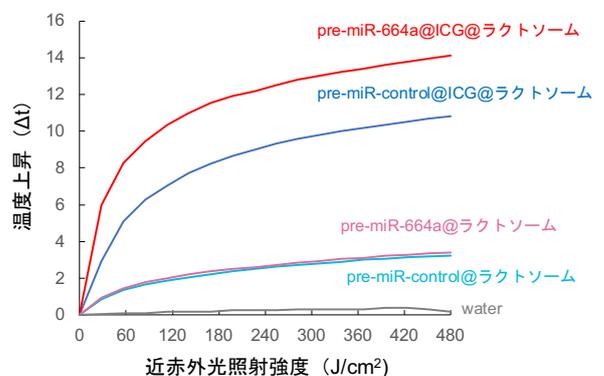


図3 pre-miRNA@ICG@ラクトソーム溶液の近赤外光エネルギー依存的な温度変化

温度が上昇したことが明らかになった。また、細胞死は 43 度以上で起こるが、10 度以上温度上昇が起こったことから、十分に細胞死を誘導できることが示唆された。

3. pre-miRNA@ICG@ラクトソームの粒径とゼータ電位の同定

pre-miRNA@ICG@ラクトソームの粒径を測定したところ、pre-miR-664a@ICG@ラクトソーム、pre-miR-control@ICG@ラクトソームともに約 40 nm であった。EPR 効果で腫瘍に蓄積するには粒子サイズが 200 nm 以下になる必要があるが、pre-miRNA@ICG@ラクトソームは 200 nm 以下のため、pre-miRNA@ICG@ラクトソームは EPR 効果で腫瘍に蓄積することが期待される。

次に、pre-miRNA@ICG@ラクトソームのゼータ電位を測定した。その結果、pre-miR-664a@ICG@ラクトソーム、pre-miR-control@ICG@ラクトソームともに正電荷であった。細胞導入には極端な電荷を持たず、かつ正電荷の方が細胞内導入効率が高い傾向にあるため、pre-miRNA@ICG@ラクトソームは効率よく細胞内に導入されることが示唆された。

4. pre-miRNA@ICG@ラクトソームによる近赤外光依存的な細胞死誘導効率

pre-miR-664a@ICG@ラクトソーム、pre-miR-control@ICG@ラクトソームを用いて NIR-I 依存的に細胞死誘導が起こるのか検証した。その結果、pre-miR-control@ICG@ラクトソームで処理した場合、NIR-I を照射しない細胞では約 5%、NIR-I を照射した細胞では約 35%の細胞死誘導効率であった。一方で、pre-miR-664a@ICG@ラクトソームで処理した場合、NIR-I を照射しない細胞では約 10%、NIR-I を照射した細胞では約 90%の細胞死誘導効率であった。

このことから、pre-miR-control@ICG@ラクトソームは NIR-I を照射することで ICG が発熱することで細胞死を誘導していることが示唆された。また、pre-miR-664a@ICG@ラクトソームは、NIR-I を照射することで ICG が発熱することで細胞死を誘導しつつ、NIR-I 照射により pre-miR-664a が細胞質へと拡散す

ることで細胞死を誘導した、つまり ICG と pre-miR-664a の相乗効果で高い細胞死誘導効率を示したことが示唆された。

5. NIR-II 照射で発熱する有機色素 II 担持ラクトソームの調製

PTT や光線力学的療法 (PTT) で用いられる有機色素は、光を照射することで蛍光を発する色素が多い。そこで、NIR-II 照射で蛍光を発する有機色素 II を三種類 (有機色素 II-1、-2、-3) 用いて、NIR-II 照射により発熱する有機色素 II を探索した。その結果、NIR-II 照射により有機色素 II-1 は温度上昇するが、有機色素 II-2、有機色素 II-3 はより温度上昇が起こることが明らかになった (図 4)。

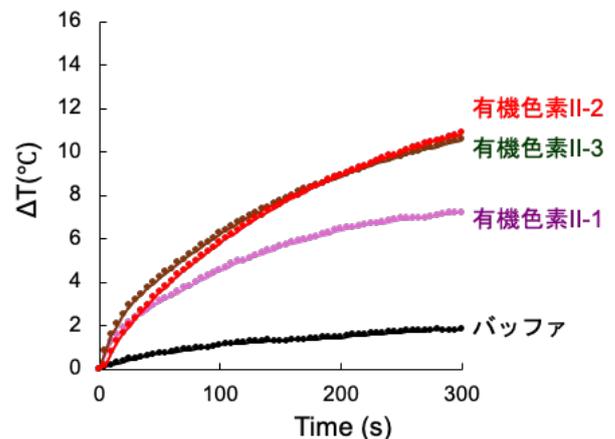


図 4 NIR-II 照射による有機色素 II を含んだ溶液の温度変化

6. ラクトソームへの有機色素 II の担持

有機色素 II は疎水性が高いため、ラクトソームへ疎水的相互作用で担持できるか検証した。その結果、有機色素 II-1 は担持することはできたが、有機色素 II-2、有機色素 II-3 の担持効率はかなり低かった。

7. 有機色素 II@ラクトソームを用いた NIR-II による細胞死誘導

有機色素 II@ラクトソームを用いて、NIR-II 依存的に細胞死誘導が起こるのか検証した。その結果、有機色素 II@ラクトソームで処理後、NIR-II を照射しない細胞の細胞死誘導効率は約 5%であった。また、有機色素 II-1@ラクトソームで処理後、NIR-II を照射すると、約 15%の細胞死誘導効率であった。一

方で、有機色素 II-2@ラクトソーム、有機色素 II-3@ラクトソームで処理後、NIR-II を照射すると、約 60% の細胞死誘導効率であった。

有機色素 II-1@ラクトソームよりも有機色素 II-2@ラクトソーム、有機色素 II-3@ラクトソームの方が細胞死誘導効率が高いのは、有機色素 II-2、有機色素 II-3 の方が有機色素 II-1 よりも NIR-II により発熱する程度が高いためだと考えられる。

【まとめ】

pre-miR-664a@ICG@ラクトソームは、NIR-I 照射により発熱し、pre-miR-control@ICG@ラクトソームよりもかなり高い細胞死誘導効率を示すことが明らかになった。

NIR-II で発熱する有機色素として有機色素 II-1、有機色素 II-2、有機色素 II-3 を同定し、少量だがラクトソームへ担持することができた。しかし、担持率が低いため、改善の余地がある。また、有機色素 II-2@ラクトソーム、有機色素 II-3@ラクトソームは NIR-II に依存して細胞死を誘導できることが明らかになった。今後、さらに細胞死誘導効率を高めるために有機色素 II@ラクトソームに pre-miR-664a への担持を試みる。

【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。

【参考・引用文献】

- (1) Rastinehad, A. R., Anastos, H., Wajswol, E., Winoker, J. S., Sfakianos, J. P., Doppalapudi, S. K. et al., (2019) Gold nanoshell-localized photothermal ablation of prostate tumors in a clinical pilot device study. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 116(37), 18590-18596.
- (2) Geng, X., Gao, D., Hu, D., Liu, Q., Liu, C., Yuan, Z. et al., (2020) Active-Targeting NIR-II Phototheranostics in Multiple Tumor Models Using Platelet-Camouflaged Nanoprobes. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 12, 55624-55637.
- (3) Han, M.L.S., Nishiyama, Y., Ohtsuki, T., Watanabe, K.,

Kobuchi, H., Kobayashi, K., Matsuura, E. (2021) Lactosome-conjugated siRNA nanoparticles for photoinduced gene silencing in cancer cells. *J. Pharm. Sci.* 110, 1788-1798.

(4) Akahoshi, A., Matsuura, E., Ozeki, E., Matsui, H., Watanabe, K., Ohtsuki, T. (2016) Enhanced cellular uptake of lactosomes using cell-penetrating peptides. *Sci. Technol. Adv. Mater.* 17, 245-252.

(5) Watanabe, K., Nawachi, T., Okutani, R., Ohtsuki, T. (2021) Photocontrolled apoptosis induction using precursor miR-664a and an RNA carrier-conjugated with photosensitizer. *Sci. Rep.* 11, 14936.

リハビリテーションに向けた高い柔軟性と支援力を有するソフトロボットの開発

岡山大学学術研究院環境生命自然科学学域(工)

下岡 綜

(概要) 近年、リハビリテーションやパワーアシストなど人間を支援する機器に用いられるマッキベン型ゴム人工筋やインフレーターブルアクチュエータのような空気圧駆動のソフトアクチュエータは、出力重量比が高く、また対象に合わせて柔軟な動作ができるなどの特徴を有している。しかし、ソフトアクチュエータは高い柔軟性を有する反面、収縮方向に対する発生力は得られるが、伸長方向の発生力、つまり押出力がほとんどない。本研究では、柔軟性を保ちつつ、座屈せず伸長や湾曲動作において高い出力/重量比を有するソフトロボットの実現を目指す。具体的には、パンタグラフ機構を参考にリンク機構を開発し、伸長するソフトアクチュエータに均一に挿入することで、ソフトロボット全体の伸長に伴う大きな発生力(以後、押出力)が得られる。

本報告では、開発したソフトロボットの特性を調査することに加え、従来のソフトロボットと比較した。任意の湾曲動作を行うために、ソフトロボットの解析モデルを用いて、姿勢制御システムの構築を行った。このシステムによる姿勢制御実験を行い、制御性能を明らかにした。

(本文)

1. 緒言

近年、マッキベン型ゴム人工筋やインフレーターブルアクチュエータのような空気圧駆動のソフトアクチュエータは、出力重量比が高く、また対象に合わせて柔軟な動作ができるなどの特徴を有している。そのため、基礎から応用研究まで様々な研究がなされている[1]。その中で、ソフトアクチュエータから大きな力を出力するものとして、内部のゴムチューブに空気圧を加え、収縮動作を行うことで、大きな収縮力を得るゴム人工筋がある[2]。しかし、収縮方向に対する発生力は得られるが、伸長方向の発生力、つまり押出力がほとんどない。これは柔軟性が非常に高いため、座屈が生じ、押出力が分散するものと考えられる。柔軟性を保ちつつ、座屈せず伸長や湾曲動作に伴う発生力を対象に与えることで新たなロボットアームやパワーアシスト装置へ組み込むこともできると考える。そこで本研究では、ソフトアクチュエータが有する高い柔軟性を残しつつ、伸長や湾曲動作に対して大きな発生力を得られる機構の開発をめざす。本報告では、パンタグラフ機構を参考に開発したリンク機構を用いて伸長型柔軟空気圧アクチュ

エータ(以後、EFPA)に均一に挿入したソフトロボットであるクロスリンク EFPA(以後、CL-EFPA)の構造について述べる。そのCL-EFPAの基本特性(伸長率、湾曲角)についても述べる。この時、CL-EFPAに負荷を付けた状態の特性も調査する。これまで開発したソフトアクチュエータと比較するため、押出力の特性を調査する。ロボットアームへの適用を目指して任意の湾曲姿勢を行うため、CL-EFPAの解析モデルを用いて、姿勢制御実験を行う。

2. 伸長するソフトアクチュエータ

図1に本研究で用いる伸張型柔軟空気圧アクチュエータ(以後、EFPA)の外観と構造を示す。図1に示すようにEFPAはシリコンゴムチューブを蛇腹状のナイロン製スリーブで覆った構造である。動作原理は、供給口から空気圧を印加することで内部のゴムチューブが半径方向へ膨張するが、スリーブにより伸びが制限され、軸方向にのみ伸張する。伸長率は自然長から2.5倍(供給圧力500kPaの場合)程度であり、伸長後も曲げられるほど高い柔軟性を有している。

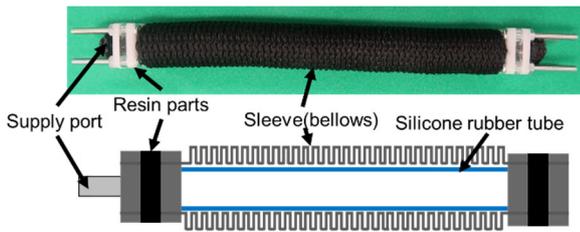


図1 EFPAの外観と構造

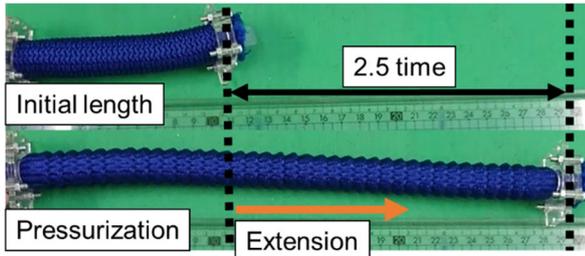


図2 伸長動作の様子

しかし、高い柔軟性を有しているが故に、伸長に伴う発生力(以後、押出力)が非常に小さい(最大12N)。これは、対象に接触した際に周方向へ湾曲(座屈)するため、押出力が分散してしまうからであると考えられる。高い伸長率を有しているため、この特性を活かして大きな押出力を実現することができないかと考えた。そこで、EFPAの周方向にリンク機構を挿入することで周方向に座屈することなく対象に押出力を伝えることができるのではと仮説を立てた。リンク機構には、大きな重量物を支えることができるパンタグラフ機構を参考に設計を行った。設計したリンク機構(以後、クロスリンク機構)を図3に示す。これにより座屈する方向へ伸長することなく、押出力を伝えることができる。また、機構の特徴から、伸長だけでなく湾曲動作も可能である。これを用いて開発した新たなEFPA(Cross Link EFPA: CL-EFPAと呼ぶ)を図3に示す。CL-EFPAの構成は、3本に束ねたEFPAを3本使用し、EFPAの蛇腹10ピッチ毎(図3参照)にクロスリンク機構を挿入する。この時、EFPAの距離が変化しないようにPET製の拘束板も挿入している。EFPAの長さは210mm、CL-EFPA全体では240mm、重量は800gである。

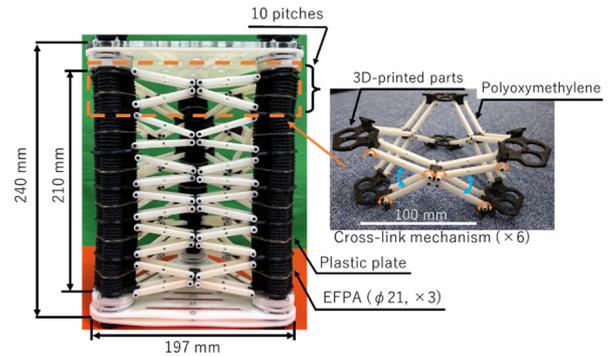
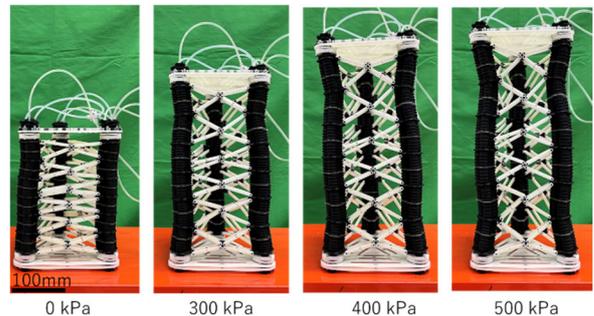


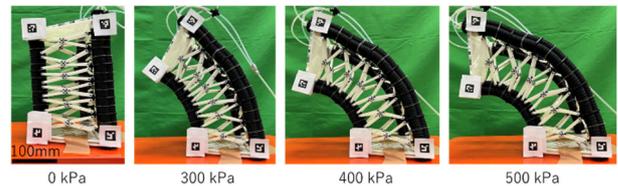
図3 CL-EFPAとリンク機構の外観

次に各EFPAに空気圧を加えた場合の動作の様子について述べる。3本の束ねたEFPAを同時に加圧した場合の動作の様子を図4(a)に示す。加圧することで3本のEFPAが同時に伸長し、CL-EFPAが伸長動作する。

束ねたEFPA1本また2本に空気圧を加えた場合の様子を図4(b)に示す。このような加圧をすることで、加圧したEFPAは伸長し、加圧していないEFPAは伸長したEFPAに沿って湾曲するため、CL-EFPAは伸長する方向へ湾曲動作をすることができる。



(a) 伸長動作



(b) 湾曲動作

図4 動作の様子

3. CL-EFPAの特性とソフトアクチュエータとの比較

次に、CL-EFPAの基本特性について調査する。無負荷の場合に加え、リハビリテーションやアシストデバイスへの応用も検討しているため、負荷を載せた場合の実験も行う。実験では、0から500kPaまで

100kPa 事に加圧し、その時の変位または角度を 5 回計測した。また、上端に負荷を載せた状態でも同様の実験を行った。全ての EFPA に空気圧を加えた場合の結果を図 5 に示す。図 5 から、圧力が上昇することで、CL-EFPA の変位が大きくなっていることがわかる。計測誤差もほとんどなく同様の結果が得られた。供給圧力 500kPa の場合で、最大変位 233mm であることがわかった。初期長さを 210mm とすると、伸長率が 2.1 倍である。また負荷 1kg, 2kg を載せた場合には、負荷が大きくなる毎に多少変位が小さくなっていることがわかる。無負荷と比較すると 23mm であることが判明した。

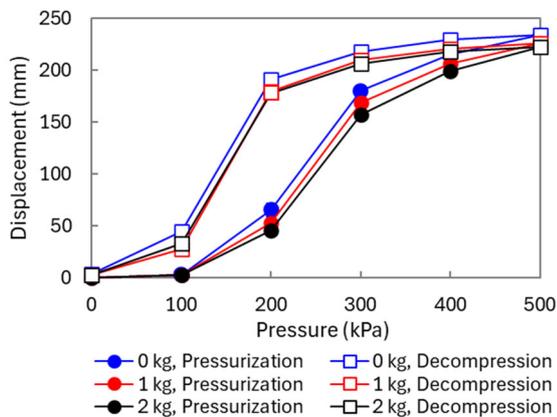
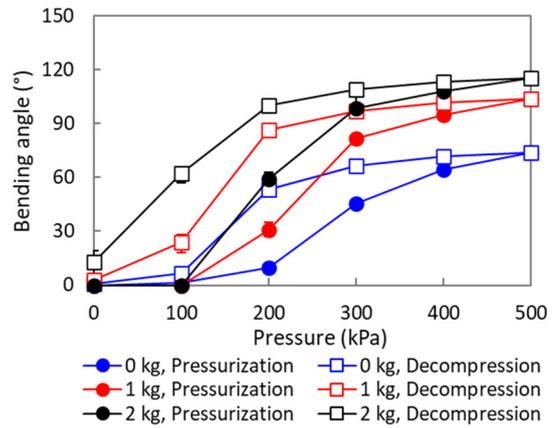
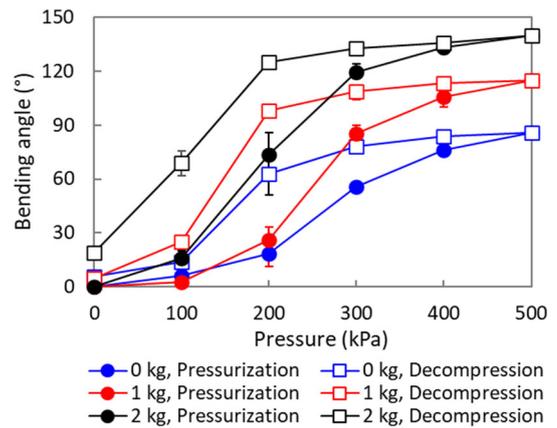


図 5 圧力と CL-EFPA の変位の関係

次に、1 本または 2 本の束ねた EFPA に加圧した場合の湾曲角の結果を図 6 に示す。結果から負荷が大きくなることで、湾曲角が大きくなっていることがわかる。これは重力による影響であり、図 5 の結果でも同様の影響を受けていると考える。また、2 本の EFPA を加圧した場合、湾曲が最も大きい(最大 140°)ことがわかった。これは、加圧していない EFPA の本数が少なく、変形しやすいためであると考えられる。図 5, 6 いずれの場合も加圧した場合と減圧した場合で変位または湾曲角が異なることがわかる。このヒステリシスの原因は、EFPA のゴムチューブと蛇腹スリーブとの摩擦が原因であると考えられる。また、減圧する場合に、ある程度圧力が小さくなってからゴムチューブの復元力が戻ることも原因であると考えられる。



(a) 1 本加圧



(b) 2 本加圧

図 6 空気圧と湾曲角の関係

CL-EFPA およびこれまで開発した EFPA の伸長に伴う押出力の計測を行った。実験では、図 7 のようにアクチュエータの両端を固定し、一端にフォースゲージを取り付け、圧力を加えた際の押出力を 5 回計測した。また、圧力の上昇に伴いアクチュエータが座屈した場合でも計測を行った。その結果を図 8 に示す。

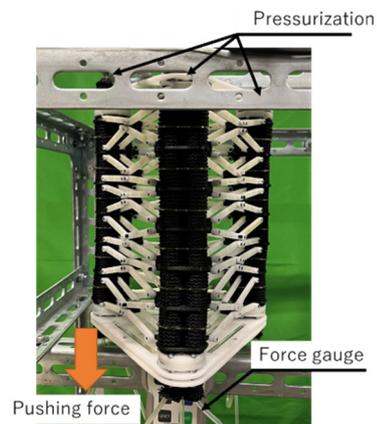


図 7 押出力測定の様子

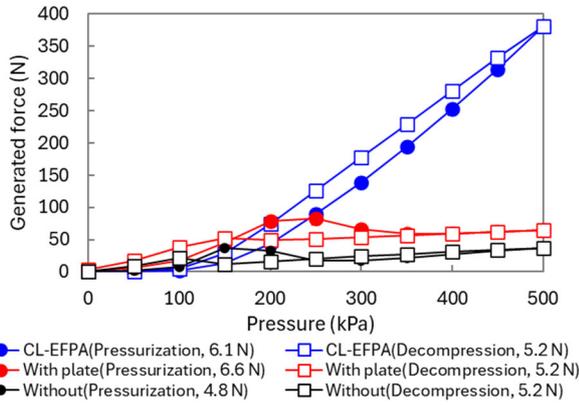


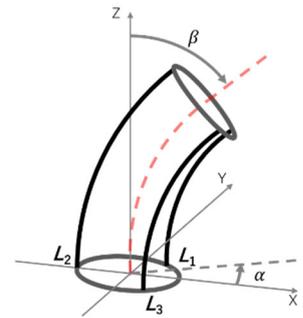
図8 圧力と押出力の関係

図8から、各記号は加圧・減圧した場合の結果を示す。また各色は、CL-EFPA、各EFPAをPET製の板を挿入したと挿入していない場合の結果を示す。各凡例に標準誤差を示す。従来2種類のEFPA(赤色、黒色)は150から200kPaで加圧した場合に座屈が生じ、発生力が低下していることがわかる。しかし、CL-EFPAは座屈することなく、500kPa加圧することで押出力380Nを出力していることが明らかとなった。計測による誤差もほとんどなく、各圧力で一定の押出力が得られた。図5、6と同様に加圧・減圧でヒステリシスが見られるが、その影響は小さい。これは、伸長しないように両端で固定しているからと考える。また、ゴムチューブの復元力によるヒステリシスが発生していると考えられる。国内外のソフトアクチュエータの押出力に注目した研究として、オタワ大学のMohammed Abboodiらが同様の蛇腹状のソフトアクチュエータを開発した[3]。その結果から押出力210Nを出力しているが、今回開発したCL-EFPAの押出力の方が大きいことがわかった。このCL-EFPAは挿入する間隔を小さくする(ピッチ数を小さくする)ことでさらに押出力向上が期待できる。この調査については今後計測する予定である。

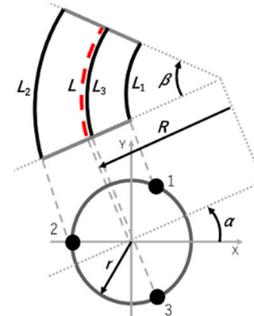
4. CL-EFPAによる姿勢制御実験

提案するアクチュエータを用いてロボットアーム、手首や肩関節用リハビリテーションロボットなどの支援ロボットとして応用するために、アクチュエータの任意の伸長動作や湾曲動作を制御する必要があると考える。そこで、図9に示す解析モデルを用い

て、CL-EFPAの湾曲動作に対する姿勢制御を行う。



(a) 湾曲方向角 α 、湾曲角 β の定義



(b) 各EFPAの湾曲方向角 α への投影図

図9 CL-EFPAの解析モデル

図9の幾何学的関係から、各EFPAの長さ(もしくは変位)を制御することで湾曲方向角 α と湾曲角 β を求めることができる。解析モデルによる計算結果と実際に計測した湾曲角との比較を行った。その結果を図10に示す。その結果から、計算結果と計測結果とほぼ一致していることがわかり、解析モデルの有効性を示すことができた。

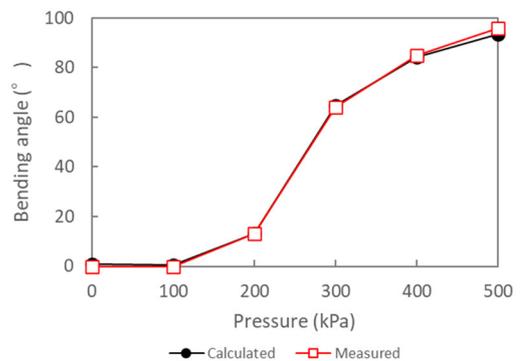


図10 解析モデルの有効性

次に、姿勢制御システムについて述べる。システムの構成を図11に示す。姿勢制御システムは、CL-EFPA、各EFPAの長さを計測するためのワイヤ式ポ

テンショメータ[4],システム全体を制御するための組み込みコントローラ,各 EFPA の圧力を制御する疑似サーボ弁[5]で構成される。制御方法としては,PID 制御を用い,各制御ゲインは過渡応答法によって決定した。

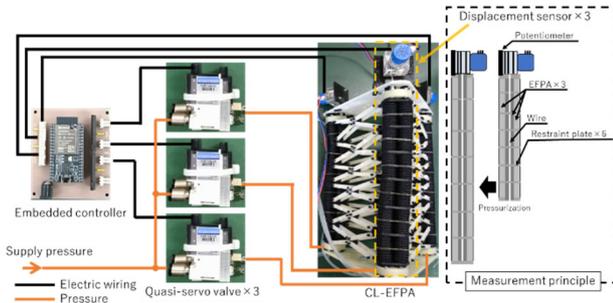
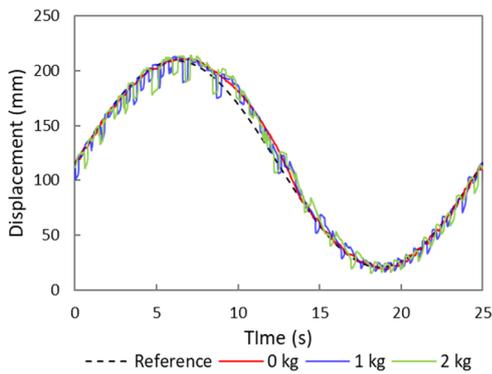
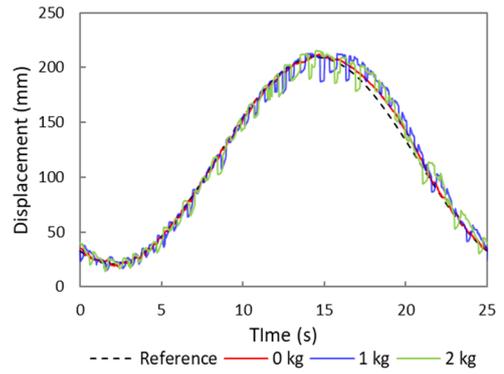


図 11 姿勢制御システム

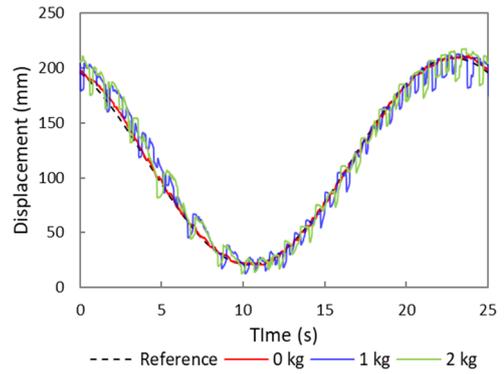
目標姿勢に伴う制御結果を図 12,その動作の様子を図 13 に示す。目標姿勢として,湾曲方向角 α の周期を 0.04Hz,湾曲角 β を $\frac{\pi}{3}$,CL-EFPA の中心長さ l を 330mm になるよう追従させた。また,図 5,6 の時と同様に,負荷を加えた場合の追従実験も行った。これらの結果から,目標変位に対してよく追従できていることがわかる。負荷 2kg の場合でも振動的な結果となっているが,最大誤差は約 25.3mm である。リハビリテーションロボットへの応用として,許容誤差かどうかは定量的に判明していないため,より曲げに対する剛性を強化しつつ,有効性を検証する予定である。



(a) EFPA 1



(b) EFPA 2



(c) EFPA 3

図 12 姿勢制御による追従結果

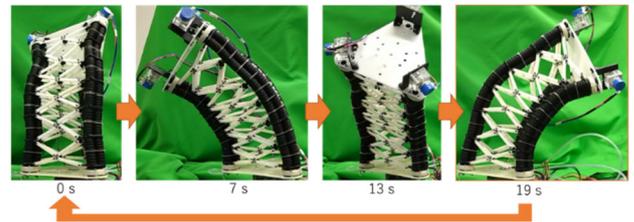
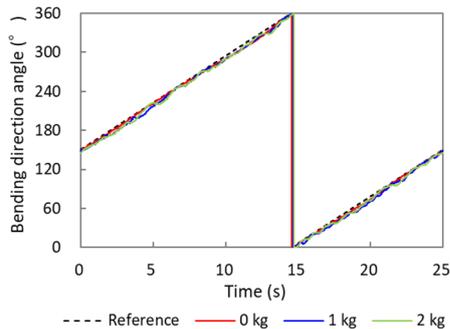


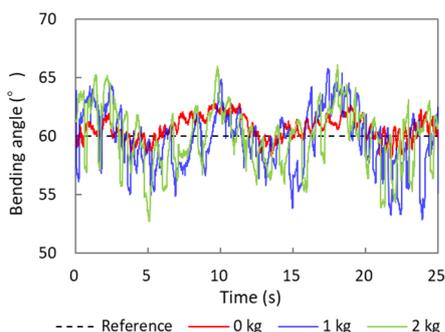
図 13 追従制御の様子

これらの結果をもとに算出した湾曲方向角 α ,湾曲角 β ,中心長さ l の結果を図 14 に示す。結果から,図 14(a)湾曲方向角 α について,目標値によく追従できていることがわかる。図 14(b)の湾曲角 β では,無負荷では, $\pm 3^\circ$ の誤差しかなくよく追従できているが,負荷有りの場合では,追従結果と同様に振動的あることがわかる。負荷の大きさに関わらず,同じ振動が発生していることがわかる。この原因は判明していないため,負荷の大きさも変えて実験を続けていく予定である。図 14(c)では,図 14(b)と同じ傾向であることがわかる。これらの誤差を小さくするために,より曲げ剛性を強化したアクチュエータへの改良を行う必要がある。リハビリテーション

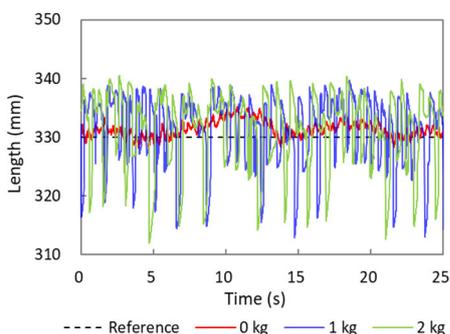
動作に応じたロボットの開発を行う予定である。



(a) 湾曲方向角 α



(b) 湾曲角 β



(c) 中心長さ L

図 14 追従結果による角度 α , β と長さ L の結果

5. 結言

本研究では、リハビリテーションで行うような柔軟な動作や関節を動かすための力を有するソフトロボットを目指して、CL-EFPA を用いた負荷の有無による伸長や湾曲特性を明らかにした。これまでのアクチュエータと比較するため、押出力を計測し、最大 380N の押出力が得られ、その有効性を示した。また、手首や肩関節に運動を促すために、伸長動作だけでなく、任意の湾曲動作を行う必要があり、解析モデルを用いた追従制御を行い、概ね目標値に追従して

いることを確認した。今後は、負荷の影響を受けにくいソフトロボットの改良を検討するとともに、リハビリテーションロボットの開発を行う予定である。

参考文献

- [1] Min Pan, et.al., Soft Actuators and Robotic Devices for Rehabilitation and Assistance, Advanced Intelligent Systems, Vol.4, No.4, 2100140, 2021.
- [2] Hiroki Tomori, et. al., Theoretical Comparison of McKibben-Type Artificial Muscle and Novel Straight-Fiber-Type Artificial Muscle, International Journal of Automation Technology, Vol.5, No.4, pp.544- 550, 2011.
- [3] Mohammed Abboodi, Marc Doumit, Development and Testing of Novel Soft Sleeve Actuators, IEEE Access, Vol. 12, pp. 39995-40010, 2024.
- [4] S. Shimooka, T. Akagi, S. Dohta, et al., Development of reinforced extension type flexible pneumatic actuator with circumferential restraints and its application for rehabilitation device, International Journal of Automotive and Mechanical Engineering, Vol. 17, No. 3 pp.8116-8127, 2020.
- [5] So Shimooka, Shujiro Dohta, Tetsuya Akagi, et al., Estimation of Pressure Control Performance in Low-Cost Quasi-Servo Valve Using Embedded Controller, Lecture Notes in Electrical Engineering, Vol. 293, No. 1 pp. 359-366, 2014.

本研究成果

- 下岡綜, 忠地一磨, パンタグラフ機構を取り入れた高出力伸長型ソフトアクチュエータの開発, 2024 年春季フルードパワーシステム講演会講演論文集, pp.7-9, 2024.
- So Shimooka, Kazuma Tadachi, Tetsushi Kamegawa, Extension-type flexible pneumatic actuator with a large extension force using a cross-link mechanism based on pantographs, Sensors and Actuators: A. Physical, 2025, accepted.

蒸発液滴表面への分子吸着が堆積物形状に与える影響の解明

岡山大学学術研究院 環境生命自然科学学域

山田 寛

(概要) 液滴の蒸発は身の回りでも見られる現象であるだけでなく、工学的にも印刷や冷却技術に用いられている。中でも懸濁液の蒸発はコーティングなど様々な応用のため、検討が重ねられてきた。しかし、これらの研究は液体として水を用いた検討が多く、有機溶媒を対象としたものは限られている。一方、有機溶媒を対象とすることでみられる現象として、周囲空気に含まれる水分子の吸着および吸収がある。これによって液滴の物性が変わることによって蒸発の様子が変化することは既に報告されているが、懸濁している粒子への影響については明らかにされていない。そこで本研究では、親水性のシリカ粒子を懸濁させたエタノール液滴の蒸発を異なる相対湿度環境下で観察し、堆積物形状への影響を調査した。その結果、相対湿度の高い環境において堆積物の面積が大きくなることを明らかにした。また、これについて三相界線付近に堆積する粒子に働く力の観点から考察した。

1. 緒言

液滴の蒸発に伴う物質堆積は基礎的な熱物質移動過程として、熱工学および化学工学の観点から検討されてきた。特に、固気液三相の境界(三相界線)にリング状に堆積物が形成される現象は「コーヒーリング効果」^[1]として知られ、蒸発に伴い液滴内に誘起される流れによって三相界線に懸濁している固相が集まる現象として説明されてきた。しかし、このような現象は身近で扱いやすい水を対象として扱う場合が多く、その他の液体に対する知見は限定的である。一方、インクジェット印刷やコーティングの工程では有機溶媒が用いられることが多く、これらは水分を含む気相中で蒸発する。この際、エタノールなどの水溶性溶媒では空気中の水分子を吸着・吸収することで表面張力などの物性が変化するため、堆積物形状の制御にはこれらの物理現象を理解する必要がある。そのため、ここでは水分量を制御した空気中での懸濁エタノール液滴の蒸発を観察することで、液滴形状だけでなく堆積物形状の変化やその形成メカニズムを考察する。

2. 実験手法

本研究では、有機溶媒として水と混和するエタノール、懸濁させる粒子として親水性のシリカを使用

した。粒子の直径は1600、272および50 nmの3種類とし、濃度は0.3 g/Lとした。固体面にはテフロンを塗布することで非水性としたシリコン基板を用いた。

蒸発実験は温度25℃、相対湿度を10~80%で制御できる実験装置(図1)内で行った。あらかじめ粒子

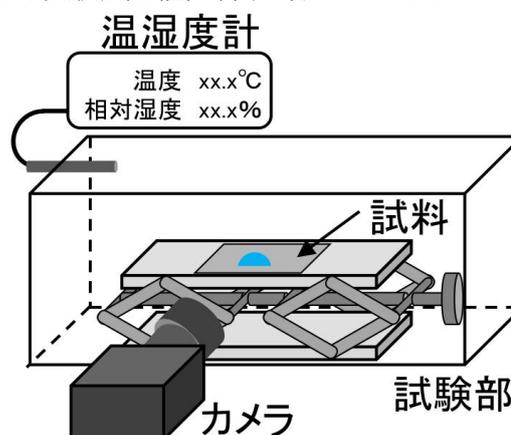


図1 実験装置の概要

を分散させたエタノールを3.5 μLシリコン基板に静かに滴下し、水平方向から観察することで蒸発による形状の変化を把握した。堆積物の形状は蒸発完了後に光学顕微鏡により観察した。

3. 実験結果および考察

図2(a)に蒸発する液滴の一例を示し、図2(b)に各相対湿度(RH)における液滴の接触角の経時変化を

示す。蒸発が進行することで気液界面と固体面とのなす角である接触角 θ が一度上昇し、その後減少していくことがわかる。また、接触角の上昇量は周囲相対湿度が高いほど大きくなっている。これは相対湿度が高いほど水分子がエタノールに入り込むことで液滴の表面張力が上昇したためである。^[2]固体面

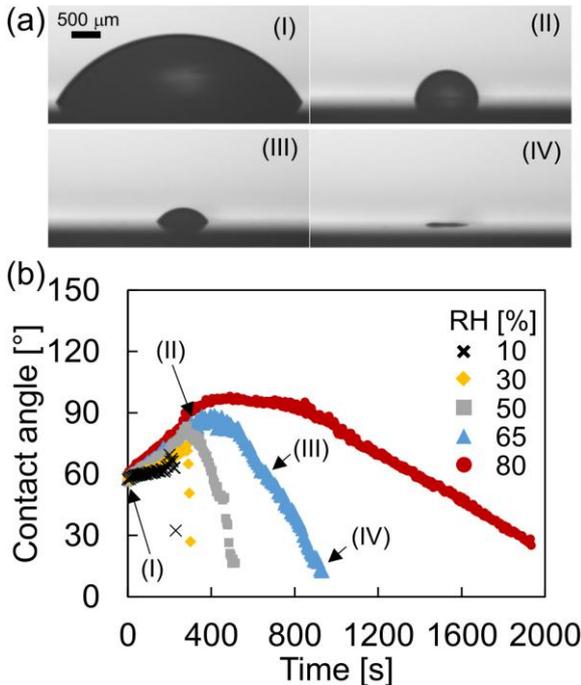


図 2 蒸発液滴の(a)スナップショットおよび(b)接触角の時間変化

との接触半径は接触角の増加とともに減少し、その後は接触角が大きくなるため、三相界線の後退は抑制されていることがわかる。なお、これらの蒸発挙動はすべてのシリカ粒子で観察された。

蒸発完了後に堆積物を観察し、堆積面積を解析した結果を図3に示す。なお、各粒径で同じ相対湿度の条件で実験を行っているが、見やすくするためにずらして表示している。各条件でばらつきはあるも

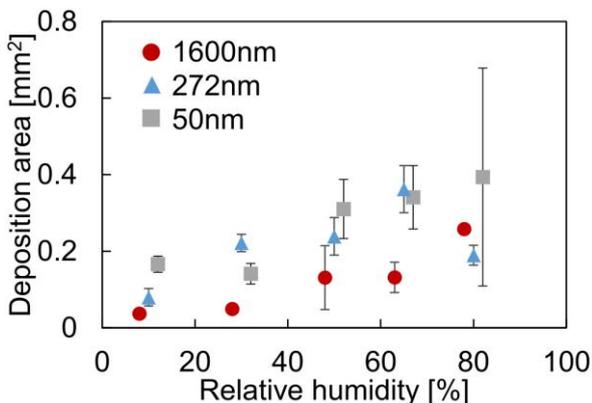


図 3 堆積物の面積と相対湿度の関係

の、相対湿度が増加するほど堆積面積が大きくなるのがわかる。これは液滴に水分子が吸収されることで粒子が三相界線に堆積しやすくなったためと考えられる。また、粒径が異なる場合、粒径が小さいほど堆積物が広がる傾向にあることがわかる。

これらの結果を考察するため、まずは三相界線にある粒子1つにかかる力を考える。図4に当該粒子の概要を示す。粒子の一部が気液界面の外に露出していると考え、粒子には表面張力 γ_{LV} が気液界面に沿って働くこととなる。一方、粒子は固体面と接しており、この時の付着力を f_a とする。三相界線にある粒子の動きは、粒子にかかる固体面に対して水平方向に働く力を用いて考えることができ、液滴中心方向への力は接触角を用いて $f_s \cos \theta$ 、移動を妨げる力は付着力に比例する力 f_f として表すことができる。また、これらより、粒子が動くためには、

$$f_s > f_f \quad (1)$$

を満たす必要があることがわかる。ここで、図2(b)にも示したように、高相対湿度条件では水分がエタノールに吸収されることで接触角が増加するため、 f_s が小さくなる。そのため、三相界線にある粒子が動きにくくなり、堆積物の面積が大きくなる傾向になったと定性的に説明することができる。

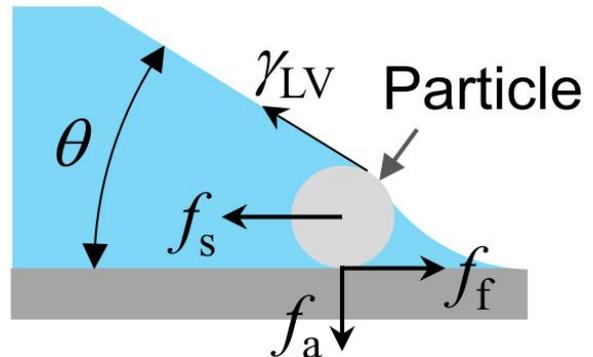


図 4 三相界線付近にある粒子に働く力の模式図

次に、より詳細な議論をするため、粒子と基板との間に働く付着力 f_a について考える。なお、実際の物質堆積では粒子が重なって存在すると予想されるが、ここでは固体面上の1層目のみに着目して検討する。付着力は複数の力が複合したものと考えられ、

$$f_a = f_{wps} + f_{eps} + f_g \quad (2)$$

と表される。ここで、 f_{wps} は粒子-固体面間のファンデルワールス力、 f_{eps} は粒子-固体面間のクーロン力、

f_g は重力である。[3]クーロン力および重力はファンデルワールス力と比較して小さいため無視することができ、粒子間に働くこれらの力も同様に無視することができる。これらより、粒子に働く付着力は粒子-固体面間のファンデルワールス力のみ考慮する。

f_{wps} の詳細は

$$f_{wps} = \frac{2r^3}{3z^2(z+2r)^2} A_{123} \quad (3)$$

で表され、ここで r は粒子半径、 z は粒子と固体面間の距離、 A_{123} はハマカー定数である。粒子-固体面間の距離は 0.4 nm とし、[3]ハマカー定数は正の値を持つと仮定する。さらに、式(2)および(3)は粒子 1 つに働く力であるため、粒子数を n として考える。なお、この値は各粒径の粒子が隙間なく敷き詰められたと仮定することで求めた。

図 5(a)に粒径と f_{wps} をハマカー定数で除した値との関係を示す。粒子 1 つにかかる付着力は粒径が大きくなることで大きくなるのがわかる。一方、図 5(b)には、単位面積当たりの合計付着力(nf_{wps})をハマカー定数で除したものと粒径の関係を示している。粒径が小さくなることで合計の付着力が飛躍的に強くなるのがわかる。このことから、粒径が小さいほど三相界線付近の粒子が動きにくくなることで、堆積物の面積が大きくなったと考えられる。

4. 結言

本研究では、蒸発する水溶性溶媒への水分子の吸収が物質堆積におよぼす影響を実験的に調査した。蒸発プロファイルの観察では、エタノールが空気中の水分子を吸収することで接触角が一度増加し、その後低下することを確認した。堆積物の面積は相対湿度が高いほど、また、粒子径が小さくなるほど大きくなる結果が得られた。これは接触角が大きくなることで三相界線が後退する際に粒子にかかる水平方向の力が減少したことと、ファンデルワールス力に由来する移動を妨げる力が強くなったためと考えられる

謝辞

本研究は公益財団法人ウエスコ学術振興財団の令

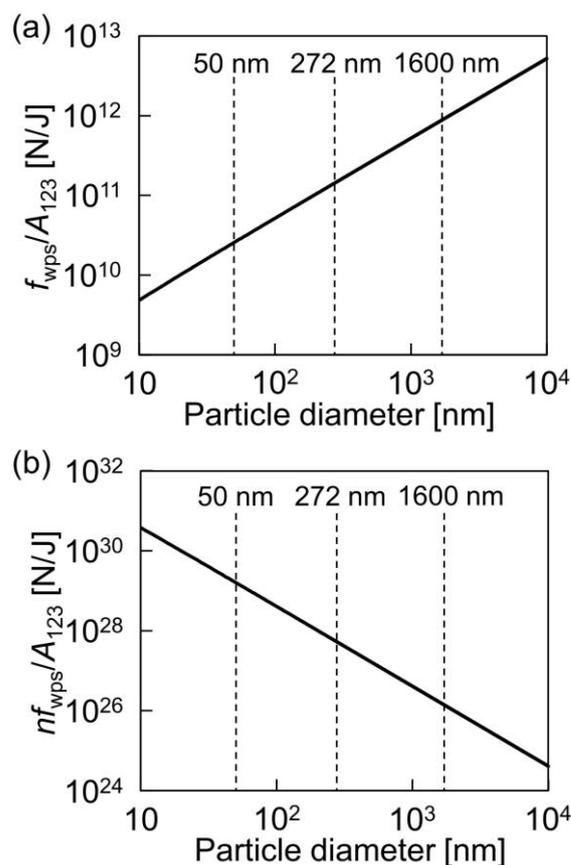


図 5 (a)粒子 1 つおよび(b)粒子層の単位面積当たりにかかるファンデルワールス力

和 6 年度研究活動費助成事業の助成を受けて実施した。ここに感謝申し上げます。

参考文献

- [1] R. D. Deegan et al., Nature, 1997, 389, 827
- [2] Y. Fukatani et al., Phys. Rev. W, 2016, 93, 043103
- [3] V. H. Chhasatia & Y. Sun, Soft Matter, 2011, 7, 10135

研究成果

- [1] 石岡薫次郎, 磯部和真, 堀部明彦, 山田寛, 懸濁エタノール液滴の蒸発における相対湿度の影響, 日本機械学会熱工学コンファレンス 2024

洋上風力発電出力の季節変化予測：高度数理モデルと次世代流体解析による革新

学術研究院 環境生命自然科学学域

鈴木 博貴

(概要) 本研究は、洋上風力発電の供給電力の安定化を目的とし、洋上風車が設置される大気乱流境界層における流れ場を対象とし、数値解析の信頼性向上と長時間にわたる乱流変動成分の高精度な計測を両立させるための技術基盤の整備を進めた。非粘性流れ場における動的サブグリッドスケールモデル定数推定の精度向上を図り、テンソルレベルおよびベクトルレベルの同一性に基づく検証を通じて、乱流エネルギー保存則の精度向上に寄与した。さらに、弱く長時間持続する風洞流れにおける加速効果を加速率が十分に小さい条件下での理論の妥当性を確認した。加えて、低速域における流速計測精度を高めるため、二重型差圧計と定温型熱線流速計を組み合わせた長時間高精度計測手法を確立し、その有効性を実証した。さらに、低レイノルズ数異方性乱流を対象にしたサブグリッドモデルの比較試験、ランダム位相強制法による局所乱流の等方化技術の開発、小型風車における運転可能チップ速度比範囲拡張のための数理解析にも取り組み、多面的な成果を得た。これらの成果により、洋上ウインドファームにおける出力安定化技術の高度化に向けた重要な基盤が整備された。

1. 緒論

洋上風力発電の技術革新は、持続可能なエネルギー源の確保と環境負荷低減の観点から、国内外で強く求められている。洋上では風況が強く安定しており、居住エリアから離れているため騒音や景観への影響が小さい特長を有する。複数の大型風車で構成される洋上ウインドファームにおいては、風車間相互作用により流れが乱れる特性があり、その影響を考慮した発電特性の理解が重要である。発電所には、供給電力の安定性が社会的に強く求められている。風力発電の出力は、主に風の安定性に依存するが、洋上ウインドファームでは広域的に複数台の風車が集合するため、全体としての出力安定化が期待される。一方で、風力発電の出力は空気密度に依存するため、季節ごとの空気密度の変動により発電量が変化する可能性があり、この点について申請者は既に高度な数理モデルにより研究を進めてきたが、現状ではほとんど研究例がない。申請者はこれまでに、空気密度変化が風車出力に及ぼす影響を、高度な数理モデルにより予測する手法を開発してきた(図1)。この手法の特徴は、風車の諸元や形式に依存せず、高い普遍性を有する点にある。本研究では、この手法を活用し、洋上風力発電出力の季節変動予測を初めて実現することを目指してきている。本研究は、

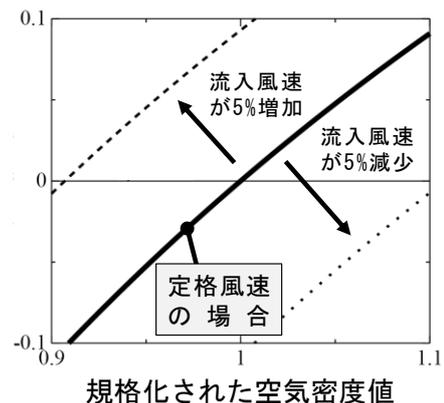


図1 研究対象について (空気密度変化の影響)。

洋上風力発電出力の季節変動予測という、供給電力安定化に直結する重要課題でありながら、これまでほとんど研究が進んでいない領域に取り組むものである。また、風車の種類や設計条件に依存せずに適用可能な予測手法を確立する点において、極めて高い新規性を有している。

2. 研究成果の概要

本研究は、緒論に記載された洋上風力発電出力の季節変動を高精度に予測するという目標のもとで、その達成に向けた基盤技術の確立を目指して取り組んできたものである。具体的には、洋上風車が設置される大気乱流境界層における流れ場の数値解析に

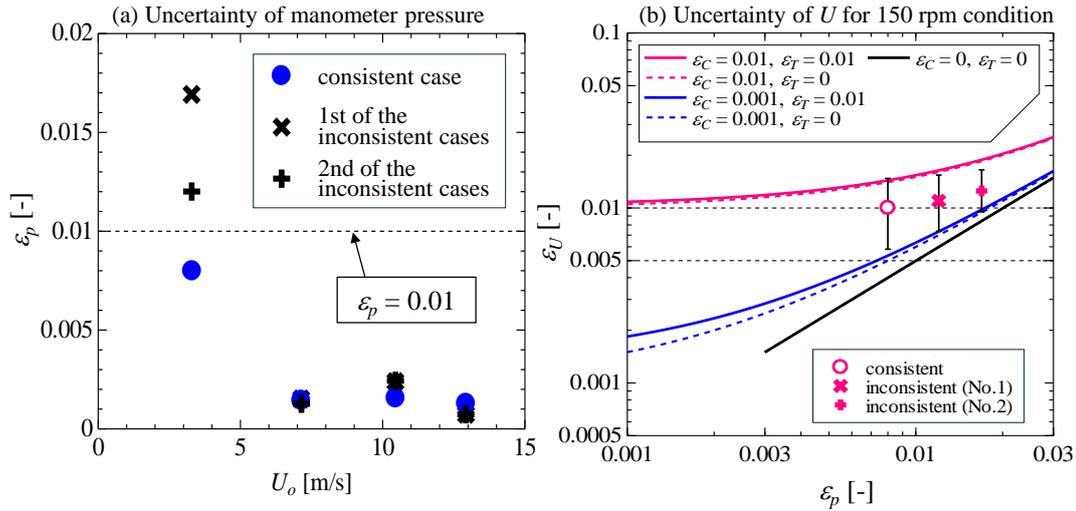


図2 (業績リスト3)のFigure 3. ここで、)ピトー管差圧および測定された流速に関する相対不確かさの比較:(a)および(b)に示す、指示値が一致する場合と一致しない場合の二重差圧計による比較。ここで、 ε_p および ε_U はそれぞれ差圧および算出流速の相対不確かさ、 U_o は主流速度。図について、Copyright © 2025 by Hiroki Suzuki, Keita Nakamura, and Toshinori Kouchi and Flow and Energy Association.

において、従来よりも高い信頼性を確保するための新たな解析手法の開発に取り組むとともに、実際の気境界層において長時間にわたる乱流の変動成分を高精度に計測可能とするための、新たな計測システムの構築とその検証を進めてきた。これらの取り組みにより、乱流場の詳細な挙動を長時間にわたり安定して捉えることが可能となり、さらに数値解析と実験計測との整合性を高いレベルで確保する基礎が築かれつつある。以上のように、本研究では、数値解析の精度向上と長時間高精度計測技術の開発という二つの側面から研究を推進し、目標達成に向けた重要な成果を得るに至っている。

風力発電場解析等に用いられる非粘性流れ場における動的サブグリッドスケール(SGS)モデル定数推定の精度向上を目的とし、テンソルレベルとベクトルレベルの二種の同一性(アイデンティティ)に着目した。無粘性場では粘性散逸がないため、乱流エネルギー保存則の精度が重要となる。本研究では、Smagorinskyモデルとコヒーレント構造モデルを対象とし、粗い格子と4次または2次精度の空間離散法を用いた数値解析を行った。エネルギー保存誤差を補償する定数値を正しい値と定義し、動的モデルによる推定結果と比較した。その結果、動的モデル

の推定精度はエネルギー保存誤差に大きく依存せず、テンソルレベル同一性に基づく推定は誤差が大きい一方、ベクトルレベル同一性を用いることで正しい定数値への乖離が大幅に低減されることが明らかとなった。本成果は、風力発電場解析における乱流モデル精度向上や、LES(Large-Eddy Simulation)におけるサブグリッドモデル改良に資するものである。

弱く長時間持続する風洞内流れの加速が自由流乱流に与える影響を、 $k-\varepsilon$ モデルに基づく理論の検証を通じて明らかにした。特に、加速下においても定常かつ等方的に保たれる乱流では、乱流運動エネルギーに影響が生じないとする既存モデルの仮説を検証した。解析には、大規模渦シミュレーション(LES)と高精度な保存型差分法を用い、周期境界条件下の直方体計算領域で定常乱流場を再現し、弱い加速を与えた場合の応答を調査した。その結果、加速率が十分に小さい場合には、運動エネルギー、エンストロフィ、静圧変動、速度変動の高次統計量に有意な変化は認められなかった。一方、加速率が高い場合には、運動エネルギーやエンストロフィ、静圧変動が増加し、乱流構造にも変化が生じた。これらの結果は、加速が十分に小さい場合に $k-\varepsilon$ モデルの予測が妥当であることを支持するとともに、風洞実験に

おける微弱な加速効果の無視可能性を示すものである。本成果は、風洞試験や乱流モデリングにおける誤差評価の高度化に貢献する。

二重型差圧計を用いて低速域の基準流速計測の不確かさを低減し、定温型熱線流速計 (CTA) のキャリブレーション曲線に対して、King 則に基づく補正項の必要性を検証した (図 2)。特に、長時間計測に対応する熱線再校正技術の検討を行った。従来は出力電圧そのものを用いた再校正が主流であったが、本研究では King 則に即した出力電圧の二乗値に基づく方法を採用し、両者の精度比較を実施した。その結果、いずれの手法でも精度に有意差はみられなかった。風洞実験では、二重型差圧計を併用することで低速域における差圧計測のばらつきを抑制できることが示され、これにより流速計測の不確かさも 1% 未満に抑えられた。さらに、長時間 (約 6 時間) にわたる流速測定において、Pitot 管および熱線流速計による計測値の安定性が確認された。キャリブレーション曲線については、King 則に流速の線形項を加えた修正版が、測定値およびその 1 次導関数を高精度に近似できることが判明した。さらに、この修正版に基づく二乗電圧による再校正手法も従来手法と同等の精度を有することが数値検証された。本成果は、定温型熱線流速計による長時間連続計測の信頼性向上に資するものであり、乱流計測の高精度化に対して大きな貢献が期待される。

本研究では、低レイノルズ数の周期的非定常異方性乱流に対するサブグリッドスケール (SGS) モデルの予測精度を検証した。特に、Smagorinsky モデルの性能を、Vreman モデルおよびコヒーレント構造モデルと比較した。解析には、大規模渦シミュレーション (LES) と四次精度保存型中心差分スキームを用い、周期立方体領域内で非定常異方性乱流を再現した。Smagorinsky モデルは高レイノルズ数条件下で定数を校正した後、低レイノルズ数条件に適用し、外力の振幅・周期を変化させた乱流場で比較検討を行った。その結果、瞬時プロファイルおよび周期平均プロファイルのいずれにおいても、Smagorinsky モデルは他の二モデルと良好に一致し、低レイノルズ数非定常乱流場においても定数値を補正せずに高

い予測精度を維持できることが確認された。本成果は、Smagorinsky モデルの低レイノルズ数適用性を示すとともに、今後、大気乱流の壁面乱流場への応用展開に寄与することが期待される。

本研究は、局所乱流を安定化させる外力付加手法において、位相ランダム化が流れ場に与える影響を明らかにした。三角関数に一樣乱数で位相を加えたベクトルポテンシャル型外力を構成し、これを大型渦シミュレーション (LES) に適用して解析を行った。標準 Smagorinsky モデルをサブグリッドモデルとし、4 次精度差分法と 6 段 4 次 Runge-Kutta 法を使用した。解析対象は、等方性および異方性を持つ局所乱流場であり、異なるレイノルズ数条件 ($Re=300, 1000, 3000, \text{無限大}$) 下で検討した。結果として、位相ランダム化の有無にかかわらず安定した定常乱流場の生成が確認された。特に、位相ランダム化を導入することで異方性が緩和され、流れ場がより等方的になる効果が認められた。また、異方性乱流においても、ランダム位相付加により乱流エネルギーや速度変動強度の均一化が促進されることが示された。本成果は、局所乱流モデルの高精度化や、大気乱流などの実流れ場の乱流再現精度向上に資するものである。

本研究は、固定ピッチ小型風車における運転可能なチップ速度比範囲の拡張を目的とし、特に低チップ速度比側への拡張を焦点に検討を行った。発電機の負荷トルク特性に着目し、無次元化された支配方程式を用いた数値解析を実施した。対象とした小型風車は、従来研究の二例を参照し、エアロダイナミックトルク係数の分布を九次式で近似した。負荷トルクは、定数負荷トルク条件と線形負荷トルク条件の二通りを設定し、四次 Runge-Kutta 法でチップ速度比の時間変化を解析した。結果として、定数負荷ではチップ速度比がある臨界値を下回るとゼロに収束する一方、線形負荷ではこの臨界値が低下し、運転可能な範囲が拡大することを示した。さらに、臨界チップ速度比を予測する新たな式を提案し、数値結果との整合性を確認した。本成果は、小型風車の高効率運転や耐風性能向上に資するとともに、再生可能エネルギー利用の拡大に貢献するものである。

3. 結論と今後の展望

本研究は、洋上風力発電の供給電力安定化に向け、空気密度変動による出力変動を高精度に予測することを目的とし、具体的には、洋上風車が設置される大気乱流境界層の流れ場について、数値解析の信頼性を高める新たな解析手法の開発と、長時間にわたり乱流の変動成分を高精度に計測可能な新計測システムの構築を進めた。数値解析では、非粘性流れ場における動的 SGS モデルの推定精度向上に成功し、実験では低速域における流速計測の不確かさを大幅に低減する技術を確立した。さらに、長時間連続計測に耐える安定性を実証し、数値と計測の高い整合性を達成した。本研究により、洋上風力発電の季節変動予測に向けた重要な基盤が整備された。

本研究により、洋上風力発電出力の季節変動予測に向けた基盤技術が整備された。今後は、これまでに確立した高精度数値解析手法と長時間高精度計測技術をさらに発展させ、実際の洋上環境における風況データを対象とした適用検証を行う予定である。特に、風車間相互作用や大規模ウインドファーム全体の出力変動特性を考慮した、より実用的な予測モデルの構築を目指す。また、空気密度以外の外乱要素を含めた多様な条件下での適応性検証も推進する。将来的には、得られた知見をもとに、洋上風力発電の運用最適化や電力系統連携の高度化に資する提言を行うことを目指す。

4. 謝辞

本研究は、令和6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いたしました。ここに深く感謝の意を表します。

5. 助成による業績一覧

(査読付原著論文)

1) Hiroki Suzuki* and Yutaka Hasegawa, (2024), Dynamic subgrid-scale model constant-value estimation refined by vector-level identity in an atmospheric flow field (題目和訳: 大気流れ場におけるベクトルレベルの恒等式によって洗練された動的サブグリッドスケールモデル

定数値の推定), Journal of Fluid Science and Technology, Vol. 19, No. 4, paper No. 24-00248.

2) Akira Ono, Hiroki Suzuki*, Toshinori Kouchi, and Kento Tanaka (2025), Numerical analysis validating the standard k-epsilon model for the kinetic energy of turbulence subjected to weak but long-lasting wind tunnel blockage acceleration (題目和訳: 弱いが長時間持続する風洞内閉塞加速を受けた乱流の運動エネルギーに対する標準 k-ε モデルの妥当性を検証する数値解析), Journal of Fluid Science and Technology, Vol. 20, No. 1, paper No. 24-00498.

3) Hiroki Suzuki*, Keita Nakamura, and Toshinori Kouchi (2025), Functional form examination of recalibration technique for long time CTA measurements of experiments with a duplex differential manometer (題目和訳: 二重差圧マンメータを用いた実験における長時間 CTA 測定の再校正手法に関する関数形式の検討), Journal of Flow and Energy, Vol, 3, pp. 1-17.

4) Naoyuki Iwata, Hiroki Suzuki*, and Shinsuke Mochizuki, (2025), Comparative tests on sub-grid scale models using periodic unsteady anisotropic low Reynolds number turbulent flows (題目和訳: 周期的・非定常かつ異方的な低レイノルズ数乱流を用いたサブグリッドスケールモデルの比較試験), Journal of Advanced Simulation in Science and Engineering, submitted.

(全文査読付国際会議論文)

5) Koki Minami, Hiroki Suzuki*, Toshinori Kouchi, and Kento Tanaka, (2025), LES analysis to investigate a random-phase forcing scheme for steadying anisotropic turbulence fields (題目和訳: 異方性乱流場の定常化を目的としたランダム位相強制法の検討に関する LES 解析), Journal of Physics:

Conference Series (Proceedings of the 13th International Conference on Mathematical Modeling in Physical Sciences), accepted.

- 6) Hiroki Suzuki*, Oluwasola O.D. Afolabi, and Yutaka Hasegawa, (2025), Rotational speed characteristics of load torque to extend the operable tip speed ratio range for fixed pitch wind turbines (題目和訳：固定ピッチ型風車における運転可能な風車周速比範囲の拡大を目的とした負荷トルクの回転速度特性), Journal of Physics: Conference Series (Proceedings of the 13th International Conference on Mathematical Modeling in Physical Sciences), accepted.

(国内学会発表)

- 7) 鈴木博貴*, 長谷川豊, 河内俊憲, アイデンティティに着目した大気乱流場のダイナミック SGS モデル定数値見積りの検証 (英文題目: Identity focused examination of dynamic SGS model constant value estimation for atmospheric turbulence fields), 第102期日本機械学会流体工学部門講演会(2024年11月. 新潟県長岡市), 講演番号 OS03-13.

※ (*)*: Corresponding author

CLT 材壁を用いた鉄筋コンクリート造建築物に対する持続可能な耐震補強工法に関する研究

岡山大学学術研究院環境生命自然科学学域

アルワシャリ ハモード

(概要) 本研究では、鉄筋コンクリート (RC) 造建築物に壁を CLT (直交集成板) に置き換えることで、耐震性と修復性を高める新しい補強工法を検討した。1/3 スケールの RC 架構+CLT 壁のハイブリッド構造を用いた載荷実験を実施し、接合部の種類 (コッターの有無) が構造性能に与える影響を明らかにした。実験の結果、コッターが面外変形の抑制に効果的であり、また初期剛性と耐力の発現特性に違いが生じることが確認されたが、全体の耐力および剛性には大きな影響を与えなかった。さらに、CLT 壁の破壊メカニズム (圧縮ストラット形成) 挙動を定量的に評価し、その結果を用いた数値解析モデルにより、実験結果を精度良く再現できることを示した。圧縮ストラットメカニズムの角度や等価幅の計測結果を反映したモデルが、両試験体の最大耐力や剛性挙動を良好に予測した点は、本研究の重要な成果である。今後の課題としては、実大試験体を用いたさらなる実証試験と、他の破壊メカニズムを取り入れた解析モデルの精度向上が挙げられる。本研究の成果は、鉄筋コンクリートおよび木質 CLT を用いた持続可能な建築技術の促進に貢献することが期待される。

1. 初めに

令和3年に、公共建築物等における木材の利用の促進に関する法律^[1]が改正され、建築物一般についても非住宅分野や中大規模建築物への木材利用の拡大が推進されている。このような中、木質材料としては直交集成材 (Cross Laminated Timber: 以下 CLT) が注目されている。CLT はせん断強度やせん断剛性が優れた面材であり、RC 造に対して CLT を耐震壁として用いたハイブリッド構造に関する研究が報告されている^{[2][3]}。Alwashali ら^[4]によると、CLT 壁が内蔵された RC 架構には、RC 柱の曲げおよび CLT 接合部の破壊、パンチングシア破壊、CLT 壁の曲げ破壊、せん断破壊、ストラット破壊の5種類の破壊モードが想定されている。しかし、これらの研究では RC 架構と CLT 壁を組み合わせたハイブリッド構造における応力伝達機能や、それに基づく耐震性能の評価が十分に行われていないほか、CLT 壁の圧縮ストラット形成メカニズムに関する定量的な評価も明確にはされていない。さらに、CLT 壁が RC 架構内に存在することによる影響も十分には解明されておらず、構造性能を正確に表現できる解析モデルの検討が必要である。そこで、本研究では CLT 壁を有する RC 架構のハイブリッド構造の構造性能を把握し、適切な構造性能評価が可能な解析モデルを提案することを目

的として、静的繰り返し載荷実験を実施した。また、実験結果をもとにモデル化の方法を提案し、その妥当性を検証した。

2. 実験計画

2.1. 試験体について

本研究では、実大の1/3スケールのCLT壁を有するハイブリッドRC構造の1階部分を対象とし、2つの試験体を用いて検討を行った。主な検討パラメータはコッター (シアーキー) の有無であり、試験体 S-SE はコッターを設置せず (図1(a))、試験体 S-E は設置した構成 (図1(b)) である。コッターは、CLT 壁と RC 架構間のせん断力の伝達を目的とし、上下 RC 梁に幅 200mm、高さ 100mm、厚さ 200mm の大きさのものを2つずつ設置した。RC 架構は柱端部においてヒンジを形成する曲げ破壊となるように設計した。CLT 壁は1枚のパネルで構成され、樹種はスギ、強度等級は Mx60-3-3、幅はぎ接着はされていないものを使用した。また、RC 架構に挿入しやすくするため、CLT 壁は RC 架構と 4mm の隙間ができる大きさに設計しており隙間にはエポキシ (E207DW) を充填した。CLT は構造用木材の強度試験マニュアル^[5]に基づいて材料試験を行い、CLT せん断試験は逆対称4点載荷試験を行った。

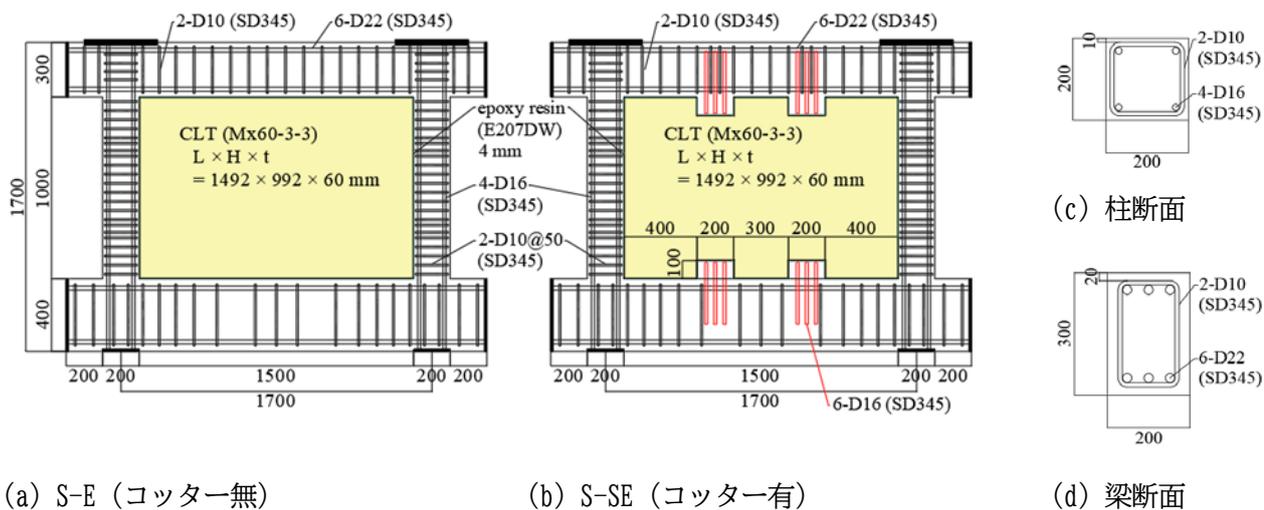


図1 試験体概要

2.2. 載荷方法

図2に載荷時装置図を示す。鉛直荷重、水平荷重は各1基の油圧ジャッキを用いた。これらを鉄骨載荷梁に取り付け、試験体は柱位置でピン接合した。鉛直加力は柱に軸力比0.2程度となるようにRC架構に400 kNを維持した。水平加力はRC架構の梁中央部における高さ(=1150 mm)に対する水平変位の比として定義した層間変形角 R によって制御し、図2内の載荷履歴を用いた。

2.3. ひずみ計測

前節で述べたように、圧縮ストラットのメカニズムを考慮することで、耐力を明らかにすることが目的の一つである。そこで、圧縮ストラットの性能を評価するため、図3に示したようにCLT背面に計35か所の3軸ひずみゲージを貼付した。また、貼付したひずみゲージ位置を中心として、計測ブロックを定義した。

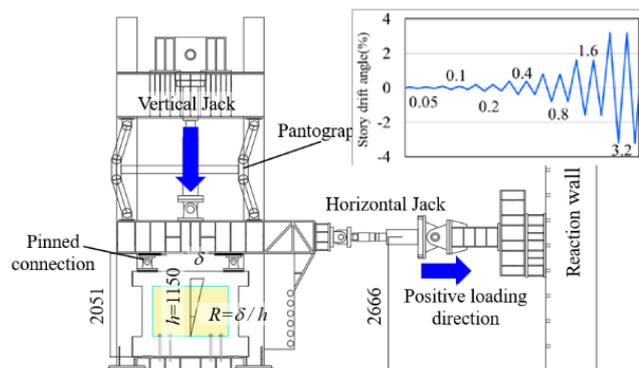


図2 載荷装置図と載荷履歴

2.4. 実験結果

試験体 S-E, S-SE の層せん断力-層間変形角関係をそれぞれ図4, 図5に、載荷終了時のひび割れ図を図6に示す。

試験体 S-E は $R = 0.1\%$ のサイクルで両側の柱脚に曲げひび割れが発生した。その後 $R = 0.8\%$ のサイクルで両側の柱脚の主筋が降伏し、CLT 壁に鉛直方向のひび割れが発生し、RC-CLT 間の角部において隙間が確認された。 $R = 3.2\%$ のサイクルで最大耐力 351 kN を示した。なお、 $R = -2.4\%$ 時に CLT が面外方向に顕著に変形したため、 $R = 3.2\%$ のサイクルは1回の実施で載荷を終了した。

試験体 S-SE は $R = 0.1\%$ のサイクルで両柱の柱脚に曲げひび割れが発生し、 $R = 0.2\%$ のサイクルで CLT が破裂音を発し左上コッター付近で鉛直方向にひび割れが生じた。 $R = 0.4\%$ のサイクルでは梁にせん断ひび割れが発生した。 $R = 0.8\%$ のサイクルで両側の

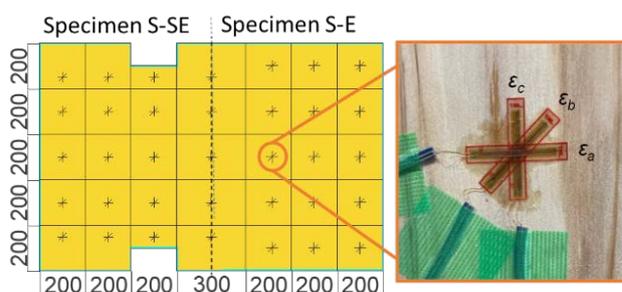


図3 ひずみゲージの貼付位置と計測 (CLT 壁背面図)

柱脚の主筋が降伏した。また、CLT と RC の接着部分が剥離し、角部において隙間がみられるようになった。 $R = 1.6\%$ のサイクルで最大耐力 336 kN を示した。また、CLT パネルは左側の上下コッターと右側の上下コッターをそれぞれつなぐように鉛直ひび割れが生じた。 $R = 3.2\%$ のサイクルでは $R = 1.6\%$ の9割程度の耐力を維持し、载荷を終了した。

試験体 S-E と試験体 S-SE を比較すると、 $R = 0.8\%$ 程度まで層せん断力、水平剛性は同程度の値を示す結果となった。また、最大耐力は同程度の値を示したが、最大耐力時の層間変形角は試験体 S-E よりも試験体 S-SE の方が小さい値となり、コッターの設置が早期の耐力発現に寄与していることが考えられる。また、S-E は面外方向への変形が発生したが、S-SE では面外方向への変形が発生しなかったことから、コッターの設置が面外方向の変形を抑制する効果があることが考えられる。

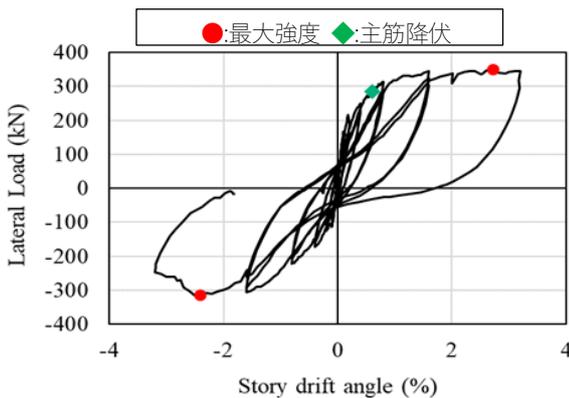


図4 試験体 S-E の層せん断力-層間変形角関係

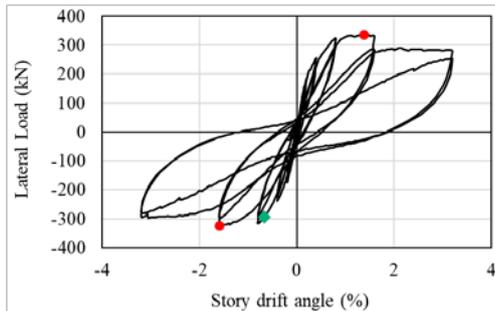
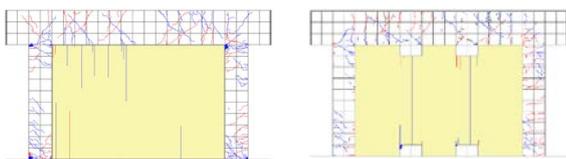


図5 試験体 S-SE の層せん断力-層間変形角関係



(a) S-E

(b) S-SE

図6 载荷終了時のひび割れ図

3. 圧縮ストラットに関する分析

3.1. 圧縮ストラット形成角度

解析に用いる CLT 壁の耐力を算出するため、圧縮ストラットの形成角度と等価幅を算出した。圧縮ストラットの形成角度、等価幅について Jin ら^[6]が提案した手法を用いて算出した。なお、本研究では最大耐力とほぼ同等の耐力を示した $R = +1.6\%$ のサイクルピーク時の値で評価を行った。まず、図3で述べた 35 個の 3 軸ひずみゲージ計測ブロックにおいて圧縮主ひずみと主ひずみ角度をロゼット解析^[7]に基づいて算出した。ここで、式(1)のように主ひずみ角度 θ_j を圧縮主ひずみ ε_j で加重平均した値として圧縮ストラット形成角度 θ を定義した。 $R = +1.6\%$ 時の試験体 S-E、S-SE の圧縮ストラット形成角度は 35.5° 、 44.0° と算出された。

$$\theta = \left(\sum_{j=1}^l \varepsilon_j \times \theta_j \right) / \sum_{j=1}^l \varepsilon_j \quad (1)$$

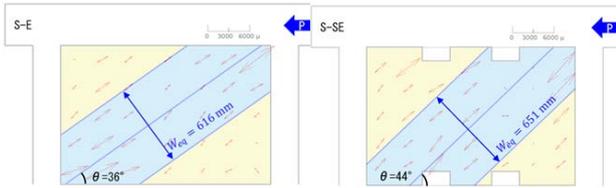
ここで、 ε_j : 計算対象圧縮主ひずみ(μ)、 θ_j : 選定対象圧縮主ひずみが水平方向となす角度(deg)、 l : 計算対象計測ブロック総数

3.2. 圧縮ストラット等価幅

CLT 壁の圧縮ストラットの等価幅 W_{eq} は、式(2)より算定した。これは、3 軸ひずみゲージを設けた壁面を圧縮ストラットの形成角度 θ の直交方向に等間隔区間で9分割し、各区間*i*における区間内平均圧縮主ひずみ ε_i と各計算対象圧縮主ひずみ ε_j の計測ブロック幅に基づいて算出した圧縮ストラットの有効幅 $W_{e,i}$ から求めたものである。 $R = +1.6\%$ 時の試験体 S-E、S-SE の圧縮ストラット等価幅は 615.6 mm、650.8 mm と算出された。圧縮ストラットの算定結果を図7に示す。ここで、圧縮ストラットの形成位置等の導出の詳細は先行研究^[8]を参照されたい。

$$W_{eq} = \left(\sum_{i=1}^n (\varepsilon_i \times W_{e,i}) \right) / \sum_{i=1}^n \varepsilon_i (n = 9) \quad (2)$$

ここで、 ε_i : 区間*i*における区間内平均圧縮主ひずみ(μ)、 $W_{e,i}$: 区間*i*における圧縮ストラットの有効幅(mm)、 n : 分割した区間の数



(a) S-E (b) S-SE

図7 算定した圧縮ストラットの模式図

4. 解析モデルの提案と評価

4.1. 部材のモデル化

図8に解析モデルの概要を示す。本論文では実際の構造設計に広く使われる解析モデルとして、RC 架構は単軸ばねモデルを採用した。柱、梁の危険断面位置は部材のフェイス位置とし、柱梁接合部は剛域とした。また、柱、梁は図9に示す回転ばねと図10に示すせん断ばねを端部に有する線材として置換し、柱及び梁の軸ばねは弾性とした。回転ばねについてはRC 規準[9]に基づいて曲げひび割れ強度、曲げ終局強度を計算し、せん断ばねについては荒川 mean 式[10]に基づいてせん断ひび割れ、せん断耐力を計算した。なお、回転ばね、せん断ばねの降伏時剛性低下率 α_y はRC 規準に示された式を用いて算出した。

CLT は軸方向の圧縮ばねとして置換した。圧縮ばねは簡単のため図8のように柱梁接合部を始点とする対角方向に設定した。CLT 壁は図11に示したバイリニアモデルを採用し、初期剛性と第一折れ点時の耐力を設定した。

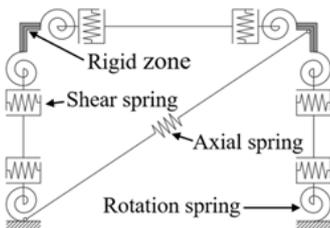


図8 解析モデルの概要

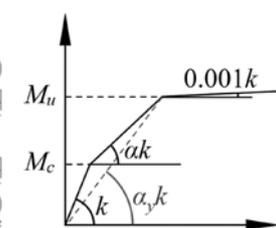


図9. 回転ばねの骨格曲線

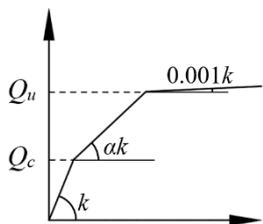


図10. せん断ばねの骨格曲線

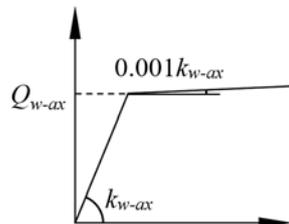


図11. 圧縮ばねの骨格曲線

第一折れ点時の CLT 壁の水平耐力 Q_w は式(3)により求めた。なお、本研究においては $R = +1.6\%$ 時には CLT は最大耐力に近い値を示すという仮定のもと、CLT のストラット幅と角度は式(1)、式(2)による算定結果(図7)を用いた。また、CLT のストラット方向の圧縮強度 σ_m は算定したストラット形成角度から試験体 S-E は強軸から 60° 、S-SE 強軸から 45° の材料試験の材料試験の最大圧縮強度を用いた。

$$Q_w = \sigma_m t W_{eq} \cos\theta \quad (3)$$

ここで、 σ_m :ストラット方向の CLT 圧縮強度(N/mm²)、 t :CLT 厚(mm)、 W_{eq} : $R = +1.6\%$ 時の圧縮ストラット等価幅(mm)、 θ : $R = +1.6\%$ 時の圧縮ストラット形成角度(deg)

また、CLT 壁の水平初期剛性 k_w はせん断変形、回転変形を考慮した。CLT 壁のせん断剛性 k_s は式(4)から求めた。

$$k_w = G A / H \quad (4)$$

ここで、 G :CLT の強軸方向のせん断強度(N/mm²)、 A :CLT の断面積(mm²)、 H :CLT の高さ(mm)

CLT 壁の回転剛性 k_r は福本ら^[11]の方法に基づいて求めた。水平力 Q により CLT に微小な回転 θ_r が生じたとき、CLT の隅角部に支圧力 C が三角形分布で生じていると仮定したものである。このとき、支圧力 C と水平力 Q は偶力モーメントのつり合いが生じるため式(5)、式(6)が成り立ち、回転剛性 k_r を求めることができる。

$$QH = C \left(L - \frac{2}{3}x \right) \quad (5)$$

$$k_r = \frac{Q}{\theta_r} = \frac{k_c t x^2 \left(L - \frac{2}{3}x \right)}{2H^2} \quad (6)$$

ここで、 k_c :支圧剛性(N/mm³)、 t :CLT 厚(mm)、 x :CLT と RC 梁の支圧による接触長さ(mm)、 L :CLT 幅(mm)、 H :CLT 高さ(mm)

CLT の水平初期剛性 k_w についてはせん断剛性 k_s と回転剛性 k_r で式(7)が成り立つことから算出した。表1に式(3)、式(4)、式(6)、式(7)による各剛性、耐力の算定結果を示す。

$$\frac{1}{k_w} = \frac{1}{k_s} + \frac{1}{k_r} \quad (7)$$

表1 各 CLT の耐力, 剛性の算定結果

試験体	Q_w (kN)	k_s (kN/mm)	k_r (kN/mm)	k_w (kN/mm)
S-E	203.4	57.6	239.9	46.4
S-SE	156.7	45.1	248.3	38.2

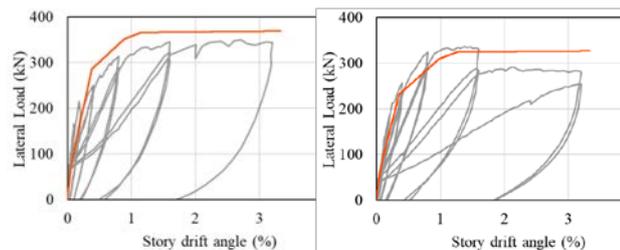
また、解析モデルの軸方向圧縮ばねの耐力と初期剛性について、水平方向の耐力と剛性が表1に示した算定結果と等価になるように算出した。まず、実験結果に基づいて計算された圧縮ストラットの形成角度(式(1))と等価幅(式(2))を用いたCLT壁の水平耐力 Q_w (式(3))から、解析モデルの軸方向の圧縮ばねの角度 θ_{sp} ($= 34.1^\circ$)を用いて軸方向の圧縮ばねの耐力 Q_{w-ax} を算出した(式(8))。また、CLT壁の水平初期剛性 k_w から θ_{sp} を用いて軸方向の圧縮ばねの初期剛性 k_{w-ax} を算出した(式(9))。

$$Q_{w-ax} = Q_w / \cos\theta_{sp} \quad (8)$$

$$k_{w-ax} = k_w / \cos^2\theta_{sp} \quad (9)$$

4.2. 解析結果

図12に試験体S-E, S-SEの解析結果と実験結果の比較を示す。試験体S-E, S-SEはともに最大耐力は誤差5%程度で精度良く評価し、剛性についても比較的良好に評価した。なお、CLTの耐力について、解析におけるストラットの圧縮応力度 σ_m を材料試験の応力-ひずみ分布に従いより詳細に検討することによって、更なる解析精度の向上が可能であると考えられる。



— 解析結果 — 実験結果

(a) S-E

(b) S-SE

図12 解析結果と実験の比較

5. まとめ

本研究では、鉄筋コンクリート(RC)造建築物に壁をCLT(直交集成板)に置き換えることで、耐震性と修復性を高める新しい補強工法を提案し、その構造性能を1/3スケールの載荷実験および数値解析により検証した。接合部の仕様として、エポキシ接着のみの試験体(S-E)と、コッターを併用した試験体(S-SE)の2体を作成し、比較評価を行った。

・実験の結果、最大層せん断力はS-Eで351kN、S-SEで336kNと両者の差は5%未満であった。層間変形角0.8%までは両試験体の水平剛性は同等であり、以降わずかな差異が見られた。S-SEは1.6%で最大耐力に達したのに対し、S-Eは2.7%まで耐力が増加し続けた。S-Eでは3.2%以降に面外変形が発生したが、S-SEではCLTパネルがコッターにより拘束され、面外安定性が向上した。一方、S-SEではコッター直下に沿ってCLT壁に鉛直ひび割れが発生し、1.6%以降は壁が分裂する現象が確認された。

・ひずみゲージデータと主圧縮ひずみの解析から、CLT壁は対角方向に圧縮ストラットを形成しながらせん断力を負担していることが明らかとなった。ストラット幅はS-SEで対角長の0.34倍、S-Eで0.36倍と算出され、コッターの影響は限定的であった。また、CLT壁の平均せん断応力度はS-SEで2.4N/mm²、S-Eで2.2N/mm²と、材料試験で得られた値(4.2~4.8N/mm²)より低く、応力集中や双方向載荷の影響が示唆された。

・提案したマクロモデルは、両試験体の最大耐力と剛性低下を精度良く再現し、実験結果との良好な一致を示した。ただし、最大荷重後の低下挙動や終局変形性能はまだ改善することが必要である。

・これらの成果により、RCとCLTを組み合わせた耐震補強において、接合方法の違いやCLT壁の圧縮ストラット機構が構造性能に与える影響を明確に把握することができた。これは、今後の持続可能な建築設計と補強技術の発展に向けた実践的かつ学術的に重要な一歩である。

・今後の課題としては、接合部ディテールの最適化と、最大荷重後の低下挙動を取り入れた解析モデルの高度化が挙げられる。

6. 参考文献

- [1] 林野庁：脱炭素社会の実現に資する等のための建築物等における木材の利用の促進に関する法律，農林水産省，2021.10
- [2] 麻生 直木他：CLT を用いた RC 架構の耐震壁の構造性能その 3，日本建築学会学術講演梗概集(東北)，2018 年 9 月
- [3] 村田 晃康他：CLT 壁を有する RC 架構の構造実験と数値解析，令和 4 年度日本建築学会近畿支部研究発表会，2022 年 6 月
- [4] H. Alwashali and A. G. Aljuhmani：Study on Failure Mechanisms of Hybrid Structure of Reinforced Concrete Frame with CLT Infill, Proceedings of 13th World Conference on Timber Engineering, pp.3309-3317, 2023. 6
- [5] (公財) 日本住宅・木材技術センター：構造用木材の強度試験マニュアル，pp.13-19, 2011
- [6] K. Jin, et al.：Experimental Study on Lateral Strength Evaluation of Unreinforced Masonry-Infilled RC Frame, Vol.32, No.3, Earthquake Spectra, pp1725-1747, 2016.
- [7] J. M. Gere and S. P. Timoshenko: Mechanics of Material Fourth Edition, PWS Publishing Company, 1997, pp.516-531
- [8] 兼光来美他：CLT 耐力壁を内蔵した RC 架構の耐震性能に関する実験的研究，コンクリート工学年次論文集 Vol. 46, No. 2, pp.655-660, 2024 年 6 月
- [9] 日本建築学会：鉄筋コンクリート構造計算規準・同解説 (2018)，2018 年 12 月
- [10] 国土交通省国土技術政策総合研究所，建築研究所，建築物の構造関係技術基準解説書 2020 年版，2020 年 11 月
- [11] 福本晃治他：CLT を鉄骨造の耐震要素として用いたハイブリッド構造の接合部における支圧力の伝達に関する検討，日本建築学会構造系論文集，第 86 巻，第 788 号，pp1440-1451, 2021 年 10 月

海外諸都市における BID 活動の評価に関する研究

岡山大学学術研究院 環境生命自然科学学域

堀裕典

英国 BID に対する書類調査、アンケート調査およびインタビュー調査、米国 BID に対する書類調査、インタビュー調査、現地調査の内容について報告する。英国 BID については、事業計画書を公開している 113BID の書類調査による KPI の分析により用いられやすい KPI や組み合わせられやすい KPI について明らかにした。また、約 330BID に対して活動評価に関するアンケート調査を実施し、32 件の回答を得て活動評価に係る課題について明らかにした。さらにアンケート調査の結果をもとに、英国 BID のうち地方都市で活動を行う特徴的な 3 団体(Sligo、Winchester、Kendal)にインタビュー調査を実施し、活動評価の詳細を明らかにした後、合意形成基準の実態について考察した。米国 BID については、オンラインおよび現地でのオフィス訪問による BID 関係者 9 名(5BID、コンサルタント 2 名、エンジニア 1 名、市職員 1 名)に対するインタビュー調査と現地調査により活動評価の実態について明らかにした。

1. はじめに

近年、日本では全国でエリアマネジメント活動が広がってきており、その活動の重要度が高まっている。しかし、持続的な活動財源の確保という課題を抱えている¹⁾。日本のエリアマネジメント団体の主な財源は会費であり安定的な財源である一方で会員数の拡大が難しく活動が現状維持になりやすい²⁾。そのため新たな財源の確保策を模索する必要がある。海外に目を移せば、アメリカでは 1970 年代から Business Improvement District (以下 BID) のシステムが広まり、一定のエリア内において、市が強制的に負担金を徴収し、分配することで地区組織が活性化のための活動を行えるシステムを作り出している。負担金の徴収には負担者からの評価が重要となり、BID 団体は負担者からの評価を得るために自ずと効果測定を行い、成果報告を公表することとなる。また、活動を評価することは個人に発生している受益を評価することにも繋がり負担金算定に効果測定が活用されている。しかし、その効果測定の方法論は十分議論されていないのが実情である。本調査では英国と米国の BID に焦点を当てその活動評価手法を明らかにすることを目的とする。本調査では英国 BID と米国 BID を対象とする。米国 BID について

は、他の州とは異なり不動産価格を負担金の算定に使用しない独自の算定手法を確立しているカリフォルニア州の Property and Business Improvement District (PBID) に焦点を当てる。英国 BID については全国アンケートを約 330BID に送付し活動評価の内容および活動評価に係る課題について明らかにする。また、アンケート調査の結果から特徴的な事例に対してケーススタディを実施する。ケーススタディではインタビュー調査により活動評価の詳細について明らかにした後、合意形成基準について考察する。米国カリフォルニア州の PBID については、BID 関係者に対するインタビュー調査を通して活動評価・効果測定手法や受益算定時の考え方の詳細について明らかにする。さらに、現地調査により、現地での活動の様子やエリア内の状態を理解し、オフィス訪問によるインタビュー調査によって日々のマネジメントの実態を明らかにする。

2. 既往研究

Robert(2007)³⁾において、BID は公的な価値を維持するために活動評価を行うなどしてパフォーマンスの基準を保ち続けていくべきであるとされている。

Robin(2014)⁴⁾では、BID はコミュニティの熱心な

推進者になることが自然な傾向であるため、活動評価は偏見がなく中立的なものであることが重要とされている。評価においては、標準的な要素と、地域の実情にあわせてカスタマイズされた要素が必要であるとされている。標準的な要素としては、収入や支出、ステークホルダーの参加率、活動の需要と供給に関する指標、外部環境の重要な変化、組織戦略の変化が挙げられている。また、BIDの目的は中心部の印象改善であるため、認識的な要素を含んでおり、定量的なデータだけでなく定性的なデータ収集も行うべきである。定性的なデータ収集の例として事業者に対する調査(Survey)やフォーカスグループインタビュー(FGI)が挙げられている。どちらもBID活動に対する税負担者の態度(Attitude)を測定できる。前者は長期的に同じ質問を投げかけることで負担者の感情の変化を明らかにでき、後者はプログラムの実施前、実施中、実施後のどの段階でも税負担者からの意見を収集できる。

Sophieら(2010)⁵⁾は、適切な活動評価や成果公開は税負担者たちがBIDの成功を判断する基準になるとしており、事業計画上の活動評価やモニタリングは、成果を可視化できるKPIを設定し、結果や達成事項に基づいて行われるべきであるとしている。

Sophieら(2007)⁶⁾では、米国BIDと、英国BIDの前身組織であるTCMの活動評価の違いについて研究されている。活動評価の中でも特にKPI評価については、Concept, Design, Useの3つのステージに分かれるとされている。Conceptの段階において、米国BIDは自発的に活動評価を実施している一方で、英国TCMは税負担者や全国組織であるATCMからの圧力により受動的に実施している。Designの段階では、米国BIDはすべての活動が測定され、ほとんどが活動の実施頻度をベースとした測定となっている。ステークホルダーと高い頻度でコミュニケーションをとっており、ほとんどがOutput-basedで、進歩に重点を置いている。一方で、英国TCMはOutcomeという言葉は使われず、OutputベースのKPIとなっており、KPI設定の際の基準としてUseful, Easy and Cheap to Measureが挙げられている。Useの段階では、米国BIDは、市とBIDは全

く異なった組織とみなされているため活動評価の際に混乱は生じにくい、英国TCMは、市とTCMの活動を切り離すのに少し混乱が生じる。

以上から、活動評価の必要性や傾向は考察されているが、その実態の詳細については明らかにされていない。

3. 英国BID (書類調査)

地方都市におけるKPI使用の傾向が明らかになった。大都市BIDでは、「新たな商業活動の数」、「土地利用の変化」、「写真による変化の証明」のような商業活動や経済活動に関する指標が使用されている(図1)一方で、地方都市BIDでは「イベント数」や「来訪者数」、「消費者調査」といった中心市街地の活性化に係る指標が使用されていることが分かった(図2)。その理由として、地方都市ではまず人にまちを訪れてもらうことからはじめ知名度を向上させること、中心市街地の活性化のための指標を優先事項としていることが考えられる。また、用いられやすいKPIの組み合わせとして「調査」、「フィードバック」、「SNSに関するデータ」や「来訪者」、「フィードバック」、「SNSに関するデータ」の組み合わせが確認できた(表1、表2、表3)。

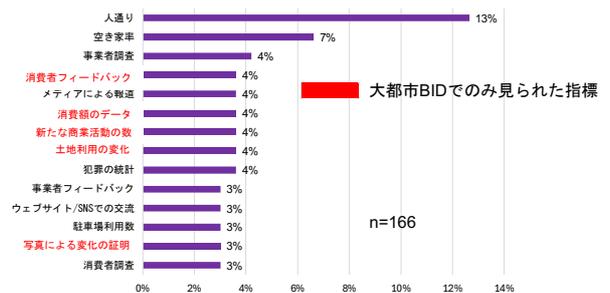


図1 大都市BIDにおけるKPI

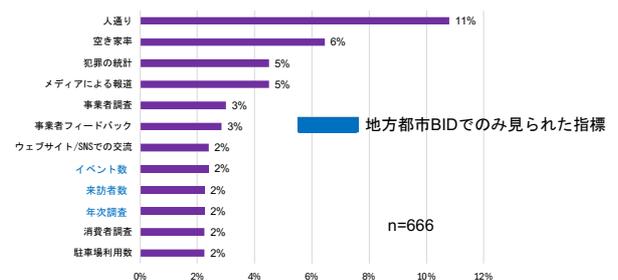


図2 地方都市BIDにおけるKPI

(全国アンケート調査)

活動評価の有無により影響を受けると考えられる因子に関する質問項目について BID に回答を行ってもらい、その結果を分析した。大都市と比較した際に特に差が見られた項目は「財源」と「私パイプ⁽¹⁾」に対する自己評価であった。どちらも地方都市ほど自己評価点が低い割合が多く、うまくいっていないことが推察される。また、活動成果の公開について、

表 1 クロス集計結果①

	来訪者		P値	
	使用している	使用していない		
フィードバック			P=0.0022	**
使用している (n=64)	53 (83%)	11 (17%)		
使用していない (n=25)	12 (48%)	13 (52%)		
SNSに関するデータ			P=0.0229	*
使用している (n=56)	46 (82%)	10 (18%)		
使用していない (n=33)	19 (58%)	14 (42%)		

独立性の検定 ** : 1%有意 * : 5%有意
 クロス集計の残差分析 下線 : 1%有意 背景色 : 5%有意
 青字 期待度数より実測度数が高い 赤字 期待度数より実測度数が低い

表 2 クロス集計結果②

	調査		P値	
	使用している	使用していない		
フィードバック			P=0.0065	**
使用している (n=64)	35 (55%)	29 (45%)		
使用していない (n=25)	5 (20%)	20 (80%)		
SNSに関するデータ			P=0.0187	*
使用している (n=56)	31 (55%)	25 (45%)		
使用していない (n=33)	9 (27%)	24 (73%)		

独立性の検定 ** : 1%有意 * : 5%有意
 クロス集計の残差分析 下線 : 1%有意 背景色 : 5%有意
 青字 期待度数より実測度数が高い 赤字 期待度数より実測度数が低い

表 3 クロス集計結果③

	フィードバック		P値	
	使用している	使用していない		
SNSに関するデータ			P<0.001	**
使用している (n=56)	49 (88%)	7 (12%)		
使用していない (n=33)	15 (45%)	18 (55%)		

独立性の検定 ** : 1%有意 * : 5%有意
 クロス集計の残差分析 下線 : 1%有意 背景色 : 5%有意
 青字 期待度数より実測度数が高い 赤字 期待度数より実測度数が低い

表 4 7段階自己評価

BID名	人口	活動歴	KPI評価	Non-KPI	第三者評価	年次報告書	1.目標設定	2.人材	3.財源	4.需要把握	5.広報	6.信頼	7.透明性	8.情報共有	9.公パイプ	10.私パイプ	11.活動多様	12.全体評価	13.活動評価	
Knights bridge(King's Road)	8,980,000	2	0			0	7	7	7	7	7	6	7	7	7	7	7	7	7	7
King's Road(Knights bridge)	8,980,000	3	0	0		0	6	6	6	6	7	6	6	7	7	7	7	6	7	7
Garrett Business Park	8,980,000	15				0	4	2	3	4	3	4	5	4	4	3	3	3	4	4
InStreatham	8,980,000	11				0	8	3	3	7	7	6	5	7	5	7	5	5	2	2
Colmore BID	1,150,000	15				0	5	5	7	6	4	7	6	5	6	6	6	6	5	5
Make It Ealing	345,000	20				0	5	4	6	6	5	5	7	7	7	7	5	5	5	5
Linen Quarter BID	300,000	6	0	0		0	7	5	6	6	7	7	6	7	6	6	7	7	6	6
Brilliant Brighton	276,000	18				0	7	4	5	7	7	6	7	7	7	7	7	6	7	7
One Maidstone	180,000	5		0	0	0	5	5	5	6	6	6	6	7	7	7	7	7	5	5
Harrogate BID	160,000	12	0	0	0	0	6	6	6	6	6	6	5	6	5	6	6	6	6	6
Blackburn town centre BID	154,000	10	0	0	0	0	7	5	6	6	5	5	6	5	6	6	7	6	5	5
Cambridge BID	145,000	6	0	0	0	0	7	6	7	6	6	6	6	6	6	5	6	6	6	6
Our Colchester	130,000	5	0			0	6	6	6	6	6	7	6	6	6	5	7	6	6	6
Halton BID	128,000	11				0	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Winchester BID	127,000	16			0	0	6	5	6	6	6	6	6	6	6	6	5	6	6	6
Crawley Town Centre	120,000	16				0	6	4	6	5	4	7	7	7	7	6	4	6	6	5
Lincoln BID	104,000	5		0		0	6	4	6	5	7	6	6	6	6	7	6	6	6	5
Positively Putney BID	93,000	7	0		0	0	6	5	5	7	7	7	6	6	6	6	6	6	6	4
Go Forth Stirling	93,000	4				0	6	2	3	3	6	4	5	7	6	7	5	3	3	3
Visit Royal Sutton	93,000	19	0	0		0	5	2	4	4	7	7	5	5	2	2	4	7	2	2
Hemel Hempstead BID	85,000	5				0	7	7	6	5	5	6	5	7	7	5	5	6	6	6
Bognor Regis BID	68,000	7	0			0	7	3	2	2	6	7	4	6	6	7	4	7	6	6
Inverness BID Ltd	48,000	16		0		0	7	7	7	7	7	6	7	5	7	4	6	7	7	7
Letchworth	34,000	5		0	0	0	6	6	6	7	7	5	7	6	7	6	6	6	6	5
Your pontypridd	32,000	10		0		0	4	2	4	6	7	5	4	5	7	4	7	4	4	4
Wood Green BID	30,000	7	0	0	0	0	6	4	4	5	5	5	6	7	5	6	5	5	3	3
Kendal BID	29,000	10	0	0	0	x	7	5	5	6	5	6	5	6	6	4	6	6	5	5
Lancing Business Park	28,000	15				0	7	6	4	7	4	6	6	6	7	7	5	6	6	6
St Austell BID	24,000	10				0	7	4	3	5	6	6	6	6	7	6	7	6	5	5
Sligo BID	20,000	7				0	6	7	7	6	6	6	7	6	7	7	7	6	7	7
Naimn Connects BID	10,000	6				0	5	3	3	6	6	6	6	1	6	7	6	6	3	3
BIDA Oban	8,500	11	0	0		0	6	7	7	7	6	7	7	7	7	7	6	7	6	6
平均点(全体)							6.1	4.8	5.2	5.8	5.9	5.9	5.8	6.1	6.3	5.8	6.0	5.8	5.8	5.2
大都市							6.0	4.6	5.3	6.1	5.9	6.0	6.6	6.2	6.4	6.0	5.8	5.3		
地方都市							6.2	4.9	5.2	5.7	5.9	5.8	5.7	6.0	6.3	5.5	6.0	5.9	5.2	
差							-0.2	-0.3	0.2	0.4	0.0	0.2	0.3	0.6	-0.1	0.9	0.0	-0.1		

大都市BID 地方都市BID ケーススタディ

事業計画書や年次報告書以外では簡易的なニュースレターによる成果報告が行われていることが分かる。ニュースレターについては、地方都市は大都市よりも公開している割合が大きい。

(インタビュー調査)

アンケート調査の結果をもとに地方都市 BID における特徴的な事例を抽出し、インタビュー調査によるケーススタディを実施した。調査結果より、KPI 評価を重要視している Sligo BID と更新投票前の事業者調査を重要視している Winchester BID、Kendal BID の間で活動評価の手法や内容に大きな差が見られた。KPI を重要視している Sligo ではエリアの課題を反映させた指標の設定が入念に行われていた。

一方で KPI をあまり重要視していない Winchester と Kendal では、更新投票前の事業者調査に力を入れており、定量的かつ定性的調査を実施していた。

また、全国組織やその認定制度については 3BID すべてが重要であると認識しており、認定制度を目指して日々活動の水準を向上させているという実態からその重要性が明らかとなった。さらに、活動評価を行う上で財源の問題を挙げた Kendal BID では、年次報告書を作成することができないかわりにニュースレターを送付することで透明性を確保していた。

(活動評価手法と合意形成基準の考察)

アンケート調査より、地方都市 BID における成果公開に関して、事業計画書や年次報告書以外ではニュースレターのような簡易的な手法が取られている。Kendal BID がニュースレターを発行している要因

と合わせて考察すると、手間と時間を掛けず、透明性が確保できるというメリットを活かしていると推察される。

インタビュー調査から、更新投票前の事業者調査回答率に関して、地方都市 BID では、20%~40%という非常に低い参加度で実施されていることが明らかとなった。この実態と、イングランド、ウェールズ、アイルランド BID 法において更新投票時に投票率の下限がないこと、スコットランド、北アイルランド BID 法において投票率の下限が 25%に設定されていることを照合すると概ね同程度の参加度で事業者調査も投票も実施されていることが分かる。また、ケーススタディ対象の実際の投票率は 40~50%程度であり、そのうち賛成率は 75~80%で程度ある。つまり、更新時の投票においては、事業者全体のおよそ 30~40%が賛成に投票していることが分かる。これらより、英国・アイルランドの地方都市 BID における合意形成水準はそれほど高くなく、その閾値は 30%程度であると推測され、意見しない人たちは概ね賛成とみなして運営しても問題ない可能性が示唆された。

全国組織やその認定制度に対する認識については、すべてのケーススタディ対象で重要であるという認識であった。認定を獲得することで組織としての正当性を獲得できるため、英国・アイルランドで活動する BID は認定獲得を目指している。認定を獲得するためにクリアしなければならない項目の中には活動評価(Performance Measurement)も存在していることから、認定獲得を目指す中で日頃の BID 活動の水準だけでなく、活動評価といった運営面の水準についても向上させている。こうした認定制度と認定獲得のための一定の基準を設けることで BID の活動や運営の質の向上に寄与する。

4. 米国 BID (インタビュー調査)

カリフォルニア州で活動する 5BID とサンフランシスコ市職員 1 名、BID コンサルタント 2 名、エンジニア 1 名に対するインタビュー調査を実施した。そのうちロサンゼルス of Hollywood Entertainment

表 5 使用されている指標

カテゴリー	指標名	地方都市BID	大都市BID	
清掃	洗浄	4	1	
	メンテナンス、対応時間	4	1	
	拾ったゴミの数	2	0	
	ビフォーアフターの写真掲載	3	1	
	不法投棄の報告数・対応数	1	0	
	清潔感のモニタリング	1	0	
	清掃の水準	1	0	
	犯罪のレベル	0	2	
	提供されたセキュリティ活動	2	0	
	犯罪に関する統計データ	30	6	
防犯	犯罪行為に関する情報、被害者になるリスク	0	1	
	警察による犯罪報告書	1	1	
	事業犯罪減少パートナーシップ	1	0	
	レンジャー活動	4	0	
	Number of direct security interaction	4	1	
	ストアネットワークの支給数	1	0	
	ショップウォッチャーの支給数	1	0	
	防犯カメラによるモニタリング	3	0	
	アンパサダーによる活動データ	1	0	
	駐車違反の取り締まり	1	0	
調査	DISCのユーザー数	2	0	
	事業者調査	20	7	
	事業者オーナー調査	1	0	
	事業者満足度調査	2	0	
	顧客調査	15	5	
	消費者満足度調査	3	0	
	消費者に対する印象調査	3	0	
	イベント後の満足度・効果調査	3	0	
	年次調査	15	4	
	負担金支払者の満足度調査	3	1	
中心部の健全性	負担金支払者調査	1	1	
	中間レビュー	2	2	
	来訪者に対する印象調査	2	1	
	来訪者の満足度調査	1	0	
	住民に対する印象調査	0	1	
	従業員に対する印象調査	0	1	
	BID更新時に行われる調査	1	0	
	市場調査	1	0	
	事業者コミュニティに対する印象調査	8	0	
	空き家率	43	11	
SNS	賃貸占有率	5	4	
	ホテルの部屋占有率	2	0	
	ホテルのベッドの空き率	1	0	
	占有率	7	1	
	事業環境	2	0	
	来訪者数	15	4	
	イベントの回数	16	1	
	イベント来訪者の滞在時間	1	1	
	イベントの参加者数	7	0	
	写真による変化の証明	10	5	
フィードバック	Quarterly image audit of the Estate	4	1	
	エリア内への新たな投資額	8	0	
	新たな収入源	3	0	
	出資額やスポンサー獲得	5	0	
	小売業の失業率	2	2	
	ロイヤリティカード保有者	4	0	
	商業活動やパフォーマンスの向上	7	4	
	土地利用の変化	0	6	
	事業者や組織の幅の増加	2	0	
	駐車場データ	4	2	
コミュニケーション	駐車場利用数	15	5	
	駐車カードの売上	1	0	
	駐車場の選択数	1	0	
	公共交通に関するデータ	4	3	
	新たな商業活動の数	12	6	
	サービスを請け負った数	1	1	
	消費額の数	9	6	
	事業者等のコスト削減額	8	1	
	標識の設置数	0	3	
	インフラの整備	2	0	
賞	パナーやフラッグの設置数	2	0	
	平均住宅価格	1	0	
	ハンギングバスケットやプランターの数	4	0	
	フェリーの利用客数	1	0	
	地価の上昇	1	0	
	人通り	72	21	
	マーケティングキャンペーンの回数	7	4	
	SNSのリーチ数	14	1	
	SNSのフォロワー数	7	0	
	SNSへの来訪者数	1	1	
その他	ウェブサイトやSNS場での交流	16	5	
	SNSにより集めた注目	5	0	
	SNS活動	3	1	
	SNSのメトリクス(プラットフォーム数)	1	0	
	SNSの存在感	2	0	
	メディアによる報道数	30	6	
	PRやニュースによる報道数	2	0	
	メディアによる評価	0	2	
	Quarterly review	1	0	
	ウェブサイト訪問者数	11	1	
ウェブサイトのヒット数	1	0		
ウェブサイトの利用	5	0		
賞	事業者からのフィードバック	19	5	
	消費者からのフィードバック	13	6	
	小売業者からのフィードバック	0	1	
	イベントに対するフィードバック	2	0	
	来訪者からのフィードバック	3	0	
	負担金支払者からのフィードバック	9	2	
	事業者との交流数	1	0	
	トレーニングコースの提供数	4	0	
	講習を受けた人数	1	0	
	共有・発行された書類の数	6	0	
その他	事業者を代表した自治体とのコミュニケーション	2	0	
	事業者を代表した数	7	0	
	メールによる報告	2	0	
	ニュースレターやメールの開封率	5	1	
	事業者とのコミュニケーション	5	0	
	事業者訪問数	3	0	
	ガイドの発行数・配布数	4	0	
	年次レポートの発行	3	1	
	賞	Brillain Bloom and South West in Bloom awards	2	0
	Purple Flag	2	2	
その他		37	2	
		666	166	

Partnership⁽²⁾、サンフランシスコの Union Square Alliance⁽³⁾、Castro Community Benefit District⁽⁴⁾、City of San Francisco⁽⁵⁾、Japantown Community Benefit District⁽⁶⁾の計 5 事例については、現地にてオフィス訪問による対面のインタビュー調査を実施した。またその他の 4 事例については Zoom にてオンラインでのインタビュー調査を実施した。

活動評価・効果測定の手法は定量的手法と定性的手法に分けられた。定量的手法については、消費税データの追跡や駐車場利用台数の推移、Place AI と呼ばれる消費者行動管理ツールを用いたデータ収集が挙げられた。定性的手法については、コミュニティのニーズを把握するための調査(Survey)の実施、大規模なミーティングの開催や商店へのヒアリングが行われていた。活動評価や効果測定において重要なこととして、人々の交流やコミュニティの構築等の人間的な要素(Human Component)を尋ねることが挙げられていた。

(現地調査)

2024 年 9 月 24 日から 28 日にかけてロサンゼルス、2025 年 3 月 12 日から 17 日にかけてサンフランシスコにて現地調査を実施した。ロサンゼルスでは、Downtown Long Beach PBID、Century City PBID、Downtown Whittier PBID、Hollywood Entertainment District、Melrose PBID、Old Pasadena PBID、Westwood PBID の 7 地域、サンフランシスコでは、Civic Center CBD、Castro CBD、Discover Polk CBD、Downtown San Francisco CBD、Exelsior CBD、Japantown CBD、Lower Polk CBD、Noe Valley CBD、Ocean Avenue、The East Cut CBD、Union Square Alliance、Yerba Buena CBD の 12 地域の調査を行った。ロサンゼルスでは Hollywood Entertainment Partnership、サンフランシスコでは

Castro CBD、Japantown CBD、City of San Francisco、Union Square Alliance に対してオフィス訪問による対面インタビュー調査を実施した。

5. まとめ

今回の調査より、英国の活動評価の詳細と、米国の活動評価の実態が明らかになった。両国の BID でも、定量的な側面と定性的な側面を考慮しているという点は共通していた。定量的な側面について、英国 BID では、人通りや空き家率、犯罪の統計、SNS に関するデータといった中心部の活性化に係る指標が用いられていた。米国 BID では、消費税データの追跡や駐車場の利用台数、Placer AI という消費者行動管理ツールを用いて集めたデータを指標として使用していた。定性的な側面について、英国 BID では、負担者である事業者に対する調査や事業者からのフィードバックによって定量的なデータでは把握できない部分を補完していた。米国 BID でも同様にコミュニティのニーズを把握するために調査が行われていた。また、その他に行っていることとして、商店へのヒアリングや大規模なミーティングが挙げられていた。米国 BID が活動評価の際に重要としていることは、人々の交流やコミュニティの構築等の人間的な要素を尋ねることが挙げられていた。

注釈

(1) 本研究のアンケート調査では公共セクター(Public Sector)の例として政府や地方政府、地方議会(council)、民間セクターの例として商工会議所や全国組織、地域委員会を挙げて設問をつくり回答を行ってもらった。

(2) Hollywood Entertainment Partnership の取締役である Kathleen Rawson 氏に 2024 年 9 月 26 日

表 6 インタビュー調査まとめ

	投票率	賛成率	(a) KPI評価	(b) 事業者調査	(c) 活動評価を行う上で抱えている課題	(d) 全国組織やその認定制度に対する認識
Sligo BID	54%	69%	入念なKPI設定 バーブルフラグでは別のKPIを設定し効率的にプロジェクトを管理している	外部組織と協力して実施 回答率は40%程度	アイルランドでBIDが普及しておらず ノウハウがない	ノウハウがないため全国組織の サポートが不可欠 認定獲得のために活動や運営水準を向上させている 正当性を獲得 する上で重要
Winchester BID	40%	77%	あまり力を入れていない データ収集が容易な簡単な指標の設定	年に4回の小規模事業者調査 5年に1度の大規模事業者調査 回答率は両調査とも21%程度 十分な回答率である認識で問題なく運営できている	間接的な影響の考慮が難しい	認定を獲得すると業界で認められたという証明 認定は 組織全体だけでなく事業者にも自信を与える
Kendal BID	47%	74%	管理しやすいものを設定 中心部のデータに基づくものが中心	外部の市場調査会社に依頼して実施 回答率は30%程度 十分な回答率である認識で問題なく運営できている	人材と財源不足 による活動の制限 年次報告書の作成ができていない	事業計画書をBritish BIDsと作成しているため 不可欠 認定は重要 で目指しているが時間とお金がない

(PST)に現地オフィス訪問による対面インタビュー調査を実施

(3) Union Square Alliance の取締役である Benjamin Horne 氏に 2025 年 3 月 14 日(PST)に現地オフィス訪問による対面インタビュー調査を実施

(4) Castro Community Benefit District の取締役である Andrea Aiello 氏に 2025 年 3 月 17 日(PST)に現地オフィス訪問による対面インタビュー調査を実施

(5) City of San Francisco Community Economic Development Division の Christopher Corgas 氏に 2025 年 3 月 13 日(PST)に現地オフィス訪問による対面インタビュー調査を実施

(6) Japantown Community Benefit District の取締役である Grace Horikiri 氏と次長である Brandon Quan 氏に 2025 年 3 月 17 日(PST)にオフィス訪問によるインタビュー調査を実施

6) Sophie H., Dominic M., Gary W., Performance measurement in the UK town centre management schemes and US business improvement districts : comparisons and UK implications, Environment and Planning A 2007, Vol. 39, pp. 1513-1528, 2007

参考文献

1) 丹羽由佳理, 園田康貴, 御手洗潤, 保井美樹, 長谷川隆三, 小林重敬, マネジメント組織の団体属性と課題に関する考察 -全国エリアマネジメントネットワークの会員アンケート調査に基づいて-, 都市計画報告集 52(3), pp.508-513, 日本都市計画学会, 2017

2) 小林重敬、森記念財団編著 (2020), エリアマネジメント 効果と財源

3) Robert J. Stokes, Business improvement districts and small business advocacy: The case of San Diego's citywide BID program, Economic Development Quarterly, Vol.21(3), pp.278-291, 2007

4) Robin Reenstra-Bryant, Evaluations of Business Improvement Districts, Public Performance & Management Review, Vol. 33(3), pp. 509-523, 2010

5) Sophie H., Dominic M., Gary W., Town centre management schemes in the UK: Marketing and performance indicators, International Journal of Nonprofit and Voluntary Sector Marketing, Vol.9(4), pp. 309-319, 2004

河川での水中カメラ画像の深層学習による魚類の同定手法の開発

岡山大学 学術研究院 環境生命自然科学学域

吉田 圭介

河川の水環境のモニタリングでは、魚類の資源量や生息範囲の把握は極めて重要である。しかし、一般に現地調査には多大な労力を要し、また急流場での作業は危険を伴うため、実際の調査では諸々の制限がある。本研究では簡易な水中カメラの撮影画像と AI 解析技術を用いて魚道を遡上する稚アユを精度良く検出することを目的に、画像の前処理技術の効果を検証した。本研究では CLAHE を援用し、無加工画像と前処理画像を用いた物体検出モデルの比較によって、前処理適用時の検出精度向上が確認された。前処理により主に濁りや照度不足による不明瞭な稚アユの特徴が強調され、見逃し数が減少し、稚アユ以外の要素でも同様の効果が観察された。また、気泡や水面の影など稚アユと形状が類似する要因において、誤検出が低減されたが、その効果は限定的であった。さらに、無加工画像を学習したモデルと前処理画像を学習したモデルを組み合わせるマルチモデル検出プロセスを提案し、見逃しや誤検出を補完することで検出精度が向上することが示唆された。

1. はじめに

内水面漁業における重要な漁獲対象種であり、夏の味覚としても広く知れ渡るアユ *Ayu sweetfish* の漁獲量が、近年減少しつつある^{注1) 注2)}。漁獲量の減少の要因としては、カワウによる食害や冷水病による大量死が挙げられる。そのため、稚アユの資源量回復に向けて、岡山県農林水産総合センター水産研究所では、アユに好適な人工産卵場の造成や、冷水病に強い稚アユ種苗の量産など、天然アユの資源量回復に取り組んできた^{注3)}。

回遊魚であるアユの資源量の把握には、春の遡上調査が一つの指標になる。一般的なアユの遡上調査としては、堰堤などの観察しやすい遡上経路において、水面上から目視により確認する方法がある^{注4)}。しかしながら、稚アユの遡上期は 1 か月以上に及び、調査コストが高く、かつ精度は調査員の熟練度に依存するため、調査手法として、正確で信頼性の高いデータを得られる手法であるとはいえない。

そこで、同水産研究所では一級水系吉井川の鴨越堰において、水中カメラを用いた遡上量調査を行っている。この手法は、人が常駐する手法に比べ安価で、連続的な静止画データの取得によって信頼性の高い計数結果を簡易に取得できる手法とされている¹⁾。

しかしながら、遡上する稚アユをより多く捕捉するために撮影間隔を短く設定する必要があるため、1日に撮影される静止画像の枚数は膨大になり、稚アユの遡上期が長いことも相まって、静止画像の確認に多大な労力を要してしまう。この課題に対して、開発や実装が様々な分野で取り組まれている深層学習モデル、とりわけ物体検出モデルの適用が考えられる。

物体検出モデルの適用においては、十分な量の教師データを学習したモデルであれば、物体の位置・種類は高い精度で検出ができ、誤判定の少ないモデルを作成できるとされている²⁾。本課題に関して、過去の物体検出モ

デルの適用を試みた事例では³⁾、稚アユ以外の物体の誤検出する例が散見された。これは教師データとして扱える稚アユのデータ量に制限があることに加え、検出対象の映像では水中画像特有の異物（気泡や水面の影など）が多いことが原因である。対策としては稚アユ以外の物体にラベルを与えるアノテーション作業を行い、稚アユ以外の物体を多く学習させることが有効であった。

しかし、このアノテーション作業は非常に時間と労力を要する。各物体や領域を正確に境界付けるためには、複数の画像を検査し、適切なラベルを付与する必要がある。さらに、アノテーション作業は主観的な判断を必要とするため、一貫性を保つためにも綿密なチェックが必要である。すると、当初の目標である稚アユの遡上数計数の労力軽減を達成できない可能性が出てくるため、効率的な方法が求められる。

アノテーションを行う他に画像の前処理の手法を用いると、画像全体のコントラストを調整することで、暗い領域や明るい領域の情報を均等に分散させる他、ノイズの削減やコントラストの強調など、自動かつ簡易的に画像データの特徴量を整えることが可能となる⁴⁾。

そこで本研究では画像前処理技術である CLAHE (Contrast Limited Adaptive Histogram Equalization)⁶⁾によって、学習データの量を増やすことなく、データの特徴

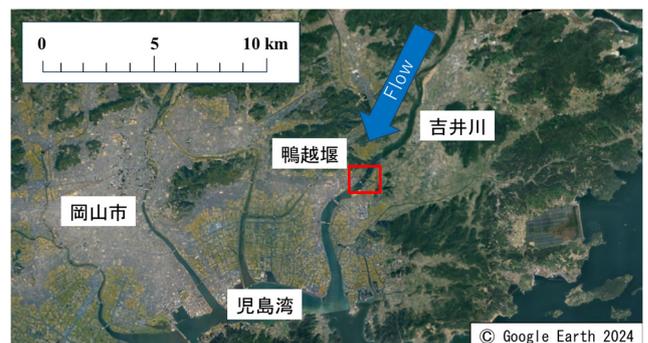


図-1 吉井川と鴨越堰の位置図

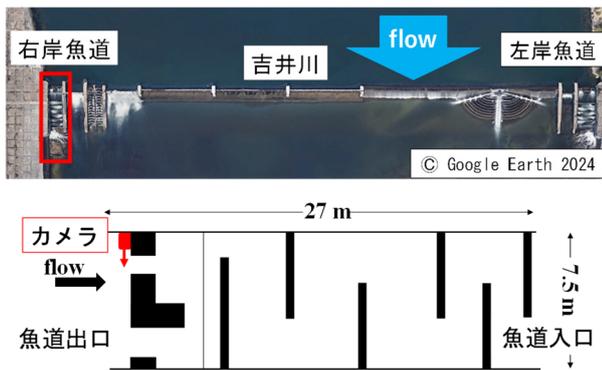


図-2 鴨越堰と魚道の全体図と水中カメラの設置場所

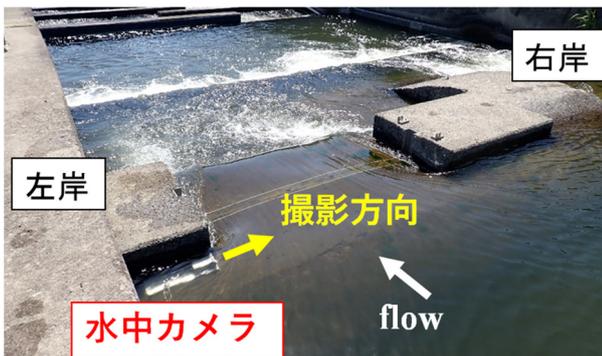


図-3 魚道の出口から見た写真

量を整え、水中カメラで撮影された画像に対する深層学習を用いた稚アユの検出精度の向上を試みた。

2. 対象河川と調査方法

2.1 対象河川および堰

吉井川は岡山県東部を流下し、児島湾の東端に注ぐ、幹川流路延長 133 km、流域面積 2,110 km² の一級河川である (図-1)。岡山県水産研究所では稚アユの資源量を把握するため、吉井川の河口から 7.4 km に位置する鴨越堰において、水中カメラを用いた遡上調査を毎年春に行っている (後述)。この堰は吉井川の潮止堰であり、本堰より下流側は汽水域となっている。海域である児島湾で育成した稚アユは春にこの堰を遡上するが、カメラの設置やメンテナンスが容易な右岸の魚道上部の出入口付近で調査が実施される (図-2)。

2.2 水中カメラを用いた稚アユ遡上調査方法

水産研究所による稚アユの遡上調査は、鴨越堰右岸魚道の上流端にある 2 箇所切欠きのうち、1 箇所にステンレス製の防水ケースに入れた Brinno 社製のタイムラプスカメラ TLC200Pro を設置して行われた (図-3)。カメラに写る距離は濁度にもよるが、概ね切欠きの半分ほどであった。

本調査は 2021 年度に開始し、2022 年、2023 年も同様の手法で魚道を遡上する稚アユを撮影した。1 週間に 1 度程度の頻度でカメラから回収した画像をパーソナルコンピュータ (以下、PC とする) のモニターで再生し、稚アユを目視で計数した後、1 日ごとの遡上尾数として

集計した。撮影は 2 秒間隔とし、撮影時間帯は光量が確保される 6:00~18:00 とした。記録画像は画素数 1,280 pixel×720 pixel の AVI 形式で保存され、PC 上で AVI2JPG (フリーソフト) を用いて再生した。確認する画像は、1 時間あたり 1,800 枚、1 日あたり 21,600 枚となり、1 日分の画像確認に要する時間は、撮影された稚アユの数量や水質によって労力が異なり 15~120 分であった。

3. 稚アユ検出モデルの構成と前処理手法の検討

3.1 物体検出と YOLOv5 の概要

物体検出とは、画像内に含まれる物体の位置とその種類、大きさを特定するタスクであり、深層学習モデルによって実行されることが多い。本研究では深層学習モデルの YOLO (You Only Look Once)^{注5)} シリーズの YOLOv5 を物体検出モデルとして使用した。本モデルはインターネット上にコードが公開されているため導入が容易で、自作のデータセットを用いた学習が容易である。

さらに生物の生態調査に限らず種々の分野で適用が試行されており、モデルやデータセットのカスタムを行いやすいといった利点がある。YOLOv5 には、n, s, m, l, x といった性能とモデルが異なるモデルが複数あり、このサイズが大きくなれば検出精度が向上するが、それと同時に学習・推論に要する時間・機器の必要メモリ数も増加する。本研究では YOLOv5 の中で最も学習時間が短い YOLOv5s を選択した。

3.2 データセットの作成

YOLOv5 に学習させるためのデータセットの作成には、2022 年 3 月 21 日~2022 年 5 月 7 日に撮影された画像のうち、稚アユが写っている静止画 528 枚を用意した。この静止画については、まず画像 1 枚ごとに魚類の位置と種類を記述した txt 形式のファイルを作成するラベリングが必要となり、このファイルと静止画を加えて稚アユ検出モデルの学習用データとした。なお、一連の作業は labelGo-Yolov5AutoLabelImg (MIT license) を用いて行った。作成したデータセットは、深層学習に供するため Train データと Valid データに分割した。分割の際には、稚アユが写っている画像をランダムに 7:1 となるように分割し、それぞれ Train データと Valid データに入れた。このとき作成された稚アユ検出モデルを「Model.1」とした。また、Model.2 は Model.1 の Train/Valid データ全てに画像の前処理(CLAHE)を施し、学習を行ったモデルである。本研究の稚アユ検出モデルの Train/Valid データの枚数とラベル数の内訳を表-1 に示す。

3.3 カメラ画像に対する前処理について

稚アユ以外の物体に追加のアノテーションを作成するプロセスは時間と労力を要するため、画像の前処理によってデータを変換することで、既存のデータを効率的に活用することができる。また、光の条件や視点の変化に対応するための調整が行えるように、特定のドメイン

表-1 学習用データの画像枚数とラベル数（稚アユ）

Model No.		Train		Valid	
		Original	CLAHE	Original	CLAHE
Model.1	Labels	967	—	140	—
	Images	462	—	66	—
Model.2	Labels	—	967	—	140
	Images	—	462	—	66
Model.3	Labels	967	967	140	140
	Images	462	462	66	66

や環境におけるモデルの性能を向上させることができると考えられる。

そこで本稿では、水中カメラ画像に対する前処理として、ヒストグラム平坦化を用いることで水中映像におけるアユ検出精度向上を目指している。前処理に必要なコストとして、225枚の画像の処理時間は1分であり、実行環境はAnaconda上にPythonをインストールすることで構築可能である。

予備検討として、後述する各手法による検出枚数と誤検出数を比較した。予備検討の段階では、誤検出の削減に重点を置いて評価を行っており、画像内のアユの見逃しに関しては考慮していない。Testデータへの画像処理有無による、Model.1での検出結果の比較を表-2に示す。

ヒストグラム平坦化(Equalize histogram)⁹⁾とは、画像の輝度ヒストグラムの範囲を広げて、画像全体のコントラストを上げる画像処理を指す。これにより異なる光源やカメラパラメータで撮影された画像を同一の明るさにするなど、画像間での輝度ヒストグラムの偏りを減らすことが可能である。画像全体の画素値を参照して処理を行うため、画像全体に対して一部分のみ明るいような箇所がある際に元画像の特徴を損なう変換結果となり、誤検出は改善されるがアユの検出数が悪化する結果となった。

これに対し、CLAHEによるヒストグラム平坦化を検討した。CLAHEでは、画像を小領域ごとに分割してヒストグラム平坦化を行うことで元画像の特徴損失を抑えることができる他、Tile内での指定数以上の画素値重複を制限することで画像の滲みを抑制することができる。なお、本稿ではCLAHEのパラメータはデフォルト値 (Clip Limit=2.0, Tileサイズ=8×8 pixel) として処理を行った。アユの検出数は維持したまま、誤検出数のみ改善する結果となった。

以上より、本稿では通常の水の中画像データと、これに対してCLAHEによるヒストグラム平坦化を施したものを利用し、稚アユ検出の精度検証を行った。

4. 稚アユの検出結果

本検討では、稚アユの検出精度の変化における評価方法として、稚アユの誤検出枚数および見逃し枚数の変化

表-2 画像処理前後の検出枚数の比較

Model.1	Original	Equalize	CLAHE
検出	180枚	170枚	180枚
誤検出	12枚	9枚	10枚

※ アユのみが映る225枚中

に着目した。稚アユの見逃しに関しては、稚アユのみが映った画像225枚をTestデータとして用意し、稚アユの検出精度を検証した。また誤検出に関しては、Testデータは目視による稚アユ検出枚数が0または少数枚である2021年4月17日、21日、24日に撮影された3日分のデータとした。検証項目として稚アユの検出が0尾である「見逃し」、画角内の複数尾に対して部分的に検出した「部分見逃し」、稚アユ以外を検出した「誤検出」に分類した。

4.1 稚アユの検出における見逃しについて

(1) Model.1における精度変化

CLAHEで設定したパラメータを表-3、Model.1における稚アユの検出枚数を表-4に示す。

無加工のOriginal画像とCLAHEのパラメータ (Clip LimitとGrid size) を変更した4つのケースについて、より多くの稚アユを検出できるように、モデルの信頼度であるConfidence Threshold (以下、cfとする) を0.3と設定し、検討を行った。この下限値を設定することで、確信度が低い検出結果 (誤検出の可能性が高いもの) を除外し、信頼性の高い検出結果のみを残す。

デフォルト値であるClip Limit=2 および Grid Size = 8×8 では、全体的な検出精度に大きな変化は見られなかった。見逃しの枚数は45枚で同数であったが、Original画像で検出できた個体がCLAHEによる前処理によって見逃されるケースがあり、逆にOriginal画像で見逃した個体がCLAHEによる前処理によって検出されるケースもあった。これは、CLAHEによる前処理によって画像のコントラストが強調される一方で、元の画像特徴が変化するため、検出性能が一定のバランスを保てなかったことを示唆している。

Original画像においては、画像の奥や暗い箇所での見逃しが多く確認された。これは、低コントラストや影の部分に稚アユが埋もれてしまい、検出モデルがそれらを認識できなかったためと考えられる。これらの結果は、物体検出における画像の明るさやコントラストが重要な要素であることを示している。

CLAHEによる前処理で画像内の特徴が強調され、全体的なコントラストが向上するが、その反面、過剰な強調によって一部の特徴が変化し、検出モデルが学習した特徴とは異なる結果をもたらすことがある。CLAHEのパラメータを変更すると、見逃しや部分見逃しの枚数が30~40%程度増加することが確認された。この結果から、CLAHEの適用により検出精度が改善と悪化の両方が起こり得ることがわかる。

表-3 CLAHE で設定したパラメータ

	①	②	③
Clip Limit	2.0	3.0	2.0
Grid size (pix)	8×8	8×8	2×2

表-4 Model.1 における稚アユ検出数

Model.1	Original	CLAHE		
		①	②	③
見逃し	45枚	45枚	66枚	41枚
部分見逃し	21枚	26枚	30枚	35枚
誤検出	12枚	10枚	11枚	8枚

※ 225枚中, cf=0.3

特に, 学習時の画像と検出用画像の特徴量が大きく乖離することが主要な要因であると考えられる. 具体的には, 学習用データが一定のコントラストや明るさの範囲内で学習された場合, 異なるコントラストや明るさを持つ検出用データに対して適切に対応できない可能性が高い. このため, Train データの多様性を確保し, 前処理技術を適用して学習することが, 検出精度向上のためには重要である.

(2) Train データへの前処理の影響

Model.1, Model.2 における, Original 画像および CLAHE 画像の検出結果を表-5 に示す. ここで, CLAHE による前処理におけるパラメータの設定は, 稚アユの見逃しが最も少なくなるように調整した.

Model.2 は CLAHE 画像のみを学習しており, Original 画像に対する検出では見逃し, 部分見逃し項目において 10 枚多く発生した. これは, Model.2 が CLAHE 画像の特徴に特化して学習しているため, Original 画像の特徴を十分に捉えられなかったためと考えられる. 一方, CLAHE 画像に対する検出では, Model.2 は Model.1 と比べて全ての項目において検出精度が向上し, 見逃し枚数が約 30%改善された.

また, 誤検出の項目も半分に削減することができた. Model.2 の精度が向上した要因として, Train データに CLAHE を適用することで, 特徴量が強調され, 背景との色味のギャップが大きくなったことが挙げられる. このギャップの拡大が, 深層学習モデルの物体検出の学習効率や精度に良い影響を与えたと考えられる. 一方で, Original 画像に対する精度が悪化したことから, Train データと Test データに同じパラメータでの加工を施すことが検出精度の向上に効果的であることが示唆される.

4.2 稚アユ以外の物体の検出精度検証

(1) データへの前処理の影響

Model.1, .2 における誤検出枚数について表-6 に示す. 検出ケースは以下の 4 つに分類する:

- (a) Model.1 による Original 画像の検出
- (b) Model.1 による CLAHE 処理画像の検出

表-5 Original 画像および CLAHE 画像における検出枚

検出画像	Model.1		Model.2	
	Original	CLAHE①	Original	CLAHE①
見逃し	45枚	45枚	55枚	32枚
部分見逃し	21枚	26枚	31枚	18枚
誤検出	12枚	10枚	12枚	5枚

※ 225枚中, cf=0.3

(c) Model.2 による CLAHE 処理画像の検出 (信頼度閾値 cf=0.6)

(d) Model.2 による CLAHE 処理画像の検出 (信頼度閾値 cf=0.8)

誤検出の主な要因として, 水面付近の気泡, イシマキガイ, 水草, 影が挙げられる.

(2) Original 画像と CLAHE 画像の検出結果の比較

CLAHE の前処理によって誤検出が大幅に削減された. 具体的には 4 月 17 日では約 88%, 4 月 21 日では約 50%, 4 月 24 日では約 68%の誤検出が削減された.

(3) 信頼度閾値の違いによる検出結果の比較

ケース(d)はケース(c)と比較して, 4 月 17 日ではケース(b)と同様に誤検出の減少が確認された. 誤検出数が低下した理由について, イシマキガイや水草, 影は, 暗い部分や画角の奥に位置しており, 輪郭が不鮮明である. これらが CLAHE による前処理で明るさや輪郭が元の画像より鮮明に表現されることで, 稚アユとの区別がしやすくなったためであると考えられる.

また, イシマキガイや水草は連続したフレームで同個体の誤検出が発生しているため, 一度改善されると, そのまま複数枚において改善される結果となったことも要因の 1 つであり, 稚アユ検出における誤検出の改善として, 好ましい結果が得られた.

しかし, 4 月 21, 24 日のデータではケース(b)の減少よりも精度が低下した結果となった. 4 月 21 日のデータは水面付近の気泡や水面の影が多く画角内に映っている. これらの要素は白または黒く形状が稚アユに酷似しているため, CLAHE による前処理で明るさや輪郭が元の画像より鮮明に表現されることで, 誤検出が多く発生してしまったと考えられる. cf 値を上げると改善されるが, 依然として気泡や水面の影に関する誤検出は今後の課題である.

4.3 画像前処理による検出 cf 毎の個体数の変化

図-4 と図-5 は, 稚アユが映った画像に対する前処理 (Original 画像および CLAHE 画像)による検出時の cf 毎の個体数の割合を示している. ここで扱う出力結果の cf は, モデルが検出した物体それぞれの確信度を示し, 設定した閾値に基づいて, これが閾値以上のものだけが最

表-6 Model.1, Model.2 における誤検出枚数

2021年	Model.1		Model.2	
	(a)	(b)	(c)	(d)
	Original cf=0.6	CLAHE① cf=0.6	CLAHE① cf=0.6	CLAHE① cf=0.8
4/17	52枚	6枚	16枚	5枚
4/21	305枚	153枚	440枚	235枚
4/24	31枚	10枚	49枚	22枚
合計	388枚	169枚	505枚	262枚

※各日 20480枚中

終的に表示される。

(1) Model.1 における検出結果の比較

Model.1 の検出結果において、Original 画像と CLAHE 画像の両方で、信頼度スコア cf=0.6~0.8 の範囲が約 80% を占めている。同一モデルによる cf の傾向について、Original 画像と CLAHE 画像の両方で、検出結果の cf の傾向がほぼ同じであり、特定の範囲に集中していることが示された。同一モデル内で検出画像の違いによる cf の値の改善効果は見られなかった。これは、前処理によって画像のコントラストや明るさが変わっても、Model.1 の信頼度スコアに大きな影響を与えなかったことを示している。

(2) CLAHE 画像での各モデルの検出結果の比較

CLAHE 画像において、Model の違いによる検出結果の信頼度スコア cf の傾向を図-5 から比較する。Model.2 の場合、cf=0.9 が約 77% を占める結果となった。これは Model.2 が CLAHE 画像を Train データに組み込むことで高い信頼度スコアでの検出が増えたことを示している。

(3) 前処理とモデル学習の影響

学習効果の向上について、Model.2 が Train データに CLAHE を適用することで、CLAHE による背景と対象物(稚アユ)とのコントラストを明確にする効果により、画像内の特徴量に対するモデルの識別能力が向上し、高い信頼度スコア (cf=0.9) の検出が増加した。これにより、モデルの検出精度全体が向上したと評価することができる。また、図-5 より、検出時の cf を誤検出数の比較で用いた 0.6 に設定値を上げた場合においても、Model.2 の CLAHE 画像では全体数のうち、約 93% の稚アユを検出することが可能となる。

5. 画像前処理を用いた実際的な検出手法

Model.1(Original 画像を学習したもの)と Model.2 (CLAHE 画像を学習したもの) を組み合わせ、検出対象の画像に対し、CLAHE による前処理を適用することで、見逃しや誤検出を補い合い、より多くの稚アユを正確に検出することが可能であると考えられる。そこで稚アユ検出モデルの実用化に向け、図-6 に示すマルチモデル検出プロセスを提案する。

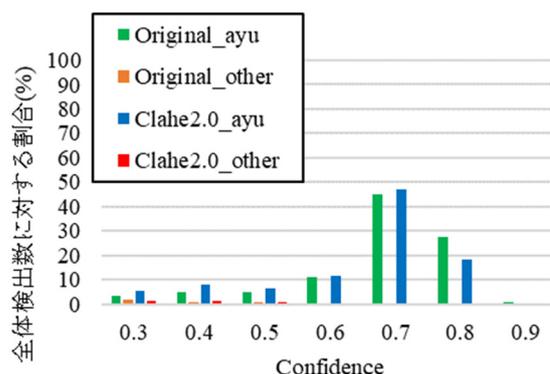


図-4 Model.1 検出時の cf 分布

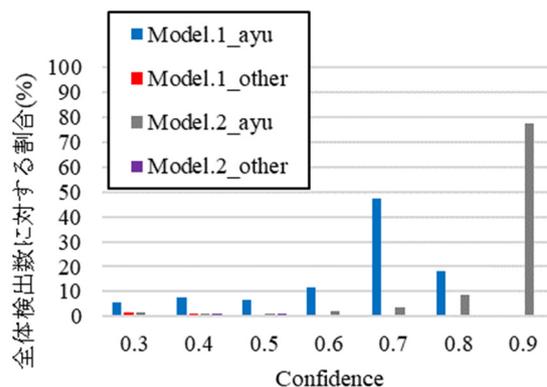


図-5 CLAHE 画像の検出時における Model 毎の cf 分布

まず、前処理された CLAHE 画像を使用し、初期検出として Model.1 で検出を行う。この段階で検出された稚アユは、信頼性が高いとされる。補完検出として、Model.2 を用いて再度検出を行う。重複して検出されるデータは、出力される label 名を基に同名ファイルを削除し対応する。これにより、CLAHE による前処理を適用した画像を学習した Model.2 の強みを活かし、さらに見逃しを減少させることができる。

この手法を用いて、実際の 1 日分の動画に対し、稚アユの検出を試行した結果を表-7 に示す。検出対象は多くの稚アユが観測された(目視計数 313 尾)、2021 年 5 月 14 日の全ての画像であった。Original 画像を用いた一段階検出は cf=0.6 とし、マルチモデル検出では初期検出を cf=0.3、補完検出を cf=0.9 と設定した。

CLAHE による画像のコントラスト強調で稚アユの視認性が向上し、Model.2 での精度が向上した。また、初期検出で cf=0.3 とすることで網羅的に検出し、補完検出で cf=0.9 とすることで信頼度の高い検出のみを残した。さらに、重複検出の削除により、不要な誤検出が抑制された。これらの工夫によって、マルチモデル検出で誤検出を大幅に減少させることが可能となった。

6. 結論

本研究ではアユの資源量を把握するために岡山県吉井川の鴨越堰魚道に設置された水中カメラ画像に対して、深層学習を用いて稚アユの検出を行った。検出の際

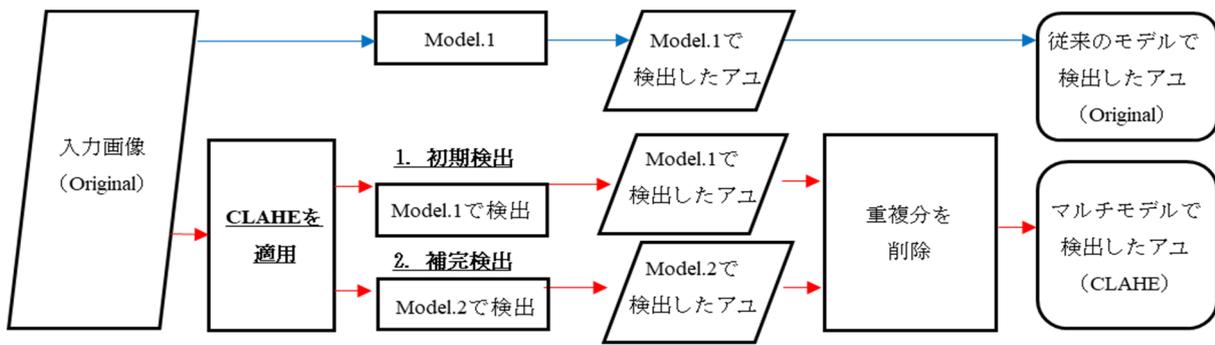


図-6 マルチモデル検出フロー

に自動かつ簡易的に画質を整える手法として、画像前処理技術を活用した。特に CLAHE の物体検出性能への影響を検証し、その有効性を確認した。以下に主要な見解と今後の展望を纏める。

- (1) CLAHE によるコントラスト補正が、稚アユの検出精度を向上させる効果があることが明らかとなった。CLAHE を適用することで、主に画像の奥や暗い箇所に映っている稚アユの特徴が強調され、アユの見逃しに関して約 30%検出精度が向上した。
- (2) Train データと Test データに同じ前処理を施すことで、検出精度が向上することが示された。特に、CLAHE を適用した画像を Train データとし、検出画像でも同様の処理を施すことで、モデルの性能が改善され、高い信頼度スコア(cf)での検出が増加した。
- (3) Model.1 (Original 画像を学習) と Model.2 (CLAHE 画像を学習) を組み合わせることで、見逃しや誤検出を補完し、より多くの稚アユを正確に検出することが可能となった。既往手法である Model.1 のみでは十分な成果は得られなかったが、マルチモデル検出プロセスを導入することで、精度向上を図ることができた。
- (4) 本研究では水面付近の気泡、イシマキガイ、水草、水面の影などが稚アユ以外の誤検出要因である。CLAHE 前処理により、これらの誤検出要因が約 49%～88%減少することが確認されたが、特に水面付近の気泡や水面の影のような形状が稚アユに酷似する要因に対しては効果が限定的であることが示された。

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 ウェスコ学術振興財団に深謝いたします。また、稚アユの資料をご提供頂いた岡山県農林水産総合センター水産研究所に謝意を表します。最後に、本研究の解析では岡山大学大学院の品田唯斗さんに大いに協力して頂きました。ここに記して謝意を表します。

NOTES

- 注1) 農林水産省, 漁業・養殖業生産統計, 2022 年.
- 注2) 水産庁, 内水面漁業・養殖業をめぐる状況, 2024 年 4 月
- 注3) 岡山県農林水産総合センター水産研究所, 岡山県ア

表-7 マルチモデル検出の例

2021年5月14日		アユ (枚数)/(尾数)	誤検出 (枚数)/(個数)
Model.1(Original画像)		122 / 176	62 / 89
マルチモデル 検出 (CLAHE画像)	1.Model.1	110 / 146	13 / 22
	2.Model.2 (重複削除)	26 / 42 (89) / (112)	20 / 23 (2) / (2)
	合計	136 / 188	33 / 45

ユ資源調査報告書, 2016 年 4 月.

注4) 淀川 の海産天然アユ資源量を増加させるための流量条件と河口堰の流況制御に関する研究, 瀬口雄一, 京都大学学術情報リポジトリ, 2022 年 5 月.

注5) Ultralytics: YOLOv5, <https://github.com/ultralytics/yolov5>

参考文献

- 1) 東健作, 堀岡喜久雄, 大木正行, 伊与田猛, 松岡功, 伊与田邦明: 四万十川における目視観察及び水中ビデオによる遡上アユの計数, 水産増殖, 68 巻 4 号, pp.375-382, 2020.
- 2) 青島亘佐, 中野聡, 徳永皓平, 中村秀明: 深層学習による異常検知手法を用いたコンクリート表面の変状検出, 土木学会論文集 A2(応用力学), Vol.75, No.2(応用力学論文集 Vol.22), I_559-I_570, 2019.
- 3) 潘是均, 古谷峻, 吉田圭介, 山下泰司, 小島崇, 白神義章: 水中カメラの画像と深層学習による魚道を遡上する稚アユの検出に関する研究, 土木学会論文集 B1(水工学), Vol.78, No.2, I_127-I_132, 2022.
- 4) Kun. L, Lei. P and Shanran. T : Underwater Object Detection Using TC-YOLO with Attention Mechanisms., *Sensors*, Vol.23, Issue.5, 2023.
- 5) P. Garg and T. Jain. : A Comparative Study on Histogram Equalization and Cumulative Histogram Equalization., *International Journal of New Technology and Research*, Vol.3, Issue.9, pp.41-43, 2017.
- 6) Neethu M. Sasi, V. K. Jayasree. : Contrast Limited Adaptive Histogram Equalization for Qualitative Enhancement of Myocardial Perfusion Images., *Scientific Research, Engineering*, Vol.5, pp.326-331, 2013.

食品成分の有効性に寄与する生体脂質の同定

岡山大学学術研究院環境生命自然科学学域

中村俊之

(概要)

含硫化合物やポリフェノール類などの植物性食品成分の効果は主に、生体内タンパク質間の相互作用により発揮されると考えられており、多くの食品成分が細胞内シグナル伝達経路を制御することが報告されている。一方、脂質はエネルギー源および生体膜の構成成分という基本的な二つの機能に加え、生理活性脂質として多種多様な脂質が細胞内シグナル伝達やその調節に関与することが報告されている。そのため、食品成分の有効性に生体脂質が関与する可能性が考えられるものの、食品成分により制御される生体脂質は不明である。そこで本研究では、生体膜を構成する脂質の主要成分である脂肪酸に着目し、植物性食品成分の有効性に寄与する生体脂質の同定を炎症抑制作用を指標に試みた。まず、含硫化合物であるベンジルイソチオシアネート (BITC) の炎症抑制作用を評価したところ、BITC はリポ多糖誘導性の炎症を有意に抑制した。次に、BITC が及ぼす脂肪酸の変化を評価したところ、リポ多糖により増加した脂肪酸酸化物の一部を BITC は減少した。これら結果から、BITC による炎症抑制効果の一部は脂肪酸酸化物の制御を介して発揮される可能性が示唆された。

1. 背景

食事と疾病の関係性が広く理解されつつあり、特に、含硫化合物やポリフェノール類などの植物性食品成分は疾病予防・健康長寿に資する食品成分としての期待が高い。植物性食品成分の効果は主に、生体内タンパク質間の相互作用により発揮されると考えられており、多くの食品成分が細胞内シグナル伝達経路を制御することが報告されている (1)。しかしながら、植物性食品成分の有効性には個人差があり、それらの摂取が生体に悪影響を及ぼす可能性も示唆されており、食品成分の有効性発現機構は未だ十分に解明されていない。

脂質は「エネルギー源」および「生体膜の構成成分」という基本的な二つの機能に加え、「生理活性脂質」として多種多様な脂質が細胞内シグナル伝達やその調節に関与することが報告されている (2)。中でも、アラキドン酸の代謝により生成されるプロスタグランジン類やロイコトリエン類などの脂質メディエーターは、血管拡張や子宮収縮などの生理活性を示すことが広く知られている。近年においては、アラキドン酸だけでなく、多くの多価不飽和脂肪酸から酵素的または非酵素的に生成される酸化化合物“オキ

シリピン”が多様な活性脂質メディエーターとして機能することが報告されており (3)、リノール酸やアラキドン酸のような n-6 系脂肪酸に由来するオキシシリピンは“炎症促進メディエーター”として、エイコサペンタエン酸やドコサヘキサエン酸のような n-3 系脂肪酸に由来するオキシシリピンは“炎症抑制メディエーター”として機能すると考えられている。このように、生体を構成する脂質は数多くの疾患に関連すると考えられており、脂質形態と疾患の関連とそのメカニズムを理解することは、生活習慣病を始めとする疾病の予防改善に重要な知見を与えると考えられる。

イソチオシアネート (ITC) 類は、抗酸化や抗炎症効果が期待され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 の作用機構は主に、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 (4)。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 (5)、ITC 類により制御される生体脂質については評価されていない。

そこで本研究では、生体膜を構成する多くの脂質の主要成分である“脂肪酸”に着目し、ITC 類の一つであるベンジル ITC (BITC, 図 1) の有効性に寄与する生体脂質の同定を炎症抑制作用を指標に試みた。

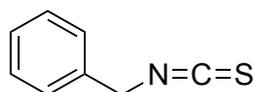


図1：BITCの構造

2. 方法

培養細胞の維持および食品成分の処理

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% CO₂ インキュベーター内で培養した。リポ多糖 (LPS) は滅菌水で希釈した。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処理した。

植物性食品成分による炎症抑制作用の評価

RAW264.7 細胞に BITC を 1 時間前処理後、LPS を添加し、24 時間培養した。培養上清を Griess 試薬 (Sulfanilamide と *N*-(1-naphyletyl)ethylenediamine) と混合し、540 nm の吸光度を測定することで、炎症の指標である一酸化窒素の生成量を評価した。

植物性食品成分による脂肪酸変化の評価

RAW264.7 細胞に LPS を 24 時間処理し、培養上清を Bligh&Dyer 法により抽出後 (1)、脂肪酸および脂肪酸酸化物を LC-MS/MS により分析を行った。加えて、培養細胞に BITC を 1 時間前処理し、LPS を添加後、24 時間培養した。培養上清を Bligh&Dyer 法により抽出後、脂肪酸および脂肪酸酸化物を LC-MS/MS により分析を行った。測定条件は以下のとおりである。

HPLC: ACQUITY UPLC H-Class

Mass Spectrometry: Waters Xevo-TQD

Mode: negative

Solvent A: 0.1% formic acid in water

Solvent B: methanol

Column: ACQUITY UPLC BEH C18 (2.1 × 50 mm)

Gradient: 0 min (B 10%), 5 min (B 100%), 8 min (B 100%), 8.1 min (B 10%), 10 min (B 10%).

3. 結果と考察

BITC の炎症抑制効果

RAW264.7 細胞に LPS を処理し Griess 法を用いて一酸化窒素生成量を測定したところ、一酸化窒素の有意な上昇が見られた (図 2)。そこで、LPS 誘導性炎症に対する BITC の効果を評価したところ、BITC は LPS により上昇した一酸化窒素量を濃度依存的に減少させた (図 2)。

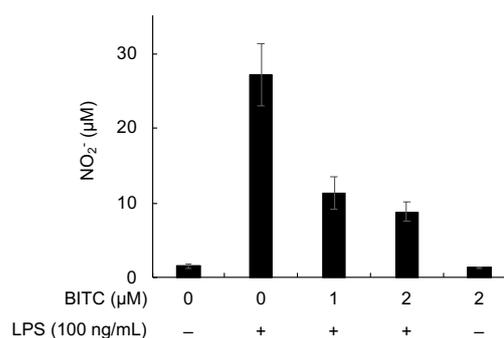


図2：BITCによる抗炎症効果

BITC 処理による細胞内脂肪酸の変化

LPS 処理した RAW264.7 細胞から脂肪酸を抽出し LC-MS/MS 分析したところ、未処理細胞の脂肪酸と比較して有意な変化が認められた (図 3)。さらに、BITC 処理を行なったところ、LPS により増加した脂肪酸酸化物が一部減少した (図 3)。

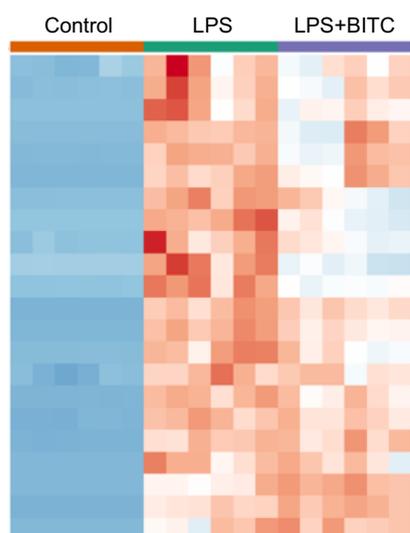


図3 : LPSおよびBITCによる脂肪酸の変化

4. まとめ

植物性食品成分である BITC は、LPS 誘導性の炎症を抑制する。その炎症抑制効果の一部は生体に生成された脂肪酸酸化物の制御を介して発揮され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, Qin S, Hou DX. Multiple regulations of Keap1/Nrf2 system by dietary phytochemicals. *Mol Nutr Food Res.* 2016, 60(8), 1731-1755.
- 2, Christopher K. Glass, Jerrold M. Olefsky. Inflammation and lipid signaling in the etiology of insulin resistance. *Cell Metab.* 2012, 15(5), 635–645.
- 3, Parchem K, Letsiou S, Petan T, Oskolkova O, Medina I, Kuda O, O'Donnell VB, Nicolaou A, Fedorova M, Bochkov V, Gladine C. Oxylipin profiling for clinical research: Current status and future perspectives. *Prog Lipid Res.* 2024, 95,

101276.

4, 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.

5, 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.

ウシ子宮腺が精子を誘引するメカニズムの解明

岡山大学 学術研究院環境生命自然科学学域（農）

河野 光平

（概要）

交配時に子宮内に入った精子の多くは子宮腺に侵入・結合することで、母体子宮に炎症反応を惹起する。子宮腺に結合した精子は母体の免疫細胞によって貪食・除去されるが、このプロセスが妊娠に向けた良好な子宮内環境の構築に重要であることがわかってきた。子宮腺は種々の液性因子を分泌する組織であり、精子を誘引する因子を分泌していると仮説付けられた。本研究では、ウシの子宮灌流液、子宮腺培養上清、および子宮内膜組織片を用い、発情周期による精子誘引能の差について検討した。ステージ II（発情後 5-10 日）の子宮灌流液による誘引精子数は、対照区よりも多かったが（ $P < 0.05$ ）、発情周期間では差がみられなかった。ステージ I（発情後 1-4 日）、II、IV（発情後 18-20 日）の子宮腺断片培養上清による誘引精子数は、対照区よりも多かった（ $P < 0.05$ ）。また、ステージ IV の培養上清による誘引精子数はステージ I、III（発情後 11-17 日）よりも多かった（ $P < 0.05$ ）。さらに、子宮腺組織への侵入精子数は、ステージ III と比較してステージ IV で多かった（ $P < 0.05$ ）。以上より、子宮腺は精子誘引能を持ち、特に排卵前においてその作用が強く働くことが示唆された。

研究の背景と目的

哺乳動物の交配では多数の精子が雌性生殖器内へ射出されるが、最終的にはたった 1 つの精子が卵管において卵子と受精することができる。このような雌性生殖器内における精子の選抜機構は、卵子を良質な精子と受精させる点において意義があると考えられる。一方、受精に関与しない多くの精子は、卵管の手前にある子宮において免疫細胞により貪食・排除される。ウシでは、子宮内に入った精子の多くは子宮腺と呼ばれる腺組織へと侵入・結合することで、一過性の炎症反応および母体の免疫細胞の活動を惹起する。この一時的な炎症応答は、自然免疫応答に関与する Toll 様受容体 2（TLR2）を介して引き起こされる [1] が、ウシの発情時（交配するタイミング）における子宮内膜への TLR2 刺激は、受精卵移植による妊娠率を向上させることもわかってきた。したがって、精子による子宮内膜の炎症応答誘起は良好な子宮環境を作るために必要であると考えられる。このように、卵子との受精に関与せず排除される運命にある精子も妊娠の成立において重要な役割を果たすことが明らかにされつつある。

上記で述べた受精に関与しない精子による母体子

宮に対するポジティブな作用については、最近の 5 年間で明らかにされてきた。しかし、関連する報告においては、精子が子宮内膜に対してどのような作用を及ぼしているかに終始しており、そもそもどのようなメカニズムで精子が子宮腺へと誘導されるのか全く分かっていない。子宮腺は種々の液性因子を分泌する組織であり、何らかの精子を引き付ける走化性因子を分泌していると仮説づけられた。したがって、本研究では、発情周期を通して採取した子宮灌流液および子宮腺培養上清を用いて精子誘引実験を行い、発情周期による子宮腺の精子誘引能を明らかにするとともに、子宮内膜組織と精子を共培養し、発情周期による子宮腺内部への精子侵入数の差を検討した。

材料と方法

実験 1. ウシ子宮灌流液における精子誘引因子の存在確認

1-1. ウシ子宮の採取と発情周期の分類

食肉処理センターで採材したウシ子宮を実験に用いた。既報 [2] に従い卵巣の所見から発情周期（ステージ I: 発情後 1-4 日、ステージ II: 発情後 5-

10日、ステージ III: 発情後 11-17日、ステージ IV: 発情後 18-20日) の推定を行った。

1-2. ウシ子宮灌流液の採取

子宮卵管接合部側にポリ塩化ビニール製カテーテルを挿入し、子宮体部側と卵管接合部側をそれぞれ綿糸で縛り固定した。これに 5 mL シリンジを結合させ、4 mL の 0.1% Bovine Serum Albumin (BSA), 0.1% gentamicin 含 phenol red 不含 Dulbecco's Modified Eagle's Medium / Nutrient Mixture F-12 Ham (DMEM / F-12) を子宮角内へ注入し、優しくマッサージした後、15 mL の遠沈管に回収した後、実験に使用するまで -80°C で冷凍保存した。なお、すべての発情周期のステージ (I-IV) の子宮から灌流液を回収した。

1-3. 精子の調整

あらかじめ 0.1% BSA および 0.1% gentamicin 含 phenol red 不含 DMEM / F-12 を CO_2 培養器内で 2 時間平衡させた。3 個体由来の凍結精液 2 本ずつを 35°C の温湯に 10 秒間浸漬して融解した。精液に培養液 14 mL を徐々に加え、緩やかに転倒混和した。300×g で 5 分間遠心後、上清を除去し、培養液 2 mL を精子ペレットに重層した。その後、運動能を持つ生存精子のみを回収するため、 38.5°C 、5% CO_2 条件下で 2 時間静置し、上清 1.6 mL を別途遠沈管に回収、混濁した。血球計算盤を用いて運動能を有する精子のみを算出し、培養液を用いて 200×10^4 spermatozoa / mL に調整した。

1-4. 精子誘引実験

1-2. で採取した各発情ステージの子宮灌流液区および対照区 (0.1% BSA および 0.1% gentamicin 含 phenol red 不含 DMEM / F-12) を CO_2 培養器内で 2 時間平衡後、トランスウェルインサート内に 150 μL ずつ加えた。24 穴プレーに 1-3. で調整した精子懸濁液を 500 μL 加えた後、インサートを設置した。 38.5°C 、5% CO_2 条件下で 3 時間培養後、インサート内へ誘引された精子数を、血球計算盤を用いて算出した。精子数計測は、インサート内の液体を 20 μ

L ずつ、3 回に分けて行った。この際、二重盲検法を用いてデータに対する観察者バイアスの影響を防いだ。

実験 2. ウシ子宮腺培養上清における精子誘引能の検討

2-1. 子宮腺断片の単離

ステージ I-IV の子宮の内腔を生理食塩水で洗浄後、ハサミを用いて内腔を切開した。医療用メスを用いて子宮内膜の粘膜固有層と筋層の間をそぎ、緻密層およびスポンジ層を 2 g 採取した。

採取した緻密層およびスポンジ層の組織片を、医療用ハサミを用いて約 2 mm 角に細切した。その後、細切した組織片を、4000 unit/mL DNase と 3300 units/mL Collagenase を含む Hank's balanced salt solution (HBSS) 20 mL で懸濁し、 38.5°C で 1 時間酵素処理を行った。酵素処理後の液を 150 μm と 70 μm のステンレス製のメッシュを用いて濾過し、メッシュに残った組織片および細胞を HBSS で十分に洗浄し、70 μm のメッシュ上に残存した子宮腺断片を 50 mL 遠沈管に回収した。

2-2. 子宮腺断片培養

0.1% BSA および 0.1% gentamicin 含 phenol red 不含 DMEM / F-12 で再懸濁した子宮腺断片を 500 個 / mL / well に調整し、24 穴プレートに播種し、 38.5°C 、5.0% CO_2 条件下で 24 時間培養した。培養後に子宮腺断片および培養液を 1.5 mL チューブに回収し、500 ×g、8 分間遠心した。遠心後に上清を別チューブに回収し、実験に使用するまで、 -80°C で冷凍保存した。残りの子宮腺断片ペレットは DNA assay buffer 140 μL で懸濁した。

2-3. 精子誘引実験

2-2. で回収した各発情ステージの子宮腺断片培養上清区および対照区を CO_2 培養器内で 2 時間平衡後、トランスウェルインサート内に 150 μL ずつ加えた。24 穴プレート内へ精子懸濁液を 500 μL ずつ加え、トランスウェルインサートを設置した。1-4. と同条件で培養後、精子数計測を行った。

2-4. DNA assay

2-2. で回収した子宮腺断片を含む DNA assay buffer を超音波組織破碎機で処理し細胞膜並びに核膜を破壊した。標準液には $0.625\text{--}30\ \mu\text{g/ml}$ となるように7段階に希釈したDNAを用いた。測定用サンプルおよび標準液を96穴プレートに $50\ \mu\text{L/well}$ ずつ分注し、続いて蛍光色素 $1\ \mu\text{g/ml}$ Bis-benzimide を $100\ \mu\text{L/well}$ ずつ加え、振とう器を用いて遮光下で10分間反応させた。反応後、分光光度計で蛍光強度を測定した。測定器の励起波長は 356nm 、蛍光波長は 458nm に設定した。サンプル中のDNA量は、標準液の測定値を元に作成した標準曲線より算出した。

実験 3. ウシ子宮内膜組織における子宮腺内部への精子の侵入確認

3-1. 子宮内膜と精子の共培養

ステージ III、IV の子宮内腔を生理食塩水で洗浄し、ハサミを用いて切開した。医療用メスを用いて子宮内膜の粘膜固有層と筋層の間をそぎ、 1cm 角に調整した。組織片を 0.1% BSA および 0.1% gentamicin 含 phenol red 不含 DMEM / F-12 で満たした 3.5cm シャーレに入れて洗浄し、 38.5°C 、 5% CO_2 条件下で30分間培養した。

24穴プレートに、子宮内膜組織片の上皮側を上にして置き、1-3. と同様に調整した精子懸濁液を $100\times 10^4\ \text{spermatozoa} / 500\ \mu\text{L/well}$ となるように入れ、 38.5°C 、 5% CO_2 条件下で3時間培養した。培養後に子宮内膜組織片を 38.5°C の 0.1% BSA および 0.1% gentamicin 含 phenol red 不含 DMEM / F-12 で洗い、子宮内膜組織片表面に付着した余分な精子を除去した。

3-2. ヘマトキシリン染色

2-1. で精子と共培養した子宮内膜組織片を 4% パラホルムアルデヒド PBS に浸漬し、 4°C で固定した。24時間後にPBSで組織片を洗い、段階的な脱水を行った (70% 、 80% エタノールで24時間、 90% 、

100% エタノールで12時間)。子宮内膜組織片内部のエタノールをキシレンに置換後、パラフィンで包埋し、ミクロトームを用いて薄層切片を作製した。薄層切片はスライドガラス上で十分に乾燥させた後、キシレンによる脱パラフィン、エタノールによる段階的な再水和を行った。

子宮内膜組織片および精子の核を染色するために、ヘマトキシリンに15分間浸漬し、 40°C の温湯に10分間浸漬した。その後、超純水に5分間浸漬し、軽く振とうさせ、段階的な脱水を行った (70% 、 90% エタノール1回、 100% エタノールに2回)。エタノールをキシレンで置換し、マウントクイック (DA01, 大道産業, Tokyo, Japan) で封入した。観察は顕微鏡 (FSX100, Olympus, Tokyo, Japan) によって行った。

子宮内膜組織片と精子を共培養し、固定、脱水、包埋したサンプル1個体あたり厚さ $6\ \mu\text{m}$ の薄層切片を6枚作成した。この際、薄層切片を1枚作成するごとに、厚さ $6\ \mu\text{m}$ の薄層切片を10枚送り、同一の子宮腺が含まれないようにした。子宮内膜組織片上皮側から $400\ \mu\text{m}$ までの深さに存在する子宮腺を観察し、精子が入っていた子宮腺を数え、その割合を算出した。さらに子宮腺に存在していた精子を数え、その平均を算出した。この際に、Image-Jを用いて子宮腺腔の面積を測定し、ステージ間での子宮腺腔の面積の合計に差が出ないように子宮腺を選び、観察した。

統計処理

実験結果は平均値±標準誤差平均 (SEM) で示した。パラメトリックまたはノンパラメトリックのいずれのデータになるのか把握するために、各実験区のデータに対して正規性の検定 (Shapiro-Wilk test) および等分散性の検定 (Bartlett's test) を行った。パラメトリックデータに対しては、Tukey's honestly significant difference test を行い、ノンパラメトリックデータに対しては、Kruskal-Wallis 検定およびDunn's test を行った。これらによって子宮灌流液および子宮腺培養上清の精子誘引能、子宮内膜組織および単離子宮腺への精子侵入

について評価した。これらすべての統計解析操作は R を用いた。P<0.05 の時に統計的に有意な差のあるデータとみなした。

結果

実験 1. ウシ子宮灌流液における精子誘引因子の存在確認

ステージ II の子宮灌流液によって誘引された精子数は、対照区と比べて有意に多かった (P<0.05)。一方、他のステージの子宮灌流液は、対照区における精子数と差がみられなかった。また、誘引精子数には発情ステージ間の差が認められなかった (図 1)。

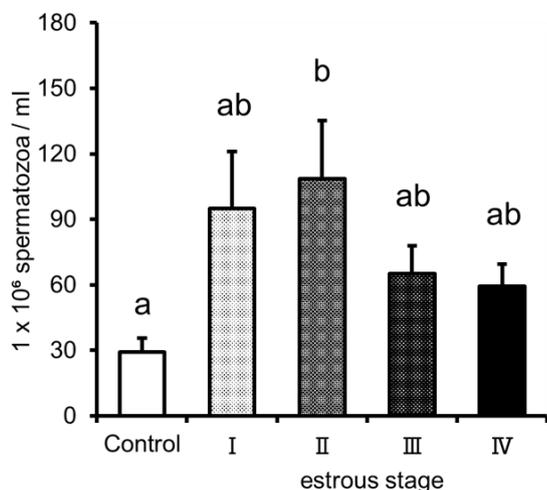


図 1. 発情周期のステージ別に採取した子宮灌流液による精子誘引能

子宮腺灌流液を入れたトランスウェルインサートへの侵入精子数の平均値 ± 標準誤差を示す (n = 10)。ab: P<0.05。

実験 2. ウシ子宮腺培養上清における精子誘引能の検討

ステージ III を除く発情ステージの子宮腺断片培養上清によって誘引された精子数は、対照区と比べて多かった (P<0.05; 図 2A)。さらに、培養した子宮腺数のばらつきをなくすために、子宮腺断片培養上清によって誘引された精子数を DNA 量で割った結果を図 2B に示した。ステージ IV の子宮腺断片培養上清によって誘引された精子数は、ステージ I、III と比べて多かった (P<0.05)。

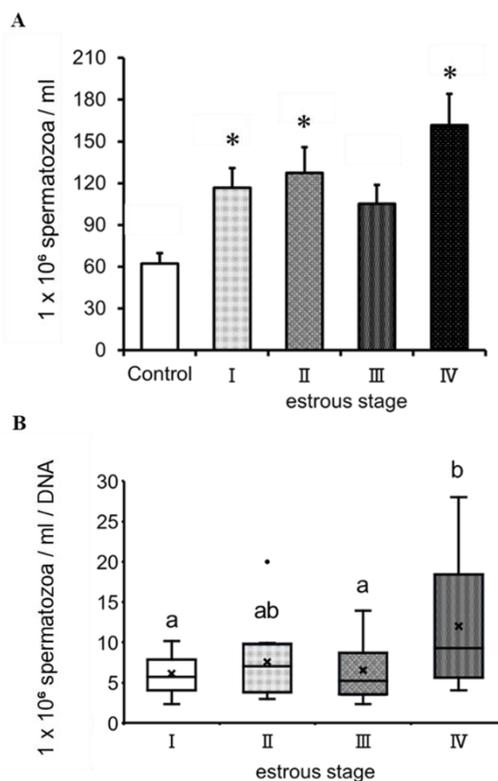


図 2. 発情周期のステージ別に採取した子宮腺断片培養上清による精子誘引能

A. 子宮腺断片培養上清を入れたトランスウェルインサートへの侵入精子数

B. 子宮腺断片の DNA 量あたりの侵入精子数

データは平均値 ± 標準誤差を示す (n = 15)。*: 対照区との間に有意差あり (P < 0.05), ab: P<0.05。

実験 3. ウシ子宮内膜組織における子宮腺内部への精子の侵入確認

子宮内膜に存在している子宮腺、および子宮腺内部に侵入した精子がステージ III、IV とともに確認された (図 3A)。子宮内膜の上皮側から 400 μm 以内の範囲に存在している子宮腺数、子宮腺内部に侵入した精子数、精子が侵入した子宮腺数、および観察した全ての子宮腺に対する精子が侵入した子宮腺の割合には、発情ステージを通して差がみられなかった (図 3B - E)。一方、子宮腺の面積は、ステージ IV と比べてステージ III で有意に大きかった (P<0.05; 図 3F)。また、子宮腺の面積あたりに侵入した精子数は、ステージ III と比較してステージ IV で多かった (P<0.05; 図 3G)。

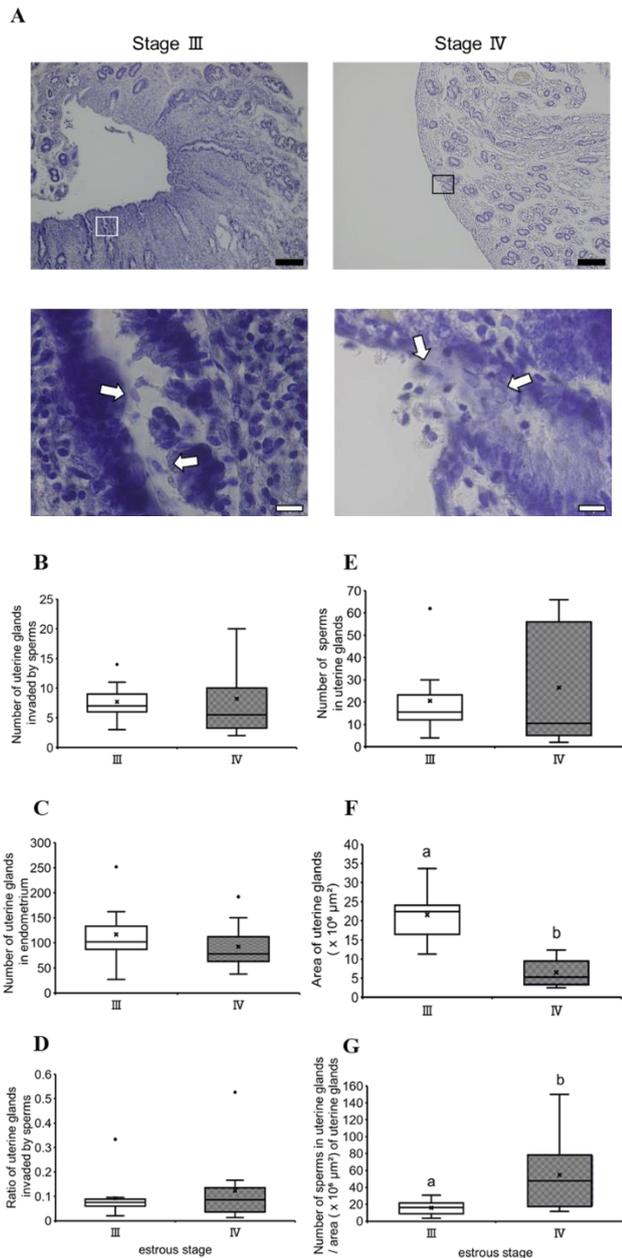


図 3. ステージ III および IV における子宮腺組織への精子侵入数

A. 精子と共培養後の子宮内膜組織片の組織像 (ヘマトキシリン染色)

矢印は子宮腺中に存在する精子を示す。スケールバー (黒) : 200 μm 、スケールバー (白) : 10 μm .

B. 精子の侵入が認められた子宮腺数

C. 子宮内膜組織中における子宮腺数

D. 精子の侵入が認められた子宮腺の割合

E. 子宮腺に侵入した精子数

F. 子宮腺の面積

G. 子宮腺の面積あたりの侵入した精子数

考察

子宮内で、精子は子宮腺内部へ侵入することで、局所的な免疫反応を引き起こす [3]。この現象は排卵前にのみ生じることが報告されているが [4]、詳細なメカニズムは明らかでない。本研究は、排卵前の子宮腺には精子誘引能があるのかという仮説を検証する目的で、各発情ステージの子宮灌流液と子宮腺断片培養上清を用いた精子誘引能および子宮腺への精子侵入について検討した。

過去の研究において、黄体期には精子が子宮内膜表面から離れた位置を移動するために子宮腺へ侵入しないが、排卵前には子宮内膜表面を移動するために子宮腺内部へ侵入することが報告されている [4]。また、この現象は子宮内の局所的な免疫反応を活性化させることで余分な精子を除去し、胚の生育及び着床に適した子宮内環境の構築に役立つと考えられている。しかし、本研究では排卵前に限らず子宮腺は精子誘引能を持つことに加え、実際に子宮内膜組織を用いた実験系において子宮腺内部への精子侵入が生じていることが確認した。我々の研究室では、精子誘引因子として知られる Stromal cell-derived factor 1 (SDF 1)、Natriuretic peptide precursor C (NPPC)、Neurotensin (NTS)、Regulation on activation, normal T cell expressed and secreted (RANTES) が発情周期を通して子宮内膜に発現していることを明らかにしている。発情周期を通じた子宮腺の精子の誘引には上記の因子が関与している可能性が考えられる。また、我々の研究室では、上記の因子の遺伝子発現は発情周期を通して変化していることに加え、特に SDF 1 および NTS の遺伝子発現が排卵前で高いことを明らかにした。子宮内における E 2 や P 4 といった性ステロイドホルモン濃度は発情周期を通して大きく変化しており、子宮腺の機能や形態に影響を与えており [5-7]、子宮腺が持つ精子誘引能も同様に、性ステロイドホルモンの影響を受けて変化している可能性がある。また、排卵前では E 2 が高く、P 4 が低くなっていることから、この内分泌環境が SDF 1 および NTS の遺伝子発現に影響を与えることで、子宮腺の精子誘引能を活性化していることが推察される。

本研究から、ウシ子宮内には精子誘引因子が存在していることが確認された。また、子宮腺は精子誘引能を持ち、特に排卵前において強く作用することが示唆された。今後は、子宮腺の精子誘引に関与している因子を特定し、その発現調節機構および子宮内での働きを明らかにしていく必要がある。

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。

参考文献

- [1] Akthar I, Marey MA, Kim Y, Shimada M, Suarez S and Miyamoto A. Sperm interaction with the uterine innate immune system: toll-like receptor 2 (TLR2) is a main sensor in cattle. *Reproduction, Fertility and Development* 2021; 34, 139-148.
- [2] Ireland JJ, Murphee RL, Coulson PB. Accuracy of predicting stages of bovine estrous cycle by gross appearance of the corpus luteum. *J Dairy Science* 1980; 63, 155-60
- [3] Ibrahim FE, Mohamed AM, Mohammed AZ, Inshan A, Kawai T, Fayrouz N, Wael G, Abdel RA, Rawash, Sasaki M, Shimada M, Miyamoto A. Peptidoglycan switches off the TLR2-Mediated sperm recognition and triggers sperm localization in the bovine endometrium. *Frontiers in immunology* 2021; 11:619408
- [4] Akthar I, Suarez S, Morillo VA, Sasaki M, Ezz MA, Takahashi KI, Shimada M, Marey MA, Miyamoto A. Sperm enter glands of preovulatory bovine endometrial explants and initiate inflammation. *Reproduction* 2020; 159: 181-192.
- [5] Cha J, Sun X, Dey SK. Mechanisms of implantation: strategies for successful pregnancy. *Natural Medicine*. 2012; 18, 1754-1767.
- [6] Das SK., Tsukamura H., Paria BC, Andrews GK. Differential expression of epidermal growth

factor receptor (EGF-R) gene and regulation of EGF-R bioactivity by progesterone and estrogen in the adult mouse uterus. *Endocrinology* 1994; 134: 971-981.

[7] Johannisson E, Landgren BM, Rohr HP & Diczfalusy E. Endometrial morphology and peripheral hormone levels in women with regular menstrual cycles. *Fertility and Sterility* 1987; 48: 401-408.

5-アミノレブリン酸を給与した寄生虫感染ニワトリ盲腸内で増加する乳酸菌種の同定 岡山大学学術研究院環境生命自然科学学域（農）

畑生 俊光

（概要）本研究では、5-ALA 給与及び *E. tenella* の感染が盲腸内細菌叢に与える影響を調査することで、先行研究により示された *E. tenella* 感染鶏に対する 5-ALA の作用機序について考察を深めることを目的とした。供試動物として白色レグホンが、実験原虫として *E. tenella* OPU 株が使用された。7 日齢の幼雛は 5-ALA 群（5-ALA 20 ppm 含有飼料給与：5-ALA）と対照群（通常飼料給与：CT）に群分けされた。ニワトリは 14 日齢時にさらに *E. tenella* 感染群と非感染群に分けられた。原虫感染は、14 日齢時に *E. tenella* 2.5×10^3 オースト/羽の強制経口投与により実施された。変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法による盲腸内の乳酸菌種構成の可視化及び乳酸菌種の同定が行われた。また DGGE により同定された乳酸菌種を特定するために、種特異的プライマーを用いたコロニー PCR が行われた。*E. tenella* 初感染時に *Lactobacillaceae* の増加が認められ、5-ALA 存在下においてその相対存在量が増加した。菌種同定を試みた結果、*E. tenella* 初感染鶏の盲腸内から、*Lactobacillus crispatus* を特定した。これらのことから、5-ALA の給与は、*E. tenella* 初感染時の鶏盲腸内の乳酸菌産生菌の存在量を増加、特に *E. tenella* 感染鶏への 5-ALA の給与は、*L. crispatus* を増加させ、この乳酸菌が *E. tenella* 初感染時に見られる 5-ALA の盲腸の炎症抑制に寄与する可能性が示唆された。

【緒言】5-アミノレブリン酸（5-ALA）は、生物体内に普遍的に存在する天然アミノ酸であり、様々な病原体に対して抑制効果が報告されている。申請者は、ニワトリの壊死性腸炎の原因の一つである腸内寄生虫アイメリア・テネラ（テネラ）感染に対する 5-ALA の摂取による効果をこれまで検証してきた。研究の結果、5-ALA 20ppm 摂取ニワトリにおいては、原虫感染で見られる下痢や血便の緩和や糞便中に排出される原虫数について、初感染時は抑制傾向であること初めて報告した（文献1）。本論文では、組織学的な解析も同時に行い、5-ALA により盲腸における組織炎症スコアが抑制されることを示したが、5-ALA による組織炎症抑制以外の作用機序はいまだ不明であることから腸内細菌叢に着目し検討を行った。細菌の 16S rRNA V4 領域をターゲットとした次世代シーケンス（NGS）解析を行った結果、初感染 5 日目（テネラ感染時に最も激しい腸の組織炎症が生じる時期）の盲腸において、テネラ非感染ニワトリで変化のなかった乳酸菌属細菌がテネラ感染ニワトリ盲腸において増殖し、5-ALA 摂取により乳酸菌属細菌（乳酸菌）の構成比が対照群よりも増大することが示された。文献1で示した組織学

的解析の結果は、組織炎症が抑制されていることから、炎症抑制作用のある腸内細菌が関与している可能性が推測できる。一般的に論文等で報告の多い乳酸菌は、細胞性免疫を増強する菌株の報告が多いが、ニワトリ腸管からは免疫・炎症抑制性の乳酸菌が分離同定された報告がある。これらのことから、5-ALA は、ニワトリ盲腸内でテネラ感染後に増加する乳酸菌が腸管バリア機能などの生体機能を増強させつつ組織炎症を抑制することで、テネラ感染による症状を緩和したと考えた。そこで、テネラ感染に対する 5-ALA の作用機序を明確にすることを最終目的として、盲腸内で増殖する乳酸菌種の特定と特徴を明らかにすることを目指して研究を行った。

【材料と方法】

盲腸内で増殖する乳酸菌の分離：本研究において、合計 20 羽の白色レグホン種ニワトリ幼雛が用いられた。ニワトリは、5-ALA 給与飼育群（5-ALA 群：10 羽）および 5-ALA 非給与飼育群（CT 群：10 羽）に群分けした。ニワトリは、テネラ感染・非感染群にさらに分けて飼育した（4 群、各群 5 羽）。5-ALA 給与は、7 日齢の幼雛に通常飼料

(はぐくみ大雞) 1 kgに対してミトコンパワー (キヤンファーマ、5-ALA 含有飼料) 2g を添加した後よく混和させた試験飼料 (5-ALA 20ppm 含有) を実験終了時まで給与した。テネラ感染は、14 日齢のテネラ感染群に成熟オースト (*E. tenella* OPU 株) 1×10^4 個/羽を強制経口投与することで行った。テネラ感染鶏は、感染後 5 日目に過剰量の麻酔で不動化処置した後、断頭によりと殺した。と殺後、盲腸を無菌的に採取し、盲腸内容物および表層粘液層を滅菌綿棒および滅菌スパーテルにて搔爬することで内容物および表層粘液層を回収した。回収した盲腸内容物および表層粘液層は滅菌生理食塩水で懸濁後、乳酸菌用寒天培地 (MRS 寒天培地) に播種し、嫌氣的に 37°C で 24 時間培養することによって乳酸菌のコロニーを得た。得られたコロニーは乳酸菌用液体培地 (MRS 液体培地) にて継代培養し、使用まで -80 度で保存した。乳酸菌の判別は、MRS 寒天培地上に認められたコロニーを用いた乳酸菌特異的プライマーを用いた Direct colony PCR により行った。

乳酸菌特異的プライマーを用いた PCR-DGGE 法および定量 PCR による盲腸内乳酸菌属細菌の同定・定量：ポリメラーゼ連鎖反応法 (PCR 法) により、16S rRNA ユニバーサル領域、16S rRNA 乳酸菌種特異領域、細菌種特異領域の遺伝子が増幅された。PCR は、T100™ Thermal Cycler (BioLabs, New England, USA) を用いた。PCR の反応液は以下のとおりである。OneTaq® Standard Buffer (BioLabs, New England, USA)、dNTPs : 200 μM、F プライマーと R プライマー : 各 0.2 μM、OneTaq® DNA Polymerase : 25 units / 50 μl reaction (BioLabs, New England, USA)。本研究に使用したプライマーを表 1 に示す。

DGGE は、DCode universal mutation detection system (Bio-Rad, Hercules, CA) を用いて行われた。DGGE に用いられたゲルは、16 cm × 16 cm × 1 mm の、30%-50%の変性勾配を持つ 6%ポリアクリルアミドゲルである。各サンプルは、60 °C、150V の条件で 6 時間電気泳動された。泳動後のゲルは超純水で 15 分間リンス後、SYBR® Green (Lonza, Basel、

Switzerland) で 15 分間染色し、UV 透過照明家でバンドパターンを確認した。乳酸菌種の同定は、電気泳動後のゲルから増減の観察されたバンドから抽出された DNA を塩基配列解析することにより行われた。ゲルから抽出された DNA は、Lac1-Lac2 プライマーを用いて PCR 増幅された後、増幅産物を Wizard® SV and PCR Clean-Up System (Promega, Madison, USA) を用いて精製した。抽出された DNA の塩基配列はサンガーシーケンス法により解析された。乳酸菌種の同定は、取得された塩基配列情報を基に、BLAST データベースを用いた相同性検索をすることで行った。

表 1 : 本研究で用いたプライマー

標的領域および標的種	プライマー名	配列 (5'-3')	PCR条件	参考文献
16S rRNAユニバーサル領域	63f 907R	CAGGCTAACACATGCAAGTC CCGTCAATTCCTTTRAGTTT	94 °C 5分	} 30f イクル [23, 24]
			94 °C 1分	
			90 °C 1分	
			72 °C 1.5分	
16S rRNA乳酸菌種特異領域	Lac1 Lac2	AGCAGTAGGGAATCTCCA ATTTGACCGCTACAGTG	94 °C 2分	} 35f イクル [25]
			94 °C 30秒	
			61 °C 1分	
			68 °C 1分	
<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	LF-1 LF-2	AATACCGATTACAACCTTG GGTAAATACCGTCAACGTA	94 °C 5分	} 35f イクル [26]
			94 °C 1分	
			90 °C 1分	
			72 °C 10分	
<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	Lfer-3 Lfer-4	ACTAATCTGACTGATCTACGA TTCACTGCTCAAGTAATCATC	95 °C 1分	} 40f イクル [27]
			95 °C 1分	
			60 °C 15秒	
			72 °C 30秒	
<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	F_ferm_IS R_ferm_IS	AACCGAGAACCCGCTTAT ACTTAACTTACTGATGATGACGTCA	94 °C 5分	} 40f イクル [28]
			94 °C 30秒	
			88 °C 30秒	
			72 °C 5分	
<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	tuf-ferm-F tuf-ferm-R	GTTTCGCGAGTACTGTTCCGG GTTTCTCAGCAGCAATCCAA	94 °C 1.5分	} 35f イクル [29]
			85 °C 30秒	
			63 °C 30秒	
			72 °C 1分	
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	LDb-F LDb-R	TACTGTTAAGGTTGGCGACAGT TGTAGACTTGGCCTGAAAGT	94 °C 5分	} 40f イクル [30]
			94 °C 35秒	
			55 °C 30秒	
			72 °C 7分	
<i>L. delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	Bulgaricus_F Bulgaricus_R	TACCCTGTTTGTCTCAAGG TATGCTTCGTGAGCGAFTT	95 °C 2分	} 30f イクル [31]
			95 °C 30秒	
			60 °C 30秒	
			72 °C 5分	
<i>L. delbrueckii subsp. lactis</i>	Lactis_F Lactis_R	TTG TGC AAG AGC CAG CTG AA GCC GCC ATT ACT GAA GTG GA	95 °C 2分	} 40f イクル [31]
			95 °C 30秒	
			60 °C 30秒	
			72 °C 5分	
<i>L. delbrueckii subsp. delbrueckii</i>	Delbrueckii_F Delbrueckii_R	CATGGAACTTTCGCAAGGT TAGATCGGAGCTTGTCCAC	95 °C 2分	} 40f イクル [31]
			95 °C 30秒	
			60 °C 30秒	
			72 °C 5分	
<i>Weissella paramesenteroides</i>	Wp7H Wp201r	GCTCTGAAAGTATTATCTGACA AACCATCGGGTGTGGTA	95 °C 2分	} 40f イクル [32]
			95 °C 15秒	
			57 °C 20秒	
			72 °C 15秒	
<i>Lactobacillus crispatus</i>	(F) (R)	GATTACTTCGGTAAGCATGTAAGA AGTGATCATGCGATGCTTTC	95 °C 5分	} 40f イクル [33]
			95 °C 1分	
			62 °C 1分	
			72 °C 5分	

【結果】鶏盲腸便内の乳酸菌種構成が DGGE によって視覚化、観察された (図 1)。 *E. tenella* 感染群のアンプリコンライブラリを鋳型とし、63f-907R、Lac1-Lac2GC プライマーを用いた nested PCR により調整されたサンプルを用いた DGGE では、5-ALA 群、CT 群間に特徴的なバンドパターンの違いは観察されなかった。また、電気泳動後のゲルから 10 個のバンドが切り出され、それらから抽出された DNA の塩基配列解析により、9 つのバンドから塩基配列が読まれた。具体的には、バンド 1、2、6、7 は *L. fermentum*、バンド 4 からは *L. delbrueckii*、バンド 10 は *W. paramesenteroides* が同定された (図 1A)。

E. tenella 群の盲腸便抽出 DNA を鋳型とし、63f-907R、LacI-Lac2GC プライマーを用いた nested PCR により調整されたサンプルを用いた DGGE では、アンプリコンライブラリを鋳型として用いた場合の結果と同様に、5-ALA 群、CT 群間に特徴的なバンドパターンの違いは観察されなかった。また、電気泳動後のゲルから 9 個のバンドが切り出され、それらから抽出された DNA の塩基配列解析により、全バンドから塩基配列が読まれた。具体的には、バンド 5 からは *L. crispatus*、バンド 4 からは *W. cibaria*、バンド 8 からは *L. reuteri* が同定された (図 1 B)。

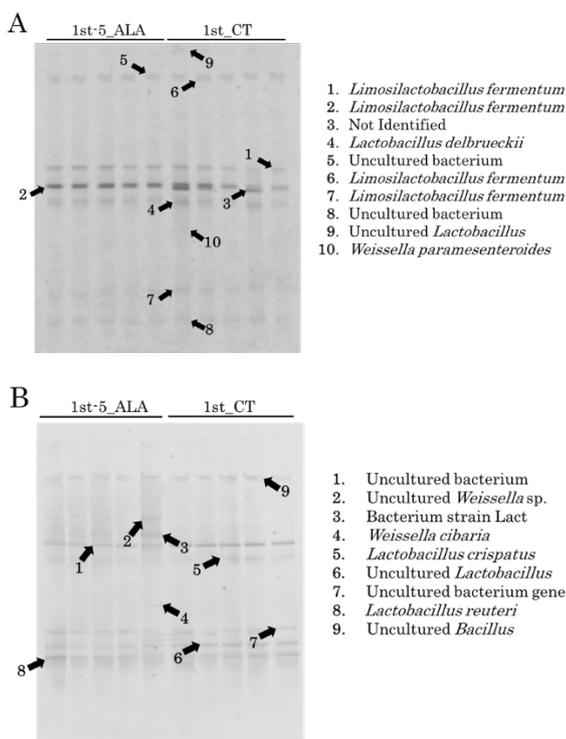


図 1 : DGGE 法による乳酸菌種の同定 : A) アンプリコン・ライブラリを鋳型に用いた DGGE 法の電気泳動パターンと同定された菌種、B) 盲腸便より調整した DNA を鋳型とした DGGE 法の電気泳動パターンと同定された乳酸菌種。

E. tenella 群の鶏盲腸便抽出 DNA を鋳型とした、*L. crispatus* 特異的プライマーによる *L. crispatus* の標的遺伝子の増幅が確認された (データ未掲載)。種特異的 PCR に用いられたこれ以外のプライマーでは、標的遺伝子の増幅が確認されなかった (データ未掲載)。また、4 つの *L. fermentum* 特異的プライ

マーの中で、LF1-LF2 を用いた場合のみ、陽性対照として用いた *L. fermentum* JCM1173 株から標的遺伝子の増幅が確認された (データ未掲載)。これらの結果に基づいて、*L. fermentum*、*L. crispatus* の 2 菌種を標的として、LF1-LF2、*L. crispatus* 特異的プライマーの 2 つを用いたコロニー PCR を行った結果、*L. fermentum* は、任意に選択した 129 コロニー中 0 コロニーであった。*L. crispatus* を標的としたコロニー PCR の結果、*L. crispatus* は、任意に選択した 100 コロニー中 72 コロニーが陽性であった。72 コロニーの内訳は、5-ALA 群から選択された 50 コロニーから 31 コロニーが、さらに CT 群から選択された 50 コロニーから 41 コロニーが *L. crispatus* 陽性であった。

【考察】*E. tenella* 感染群鶏盲腸便から調整されたアンプリコン・ライブラリからは、*L. fermentum*、*L. delbrueckii*、*W. paramesenteroides* の 3 菌種が同定され (図 1 A)、1st 群鶏盲腸便の抽出 DNA からは、*L. crispatus*、*W. cibaria*、*L. reuteri* の 3 菌種が同定された (図 1 B)。これらの DGGE の結果から、上記 6 菌種のいずれかが、5-ALA が持つ、*E. tenella* 初感染時の盲腸組織の炎症抑制作用に関与する可能性が示唆された。しかしながら、コロニー PCR の結果、*L. fermentum*、*L. delbrueckii* については検出できず、5-ALA 群と CT 群両方から *L. crispatus* のみが検出された。*L. crispatus* が腸群から検出されたことから、各群から検出された *L. crispatus* の菌株による性質の違いが病態形成に関与している可能性が示唆された。

【参考文献】

- 1) Hatabu T, Pham HSH, Aota W, Fujino S, Nishihara R, Kawamura G, Sakogawa Y, Taniguchi S, and Matsubayashi M. Reduction of oocyte shedding and cecal inflammation by 5-aminolevulinic acid daily supplementation in laying hens infected with *Eimeria tenella*. *Animal Science Journal*. 2023 94: e13806. <https://doi.org/10.1111/asj.13806>

植物の他感作用による自家中毒とその緩和機構

岡山大学学術研究院環境生命自然科学学域・大学院環境生命自然科学研究科

三村 真紀子・田村 朝陽

多くの植物は地下部から化学物質を滲出し他個体と競合する。根からの滲出物は他種だけでなく自種の種子発芽や成長に影響を及ぼし、自種の繁殖を抑制する所謂「自家毒性」が起こす場合がある。しかし、野外では多様な種が密度の高い集団を形成しているおり自家毒性があるようには見えない。自家毒性は自然界でよく見られる現象なのか。あるいは自然環境では自家中毒を緩和するメカニズムが存在するのか。本研究では、オオバコ属を用いて、血縁関係・競争条件・共生菌（アーバスキュラー菌根菌）の有無による自家中毒の程度を測定することで、自然環境下で自家中毒を定量し、緩和要因を検証した。今回検証したすべての身近な草本種（オオバコ属3種、アキノキリンソウ属2種）で自家中毒が検出された。オオバコでは同種他個体との競争条件および共生菌の有無によって応答が異なり、オオバコでは共生菌がないとき血縁間の競争が激化する一方、共生菌がいるときは血縁間の競争を避ける傾向にあった。この競争土壌における実生への自家毒性を検証したところ、競争を経験していない土壌では強い自家毒性の影響をうけたが、共生菌がいるまたは他個体と競争・共存を経験した土壌では自家毒性が緩和された。自家中毒は身近な草本植物で普遍的にみられる傾向がある一方、周辺の他個体の存在や共生菌の有無が自家毒性の緩和に作用にしていることが明らかとなった。

はじめに

植物は個体間において、揮発性物質や根滲出物などの化学物質を介して相互作用している (Wang et al., 2021)。このような植物間相互作用は総称してアレロパシーと呼ばれる。アレロパシーの効果として成長抑制 (Bennion and Ward, 2022) や発芽阻害 (Yuan et al., 2022) といった負の効果が多く報告されている。アレロパシーの成長抑制効果は他種に対してのみに限らず、同種にも作用する自家毒性が報告されており、連作障害といった農業上の問題の要因のひとつとなっている (Xiang et al., 2022; Yang et al., 2015)。

しかし、自家毒性は自然環境において一般的に見出される現象なのだろうか。自然環境において草本種はパッチ状に密集して生育することが多く、自家毒性は局所的な個体群形成に不利に働くと考えられる。そのため、もし自家毒性が一般的にみられる現象であるなら、野外では何らかの自家毒性緩和機構が存在していると考えられる。在など、多様な要因の影響を受けると予測される。アレロパシー物質による自家毒性の制御に関わる要因のひとつとして、

自己認識機構 (Dudley & File, 2007) が挙げられる。植物における自己認識は近年報告が増加しており、競争 (Falik et al., 2003) や種子発芽 (Yamawo & Mukai, 2017) に効果をもたらす。さらに、自然環境では他の生物と隣接して生育している場合が多く、種内競争や共生菌の存在といった密接に相互作用する生物の存在も自家中毒に作用を及ぼすかもしれない。

本研究では、自家毒性の緩和に働く要因として血縁関係、同種他個体の存在、共生菌に着目し、草本種における自家毒性に関わる近隣環境の影響を検証した。とくに、以下の3つの問いを検証する；1) 野生草本種において、自家毒性は一般的な現象か？ 2) 自家毒性は血縁認識や集団内多様性に影響を受けるか？ 3) 自家毒性は土壌共生菌の存在及び周辺個体との競争や共存に影響を受けるか？これらの問いに答えるため、主に全国に分布する草本種であるオオバコを用いて、異なる条件（血縁度、種内競争、共生菌の有無）において発芽実験及び栽培比較実験を行った。

材料と方法

実験1) 自家中毒の一般性の検証

自家中毒が身近にみられる野生植物に起こりうるか検証するために、アレロパシー効果の汎用的なサンドウィッチ法 (Fujii et al. 2004) で検証した。サンドウィッチ法とは、寒天培地でアレロパシー物質の供与源 (一般的には乾燥葉) を挟み込み、上に受容側の種子をおき、その幼根長を測定することで種子に対するアレロパシー効果を検証するものである。オオバコ、ヘラオオバコ、ツボミオオバコ、アキノキリンソウ、セイタカアワダチソウの種子を受容側とし、アレロパシー物質の供与側として同属別種や周辺に生育するセイヨウタンポポ、シロツメクサを用いた。対照区として同量のろ紙を挟んだものも用意した。オオバコ、セイタカアワダチソウ、アキノキリンソウは 25 度、16/8h 明暗条件で、残りは 20 度、16/8h 明暗で発芽を観察した。また、発芽 4 日目の実生を取り出し撮影した後、ImageJ を用いて幼根長を測定した。幼根長はアレロパシー効果を検証するために一般的に用いられる指標である。

実験2) 自家中毒における同種他個体の血縁度と多様性の影響

ここでは、オオバコを対象として、実験1と同様にサンドウィッチ法を用いたが、供与側として同じ種の異なる血縁度の個体の乾燥葉を用いた。供与側は、対照区としてろ紙 (対照区)、母個体を同じくするきょうだい区、異なる母個体からの非きょうだい区、異なる3つの母個体から採取した葉を混合した非きょうだい混合区を設定した。実験1と同様に、発芽率と幼根長を測定した。

実験3) 競争・共存における自己識別の検証

オオバコ属では同じ種の個体が密集してパッチ状に分布するため、他個体と隣接して生育する。ここでは、異なる遺伝子型の2個体を同じポットで栽培し、競争・共存環境を模すことで競争・共存相手を識別して応答を変化させるか検証した。自己識別には他個体からの滲出物 (アレロパシー物質) が関わると考えられる。

プラスチックポット (総容量 570ml) にオートクレーブで滅菌した培養土 200g を充填し、共生菌区

にはポットあたり 2g (株あたり 1g) のアーバスキューラー菌根菌を無菌土壌 200g に混合した。競争条件として、単体と2個体間競争を設定した。単体区と2個体同時育成区で個体あたりの資源量が同じになるように、単体区ではポットの中央にプラスチック版で敷居を設けた。2個体間競争条件は、それぞれ同じ母個体から採集した種子から育成したきょうだい個体、異なる母個体から採取した種子から育成した非きょうだい個体の組み合わせの2個体を一つのポットに植えた。また、非きょうだい個体として異なる集団から採集した個体も用いた。競争実験では、きょうだい競争、非きょうだい競争、異なる集団から得た非きょうだい競争の3条件を設定した。競争区では2個体をポットの左右に移植した。すべて滅菌した培養土で30日間育成したものを実生を用い、移植から30日間経過したあと、株を取り出し、地上部・地下部の乾燥重量を求めた。共生菌の有無・競争条件のすべての8組み合わせでそれぞれ18反復行った。灌水には滅菌水を用いた。

実験4) 競争・共存土壌における自家中毒の検証

実験3の競争土壌に片方の個体と同じ母個体をもつきょうだい種子をおき、自家毒性の検証を行った。実験3で植物体を除去した土壌を50ml遠沈管に充填し、種子を播種したあと、20度、16/8h明暗期で培養した。土壌条件 (共生菌・競争条件8組み合わせ) ごとに18反復おこなった。

結果と考察

自己毒性は一般的な現象である

サンドウィッチ法にて自家毒性の有無を検証した実験では対象としたすべての種において、ろ紙を挟んだ対照区よりも自種の乾燥葉を挟んだときのほうが幼根長が著しく抑制された (図1)。これは身近な草本種においてアレロパシー物質による自家毒性は一般的にみられる現象であることを示す。さらにこの自家毒性は、種によって異なるものの、他種からの抑制効果と同等となりうることも明らかとなった (図1)。とくにオオバコ属では、自種にくらべて他種の存在が実生の根の成長を促進することもあることがわかった。これまでアレロパシー効果は、感

受性が高いレタス種子を用いることが多く、今回検証した対象5種でも、レタスの幼根長へ対する抑制効果が報告されている。しかし、受容側が野生植物の場合は、成長を促進することもあることがわかった。このため雑草への抑制効果などを検証するには注意が必要である。いずれにおいても、自種を供与側とした場合、アレロパシー効果は常に抑制的に働き、自家毒性が一貫してみられた。

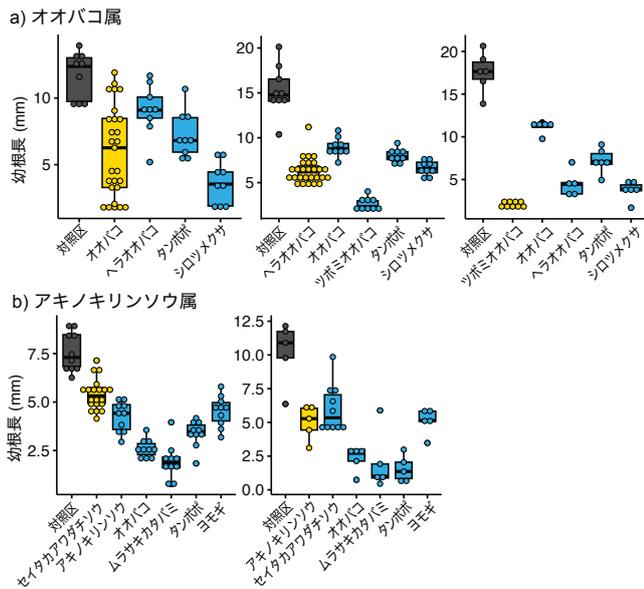


図1. 根からの滲出物が同種の実生におよぼす自家毒性の検証 イエローは受容側の種子とアレロパシー供給側の乾燥葉が同じ時、つまり自家毒性の検証結果をします。対照区（ブルー）にはろ紙を用いた。

血縁度による自家毒性の緩和効果は限定的

オオバコにおける同種きょうだい株、非きょうだい株、非きょうだい混合3株によるアレロパシー効果は、いずれも自家毒性を強く示したものの、血縁度による効果の違いは幼根長には見られなかった（図2a）。この結果は、昨年度行った実験結果と相違する。この理由として、今回の実験では一般性を検証するために異なる地域の3集団からそれぞれ実験を反復したところ、集団間で結果に一貫性が見られなかったことに起因すると考えられる。血縁度の影響を受ける集団と受けない集団が見られた。しかし、発芽速度では処理区間で有意な差が見られ、非きょうだい混合区では、対照区と同等に発芽が進み、きょうだい単体株、非きょうだい単体区よりも発芽が速かった（図2b、ロジスティック回帰、いずれも

$p < 0.001$ ）。早い発芽は、遅い実生よりも早く成長し、より大きな個体サイズを達成するため有利に働く（Orrock & Christopher, 2010）。我々の研究からアレロパシー物質の強度は個体間で異なるがわかっている。他個体が複数存在することで、アレロパシー効果が希釈されることが自家毒性を緩和しているのかもしれない。

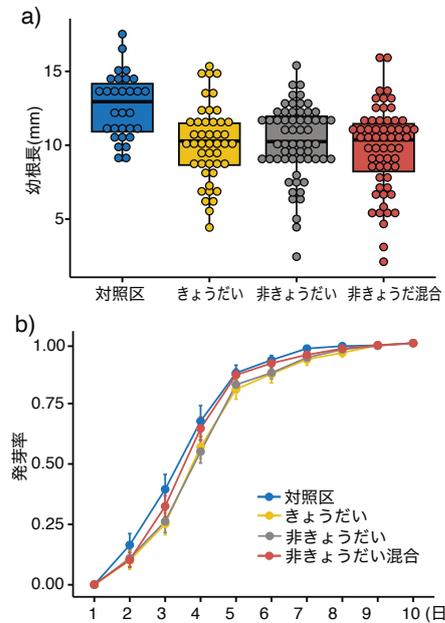


図2. 供与側の血縁度と多様性を操作した自家毒性評価 a) 播種日を0日とした4日目の幼根長、b)発芽率。供与側として、同じ母親株からの実生の乾燥葉をきょうだい区、同じ集団の異なる母個体の実生の乾燥葉を非きょうだい区、異なる非きょうだい個体を3個体混合した非きょうだい混合区を設定した。

競争・共存下における血縁識別とその応答は共生菌の有無によって異なる

オオバコを対象とし、土壌環境下で血縁識別と競争への応答を調べた実験では、無菌条件または共生菌条件のいずれにおいても、総乾燥重量（総生産量）に処理区間で有意差は見られなかった（図3）。しかし、地上部・地下部への資源分割は処理区間で有意に異なり、無菌条件では、競争条件における根への投資（地下部：地上部比）が単体栽培時に比べて低くなっており、特に非きょうだい間で競争するとき、単体区と比べ有意に低くなった（図4a）。オオバコ属における先行研究では、競争が強くなると根への投資を増加させる傾向にある（Berndse and Möller 2009）。つまり、きょうだい間では、単体栽培のときとほぼ同等の投資配分を行うのに対し、非きょうだい

い間のときは根へ投資せず地上部に資源を配分し、地下部での競争を回避する挙動をとったことがわかる。本研究の結果が自然環境でもみられると考えると、きょうだい間では激しく競争し、非きょうだい間では競争しないことを示唆する。オオバコは主に自家受粉自することに加えて、重力散布型種子を生産することから、種子は非常に近縁な個体と隣接する可能性が高く、こうした個体と激しく競争していることは興味深い。血縁個体の方が非血縁個体よりもニッチの類似度が高く、より強い競争関係を持ち (File et al., 2012a)、密度依存的に競争の強度が増していくことが報告されている。非きょうだい間での競争の緩和は、ニッチの類似度がきょうだい間に比べ異なることに帰するかもしれない。

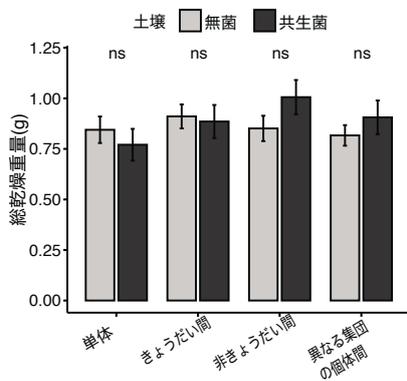


図3. 個体間競争を模した実験の個体あたりの総乾燥重量
無菌土壌と共生菌土壌（アーバスキュラー菌根菌を混合したもの）で栽培した。資源量を競争条件と同じにして栽培した単体個体（単体）、同じ母親株からの実生（きょうだい間）、同じ集団の異なる母個体からの実生（非きょうだい間）、異なる集団の異なる母個体からの実生（異なる集団の個体間）を同じポットに植え、競争条件を模した。ns はそれぞれの条件の無菌土壌・共生菌土壌間のウィルコクソン順位検定の結果で、優位差なし(not significant)を示す。

しかし、共生菌存在下であると、この傾向は逆転し、単体栽培時に比べ、非きょうだい間での競争の時の方が根への投資が高くなった (図 4b)。共生菌がいると、競争が回避される傾向にあるが、非きょうだい間では逆に共生菌存在下で競争が強くなる傾向にあった。共生菌存在下では、植物間において菌根菌ネットワークを介した資源供給が行われる (Ferrol et al., 2019)。共生菌によって資源制限が緩和するため植物の地下部：地上部比は減少する傾向にある (Veresoglou et al., 2012)。本研究において

も単体栽培・きょうだい間競争では無菌土壌よりも共生菌土壌で地下部：地上部比が減少した。血縁個体同士と一緒に栽培すると、非血縁個体同士で栽培した場合よりも菌根菌の成長が促進され (File et al., 2012b)、より強固な菌根菌ネットワークを作る可能性がある。きょうだい間に形成されたより密接な菌根菌ネットワークによる利点が競争を緩和したのに対し、非きょうだい間ではその効果が見られなかったことが示唆される。競争と共生における他個体の識別または自己識別が植物の応答を変えたことが明らかとなった。

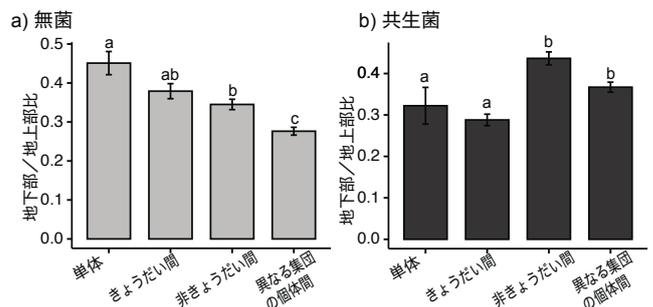


図4. 個体間競争を模した実験の個体あたりの地下部：地上部比
a) 無菌土壌、b) 共生菌土壌。資源量を競争条件と同じにして栽培した単体個体（単体）、同じ母親株からの実生（きょうだい間）、同じ集団の異なる母個体からの実生（非きょうだい間）、異なる集団の異なる母個体からの実生（異なる集団の個体間）を同じポットに植え、競争条件を模した。各バー上部のアルファベットは Tucky 多重検定の結果を示し、異なるアルファベット間には有為な差があることを示す。

競争と共生は実生への自家毒性を緩和するか

競争を経験させた土壌を用いて、そこに残留すると推定される滲出物の発芽種子に対する効果を検証したところ、無菌土壌において、単体栽培よりも競争条件のときに地下部乾燥重量が高かった (図 5)。実生の成長における土壌の競争相手（血縁度）の影響は明瞭ではなかった。また、共生菌の存在下においても、土壌の処理区間において実生への顕著な影響の差は見られなかった (図 5)。この実験では、以前栽培されていた個体の少なくとも片方ときょうだい関係にある種子が播種されている。

競争を経験していない土壌では、共生菌のいない土壌で二世代目実生の成長が抑制されたが、共生菌のいる土壌では抑制効果が緩和された。これは、オオバコにおいて共生菌の存在下で、自家毒性が緩和されていること、前世代に育成していた個体の血縁

度・多様性に関わらず土壌からのフィードバックを均一化することを示す。同様に草本種において、前世代の植物と共生菌との相互作用によって、次世代実生のバイオマスの増加 (Garcia-Parisi & Omacini, 2017) が報告されており、オオバコにおいても共生菌が土壌中でのアレロパシー物質の拡散や効果を減少させ、自家毒性を緩和するメカニズムが働いたと考えられる。

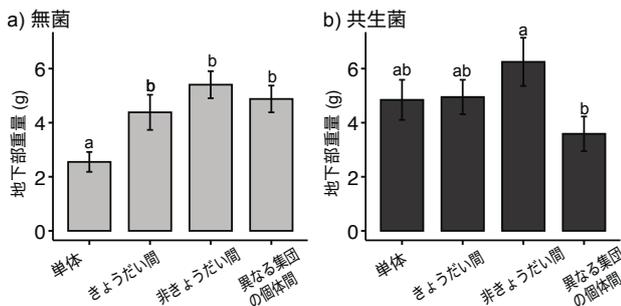


図 5. 競争を経験した土壌における自家毒性の検証 (地下部乾燥重量) a) 無菌土壌、b) 共生菌土壌。図 3 及び 4 で示した競争土壌上に種子を播種し、その実生の地下部重量を計測した。各バー上部のアルファベットは Tucky 多重検定の結果を示し、異なるアルファベット間には有意な差があることを示す。

まとめ

本研究から、自家毒性が一般的な現象であること、またアレロパシー供与側の血縁度、その多様性、さらに共生菌の有無のうち、共生菌の有無が自家毒性の緩和に相対的に強く働くことが明らかとなった。血縁識別による応答の変化は、同じ個体サイズの競争下において顕著にみられ、血縁識別が行われていることが明らかとなった。一方で、血縁関係による自家毒性への緩和の効果は限定的であった。また、複数個体が存在していることが自家毒性を緩和する傾向があることも示唆された。自家毒性の低下には、対象種の遺伝的多様性や共生関係を結びやすい共生菌の有無が重要となると考えられる。

参考文献

Bennion, L. D., & Ward, D. (2022) Plant-soil feedback from eastern redcedar (*Juniperus virginiana*) inhibits the growth of grasses in encroaching range. *Ecology and Evolution*, 12: e9400.

Berendse F. and Möller F. (2009) Effects of competition on root-shoot allocation in *Plantago lanceolata* L.: adaptive plasticity or ontogenetic drift? *Plant Ecology*

201: 567-573.

Dudley, S. A., & File, A. L. (2007) Kin recognition in an annual plant. *Biology Letters*, 3: 435-438.

Falik, O., Reides, P., Gersani, M., & Novoplansky, A. (2003) Self/non-self discrimination in roots. *Journal of Ecology*, 91: 525-531.

Ferrol N, Azcón-Aguilar C, Pérez-Tienda J. (2019) Arbuscular mycorrhizas as key players in sustainable plant phosphorus acquisition: An overview on the mechanisms involved. *Plant Sci.*, 280: 441-447.

File, A. L., Murphy, G. P., & Dudley, S. A. (2012a) Fitness consequences of plants growing with siblings: Reconciling kin selection, niche partitioning and competitive ability. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 279: 209-218.

File, A. L., Kironomos, J., Maherali, H., & Dudley, S. A. (2012b) Plant Kin Recognition Enhances Abundance of Symbiotic Microbial Partner. *PLoS ONE*, 7: e45648.

Fujii, Y., Shibuya, T., Nakatani, K., Itani, T., Hiradate, S., & Parvez, M. M. (2004) . Assessment method for allelopathic effect from leaf litter leachates. *Weed Biology and Management*, 4: 19-23.

García-Parisi, P. A., & Omacini, M. (2017) Arbuscular mycorrhizal fungi can shift plant-soil feedback of grass-endophyte symbiosis from negative to positive. *Plant and Soil*, 419: 13-23.

Orrock, J. L., & Christopher, C. C. (2010) Density of intraspecific competitors determines the occurrence and benefits of accelerated germination. *American Journal of Botany*, 97: 694-699.

Veresoglou, S. D., Menexes, G., & Rillig, M. C. (2012) Do arbuscular mycorrhizal fungi affect the allometric partition of host plant biomass to shoots and roots? A meta-analysis of studies from 1990 to 2010. *Mycorrhiza*, 22: 227-235.

Wang, N. Q., Kong, C. H., Wang, P., & Meiners, S. J. (2021) Root exudate signals in plant-plant interactions. *Plant Cell and Environment*, 44: 1044-1058.

Xiang, W., Chen, J., Zhang, F., Huang, R., & Li, L. (2022) Autotoxicity in *Panax notoginseng* of root exudates and their allelochemicals. *Frontiers in Plant Science*, 13: 1020626.

Yamawo, A., & Mukai, H. (2017) Seeds integrate biological information about conspecific and allopecific neighbours. *Proceedings of the Royal Society B*, 284: 20140800.

Yang, M., Zhang, X., Xu, Y., Mei, X., Jiang, B., Liao, J., Yin, Z., Zheng, J., Zhao, Z., Fan, L., He, X., Zhu, Y., & Zhu, S. (2015) Autotoxic ginsenosides in the rhizosphere contribute to the replant failure of *Panax notoginseng*. *PLoS ONE*, 10: e0118555.

Yuan, L., Li, J., & van Kleunen, M. (2022) Competition induces negative conspecific allelopathic effects on seedling recruitment. *Annals of Botany*, 130: 917-926.

基盤的な左右相称動物、無腸類の胚発生解析/原始脳の分子基盤解明に向けて

岡山大学学術研究院環境生命自然科学学域

中村 遼

脳に代表される中枢神経系は左右相称動物へ分岐以降の新規獲得形質と考えられている。刺胞動物などの前左右相称動物の神経系においても、左右相称動物の脳や神経発生に関わる転写因子や神経ペプチドの発現が見られる。しかし、これらの分子基盤が中枢神経系の獲得過程でどのように進化したかは不明である。本研究では原始的な左右相称動物である珍無腸動物の“原始脳”の分子基盤を精査した。遺伝子発現解析から、神経ペプチドが頭部の神経節に局在することを発見した。また脊椎動物の脳で機能する *Six3*, *Otx*, *Tlx*, *Fez* などの神経発生・分化遺伝子群の発生過程における発現変動を網羅的に解析した。これらの因子は刺胞動物でも発現が見られることから、原始的な中枢神経系の分子基盤は刺胞動物から保存されている可能性が示唆される。今後、これらの遺伝子の機能解析を通じて、脳の遺伝子プログラムの進化的変遷の解明を目指す。

1. 研究背景と目的

多くの左右相称動物は中枢神経系 (図 1 a, Central Nervous System (CNS)) をもつ。申請者はこれまで CNS の進化的起源を探るべく、左右相称動物へ分岐以前の「前」左右相称動物の原始的な神経系の特徴と発生の解析を行ってきた。申請者は、神経ペプチドシグナル及び脳の中枢制御プログラム関連遺伝子といった左右相称動物「CNS 化制御遺伝子」の分子基盤が、CNS 獲得前から一部保存されていることを見出した (1, 2)。例えば、ヒト・マウス視床下部の発生を制御する転写因子 *Orthopedia (Otp)* は、刺胞動物の口側に領域化された咽頭神経系特異的に発現し、その機能阻害は口側神経ペプチド RFamide や神経伝達物質受容体、トランスポーターの発現を抑制し、摂食能の低下を誘導する (1) (論文リバイス中)。このような前左右相称動物から保存された神経系の分子基盤は、どのような進化過程で中枢制御システムへ組み込まれたのだろうか？

CNS 初期進化過程に関する洞察を得るためには、環境応答行動や恒常性の中枢による制御が始まった CNS 獲得後の原始脳の発生メカニズムの解明が鍵となる。本助成を受けて、原始的な左右相称動物として、近年、原始左右相称動物 (3) ないしヒトを含む原始後口動物 (4-6) として新設された珍無腸動物 (図 1a, b)。本種は、瀬戸内海に生息することが報告

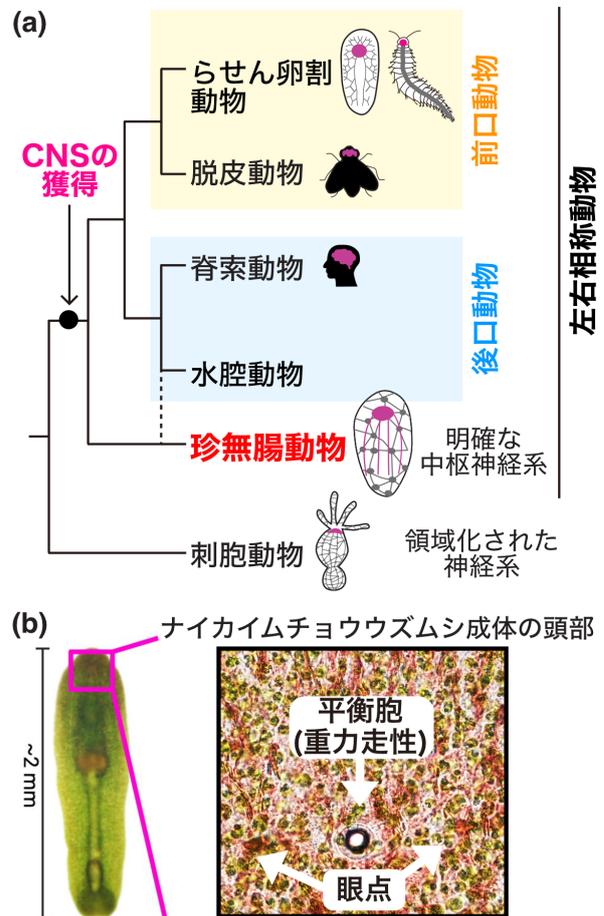


図1 動物の系統と神経系。(a) CNSは左右相称動物へ分岐以降に獲得されたと考えられている。一方、CNS獲得前とされる刺胞動物にも領域化された神経系が存在し、一部の分子基盤が左右相称動物 CNS と共通する。(b) 本研究で用いた珍無腸動物、ナイカイムチョウウズムシ (*Praesagittifera naikaiensis*)。頭部に重力と光を受容する感覚器官を有する。

されており (7)、その頭部は、神経系が集中した構造と重力や光を感じる感覚器官 (平衡胞および眼点) から構成される (8) (図 1b)。本種の“原始脳”が、刺胞動物で見られる領域化された咽頭神経系と比べ複雑な形態を示すことが示唆できる。その原始脳の分子基盤の詳細は未解析のため、本助成を機に、未解析であった原始脳における神経ペプチドの発現や、刺胞動物から保存された転写因子の発現・局在、機能を明らかとすることを目的として研究を遂行した。

2. 方法と結果

2-1 実験動物

珍無腸動物の一種ナйкаイムチョウウズムシ (*Praesagittifera naikaiensis*) は申請者所属の岡山大学臨海実験所周辺の潮間帯に生息し、一年に渡り採集可能である。繁殖期は 10 月から 4 月。実験室内では一定温度下 (夏期 25°C、冬期 14°C)、暗期 12 時間 (明:暗=12 時間:12 時間)、光源には白色 LED を用い飼育した。受精卵の飼育は、過去の報告を参考に 25°C 暗室飼育で実施した (9)。

2-2 ナйкаイムチョウウズムシ原始脳の解析

in situ Hybridization Chain Reaction (HCR)

申請者は、本種の原始脳の分子基盤を 1 細胞レベルで明らかとするために、将来に本種を用いたシングルセル (核) 解析の実施を計画している。これを視野に原始脳の発現解析を行うにあたり、通常の *in situ hybridization* 法よりも発現感度が高く 1 コピーレベルでの mRNA 局在を精査可能な *in situ HCR* 法の本種への導入を試みた。申請者らはこれまで本種の公開ドラフトゲノム (10) と申請者ら実施の *de novo* アッセムブリ RNA シークエンスデータを用いた相同性探索から、左右相称動物で普遍的な神経ペプチド (ゴナドトロピン放出ホルモン GnRH、カルシトニン Calcitonin 等) や転写因子 (*Six3*, *Otx*, *Tlx*, *Fez*, *Otp*, *POU2-4*, *Uncx*, *Nkx*; いずれも脊椎動物において CNS (脳) の発生に関与) の左右相称動物ホモログを同定しており、これら同定済みの神経ペプチドと神経発生関連転写因子の成体と孵化後幼生における局在を解析した。*in situ HCR* により、成

体期において、2 つの神経ペプチド発現細胞が頭部領域に局在していることを発見した (図 2)。神経ペプチドと GABA 産生酵素 *GAD1* 遺伝子との二重 HCR 解析から、神経ペプチドが GABA 陽性細胞と近接した領域で発現していることもわかった。いずれの神経ペプチドも脳領域の 2 対の神経節に局在しており、原始脳において神経ペプチドの分泌制御が行われている可能性がある。また、頭部におけるこれらの神経ペプチドの発現は孵化後幼生から見られたことから (図 2)、幼生時からある程度集中化した頭部神経系を有することが示唆された。一方で、転写因子を対象とした HCR 解析では、成体、幼生どちらにおいても明確なシグナルが検出できず、技術的な克服が課題となっている。

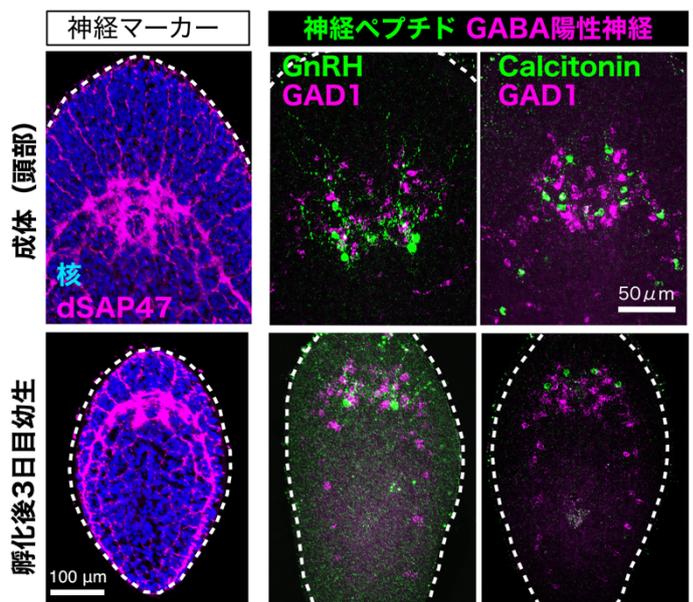


図 2 ナйкаイムチョウウズムシにおける神経系と神経ペプチドの局在 (成体および孵化後幼生)。

右図: 神経系マーカー遺伝子 *dSAP47* の免疫染色により、全身に広がる網目状神経系と頭部に集中する“原始脳”様構造が確認された。

左図: 神経ペプチド GnRH、Calcitonin 前駆体遺伝子および *GAD1* (GABA 産生酵素) の HCR 解析から、神経ペプチド mRNA は幼生期から頭部に局在し、成体期では 2 対の神経節構造に集まり、GABA 陽性細胞と近接して発現していた。

胚発生における神経発生・分化遺伝子の網羅解析

本種の発生過程における遺伝子発現パターンはこれまでに報告がない。神経発生や分化に関わる遺伝子の発生過程における発現タイミングの理解は、神経

発生の分子基盤の理解に重要である。本研究では発生の主要なステージ（卵割期、球胚期、扁平期、孵化後幼生（図 3a）から total RNA を抽出し、bulk RNA シークエンス解析を行った。シークエンス解析から得られた結果を TCseq といった解析プログラムを用いクラスタリングを行い、類似した時系列における発現パターンを示す遺伝子群の特徴の理解を目指した。その結果、左右相称動物の神経分化において重要な *SoxB* や、初期の神経発生、脊椎動物においては CNS 発生に関与することが報告されている *Six3*, *Otx*, *Otp*, *POU3*, *Nkx2.1*, *Alx*, *Vsx* といった転写因子が卵割完了後の回転期に発現が上昇すること、それに伴って、神経ペプチド GnRH, Calcitonin や神経機能に関連する遺伝子 (e.g., 神経伝達物質産生酵素 *GAD* (GABA 産生), *AADC* (Serotonin 産生), *Cholinesterase* (Choline 産生),

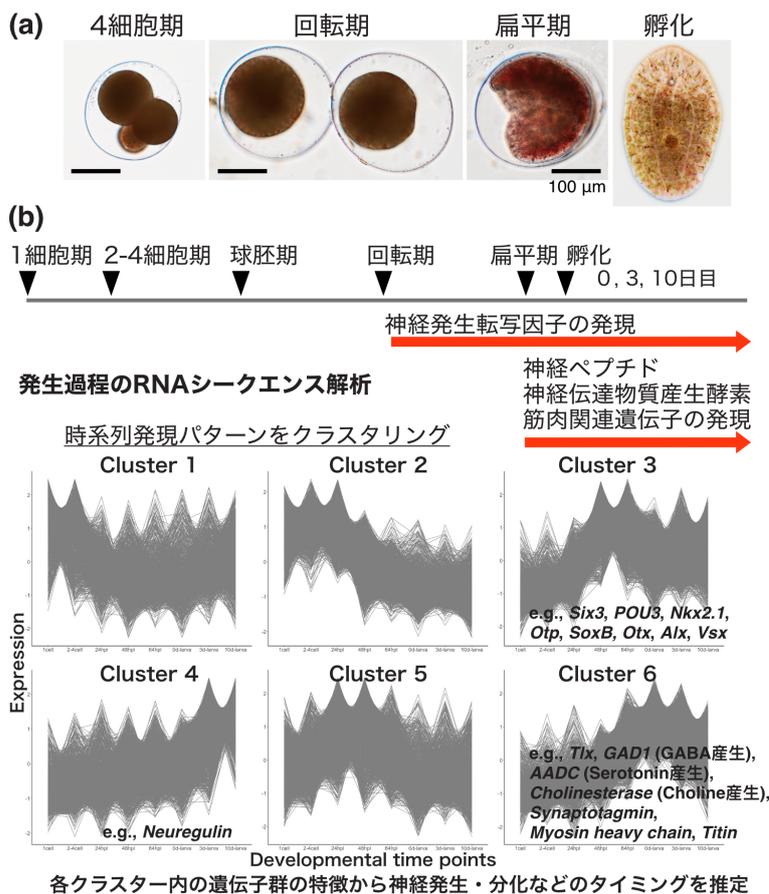


図 3 ナイカイトウウズムシ発生期における遺伝子発現パターンの網羅的解析。(a) ナイカイトウウズムシの発生～孵化後幼生。(b) 卵割初期（1細胞期）から孵化後10日目までにおける遺伝子発現パターンのクラスタリング結果。各クラスターに含まれる遺伝子の一部を記載した。

Synaptotagmin) が発現上昇することがわかった。また筋肉に関連した遺伝子も神経発生関連転写因子の発現の後に起こることがわかり、神経発生・分化→筋分化という順で発生が進むことがわかった。これらの遺伝子発現パターンは、刺胞動物や左右相称動物で報告されたパターンと類似する。

今後クラスタリング結果の詳細をさらに解析するとともに、神経発生関連転写因子に関しては、CNS 化制御遺伝子の候補として、今後機能解析などへ取り組んでいく。遺伝子アノテーションは、近縁種の *Symsagittifera roscoffensis*, ヒト *Homo sapiens* およびハエ *Drosophila melanogaster* の情報を参考にを行った。

CNS 化制御遺伝子の機能解析

本種はトランスジェニックなどの系が確立されておらず、近縁種で報告のある double strand DNA を用いた機能阻害の系に着目し (11)、その確立に取り組んでいるが未だ再現性のあるノックダウン条件の決定はできていない。また刺胞動物で確立されているエレクトロポレーションによる受精卵への small interfering RNA 導入 (2, 12) も試しているが、繁殖期が冬季のみということもあり、十分量の受精卵を得ることと、導入効率の向上と生存率の向上のバランスの決定に苦勞し、安定した系の確立には至っていない。

3. 考察と今後の展望

本研究により、珍無腸動物ナイカイトウウズムシの原始脳において、左右相称動物に保存された遺伝子群が発現していることが示唆された。これは、CNS 進化における遺伝子ネットワークの原型を理解する上で重要な知見である。

発現 (局在) 解析に対しては、前述の通り HCR 解析では解析対象としていた転写因子の発現細胞の検出ができなかった。プローブ位置の変更等いくつかの条件検討を行ったものの改善には至っていない。これは、転写因子のような低発現遺伝子の検出の難しきや、クロマチン構造によるプローブのアクセシビリティの低さが影響している可能性がある。通常の in

situ hybridization 法による検証が今後の課題となる。HCR 法に比べ、1 細胞レベルでの局在は解析不可だが低発現遺伝子の検出に適する可能性がある。またこの打開案として現在、本種成体の頭部・全身にわたる bulk RNA シークエンス解析を実施し、頭部組織で高く発現する発現変動遺伝子の同定を行っている。左右相称動物の脳の発生に関連することが報告されている転写因子 *Six3*, *Otx*, *Tlx*, *POU3*, *Uncx-like* が本種の頭部領域で高発現していることが分かってきた。将来的にはシングルセル解析と組み合わせて、発現・局在パターンの詳細の解明と発現細胞種の特異性を特定を目指す。これらの発現情報は今後の機能解析においての CNS 化制御遺伝子の候補の選定に使う。機能解析に関しても今回成功に至らなかった。今後の解析の肝であるため、実験室内で恒常的に受精卵を獲得できるシステムといった飼育系の改善・検討も含め、引き続き条件検討を行う。

機能解析系が確立できた際は、例えば *Six3* や *Tlx*, *Fez* といった頭部発現遺伝子が神経ペプチドニューロンの分化の制御への関与を検証する。特に *Tlx* や *Fez* は刺胞動物においても領域化された咽頭神経系で発現が見られるため、これらの発現細胞の特徴をシングルセル解析などによって明らかとし、刺胞動物—原始左右相称動物—脊椎動物・節足動物間での発現細胞の特徴と発生基盤の比較を行う。このような分子基盤の動物間比較から中枢化プログラムの保存・分化を明らかにする。

本研究は申請者を中心に、岡山大学牛窓臨海実験所、濱田麻友子教授、坂本竜哉教授と協働で実施した。また 2024 年度は文科省「ダイバーシティ研究環境実現イニシアティブ (女性リーダー育成海外派遣)」へ採択していただき、本関連研究で国際共同研究への発展を目的に 3 ヶ月間渡欧した。今後のさらなる発展へつなげていきたい。

—謝辞—

本研究は、公益財団法人ウエスコ学術振興財団の助成を受けて行われました。ありがとうございました。

4. 参考文献

1. Nakamura R, Nakamura R, Watanabe H. Cnidarian pharyngeal nervous system illustrates prebilaterian neurosecretory regulation of feeding. bioRxiv. 2023:2023.04.05.535675.
2. Hayakawa E, Guzman C, Horiguchi O, Kawano C, Shiraishi A, Mohri K, et al. Mass spectrometry of short peptides reveals common features of metazoan peptidergic neurons. *Nature Ecology & Evolution*. 2022;6(10):1438-48.
3. Cannon JT, Vellutini BC, Smith J, Ronquist F, Jondelius U, Hejnol A. Xenacoelomorpha is the sister group to Nephrozoa. *Nature*. 2016;530(7588):89-93.
4. Philippe H, Poustka AJ, Chiodin M, Hoff KJ, Dessimoz C, Tomiczek B, et al. Mitigating Anticipated Effects of Systematic Errors Supports Sister-Group Relationship between Xenacoelomorpha and Ambulacraria. *Current Biology*. 2019;29(11):1818-26.e6.
5. Schiffer PH, Natsidis P, Leite DJ, Robertson HE, Lapraz F, Marlétaz F, et al. Insights into early animal evolution from the genome of the xenacoelomorph worm *Xenoturbella bocki*. *eLife*. 2024;13:e94948.
6. Mulhair PO, McCarthy CGP, Siu-Ting K, Creevey CJ, O'Connell MJ. Filtering artifactual signal increases support for Xenacoelomorpha and Ambulacraria sister relationship in the animal tree of life. *Curr Biol*. 2022;32(23):5180-8.e3.
7. Hikosaka-Katayama T, Okabe K, Mishima A, Matsuura A, Arimoto K, Shinohara M, et al. Symbiotic Algae of Acoel Species in the Seto Inland Sea and Symbiont Selectivity in the Hosts. *Zoolog Sci*. 2024;41(4):351-62.
8. Sakagami T, Watanabe K, Ikeda R, Ando M. Structural analysis of the statocyst and nervous system of *Praesagittifera naikaiensis*, an acoel flatworm, during development after hatching. *Zoomorphology*. 2021;140(2):183-92.

9. 彦坂(片山), 智恵, 彦坂, 暁, 瀬戸内海産無腸動物 *Praesagittifera naikaiensis* の飼育システム: 広島大学大学院総合科学研究科, 10.15027/39144
10. Arimoto A, Hikosaka-Katayama T, Hikosaka A, Tagawa K, Inoue T, Ueki T, et al. A draft nuclear-genome assembly of the acoel flatworm *Praesagittifera naikaiensis*. *GigaScience*. 2019;8(4).
11. Srivastava M, Mazza-Curll KL, van Wolfswinkel JC, Reddien PW. Whole-body acoel regeneration is controlled by Wnt and Bmp-Admp signaling. *Curr Biol*. 2014;24(10):1107-13.
12. Karabulut A, He S, Chen CY, McKinney SA, Gibson MC. Electroporation of short hairpin RNAs for rapid and efficient gene knockdown in the starlet sea anemone, *Nematostella vectensis*. *Dev Biol*. 2019;448(1):7-15.

可視光を光エネルギー源とするアルデヒドを基質としたエステルおよびラクトン化反応の開発

岡山大学 異分野基礎科学研究所

田中 健太

(概要) エステルおよびラクトンは様々な医薬品や天然物に見られる重要な化学構造である。従来の合成法は主にカルボン酸とアルコールを基質とした化学両論量の縮合剤を用いる手法であった。そのため、多段階の合成ステップを経てカルボン酸を合成する必要があることや、反応終了後に化学両論量の縮合剤由来の廃棄物が副生するといった課題点があった。そのため、より安価で入手可能な基質を利用した廃棄物の副生を抑制する新たな合成手法の開発が望まれている。このような背景から、本研究では可視光を光エネルギー源とした安価に入手可能なアルデヒドを基質とする新たな環境調和型エステル、ラクトン化反応を開発することを目的として研究を行った。その結果、Purple LED 照射下、 BrCCl_3 を臭素化剤として利用することによりアルデヒドとアルコールを原料とするエステル化反応の開発に成功した。

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合成する手法の開発は重要な課題となっている。エステルおよびラクトンは様々な医薬品や天然物に見られる重要な化学構造である。従来の合成法は主にカルボン酸とアルコールを基質とした化学両論量の縮合剤を用いる手法であった。そのため、多段階の合成ステップを経てカルボン酸を合成する必要があることや、反応終了後に化学両論量の縮合剤由来の廃棄物が副生するといった課題点があった(図 1a)。そのため、より安価で入手可能な基質を利用した廃棄物の副生を抑制する新たな合成手法の開発が望まれている。一方、最近ではカルボン酸の前駆体であり入手容易なアルデヒドを原料に用い、酸臭化物を経由したエステルやアミドの合成法が開発されている。本手法では、酸臭化物を発生させるための臭素化剤(例えば、NBS)がアルコールやアミンなどの求核剤と反応してしまうため、酸臭化物を発生させた後に求核剤を加える2段階の合成によりエステルやアミドを合成している(図 1b)。¹⁾

これまでに申請者は穏和な光エネルギーである可視光を用いた様々な合成反応の開発に成功しており、最近では可視光を利用した天然物や生理活性物質に多く含まれるシクロブタンやクロマン類の合成に成功している。²⁾ このような背景から、本研究では可

視光を光エネルギー源とした安価に入手可能なアルデヒドを基質とする新たな環境調和型エステル、ラクトン化反応を開発することを目的として研究を行った。

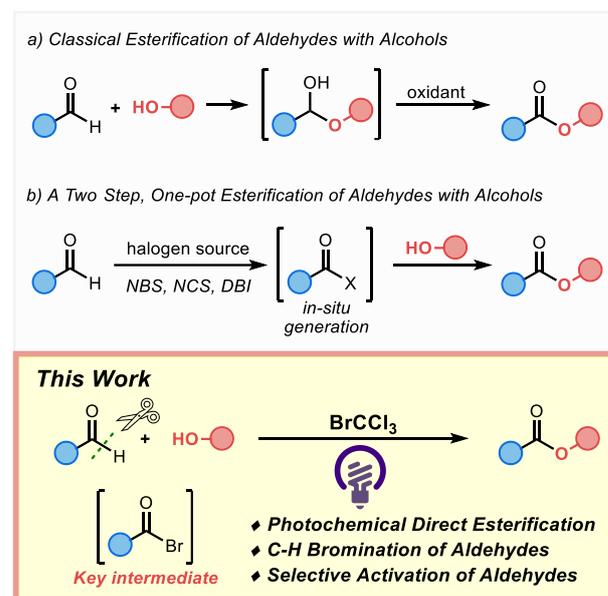
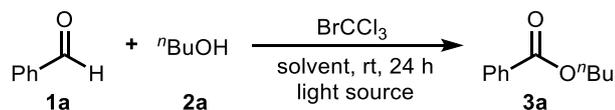


図 1: アルデヒドを原料とするエステル化反応

2. 結果と考察

まず初めに、可視光照射下、 BrCCl_3 を臭素化剤として使用し、ベンズアルデヒド 1a および 1-ブタノール 2a を 24 時間反応させた(図 2)。種々の光源を用いた結果、Purple LED を利用した際に反応が円滑に進行し、目的物 3a を 75%の収率で得ることに成功した。次に種々の溶媒を検討した結果、ジクロロメタンが最も良い結果を示した。また、臭素化剤と添

加しない条件や光を照射しない条件では効率的に反応が進行しなかったことから、本反応は臭素化剤と光照射が必要であることが分かった。



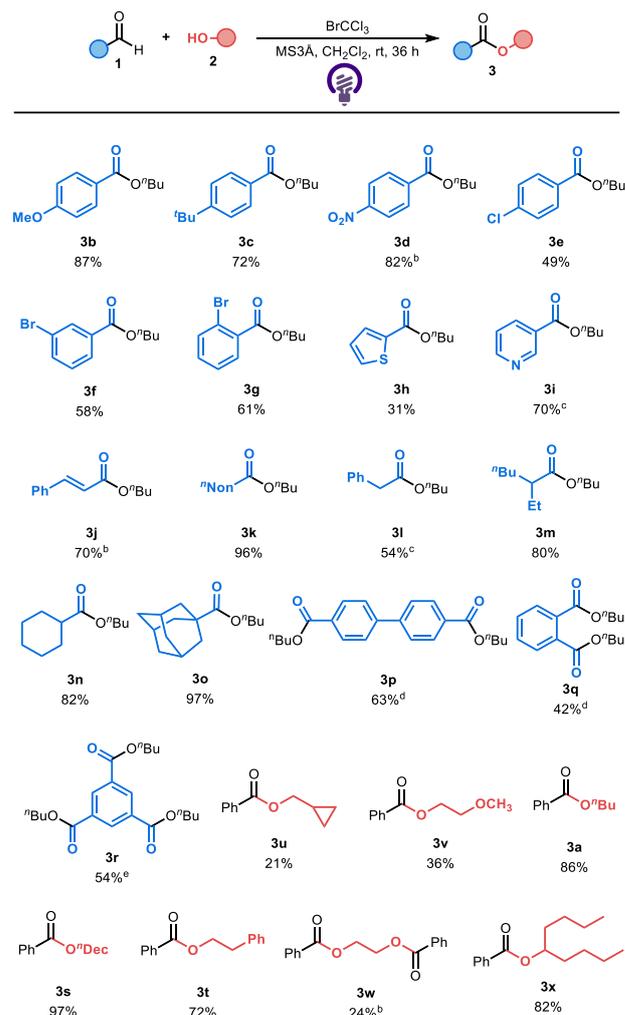
Entry	Light source (nm)	Solvent	Yield (%)
1	425	CH ₂ Cl ₂	10
2	380	CH ₂ Cl ₂	75
3	365	CH ₂ Cl ₂	74
4	380	toluene	18
5	380	CH ₃ CN	15
6	380	hexane	66
7 ^b	380	CH ₂ Cl ₂	64
8 ^c	380	CH ₂ Cl ₂	trace
9 ^d	380	CH ₂ Cl ₂	40
10 ^e	380	CH ₂ Cl ₂	86
11 ^f	380	CH ₂ Cl ₂	0
12	/	CH ₂ Cl ₂	trace

^a All reactions were carried out using benzaldehyde (**1a**; 0.2 mmol), 1-butanol (**2a**; 0.26 mmol), and BrCCl₃ (0.6 mmol) in the specified solvent (2.0 mL) at room temperature under an argon atmosphere and photo irradiation. ^b CBr₄ was used instead of BrCCl₃; ^c CCl₄ was used instead of BrCCl₃; ^d BrCCl₃ (1.0 equiv.) was used. ^e MS3A (50 mg) was added to the reaction at 36 h. ^f Without BrCCl₃.

図 2: 最適条件の検討

続いて様々なアルコールとアルデヒドを用いることにより基質適応範囲を調査した。電子供与基および電子求引基を有するベンズアルデヒドでは円滑に反応が進行した (3b-g)。さらにヘテロ芳香族アルデヒド (1h-1i) やシンナムアルデヒド (1j) も適応可能であった。C-H 活性化が難しい脂肪族アルデヒドにおいても良い収率で目的物が得られた (1k-1o)。機能性材料に見られる多置換エステルにおいても中程度の収率で進行した。第一級および第二級アルコールを含むさまざまな脂肪族アルコールを使用した際に目的のエステルが中~高収率で得られた (3a-3y)。

次に反応機構を調査するために、ラジカル捕捉剤を用いた検討を行った (図 4)。その結果、TEMPO を用いることにより生成物の収量が著しく低下することが分かった。また、アシルラジカルが TEMPO で捕捉された化合物 4a が MS で検出された。即ち、この反応はラジカル反応を介してアシルラジカルを生成していることが示唆された。



^a All reactions were carried out using aldehyde (**1**; 0.2 mmol), alcohol (**2**; 0.26 mmol), BrCCl₃ (0.6 mmol), and MS3A (50 mg) in CH₂Cl₂ (2.0 mL) at room temperature under an argon atmosphere and irradiation from purple LEDs ($\lambda_{\text{ex}} = 380 \text{ nm}$). ^b CBr₄ was used under irradiation with ultraviolet light ($\lambda_{\text{ex}} = 365 \text{ nm}$) for 72 h. ^c NaHCO₃ (1.4 mmol) was added to the reaction. ^d Alcohol (**2**; 1.2 mmol) and CBr₄ (1.2 mmol) were used under irradiation with ultraviolet light ($\lambda_{\text{ex}} = 365 \text{ nm}$) for 72 h. ^e Alcohol (**2**; 1.8 mmol) and CBr₄ (1.8 mmol) were used under irradiation with ultraviolet light ($\lambda_{\text{ex}} = 365 \text{ nm}$) for 72 h. ^f Alcohol (**2**; 0.52 mmol) was used.

図 3: 基質検討



図 4: 反応機構解析

以上の結果より、推定反応機構を示す (図 5)。初めに Purple LED 照射下において BrCCl₃ がホモリシスすることでトリクロロメチルラジカルとプロモラジカルが生成する。トリクロロメチルラジカルはベンズアルデヒドの C-H 結合を開裂することでアシルラジカル A を形成し、これが BrCCl₃ と反応すること

でアシル臭化物 B が生じる。最後に 1-ブタノールの付加により目的のエステルが得られたと考えられる。

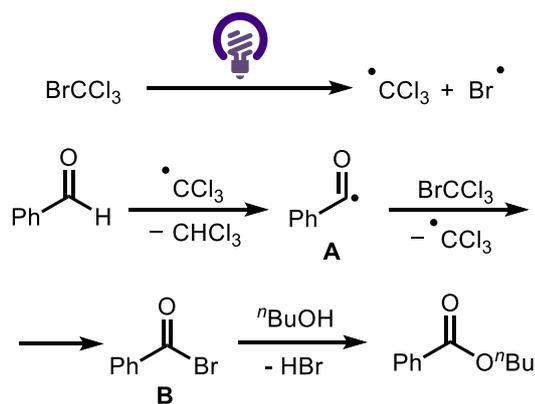


図 5: 推定反応機構

3. まとめ

本研究では、Purple LED 照射下、 BrCCl_3 を臭素化剤として使用し、アルデヒドおよびアルコールを原料とするエステル化反応の開発に成功した。³⁾ 本反応は芳香族アルデヒドのみならず脂肪族アルデヒドにも適応が可能であり、幅広い基質に適応可能であることが分かった。今後は、分子内によるラクトン化反応へ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) Cheung, Y. *Tetrahedron Lett.* 1979, 40, 3809-3810 (a) Y.-D.; Kwon, M. T. La and H.-K. Kim, *New J. Chem.* 2018, 42, 10833-10841.
- (2) (a) Nohara, S.; Iwai, S.; Yamaguchi, N.; Asada, Y.; Kamiyama, Y.; Tanaka, Y.; Tanaka, K.; Hoshino, Y. *Synlett* 2023, 34, 2525-2529.
 (b) 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.
 (c) K. Tanaka, Y. Asada, Y. Hoshino *Chem. Commun.* 2022, 58, 2476-2479. (d) K. Tanaka,

Y. Iwama, K. Mami, N. Ohtsuka, Y. Hoshino, K. Honda *Org. Lett.* 2020, 22, 5207-5211.

- (3) Ando, H.; Kodaki, S.; Takamura, H.; Kadota, I.; Tanaka, K. *Org. Biomol. Chem.* 2024, 22, 9032-9035.

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 一昂

高等学校数学科では、「データの相対度数を確率とみなしたり、自ら確率を仮定したりし、それを基に複雑な事象の確率や期待値を求め、それを解釈するという一連の過程を遂行できるようにする」ことが目指されているが、このような生徒の姿を目指した教材開発は、十分には行われていないようである。そこで本稿では、生徒がデータの相対度数を確率とみなし、期待値を求め、それを解釈するという一連の過程を遂行することを目指した教材を開発することを目的とした。教材は、期待値を活用して最適な商品の仕入れ個数を決定する最適仕入れの問題（「新聞売り子問題」とも呼ばれる）を題材としてデザインした。高校1年生を対象とした授業の結果、生徒が無意識的にデータの相対度数を確率とみなしていた点を意識化させることができた。また、教室全体で利益の期待値を求め、それを解釈して仕入れ個数を決めることができた。

1. はじめに

文部科学省（2019）では、「日常生活や社会などにおける不確実な事象には、同様に確からしい事象は少ない」（p. 95）ことから、「データの相対度数を確率とみなしたり、自ら確率を仮定したりし、それを基に複雑な事象の確率や期待値を求め、それを解釈するという一連の過程を遂行できるようにする」（p. 95）ことが目指されている。しかしながら、このような生徒の姿を目指した教材開発は、十分には行われていないようである。

そこで本成果報告では、最適仕入れの問題を題材に、生徒がデータの相対度数を確率とみなしたり、自ら確率を仮定したりし、それを基に複雑な事象の確率や期待値を求め、それを解釈するという一連の過程を遂行する教材を開発することを目的とする。なお、本成果報告の内容の一部は、石橋（2024a, 2024b）で発表している。

2. 最適仕入れの問題（新聞売り子の問題）

最適仕入れの問題（新聞売り子の問題）とは、需要が確率や割合で与えられているときに、売れ残りの損失や品切れの損失を最小にするには、どれだけ仕入れればよいかを問う問題である（森村ら、1984）。

数学教育において最適仕入れ問題を題材とした実

践としては、岩田・愛木（2006）と、それを改良した北島・愛木（2017）がある。岩田・愛木（2006）では、コンビニでの弁当の仕入れを題材として、与えられた条件下で仕入れ個数を決定するゲームを開発している。岐阜県教育委員会主催高校数学セミナーに参加した中学3年生から高校3年生まで計33名を対象に、確率や分散の指導もしながら2日間の授業を実施した結果、生徒が利益の期待値が最大となるように仕入れ個数（在庫数）を設定していく様子が確認された。北島・愛木（2017）では、仕入れ個数を変数としていた岩田・愛木（2006）に加えて、売値も変数とすることで、より現実的な設定で考えられるように工夫した。日本女子大学の理学部サマースクールに参加した高校3年生4名を対象に計4時間の授業を実施した結果、生徒がゲームを繰り返すことで、仕入れ個数を決める様子が確認された。その一方で、計算量が多くて時間がかかってしまったために一部のゲームを省略しており、生徒が期待値を活用したかどうかについては、言及されていない。

以上のように、最適仕入れの問題を題材とした中高生対象の授業は2つ報告されているが、いずれも本稿が目標としている一連の過程を遂行してはいない。特に、生徒がデータの相対度数を確率とみなしたり、自ら確率を仮定したりする活動は行われてい

ない。また、北島・愛木（2017）のように、問題設定が複雑すぎると、生徒が期待値を活用できない（しようとしな）。これらのことから本稿では、生徒がデータの相対度数を確率とみなしたり、自ら確率を仮定したりする活動を設定することと、生徒が期待値を活用できるように問題設定を単純化することを考慮して、問題と授業をデザインする。

3. 教材と授業のデザイン

(1) 教材

本稿では、檀（2008）による問題が、目標に合う生徒の活動が期待される、最適仕入れ問題の最もシンプルな版であると考えた。さらに、計算に時間がかかるという北島・愛木（2017）の結果を考慮し、販売個数の種類を少なくして（6個から11個）、問題（図1）を作成した。

問1 あるコンビニでは、300円で仕入れた中華弁当を500円で販売している。過去100日間の販売実績（個数）は次の表の通りである。また、売れ残りは処分する。このとき、1日に何個仕入れると、利益が最大になると期待できるか。

問2 また、売れ残った弁当を翌日200円で販売する（売り切る）とする。このとき、1日に何個仕入れると、利益が最大になると期待できるか。

個数	6	7	8	9	10	11
日数	20	10	30	20	10	10

図1 本稿の授業で扱う最適仕入れ問題

以下では、檀（2008）による問題と、本稿の授業で扱う問題（図1）の違いを述べる。違いは3点ある。まず、個数と日数を変更した。前述の通り、販売個数の種類を少なくすることで計算量を少なくすることと、日数の合計を100日、各個数の日数を10の倍数にすることで、生徒が、相対度数を確率とみなしやすいうようにした。次に、檀（2008）の問題文中の「過去の売上データは表の通りであり、今後の需要は変わらないと仮定する」のうちの、「今後の需要は変わらないと仮定する」を削除した。その理由

は、本稿の授業では、生徒自らが相対度数を確率とみなし、今後の需要は変わらないと仮定することを目指しているからである。そして、檀（2008）の問題文中の「利益を最大化する最適な仕入れ量はいくらか」を、「1日に何個仕入れると、利益が最大になると期待できるか」という表現に変更した。その理由は、1日の仕入れ量を問うていることを明記した方が、生徒が何を求めなければならないのかがわかりやすくなると考えたからである。

問1の正答は、8個である。過去100日間の販売実績から、8個すべて売れる確率は70%、7個しか売れない確率は10%、6個しか売れない確率は20%である。したがって、売上の期待値は $500 \times 8 \times 0.7 + 500 \times 7 \times 0.1 + 500 \times 6 \times 0.2 = 3,750$ （円）である。一方、原価は $300 \times 8 = 2,400$ （円）なので、利益の期待値は $3750 - 2400 = 1,350$ （円）である。この8個の時の期待値が、他の個数の時の期待値と比べて、最も大きくなる。問2の正答は、9個である。過去100日間の販売実績から、9個すべて売れる確率は40%、8個しか売れない確率は30%、7個しか売れない確率は10%、6個しか売れない確率は20%である。したがって、定価の売上の期待値は $500 \times 9 \times 0.4 + 500 \times 8 \times 0.3 + 500 \times 7 \times 0.1 + 500 \times 6 \times 0.2 = 3,950$ （円）である。さらに、6個から8個しか売れない時は、200円で売り切る。したがって、割引き時の売上の期待値は $200 \times 1 \times 0.3 + 200 \times 2 \times 0.1 + 200 \times 3 \times 0.2 = 220$ （円）である。一方、原価は $300 \times 9 = 2,700$ （円）なので、利益の期待値は $3950 + 220 - 2700 = 1,470$ （円）である。この9個の時の期待値が、他の個数の時の期待値と比べて、最も大きくなる。

(2) 授業

「データの相対度数を確率とみなしたり、自ら確率を仮定したりし、それを基に複雑な事象の確率や期待値を求め、それを解釈するという一連の過程を遂行できるようにする」（文部科学省、2019、p. 95）ことは、文部科学省（2019）において数学Aの確率単元に位置づけられている。そこで本稿では、図1を教材とする授業を数学Aの確率単元において実施することとする。また、図1は、期待値を未習であ

ればその導入教材として、学習済みであればその活用教材として扱うことができると考える。本稿では、期待値を学習済みの生徒を対象とし、期待値の活用を目標とする。

授業ではまず、図1の問1を提示し、個人で考えさせる。予想される生徒の反応としては、図2の通りである。

- | |
|--|
| <ol style="list-style-type: none">① 利益の期待値を計算し、その値が最大になるときの個数（8個）を答える② 仕入れ値などを考慮せず、その値が最大になるときの個数（8個）を答える（$6 \times 0.2 + 7 \times 0.1 + 8 \times 0.3 + 9 \times 0.2 + 10 \times 0.1 + 11 \times 0.1 = 8.2$）③ 問題では「売れ残りは処分する」とあるが、実生活では割引して販売すると考え、11個（以上）などと答える④ フードロス削減の観点から、過去100日のデータから6個以上は売れるため、6個と答える⑤ 売り切れによる客の不満の観点から、余ったとしても11個（以上）などと答える |
|--|

図2 予想される生徒の反応

個人で考えさせた後は、周囲と話し合わせ、予想される生徒の反応①と②（図2）を発表させる。そして、「どちらの考えでも、例えば日数20日を確率20%と考えているが、それは良いのか」と問う。この発問は、生徒が無意識的に行っていると想定される、データの相対度数を確率とみなすという活動を意識化させるためのものである。生徒からは、期待値を求めるためにデータの相対度数を確率とみなしているという趣旨の反応があることを期待している。生徒からそのような趣旨の反応が無ければ、教師が、例えば日数20日を確率20%と考えていることを、データの相対度数を確率とみなしていることと価値づけるとともに、データの相対度数を確率とみなすことは中学校第一学年で学習している（文部科学省、2018）ことを伝える。

次に、教室の中に、実際のコンビニでは売れ残りを割引して販売していることに言及している生徒

（図2の反応③）がいたことを紹介し（そのような生徒がいなければ教師が示し）、問2（図1）を提示する。そして、「売り切るとすれば、問1の場合よりも多く仕入れた方が良さそうか。それとも少なく仕入れた方が良さそうか」と発問する。生徒は、直感的に、「売り切るのであれば売れ残る時よりも多く仕入れた方が良さそうだ」と考えることが予想される。そこで、教師が「売り切る場合には仕入れ個数を増やした方が良さそうということは、個数の期待値ではなく、利益の期待値を計算して判断した方が良さそうですね」と返答し、利益の期待値を計算させ、利益の期待値が最大になるときの個数が9個であることを確認する。

問2を設定した意図は二つある。一つは、問1だけでは利益の期待値で考えることと個数の期待値で考えることのどちらが妥当であるかを判断することが難しいと考えたからである。そこで問2を提示し、「問2では売れ残りを割引して売り切るのに、処分する問1と同じ式で仕入れ個数を決定するのは違う気がする」という考えを引き出し、利益の期待値で考えることに生徒が自ら向かうようにする。もう一つの理由は、生徒全員を本時の目標に向かわせるために、生徒全員が一度は利益の期待値を自分で計算することができるようにするためである。問1のみだと、利益の期待値を計算していない生徒は、利益の期待値を計算した生徒の発表を聞くだけで終わってしまい、自分で計算する機会がない。そこで問1で利益の期待値の計算を確認した後に、問2でも利益の期待値を計算させる機会を設けることで、問1では利益の期待値を計算しなかった生徒も、問2において自分で計算することができると期待される。

最後に、期待値の解釈として、期待値の最も高い個数を仕入れ個数とする考えを確認する。さらに、反応④や⑤（図2）のように考えている生徒がいたことを紹介し、実際の仕入れでは客の心理なども考慮することを伝える。これは、図1では扱わなかった機会損失の考えを紹介するためである。

以上が問題と授業のデザインである。この授業では、「データの相対度数を確率とみなしたり、自ら確率を仮定したりし、それを基に複雑な事象の確率や

期待値を求め、それを解釈するという一連の過程」(文部科学省, 2019, p. 95)のうち、「自ら確率を仮定すること」と「複雑な事象の確率を求めること」は行われない。ゆえに本稿の授業では、生徒がデータの相対度数を確率とみなし、期待値を求め、それを解釈するという一連の過程を遂行することを目指すこととなる。

4. 授業の実際

授業は、平成 30 年告示の高等学校学習指導要領に基づいて学んでいる国立大学附属高等学校 1 年生 31 名を対象に 50 分間で実施した。生徒は高等学校数学 A の「確率」で期待値を学習済みである。授業者はこのクラスの数学科授業を普段から担当している教師である。本稿筆者は授業者に、本稿第 3 章の内容について事前に説明するとともに、授業の進め方などは授業者の判断で適宜修正していただくよう伝えた。授業記録は、教室後方に設置したビデオカメラ一台で行った。また、生徒それぞれが記述したワークシートを授業後に回収した。

授業者はまず、今日はコンビニの売り手の気持ちになって弁当の仕入れについて考えて欲しいと伝え、問題(図 3)が書かれたプリントを配布した。

あるコンビニでは、300 円で仕入れた中華弁当を 500 円で販売している。過去 100 日間の販売実績(個数)は次の表の通りである。また、売れ残りは処分する。

個数	6	7	8	9	10	11
日数	20	10	30	20	10	10

仕入れ個数を好きに決めることが出来るとき、あなたなら 1 日に何個仕入れる？

図 3 授業で提示された問題

問題を教室全体で確認した後、まずは個人で考えさせた。

個人で考えさせた後は、周囲と話し合わせ、普段の授業と同様にランダムに 4 名の生徒を指名した。1 番目の生徒 Fuj は、フードロスの観点から 6 個と答えた。2 番目の生徒 Kaj は、売り切れていたらいからさうだから気持ち多めに 10 個と答えた。3 番目

の生徒 Kan は、最頻値が 8 個であることに言及しながら、1 番目の生徒 Fuj の発表を受けてフードロスの観点を考慮して 7 個と答えた。4 番目の生徒 Hai は、個数の期待値と損失を避けるという観点から 8 個と答えた。

生徒 Hai の発表を受けて、授業者は「8.2 って何の期待値？」と発問し、周囲で確認させた。周囲での確認後、授業者が生徒 Kaw に尋ねると、「売れる個数」と答えた。そこで授業者は、8.2 をどのように求めたか、生徒 Hai に発表させた。生徒 Hai が $\frac{2}{10} \times 6 + \frac{1}{10} \times 7 + \frac{3}{10} \times 8 + \frac{2}{10} \times 9 + \frac{1}{10} \times 10 + \frac{1}{10} \times 11 = 8.2$ と答えたことから、授業者は「この $\frac{2}{10}$ って何ですか？」と発問し、周囲で確認させた。周囲での確認後、授業者が生徒 Tak に尋ねると、「100 日の中で何個売れるかの確率」と答えた。この答えに納得していない表情をしている生徒がいたため、授業者は再度、周囲で確認するよう促した。周囲での確認後、生徒 Sak に尋ねると、「確率ではない。割合」と答えた。これを受けて授業者が、中学校第一学年での確率の学習を振り返るよう促すと、ある生徒が「相対度数」と呟いた。そこで授業者は、「今回も期待値を求めるにあたって、相対度数を確率とみなして考えましょう」と伝え、 $\frac{2}{10}$ とは相対度数を確率とみなしたものであることを確認した。

そして授業者は、机間指導において、生徒 Mat が利益の期待値を計算していることを把握していたので、生徒 Mat を指名し、考えを発表させた。生徒 Mat は、利益の期待値を計算して 8 個にしたと答えた。これを受けて授業者は、「利益の期待値？」と板書し、教室全体に利益の期待値を計算するよう指示した。個人で考えさせ、周囲と話し合わせた後、生徒を指名しながら、7 個仕入れる場合と 8 個仕入れる場合は式と答えを確認し、9 個から 11 個仕入れる場合は答えのみを確認した。答えの確認後、6 個から 11 個の全ての場合を振り返らせて、8 個の場合が最も利益の期待が大きいことを確認した。

さらに授業者は「じゃあ皆さんは結局何個仕入れますか？」と発問した。少し考えさせた後、個人思考ではフードロスの観点から 6 個仕入れると考えていた生徒 Fuj を指名すると、生徒 Fuj は「8 個」と

答えた。授業者がその理由を尋ねると、「一番儲けたいから」と答えた。さらに授業者が「フードロスとか言ってなかったけ?」と尋ねると、生徒 Fuj は「そんな変わらないかなと思って」と答えた。このようなやり取りの後、授業者は本時のように期待値を判断に活用してほしいと伝え、授業のまとめを「期待値を活用するなかで、相対度数を確率とみなして考えた」と板書した。

最後に教師は、本時の振り返りとして、ワークシートに「今日の授業でわかったこと、もっと考えてみたいこと」を書くよう指示し、生徒はそれを記入して授業を終えた。

5. 考察

本章では、本時の目標およびそれを達成することを目指した問題と授業のデザイン時に想定していたことと、授業の実際とを比べ、想定通りであった点とそうではなかった点に分けて考察する。

(1) 想定通りであった点について

第一に、データの相対度数を確率とみなすことについてである。想定通り、多くの生徒が無意識的にデータの相対度数を確率とみなしていた。この点について、授業で取り上げ意識化させることができた。実際、振り返りには、例えば「確率で考えなければ、考えにくい内容でも、相対度数を確率として計算することで、分かりやすくなると思いました。サイコロを振ったり、硬貨を投げたりするときのように、計算で、事象の確率が求められないときにどうすればいいか考えることができ、期待値の扱い方が分かった」という具合に、合計で19名の生徒が、データの相対度数を確率とみなすことについて、わかったこととして言及していた。また、もっと考えてみたいこととして、「確率を相対度数と見なす、見なしてはいけない境があるのかないのかもっと知りたいなと思った」と書いている生徒もいた。

第二に、期待値を求め、それを解釈することについてである。授業の後半では、教室全体で利益の期待値を求め、それを解釈することができた。具体的には、生徒 Fuj のように、個人思考では期待値を求

めずに仕入れ個数を決めていた生徒が、授業の最後では、期待値を求め、それを解釈して「8個仕入れる」と答えていた。

以上より、本稿の授業を通して、本稿が目指していた、データの相対度数を確率とみなし、期待値を求め、それを解釈するという一連の過程を遂行できた生徒の存在が確認された。

(2) 想定通りではなかった点について

本稿で事前にデザインした問題(図1)は、「1日に何個仕入れると、利益が最大になると期待できるか」という問題であった。一方、実際の授業で提示された問題(図3)は、「仕入れ個数を好きに決めることが出来るとき、あなたなら1日に何個仕入れる?」という問題であった。授業者の問題の最後を変更した意図を確認したところ、「誘導を少なくして色々な意見を引き出し、生徒が問題を自分事にして欲しかったから」との回答を得た。授業デザイン時に予想していた生徒の反応(図2)と授業における個人思考での生徒の考えを比較すると、図2では予想してなかった反応が複数確認されたことがわかる。つまり、授業者の意図は達成されたと考える。もしデザイン通りに「利益が最大になると期待できるか」と問うていけば、例えば最頻値を理由とした生徒はもっと少なかったかもしれないし、無答であった生徒も出てきたかもしれない。その一方で、授業者も反省として挙げていたが、利益の期待値を計算する生徒がほとんどいなかったため、教室全体で利益の期待値を計算することへの展開がやや強引になってしまった。また、問1(図1)しか扱うことができなかつたため、問2で計画していた、個数の期待値よりも利益の期待値で考えることが妥当であることの確認に至らなかった。実際、振り返りに「個数の期待値と利益の期待値の差がわからなかった」や「最頻値≒期待値だった…?偶然だよねきっと」と書いた生徒もいた。

以上のような課題を乗り越えるための改善案としては、第一に、一単位時間(50分)ではなく二単位時間(100分)で実施することが考えられる。最初の50分で問1を解決することができたので、もう

50分あれば、問2を扱うことができるかもしれない。第二に、個数の期待値と利益の期待値とを対比させる活動を設定することが考えられる。振り返りに、「1日に売れる個数の平均は8.2個だから9個のときの方が7個のときよりも利益が出そうなのに7個のときの方が利益がでているのはどうしてなのかなと思いました（値段によってかわるのかもしれないと思いました）」と書いている生徒がいた。この生徒は、個数の期待値と利益の期待値とを対比し、その解釈の不一致に着目している。また、この不一致の要因が、利益の期待値では仕入れ値と売値を考慮していることではないかと予想している。このような生徒の考えを取り上げたり、教師が発問したりすることで、利益の期待値で考えることの方が妥当であることを確認させることが考えられる。第三に、個数の期待値で考えた場合と、利益の期待値で考えた場合とでは仕入れ個数が異なるように、問1の数値設定を変えることである。例えば、「300円で仕入れた中華弁当を800円で販売している」という数値設定にすれば、利益の期待値は9個仕入れる場合に最も大きくなる。

また、機会損失の考えに言及することができなかった。この課題を乗り越えるためには、例えば「売り切れないように」と考えていた生徒を指名し、「なぜ売り切れないように仕入れようと思ったのか」と問い、「売り切れるとお客さんがお店から離れてしまうから」等と答えさせることで、機会損失の考えを生徒の考えとして共有することが考えられる。

6. まとめと今後の課題

本稿では、最適仕入れの問題を題材に教材を開発し、生徒がデータの相対度数を確率とみなし、期待値を求め、それを解釈するという一連の過程を遂行することを目指した。高校1年生を対象とした授業の結果、多くの生徒が無意識的にデータの相対度数を確率とみなしていた点を意識化させることができた。また、教室全体で利益の期待値を求め、それを解釈して仕入れ個数を決めることができた。

その一方で、全ての生徒が自分自身で期待値を求

めたり、個数の期待値と利益の期待値の違いを理解したり、機会損失の考えを教室全体で共有することはできなかった。これらの点については、改善案を考えたため、それを実践し検証することが今後の課題である。

謝辞

本稿で考察した授業を実施して下さった授業者の先生と、授業を受けていただいた生徒さん、ありがとうございました。

また、本研究は、公益財団法人ウエスコ学術振興財団の令和6年度研究活動費の助成を受けて行われました。ありがとうございました。

引用・参考文献

- 檀裕也(2008)。「経営工学概論授業資料 第22回在庫管理(2)」。<http://www.cc.matsuyama-u.ac.jp/~dan/education/ie/contents.html> (2025年4月18日最終閲覧)
- 石橋一昂(2024a)。「期待値を意思決定に活用することを目指した学習開発：最適仕入の問題(新聞売り子の問題)を題材として」。『日本数学教育学会 第57回秋期研究大会発表集録』, 706.
- 石橋一昂(2024b)。「期待値を求めて解釈する活動を目指した授業デザイン」。全国数学教育学会 第61回研究発表会 発表資料。
- 岩田和也・愛木豊彦(2006)。「統計の有用性を体感する教材の開発と実践」。『岐阜数学教育研究』, 5, 26-38.
- 北島彩早・愛木豊彦(2017)。「在庫理論を題材とする数理探究(仮称)向けの授業提案とその実践」。『数学教育学会誌』, 58(3・4) 97-102.
- 森村英典ら3名(1984)。「統計・OR活用事典」。東京書籍。
- 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。

大学院生が自らの造形行為の省察を通して保育者としての資質能力を形成する オートエスノグラフィーの研究

岡山大学 学術研究院 教育学域

大平修也

本研究は、自己の省察を促す「オートエスノグラフィー」に基づいて、大学院生の保育者としての資質能力を形成する題材の開発を目的とした。そのため、保育者養成機関に所属する筆者の授業において、造形行為を行う制作演習、造形行為のビデオ記録を分析し振り返る省察演習、分析を通して気付いたことや感じたことを述べ合う発表演習、以上3つの演習から成る題材を、共同研究者でもある大学院生3名が取り組んだ。題材に取り組んだ大学院生は、制作演習において、筆者を含む4名で協働しながら作り合う経験を味わってから、対象者の行為や発話の推移を分析する「相互行為分析」(西坂, 2008)により制作演習でのビデオ記録を振り返る省察演習を行った。大学院生は、制作演習での経験と、省察演習で新たに気付いた造形行為の出来事との差異を学びとして味わうと共に、ビデオ記録に対する互いの解釈の違いを共有することによって、「複眼的で多面的な視点」(大学院生A)を保育者の資質能力の1つとして形成していった。

．問題の所在

急速な社会変動と子どもを取り巻く環境変化を背景に、現在の幼児教育、及び保育の現場において「記録と保育の内容の見直し、改善」¹が求められている。また、芸術分野の変化も急速に進み、物体としての作品制作ではなく、人々の関係や生活実践や日常的行為といった営みを記録し、その記録を展示公開することで生じた鑑賞者の省察を作品の一環とする「ソーシャリー・エンゲイジド・アート」²(以下、SEA)が国内外で盛況している⁽¹⁾⁽²⁾。記録と省察をテーマとした国内の研究では、アーティストの芸術制作を記録し研究者が分析することで、その成果をアーティストと研究者が共有し互いの省察を促す「ABR (Arts-Based Research)」が盛んであり、この「ABR」は「芸術的省察による研究」や「芸術に基づく研究」³と訳されている。一方、国外では、芸術分野に留まらず、研究者の活動の記録を研究者自身が振り返ることで経験される省察を対象とした「オートエスノグラフィー」⁴(Autoethnography)が行われている。「オートエスノグラフィー」が、保育実践の「記録と保育の内容の見直し、改善」を自ら行う保育者としての資質能力の形成を促すことを期待する。

「オートエスノグラフィー」に関連した先行研究

には次の6つがある。(i) 著者自身の演劇経験及び演劇教育実践を対象にして「演劇という芸術形式」がもつ教育効果と問題点を検討した研究(中島・花家, 2012)⁵。(ii) 他者の実践報告を踏まえて実践した演劇教育実践を振り返ることにより、研究者の実践を研究者自身が省察する方法の作用を検討した研究(花家, 2016)⁶。(iii) 筆者が高校生を対象にして実践したアルミ棒を叩く造形行為と、叩いたアルミ棒に触れて鑑賞する対話活動のビデオ記録を振り返り、生徒の学びを捉え筆者自身の省察を促した研究(大平・松本, 2021)⁷。(iv) 筆者が中学校美術において実践した靴を描く授業のビデオ記録を振り返り、生徒の学びを捉え筆者自身の省察を促した研究(松本・大平, 2023)⁸。(v) 研究者が現職派遣教育課程の授業で経験した描く活動のビデオ記録を振り返り、研究者自身の省察を促した研究(金子・大平・松本, 2023a)⁹。(vi) 研究者が現職派遣教育課程の授業で経験した描く行為のビデオ記録を振り返り、研究者自身の省察を促した研究(金子・大平・松本, 2023b)¹⁰。(vii) 「オートエスノグラフィー」に立ち、筆者が自身の陶芸制作のビデオ記録を振り返り、筆者自身の省察を促した研究(大平, 2024)¹¹。

本研究は、造形行為を核として、自身の実践の「記

録と保育の内容の見直し、改善」を可能にする保育者としての資質能力の育成を目指した「オートエスノグラフィー」の題材の開発を行う点に、先行研究にはない独自性がある。本研究では、大平、松本、金子による先行研究を継承して、ビデオ記録を用いた自身の造形行為の記録を振り返り、大学院生が自らの保育者としての資質能力を育む学びの過程をオートエスノグラフィーと位置付けて検討する。

・研究目的

本研究の目的は以下の2つである。

(1)大学院生が自らの造形行為の記録を振り返り省察する演習の実施。(2)造形行為とその省察演習を連続させて保育者としての資質能力を育む題材の開発。

・研究方法

本研究は質的研究に立ち以下の4つの展開で行う。

①筆者が自身の所属機関で担当している授業において、ビデオカメラにて記録する制作演習と、その記録を振り返る省察演習から成る題材を計画する。②事前の計画に基づき、現職の保育者を含む大学院生と、筆者の計4名が協働でつくる制作演習を行う。③制作演習のビデオ記録を対象にして、対象者の行為や発話の推移を分析する西坂(2008)の「相互行為分析」¹²を大学院生自身が行ない、造形行為で味わった経験と、分析を通して味わった経験の差異を捉える省察演習を行う。④演習全体を通して気付いたこと、感じたことを大学院生が述べ合う発表演習を行う。この発表演習の内容から、大学院生に育まれた保育者としての資質能力を質的に示す。

以上の①②③④で展開する授業を、保育者としての資質能力を育む題材として提案する。

本研究は、大学院生と筆者の4名に加えて園長経験をもつ研究者1名を合わせた計5名が、共同研究者として、異なる視点による分析と考察を行った内容を他の研究誌等に発表予定である。本報告書の記載範囲に関して筆者が単独で公表することは、他の4名の共同研究者に了承されている。

・研究の実施

・題材の開発

本研究では、制作演習で行う造形行為を、上越教



図1 制作演習における机上の素材と道具の配置

育大学修士課程にて教鞭をとっていた松本健義の演習を参考に設定した。材料と道具、制作工程は下記の通りである。

材料と道具；画用紙、紙テープ、紙コップ、紙皿、カラーマジックペン、お花紙、紙ロープ、ビニール製ロープ、割箸、新聞紙、セロハンテープ、糊。

制作工程；制作時間は計60分である。参加者4名が任意の色の画用紙(四切)を1枚ずつ選択し、その画用紙の裏面をセロハンテープで接合した台紙の表面を上にして机上に置く(図1)。参加者は、自分が選んだ色の画用紙に近い椅子に座る。参加者は、自分が選んだ色の画用紙の上にセロハンテープや糊を使って材料を接着しながら造形物をつくり始める。参加者は自分の造形物を成長させていき、自分が選んだ色の画用紙の範囲を越境して、他の参加者が選んだ色の画用紙の領域へと自分の造形物を成長させていったり、他の参加者がつくる造形物と繋げていったりして、協働制作していく。

参考とした松本の演習は、参加者4名が任意の色の画用紙(四切)を選択し、その画用紙の裏面をセロハンテープで接合する要素は本制作演習と同じだが、使う材料を、色見本としても使える高品質の色紙製品であるトータルカラーを主素材とし、紙コップ、紙皿、カラーマジックペンなどの材料と道具に限定している点で、本制作演習と異なっている。松本の演習を参考にした理由は、松本の演習が個別の制作から始まり自ずと協働化していく要素をもつためであり、つくる過程において参加者4名の変化が

活性化すると想定したためである。また、各参加者が自らの興味関心を発揮して個々に異なる素材を選択し独自のつくり方を実践していく展開を想定して、松本の演習とは異なる素材と道具を設定した。

次に、制作演習のビデオ記録を大学院生が共有し、個々に「相互行為分析」を担当する場面を決めて、担当した場面の行為と発話を個々に書き出す。書き出した行為と発話の記録を繋ぎ合わせて、制作演習において自らのふるまいが変化した場面を個々の大学院生が捉えていく。この振り返りの行程を、造形行為で味わった経験と、分析を通して味わった経験の差異を捉える省察演習とした。

最後に、省察演習において個々に捉えた経験の差異を、それぞれの保育者としての経験や、それぞれの保育実践に関する知識などと対応させながら、気付いたこと、感じたことを述べ合う発表演習を行った。

以上の、制作演習、省察演習、発表演習から成る題材を、本研究では、保育者としての資質能力の育成に向けた題材として実践した（計 8 コマ、1 コマ 50 分）。

・制作演習のビデオ記録を用いた分析

本研究では、制作演習のビデオ記録を大学院生 3 名が「相互行為分析」した。「相互行為分析」に用いた記号と、その記号の意味は表 1³⁽³⁾の通りである。

「相互行為分析」に際し、大学院生 3 名は、ビデオ記録で収集した造形行為の過程を、その造形行為の変化に応じて 3 つの場面(表 2)に分けると共に、各場面において記録した行為と発話を分担して記述した。場面 I を大学院生 S、場面 II を大学院生 K、場面 III を大学院生 A が担当した。記述後、各場面の分析内容を繋げて(表 3)⁽⁴⁾、改めて造形行為の過程全体を大学院生が個々に振り返って省察した。

表 1 記号と記号の意味

記号	意味	記号	意味
:	音声の引き延ばし	(0.2)	0.2 秒の沈黙や間
[]	音声重なっている部分	-	言葉の途切れ
h	呼吸音・呼吸音・笑い	—	大きい音声(下線)
↑ ↓	音声の極端な上がり下がり	?	語尾の音声の上り
()	聞き取り困難な音声	。	語尾の音声の区切り
(.)	0.2 秒以下の発話の間		

表 2 場面分け

I	個別に実践される造形行為
II	協働化していく造形行為
III	協働の象徴となる造形物をつくる行為

表 3-1 制作演習の「相互行為分析」

場面	行為	発話	
I	i	1D D と S の造形物に向けて手を動かさず	
		2S A の造形物に手を伸ばす	飛び出そうとしてる hhh
		3S A と顔を見合わせ笑う	
		4A S と顔を見合わせ笑う	
		5D A と K の造形物の方に手を伸ばし左右に動かす	そっちは埋めようしている
		6K D の造形物を見る	
		7A S を見て笑う	自分のことで精いっぱい
		8A K を見る	ね
		9K A の言葉に頷く	
		10A D の造形物を見る	あっちがなんか動き出してくる hhh(0.2)なんだろう。
	ii	1D 巻き紙テープを K との境から中心に向けて伸ばす	
		2K 切った紙テープを自分の造形物に付ける	
		3A 重ねた紙コップを付ける	
		4A D の様子見る	hh。
		5D A の言葉に反応し A の顔を見て笑む	
		6A D の顔を見て笑う	hhh。
		7S ロープをもってくる	()
		8K 切った紙テープを自分の造形物にセロハンテープでつける	
		9D A の造形物を見る	贅沢な使い方ですね hhh
		10A D を見て笑む	
	iii	1D A が束ねた紙紐に気付き紙紐を見て肩で笑う	
		2A 色々な長さの紙紐を束ね紙コップに付けた物を上にあげる	これでみんなのところに
		3D A が持ち上げたものをに気付く	hhhh
		4S A が持ち上げたものを見る	hhh 現代ア::トみたい
		5K 作業を続けながら A が持ち上げたものを見る	
		6D 作業を続けながら A が持ち上げたものを再度みる	
		7A 束ねた紐を自分の造形物の紙皿の上に置き紐を全員領域に伸ばす	みんなのところに突然侵入 hhhhh
		8S A を見る	いい方法だね
		9A S を見る	hhhh
		10D 手を動かしながら笑う	hhhh

表 3-2 制作演習の「相互行為分析」

場面	行為	発話	
II	i	1S Aの紐が自分の領域に入ったことに気付く	きたきた[きた]待ってたよ
		2A 紙コップに紐を付けた造形物を貼る	[hhh]
		3K Sの言葉に反応する	[きたきたきたhh]
		4D Sの言葉に笑う	[hhhh]
		5D Aの張り付けた造形物を見る	結構印象がモンスター::なhh
		6A Dの言葉に笑う	hhh
		7S Aの領域を見て自分の領域と比べてみる	溢れているね
		8A 自分の領域を見て造形物の少ない場所を指さす	でもこちら辺がちよっと寂しいですよ
		9S 他人の領域を見る	侵食していかなきやいけないのにちよっと私控えめじやなよし負けてはいられん
		10K Sの言葉に笑う	hhh
		11D Sの言葉に答える	hhh 別に勝負じゃないhh
		12S 席を立ち材料を見渡す	ダイナミックさを
		13S Aが使った紐を指さす	このひもいいね
		14A Sの言葉に答える	いいですよ
		15K Aの言葉に答える	きれい
		16D Aの貼り付けた造形物を見る	ああやっていききに国境を破壊していくパタ::んははじめてhh
		17A Dの言葉に答える	hh 誰かの()と思ってh
ii		1S Dの造形物を見て驚く	hhh すごい
		2K Sの言葉を聞いてDの造形物を見る	柱[だ]
		3S Dの造形物について考える	[架け橋だ]
		4D 箸を十字に組み立て4つの領域の境界に貼る	グランドラインですh
iii		1D Aの造形物を自身の造形物にくっつける	
		2K 自身のエリアの半分を占める造形物を貼る	
		3A Kの領域を見ながら箸を貼ってKの領域に伸ばす	
		4S Dの造形物に花形の紙を貼る	
		5D Sが花を貼ったことに気付く	おお
		6S 笑う	お邪魔しましたh
		7A Sの言葉に笑う	hhh
		8K Sの言葉に笑う	hhh
		9D Sの言葉に笑う	負けてられないですね
		10A Kのエリアに箸を伸ばすように貼る	hh 負けてられない
iv		1S Dの造形物の下をくぐらせて新聞紙を伸ばしKの領域に繋げる	お邪魔します
		2K 離籍し材料を取りに行きながらSに返事をする	あ::もう-どうぞたくさん入ってきてもらって
		3D 伸びたSの新聞紙の上を通して紙皿を貼る	
		4S Dの貼る行為を見る	覆われていく-[そして]通り抜けていく
		5A Dの貼る行為を見る	[hhh]

表 3-3 制作演習の「相互行為分析」

場面	行為	発話	
III	i	1A DがAの領域に貼った紙皿へ自分の領域に貼っていた折紙を貼る	
		2S Aが貼る行為に気付く	もう早速
		3D Aの貼る行為を見る	いいですね
		4A Aの貼る行為を見る	早速
		5D Aを見る	いやいいですね
		6S Dの領域につくった造形物を置く	くぐり通したかったけど
		7D 手を叩く	hhh
		8S 造形物を見る	くぐり通したかったんだけど
		9K 立って作業するAを見る	みんな立ち始めている
		10D Aを見る	hhhhh
ii		1D Aを見る	ひと(.)人んちの
		2A 目を合わせない	hhh
		3K Aの領域に紙皿を仮置きするDを見る	庭に建物
		4A 自分の造形物を見る	
iii		1D Aの制作物の上に紙皿の造形物を重ねる	
		2A Dの行為を見る	hhhh
		3S Aと顔を見合わせる	いく::
		4D Aを見る	なんかちよっと(.)はじけたの埋もれてきた
		5A Dの言葉に反応する	hhhh
iv		1D 紙皿にテープを貼って準備をする	よし
		2A 自身の制作物の上に紙皿を貼るDを見る	凄い
		3D 紙皿を刺そうとする	()刺そうと
		4S Dの行為を見る	何とか刺そう
		5D Aの制作物の上に紙皿を刺そうとする	いや強引て大事なんですよ
		6S Dの行為を見る	強引
		7D Aの制作物の上に紙皿を刺そうとする	強引て大事
		8A 支えになる材料が無いが見渡す	
		9A 割り箸に手を伸ばす	
		10S Aを見る	支えなくなる
		11S Dが持つ紙皿に割りばしを当てる	あ::ここへ脚立のようなもう1個ここ付けたら
iv		1D Sの行為を見る	ああいいです
		2S 一番高い造形物から自身の領域へと編んだ紐を繋げる	はい
		3A Sを見る	完成?
		4D 拍手する	わ::
		5S 拍手する	いい::
		6A 拍手する	
		7K 拍手する	

・「相互行為分析」を行った大学院生の省察
 大学院生と筆者の4名がつくり出した造形物は図2の通りである。本研究では、演習全体を通して気付いたこと、感じたことを大学院生が述べ合う発表演習において、現職保育者（保育者歴19年）である



図 2 制作演習において大学院生と筆者の 4 名が制作した造形物

表 4 「相互行為分析」を通した大学院生の省察

<p>制作演習の場面での自身のふるまいを振り返り、呼び起こす中で、自分の考えや感情を再帰的に考察することができた。また、ビデオ記録を用いたフィードバックにより、自明となっていた造形行為での自身の捉えと、記録された出来事との間に差異を見付けることができた。</p> <p>例えば、自身の制作物が他の制作者の領域へと越境し造形物が成長していく場面Ⅱ-i である。この場面における自身の行為は「新たな発想で、全体に向けての広がり求めた行動」であったと捉えていた。しかし、この場面を振り返り、発話や行為を分析するうちに、「誰か 1 人を対象とするのではなく、全体への当たり障りのない関わりを求めている自分」、「一度、他の制作者に交流を求めたのちに自分の領域での制作にとどまり、誰とも交流を求めない自分」といった、以前は捉えていなかった感情を抱きつつふるまっていたことに気付いた。</p> <p>また、場面Ⅱ-i における私の行為を、共に活動した S は「革新的で新しい発想」とし、K は「あの場面を機に、協働制作の印象が変化した」と述べ、肯定しており、他者から見た自分への評価と、自分自身の評価との差異を知ることができた。</p> <p>「相互行為分析」を通して、自身の省察と他者の省察を合わせることで、事実の捉え方が複眼的、多面的になることを改めて理解した。自身の造形行為のビデオ記録を振り返った経験から、幼児教育及び保育の現場においても、複数の保育者と語り合うことにより、子どもの表現に対する複眼的で多面的な視点を獲得していくことが重要と考えた。</p>

大学院生 A が語った省察を表 4 の通りに概略する。

ビデオ記録を振り返ることによって、「相互行為分

析」する「以前は捉えていなかった感情を抱きつつふるまっていた」（表 4）、制作演習での実際に対する大学院生 A の気付きは、造形行為での経験と、「相互行為分析」を通して味わった経験との差異を学びとして大学院生 A が味わったことを示している。また、表 4 において、「ビデオ記録を振り返った経験から、幼児教育及び保育の現場においても、複数の保育者と語り合うことにより、子どもの表現に対する複眼的で多面的な視点を獲得していくことが重要と考えた」とする大学院生 A の気付きは、本題材が、大学院生 A の保育者としての資質能力の形成に寄与していたことを示している。

本研究では、筆者が自身の所属機関で担当している授業を舞台として題材の開発を行った。従って、本研究の知見を更に深めるためには、対象者であり共同研究者である大学院生 3 名が、本題材での学びをどのようにして活かしていくのか、幼児教育及び保育の現場への参与に基づいた更なる研究が肝要である。

・おわりに

本研究では、筆者が自身の所属機関で担当している授業において、大学院生が自らの造形行為の記録を振り返り省察する演習の実施と、保育者としての資質能力を育む題材の開発を目的として行い、以下の 3 つを示した。

(1)制作演習のビデオ記録を分析し振り返る省察演習を通して、制作演習での経験と省察演習で気付いたことの差異を味わう学びの実際。

(2)造形行為を行う制作演習、造形行為のビデオ記録を分析し振り返る省察演習、分析を通して気付いたことや感じたことを述べ合う発表演習、以上 3 つの演習から成るオートエスノグラフィーの題材の実際。

(3)自身の省察と他者の省察を発表演習を通して比較することにより、1 人では気付くことのできなかった「複眼的で多面的な視点」が、保育者の資質能力として大学院生に形成される本題材の作用。

今後は、本研究の知見を深めるため、ビデオ記録による振り返りを通したオートエスノグラフィーでの学びが、保育者の教育実践及び保育実践をどのよ

うに変化させて幼児教育及び保育の現場を活性化させていくのか、現職保育者の協力を得ながら探究していくことを課題とする。

註

- (1) 地域住民と子どもの「社会的相互行為」を形成した国内のSEAには、プロのスタイリストの指導を受けた小学生が来客者のヘアカットを無料で行う「子どもたちによるヘアカット」(MAMMALIAN DIVING RFLX, 2017) などがある。MAMMALIAN DIVING RFLX「子どもたちによるヘアカット (Haircuts by Children)」特定非営利活動法人アート&ソサイエティ研究センター, 2024年2月27日閲覧, <https://www.art-society.com/project/haircuts-by-children.html>
- (2) 地域住民と子どもの「社会的相互行為」を形成した国外のSEAには、難民キャンプを舞台に廃棄物を素材として遊び場をつくる「廃棄物プロジェクト」(Basurama, 2008) などがある。Basurama「廃棄物プロジェクト」『リビング・アズ・フォームーソーシャリー・エンゲイジド・アートという潮流ー展 東京』Art&Society 研究センター, 2014
- (3) :, ↑, ↓, h は記載数に応じた長さや大きさを示す(例えば, ::は:の2倍音声引き延ばされている)。[]は括られた隣接する発話同士の重なりを示す。(0.2)は発話の0.2秒の間を示し, 間の長さに応じて(0.4), (0.6), (0.8)と記載する。(.), (), -, _は該当箇所に1つ記載する。
- (4) 事例(表3)に登場するDは筆者を示す。

引用文献

- 1 厚生労働省『保育所保育指針解説』フレーベル館, 2018, p.61
- 2 Pablo Helguera『ソーシャリー・エンゲイジド・アート入門 アートが社会と深く関わるための10のポイント』フィルムアート社, 2015, p.29, [英] Socially Engaged Art
- 3 小松佳代子『美術教育の可能性作品制作と芸術的省察』勁草書房, 2018, p.iii
- 4 トニー (Tony E Adams), ステイシー

(Stacy Holman Jones), キャロリン (Carolyn Ellis), 松澤和正・佐藤美保 (訳者)『オートエスノグラフィー質的研究を再考し, 表現するための実践ガイド』新曜社, 2022, p.i

- 5 中島裕昭・花家彩子「上演芸術の経験を分析するための方法ー花家彩子によるオートエスノグラフィーー」『東京学芸大学紀要. 芸術・スポーツ科学系』第64集, 2012, pp.37-45
- 6 花家彩子「如月小春『八月のこどもたち』記述群における演劇と教育オートエスノグラフィーによる研究」『東京学芸大学大学院連合学校教育学研究科博士論文』2016, pp. 1-247
- 7 大平修也・松本健義「金属素材を叩く行為による共感的身体経験と造形的自己変革の生成に関する研究ー高校生を対象とした授業の開発実践と分析考察ー」『美術教育学』第42号, 2021, pp.99-118
- 8 松本健義・大平修也「中学生の描く芸術的行為による存在との対話と他者との共感的関係に関する研究」『教育実践学論集』第24号, 2023, pp.99-118
- 9 金子瞳・大平修也・松本健義「描く行為の中の省察と現象学的記述に関する研究ー造形行為を通じた現職派遣教師の学びー」『美術教育学研究』第55号, 2023, pp.89-96
- 10 金子瞳・大平修也・松本健義「描いた痕跡に基づく存在との対話として経験される時間性に関する研究ー造形行為を通じた現職派遣教師の省察」『上越教育大学研究紀要』第43巻, 2023, pp.165-182
- 11 大平修也「工芸における固有の理路を促すアフォードの研究ー自身の陶芸制作を事例としたオートエスノグラフィー」『美術教育学研究』第56号, 2024, pp.81-88
- 12 西坂仰『相互行為分析という視点ー文化と心の社会学的記述』金子書房, 1997, p.vii
- 13 同上, pp.vii-ix

謝辞

研究助成いただいたウエスコ学術振興財団様に厚く御礼申し上げます。

看護学生の主体的学習を支援する教材システム構築のための基礎的研究

岡山県立大学 保健福祉学部 看護学科

佐藤 美恵

看護学生の主体的学習を支援する教材システム構築のための基礎的資料を得るため、学生の看護技術教育用オンライン教材の利用状況を学年別に調査し、授業との関連を検討した。2024年度の教材へのアクセス数は、1年生が340回、2年生が542回、3年生が1,156回、4年生が770回であった。3年生と4年生のアクセス数が多かった理由として、3年生後期から4年生前期にかけての臨地実習中の学生が積極的に活用していることが推察され、時間や場所の制限なく利用できる本教材の利点を生かした活用がなされていると考えられた。また、多くの学生が、本教材を授業の補助教材として活用しながら学習していると考えられた。今後は、実習室で本教材を活用しながら技術練習を行えるような学習環境を整備するなど、学生が本教材を有効に活用しながら主体的に学習できるよう支援していきたいと考えている。

はじめに

看護基礎教育は、社会状況や疾病構造の変化に合わせて教育内容や方法の見直しが行われている。2019年に提示された看護基礎教育検討会報告書¹⁾では、教育体制・教育環境等の見直しのポイントとして、「学生が主体的に学ぶことができる教育方法の推進」、「情報通信技術の進展等の変化に伴い、遠隔授業等の実施が可能であることの明示」等が示された。学生の主体的学習について、田村²⁾は看護学生の主体的学習を促進する動機づけとして、「手順と根拠を考える」、「手本を見て学ぶ」、「臨床をイメージする」、「患者への配慮を考える」などの概念を挙げている。Kubo³⁾は看護系学生における主体的学習行動の内容として、「教材を活用することで知識を整理し、スキルを高める」、「重要な学習のための時間を確保する」、「サポート能力を獲得できるよう練習する」などを挙げている。また、駒井⁴⁾は学生が主体的に学習を進められる学習支援システムの構築を目的として動画教材を作成したこと、86.3%の学生が視聴していたことを報告し、学習支援システムの有用性はアクセスしやすい環境等の利便性に影響されると述べている。これらの先行研究より、学生の主体的学習を支援する教育方法の一つとして、アクセスしやすいオンライン教材が有用であると考えた。

本学の看護学科では、2021年度から看護技術教育用オンライン教材を導入し、学生が時間や場所の制

限なく手順や動画等を閲覧できる学習環境を整え、学習効果を検証している。この教材に対する学生の評価は、理解度、満足度ともに高かった。また、「いつでもアクセスできてとても便利」、「動画を視聴することで理解しやすくなった」などの意見があった。2022年度は、学生のアクセス数も大幅に増加し、学生がこの教材を利用して主体的に学習していることが推察された。2023年度は、学生の看護技術教育用オンライン教材利用状況と主体的学習態度との関連を検討したところ、教材へのアクセス回数と主体的学習態度得点は負の相関を示した。理由として、質問紙の回収率が低かった(32.9%)こと、回答者に偏りがあったことなどが考えられ、学生の主体的学習を支援するために有効な教材活用方法について、さらなる検討が必要であると考えられた。

目的

本研究では、看護技術教育用オンライン教材の有効な活用方法について、授業との関連を含めて学年別に検討した。

方法

1. 看護技術教育用オンライン教材

看護技術教育用オンライン教材は、エルゼビア・ジャパン株式会社のナーシング・スキルを使用した。この教材には400以上の標準的な看護技術が収載さ

れており、目的、適応、手順、動画、チェックリストなどを、時間や場所を問わず閲覧できる。教員が学生の進捗状況や利用状況を確認することも可能である。また、卒業生が就職する複数の病院でも看護師の教育用に導入されており、卒業後も同じ教材で学習できることも利点であると考えた。

2. データ収集方法

看護技術教育用オンライン教材の利用状況は、教材の管理者ツールからデータを収集した。教材へのアクセス数を学年別、月別に調査した。また、各学年の前期（4月～8月）および後期（9月～3月）にアクセス数が多かった項目を調査した。

3. 倫理的配慮

本研究は、岡山県立大学倫理委員会の承認を得て実施した。

結果

2024年度の教材へのアクセス数を学年別に表1に示す。1年生は前期が312回、後期が28回、計340回であった。2年生は前期が198回、後期が344回、計542回であった。3年生は前期が544回、後期が612回、計1,156回であった。4年生は前期が761回、後期が9回、計770回であった。

1年生のアクセス数が多かった項目は、前期は洗髪（71回）、ベッドメイキング（56回）、寝衣交換（47回）、体位変換（46回）、全身清拭（22回）など、日常生活援助に関するものであった。後期は、バイタルサインの測定（6回）、胸腔穿刺（6回）、腰椎穿刺（5回）、骨髄穿刺（3回）、内視鏡的逆行性胆道膵管造影（3回）など、フィジカルアセスメントや侵襲を伴う検査に関するものであった。

2年生のアクセス数が多かった項目は、前期は足浴（28回）、食事援助（14回）、グリセリン浣腸（13回）、酸素吸入療法（11回）、導尿（8回）など、日常生活援助や診療補助に関するものであった。後期は、がん薬物療法・症状マネジメント（57回）、新生児の看護・観察（57回）、妊娠中の検査（56回）、全身清拭・洗髪（44回）など、がん看護、母性看護、日常生活援助に関するものであった。

3年生のアクセス数が多かった項目は、前期は輸

液管理（46回）、ドレーンの管理・観察（43回）、手術前オリエンテーション（41回）、ストーマ装具交換（37回）、肺血栓塞栓症・深部静脈血栓症の予防（34回）など、周手術期看護に関するものであった。後期は全身清拭・洗髪など（113回）、妊娠中の検査（98回）、小児のバイタルサインの測定（64回）、腹膜透析（52回）、褥婦のアセスメント（33回）など、日常生活援助、母性看護、小児看護、成人看護に関するものであった。

4年生のアクセス数が多かった項目は、前期は手浴・足浴・洗髪など（189回）、酸素吸入療法・輸液管理など（95回）、妊娠中の検査（83回）、新生児の観察（36回）など、日常生活援助、診療補助、母性看護に関するものであった。後期は経腸栄養（4回）、呼吸理学療法（3回）、経鼻的胃管挿入（2回）であった。

表1 2024年度の教材へのアクセス数 N=167

	1年生 (n=42)	2年生 (n=43)	3年生 (n=40)	4年生 (n=42)
4月	0	22	0	79
5月	194	82	45	189
6月	51	23	367	300
7月	15	59	118	177
8月	52	0	14	16
前期	312	198	544	761
9月	0	12	0	0
10月	11	81	0	9
11月	0	56	6	0
12月	0	100	186	0
1月	17	105	318	0
2月	0	2	72	0
3月	0	0	30	0
後期	28	344	612	9
計	340	542	1,156	770

考察

教材へのアクセス数は3年生が最も多く、次いで4年生が多かった。また、3年生では前期よりも後期

が多く、4年生では後期よりも前期が多かった。これらのことから、3年生後期から4年生前期にかけての臨地実習中の学生が積極的に本教材を活用していると考えられ、時間や場所の制限なく利用できる本教材の利点を生かして学習していると考えられる。

1年生は、前期に日常生活援助に関する看護技術を、後期にフィジカルアセスメントや侵襲を伴う検査について学ぶ。これらの学習に看護技術教育用オンライン教材を活用していると考えられたが、後期のアクセス数が少なかったことから、フィジカルアセスメントや検査に関する学習にも活用を促すことにより、学生の主体的な学びを促進できると考える。

2年生の前期は、診療補助に関する看護技術を学ぶとともに、母性看護学や成人看護学などの科目を学び始める。2年生の前期にアクセス数が多かった項目は日常生活援助や診療補助に関するものであったことから、看護技術教育用オンライン教材を1年時の復習や診療補助技術の学習に活用していると考えられる。後期は、がん看護や母性看護について学ぶ科目があり、これらの学習に本教材を活用していると考えられた。また、日常生活援助技術についても継続して学習していると考えられ、時間や場所の制限なく利用できる本教材を学習環境の一部として維持することが学生の主体的な学習を支援することにつながると考える。

3年生の前期は専門科目が増え、後期からは臨地実習が開始される。前期には専門科目の学習や実習に向けての予習として、後期には実習中に、本教材を積極的に活用していると考えられる。引き続き、本教材を活用できる学習環境を維持することが学生の主体的な学習を支援するために必要であると考えられる。

4年生の前期は、3年生の後期に引き続き臨地実習が行われており、実習中に本教材を活用しながら学習していると考えられる。後期は臨地実習が終了しており、卒業研究や国家試験に向けての学習に取り組んでいるため、本教材へのアクセス数は大幅に減少したと考えられる。

全ての学年の学生が、本教材を授業の補助教材として少なからず活用していると考えられた。今後は、

実習室での技術練習に本教材を使用できるようにパソコンを配置するなど学習環境を整備し、学生の主体的学習を支援していきたいと考えている。

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。

引用文献

- 1) 厚生労働省. 看護基礎教育検討会報告書の概要. <https://www.mhlw.go.jp/content/10805000/000557242.pdf> (2024年4月29日閲覧)
- 2) 田村美子他. 看護大学生の看護技術修得に対する主体的学習行動を促進する動機づけ. 看護・保健科学研究誌, 21 (1), 41-51, 2021.
- 3) Kubo Yoshiko et, al. Clarification of Self-Motivated Learning Behaviors among Undergraduate Nursing Students in Japan. Jikeikai Medical Journal, 66(1-4), 17-29, 2019.
- 4) 駒井裕子. e-learningによる主体的学習の支援環境の構築とその有用性の検討 対象学生によるアンケート調査結果の分析から. 常葉大学健康科学部研究報告集, 4 (1), 85-93, 2017.
- 5) 畑野快・溝上慎一. 大学生の主体的な授業態度と学習時間に基づく学生タイプの検討. 日本教育工学会論文誌, 37, 13-22, 2013.

設計における因果推論に関する不確実性およびその要因の解明

岡山県立大学 情報工学部 情報システム工学科

筒井優介

現代社会は、地球環境問題、社会的不平等、製品事故、セキュリティ事故等、複雑かつ多様な課題に直面している。これらの課題の多くは、人間によって構想され、具体化された人工物に起因する側面を有する。このことから、人工物の構想行為である設計推論の仕組みの解明は、社会課題の解決に資する重要な研究課題である。本研究は、設計推論における因果推論、特にアブダクションに着目し、その不確実性およびその要因の解明を目的とした。体系的な文献レビューの結果、設計におけるアブダクションは、問題構造の不確実性、知識と現実の齟齬、多様な価値基準、既存知識の限界といった複合的要因の下で生起し、循環的かつ多段階的に展開する推論過程であることが明らかとなった。また、アブダクションは単なる設計解の生成にとどまらず、問題の枠組みそのものを再構成する役割を果たすことが確認された。これらの知見は、設計推論に内在する不確実性を体系的に捉え、これを管理する方法論の構築に向けた理論的基盤となるものである。

1. 研究背景と目的

現代社会は、地球環境の持続可能性や貧富の格差、製品事故やセキュリティ事故など様々な問題を抱えている。このような問題は共通して、人間が構想して具現化した技術的製品やサービスなどの人工物に起因するという側面がある。このことから、設計者が人工物を構想する行為の仕組みの探求は、現代社会の課題を解決する糸口となると考えられる。

設計者が人工物を構想する行為の知的側面は、設計推論と呼ばれている。推論とは、既知の前提から何らかの結論を導き出す知的行為である。設計において扱われる問題は、実現したい機能や価値などの結果から人工物の性質や構造などの原因を求める逆問題である。このような逆問題に対応するための設計推論は、因果推論やアブダクションと呼ばれている。因果推論とアブダクションは厳密には異なる概念であるが、設計推論に関する既存研究においては、アブダクションという呼称で議論されている。

アブダクションは元来、哲学者パースによって提唱された推論であり、科学的な発見に関する推論として提唱されたものである。典型的には、驚くべき事実（現象）が観察され際に、この事実がもしある仮説Hによって説明できるならば、Hが真である可能性があるという結論を導く推論とされる。このア

ブダクションは、前提が真であっても結論が真であるとは限らないという不確実性を持つ。このような真偽の不確実性は可謬性とも呼ばれる。

設計領域において、アブダクションについて様々な議論されている。特に筆者は、設計におけるアブダクションの可謬性は、現代社会が抱える課題の因子となっている可能性があると考えており、これを管理するための方法論の構築に取り組んでいる。しかし、設計という文脈におけるアブダクションの概念は未だ発展途上にあり、研究領域において共通の見解が得られているとは言い難い。設計における可謬性を管理する方法論を開発するためには、設計推論の核心たるアブダクションに関する知見の整理が必要である。

以上を踏まえ本研究では、設計におけるアブダクションについての既存文献における言説を整理するべく、体系的レビューを実施した。本レビューの実施に際しては、以下をリサーチクエスションとして設定した。

- RQ1. 設計におけるアブダクションは、どのような推論形式・時系列をもつプロセスか？
- RQ2. 設計におけるアブダクションは、どのような問題状況や心的状態において生じるか？
- RQ3. 設計におけるアブダクションは、どのよう

な仮説や解決案を生み出す推論か？

RQ1 はアブダクションのプロセスに関する問いであり、RQ2 と RQ3 はアブダクションの前提と結論に関する問いである。これらに関する知見を集約し、アブダクションに関する今後の研究の方向性を示す。

2. 研究方法

本研究は PRISMA ガイドラインに基づいて実施した。本研究の文献レビューは、系統的かつ透明性の高いレビューを実施するため、Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses (以下、PRISMA ガイドライン) に準拠して行った。PRISMA ガイドラインは、文献レビューやメタアナリシスの報告において、文献の収集、選定、分析プロセスを明示し、再現性と信頼性を高めることを目的とする国際的な基準である。以下に、本研究で実施した文献調査の具体的な手順を示す。

2.1 選定基準

本研究では、文献の選定基準として以下を設定した。これらの基準に合致しないものは除外した。

- ・ 設計におけるアブダクションの理論的研究
- ・ 設計におけるアブダクションの実証的研究
- ・ アブダクションに関する記述を含む設計推論の理論的研究
- ・ アブダクションに関する記述を含む設計推論の実証的研究

2.2 情報源と検索戦略

文献検索には、以下の情報源を使用した。

- ・ ScienceDirect
- ・ BASE (Bielefeld Academic Search Engine)

上記のデータベースにおける検索の他に、関連文献からの手動検索などにより、関連文献を追加した。

データベース検索に際しては、設計におけるアブダクションに関連する文献を網羅的に収集するため、以下の検索式を用いた。

- ・ ("abduction" OR "abductive reasoning" OR "abductive inference") AND ("creative design" OR "inventive design" OR "innovative design")

2.3 文献選定プロセス

まず、データベース検索および手動検索による追加検索により関連文献の参考文献リストを作成した。続いて参考文献リストから重複している文献を削除した上で、タイトルおよびアブストラクトの内容を選定基準に照らしてスクリーニングした。最後に残った文献の全文に基づいて、最終的な選定を行った。

2.4 データ抽出プロセス

本研究では、選定された文献について、質的研究支援ソフトである NVivo 14 を用いて RQ1, RQ2, RQ3 に関連する記述を抽出し、各記述内容に応じて分類を行った。

3. 文献調査結果

3.1 選定結果

PRISMA ガイドラインに沿って文献を選定した結果を図 1 に示す。データベース検索に対するヒット数 234 件およびその他の情報源から入手した文献 25 件から重複を削除した後、タイトルとアブストラクトに基づくスクリーニング、全文に基づくスクリーニングの結果、最終的に 11 件の文献が採択された。

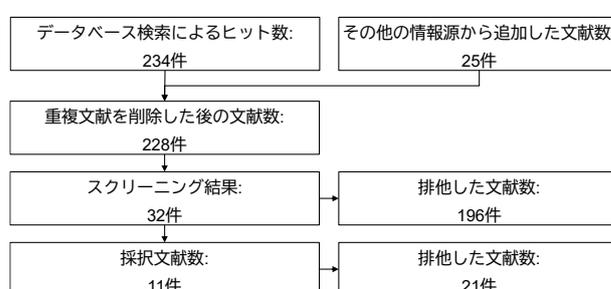


図 1 PRISMA フロー図

3.2 設計におけるアブダクションのプロセス(RQ1)

設計におけるアブダクションの推論形式と時系列的展開に関する該当箇所の要点および分類結果を表 1 に示す。これより、以下の知見が明らかとなった。

第一に、設計プロセス全体において、アブダクションは単一の発生にとどまらず、ディダクション、インダクション、サーカムスクリプションと交互に現れる循環的な推論構造を形成することが確認された[1,2,4,7,9,11]。特に、初期段階でアブダクションが優勢となり、中間以降でディダクションが支配的

となる推移パターンが観察され、設計活動はアブダクティブに始まり、ディダクティブに収束する傾向を示す[2].

第二に、アブダクション内部においても、単純な仮説生成ではなく、多段階の推論が行われていることが示された。製品の存在理由から原理や使用条件を導く逆向き推論[3, 5, 9], 問題探索, 仮説生成, 仮説評価という思考段階[6], あるいは代替案の創出と選択という二段階の推論プロセス[10]など、アブダクションは内部的にも多段階の推論が行われている。

第三に、設計におけるアブダクションの推論形式は唯一ではなく、状況や文脈に応じて多様な型に分類できることが確認された。what/howの既知・未知に基づく Abduction-1, 2 の分類[4], 活動内容に基づく類推型・構成型・操作型・変換型・要件創出型・戦略型・動的型の分類[7, 9], さらに推論形式に基づく Second-order existential abduction, Factual/Law abduction, Observable-fact abduction[11]が提案されており、設計におけるアブダクションは推論内容や設計状況、推論形式に応じて多様化する推論であることが示されている。

このように設計におけるアブダクションは設計プロセス全体における循環的な推論構造において繰り返し現れ、内部的にも多段階であり、設計の文脈に応じて多様化する推論である。この知見は、アブダクションを、単なる初期段階の創造的推論ではなく、設計における中核的推論として位置づける必要があることを示唆している。

3.3 アブダクションが発生する状況 (RQ2)

アブダクションが発生する問題状況や心的状態についての該当箇所の要点および分類結果を表 2 に示す。設計におけるアブダクションは概して、以下の状況において発生することが明らかとなった。

第一に、問題状況が不明確な場合である。問題の定義や構成が未確定であり、what や how が同時未知となる設計初期段階では[2, 5, 6, 9, 10], 設計者は既存の問題枠組みに依存できず、想像的フレーミング (imaginative framing) によって新たな意味を見出す必要に迫られる。

第二に、現実・データと認識・知識とのギャップ

が存在する場合である。観察結果や収集された情報が、設計者の有する知識体系や認識と齟齬を生じる状況では[4, 7, 11], 新たな仮説に基づく統合により矛盾を解消する推論が不可欠となる。

第三に、知識や価値基準が多様な状況である。複数の利害関係者が関与し、異なる知識・経験・価値観が交錯する設計文脈において[2, 5, 6, 9], 設計者は単一の枠組みでは対応できず、価値の多元性を包括する仮説形成が求められる。

第四に、既存知識・価値基準では解決できない状況である。例えば、顧客の要求や社会の期待、未来の可能性に対応するためには[1, 3, 7, 11], 設計者は既存知識に依拠するのではなく、新たな仮説を形成する必要がある。

その他、設計者自身が、不確実性を意図的に受容し、秩序や意味を再構成しようとする探究的な姿勢をとるなどの心的態度は、アブダクティブな推論を活性化するとされている[8, 9].

これらの知見は、設計におけるアブダクションが、不確定な問題、現実と認識のギャップ、多元的価値、不完全な知識などの多様な状況に適応するための推論であることを裏付けている。

3.4 アブダクションの帰結 (RQ3)

設計におけるアブダクションの帰結に関する該当箇所の要点および分類結果を表 3 に示す。設計におけるアブダクションが導く結論は、以下に示す二種に分類された。

第一に、アブダクションは設計課題に対する新しい見方 (フレーム) を構成することが確認された。設計初期において、既存の問題枠組みや用途とは異なる視点が提示され[2, 3], what や how を仮説的に導出する過程 (abduction-2) では、新たな問題の意味付け (フレーム) が創出される[4]. このフレームは、複雑な社会・技術システムに対して望ましい介入方向を与える枠組み[5, 8]であり、設計対象や問題構造そのものの再定義を伴う[9, 11].

第二に、アブダクションは独創的なアイデアや設計仮説を生み出す。アブダクションにより導出されたアイデアは、より革新的である一方、受容には困難を伴うことが示されている[1]. 設計者は、新しい

価値提案 (what) とそれを実現する構造・原理 (how) の二段階の仮説を構成し[6], そこから具体的な設計概念が導出される[8,9]. さらに, 制約を満たし目的を達成する具象案[10]や, 潜在的な設計目標と設計コンセプト[11]も, アブダクションによって仮説的に構築される.

これらの知見は, 設計におけるアブダクションは, 単なる問題解決ではなく, 問題の枠組み自体を再構成し, それに基づき独自の設計仮説を創出する創造的な推論であることを示している.

4. 考察

4.1 レビュー結果についての考察

本レビューを通じて明らかになったように, 設計におけるアブダクションは, 循環的かつ多段階的に展開される推論である. また, 多様な状況に適応的であり, 問題の枠組み自体の再構成を伴う創造的な推論である. 一方, レビュー対象文献には, アブダクションの理解において異なる理論的潮流が存在することも確認された. すなわち, アブダクションを論理的・形式的にモデル化しようとする形式論的立場[7, 9, 11]と, 推論内容や意味を捉える意味論的立場[5, 6, 8]が並立している. これらは必ずしも対立するものではないが, 設計におけるアブダクションの本質的な理解の上では, 両者の関係の理解や統合的な理解が求められる.

また, 既存の設計アブダクション研究では, 推論形式や推論プロセスの類型化が進められているものの[7, 9, 11], これらの推論型が設計プロセスのどの段階でどのように現れるかに関する体系的理解は未だ十分とは言えない. 特に, 設計初期の問題発見段階と, 詳細設計や検証段階におけるアブダクションの質的違いについては, 今後さらに精緻な分析が必要である.

これらを踏まえると今後, 各文献の理論的立場の詳細な分析に基づきこれらを統合的に理解するとともに, 設計プロセスの各段階に応じたアブダクションのモデルを構築することにより, 設計におけるアブダクションに対する理論的な理解を深化させることができると考えられる.

4.2 今後の研究の方向性

本レビューを通じて, 設計におけるアブダクションに関するこれまでの理論的・実証的知見は一定程度整理された. ここでは, レビュー結果を踏まえて今後の研究の方向性について検討する.

本レビューでは, 設計におけるアブダクションが単なる問題解決手段ではなく, 問題空間そのものを創出し変革することが明らかになった. これを踏まえると, アブダクションは設計の方向性を決める核となる推論ともいえる. これは, 設計者が自ら行ったアブダクションを省察し, その可謬性を意識的に管理できる方法論の重要性を裏付けるものであり, 今後, このような方法論の開発が求められるだろう. 設計支援システムや設計教育においても, 設計者がアブダクションを能動的に行うのを支援しつつ, その可謬性を適切に扱う仕組みの導入が重要となる.

また, アブダクションによって生成された仮説の可謬性は時としてその実現性や社会的受容性とトレードオフとなりうる. したがって, アブダクションの可謬性は, その他の様々な基準に基づく包括的な評価の下で管理する必要がある. しかし, これらをどのように包括的に評価するかという問題は, 依然として未解決である. このため今後は, 設計仮説の包括的な評価フレームワークの構築が求められるであろう.

5. まとめ

本研究では, 設計におけるアブダクションに関する既存文献をレビューし, 推論形式・時系列 (RQ1), 発生状況 (RQ2), 導出される結論 (RQ3) を整理した. 設計におけるアブダクションは, 設計の全体において反復的・多段的に現れる推論であり, 設計における多様な設計状況から新たな見方 (フレーム) や独創的なアイデアを構成する推論であることが明らかとなった. アブダクションに内在する可謬性は, 人工物に起因して生じる現代社会の課題と深く関わる. したがって, 設計におけるアブダクションの可謬性を認識し, これを適切に管理する枠組みを構築することが, 設計科学の課題であると考えられる. 本研究で整理した知見は, そのための基盤を提供するものである.

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] Cramer-Petersen, C. and S. Ahmed-Kristensen (2015). "Reasoning in design: idea generation condition effects on reasoning processes and evaluation of ideas." In Proceedings of The 22nd Innovation Product Development Management Conference.
- [2] Cramer-Petersen, C. L., et al. (2019). "Empirically analysing design reasoning patterns: Abductive-deductive reasoning patterns dominate design idea generation." Design Studies 60: 39-70.
- [3] Dong, A., et al. (2015). "The effect of abductive reasoning on concept selection decisions." Design Studies 37: 37-58.
- [4] Dorst, K. (2011). "The core of 'design thinking' and its application." Design Studies 32(6): 521-532.
- [5] Dorst, K. (2019). "Design beyond Design." She Ji: The Journal of Design, Economics, and Innovation 5(2): 117-127.
- [6] Garbuio, M. and N. Lin (2021). "Innovative idea generation in problem finding: Abductive reasoning, cognitive impediments, and the promise of artificial intelligence." Journal of Product Innovation Management(August): 1-25.
- [7] Koskela, L. and E. Kroll (2020). "Demonstration, extension, and refinement of the re-proposed notion of design abduction." Artificial Intelligence for Engineering Design, Analysis and Manufacturing: AIEDAM 34(2): 286-297.
- [8] Kolko, J. (2009). "Abductive thinking and sensemaking: The drivers of design synthesis." Design Issues 26(1): 15-28.
- [9] Koskela, L., et al. (2018). "The role of abduction in production of new ideas in design." Design Research Foundations: 153-183.
- [10] Lu, S. C. Y. and A. Liu (2011). "A synthesis decision framework for early-stage innovative design."
- [11] Lu, S. C. Y. and A. Liu (2012). "Abductive reasoning for design synthesis." CIRP Annals 61(1): 143-146.

表 1 設計におけるアブダクションのプロセス (RQ1) に関する既存文献の知見

分類	要点
設計プロセス全体におけるアブダクションの位置づけ	<ul style="list-style-type: none"> ・ 推論はアブダクション→ディダクション→インダクションの順に交互に出現することが多い[1] ・ アブダクション→ディダクション→インダクションの順に推論タイプが推移するパターンが多数確認され、初期段階でアブダクション (37%)、中間でディダクション (72%)、後期でインダクション (やや増加) が多い[2] ・ 全体としてはディダクションが圧倒的に多い (全体の 72%) が、構造的には「アブダクティブに始まりディダクティブに収束」する傾向がある[2] ・ 設計における推論は、「1.価値 (value) を出発点とした逆算的思考 (induction)」、「2.フレーム (frame) の構築」、「3.Abduction-2 による what と how の仮定的導出」、「4.その後の設計 (Abduction-1) と検証 (deduction)」という過程で展開され、複数の推論形式が組み合わさる非線形・構造的プロセスである[4] ・ アブダクションは、設計プロセスの進行中に繰り返し発生し、反復的・探索的に展開される[7] ・ アブダクションは単一ステップではなく、「circumscription (除外)」、「abduction (仮説提案)」、「deduction (予測)」、「induction (評価)」からなるサイクルの構造において行われる[9] ・ 代替案の創出と選定という 2 段階の設計フェーズに配置される[11]
設計におけるアブダクションの詳細プロセス	<ul style="list-style-type: none"> ・ 製品が存在する理由からその理由となる原理や使用条件に関する新たな仮定への推論[3] ・ 設計アブダクションは、「value」→「how」→「what」の順に進む逆向きの推論[5] ・ 問題発見におけるアブダクティブ推論は、「1. Problem search frame (リーダーのビジョンと個人の知識)」、「2. Abductive hypothesis generation (観察の統合と洞察の生成)」、「3. Hypothesis evaluation (妥当性と関連性の基準による評価)」の順に進む[6] ・ 「優先づけ (prioritizing)」、「判断 (judging)」、「関係構築 (forging connections)」という段階で進む推論[8] ・ 設計におけるアブダクションは、既存の知識や法則では説明困難な目的・価値に対して、新たなモノ・仕組みを構成する逆向き推論である[9] ・ 設計合成は、「1. Alternative Creation (選択肢の創出)」、「2. Alternative Selection (選択肢の選定)」の順に進む推論プロセスである[10]
設計におけるアブダクションの類型	<ul style="list-style-type: none"> ・ Abduction-1 はある程度与えられた what (設計対象) に対して、how (実現手段) を仮説的に構成する推論、Abduction-2 は与えられた value (目的) を出発点に、what (対象) と how (仕組み) の両方を同時に仮説的に構成する推論[4] ・ 設計におけるアブダクションを、状況や文脈に応じて、類推型、構成型、操作型、変換型、要件創出型、戦略型、動的アブダクションに分類[7,9] ・ 抽象意図からより具体的な設計目標を導く「Second-order existential abduction」、設計目標から設計コンセプトを導く「Factual/Law abduction」、コンセプトの診断と改善を行う「Observable-fact abduction」[11]

表 2 設計におけるアブダクションが発生する状況 (RQ2) に関する既存文献の知見

分類	要点
問題状況が不明確な状況	<ul style="list-style-type: none"> ・ 問題の定義が未確定な段階では、設計者が「こういうものかもしれない」といった仮構的な構成を提案する心的状態 (imaginative framing) が多く観察された[2] ・ 既存の問題枠組みが機能しない「パラドックス」的状況[2] ・ 「what」も「how」も不明な、極度に開かれた問題構造[2] ・ 「what」と「how」が同時に未知[5] ・ 問題の意味や構成そのものが不確定[5] ・ 問題自体が未定義 (problem finding) [6] ・ 観察が不完全・曖昧 (anomalies, surprises) [6] ・ データが過剰で混沌とした状況[8] ・ 問題が定式化されていない (ill-defined problem) [9] ・ 要求仕様や制約が明示されていない・不完全[9] ・ 設計初期において、what も how も明確でなく、制約や知識も不完全である状況[10]
現実・データと認識・知識とのギャップがある状況	<ul style="list-style-type: none"> ・ 組織の価値判断と現実の不一致[4] ・ 観察と既存データに矛盾がある状況[7] ・ 設計意図と設計目標の抽象度の差が大きいほど、アブダクティブな変換が必要[11]
知識や価値基準が多様な状況	<ul style="list-style-type: none"> ・ 各参加者が持つ知識・経験・価値観の多様性が、共通認識を欠いた状態での仮説提案 (abduction) を促進[2] ・ 多様な利害関係者、複数の価値判断が交錯する社会的・制度的問題状況[5] ・ 個人の知識とリーダーのビジョンが異なるレベルで作用 (frame の重なり) している状況[6] ・ 複数の利害関係者が絡み、価値の多元性が存在している状況[9]
既存知識・価値基準では解決できない状況	<ul style="list-style-type: none"> ・ 顧客・ユーザー重視の状況[1] ・ 被験者が製品の価値や評価基準が曖昧で、未来の可能性に焦点を当てる必要があるとされた状況[3] ・ 設計者が既存の知識で問題を解決できない状況[7] ・ 設計者の知識が断片的で評価基準も曖昧である状況[11]
その他	<ul style="list-style-type: none"> ・ 設計者が「全体像をつかみたい」「秩序を見出したい」というモチベーションを持つ状況[8] ・ コンピュータや頭の中では捌ききれない情報を身体的・空間的に外化したくなる心理的圧力[8] ・ 意図的に不確実性を受け入れる探究的な姿勢[9] ・ 設計対象や価値観の「枠組み」自体を再構成しようとする再構築的認知状態[9]

表 3 設計におけるアブダクションの帰結 (RQ3) に関する既存文献の知見

分類	要点
新しい見方 (フレーム)	<ul style="list-style-type: none"> ・ アブダクションは設計課題に対する新しい見方 (フレーム) や関数を導入する役割を持つ[2] ・ アブダクティブな推論がなされると、製品に新しい枠組みが与えられ、既存の用途や利用者像とは異なる可能性が提示される[3] ・ Abduction-2 の帰結は、新しい「what」や「how」だけでなく、それらを含んだ新しいフレーム (問題の意味付け) の創出であり、フレームをもとにして初めて設計対象が意味を持ち、それにより多様な解決方針が展開される[4] ・ 設計アブダクションの結論は、明示的な「ソリューション」ではなく、複雑系への介入 (intervention) によって望ましい変化を導く“方向性”や“枠組み”[5] ・ デザインの方向性を示すフレーム[8] ・ 再構成された文脈・関係性のネットワーク (概念マップ) [8] ・ 全体的な問題構造を再定義する仮説的提案[9] ・ 悪い設計コンセプトに対する原因分析と改善案[11]
独創的なアイデア	<ul style="list-style-type: none"> ・ アブダクション主導のアイデアはより独創的 (radical) だが受容されにくい[1] ・ アブダクティブ推論の結果として導出される仮説は、「1. 新しい価値を提案する仮説 (what)」、 「2. それを実現する構造や原理に関する仮説 (how)」の2段階構造を持つ[6] ・ アブダクションにより導かれた設計仮説には、以下のようなものが含まれる：「三翼構成の仮定 (揚力・推進・操縦の分離)」、「プロペラを「回転する翼」として捉える理論」、「可動式ラダーという構造的工夫」[8] ・ 新たなインサイトとその応用に基づくコンセプト[9] ・ アブダクションにより創出されるのは、「制約条件を満たし、目的を実現しうる具象案」である[10] ・ 潜在的な設計目標 (機能要件) や設計コンセプト (設計変数) [11]

人とロボットの瞬時接触動作のためのハイタッチロボットの開発

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、本研究では瞬時接触動作として拳手と握手の中間的な動作であるハイタッチに着目し、ハイタッチ動作のモデル化、ハイタッチ動作を生成するハイタッチロボットの開発、および人間に好まれる動作特性などの解析を行う。本年度は人間同士がハイタッチする際の上腕捻り動作について解析を行った。得られた角度の解析から、上腕捻り角度を躍度最小モデルの結合によってモデル化した。さらに、モデルから生成した手部軌道が人間同士のハイタッチ動作と類似していることが確認された。また、ハイタッチ動作生成のための片腕ロボットを開発し、ハイタッチ動作が生成可能であることを確認した。

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。そのため本研究では、ロボットが行う挨拶動作の中でも、拳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な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变化についての研究[6]等に行われているが、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、ハイタッチする際の上腕のひねりに着目した解析を行い、動作特性について検討している。

また、提案モデルを適用し、実際に人間とのハイタッチ動作を生成するための片腕ロボットを開発している。

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。

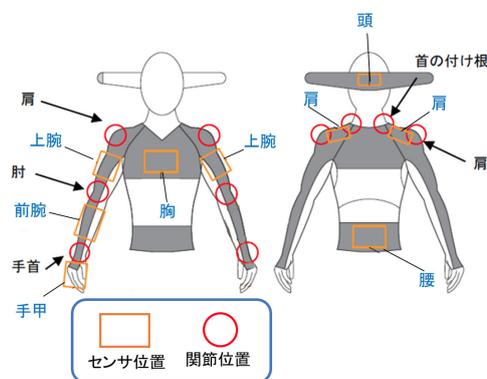


図1 センサ取り付け位置



図2 計測風景

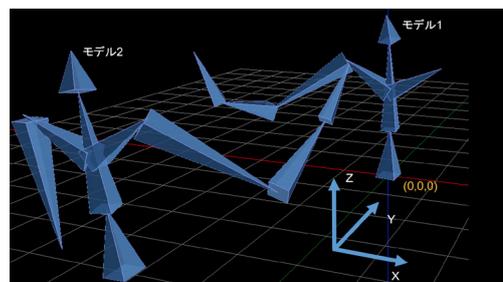


図3 システム内のモデルの様子

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. 上腕の捻り角度、角速度の解析

3.1 腕の捻り角度、角速度の算出

測定データから、図4に示す上腕の捻り角を適宜し角加速度を求めた。典型例を図5に示す。

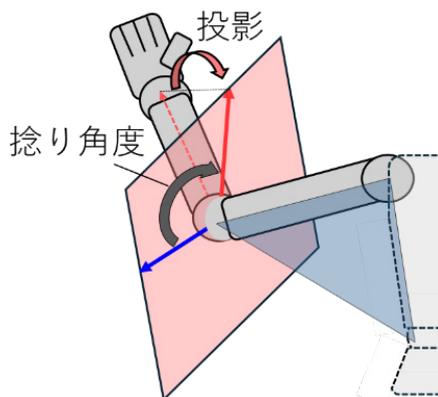


図4 上腕捻り角度の概要

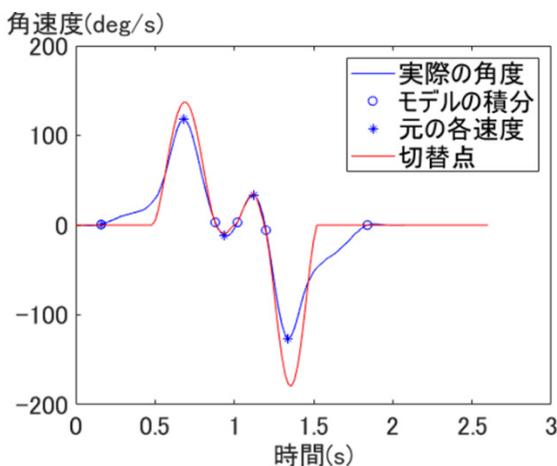


図5 上腕捻り角速度の波形

上腕の捻り角速度においても、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。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。

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

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

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、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。

そこで本研究では、上腕の捻り動作モデルを複数の躍度最小モデルの連結で表現する。図5の赤線で示した部分が複数の躍度最小モデルを結合した結果である。解析の結果、上腕の捻り動作は図6に示す2～6つの躍度最小モデルを結合することによって生成できることが示された。また、全被験者における躍度最小モデルの結合数を表1に示す。表より、約8割の被験者においてモデル数4、5の結合により動作が生成可能であることが示された。

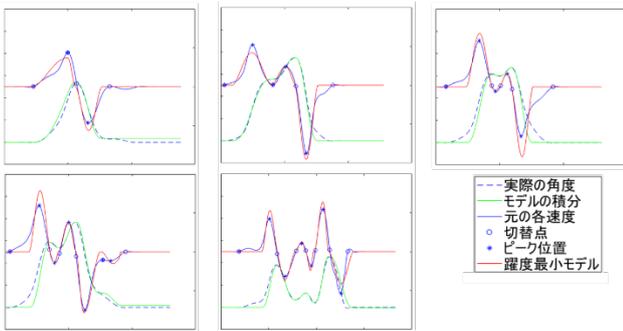


図6 上腕捻り角速度のパターン

表1 結合モデル数毎のデータ個数と割合

結合モデル数	2	3	4	5	6
データ数(個)	92	152	824	930	185
割合(%)	4.21	6.96	37.7	42.6	8.47

3.2 上腕の捻り動作のパラメータ解析結果

被験者における上腕の捻り動作の解析によって得られたパラメータの平均値と標準偏差を表2, 3に示す。表2はモデル数4, 表3はモデル数5の解析結果を示している。これらのパラメータをもとに生成した波形は、いずれも人間同士の実際の動作と類似した波形を得られた。

表2 上腕捻り動作の躍度最小パラメータ (モデル数4)

	1	2	3	4
動作時間 (s)	0.40 ± 0.21	0.37 ± 0.16	0.38 ± 0.22	0.78 ± 0.44
ピーク位置 (%)	49.8 ± 1.45	43.5 ± 14.7	51.9 ± 14.9	49.7 ± 8.30
最大角速度 (deg/s)	141 ± 94	70 ± 115	-11 ± 94	-140 ± 91
開始角度 (deg)	-0.05 ± 1.81	31.2 ± 21.6	48.2 ± 21.7	43.5 ± 25.7
終端角度 (deg)	31.2 ± 21.6	48.2 ± 21.7	43.5 ± 25.7	5.94 ± 20.6

表3 上腕捻り動作の躍度最小パラメータ (モデル数5)

	1	2	3	4	5
動作時間 (s)	0.35 ± 0.18	0.38 ± 0.17	0.28 ± 0.16	0.29 ± 0.17	0.73 ± 0.47
ピーク位置 (%)	49.7 ± 2.35	45.1 ± 13.0	49.5 ± 12.7	51.3 ± 13.9	49.1 ± 7.66
最大角速度 (deg/s)	131 ± 112	100 ± 138	-38 ± 89	15 ± 102	-153 ± 95
開始角度 (deg)	0.08 ± 2.20	26.4 ± 22.2	49.1 ± 20.7	41.1 ± 19.3	41.8 ± 22.7
終端角度 (deg)	26.4 ± 2.20	49.1 ± 20.7	41.1 ± 19.3	41.8 ± 22.7	0.41 ± 4.57

4. 人間とのハイタッチ動作を生成するための片腕ロボットの開発

先行研究による肩, 肘関節の動作モデルおよび本研究により提案された上腕の捻り動作モデルを適用し, 実際に人間とのハイタッチ動作を生成するために人間の腕を模した片腕ロボットの開発をおこなった。開発したロボットの概要図を図7に示す。

開発においては, 人間の腕の自由度を参考に動作軸の検討をおこない, 成人男性のサイズを元に設計・製作をおこなった。アクチュエータには, 近藤科学製 PMX-SCR-9203HV, PMX-SCR-5203HV を用いた。

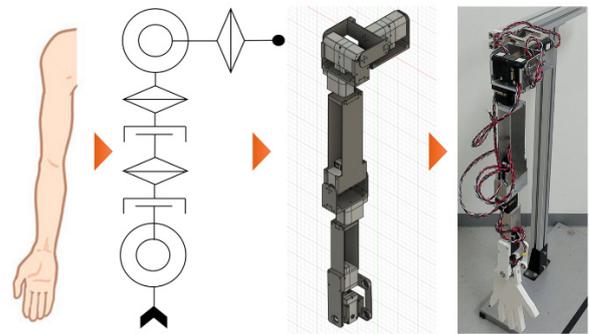


図7 上腕捻り角速度の波形

製作したロボットを用いて提案モデルによるハイタッチ動作を生成させたところ, 図8に示すように人間とのハイタッチ動作が生成可能であることが確認された。

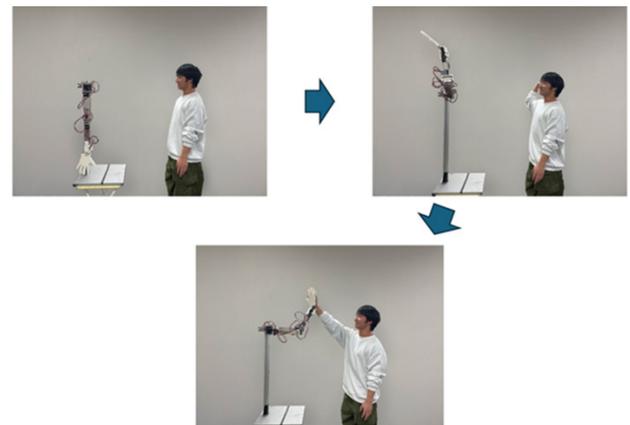


図8 片腕ロボットによるハイタッチ動作の生成

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, 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上腕の捻り角度、角速度についてのモデル化を行った。解析の結果、複数の躍度最小モデルを連続させることでハイタッチ動作を生成できることを明らかにした。また、提案モデルを適用するための片腕ロボットを製作し、ハイタッチ動作が生成可能であることを確認した。

今後の課題として、本研究によって開発したハイタッチ動作を生成するハイタッチロボットを用い、パラメータを変動させたモデルを適用して動作を生成させることで人間に好まれるハイタッチ動作を解明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, 斎藤瑤平, 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.

無機繊維に金属を半含浸させた MMC による金属-FRP 異種材料接合部材の作製と力学的評価

岡山県立大学 情報工学部 情報システム工学科

金崎真人

近年、自動車分野において燃費の向上の対策の一つとして、車体の軽量化が進められている。そのため、異種材料を適材適所に目的に応じてアルミニウム合金などの軽金属や、炭素繊維強化樹脂をはじめとした樹脂系複合材料 (Polymer Matrix Composites : 以降 PMC) を配置するマルチマテリアル化が注目されている。一方、接合する部材によって接合方法が異なることから、異種材料接合技術の向上が求められている。金属-PMC 間の接合には、応力集中と加工を減らすために面接合的であり、亀裂の進展を抑制する機構が存在し強度を樹脂に依存しない軽量な荷重伝達方法を模索する必要がある。そこで本申請では、PMC に用いられる炭素繊維 (CF) を金属側に半含浸することで露出させ、その露出した繊維ごと金属上に PMC を成形することで、繊維に直接金属-PMC 間の荷重を伝達させることにより、上記 3 点の問題を解決する新規接合手法 (以降、繊維強化異種材接合構造) を提案する。本研究では、アルミナ繊維クロスに加え、ガラス繊維クロスにアルミニウムを半分含浸させた軽金属構造体の作製の検討を行った。

1 緒言

近年、持続可能な社会実現のため、資源効率化と省エネルギー化が掲げられている。特に自動車分野において、再生不可能な一次エネルギーである石油等の化石燃料の消費量抑制や CO₂ 排出量削減のために燃費の向上が求められている。その対策の一つとして、自動車の車体の軽量化が挙げられる¹⁾。そのため、現在車体の材料が鉄鋼材で作製されていた製品は、高比強度材料であるアルミニウム合金、マグネシウム合金等の軽金属への材料置換が進められている。また、近年では高比強度、高比剛性及び高耐食性を有することから、炭素繊維強化樹脂 (Carbon fiber reinforced plastics) をはじめとした樹脂系複合材料 (Polymer Matrix Composites : 以下 PMC) への材料置換も進められている²⁾。そうした中で、適材適所に鉄鋼材や軽金属、PMC といった異種材料を目的に合わせて適用する、マルチマテリアル化が注目されている。一方で、接合する部材によってそれぞれ適用できる接合方法が異なるため、今後はより異種材接合技術の向上が求められる³⁾。

現在すでに自動車車体製造に用いられている金属-PMC 間の接合方法として、機械接合と接着接合の二種類がある⁴⁾。この接合法は、接合部の表面処理を施す必要がなく、部材に損傷を与えずに分解が可能であり、メンテナンス性に優れている。しかし、

材料に留め具を通すための開孔を行う必要があり、それによる応力集中や繊維破断が生じる。また、留め具による重量の増加等の課題がある。一方で接着法は、接着剤によって部材同士に接着接合を行う手法である。この接合法は、重量の増加が小さく、材料に開孔を行う必要がないため PMC の繊維破断が発生しにくい。また、材料の界面で接合する面接合であるため応力集中が発生しにくい。しかし、表面処理を施す必要があることや、強度が接着剤の樹脂のみに依存してしまうことによる強度の低さ等の欠点がある⁵⁾。

これらのことから、強化繊維に軽金属を半分含浸させた構造体を作製することで繊維の露出を生じさせ、その露出した繊維の上から PMC を成形する繊維強化異種材接合構造 (Fig. 1) を提案する。この接合方法は、接合部の金属部材表面に繊維を露出させたうえで PMC の成形を行うため応力集中の少ない面接合であり、軽量かつ強度の高い強化繊維を用いた軽金属-PMC 間の荷重伝達であるため樹脂のみに強度が依存せず、重量増加もほとんどないという利点がある。また、繊維が直接荷重を伝達するため金属-樹脂間の膨張係数の差による亀裂の発生抑止になる可能性も考えられる。しかし、この接合方法を行うには、強化繊維へ軽金属と PMC 含浸させる方法が必要である。

よって、本研究では、アルミナ繊維クロスとガラス繊維クロスについて、溶湯鍛造試験での半含浸体の作製の検討を行った。



Fig.1 Schematic diagram of fiber-reinforced dissimilar material joint structure

2 強化繊維のアルミニウム含浸試験

本試験では、先行研究と同じ条件で試験を行い、無機繊維クロス (Fig.2) へアルミニウム合金(以降 AC8A)の含浸を試みる。無機繊維クロスとして、アルミナ繊維クロス(Fig.3 以降 AP-1111)を 10, 15, 20 枚の 3 条件、ガラス繊維クロス(以降 YSK-G-AS)を 15 枚の計 4 条件の試料に対して試験を行った。AC8A の組成を Table 1 に示す。

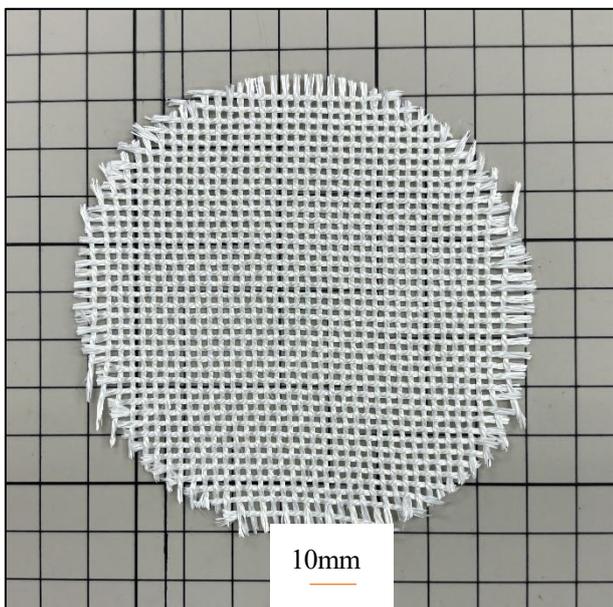


Fig.2 Alumina fiber cloth AP-1111

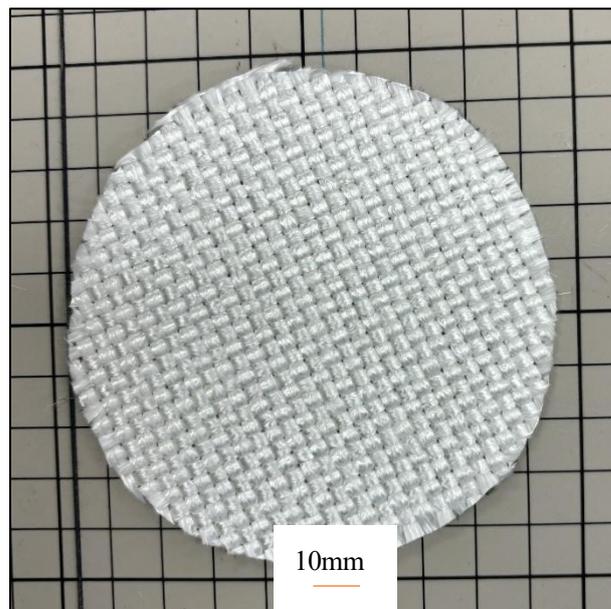


Fig.3 Glass fiber cloth YSK-G-AS

Table 1 Component of AC8A

Alloy	AC8A(mass%)
Cu	0.8~1.3
Si	11.0~13.0
Mg	0.7~1.3
Zn	≤0.15
Fe	≤0.80
Mn	≤0.15
Ni	0.8~1.5
Ti	≤0.20
Pb	≤0.05
Sn	≤0.05
Cr	≤0.10
Al	Remainder

3 試験結果と断面観察

繊維束内部の含浸の有無を確認するため、走査型電子顕微鏡を用いて観察を行った。観察画像は割愛するが、AP-1111 に関してはすべて同じ結果となり、AP-1111 の繊維束内には空隙が多く見られ、AC8A は含浸していないことが分かった。次に、YSK-G-AS における繊維束内の観察結果を Fig.4 に示す。この図から、YSK-G-AS の繊維束内には空隙がなく、AC8A が含浸していることが分かる。

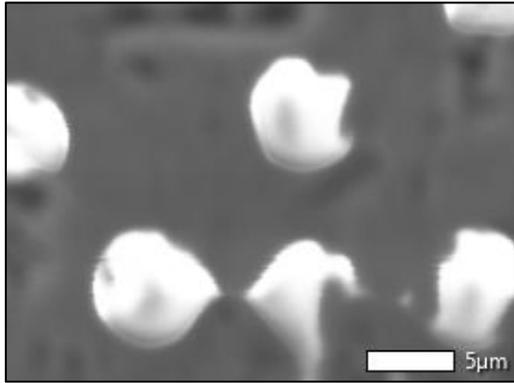


Fig.4 Fiber bundle of sample4

4 結言

YSK-G-AS において AC8A の含浸が確認された。このことから、繊維クロスの種類によって条件は異なるが、アルミニウムとの濡れ性が良い繊維クロスは溶湯鍛造試験により半含浸部を成形しつつ、アルミニウムを繊維束内部まで含浸させることができる可能性がより高いことが示唆された。

参考文献

- 1) 吳明暢・兵藤哲朗；自動車燃料消費量調査を用いたガソリン車および軽油車の燃費決定要因に関する分析, 土木学会論文集 D3(土木計画学), Vol.71, No.2(2015), p.44-47.
- 2) 横田泰之；革新材料開発への道しるべー自動車分野における溶接材料と溶接施工法の進歩ー, 溶接学会誌, Vol.87, No.8(2018), p.29.
- 3) 廣瀬明夫；マルチマテリアル車体の異材接合技術, 表面技術, Vol.73, No.8(2022), p.27.
- 4) 複合構造委員会・FRP と鋼の接合方法に関する調査研究小委員会；FRP 部材の接合および鋼と FRP の接着接合に関する先端技術, 土木学会論文集 A1(構造・地震工学), Vol.70, No.5(2014), p.II121-II122.
- 5) 中田一博；マルチマテリアル化における接合技術と異種材料接合の展開, 表面技術, Vol.72, No.12(2021), p.642-647.

クロノタイプを考慮した若年女性の生活習慣と骨格筋指数との関係（2年目）

1. 岡山県立大学 情報工学部, 2. 岡山理科大学 教育推進機構, 3. 九州共立大学 スポーツ学部

大下 和茂¹, 石原 勇次郎², 清家 空併³, 名頭 蘭 亮太³

成人期早期に達成される高い筋量の獲得は将来的なサルコペニア予防の一因とされる。しかし、大学生は生活習慣が変化しやすく、低筋量・高体脂肪など体組成への影響が指摘されている。本研究は、260名の女子大学生を対象に、現在（大学）および高校時代の運動習慣とクロノタイプおよび体組成との関連を調べた。高校と大学で運動習慣のある者（Ex-Ex）は、大学のみで運動習慣のない者（Ex-No）と比べ、体脂肪率が有意に低く、除脂肪体重が有意に高かった。高校と大学で運動習慣のない者（No-No）は、Ex-Noに比べ、体脂肪率に有意な差は認められなかったが、除脂肪体重は有意に低かった。クロノタイプについて、Ex-Exは朝型者が有意に多く、夜型者が有意に少なかったが、No-Noは約40%が夜型であり、他の2群より高い割合であった。これらの結果は、女子大学生の現在および過去の運動習慣は、クロノタイプと関連し、高校時代から一貫して運動習慣のある学生は夜型者が少なく、一貫した運動習慣のない学生は夜型者が多いことが示唆された。そのため、若年女性が適切な体組成に繋げるためにはクロノタイプに応じた生活習慣介入が必要となる可能性を示している。

1. 緒言

サルコペニアの予防や発症遅延には、筋量や筋力を中年期に維持し、高齢期での低下を最小限に抑えることに加え、成人早期に達成される高い筋力・筋量が重要とされる [1, 2]。特に、高齢期での運動介入は、筋力や身体機能改善に繋がるものの、筋量増加への効果は限定的とされており [3]、若年期における高い筋量の獲得がサルコペニア予防に重要と言える。そのため、若年期における高筋量に関連する要因を明らかにする必要性は高いと言える。特に、日本人若年女性では、低体重者 [5, 6] や正常体重肥満者 [7, 8] の高割合から、低筋量者の高割合が懸念される。これまでに、総エネルギー摂取量やたんぱく質摂取量の低さが、女子大学生における四肢筋量（AMM）や骨格筋指数（SMI）の低さに関係すると報告されている [9]。また、現在の身体活動レベル（PAL）の低さは、過去にスポーツ参加の経験があったとしても、SMIの低さに関連するとも報告されている [10]。そのため、適切な栄養摂取や身体活動がSMI獲得に重要と言える。さらに、我々は、昨年度の本助成により、日本人女子大学生のAMMやSMIの低さは、個人の時間的指向性（クロノタイプ）の遅さ、すなわち夜型傾向とPALの低さが関係することを明らかにした [11]。そのため、女子大学生の体組成に関わる要

因は、クロノタイプ特異的な身体活動介入が必要である可能性を指摘した。一方、女子大学生の身体組成には現在のPALだけでなく、過去のPALも影響するとされる [10, 12]。

そこで、本年度は、日本人女子大学生を対象に、高校時代と現在の運動習慣の有無と、AMMを含む身体組成とクロノタイプとの関係を調べた。

2. 方法

2.1 対象者（図1）

参加者は18～22歳の日本人女子大学生304名であり、このうち、後述する調査回答に不備のあった29名は除外した。また、これまでの研究 [11] と同様に、PALが高い者（2.3以上）はクロノタイプに影響する可能性があるため、該当する15名を除外した。そして、260名を対象者を、現在運動習慣のある者（n=93）と運動習慣のない者（n=167）の2群に分け、現在運動習慣がない者のうち、高校時代にも運動習慣がなかった者をNo-No群（n=86）、高校時代に運動習慣があった者をEx-No群（n=81）とした。現在運動習慣のある者のうち、高校時代にも運動習慣があった者をEx-Ex群（n=84）とした。高校時代に運動習慣がなく、現在は運動習慣がある者（No-Ex）は9名のみであったため、研究対象から除外した。

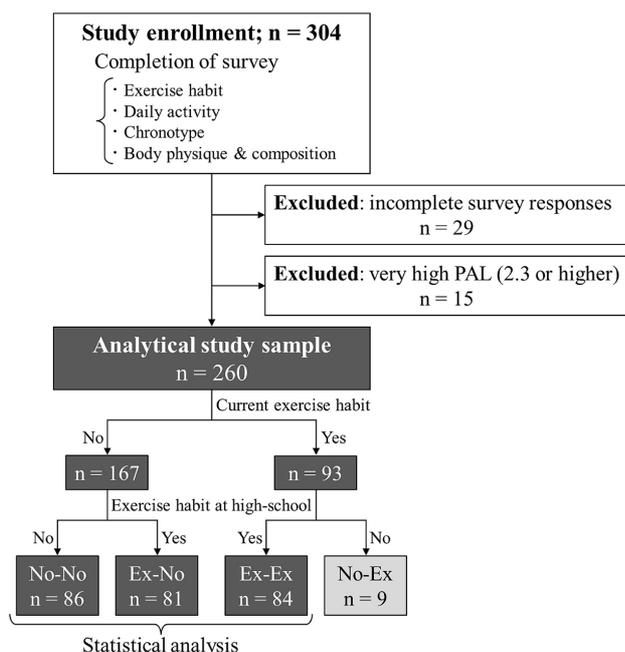


図1 対象者の選定と群分け

倫理的な配慮として、参加者には事前に口頭と文書で、調査は匿名であること、データは研究目的のために使用され、他の目的には使用されないこと（研究で使用されないデータは破棄される）、調査結果を公表する場合は、収集したデータを統計的に処理し、個人を特定できない形で公表することを伝え、協力の同意が得られた場合のみ調査を実施した。なお、本研究は、九州共立大学 研究倫理委員会の承認を得て実施された（承認番号：2022-08）。

2.2 調査項目

調査項目は、昨年度の報告書と同様であり、最近1カ月における平日1日の活動内訳を生活活動調査により調べPALを推定した。クロノタイプの評価に

は、朝型夜型質問紙（MEQ）[13]の日本語版[14]を用いた。体重と身体組成（体脂肪率（%BF）、除脂肪体重（FFM）、AMM）は多周波数生体電気インピーダンス法による体組成計（MC-780、タニタ）を用いて測定した。

2.3 統計解析

各測定値は全対象者の平均値と標準偏差を算出した。各測定値について、群間の平均値の比較にはKruskal-Wallis検定を用い、多重比較にはDunn-Sidak検定を用いた。さらに、Cohenの方法を用いて*d*値を効果量として算出した。MEQスコアが、41以下を夜型、59以上を朝型、それ以外を中間型とし、各群における該当者の割合をカイ二乗検定により比較した。各群におけるBMIが18.5 kg/m²未満、18.5～24.9 kg/m²、25 kg/m²以上の対象者の割合をカイ二乗検定で比較した。また、正常体重肥満（いわゆる隠れ肥満）の観点から、BMIが普通体重（18.5～24.9 kg/m²）で%BFが30%未満の者と30%以上の者との割合をカイ二乗検定で比較した。正常体重肥満評価の%BF基準は標準化されていないが、多くの研究で、女性は30%以上としている[15]。

統計処理には統計処理ソフトウェア StatFlex（ver.7.0.10, アーテック）を用い、統計的有意水準は5%未満とした。

3. 結果と考察

各測定値の全参加者の平均値を表1（左）に、各群の平均値を表1（右）に示す。本研究の結果、Ex-Ex群はEx-No群およびNo-No群よりも有意にPALが

表1 対象者全体と各群における各測定項目の平均値±標準偏差

	ALL	Ex-Ex (n=84)	Ex-No (n=81)	No-No (n=86)	Kruskal Wallis		Effect size (<i>d</i>)		
					<i>H</i>	<i>P</i>	Ex-Ex vs. Ex-No	Ex-Ex vs. No-No	Ex-No vs. No-No
Age (yrs)	18.8 ± 0.9	18.7 ± 0.6	18.9 ± 0.9	18.8 ± 1.1	1.51	0.47	0.19	0.13	0.00
Height (cm)	158.2 ± 5.8	160.5 ± 5.9	158.0 ± 5.2*	156.4 ± 5.6*	18.3	< 0.01	0.45	0.70	0.00
Weight (kg)	54.3 ± 8.2	56.8 ± 8.1	54.3 ± 7.3	52.3 ± 8.6*	15.0	< 0.01	0.33	0.54	0.25
BMI (kg/m ²)	21.7 ± 2.7	22.0 ± 2.4	21.7 ± 2.4	21.4 ± 3.2	5.4	0.07	0.12	0.23	0.13
%BF (%)	28.4 ± 5.7	25.5 ± 5.5	28.9 ± 4.9*	30.7 ± 5.7*	34.1	< 0.01	0.66	0.93	0.34
FFM (kg)	38.7 ± 4.7	42.1 ± 4.3	38.4 ± 4.1*	35.9 ± 3.6*†	72.6	< 0.01	0.86	1.54	0.66
AMM (kg)	17.1 ± 2.8	19.2 ± 2.6	16.7 ± 2.4*	15.5 ± 1.9*†	75.7	< 0.01	0.96	1.61	0.59
PAL	1.8 ± 0.3	2.0 ± 0.2	1.7 ± 0.2*	1.6 ± 0.2*†	90.6	< 0.01	1.31	1.68	0.46
MEQ	47.0 ± 9.4	49.7 ± 9.2	47.6 ± 8.7	44.3 ± 9.5*†	13.1	< 0.01	0.23	0.57	0.36

(*; vs. Ex-Ex, †; vs. Ex-No, *P* < 0.05 (Steel-Dwass))

表2 各群における朝型(MT), 中間型(NT)および夜型(ET)者の割合

	Chronotype		
	MT	NT	ET
Ex-Ex	17 [▲] 20.2%	50 59.5%	17 [▼] 20.2%
Ex-No	9 11.1%	49 60.5%	23 28.4%
No-No	8 9.3%	46 53.5%	32 [▲] 37.2%

$\chi^2(4) = 9.00, P = 0.06, \text{Cramer's } V = 0.13$

▲および▼は残渣分析による有意に高いおよび低いを示す

表3 各群におけるBMIの分布

	BMI (kg/m ²)		
	< 18.5	18.5-24.9	≥ 25.0
Ex-Ex	1 1.2%	73 87%	10 11.9%
Ex-No	6 7.4%	67 82.7%	8 9.9%
No-No	8 9.3%	71 82.6%	7 8.1%

$\chi^2(4) = 5.82, P = 0.21, \text{Cramer's } V = 0.11$

表3 各群におけるBMIが正常範囲(18.5~24.9 kg/m²)の者の体脂肪率(%BF)の分布

	%BF (%)	
	< 30.0	≥ 30.0
Ex-Ex	66 [▲] 90.4%	7 [▼] 9.6%
Ex-No	40 59.7%	27 40.3%
No-No	35 [▼] 49.3%	36 [▲] 50.7%

$\chi^2(4) = 29.69, P < 0.01, \text{Cramer's } V = 0.38$

▲および▼は残渣分析による有意に高いおよび低いを示す

高かった。そして、Ex-Ex 群は他の2群より、FFM や AMM が有意に多く、%BF が有意に低く、これらの効果量は中程度から大きかった。これは、女子大生が高校時代に運動習慣があっても、現在のPAL が低ければ筋肉量が少ないという先行研究結果[12]と一致し、現在の運動習慣が適切な身体組成の一因であることを示唆している。一方、No-No 群およびEx-No 群で

は、いずれも現在の運動習慣はなく、PAL に差は認められたものの、効果量は小さかった。しかし、FFM や AMM は、Ex-No 群の方がEx-Ex 群よりも有意に低く、効果量は中程度であった。18~28歳の女性を対象とした研究では、7歳以上での運動習慣が現在のAMMの高さに繋がると報告されている[16]。本研究では、No-No 群は過去から現在まで一貫して高い筋肉量を獲得する機会がなかったため、No-No 群とEx-No 群の FMM や AMM の差に繋がったと考えられる。

表2に各群のクロノタイプ分類を示す。朝型、中間型および夜型者の割合は、Ex-Ex 群で20.2%、59.5%、20.2%、Ex-No 群で11.1%、60.5%、28.4%、No-No 群で9.3%、53.5%、37.2%であった。朝型者割合はEx-Ex 群で有意に高く、夜型者割合はEx-Ex 群で有意に低く、No-No 群で有意に高かった。Ex-Ex 群とEx-No 群の間でMEQスコアに有意な差は認められなかった。これまでのreviewでは、大学生におけるPALとクロノタイプとの間に一貫性した結果が得られないとされている[17]。本研究でも、高校時代に運動習慣のある大学生(すなわち、Ex-Ex 群とEx-No 群)は、現在の運動習慣によってクロノタイプに差が認められないことを示した。一方、No-No 群とEx-No 群では、現在の運動習慣はなかったが、No-No 群はMEQスコアが有意に低かった。このようなPAL低さとクロノタイプ遅さとの関係は小児や青年においても観察されている[18]。そのため、過去のPALによるクロノタイプの違いは、現在のPALによって修正されにくい可能性がある。このことは、20代半ばで観察されたクロノタイプとPALとの関係が、大学生では一貫しないこと[17]を説明する一要因になるのかもしれない。

しかし、本研究は横断的調査のため、PALとクロノタイプとの因果関係は不明である。したがって、運動習慣が朝型のクロノタイプに影響するのか、朝型のクロノタイプが運動習慣を確立する上で有利なのかは不明である。クロノタイプではなく、サーカディアンリズムに関する研究では、夜型の若年成人における運動は、運動の時間帯にかかわらずリズムを早めることが示唆されている[19]。また、遅いクロノタイプの活動的でない思春期の対象者における

午前中の軽い運動[20]や、運動時間帯を徐々に早めていくこと[21]は、リズムを早めることが示唆されている。PAL とサーカディアンリズムに関わる詳細なメカニズムは不明であるが、日中の適度な運動は、光による刺激と同様にリズムの調整を促進することが示唆されている[22]。そのため、運動の時間帯によっては、運動習慣でサーカディアンリズムが早くなり、朝型社会に適応しやすくなる可能性がある。

表3に各群におけるBMIの分類を示す。各群ともにほとんどの者(78%以上)で普通体重であり、カイ二乗検定の結果、有意な差は認められなかった。表4に各群における普通者の%BFの分布を示す。%BFが30%未満と30%以上の割合は、Ex-Ex群で90.4%と9.6.2%, Ex-No群で59.7%と40.3%, No-No群で49.3%と50.72%であった。Ex-Ex群では%BFが30%未満の者が有意に少なかったが、No-No群では30%以上の者が有意に多かった。No-No群の参加者はMEQスコアが低く、本研究では約40%が夜型であった。本研究では運動習慣に焦点を当てたが、先行研究では夜型と他の生活行動との関連が報告されている。食事の面では、夜型者は朝食を抜くか、朝食時の摂取カロリーが少なく、夕食時の摂取カロリーが多く、午後や夜の間食が多いことが報告されている[23,24]。さらに、不規則な食事パターンも、大学生の遅いクロノタイプに関連するとされる[25]。本研究では、運動習慣によるBMI分類に有意な差は認められなかったが、No-No群のふつう体重者でも、半数以上で%BFが30%以上であった。これらの結果は、過去から一貫して運動習慣のない者は、運動によるエネルギー消費だけでなく、夜型による生活習慣の違いにより、体組成バランスが崩れていた可能性を示している。そのため、過去に運動習慣のない者が適切な体組成に繋げるためには、クロノタイプに応じた生活習慣の介入が必要であると考えられる。

4. 今後の検討課題

本研究にはいくつかの限界がある。まず、本研究は横断的調査であり、PALの変化がクロノタイプの変化と関連しているかを調べるためには、縦断的検討が必要である。特に、これまで運動習慣のなかつ

た者が、運動習慣を身に付けるようになった場合のクロノタイプの変化は興味深いだろう。本研究では、対象者が少なかったため、No-Ex群を解析から除外したが、今後の研究では、対象者数を増やし、このグループの特徴を横断的・縦断的に調べる必要がある。次に、本研究の運動習慣について、運動実施の時間帯は調査できていない。これまでの研究で、朝型者における夕方の運動はサーカディアンリズムを遅らせることが示唆されている[19]。別の研究では、思春期の夕方の運動がリズムを遅らせる可能性も報告されている[21]。しかし、睡眠パターンに関する研究では、夕方の運動は入眠時刻と起床時刻を早める可能性が指摘されており、睡眠時間や睡眠の質と睡眠前の運動との間に関連はないことも示唆されている[26]。そのため、運動時刻と睡眠との関係は弱いかもしれないが、今後の研究では運動時刻を含めた運動習慣とクロノタイプとの関係を調べる必要がある。そして、本研究では各項目の評価に質問紙調査を用いたが、今後は、PALや睡眠状態を活動量計などで客観的に評価すべきであろう。

5. 結論

本研究は、女子大学生を対象に、現在(大学)と高校時代の運動習慣とクロノタイプ・体組成との関連を調べた。高校と大学で運動習慣のある者は、大学のみで運動習慣のない者と比べ、体脂肪率が有意に低く、除脂肪体重が有意に高かった。高校と大学で運動習慣のない者は、高校のみで運動習慣のある者(現在の運動習慣はない)に比べ、除脂肪体重は有意に低かったが、体脂肪率に有意な差は認められなかった。さらに、一貫した運動習慣のない学生は、BMIが正常範囲であるにもかかわらず体脂肪率30%以上の者が半数以上で、最も該当者割合が高かった。クロノタイプについて、一貫した運動習慣のある者は朝型者が有意に多く、夜型者が有意に低かった。しかし、一貫した運動習慣のない学生は、MEQスコアが他の群より有意に低く、約40%が夜型であった。これらの結果は、高校時代から一貫した運動習慣のある女子大生は、夜型に分類される者が少ないことを示唆している。そのため、大学生の現在および過

去の運動習慣はクロノタイプと関連し、高校時代から一貫して運動習慣のある学生は夜型者が少なく、一貫した運動習慣のない学生は夜型者が多いことが示唆された。

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。

本内容の一部は、*Springer Series in Design and Innovation*の53巻(2025年)に「Association of Evening Chronotype with Prevalence of Normal-Weight Obesity Among Female University Students」として掲載された。また、*Journal of Physiological Anthropology*の43巻(2024年)に「Associations of body composition with physical activity, nutritional intake status, and chronotype among female university students in Japan」として掲載され、日本生理人類学会 2024年度 優秀論文賞を受賞した。

参考文献

1. Sayer AA, et al. The developmental origins of sarcopenia. *J Nutr Health Aging*. 2008;12(7):427-432.
2. Cruz-Jentoft AJ, et al. Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. *Age Ageing*. 2019;48(1):16-31.
3. Cruz-Jentoft AJ, et al. Prevalence of and interventions for sarcopenia in ageing adults: a systematic review. Report of the International Sarcopenia Initiative (EWGSOP and IWGS). *Age Ageing*. 2014;43(6):748-759.
4. Chen LK, et al. Asian Working Group for Sarcopenia: 2019 Consensus Update on Sarcopenia Diagnosis and Treatment. *J Am Med Dir Assoc*. 2020;21(3):300-307. e2.
5. Hayashi F, et al. Perceived body size and desire for thinness of young Japanese women: a population-based survey. *Br J Nutr*. 2006;96(6):1154-1162.
6. Sugawara A, et al. Thinness in Japanese young women. *Epidemiology*. 2009;20(3):464-465.
7. Fukuoka Y, et al. Anthropometric method for determining “masked obesity” in the young Japanese female population. *J Anthropol*. 2012;59:5614.
8. Nakanishi Y, et al. Status of normal weight obesity among Japanese women under 40 years old. *Juntendo Med J*. 2020;66(4):337-345.
9. Oshita K, et al. Association between nutritional intake status and appendicular muscle mass in female university students with a high physical activity level. *Int J Sport Health Sci*. 2023;21:9-21.
10. Oshita K, et al. Association between normal weight obesity and skeletal muscle mass index in female university students with past exercise habituation. *J Funct Morphol Kinesiol*. 2022;7(4):92.
11. Oshita K, et al. Associations of body composition with physical activity, nutritional intake status, and chronotype among female university students in Japan. *J Physiol Anthropol*, 2024;43(1):13.
12. Oshita K, et al. An association between the physical activity level and skeletal muscle mass index in female university students with a past exercise habituation. *Osteoporos Sarcopenia*. 2021;7(4):146-152.
13. Horne JA, et al. A self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms. *Int J Chronobiol*. 1976;4(2):97-110.
14. Ishihara K, et al. Validity of the Japanese Version of the Morningness-Eveningness Questionnaire. *Percept Mot Skills*, 1984;59(3):863-866.
15. Wijayatunga NN, et al. Normal weight obesity and unaddressed cardiometabolic

- health risk—a narrative review. *Int J Obes.* 2021;45(10):2141–2155.
16. Ayabe M, et al. Appendicular muscle mass and exercise/sports participation history in young Japanese women. *Ann Hum Biol.* 2019;46(4):335–339.
 17. Sempere-Rubio N, et al. Association between Chronotype, Physical Activity and Sedentary Behaviour: A Systematic Review. *Int J Environ Res Public Health.* 2022;19(15):9646.
 18. Huang WY, et al. Associations of social jetlag with physical activity and sedentary behaviour in children and adolescents: A systematic review and meta-analysis. *J Sleep Res.* 2024;33(1):e13997.
 19. Thomas JM, et al. Circadian rhythm phase shifts caused by timed exercise vary with chronotype. *JCI Insight.* 2020;5(3):e134270.
 20. Lang C, et al. Low-intensity scheduled morning exercise for adolescents with a late chronotype: a novel treatment to advance circadian phase?. *Sleep Adv.* 2022;3(1):zpac021.
 21. Richardson CE, et al. Can exercise regulate the circadian system of adolescents? Novel implications for the treatment of delayed sleep-wake phase disorder. *Sleep Med Rev.* 2017;34:122–129.
 22. Hower IM, et al. Circadian Rhythms, Exercise, and Cardiovascular Health. *J Circadian Rhythms.* 2018;16:7.
 23. Mazri FH, et al. The Association between Chronotype and Dietary Pattern among Adults: A Scoping Review. *Int J Environ Res Public Health.* 2019;17(1):68.
 24. van der Merwe C, et al. Chronotype Differences in Body Composition, Dietary Intake and Eating Behavior Outcomes: A Scoping Systematic Review. *Adv Nutr.* 2022;13(6):2357–2405.
 25. Nishimura K, et al. Effects of Irregular Mealtimes on Social and Eating Jet Lags among Japanese College Students. *Nutrients.* 2023;15(9):2128.
 26. Kahn M, et al. Is It Time We Stop Discouraging Evening Physical Activity? New Real-World Evidence From 150,000 Nights. *Front Public Health.* 2021;9:772376.

地方都市における「まちのガス屋さん」が参画する空き家再生活動に関する研究

岡山県立大学デザイン学部

穂苺 耕介

本研究の目的は、地方都市において住民の生活を支える小規模な地域事業者が参加する空き家再生拠点に着目し、拠点の活動が豊かな地域社会の実現に寄与する可能性を展望することである。本報告では、福山市鞆町の生活インフラ事業者である「まちのガス屋さん」(S社)がオーナーとして運営参画する空き家再生拠点『旧中村薬局』の空き家再生活動として開催された地域イベント『とも・こども商店街』に着目し、アクションリサーチの方法を中心とする当該イベントの実施プロセスの分析から、『旧中村薬局』をとりまく地域社会との多様な縁と豊かな空き家再生活動の実現との関係性を明らかにすることを試みた。

その結果、移住者と地域社会とのあいだに形成された多様な縁が、充実した空き家再生活動の実現に貢献していることが事例を通じて具体的に明らかになった。また、移住者と地域社会を結ぶ縁は単に多様であるだけでなく、重層的であり広範な空間的広がりを持つことも確認された。

1. はじめに

既報では、空き家再生によるエリアリノベーションが見られる地方都市(鞆の浦)のまちづくり史を概観の上、「まちのガス屋さん」S社のリノベーション事業への参入経緯とスキームを、S社の社歴・事業履歴とS社代表者に対する個人史の調査・分析から明らかにしている¹⁾²⁾。

本報告では、S社がオーナーとして運営参画する空き家再生拠点『旧中村薬局』(鞆の浦の保命酒醸造販売の基礎をなしたとされる中村家に関する建物で伝統的建造物群保存地区における伝統的建造物に位置付けられている)の空き家再生活動として2024年2月に開催された地域イベント『とも・こども商店街』(写真-1)に着目し、当該イベントの実施プロセスの分析をとおし、『旧中村薬局』をとりまく地域社会との多様な縁と豊かな空き家再生活動の実現との関係性を明らかにすることを目的とする。

当イベントは、『旧中村薬局』運営部の空き家再生活動、岡山県立大学建築学科の学外演習、福山市立鞆の浦学園の地域学習との活動連携により実施されたものである。筆者は、岡山県立大学建築学科の学外演習の担当教員として当該イベントの企画運営に当事者として参画し、イベントの実施プロセスを詳細に把握できる立場にあった。



写真-1 空き家再生活動として開催された地域イベント『とも・こども商店街』(2024年2月)

2. 研究の方法

本稿では、まず研究対象地の概要を整理の上、「まちのガス屋さん」S社とS社がオーナー兼運営参画する空き家再生拠点『旧中村薬局』の概要を整理する(第3章)。次に、『旧中村薬局』の空き家再生活動として開催された地域イベント『とも・こども商店街』における地域住民等の参加実態を、イベント当日の設置物の分布、設置場所、及び設置主体との関係から概観する(第4章)。最後に、イベント企画運営者への聞き取り調査に基づいて、イベントに協力者として関与した地域住民等の個人と空き家再生拠点との多様な縁の存在を明らかにする(第5章)。

3. S社と空き家再生拠点『旧中村薬局』の概要

1)対象地の概況

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いわれている³⁾。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が国の重要伝統的建造物群保存地区に選定されている。国勢調査による2020年時点の人口は3,783人、世帯数は1,963世帯である。細かく区切られた23の町内会(図-1)ごとに祭礼や民俗行事がとりおこなわれ、町民同士の結びつきが強いことがいわれている⁴⁾。

2)S社の概要

この町で空き家再生事業に取り組んでいる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

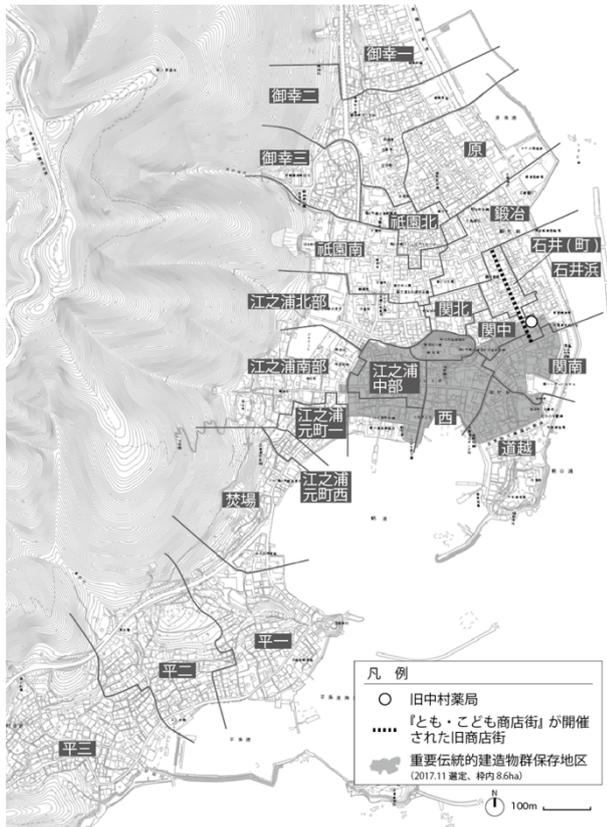


図-1 S社が運営参画する空き家再生拠点の位置

開始。鞆鉄鋼団地の完工にともない、事業所を移転した。1998年からは住宅リフォーム事業を兼ねる現在の事業スタイルへ移行。2015年からは「空き家再生プロジェクト」を立ち上げ、ガス販売事業にとどまらない事業を展開している(表-1、図-2)。

3)『旧中村薬局』の概要

S社がオーナーとして運営参画する『旧中村薬局』は、江戸時代に専売制で保命酒の製造販売を行っていた中村家⁵⁾の末裔が平成時代まで営んでいた元

表-1 S社の経営体制と事業概要

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
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	<ul style="list-style-type: none"> ・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)

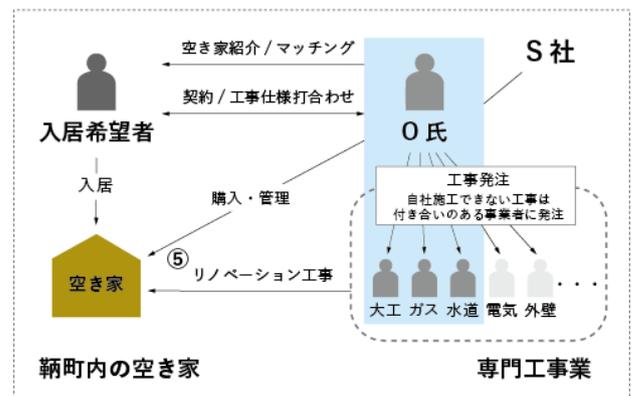


図-2 S社の空き家再生事業のスキーム

薬局建物をレンタルスペースとして漸進的にDIY改修しながら活用する空き家再生の拠点である。当建物を取得したS社代表【IM-1】と2015年に鞆町に移住してきた40代夫婦【E夫妻】の3人で「旧中村薬局運営部」という運営体（2021年2月立ち上げ）の下で運営されている。

町内会の区分の図（図-1）に戻って見ると、『旧中村薬局』は【関中】に位置しており、『とも・こども商店街』が開催された旧商店街は、『旧中村薬局』前の【関中】から【石井（町）】をまたいで位置していることがわかる。

4. 『とも・こども商店街』の企画と設営

1) 地域イベントの開催経緯

2024年2月17日に開催された地域イベント『とも・こども商店街』は、鞆町で昭和初期まで家々の軒下や通りの道端で涼み台として使われていた約

900×1800mmの縁台（呼称【えんだら】）を掘り起こし、『旧中村薬局』前の旧商店街にかつてみられたという賑わいを創出しようと試みられたものである。

前述の通り、同イベントは岡山県立大学デザイン学部建築学科の学外演習に端を発し、演習の受け入れ対応した『旧中村薬局』の空き家再生活動、及び福山市立鞆の浦学園の地域学習との協働で実施された。イベントに子ども主体の性格があるのは、イベントの企画段階において鞆の浦学園2～6年生の地域学習成果のお披露目の場という位置付けが付与されたためである。

2) 地域イベント当日の設置物と設置主体

図-3は、イベント当日の設置物として、飲食、物販、展示などの【出し物】【01】～【22】、旧商店街沿道の店舗・住宅の扉や壁面を利用した【鞆クイズ】【01】～【07】、町内の個人・団体から貸借した縁台【えんだら】【01】～【11】の配置を示したものであ

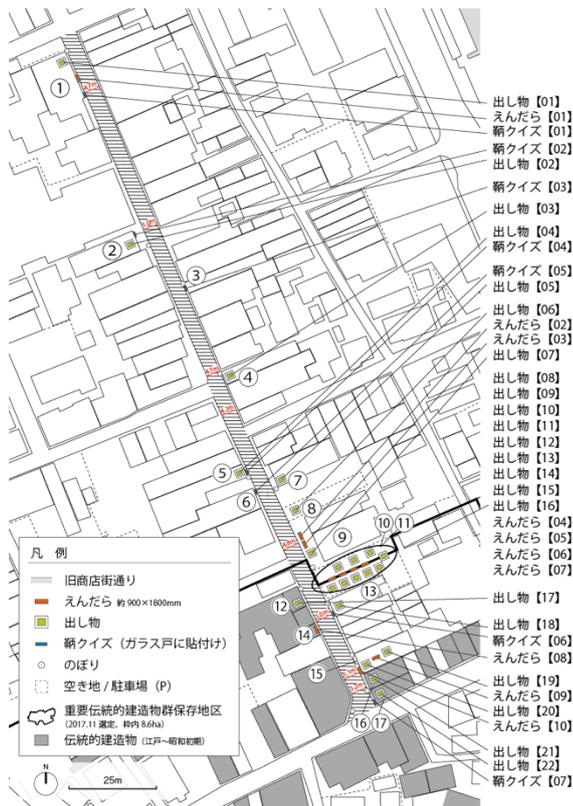


図-3 地域イベント当日の設置物の配置

表-2 設置物と設置主体との関係

設置物（【括弧】内の数字は左の地図と対応）	設置場所	設置主体
えんだら【01】	①古民家カフェ（石井家）	①古民家カフェ（石井家）
出し物【01】 手作りお菓子（月餅）の販売 鞆クイズ【01】		①古民家カフェ（石井家） 鞆の浦学園／3年生
鞆クイズ【02】	②個人住宅	鞆の浦学園／3年生
出し物【02】 絵本のおはなし会 鞆クイズ【03】		鞆の浦学園／2年生 鞆の浦学園／3年生
出し物【03】 お茶のお接待	③写真機店	鞆の浦学園／3年生
出し物【04】 手作り天ぷら&ちくわの販売 鞆クイズ【04】	④地域高齢者サロン	④地域高齢者サロン
鞆クイズ【05】	⑤ねりもの店	⑤ねりもの店／経営者 鞆の浦学園／3年生
出し物【05】 手作りスープ&ピザの販売	⑥クリーニング店	鞆の浦学園／3年生
出し物【06】 おにぎり弁当の販売	⑦イタリアンカフェ	⑦イタリアンカフェ
えんだら【02】	⑧福祉施設（駐車場）	⑧福祉施設 × 鞆の浦学園／5年生
えんだら【03】		⑧福祉施設 × 鞆の浦学園／5年生
出し物【07】 輪投げ（小学生の手作り）	⑨歯科医院（駐車場）	⑨歯科医院（駐車場）
えんだら【04】		⑨歯科医院（駐車場）
出し物【08】 甘酒のふるまい 出し物【09】 手作り保酒煮たまごの販売 出し物【10】 ドリンクの販売 出し物【11】 燻製とお酒の販売 出し物【12】 コーヒーとお酒の販売 出し物【13】 キッチンカー（りんご飴の販売） 出し物【14】 焼き芋の販売、手芸作品プレゼント 出し物【15】 バルーンアート（実演） 出し物【16】 手作りバッジ販売、地震の募金活動	⑩空き地1 ⑩空き地2	保命酒店（西） 保命酒店（関南） 鞆の浦学園／2年生 保命酒店（関南） いりこ販売店（西町） 自治会（体育会） 鉄板焼き店（道起町） ギャラリー&カフェ（西町） りんご飴移動販売店（福山市） ⑧福祉施設 個人（祇園町）-1 鞆の浦学園／6年生 喫茶店（石井（浜）） ギャラリー&カフェ（西町） 個人（祇園町）-2 岡山県立大学
えんだら【05】		岡山県立大学
えんだら【06】	⑪信用金庫駐車場	鞆の浦学園／4年生
えんだら【07】		鞆の浦学園／4年生
出し物【17】 防災ブース（学習成果の披露）	⑫観光センター更衣室	鞆の浦学園／2年生 鞆の浦学園／3年生
えんだら【08】		保命酒店（関南）
えんだら【09】	⑬個人住宅（桑田家）	保命酒店（関南）
えんだら【10】		岡山県立大学 岡山県立大学 鞆の浦学園／2年生
えんだら【11】	⑭旧中村薬局（空き家再生活動拠点）	鞆の浦学園／2年生 個人（祇園町）-3 お好み焼き店（石井（浜））
えんだら【12】		個人（祇園町）-3 お好み焼き店（石井（浜））
出し物【21】 ぜんざいの販売	⑮食堂	⑮食堂
出し物【22】 ミンチカツの販売 鞆クイズ【07】	⑯精肉店	⑯精肉店 鞆の浦学園／3年生



写真-2 地域イベント当日の設置場所の様子

る。道路延長約 200m、幅員約 5m の旧商店街沿道の店舗・住宅、空き地／駐車場の様々な空間が使われていることがわかる（写真-2）。

また、表-2 は、それらと設置主体との関係を整理したものである。設置場所の所有／利用／管理者と設置主体とが完全に一致しているもの（④、⑦、⑭）の他に、部分一致（プラスαの設置主体がいる）（①、⑤、⑧、⑰）、一致しないもの（②、③、⑥、⑨、⑩、⑪、⑫、⑬、⑮、⑯）があり、設置場所の所有／利用／管理者とは、異なる主体に空間の利用を提供しているものが多くみられた。異なる主体の内訳は、イベントの企画運営者である岡山県立大学とりんご館販売店（福山市）を除いて、いずれも鞆町内の主体である。旧商店街沿道の設置物の隙間に浮き上がった空間に、その敷地建物の所有／利用／管理者とは異なる鞆町内の設置主体が差しこまれ、空き家再生拠点のある旧商店街沿道に限らない、多様な主体が併存し、空間を豊かにしていることがわかる。

5. 空き家再生拠点と地域社会との多様な縁

最後に、旧中村薬局運営部への聞き取り調査から『とも・こども商店街』の開催プロセスにおける空き家再生拠点と地域社会との間の多様な縁の関係をみる。

1) 開催プロセスの分類

開催プロセスは、以下 A～E の 5 つのプロセスに分類することができる。

A：企画実施体制づくり（2023. 04-05～2024. 02. 06）

岡山県立大学、旧中村薬局運営部、鞆の浦学園の 3 者が企画実施に向けて協力関係を結び、えんだら制作のワークショップ、事前打ち合わせや運営の役割分担を経て、イベントの開催に至る体制づくりのプロセス。

B：[出し物]の出店者決定（2023. 11. 17～2024. 02. 04）

イベント当日、[出し物]（図-3、表-2 の出し物【1】～【22】と対応）を提供した旧商店街、及び地域内外からの出店者決定のプロセス。

C：場所の供与（2023. 12. 18～2024. 02. 04）

イベント当日、出し物の出店のための空き地の利用や鞆の浦学園の生徒考案の鞆クイズ貼付のための

店舗・住宅の壁面の利用など、旧商店街沿道の場所の貸与について許可を得るプロセス。

D：[えんだら]の貸与（2024. 01. 12～2024. 02. 08）

イベント当日の[えんだら]（図-3、表-2 の「えんだら」【1】～【11】と対応）の使用に際し、[えんだら]を所有する個人等から貸与を受けるプロセス。

E：自治組織の承認（2023. 11. 30～2024. 01. 17）

イベントの開催とそれを知らせる町内掲示板へのチラシの掲示や回覧板への掲載に際し、関係する町内の自治組織（町内会長、鞆町内会連絡協議会）の承認を得るプロセス。

1) プロセスにおける地域社会との関係性

次に、地域イベントの開催プロセスにおける空き家再生拠点を運営する個人と地域社会を構成する各個人との関係をみる。

図-4 は、『とも・こども商店街』に寄与した個人をすべて抽出の上、図-1 の町内会区分に照らして『旧中村薬局』を中心とする開催プロセスを図式化したものである。

この図からあらためてわかるのは、地域イベントは、発案自体は地域外の大学からもたらされたものであるが、結果的には『旧中村薬局』運営部と鞆町内の個人との関係性でできあがっているということである。『旧中村薬局』のある【関中】にとどまらず町内会の境界線を越境した町内の広範囲の個人との関係性が読み取れる。こうしたイベントで周囲に協力を求めようとした場合、ある限られた範囲の個人との関係性に頼りがちであるが、プロセスごとに頼る相手が異なっていることもここから読み取れる。またそこには、『旧中村薬局』運営部とさまざまな関係性で結ばれた個人が、プロセスごとの要求に応じて「相談」にのる、あるいは依頼ごとの際に両者の間に立って「口添え」をするなどして、イベントの実現を下支えする見えない協力者としての役割を担っていることも確認できる（A・B プロセス：同じ町内に住む⑧福祉施設スタッフ【G-1】、【G-2】さん（祇園）、B・D プロセス：関南保命酒屋パート勤務の保護者【G-3】さん（祇園）、E プロセス：東京から移住したコピーライター【M-2】さん（道越）、⑧福祉施設社長／同年代女子【SM-1】さん（関南）など）。

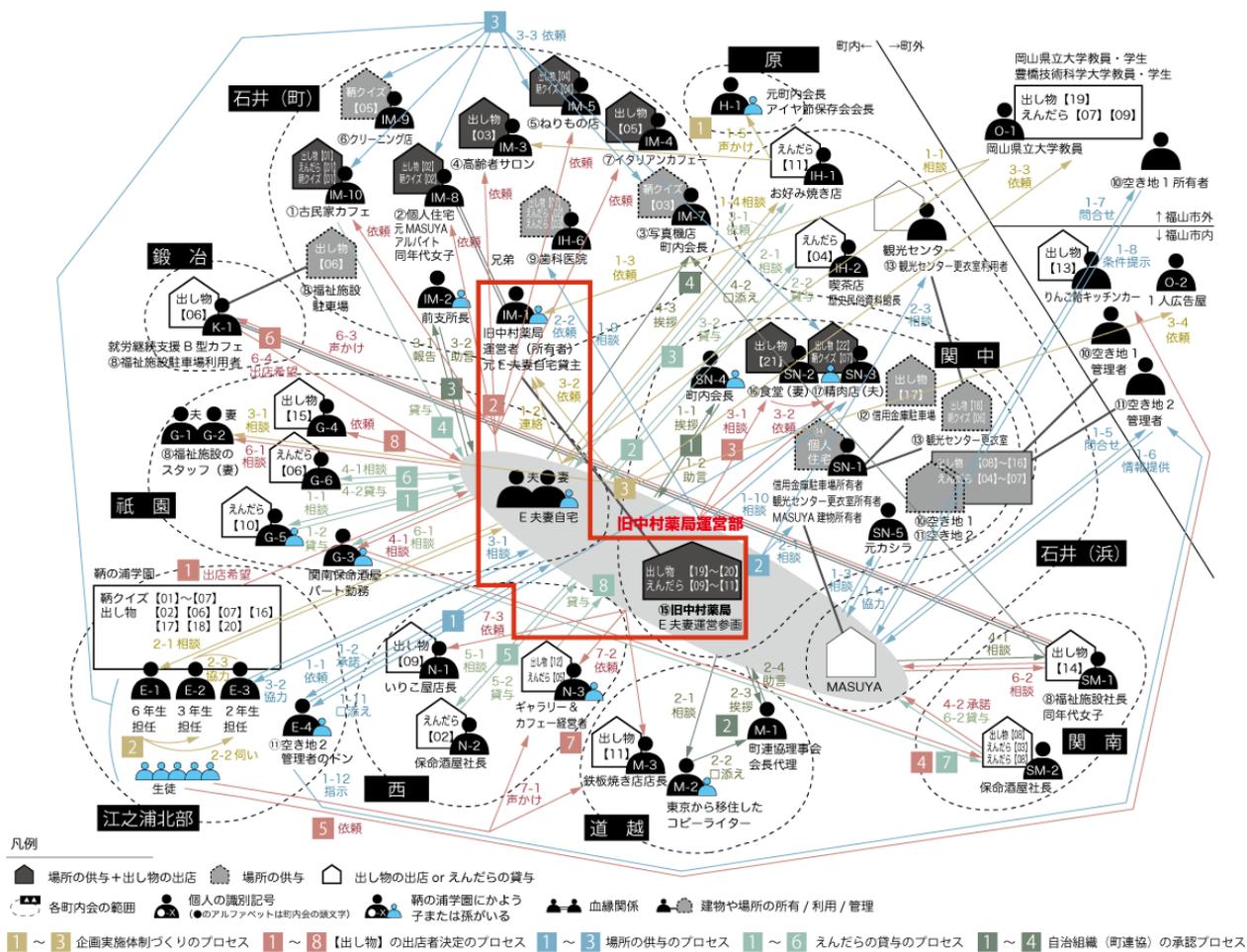


図-4 地域イベント開催における空き家再生拠点と地域社会との関係性

5. おわりに

以上の結果から、「まちのガス屋さん」がオーナーとして運営に参画する空き家再生拠点と地域社会とのあいだに形成された多様な縁が、充実した空き家再生活動に寄与していることが明らかになった。

また、空き家再生拠点と地域社会を結ぶ縁は単に多様であるだけでなく、重層的であり、町内会の範囲を越境した広範な空間的広がりを持つことも確認された。

本研究の課題として、分析対象が1つの事業者と地域社会との関係性に限定されている点、また、対象としたイベントが1回のみである点が挙げられる。今後の研究でより多くの事例の分析を行うことで本研究の成果を豊かにしていきたい。

本稿は、「空き家再生活動を支える移住者と地域住民との多様な縁に関する研究—福山市鞆町におけるイベント『とも・

こども商店街』の開催を事例に」として日本都市計画学会都市計画論文集に投稿した論文(現在審査中)の一部である。

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多大なご支援をいただきました。記して感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 穂苅耕介：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—、(公財)ウエスコ学術振興財団 R4 年度研究報告書、pp.142-147、2023。
- 2) 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。
- 3) 福山市史編さん委員会 (2017)、福山市史 原始から現代まで、p.172/pp.190-197。
- 4) 福山市文化振興課 (2017)、福山市鞆町伝統的建造物群保存対策調査報告書、pp.399-409。
- 5) 谷沢明 (1991)、瀬戸内の町並み—港町形成の歴史、未来社。

1900 年初頭より稼働する製糖工場が地域の都市構造に与える影響

— 沖縄・大東島と台湾南部を比較して

岡山県立大学デザイン学部建築学科

西川 博美

沖縄・台湾地区の製糖業の歴史の中で、その産業の変化が地域構造の変容にどのような影響を与えたかについて、製糖産業が栄えた 1900 年代初頭から現在まで製糖工場が稼働し続けている沖縄・大東島（南大東島・北大東島）の戦後の産業構造の変化と、地域構造の変容について聞き取りも含めた調査により分析を行った。その結果、農家と会社の経済的な関係について両島とも、行政や農協 JA、農業支援協会の協力により、相互に依存する関係が見られた。季節労働者（非正規）では両島ともに人材不足に悩んでいるが、南大東島では工場外での仕事に季節労働者を雇用、工場内の仕事は正社員を増やして対応し、北大東島では工場内でも外国からの労働者を雇用して生産が維持されている。また、島の灌漑については両島ともに池の水や貯水タンクを利用しているものの、生産高は降水量の変化に左右される。工場内機械では両島共に夏の期間にメンテナンスが行われ、コントロールシステムによる自動化も導入されていることが分かった。

1. 沖縄・台湾の製糖業概況

本研究は、日本の砂糖生産を支えた沖縄および日本統治期の台湾で製糖産業が栄えた台湾南部における稼働中の製糖工場施設に着目し、製糖産業の成立期から現在に至るまでの地域構造の変容について、沖縄と台湾を相互比較の観点を加え、評価・分析を行おうとしたものである。

台湾では、日本統治時代に近代的な砂糖生産が導入された。台湾南部には 43 もの製糖工場が建設され、原料となるサトウキビが大規模に栽培された。サトウキビは農場と工場を結ぶ鉄道で運ばれ、製糖は台湾の重要な産業となった。1945 年の日本統治終了後も、製糖会社が合併して新しい会社が設立され生産が続けられ、台湾の最も重要な外貨獲得源となっていた。しかし、1990 年以降稼働停止が相次ぎ、現在も引き続き稼働している製糖工場は台南市の善化糖廠と雲林県の虎尾糖廠の 2 工場のみとなっている。

沖縄においては、台湾の台南製糖などが介在して、1910 年に新式機械製法により 3 つの工場が稼働を始めた。台湾と比べると原料のサトウキビ生産量は少ないが、面積あたりの収穫量は沖縄の方がまさっていた。しかし工場は生産者との垂直的な契約関係を

築けず、生産効率が上がらなかった。現在は、沖縄本島および沖縄離島、宮古本島および宮古離島、八重山で、計 9 つの分蜜糖工場、8 つの癌蜜糖工場が稼働している。

製糖産業の特徴は、産業が製糖工場の中だけで自立するのではなく、原料のサトウキビ生産を担う農地、それを収穫する労働力に加え、運搬する手段としての軽便鉄道、製品を出荷する鉄道・道路、積出港としての港湾など、地域全体に広がるさまざまな用地や施設をまきこんで、成立してきたことにある。

日本統治時代の台湾では、総督府による原料採取区域の設定を契機に、製糖会社は、収穫効率を上げるため積極的に鉄道を敷設した。高雄州のケースでは 7 つの製糖工場が建設され、そのうち 6 つの製糖工場が、独自の私設鉄道を布設し、合計 59 駅があったことが確認できる。そして線路の結節点となる駅周辺には市街地が形成されていったのだった。

本研究では、製糖産業が栄えた 1900 年代初頭から現在まで製糖工場が稼働し続けている地域に着目した。戦前の製糖産業の最盛期に、その工場を中核としてどのような地域構造が形成されたのか、さらに戦後には、運搬手段が変わり、新たな農業機械の開発とその利用等により、これまでの地域構造がど

のように変容していったのかについて、製糖産業に関わる多様な用地・施設の関係から明らかにしようとしている。

南大東島について、1900年の玉置商会による製糖産業の開始時から、大東島の農民に農地の所有権が認められることとなった1964年までの地域構造の変容については、既に調査分析を行い、その研究発表を行っている。そこで本年度は、南大東島と北大東島の製糖工場へ訪問し、製糖産業の現状を把握した。

2. 沖縄・南大東島の製糖産業の興り

北大東島と南大東島の両島は、沖縄本島の約400km東に位置し、両島の距離は約12kmで、当初より製糖産業のために開拓された。とりわけ南大東島においては、現在も製糖産業が島の産業のほとんどを占めている。

その南大東島は、1900年に事業家・玉置半右兵衛により開拓に着手され、製糖会社による製糖業とその原料となるサトウキビの栽培が続けられてきた。1946年に村制が施行されるまで、製糖会社による支配的な体制が行われてきた特異な歴史を持つ。

開拓当初、10か所に精密機が設置され、その場所を中心に集落が形成された。また開墾事務所は島就寝部の水源地の近くの池の沢地区に設置された。玉置商会による製糖時代(1900年～1911年)に、トロッコ用鉄道が設置され本格的な甘蔗運搬鉄道となっていた⁴⁾。1908年には小学校も設置され、1916年には世帯数306戸、人口2,987になった。

その後も製糖会社による管理の元に小作農への転出入が継続し、小作人は作付け面積によって用意する宿舎の棟数が決められた。またこの頃には道路の拡張や池にはコンクリートで造られた橋が設置されるなど、交通インフラも整備された。

製糖会社は国の農商務省より開墾助成法に基づく開墾地移住家屋建築奨励の支援を受け、1927年に計10棟、総面積348坪の假小屋を建設している。さらに1931年には、移住者用家屋10棟の建設を行った。こうして小規模ではあるが、南大東島の開墾事業と民間会社による統治とも言えるような管理体制



写真1. 1920年代の南大東島の集落

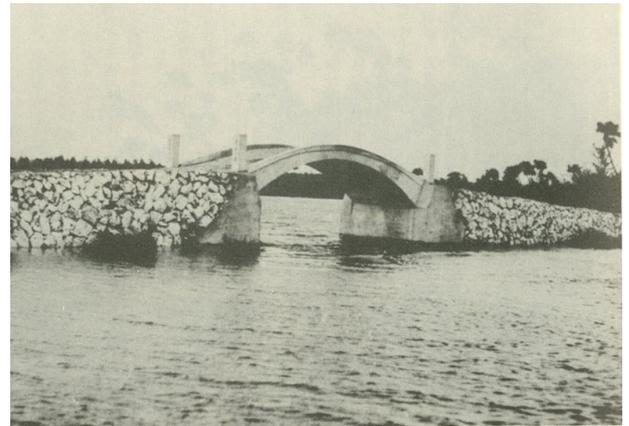


写真2. 瓢箪池にかかる月見橋

は、耕作地の開墾と移住促進という国の政策と歩調を合わせた事業でもあった。

そして戦後、村政が敷かれ、民主的社会へと社会構造が大きく変化した。1964年7月30日に米国民政府土地裁判所により1679haの土地を無償での村民に所有権が認められた。

さらにサトウキビの工作機械のハーベスターが本格的に導入された1970年代以降、島の構造は大きく変わることになった。サトウキビの手狩りのための外国からの出稼ぎ労働者の雇用は不要となった。さらに工作機械やトラックの通行のために、道路の拡張工事が行われ、それまでの並木が消失していった。更に1984年に軽便鉄道も廃止された。その結果、上記の観点から、本研究では小規模ではあるが、開墾事業と民間による管理と、国の政策と歩調を合わせた形で、耕作地の開墾と移住促進が進んだ南大東島および北大東島の製糖業に着目した。

3. 南大東島の製糖産業と社会の変化

南大東島では、戦後、村政が敷かれ、民主的社会へと社会構造が大きく変化した。1964年7月30日に米国民政府土地裁判所により1679haの土地を無償での村民に所有権が認められた。さらにサトウキビの耕作機械のハーベスターが本格的に導入された1970年代以降、島の構造は大きく変わることになった。

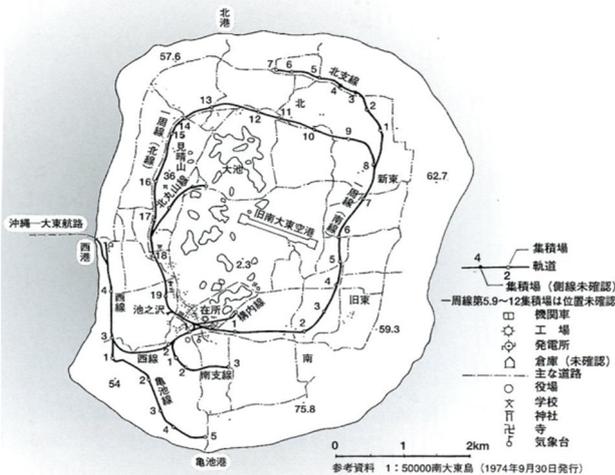


図1. 1970年の南大東島の軽便鉄道路線図

サトウキビの手狩りのための労働者の雇用は不要となった。さらに耕作機械やトラックの通行のために、道路の拡張工事が行われ、それまでの並木が消失していった。更に1984年に軽便鉄道も廃止された。

南大東島の製糖産業は1950年に大東糖業株式会社へと引き継がれ、現在も年に約10万トンの原料糖を生産している。

われわれは、2024年7月3日から7月8日にかけて、南大東島と北大東島を訪問し、製糖会社へ聞き取り、耕作者への聞き取りを行った。

南大東島の大東糖業株式会社への聞き取りから、以下のことを知ることができた。

① 農家と会社の経済的な関係について

南大東では、製糖会社が農家と契約関係を結び、価格を保証している。同時に、行政や農協JA、農業

支援協会（アグリサポート）の協力によって、農家は利益を得ることができる。具体的には、製糖工場がサトウキビの品種を選び、JAが農薬や肥料を提供し、政府が資金を提供する。加えて、製糖工場では設備の近代化が進んでおり、その多くは完全自動化されている。国民所得で見ると、南大東村の一人当たりの平均年収は全国で1、2位を争う。全国平均が300万円程度であるのに対し、南大東は500万円、北大東は600万円にも達する。ただし、政府が農家に多くの補助金を出していることが前提である。

② 季節労働者（非正規）の雇用について

現在、季節労働者（非正規）の中には、季節によって移動する臨時労働者グループの存在が大きい。彼らは夏は北海道、秋は四国や九州、冬は南大東で働くという。ただ、労働基準法の改正により労働時間や残業時間が厳しくなり、人手やスケジュールの面で課題もある。季節労働者の人数は、正社員とほぼ同数となっている。サトウキビの収穫時期である12月から3月の工場稼働期について、以前は1日2交代勤務が可能であったが、労働基準法により現在は1日3交代勤務が必要である。砂糖の生産とメンテナンスは正社員が担当している。正社員については50人以上おり、島内出身者が35%、沖縄島外出身者が20~25%、他県出身者が40~45%となっている。工場内部で機械を触る人は、今のところ正社員のみである。

③ 島の灌漑について

島内には貯水タンクがたくさんあり、その中の水を利用することができる。現地の農家によると、雨が少ない時期は塩分濃度が比較的高く、サトウキビ畑の水分補給のために井戸や地下水を灌漑に使っているとのことだった。しかし、農地の広さと水資源の多さからか、スプリンクラー灌漑方式を採用している様子がうかがえた。

④ 工場内機械について

現地で見たと、工場機械のメンテナンスや修理は、今でもほとんど現地で行われているようだった。プレスの修理では、ロールやシェルも分解して旋盤加工に取り付けられていた。シェルの交換順序、シェルの形状、溝の方向などは異なっていた。但し、

プレス加工中にロールが破損し、溶接補修が必要となるケースもあるようだ。工場で生産される砂糖は粗糖であるため、粗糖用の倉庫があり、生産期間中は土足厳禁である。粗糖はトラックに積まれて出荷される。



写真3. 2024年7月4日 大東糖業にて南大東島の製糖産業について聞き取り、および共同研究者の台北大学・王淳熙副教授より、台湾の製糖産業について解説を行う。

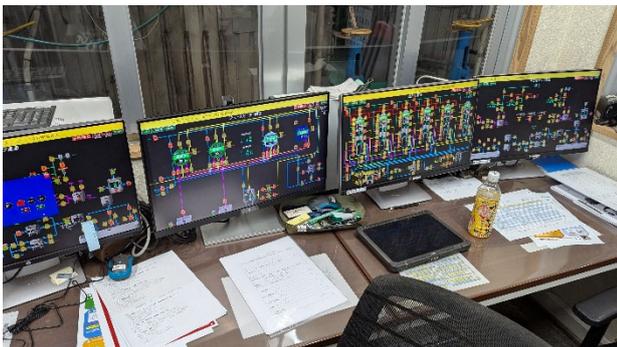


写真5. 2024年7月4日 コントローラー工場内は、若い社員によりコントローラーシステムによる自動化が進んでいた



写真4. 2024年7月4日 大東糖業工場視察 機械は取り外されメンテナンス中であった



写真6. 2024年7月7日 南大東島にてさとうきび耕作者へ聞き取り 灌漑や虫害への対応や畑の畝の向きなどについて聞き取った。



写真7. 給水タンク 島内にはたくさんの給水タンクがある

4. 北大東島の製糖業と社会の変化

更に、北大東島の北大東製糖株式会社にも聞き取りを行った。南大東島よりは規模は少ないものの、1日の圧搾能力は約360トンで、生産能力は1シーズン約2万トンで、年に約2万~3万トンの原料糖を生産している。

(1) 農家と会社の経済的な関係について

製糖工場と農家の間には契約関係がある。仲介者は株式会社うぶあがりファームである。土地の権利を持っている農家が耕作が出来ない場合、株式会社うぶあがりファームは耕作する農家を探す手助けをする。製糖工場自体は農地を持っていないが、関連会社が農地の一部を所有している。古くからの農家が耕作できないとなれば、農家から土地を買い取るか、借りるなどする。サトウキビから出るバガスと濾過された残土を混ぜ合わせれば、農地の肥料のひとつになる。村役場は貯蔵庫の建設に協力し、2立

方メートル（トラック1台分）を約1,000円という破格で販売している。



写真8. 2024年7月4日 北大東島の風景



写真9. 2024年7月4日 北大東製糖の視察
バカスと残土を混ぜて農地の肥糧とする

(2) 季節労働者（非正規）の雇用について

かつては台湾から季節的な臨時労働者が来ており、韓国からも200人ほどが働いていたが、その後、日中国交樹立（1975年）により、台湾からの季節的な臨時労働者は来なくなった。

工場は人材不足の問題に直面しており、北大東島ではほとんどの人が既に他の仕事を持っているため、島内で新たな雇用者を探すことは難しい。そのため一昨年からはインドネシア人従業員の導入を始め、現在のスタッフの半数はインドネシア人労働者で、合計23人であり、そのほとんどが工場働いている。インドネシア人労働者の生活習慣が異なるため、製糖工場では鶏を飼育する鶏舎を新設し、もともとの工場スペースの一部を厨房に改装して、自炊できるようにしている。

(3) 工場内機械について

工場は農林水産省の補助金で設備を更新したが、補助金は50%程度で、残りは会社が投資しなければならない。サトウキビの前処理、コントロールシス

テムの自動化などである。製糖工場のプレス機はギア減速付きの電動モーターを備えている。また火入れ際には安全を祈願する「火入れ式」が行われ、正式オープンまでの1週間、貯蔵した薪で徐々にボイラーを温めていき、11月12日は安全を祈願する「ボイラーの日」となっているとのことであった。



写真10. 2024年7月4日 北大東製糖の視察
プレス機は、ギア減速付きの電動モーター。サトウキビの量が少ないため、プレス機のサイズは比較的小さい

以上のように南大東島、北大東島ともに、製糖産業の変化と社会の変化は運動しながら進んで行った実態が明らかになった。

台湾では先述のように43あった製糖工場のうち現在も生産を続けているのは2工場になった。閉鎖された製糖工場の多くは、現在文化遺産として保護されている。しかし、生産の停止により、製糖工場の周辺の地域構造は大きく変化している。しかしながら現在もかつての製糖工場の周辺部には、鉄道路線が発達しているという特徴も見られる。

沖縄・大東島と台湾南部の双方の比較検討を行うために、本年度に行った沖縄・大東島の調査を更に詳細に詳細に分析を続ける必要がある。

参考文献

- 1) 南大東島編、南大東村誌、改訂版、1990年
- 2) 大東糖業株式会社編、大東糖業30年の歩み、1980年
- 3) 西川博美、安達駿、南大東島における開墾と統治について、日本建築学会大会[北陸]学術講演梗概集、pp. 11-12、2019
- 4) 安達駿、西川博美、南大東島における製糖工場周辺建築物の保存・活用について、日本建築学会大会[北陸]学術講演梗概集、pp. 1013-1014、2019
- 5) 楊雅如、西川博美、製糖産業の発展と都市形成—高雄州を中心に、日本建築学会中国支部研究報告集44、pp. 817-820、2021

パーキンソン病様マウス脳における新規 CircRNA の探索

岡山理科大学 生命科学部 医療技術学科

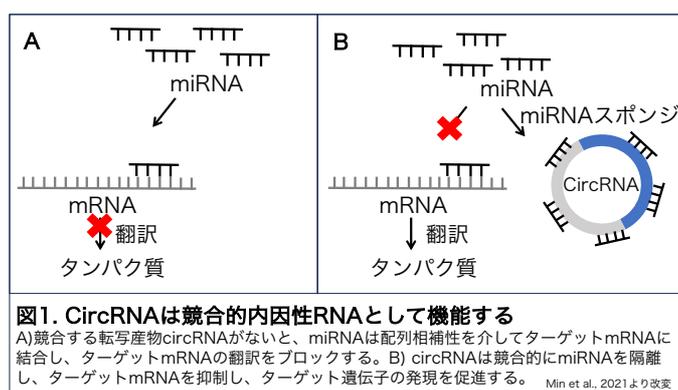
橋川 成美

カルシトニン遺伝子関連ペプチド(CGRP)は片頭痛の発症に関与し、うつ病改善作用も示唆されているペプチドである。CGRP 欠損マウスがパーキンソン病様の運動障害を示すことから、CGRP の枯渇がパーキンソン病の発症に関与している可能性が考えられる。我々は circRNA が疾患に関与することに着目し、CGRP 欠損マウス脳における新規 circRNA の探索を試みた。まず、total RNA から circRNA 精製を試みたが、サンプル量が不足していたため、先に miRNA の変化を解析することとした。C57BL/6J マウスを対照とし、CGRP 欠損マウス脳において次世代シーケンス解析を実施した結果、Mir96, 183, 182, 216b の発現上昇が確認された。一方で発現減少している miRNA は検出されなかった。今後は qPCR によりターゲット miRNA を再確認し、Mir96 阻害薬(antagomir)を脳黒質に投与し、パーキンソン病様運動症状の改善や、ドパミン神経の回復効果について検証を進める予定である。

カルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) は神経に存在するペプチドで、血管拡張作用を介して痛みを引き起こすことが知られている。近年、CGRP の上昇が片頭痛の発症に関与しているとされ、CGRP を標的とした抗体医薬も日本で承認されている。我々はこれまで、脳内 CGRP の生理作用の解明を目的とし、研究を進めてきた。その結果、ストレス負荷マウスに CGRP を投与することで、うつ様症状や恐怖・不安行動が改善されること報告している (Hashikawa-Hobara et al., 2015, 2021 Sci Rep.)。

一方、パーキンソン病の前駆症状としてストレスによるうつ様症状があげられている (Dallé et al., 2018)。このことから、我々は「CGRP が欠損することで、パーキンソン病の発症リスクが高まるのではないか」との仮説を立てた。実際に、CGRP 欠損マウスがドパミン減少を伴う運動障害を示すこと (第 96 回日本薬理学会年会)、また抗 CGRP 抗体医薬の投与でもパーキンソン病様症状と α シヌクレイン(SNCA)の蓄積が見られることを報告してきた(第 147 回日本薬理学会関東部会)。

そのメカニズム解明のために、我々は環状 RNA (circRNA)に着目した。circRNA はがんや神経変性疾患、心血管疾患などさまざまな疾患に関与しており、microRNA (miRNA)と結合することでその機能を調節し、遺伝子発現を制御するとされる



(図1)。パーキンソン病では circSNCA が miR-7 をスポンジし、 α シヌクレイン発現量を増加させることが報告されている (Sang et al., 2018)。

このことから、CGRP 欠損による α シヌクレインを増加の背景に、circSNCA やその他の circRNA / miRNA の関与がある可能性を検討し、新規 circRNA を探索するための網羅的解析を計画した。

CircRNA 探索にあたり、Qiagen 社の RNeasy Mini kit を用いて total RNA を抽出後、RNaseR 処理を行い、直鎖 RNA の除去を行った。CircRNA は total RAN 中の 0.1~0.01% と極めて少なく、RNaseR 処理には 10 μ g の RNA が必要とされたが、脳からの初回抽出量は 1.38 μ g と不足していた。

そこで、脳黒質周辺も含めて採取し、エタノール沈殿により濃縮した結果、17.4 μ g まで total RNA を得ることができた。その後、Thermo Fisher 社の

病原細菌の glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase 菌体表出のメカニズムの解明とその意義

岡山理科大学生命科学部医療技術学科

松永 望

(概要)

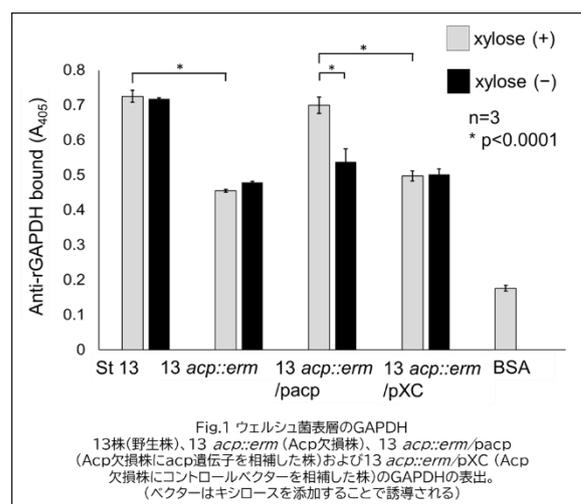
病原細菌は接着因子を介して宿主の細胞や組織に接着する。我々はガス壊疽を引き起こす病原細菌であるウェルシュ菌が宿主の Fibronectin (Fn) に接着することを明らかにした。Fn と結合するウェルシュ菌の表層上のタンパク質について検討したところ、ウェルシュ菌自己溶解酵素であるオートリシン (Acp) および解糖系酵素の一つである glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) が候補として挙げられた。GAPDH は signal peptide を有さず、どのような作用機序でウェルシュ菌表層へ表出しているのか、ならびに、細胞質内において機能する GAPDH が菌体表層へ表出する意義については不明であった。本研究はウェルシュ菌 st13 (野生株) およびウェルシュ菌 13 *acp::erm* 株 (13 株を親株とした *acp* 欠損株) を用いて、菌体表層の GAPDH についてフローサイトメトリーおよび共焦点レーザー顕微鏡を用いて検討した。13 *acp::erm* 株は野生株と比較して GAPDH の表出量は減少したこと、また、一部の GAPDH は Acp と共局在していることが明らかとなった。これらのことから、GAPDH は Acp を介してウェルシュ菌菌体へ表出し、菌体の Fn への接着を調整している可能性が示唆された。

1. 背景と目的

病原細菌は自身の接着因子を介して宿主細胞や組織に接着して、増殖し、感染巣を形成する。その後、接着因子が宿主の結合部位から解離することで、菌体は感染巣を拡大する。そのため、病原細菌が有する接着因子の研究は宿主-細菌相互作用の解明や病原細菌に対する治療戦略の立案に重要である。我々は食中毒や創感染症の起原菌であるウェルシュ菌がヒトの Fibronectin (Fn) を介して組織に結合することを見出した[1]。また、解糖系酵素の一つであり、菌体内で機能している glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) がウェルシュ菌体表層に存在すること、GAPDH が Fn とマイルドに結合することを見出した[2]。しかしながら、signal peptide を有さず、菌体内に存在する GAPDH がどのようにして菌体表層へ表出しているのか、また、GAPDH が菌体表層へ表出している意義については不明である。

一方、黄色ブドウ球菌や A 群β溶連菌において、自己細胞壁溶解酵素オートリシン (菌体表層に存在し、分裂時に自己の細胞壁を分解し、菌体の正常分裂に関与する酵素) が GAPDH や Fn と結合していることが報告されている。

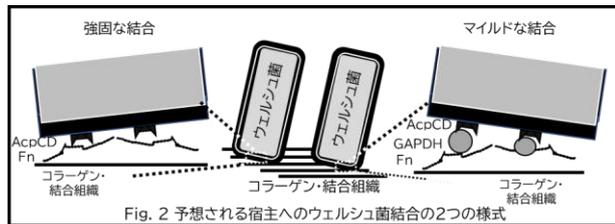
そこで我々はウェルシュ菌オートリシン (Acp) や *acp* 欠損株を用いて調べた結果、Acp の触媒ドメイン (AcpCD) に GAPDH が結合したこと[2]、Fn は AcpCD に強く結合すること、*acp* 欠損株は野生株と比較して Fn の結合量が有意に減少したことを見出した[3]。さらに *acp* 欠損株は野生株と比較して表層に存在する GAPDH の量が有意に減少していることを見出した (Fig. 1)。



以上のことから、我々はウェルシュ菌 GAPDH が AcpCD を介して菌体表層へ表出されていること、GAPDH が AcpCD と比べ Fn との結合がマイルドなことから、感染巣拡大のため GAPDH は Fn とウェルシュ

菌との結合を調節していると予想している (Fig. 2)。

本研究においては、まず菌体表面における Acp と GAPDH の相互関係を明らかにするため、フローサイ



トメトリーでの解析並びに共焦点レーザー顕微鏡による解析を行った。

2. 方法

1) フローサイトメトリーによるウェルシュ菌 GAPDH 表出の解析

ブレインハートインフュージョン培地にて嫌気条件下でウェルシュ菌 st13 株 (土壌由来の野生株) および st13 *acp::erm* 株 (st13 株を親株とした *acp* 欠損株) をそれぞれ $OD_{600}=0.1$ まで培養した。その後、集菌および洗浄し、4%パラホルムアルデヒドにて固定した。固定後の菌体を集菌、洗浄し、 $OD_{600}=2.0$ に調整した。1%BSAにてBlockingを行い、洗浄し、その後、GAPDH 免疫後-モルモット血清または免疫前モルモット血清を一晩 4°Cにて反応させ、その後、二次抗体として AlexaFluor594 標識ロバ抗モルモット IgG (H+L) 抗体を室温、1時間反応させた。洗浄後、PBS に懸濁し、フローサイトメトリー (Guava® easy Cyte Liminex 社) にて解析を行った。

2) 共焦点レーザー顕微鏡による AcpCD と GAPDH の共局在の解析

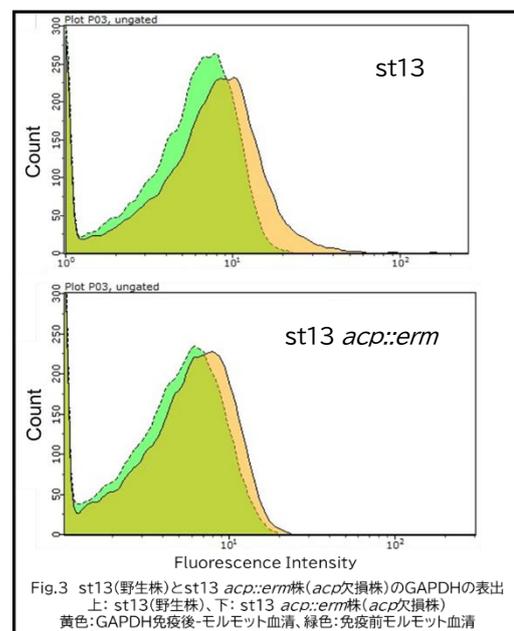
GAM 培地にてウェルシュ菌 st13 株および st13 *acp::erm* 株を $OD_{600}=0.5$ または 2.0 まで培養した。その後、2.-1) と同様に固定、調整、Blocking を行い、抗 AcpCD 抗体 (ウサギ由来ポリクローナル抗体) または GAPDH 免疫後モルモット血清を一晩 4°Cにて反応させ、その後、二次抗体として FITC 標識ヤギ抗ウサギ IgG (H+L) 抗体、および AlexaFluor594 標識ロバ抗モルモット IgG (H+

L) 抗体を室温、1時間反応させた。洗浄後、PBS に懸濁し、FV3000 共焦点レーザー走査型顕微鏡 (オリンパス社) にて観察した。

3. 結果

1) フローサイトメトリーによるウェルシュ菌 GAPDH 表出の解析

GAPDH 免疫後-モルモット血清と反応させた st13 株は免疫前モルモット血清と反応させた st13 株と比較して明確に peak shift が起こっていた。しかしながら、GAPDH 免疫後-モルモット血清と反応させた st13 *acp::erm* 株および免疫前モルモット血清と反応させた st13 *acp::erm* 株においては、ほぼ同じ peak を示した (Fig. 3)。



2) 共焦点レーザー顕微鏡による AcpCD と GAPDH 共局在の解析

st13 株では $OD_{600}=0.5$ および 2.0 において抗 AcpCD 抗体および GAPDH 免疫後モルモット血清によって蛍光染色されていた。また、Merge 像において共染色されていた像が検出された (Fig.4 A)。一方、st13 *acp::erm* 株においては、抗 AcpCD 抗体および GAPDH 免疫後モルモット血清において染色像お

よび Merge 像は認められなかった (Fig. 4B)。

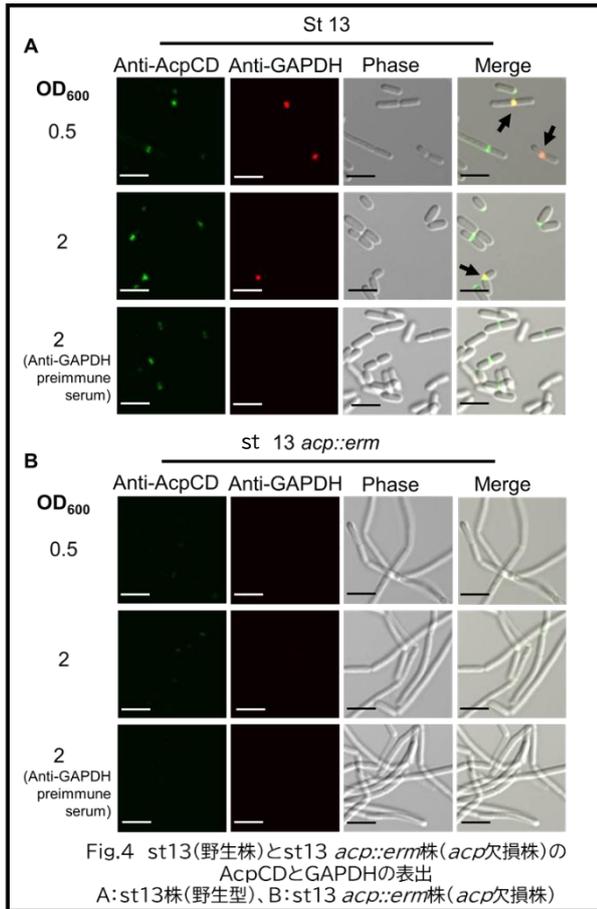


Fig.4 st13(野生株)とst13 *acp::erm*株(*acp*欠損株)の AcpCDとGAPDHの表出
A:st13株(野生型)、B:st13 *acp::erm*株(*acp*欠損株)

4. 考察

本研究により、我々はウェルシュ菌の GAPDH は Acp を介して表層に表出していることが明らかとなった。

以前、我々は Ligand-Blotting 法および質量分析法によってウェルシュ菌表層中に存在する未知の 2 種類のタンパク質が Fn と結合することを明らかとして、それぞれ FbpC および FbpD と名付けた[4]。しかしながら、これらのタンパク質を欠損させた株と野生株の Fn の結合量は変化しなかった[3]。そのため、FbpC および FbpD は Fn への接着よりもウェルシュ菌体表面上で異なった役割を演じている可能性が考えられた。

一方、別の Fn 結合タンパク質の候補として挙げられた GAPDH がウェルシュ菌表層に表出していることが我々の研究で明らかとなったが、その表出メカニズムが不明であった [2]。

フローサイトメトリーおよび共焦点レーザー顕微鏡の結果から st13 *acp::erm* 株は野生株と比較し

て、菌体表層上の GAPDH が明らかに減少した

(Fig.4 および 5)。さらに、共焦点レーザー顕微鏡の結果から菌体表層上の Acp と GAPDH が結合していることが明らかとなった。このことから、菌体表層上に存在する一部の GAPDH は菌体表層に存在する Acp を介して存在していることが明らかとなった。ただし、全ての Acp に GAPDH が必ず結合するわけではない。

以前の研究から、我々は AcpCD が Fn と強く結合すること、GAPDH が Fn とマイルドに結合することを明らかにした[2, 3]。さらに本研究結果はウェルシュ菌表層 Acp には GAPDH が結合している form と結合していない form の双方が存在していることを示した。我々はこの form の違いにより、ウェルシュ菌の Fn への結合を調整していると予測している (Fig. 2)。今後は、これらの菌体の form の違いによる Fn 結合量の差を検討する。

5. 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承りましたこと深く感謝申し上げます。

6. 参考文献

- [1] Hitsumoto Y *et al.*, Adhesive properties of *Clostridium perfringens* to extracellular matrix proteins collagens and fibronectin. *Anaerobe* 25, 67-71 (2014).
- [2] Matsunaga N *et al.*, Expression of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase on the surface of *Clostridium perfringens* cells. *Anaerobe* 51, 124-130 (2018)
- [3] Aono R *et al.*, Autolysin as a fibronectin receptor on the cell surface of *Clostridium perfringens*. *Anaerobe* 83, (2023).
- [4] Katayama S *et al.*, Novel cell wall-associated fibronectin-binding proteins of *Clostridium perfringens*. *J Anal Bio-Sci* 3, 1-9 (2015)

間期細胞核における DNA トポイソメラーゼ II α と β の核小体-核質間 シャトリングの分子メカニズムの解析

岡山理科大学 生命科学部 生物科学科

河野 真二

DNA トポイソメラーゼ II (Top2) の核小体-核質間シャトリングの分子メカニズムを明らかにするために、Top2B と相互作用する RNA とタンパク質について、近位ビオチン標識タグの 1 つである APEX2 タグを利用して解析した。RNA の解析では、Input 画分とプルダウン (PD) 画分の RNA を使って定量的に評価することで、Top2 阻害剤であるエトポシド (ETP) に依存してビオチン化効率が変動する RNA を見出した。non-coding RNA や protein-coding RNA のビオチン化効率が ETP 依存的に高くなる傾向が認められたのに対し、snoRNA や snRNA は低下する傾向にあることが示された。タンパク質の解析では、核内ボディの 1 つであるカハール体に着目した解析を行い、その主要構成因子であるコイリンと Top2B が細胞核内で近接して存在することが明らかになった。さらにカハール体は、siRNA で Top2B をノックダウンした細胞において、その数や局在パターンが変動した。今後は、同定された RNA 分子や相互作用タンパク質が Top2B の核小体-核質間シャトリングに与える影響について解析を進めるとともに、核内ボディにおける Top2B の役割も明らかにしていきたい。

1. はじめに

DNA トポイソメラーゼ II (Top2) は、二重鎖 DNA の切断と再結合を触媒する酵素であり、転写反応や複製反応の進行に伴って生じる DNA の超らせん構造や、細胞分裂期における姉妹染色体間の DNA の絡まりなどの DNA のトポロジカルな立体構造を解消する役割を担っている。脊椎動物には α (Top2A) と β (Top2B)、2種類のアイソザイムが存在する。緑色蛍光タンパク質タグを利用した解析から、間期の細胞核内において Top2A と Top2B が核質と核小体の間をシャトリングしていることが示された (文献 1)。しかしながら、なぜ Top2A と Top2B が核質と核小体の間をシャトリングしているのか、その生物学的意義と分子メカニズムは未だ不明である。

我々はこれまでに、Top2A と Top2B の酵素活性や細胞核内動態が、RNA や RNA 結合タンパク質との相互作用によって制御されていることを明らかにしてきた (文献 2-5)。近年、RNA や RNA 結合タンパク質を構成因子とする核内ボディとよばれる構造体が、相分離という物理現象によって形成されることが提唱されており (文献 6)、細胞核内において特定の分子を集めたり隔離したりすることで生化学的

な反応を促進したり抑制したりしていると考えられている。このことから、Top2A と Top2B の相互作用する RNA や RNA 結合タンパク質が、細胞核内での区画化や酵素活性を調節する役割を果たしていることが考えられた。そこで本研究では、Top2A と Top2B が細胞核内で相互作用する RNA やタンパク質を、近位ビオチン標識タグの 1 つである APEX2 タグ (アスコルビン酸ペルオキシダーゼ) を利用して (文献 7)、網羅的に解析することを試みた。

2. 結果と考察

(1) 相互作用 RNA の解析

昨年度までに、APEX2 タグ融合 Top2B を発現させた HEK293 細胞において、 H_2O_2 依存的な RNA のビオチン化とストレプトアビジンをを使ったプルダウン (PD)、さらに PD 画分の RNA-seq 解析を行い、クロマチンと相互作用する RNA や核小体に局在する snoRNA、核内ボディを構成する ncRNA を同定した (令和 5 年度研究成果報告書)。今年度はさらに候補 RNA 分子を絞り込むために、Input 画分と PD 画分に含まれる RNA 分子の定量的な比較を行った。Input 画分と PD 画分の RNA をそれぞれ

RNA-seq 解析し、Salmon v1.2.0 (文献 8) を用いてリードのマッピングとカウントを行った。

まず、Top2 阻害剤の 1 つであるエトポシド (ETP) の有無が PD 画分への濃縮 (RNA のビオチン化) に影響するか、ETP 存在下での LOG2 (PD/Input) を縦軸に、ETP 非存在下での LOG2 (PD/Input) を横軸に取り、スキャッタープロットで表した (図 1)。その結果、負の相関を示す (ETP 存在下あるいは非存在下で PD 画分に濃縮されやすい) RNA が存在することが明らかになった。

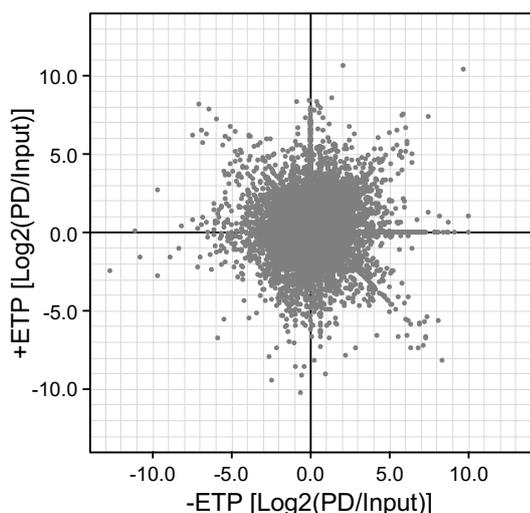


図 1. RNA ビオチン化効率に対する ETP の影響

次に、PD 画分に濃縮される RNA の分子種に ETP が影響するか解析した (図 2)。その結果、lncRNA と protein-coding は ETP 処理した場合に高くなる傾向が認められた。一方、snoRNA や snRNA は ETP 処理した場合に低下する傾向にあることが示された。これらの結果から、Top2B は核質では lncRNA や protein-coding RNA と、核小体では snoRNA や snRNA と相互作用している可能性が示唆された。

(2) 相互作用タンパク質の解析

昨年度までに、Top2B と相互作用するタンパク質の候補として、核内ボディに含まれるタンパク質をいくつか同定した。今年度は、核内ボディの 1 つであるカハール体に着目した解析を行った。まず、カハール体の主要構成タンパク質であるコイリンが、APEX2 タグ融合 Top2B によってビオチン標識され

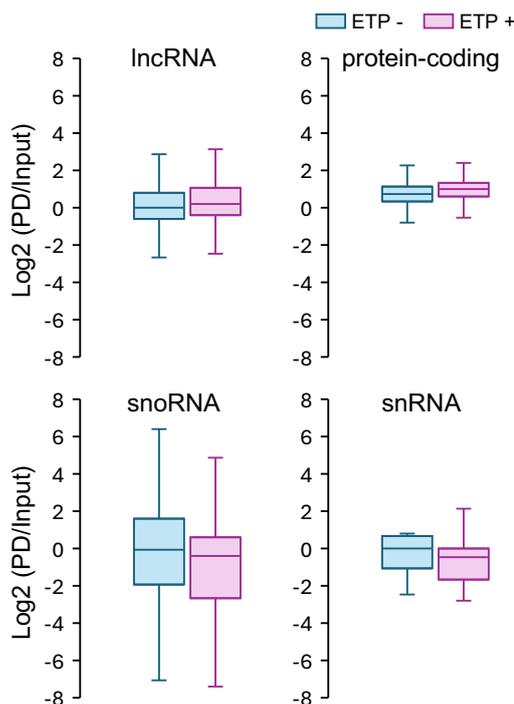


図 2. RNA 分子種に対する ETP の影響

るかどうか解析した。ストレプトアビジンビーズによる PD 画分にコイリンが検出されたことから、Top2B とカハール体が近接していることが示唆された。次に、Top2B を siRNA でノックダウンした細胞において、カハール体が影響を受けるかどうか、免疫蛍光染色法で解析した。その結果、Top2B をノックダウンした細胞においてカハール体の数や局在パターンが変動する傾向にあることが示された。カハール体は遺伝子発現の制御やクロマチンハブとしての機能を有しており、Top2B がカハール体の機能制御に関わっている可能性が考えられる。

3. まとめ

本研究の結果から、Top2B と相互作用する RNA の候補分子をある程度絞り込むことができた。また、核小体以外の核内ボディ、特にカハール体との相互作用を示唆する新たな結果が得られた。核内ボディに共通する特徴として、複数のクロマチンを束ねるハブとしての機能を有するとともに、遺伝子発現を制御していることがあげられる (文献 9)。Top2B は、細胞核内で RNA や RNA 結合タンパク質と相互作用して核小体を含む核内ボディとの間をシャトリング

しながら、クロマチン構造の形成や遺伝子発現制御にはたらいっていることが考えられる（図3）。

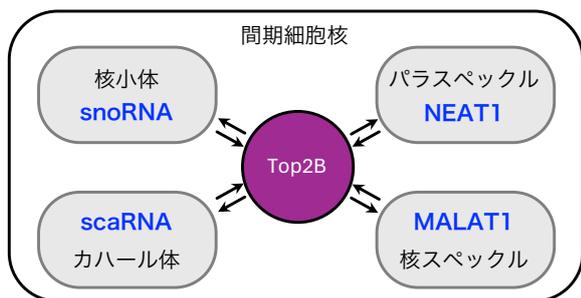


図3. Top2Bの間期細胞核内動態モデル

4. 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から感謝申し上げます。

5. 研究成果の発表

APEX2 タグを利用した DNA トポイソメラーゼ II と相互作用する RNA 分子の解析 金丸竜聖、池田正五、河野真二 OUS フォーラム 2024

6. 参考文献

1. Christensen M.O., *et al.* Dynamics of human DNA topoisomerases II α and II β in living cells. *Journal of Cell Biology*, 2002, **157**, 31-44.
2. Yasuda K., *et al.* Regulation of catalytic activity and nucleolar localization of rat DNA topoisomerase II α through its C-terminal domain. *Genes & Genetic Systems*, 2020, **95**, 291-302.
3. Kawano S., *et al.* DNA binding activity of the proximal C-terminal domain of rat DNA topoisomerase II β is involved in ICRF -193-induced closed-clamp formation. *PLOS ONE*, 2020, **15**, e0239466.
4. Onoda A., *et al.* Nuclear dynamics of topoisomerase II β reflects its catalytic activity that is regulated by binding of RNA to the C-terminal domain. *Nucleic Acids Research*, 2014, **42**, 9005-9020.

5. Kawano S., *et al.* Regulation of DNA topoisomerase II β through RNA-dependent association with heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U (hnRNP U). *The Journal of Biological Chemistry*, 2010, **285**, 26451-26460.
6. Banani S.F., *et al.* Biomolecular condensates: organizers of cellular biochemistry. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2017, **18**, 285-298.
7. Fazal F. M., *et al.* Atlas of Subcellular RNA Localization Revealed by APEX-Seq. *Cell*, 2019, **178**, 473-490.
8. Patro R., *et al.* Salmon provides fast and bias-aware quantification of transcript expression. *Nature Methods*, 2017, **14**, 417-419.
9. Hirose T., *et al.* A guide to membraneless organelles and their various roles in gene regulation. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2023, **24**, 288-304.

植物の光受容体フィトクロムが持つ N 末端天然変性領域に関する研究

岡山理科大学生命科学部

濱田 隆宏

(概要)

フィトクロムは種子の発芽や胚軸の伸長、葉緑体の発達や運動などの制御に関わる植物の光受容体である。暗黒条件や遠赤外光条件ではフィトクロムは細胞質に拡散しているが、赤色光を受けると核に移行し、遺伝子発現制御を行うことが知られている。またフィトクロムには遺伝子発現を伴わない早い反応も知られているが、その分子メカニズムについては明らかにされていない。近年、立体構造を持たない天然変性領域を持つタンパク質が液-液相分離を引き起こし、細胞内で膜なしオルガネラ（コンデンセート）を形成して迅速な機能変換を行うこと報告され、この液-液相分離がフィトクロムの早い反応を引き起こしている可能性がある。私達はこれまでに高い検出感度の顕微鏡を用いることにより、フィトクロムが細胞質でコンデンセートを形成することを明らかにした。本研究では植物が光として感じない 1040 nm レーザーで観察を行い、暗黒下ではフィトクロムのコンデンセート形成が起きないこと、コンデンセート形成には 640 nm 付近の赤色光が必要であること、遠赤外光の照射が迅速なコンデンセートの分解を引き起こすことを明らかにした。

(本文)

植物は光環境に敏感に応答し、その発生・分化運命を柔軟に変化させる。そのためハウス栽培や植物工場では様々な波長を組み合わせ、本来の生育時期と異なる時期での収穫や、特定の栄養素を高蓄積させた機能性食品の生産などが行われている。特に近年ではコスト抑制の観点から LED ライトを用いることが主流になり、特定の波長のみを選択することが可能となった。しかしながら、植物の生育や分化促進に対して、どのような波長・強度の光が有効であるかは不明な点が多く、更なる研究が求められている。

本研究では、光受容体タンパク質であるフィトクロムに注目した研究を行った。フィトクロムは植物の光受容体であり、赤色光を吸収する Pr(不活性型)と遠赤色光を吸収する Pfr(活性型)を相互変換することが知られている。シロイヌナズナにはフィトクロム A(PHYA)から PHYE の 5 つのファミリーがあり、発芽や胚軸の伸長、実生の脱黄化などの制御を行っている。PHYB を用いた研究では、PHYB は光

を受けると二量体を形成し細胞質から核内へと移行することが知られている。核内へと移行した PHYB は、Phytochrome-interacting Factor(PIF)などのタンパク質と相互作用して遺伝子制御を行うことが知られている。このとき、フィトクロムは核内で粒状の構造を形成している。

近年、立体構造を持たない天然変性領域 (intrinsically disordered region, IDR) を持つタンパク質が液-液相分離を引き起こし、細胞内で膜なしオルガネラ（コンデンセート）を形成することが知られている。フィトクロムの核内顆粒形成も、この液-液相分離によるコンデンセートであることが知られている。フィトクロムには遺伝子発現を伴わない早い反応も知られているが、そのメカニズムは植物生理学分野における長年の謎である。私達はこの液-液相分離がフィトクロムの早い反応を引き起こしている可能性を考えた。そこで私達は 2019 年からフィトクロムの N 末端側に存在する IDR に注目した解析を行い、フィトクロム欠失変異植物体を用いた表現型の回復実験によって、フィトクロムの機能発現には IDR が必要不可欠であることを示した。

さらにフィトクロムが細胞質で微小なコンデンセートを素早く形成することを示した。しかし残念なことに、私達の研究とほぼ同様の内容が昨年度に発表され (Chen et al. 2022 Mol Cell, 82, 3015-3029)、現在、追加実験を行うことで論文発表を目指している。

令和6年度の研究では、次の3つのテーマに注目した解析を行った。

- (1) 近位依存性ビオチン標識法を用いたフィトクロム相互作用タンパク質の同定と局在解析
- (2) フィトクロムのN末端IDRに隠されたタンパク質相互作用ドメインの解析
- (3) コンデンセート形成と融合に対する照射光波長依存性の確認

本報告書ではこれらのテーマの中でも最も顕著な成果が得られている(3) コンデンセート形成と融合に対する照射光波長依存性の確認について報告する。

私達が注目している「光を受けた直後に細胞質で形成されるフィトクロムの微小コンデンセート」は高い検出感度を持つ全反射顕微鏡とスピニングディスク型共焦点レーザー顕微鏡を用いることで発見した新規構造である(図1)。これまでのフィトクロム研究では、光依存的に核内に形成される大型コンデンセートが解析対象とされており、過去にこのようなフィトクロムの微小コンデンセートは報告されておらず、本研究の特徴と言える。



図1 スピニングディスク型共焦点レーザー顕微鏡によるフィトクロム細胞質コンデンセートの高検出感度観察

可視光レーザーで観察を行うと観察開始時には細胞質コンデンセートが観察されている。さらに観察を続けると、個々のフィトクロムコンデンセートは融合し、大きな顆粒となる。

これまでの全反射顕微鏡とスピニングディスク型共焦点レーザー顕微鏡による観察では、蛍光タンパク質の励起に可視光領域レーザーを使用している。植物は可視光領域レーザーを光刺激として感知し、光受容体の活性化・不活性化を引き起こす。そこで今年度は、植物が光として感じない1040 nmレーザーによって蛍光タンパク質の励起が可能である1040 nmレーザー搭載スピニングディスク型共焦点レーザー顕微鏡を用い、観察光の影響を無くした状態で観察を行った。

1040 nmレーザーによる観察によりフィトクロムの細胞質コンデンセート形成が起きないことを明らかにした(図2)。この結果は暗黒下ではフィトクロムの細胞質コンデンセート形成が起きないことを意味している。

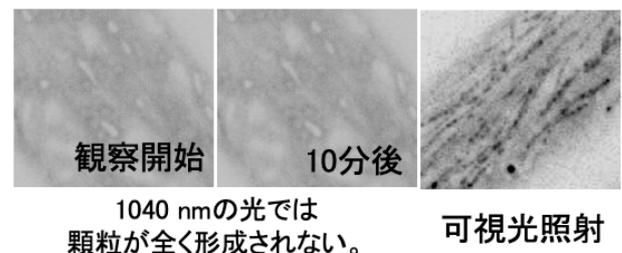


図2 1040 nmレーザー搭載型スピニングディスク型共焦点レーザー顕微鏡による観察

1040 nmレーザーによる観察ではフィトクロム細胞質コンデンセートの形成は確認されず、またコンデンセートの融合も起こらない。その一方、可視光を照射した後に1040 nmレーザーを用いた観察を行うと、フィトクロム細胞質コンデンセートの形成を確認できる。

さらにフィトクロム細胞質コンデンセート形成に対する波長特異性をLEDライト照射により調べた。その結果、640 nm付近の赤色光がフィトクロム細胞質コンデンセート形成に最も有効であることを明らかにした。また700 nm付近の遠赤外光の照射が迅速なコンデンセートの分解を引き起こすことも明らかにした。

今後はコンデンセートの融合や分解に関する解析を更に詳細に進めることで、フィトクロム細胞質コンデンセートのダイナミクスを明らかにする必要がある。

人への利用を事前検証できる中小型動物用褥瘡防止体位変換マットの開発

岡山理科大学 情報理工学部 情報理工学科

趙 菲菲

近年、ペットの長寿命化が進む中で、人間と同様に身体機能の低下に伴い、寝たきり状態や長期入院を余儀なくされるケースが増加している。このような状況を背景に、動物における QOL (Quality of Life: 生活の質) の向上にも一層の注目が集まっており、その重要性は今後さらに高まると考えられる。また、動物たちの QOL 向上は人の QOL にもつながる。そこで本研究では、四面体型柔軟アクチュエータ (TFA) を用いて、一定時間ごとの体位変換が必要な高齢飼い主および獣医療看護師の負担を軽減し、将来的な人への応用に向けた事前検証も可能な中小型動物用褥瘡防止を目的とした自動体位変換・移乗機能付きアクティブマットレスの開発を検討した。本研究で得られた成果は動物を対象とすることで、事前実験が困難な人用の機器への応用に向けた基礎データの提供にもつながるという利点がある。今年度は、前年度に試作した三分の一サイズのプロトタイプアクティブマットレスを改良し、外枠の追加およびアクチュエータの数を増加させることで、より精密な制御を試みた。最後に、男女3名の協力のもと、実機を用いた補助の有効性に関する確認実験を実施した。

1. はじめに

近年、世界ではペットの社会的地位の高まりと共に犬や猫の飼育環境も向上しており、犬や猫の平均寿命は 12~15 歳程度にまで延びている。ペットの長寿命化により、人間と同様に、身体機能低下のため寝たきりや長期間入院の小型・中型ペットの問題も生じている。そのため、患犬・患猫社会の日本ではすでに患犬・患猫⇄ペットの間の老老介護が社会問題になっている。老衰した小型・中型のペットとなると、寝たきり状態の看護では褥瘡防止のため定期的な体位変化が必須であり、看護者(飼い主)の拘束時間や身体的な負担も増え、本来ならば“癒し”のため飼われたペットが、高齢飼い主の精神的な負担になるケースは非常に多くみられる。また、動物病院では、小型・大型ペットの看護も必須で、獣医療看護師への負担も無視できない。本研究では従来行われていない新たな獣医療福祉工学の取り組みとして、寝たきり動物の体位変換のために、湾曲や伸長動作が可能な四面体型柔軟アクチュエータ(TFA)を用いて、平常時にはシートとして使い、体位変化や移動時には、TFA 群による組み合わせ式の進行波により体位変換や移乗が可能な中小型動物用褥瘡防止体位変換マットの開発を行った。また、この検証は従来事前実験が不可能な人用の機器への応用のための基礎データを提供できる利点がある。動物の福祉

を対象とし、その成果を生かし、人間身体用リハビリ装置や体位変換デバイスへの開発にも応用できる。

2. TFA の構造と形状解析

本研究で使用する TFA は、ゴムチューブを蛇腹状の被覆で覆った EFPA3 本を、厚さ 1 mm の PET シート 10 枚で蛇腹を利用して、四面体の 3 辺に約 60 度の角度で位置するように拘束したアクチュエータであり、最大 150 N の負荷の持ち上げが可能である。また、図 1 は本研究で製作した無加圧時の高さ 85 mm の TFA を示す。加圧する EFPA の数により、6 方向への湾曲と垂直方向への伸長が可能である。また、これらを 10 個用いて試作した褥瘡防止用アクティブマットレスの外観を図 2 に示す。



図 1 6 方向の湾曲動作

TFA の構造動作を調べるため、解析モデルを構築し、シミュレーションを行った。TFA のエンドポイント座標の解析モデル図を図3の (a) と (b) に示す。アクチュエータのエンドポイント座標 $P(x, y, z)$ と (x_n, y_n, z_n) の関係は、式 (1), (2), (3) で与えられる。ここで、 a は EFPA セクションの上部座標 (x_n, y_n, z_n) からアクチュエータのエンドポイント (x, y, z) (クッションの先端) までの距離を表しており、58 mm である。また、 h_b はアクチュエータ設置面から EFPA の下端までの距離で、9 mm である。

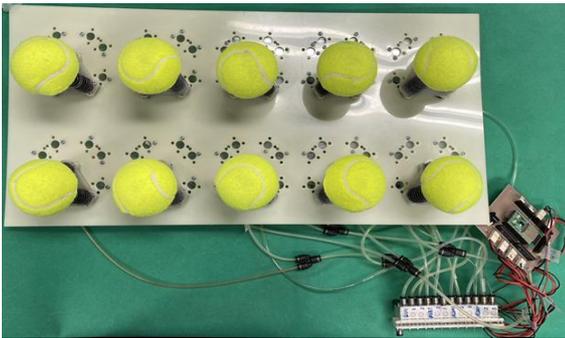
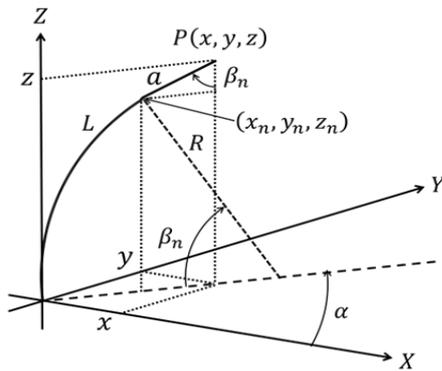
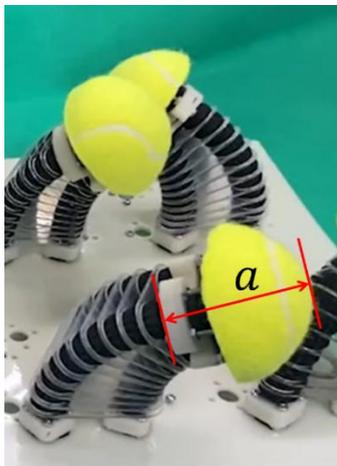


図2 前年度試作したプロトタイプの外観



(a)



(b)

図3 TFA の解析モデル

$$x = x_n + a \sin\beta_n \cos\alpha \quad (1)$$

$$y = y_n + a \sin\beta_n \sin\alpha \quad (2)$$

$$z = z_n + a \cos\beta_n + h_b \quad (3)$$

前述の解析モデルと MATLAB を用いて、TFA の姿勢シミュレーションと描画を行った。図4はTFAの姿勢形状の基本描画結果を示す。図5の (a) と (b) は具体例として、250, 300 kPa で加圧した場合のTFAのシミュレーション姿勢を示している。計算されたTFAの姿勢は図1に示した実験姿勢と類似しており、解析モデルの妥当性が確認できる。TFAに加わる荷重や力により、湾曲角や動作が影響されるため、次に動作確認実験を行った。

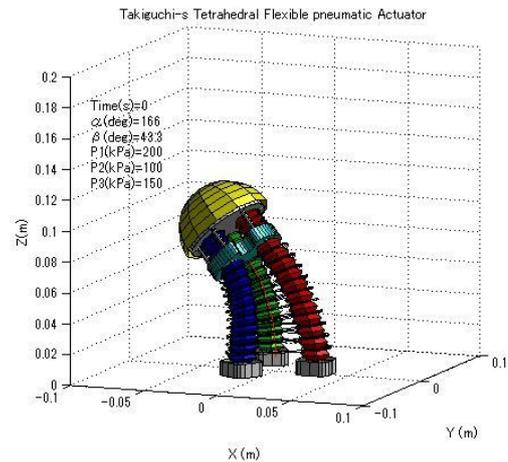
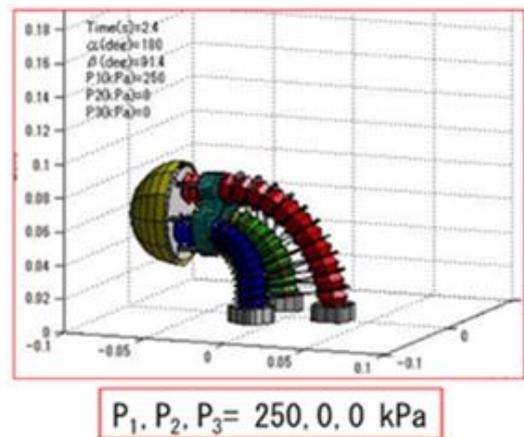
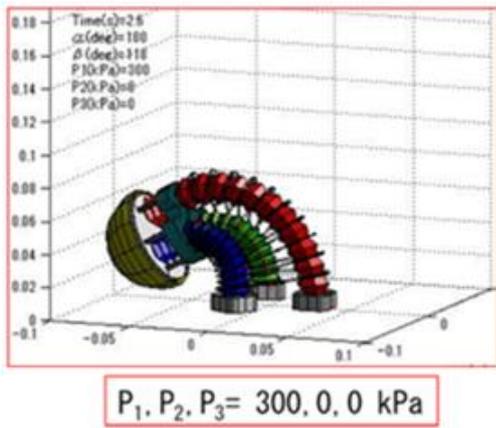


図4 TFAの姿勢形状の基本描画結果



(a)



(b)

図5 250, 300 kPa で加圧した場合の TFA のシミュレーション姿勢

3. 試作マットレスの制御システム

動作の有効性の確認のため、アクティブマットレスのサイズを小型化し、 0.6×0.3 m とした。そのため、対象患者小動物の体重を想定し、マットレスが支える荷重は約 20 kgf と設定した。



図6 TFA のグループ化

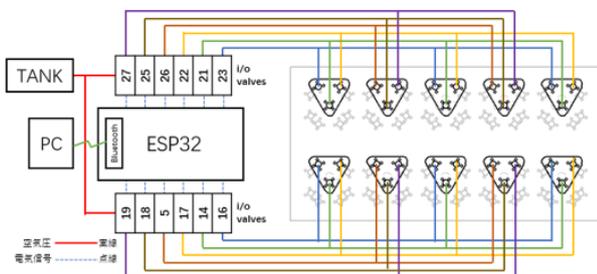


図7 操作システム構造図

試作マットレスの外観と TFA のグループ化を図 6 に示す。これは TFA 10 個を 2 列に並べた構造となっている。各 TFA は、縦方向に 0.1 m 間隔、横方向

に 0.15 m 間隔で配置されている。また、TFA の上端はクッションとして半球状のテニスボールで覆われ保護されている。図 5 で示すように、1 列 5 個の TFA を、列ごとに 1 つ飛ばしに 3 個と 2 個の 4 グループに分けた。グループ毎に同一動作をするように設定することで、少ない弁での動作を可能にした。その制御システムの構成を図 7 に示す。システムは、Bluetooth 通信可能な組込コントローラ (株式会社 Espressif Systems ESP32-WROOM-32) を使用した。

次に介助動作の設計について述べる。寝たきり患者小動物や高齢者小動物などの褥瘡防止のための体位変換が必要となる理由として、皮膚がベッドシートとの長期接触で皮膚が圧迫され、血流が滞ってしまうため、炎症を起こし、潰瘍となってしまうことがあげられる。また、重症化する恐れもある。そこで、皮膚とベッド面の接触を定期的に変えることで褥瘡防止効果があると考えた。小動物の体型から体位変換相当する支持位置を変える動作と移乗する介護動作相当する並進動作が実現できればよいではあるが、本研究の最終目標は人用の機器へのデータ提供であるため、人に応用できる介護補助パターンも考案した。① 体位変換相当する周期的に患者小動物の支持位置を変える動作、② ベッドからの移乗を想定した並進動作、③ 上半身を起こす介護動作を想定した回転動作 (人間を対象)、④ おむつ替え時の高齢者を横向きにさせる動作を想定した軸回転動作 (人間を対象) の 4 パターンを考え、動作確認を行った。まず、① の褥瘡防止のため周期的に患者小動物の支持位置を変えるための動作を図 8 に示す。図 8 中の●は伸長動作の TFA を示す。動作は TFA を列毎に 3 個と 2 個を伸長させる動作を繰り返し、その切替え時に全ての TFA を伸長させる動作を加えることで、患者小動物の垂直高さを変えることなく、支持面を切替えることができた。

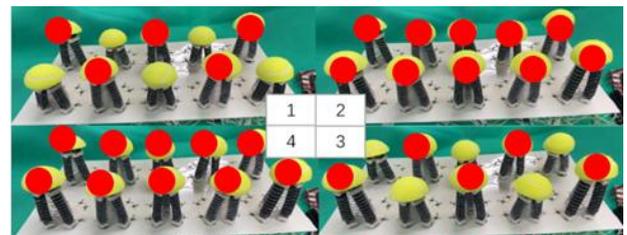


図8 周期的に患者小動物の支持位置変更動作

次に②ベッドからの移乗を想定した並進動作の動作実験を行った。図9は動作実験の様子およびタイムチャートを示す。実験では3 kgfの負荷を加え、動作確認した。並進動作の原理は以下の通りである。TFAの湾曲動作だけでは、重量物の移乗に十分な曲げトルクを生じない。しかし、伸長時には垂直方向に150 Nの大きな力を生じるので、これを利用した駆動方法を考案した。具体的には、グループ毎で、負荷を移動させる方向とは逆方向に湾曲させた（準備動作）後に垂直方向への伸長動作をさせる。これにより、持ち上げ動作を行い、推進力を生じさせた後に進行方向に湾曲させる。これは、重力を利用して物体を落としながら移動させる方法と同じである。以上の動作をグループ毎に2秒のずれを加えた状態で実施することで、並進動作が可能になる。図9中の矢印は各パターンにおけるTFAの移動方向を示す。青色の矢印は事前準備期間の湾曲、赤色の塗りつぶし丸は持ち上げ動作、黄色の矢印は進行方向への湾曲を示す。このように交互の位置の進行波の発生により物体の移動が実現できる。

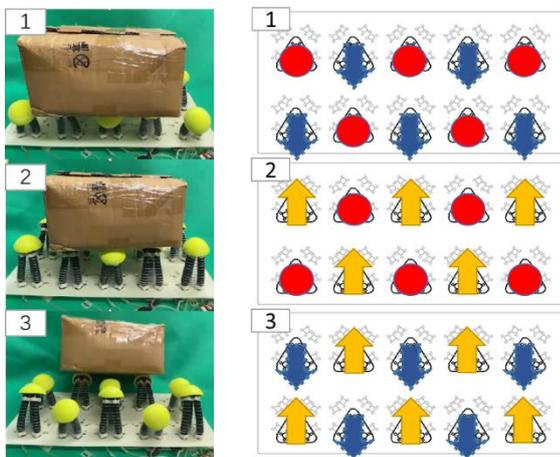


図9 並進動作パターン

次に、③上半身を起こす介護動作に相当する回転動作実験とタイムチャートを図10に示す。ここでも、並進動作と同じ重さの負荷を使用した。図9の回転動作も並進動作と同様に個々のTFAが進行方向を生じる方向とは逆方向に湾曲した後、持ち上げ動作を介して進行方向に湾曲することでその方向ベクトルに、上に乗った負荷（患者）に力を加える方法を用

いている。

回転移乗では図10の動作パターンに示すように各パターンに対して青色の矢印で示す準備用の湾曲動作を加えた状態で、赤色塗りつぶし丸で示す持ち上げ、黄色の矢印で示す方向への湾曲による推進力により負荷に回転を与える搬送波を生じさせている。実験では軽量物(3 kgf未満)の搬送は十分実現できたが、約15 kgfの負荷では引っ掛かりを生じた。理由としてTFAの湾曲時の保持力が不足するため負荷が傾き、TFAが座屈したような状態となり移乗動作が実現できなかったと考えられる。それは上に乗せる負荷を支えるマットレス筐体部がないため、すべての負荷がTFAにかかってしまったためと推測できる。そこでこの対策として、マットレスの外側を枠で囲み、内側をマイクロビーズなどのクッション材で満たすことで流動的に負荷を支える仕組みを付加することでTFAにかかる力の軽減が可能だと考えた。

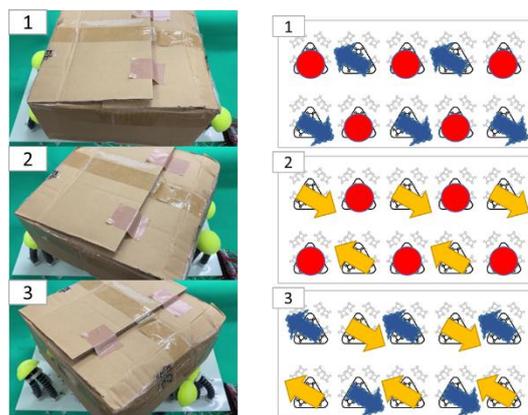


図10 回転動作パターン

4. アクティブマットレスの改良

目標の15~20 kgfの負荷を動かせるよう、マットレス筐体部の構築を行った。まず図11に示すように、以前の実験からの改良として、アクチュエータの高さに合わせて剛性のフレームを設置した。また等間隔でベルトを掛けることで、支持する部分を広げた。これにより、TFAの湾曲を妨げず、湾曲時の保持力が増した。また上に乗せる負荷も小動物に相当でき、人の胴体にも近づけるように、砂袋とPETシートを用いて図12のような形を形成した。形状は人間を対象としたCT画像10枚程から縦横比を割

り出し、試作のアクティブマットレスの大きさに合わせて比率は同じで大きさを決めた。その結果、胸部は縦横 108×180mm で、腹部は 120×200 mm となり、質量は 12 kg になった。

改良したアクティブマットレスを用い、褥瘡防止の①の動作に関しては以前と同様の結果が得られた。しかし②ベッドから車いすやストレッチャーなどへの移乗を考えた並進動作を以前と同様の方法で実験を試みたが、約 4 倍に増えた負荷を動かすには支えが足りず、困難であった。以前の配置では TFA の間が広く空いていることが原因で隙間に負荷が挟まってしまう問題が生じた。そのため TFA の間を埋めるため、湾曲時に TFA の動作を妨げない程度に配置を 3 列に変更した。それに合わせて配置換えが容易にできるように土台も変更した。



図 11 追加した外枠



図 12 疑似胴体負荷

また、人間を対象とした寝たきり患者の介護の中でおむつ替えなどの際に患者を左右に横向ける動作が一番頻度が多く、2~3 人で行わなくてはならない重労働とされる。その動作のサポートができるような動作もできないかと考え、④おむつ替え時の高齢者を横向きさせる動作と相当する軸回転動作、いわゆる寝返り動作の動作確認を行った。実際の介護現場では、寝返り介助の方法として、介護者が患者の横に立ち、両手で患者の奥側の膝を立て、左手は曲

げている膝に当て、右手は肩に添えて、手前方向に引っ張る動作をし、患者を仰向けから横向きにするというやり方が一般的である。そこで、アクティブマットレスは患者が寝返りするとき、軸となる片方の体を逆方向への並行移動動作を実現できれば、介護者の寝返り介助作業の負担を軽減できると言える。そのためには TFA で力を加えた状態を維持する動作が必要になる。そこで、図 13 と図 14 に示す筐体の側面に新たなアクチュエータをつけることで自由にベルトを弛張できるような仕組みを検討した。その為に、EFPA10 本を利用したものを製作し、弛張動作の再現を試みた。その動作のイメージを図 15 に示す。EFPA でベルトを引っ張った状態をデフォルトとし、EFPA を加圧するとベルトが緩み、上の負荷が中央に寄る。その状態のまま TFA を湾曲動作させることで TFA の搬送波がうまく伝わり、負荷を並行移動できることを確認し、試作アクティブマットレスの有効性を確認した。

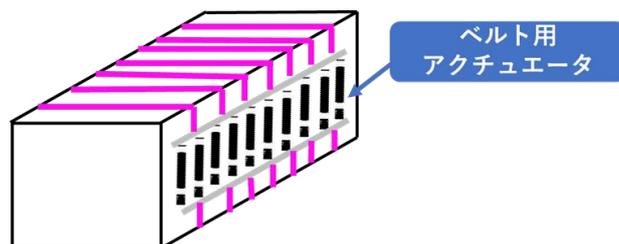


図 13 ベルト用 EFPA を設置するイメージ



図 14 筐体側面アクチュエータ

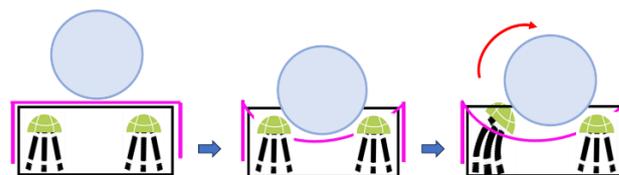


図 15 動作イメージ

次に寝返り運動を TFA の動作と合わせて現場の介助動作に相当する手で引っ張る場合と、TFA の補助

なしで、手で引っ張る動作の場合の力の大きさを測るため、デジタルフォースゲージを用いて計測を行った。男性2人・女性1人の計3人がそれぞれ3回実験した。実験イメージおよび実験風景を図15と図16に示す。介護者が寝返りをサポートする際、大きな力を必要とする初期動作（抱き起す）をTFAが補助する場合と想定した。例として、被験者の一人が「補助あり・なし」で行った場合の仕事量（力×距離）を図16に示す。橙線がTFAの補助なしの結果で青線が補助ありの結果である。TFAの補助がある方が初期動作で加える力や仕事が小さいことがわかる。他の2人も同様の結果になった。また実験を行った後のヒアリング調査より、初期動作での力のサポートがあるだけで「患者小動物を回転しやすくなり、力の軽減が行われている実感がある」ことが分かった。このことから、介護者が寝返り補助動作を行う際、この試作したアクティブマットレスを併用することで介護者の身体的負担を軽減できると考えられる。

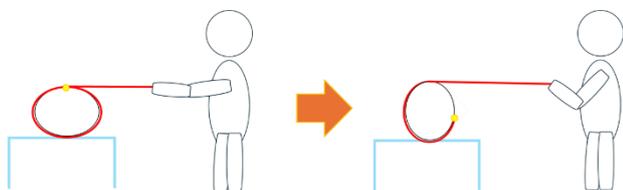


図15 実験イメージ



図16 実験風景

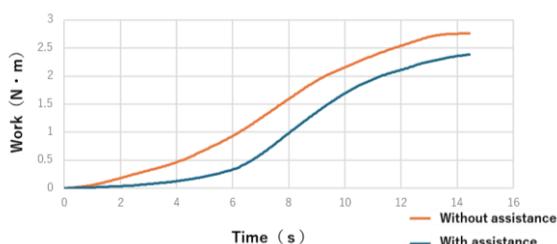


図17 補助なしと補助ありの仕事量の差

5. まとめ

寝たきり患者小動物の体位変換のための褥瘡防止用の機器として、TFAを複数個設置したアクティブマットレスを試作した。制御システムも構築し、以下の4パターンの介護動作の動作確認を行った。

- ① 体位変換に相当する周期的に患者小動物の支持位置を変える動作を確認した。
- ② ベッドからの移乗を想定した並進動作を試み、3 kgfの負荷を移動させることができた。
- ③ 人間を対象とした上半身を起こす介護動作を想定した回転動作について、筐体部の改良を行い、人体模擬負荷を用いて動作確認を行った。
- ④ 人間を対象としたおむつ替え時の高齢者を横向きさせる動作を想定した軸回転動作を考案し、動作確認を行った。アクティブマットレスの補助ありと補助なしの各々の寝返り動作実験を男女被験者3人に協力してもらい、試作アクティブマットレスの有効性を確認した。

最終段階では、動作パターン①と②に対し、岡山理科大学獣医看護学科にて小動物を対象とした実地試験を予定している。

6. 研究成果の発信

[1] 瀧口寛子, 趙菲菲, 赤木徹也, 堂田周治郎, 横田雅司, 篠原隆, 褥瘡防止や移乗用の空気圧駆動アクティブマットレスの試作, 2023年春季フルードパワーシステム講演会 講演論文集 (2023)

[2] 瀧口寛子, 趙菲菲, 赤木徹也, 堂田周治郎, 横田雅司, 篠原隆, Proposal of Pneumatic Drive Active Mattress for Pressure Ulcer Prevention and Transfer, Proceedings of CEAN (2023)

[3] Tomoko TAKIGUCHI, Feifei CHO, Tetsuya AKAGI, Shujiro DOHTA, Masashi YOKOTA, Takashi SHINOHARA, Development of Pneumatic Active Mattress Using Tetrahedral shaped Flexible Pneumatic Actuators for Prevention of Bedsores and Transfers, Proceedings of The 12th JFPS International Symposium on Fluid Power HIROSHIMA (2024)

オオバウマノスズクサ群の種子のスズメバチ類散布の実態とアリ散布の可能性

岡山理科大学自然フィールドワークセンター

東馬哲雄

植物の種子散布様式において、スズメバチ類による散布は稀であるが、申請者らは国内からの初事例として、アリマウマノスズクサの種子をシダクロスズメバチが運ぶ様子を観察した。同様な果実・種子形態を持つことを踏まえて、アリマウマノスズクサとその近縁種（オオバウマノスズクサ群）を対象に、スズメバチ類による種子散布の実態を調査し、あわせてアリによる種子散布の可能性も観察を行った。さらに、裂開した果実を訪れて種子を運ぶスズメバチ類等は、果皮の内側や種子を覆う粘性物質およびその匂いに惹かれている可能性を踏まえ、簡易糖度測定と GC-MS 分析を試みた。観察を実施した各種・各地域において、スズメバチ類とアリ類の種子散布への関与が明らかとなった。特に、アシナガバチ類による種子散布は国内では初めて、またオオバウマノスズクサにおけるアリによる種子散布も初めての観察である。一方で、粘性物質が昆虫への報酬となっているの対して、種子には明確な報酬が認められず、なぜ種子を運ぶ理由かは未解明である。今後、さらなる野外観察を行なうことで、オオバウマノスズクサ群の種子散布機構の解明に迫る予定である。

研究の背景と目的

植物は自らが移動できないため、次世代個体の生育場所を確保し、種の分布域を拡大する手段は種子散布に委ねられる。種子散布には様々な様式が知られるが、昆虫による種子散布は主にアリ類によるもの (myrmecochory) とされ、古くから研究がある。一方、スズメバチ類による種子散布は、1985 年に初めて報告され (Pellmyr 1985)、「vespicochory」と称されるのは 1996 年になってからである (Jules 1996)。これまでに僅か 5 科 9 種の被子植物からの報告のみで、日本国内からは未報告であった。稀な現象で知見が乏しいが、スズメバチ類散布が観察された植物の種子には、アリ散布される種子に見られる栄養に富む付属物 (エライオソーム) が存在し、地面に落下した種子がアリによって散布されることもある。

ウマノスズクサ属 (*Aristolochia*) には様々な種子散布の様式が知られるが、アリ散布は稀とされ (Huber 1993)、種子に明確なエライオソームは存在しないとする見解もある (González & Stevenson 2002)。一方、米国のロウバイ科植物におけるスズメバチ類散布に関する論文 (Burge & Beck 2019) の中では、*A. californica* の果実にクロスズメバチ属の一種 (*Vespula pennsylvanica*) が訪れ、種子を持ち出すことが言及された。また、最近のブログにある市民

観察から、日本国内のウマノスズクサ属オオバウマノスズクサ群 (sense Watanabe-Toma et al. 2006, 2008) の各種の種子が、クロスズメバチ類によって散布されている可能性が考えられた。実際、2023 年晩夏に兵庫県六甲山において、アリマウマノスズクサ (*A. shimadae*) の裂開果実から、シダグロスズメバチ (*V. shidae*) が種子を持ち出す様子が観察された。1 回の種子散布の観察に留まったが、スズメバチ類散布としては、世界で「6 科目・10 種目」、そして国内では初めての報告となった (Watanabe-Toma & Ohi-Toma 2024)。なお、アリマウマノスズクサの種子には明確な付属物がみられないが、野外および栽培条件下での観察から、種子および果実に昆虫を惹きつける部位あるいは匂いが存在すること、さらに二次的なアリ散布の可能性も示唆された。

本研究では、スズメバチ類散布を報告したアリマウマノスズクサとその近縁種 (オオバウマノスズクサ群) が、同様な果実・種子を持つことを踏まえて、オオバウマノスズクサ群各種におけるスズメバチ類による種子散布の実態を把握するとともに、アリ散布の可能性も観察することを目的とした。

本年度の実施内容とその成果

1. 野外観察

オオバウマノスズクサ群では、果実を付ける株は多くはなく、かつ果皮が緑色のまま裂開し、その日のうちに果実が乾燥して昆虫の訪問が見られなくなるため、観察のタイミングを把握することが難しい。そのため、事前に果実を付けた株を探索した上で、定期的に果実の状況を観察することで、裂開のタイミングに合わせて、ビデオカメラによる定点ズーム録画と、スマートフォンによる手持ち撮影を行った。以下に、対象種と場所・日時毎の観察結果を示す。

1) オオバウマノスズクサ (*A. kaempferi*) ・淡路島・2024年8月9日11時~14時 (図1)

約3時間の間に、ヤマトアシナガバチ (*Polistes japonicus*) が果実を4回訪問し (同一個体かは不明)、果実内を探索した後、果皮の内側と種子を覆う粘性物質を舐める行動が観察できた。そのうち2回は、種子1個を啜って飛び去る様子が観察できた。



図1. 種子を持ち出したヤマトアシナガバチ

2) オオバウマノスズクサ (*A. kaempferi*) ・四国カルスト地域・2024年8月23日7時30分~16時 (図2)

約8.5時間の間に、シダグロスズメバチが155回果実を訪問し、同時に2-4個体が訪問する様子も観察できた。シダグロスズメバチの訪問は、午前中に頻度が高く、午後には気温上昇と粘性物質の乾燥のために訪問頻度が減少した。訪問時は、果皮の内側

と種子を覆う粘性物質を舐める行動を観察でき、合計57個の種子を持ち去る様子が観察できた。

昼の時間帯には、大型のアリ (ハヤシクロヤマアリ *Formica hayashi* とと思われるが、5mの高さの個体のズーム撮影のため、正確な同定ではない) が果実を2回訪問し、そのうち1回は種子を啜って取り出し、オオバウマノスズクサの蔓を伝って、種子を持ち去る様子が観察できた。



図2. 訪果したシダグロスズメバチと種子を持ち出した大型のアリ

3) タンザウマノスズクサ (*A. tanzawana*) ・海上の森・2024年7月29日6時~11時 (図3、図4)

大型の株のため、同時に4個の裂開果実がみられたが、以下では果実を区別せずに観察結果を示す。約5時間の間に、アシナガバチ2種とシダグロスズメバチの訪問が観察できた。それぞれ異なる果実を訪問し、いずれも果実の内皮内側と種子を覆う粘性物質を舐める行動が観察できた。ムモンホソアシナ



図3. 種子を持ち出したムモンホソアシナガバチ

ガバチ (*Parapolybia indica*) は6回の訪問のうち、2回は種子1個を啜って飛び去った。キアシナガバチ (*Polistes rothneyi*) は15回の訪問のうち、5回は種子1個を啜って飛び去ったが、11回は取り出した種子を下に落とす様子が観察できた。また、シダクロスズメバチは5回の訪問のうち、2回は種子1個を啜って飛び去る様子が観察できた。



図4. 種子を持ち出したキアシナガバチ (左) と訪問したシダクロスズメバチ (右)

4) イセノウマノスズクサ (*A. kaempferi* var. *laevipes*) ・伊勢地域・2024年7月30日6時~11時 (図5)

果実裂開のタイミングにあわず、裂開後、翌日あるいは2日後の果実を観察したが、スズメバチ類の訪問は観察できなかった。一方、地表面にアリ (未同定) が見られたため、実験的に、種子を地表面に置いたところ、5 mほど離れた巣まで運び、巣内に運び入れる様子が観察できた。



図5. 地表面に置いた種子を運ぶアリ

5) リュウキュウマノスズクサ (*A. liukiensis*) ・奄美大島・2024年6月24日~26日

夕方に、裂開・乾燥した果実に、アマミシダクロスズメバチ (*Vespula shidai amamiana*) が訪果し珠柄のあたり、あるいは胎座の部分をつみ砕いている行動が観察できたが、1時間の観察では、種子の持ち出しは見られなかった。翌朝、同じ果実において、同様にアマミシダクロスズメバチの行動がみられたが、種子の持ち出しはなかった。一方で、果実に並ぶ種子に抜けがあることが確認できたが、持ち出されたのか、落下したのかは確認ができなかった。そこで、別の場所で、夕方の時点で裂開しはじめであった果実を採取し、その翌日、実験的に、前日まで観察をした株の蔓からぶら下げたところ、午前中に1回、種子を1個持ち出し、近くの枝にとまり、種子を舐めまわした後、飛び去る様子が観察できた。

2. 成分分析

オオバウマノスズクサ群の裂開果実を訪問し、種子を運ぶスズメバチ類等は、裂開果実の匂い、あるいは果皮内側と種子を覆う粘性物質に惹かれていることが考えられる。そこで、粘性物質について、簡易的にBrix値を測定した他、裂開果実および種子の匂いについてGC-MS分析を試みた。

1) 粘性物質は、種によって粘液状、滴る液状、ペースト状と、粘度に差がみられ、タンザワウマノスズクサでは粘度が最も低く、液状に滴っていたため、2つの果実から測定に十分な量が確保でき、Brix値は約5.0 (完熟トマトと同程度) であった。粘性物質には、糖類やその他の物質が含まれており、それらがスズメバチ類等の報酬 (餌) となっていることが考えられた。

2) アリマウマノスズクサ、オオバウマノスズクサ、リュウキュウマノスズクサの裂開した果実を持ち帰り、果皮および種子とそのまわりの物質の揮発性成分を分析したところ、すべてのサンプルから、2-ethyl-hexanol, 2-hexenal, Hexenal, Octan-3-on, 1-octen-3-olなどの「葉のちぎれた匂い」とされる成

分が検出され、これらは量的に主要な成分であった。一方で、サンプルによっては、モノテルペンや炭素長の長い直鎖炭化水素なども検出された。種子に明確な付属物がないことを踏まえると、アリ散布植物の一部で知られているように (Pfeiffer et al. 2010)、スズメバチ類等は、匂いに騙されて種子を運んでいる可能性が考えられた。

まとめと展望

これまでオオバウマノスズクサ群各種の種子散布は、重力や風によるものと考えられてきた。しかし、本研究の観察により、各種・各地域において、スズメバチ類 (クロスズメチ類とアシナガバチ類) とアリ類の種子散布への関与が明らかとなった。特に、スズメバチ類の貢献度が大きいと考えられた。また、アシナガバチ類による種子散布は、国内では初めてとなる観察事例であり、また、オオバウマノスズクサにおけるアリによる種子散布も初めての観察事例となった。特筆すべきは、アリが落下した種子ではなく、果実から直接種子を持ち出す様子が観察された点で、大型の蔓性植物である本種の種子散布に関する重要な知見である。一方で、観察事例がまだ限られていることに加えて、種子に明確な付属物 (エライオソーム) がないにもかかわらず、スズメバチ類やアリ類が種子を運ぶ理由は未解明である。今後、さらなる野外観察に加えて、果実と種子の比較観察も実施することで、オオバウマノスズクサ群における種子散布機構の解明に迫る。

本研究の成果発表

渡邊・東馬加奈 & 大井・東馬哲雄. オオバウマノスズクサ群におけるスズメバチ類とアリ類による種子散布. 日本植物分類学会第 24 回大会 (高知) (2025 年 3 月 7 日 - 10 日).

Watanabe-Toma K. & Ohi-Toma T. (accepted) Seed dispersal of *Aristolochia kaempferi* (Aristolochiaceae) by vespid wasps and *Formica* ant. Plant Species Biology.

参考文献

- Burge D.O. & Beck J.J. (2019) Dispersal of Spicebush (*Calycanthus occidentalis*, Calycanthaceae) by yellow jackets (genus *Vespula*; Hymenoptera: Vespidae). Madroño 66(2): 41–46.
- González F. & Stevenson D.W. (2002) A phylogenetic analysis of the subfamily Aristolochioideae (Aristolochiaceae). Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales 26: 25–58.
- Huber H. (1993) Aristolochiaceae. In: Kubitzki K., Rohwer J. G. & Bittrich V. (Eds.), The Families and Genera of Vascular Plants 2: 129–137. Springer, Berlin.
- Jules E.S. (1996) Yellow jackets (*Vespula vulgaris*) as a second seed disperser for the myrmecochorous plant, *Trillium ovatum*. The American Midland Naturalist 135(2): 367–369.
- Pellmyr O. (1985) Yellow jackets disperse *Vancouveria* seeds (Berberidaceae). Madroño 32: 56.
- Pfeiffer M., Huttenlocher H. & Ayasse M. (2010) Myrmecochorous plants use chemical mimicry to cheat seed-dispersing ants. Functional Ecology 24: 545–555.
- Watanabe K., Kajita T. & Murata J. (2006) Chloroplast DNA variation and geographical structure of the *Aristolochia kaempferi* group (Aristolochiaceae). American Journal of Botany: 93(3): 442–453.
- Watanabe K., Ohi-Toma, T. & Murata J. (2008). Multiple hybridization in the *Aristolochia kaempferi* group (Aristolochiaceae): evidence from reproductive isolation and molecular phylogeny. American Journal of Botany 95(7): 885–896.
- Watanabe-Toma K. & Ohi-Toma T. (2024) First report of vespicochory in *Aristolochia shimadae* Hayata (Aristolochiaceae) in Japan. Plant Species Biology 39(3): 167–172.

四肢骨の栄養孔面積に基づく代謝率推定手法の確立と古生物学的応用

岡山理科大学 生物地球学部 恐竜学科 (申請時: 生物地球学科)

千葉 謙太郎

生物のエネルギー代謝は様々な生理的・生態的側面と関連しているため、化石動物での代謝率推定が数多く行われている。しかし、これらの手法は破壊的試料採取や特殊な機器が必要であるため、幅広い分類群で網羅的に代謝率推定を行うことが難しく、代謝率に基づくマクロ進化的応用研究を行うことは現状非常に困難である。そこで本研究では簡便な代謝率推定手法として、上腕骨と大腿骨の栄養孔面積に基づく代謝率推定手法を検討した。これらの骨の代謝に用いられる栄養は、骨の栄養孔を通過する血管によって供給されるため、栄養孔面積と代謝率が強く相関することが先行研究で示唆されている。本研究では、この仮説を上腕骨、及び、大腿骨の栄養孔面積を新たに収集することで検証した。検討の結果、哺乳類の体重に対する栄養孔面積は爬虫類と比較して大きいものの、鳥類の栄養孔面積は爬虫類と同程度かそれよりも小さく、栄養孔面積と代謝様式の明瞭な関係性を見出すことはできなかった。以上の結果から、栄養孔面積の代謝率推定に対する有用性は低いと考えられる。

1. 序論

代謝は生命活動の根幹であり、生物のエネルギー代謝はその生物の生理や生態、解剖学的特徴と密接に関連している。例えば、高い基礎代謝率を持つ哺乳類や鳥類は、同じ体重の両生類、非鳥類型爬虫類（以下、爬虫類と呼称）と比較して、大量の摂餌量、高い運動機能、大きい脳などの特徴を持つ。このように、代謝率は様々な生物学的特性を大局的に理解する「ものさし」とであると言える。

化石に残された限られた形態情報から生物学的情報を抽出し、化石動物の生理や生態を明らかにすることを目的とする古生物学的研究において、代謝率は非常に有用な手法になると考えられる。化石動物の代謝率を直接観察によって計測することはできないが、これまで様々な定量的推定手法が検討されてきた。例えば、骨組織学的手法から得られる成長率 (δ 体重/年) や血管密度に基づく推定(Grady et al., 2014) や、有機化学的分析に基づいた推定手法(Wiemann et al., 2022) などがある。しかし、いずれの方法も試料作成や分析のため各種専用機器を用いる必要があるため、標本を収蔵されている博物館から(借用し)持ち出し、場合によっては破壊的な試料準備作業を行う必要がある。

一方、非常に簡便な代謝率を推定手法として、大

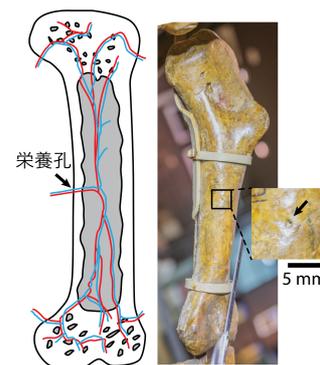


図 1. 栄養孔の模式図 (左) と恐竜類化石に見られる栄養孔 (右).

腿骨の栄養孔面積を用いる手法も提案されている (Seymour et al., 2011). 栄養孔とは、骨の成長や代謝のための酸素や栄養を供給する血管が通過する孔で、様々な動物の大腿骨において、骨幹部に開口している (図 1). 大腿骨サイズは陸上四足動物にとって体重を支持する主要な構造であるため体重と強い相関を示す (Campione et al., 2014; Campione & Evans, 2012). この 2 点を踏まえると代謝の高い動物では、体重に対して大腿骨の栄養孔面積が相対的に大きくなると仮定できる。実際、恒温性の哺乳類では、爬虫類など変温動物と比べて、大腿骨の栄養孔面積が相対的に大きいことが知られている (Seymour et al., 2011). さらに、恐竜類の大腿骨栄養孔と体重の相関関係を見ると、多くの恐竜類、特に二足歩行する小型恐竜類などの栄養孔は現生哺乳類よりも相対的に大きく、それらの恐竜類が非常

に高い代謝率であったことが示唆されている。しかし、前述の骨組織学や化学的手法に基づいた恐竜の代謝率推定では、恐竜類の多くは、哺乳類・鳥類のような恒温動物と爬虫類のような変温動物の中間に位置する代謝率を持つことが示唆されており、栄養孔に基づく推定結果とは大きく異なる。また、この研究以降、大腿骨栄養孔に基づく代謝推定はほとんど行われておらず、代謝率の推定結果がなぜ他の研究と乖離するかも全く検討されていない。

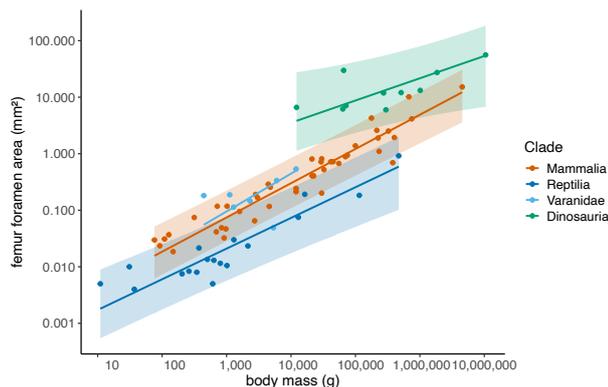


図 2. Seymour et al. (2011)に基づく、体重と大腿骨栄養孔面積の相関。

大腿骨の栄養孔に基づく手法は化石四足動物における簡便で強力な代謝率推定手法になる可能性があるが、前述のように他の代謝率の推定研究と見解が大きく異なる。この乖離は、体重を支える四肢骨のうち大腿骨のみを用いている可能性がある。上述のように、大腿骨は陸上四足動物にとって主要な体重支持機構である。しかし、二足歩行動物では大腿骨を含む後肢のみで体重を支えるものの、四足歩行動物では、前肢も体重支持に用いる。したがって、二足歩行動物の体重に対する大腿骨サイズは、四足歩行動物ものよりも大きくなるため、大腿骨のみを体サイズの指標としている先行研究には問題がある。

そこで本研究では、Seymour らによる現生動物に見られる大腿骨の栄養孔サイズと代謝様式の間を、上腕骨の栄養孔サイズも加味して再検討することを目的とした。また、Seymour らの研究に含まれていない鳥類のデータも追加することで、小型獣脚類の代謝率が非常に高く示唆される問題を検証した。

2. 試料・方法

本研究では、現生動物における栄養孔面積と代謝率の相関から推定式を作成するために、現生陸生四足動物（爬虫類、鳥類、哺乳類）、及び、化石陸生四足動物（恐竜類）標本を用いる。現生動物の計測値は、オンラインデータベース MorphoSource (www.morphosource.org) からダウンロードした CT データ、及び、岡山理科大学とカナダ・王立オンタリオ博物館所蔵の骨格標本を用いた。恐竜類標本は、カナダ・王立オンタリオ博物館、及び、カナダ自然史博物館所蔵標本を用いた。CT データに基づく栄養孔の測定はオープンソースソフトウェア 3D Slicer を用いて行った。実標本に基づく計測は、現生標本の栄養孔はデジタル顕微鏡 AnMo Electronics 社 Dino-Lite Edge で、恐竜類の栄養孔や、化石・現生標本の四肢長や周囲長はデジタルノギスで行った。栄養孔断面積は、栄養孔の短径を直径とする円の面積として

体重データに関しては、カナダ・王立オンタリオ博物館所蔵の現生骨格標本に関しては、標本に付随する体重データを、体重データが付随していない現生標本や化石種に関しては、四肢骨の周囲長に基づいて推定した(Campione et al., 2014; Campione & Evans, 2012)。

プロット、及び、回帰分析には、R 4.5.0 (R Core Team, 2025) を用い、smatr と ggplot2 パッケージを用いた。なお、回帰分析は、標準主軸回帰で行った。

3. 結果

はじめに、本研究の測定値が、Seymour らの体重と大腿骨栄養孔断面積のデータセットと整合的であるか検討を行った(図 3)。その結果、本研究の計測値は概ね、Seymour らの恐竜類 (Dinosauria)、哺乳類 (Mammalia)、爬虫類 (Reptilia) の各分類群の 95% 予測区間内に含まれることが分かった。一方、Seymour らの主張と異なる点として、鳥類は同じ体重の哺乳類に比べ、非常に大きな大腿骨栄養孔を持つと定性的に報告されていたが、本研究のデータセットでは、概して哺乳類に比べ小さく、爬虫類と同

程度であった。また、Seymourらのデータセットでは、オオトカゲ科(Varanidae)が他の爬虫類に比べ、大きな大腿骨栄養孔を持つとされていたが、本研究のデータセットではこの傾向は見られず、むしろ、ワニ類の栄養孔面積が他の爬虫類に比べ大きい傾向が示された。

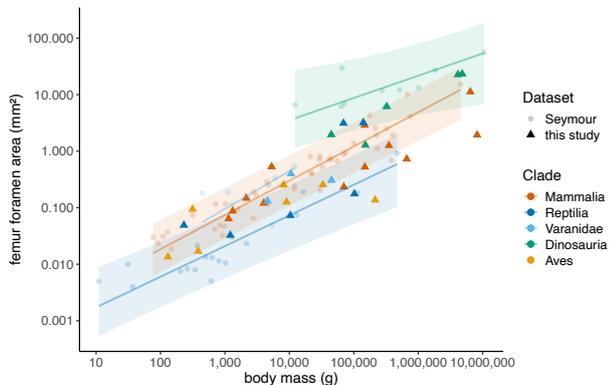


図 3. Seymour et al. (2011)に基づく、体重と大腿骨栄養孔面積の相関図上に、本研究の計測値をプロットした図。各分類群の回帰直線と 95%予測区間が図示してある。

次に、四足歩行動物に対しては、上腕骨栄養孔面積を加算した上で、データの可視化、回帰分析を行った。大腿骨栄養孔面積の解析結果と比較すると、爬虫類と哺乳類のデータに大きなオーバーラップが見られ、鳥類はそれらよりも相対的に小さい栄養孔面積となった。一方で、二足歩行恐竜類は、以前、他のどの分類群よりも非常に大きな栄養孔面積であることが示された。

4. 考察・結論

本研究により得られた結果から、鳥類の大腿骨栄養孔面積は他の分類群と比較して小さいにも関わらず、二足歩行性の恐竜類は栄養孔面積が大きいいため、二足歩行性自体がこの議論に影響しているとはしきされなかった。また、鳥類の大腿骨栄養孔面積が爬虫類と同程度のサイズと示されたため、Seymourらが主張していた大腿骨栄養孔面積の代謝率としての有用性は低いと考えられる。

同様の傾向は、上腕骨の栄養孔を加味した場合でも同様で、本研究の結果、栄養孔面積の代謝率指標

としての有用性は低いと考えられる。

今後、今回検討していないパラメータ（例えば、骨重量、血圧など）を考慮し補正を行うことで、あるいは分類群を限定することで、栄養孔面積を代謝指標として用いることができる可能性もあるが、そもそも、このような補正は化石動物に対して行うことは困難であると考えられるため、当初の動機であった、簡便な代謝率推定法としての栄養孔面積の有用性は低いと考えられる。

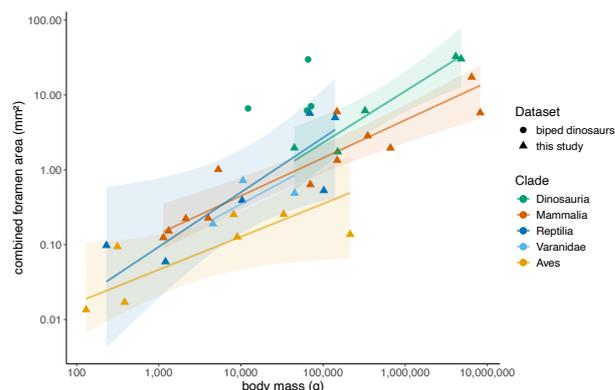


図 4. 本研究で二足歩行動物の大腿骨栄養孔断面積と四足歩行動物の上腕骨・大腿骨栄養孔断面積の和の相関図。各分類群の回帰直線と 95%信頼区間が図示されている。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、王立オンタリオ博物館の Shino Sugimoto 氏、Kevin Seymour 氏、Ian Morrison 氏、Brian Iwama 氏、David Evans 氏、及び、カナダ自然史博物館の Scott Rufolo 氏、Alan McDonald 氏、Michael Ryan 氏にご助力いただいた。

このたびの研究活動に対し、公益財団法人ウエスコ学術振興財団（令和 6 年度）のご支援を賜り、心より御礼申し上げます。

引用文献

Campione, N. E., & Evans, D. C. (2012). A universal scaling relationship between body mass and proximal limb bone dimensions in quadrupedal terrestrial tetrapods. *BMC*

Biology, 10(1), 60.

<https://doi.org/10.1186/1741-7007-10-60>

Campione, N. E., Evans, D. C., Brown, C. M., & Carrano, M. T. (2014). Body mass estimation in non-avian bipeds using a theoretical conversion to quadruped stylopodial proportions. *Methods in Ecology and Evolution*, 5(9), 913-923.

<https://doi.org/10.1111/2041-210x.12226>

Grady, J. M., Enquist, B. J., Dettweiler-Robinson, E., Wright, N. A., & Smith, F. A. (2014). Evidence for mesothermy in dinosaurs. *Science*, 344(6189), 1268-1272.

<https://doi.org/10.1126/science.1253143>

R Core Team (2025). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <<https://www.R-project.org/>>.

Seymour, R. S., Smith, S. L., White, C. R., Henderson, D. M., & Schwarz-Wings, D. (2011). Blood flow to long bones indicates activity metabolism in mammals, reptiles and dinosaurs. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 279(1728), 451-456.

<https://doi.org/10.1098/rspb.2011.0968>

Wiemann, J., Menéndez, I., Crawford, J. M., Fabbri, M., Gauthier, J. A., Hull, P. M., Norell, M. A., & Briggs, D. E. G. (2022). Fossil biomolecules reveal an avian metabolism in the ancestral dinosaur. *Nature*, 1-5.

<https://doi.org/10.1038/s41586-022-04770-6>

気候条件の異なる移入先におけるメジロの繁殖生理学的応答の解明

岡山理科大学生物地球学部生物地球学科¹⁾・大阪市立自然史博物館²⁾

武山智博¹⁾・堀江明香²⁾

(概要)

生息地以外の場所に移入・定着した移入種は、在来生態系に悪影響を及ぼし、大きな社会問題となっている。移入種の定着成功に関わる要因の解明は、侵入危険度や対策の優先度の決定に重要であり、多視点からの検討が進められてきたが、繁殖生理学的なメカニズムへの理解は不足している。鳥類などの季節繁殖を行う動物は、日長や気温などの外部刺激によって繁殖が制御されるため、気候条件の異なる移入先での繁殖生理学的応答は、侵入後の定着成功に大きく影響すると予想される。本研究では、日本全国に分布する小鳥メジロを、沖縄（温暖条件）と岡山（寒冷条件）の間で入替飼育することで移入を再現し、雄の糞中テストステロン濃度の上昇時期を指標として繁殖開始時期を比較した。捕獲地でそのまま飼育したコントロール群のテストステロン濃度上昇時期は野外での繁殖時期とよく合致していた。異なる気候条件に移送して飼育した移入群では、元の生息地ではなく、移入先と類似した時期にテストステロン濃度の上昇がみられ、メジロは気候条件に応じて性ホルモンの分泌時期を可塑的に変化させ、気候の異なる移入先でも適正な時期に繁殖活動を行えることが示唆された。

(本文)

研究の背景と目的

本来の生息地以外の場所に人為的に移入され、定着した移入種は、在来生態系を攪乱し、生態系機能全体に悪影響を及ぼす。ただし、移入された種のうち、繁殖して個体群を確立するようになるのは一部であり、その侵入・定着成功に関わる要因の解明は、侵入危険度や対策の優先度の決定に重要である。これまで、餌資源や捕食など、生態学的な要因の検討が多く行われてきたが（鷲谷 2007）、侵入先の環境下での個体群維持・増大の根底にある繁殖生理学的なメカニズムへの理解は不足している。

季節的な繁殖を行う鳥類では、繁殖時期は日長（昼の長さ）や気温等の外部刺激による内分泌（ホルモン）に制御されている。従って、原産地とは異なる移入先の気候条件への繁殖生理学的応答は、侵入後の繁殖動態・定着成功に大きく影響すると予想される。原産地と移入先の気候条件が類似している鳥類ほど定着成功率が高いこと（Duncan *et al.* 2003）が上記の予想を裏付けているが、実験的な研究はほとんどない。

日本全国に分布するメジロ *Zosterops japonicus* は、春～夏に繁殖を行う小鳥であり、2011年に禁止

されるまで各地で盛んに愛玩飼養されてきた。地域間での個体の頻繁な取引に伴う人為的移動と放鳥により、国内移入種として遺伝子汚染を引き起こしている可能性が懸念されている。また、分布域外の小笠原諸島やハワイ諸島へ移入されて定着した歴史を持ち、特にハワイでは在来鳥類の減少など、在来生態系に悪影響を与えている（Freed & Cann. 2014）。

メジロは温暖な南の個体群ほど早く繁殖を開始するほか、一腹卵数にも緯度変異があり（堀江 2018、日本鳥学会発表）、温暖地と寒冷地で異なる繁殖生理学的応答を持つと考えられる。では、これらの地域において人為的な移入が起こった場合、彼らは繁殖可能な生理学的反応を示すのだろうか。メジロは飼育方法が確立されており、原産地と移入先との気候条件の違いが、繁殖生理学的応答に与える影響を実験的に検討可能である。

本研究では、日長変化と気温の異なる亜熱帯の沖縄（温暖条件）と沖縄より寒冷な岡山（寒冷条件）の間でメジロを入れ替え飼育し、糞中の性ホルモン濃度を繁殖活動の指標とすることで、気候条件の異なる地域への移入が起こった場合の繁殖生理学的応答を実験的に明らかにする（図1）。特に、原産地でそのまま飼育したコントロール群と、異なる環境に

移送して飼育した移入群との間で糞中の性ホルモンの動態を比較することで、メジロが移入先の気候条件下でも原産地と同程度まで性ホルモンを分泌するのか、また気候条件に応じて性ホルモンの分泌時期を可塑的に変化させるのかを、実験的に検討することを目標とする。

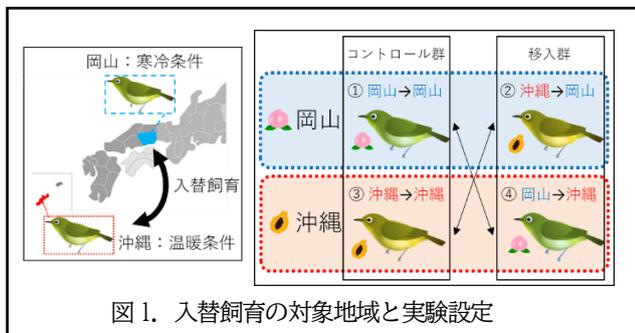


図1. 入替飼育の対象地域と実験設定

方法

1) 捕獲・飼育実験

鳥類における季節繁殖サイクルでは、春先の日長に反応して脳の視床下部から生殖腺刺激ホルモンが放出され、それに応答して精巣や卵巣から性ホルモンが分泌され繁殖を開始する。しかし、長日を長期間経験すると次第に光刺激に反応しなくなり（光不応）、秋の短日を経て、再度、長日に反応を示すようになる。そのため本実験では、日長が短くなる秋から、性ホルモンが上昇する翌春までを飼育期間とした。繁殖期の指標であるメジロのさえずり開始時期は沖縄では1月下旬、岡山では4月初旬であり、終了時期は両地域とも8月頃である（堀江 2015）。そのため、実験個体の捕獲はいずれも8月初旬に行い、翌春5月末まで飼育した。また、移入群の飼育地への移送は、体調不良になりやすい秋の換羽が落ち着く10月末から11月初旬に行った。

沖縄産メジロの捕獲は、沖縄県名護市多野岳で、岡山産メジロの捕獲は岡山理科大学の自然フィールドワークセンターで行った。捕獲は環境省の許可の下、カスミ網を用いて行い、色足環で個体識別し、性判定のために採血を行った。捕獲した個体は、餌条件を揃えるためにすり餌に餌付け後、飼育ケージに1室1羽ずつ収容し、日長・気温が自然状態と同程度の部屋や鳥小屋に収容して飼育した。

飼育は、沖縄と岡山で捕獲したメジロを、原産地（捕獲地）でそのまま飼育する「コントロール群」

×2 条件と、異なる気候条件に移入された場合を模して他地点に移送して飼育を行う「移入群」×2 条件の、4つのグループで行った（図1）。沖縄での飼育は沖縄こどもの国（那覇市）で、岡山での飼育は池田動物園（岡山市）および岡山市東区の民家で行った。北海道大学理学研究院野外鳥類学研究室の協力を得て、採取した血液からDNAを抽出し、PCR法による性判定を行って実験個体の性別を確定した（Jarvi & Farias 2006）。実験終了後は飼育個体を捕獲地にて放鳥した。

2) 糞の採集と性ホルモンの抽出・測定

鳥類は、繁殖開始に先立って雄がさえずり等の誇示行動を行い、つがい形成やなわばりの確立を行う。そのため本研究では雄を対象とし、糞に含まれるテストステロンを解析対象とした。糞の採集は移入群の移送の2週間前から開始して、5月末まで1週間に1回の頻度で行い、飼育先の動物園職員および著者らが、エッペンドルフチューブ半分程度の糞を飼育個体ごとに採集して、-4℃以下で凍結保管した。移送を行わないコントロール群も同時期に糞の採集を行った。

凍結サンプルは解凍後、乾燥処理し、乾燥糞にリン酸緩衝液を加えて、振とう抽出後、遠心分離して上澄を採取、これを測定用サンプルとして酵素免疫測定法（EIA法）によってテストステロン濃度を測定した（Shimizu 2005）。

3) 統計解析

4つの実験グループそれぞれにおいて、以下の手順でメジロの糞中テストステロン濃度の上昇時期を推定した。各グループにおいて、1週間ごとに採集した糞から得られたテストステロン濃度から、2週間ごとの移動平均を算出して平滑化し、1週間単位の代表値とした。統計ソフト R の strucchange パッケージを用いて、グループごとにテストステロン濃度の代表値を用いて時系列解析を行い、値に急激な変化が起きた変化点を検出した（Zeileis *et al.* 2002）。検出された変化点については、BIC（ベイズ情報量規準、Bayesian information criterion）が最小となる変化点の数・組み合わせを採用した。検出された複数の変化点のうち、非繁殖期を経過した

後に得られた変化点の最初のものを繁殖開始に関わるテストステロン濃度の上昇とみなし、変化点の95%信頼区間を含めた期間をテストステロン濃度上昇時期とした。また、テストステロン濃度のピーク値が実験グループによって異なるのか、Kruskal-Wallis 検定を行った。多重比較には Dunn 検定を行い、Bonferroni 法を用いて有意確率の補正を行った。

原産地でそのまま飼育したコントロール群のテストステロン濃度上昇時期が既存の繁殖開始時期(堀江 2015)と合致するか検討を行うと共に、他地点に移送して飼育した移入群のテストステロン濃度上昇時期をコントロール群と比較して、糞中テストステロン濃度の上昇時期が移送によって変化するか検討を行った。また、各グループにおけるテストステロン濃度の上昇時期と気象条件の関係を検討するために、飼育地における日長・日平均気温とテストステロン濃度上昇時期の関連を検討した。日長は国立天文台の暦計算室を (<https://eco.mtk.nao.ac.jp/koyomi/dni/>)、日平均気温は気象庁の地点別データ (<https://www.data.jma.go.jp/stats/etrn/index.php>) を参照し、岡山市と那覇市の値を使用した。

結果

各実験条件に用いた雄のメジロの個体数、捕獲日、移送日、糞の採集開始および終了日、採集した糞のサンプル数を表1に示す。③沖繩コントロール群で3日、④岡山→沖繩移入群で1日、糞の採集ができない日があった。採集した糞は総計537サンプルであった。

テストステロン濃度の時系列解析の結果、テストステロン濃度の上昇時期は、①岡山コントロール群で3月下旬、②沖繩→岡山移入群で3月上旬、③沖繩コントロール群で12月下旬、④岡山→沖繩移入

群で1月中旬と推定された(図2)。④岡山→沖繩移入群については、移送直後の11月下旬にもテストステロン濃度の急な上昇があったが、その後、下降到転じたことから、テストステロン濃度の上昇時期は2つめの変化点である1月中旬とした。

①岡山コントロール群と③沖繩コントロール群におけるテストステロン濃度上昇時期は、それぞれの地域におけるメジロの繁殖開始時期の直前に当たり、野外での繁殖時期と比較的よく合致していた。①岡山コントロール群のテストステロン濃度のピークは、岡山における繁殖期の初期に当たり、③沖繩コントロール群におけるピークは、沖繩における繁殖期よりやや早かった(図2)。ピーク時のテストステロン濃度は4グループで有意に異なっていたが(Kruskal-Wallis 検定: $\chi^2=14.02, df=3, p<0.0001$)、①岡山と③沖繩には有意な差はなかった(Dunn 検定: $z=-0.168, p=1.000$)。

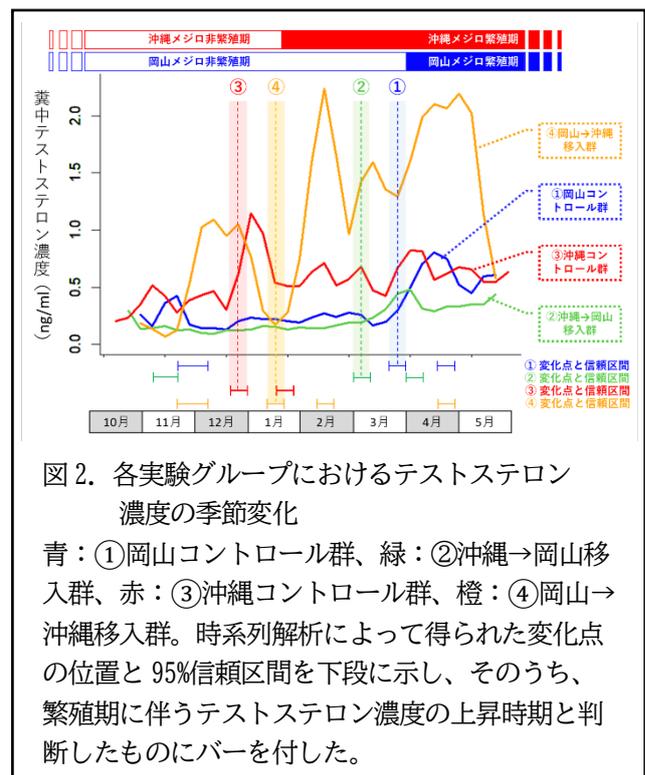


表1. 飼育個体および糞の採集状況の詳細

実験グループ	個体数	捕獲日	移送日	糞の採集開始日	糞の採集終了日	サンプル数
①岡山コントロール群	5個体	2021年8月8日、22日	—	2021年10月27日	2022年5月25日	154サンプル
②沖繩→岡山移入群	3個体	2022年8月5-6日 (1個体)	2022年10月24日	2022年10月12日	2023年5月31日	104サンプル
		2023年8月10日 (2個体)	2023年10月24日	2023年10月12日	2024年5月22日	
③沖繩コントロール群	5個体	2022年8月5-6日	—	2022年10月12日	2023年5月31日	159サンプル
④岡山→沖繩移入群	4個体	2021年8月8日、22日	2021年11月9日	2021年10月27日	2022年5月26日	120サンプル

生息地と異なる気候条件下に移送して飼育を行った移入群（②沖縄→岡山移入群と④岡山→沖縄移入群）とコントロール群とを比較したところ、移入群 2 グループはいずれも、それぞれの元の生息地とは大きく異なる時期にテストステロン濃度の上昇が起っていた（図 2）。さらに、移入群のテストステロンは、移入した先におけるテストステロン濃度上昇時期と類似した時期に上昇を示していた（図 2）。

移入群のテストステロンは、②沖縄→岡山移入群、④岡山→沖縄移入群ともに、移送先地域の繁殖期間中にピークを迎えていた。②沖縄→岡山移入群のテストステロン濃度のピーク値は、①岡山コントロール群、③沖縄コントロール群と有意な差はなく（Dunn 検定 ① - ② : $z=1.134$, $p=0.7698$ 、② - ③ : $z=-1.280$, $p=0.6013$ ）、④岡山→沖縄移入群のテストステロン濃度のピーク値は、他の 3 群すべてよりも有意に高かった（Dunn 検定 ① - ④ : $z=-2.752$, $p=0.0178$ 、② - ④ : $z=3.502$, $p=0.0014$ 、③ - ④ : $z=2.594$, $p=0.0285$ ）。

各実験グループにおけるテストステロン濃度の季節変化と、飼育地（移送群の場合は移送先）における日長変化との関係を図 3(a)、(b)に、日平均気温との関係を図 3(c)、(d)に示す。

①岡山コントロール群におけるテストステロン濃度上昇開始時期の日長は 12.47 時間、②沖縄→岡山移入群では 11.70 時間、③沖縄コントロール群では 10.52 時間、④岡山→沖縄移入群では 10.73 時間であった（図 3(a)、(b)）。②と④の移入群では、

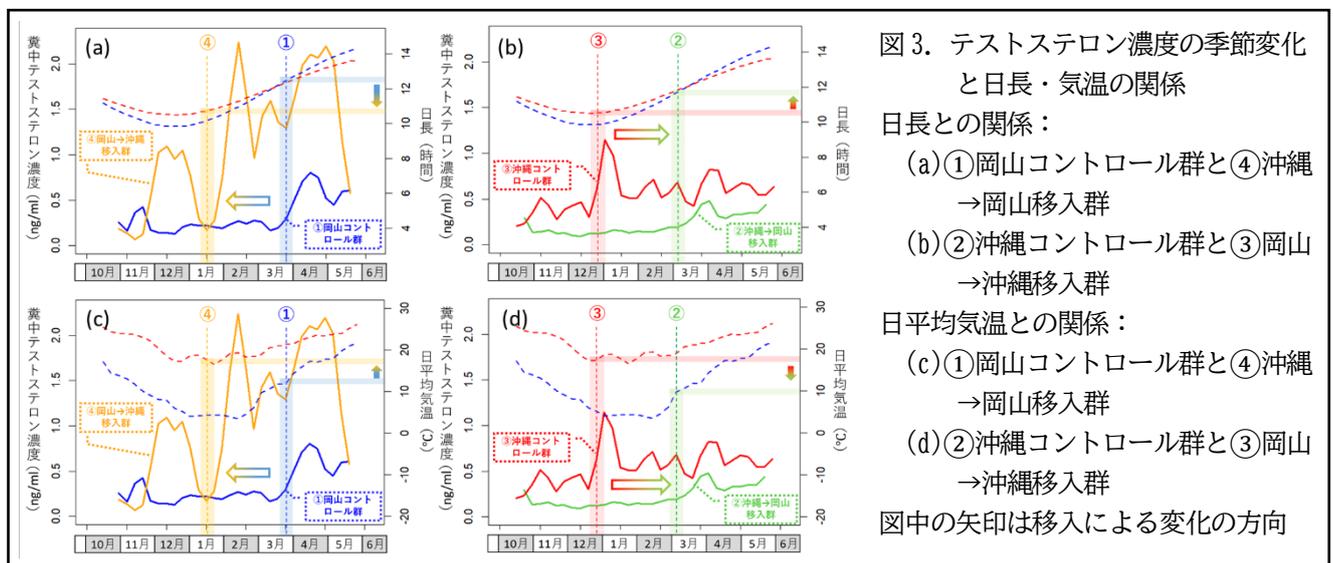
元の生息地と異なる日長の時期にテストステロン濃度が上昇していた。

コントロール群も移入群も、岡山では 10℃前後の日平均気温でテストステロン濃度が上昇していた（図 3(c)、(d)、①岡山コントロール群：11.60℃、②沖縄→岡山移入群：9.68℃）。沖縄では冬季でも日平均気温は 10℃以上であり、コントロール群も移入群も、沖縄におけるテストステロン濃度の上昇時期は 1 年で最も気温の低い時期であった（図 3(c)、(d)、③沖縄コントロール群：17.49℃、④岡山→沖縄移入群：16.71℃）。

考察

移入鳥類の繁殖に関する既存研究では、移入先で個体群が長年確立された種の繁殖活動を原産地と比較してきたが（Cockrem 1995 など）、定着の成否（個体群確立）への繁殖生理学的応答の影響を検討するのに重要なのは、移入初期の反応を調べることである。本研究は、通常は検討が困難な移入直後の繁殖生理学的応答を、実験的手法によって再現した。

捕獲地でそのまま飼育したコントロール群 2 グループのテストステロン濃度上昇時期は、野外のメジロの繁殖開始時期の直前であり、テストステロン濃度のピークもおおむね繁殖時期と合致していた（図 2）。他種鳥類でも、糞中テストステロン濃度は繁殖期直前に上昇を始め、繁殖初期に最も高くなることが知られており（酒井ら 2005 など）、本研究の飼育実験は、野外のメジロの繁殖生理学的応答を比



較的よく再現できていると考えられた。

環境の異なる地域への移入を再現した移入群のテストステロン濃度は、元の生息地における上昇時期から大きく異なり、移入先における上昇時期と類似の時期にテストステロン濃度の上昇がみられた(図2:①と②、③と④)。移入群と移入先コントロール群のテストステロン濃度上昇時期の差は0.5-1か月で、移入先地域での繁殖期間中に移入群のテストステロン濃度がピークを迎えていたことから、移入個体は元の生息地と異なる移入先の環境においても十分、繁殖可能だと考えられた。つまり、異なる環境に移入されたメジロは、性ホルモンの分泌時期を可塑的に変化させ、気候の異なる移入先でも適正な時期に繁殖活動を行えると考えられる。テストステロン濃度のピーク値は、④岡山→沖縄移入群で他グループより優位に高く、原産地より暖かい地域への移入では定着の可能性が高いのかもしれない。

鳥類が生息地における適期に繁殖を開始するための鍵刺激として、毎年同じ周年変化を示す日長が重要であることは古くから知られており、例えば季節繁殖を行うウズラ(*Coturnix japonica*)では、日長が12hを越えると速やかに繁殖生理学的応答が開始される(Nishiwaki-Ohkawa & Yoshimura 2016)。一方、スズメ(*Passer montanus*)を様々な日長・温度条件で飼育した実験では、同じ長日条件下でも気温が低いと精巣の発達が遅れたり、短日条件下でも気温が高いとわずかに精巣の発達がみられたりと、繁殖開始が気温によって微調整されていることが報告されており(Dixit *et al.* 2018)、鳥類は日長によって繁殖期の到来を予測し、日長以外の要因によって実際の繁殖時期を調整すると考えられている。ただし、これらの調節メカニズムが、全く気候条件の異なる地域に移入された際の繁殖も可能にするのかは明らかになっていない。

本研究において、移入群のテストステロン濃度が上昇に転じた時期の日長は、元の生息地のコントロール群の日長とは異なっていたこと(図3)、移入群におけるテストステロン濃度上昇時期の日長は、多少の違いはあったものの、移入先におけるテストステロン濃度上昇時期の日長と近い値を示していたこ

とから(図3)、特定の日長のみ反応して、テストステロン濃度の上昇が引き起こされるわけではないと考えられた。メジロがどのような調整メカニズムによって、原産地でも気候の異なる移入先でも、適正な時期に繁殖を開始しているのか、その解明は今後の課題であるが、③沖縄コントロール群のテストステロン濃度上昇時期(12月下旬)が、日長が減少から増加に転じる冬至であったこと、その沖縄から岡山に移送された②沖縄→岡山移入群では、夏至を過ぎても、気温の低い状況下ではテストステロンが上昇せず、日平均気温が上昇しはじめてからテストステロン濃度の上昇がみられたことから、メジロでは特定の日長ではなく、日長が減少から増加に転じること自体が鍵刺激となって繁殖期の到来を感知しており、その上で気温の条件が合致すれば、繁殖生理学的応答が促進されるのかもしれない。この場合、異なる緯度に生息する個体群の繁殖期の違いが、同一の繁殖生理学的メカニズムによって実現されることになり、大変興味深い。

本研究から、メジロは気候条件の異なる場所に移入されても、移入先での適期に繁殖を開始できる繁殖生理学的応答を示すことが明らかとなった。これまでメジロは、ハワイや小笠原諸島など、分布域外の場所に移入されて個体群を確立しており、導入個体数の多さや、食性の幅広さなどがその定着要因として挙げられている(Freed & Cann, 2014)。しかし本研究によって、メジロは繁殖生理学的側面でも大きな柔軟性を持ち、移入先の気候条件に応じて可塑的に繁殖期を調整できることが初めて示された。メジロは、幅広い緯度に分布する種であり、このような柔軟な繁殖生理学的応答は広域分布種の特徴である可能性がある。今後、同様の繁殖生理学的な柔軟性がどのような種でみられるのか、検討を進めることが求められる。

謝辞

本研究におけるメジロの飼育・糞の採集には、池田動物園・岡山県鳥獣保護センターの林花奈子氏、花島里奈氏および、沖縄こどもの国の金尾由恵氏、金城輝雄氏、吉見裕子氏、山内悦子氏、中村智昭氏

に多大なるご協力を頂きました。心より感謝申し上げます。また、本研究の遂行に当たり、公益財団法人ウエスコ学術振興財団にご支援を賜りましたことに、深く感謝いたします。

引用文献

- Cockrem JF 1995. Timing of seasonal breeding in birds, with particular reference to New Zealand birds. *Reproduction, Fertility and Development* 7(1): 1-19.
- Dixit AS, Bamon I & Singh NS 2018. Temperature modulates photoperiodic seasonal responses in the subtropical tree sparrow, *Passer montanus*. *Journal of Comparative Physiology A* 204: 721-735.
- Duncan RP, Blackburn TM & Sol D 2003. The Ecology of Bird Introductions. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 34: 71-98.
- Freed LA & Cann RL 2014. Diffuse competition can be reversed: a case history with birds in Hawaii. *Ecosphere* 5(11): 1-40.
- 堀江明香 2015. 特集「メジロ」. *野鳥* 792: 10-17.
- 堀江明香 2018. 画像検索で見えてきたメジロの一腹卵数の地理的変異. 日本鳥学会 2018 年度大会ポスター発表.
- Jarvi SI & Farias MEM 2006. Molecular sexing and sources of CHD1-Z/W sequence variation in Hawaiian birds. *Molecular Ecology Notes* 6(4): 1003-1005.
- Nishiwaki-Ohkawa T & Yoshimura T 2016. Molecular basis for regulating seasonal reproduction in vertebrates. *Journal of Endocrinology* 229: R117-R127.
- 酒井秀嗣, 佐藤恵, 若林修一 2005. 鳥類の繁殖期は秋から始まる? *日本大学歯学部紀要* 33: 45-50,
- Shimizu K 2005. Studies on reproductive endocrinology in non-human primates: application of non-invasive methods. *Journal of Reproduction and Development* 51: 1-13.
- 鷺谷いづみ 2007. 外来種の定着と侵略性の生態学的要因. *日本水産学会誌* 73: 1117-1120.
- Zeileis A, Leisch F, Hornik K & Kleiber C 2002. An R Package for Testing for Structural Change in Linear Regression Models. *Journal of Statistical Software*, 7(2): 1-38.

検索拡張生成を用いた砂防防災業務の効率化に関する研究

岡山理科大学

佐藤丈晴

(概要) 本研究では、砂防防災分野における業務効率化を目的として、検索拡張生成 (Retrieval-Augmented Generation, RAG) を活用した砂防技術検索システムを構築した。本システムは、砂防防災分野に関する法令・基準書・ガイドラインなどのデータから、ユーザ入力した自然言語による質問文に対して、ベクトル検索と大規模言語モデルを用いた RAG によって適切な回答文を生成し、回答文とその生成に用いた出典をユーザに提示する。評価実験では、数値を回答すべき質問および説明を回答すべき質問に対する回答の適切性を検証した。その結果、質問文と高い類似度を持つチャンクを正確に抽出できた場合、システムは有用な回答を生成できることが確認された。一方で、多くの要素を回答すべき質問や、簡単な質問であっても誤ったチャンクが選択された場合には、適切な回答を生成できないことが確認された。今後は、複数のチャンクの統合的活用やユーザとの対話的な補足機能の実装により、より実用性の高いシステムへの発展が期待される。

1. はじめに

砂防防災分野の調査や設計業務は、各種の法令、基準書、ガイドラインなどに記載されている規定に準拠して実施する必要がある。しかしながら、それらの業務に従事する公務員や民間技術者は、深刻な人手不足に直面しているにもかかわらず、それらの法令やガイドラインの規定の記載場所を調べる時間が労働時間の少なくない時間を占めている。そのため、それらの業務の効率化を図る手段として、デジタルトランスフォーメーション (Digital Transformation, DX) の導入が強く求められている。

砂防防災分野でも、人工知能技術を用いた多くの研究が実施されているが、その内容は主に画像や地形解析図を用いたりリスク評価、被災時の土砂量算定などの検討が中心であり、技術的な専門用語の検索に関する研究はほとんど存在しない。現場の職員や民間の砂防エンジニアが不慣れな専門用語に直面した際、基準書やガイドラインを参照せずに、インターネットの検索で得た情報をそのまま鵜呑みにしているケースも報告されている。

本研究では、砂防防災分野に従事する技術者が必要な情報へ効率的にアクセスできるように、それらに関する各種の法令、基準書、ガイドラインなどを検索するための砂防技術検索システムを開発した。本システムでは、検索拡張生成 (Retrieval-

Augmented Generation, RAG) の技術を利用して、自然言語による柔軟な検索を実現する。本システムでは、公務員および民間企業における DX 推進の一助となることを目的としており、職員やエンジニアが基準書やガイドラインから、砂防の設計基準や解析条件などを瞬時に引き出せるようにすることを目指している。

2. 研究方法

砂防技術検索システムの概要を図1に示す。本システムでは、ユーザはシステムへ自然言語による質問文を入力することで、回答を求めることが可能である。たとえば、質問文が「砂防堰堤の水通し断面の余裕高は、設計流量が100m³/sの際にはいくらに設定すればよいか」とすると、システムは「砂防堰堤の水通し断面の余裕高は、設計流量が100m³/sの際には0.6mです。」などと回答する。また、その際に、回答に作成に利用した出典とページ番号をユーザに提示する。

本システムの事前準備として、知識データに基づきベクトルデータベースを構築する。本研究における知識データの一部を表1に示す。これらの知識データには、国土交通省が提供する水管理・国土保全に関する指針、マニュアル、ガイドラインなどのウェブページ [1] に掲載された砂防技術関連の情報

表 1 知識データ (一部抜粋)

ファイル名
急傾斜地の崩壊による災害の防止に関する法律
土砂災害ハザードマップ作成ガイドライン
土砂災害に関する地区防災計画作成のための技術支援ガイドライン
土砂災害ハザードマップ作成のための指針と解説
土砂災害防止対策基本指針
河川砂防技術基準 (調査編)
河川砂防技術基準 設計編 (令和 5 年 10 月時点)
河川砂防技術基準 維持管理編 (砂防編) (平成 28 年 3 月)
砂防関係施設の長寿命化計画策定ガイドライン(案) (令和 4 年 3 月)
砂防関係施設点検要領 (案) (令和 4 年 3 月)

や、その他の法令、基準書に関する情報が含まれている。本研究で用いた知識データは 491 件である。

ベクトルデータベースの構築では、PDF 形式の知識データからテキストのみを抽出し、文章を段落単位で「チャンク」と呼ばれる一定長の長さの文字列に分割する。次に、それぞれのチャンクに対してエンベディング処理を施し、埋め込みベクトルへと変換する。作成された埋め込みベクトルは、ベクトルデータベースに格納される。

ユーザから入力された質問文は、上述と同様のエンベディング処理が適用され、埋め込みベクトルに変換される。そして、その埋め込みベクトルと、ベクトルデータベースに含まれるそれぞれのチャンク間のベクトルの類似度を比較する。ベクトルの類似度が高いチャンクを取得し、その結果を大規模言語モデル (large language model, LLM) に入力する。LLM は類似度が高いチャンクと質問文に基づいて、適切な回答文を生成し、ユーザに提示する。

本システムでは、チャンクの文字長を 256 文字、埋め込みベクトルの次元数を 1024 次元とした。エンベディングの作成には multilingual-e5-large [2] を、ベクトルデータベースの構築には Chroma [3] を、LLM は ELYZA-japanese-Llama-2-13b-instruct [4] を利用した。

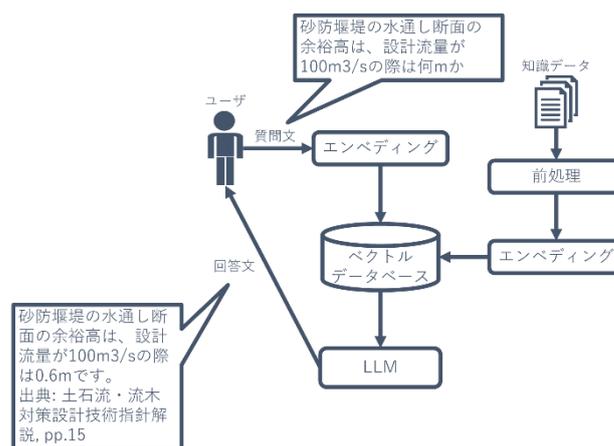


図 1 砂防技術検索システムの概要

3. 砂防技術検索システムにおける質問応答の評価

砂防技術検索システムへの質問文と、それに対する回答文、回答の生成に利用した資料、そのページ番号およびその回答文が適切であるかを表 2 に示す。質問 1~3 は、数値を問うための質問文で、システムは適切な数値を回答する必要がある。一方、質問 4~6 は、説明を求める質問文で、システムはその説明を回答する必要がある。

質問 1 は、土砂災害特別警戒区域の縮尺を問う質問文である。その正解は、知識データ[土砂災害警戒区域等における土砂災害防止対策の推進に関する法律施行規則]に明記されている。本システムは該当の知識データを適切に検索し、正しい縮尺を回答することができた。

質問 2 は、砂防堰堤を設計するために必要な水通し断面の余裕高を問うための質問文である。その正解は、知識データ[土石流・流木対策設計技術指針解説]に明記されている。この知識データ内で、余裕高は設計流量が 200m³/s 未満のときは、0.6m であると表形式で示されている。本システムは該当表を適切に解釈し、正確に回答を提示することができた。

質問 3 は、国土交通省の解析雨量に関して、メッシュの適切なサイズを問う質問文である。その正解は、1km である。しかし、システムの作成した回答文は 5km であると誤答している。これは、システムは質問文に対して最も類似すると判断したチャンクは知識データ[土砂災害警戒避難基準雨量の設定手法]に含まれており、そのチャンクは[土砂災害警戒

情報の CL 適用地域は、CL 設定に用いる降雨メッシュ (約 5km 格子) 単位とする。] である。そのため、そのチャンクから回答文を生成すると、システムは約 5km と認識するため、誤った回答文が生成された。このときに、2 番目に類似すると判断したチャンクは、回答が 1km であることを示唆する記述が含まれていたことから、質問文に十分に類似するチャンクの中から適切なチャンクを選択するための実装が今後の課題となる。

質問 4 は、土砂災害警戒情報の解除の基準の説明を求めるための質問文である。システムは、知識データ [都道府県と気象庁が共同して土砂災害警戒情報を作成・発表するための手引き (令和 3 年 6 月)] に含まれる該当箇所を適切に検索し、その内容に基づいた説明を正確に回答することができた。

質問 5 は、CL 対象災害という用語の説明を求めるための質問文である。システムは、簡潔ではあるが適切な回答を生成することができてた。実用上、より詳細な説明が求められることも考えられるが、システムは回答を生成するために利用した知識データの出典や、そのページ番号をユーザに提示する機能を有するので、それを参照することで情報を補うことが可能である。また、システムの今後の拡張として、対話的に応答可能なシステムへ拡張することがあげられる。

質問 6 は、地すべりの地形判読調査について着目すべき点を問うための質問文である。この質問文に対する適切な回答は、地質や、地質構造、地形などの多岐に渡る約 30 項目について列挙する必要がある。しかし、本システムの回答は簡素なものであり、必要な情報を網羅していないことから、不適切な回答であると判断される。このような、多岐にわたる要素を列挙する必要がある質問に対しては、現行のシステムでは十分な対応が困難であり、今後の改善課題である。

これらの質問文と回答文の検討により、システムが質問文と高い類似度を持つチャンクを適切に取得できれば、その後の大規模言語モデルによる回答生成も概ね適切に行われる傾向がある。したがって、質問文とチャンクの類似度評価およびチャンクを選

択の性能の向上は、システム全体の性能向上において極めて重要である。

また、説明を要する質問に対して、回答文の簡潔さと情報の網羅性のバランスも重要である。質問 5 のように、基本的な定義や概念に関する説明は簡潔でも十分な可能性があるが、質問 6 のように多様な観点からの詳細な情報が求められる場合には、簡潔な回答文では不十分となる。このようなケースでは、回答文を段階的に詳細化できるような機能や、ユーザとの対話を通じて必要な情報を補完する仕組みが有効であると考えられる。

本研究で作成したシステムを利用するメリットとして、砂防防災分野における情報検索業務の効率化が期待される。回答文に加えて、回答文の生成に利用した知識データの出典とともに該当ページ番号を明示することにより、ユーザは情報の信頼性を確認しつつ、文書の該当箇所を迅速に参照することが可能となる。そのため、従来のように文書全体を通読して必要な情報を探索する手間を削減することが期待される。今後の課題として、システムを実際に砂防防災分野の従事者に利用してもらうことで、本システムが利用者にとって有益なシステムであるかを評価することがあげられる。

4. まとめ

本研究では、砂防防災業務の効率化を支援することを目的として、砂防技術検索システムを開発した。本システムは、ユーザが入力した自然言語による質問文に対して、関連する知識データを検索し、その内容に基づいて生成した回答文と、それに利用した出典、およびそのページ番号を提示する機能を有している。システムの質問応答の有効性を評価するため、数値に関する質問と説明を求める質問の両方に対して、システムが生成する回答文の適切性を検証した。その結果、質問文に対して適切なチャンクが取得できた場合には、システムは有用な情報提供のツールとなり得ることが示唆された。

○ 参考文献

[1] 指針・ガイドライン等 - 国土交通省水管理・

国土保全局,

https://www.mlit.go.jp/river/shishin_guideline/index.html, accessed 2025/03/28.

[2] Multilingual E5 Text Embeddings: A Technical Report, Wang, Liang and Yang, Nan and Huang, Xiaolong and Yang, Linjun and Majumder, Rangan and Wei, Furu, arXiv preprint arXiv:2402.05672, 2024.

[3] Chroma, <https://www.trychroma.com>, accessed 2025/03/28.

[4] ELYZA-japanese-Llama-2-13b, Akira Sasaki and Masato Hirakawa and Shintaro Horie and Tomoaki Nakamura and Sam Passaglia and Daisuke Oba, <https://huggingface.co/elyza/ELYZA-japanese-Llama-2-13b>, 2023, accessed 2025/03/28.

○ 謝辞

本研究を遂行するに当たり、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。

○ 研究業績

検索拡張生成を用いた砂防技術検索システムの構築への取り組み, 佐藤丈晴, 廣田雅春, 小田哲也, 砂防学会研究発表会 2024年5月

表 2 砂防技術検索システムへの質問文と回答文

	質問文	回答文	出典資料とページ番号	正解
質問 1	公示図書の土砂災害特別警戒区域の区域図の縮尺は、いくら以上ですか？	1/2, 500	土砂災害ハザードマップ作成ガイドライン, pp. 15	○
質問 2	砂防堰堤の水通し断面の余裕高は、設計流量が 100m ³ /s の際は何 m か	砂防堰堤の水通し断面の余裕高は、設計流量が 100m ³ /s の際は 0.6m です。	土石流・流木対策設計技術指針解説, pp. 15	○
質問 3	CL の設定は、何 km メッシュで実施するか	CL の設定は、約 5km メッシュで実施します。	土砂災害警戒避難基準雨量の設定手法, pp.4	×
質問 4	土砂災害警戒情報の解除は、いつ行いますか？	土砂災害警戒情報の解除は、これまでの実績降雨量に予測降雨量を加味した降雨量が基準を下回り、かつ短時間で再び超過しないと予想される場合等土砂災害の危険性が低くなったときに行います。	土砂災害防止対策基本指針, pp. 12	○
質問 5	CL 対象災害とは、どのような災害か？	CL 対象災害は、降雨により予測可能な「土石流」および「同時多発的ながけ崩れ」を指す。	砂災害警戒情報の基準設定及び検証の考え方（令和 5 年 3 月）, pp. 4	○
質問 6	地すべりの地形判読調査は何に着目すべきか？	地すべりの地形判読調査は、地すべり地形や地質構造上の弱線を判読すべきです。	地すべり防止技術指針及び同解説（平成 20 年 4 月）, pp. 75	×

土器・焼土中に含まれる鉄鉱物の動態に関する基礎的研究

岡山理科大学 フロンティア理工学研究所

畠山 唯達

本研究は、粘土の焼成条件(温度:400, 800, 1200°C、雰囲気:空气中・真空)が鉄化合物に与える磁気的影響を調査したものである。福岡県古賀市産の小山田土を試料とし、低温からの熱消磁、等温残留磁化(IRM)の低温消磁、IRM段階着磁の測定を行った。空气中焼成では、温度上昇に伴い磁性鉱物量が減少し、磁鉄鉱の Verwey 転移も消失した。一方、真空中焼成では 800°Cで磁性鉱物量が最大となったが、Verwey 転移は同様に高温で消失した。低温消磁では、空气中高温で粗粒磁鉄鉱の減少が示唆され、真空中 800°Cで特異な磁気的挙動が観察された。IRM 段階着磁では、焼成条件で保磁力スペクトルが大きく変化。空气中高温で高保磁力鉱物の生成、真空中 800°Cで磁鉄鉱の増加が示唆された。考察として、酸化的環境では磁赤鉄鉱が赤鉄鉱へ、還元的環境では磁赤鉄鉱などが磁鉄鉱へ変化する可能性が示唆された。特に800°Cは、両雰囲気で鉄化合物の変化に重要な温度である。本研究は、焼成環境が陶器中の鉄化合物に大きな影響を与えることを示す。今後は、試薬からのデータ、異なる原土や実窯焼成試料との比較により、焼成環境と焼土の関係をより深く考察したい。

1. 研究の動機付け

岩石や土壌にはさまざまな元素が含まれる。中でも鉄(Fe)は地殻中において酸素、ケイ素、アルミニウムに次いで存在量の多い元素である。また、鉄イオンは標準的に2ないし3価となるが、どの価数でどの化合物に入るかということは酸素存在量、温度、圧力のみならず、水の存在など多岐の要素から影響を受け、地球表層に住む私たちのまわりでも非常に多くの形態をとる。

鉄の存在状態はものの表面色に大きな影響を及ぼす。とくに、岩石や土器などでは、表面色の赤・黒・白は鉄の量と状態を反映していることが多い。たとえば、火山から噴出する玄武岩溶岩は基本的に黒色である。しかし、発泡して多孔質となった噴出物の場合、高温で噴出した状態から定置して冷却する過程で激しく酸化され、表面が真っ赤になることが多い。この黒と赤の違いは溶岩中の鉱物である磁鉄鉱が酸化して赤鉄鉱などになることでできるものである。また、考古遺物の土器の多くは、表面色が赤～赤茶色であるが、閉鎖的な窯で焼成され還元環境下で表面色が決定した須恵器は表面色が灰～黒になる。この違いも溶岩と同様の由来を持つ。同様に、無釉陶器の代表である備前焼の表面に見られる豊かな発

色のうち赤味・黒味についても酸化鉄が大きな役割を担っている。

基本的に地球表面の大气にさらされる場所では、 Fe^{3+} が安定であるため、酸化第二鉄($Fe^{3+}_2O_3$)が安定であるのに対し、地球の内側では著しく還元的な環境になるため、 Fe^{2+} と Fe^{3+} の混合物($Fe^{2+}OFe^{3+}_2O_3$)が安定～ $Fe^{2+}(Fe^{2+}O)$ が安定～還元鉄が安定な領域を取る。このような土器や焼土(窯跡、炉跡、家事跡など)はもともと土・土壌・粘土といったものを酸化的または還元的な環境下で焼いたものである。

本助成研究を含むおおきな研究の枠組みの中で、我々は磁性・鉱物学的手法・化学的手法などを組み合わせて岩石や土壌といった天然物、あるいは土器などの人工物中に含まれる鉄の形態を追うことを目標としている。それによって過去の特徴ある環境の推定や土器焼成における場の推定など、地球環境科学や考古学、窯業などに貢献することを期待している。とくに本研究では、磁気的性質を用いて土→焼成物の間での鉄化合物の変化について特徴をつかむことを目的とする。

2. 試料

本研究で用いる試料は以下の3種類である。

① 粘土とそれを実験室内で焼成したもの

市販および採取した粘土について、非加熱のものを実験室内および復元備前焼窯にて焼成したものについて測定を行う。今回は、福岡県古賀市の船原古墳出土須恵器(田尻ほか, 2017)と近い組成を持つ付近の苦鉄質土壌層から採取した粘土(以降「小山田土」)を使用し、九州大学比較社会文化研究所蔵のフルテック社製小型高温管状雰囲気炉 FT-01VAC-1630 を使用し 400, 800, 1200°C で加熱して試料を作成した。この加熱は空気中および中真空中($\sim 10\text{Pa} \approx 10^{-4}\text{atm}$)で 96 時間行った。(文末補足図)

② 熱を受けて作られた考古資料

考古遺物や考古遺構には土器のような加熱して作成されたもののほかに、土器を焼くために使用した窯の跡、住居跡中の炉跡、火事跡などのような熱を受けた遺構もある。これらの中には温度に関する情報を持っているものもあり、これらについて分析をすることで①の結果と比較することが可能となる。

③ 試薬、および合成したもの

鉄酸化物と水酸化物について、市販試薬とそれを室内で焼きなまして純度を上げたもの、また、実験室内で合成した試薬。とくに $\varepsilon\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (ルオグフェンジャイト)に関しては、焼土内での存在条件や位置、さらに詳細な磁性についてよくわかっていないので、合成法の研究を進めている岡山理科大学の牧涼介助教(主な共同研究者)らの合成した試薬を用いて磁性の測定をする。

本報告では、測定および解析が進んでいる①に関する測定結果と、現時点での解釈を示す。

3. 手法

(1) 極低温から常温までの熱消磁測定

鉄を含む鉱物の磁気相転移は高温もしくは低温で起こる。常温で磁性を持つ鉱物は温度を上げるといずれかの点で磁性を失う(強磁性 \rightarrow 常磁性転移、キュリー点)。いっぽう、低温でも相転移(強磁性の種類が変わったり、他の磁性に転移する)が起こる場合がある。どちらも磁性鉱物を同定し、その詳細な組成や

粒度に関する情報を得るために有用であるが、とくに低温の場合は化学変化が起こりづらい状況下で測定しており、物質の素の情報を得るのに都合がよい。本研究では、2 種類の低温磁性について測定を行った。

まず、極低温(5K)までに着磁した磁化の常温(300K)までの熱消磁測定(Thermal Demagnetization: ThD)。試料を 5K から 300K まで加熱しながら、リアルタイムに残留磁化を測定する。基本的に減る一方の磁化であるが、その途中で減り方より相転移や粒度に関する情報を得ることができる。消磁する残留磁化は、常温から 5K までは磁場をかけず 5K で一瞬だけ 5T の磁場を印加する ZFC(Zero Field Cooling)と、常温から 5K まで 5T の磁場をかけてそのあと磁場を消す FC(Field Cooling)の 2 種類である。前者は極低温にて着磁する等温残留磁化(Isothermal Remanent Magnetization: IRM)であり、後者は常温 \sim 5K で着磁する熱残留磁化(Thermoremanence Magnetization: TRM)である。

(2) 常温着磁のちの低温消磁

常温で 5T の磁場を印加して等温残留磁化を着磁し、その後磁場をかけない状態で 5K まで冷却、300K まで加熱しながら磁化を測定する低温消磁(Low Temperature Demagnetization: LTD)。この磁性では、主に磁鉄鉱のヴェルエイ(Verwey)転移点をまたいだ磁化のメモリ効果を確認する。メモリ効果は微細な単軸粒子に起こりやすく、比較的粗粒な多磁区粒子ではメモリが効かず、300K からの冷却(以降「降温」)時の残留磁化と比べて、5K から温度を上昇させたとき(以降「昇温」)は弱くなる。この落差は粗粒磁鉄鉱の寄与・量比を表している。

(3) 等温残留磁化(IRM)の段階着磁

IRM は着磁のために掛ける磁場が大きいほど大きくなるが、ある磁場よりも強いとそれ以上磁化が強くなることなく(飽和)。飽和までの各磁場強度で着磁した残留磁化を無磁場中で測定し、残留磁化の着磁に関する保磁力スペクトルを確認する測定である。この測定では磁性鉱物が保磁力ごとにより分けられるほか、磁鉄鉱などに関しては粒子サイズ分布の最頻値に関する情報を得ることもできる。

具体的には、初めに-5T の磁場を印加したのち、10mT(0.01T)~5T を対数目盛上で等間隔に分割しその磁場を印加する、各ステップで磁場印加後に磁場を消し、残留磁化を測定する。その変化はIRMの着磁の累積値を示すので、この値の差分を取り各磁場帯での磁化の増分を計算する。この測定は低温でも行うことができるが、今回は常温で行った。

(1)~(3)の測定のいずれも岡山理科大学総合機器センター所蔵のカンタムデザイン社製MPMS(Magnetic Property Measurement System) MPMS-XL5 を使用した。

3. 結果

今回紹介する測定に供した試料は (a)小山田土を乾燥、粉末にしたもの (b)土をこね直径約5mmの棒状にして空气中で最高温度400°Cで焼成したもの

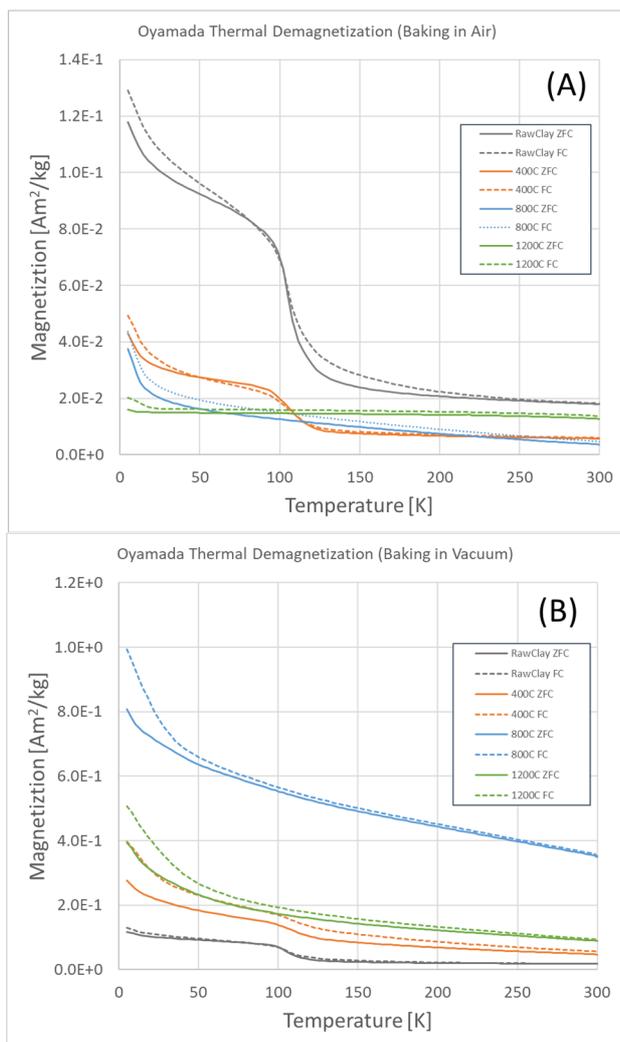


図1:5K→300Kの熱消磁。実線は5Kでの等温残留磁化、破線は300K→5Kに着磁した熱残留磁化。色の違いは事前の加熱処理の温度で、(A)は空气中、(B)は真空中加熱。

(c)同800°C (d)同1200°C (e)真空中で400°C (f)同800°C (g)同1200°C の7種類である。以下、非加熱と空气中加熱(a,b,c,d)と非加熱と真空中加熱(a,e,f,g)に分けてグラフに表示する。

(1) 極低温からの熱消磁測定

苦鉄質土壌である小山田土を空气中・真空中で加熱(400,800,および1200°C)した試料について極低温からの熱消磁を行った結果を図1に示す。空气中加熱(図1A)では、焼成温度を上げるにつれ、5KにおけるIRM(ZFC)およびTRM(FC)の大きさが小さくなっている。また、加熱前には明瞭に観察された100-120K付近における急降下はVerwey転移と対応すると思われるが、この大きさは400°C加熱後には小さくなり、さらに800,1200°C加熱後の試料については見られなくなった。

いっぽう、真空中加熱で作成した試料の結果(図

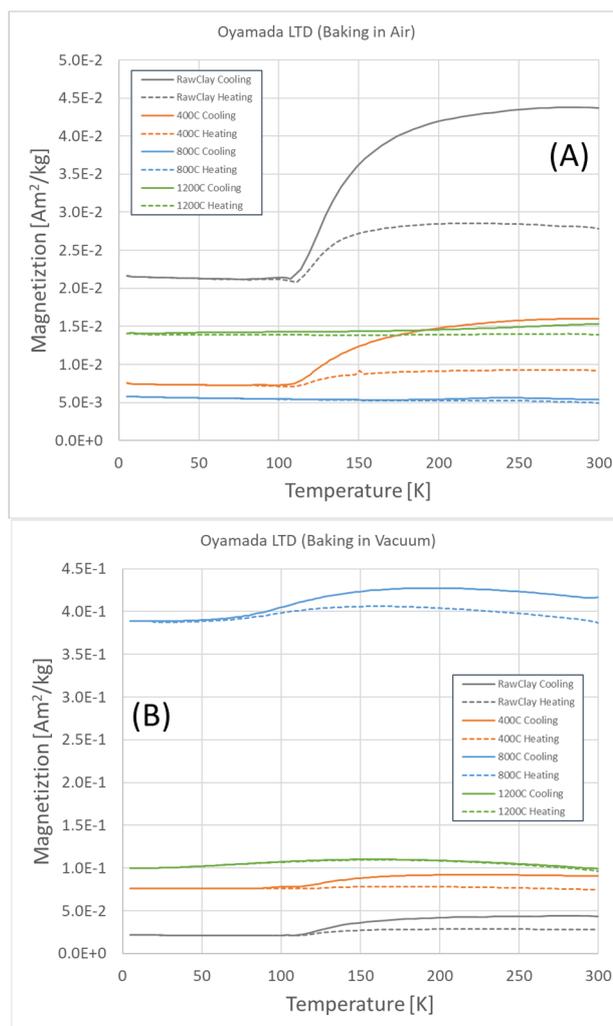


図2:300Kにて着磁した残留磁化の冷却曲線。実線は300K→5Kの降温、破線は300K→5Kの昇温中の残留磁化の変化を示す。(A)は空气中、(B)は真空中加熱。

1B) からは、加熱に伴って IRM, TRM の大きさが大きくなることが観察される。最も大きな値を示すのは 800°C 加熱後の試料で、1200°C 加熱の試料では値は小さくなった。このように磁荷(磁性鉱物)の総量は空气中加熱と大きく異なる温度依存性が見られるが、Verwey 転移の出現に関しては同様に、400°C まで観察され、800, 1200°C での焼成では消失している。

(2) 常温で着磁した等温残留磁化の低温消磁

次に 300K で 5T の磁場を使用して印加した IRM を 5K まで往復で冷却・加熱しながら測定した結果を図 2 に示す。

空气中加熱で作成した試料(図 2A)では、常温での IRM の大きさ(図中の冷却曲線の右端)は非加熱 > 400°C > 1200°C > 800°C と 5K における IRM の大きさとは異なる順番になった。非加熱と 400°C 加熱試料は 120K 付近での微小な落ち込みと降温・昇温曲線

の分離が見られた。800, 1200°C 加熱試料は降温・昇温曲線間の違いが小さかった。

いっぽう、真空中加熱で作成した試料(図 2B)では、常温における IRM 強度はいずれも加熱によって増加しており、その値は 800°C > 1200°C > 400°C > 非加熱の順番である。これは 5K における IRM の大きさの順序と同じだ。しかし、低温消磁の様子は少し異なる。非加熱および 400°C 加熱の試料では、空气中加熱同様に 120K 前後での小さな落ち込みと降温・昇温測定での分離が起きたのは空气中加熱と同様であるが、800°C 加熱の場合もこの分離がはっきりとみられた。降温・昇温の分離が起こる点とそれぞれの変曲点の位置は 120K よりもずっと小さく、約 75°C であった。

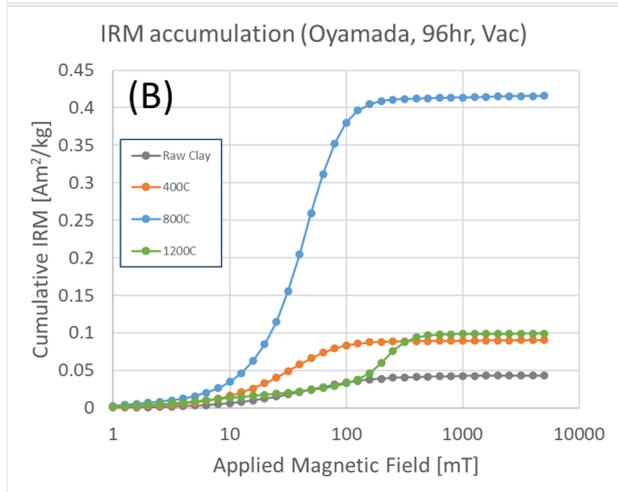
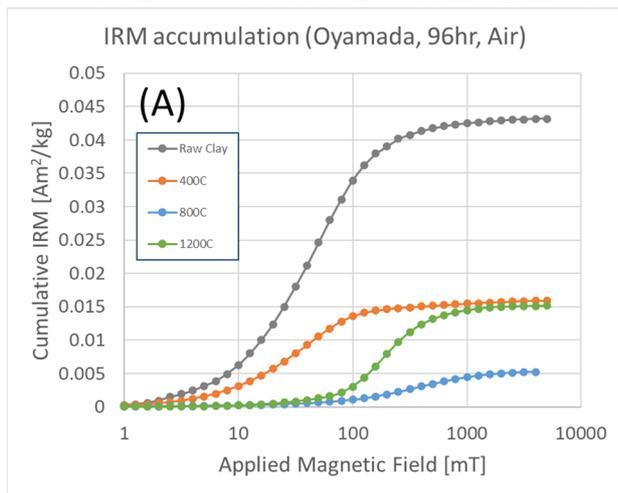


図 3: 300K における等温残留磁化獲得曲線。着磁磁場の間隔は対数スケールで一桁ごとに 10 ステップにした (10mT ~ 5T で 37 ステップ) (A) は空气中、(B) は真空中加熱した試料。累積値の最終値は図 2 の 300K における着磁(実線の値)と等しくなる。

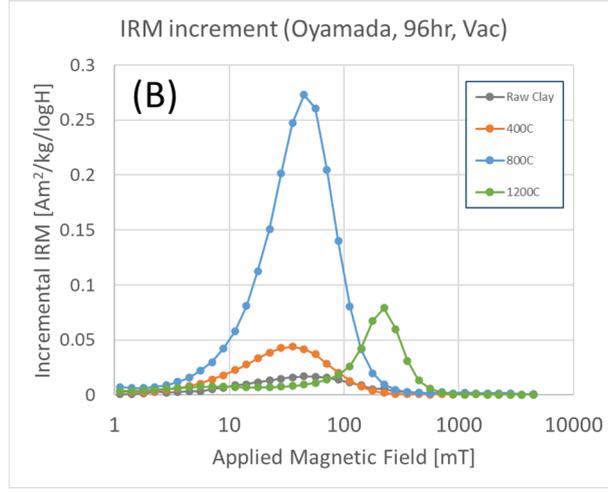
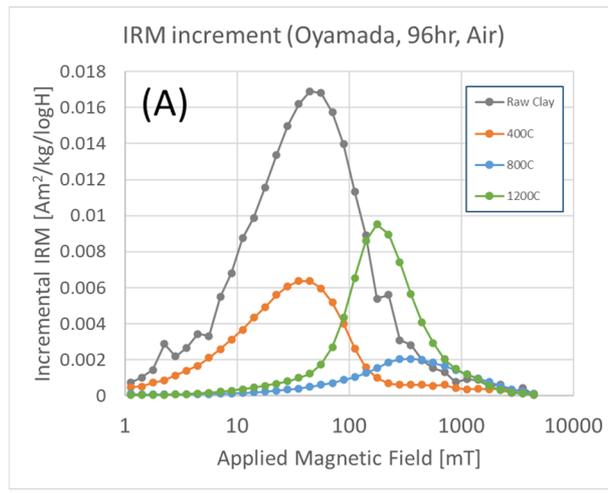


図 4: 図 3 の差分値が示す等温残留磁化獲得スペクトル。横軸は残留保磁力。ピーク位置は磁性鉱物種と平均粒径によって異なる。(A) は空气中、(B) は真空中加熱した試料。

(3) 等温残留磁化の段階着磁

同じ試料に対して、300Kでの等温残留磁化(IRM)の段階着磁をした測定結果を図3,4に示す。図3は累積IRM、図4はその差分(IRM獲得スペクトル)である。スペクトルにおいて横軸は残留保磁力を表し、そのピークは鉱物種と粒径分布のピークを表す。最終的な5T印加後の残留磁化の大きさは低温消磁前と同じ値になるので、ここでは図4のピークの高さと位置について記載する。

空気中加熱(図3,4A)の場合、いちばん高いピークは非加熱のものが示す約50mTのものである。このピークは幅も広い。次に1200°Cに見られる150~200mTのものである。このピークは上部は非常にシャープであるが、左右に裾を引いており、とくに高保磁力側は最大印加磁場(5T)でも0にならず飽和していないことを示している。次に400°Cの30~50mTのものでこれは非加熱のピークが低くなったものと考えられる最後に800°Cの300mT付近に見られるもので、非常に大きく広がっている。低保磁力側にはもう1成分あると考えられ、非加熱~400°Cのピークがさらに低くなったものの可能性がある。

真空中加熱(図3,4B)では、800°Cのピーク(約50mT)が最も高く、次に1200°C(200mT)、400°C(30~50mT)、非加熱(50mT)の順番となり、順序が全く逆となる。

4. 考察

現時点での結果から考えられる1種類の粘土(小山田土)に対する2種類の酸素雰囲気での3温度における焼成で起きたことに対する考察を記す。

体積あるいは質量あたりの残留磁化相当でもっとも強い酸化物は磁鉄鉱(Magnetite; Fe_3O_4)でその次は磁赤鉄鉱(Maghemite; $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$)である(Hunt et al. 1995)。磁鉄鉱は火山岩を含め多くの場所に存在するが、空気と水にさらされると酸化されて磁赤鉄鉱に変質する(Dixon and Schulze, 2002)ため、通常土壌中にはどちらも入り得る。今回の場合は、母岩が苦鉄質の変成岩であり(産業技術総合研究所, 2024)、磁鉄鉱の存在が予想される。磁赤鉄鉱は不安定な鉱物で、加熱によって分解される。その温度ははっきりしないものの400°C前後から始まると考えられる(Dunlop and

Özdemir, 1997)。熱分解後の鉱物はその場の酸素雰囲気によって変わり、酸化的であれば大部分が赤鉄鉱(Hematite; $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$)、還元的であれば磁鉄鉱になるようだ。つまり、酸化的環境で加熱すれば磁赤鉄鉱→赤鉄鉱の反応で残留磁化は弱くなり、還元的環境で加熱すれば磁赤鉄鉱→磁鉄鉱の反応で強くなる。

酸化的環境下(空气中)で焼成した試料に対する磁性の測定(各図A)では、常温での等温残留磁化は非加熱のものが一番高く、焼成温度が高くなるとともに弱くなっている。400°C加熱では図1~4のいずれでもグラフの形があまり変わらないまま値が小さくなっている。また、Verwey転移がはっきりと見えることから、減っている成分は不純物や格子欠陥が少ない磁鉄鉱である可能性が高い。800°Cになると、残留保磁力(図4)のピークの位置が大きく変わる(もとの数十mTのピークも僅かに見える)、また、低温消磁(図2)の降温・昇温の差がほとんどなくなることから、磁鉄鉱(一部は磁赤鉄鉱の可能性)の大部分が赤鉄鉱のような磁性が弱く保磁力が高い鉱物になったと推測される。さらに1200°Cで焼成すると、残留磁化の値は上がり残留保磁力のピークが低い方へ戻る。これは温度が高くなったことにより、粘土→陶器へ焼成されている試料内部の一部が磁鉄鉱-赤鉄鉱の共存線に近い位置へ近づき(Frost, 1991)、一部が磁鉄鉱になった可能性を示す。また、図4Aの高保磁力側が0になっていないこと、図1AのFC-ZFCが常温まで消磁しても近づかないことから、5Tの磁場をかけても飽和しないような高い保磁力を持つ鉱物(おそらくルオグフェンジャイト)が生成された可能性がある。

いっぽう、還元的環境下(真空中)で焼成した試料(各図B)では、まったく別のことが起こっている。残留磁化の値は非加熱→400°C→800°C加熱へと著しく増加している。また、そのピークの位置は30~50mTとあまり変わらないことから、磁鉄鉱の量が増加していることが推測される。しかし、800°Cの焼成ではVerwey転移がはっきりと観察されなくなっていることから、焼成の過程で粘土中に含まれる鉄(磁赤鉄鉱、粘土鉱物中、非晶質なものなど)が焼成過程で磁鉄鉱に変化するとともに、もともと含まれて

いた純度が高い磁鉄鉱も変化して Verwey 転移が見づらい磁鉄鉱へと変化したと考えるのが妥当である(不純物や空孔が存在すると磁鉄鉱が含まれていても ZFC/FC 曲線において Verwey 転移は見られない, Dunlop and Özdemir, 1997)。1200°Cまで加熱すると残留磁化の強度が減るだけでなく、保磁力のピークが高いほうへシフトする。赤鉄鉱のようなものへ変化して可能性が考えられるが、還元的環境かでそれが起こるのか、残留磁化の強さが赤鉄鉱にしては強い、保磁力が少し低い、などの疑問点が残る。なお、今回の低温磁性の測定では赤鉄鉱に見られることがある 250K 付近の相転移点(Morin 点)は明瞭に観察されなかった。

上記のように、小山田土に関して酸化的環境と還元的環境、さらに焼成する温度によって、磁鉄鉱の増加・減衰がまったく逆のセンスに動くことがわかった。とくに 800°Cという温度がどちらの酸素雰囲気下でも重要な温度であるというのも、興味深い点である。

まとめ

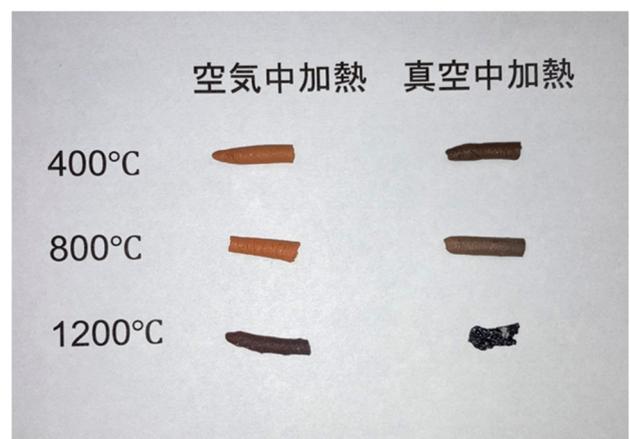
今回の研究で、粘土を焼成する環境(温度と酸素雰囲気)によって焼成される陶器に含まれる鉄の化合物は大きく変わることが示された。実際の陶器においては、今回考慮しなかった燃料の木材の燃焼に伴って表面に発生する自然油(ガラス層)の存在があるが、陶器の断面内部においては今回同様の変化をしていることが推測される。今回は1種類の原土について分析を行ったが、引き続き他のタイプの原土や実際の窯で焼成したものと比較しながら、焼成環境と焼土の関係について考察を深めていく必要がある。

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 ウェスコ学術振興財団に深く感謝申し上げます。また、試料を提供いただきました加藤千恵博士、足立達朗博士、平舘俊太郎博士(九州大学)、牧涼介博士、草野圭弘博士(岡山理科大学)に感謝いたします。

参考文献

- Dixon, J.B., Schulze, D.G. eds. (2002) Soil Mineralogy with Environmental Applications, Soil Science Society of America, 866pp.
- Dunlop, D.J., Özdemir, Ö. (1997) Rock Magnetism, Cambridge Univ. Press, 573pp.
- Frost, B. R. (1991) Magnetic petrology: factors that control the occurrence of magnetite in crustal rocks. In: Lindsley, D. H. (ed.) Oxide Minerals: Petrologic and Magnetic Significance. Mineralogical Society of America, Reviews in Mineralogy 25, 489-509.
- Hunt, C.P., Moskowitz, B.M., Banerjee, S.K. (1995) Magnetic Properties of Rock and Minerals, Rock Physics and Phase Relations, AGU Reference Shelf 3, 189-204.
- 産総研地質調査総合センター, 20万分の1日本シームレス地質図 V2, オリジナル版(地質図更新日:2024年9月6日), <https://gbank.gsj.jp/seamless/>
- 田尻義了, 足立達朗, 小山内康人, 甲斐孝司, 岩橋由季, 森下靖士 (2017) 船原古墳出土須恵器の胎土分析について, 平成 29 年度九州考古学会総会研究発表要旨集, P3



補足図: 空気中・真空中加熱した試料の写真。真空中 1200°Cは反溶融している。

チオフェンが縮環したシロール誘導体の新規合成法の開発

倉敷芸術科学大学 生命科学部

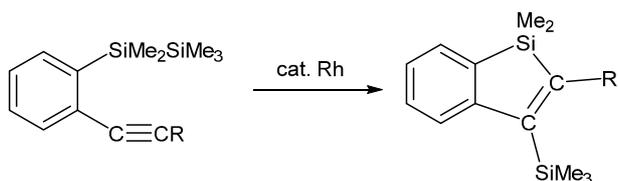
仲 章伸

(概要) シロール誘導体は、優れた電子特性と光物性を有する新しい機能性材料として大きな注目を集めている。これまで、シロール誘導体を得るために、様々な合成方法の開発が行われてきた。本研究は、3-エチニル-2-ペンタメチルジシリルチオフェン誘導体(1a-1c)のロジウム錯体触媒反応を行ったので報告する。110°Cで、化合物 1a-1c はロジウム錯体触媒存在下で反応し、分子内 *trans*-ビスシリル化を経由して、チオフェンが縮環したシロール誘導体(2a-2c)の合成に成功した。また、1a から 2a への生成機構を明らかにするために、密度汎関数法(DFT)による理論計算も行った。

はじめに

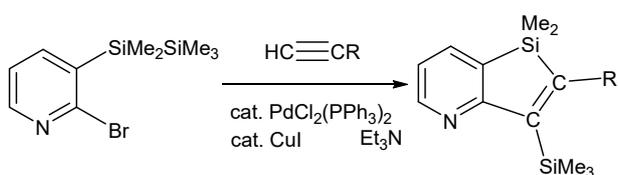
有機ケイ素化合物は、その特異な物理的および化学的性質により、有機合成、材料、医薬品を含むさまざまな分野で利用されている[1-5]。有機ケイ素化合物の合成法の中でも、2つのケイ素-炭素結合を同時に形成するビスシリル化反応が注目されている。ほとんどのビスシリル化反応では、*cis*-付加体が立体選択的に生成される[6-20]が、最近では *trans*-付加体を形成する反応も報告されている。2012年、Matsuda らは、(2-アルキニルフェニル)ジシランを用いた Rh(I)触媒による分子内環化を通じて、*trans*-選択的ビスシリル化が可能であることを示した(Scheme 1)[21]。

Scheme 1



2022年には、当研究室により PdCl₂(PPh₃)₂-CuI を触媒として用いた初の分子内 *trans*-ビスシリル化反応を報告した(Scheme 2)[22]。

Scheme 2

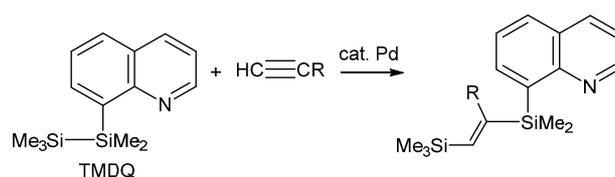


さらに、2023年には、ロジウム錯体触媒の存在下で分子内 *trans*-ビスシリル化反応を通じてピリジ

ン環が縮合したシロールの合成を発見した[23]。シロール誘導体は、有機エレクトロルミネッセンス(OLED)、太陽電池、半導体などの用途向けに優れた電子的および光物理的特性を持つ新しい機能性材料としても注目されている[24-29]。

Zhao らは、Pd 触媒と 8-(2-置換-1,1,2,2-テトラメチルジシリル)キノリン(TMDQ)を使用した末端アルキンの分子間 *trans*-ビスシリル化により、選択的に *trans*-ビスシリル化アルケンを形成する方法を報告した(Scheme 3)[30]。

Scheme 3



また、TMDQを用いた Pd/ルイス酸の協奏的触媒系によるアルキノエートの分岐型ビスシリル化も報告している[31]。

さらに、チオフェン系材料の合成にも注目が集まっており、これらの材料はエレクトロクロミックデバイス、電界効果トランジスタ、OLED、有機太陽電池などへの応用の可能性を示している[32]。したがって、チオフェンが縮環したシロールの合成法が確立できれば、様々な用途に応用できるものと考えられる。

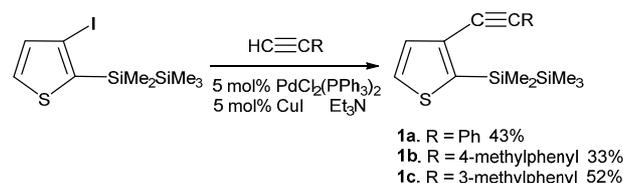
本研究では、ロジウム錯体触媒を用いた分子内 *trans*-ビスシリル化反応によるチオフェン縮合シロールの合成について報告する。さらに、密度汎関数

理論 (DFT) を用いた計算を通じて反応機構を明らかにした。本論文は、遷移金属触媒によるビスシリル化反応を用いたチオフェン縮合シロールの合成に関する初めての報告である。

結果と考察

出発化合物である 2-(1,1,2,2,2-ペンタメチルジシリル)-3-(フェニルエチニル)チオフェン (**1a**) は、トリエチルアミン中で 3-ヨード-2-(1,1,2,2,2-ペンタメチルジシリル)チオフェンとエチニルベンゼンを用いた菌頭カップリング反応によって、43%の収率で合成することができた (Scheme 4)。同様に、出発化合物 **1b** および **1c** は、それぞれ 33% および 52% の収率で合成できた (Scheme 4)。今回の反応では、出発化合物 **1a-1c** のジシリル部分が硫黄原子に隣接する炭素に位置している。化合物 **1a-1c** の合成は、2,3-ジプロモチオフェンからは達成できず、2,3-ジヨードチオフェンを使用する必要があった。

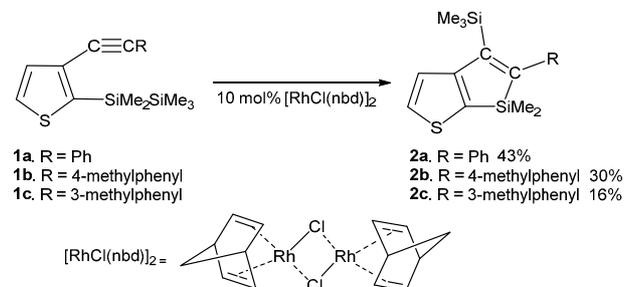
Scheme 4



まず、化合物 **1a** の反応をジカルボニル (クロロ) ロジウム(I)二量体 $[\text{RhCl}(\text{CO})_2]_2$ の存在下で検討した [23]。 $[\text{RhCl}(\text{CO})_2]_2$ を触媒量加えたトルエン中で **1a** を加熱還流したところ、12 時間経過後も生成物は得られず、出発物質 **1a** は定量的に回収された。次に、**1a** を $[\text{RhCl}(\text{nbd})]_2$ (nbd = ノルボルナ-2,5-ジエン) を用いて反応させた。トルエン中で $[\text{RhCl}(\text{nbd})]_2$ の存在下で **1a** を還流加熱したところ、6,6-ジメチル-5-フェニル-4-(トリメチルシリル)-6#シロロ[2,3-*b*]チオフェン (**2a**) が 43% の収率で得られた (Scheme 5)。化合物 **2a** は、化合物 **1a** の分子内 *trans*-ビスシリル化を経由して得られたものと考えられる。**2a** の構造は、質量分析および NMR により確認した。**2a** の質量スペクトルでは、分子量 $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{Si}_2\text{S}$ に対応する m/z 314 の親イオンが観測された。また、**2a** の ^1H NMR スペクトルでは、ケイ素原子

上のメチルプロトンに由来する 0.01 および 0.31 ppm のシグナル、さらにチエニル環に由来する 7.31 および 7.64 ppm のダブルットオブダブルットおよびフェニル環プロトンが観測された。さらに、**2a** の ^{29}Si NMR スペクトルでは、-6.8 および 0.1 ppm にシグナルが観測された。

Scheme 5



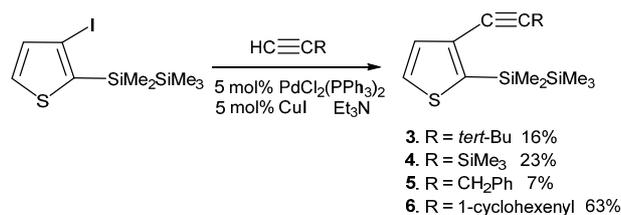
$\text{RhCl}(\text{PPh}_3)_3$ を用いた **1a** の同様の反応では、**2a** は得られず、出発物質 **1a** が定量的に回収された。

触媒量の $[\text{RhCl}(\text{nbd})]_2$ 存在下で 2-(1,1,2,2,2-ペンタメチルジシリル)-3-(*p*-トリルエチニル)チオフェン (**1b**) を反応させると、6,6-ジメチル-5-(*p*-トリル)-4-(トリメチルシリル)-6#シロロ[2,3-*b*]チオフェン (**2b**) が 30% の収率で得られた。

また、2-(1,1,2,2,2-ペンタメチルジシリル)-3-(*m*-トリルエチニル)チオフェン (**1c**) を $[\text{RhCl}(\text{nbd})]_2$ 触媒で反応させたところ、6,6-ジメチル-5-(*m*-トリル)-4-(トリメチルシリル)-6#シロロ[2,3-*b*]チオフェン (**2c**) が単離収率 16% で得られた。NMR および MS 解析により、ビスシリル化生成物 **2c** の存在が確認されたが、反応混合物中には GLC および GPC で多くの未同定生成物が検出された。

次に、3-ヨード-2-(1,1,2,2,2-ペンタメチルジシリル)チオフェンを、3,3-ジメチル-1-ブチンおよびエチニルトリメチルシランと $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2\text{-CuI}$ 触媒の存在下で反応させた。3-ヨード-2-(1,1,2,2,2-ペンタメチルジシリル)チオフェンと 3,3-ジメチル-1-ブチンをトリエチルアミン中で触媒量の Pd 錯体の存在下で 12 時間還流攪拌したところ、3-(*tert*-ブチルエチニル)-2-(1,1,2,2,2-ペンタメチルジシリル)チオフェン (**3**) が 16% の単離収率で得られた (Scheme 6)。

Scheme 6



同様に、3-ヨード-2-(1,1,2,2,2-ペンタメチルジシリル)チオフェンとエチニルトリメチルシランを反応させたところ、2-(1,1,2,2,2-ペンタメチルジシリル)-3-(トリメチルシリルエチニル)チオフェン(4)が23%の収率で得られたが、反応混合物中にはGLCおよびGPCで多くの未同定生成物が検出された。

化合物3および4の[RhCl(nbd)]₂の存在下での反応では、6,6-ジメチル-4-(トリメチルシリル)-6#シロロ[2,3-*b*]チオフェン誘導体は得られなかった。出発物質である3および4は回収された。この結果は、*tert*-ブチル基やトリメチルシリル基のような嵩高い置換基の存在により、分子内トランスビスシリル化を経由したシロール誘導体の形成が妨げられたことが原因と考えられる。

3-ヨード-2-(1,1,2,2,2-ペンタメチルジシリル)チオフェンを3-フェニル-1-プロピンおよび1-エチニルシクロヘキセンとトリエチルアミン中で菌頭カップリングした結果、1,1,1,2,2-ペンタメチル-2-(3-(3-フェニルプロピン-1-イル)チオフェン-2-イル)ジシラン(5)および1,1,1,2,2-ペンタメチル-2-(3-((1-メチル-1λ⁵-シクロヘキサン-1-エニル)エチニル)チオフェン-2-イル)ジシラン(6)が、それぞれ7%および63%の収率で得られた (Scheme 6)。

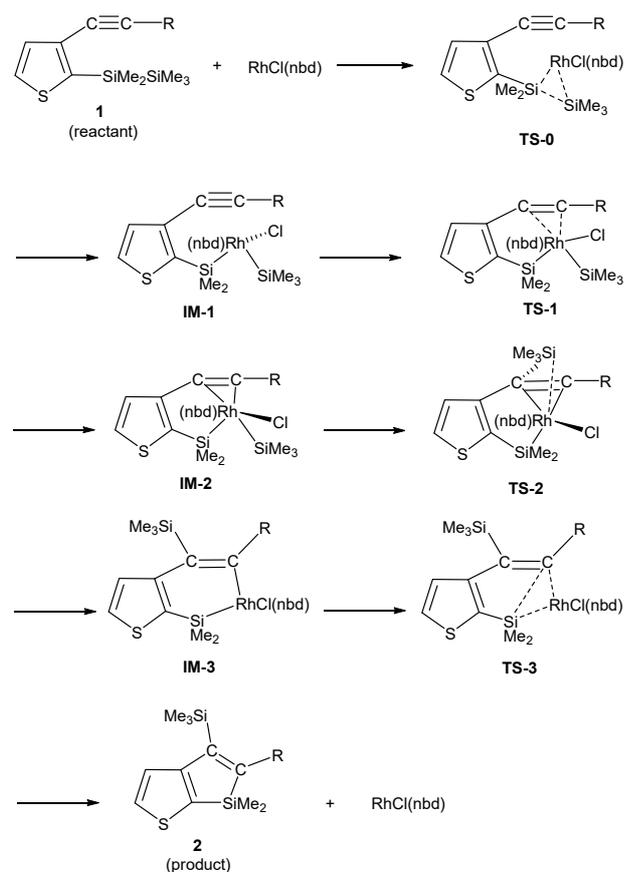
5および6の[RhCl(nbd)]₂を用いた触媒反応でも、トランスビスシリル化付加物は得られなかった。出発物質は消費されたものの、反応混合物中に多くの未同定生成物がGLCおよびGPCによって検出された。

さらに、PdCl₂(PPh₃)₂-CuI触媒を用いて3-ヨード-2-(1,1,2,2,2-ペンタメチルジシリル)チオフェンを1-ヘキシンと反応させた場合も、GLCおよびGPCにより反応混合物中に多数の生成物が観察されたが、1a-1cと類似の3-(ヘキス-1-イン-1-イル)-2-(1,1,2,2,2-ペンタメチルジシリル)チオフェンの単離には至らなかった。同様に、3-ヨード-2-

(1,1,2,2,2-ペンタメチルジシリル)チオフェンを1-オクチンやエチニルシクロヘキサンと反応させた場合も、2-エチニル-3-(1,1,2,2,2-ペンタメチルジシリル)チオフェン誘導体は得られなかった。GLCおよびGPCによる分析では、反応混合物中に再び多数の生成物が確認された。

Scheme 7に、チオフェン縮環シロールの生成機構を示す。化合物2の生成は、ロジウムシクロプロペンの反応によって説明することができる。

Scheme 7



化合物1がRhCl(nbd)と反応することでSi-Si結合が活性化され、遷移状態0(TS-0、ロジウムシクロプロペン)を経て、中間体1(IM-1)が生成する。IM-1からIM-2への構造変化は、Clアニオンの移動によるものであり、この2つのローカルミニマム(LM)の間に遷移状態1(TS-1)が存在している。この変化の間、Rh-C(C≡C内)結合距離は4.75Åおよび4.28Åから2.40Åおよび2.54Åに減少することが観測された。

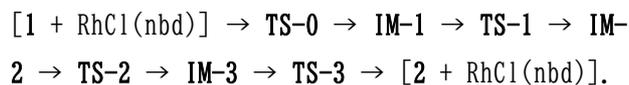
次に、ロジウム原子上のトリメチルシリル基が遷移状態2(TS-2)を経由して、チオフェン環に結合し

た炭素原子に移動し、中間体 3(IM-3)が形成される。最後に、ジメチルシリル基が R に隣接する炭素原子に結合し(遷移状態 3: TS-3 を経由)、ロジウム種の脱離により化合物 2 が得られることになる。

出発物質 1 から生成物 2 への生成機構を明らかにするため、Scheme 7 に示される反応について DFT 計算を行った。計算解析は Gaussian09 ソフトウェアパッケージ[33]を用い、Becke three-parameter Lee-Yang-Parr ハイブリッド汎関数[34]を採用した。ロジウム原子には、単一の 4f 関数を補強した Los Alamos 有効コアポテンシャル[35]と Dunning-Huzinaga の完全二重基底セット[36]を適用し、H、C、N、O、Si、Cl 原子については 6-31+G(d, p)基底セットを用いた。

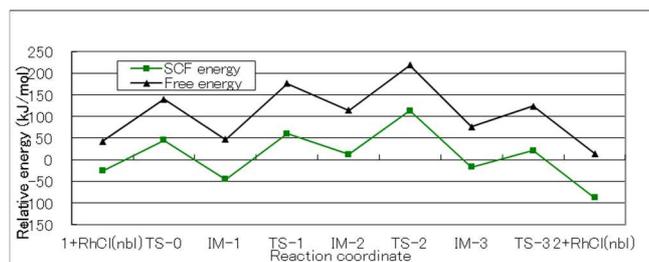
まず、遷移状態 (TS) を特定した。次に、各 TS に対応する反応物方向および生成物方向の固有反応座標 (IRC) [37]を調べた。IRC の終点では、通常最適化手法を適用し、2 つのローカルミニマム (LM) に到達した。

RhCl(nbd)は、 $[\text{RhCl}(\text{nbd})_2]$ の分解によって形成される活性触媒種と考えられる。反応エネルギーの基準として、1 と RhCl(nbd)のエネルギーの和を採用した。反応は以下の順序で進行する。



全ての TS および IM について、ギブス自由エネルギーは 383.15 K で評価した。Figure 1 は、基準エネルギーを参照した反応座標に沿った SCF エネルギーと自由エネルギーの変化を示す。両エネルギーは並行して変化し、自由エネルギーは高いポテンシャルエネルギー面に位置している。律速段階は TS-2 であり、最低エネルギーの LM から測定された活性化エネルギーは、SCF エネルギーで 159 kJ mol^{-1} 、自由エネルギーで 176 kJ mol^{-1} であった。このようにして、DFT 計算を用いて 1 から 2 への反応を明らかにすることができた。

Figure 1



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-(エチニル)-2-(1, 1, 2, 2, 2-ペンタメチルジシリル)チオフェン誘導体のロジウム錯体触媒反応を行った。3-(エチニル)-2-(1, 1, 2, 2, 2-ペンタメチルジシリル)チオフェン誘導体 (1) を触媒量のロジウム錯体の存在下で反応させた結果、チオフェン縮環シロール 6, 6-ジメチル-4-(トリメチルシリル)-6#シロロ[2, 3-*b*]チオフェン誘導体 (2) が得られた。DFT 計算を実施して、化合物 1 を経由した分子内トランスビスシリル化反応により、化合物 2 が生成するメカニズムを明らかにした。3-(アルキルエチニル)-2-(1, 1, 2, 2, 2-ペンタメチルジシリル)チオフェンとの同様の反応は成功しなかった。

今後は、チオフェンユニットを連結させたオリゴチオフェンが縮環したシロール誘導体の合成法を確立したいと考えている。オリゴチオフェンが縮環したシロール誘導体は、チオフェンユニットやシロールユニットの数により、合成した化合物の吸収波長や発光波長を大きく変化させることが出来ると考えられる。オリゴチオフェンのドナー部からシロールのアクセプター部へのエネルギー移動が起こり、発光素子への応用だけでなく、溶媒の種類によって蛍光波長が変化するソルバトクロミズム特性が期待され、この性質を利用すれば、センサーとして用いることが出来るはずである。

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] Hiyama, T.; Oestreich, M. *Organosilicon Chemistry: Novel Approaches and Reactions*, Wiley-VCH Press: Weinheim, 2019.
- [2] Jones, R. G.; Ando, W.; Chojnowski, J. *Silicon-Containing Polymers*, Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, 2000.
- [3] Zelisko, P. M. *Bio-Inspired Silicon-Based Materials*, Springer: Dordrecht, 2014.
- [4] Franz, A. K.; Wilson, S. O. Organosilicon Molecules with Medicinal Applications. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 388-405. DOI: 10.1021/jm3010114
- [5] Ramesh, R.; Reddy, D. S. Quest for novel chemical entities through incorporation of silicon in drug scaffolds. *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 3779-3798.
- [6] Zhang, Y.; Wang, X.C.; Ju, C.W.; Zhao, D. Bis-Silylation of Internal Alkynes Enabled by Ni(0) Catalysis. *Nat. Commun.* **2021**, *12*, 68.
- [7] Suginome, M.; Ito, Y. Activation of Silicon-Silicon σ Bonds by Transition-Metal Complexes: Synthesis and Catalysis of New Organosilyl Transition-Metal Complexes. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1998**, 1925-1934.
- [8] Suginome, M.; Ito, Y. Activation of Si-Si Bonds by Transition-Metal Complexes. *Organomet. Chem.* **1999**, *3*, 131-159.
- [9] Beletskaya, I.; Moberg, C. Element-Element Addition to Alkynes Catalyzed by the Group 10 Metals. *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 3435-3462.
- [10] Suginome, M.; Ito, Y. Transition-Metal-Catalyzed Additions of Silicon-Silicon and Silicon-Heteroatom Bonds to Unsaturated Organic Molecules. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 3221-3256.
- [11] Beletskaya, I.; Moberg, C. Element-Element Additions to Unsaturated Carbon-Carbon Bonds Catalyzed by Transition Metal Complexes. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 2320-2354.
- [12] Suginome, M.; Matsuda, T.; Ohmura, T.; Seki, A.; Murakami, M. *Comprehensive Organometallic Chemistry*, 10th ed.; Crabtree, R.H., Mingos, D.M.P., Eds.; Elsevier: London, UK, 2007; Volume 3, pp. 725-787.
- [13] Ansell, M. B.; Navarro, O.; Spencer, J. Transition Metal Catalyzed Element-Element Additions to Alkynes. *Coord. Chem. Rev.* **2017**, *336*, 54-77.
- [14] Ozawa, F.; Sugawara, M.; Hayashi, T. A New Reactive System for Catalytic Bis-Silylation of Acetylenes and Olefins. *Organometallics* **1994**, *13*, 3237-3243.
- [15] Ansell, M. B.; Roberts, D. E.; Cloke, F. G. N.; Navarro, O.; Spencer, J. Synthesis of an [(NHC)₂Pd(SiMe₃)₂] Complex and Catalytic *cis*-Bis(Silyl)ations of Alkynes with Unactivated Disilanes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 5578-5582.
- [16] Ito, Y.; Matsuura, T.; Murakami, M. Palladium-catalyzed regular insertion of isonitriles into silicon-silicon linkage of polysilane. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 3692-3693.
- [17] Hayashi, T.; Kobayashi, T.; Kawamoto, A.; Yamashita, H.; Tanaka, M. Platinum complex catalyzed double silylation of ethylene and norbornene with disilanes. *Organometallics* **1990**, *9*, 280-281.
- [18] Tamao, K.; Hayashi, T.; Kumada, M. Fluorinated polysilanes. palladium-catalyzed disilane metathesis, double silylation of acetylenes, and the stereochemical course. *J. Organomet. Chem.* **1976**, *114*, C19-C22.
- [19] Sakurai, H.; Kamiyama, Y.; Nakadaira, Y. Chemistry of organosilicon compounds. 79. Novel [$\sigma + \pi$] reactions of hexaorganodisilanes with acetylenes catalyzed by palladium complexes. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 931-932.
- [20] Watanabe, H.; Kobayashi, M.; Higuchi, K.; Nagai, Y. Reaction of disilanes with acetylenes: I. Stereoselective addition of

- methoxymethyldisilanes to phenylacetylene catalyzed by group-VIII metal phosphine complexes. *J. Organomet. Chem.* **1980**, 186, 51-62.
- [21] Matsuda, T.; Ichioka, Y. Rhodium-Catalysed Intramolecular Trans-Bis-Silylation of Alkynes to Synthesise 3-Silyl-1-Benzosiloles. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, 10, 3175-3177.
- [22] Naka, A.; Shimomura, N.; Kobayashi, H. Synthesis of Pyridine-Fused Siloles by Palladium-Catalyzed Intramolecular Bis-Silylation. *ACS omega* **2022**, 7, 30369-30375.
- [23] Naka, A.; Kobayashi, H. Rhodium-Catalyzed Trans-Bis-Silylation Reactions of 2-Ethynyl-3-pentamethyldisilylpyridines. *Molecules* **2023**, 28, 3284.
- [24] Yamaguchi, S.; Tamao, K. The Chemistry of Organic Silicon Compounds; Rappoport, Z., Apeloig, Y., Eds.; Wiley: Chichester, 2001; Chapter 11, Vol. 3.
- [25] Liu, J.; Lam, J. W. Y.; Tang, B. Z. Aggregation-Induced Emission of Silole Molecules and Polymers: Fundamental and Applications. *J. Inorg. Organomet. Polym. Mater.* **2009**, 19, 249-285.
- [26] Sołoducho, J.; Zając, D.; Szychalska, K.; Baluta, S.; Cabaj, J. Conducting Silicone-Based Polymers and Their Application. *Molecules* **2021**, 26, 2012.
- [27] Dang, T. T.; Nguyen, H. M. T.; Nguyen, H.; Dung, T. N.; Nguyen, M. T.; Dehaen, W. Advances in Synthesis of π -Extended Benzosilole Derivatives and Their Analogs. *Molecules* **2020**, 25, 548.
- [28] Chen, J. W.; Cao, Y. Silole-Containing Polymers: Chemistry and Optoelectronic Properties. *Macromol. Rapid Commun.* **2007**, 28, 1714-1742.
- [29] Lu, G.; Usta, H.; Risko, C.; Wang, L.; Facchetti, A.; Ratner, M.A.; Marks, T. J. Synthesis, Characterization, and Transistor Response of Semiconducting Silole Polymers with Substantial Hole Mobility and Air Stability. Experiment and Theory. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 7670-7685.
- [30] Zhao, S.; Zhang, Y.; Wu R.; Yin, K.; Hong, X.; Zhao, D. Intermolecular *trans*-bissilylation of terminal alkynes. *Nat. Synth.* **2023**, 1-12.
- [31] Zhao, S.; Ding, L.; Sun, Y.; Wang, M. Zhao, D. Synergistic Palladium/Lewis Acid-Catalyzed Regio- and Stereodivergent Bissilylation of Alkynoates: Scope, Mechanism, and Origin of Selectivity. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2023**, e202309169.
- [32] I. F. Perepichka, D. F. Perepichka, Handbook of Thiophene-Based Materials, Wiley, Chichester, U.K., 2009.
- [33] Frisch, M. J. et al. Gaussian09, Revision C.01, **2010**, Gaussian Inc., Wallingford, CT.
- [34] Becke, A. D. Density-Functional Thermochemistry. III. The Role of Exact Exchange. *J. Chem. Phys.* **1993**, 98, 5648-5652.
- [35] Hay, P. J.; Wadt, W. R. Ab Initio Effective Core Potentials for Molecular Calculations. Potentials for the Transition Metal Atoms Sc to Hg. *J. Chem. Phys.* **1985**, 82, 270-283.
- [36] Dunning, T. H. Jr.; Hay P. J. In *Modern Theoretical Chemistry*, Schaefer, H. F., Ed.; Plenum Press: New York, 1976, pp 1-28.
- [37] Fukui, K.; Kato, S.; Fujimoto, H. Constituent analysis of the potential gradient along reaction coordinates. Method and application to $\text{CH}_4 + \text{T}$ reaction, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, 97, 1-7.

免疫チェックポイント阻害薬の治療効果と有害事象の相関を司る代謝変容の解明

倉敷芸術科学大学 生命科学部 動物生命科学科

三重 慧一郎

免疫チェックポイント阻害薬 (ICI) による免疫関連有害事象 (irAE) 発症は ICI の抗腫瘍効果と相関することが臨床現場では報告されている。筆者は、この ICI の抗腫瘍効果と irAE 発症が相関する現象を再現する担癌皮膚 irAE モデルマウスの作製に成功しており、遺伝子発現の網羅的解析により CD8 陽性 T 細胞における糖代謝および脂質代謝の変容が本現象に関与していることを示唆する結果を得ている。そこで本研究では、CD8 陽性 T 細胞の代謝変容を司る PI3K/AKT/mTOR 経路の変化が本現象に関与しているかどうかをフローサイトメトリーにより検証した。その結果、CD8 陽性 T 細胞のリン酸化 AKT (pAKT) 発現と ICI の抗腫瘍効果の間に相関は認められなかったが、pAKT 陽性 CD8 陽性 T 細胞における programmed cell death 1 (PD-1) 発現増加と ICI の抗腫瘍効果の間に正の相関がある傾向が認められた。したがって、PI3K/AKT/mTOR 経路よりも下流で糖代謝あるいは脂質代謝に限定されたシグナル伝達因子が独自の担癌皮膚 irAE モデルマウスにおいて ICI の抗腫瘍効果と irAE 発症が相関する現象に関与していると推測され、この因子は CD8 陽性 T 細胞の疲弊速度を早めると考えられた。

1. 緒言

T 細胞に発現している programmed cell death 1 (PD-1) は、がん細胞に発現している PD-1 ligand 1 (PD-L1) と結合することで T 細胞に抑制性のシグナルを送る働きをしており、この免疫抑制機序は抗腫瘍免疫応答が働かなくなる主要な機序の一つである [1]。PD-1/PD-L1 経路を含むこのような免疫担当細胞に対して抑制性のシグナルを送る分子を免疫チェックポイント分子といい、これを阻害する抗体薬である免疫チェックポイント阻害薬 (ICI) は悪性黒色腫をはじめとした様々な腫瘍種に対して顕著な抗腫瘍効果を示したことから、免疫療法が外科療法、化学療法、放射線療法に続いて第 4 のがん治療法として確立されるに至っている [2]。しかし、ICI は同じ腫瘍種でも治療効果が得られる症例と得られない症例がいることが課題となっており、様々な腫瘍種において約 7 割程度の症例では ICI の治療効果が得られないと報告されている [3, 4]。抗腫瘍免疫療法の治療効果を向上させるためには、ICI の治療効果が得られない機序を解き明かすことが求められるが、未だその鍵となる現象は解明されていないのが現状である。

ICI におけるもう一つの課題として、免疫関連有

害事象 (irAE) が挙げられる。irAE は ICI により活性化された免疫応答が引き起こす自己免疫疾患の総称であり、抗 CTLA-4 抗体薬では約 5 割、抗 PD-1 抗体では約 3 割の症例が irAE を発症すると報告されている [4]。irAE は自己免疫性の脳炎や血管炎、甲状腺炎、関節炎、皮膚炎など全身のあらゆる臓器・組織で発症する可能性があり、発症臓器・組織の予測が困難であることからその制御が大きな課題となっている。一方で、irAE の発症は ICI の抗腫瘍効果と相関すると報告されており [5]、筆者は ICI の抗腫瘍効果と皮膚 irAE 発症が相関する独自の担癌皮膚 irAE モデルマウスの作製に成功している。

筆者はこれまでこの独自の担癌皮膚 irAE モデルマウスにおいて ICI の抗腫瘍効果と皮膚 irAE 発症が相関する機序の解明に取り組んできた。その過程で、ICI の抗腫瘍効果が得られたマウスと得られなかったマウスの腫瘍領域リンパ節 (DLN) 中の CD8 陽性 T 細胞における遺伝子発現を DNA マイクロアレイ法により網羅的に解析して比較したところ、ICI の抗腫瘍効果が認められたマウスの CD8 陽性 T 細胞では糖代謝に関連する遺伝子発現が上昇していたのに対して、ICI の抗腫瘍効果が認められなかったマウスでは脂質代謝に関連する遺伝子発現が上昇してい

た。さらに、個々の発現遺伝子の変動を見ると、ICIの抗腫瘍効果が認められたマウスではCD8陽性T細胞のPI3K/AKT/mTOR経路を促進するO-結合型N-アセチルグルコサミントランスフェラーゼ(OGT)の遺伝子発現が上昇していたのに対して、ICIの抗腫瘍効果が認められなかったマウスではCD8陽性T細胞のPI3K/AKT/mTOR経路を抑制するホスファターゼ・テンシンホモログ (PTEN) やイノシトールポリリン酸-4-ホスファターゼII型 (Inpp4b) の遺伝子発現が上昇していた (図1)。PI3K/AKT/mTOR経路は代謝反応を亢進させるT細胞の活性化に欠かせない経路であることから、独自の担癌皮膚 irAE モデルマウスにおいてICIの抗腫瘍効果と皮膚 irAE 発症が関連する機序ではPI3K/AKT/mTOR経路の制御によるCD8陽性T細胞の代謝反応の変化が鍵となっている可能性があると考えられた。そこで、本研究では、CD8陽性T細胞におけるPI3K/AKT/mTOR経路の変化がICIの抗腫瘍効果と関連するかどうかを担癌マウスモデルを用いて検証した。

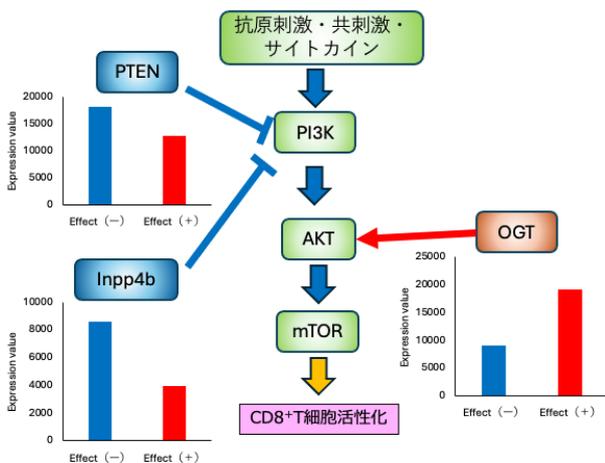


図1. ICIの抗腫瘍効果の有無による遺伝子発現の差異とPI3K/AKT/mTOR経路の関連

2. 材料および方法

2-1. 供試動物

C57BL/6JmsSlc (メス、8週齢) 13匹を本研究に供した。なお、本研究は倉敷芸術科学大学動物実験委員会の承認を受けて実施した (承認番号:2023-21)。

2-2. MC-38細胞の培養と接種

本研究では、マウス結腸がん株化細胞であるMC-38細胞(Merck、ダルムシュタット、ドイツより購入)を使用した。-80℃で凍結保存したMC-38細胞 3×10^6 個を37℃に保温した恒温槽にて融解後、 3×10^5 個ずつ75 cm²フラスコに入れ、10%FBSおよびペニシリン100 unit/ml、ストレプトマイシン100 μg/mlを加えたRPMI-1640(ナカライテスク、京都、日本)30 mlを加えて37℃、5%CO₂下で5日間培養した。5日間培養後、MC-38細胞を回収し、リン酸緩衝液(PBS; ナカライテスク)にて 1×10^7 個/mlに調整したMC-38懸濁液100 μl (MC-38細胞 1×10^6 個)をマウス右体幹部に皮内接種した。

2-3. ICI投与

MC-38細胞をマウスの右体幹部に皮内接種した日を接種0日とし、接種後10日目と13日目に抗マウスPD-L1抗体(BioXcell、レバノン、ニュー・ハンプシャー、アメリカ)0.2 mgを腹腔内投与した。MC-38細胞接種後17日目にマウスを安楽死し、腫瘍側の腸骨下リンパ節および腋窩リンパ節をDLNとして採取した。

2-4. 抗CD3抗体固相化プレートの作製

抗マウスCD3抗体(BioLegend、サンディエゴ、カリフォルニア、アメリカ)をPBSで500倍希釈し、96ウェルプレートに100 μl/well分注した後、4℃で一晩インキュベートして固相化した。使用直前に抗体液を廃棄しPBS 150 μl/wellで洗浄した。

2-5. フローサイトメトリー

採取したDLNを細切し、70 μmナイロンメッシュを用いて組織片を除去後、ACK Lysing Buffer (Thermo Fisher Scientific、ウォルサム、マサチューセッツ、アメリカ)を1 ml入れて懸濁し、1分間静置して赤血球を溶解した。細胞数を計測して 1×10^7 個/mlに調整後、 5×10^5 個/wellで抗CD3抗体固相化プレートまたは96ウェルプレートにまき、10%FBSおよびペニシリン100 unit/ml、ストレプトマイシン100 μg/mlを加えたRPMI-1640を100 μ

1/well 加えた上で、37°C、5% CO₂ 下で4時間静置した。静置後、1500 rpm、4°C、5分間遠心分離してから上清を捨て、2%ホルマリン 150 μl/well を加えて細胞を懸濁し、室温で20分間静置した。続いて、2%FBS 加 PBS (FACS Buffer) で2度細胞を洗浄した上で、True-Phos Perm buffer (BioLegend) 250 μl/well を加えて-20°C、1時間静置した。FACS buffer で2度洗浄後、抗マウスCD16/CD32抗体(BioLegend) を4°C、5分間反応させた上で、FITC 標識抗マウスCD45抗体 (BioLegend)、Brilliant violet 510 標識抗マウスTCR β鎖抗体 (BioLegend)、PE 標識抗リン酸化AKT (pAKT) 抗体 (BioLegend)、APC 標識抗マウスPD-1抗体 (BioLegend)、APC/Cy7 標識抗マウスCD4抗体 (BioLegend) および PerCP/Cy5.5 標識抗マウスCD8抗体 (BioLegend) で4°C、一晩染色した。フローサイトメトリーは FACS Aria IIIセルソーター (Becton, Dickinson and Company; BD、フランクリンレイクス、ニュージャージー、アメリカ) を用いて実施し、得られたデータはFlowjo(BD)を用いて解析した。解析時の gating strategy は図2に示した。

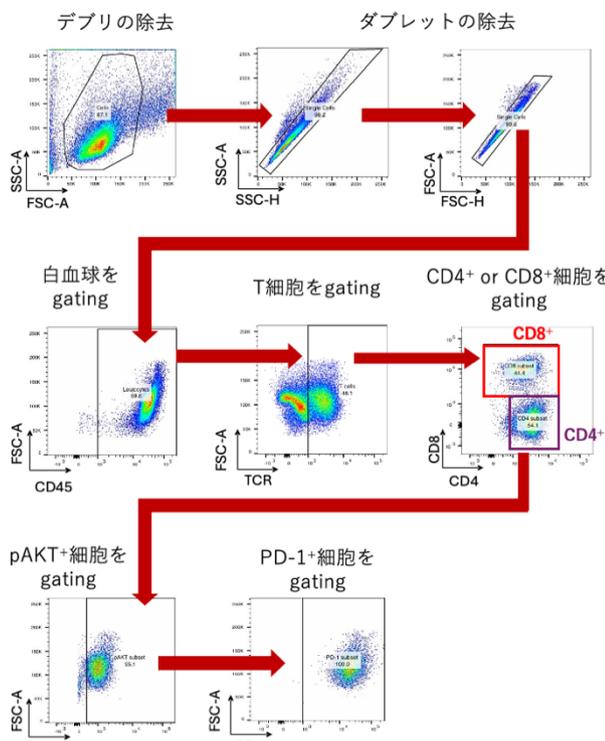


図2. Gating strategy

2-6. 統計解析

固相化抗 CD3 抗体刺激の有無による pAKT または PD-1 の平均蛍光強度 (MFI) の変化は paired T test で比較した。固相化抗 CD3 抗体で刺激した pAKT の MFI と刺激していない pAKT の MFI の比 (pAKT 比) と腫瘍体積の相関については、シャピロ・ウィルク検定により正規分布をしていないことを確認した上で、スピアマンの順位相関係数により解析した。固相化抗 CD3 抗体刺激の有無による PD-1 の MFI の比 (PD-1 比) と腫瘍体積の相関についても、同様にシャピロ・ウィルク検定により正規分布をしていないことを確認した上で、スピアマンの順位相関係数により解析した。すべての統計学的解析は GraphPad Prism 10 (Dotmatics、ボストン、マサチューセッツ、アメリカ) を用いて行い、いずれも $P < 0.05$ を統計学的有意とした。

3. 結果

3-1. ICI の抗腫瘍効果

図3に示すように、抗 PD-L1 抗体の抗腫瘍効果には個体差が認められた。

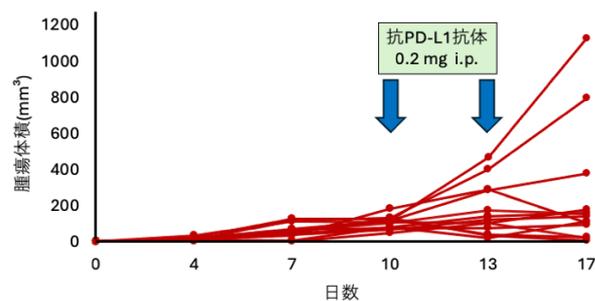


図3. 腫瘍体積の経時的変化

3-2. T細胞のpAKT発現と腫瘍体積の相関

図4に示すように、CD4陽性T細胞およびCD8陽性T細胞におけるpAKTのMFIはともに固相化抗CD3抗体刺激により有意に増加した ($P < 0.001$)。pAKT比と腫瘍体積の間には、CD4陽性T細胞およびCD8陽性T細胞ともに有意な相関は認められなかった。

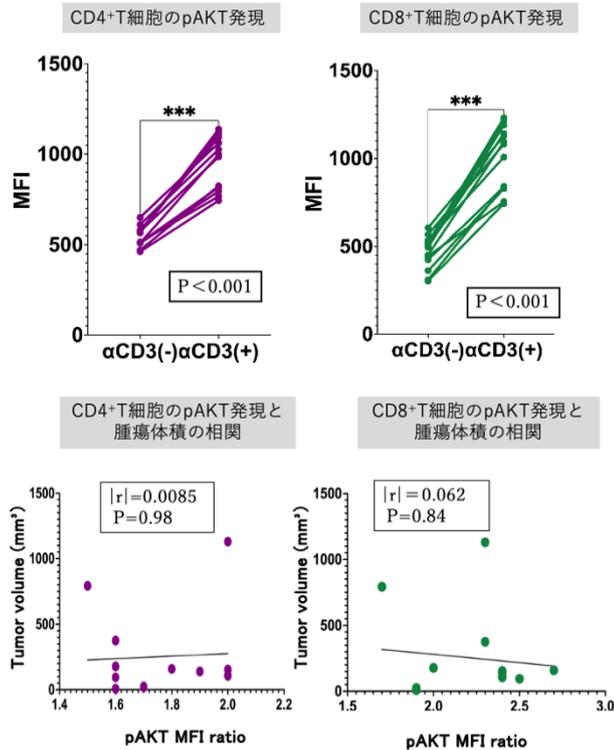


図4. T細胞のpAKT発現と腫瘍体積の相関

3-3. pAKT陽性T細胞のPD-1発現強度と腫瘍体積の相関

図5に示すように、pAKT陽性CD4陽性T細胞およびpAKT陽性CD8陽性T細胞におけるPD-1のMFIは固相化抗CD3抗体刺激により有意に増加した ($P < 0.001$)。PD-1比と腫瘍体積の間には、pAKT陽性CD4陽性T細胞では有意な相関は認められなかった一方で、pAKT陽性CD8陽性T細胞では正の相関がある傾向が示された ($|r| = 0.54$, $P = 0.058$)。

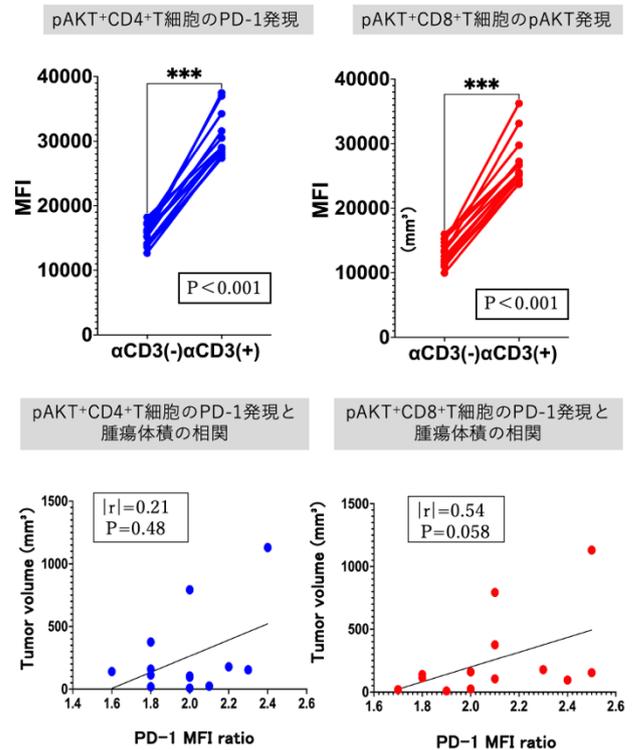


図5. pAKT陽性T細胞のPD-1発現と腫瘍体積の相関

4. 考察

本研究では、筆者が以前実施した遺伝子発現の網羅的解析から示唆されたICIの抗腫瘍効果とCD8陽性T細胞におけるPI3K/AKT/mTOR経路の関連について検証するために、担癌マウスモデルを用いてDLNのCD8陽性T細胞におけるpAKT発現強度とICI投与による腫瘍体積の変化の相関について解析した。その結果、仮説に反してCD8陽性T細胞のpAKT比と腫瘍体積の間に相関は認められなかったが、pAKT陽性CD8陽性T細胞におけるPD-1比と腫瘍体積の間に正の相関がある傾向が認められた。

T細胞受容体(TCR)への刺激により活性化されるPI3K/AKT/mTOR経路は、糖代謝や脂質代謝を含む代謝反応全般の活性化を誘導するT細胞活性化に不可欠な経路である[6]。実際に、代表的な免疫チェックポイント分子であるPD-1は、リガンド刺激を受けると脱リン酸化酵素であるSHP-2を活性化することでPI3K/AKT/mTOR経路を抑制し、活性化T細胞の代謝を糖代謝から脂質代謝へとシフトさせると報告されている[7]。しかしながら、本研究では、固相化抗

CD3 抗体による刺激により、CD4 陽性 T 細胞、CD8 陽性 T 細胞ともに pAKT の発現は有意に増加したものの、CD4 陽性 T 細胞、CD8 陽性 T 細胞ともに pAKT 比と ICI の抗腫瘍効果との間に有意な相関は認められなかった。近年、腫瘍微小環境中のエフェクター T 細胞が疲弊化して不可逆的な機能不全に陥る過程にミトコンドリア機能の損傷が関与することが示唆されており、ミトコンドリア合成のマスター分子であるペルオキシソーム増殖因子活性化レセプター γ 共役因子 1 α (PGC-1 α) の発現が pAKT による持続的な刺激により低下することがミトコンドリア機能障害の鍵となることが示唆されている[8]。これらの先行研究を勘案すると、疲弊状態へと進んだ T 細胞においても TCR 刺激により PI3K/AKT/mTOR 経路が活性化する能力は残存している可能性が推測され、これが本研究において pAKT 比が ICI の抗腫瘍効果と相関しなかった原因となったと考えられた。したがって、ICI の治療効果を左右する CD8 陽性 T 細胞の代謝変容は PI3K/AKT/mTOR 経路自体の制御によってもたらされるのではなく、より下流で糖代謝あるいは脂質代謝に限定されたシグナルカスケードが関与している可能性があるものと推測された。

本研究では、pAKT を発現する CD8 陽性 T 細胞における PD-1 比と ICI の抗腫瘍効果が正の相関を示す傾向が認められた。In vivo では特異的抗原の静脈内投与により 2~4 時間で CD8 陽性 T 細胞の PD-1 が発現し始め、24 時間後まで増加し続けると報告されており[9]、本研究で認められた PD-1 発現も TCR 刺激により発現が増加しピークへと向かう過程を評価しているものと考えられる。また、PD-1 の発現強度は T 細胞の疲弊状態を反映しており、終末疲弊細胞はエフェクター細胞よりも高い PD-1 発現を示すと報告されている[10]。したがって、TCR の活性化刺激による PD-1 発現増加速度が早い CD8 陽性 T 細胞はより早期に疲弊状態に達する可能性があることと推測されることから、本研究の結果は CD8 陽性 T 細胞が疲弊状態へと至る速度が ICI の抗腫瘍効果を左右する鍵である可能性を示すものであると考えられた。また、本研究では、pAKT 陽性 CD8 陽性 T 細胞の PD-1 比では ICI の抗腫瘍効果との間に正の相関が推測

された一方で、pAKT 陽性 CD4 陽性 T 細胞の PD-1 比では相関が認められなかったことから、ICI の抗腫瘍効果の個体差においては CD4 陽性 T 細胞の関与は少なく、CD8 陽性 T 細胞が疲弊しているかどうか重要であると考えられた。

今後は、本研究で得られた成果を踏まえ、PI3K/AKT/mTOR 経路の下流に位置して糖代謝抑制あるいは脂質代謝活性化に関わるシグナル伝達因子の中から ICI の抗腫瘍効果を左右する因子を探索し、CD8 陽性 T 細胞の疲弊速度との関連を検証した上で、その因子が独自の担癌皮膚 irAE モデルマウスにおいて ICI の抗腫瘍効果と irAE 発症が相関する現象の鍵となる因子であるかどうかを検討する予定である。

5. 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。

6. 参考文献

1. Okazaki T., Chikuma S., Iwai Y., Fagarasan S., Honjo T. A rheostat for immune responses: the unique properties of PD-1 and their advantages for clinical application. *Bat. Immunol.* 14(12): 1212-1218, 2013.
2. Sanmamed M. F., Chen L. A paradigm shift in cancer immunotherapy: from enhancement to normalization. *Cell.* 175(2): 313-326, 2018.
3. Weber J. S., D' Angelo S. P., Minor D., Hodi F. S., Gutzmer R., Neyns B., Hoeller C., Khushalani N., Miller W. H. Jr., Lao C. D., Linette G. P., Thomas L., Lorigan P., Grossmann K. F., Hassel J. C., Maio M., Sznol M., Ascierto P. A., Mohr P., Chmielowski B., Bryce A., Svane I. M., Grob J.-J., Krackhardt A., Horak C., Lambert A., Yang A. S., Larkin J. Nivolumab versus

- chemotherapy in patients with advanced melanoma who progressed after anti-CTLA-4 treatment (CheckMate 037): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 16(4): 375-384, 2015.
4. Osta B. El., Hu F., Sadek R., Chintalapally R., Tang S-C. Not all immune-checkpoint inhibitors are created equal: Meta-analysis and systematic review of immune-related adverse events in cancer trials. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 119: 1-12, 2017.
 5. Das S., Johnson D. B. Immune-related adverse events and anti-tumor efficacy of immune checkpoint inhibitors. *J. Immunother. Cancer.* 7(1): 306, 2019.
 6. Chapman N. M., Boothby M. R., Chi H. Metabolic coordination of T cell quiescence and activation. *Nat. Rev. Immunol.* 20(1): 55-70, 2020.
 7. Patsoukis N., Bardhan K., Chatterjee P., Sari D., Liu B., Bell L. N., Karoly E. D., Freeman G. J., Petkova V., Seth P., Li L., Boussiotis V. A. PD-1 alters T-cell metabolic reprogramming by inhibiting glycolysis and promoting lipolysis and fatty acid oxidation. *Nat. Commun.* 6: 6692, 2015.
 8. Sharping N. E., Menk A. V., Moreci R. S., Whetstone R. D., Dadey R. E., Watkins S. C., Ferris R. L., Delgoffe G. M. The tumor microenvironment represses T cell mitochondrial biogenesis to drive intratumoral T cell metabolic insufficiency and dysfunction. *Immunity.* 45(2): 374-378, 2016.
 9. Ahn E., Araki K., Hashimoto M., Li W., Riley J. L., Cheung J., Sharpe A. H., Freeman G. J., Irving B. A., Ahmed R. Role of PD-1 during effector CD8 T cell differentiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 115(18): 4749-4754, 2018.
 10. Nagasaki J., Ishino T., Togashi Y. Mechanisms of resistance to immune checkpoint inhibitors. *Cancer Sci.* 113(10): 3303-3312, 2022.

避難行動促進を阻害する認知バイアスは模擬避難所訓練で修正されるのか？

—脳波を用いた生理心理学的検討—

¹⁾吉備国際大学心理学部・²⁾広島文化学園大学看護学部

橋本翠¹⁾・森井康幸¹⁾・村上勝典¹⁾・金澤寛²⁾

(概要)

本研究は、昨今の想定を上回る大規模な自然災害に対する防災及び減災に焦点を当て、避難行動促進を阻害するとされている認知バイアスに関して生理心理学的な実験手法を用いて探索的に検証することを目的としている。具体的には、模擬避難所訓練を通して、認知バイアスが修正されるのか否かについて脳波を測定分析することによって認知的メカニズムの観点から検証することを最終目標としているが、模擬避難所訓練の実施に時間および労力がかかり、予定していた日程での進行が難しく、継続2年目の実施となった。本稿では、脳波測定に先立ち、模擬避難所訓練の実施が認知バイアスに与える影響について行動実験を行った結果を報告する。

認知バイアス(cognitive bias)とは、知覚・記憶・思考といった認知の諸側面で生じる一定方向に歪んだ情報処理過程であり、特に災害に関するバイアスとしてよく知られているものに正常性バイアス(normalcy bias)がある。正常性バイアスとは、危険や脅威が迫っていることを示す情報に対して、ある範囲内であれば、その異常性を無視や過小視し、異常を日常的な正常文脈の範囲内として処理しようとする認知傾向のことである。この正常性バイアスは、迫りくる災害リスクの正しい評価を妨げ、時に避難行動の促進を妨害するとされている(菊池, *J.of the Jpn.Landslide Soc.*,**55**,14-20,2018)。なぜヒトは危険だと分かっているにもかかわらず逃げないのか？その時の脳内の認知活動はどのようなになっているのか？さらに、どのようにすれば認知レベルと行動レベルが結びつき(行動のパッケージ化), 早急な避難行動へと繋がるのかを解明することはとても重要であると考える。

本研究では、我々にある認知バイアスが、実際に体験する模擬避難所訓練を通して修正されるのか否かについて行動実験を用いて検討した。

方法

模擬避難訓練 2025年3月7日(土)-2023年3月8日(日)の1泊2日で学内の大教室を模擬避難所として使用した。想定した災害は、自宅で過

すことができなくなるような大災害に見舞われたという設定であった。

参加者 大学生12名(年齢:平均±SD=19.7±0.47,うち女性7名),ファシリテーター7名,教員2名が参加した。

タイムスケジュール

○日時:令和7年3月7日(金)13:00 ~ 令和7年3月8日(土)11:00

○当日スケジュール

-2025年3月7日-

13:00~ 集合(14号館1階)・行動実験(*前日までに個別に集合時間を指定させていただきます)

16:00 タイムライン(1回目)

17:00 諸注意等(防災意識・防災リテラシーの測定)・防災講義

18:00 ごはん準備

19:00 防災リュックの確認・グループワーク

20:00 休憩&ごはん

20:30 寝床作り・防災すごろく

22:00 消灯(予定)

-2025年3月8日-

7:00 起床・ごはん準備

8:00 ごはん

8:30 タイムライン(2回目)

9:30 振り返り

10:00 防災意識・防災リテラシーの測定

11:00 終了・解散(予定)

防災意識尺度 防災科学技術研究所災害過程研究部門が作成した6件法20項目の尺度を用いた。

防災基礎力尺度(Matsukawa, et al., *International Journal of Disaster Risk Reduction*, 107,104405,2024)

「知識」「そなえ」「行動」の3因子24項目から構成されている。これらの項目に対して4件法で回答を求めた。

認知バイアス行動実験 既存のVR動画(内閣府TEAM 防災ジャパン)からいくつかの場面を静止画像として保存し、刺激を作成した。大学生12名を対象に模擬避難所訓練の前後で認知バイアスが修正されるのかについて行動実験を行った(図1)。課題としてGo/No-go課題を用いるのは、避難表示分類の識別に抑制機能(本当は避難しなければならないのに避難しない選択をする)を含めた処理を反映させるためであった。

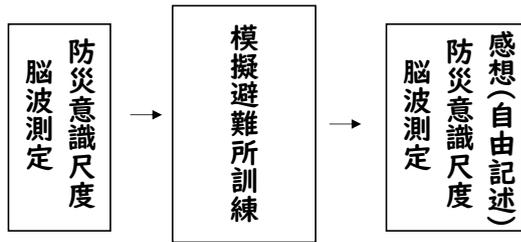


図1.研究の全体計画

刺激呈示および課題 刺激呈示は300-500ms, 刺激呈示間隔(SOA)は, 1.0-1.5s でランダムに変化させた。3種類の刺激画像(官公庁の避難指示分類表示と災害場面画像)を用いてGo/No-go課題を行った(図2)。予め指定した避難レベル(Go試行)が呈示されたら, 出来るだけ早くボタン押しで反応し, 他の避難レベル(No-go試行)が呈示されたらボタンを押さないように教示した。

手続き 刺激画像は標的刺激を20試行, 非標的刺激を80試行とし, 1条件につき合計100試行を実施し, 3条件で計300試行実施した。

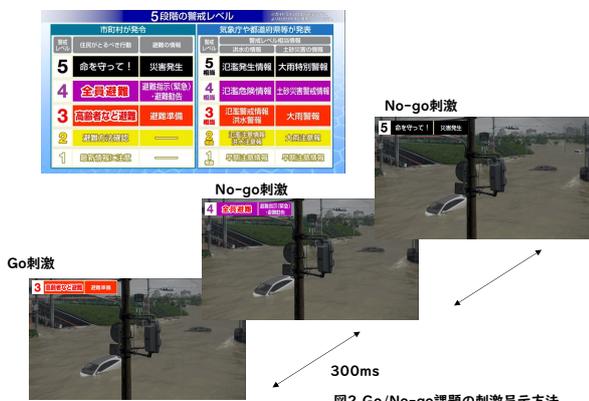


図2.Go/No-go課題の刺激呈示方法

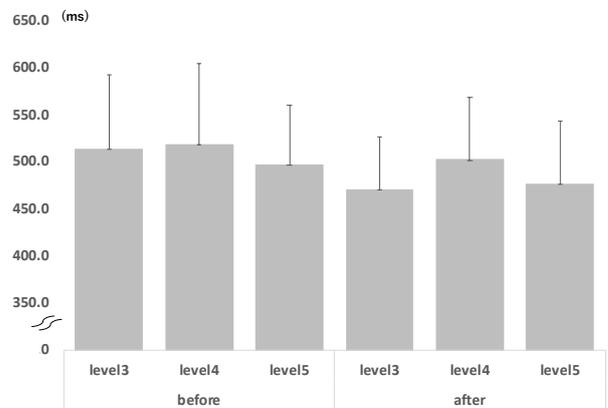
結果と考察

防災意識尺度 被災状況の想像力, 災害の危機

感, 不安および総合点で要因の効果が有意であった(被災状況の想像力: $F(2,18)=8.66, p<.01, \eta^2=.49$; 災害の危機感: $F(2,18)=4.73, p<.05, \eta^2=.34$; 不安: $F(2,18)=3.99, p<.05, \eta^2=.31$; 総合点: $F(2,18)=10.62, p<.01, \eta^2=.54$)。多重比較(Bonferroni法)をおこなったところ, 被災状況の想像力, 総合点はpreよりもpost, follow-upの得点が高く, 災害の危機感はpreよりもpostの得点が高かった。一方, 不安は有意差が見られなかった。

認知バイアス尺度 すべての下位尺度および総合点で要因の効果が有意であった(知識: $F(2,18)=13.24, p<.01, \eta^2=.60$; そなえ: $F(2,18)=9.03, p<.01, \eta^2=.50$; 行動: $F(2,18)=5.55, p<.05, \eta^2=.38$; 総合点: $F(2,18)=12.25, p<.01, \eta^2=.58$)。多重比較(Bonferroni法)をおこなったところ, 知識, そなえ, 総合点はpreよりもpost, follow-upの得点が高く, 行動はpreよりもpostの得点が高かった。

Go/No-go課題 反応時間について, 訓練前後2(pre/post)×警戒レベル3(Level 3/Level 4/Level 5)の2要因分散分析をおこなったが, 統計的に有意な主効果および交互作用は認められなかった。しかし, 訓練前から訓練後の反応時間の縮小はLevel 3で43.4ms, Level 4で17ms, Level 5で20.4msであったため, Level 3での変化が顕著であることが明らかとなった。本研究の参加者が12名であったこともあり, 統計的有意差は示されなかったが, 訓練実施により「Level 3で避難すべきである」と認知バイアスが修正された結果である可能性が示唆された。



引用文献

内閣 TEAM 防災ジャパン: <https://bosaijapan.jp/library/>

成体で全能性幹細胞を健全に維持する機構の解明

津山工業高等専門学校 総合理工学科 先進科学系

柴田典人

分化全能性（多能性）とは、すべての体細胞と生殖細胞に分化することが可能な細胞の能力を指す。遺伝子組み換え哺乳類の作出だけでなく、近年、オルガノイドの作出や再生医療などに利用される ES 細胞や iPS 細胞は個体を形成する生殖細胞を含むすべての細胞に分化する分化多能性を持つ。これらの細胞は人為的に作出された細胞であり、哺乳類の成体には同様の能力を持つ細胞を正常に維持するための機構の存在は報告されていない。一方で、無性生殖を行う無脊椎動物では、成体内で分化全能性の幹細胞が常在し、個体の恒常性と無性生殖時に必要とされる細胞種をすべて供給することが知られている。これらの無脊椎動物が、どのようなメカニズムを利用して全能性幹細胞を成体の *in vivo* で正常に維持・制御しているのか、については明確な知見は無い。我々はプラナリアをモデル生物として、その全能性幹細胞である新生細胞がどのように維持・制御されているのかについて研究している。本研究課題では、マウスなどのエピジェネティック因子として機能することが知られている MTA 遺伝子に着目し、さらにゲノム基盤の整備を視野に研究を行った。

1. はじめに

哺乳類の ES 細胞や iPS 細胞といった、多細胞生物を構成するすべての体細胞と生殖細胞に分化することができる分化全能性、または分化多能性幹細胞は、次世代を産生する能力を有するため、遺伝子改変個体の作成などに使用されてきた。近年の *in vitro* における細胞操作技術の向上によって、organoid（ミニ臓器）の作出が可能になり、医学的、工学的に全能性・多能性幹細胞の存在意義は高まっている。哺乳類では ES 細胞の起源となる *in vivo* の多能性幹細胞は、発生の初期過程に一過的に現れる内部細胞塊（inner cell mass）だけであり、発生過程が進むにつれ、その分化能力は限定的となり、成体では特定の細胞種だけを産生する組織幹細胞のみ存在するようになる。

広く動物界を眺めてみると、成体の一部から新たな個体を産生する無性生殖を行う種が多く存在している。これらの種は高い再生能力を使って無性生殖（個体再生）を行うが、この再生能力を支える成体全能性幹細胞を持つ種が多く報告されている。扁形動物門・三岐腸目に属する淡水性のプラナリアは、ネオブラストと呼ばれる成体で維持される分化全能性幹細胞を持つことで、個体再生を行うこと（図 1）

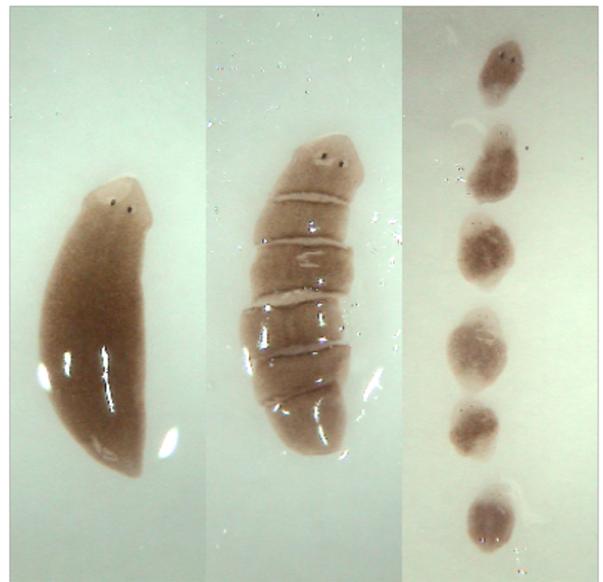


図 1 プラナリアの再生。

左から切断前、切断直後、再生 1 週間のナミウズムシ。

が証明されている。例えば日本産プラナリアであるナミウズムシ（*Dugesia japonica*）は、単一の分子マーカーで識別されるネオブラスト集団を放射線によって特異的に除去すると再生能力を失う（図 2）。同様の現象は、ネオブラスト集団の細胞分裂や細胞分化を阻害することでも再現される。



図2 プラナリアの再生。

左は通常個体で、ネオブラスト（茶色）がみられる。右の X 線照射個体では、ネオブラストが特異的に消失し、これらの個体は再生できない。

国内で研究に用いられているナミウズムシの GI 系統は、岐阜県で採集された 1 匹を、自切と呼ばれる無性生殖でのみ増殖させているクローン集団である。GI 系統は 1990 年に渡辺憲二博士によって確立されて以来、実に 35 年にわたり、高い再生能力を発揮し続けており、この再生能力を維持するために強固な全能性幹細胞の維持システムを有していることが示唆される。これまで、ネオブラストの分化や増殖に関する研究は多く報告されているが、長期間にわたるネオブラストの維持機構を説明できる分子メカニズムは明らかではない。我々は、マウスで上皮-間葉転換を介してガンの転移に関与する、エピジェネティック調節因子の MTA のプラナリア相同遺伝子がネオブラストの維持機構に関与している可能性を示した。そこで本研究ではプラナリア MTA 遺伝子がどのようにネオブラストの維持に関与しているか、について分子レベルで明らかにすることを目標とした。さらに、プラナリアの 1 細胞レベルでの分子生物学的研究を促進するために、ゲノム情報の基盤整備を進める研究も行った。

2. 結果と考察

先行研究では MTA-A、MTA-B の 2 つのプラナリア相同遺伝子の機能阻害において、再生不全が観察された。正常個体では全身の間充織に広く分布して

いるネオブラストが、MTA-A、MTA-B のどちらの機能阻害個体でも背側で枝状に連なり限局して観察された。局在の変化したネオブラストの分裂能に異常は認められなかったため、再生不全はネオブラストの細胞分化が抑制されたことが示唆された。さらにこれらの個体では、無脊椎動物のギャップ結合を支えるイネキシン遺伝子である *inx-B* の発現が上昇していたことから、ギャップ結合が増強され、ネオブラスト同士の細胞接着が増加すると未分化性が強制されるのではないかと考えられた。つまり、ネオブラストを未分化な状態で維持するためには、イネキシンを介したネオブラスト同士の細胞接着が重要な役割を果たしている可能性を示唆することができた。

この仮説を明らかにするために、MTA-A/*inx-B*、または MTA-B/*inx-B* の二重の機能阻害をおこない、それぞれの単独の機能阻害と比較した。先述した通り、MTA-A、B の単独の機能阻害はそれぞれネオブラストの局在の変化と、再生不全を示したが、*inx-B* 単独の機能阻害はネオブラストの局在や再生能に変化は認められなかった。これらに対し、MTA-A/*inx-B* の二重機能阻害個体では MTA-A で見られた再生不全とネオブラストの局在変化がレスキューされ、正常個体と同様に戻った。一方で MTA-B/*inx-B* の機能阻害個体では MTA-B 単独機能阻害と同様の再生不全とネオブラストの局在変化が観察された。これらの結果から、正常個体では MTA-A は *inx-B* の発現を抑制することで、ネオブラスト同士の細胞接着から離脱し未分化状態から脱することで分化細胞の供給に働いていることが示唆された。さらに MTA-B は別の細胞接着因子の制御も行うことでネオブラストの未分化状態からの状態変化を調節しているらしいことも示唆することができた。これらの結果は MTA-A、B の発現量の変化に応じた細胞接着の変化がネオブラストの維持・分化の調節に関係することを暗示しているが、ネオブラスト集団内における MTA や *inx-B*、他の細胞接着因子の発現量の違いや、これらの変化に付随する遺伝子発現の変化の相関などは一才明らかではない。この問題にアドレスする方法は 1 細胞での網羅的で正確な RNA 発現

解析が必要となる。

理化学研究所の林博士らが開発された RamDA-seq 法は 1 細胞 RNA 発現解析法の一つであるが、非ポリ (A) 型の RNA を含む網羅的な全長 RNA の検出が可能な手法であり、既存のポリ (A) 型 RNA を検出する方法よりも優れた手法であることが報告されている。さらに、林博士らは改良型 RamDA-seq を開発された (未発表)。この方法でプラナリアの細胞を解析された結果、MTA-A と B は確かにネオブラストクラスターで強く発現していることがわかった。一方で分化細胞でも発現が認められ、やはり 1 細胞レベルでの発現量と他の RNA 発現との相関解析が必要であることがわかった。

阿形清和博士らのエフォートによりナミウズムシのゲノムの全容が明らかとなった。無性生殖によって維持されてきたクローン系統のナミウズムシのゲノムは、我々の予想に反して、非常に多くの多様性を示した。これは 30 年以上にわたり、ネオブラストの増殖・分化によって支えられた無性生殖を繰り返すことにより、個々のネオブラストにおける変異が蓄積し集団内で多様化した結果を反映していると考えられる。つまり、1 個体内のネオブラスト集団内の個々のゲノム変異に起因して、1 個体内でゲノムの多様性が獲得されてしまっているのである。この蓄積した多くの変異がゲノム情報をベースとした改良型 RamDA-seq 法による RNA 発現動体の検出に影響を及ぼしていることが明らかとなった。MTA-A、B の発現量の変化量や、これに連動して変化する細胞接着因子などの発現量を詳細に検出するにはゲノムの多様性によるマッピングの阻害等を極力抑える必要がある。そこで、MTA の解析を詳細に行うためのゲノム情報の整備を試みた。

1 個体内のゲノム多様性をリセットするためには、有性生殖が有効である。無性生殖は親個体の一部から新たな個体を産生するため、どれほど小さな断片からでも、個体内の変異の多様性の幾らかは新しい個体に受け継がれてしまう。一方で有性生殖では父方と母方のゲノムセットの 2 セットだけの変異パターンを持つ受精卵からスタートするため、個体内の多様性は 2 種類に近いものになることが期待される。

我々の用いているナミウズムシのクローン系統は、普段は精巣や卵巣、交接器官といった有性生殖のための器官を持たない無性状態で維持されており、無性生殖のみで増殖する。この無性個体に有性化因子を含んだ餌を与え、さらに低温で飼育することで、精巣、卵巣と交接器官を持ち、有性生殖を行える有性個体を誘導することが可能である。そこで、ナミウズムシの無性クローン系統を用いて、津山工業高等専門学校の前澤孝信博士との共同研究で、有性個体の作出と、有性生殖による F1 個体由来の新たなクローン系統の樹立を試みた。

有性化因子を含んだ餌を投餌しながら低温飼育を行うことで、ほぼ 100% の無性個体が有性化した。さらに、交接、排卵を促す処理を行うことで、多くの受精卵を採取することができた。これらの卵から孵化した個体を、無性条件で飼育することで、複数の新たなクローン系統を樹立した。現在、兵庫県立大学、鳥取大学、理化学研究所、基礎生物学研究所との共同研究でこのクローン系統のゲノムの解析を行っている。

3. 今後の展望

現在解析中のゲノム情報を用いることで、改良型の RamDA-seq を行うことで、より正確で精密な 1 細胞 RNA 発現解析が可能となることが期待される。これにより、MTA-A、B の発現の増減と細胞接着分子の増減の相関が明らかになることが期待される。それと同様に発現量が増減する遺伝子をリスト化し、機能阻害等を行うことによって、ネオブラストの維持に関係する分子メカニズムを明らかにしていきたい。さらに、RamDA-seq の特徴である非ポリ (A) 型の RNA の検出も可能であることから、全能性に寄与する機能性 RNA の解析も行なっていきたい。

4. 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から感謝申し上げます。

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)

巨大な分解酵素複合体であるプロテアソームの分子集合には、複数の専用シャペロンが必要となる。本研究では、シロイヌナズナにおいて新規に報告されたプロテアソーム専用シャペロン PBAC5 (Proteasome Biogenesis-Associated Chaperone 5) の構造と機能の解明を目的として、PBAC5 の安定な発現系構築を進めてきた。前年度までに、pET28-SUM01-PBAC1-PBAC5 と pCold1-SUM01-PBAC2 の 2 つの発現ベクターを用いて、PBAC2/PBAC1/PBAC5 三者複合体の共発現系を構築してきたが、結晶化に向けたその改良と機能解析系の構築を目指していた。

今年度は、pET28-SUM01-ベクターに三つの PBAC 遺伝子を組み込んだ pET28-SUM01-PBAC1-PBAC2-PBAC5 を作製し、タンパク質発現状況を確認した。この結果、前年度の pET28-SUM01-PBAC1-PBAC5 と pCold1-SUM01-PBAC2 を用いた共発現系と同様に PBAC2/PBAC1/PBAC5 三者複合体が得られた。さらに、PAE1 との相互作用解析を目指して、pCold1-PAE1 の発現ベクターを作製したが、単独の発現ベクターによる PBAC2/PBAC1/PBAC5 三者複合体のタンパク質発現量は少なく、PAE1 との相互作用が確認できる状態ではなかった。

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。本複合体における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、これは複数のプロテアソーム専用シャペロンの介助による⁽¹⁾。

プロテアソームは、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 $\alpha 1 \sim \alpha 7$ の 7 つの α サブユニットからなる α リングと、 $\beta 1 \sim \beta 7$ の 7 つの β サブユニットからなる β リングが $\alpha \beta \beta \alpha$ の順で並んだ中空樽状の複合体であり、その内部で巻き戻されたタンパク質の分解が行われる。酵母 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 (ヒトでは 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、それぞれの C 末端にある HbYX モチーフ (疎水性アミノ酸 - チロシン - 任意のアミノ酸) を、 $\alpha 5 - \alpha 6$ 、および $\alpha 6 - \alpha 7$ サブユニット間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。また、Pba1/2 は 20S プロテアソーム中空への gate の開閉にも関与することが示唆されている⁽³⁾。

近年のシロイヌナズナのゲノム解析により、Pba1/2 のホモログ (PBAC1/2) が報告され、またヒトや酵母には保存されていない、新規プロテアソーム専用シャペロン PBAC5 も発見された⁽⁴⁾。PBAC5 は PBAC1/2 複合体と結合し、HbYX モチーフも保存されていることから、 α リング上での位置決めと gate 開閉の制御に寄与すると考えられるが、ヒトや酵母と比較したときの PBAC5 の必要性は不明である。以上ことから本研究では、PBAC5 の構造と機能の解明を目的として、構造解析可能な安定な PBAC5 発現・精製系の構築を進めてきた。

前年度の研究⁽⁵⁾では、既存のプラスミドベクターから SUM01 タグの数を減らし、pET28-SUM01-PBAC1-PBAC5 と pCold1-SUM01-PBAC2 の二つのプラスミドを用いた共発現系により、PBAC2/PBAC1/PBAC5 の三者複合体が高純度で精製できることを確認した。また、PBAC2 が PBAC1/PBAC5 複合体の安定化に寄与するこ

とを報告した。一方で PBAC2/PBAC1/PBAC5 機能解析系については検討が進んでいなかった。

今年度は一つのプラスミドベクターに3つの PBAC シャペロンを載せた、pET28-SUMO1-PBAC1-PBAC2-PBAC5 を作製し、精製条件の検討を行うこととした。また、本発現系との共発現により、機能解析を可能とするため、 α サブユニットの一つ PAE1 (酵母 $\alpha 5$ に対応) の発現系構築を行い、共発現系を検討した。

2. 研究方法

前年度に引き続き、理研バイオリソースセンターから提供を受けたシロイヌナズナの PBAC1, PBAC2, PBAC5 に加え、PAE1 の cDNA を使用して発現系構築を行った。

まず、pET28-SUMO1-PBAC1-PBAC2-PBAC5 発現系構築を行い、前年度2つのベクターを用いて行った PBAC2/PBAC1/PBAC5 発現系と同様に 23°C で Ni アフィニティ精製を行った。培養温度の検討を行い、発現量を確認した。次に pCold1-PAE1 の発現系構築を行い、発現量を確認をした。最後に、上記二つの発現系を用いて、PBAC2/PBAC1/PBAC5 機能解析系の構築を試みた。

3. 結果

pET28-SUMO1-PBAC1 プラスミドに、T7 プロモーター領域、lac オペレーター領域、リボソーム結合領域を含む形で PBAC2, PBAC5 をそれぞれ挿入し、pET28-SUMO1-PBAC1-PBAC2-PBAC5 を作製した。本ベクターを用いて BL21 コンピテントセルの形質転換を行い、大腸菌培養を行った。昨年度の pET28-SUMO1-PBAC1-PBAC5 と pCold1-SUMO1-PBAC2 による共発現系を参考に、23°C で IPTG による発現誘導を行った。発現タンパク質を Ni-アフィニティクロマトグラフィにより精製し、可溶性画分への発現量を評価した (Fig. 1)。

沈殿物 (P) に多少 PBAC5 が見られたが、溶出画分 (Elution) に SUMO1-PBAC1, PBAC2 及び PBAC5 が確認できた。His \times 6 タグは SUMO1 にだけ融合してあるため、SUMO1-PBAC1/PBAC2/PBAC5 複合体を形成して

いると考えられる。タンパク質発現誘導時の温度を、16°C、37°C でも検討したが、発現量が増加しなかった。PBAC1/PBAC5 複合体を足場として、PBAC2 が集合する等、発現の順番が重要であるのかもしれない。

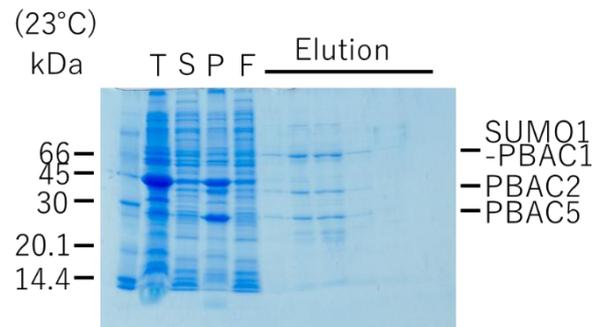


Fig. 1 pET28-SUMO1-PBAC1-PBAC2-PBAC5 発現系の Ni-NTA アフィニティクロマトグラフィ
それぞれの画分は以下のとおりである。T: Total, S: Supernatant, P: Precipitant, F: Flow through

PBAC1, PBAC2 及び PBAC5 の会合状態を確認するために、Ni アフィニティクロマトグラフィ溶出画分を SUMO タグ切断酵素である Ulp1 によって処理し、ゲルろ過クロマトグラフィを行った (Fig. 2)。溶出量 13.4 mL のピークに PBAC2, PBAC1, PBAC5 のバンドが確認され、三者複合体を形成していることを確認した。この溶出位置は前年度の pET28-SUMO1-PBAC1-PBAC5 と pCold1-SUMO1-PBAC2 による共発現系の時と同じである。

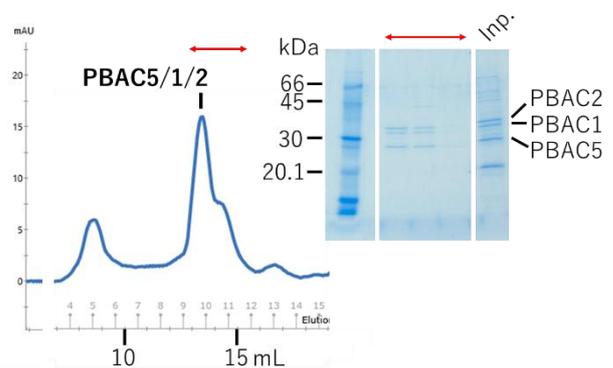


Fig. 2 PBAC2-PBAC1-PBAC5 のゲルろ過クロマトグラフィ Superdex 200 Increase (Cytiva) による PBAC2-PBAC1-PBAC5 複合体の分画の結果、13.4 mL 程度のピークに 30 kDa 程度のバンドが 3 本確認された。

PBAC2/PBAC1/PBAC5 複合体の機能解析のため、本複合体が相互作用すると考えられる PAE1 の発現系 (pCold1-PAE1) を作製した。この発現系では PAE1

の N 末端に His×6 タグが融合しており、U1pl では切断されないため、PBAC2/PBAC1/PBAC5 複合体と PAE1 とのプルダウン試験が可能となる。pCold1-PAE1 ベクターを用いて BL21 コンピテントセルの形質転換を行い、大腸菌培養を行った。発現タンパク質を Ni-アフィニティクロマトグラフィにより精製し、可溶性画分への発現量を評価した (Fig. 3)。

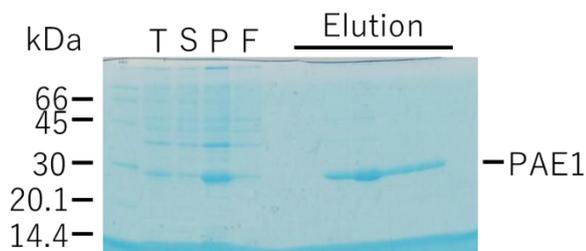


Fig. 3 pCold1-PAE1 発現系の Ni アフィニティクロマトグラフィ
それぞれの画分は以下のとおりである。T: Total, S: Supernatant, P: Precipitant, F: Flow through

さらに、2 つの発現ベクター pET28-SUM01-PBAC1-PBAC2-PBAC5 と pCold1-PAE1 を用いて大腸菌 BL21 の形質転換を行い、大腸菌培養を行った。また、Ni-アフィニティクロマトグラフィにより発現量を評価した (Fig. 4)。



Fig. 4 PAE1 と PBAC2/PBAC1/PBAC5 の共発現系
それぞれの画分は以下のとおりである。T: Total, S: Supernatant, P: Precipitant, F: Flow through

pCold1-PAE1 による PAE1 の発現は十分であったが、PBAC2/PBAC1/PBAC5 との共発現系となると、PAE1 の発現量が多いのに比べ PBAC2/PBAC1/PBAC5 の発現量が少なく、相互作用解析が困難であることが分かった。

4. 考察と今後の展望

研究当初から PBAC 分子それぞれの安定化が三者

複合体形成の鍵となると考え、すべての PBAC 分子に可溶化タグを融合した発現系を試してきたが、昨年度、可溶化タグを一部除去しても安定な三者複合体が得られることを確認した。今年度はさらに可溶化タグを減らし、遺伝子を一つのベクターにまとめたが、前年度と同様に三者複合体が得られたものの、発現量の低下がみられた。一つのベクターに遺伝子をまとめたことにより、翻訳が不十分であったり、発現の順序が安定な複合体形成に影響していたりする可能性がある。

PAE1 は単独でも安定に発現することが今回明らかになったため、PAE1 単独で精製を行い、別に精製した PBAC2/PBAC1/PBAC5 複合体と混合し、ゲルろ過クロマトグラフィなどを用いて、複合体形成を確認をしたい。また、安定な複合体を得て結晶構造解析に進みたいと考えている。

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 ウェ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).
- (5) 高木賢治 (2024) 令和 5 年度研究費助成研究成果報告書集 <https://www.wesco.co.jp/zaidan/status/file/reportR05.pdf>

合金組成の最適化による濃度勾配を利用した結晶成長方位の制御と機械的性質への影響

Effect for Mechanical properties by dimension controlled crystal growth by concentration gradient
and optimized alloy composition

津山高専

National Institute of Technology, Tsuyama college.

関 一郎

Ichiro Seki

(概要)：高比強度を有した材料として最近では炭素繊維強化プラスチックが特に注目されている。これは炭素繊維を任意の方向に積層させた構造を有しており、特定の方向に対して非常に優れた機械強度を実現している。一方で複合材料であるが故に再利用することが困難であり、環境配慮の観点からは優れた材料であるとは言いがたい。このことに対し、金属材料は溶解凝固させることで組織を再生させることが可能であり、再利用が容易な材料であることが知られている。また、金属材料の一般的な強化方法のひとつに金属間化合物を母相中に析出させる方法が知られており、この析出する結晶成長と温度および時間の間には密接な関係があることに加え、これを適切に制御することで結晶成長の方向性を制御できる可能性がある。そこで本研究では適切な合金組成の調査と熱処理方法の最適化を行うことで金属材料の機械的強度の向上を目指し、金属材料の析出相に指向性を持たせことで複合材料同等の極めて高い機械強度を有する金属材料開発が可能であると考え、そのための有効な基礎的知見の調査を行ったので報告する。

【緒言 Introduction】

最近の環境変化の顕在化により温室効果ガスとして知られる二酸化炭素の排出量の削減が求められており、特に航空機や自動車等の移動機械では燃費向上のために軽量化が積極的に進められている。この航空機や自動車では、従来より構造部材やエンジン等に軽量のアルミニウム合金を多用してきており、その軽量化によるエネルギー使用量の削減に大きな成果を上げているものの、同時に人々の生産活動の活発化もあって環境負荷は増大の一途を辿っており、尚も一層のエネルギー利用の効率化による環境配慮が求められている。

特に最近の航空機では炭素繊維を任意の方向に積層させることで機械材料として極めて優れた強度を実現した炭素繊維強化プラスチック (CFRP) の構造材としての利用が進んでいる。一方で CFRP は複合材料であるが故に再利用することが難しく、利用後は産業廃棄物となる欠点も有している。このことに対し、アルミニウム合金等の金属材料は溶解凝固させることで組織が再生されるため、再利用が容

易にできる優位性があるものの、複合材料の様に指向性を持たせて高強度化を図ることは容易ではない。一般に金属材料の高強度化は適切な結晶相を母材中に析出させることで実現することが多く、その結晶相の形態は結晶の結合様式にも大きく影響し、その結晶相が金属結合をした金属組織、もしくはイオン結合をした金属間化合物等によっても生成する結晶相の形態は大きく変化することが知られており、過冷度等の結晶成長の駆動力にも影響してデンドライト成長するものやファセット成長するもの等に大分することができる。一般に比較的低温で実施される時効処理等の熱処理において析出する結晶相は結晶成長速度が比較的ゆっくりであると見なすことができるため、ファセット成長すると見なすことができ、元の結晶核の形状に対して優先的に成長する面とそうでない面が存在する可能性があり、その場合には結晶は元の結晶核とは異なる形状に成長することができる。また、その結晶成長の際には熱の付与によって結晶成長が促進されると考えることができる一方、この熱の付与に指向性を加えることで特定の面のみ

が結晶成長し、任意の形態に結晶相を成長させることができる可能性がある。本研究では、このことを実験的に明らかにするため、析出する結晶相の析出挙動を調査した後、その結晶相の及ぼす機械的性質への影響を調査するため、熱流制御のための加熱端と冷却端を有した熱処理装置を製作し、適宜熱処理を行うことで任意の方向に結晶相を成長させた合金試料を作製するとともに機械材料としての有用性を実測によって明らかにするための機械試験も行った。

【実験方法 Experimental procedure】

本研究を開始するにあたり、結晶相の析出挙動を調査するため、まずは工業的に広く用いられている 6000 系のアルミニウム合金として Al-Mg-Si 合金を用いることとした。実験で用いたサンプルの主要成分はアルミニウムであり、0.38 mass%のケイ素、0.49 mass%のマグネシウムその他、不純物成分として 0.16 mass%の鉄、0.03 mass%のクロムを含む市販の角棒材を用いた。結晶相の析出挙動の調査には熱分析法を用い、ワイヤーカッターで $3 \times 3 \times 1$ mm の小片状に加工したサンプルを市販の熱分析装置(DSC-404C, NETZSCH-Geratebau GmbH, Germany)を用い、50mL/min のアルゴン・不活性ガス気流中で 0.05 ~ 0.67 K/s (3 ~ 20K/min) の定速昇温を行って熱的挙動の調査を行った。また、市販のアルミニウム合金は事前に時効処理が施されているため、823 K (550℃) で 3.6 ks (1 時間) の溶体化処理を行った後に実験に用いた。熱測定後の結晶化を行った試料はエックス線回折法による生成相の同定を行った。

他方、熱処理材の機械的性質の調査では前述の熱分析法により合金試料に生成する結晶相の析出挙動の解析結果を基に熱処理条件を定め、その条件を基に機械試験用のサンプルを作製するとともに結晶析出および熱流制御による結晶成長挙動と機械的性質への影響について評価するため、図 1 に示す加熱端と冷却端を有した熱流制御機能を有する熱処理装置を作製した。試験材は前述の角棒試料をワイヤーカッターで $12 \times 12 \times 50$ mm の角棒状に加工したものを加熱端と冷却端を残して断熱材で覆い、セラミックチューブ内に挿入した。セラミックチューブ

にはカンタル線を巻き付けて電気炉とし、その周囲には断熱のための断熱材を巻き付けた。炉体の構造上、温度が最も高くなる部分が炉体中央部であり、その部分がサンプルの加熱端になる様に炉心管の半分まで断熱材を詰めて位置決めを行った。一方の冷却端は大気解放する構造にした。また、加熱端の位置する炉体中心部に測温用に熱電対を設置して加熱

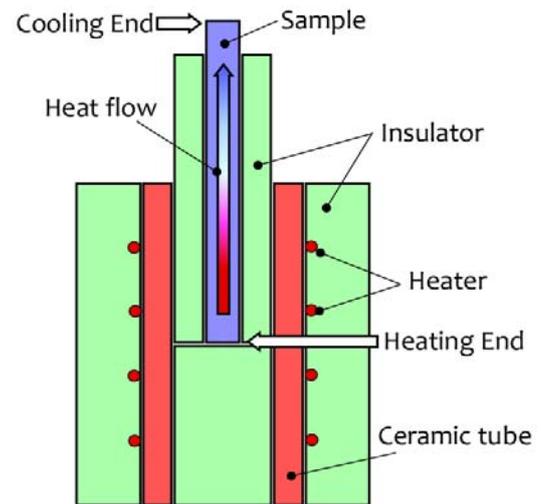


図 1 熱流制御を目的とした熱処理装置

端の温度計測と電気炉の温度制御用に用いた。試料の熱処理温度および処理時間は熱分析法による解析結果を基に決定した 473 K (200 °C) で 432 ks (5 日間) と 423 K (150 °C) で 604.8 ks (7 日間) とした。熱処理後のサンプルは炉体の冷却後に取り出し、断面観察用のサンプルと機械測定用のサンプルに分けるため、加熱端側より 8 mm 間隔でワイヤカッターを用いて切断するとともに、その切断面に直行する方向にも半分に切断した。そのサンプルの断面は析出した結晶相についてエックス線回折装置を用いた相同定を行うとともに機械試験としてそのサンプル切断面およびその切断面に直行した切断面、およびサンプル外周部についてショア硬さ試験法による硬さ測定を行うとともに熱流方向とその方向に直交する各々の方向に対して圧縮試験 (Autograph 100 kN, Shimadzu Co., Japan) を行った。圧縮試験の際の歪み速度は 0.017 mm/s (1mm/min) とし、5000 N まで測定を行った。

【結果 Results】

図2はサンプルを 0.33 K/s (20 K/min) の定速昇温速度で加熱した場合の熱分析曲線 (DSC カーブ) を示している。また、本測定では得られる熱分析曲線のベースラインが安定する様にベースライン測定を行うことで得られる熱分析曲線の最適化を図っているものの、得られる吸発熱ピークが非常に小さく、十分に最適化することが難しいため、各結晶相の析出挙動について実測した青線に対し、橙色 (オレンジ色) で示す推定したベースラインも示している。さらに推定したベースラインと実測の熱分析曲線の差異が複数の結晶相の生成から成る発熱ピークであると考えられる場合、以下式(4-1, 2)に示す一般的な反応速度式に則って結晶相の析出挙動が起こると考えると図3に示す様にピーク分離することができる。

$$dC / dt = k C^n \quad (4-1)$$

$$k = A \exp(-E / RT) \quad (4-2)$$

ここで C は各結晶相の生成比率, t は反応時間, k は

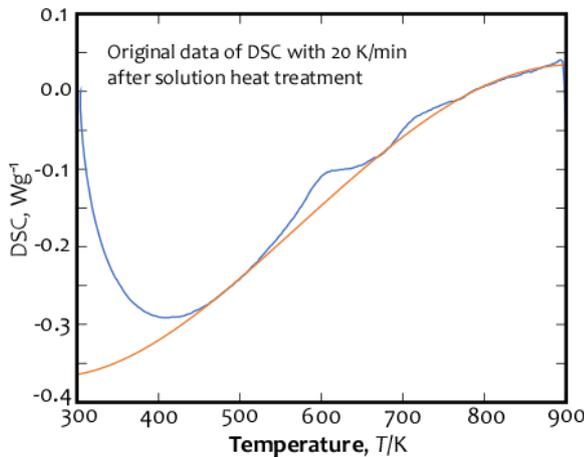


図2 熱分析法による結晶化挙動の観察結果

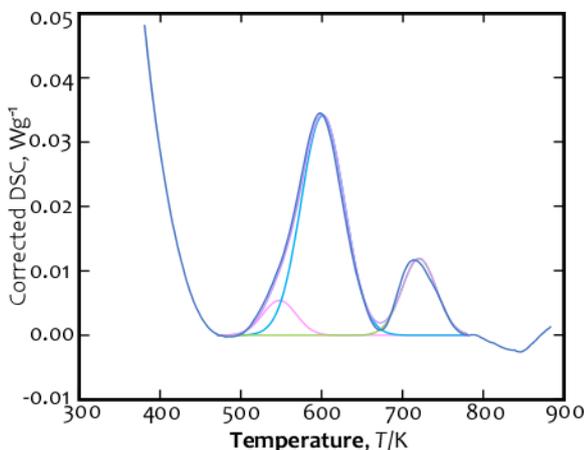


図3 ピーク分離により観察される各相の生成領域

反応速度定数, n は反応次数としている。また、反応速度定数が温度変化に対してアレニウス型であると見做すことができる場合, A の頻度因子, E の反応の活性化エネルギー, R の気体定数, T の反応温度を用いている。また、これらの値を決定するにあたり、式 (4-1) を微分形式に変換するとともに実験結果から対数グラフの傾きとして n の値を決定することができるため、その様にして求めた各結晶相の析出挙動にかかわる反応次数の他、同様にして各係数の値を求めることが可能であり、それらの値を表1に示す。また、微分形式により値を決定する場合にはその決定した値の精度が十分ではない場合があるため、得られた値の有効性を確認するため、ピーク形状のシミュレーションを行うことで求めた値の有効性を確認しており、そのシミュレーションにより最適化した値も表1に併記している。実測データから各々の値を決定する際には反応が活発に起こる地点で見積もる必要がある等のテクニックは必要であるものの、概ね実測とシミュレーションの値が一致していることが示されている。また、反応時数の値から結晶析出の際の律速段階は拡散過程にあることが分かる。

表1 各生成相の反応速度論的諸値

Heating Rate K/s	Peak	n	E J/molK	log[A]
0.33	Real 1st	1.97	158076	13.79
	Simulation	1.98	159945	13.30
	Real 2nd	1.63	159423	12.94
	Simulation	1.84	165000	12.30
	Real 3rd	1.62	284075	18.74
	Simulation	1.66	283291	18.54
0.05	Real 1st	1.67	177362	15.79
	Simulation	1.61	177000	14.78
	Real 2nd	1.16	292248	25.71
	Simulation	1.53	300000	24.95
	Real 3rd	1.57	902957	74.73
	Simulation	1.55	908000	-
	Real 4th	0.99	328950	23.16
	Simulation	2.10	340000	22.78

一方で表1に示す結晶相の析出挙動を調査した結果を基に決定した熱処理条件 (加熱端の温度が各々 423 K および 473 K) において熱流制御下で熱処理したサンプルについては機械試験も行っている。図5は 473 K で時効処理を行ったサンプルについてサンプル内部の熱流の印加方向に対して並行する方向と、それに直行する方向、さらに外周部についてショア硬さ測定を行った結果を示している。この結果より、外周部は加

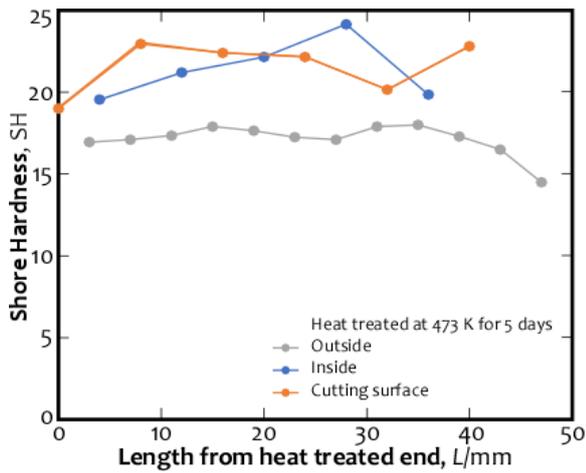


図5 測定部位違いによる硬さの違い

熱端から 30mm 位までは一定の硬さを示していることに対し、内部では外周部に加えて硬さの値が高くなることに加え、サンプル中心部とその測定面に直交する部分で硬さの値が高くなる部分が異なることを示しており、これは熱処理端の加熱温度による熱流の大小に起因して結晶相の生成挙動に影響が現れることを示している。このことは熱流の方向に対して硬さの値、つまり機械的性質に指向性が表れていると見做すこともできなくはないが、実験誤差等も考慮する必要もあるため、追実験や原理の解明とともに事象を解明していく必要がある。また、断面部分に析出する結晶相の同定も行っており、従来の同一材に析出する結晶相は $MgSi_x$ 系のものが知られている一方、本実験結果では $AlMg_x$ 系の結晶相であることを確認している。従来の研究では本実験条件に比較して時効時間が短く、過時効を行った本実験試料では従来の研究では有用と見做されなかった析出相が図5に示す様な機械的性質に影響を及ぼしている可能性がある。また、本実験試料でもエックス線回折法では検出限界以下の微細な $MgSi_x$ 系の析出物が生成している可能性があるが、その調査は今後の課題として調査を継続する。

また、本実験では生成した結晶相の指向性の違いによる影響について機械試験として圧縮試験を用いた機械的性質にかかわる調査も行っており、その結果を図6および図7に示す。図6はその一例ではあるが、加熱端の温度を 473 K とした場合の応力・ひずみ線図を示している。サンプルの A, C, E は熱流方向に対して並行する方向、B と C は熱流方向に対して直交する

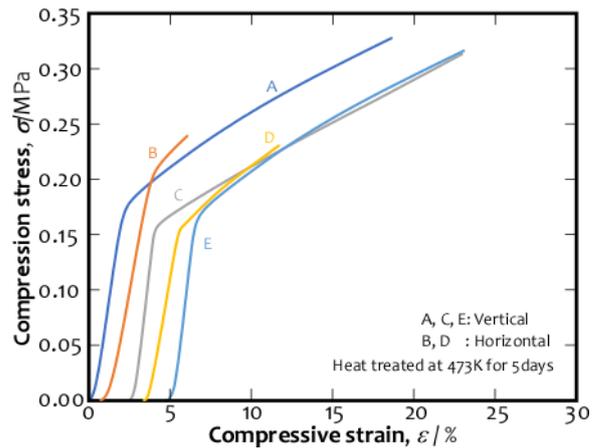


図6 圧縮試験による応力・ひずみ線図

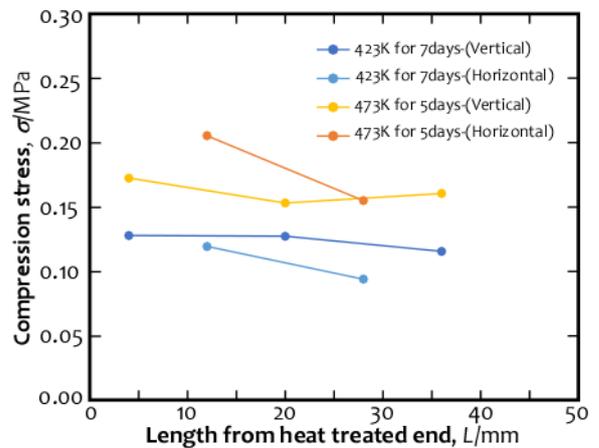


図7 熱処理条件の違いと降伏応力の関係

方向で圧縮試験を行った結果である。また、図7は圧縮試験結果から決定される降伏応力についてサンプル採取位置および方向による影響を示しており、サンプルは加熱端より A, B, C, D, E の順番で採取しているにもかかわらず B の位置で最も高い値を示しており、圧縮試験方向が異なることで析出した結晶相に何らかの指向性が発生し機械試験の結果に差異が生じたことが考えられる。また、冷却端に近い部分の C, D, E では熱処理温度が低いため時効処理が進まず、試験方向に対する差異が認められなかった。他方、加熱端の温度を 423 K とした場合には加熱端付近では降伏応力の値に指向性が見られなかったものの、冷却端に近い部分で指向性が現れており、473K で熱処理した場合とは別の析出相による強化に指向性の影響が現れていると見做すことができる。この事象については生成した結晶相の同定や反応速度論的な調査が未だ進行中であり、未解明の部分が多く残されている上、サンプルの個体

差や測定誤差による影響も考慮する必要があるが、従来法ではただ無作為な方向に結晶相の析出があったことで一様な析出強化が図られていたことに対し、本実験結果では研究計画当初に予想した様にアルミニウム合金の熱処理方法を工夫して熱流制御を行うことにより析出する結晶相の析出形態に何らかの指向性が発生し、そのことにより機械的性質にも指向性が現れること実験的に証明することができた。

今後はここで明らかにした興味深い事象についてさらに深く調査することによりアルミニウム合金中に析出する結晶相の種類と析出挙動にかかわる熱力学および反応速度論的な生成条件の明確化、さらにその析出相の形態と機械的性質の関連性、およびその機械的性質の向上に有効な析出相の形態制御と方位制御にかかわる調査を実学と理論構築の両輪で進めていくとともにこれらの特異な析出相による強化が効果的に発現される合金組成開発を進めることで本法の有効性をさらに具体的に検証するとともに実用化を目指す。

発表論文

[1] Shuto Takeuchi, Chiyu Nakano, Ichiro Seki, Yuta Nishina 投稿準備中

口頭発表、受賞等

[2] S.Takeuchi, C.Nakano, I.Seki, Y.Nishina: The 2nd Kosen Research International symposium, 2025.8.講演予定

[3] 竹内脩斗, 中野知佑, 関一郎, 仁科勇太: 公益社団法人・日本金属学会・2025年秋期(第177回)講演大会・講演予定

謝辞: 本研究は公益財団法人・ウエスコ学術振興財団・令和6年度学術研究活動費助成研究として実施、さらに本研究の一部は公益財団法人マツダ財団・第39回マツダ研究助成、東北大学金属材料研究所附属新素材共同研究開発センター共同利用研究(202312-CRKEQ-0006)の研究課題としても実施した。

モモせん孔細菌病抵抗性に関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

我々は、難防除病害であるモモせん孔細菌病について抵抗性に関する遺伝子マーカー探索を目的にモモ本葉を用いた簡易接種系を確立し、基礎情報収集を行っている。本研究では、圃場におけるモモ本葉の採取時期と病斑形成との相関について調査した。調査は、新芽が展開する5月から紅葉が始まる9月中旬までとして2022年と2023年に行った。その結果、極感受性系統および抵抗性系統それぞれの採取時期で病斑形成に差があることが分かった。極感受性系統では、8月下旬から病斑程度にばらつきが出始めて病斑程度が低くなる傾向が認められた。このことは、8月下旬から既に葉の老化がはじまって病斑形成に影響している可能性が考えられた。一方、抵抗性系統では、5月上旬から7月上旬までは病斑程度にばらつきが大きく、若い時期の本葉は、必ずしも病斑形成を抑制するとは限らないことが分かった。以上の結果より抵抗性系統のモモせん孔細菌病に対する抵抗性は、夏の発病抑制に有効であることが明らかとなった。

(はじめに)

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。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を持つ菌株の拡大が問題となっている。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、せん孔細菌病抵抗性を導入したモモ新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、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(Socquet-Juglard et al., 2013, Fleming et al., 2022)。しかしながら、これらの研究では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。一方、国内ではせん孔細菌病菌の接種法として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、反復実験が難しい。また枝接種後の接種部位における菌増殖モニタリングや周辺組織RNAの遺伝子発現解析を行うことが困難である。我々は、モモ本葉を用いた簡易接種法を確立し、モモせん孔細菌病抵抗性の程度を「抵抗性」および「やや抵抗性(以下、中間型)」、「感受性」、「極度な感受性(以下、極感受性)」の4つに判定・分類できることを明らかにした。この本

葉接種法を用いて現在、抵抗性遺伝子の単離・同定を試みている。本報告書では、本葉接種による病斑形成の時期変動性を明らかにすることを目的に「モモ本葉の採取時期と病斑形成との相関」について調査した。

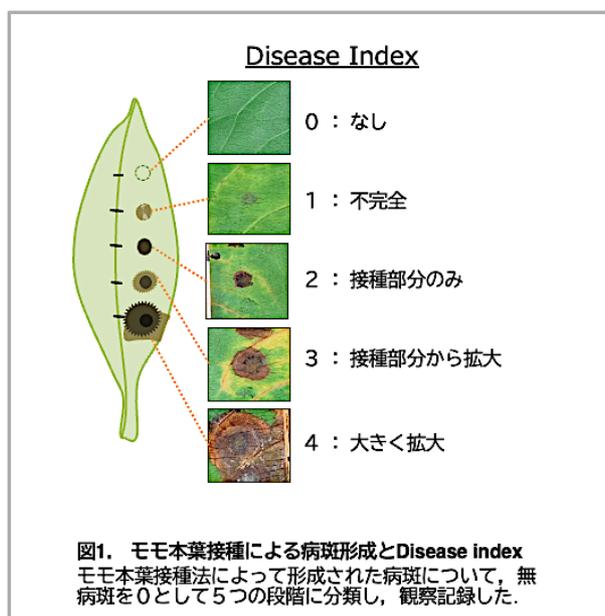
(材料および方法)

1) モモ系統およびモモせん孔細菌病菌

本実験で使用したモモは、岡山県農林水産総合センター農業研究所内の極感受性系統(SS)と抵抗性系統を用いた(R)。モモせん孔細菌病菌は、岡山県内で分離されたS2株にリファンピシリン耐性変異をもつS2R(野生株)を用いた。

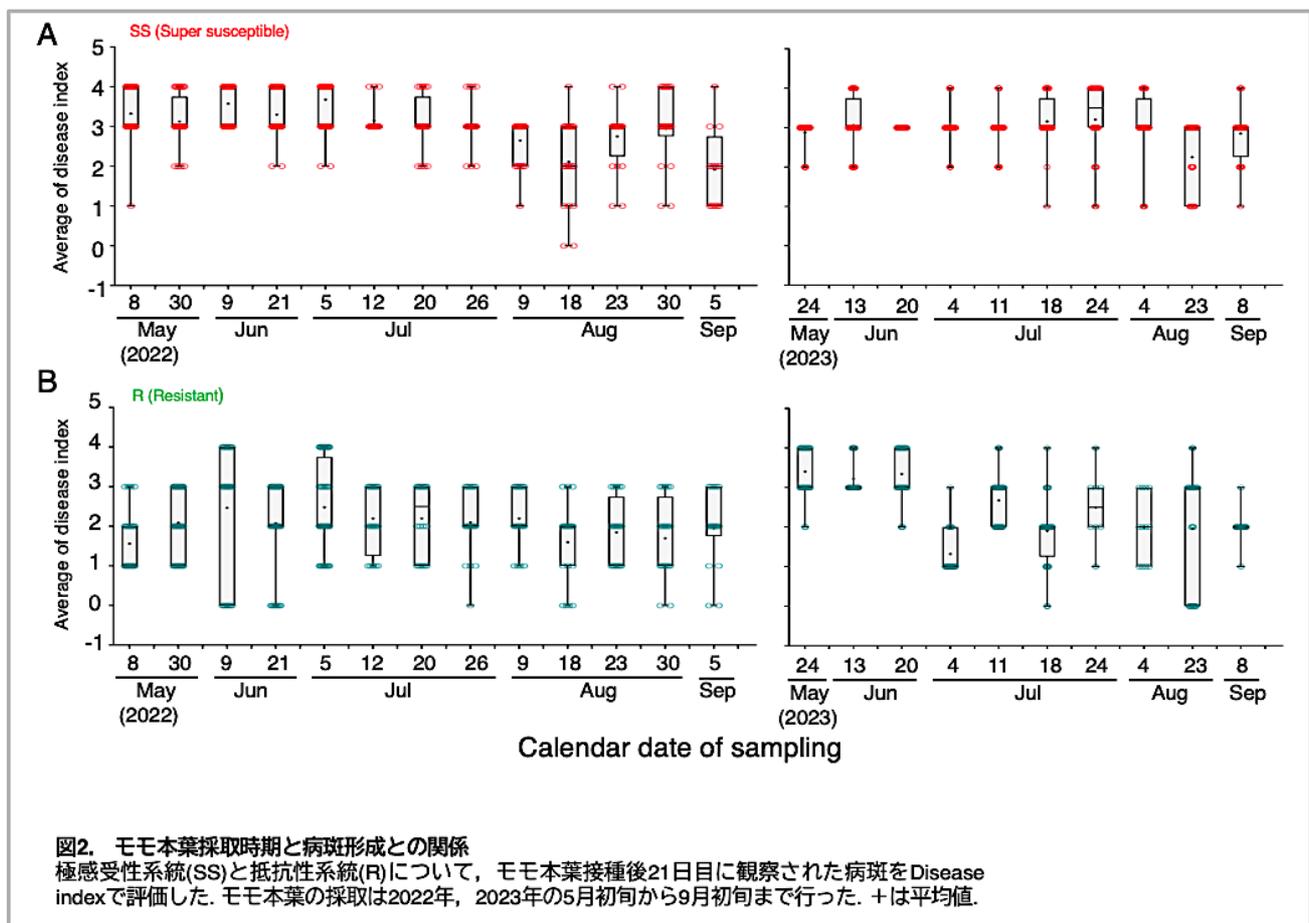
2) モモせん孔細菌病菌の接種と病斑の評価

モモせん孔細菌病菌の接種は、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。培養した野生株を菌濃度 5×10^8 CFU/mlに調整し、モモ本葉へ接種した。接種21日後に形成された病斑について、褐変化の程度を0~4まで5段階に設定したDisease indexにより評価・記録を行った(図1)。



(結果および考察)

本実験では、一般の感受性系統が安定して病斑形成を示す接種菌濃度 5×10^8 CFU/mlを用いて接種し、21日後に評価を行った。調査は、モモの開花終了から新芽が展開する5月初旬から開始した。また9月中旬に採取した本葉は接種後の培養期間中に老化(紅葉)するため調査を9月上旬までとした。病斑程度の評価は、褐変化の程度のみとして黄化は含めなかった。その結果、SSおよびRそれぞれで採取時期によって病斑形成に差があることが明らかとなった(図2)。SSでは、5月上旬から8月上旬までは常に程度の高い病斑形成がみられたが、8月下旬から病斑程度が低くなる傾向が認められた。これは、Rの接種結果でも同じ傾向が認められたことから、モモ本葉は、8月下旬から既に葉の老化がはじまっている可能性が考えられた。一方、Rでは、5月上旬から7月上旬までは病斑の程度にばらつきが大きく、SSと変わらない程度の高い病斑を示すものも観察された。特に2023年では多くの本葉が高い病斑程度を示した。その後、7月中旬から9月上旬までは程度の低い病斑が観察された。これは、若い時期の本葉は、抵抗性遺伝子を有する系統であっても病斑形成を十分に抑制できないと考えられた。また2022年度と2023年でも変動が見られたことから、若い時期の本葉は、その年の気温や天候などによりせん孔細菌病に対する反応が左右される可能性が示唆された。すなわちRは、開花・受粉後の初夏は気象条件等によりせん孔細菌病の被害を受ける可能性があるが、本葉が成熟する夏には十分な抵抗性を示すことが明らかとなった。さらに、本葉接種法による新品種の抵抗性判定を行う場合には、7月中旬から8月中旬が最適時期であることが判明した。



(今後の展望)

本研究により SS および R それぞれの採取時期で病斑形成に差があることが分かった。我々は既に、モモ本葉接種部位における菌増殖モニタリングを行い、モモ本葉の病斑程度とモモせん孔細菌病菌の増殖が相関していることを明らかにしている。今回得られた結果は、R は初夏の若葉が本葉として成熟すると、葉組織内でのモモせん孔細菌病菌の増殖を抑制可能となると予想される。現在、RNA シーケンスによる遺伝子発現解析およびゲノムシーケンスによる GWAS の準備を進めている。今後、せん孔細菌病菌の増殖を抑制するメカニズムの解明を目指すとともに、モモせん孔細菌病抵抗性の判定に利用可能な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。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.
- 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.

モモにおけるゲノム編集技術の開発

岡山県農林水産総合センター生物科学研究所

田村 勝徳

岡山県の主要果樹種であるモモでは、従来から交雑育種法によって新品種の育成が行われているが、比較的に長期の育種年限と大規模な圃場を要することが課題である。また、交雑母集団における遺伝的多様性の幅が狭いという問題を抱えている。こうした現状を打開し、多様な優良形質を備えた新品種を効率的に育成するためには、ゲノム編集技術の導入が有効であると考えられる。本研究では、当該技術をモモの品種育成に適用することを視野に入れて、他植物種と比較して極度に低いとされる(1)組織培養による外植体からの不定芽の形成率、(2)外来遺伝子の導入による形質転換体の形成率、(3)幼梢基部などからの不定根の形成率について、最適な組織培養条件やアグロ法による効率的な外来遺伝子の導入法などを検討した。その結果、外植体からの緑色カルス塊の形成と薬剤選抜を経由した方法および新規に開発した“アグロ托葉接種法”を用いることによって、キメラ体の混在を抑制して効率的に形質転換体が形成されることを明らかにした。また、モモ細胞用に特化したCRISPR/Cas9系のゲノム編集ツールを作製した。

1. 研究背景と目的

岡山県の基幹農産物であるモモは、比較的収益性が高く、品種のブランド化がなされていることもあり、より高品質で優れた農業形質を備えた栽培品種の育成が続けられている。一方、従来からの交雑育種法は、長い育種年限と大規模な圃場を必要とするため、多様な品種の育成は難しい状況にある。また、育種母材となる現有品種における遺伝的多様性が極めて小さいという問題を抱えている。こうした現状を打開し、多様な優良品種の育成を効率的に進めるには、近年開発されたゲノム編集法の適用が非常に有効であると考えられる。本研究では、ゲノム編集技術をモモの品種育成に適用することを視野に入れて、他植物種と比較して極度に低いとされる(1)組織培養による外植体からの不定芽の形成率、(2)外来遺伝子の導入による形質転換体の形成率、(3)幼梢基部などからの不定根の形成率について、独自に最適条件を明らかにすることを目的とした。さらに、本研究により効率化したモモの形質転換技術を用いて、効果的にゲノム編集個体を作製するために、モモ細胞に特化したゲノム編集ツールを作製することとした。

2. 主な先行研究の結果

これまでに、モモ品種別の外植体として中生の白桃系品種における子葉胚及び葉片、組織培養培地として抗酸化剤であるアスコルビン酸及びクエン酸を添加したQuoirin and Lepoivre (QL)培地、成長調節剤としてサイトカイニン種チジアズロン(TDZ)とオーキシン種 *p*-クロロフェノキシ酢酸(CPA)を用いることによって、効率的に不定芽が形成されることを明らかにした。また、品種間において (a)葉組織の褐変程度が低く、早期に不定芽が誘導される群、(b)葉組織の褐変程度は低いが、未分化細胞の増殖が持続する群、(c)葉組織の褐変程度が高く、不定芽誘導率が低い群に類別されることが示された。一方、モモ幼梢をオーキシン作用阻害剤である *p*-クロロフェノキシイソ酪酸 (PCIB)を含むQL培地で継代培養することによって、茎基部から不定根形成が誘導されることを明らかにした。

3. 緑色カルス塊の形成を介した形質転換体の作製

前年度までに、アグロバクテリウム GV3101(pBI-35S Ω -GFP)株を用いた共存培養法によるモモ外植体からの形質転換体の形成条件を最適化した。得られた形質転換体の多くは形質転換組織と非形質転換

組織が共存するキメラ体であった。そこで、形質転換体の作製過程で生じるキメラ体の形成を回避するために、緑色カルスの培養を介した形質転換体の作製法を検討した。その中で、(a)長日条件下の暗期低温処理(15°C)を行うことによって、緑色カルス中に茎頂分裂組織様の領域が形成誘導されること、(b)炭素源の減少と照射光量の増加によって、不定芽の形成率が上昇することが示された(図 1)。また、アグロ共存培養法で形質転換した細胞からなる緑色カルス塊の薬剤耐性選抜を経由することによって、キメラ組織を含む不定芽の形成頻度を低減し得ることが明らかになった。今後、各処理工程の統合や簡素化などによって、より効率的な非キメラ形質転換体の形成方法を確立する。

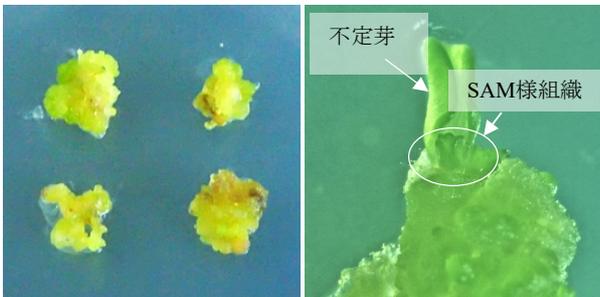


図1. 緑色カルス塊の培養と不定芽の形成. (a) 成熟葉由来の緑色カルス塊. (b) 緑色カルス上に形成したシュートメリステム(SAM)様組織と不定芽.

4. “アグロ托葉接種法”による形質転換体の作製
 外植体の組織培養に伴う培養変異の生成リスクを低減するとともに、キメラ体の形成を回避する形質転換体の作製方法として、“アグロ腋芽接種法”を検討した(図 2a)。幼苗から切除した腋芽を含む茎節部に GV3101 (pBI-35SΩ-GFP) 株の懸濁液を接種した後、無菌的に組織培養を行なったところ、低頻度の形質転換新生芽の形成と高頻度の托葉の形質転換が認められた。そこで、托葉におけるより効率的な形質転換の条件と托葉組織からの新生芽の形成条件の検討を行なった。その結果、切出した托葉対をアグロ懸濁液(菌濃度 $OD_{660}=0.1$)中で 24 時間振とう処理する接種法と、QL 培地(TDZ 1 mg/L, CPA 0.1 mg/L)を用いた無菌培養が最適であることが明らかになった。さらに、これらの条件を設定した“アグロ托葉接種法”を用いることによって、キメラ体を含まない形

質転換新生芽の形成が認められた(図 2b)。今後、形質転換体の形成率の検討や各形質転換個体の遺伝的解析等を行う。

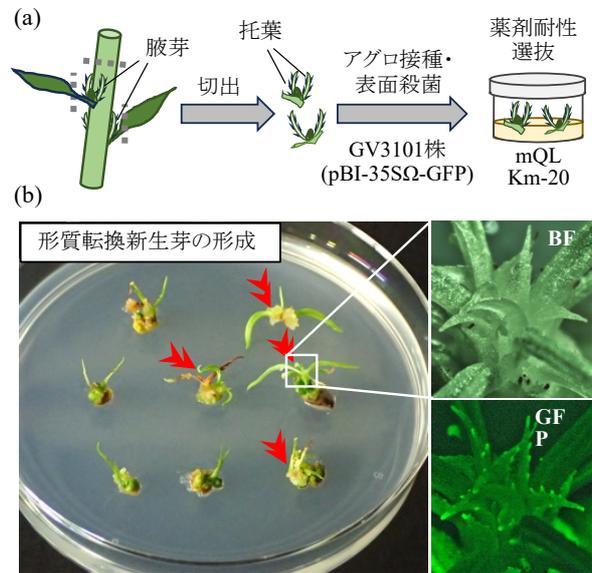


図2. “アグロ托葉接種法”によるモモの形質転換体の作製. (a) “アグロ托葉接種法”の概要. アグロバクテリウム GV3101 株と緑色蛍光タンパク質(GFP)遺伝子を発現するバイナリーベクター pBI-35SΩ-GFP を用いた. (b) アグロ接種後の托葉を mQL 培地(TDZ 1 mg/L, CPA 0.1 mg/L, Km 20 mg/L)上で 6 週間培養した. 赤色矢頭は新生芽を示す. 形質転換された新生芽の明視野像(上)と GFP 蛍光像(下)を示す.

5. 不定芽由来の再生個体の作製と育成

本研究では、オーキシン種の中で 1-ナフトレン酢酸(NAA)が特異的に PCIB と協調して不定根の早期誘導と形成数の増加をもたらすことなどを明らかにした(図 3)。また、組織化学的観察及び遺伝子発現解析によって、不定根の形成誘導時における維管束組織の分岐及び根端特異的遺伝子の発現が誘導されることを確認した。さらに、この不定根の誘導条件を利用して、子葉胚由来の不定芽から、茎部の伸長、茎基部からの発根、発根不定芽の育成・馴化に至る諸条件を最適化することによって、外植体からの完全な個体再生の技術を確立した。

6. モモ細胞に特化したゲノム編集ツールの作製

ゲノム編集法における効率の良否は、供する植物種や細胞の種類・型に加えて、細胞核内でゲノム編集ツールが効率的に機能するか否かによって大きく左

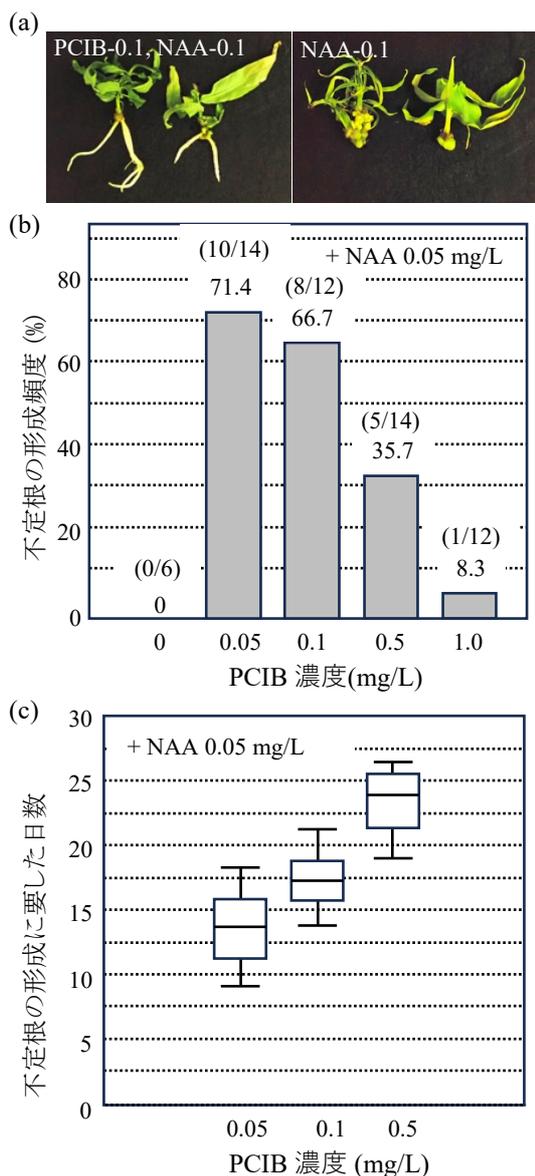


図2. PCIBの添加による不定根の形成誘導.

(a) PCIBの添加の有無による幼梢基部からの不定根の形成. (b) PCIBの添加濃度別の不定根の形成頻度. 0.05 mg/LのNAAを含有する. カッコ内は供試幼梢数当りの不定根形成個体数. (c) PCIBの添加濃度別の不定根形成に要した日数.

右される。本研究では、比較的汎用性のある CRISPR-Cas9 系を用いて、モモ細胞用に特化したゲノム編集ツールの作製を行った。まず、モモゲノムにおけるコドン使用頻度を基にして最適化した *Cas9* 遺伝子を合成し、その上流及び下流に各々 *PpEF1 α* のプロモーター領域と *PpHSP18* のターミネーター領域を配置したコンストラクトを作製した。次に、gRNA 領域の上流及び下流には、各々モモの U6.1 snRNA のプロモーター領域と U6.1 snRNA のターミネーター領域を配置したコンストラクトを作製した。なお、gRNA

領域は標的遺伝子に対する特異的な配列 (~20 塩基) と Cas9 タンパク質との結合に必要な足場 (scaffold) の配列で構成されている。それらの Cas9 及び gRNA の発現ユニットをバイナリーベクター pBI121 上に載せたゲノム編集用ベクターを作製した(図3)。

ゲノム編集の標的遺伝子には、(1)フィトエン不飽和化酵素(phytoene desaturase, PDS), (2)ポリフェノール酸化酵素(polyphenol oxidase, PPO), (3)複合薬剤耐性因子(Multiple antibiotic resistance, MAR)をコードする遺伝子を選定した。各遺伝子における標的配列について、専用ソフト”CRISPRdirect”を用いて検索した後、第1~3エキソン内もしくはN末端側に対応する領域から決定した。各標的配列を含むgRNA領域は、BsaIの消化断片として上記ゲノム編集用バイナリーベクターに導入した。

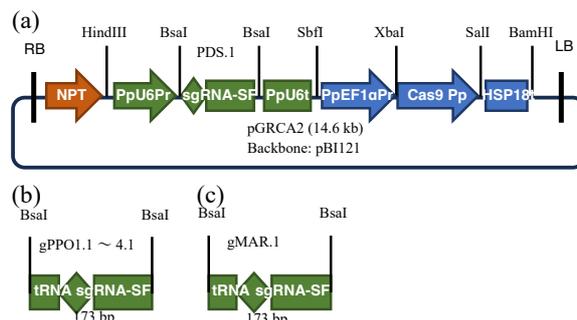


図4. モモ細胞に特化したゲノム編集用バイナリーベクターの作製. (a) T-DNA領域内に*Cas9*(青), gRNA(緑), カナマイシン耐性遺伝子(茶)の各発現ユニットを搭載した. (b, c) gRNA領域には、*PpPDS*, *PpPPO1-4*, *PpMAR*の各標的配列をBsaI断片の置換によって配置した.

6. 今後の予定

本研究で開発した“アグロト葉接種法”などを用いて、まず *PDS* の遺伝子編集個体を作製する。続いて、ゲノム編集個体の形成率や遺伝子編集の様式などを解析することにより、作製したゲノム編集ツールや選定した標的配列の有効性を評価する。一方、*PPO1* ~ *PPO4* については、果実低褐変系統の育成を視野に入れて、各遺伝子のゲノム編集による欠損変異体の作製を進める。各変異体における傷害時の組織褐変

度の調査や各遺伝子の発現挙動の調査と併せて、各 *PPO* 遺伝子の機能を明らかにする。*MAR* 遺伝子については、多重ゲノム編集技術の選択用マーカーとしての有効性を検証する。

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、深く感謝申し上げます。

(備考)

本研究結果の一部は、下記の学会において発表した。
田村勝徳・深松陽介・小田賢司、「モモ幼梢基部からの効率的な不定根の形成誘導」第 66 回日本植物生理学会年会. 2025 年 3 月 14 日. 金沢.

野菜の在来品種における色と味の特徴と抗酸化の優位性について

岡山県農林水産総合センター生物科学研究所

楊 霊麗

本研究は市販品種にはほとんど見られない独特の外観（色）や味をもつ在来品種に着目し、活性酸素や抗酸化物質の種類や性質に応じて機能性研究を展開する。在来品種の機能的な優位性を明らかにし、地域の活性化へ貢献する。更に抗酸化特性を色や味の特徴と関連づけて評価する。岡山県鏡野町の在来品種である姫とうがらしの赤姫（熟果）はくすんだ赤色の果皮が特徴的である。調べた9種類のトウガラシ属の中では、カロテノイド含量と一重項酸素消去能が最も高かった。トウガラシ属において、鮮やかな色（彩度C*が大きい）ほど一重項酸素の消去能が低いという相関を見出した。色から一重項酸素の消去能が推定できると認められた。備前黒皮かぼちゃは、西洋カボチャ（えびす）と比べて、黒い果皮が特徴的であり、果皮における脂溶性過酸化ラジカルの消去能が高かった。土居分小菜は、コマツナと同じ種に属するにもかかわらず、ワサビ様の辛味が特徴的である。辛味の要因と考えられる総イソチオシアネート含量は、調べた5種類のコマツナ市販品種よりも高かった。今後、後者2在来品種を中心に抗酸化特性を味の特徴と関連付けて評価する。

はじめに

健康寿命が望まれる現代社会では、野菜に対して、味や食感、栄養などが要求される一方、機能性成分に対する関心や期待も増している。健康を維持・増進する機能性成分の抗酸化作用などによって生体機能が調整される。活性酸素が原因とされる病気は、約80種類（悪性腫瘍や循環器病など）が報告されている（河野ら2019）が、多様な抗酸化物質が含まれる野菜を日常的に摂取することがその予防に重要であると考えられる。最近の研究では個々の生体物質（脂質、タンパク質、糖質や核酸）の酸化傷害反応に関与する活性酸素が異なり、その生体環境（親水性や親油性）に応じて有効な消去能をもつ抗酸化物質も異なることが明らかにされている（河野ら2019）。このため、活性酸素や抗酸化物質の種類や性質に応じて区別して評価することが重要になってきた。

本研究は、市販品種にはほとんど見られない独特の外観（色）や味をもつ在来品種に着目し、活性酸素や抗酸化物質の種類や性質に応じて機能性研究を展開する。野菜の抗酸化物質や抗酸化特性に関してより詳細情報を提供する。岡山県内の在来品種野菜について、特徴的な抗酸化成分（代謝物）や抗酸化能などの優位性を明らかにすると在来品種の価値を高めることで、地域の活性化へ貢献する。更に、そ

れらの抗酸化特性を色や味の特徴と関連づけて評価し（相関関係の検討など）、簡単に外観（色）や味と言った感覚的なものから種類や性質の異なる抗酸化能が推定できるかを検討する。

結果と考察

1. 姫とうがらしの果皮色と一重項酸素の消去能

姫とうがらしの熟果（以下、赤姫と呼ぶ）はくすんだ赤色の果皮が特徴的である。果皮色はカロテノイドに由来すると考えられ、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（Mukai 2019、河野ら2019）。そこで、5種類のトウガラシ一般流通品種（赤品種：鷹の爪、やまと紅、朝天唐辛子、沖縄島とうがらし；黄品種：黄とうがらし）、姫とうがらしの未熟果（以下、青姫と呼ぶ）および、同じトウガラシ属で多様な果皮色を有するパプリカ（赤、橙、黄）と比較することで、赤姫の特徴を調べた。青姫以外は同じ条件下（当研究所の圃場・プランター）で栽培し、同じ時期（9月中旬）に収穫した。10種類のトウガラシ属の中では、赤姫のカロテノイド含量（図1(a))が最も高かった。一重項酸素の消去能も同様に高かった（図1(a)を参照、図1(b)）。

トウガラシ属（青姫含む）において、総カロテノ

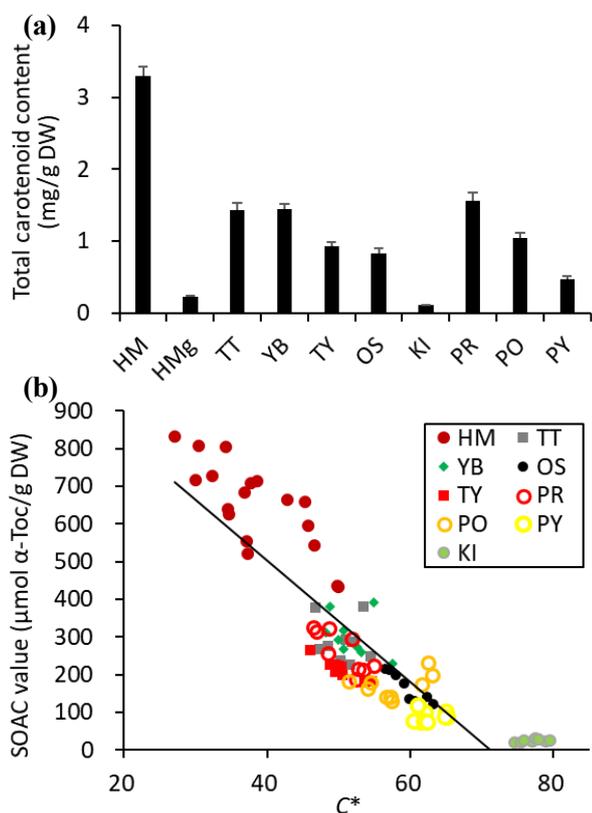


図 1. (a) トウガラシ属の 9 品種における総カロテノイド含量。平均値と標準偏差を示している (下記図 2, 3, 4 と 5 も同様)。 (b) 果皮色を現す彩度 C^* と一重項酸素の消去能 (SOAC 値) との相関。HM: 赤姫、HMg: 青姫、TT: 鷹の爪、YB: やまと紅、TY: 朝天、OS: 沖縄島とうがらし、KI: 黄とうがらし。PR、PO と PY は赤、橙と黄の 3 種類のパプリカ (ぱぶ丸)。

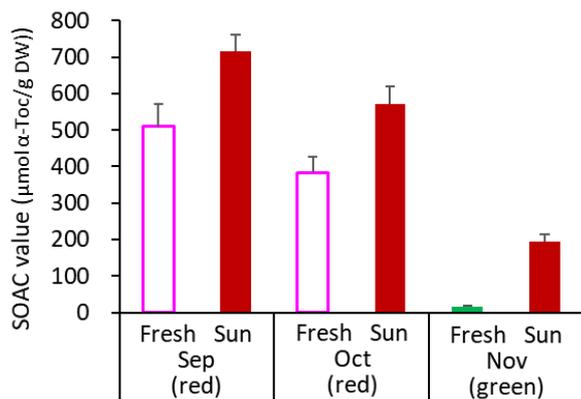


図 2. 異なる収穫時期における姫とうがらしの一重項酸素の消去能 (Fresh) と天日干し処理の効果 (Sun)。

ド含量と一重項酸素消去能の間に非常に強い正の相関 ($r=0.991$) が見られた。そして、カロテノイドと果皮色との間に相関があり、果皮色からカロテノイド含量を推測可能の報告もある (Mapelli-Brahm et al.

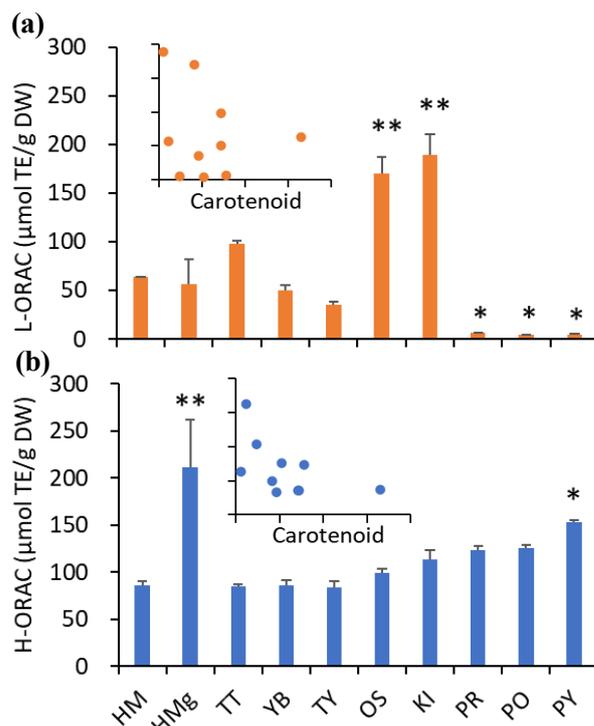


図 3. トウガラシ属の 9 品種における脂溶性過酸化ラジカル消去能 (L-ORAC, a) および水溶性過酸化ラジカル消去能 (H-ORAC, b)。HM に対する多重比較 (Dunnett) の結果を示す (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)。総カロテノイド含量に応じて消去能変化を示す散布図はそれぞれの棒グラフの上に載せてある。

2020)。そこで、9 種類の熟果において、果皮色と一重項酸素の消去能との相関を検討した。未熟果である青姫は、クロロフィルの緑色がカロテノイドの色を隠すため、除かれた。トウガラシ属において、鮮やかな色 (彩度 C^* が大きい) ほど一重項酸素の消去能が低いという相関を見出した (図 1(b))。 $L^*a^*b^*$ 色空間に関する色の指標は、赤と緑を現す色度 a^* 以外、全て一重項酸素の消去能と負の相関を示した。その内、彩度 C^* との相関が最も高かった (図 1(b))。色度 a^* と一重項酸素の消去能との相関は、赤色を呈するカロテノイドのカプサンチンの有無によって、正になる場合と負になる場合があった (データ不示)。

生産地では、9 月から 11 月の収穫期のうち、終期になるほど熟果の色付きが低下する。しかし、収穫後に天日干しすると、色付きが回復する傾向がみられた。一重項酸素の消去能やカロテノイド含量は彩度 C^* と負の相関関係にあることから、天日干しによって、これらが向上するか、生産地の畑で生育した

姫とうがらしを用いて、全収穫期に渡って比較した。9月中旬と10月下旬は赤姫、11月下旬は青姫を用いた。各時期の姫とうがらしを天日干し処理すると、赤姫は更にくすんだ赤色になり、青姫は特に少し赤色の付いたものが赤色になった（データ不示）。一重項酸素の消去能は、9月から11月へ季節の進行とともに低下する傾向がみられた（図2(a)Fresh）。これに対して、天日干し処理は、いずれの時期の姫とうがらしに対しても、一重項酸素消去能を向上させる効果が認められた（図2: Fresh vs Sun）。また、カロテノイド含量についても一重項酸素消去能と同様の傾向が認められた（データ不示）。

生体内で酸化傷害が始まると、過酸化ラジカルが生成され、酸化傷害が更に進行する（河野ら2019）。赤姫では一重項酸素の消去能が高いことが判明したが、これ以外の抗酸化能について検討するために、過酸化ラジカルの消去能を評価した。他の品種と比べて、赤姫と青姫ともに、脂溶性の過酸化ラジカル消去能は中程度だった（図3(a)）。一方、水溶性の過酸化ラジカル消去能は、赤姫は低位だったのに対して、青姫が最も高かった（図3(b)）。高い水溶性過酸化ラジカルの消去能が、青姫の優位性であると認めた。カロテノイド類は、脂溶性のものが多く、生体内で脂質に対する過酸化ラジカルの傷害も疎水環境で誘起されることが多いため、カロテノイド含量と過酸化ラジカル消去能との関係について検討した。両者とも、カロテノイド含量との相関が低く、むしろ負の相関に偏り（図1を参照、図3(a)(b)）、過酸化ラジカルの消去能には、カロテノイド類の貢献が強いとは言えません。一方、ビタミンCやポリフェノール類、ビタミンEなどの抗酸化物質が過酸化ラジカルの消去能に寄与する報告がある（Gillespie *et al.* 2007, Takahashi *et al.* 2018）。

一重項酸素は、特に目や皮膚、糖尿病などに関する疾病の発生と老化の進行に重要な役割を果たしているため、カロテノイドなどの摂取はこれらの予防に有効だと報告されている（Murotomi *et al.*）。本研究で見出した色と一重項酸素の消去能との相関は、簡単に外観（色）と言った感覚的なものから一重項酸素の消去能が推定できると認められた。一方、カ

ロテノイドは一重項酸素の消去能が高いが、過酸化ラジカルの消去能にはあまり貢献しないと本研究の結果から示唆された。多様な抗酸化食品を摂食した方が良いだろう。

2. 備前黒皮かぼちゃの黒い果皮とポリフェノール

日本カボチャ（*Cucurbita moschata*）には、カロテノイド、ビタミン、食物繊維、ポリフェノールなどが豊富に含まれているとされる（Men *et al.* 2021）。これらの代謝物によって、抗酸化や抗糖尿病、抗炎症、肝臓保護、抗肥満など多様な生物活性が期待されている（Men *et al.* 2021, Mokhtar *et al.* 2021）。日本カボチャの備前黒皮かぼちゃは、西洋カボチャと比べて、黒い果皮が特徴的である。ポリフェノールには青紫色を呈するものがあり、果皮色に影響していると考えられたことから、備前黒皮かぼちゃの果皮における総ポリフェノール含量を国内で広く栽培されているえびす（西洋カボチャ）と比較した結果、備前黒皮かぼちゃの方が有意に高かった（データ不示）。そこで、ポリフェノールに由来する抗酸化能にも影響があると考えられたため、脂溶性過酸化ラジカルの消去能も比較した結果、同様に高かった（図4）。

今後は、含量の高いポリフェノールの同定と定量を行ない、過酸化ラジカル消去能への寄与について評価する。

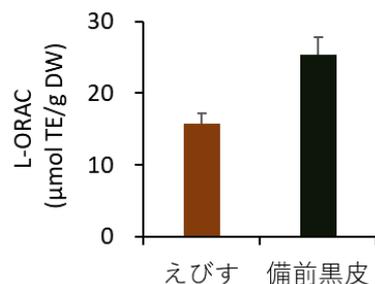


図4. カボチャ果皮の脂溶性過酸化ラジカル消去能

3. 土居分小菜の辛味とイソチオシアネート

土居分小菜は、コマツナとアブラナ属の同じ種に属するにもかかわらず、ワサビ様の辛味が特徴的である。この辛味の要因と考えられるイソチオシアネートは、ほとんど抗酸化能がないが、生体内で転写

因子 Nrf2 を介してグルタチオン合成や抗酸化酵素の発現などを促進し、強い抗酸化作用を誘導する間接抗酸化物質である (Mitsiogianni *et al.* 2019)。

当研究所の温室でプランター栽培し、コマツナ市販品種 (つなしま、菜々美、夢わかな、きよすみ、楽天) と総イソチオシアネート含量を比較した。この結果、調べた 6 品種の中では、土居分小菜の含量が最も高かった (図 5)。今後は、生産地の環境条件における品種間比較と、イソチオシアネートの同定と定量へ展開する。

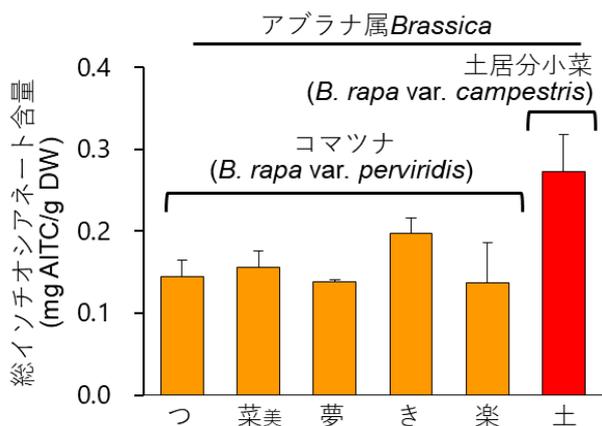


図 5. 総イソチオシアネート含量について土居分小菜とコマツナ 5 品種 (つなしま、菜々美、夢わかな、きよすみ、楽天) との比較。

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、備前黒皮かぼちゃおよび土居分小菜の提供などでご支援いただきました。現地でのサンプリング作業や、一部のデータ分析など、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。関係者の方々に心より感謝いたします。

参考文献

河野雅弘, 小澤俊彦, 大倉一郎. 抗酸化科学: 酸化ストレスのしくみ・評価法・予防医学への展開. 東京化学同人 2019.

Gillespiel KM, Chae JM and Ainsworth EA. Rapid

measurement of total antioxidant capacity in plants. *Nat Protoc* 2007; **2**: 867-870.

Mapelli-Brahm P, Rodríguez-Pulido FJ, Stinco CM *et al.* Applications of Visible Spectroscopy and Color Measurements in the Assessments of Carotenoid Levels in Foods. *Methods Mol Biol* 2020; **2083**: 103-16.

Men X, Choi S, Han X *et al.* Physicochemical, nutritional and functional properties of *Cucurbita moschata*. *Food Sci Biotechnol* 2020; **30**(2):171-183.

Mitsiogianni M, Koutsidis G, Mavroudis N *et al.* The Role of Isothiocyanates as Cancer Chemo-Preventive, Chemo-Therapeutic and Anti-Melanoma Agents. *Antioxidants* 2019; **8**: 106.

Mokhtar M, Bouamar S, Lorenzo AD *et al.* The Influence of Ripeness on the Phenolic Content, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Pumpkins (*Cucurbita moschata* Duchesne). *Molecules* 2021; **26**(12):3623. doi: 10.3390/molecules26123623.

Mukai K. Antioxidant Activity of Foods: Development of singlet oxygen absorption capacity (SOAC) assay method. *J Nutr Sci Vitaminol* 2019; **65**: 285-302.

Murotomi K, A Umeno, M Shichiri *et al.* Significance of singlet oxygen molecule in pathologies. *Int J Mol Sci* 2023; **24**: 2739.

Takahashi S, Tsutsumi A, Aizawa K *et al.* Daily radical scavenging and singlet oxygen quenching capacity intake from fruits and vegetables in Japan. *Food Sci Technol Res* 2018; **24**: 921-33.

肺炎症モデルマウスを用いた不安/うつ様症状に対する可溶性 RAGE の有効性

就実大学 薬学部

出石 恭久

【概要】本研究は、新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の特徴的な後遺症である長期的な精神症状 (倦怠感・疲労感・不安・抑うつ等) に注目し、マウスに炎症惹起物質であるリポポリサッカライド (LPS) を経気道投与することで肺炎症モデルを作成し、肺炎症と精神機能という全く異なる領域の関係性に着目した研究を実施した。その結果、肺炎症群は対照群と比較して肺の炎症が惹起され、血清の IL-6 や TNF- α の上昇を介して海馬内の脳由来神経栄養因子 (BDNF) の低下、さらに不安様症状を引き起こすことを明らかにした。一方、肺胞表面に局在して炎症を引き起こす終末糖化産物の受容体 (RAGE) の可溶性分子種も LPS 投与により肺組織中で増加し、さらに海馬内でも可溶性 RAGE が上昇することを明らかにした。以上のことから、LPS による肺炎症が可溶性 RAGE を増加させ、血中の炎症性サイトカインを介して脳内炎症を引き起こし、海馬内の BDNF 低下を伴う精神機能低下を示すことが分かった。

【緒言】

新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) は 2019 年末に中国で報告されて以降、急速に世界中に拡大し、感染者数の累計は既に 7.8 億人 (2025 年 3 月) に到達している。この COVID-19 は、感染後の後遺症として既存の抗不安/抗うつ薬では改善の期待ができない倦怠感、気分の落ち込み、不安症状、認知症等による精神機能の低下で健全な社会生活を送ることが出来ない患者の増加が大きな社会問題となっている。この精神疾患における炎症関連分子の関与は古くから知られている。例えば、うつ病や統合失調症の末梢血中で TNF- α や IL-6 が高値を示すことが知られている [1]。これまで当研究室でも炎症惹起物質であるリポポリサッカライド (LPS) を腹腔内投与した全身炎症モデルマウスでは不安様症状を示すことを明らかにしている [2]。一方、この COVID-19 は肺炎症を主症状とする疾患である。つまり、肺炎症と精神機能低下には何らかの関連性があると考えられるものの、両者の関連性における詳細な病態機序は不明である。従って、この肺炎症に関連した精神機能低下についても新たな作用機序を有する治療薬の開発が求められている。

一方、我々はこれまで I 型肺胞上皮細胞の細胞表面肺胞腔側に局在して高発現し、終末糖化産物 (AGEs) や LPS 等が結合することで炎症反応を惹起し組織障害に関与する終末糖化産物受容体 (RAGE) の機能について

研究を行ってきた [3]。この RAGE は、代表的なりガンドである HMGB1 が神経炎症によるうつ病を進展させる事 [4]、統合失調症患者の血中の可溶性 RAGE (sRAGE) とリガンドである S100B や AGEs が有意に上昇する事等が報告されている。また、脳内炎症下では精神機能を調節している脳内 GABA 濃度の低下に相関して血中の sRAGE が増加する事が報告されており、RAGE を中心とした炎症と精神機能の相関が考えられている [5]。

そこで、本研究では LPS の経気道内投与による肺炎症モデルマウスを用いて分子生物学的手法により肺炎症および脳内炎症の状態を明らかにし、さらに炎症による不安様症状の発現を行動薬理的に検討した。

【方法】

1. 実験動物および飼育方法

本研究で行われる動物実験は、全て本学の動物実験委員会で承認を得た上で行った (承認番号-061-001)。実験は ICR 雄性マウス (6 週齢: ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン株式会社) を用いた。飼料ならびに飲料水は、実験時以外は自由に与えた。飼育環境は室温 $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、絶対湿度 $60 \pm 15\%$ および 12 時間の明暗周期 (点灯: 午前 8:00) とした。

2. 動物モデルの作製

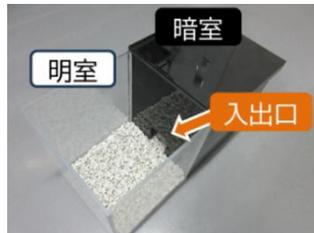
動物モデルの作製では、グラム陰性細菌の細胞壁の

構成物質で毒素活性を有する LPS (lipopolysaccharides from Escherichia coli 0127: B8, Sigma-Aldrich) を生理食塩水に溶解したものを投与した。肺炎モデルは、LPS 1mg/kg をマウスの体重 10 g あたり 10 μ L の割合で経気道投与した。

3. 明暗探索試験

試験には明室(幅 20 cm×奥行 20 cm×高さ 25 cm) と暗室(幅 20 cm×奥行 20 cm×高さ 25 cm) の間に、マウスが自由に行き来できる通り穴(幅 5 cm×高さ 8 cm) の開いた仕切り板のある明暗箱を用いた(図 1)。マウスを明室に頭を通り穴と反対に向けて置き、明室での滞在時間と明室への侵入回数について 10 分間測定した。なお、明室への侵入はマウスの四肢が全て明室内に入った場合とした。

図1 明暗探索試験装置



4. Hole-board 試験

試験には、幅 40 cm×奥行 40 cm×高さ 40 cm の箱を使用した。15 cm の高さの位置に床面があり、床面には直径 3 cm の穴が均等に 16 個空いている。マウスをこの床面の中央に置き、10 分間の観察時間内でマウスが穴をのぞき込む行動(head dipping)の回数をビデオカメラを用いて観察した。

図2 Hole-board試験装置



5. 自発運動量の測定

自動運動量モニタリングチャンバー(DAS-8, Neurosci-ence 社製)を用いて 10 分間モニターした。プラスチックチャンバーは幅 28cm, 長さ 20cm, 高さ 13cm の大きさであった。運動活性測定の前日に、マウスに LPS を経気道投与した。

6. 採血および血清分離方法

LPS または生食を投与し、24 時間後に断頭し、採血を行った。血液は室温で 1 時間静置後、冷所で 3 時間

静置し、4 $^{\circ}$ C, 3,000 rpm で 10 分間遠心し、得られた上清を血清として回収し測定まで -80 $^{\circ}$ C に保存した。

7. 血清 IL-6 と TNF- α および海馬 BDNF 測定法

IL-6 の測定には、Mouse IL-6 ELISA Kit (#DY406, R&D Systems 社) (#88-7064, Invitrogen), TNF- α の測定には Mouse TNF alpha ELISA Kit (#BMS607-3, Invitrogen), BDNF については Human/Mouse ELISA Kit (#DY248, R&D Systems 社) を用いた。各因子の測定は製品の取扱説明書の操作方法を参照した。

8. 気管支肺胞洗浄液(BALF)中の白血球数の測定

LPS または生食投与 24 時間後に、イソフルラン吸入あるいは頸椎脱臼により安楽死させ、気管支に PBS 1mL を投与し、BALF を回収した。回収後直ぐに、4 $^{\circ}$ C, 2,000 rpm で 10 分間遠心し、遠心にて細胞ペレットを回収し、チュルク試薬(#1.09277.0100, Sigma-Aldrich)により白血球数のカウントを行った。上清はタンパク質の定量を行った。

9. 組織標本作成方法

LPS 投与の 24 時間後に、三種混合麻酔薬(メドミジン, ミダゾラム, ブトルファノール)を腹腔内投与)で麻酔した。麻酔下で 20 ml の生理食塩液, 続いて 20 ml の 4 % Paraformaldehyde (PFA), 0.35 % glutaraldehyde (pH7.4) により体循環灌流を行い、脳組織と肺組織を摘出した。摘出した脳組織は、凍結切片作製のために 4% PFA に一晩浸して固定した後、切片作製まで 15% sucrose 溶液に浸し保存した。クリオスタットマイクロトームを用いて厚さ 20 μ m の冠状断切片を作製し、10mM phosphate-buffered saline (PBS) に浸して浮遊切片として保存した。一方、摘出した肺組織はパラフィン切片作製のために 4% PFA に浸して固定した後、左肺のパラフィン包埋を作製し、マイクロトームで厚さ 3 μ m の切片を作製し、実験に用いた。

10. 組織化学的評価方法

脳組織における Iba-1 の免疫組織化学染色では、海馬を含む bregma より -1.79 ~ -2.15 mm 後方の冠状断浮遊切片を一匹につき 3 枚選び、PBS-T で 30 分間透

過処置を行った。次に、1%正常ヤギ血清（#S-1000, VECTOR LABORATORIES 社）を含む PBS-T (20mM TritonTM X-100 を含む PBS) で 30 分間ブロッキング処置を行った後、PBS-T で 2,000 倍希釈した抗 Iba-1 ウサギ ポリクローナル抗体（#019-19741, 富士フィルム和光純薬）で 4℃ で一晩反応させた。続いて、PBS-T で洗浄後、PBS-T で 1,000 倍希釈した Alexa Fluor 488®による蛍光標識 抗ウサギ ヤギ IgG(#A-11034, Invitrogen) を用いて室温で 2 時間反応させた。PBS で洗浄後、10µg/mL の Hoechst®33342 試薬を 2 分間反応させて核酸染色を行った。さらに PBS で洗浄後に切片をシランコートされたスライドガラスにのせて乾燥させ、蛍光退色防止剤入り封入剤で封入し HS オールインワン蛍光顕微鏡 (BZ-9000, KEYENCE) にて励起フィルタ 360/40 nm, 吸収フィルタ 460/50 nm を用いて観察した。蛍光顕微鏡下で各切片の 1 mm² 中における核染色と重なる強い蛍光強度が認められたものを Iba-1 陽性細胞と見なし、400 拡大倍率で右側の海馬 CA1, CA3 および歯状回のそれぞれを含む撮影範囲における Iba-1 陽性細胞数を確認した。一方、左肺は一般的なヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色により組織障害の状態を形態的に観察した。

11. 組織の抽出および組織抽出液作成

LPS 投与 24 時間後に断頭・脱血し、脳組織から左右背側海馬と左右前頭皮質を、肺組織からは右肺中葉を抽出し、サンプル調製まで -80 °C で凍結保存した。組織は、500 µL の RIPA バッファーを加えて超音波破碎し、氷上で 30 分静置後、4 °C, 15,000 rpm で 30 分間遠心し、上清の可溶性画分（細胞質画分）を -80 °C に保存し、実験に使用した。

12. 蛋白質の濃度測定

Lowry 法に基づいた DC Protein Assay® (Bio-Rad) を用いて蛋白質濃度を測定した。標準にはウシ血清アルブミン (BSA: #AB8022, Sigma-Aldrich) を段階希釈したものを使用した。測定は製品の取扱説明書の操作方法を参照した。最終的に標準の吸光度からサンプルの濃度を算出し、各サンプルの蛋白質濃度が一定になるように RIPA バッファーで調製した。

13. Western blotting 解析

一定量のサンプルと 3 倍量の sampling buffer (2% ドデシル硫酸ナトリウムを含む) と混合後、10 分間煮沸して氷上で冷却し、12%の SDS-ポリアクリルアミドゲル (#4561046, TGX gel®, Bio-Rad) により 150 mA 定電流で電気泳動した。泳動後、蛋白を 0.2µm PVDF メンブレン (トランスプロット Turbo 転写パック PVDF, #1704156, Bio-Rad) にセミドライ方式 (トランスプロット® Turbo™ 転写システム, Bio-Rad) で 25 V 定電圧、30 分間転写した。メンブレンを TBS-T (0.1 % Tween 20 を含む 20 mM Tris-buffered saline containing) に 5%スキムミルク (森永乳業) を溶解したブロッキングバッファーで室温で 2 時間、または 4℃ で一晩ブロッキングした。次に、5% BSA/ TBS-T を用いて希釈した一次抗体反応液とメンブレンを 4 °C で一晩反応させた。抗体と希釈倍率は、抗ヒト RAGE ウサギ ポリクローナル抗体 (自家製) が 13,000 倍希釈、抗ヒト S100B ウサギ ポリクローナル抗体 (自家製) は 5,800 倍希釈とした。反応終了後、メンブレンを TBS-T で洗浄し、10,000 倍希釈の POD 標識 抗ウサギ ヤギ IgG (#458, MBL ライフサイエンス) と室温で 2 時間反応させた。TBS-T で洗浄後、ECL™ Prime Western Blotting System (#RPN2232, Cytiva) を用いて化学発光させ、Amersham Imager™ 600 (Cytiva) でシグナルを検出した。続いて β-actin を測定するため、抗体除去バッファー (2 % SDS, 100mM 2-mercaptoethanol, 62.5 mM Tris-HCl, pH 6.7) にメンブレンを浸し、50℃で 30 分振盪した。TBS-T で洗浄後、再度室温で 2 時間ブロッキングした。次に 5% BSA / TBS-T で 15,000 倍に希釈した抗 β-actin マウスモノクローナル抗体 (#A1978, Sigma-Aldrich) と 4 °C で一晩反応させた。TBS-T で洗浄後、10,000 倍希釈の POD 標識 抗マウス ヤギ IgG (#330, MBL ライフサイエンス) と反応させ、化学発光により検出した。バンドの定量は、Amersham Imager 600 Analysis Software (V1.0.0, Cytiva) を用い、各蛋白質と β-actin のシグナル強度の比を算出した。

14. 統計学的検討

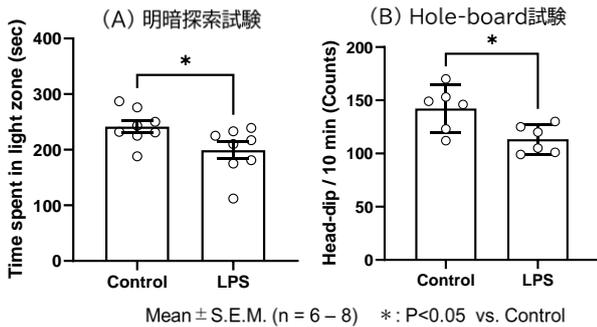
データは平均値 ± 標準誤差で示した。2 群間の有意差の検定は、Mann-Whitney U-検定を用いた。

【結果】

1. 明暗探索試験および Hole-board 試験を用いた LPS 経気道投与による不安様行動への影響

LPS の経気道投与により、明暗探索試験では有意な滞在時間の減少を示した。さらに、Hole-board 試験による head dipping の回数も有意に減少したことから、LPS 経気道投与による肺炎症で不安様行動が認められた (図 3)。

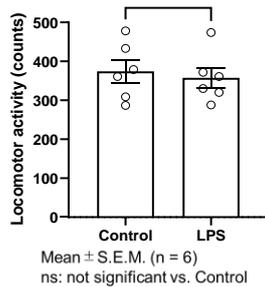
図3 LPS経気道投与による不安様行動への影響



2. LPS 経気道投与による自発運動量の変化

LPS の経気道投与により自発運動量には有意な変化は認められなかったことから、不動時間に影響しなかった (図 4)。

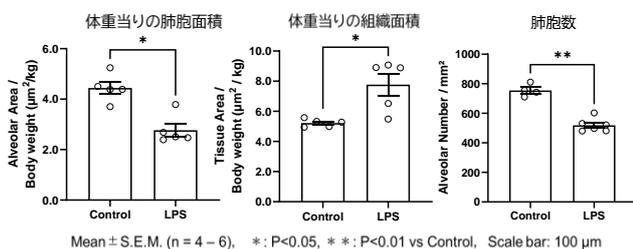
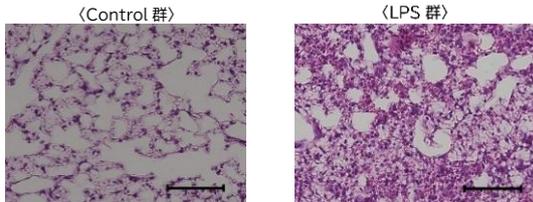
図4 LPS経気道投与による自発運動量の変化



3. LPS 経気道投与による肺の組織学的変化

LPS 経気道投与により肺組織の HE 染色画像では、肺胞面積に対する肺間質の割合が有意に増加し、炎症様細胞の浸潤による肺胞中隔の肥厚、および肺胞の数と面積の有意な減少による組織障害が認められた (図 5)。

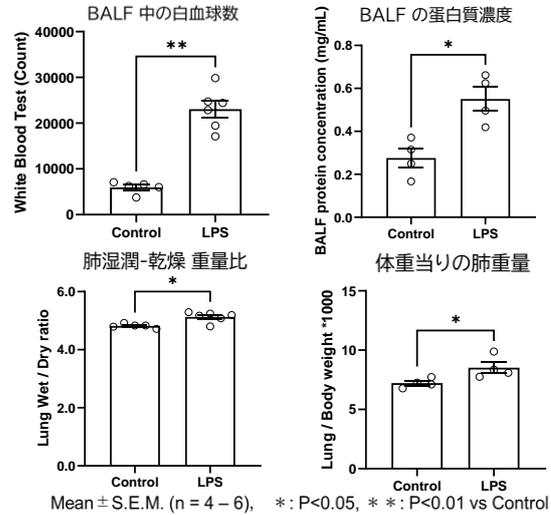
図5 HE染色を用いたLPS経気道投与による肺の組織学的変化



4. LPS 経気道投与による BALF 中の白血球数と蛋白質濃度の変化および肺浮腫の発症

BALF 中の白血球数と蛋白質濃度の有意な上昇、および水分貯留による肺浮腫も認められた (図 6)。

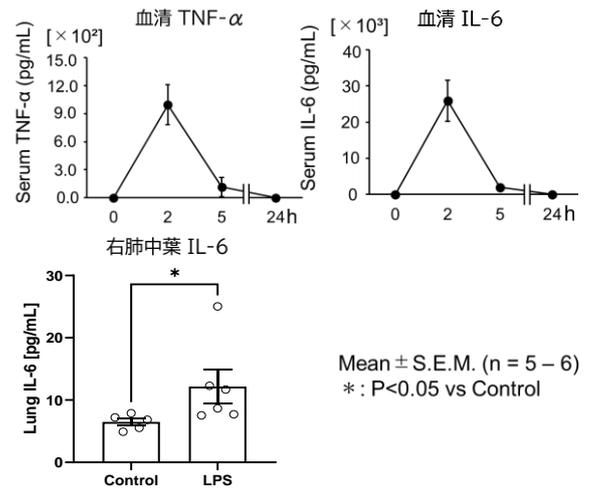
図6 LPS経気道投与による肺の炎症および肺浮腫への影響



5. LPS 経気道投与とマウスの血清および肺組織中の炎症性サイトカイン量の変化

LPS 経気道投与により血清中の IL-6 と TNF-α は 2 時間をピークとする有意な上昇を示し、24 時間後は消失したが、肺組織中の IL-6 は 24 時間後のコントロール群との比較で有意な上昇を示していた (図 7)。

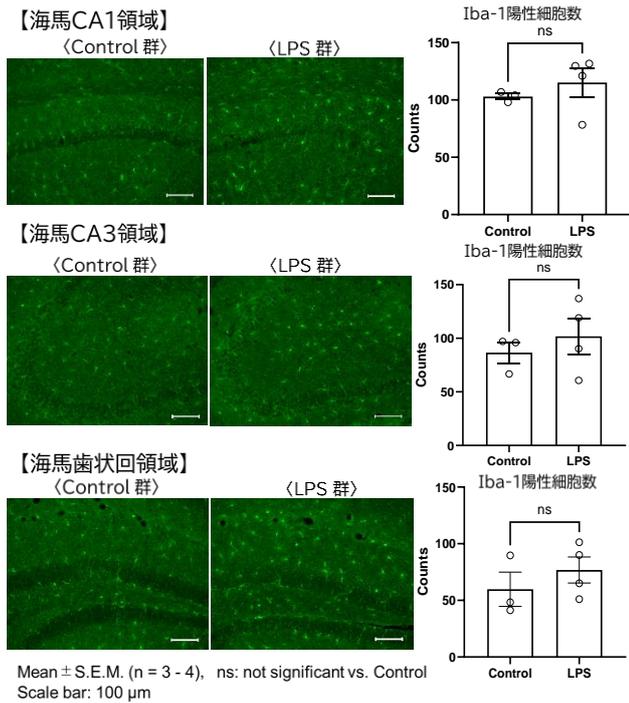
図7 LPS経気道投与による血清および肺組織中の炎症性サイトカインの変化



6. LPS 経気道投与による海馬領域における Iba-1 陽性細胞数の変化

LPS 経気道投与により海馬の Iba-1 陽性細胞数はコントロール群に対し増加傾向を示した (図 8)。今後検討をさらに重ね統計学的な評価をしていく予定である。

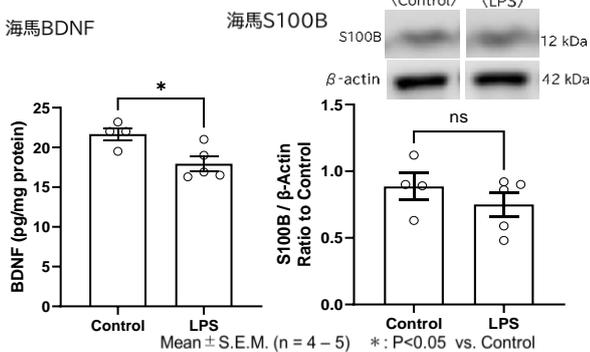
図8 LPS経気道投与による海馬領域におけるIba-1陽性細胞数の変化



7. LPS 経気道投与マウスの海馬における BDNF および S100B の量的変化

LPS 経気道投与により、海馬内の BDNF は有意な低下を示したが、海馬内 S100B は減少傾向はみられたものの有意差は認められなかった (図 9)。

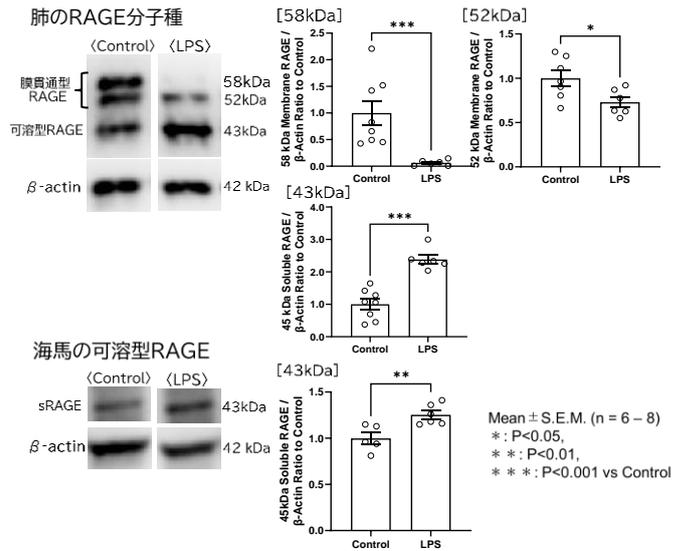
図9 LPS経気道投与による海馬のBDNFおよびS100B発現量への影響



8. LPS 経気道投与マウスの海馬および肺組織中の RAGE の量的変動

コントロール群の肺組織中に 43, 52, および 58kDa の 3 つの RAGE 分子が検出された。このうち、52kDa と 58kDa の膜貫通型 RAGE 分子は LPS の経気道投与により、著しい減少が認められた。一方、43kDa の可溶型 RAGE 分子は、LPS 投与により有意に増加した。海馬では強陽性バンドとして 43kDa の可溶型 RAGE 分子を検出することができ、LPS 投与により有意に増加することが分かった。

図10 LPS経気道投与マウスの肺および海馬のRAGEの量的変動



【考察】

本研究では、新型コロナウイルス感染症による精神機能低下に着目し、LPS 経気道投与による肺炎症による精神機能変化と脳内炎症への影響について検討した。精神機能として不安様症状を明らかにするために、マウスの暗い場所を好む習性を利用した明暗探索試験および不安状態が低いほど穴を覗く行動が増加する習性を利用した hole-board 試験を行った [2]。すなわち、これらの行動実験法は、不安様行動を観察するには適した実験である。本研究ではこの 2 つの試験系において LPS 経気道内投与による肺炎症モデルマウスにおいて、不安様行動を示す事を初めて明らかにした。

肺組織の評価では、LPS 経気道投与モデルでは炎症性細胞の浸潤による肺胞中隔の肥厚や肺胞腔面積の縮小、肺胞数の低下等の著しい組織の障害像が認められた。さらに、肺炎症の指標である BALF 中の白血球数と蛋白質濃度の著明な増加、および肺組織の水分含量の増加も確認されたことから、肺の明らかな炎症による肺浮腫が認められた。一方、代表的炎症性サイトカインである IL-6 と TNF- α は、血清中では LPS 投与 2 時間後にピークとなり、24 時間後にはほぼ消失していたが、肺組織中の IL-6 は 24 時間後でも有意な上昇を示していた。これまで報告では、LPS の腹腔内投与による全身炎症における不安様症状には炎症性サイトカインの関与が考えられており [2]、LPS 経気道投与による不安様症状も炎症性サイトカインによる影響を少なくとも受けることが考えられた。今後、さらに詳細な病態機序の解明が必要である。

ミクログリアは中枢神経系の免疫担当細胞である。中枢神経系への異物の侵入や感染に対してミクログリアは活性化して中枢神経系の防御および修復に関する重要な役割を担っている。これまでの報告で、マウスへのLPS腹腔内投与により海馬のミクログリアの活性化と抑うつ行動が観察され、その活性の正常化が抑うつ行動も軽減する事が示されている [6]。本研究のLPS経気道投与では、有意差は無かったが活性化したミクログリアの増加傾向が認められた。これらのことから、肺炎による精神機能変化には、炎症性サイトカインを介した脳内炎症が関与している可能性がある。

一方、グリア細胞の一種であるアストロサイトは、神経細胞の構造的な支持や栄養因子を神経細胞に伝達する神経保護作用のある細胞である。特にうつ病などの神経炎症による精神疾患では、アストロサイトの機能が低下していることが報告されており、その一つに神経保護の役割を持つBDNFの発現量低下が誘導されることが知られている。このBDNFは神経細胞の発生や成長、維持、修復に働き、学習や記憶および精神機能調整などにおいて重要な役割を示す。本研究のLPS経気道投与では、海馬のS100Bの発現量は変わらず、BDNFの発現量が低下したことから、LPS投与でアストロサイトの顕著な量的変動はなく、機能低下によるBDNF発現量が低下する可能性が示唆された。

さらに、我々はこれまで肺胞表面に特異的に発現しているRAGEがAGEsやLPS等と結合することで炎症性サイトカインの増加や組織障害に関与することを報告している [3]。そこで、この肺のRAGEがLPS経気道投与肺炎モデルによる脳内炎症を惹起する重要なポイントである可能性を考慮し、肺と海馬のRAGEの量的変動について検討を行った。その結果、肺の52kDaと58kDaの2つの膜貫通型RAGE分子はLPS投与により著しく減少したが、興味深い事に炎症を引き起こすリガンドと結合することで抗炎症作用があるとされている43kDaの可溶性RAGE分子は有意な増加を示した。さらに、海馬でも可溶性RAGE分子がLPSによる肺炎で増加することが初めて分かった。

【まとめ】

本研究では、LPS経気道投与により全身炎症を介し

て海馬のBDNFが減少することで不安様症状等の精神機能が低下する可能性が示された。さらに肺炎では可溶性RAGE分子が肺炎で肺だけでなく脳内でも増加することが分かった。今後、RAGEによって引き起こされる肺炎を調整することが、その後続く後遺症の予防につながるか検討していきたいと考えている。

【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いたします。

【参考文献】

- [1] Dowlati N, Herrmann W, Swardfager H et al. A meta-analysis of cytokines in major depression, *Biol Psychiatry* 67(5) (2010) 446-57.
- [2] S Ushio, Y Wada, M Nakamura, et al. Anxiolytic-like effects of hochuekkito in lipopolysaccharide-treated mice involve interleukin-6 inhibition, *Front Pharmacol* 13 (2022) 890048.
- [3] Izushi Y, Teshigawara K, Liu K et al. Soluble form of the receptor for advanced glycation end-products attenuates inflammatory pathogenesis in a rat model of lipopolysaccharide-induced lung injury. *J Pharmacol Sci.* 130 (2016) 226-34.
- [4] Rana T, Behl T, Mehta V et al. Molecular insights into the therapeutic promise of targeting HMGB1 in depression. *Pharmacol Rep.* 73 (2021) 31-42.
- [5] Dwir D, Giangreco B, Xin LL et al. MMP9/RAGE pathway overactivation mediates redox dysregulation and neuroinflammation, leading to inhibitory/excitatory imbalance: a reverse translation study in schizophrenia patients. *Mol Psychiatry.* 25 (2020) 2889-2904.
- [6] Song JJ, Li H, Wang N et al. Gastrodin ameliorates the lipopolysaccharide-induced neuroinflammation in mice by downregulating miR-107-3p. *Front Pharmacol.* 8 (2022) 1044375.

環状分子におけるキラル内孔空間構築に基づく機能開拓

就実大学薬学部

山本 浩司

(概要) 近年、環状構造を有する配位子を有する金属錯体（マクロサイクル錯体）が触媒反応や機能性物質の開発の観点から注目を集めている。マクロサイクル錯体は内孔空間を貫通した配位状態に由来する特異な化学選択性を示す。キラリティーは分子間相互作用や分子認識において重要な役割を果たすことから、新たな内孔空間の設計法としてキラリティーに着目した。本研究では、光学活性マクロサイクルパラジウム錯体におけるキラリティーと配位子および錯体の構造・性質の相関を明らかにする。さらに、パラジウムとキラル内孔空間が織り成す機能の開拓を目指す。2年度目には、光学活性配位子の系統的合成に成功した。また、それらにパラジウム塩を作用させることで、光学活性なパラジウム錯体を合成した。

(本文)

金属錯体は触媒反応や機能性物質の開発において重要な役割を担う。近年、環状構造を有する配位子を有する金属錯体（マクロサイクル錯体，図1）が注目を集めている。マクロサイクル錯体は内孔空間を貫通した配位状態に由来する特異な化学選択性を示す。また、鎖状分子が環を貫通したロタキサン構造に基づく機能性物質の開発にも展開できる。内孔空間の制御はマクロサイクル錯体の機能発現に直結する。一方で、マクロサイクル錯体の配位子構造は散発的で、内孔空間の形状と機能の関係はよくわかっていない。マクロサイクル錯体の内孔空間の形状、特に三次元構造の重要性を解明することで、構造と物性の相関の理解が進み、マクロサイクル錯体の化学に新展開をもたらすことが期待される。

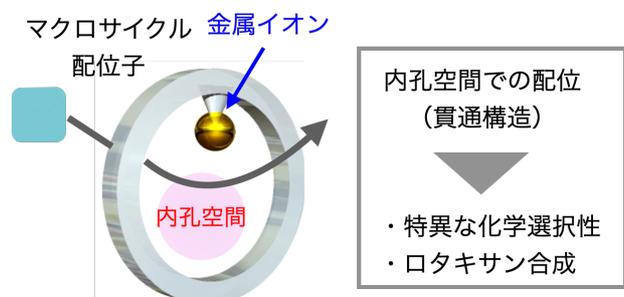


図1. マクロサイクル錯体

申請者は、構造有機化学に立脚した内孔空間制御を目的に、種々のマクロサイクル錯体を開発し、金属と内孔空間の協働作用がもたらす特異な化学選択

性^{1,2}や架橋剤特性³を見出した(図2)。申請者は新たな内孔空間の設計法としてキラリティーに着目した。キラリティーは分子間相互作用や分子認識において重要な役割を果たし、キラルマクロサイクル錯体でしか成し得ない機能を示す可能性がある。このようなキラルマクロサイクル錯体の例は3例⁴⁻⁶と極めて限られており、萌芽段階にある。

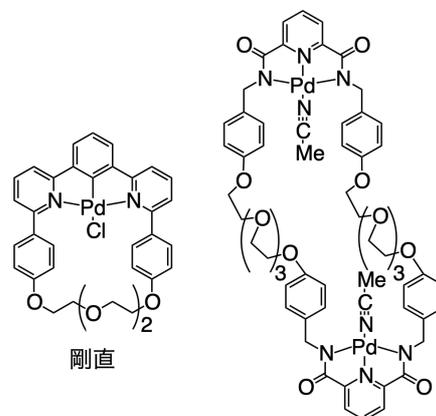


図2. 申請者がこれまでに開発した錯体

本研究では、光学活性マクロサイクルパラジウム錯体を系統的に合成し(図3)、キラリティーと配位子および錯体の構造・性質の相関を明らかにすることを目的としている。さらに、それらの触媒作用と架橋剤特性を検討し、パラジウムとキラル内孔空間が織り成す機能を開拓することを目指している。初年度には、光学活性配位子の合成経路を確立した。

2年度目には、初年度に開拓した経路を活用し、光学活性配位子の系統的合成に成功した。また、それらとパラジウムとの錯形成による錯体を合成した。

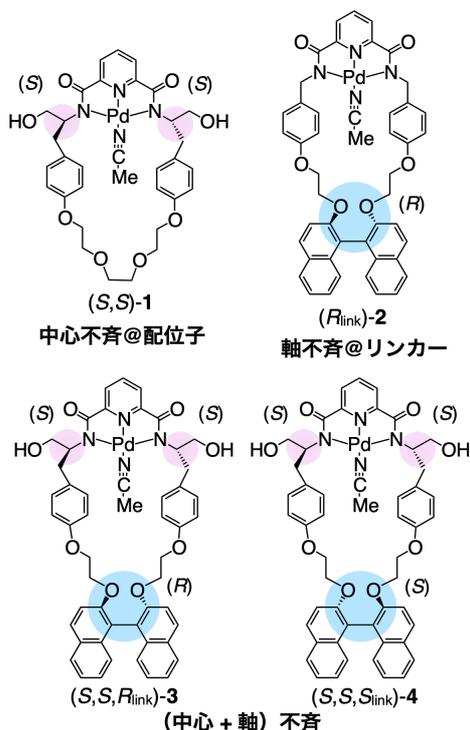
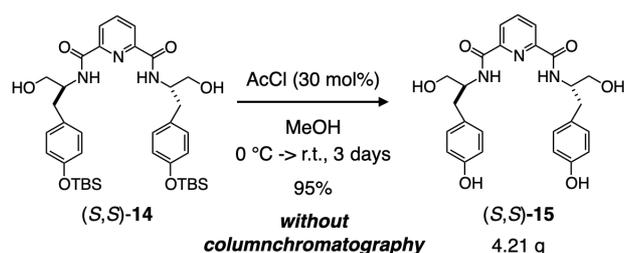


図3. 光学活性マクロサイクル錯体

前年度は、安価な不斉源であるL-チロシンから環化前駆体である(S,S)-15を得た。高純度の(S,S)-15が光学純度を損なうことなく得ることができ、スケールアップが容易である。



式1. (S,S)-15の合成

得られた(S,S)-15の環化反応により、光学活性配位子(S,S)-1, (S,S,Rlink)-3, (S,S,Slink)-4の合成に成功した(図5)。粗生成物の¹H NMRより、反応条件下でエピメリ化は起こっていない。

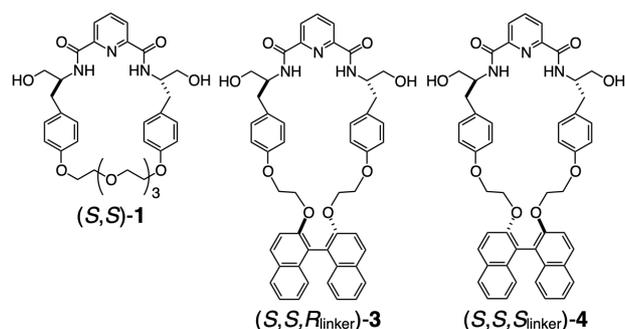


図4. 前年度合成した光学活性配位子

光学活性配位子 (S,S,Rlink)-3 および (S,S,Slink)-4 の¹H NMRの芳香族領域の拡大図を示す(図5)。両者は異なるスペクトルを与えたことから、ジアステレオマーの関係にあることがわかる。ピリジンビスアミド部位において、アミドプロトン(c)とベンゼン環プロトン(h,i)において大きなピークシフトが観測された(Δ_c: 0.18 ppm, Δ_h: 0.12 ppm, Δ_i: 0.10 ppm)。環内孔不斉環境が変化していることが期待できる。また、ビナフル部位については、プロトンl,mの違いが比較的大きい。

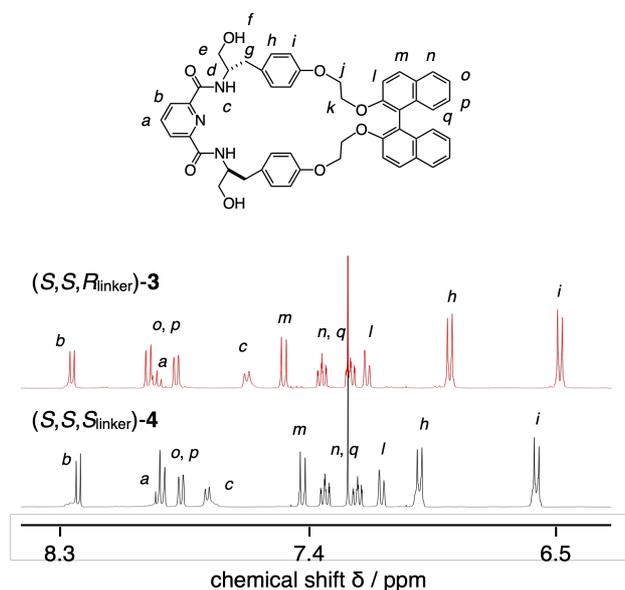
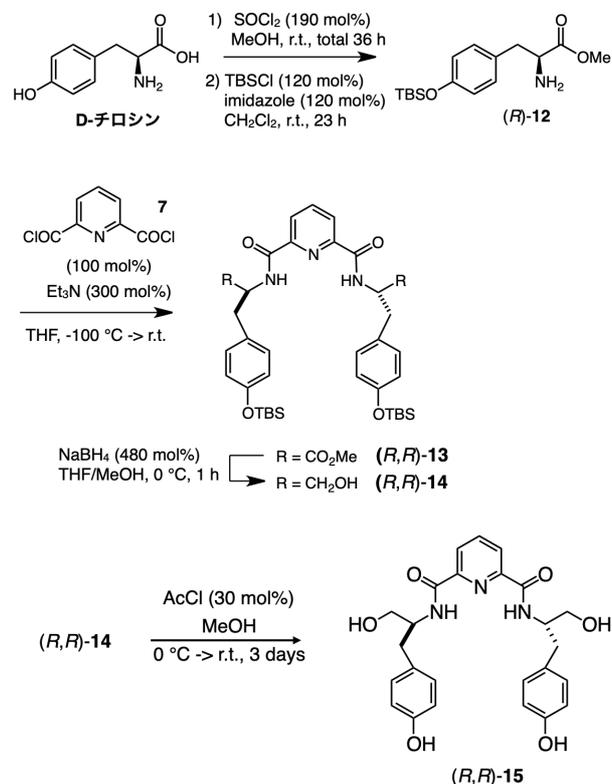


図5. ¹H NMR スペクトル (500 MHz, CDCl₃)

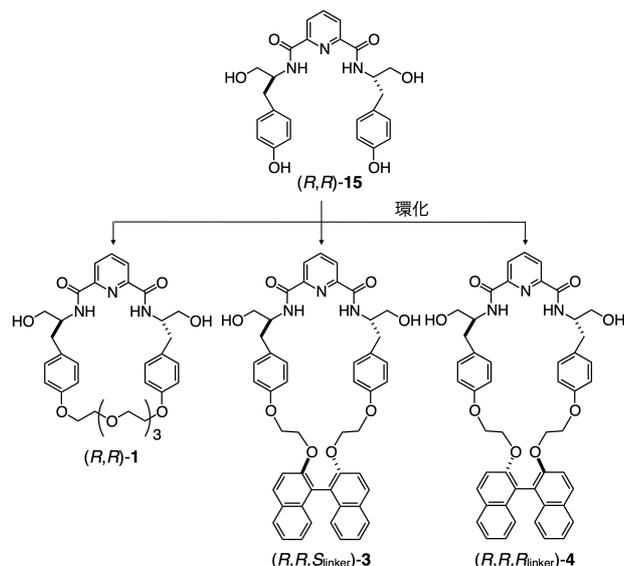
光学活性配位子 (S,S)-1, (S,S,Rlink)-3, (S,S,Slink)-4 の鏡像異性体に相当する(R,R)-1, (R,R,Slink)-3, (R,R,Rlink)-4の合成に着手した。前年度に確立した合成経路に従い、D-チロシンから環化前駆体である(R,R)-15を合成した。なお、D-チロシンも比較的安価な不斉源である(25 g/9,900円、

東京化成工業株式会社).

市販の D-チロシン ((*R*)-11) から5段階を経て (*R,R*)-15 を得た (式2). (*R,R*)-15 合成時の粗生成物の ¹H NMR において単一の生成物のみが観測されたことから, 生成物のエピメリ化は起こっておらず, 光学純度は損なわれていない.



式2. (*R,R*)-15 の合成



式3. (*R,R*)-15 からの配位子合成

得られた (*R,R*)-15 の環化反応により, 光学活性配位子 (*R,R*)-1, (*R,R,Slinker*)-3, (*R,R,Rlinker*)-4 を合成した (式3). いずれの ¹H NMR も対応する鏡像異性体に一致した.

光学活性なパラジウム錯体を合成した. 前年度合成した配位子 (*S,S*)-1 にジクロロメタン-アセトニトリル混合溶媒中で酢酸パラジウムをさせることで錯形成が首尾良く進行し, パラジウム錯体 (*S,S*)-1-Pd を黄色固体として得ることに成功した. (*S,S,Rlinker*)-3, (*S,S,Slinker*)-4 を同条件に付したところ, 錯体 (*S,S,Rlinker*)-3-Pd, (*S,S,Slinker*)-4-Pd が得られた.

以上, 光学活性配位子の系統的な合成に成功した. また, 光学活性なパラジウム錯体の合成にも成功した. 今後は, 配位子および錯体の構造および物性を明らかにしつつ, それらの触媒作用と架橋剤特性を検討し, パラジウムとキラル内孔空間が織り成す機能の開拓を目指す.

(引用文献)

1. K. Yamamoto, K. Higuchi, M. Ogawa, H. Sogawa, S. Kuwata, Y. Hayashi, S. Kawauchi, T. Takata, *Chem. Asian J.* **2020**, *15*, 356-359.
2. K. Yamamoto, R. Nameki, H. Sogawa, T. Takata, *Tetrahedron Lett.* **2020**, *61*, 151870.
3. K. Yamamoto, R. Nameki, H. Sogawa, T. Takata, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, *59*, 18179-18184.
4. S. M. Goldup, D. A. Leigh, R. T. McBurney, P. R. McGonigal, A. Plant, *Chem. Sci.* **2010**, *1*, 383-386.
5. S. Hoekman, M. O. Kitching, D. A. Leigh, M. Pampmeyer, D. Roke, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 7656-7659.
6. K. Yamashita, Y. Tabata, K. Yamakawa, T. Mochizuki, K. Matsui, M. Hatano, K. Ishihara, *J. Am. Chem. Soc.* **2023**, *145*, 26238-26248.

「災害避難マニュアルの再確認」ガイドラインの提案 - 避難行動における『認知的ズレ』に着目して -

就実大学 教育学部

飯田智行

本研究の目的は、乳幼児モデルを抱えての垂直避難における予測値と実測値の『ズレ』の大きさと、その大小の要因を明らかにすることとした。教育学部に所属する健常な大学生 22 名（男性 10 名、女性 12 名）を対象に、1 歳児を想定した 10kg のバーベルプレートを一つ両手で抱え、建物の 1 階から 4 階までを一往復半する条件を設定した。避難支援における垂直避難時間・身体的負担感を予測させ、実測値とのズレの大きさを算出し、ズレの大きさと個人特性の関連について検討を行った。その結果、避難時間は過大に予測することに対して、身体疲労度は過小に予測することが明らかになった。また、性格特性の一つである開放性が避難時間におけるズレの大きさと関係がある可能性が示唆された。一方で、予測値を判断する基準はズレの大きさに及ぼす影響が小さい可能性が示唆された。

【はじめに】

日本は自然的条件から、台風、豪雨、豪雪、洪水、土砂災害、地震、津波、火山噴火などによる自然災害に襲われる可能性が世界的にみても高いことが報告されている¹⁾。さらに、近年は気候変動等によって、自然災害のリスクが高まってきていることも危険視されている²⁾。例えば、西日本豪雨は、広島では土砂災害、岡山では浸水等の水害による被害が大きく、237 名の犠牲につながっている³⁻⁵⁾。また、東日本大震災においては、マグニチュード 9.0 の地震によって、9.3m 以上（14.8m の津波跡も確認されている）かつ最大遡上高 40.5m の津波によって、死者 19,775 人・行方不明者 2,550 人・負傷者 6,242 人・避難生活者 29,328 人となる大災害であった^{6,7)}。加えて、南海トラフ地震が今後 30 年以内に来る可能性が 80%程度あることが予想されており⁸⁾、津波によって 10 万人以上の犠牲が出る⁹⁾ことが想定されている。これらの報告は、今後、水害からの避難対策を充実させておく必要があることを示唆している。

災害が発生した際、自力避難が困難であり、安全な場所に避難するための支援を必要とする高齢者・障害者・乳幼児などは災害時避難行動要支援者（以下、要支援者）と定義されている^{10,11)}。要支援者の中でも特に乳幼児は、発達段階の途中であり、自

己判断力が低く大人への依存度が高い。つまり、発達段階の様々な子どもが共に生活している保育現場では、要支援者が多く、水害のような緊急避難を要する災害が発生した場合、保育者等の大人の力が子どもの安全や命を守る上で非常に重要になる。そこで我々は、垂直避難時における保育者の身体負担に関して令和 3 年度助成で検討した。その結果、1 歳児四人を抱えて 4 階まで避難させる際の最大心拍数は 140 拍/分程度、%HRmax は 70%程度、RPE は 18 程度であり、子どもを抱えての垂直避難の運動強度は中～高強度であることを明らかにしている¹²⁾。さらに、その実験の中で対象者から「想像していた以上の身体負担・避難時間を要した」などの『ズレ』を感じるコメントを多数受けた。

災害リスクの適切な評価は、様々な防災・減災活動の出発点であり、それが行われず、避難行動が行われないことがある¹³⁾。そのため、災害リスクを適切に評価・想定する能力が重要である。万が一、保育者の『ズレ』が大きい場合には、自身の命だけでなく助けることができた園児の命の犠牲につながる危険性が考えられる。しかし、避難状況での避難時間や身体的負担感におけるズレの大きさについては明らかにされていない。

以上のことから、本研究では、防災マニュアル見直しに繋がる基礎資料の獲得を目指し、乳児を抱え

ての避難行動時間の予測と実際の『ズレ』について、①どの程度のズレがあるのか？、②どのような要因がズレを生じさせるのか？を体力科学的観点及び心理学的観点から明らかにすることを目的とした。R6年度は、避難の中でも「垂直避難」に着目し、検討を行ったので、その途中経過を報告する。

【方法】

(1) 対象

対象者は、教育・保育職を目指す健常な男子大学生10名（年齢：20±2歳，身長：171.1±3.0cm，体重：65.1±11.0kg），女子大学生14名（年齢：19±1歳，身長：160.0±3.2cm，体重：51.4±4.9kg）とした。対象者には、研究の目的，方法，参加しないことによって不利益が生じないこと及び体調異変の際にはすぐに調査協力を中断できることを説明し，参加の同意を得た。尚，中央値±2SDを逸脱した女性2名を外れ値とし，データから除外した。

本研究は，就実大学短期大学教育・研究倫理安全委員会の承認（No.2024-11）を得て実施した。

(2) 避難支援行動シミュレーション

2歳児は自力歩行による避難が概ね可能であることに対して，1歳児以下ではおんぶや抱っこで避難する必要がある場合が多い¹⁴⁾。そのため，本研究では避難支援対象を1歳児とした。

実験に用いた建物を図1に示す（図1）。1歳児二

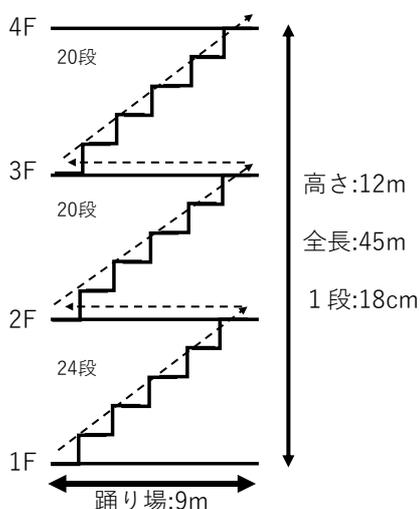


図1. 避難経路図

人を建物の一階から四階（約11m）まで避難支援を行うことを想定した。子供のモデルとして，1歳児の平均体重である10kg¹⁵⁾のバーベルプレートを二つ用いた。建物の一階で乳幼児モデルを一つ抱えた状態でスタートし，一人ずつ一往復半かけて避難支援させた。対象者には，自分自身及び子供を速やかに，かつ安全に避難することができる速さで避難するように指示を行った。

(3) 測定項目

①垂直避難時間

測定者の開始指示から避難支援を開始し，二人の子供（バーベル）が4階に到着するまでの時間を垂直避難時間とした。避難時間の計測はストップウォッチを使用し，一つ目のバーベルプレートを持った状態でスタートし，二つ目のバーベルプレートを持って4階に足が着いた瞬間をゴールとして計測を行った。

②身体的負担感

a) 主観的運動強度 (RPE)

避難内容の説明後に Borg スケール¹⁶⁾を用いて6～20（「非常に楽である」～「もうだめ」）の15段階で，避難後の主観的運動強度を予測させた。また，避難後に同様の質問に回答させ，実測値を測定した。

b) 疲労感

Visual Analogue Scale (VAS)を用いた疲労の評価が有効であること¹⁷⁾から，避難内容の説明後に100mmスケールのVAS法により，避難後の首・肩，腕，腰，脚それぞれの疲労感を予測させた。また，避難後に同様の質問に回答させ，実測値を測定した。0を「疲れを感じない最良の感覚」，100を「何もできないほど疲れきった最悪の感覚」とし，1mm単位で計測してそれをVAS値（以下，疲労感）とした。

③アンケート

a) 体力に対する自信

腕力、脚の筋力、持久力、足の速さについて、それぞれ同年代の同性と比較して自信があるかを、1を「まったくない」、4を「とても思う」とし、4件法で回答させ、16点満点で体力に対する自信として評価した。

b) 性格特性

性格特性を評価するためにNEO-FFI¹⁸⁾を行った。NEO-FFIは、全60項目で構成されており、それぞれ「まったくそうでない」～「非常にそうだ」の5件法で回答させるアンケートである。

c) 判断基準

「疲労感」と「避難時間」のそれぞれにおける判断基準を問うA～Gまでの7項目から複数選択可である質問を行った。また、避難時間におけるズレが大きい人上位5名とズレが小さい上位5名を選出し、判断基準の妥当性について検討した。

(4) 統計処理

測定値は平均値±標準偏差で示した。予測値と実測値との比較は対応ありのt検定、ズレの大きさと個人要因との関係はピアソンの積率相関係数を用いた。統計処理はIBM SPSS version29を用いた。すべての有意水準は5%未満とした。

【結果及び考察】

(1) ズレの大きさ

①垂直避難時間

垂直避難時間は、予測値は135.6±56.6秒、実測値は87.0±14.9秒であり、予測値が実測値と比較して有意な高値を示した(p<0.05)。この結果は、予想した時間よりも避難支援が早く遂行できたことを意味し、大きな問題がない「ズレ」のようにみえる。一方で、逆に考えると1歳児二人の避難支援時間予測値は、三人を避難支援できる時間であった。つまり、予想しているよりも少ない避難支援者(保育者)で、多くの子どもを避難させることができる

ことを示しており、避難マニュアル改善の参考になるものと考えられる。

②身体的負担感

RPE及び身体的疲労感の結果を表1に示す。RPEは、予測値は16.8±1.5、実測値は18.2±1.6であり、実測値が有意な高値を示した(p<0.05)。また、脚の疲労感も、予測値は76.5±17.2mm、実測値は86.9±12.5mmであり、実測値が有意な高値を示した(p<0.05)。

およそ1分半程度の避難行動において、RPEが18、脚の疲労感も90近くを示していることから、子どもを抱えての垂直避難は「かなりきつい」に相当する行動であることが推察される。さらに、予想よりも実際の疲労感が高いことから、避難訓練などの体験を通して、避難支援時の身体負担を把握しておく必要があるものと考えられる。

(2) ズレの大きさと各測定項目との関係

体力に対する自信と避難時間及び身体負担のズレの大きさと間に相関関係は認められなかった(図2a)。運動能力の主観的見積もりが、避難意識(災害時に避難行動を取るか取らないか)に影響を及ぼすこと¹⁹⁾は明らかにされているが、実際に避難する際の時間・身体負担の予測には影響を及ぼさない可能性が示唆された。

一方で、性格特性の一つである開放性と避難時間におけるズレの大きさと間に有意な正の相関が認められた(r=0.440)(図2b)。開放性とは、「新しい考えを求める」「好奇心旺盛」といった革新的な性格である。先行研究では、保守的な性格の者の避難意識が高いこと²⁰⁾が報告されており、本研究の結果とは一致しない。今後、対象人数・実験条件を増やすことなどを通して、ズレの大きさと性格特性の関係について更に検討していく。

(3) 判断基準

避難時間及び身体的負担感を予測するにあたっての判断基準を図3a・bに示す。どちらにおいても、「自身の運動経験」、「自身の運動能力」、「階段

利用時の記憶」が多かった。また、「なんとなく」を選択している者は、どちらも全体の4分の1未満であり、何かしらの根拠を持って予測していたことが示された。次に、避難時間におけるズレが大きい上位5名とズレが小さい上位5名を選出し、判断基準の妥当性について検討した。その結果、上位下位ともに何らかの判断基準を用いて予測している

人がほとんどであった。さらに、ズレが大きい者に「なんとなく」を選択していた回答者がいなかった一方で、ズレが小さい者の中に「なんとなく」を選択していた者がいた(図3c)。これらの結果から、避難時間などを予測する際の根拠としている判断基準は、避難支援するうえで妥当性が低い可能性が示された。

表1. 身体的負担感の予測値及び実測値

	首・肩 (mm)	腕 (mm)	腰 (mm)	脚 (mm)	RPE
予測値	47.1 ± 17.4	67.0 ± 17.6	63.7 ± 21.0	76.5 ± 17.2	16.8 ± 1.5
実測値	41.4 ± 25.5	64.4 ± 25.4	50.1 ± 28.1	86.9 ± 12.5	18.2 ± 1.6

* : p<0.05 予測値 vs. 実測値

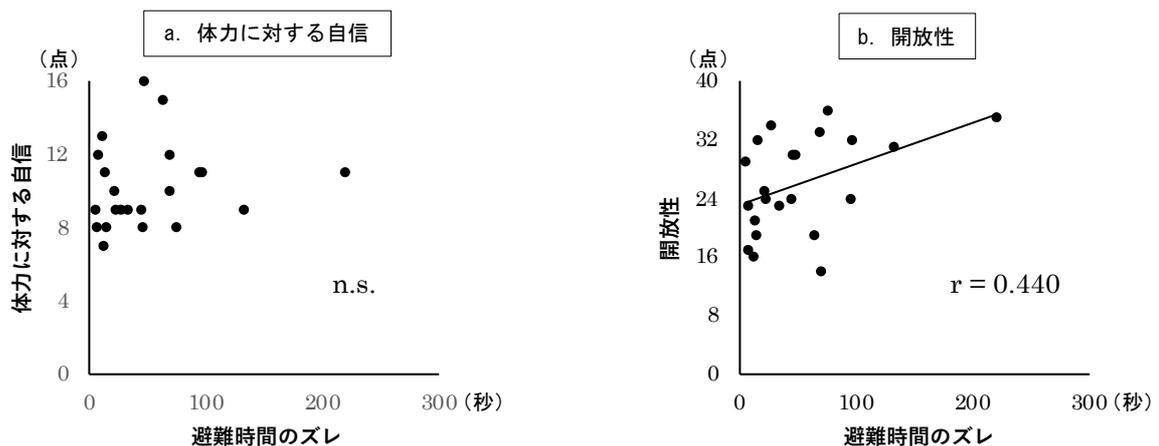


図2. 避難時間のズレと各項目の関係

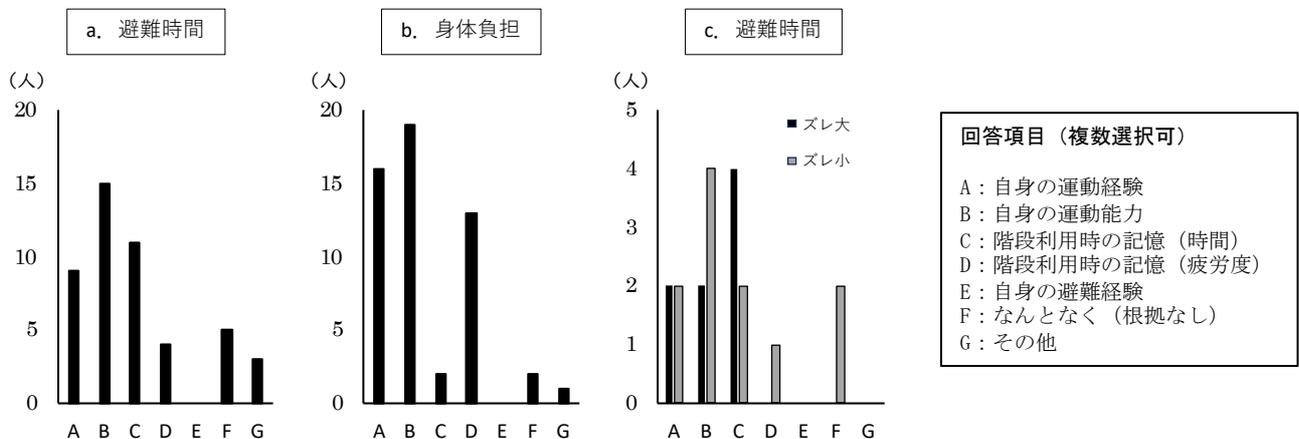


図3. 予測の判断基準

【本研究の限界】

本研究の対象者は教育学部に在籍する大学生であった。授業や実習などを通して子どもに関する知識を得ているとしても、子どもに関わっている経験・時間は少ないため、予測の「ズレ」が生じている可能性は否定できない。そのため、今後は実際の保育者を対象に検討していく必要がある。一方で、保育学生に対して、避難支援の体験をさせていく必要性が示された点に関しては、本研究の成果である。

【まとめ】

本研究は、乳幼児モデルを抱えての垂直避難時間における予測値と実測値の『ズレ』の大きさと、その大小の要因を明らかにすることを目的とした。その結果、避難時間は過大に予測することに対して、身体疲労度は過小に予測することが明らかになった。また、性格特性の一つである開放性が避難時間におけるズレの大きさに関係がある可能性が示唆された。さらに、予測値を判断する基準はズレの大きさに及ぼす影響が小さい可能性が示唆された。

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。また、本研究にご参加いただいた対象者の方々にも感謝申し上げます。

【参考文献】

- 1) 内閣府：平成 22 年版防災白書。
<https://www.bousai.go.jp/kaigirep/hakusho/h22/index.htm>
- 2) 環境省，文部科学省，農林水産省，国土交通省，気象庁：気候変動の観測・予測及び影響評価統合レポート 2018～日本の気候変動とその影響～。
https://www.env.go.jp/earth/tekiou/pamph2018_full.pdf
- 3) 日本災害情報学会 平成 30 年西日本豪雨災害調査団：平成 30 年西日本豪雨災害に関する調

査報告書。

http://www.jasdis.gr.jp/_userdata/06chousa/30gouu/nishinohon.pdf

- 4) 内閣府：令和元年版防災白書。
<https://www.bousai.go.jp/kaigirep/hakusho/h31/>
- 5) 国土交通省：河川事業概要 2023 水害リスクの高い日本。
https://www.mlit.go.jp/river/pamphlet_jirei/kasen/gaiyou/panf/pdf/2023/kasengaiyou2023_1.pdf
- 6) 国土交通省：平成 23 年(2011 年)東北地方太平洋沖地震(東日本大震災)について。
https://www.data.jma.go.jp/eqev/data/2011_03_11_tohoku/index.html
- 7) 内閣府 防災情報のページ：特集 東日本大震災。
https://www.bousai.go.jp/kohou/kouhoubousai/h23/63/special_01.html
- 8) 地震調査研究推進本部 地震調査委員会：長期評価による地震発生確率値の更新について。
https://www.static.jishin.go.jp/resource/evaluation/long_term_evaluation/updates/prob2025.pdf
- 9) 中央防災会議 防災対策推実行会議 南海トラフ巨大地震対策検討ワーキンググループ：南海トラフ巨大地震 最大クラス地震における被害想定について【定量的な被害量】。
https://www.bousai.go.jp/jishin/nankai/taisaku_wg_02/pdf/saidai_01.pdf
- 10) 日本赤十字社：災害時要援護者の避難支援ガイドライン(2006)；
http://www.jrc.or.jp/activity/saigai/pdf/saigaikyugo-3_document.pdf
- 11) 内閣府(2013)：避難行動要支援者の避難行動支援に関する取組指針；
<http://www.bousai.go.jp/taisaku/hisaisyagyousei/youengosya/h25/pdf/hinansienhonbun.pdf>
- 12) 飯田智行：体力科学的観点から考える岡山県内

「防災教育」ガイドラインの提案. 公益財団法人 ウエスコ学術振興財団 令和3年度研究費助成 研究成果報告書集. p218-222. 2022

- 13) 菊池聡：災害における認知バイアスをどう捉えるかー認知心理学の知見を防災減災に応用するー. 日本地すべり学会誌 55(6) p286-292.2018
- 14) 原田眞澄：東日本大震災における保育士の対応に関する文献検討. 中国学園紀要 11.p13-18.2012
- 15) 厚生労働省：平成22年乳幼児身体発育調査報告書（概要）.
<https://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/2r9852000001tmet-att/2r9852000001tmea.pdf>
- 16) Borg GA：Perceived exertion：a note on “history” and methods：Med Sci Sports Exerc5,p90-93,1973
- 17) 日本疲労学会：抗疲労臨床評価ガイドライン.
<https://j-fatigue.jp/wp-content/uploads/2024/02/guideline.pdf>
- 18) 下仲順子, 中里克治, 権藤恭之, 高山緑：日本版 NEO-PI-R NEO-FFI 使用マニュアルー改定増量版ー（成人・大学生用）.2011
- 19) 大山剛史, 綾部誠也, 齋藤誠二, 井上里加子, 迫明仁, 犬飼義秀：平成30年7月豪雨被災地域住民を対象とした運動能力の主観的見積りと災害発生時避難意図との関係.人間工学 55(6)p254-257.2019
- 20) 竹之内耀大, 山口行一, 岩崎義一：住民の性格が避難意識に与える影響分析.日本都市計画学会関西支部研究発表会講演概要集 14.p117-120.2016

情動粒度の測定方法の開発:未分化状態の情動へのアプローチ

就実大学教育学部教育心理学科 (現 心理学部心理学科)

鈴木国威

(概要)

本研究は情動粒度に関して新しい測定方法を開発し、その方法の信頼性と妥当性を検証することを目的としている。情動粒度の新しい測定方法が必要な理由として、一つは従来の測定方法が扱っていなかった言語化できない感情や情動の体験の測定を試みることで、二つ目は情動語を利用した測定での問題点を克服することがあげられる。新しい測定方法では、一対比較法を採用し、感情や情動を体験する状況を対呈示することで、その体験の類似度を測定した。類似度の評定結果から、情動粒度に関する指標を算出した。具体的には、類似度評定の平均値、多次元尺度法によって算出された共通布置における軸の重み付け、類似度評定の標準偏差などであった。各指標の分布や共通布置は個人差を表現し、また解釈可能なものが算出された。他方、再テスト信頼性係数や内受容感覚の正確性尺度との相関は、十分に高いとは言えなかった。再テスト信頼性係数や内受容感覚の正確性尺度との相関は、類似度の判断の際の確信度によって、変動する可能性が示唆された。今後、このアプローチを検討する際の課題が明らかとなった。

序論

本研究は情動粒度の新しい測定方法の開発を目的としている。情動粒度とは、体験している感情や情動の把握のきめ細やかさを表している。情動粒度が高い人は、自分自身の感情をきめ細やかに捉えることができる。

情動粒度の測定において、従来の方法では、経験サンプリング方を用いているため、数日～数ヶ月の長期間の参加が必要である。また、情動語（喜び、驚き、怒りなど）を用いて、体験している感情や情動の当てはまりを測定しているため、情動語の網羅性などにも問題があると考えられる(詳細な議論は、鈴木 & 勝間, 2024; 2023)。

また情動粒度における従来の枠組みでは、「何か異なる」といった未分化状態(明確な非言語化以前)での情動の違いの気づきについては、取り扱われていなかった。我々は、自分自身の感情や情動に関する体験を把握する際には、言語に必ず依存しているとは言い難いと考えられる。もちろん言語化することで明瞭になることは否定しないが、感情や情動の体験を意識下で捉える可能性があることは、少なくとも言えるのではないかと考えられる。

本研究では、上記の問題点を回避するために、一対比較法を用いて、情動粒度を測定することを試みる。本研究の一対比較法では、情動に関する状況を対にし、それぞれの状況下において経験する感情や情動を比較することを求める。そのため、情動語の呈示は行われないので、情動語の網羅性に関する問題を回避することが期待できる。

方法

参加者

1 時点目：調査会社に依頼をし、11100 人に調査を依頼した。調査の参加に同意を示し、期限以内に回答し終えたのが 581 人であった。また回答に不備があったものを除外し、475 人を分析対象とした(女性：224 人、男性：249 人、性別を報告しない：2 人; 平均年齢 32.63 歳 (SD=5.10 歳)、17 歳～39 歳)。

2 時点目：1 時点目と同様の調査会社に依頼を行った。1 時点目に回答した参加者に調査を依頼した。有効な回答を行ったのは 370 人であった(女性：170 人、男性：199 人、性別を報告しない：1 人; 平均年齢 32.69 歳(SD=5.01 歳)、17 歳～39 歳)。

調査の概要

2024年に2回、インターネットでの調査を行った。1時点目は11月13日(水)～11月15日(金)、2時点目 12月13日(金)～12月18日(水)であった。

一対比較法

3種類の刺激を用いて、それぞれの種類ごとに一対比較法による測定を実施した。対呈示された刺激について、類似度の評価させた(1:非常に似ている～5:非常に異なる)。

状況

快感情と関連のある状況(快状況)と不快感情(不快状況)と関連のある状況をそれぞれ5つ用意し、快状況と不快状況ごとに対呈示を行った(刺激の詳細は、鈴木 & 勝間, 2022)。また、状況に伴う感情が類似しているかどうかの判断(類似度評価)において、どの程度確信があるのかどうかを評価させた(1:とても確信がある～5:全く確信がない)。

身体感覚

ある感情の体験時の身体感覚の類似度を評価させた。身体感覚については、心臓の鼓動や呼吸に注目させた。感情については、感情の円環モデルにおいて、感情価や覚醒度の高低の組み合わせを表す情動語を用いた(例えば、感情価が高く、覚醒度が高い感情は「高揚しているとき」)。

果物

5つの果物の単語(りんご、もも、なし、かき、ぶどう)を対呈示し、類似度を評価させた。

内受容感覚の正確性尺度

内受容感覚について、測定を行った。内受容感覚の正確性の測定尺度は、Murphy et al. (2020)が作成し、小池(2023)が日本語版を公表した。各項目に対して、全くそう思わない(1)～強くそう思う(5)に最も当てはまるものを選択させた。

結果

状況の一対比較で得られた類似度を情動粒度と考えられる指標に変換を行った。また、その他の一対比較法で得られた類似度についても、それぞれの測定に関する個人差を表すように変換した。類似度について、個人ごとに類似度の平均値および個人差多次元尺度法での軸の重みづけ(下記の共通布置で、個人が軸をどの程度伸縮しているかを示している)をそれぞれ算出した。

状況を一対比較した際の類似度の平均値の分布は、快状況、不快状況、また両時点ともに中心の3が多い単峰性であった(ここでは例として、2時点目の快状況と不快状況の分布(図1、図2)を掲載する)。

続いて、多次元尺度法の結果を示す。多次元尺度法の結果、快状況、不快状況で両時点ともに、2次

図1 2時点目の快状況での平均類似度

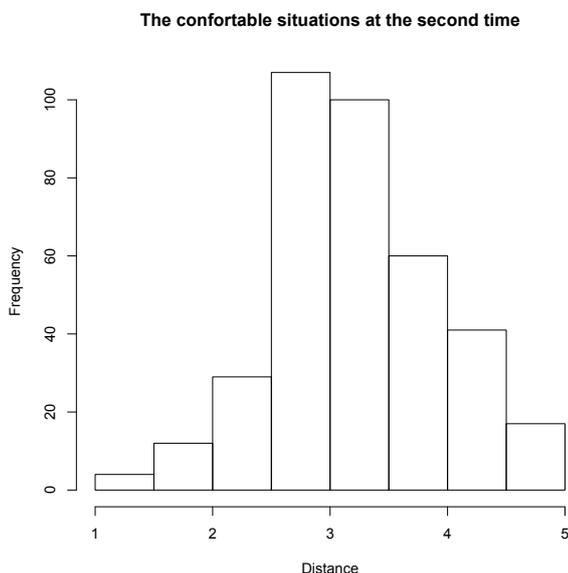


図2 2時点目の不快状況での平均類似度

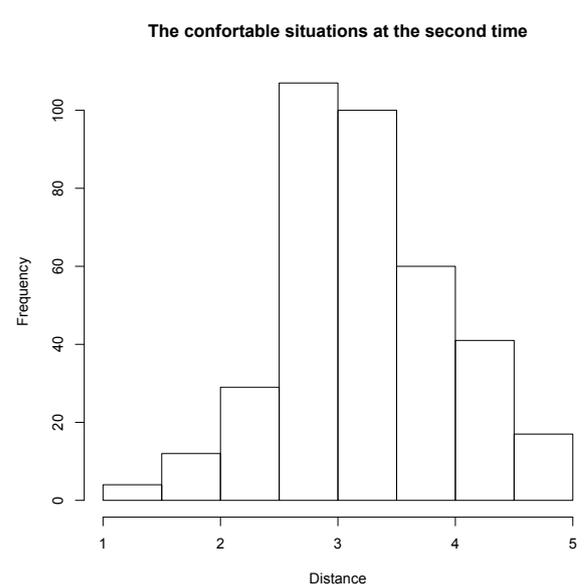
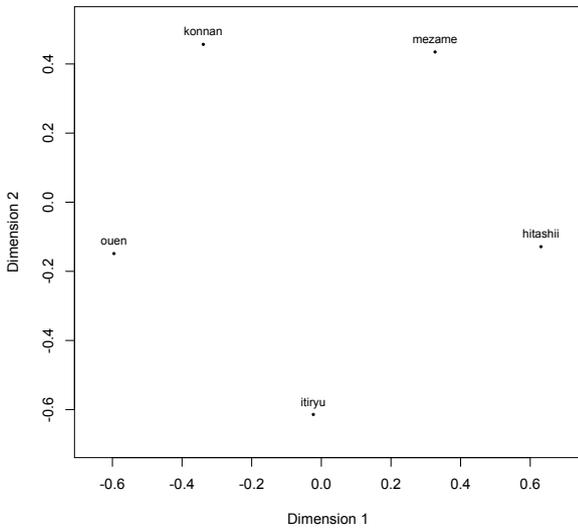


図3 快状況での共通布置 (1 時点目)

Plot of similarity under the comfortable situations at the first time



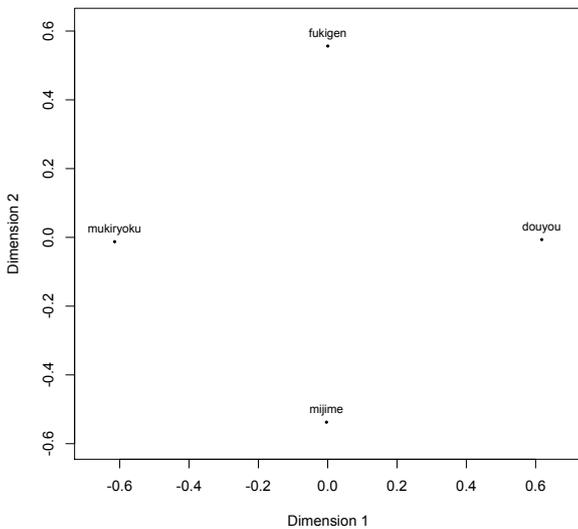
注) それぞれのプロットの上にある文字は、状況を表す単語を示している

例: mezame = 「目覚めの良い朝を迎えて、やる気がみなぎっているとき」

元の空間が適切であることが示された (ストレス値と解釈可能性)。ここでは、快状況で1時点目の結果を示す (図3)。なお、1時点目と2時点目の各状況の座標の相関係数を算出したところ、快状況および不快状況ともに0.99であった。従って、両時点ともに、同一の空間であると考えられる。

図5 不快での心臓の鼓動の共通布置 (1 時点目)

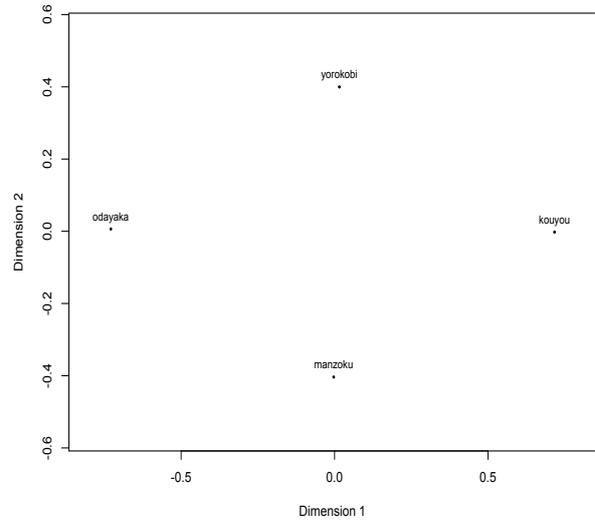
Plot of heart's similarity under the uncomfortable situations at the first time



注) プロットの近くの文字は情動語を表している (例 fukigen = 「不機嫌なとき」)

図4 快での心臓の鼓動の共通布置 (1 時点目)

Plot of heart's similarity under the comfortable situations at the first time



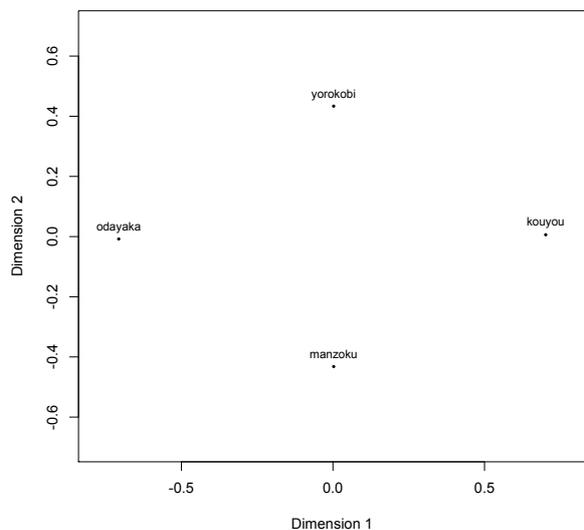
注) それぞれのプロットの上にある文字は、情動語を示している

例: yorokobi = 「喜んでいるとき」

また感情を体験している際の身体感覚の類似度について、多次元尺度法を実施した。ストレス値から2次元として解釈可能と判断した (例として、図4~図7)。心臓の鼓動と呼吸の感覚の共通布置は、両身体感覚において情動語の関係が類似していることを示している。従って、情動語が示す感情を経験して

図6 快での呼吸の共通布置 (1 時点目)

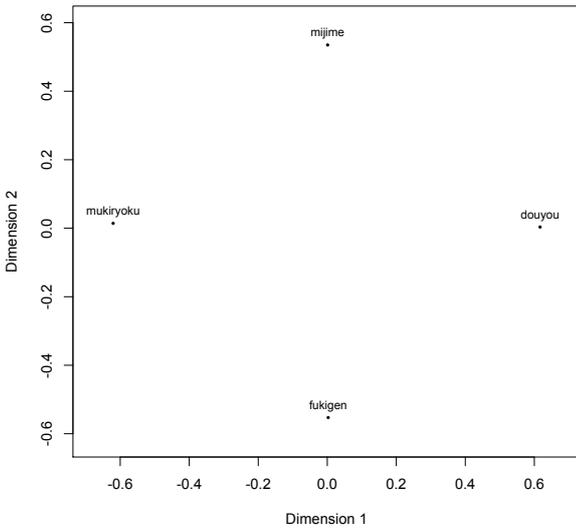
Plot of breath's similarity under the comfortable situations at the first time



注) プロットの近くの文字は情動語を表している (例 fukigen = 「不機嫌なとき」)

図7 不快での呼吸の共通布置 (1 時点目)

Plot of breath's similarity under the uncomfortable situations at the first ti



注) プロットの近くの文字は情動語を表している 例 : yorokobi = 「喜んでいるとき」

いるときの心臓の鼓動や呼吸の感覚は、おおよそ類似していると推察される。

さらに果物の類似度について、それぞれ多次元尺度法を実施した。ストレス値から2次元で表現できると考えられた。またどちらも両時点の共通布置は類似していた (例として、図8)。

次に、快状況や不快状況での共通布置の座標と感情価と覚醒度との関連を検討した。使用された状況の感情価と覚醒度の平均値は別の研究(鈴木 & 勝間, 2023)ですでに測定済みであった。その平均値と

図9 快状況での類似度評定の標準偏差 (2 時点目)

The comfortable situations at the second time

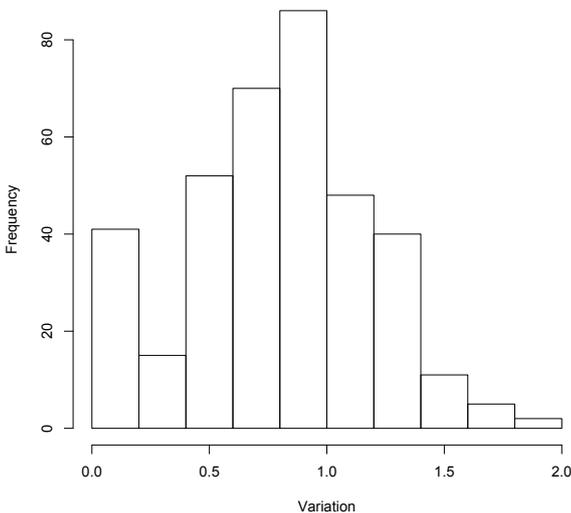
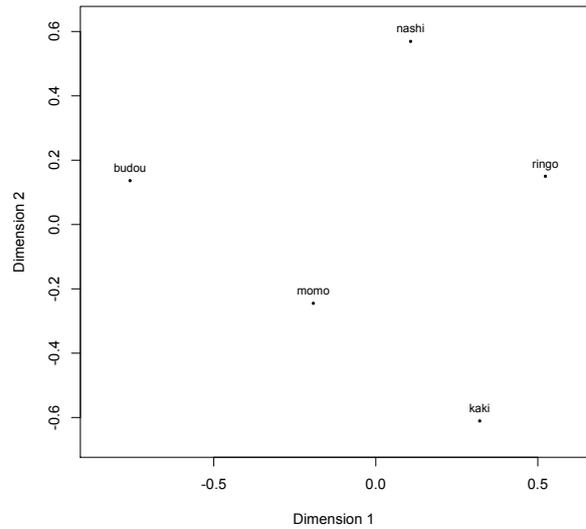


図8 果物での共通布置 (1 時点目)

Plot of Fruit at the first time



注) プロットの近くの文字はくだもの名称を示している (例 nashi = なし)

各状況の座標との相関は、一時点目の快状況の第1軸では-0.11、2時点目は-0.12であった。快状況の第2軸において、一時点目は-0.91、2時点目は-0.92であった。また覚醒度との相関係数は、快状況の第1軸において、一時点目では-0.16、2時点目では-0.14であった。第2軸において、両時点とのみ-0.62であった。

不快状況下において、両時点ともに第1軸は感情価との相関が0.84程度、第2軸は-0.94程度であった。したがって、快状況における第1軸の解釈は難しいものの、不快状況において第1軸が感情価、第2軸が覚醒度との関連があると考えられる。

感情や情動の体験の大きさは、体験する個人の一貫性があると考えられる一方で、その刺激ごとに揺れ動く側面も存在すると考えられる。本研究においては、一対比較法における状況の類似度評定の変動性で表すことが可能と考えられる。そこで、快状況、不快状況ごとに類似度評定の標準偏差を求めた。類似度の標準偏差の分布から、おおよそ標準偏差が1程度の人が多いことが明らかとなった。(参考2時点目の快状況を図9に示す)。また、類似度評定が一貫している参加者が少なからず存在している一方で、標準偏差が1.5以上という変動が大きい人もいることが明らかとなった。

再テスト信頼性

情動粒度を反映していると考えられる指標の1時点目と2時点目との相関係数を検討した。類似度評定の平均値に関しては、快状況が0.52、不快状況では0.45であった。また類似度評定での変動を表す標準偏差では、快状況では0.51、不快状況では0.62であった。多次元尺度法による軸ごとの重み付けの相関係数を検討したところ、-0.06~0.11であった。

類似度評定を行う際の確信度の程度で、類似度が変動している可能性がある。そのため、確信度が高い場合（評定が1と2）の場合と確信度が低い場合（評定が4と5）の類似度の平均値をそれぞれ算出した。類似度平均の1時点目と2時点目の相関係数を算出したところ、確信が高い場合には、快状況は0.55、不快状況は0.46であった。確信度が低い場合には、快状況は0.28、不快状況は0.30であった。

内受容感覚の正確性尺度との関連性

内受容感覚の正確性尺度について報告する。先行研究では、内受容感覚の正確性尺度は2因子構造であることが示されているが、因子の解釈が難しいことが議論されており、尺度として使用する際には1因子として利用することが可能であることが示されている。本研究では、まず因子分析によって因子数を検討した。その結果、固有値が1以上という基準を採用した場合やスクリープロットの推定からは1因子、平行法では5因子であることが示された。内受容感覚の正確性尺度は、多様な意味を持つ因子が存在する可能性があるが、本研究では1因子構造であるとみなした。内受容感覚の正確性尺度の分布を図10に示す。単峰性の分布であり、3~4に多くの頻度があることが明らかとなった。また、内受容感覚の正確性尺度の α 係数は0.95であった。

一対比較法によって算出された指標と内受容感覚の正確性尺度との関連を示す。快状況との相関係数は-0.03、不快感情との関連性は-0.12であった。また、類似度評定の標準偏差との関連性は、快状況が0.12、不快状況では0.24であった。

多次元尺度法による推定された個人ごとの軸の重

みづけ（上記で示した、共通布置を個人がどの程度伸縮するかを示している）との関連性も検討した。-0.11~0.04であり、両状況また両軸ともに関連性がなかった。

確信度の高低による類似度評定の平均値と内受容感覚の正確性尺度との関連を検討した。確信度が高い場合には、快状況が-0.14、不快状況が-0.13であった。確信度が低い場合には、快状況が0.13、不快状況が0.15であった。

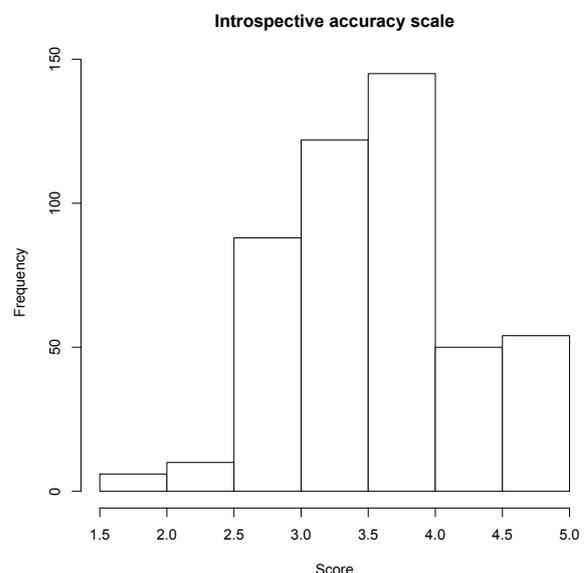
他の類似度指標との関連

情動粒度を反映していると考えられる指標と身体感覚や果物の類似度に関する個人差との関連性を検討した。類似度評定間の相関係数は0.40程度であった。他方、多次元尺度法による重み付け間の相関はほぼ無かった。

考察

本研究では、情動粒度の新しい測定方法を開発し、その信頼性と妥当性を検討することを目的とした。一対比較法によって得られた類似度評定の平均値の分布はおおよそ正規分布を反映しているものと考えられる。また多次元尺度法によって推定された共通布置は、感情の研究で示された2次元空間との対応が示されていると考えられる。しかしながら、本家研究で得られた快状況の第1軸の解釈は再検討の余

図10 内受容感覚の正確性の分布



地があると考えられる。

再テスト信頼性の結果から、類似度の平均値の方が多次元尺度法の重み付けよりも、信頼性係数が高いことが示された。情動粒度の指標としては、類似度評定の平均値の信頼性の方がより高いことを示唆している。また、高確信度時の信頼性係数は低い時よりも高いことが示された。したがって確信度によって、類似度評定の結果を分けた方が良い場合があることが示唆された。

他方、本研究で得られた情動粒度の指標の信頼性はやや低いことが示された。しかしながら、本研究で提案された新しい情動粒度の測定方法の信頼性が著しく低いと結論づけるのは性急である。なぜならば、再テスト信頼性は内的一貫性を示す信頼性（例えば α 係数）とは関連性がない（小塩, 2016）ことから、一対比較法での情動粒度の測定については、内的一貫性の観点からの信頼性の検討も必要であるためである。一対比較法による尺度の信頼性については、提案がされているものの、統計ソフトウェアでの実装は著者が知る限りされていないので、分析を実行できるための開発を行う必要がある。

内受容感覚の正確性尺度と一対比較法によって得られた類似度からの情動粒度の指標との相関係数は低かった。情動粒度と内受容感覚との関連性があるとは言い難いと考えられる。他方、不快状況の類似度評定の標準偏差との相関係数は低いながらも関連性を示唆するものであった。また確信度が高い場合よりも低い場合の方がより関連性が高まっている可能性も示唆された。

まとめると、本研究で検討された情動粒度の新しい測定方法は、信頼性や妥当性が十分でないものの、今後の利用に向けての可能性のあるものと考えられる。検討すべき課題としては、1) 内的一貫性に関する信頼性の検討、2) 感情や情動の体験の変動を考慮した情動粒度の測定方法の開発（特に不快状況）、3) 類似度評定時の確信度の変動の検討、などが明らかとなった。

引用文献

Koike, H. & Nomura, M. Development and Validation of

Japanese Versions of the Interoceptive Accuracy Scale and Interoceptive Attention Scale. *SAGE Open* **13**, 21582440231214639 (2023).

Murphy, J. *et al.* Testing the independence of self-reported interoceptive accuracy and attention. *Q. J. Exp. Psychol.* **73**, 115–133 (2019).

小塩真司. 心理尺度構成における再検査信頼性係数の評価. *心理学評論* **59**, 68–83 (2016).

鈴木国威・勝間理沙. 情動語を用いない情動粒度の測定法:質問紙による探索的検討 *就実大学大学院教育学研究科紀要*, **9**, 11-22. (2024).

鈴木国威・勝間理沙. 情動語を用いない情動粒度の測定法のための予備的調査 *就実大学大学院教育学研究科紀要*, **8**, 11-21. (2023).

謝辞

本研究を遂行するにあたりご支援ください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。

心理実習生の認知的柔軟性と精神的回復力を育むプログラムの開発と効果検証 その1

就実大学 教育学部 教育心理学科

永田 忍

公認心理師カリキュラムの柱の1つである学部の心理実習では、公認心理師を目指す強い意志をもっているにもかかわらず、実際の心理職の業務の奥深さを知ることによって不安感情を抱き心理職を目指すことに迷いが生じる学生が毎年一定数存在する。また、当大学の心理実習は3年次に配置されていることがあり、実習体験の場が、将来の方向性、すなわち、心理職を目指すか、一般就職をするかを熟考する機会となる。公認心理師を目指す学生はもちろんのこと、一般就職をする学生も、社会人となってからは、容易に解決できない業務上の課題や対人関係のストレスに直面することとなる。よって、心理職を目指すか否かにかかわらず、学生は社会人となる前に、あらゆるストレス状況を柔軟に受け止め(認知的柔軟性)、乗り越えていく力(精神的回復力)を身につけることが必須であると思われる。

本研究では、心理実習の事前指導の一環として筆者らが作成した全5回で構成される第3世代の認知行動療法をベースとした心理教育プログラムを実施し、その効果を検証した。

【問題と目的】

公認心理師カリキュラムの一つである「心理実習」は、見学を主とする内容ではあるものの、心理専門職が働く現場を実際に目にして学ぶ貴重な機会である。公認心理師の業務は、要心理支援者の観察と分析にはじまり、要心理支援者とその関係者に対する相談・助言・指導、さらには、心の健康に関する知識の普及まで、実に幅広い。加えて、公認心理師は諸領域にまたがる汎用資格であるため、有資格者が働く現場は多岐にわたる。心理実習に臨む実習生は、実習に先立って公認心理師の業務や他職種連携について講義を通して学んでいるものの、実際に現場に足を踏み入れてみると、自らが想像している以上の難しさに直面し、戸惑いや不安を感じる学生が毎年一定数存在する。その原因を探るため、永田・林・石井(2023)、永田・林・山田(2025)では、学生の心理実習へのモチベーションを左右する要因について検討した。その結果、「実習で得られた達成感」「学生を支える周囲の人々と実習環境」「職業選択肢の増加」といった経験が心理実習へのモチベーションを高めていることが明らかとなった。その一方で、「困難を感じる指導者、要心理支援者との関係と実習環境」「実習に対するネガティブな感情」といった経験が心理実習へのモチベーションを低下させていることが明らかとなった。当大学の心理実習は3年次に配置

されていることがあり、実習体験の場が、将来の方向性、すなわち、心理職を目指すか、一般就職をするかを熟考する機会となっている。公認心理師を目指す学生はもちろんのこと、一般就職をする学生も、社会人となってからは、容易に解決できない業務上の課題や対人関係のストレスに直面することとなる。よって、心理職を目指すか否かにかかわらず、学生は社会人となる前に、あらゆるストレス状況を柔軟に受け止め(認知的柔軟性)、乗り越えていく力(精神的回復力)を身につけることが必須であると思われる。

本研究では、上記の力を育むことを目的として、心理実習の事前指導の一環として筆者らが作成した全5回で構成される第3世代の認知行動療法の1つであるアクセプタンス&コミットメントセラピー(Acceptance and Commitment therapy 以下、ACT)をベースとした心理教育プログラムを実施し、その効果を検証した。

【方法】

1. 対象者:A 大学の3年生で、2024年度の心理実習I(3年前期:福祉分野、司法・犯罪分野、産業・老父同分野、学内心理臨床センターの実習)を履修した者。
2. データ収集および分析方法:対象者に対して、各施設での心理実習体験前にACTプログラム(Figure 1)を実施した。プログラム開始前に「心理実習は、初めて心理職が働く現場を目にして、学内の座学で学んでいな

いことや、異なることを知ることで戸惑ったり、不安になることがあると思います。そのようなときに活用できるスキルを練習します」と教示した。各施設での実習体験前 (Time 1), 体験直後 (Time 2), 心理実習Iの事後指導終了時 (Time 3), 事後指導終了から1か月後 (Time 4) の4時点で、認知的柔軟性尺度(CFS), 精神的回復力尺度(ARS), PHQ-9(うつ症状評価), GAD-7(全般性不安症状評価)に回答してもらい、プログラムの効果を検証するために、一要因の分散分析を行った。分析には HAD Ver.18.0 を使用した。本プログラムは心理実習Iの期間だけでなく、事後指導終了後も継続的に実践するよう伝え、その間、ホームワークとしてプログラムで学んだ内容を練習する過程での疑問や気づきに関して、Google フォームに記入してもらった。

各プログラム	プログラム内容 (講義・ワーク等の計90分) +ホームワーク
第1回	不安という感情とネガティブな思考の関連を理解する (ACTマトリックス・思考の反弱・不安低減理論等) 実習中に負きたい姿勢や態度を検討する
第2回	不安という感情やネガティブな思考との付き合い方を学ぶエクササイズ① (心の中の言葉のすべてが真実とは限らないことに気づく)
第3回	不安という感情やネガティブな思考との付き合い方を学ぶエクササイズ② (心の中の言葉にとらわれると、できるはずの行動ができなくなってしまうことに気づく)
第4回	不安という感情やネガティブな思考との付き合い方を学ぶエクササイズ③ (心の中の言葉にとらわれず、今この自分を感じる)
第5回	不安という感情やネガティブな思考との付き合い方を学ぶエクササイズ④ (①から③を体験後、勇気をもって行動するイメージを感じる)

Figure 1 ACT プログラムの概要

3. 倫理的配慮

対象者には口頭と書面にて説明を行い、書面による同意を得た。本研究への参加は自由意思で決めることができ、不参加であっても何の不利益もないことを説明した。いつでも参加の取り消しができ、たとえ参加を拒否したり、途中で撤回したりしても、今後の学業成績には全く影響がないことを伝えた。本研究は、就実大学・就実短期大学教育・倫理安全委員会の承認を得て実施した(承認番号:2024-1)。

【結果】

すべての尺度において、各施設での実習体験前 (Time 1), 体験直後 (Time 2), 心理実習Iの事後指導終了後 (Time 3), 事後指導終了後から 1 か月後 (Time 4) で有意差は認められなかった (Table 1)。

また、Google フォームでは、「以前はネガティブな思考が膨らんでいく一方だったが、最近ではホー

ムワークをしていないときでも、自分が考えていることを俯瞰しているような感覚になることが多くなった気がする」、「うまくできているか実感がわからない」、「すでに、自分なりの不安への対処法をもってしているので、改めてこのようなスキルを身につける必要性を感じない」などさまざまな回答が得られた。

Table 1 プログラム前後の評価尺度の変化

尺度	Time1 (N=22)		Time2 (N=20)		Time3 (N=21)		Time4 (N=17)		χ^2
	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	
認知的柔軟性	45.18	46.00	46.35	48.00	45.14	46.00	46.47	47.00	0.80
精神的回復力	66.77	68.50	69.85	73.00	70.67	71.00	69.59	71.00	0.85
新奇性追求	23.23	23.50	24.25	26.00	23.52	24.00	23.76	24.00	1.05
感情調整	26.45	25.50	27.60	28.00	28.62	28.00	27.47	27.00	1.26
肯定的な未来志向	17.09	19.00	18.00	19.50	18.52	19.00	18.35	19.00	1.18
Patient Health Questionnaire	6.18	4.50	5.95	4.50	5.05	5.00	5.29	5.00	0.15
Generalized Anxiety Disorder	3.68	1.50	3.40	2.50	2.05	1.00	3.00	2.00	0.74

【考察】

心理実習でのワークシートを作成することや、事前・事後指導での実習担当教員や学生の前で発表することなどに不安を抱く学生と、そうではない学生がおり、プログラムに取り組むモチベーションが個々人によって大きく異なっていた。そのため、ホームワークを実践しない学生も一定数存在していた。次年度は、プログラム導入時の教示を心理実習に限定したものはなく、日常生活全般に活用できるスキルであることや、心理職となるうえで必須のスキルであること等の教示を具体的に言い、さらに、それらをふまえたプログラム全体の修正を行ったうえで再度効果検証を行い、プログラムを完成させる。

【謝辞】

本研究のインタビューにご協力くださいました学生の皆様に厚く御礼申し上げます。また、本研究を遂行するにあたりご支援ください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。

【引用文献】

永田忍・林秀樹・石井佳葉(2023). 公認心理師志望学生の心理実習へのモチベーションに関する研究(第2報)—学部学生の実習での体験に関する調査を通して—. 就実教育実践研究, 8, 1-11.

永田忍・林秀樹・山田美穂(2025). コロナ禍における心理実習に対する学生のモチベーションに関する研究. 就実教育実践研究, 10, 83-94.

前立腺がんにおける小胞体ストレス応答を介した脂質メディエーター産生制御機構の解明

川崎医科大学 薬理学教室

北風 圭介

(概要)

リゾホスファチジン酸 (LPA) はがんの浸潤・転移などに関わる脂質メディエーターとして知られている。グリセロホスホジエステラーゼ GDE4 は細胞内の LPA 産生酵素であるが、GDE4 発現を制御する機序や GDE4 が産生した LPA が脂質メディエーターとして機能するかは不明である。一方、小胞体ストレス応答 (UPR) は小胞体の恒常性を維持する適応応答機構である。以上をもとに、本研究では UPR が GDE4 の発現を制御し、産生された LPA が脂質メディエーターとして機能するという仮説を検証した。ヒト前立腺がん細胞株に小胞体ストレス誘導剤を処理すると、GDE4 発現が有意に増加した。また、UPR 転写因子である ATF3、あるいは GDE4 遺伝子上流の ATF3 結合配列を CRISPR-Cas9 系により欠失させると、小胞体ストレスによる GDE4 発現の増加が観察されなくなった。野生型と比べ、GDE4 欠失細胞株の小胞体ストレス感受性は変化しなかったが、細胞増殖性は低下した。以上より、UPR は ATF3 を介して GDE4 の発現を亢進し、リゾリン脂質レベルの変動によって細胞増殖が亢進すると考えられた。

【背景】

小胞体ストレス応答 (unfolded protein response : UPR) は主に PERK、IRE1 α および ATF6 の 3 経路を介してアミノ酸や脂質代謝に関わる下流因子を制御し、小胞体の恒常性を維持する適応応答機構である [文献 1]。がん細胞では UPR が恒常的に活性化し、低酸素・低栄養ながん微小環境下における生存を促進することでがんの悪性化に関与することが知られている [文献 2]。

一方で、リゾリン脂質メディエーターであるリゾホスファチジン酸 (LPA) は、真核生物の組織や血漿に存在し、G タンパク質共役型の LPA 受容体を介して、発生、生理機能、病態進行などを制御している。LPA は主に血中のリゾホスホリパーゼ D 型酵素であるオートタキシン (ATX) によって産生される [文献 3]。近年、グリセロホスホジエステラーゼ GDE4 と GDE7 が ATX と同様に LPA を産生する細胞内のリゾホスホリパーゼ D 型酵素であることが報告された [文献 4, 5]。また、GDE4 や GDE7 の発現制御機構については、リポ多糖や低酸素環境により発現が誘導されること [文献 6, 7] や、ストレス応答性の転写因子 FOXO3a の欠損マウスにおいて GDE7 発現が低下す

る可能性 [文献 8] が報告されているが、詳細な分子機構は不明である。以上の背景から、GDE4 あるいは GDE7 はがん細胞の UPR 活性化に伴って LPA レベルを上昇させ、がんの進行を促進する可能性があると考えた。そこで本研究では UPR が GDE4/7 の発現を亢進する分子機構を検証した。

【結果】

(i) 小胞体ストレスによる GDE4/7 発現の亢進
内在性 GDE4 の発現が高いヒト前立腺がん細胞株 LNCaP に小胞体ストレス誘導剤であるツニカマイシン、タブシガルギンあるいは DTT を処理すると、UPR 関連因子および GDE4、GDE7 の mRNA 発現が増加した。また、小胞体ストレス誘導剤と同時に PERK、IRE1 α あるいは ATF6 阻害薬を処理すると、PERK 阻害薬を処理した場合にのみ GDE4 および GDE7 の発現が抑制された。小胞体ストレス誘導剤処理による GDE4 発現の増加は、ヒト前立腺がん細胞株 DU145 および PC3 でも確認できたことから、以後の実験では特に GDE4 に着目した。一方で小胞体ストレス感受性をウエスタンブロッティングによる UPR 関連因子の発現あるいは細胞生存率により

評価したが、野生型 (WT) と GDE4 ノックアウト細胞株 (GDE4KO) [文献 9] の間に大きな差はなかった。

(ii) UPR 転写因子ならびに転写因子結合配列の欠失 GDE4 遺伝子上流の UPR 転写因子結合配列を ChIP-Atlas (<https://chip-atlas.org/>) を用いて検索した結果、PERK 経路下流の転写因子である activating transcription factor 3 (ATF3) の結合配列が見出された。そこで、CRISPR-Cas9 系により LNCaP の該当配列を一部欠失させた (Δ BS, 図 1)。また、ATF3 ノックアウト細胞株 (ATF3KO) も作製した。その結果、小胞体ストレス誘導剤を処理した際の GDE4 遺伝子およびタンパク質発現の増加は Δ BS および ATF3KO では観察されなくなった。

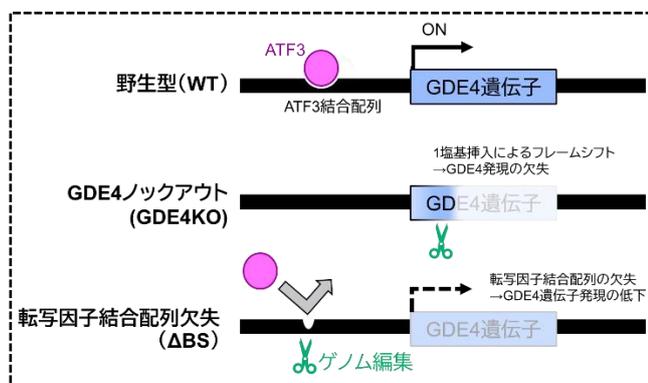


図 1. 本研究で用いた細胞株の概要

(iii) GDE4 が細胞増殖に与える影響

GDE4 によるリゾリン脂質レベルの変動がシグナル伝達経路に関わるかを調べるために、WT、GDE4KO および Δ BS の細胞増殖性を MTT アッセイおよび CellTiter-Glo アッセイを併用して評価した結果、WT に比べ GDE4KO や Δ BS では細胞増殖性が低下していた。一方で CytoSelect 創傷治癒アッセイによる創傷治癒能の評価では有意な差は認められなかった。なお、これらのアッセイでは FBS に含有されるオートタキシンや LPA の影響を減らすために、活性炭処理済み FBS を用いた。

さらに、RNA-seq による網羅的な mRNA 発現解析を行った結果、WT に比べて GDE4KO と Δ BS で共通して発現が 50%以下に低下する遺伝子群を同定し、定量的 PCR とウエスタンブロッティングでも発現の低下を確認した。さらに、質量分析でリゾリン脂

質レベルを分子種ごとに定量した結果、WT に比べ GDE4KO では GDE4 の基質であるリゾホスファチジルエタノールアミンの増加および生成物である LPA の減少が観察された。次にシグナル伝達経路を調べるために、関連リゾリン脂質に対する受容体の mRNA 発現を調べた結果、WT と GDE4KO とともに 2 型/3 型 LPA 受容体やペルオキシソーム増殖剤活性化受容体 (PPAR) α/γ の発現が認められた。そこで、WT に上記受容体に対するアンタゴニストを処理し、下流因子候補の mRNA 発現が変動するかを解析した。その結果、LPA 受容体に対するアンタゴニストを処理しても各遺伝子の発現に大きな変化はなかったが、PPAR γ アンタゴニストを処理すると、一部の候補遺伝子の発現が低下した。また、PPAR α アンタゴニストを処理すると、一部の候補遺伝子の発現が増加した。

【考察】

GDE4 および GDE7 は転写因子 ATF3 によって正に制御されていると考えられた。ATF3 は ATF/CREB 転写因子ファミリーに属する転写因子で、小胞体ストレスをはじめとする種々の細胞ストレスに応答し、細胞増殖・分化あるいは細胞死等の機能調節に関与する。GDE4 や GDE7 はリポ多糖や低酸素環境により発現が誘導されることが報告されているが、これらの細胞ストレスについても ATF3 が関与している可能性が考えられる。

また、GDE4KO や Δ BS で細胞増殖性が低下したことから、GDE4 によるリゾリン脂質レベルの変動がシグナル伝達に関わることを示唆された。RNA-seq やアンタゴニストを用いた実験結果からも、GDE4 によるリゾリン脂質レベルの変動が PPAR 等の受容体を介して下流因子の発現を制御している可能性が見出された。我々は以前に GDE7 が産生する環状ホスファチジン酸が PPAR γ を抑制することを報告しており [文献 10]、GDE4 と GDE7 は PPAR γ の活性を調節していることが示唆される。今後は、GDE4 の標的受容体および下流因子候補についてさらに詳細なメカニズムを検討する必要がある。

【参考文献】

- [1] Costa-Mattioli M. & Walter P. The integrated stress response: From mechanism to disease. *Science* 368:eaat5314, 2020
- [2] Zhang W. et al. Endoplasmic reticulum stress-a key guardian in cancer. *Cell Death Discov.* 10(1):343, 2024
- [3] Kano K., Aoki J. & Hla, T. Lysophospholipid mediators in health and disease. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease* 17, 459–483, 2022.
- [4] Tsuboi K. et al. Glycerophosphodiesterase GDE4 as a novel lysophospholipase D: a possible involvement in bioactive N-acylethanolamine biosynthesis. *Biochim Biophys Acta* 1851, 537–548, 2015
- [5] Rahman I.A.S. et al. Calcium-dependent generation of N-acylethanolamines and lysophosphatidic acids by glycerophosphodiesterase GDE7. *Biochim Biophys Acta* 1861, 1881–1892, 2016
- [6] Ohshima N. et al. New members of the mammalian glycerophosphodiester phosphodiesterase family: GDE4 and GDE7 produce lysophosphatidic acid by lysophospholipase D activity. *J Biol Chem.* 290(7):4260–4271, 2015
- [7] Shimizu Y. et al. Hypoxia increases cellular levels of phosphatidic acid and lysophospholipids in undifferentiated Caco-2 cells. *Lipids.* 58(2):93–103, 2023
- [8] Beaulac H.J. et al. Primed to die: an investigation of the genetic mechanisms underlying noise-induced hearing loss and cochlear damage in homozygous Foxo3-knockout mice. *Cell Death Dis.* 12(7):682, 2021
- [9] Kitakaze K. et al. Development of a selective fluorescence-based enzyme assay for glycerophosphodiesterase family members GDE4 and GDE7. *J Lipid Res* 62, 100141, 2021
- [10] Kitakaze K. et al. GDE7 produces cyclic phosphatidic acid in the ER lumen functioning as a lysophospholipid mediator. *Commun Biol.* 6(1):524, 2023

(表題)

がん細胞由来の乳酸がT細胞のPD-1発現調節機構に及ぼす影響の検討

(所属) 川崎医科大学 消化器内科学

(氏名) 佐々木 恭

(概要)

近年、がん細胞において解糖系最終産物として産生された乳酸が腫瘍免疫逃避機構に関与すると報告されている。がん微小環境において、腫瘍浸潤 effector Tcell (CD8+Tcell) と制御性 Tcell (Treg) におけるPD-1の発現バランスが、乳酸により調節されていると明らかにされた。肝がんを標的として、解糖系阻害剤 2deoxy-D-Glucose (2DG) により乳酸産生を抑制し、肝がん微小環境における免疫細胞 (CD8+Tcell, Treg) への影響および抗腫瘍効果について検討した。

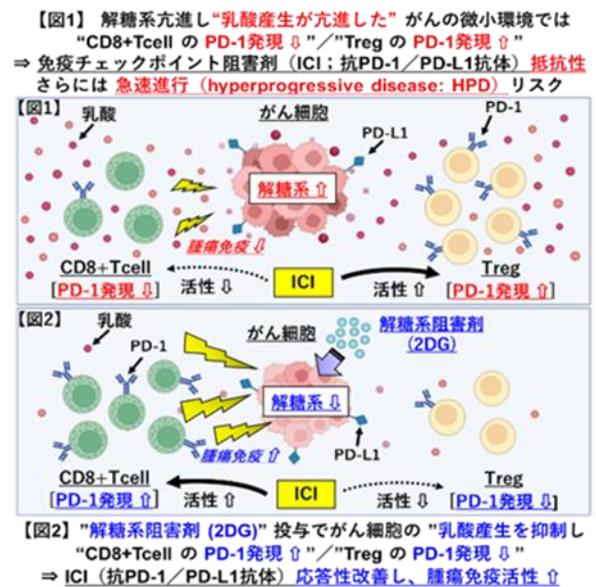
(本文)

1. 研究開始当初の背景 (【図1】参照)

近年、がん細胞において解糖系最終産物である乳酸が、腫瘍免疫逃避機構に関与することが注目されている。がん微小環境において、腫瘍浸潤 effector Tcell (CD8+Tcell) と制御性 Tcell (Treg) におけるPD-1発現バランスは、乳酸により調節されていることが明らかにされた。すなわち、解糖系亢進し乳酸濃度が高いがんでは、CD8+TcellのPD-1発現は低下し、逆にTregのPD-1発現が亢進することが明らかとなった。このようながんに対してICI(抗PD-1/PD-L1抗体)を投与すると、CD8+Tcellは活性化されない上に腫瘍免疫抑制系細胞であるTregのみが活性化されICI抵抗性を示すのみならず、急速な腫瘍増大(hyperprogressive disease: HPD)を生じることが危惧されている(Cancer Cell 2022;40:201-218)。

我々はこれまでに、解糖系阻害剤 2-deoxy-D-glucose (2DG) が強力な細胞死誘導効果および腫瘍免疫抑制作用を有することを報告してきた(CMGH 2021;11:739-762)。そこで「乳酸産生を抑制する解糖系阻害剤(2DG)をICI(抗PD-1/PD-L1抗体)に併用することは、強力な殺細胞作用や抗腫瘍免疫作用が増強されることはもちろん、上述した「乳酸を介したeffector Tcell/制御性TcellのPD-1発現調節機構」に対するモジュレーターとなり、結果

としてICI治療抵抗性改善、ひいては急速な腫瘍増大(HPD)リスクの抑制にも有用ではないか」との発想に至った。



研究の目的

下記 1), 2) を明らかにすることが本研究の目的である:

- 1) ヒト肝細胞癌患者における「乳酸産生能に関連した乳酸脱水素酵素(LDHA)発現強度」と「CD8+TcellのPD-1発現低下」/「TregのPD-1発現亢進」との関連性について明らかにした。
- 2) 肝細胞癌に対して、解糖系阻害剤(2DG)による

乳酸産生抑制作用に抗 PD-1 抗体を併用することにより、CD8+ Tcell 活性亢進／Treg 活性低下を介して抗腫瘍免疫を改善させるか否かを明らかにした。

3. 研究の方法

1) 【ヒト肝細胞癌の乳酸産生能が CD8+Tcell/Treg の PD-1 発現調節機構へ及ぼす影響の検討】

過去の肝細胞癌手術標本に対して免疫染色を行い、乳酸脱水素酵素(LDHA) 発現と CD8+Tcell/Treg の PD-1 発現強度、末梢血 NLR(好中球/リンパ球比)、臨床病期などとの関連性をみた。

2) 【肝癌細胞株 と CD8+Tcell/Treg の共培養実験系を用いた検討 (*in vitro*)】

① 肝癌細胞株 (Huh7) を下記 (a)~(f) の 6 群に分けた培養上清で 24 時間 incubate 後、培養上清中の乳酸濃度を測定し、肝癌細胞からの乳酸産生能を検討した：

(a) glucose 0mg/mL, (b) glucose 0mg/mL + 2DG 50mM, (c) glucose 45mg/mL, (d) glucose 45mg/mL + 2DG 50mM, (e) glucose 450mg/mL, (f) glucose 450mg/mL + 2DG 50mM

② 健常人より採取した末梢血に対し、MACS 磁気細胞分離法/FACS ソートによる細胞分離法で CD8+Tcell (CD3+CD8+Tcell) を分離し、上記 ①で得られた各群 {(a)~(f) 群} の培養上清を用いて 16 時間 incubate した。

③ 上記② で得られた CD8+Tcell を用いて CD8+Tcell の PD-1 発現度を比較した (real-time RT-PCR)。

3) 【担がんマウスモデルを用いた検討 (*in vivo*)】

《検討 A》

C57BL/6 マウスにマウス肝癌細胞(Hep55.1c) を皮下移植した 正常免疫能を有する syngeneic モデル

(雄、8 週齢) を用いた。

下記(a),(b)に群分をした上で 7 日間腹腔内投与した後に sacrifice を行った：

(a) PBS/day (対照群),

(b) 2DG 500g/kg/day

sacrifice 後に得られた腫瘍組織に対して、組織破砕機を用いて皮下腫瘍組織を破壊しフィルトレーションおよび密度勾配遠心分離法により腫瘍内のリンパ球を抽出し、Flow cytometry 法を用いて CD8+Tcell、Treg の細胞集団分画を解析した。

《検討 B》

Diethylnitrosamine (DEN) 誘発肝発癌マウス (C57BL/6) 9 ヶ月齢に対して、

下記(a),(b)に群分をした上で 28 日間腹腔内投与した後に sacrifice を行った：

(a) PBS/day (対照群),

(b) 2DG 500g/kg/day

sacrifice 後に得られた腫瘍組織における

(1) 乳酸産生量,

(2) CD8+Tcell/Treg 各々の細胞数及び PD-1 発現率 [蛍光免疫染色]

を検討した。

《検討 C》

《検討 A》で用いた肝癌細胞株 (Hep55.1c) 皮下移植 syngeneic マウスモデル(雄、8 週齢)に対して、下記(a)-(d)に群分けをした上で、21 日間腹腔内投与した後に sacrifice を行い、抗腫瘍効果を比較検討した：

(a) isotype control IgG/3days (対照群), (b)

isotype control IgG/3days+2DG 500mg/kg/day,

(c) 抗 PD-1 抗体/3days,

(d) 抗 PD-1 抗体/3days+2DG 500mg/kg/day

4. 研究成果

1) 【ヒト肝細胞癌の乳酸産生能が CD8+Tcell/Treg の PD-1 発現調節機構へ及ぼす影響の検討】

現在検討中。

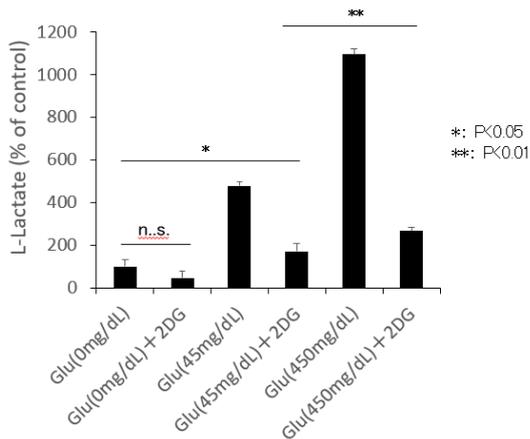
2) 【肝癌細胞株と CD8+Tcell の共培養実験系を用いた検討 (*in vitro*)】

肝癌細胞 (Huh7) からのグルコース依存性の乳酸産生亢進に対して、2DG を併用することでその乳酸産生が有意に抑制されることを明らかにした【図2】。

【図2】 Huh7 培養上清中の乳酸濃度比較

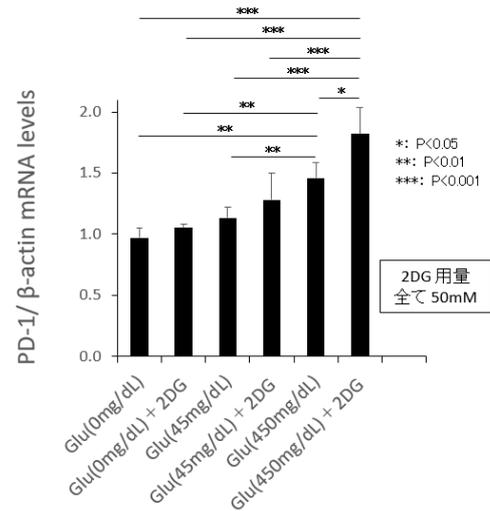
さらに、2DG により乳酸産生が抑制された Huh7 由来の培養上清は CD8+T cell の PD-1 mRNA 発現を亢進させることを明らかにした【図3】。

以上より、解糖系亢進し乳酸産生亢進した肝癌細胞に対して、解糖系阻害剤 (2DG) が乳酸産生抑制を介



して“CD8+Tcell の PD-1 発現調節機構”に対するモジュレーターとなり ICI (抗 PD-1 抗体) 治療抵抗性を改善させる可能性が示唆された。

【図3】 CD8+Tcell における PD-1 発現比較 (real-time RT-PCR)

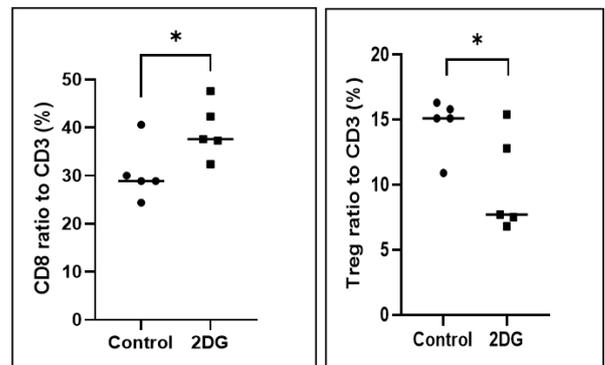


3) 【肝発癌マウスモデルを用いた検討 (*in vivo*)】

《検討 A》

肝癌細胞株 (Hep55.1c) 皮下移植腫瘍組織を用いた FACS 解析において、Control 群と比べ 2DG 群では CD8+Tcell 数増加/Treg 数減少を認めた【図4】。以上より、肝癌組織において 2DG による解糖系阻害を介してがん微小環境における腫瘍免疫活性化を来すことが示唆された。

【図4】 Flow cytometry 解析における CD8+Tcell および Treg の細胞数比較



《検討 B》

現在検討中

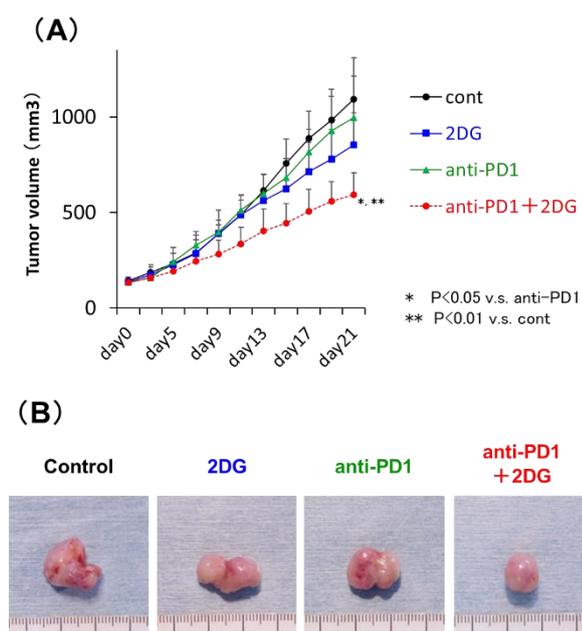
5. 主な発表論文等

- ① 雑誌論文； なし
- ② 学会発表； JDDW2024, 第60回日本肝臓学会総会
- ③ 図書； なし
産業財産権（特許権、実用新案権、意匠権）など；
なし

《検討 C》

正常免疫能を有するマウス肝癌細胞株 (Hep55.1c) 皮下移植 syngeneic マウスにおいて、抗 PD-1 抗体 (anti-PD1) を併用することにより 2DG による抗腫瘍効果が増強された【図5 (A), (B)】。

【図5】 Hep55.1c 皮下移植 syngeneic マウスにおける (A) 皮下腫瘍体積の経時的推移、および (B) sacrifice 時 (day28) の皮下腫瘍肉眼写真



以上の結果より、肝癌微小環境において、解糖系阻害剤 (2DG) による乳酸産生抑制作用に抗 PD-1 抗体を併用することにより、CD8+ Tcell 活性亢進／Treg 活性低下を介して抗腫瘍免疫を改善させる可能性が示唆された。

(表題) 長寿蛋白質から筋ジストロフィーの治療法を開発する

(所属) 学校法人川崎学園 川崎医科大学 神経内科学

(氏名) 大澤 裕

(概要)

α -Klotho 欠損マウスでは、サルコペニアなど多彩な老化表現型を示して寿命が短縮する。この長寿蛋白質 α -Klotho は、糖鎖修飾配列を持つ抗老化分子と捉えられているが、その機能の全容は明らかになっていない。我々は、血液中の α -Klotho が、骨格筋萎縮性 TGF- β シグナルを広範に阻害するこれまで知られていなかった機構を発見し報告した (Ohsawa, Sunada, Am J Pathol 193, 591-607, 2023)。興味深いことに、ジストロフィン欠損デュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD) の疾患モデルマウスでは、骨格筋特異的に、この α -Klotho 遺伝子発現が減少していた。そこで、我々は、 α -Klotho を筋細胞特異的に高発現した DMD モデルマウスを作出したところ、骨格筋の「ジストロフィー変化」が改善した。さらに、筋細胞特異的に α -Klotho を欠損した DMD モデルマウスを作出して α -Klotho 高発現 DMD モデルマウスと比較解析を進めている。長寿蛋白質 α -Klotho が、なぜ DMD 病態を制御するのか、それを繋ぐ分子機構を解明して筋ジストロフィー病態介入治療の突破口を開きたい。

(本文)

はじめに

①研究の学術的背景と特色

デュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD) は、筋細胞膜下のジストロフィン蛋白質が欠損して、筋線維壊死と不完全再生を反復し、二次性線維化・脂肪化を呈する「ジストロフィー変化」のため筋力低下が進行する希少難病である。

1997年に長寿蛋白質である α -Klotho が欠損して多彩な老化症状を呈し寿命が短縮する Klotho マウスが報告された (Kuro-o, Nature 390, 45-51, 1997)。この α -Klotho は2つの糖鎖修飾 (β -glucosidase) 配列をもつが、その意義は未解明である。我々は、最近、血液中に存在する α -Klotho が、骨格筋を萎縮させる TGF- β シグナル (マイオスタチン、GDF11 アクチビン、TGF- β 1) を阻害することを発見した (図1-2. Ohsawa, Sunada, Am J Pathol 193, 591-607, 2023)。

さらに、我々は、ごく最近ジストロフィン欠損デュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD) の疾患モデルマウスでは、骨格筋特異的に α -Klotho の遺伝子発現が減少する興味深い現象をも発見した。この結果から、長寿蛋白質 α -Klotho 減少による骨格筋萎縮性 TGF- β シグナル阻害作用が減弱し DMD 病態を増強

する病態、すなわち、 α -Klotho と筋ジストロフィーを繋ぐ病態を想定した。

②助成期間内の具体的な目標

α -Klotho がジストロフィン欠損による筋ジストロフィー病態を制御する分子機構について TGF- β シグナルと糖鎖を中心に解明し、DMD の病態介入治療開発に向けた突破口を開くことを目的とした。

③予想される研究成果と意義

本研究は α -Klotho がジストロフィン欠損筋ジストロフィーの TGF- β シグナル亢進病態を改善すると仮定し、この仮説を検証した。即ち、独自に発見した血液中の TGF- β 阻害蛋白質 α -Klotho をシーズとして、これから筋ジストロフィー医薬品の発信を目指した。

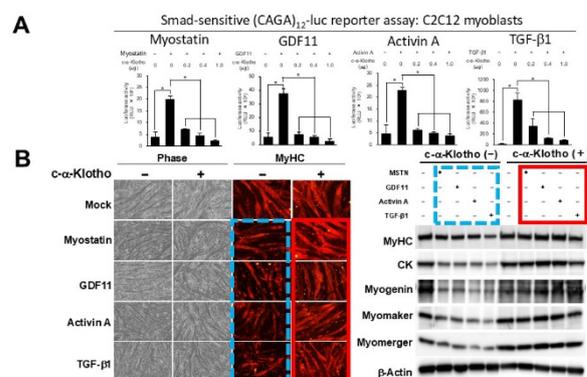


図1. α -Klotho の「骨格筋萎縮性 TGF- β 阻害 (in vitro)」。 (A) α -Klotho は、マイオスタチン、GDF11 アクチビン、TGF- β 1 シグナルを用量依存性に阻害。 (B) これら筋萎縮性 TGF- β による筋芽細胞融合と筋管分化抑制を阻害する (Ohsawa, Sunada, Am J Pathol 193, 591-607, 2023)。

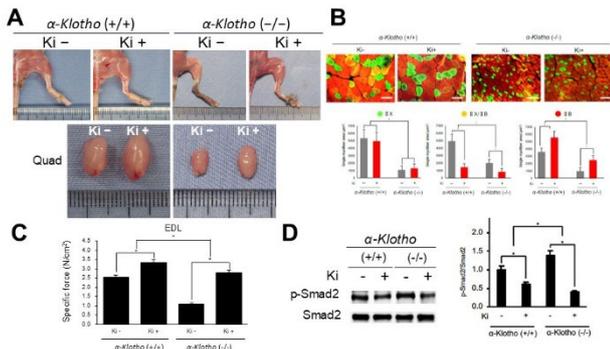


図2. α -Klotho の「骨格筋萎縮性TGF- β 阻害 (in vivo)」。 (A) TGF- β I型受容体阻害化合物 (Ki) の投与により α -Klotho (-/-)マウスの筋萎縮が改善。 (B) 速筋線維 (IIB筋線維) が増大・速筋化。 (C) 筋絶対力の減少が軽減。 (D) 骨格筋のTGF- β の活性亢進が抑制される (Ohsawa, Sunada, Am J Pathol 193,591-607,2023)。

方法

1) 筋細胞特異的 α -Klotho 高発現 DMD モデルマウスの作出と解析。

筋細胞特異的プロモーター下に、 α -Klotho を繋いだトランスジーンを作製した。これを、最重症型 DMD モデル DBA/2-*mdx* マウス (Fukada, Am J Pathol 176, 2414-25, 2010) 受精卵に注射し、トランスジェニックマウスを作出した。ジストロフィー変化が、改善するか否かを解析した。

2) CRISPR-Cas9 による遺伝子編集で α -Klotho を欠損した DMD モデルマウスを作出した。

結果

1) 筋細胞特異的 α -Klotho 高発現 DMD マウスの作出と解析。

筋細胞特異的プロモーター下に、 α -Klotho を高発現する最重症型 DMD モデル DBA/2-*mdx* マウスを作出した。驚くべきことに、筋線維壊死 (mIgG-Fc 免疫染色)、線維化 (van Gieson 染色)、脂肪化 (Oil Red O 染色) は最重症型 DMD モデル DBA/2-*mdx* マウスと比較して、それぞれ有意に軽減した。すなわち長寿蛋白質 α -Klotho のよって、ジストロフィン欠損による「ジストロフィー変化」の改善が認められた。

2) CRISPR-Cas9 により α -Klotho を欠損した DMD モデルマウスを作出。

まず、 α -Klotho の開始コドン周辺に guide RNA 候補を 4 種類設定した。ついでこの guide RNA をマウス線維芽細胞 NIH3T3 にエレクトロポレーション

して内因性 α -Klotho 遺伝子編集効率を比較した。このうち最も編集効率の良い α -Klotho guide RNA について、guide RNA complex (crRNA/tracRNA) を作成し、Cas9 nuclease とともに最重症型 DMD モデル DBA/2-*mdx* マウス受精卵に注射した。24 個体が誕生した。現在、成長を待ち、Tail DNA を抽出して、 α -Klotho 遺伝子編集が成功したか否かを検証する予定としている。成功した場合には、最重症型 DMD モデル DBA/2-*mdx* マウスと比較して、ジストロフィー変化が、悪化するか否かを解析する。

考察

本研究の筋細胞特異的 α -Klotho 高発現 DMD マウスの解析からは、長寿蛋白質 α -Klotho はジストロフィン欠損 DMD モデルマウスの「ジストロフィー変化」を抑制すると考えられる。最近、DMD モデルラットの骨格筋では、細胞周期を停止させ TGF- β の標的でもある老化関連遺伝子 p16, p19, p21 の発現が、筋線維で有意に上昇し、 β -Gal 陽性老化細胞が増加、反対に p16 を欠損させると、ジストロフィー変化が改善する、と報告されている (Sugihara, Sci Rep 10, 1685, 2020)。さらに、最重症型 DMD モデル DBA/2-*mdx* マウス骨格筋でも、老化関連遺伝子 p16, p21, p53 が筋線維で有意に発現上昇、 β -Gal 陽性細胞が増加、特にマクロファージや血管内皮細胞で、この傾向が強いと報告されている (Souidi, Am J Physiol Cell Physiol, 321, C94-C103, 2021)。これらの結果から、老化と筋ジストロフィーを繋ぐ分子病態が十分考えられる。

今後は、まず作出中の α -Klotho 欠損最重症型 DMD モデルマウスで、ジストロフィン欠損による「ジストロフィー変化」の悪化が認められるかを検証する。このマウスと α -Klotho 高発現 DMD モデルマウスと、DMD モデルマウス、及び α -Klotho 欠損マウスについて、骨格筋の TGF- β シグナルを、比較解析する。我々が見出した α -Klotho の TGF- β 阻害作用により筋ジストロフィー病態の制御が説明できるのか否かを明らかとしたい。さらに、抗糖鎖抗体やレクチン、質量分析を用いた解析によって、 α -Klotho の糖鎖修飾の観点から DMD 病態を解明していく。最終的には

網羅的骨格筋発現解析から、 α -Klotho を起点として TGF- β 及び糖鎖修飾シグナルに関わる病態改善候補遺伝子をスクリーニングする。候補遺伝子をレトロウイルスベクターで筋芽細胞へ *in vitro* 導入、さらに、プラスミドベクターで前脛骨筋蛇毒系へ *in vivo* 導入し、それぞれ筋分化能と筋再生能を評価する。 α -Klotho が制御する TGF- β と糖鎖修飾を介する筋ジストロフィー病態機構を解明、介入治療の標的遺伝子をスクリーニングにより絞り込んでいきたい。

文献

1. Ohsawa Y, Ohtsubo H, Munekane A, Ohkubo K, Murakami T, Fujino M, Nishimatsu SI, Hagiwara H, Nishimura H, Kaneko R, Suzuki T, Tatsumi R, Mizunoya W, Hinohara A, Fukunaga M, Sunada Y. Circulating α -Klotho Counteracts Transforming Growth Factor- β -Induced Sarcopenia. *Am J Pathol.* 193(5):591-607, May, 2023
2. Ohsawa Y, Ohtsubo H, Saito Y, Nishimatsu SI, Hagiwara H, Murakami T, Nishino I, Sunada Y. Caveolin 3 suppresses phosphorylation-dependent activation of sarcolemmal nNOS. *Biochem Biophys Res Commun.* 628:84-90, Nov, 2022
3. Munekane A, Ohsawa Y, Fukuda T, Nishimura H, Nishimatsu SI, Sugie H, Saito Y, Nishino I, Sunada Y. Maximal Multistage Shuttle Run Test-induced Myalgia in a Patient with Muscle Phosphorylase B Kinase Deficiency. *Intern Med.* 61(8):1241-1245, Apr, 2022
4. Fukai Y, Ohsawa Y, Ohtsubo H, Nishimatsu SI, Hagiwara H, Noda M, Sasaoka T, Murakami T, Sunada Y. Cleavage of β -dystroglycan occurs in sarcoglycan-deficient skeletal muscle without MMP-2 and MMP-9. *Biochem Biophys Res Commun.* 492(2):199-205, Oct, 2017
5. Ohsawa Y, Takayama K, Nishimatsu S, Okada T, Fujino M, Fukai Y, Murakami T, Hagiwara H, Itoh F, Tsuchida K, Hayashi Y, Sunada Y. The Inhibitory Core of the Myostatin Prodomain: Its Interaction with Both Type I and II Membrane Receptors, and Potential to Treat Muscle Atrophy. *PLoS One.* 10(7):e0133713, Jul, 2015
6. Takayama K, Noguchi Y, Aoki S, Takayama S, Yoshida M, Asari T, Yakushiji F, Nishimatsu S, Ohsawa Y, Itoh F, Negishi Y, Sunada Y, Hayashi Y. Identification of the minimum peptide from mouse myostatin prodomain for human myostatin inhibition. *J Med Chem.* 58(3):1544-1549, Feb, 2015
7. 大澤 裕. TGF- β 誘発サルコペニア ー介入療法の可能性について. *実験医学 増刊.* 43(5):227-232, 2025

(概要)

ムコ多糖症は体内におけるグリコサミノグリカンの蓄積により発症する先天性代謝疾患群である。近年我々はGAGの蓄積を伴う類縁疾患であるムコ多糖症プラス症候群を発見し、報告した。MPSPSでは一般的にMPSに認められる骨格異常、肝脾腫やヘルニアといった症状に加え、造血系の異常や腎不全などが認められ、MPSよりも重篤で致死的な疾患である。しかしながらその症例の少なさから、本疾患の発症機序や病態解明は困難であり、有効な根本治療法が存在しない。今回我々はゲノム編集によりヒトMPSPSと同等の疾患変異 *Vps33a*^{p.R500W}を持つノックインマウスを作製し、病態の解明を試みた。ヒトの症例とは異なりノックインマウスのホモ接合体は胎生致死であり、生存した状態では産出されなかった。出生前の胎児の解析を行ったところ、ホモマウスでは成長の遅滞、虹彩の色素沈着の低下に加え、血管の低形成や出血性紫斑のような特徴的症状が認められた。今後は組織学的、生化学的手法による同モデルマウスのより詳細な病態解析が必要である。

(本文)

1. 研究の背景と目的

MPSPS (Mucopolysaccharidosis Plus Syndrome, MPSPS) は世界で20例ほどしか報告のない超希少疾患である¹。ムコ多糖とはヒアルロン酸やコンドロイチン硫酸など、サプリメントなどでよく知られているグリコサミノグリカン (Glycosaminoglycan, GAG) のことであり、体内では細胞外マトリックスや軟骨、眼球の硝子体の主成分になっているなど、重要な生体分子として機能している²。

ムコ多糖症 (Mucopolysaccharidosis, MPS) は、リソソーム内の分解酵素の遺伝的欠失によりGAGが細胞内外に蓄積することで発症する先天性代謝疾患群である。一方、我々の研究グループはMPSPSでは分解酵素には異常がなく、代わりに細胞内小胞輸送に関わる遺伝子 *VPS33A* の点変異 p.R498W が原因であることを報告した³。

VPS33A は細胞内分解系であるエンドサイトーシスやオートファジーにおいて分解基質の小胞輸送を制御するテザリング複合体の一因子である。しかしながら、MPSPS患者由来の細胞や p.R498W 変異を導入した細胞株での実験では、今のところエンドサイトーシス、オートファジー共に明確な影響は認めら

れておらず、この変異がGAGの代謝分解に影響を与える分子メカニズムは不明である。

GAGの分解酵素の欠損が原因であるMPSでは、体外から組換え酵素を点滴投与する酵素補充療法が適用されており、一定の治療効果が得られている⁴。一方、酵素欠損が原因ではないMPSPSでは有効な治療方法が存在しない。さらに症例が少ないことから入手できる臨床サンプルも非常に限られており、十分な病態解明も困難である。そこで本研究では、MPSPSの病態解明と根本的治療法の開発を目的とし、ゲノム編集にてヒトMPSPSと同等の変異を持つノックイン(KI)マウスを作製し、解析を試みた。

2. 研究手法

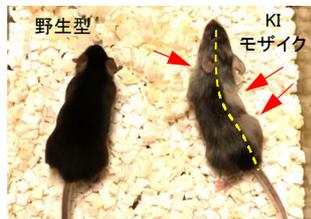
C57BL/6Jマウスから採取した卵子および精子で体外受精(IVF)を行い、得られた受精卵にエレクトロポレーション法により *Vps33a* 遺伝子に対する合成crRNA、tracrRNA、リコンビナントCas9、および *Vps33a* 遺伝子配列にヒトMPSPS疾患変異に該当する p.R500W 変異を導入したドナーDNAオリゴを導入した。正常に発生を開始した受精卵を偽妊娠状態のICRのメスマウスに移植し、産児を得た。KIアリルを持つモザイクマウスから精子を採取し、再度

IVFにより純粋なKIヘテロ接合体を作製した。ヘテロKIマウスは購入した野生型C57BL/6Jマウスに4世代戻し交配を行った。

同腹仔として野生型、KIヘテロ、KIホモマウスが得られるよう、F₄世代のKIヘテロのオスとメスを交配した。~18 d.p.c.で母親マウスを安楽死させ、子宮内胎児のジェノタイピングとマクロ観察を行った。

3. 結果と考察

ゲノム編集により得られた *Vps33a*^{p.R500W} のアリルを持つマウスはモザイクマウスとして得られた(申請時データ)。このマウスでは脊柱側弯と毛皮の色素沈着に異常が認められた(図1)。KIマウスがモザイクの個体となったのは、正中線に沿って毛色の変化が起きていることから、卵割が進んだ状態でゲノム編集されたためと推測される。

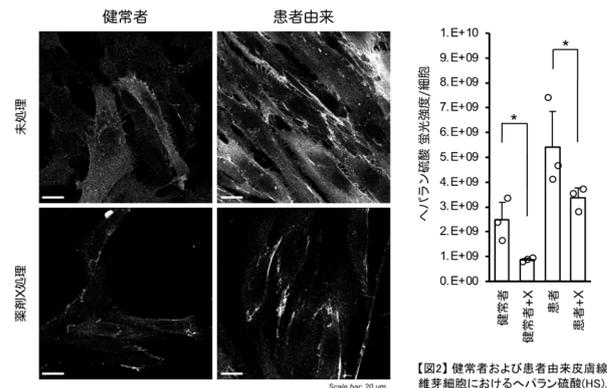


【図1】 *Vps33a*^{p.R500W} KIマウス(右) 矢印は色素沈着の異常, 点線は脊柱の異常弯曲を示す。

MPSPS患者でも多発異骨症が認められており、左右非対称な骨形成不全がモザイクマウスの脊柱側弯の原因となったと考えられる。このモザイクマウスから精子を採取して再度体外受精を行い、ヘテロKIマウスを得た。ヘテロKIマウスは野生型マウスと同様に正常に出生し、発育や生殖にも異常は認められなかった。ヒトMPSPSは常染色体潜性(劣性)遺伝であり、キャリアは無症状である。したがってKIホモマウスがMPSPSの疾患モデルとなる。同腹仔として野生型(WT)、ヘテロ、ホモが得られるようKIヘテロのオスとメスを交配したが、F₁世代では WT : Het : Homo = 29 : 57 : 0、戻し交配を進めたF₃世代でも WT : Het : Homo = 20 : 48 : 0 (匹)とホモマウスは全く得られなかった。出産後の死亡産児の中に稀にホモ接合体が認められたことから、KIホモ個体は胎生致死か出生後致死であると考えられた。

生体におけるMPSPS変異がもたらす影響をこのKIマウスで評価するには出生前の胎児を用いるしかなかった。しかし死亡産児にもホモ個体がほとんどいないことから、その数も解析には十分ではない可能

性があった。そこで我々は異なるアプローチを試みた。FDA承認薬ライブラリーから細胞レベルでGAGを抑制する薬剤のスクリーニングをおこなった。多段階スクリーニングによる絞り込みの結果、培養細胞でGAGを減少させる薬剤Xが同定された(用途特許出願中/論文投稿中につき薬剤名は未公表)。健常人およびMPSPS患者由来の皮膚線維芽細胞を同薬剤で処理すると、細胞内外におけるヘパラン硫酸(HS)レベルの有意な低下が認められた(図2)。

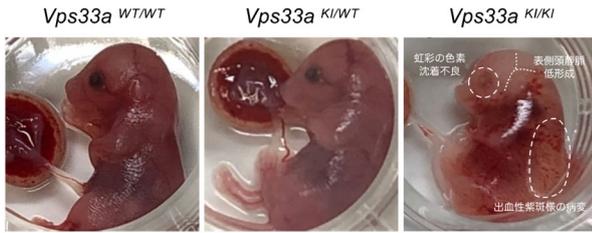


【図2】 健常人および患者由来皮膚線維芽細胞におけるヘパラン硫酸(HS)。

この薬剤が経胎盤的に子宮内胎児におけるGAG負荷を低減させることを期待し、F₄世代のヘテロ同士の交配において、母親マウスに交配時から薬剤Xを飲料水に加えて投与した。薬剤Xの投与後によってもKIホモマウスが生存個体として産出されることはなかったため、出産直前の母親マウスを安楽死させ、子宮内の胎児マウスについてジェノタイピングを行った。その結果、未治療群ではWT : Het : Homo = 15 : 28 : 4、治療群ではWT : Het : Homo = 15 : 26 : 13 (匹)の胎児が得られ、治療群では期待されるメンデル比(WT : Het : Homo = 1 : 2 : 1)通りの遺伝型分離であった(χ^2 検定 $p=0.894$)。一方、未治療群の胎児の遺伝型は統計的に有意にメンデル比から乖離しており($p=0.032$)、薬剤Xの投与はKIマウスの致死的な表現系を完全には治療できなかったものの、一定程度の延命効果があったと考えられる。

母体への薬剤Xの投与により安定してKIホモマウス胎児が得られるようになり、解析が可能となった。これまでの観察と同様に、野生型マウスとKIヘテロマウスに外観レベルでは大きな変化は認められなかった。一方、KIホモマウス個体は成長の遅延に

加え、虹彩における色素沈着の低下、浅側頭静脈の



【図3】 Vps33a p.R498W KIマウス胎児の外観 (~18 d.p.c.)

低形成、出血性紫斑様の病変が認められた(図3)。

最初に得られた KI モザイクマウスの毛皮と同様に、虹彩における色素沈着に異常が認められたが、これはメラノソームとして知られる色素小胞の細胞内輸送が変異により影響を受けたと推測され、メラノソーム輸送における Vps33a の重要な役割が示唆される⁵。一方、KI マウス個体の生存に関わる病態としては血管の低形成が一つの大きな要因と考えられた。目視でも浅側頭静脈の形成が多くの個体で確認できず、皮下に紫斑の様な出血痕が多数認められており、循環器系の形成不全が胎児の発育不良や出生後の致死に帰結していると考察される。

4. 結語

VPS33A 遺伝子(マウスでは *Vps33a*)における MPSPS 変異はヒトとマウスで生存におけるインパクトが大きく異なっており、今回作製した KI マウスモデルでは現状生後の個体への影響を解析するのは不可能である。しかしながら、我々が同定した GAG 負荷を抑制する薬剤 X が限定的ながらも MPSPS 病態の解析とヒトにおける治療法の活路を残していると考えている。ECM と血管形成には密接なつながりがあることが知られており⁶、血管の低形成は GAG の過剰な蓄積を伴う MPSPS の一病態として着目すべき表現型であろう。今後、同モデルマウスのさらなる病理組織の解析と分子レベルでの病態解明が必要である。

5. 謝辞

本研究を実施するにあたり、多大なるご支援を賜りました公益財団法人 ウェスコ学術財団に心より御礼申し上げます。

6. 文献

1. Vasilev, F., Sukhomyasova, A., and Otomo, T. (2020). Mucopolysaccharidosis-Plus Syndrome. *Int. J. Mol. Sci.* *21*. 10.3390/ijms21020421.
2. Iozzo, R.V., and Schaefer, L. (2015). Proteoglycan form and function: A comprehensive nomenclature of proteoglycans. *Matrix Biol.* *42*, 11-55. 10.1016/j.matbio.2015.02.003.
3. Kondo, H., Maksimova, N., Otomo, T., Kato, H., Imai, A., Asano, Y., Kobayashi, K., Nojima, S., Nakaya, A., Hamada, Y., et al. (2017). Mutation in VPS33A affects metabolism of glycosaminoglycans: a new type of mucopolysaccharidosis with severe systemic symptoms. *Hum. Mol. Genet.* *26*, 173-183. 10.1093/hmg/ddw377.
4. Parenti, G., Andria, G., and Ballabio, A. (2015). Lysosomal storage diseases: from pathophysiology to therapy. *Annu. Rev. Med.* *66*, 471-486. 10.1146/annurev-med-122313-085916.
5. Suzuki, T., Oiso, N., Gautam, R., Novak, E.K., Panthier, J.J., Suprabha, P.G., Vida, T., Swank, R.T., and Spritz, R.A. (2003). The mouse organellar biogenesis mutant buff results from a mutation in Vps33a, a homologue of yeast vps33 and Drosophila carnation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *100*, 1146-1150. 10.1073/pnas.0237292100.
6. Rhodes, J.M., and Simons, M. (2007). The extracellular matrix and blood vessel formation: not just a scaffold. *J Cell Mol Med* *11*, 176-205. 10.1111/j.1582-4934.2007.00031.x.

急性白血病の進行・悪化を阻止する新規治療法の開発

川崎医療福祉大学 医療技術学部 臨床検査学科

黒住 菜美

脱ユビキチン化酵素 Ubiquitin-specific protease 14 (USP14) はユビキチン鎖を編集して蛋白質のプロテアソーム分解を調節し、様々な細胞シグナル伝達経路に関わっている。USP14 が造血器腫瘍の薬剤耐性や腫瘍形成に関与し、近年では USP14 が高発現であることが腫瘍の発症・進行を促進する蛋白質を安定化させていることも明らかとなった。申請者は USP14 の発現が腫瘍の悪性度を増強している点に注目し、その機能阻害が新たな白血病の治療戦略となり得るかを検討してきた。急性白血病細胞株に USP14 の阻害剤である IU1 で機能を阻害すると細胞周期を G0/G1 期で停止させることを明らかにしたが、USP14 阻害による細胞周期への影響の詳細は不明である。今回、USP14 阻害によって生じた G0/G1 期の停止の原因をするために、細胞周期制御に関わる蛋白質量の変化を検出すると、IU1 によって RB リン酸化に関わるサイクリンや CDK の蛋白質量は変化しなかったが、RB 蛋白そのものや CKI の p21 が減少した。本研究により、USP14 阻害は急性白血病細胞内でプロテアソーム分解の促進によって、細胞周期制御因子量を減少させ細胞周期の進行に影響を与えた可能性が高い。

1. 研究目的

難治性血液疾患である急性白血病は、造血幹細胞移植を含む治療法の進歩により予後が改善されてきた。しかしながら、治療不応例、再発例、移植適応外症例等の場合は依然としてきわめて予後不良であり、新規治療法の開発が期待されている。ユビキチン鎖を編集する脱ユビキチン化酵素の Ubiquitin-specific protease 14 (USP14) は通常、蛋白質分解により様々な生命現象を制御するプロテアソームを調整している一方で、腫瘍においては「腫瘍の発症・進行を促進する蛋白質」の分解を阻害し、腫瘍の悪性度を増強している可能性が高い (図 1 左) が、詳細な機能は解明されていない。既存の白血病治療薬の作用機序とは異なり、「USP14 の機能阻害」は腫瘍の増悪に関与する蛋白質を減少させる可能性があり (図 1 右)、腫瘍の進行や悪化を抑制するなどの新たな治療効果が期待される。

申請者は USP14 阻害剤 IU1 が急性白血病細胞株の細胞周期を停止させ、増殖抑制効果を示すことを確認した。さらに、細胞周期の移行に必要な RB 蛋白のリン酸化を減少させ、細胞周期制御因子のプロテアソーム分解に関与していることを見出したが、USP14 が標的 (基質) としている因子の特定には至って

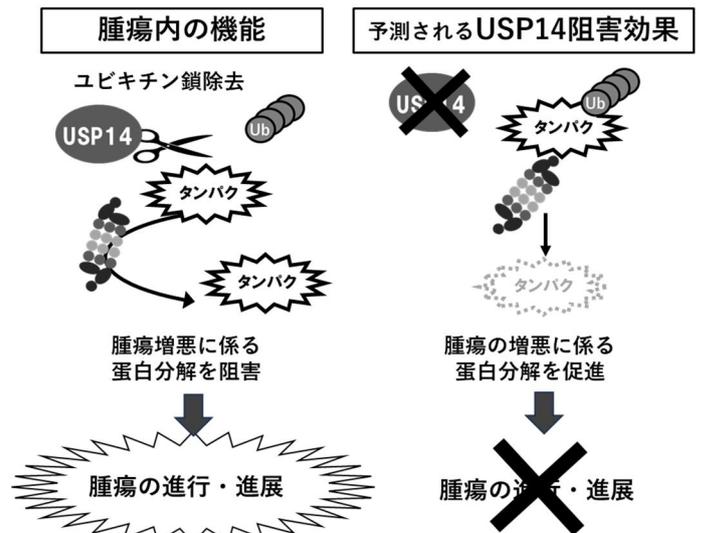


図1 (左) 既に報告されている USP14 の機能と (右) USP14 機能阻害で期待される効果

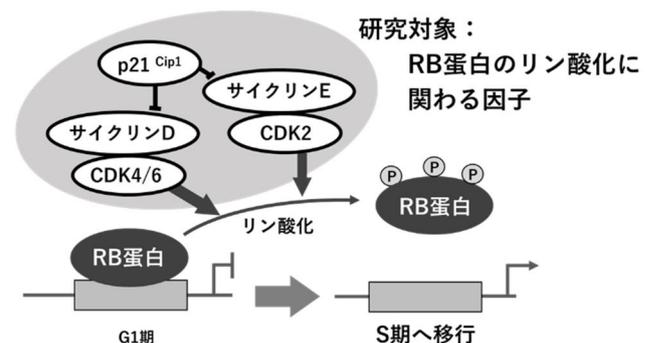


図2 S 期移行に必要な RB 蛋白リン酸化に関わる因子

ない。新たな白血病の治療戦略として「USP14 機能阻害」を確立するためには、腫瘍細胞内の USP14 の機能の全容解明が必要である。本研究では、S 期移行に必要な RB 蛋白のリン酸化に関わる制御因子(図 2) の蛋白質質量の変化を検出し、細胞周期制御因子の中から USP14 の標的(基質) の候補となる蛋白質を絞った。いまだ解明されていない USP14 の基質を特定することは、USP14 阻害のよってもたらされた急性白血病の増殖抑制効果の機序解明につながる。

2. 材料と方法

1) 細胞株

急性骨髄性白血病細胞株 OCI-AML3 を RPMI1640 medium (8%ウシ胎児血清, 1%ペニシリン/ストレプトマイシン) で 37°C, CO₂ 5%の条件下で培養した。マイクロプレートに細胞を 1×10⁵個/mL まき, IU1 (Selleck) を 0~100 μM の濃度で添加した。

2) ウェスタンブロッティング

1) で培養した細胞に Lysis buffer (50mmol/L Tris-HCL, 150mmol/L NaCl, 1mmol/L EDTA, 1% Triton X-100, 0.05%, 1mmol/L Phenylmethylsulfonyl fluoride and 1 mmol/L Na₃VO₄) を加えてライセートを作製した。SDS-PAGE で分離後, polyvinylidene Difluoride (PVDF) メンブレン(ミリポア) に転写し, 3% BSA 添加 TBS-T でブロッキングした。一次抗体は GAPDH (Cell Signaling Technology, #5174), β-Actin (Cell Signaling Technology, #4967), K48 (Millipore, 05-1307), Rb (Cell Signaling Technology, #9309), Phospho-Rb(Ser807/811) (Cell Signaling Technology, #8516), Cyclin D3 (Cell Signaling Technology, #2936), Cyclin E1 (Cell Signaling Technology, #4129), CDK2 (Cell Signaling Technology, #2546), CDK4 (Cell Signaling Technology, #12790), CDK6 (Cell Signaling Technology, #3136), p21 (Cell Signaling Technology, #2947) を使用した。二次抗体には HRP 標識抗ウサギ IgG 標識抗マウス IgG (GE Healthcare) を使用した。検出には Amersham ECL Prime (GE Healthcare) と LuminoGraph I (ATTO) を使用した。

3) 免疫沈降

1) で培養した細胞に Phenylmethanesulfonyl fluoride (Cell Signaling Technology, #8553) を添加した Lysis buffer (Cell Signaling Technology, #9803) を入れ, ライセートを作成した。ライセートに抗 RB 抗体を添加し, 4°C で一晩反応させ, Protein G 磁気ビーズ (Cell Signaling Technology, #70024) を添加した。室温で 20 分反応させ, 磁気分離ラックで分離した。DTT (Cell Signaling Technology, #7016) 添加 Sample buffer (Cell Signaling Technology, #7722) を加え 100°C, 5 分加温した。磁気分離ラックで磁気ビーズを分離し, 上清をサンプルとした。サンプルは SDS-PAGE で分離後, メンブレンに転写し, 3% BSA 添加 TBS-T でブロッキングした。一次抗体として K48 抗体を使用し, 二次抗体反応後, 検出試薬と LuminoGraph I (ATTO) により K48 鎖結合蛋白質を検出した。

3. 結果

USP14 阻害剤 IU1 がプロテアソーム分解を促進するかを確認するために K48 鎖結合蛋白質質量をウェスタンブロッティングで検出した。ユビキチン修飾では, 主に標的タンパク質のリシン側鎖のアミノ基に対し, ユビキチンの C 末端である 76 番目のグリシン (G76) がイソペプチド結合を介して結合する。ユビキチン自身に 7 つ存在するリシンや N 末端メチオニンのアミノ基を介して数珠つなぎに連結し, 8 種類の結合型 (K6, K11, K27, K29, K33, K48, K63, M1) のユビキチン鎖(ポリユビキチン) を形成する。主に K48 鎖はプロテアソームによる分解標識として認識される。IU1 を添加すると, この K48 鎖結合蛋白質質量が減少した(図 3 a)。この結果から USP14 を阻害すると急性白血病細胞のプロテアソーム分解が促進されたと考えられる。

続いて, ウェスタンブロッティングで RB 蛋白のリン酸化に関わる制御因子量を検出した。RB 蛋白はリン酸化することで E2F の転写活性抑制能が解除され, 遺伝子の発現を誘導し, S 期への移行が可能となる。USP14 阻害剤 IU1 を 24 時間・48 時間添加したサンプルでは RB 蛋白のリン酸化量が減少し, 48 時

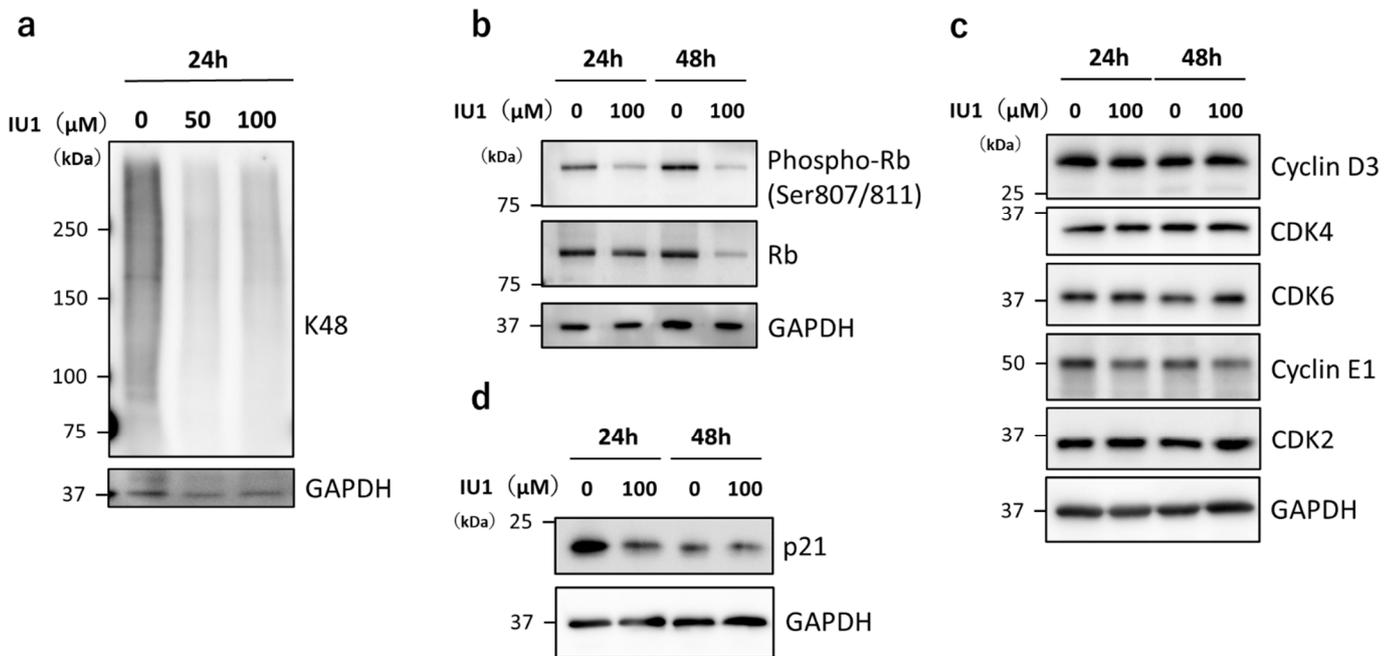


図3 (a) IU1 を 0, 50, 100 μM を 24 時間添加し、ウエスタンブロッティングで急性白血病細胞内の K48 鎖結合蛋白を検出した。(b) IU1 を 0, 100 μM を 24, 48 時間添加し、ウエスタンブロッティングで RB 蛋白のリン酸化、RB 蛋白を検出した。(c) IU1 を 0, 100 μM を 24, 48 時間添加し、ウエスタンブロッティングで RB 蛋白のリン酸化に関わる制御因子(Cyclin D3, CDK4, CDK6, Cyclin E1, CDK2)を検出した。(d) IU1 を 0, 100 μM を 24, 48 時間添加し、ウエスタンブロッティングで p21 を検出した。

間後には RB 蛋白そのものが減少した (図 3 b)。RB 蛋白のリン酸化は Cyclin D-CDK4/6 と Cyclin E-CDK2 により連続的に起こるため、Cyclin D、CDK4、CDK6、Cyclin E、CDK2 をウエスタンブロッティングで検出した。IU1 を添加すると RB 蛋白のリン酸化に関与するサイクリン・CDK の蛋白量は大きく変化しなかった。また、RB 蛋白のリン酸化に関わるサイクリン-CDK 複合体は CK1 である p21 によってリン酸化が抑制されるため、Cyclin D-CDK4/6・Cyclin E-CDK2 を抑制する p21 を検出した。IU1 添加 24 時間後に p21 量が減少した。

USP14 阻害による RB 蛋白減少の原因がプロテアソーム分解促進によるものかを明らかにするため、免疫沈降を行った。抗 RB 抗体で RB 蛋白を分離し、抗 K48 抗体によるウエスタンブロッティングにより K48 鎖が結合した RB 蛋白を検出した。IU1 を 48 時間添加したサンプルで、K48 鎖が結合した RB 蛋白が減少し、免疫沈降でも 48 時間後から RB 蛋白が減少することが確認された (図 4)。

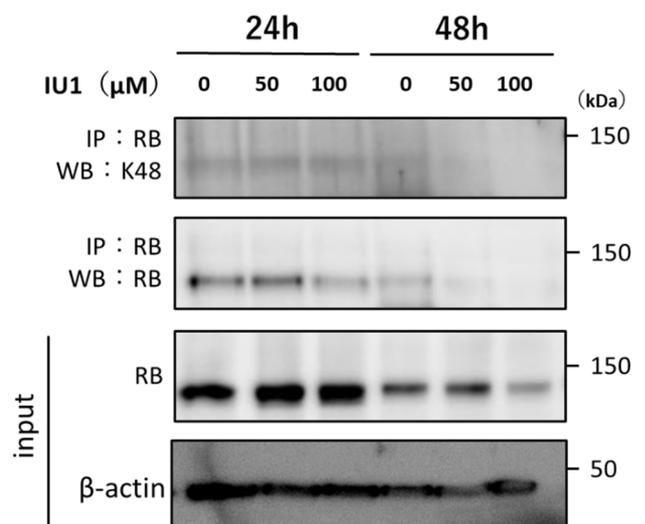


図4 IU1 を 0, 50, 100 μM を 24, 48 時間添加し、抗 RB 抗体で分離したサンプルを用いてウエスタンブロッティングを行った。抗 K48 抗体を使用して、K48 鎖結合 RB 蛋白を検出した。

4. 考察

脱ユビキチン化酵素の機能異常は造血器腫瘍をはじめとした多くの疾患に関与していることから¹⁾、創薬の分野においては脱ユビキチン化酵素阻害剤の開発が進められている。脱ユビキチン化酵素阻害剤の多くは選択性が低く、複数の脱ユビキチン化酵素を阻害する。本研究で使用した IU1 は他の脱ユビキチン化酵素阻害剤とは異なり、USP14 に選択性が高いことが報告されている。IU1 は USP14 の触媒活性部位にユビキチン C 末端と競合的に結合することで、その機能を阻害し、プロテアソーム上のユビキチン化基質の停滞時間を延長することでプロテアソームの分解を促進させ、プロテアソーム活性化剤としての機能を有する²⁾。本検討でも IU1 の添加により、K48 鎖結合蛋白質量が減少したことから、急性白血病細胞内においても IU1 はプロテアソーム活性化剤として機能することが示唆された。

USP14 阻害により急性白血病細胞内で RB 蛋白のリン酸化が減少した原因を明らかにするため、RB 蛋白のリン酸化に関わるサイクリンや CDK への影響を検討したが、USP14 阻害によってサイクリンや CDK の蛋白量に変化は認められず、RB 蛋白と CKI の p21 が減少した。細胞周期は制御因子によって複雑かつ高度に制御されたシステムであり、細胞周期の制御に関与する多くの蛋白質はユビキチン・プロテアソームシステムによって分解制御を受けている。先行研究では、子宮頸がん細胞株において IU1 は CDK4 や CDK2 量を減少させ、G0/G1 期停止により細胞増殖を抑制し、アポトーシスを誘導した³⁾。肺癌細胞株では IU1 の誘導体が CDK1 を減少させ、G2/M 停止を引き起こすことが報告されている⁴⁾。その他、USP14 が Cyclin B や Aurora kinase B を脱ユビキチン化することが明らかになっているが、急性白血病細胞内では先行研究で報告されているサイクリンや CDK への影響は認められなかった。本検討により RB 蛋白と p21 が USP14 の基質である可能性が示唆されたが、サイクリン等は複数の脱ユビキチン化酵素が基質とするため、USP14 の機能が阻害されても他の脱ユビキチン化酵素によって USP14 の機能が補完され、Cyclin D、CDK4、CDK6、Cyclin E、CDK2 は影響を受

けなかったことも考えられる。

5. 結語

今回の検討から「USP14 機能阻害」は急性白血病細胞内の細胞周期制御因子や関与する蛋白質を減少させ、細胞周期の進行に影響を与えることを示すことができた。USP14 が急性白血病細胞内で基質としている可能性の高い蛋白質を 2 種類特定することができ、USP14 阻害効果の一端の解明につながったと考える。

今後は USP14 が標的とする蛋白質を特定していくとともに、今回候補となった USP14 の基質について、細胞内量が減少した機序の解明や関与する経路を明らかにし、新たな急性白血病の治療法開発に向けて基礎的検討を進めていく。

6. 参考文献

1. Wang F, Ning S, Yu B, Wang Y. *Front Pharmacol.* 2022 Jan 5;12:801328.
2. Wang Y, Jiang Y, Ding S, Li J, Song N, Ren Y, Hong D, Wu C, Li B, Wang F, He W, Wang J, Mei Z. *Cell Res.* 2018 Dec;28(12):1186-1194.
3. Xu L, Wang J, Yuan X, Yang S, Xu X, Li K, He Y, Wei L, Zhang J, Tian Y. *Int J Biol Sci.* 2020 Sep 16;16(15):2951-2963.
4. Moghadami AA, Aboutalebi Vand Beilankouhi E, Kalantary-Charvadeh A, Hamzavi M, Mosayyebi B, Sedghi H, Ghorbani Haghjo A, Nazari Soltan Ahmad S. *Cell Stress Chaperones.* 2020 Nov;25(6):909-917.

AI を活用した看護師の復職支援：ダイバーシティ・マネジメントの視点からのアプローチ

川崎医療福祉大学 医療福祉マネジメント学部 医療データサイエンス学科

虫明 昌一、本野 勝己、櫻村 菜穂、大井 悠成

本研究は、AI を活用した看護師の復職支援にダイバーシティ・マネジメントの視点を取り入れ、多様なニーズに対応した効果的な支援策を検討することを目的とした。急速な高齢化や医療技術の進歩により深刻化する看護師不足に対し、潜在看護師の復職促進は重要な課題であるが、復職支援の具体的な方法や戦略に関する研究は限られている。本研究では、AI を活用した復職支援ツールを使用して実際に復職した看護師を対象に質的インタビュー調査を実施し、支援ツールの有用性と課題を探った。分析の結果、AI による個別化支援は復職意欲の向上に寄与する一方で、人的支援や柔軟な職場環境の整備が不可欠であることが明らかとなった。また、転職や復職を前向きな自己実現の一環と捉える意識の変化も確認された。これらの知見は、AI 技術と人的支援を組み合わせた包括的な支援体制の構築が、潜在看護師の復職促進において極めて重要であることを示唆している。本研究は、看護師不足の解消に向けた新たな支援モデルの提案に寄与するとともに、多様性を尊重する医療現場づくりに向けた一助となるものである。

【背景】

日本における看護師不足は、急速な高齢化と医療技術の進歩に伴い、年々深刻化している¹⁾。看護職における人材確保が困難になる中、資格を持ちながら現場を離れている「潜在看護師」の存在が注目を集めている。潜在看護師の復職促進は、医療現場における人材不足を緩和する有効な手段となりうるが、復職を支援する具体的な方策や、その効果的な推進方法に関する研究は、現状では十分とは言えない²⁻³⁾。

従来の復職支援策は、一定のプログラムや研修を画一的に提供するものであった。しかし、潜在看護師が現場を離れた背景は、結婚・出産・育児・介護・心身の健康問題など多岐にわたり、復職を希望する理由や必要とする支援もまた多様である⁴⁾。画一的な支援では、多様なニーズに十分応えることは困難であり、結果的に復職率の向上にはつながりにくいという課題が存在する。

そこで本研究では、組織内の多様性を積極的に活かすダイバーシティ・マネジメントの理論に着目した。ダイバーシティ・マネジメントは、個々人の異なる価値観や背景を尊重し、それらを組織の力へと昇華させる考え方である。この視点を取り入れるこ

とで、潜在看護師一人ひとりの状況に応じた、より個別化された復職支援策を設計することが可能となる。

さらに、AI 技術の進展により、個人の特性やニーズを分析し、最適な支援を提案するツールの開発・活用が現実のものとなっている。本研究では、AI を活用した復職支援ツールを使用し、潜在看護師の復職プロセスにどのような影響を与えるかを実証的に検討した。AI による支援は、従来型の一律的なアプローチとは異なり、個別性を重視し、復職支援の新たな可能性を拓くものと期待される。

このような背景のもと、本研究は「AI を活用した個別化支援」と「ダイバーシティ・マネジメント」の両輪によって、潜在看護師の円滑な復職と、ひいては医療現場における持続可能な人材確保に寄与する新たなモデルの構築を目指した。

【目的】

本研究の目的は、AI 技術を活用した看護師復職支援ツールの有用性と課題を明らかにし、潜在看護師の多様なニーズに対応した効果的な復職支援のあり方を検討することである。

特に、個々の看護師の事情や希望に寄り添う支援

が求められる現代において、ダイバーシティ・マネジメントの視点を導入し、多様性を尊重した復職支援モデルの構築を目指す。

本研究では、実際に AI 支援ツールを用いて復職を果たした看護師に対する質的インタビュー調査を通じて、AI ツールの効果や限界、さらに復職支援に必要な人的サポートや職場環境整備の要素を探索する。

また、得られた知見をもとに、潜在看護師の復職を促進し、医療現場の持続可能な人材確保に資する新たな支援戦略を提言することを目的とする。

【方法】

本研究は、AI を活用した復職支援ツールを使用して実際に復職を果たした看護師を対象に、質的インタビュー調査を実施した。調査対象者は、株式会社 Cone・Xi が提供する復職支援ツール⁵⁾の利用者の中から、以下の基準により選定した。

対象者の属性を表1に示す。対象者は、過去1年以内に復職し、かつ復職後1か月以上経過している看護師とした。最終的に、10名（男性1名、女性9名）を対象としてインタビューを行った。対象者の年齢層は20歳から50歳代にわたり、キャリア背景や復職の動機も多様であった。

表1. 対象者の属性

属性	値
対象者	10名
男性	1名
女性	9名
年齢層	20～50歳
平均年齢	35歳
復職後経過期間	1ヶ月以上

対象者の選定は、株式会社 Cone・Xi の利用者データベースを用い、研究協力依頼書をメールまたは郵送で送付し、同意を得た者に対して実施した。インタビューは、対面またはオンライン形式で実施し、事前に研究の目的・方法を説明した上でインフォームド・コンセントを取得した。

インタビュー調査では、インタビューガイドに沿って、看護師としてのキャリア経歴、現場離脱の理由、復職への考え方、AI 支援ツールの利用経験、復職支援に求める支援内容などについてオープンエンド形式で質問を行った。インタビュー内容は AI ライティングレコーダーにより録音・文字起こしを行い、重要な発言やテーマに基づき内容分析を実施した。

収集したデータは、主要なテーマごとにコーディングと分類を行い、潜在看護師の復職支援における共通点と相違点を整理した。特に、個々のニーズの多様性に焦点をあて、ダイバーシティ・マネジメントの視点から分析を進めた。

なお、調査は所属機関の倫理審査委員会の承認（承認番号 24-061）を得た上で実施し、対象者のプライバシー保護とデータの匿名化に十分配慮した。

【結果】

質的インタビュー調査の結果、AI を活用した復職支援ツールは、潜在看護師の復職に一定の効果をもたらすことが明らかとなった。

ツールを利用した看護師からは、個別化された支援を受けることができた点について肯定的な評価が多く寄せられた。具体的には、復職に向けた不安の軽減、希望条件に合致する職場紹介の迅速性、自身のライフスタイルや希望に配慮したマッチング支援などが、復職意欲の向上に寄与したとする声が聞かれた。

一方で、AI ツールによる支援だけでは十分でないとの意見もみられた。特に、職場選択や復職後の適応においては、人と人との直接的な面談やフォローアップが重要であるとの指摘があった。AI 支援に加え、対面による相談支援や、復職後の柔軟な働き方（フレックスタイム制や短時間勤務制度等）の導入を求める意見も多く、人的支援と制度整備の必要性が浮き彫りとなった。

また、看護師たちの転職や復職に対する意識についても新たな知見が得られた。転職行動は必ずしも消極的な選択ではなく、自己実現やライフスタイルに即した前向きな選択肢として捉えられていることが確認された。給与体系への不満や、より柔軟な労

働環境を求める意識が、転職・復職の動機形成に大きく影響していることが示唆された。

【考察】

本研究により、AI を活用した復職支援ツールが、潜在看護師の多様なニーズに応じた個別的な復職支援に寄与する可能性が示唆された。特に、AI による個別化された職場紹介や支援提案は、復職に対する心理的障壁を低減し、復職意欲を高める効果が認められた。

これは、従来型の一律的な復職支援では対応しきれなかった個別事情への柔軟な対応が可能となった点で意義深い。

一方で、インタビュー結果からは、AI ツールのみでは復職支援を完結できないという課題も明らかとなった。特に、復職における不安の軽減や職場適応には、人対人の直接的な対話やフォローアップ支援が不可欠であり⁶⁾、AI 支援と人的支援を組み合わせたハイブリッド型支援の必要性が示された。

また、看護師たちの転職・復職に対する意識が、従来の「消極的な選択」から「自己実現のための前向きな選択」へと変化している点も注目される。柔軟な働き方やライフスタイルに応じた職場環境の整備が、復職促進において極めて重要であることが明らかとなった。

これは、ダイバーシティ・マネジメントの理論と合致し、多様な価値観やニーズを尊重しながら人材を活かす組織運営の重要性を再認識させる結果となった。

さらに、復職支援策を講じる際には、給与体系や労働条件の改善も併せて検討する必要があることが示唆された。単に復職を促すだけでなく、復職後に安定して働き続けられる環境を整備することが、持続可能な人材確保に直結する。

以上より、AI を活用した復職支援は、潜在看護師の復職促進において有効な手段となり得るが、それを最大限に活かすためには、人的支援との連携、柔軟な職場環境の整備、多様なニーズに配慮した包括的な支援体制の構築が不可欠である。

【結語】

本研究は、AI を活用した看護師の復職支援にダイバーシティ・マネジメントの視点を取り入れることで、潜在看護師の多様なニーズに応じた個別化支援の可能性を検討したものである。インタビュー調査の結果、AI による個別化支援は復職意欲の向上に寄与する一方で、人的サポートや柔軟な職場環境の整備が不可欠であることが明らかとなった。

復職を単なる労働力確保の手段と捉えるのではなく、個々の看護師の自己実現やライフスタイルに配慮した支援を構築することが、今後の医療現場における持続可能な人材確保に資する道である。本研究の成果は、潜在看護師の復職支援策の高度化に向けた一助となるとともに、多様性を尊重する社会の実現に向けた貴重な知見を提供するものである。

今後は、AI 技術のさらなる進化に応じた支援ツールの改良と、人的サポート体制の強化を図り、より実効性の高い復職支援モデルの確立を目指す必要がある。

本研究における開示すべき利益相反はない。

【謝辞】

本研究を遂行するにあたり、多大なご支援を賜りました公益財団法人ウエスコ学術財団に心より感謝申し上げます。

【参考文献】

1. 医療従事者の需給に関する検討会 看護職員需給分科会 中間とりまとめ. 厚生労働省 <https://www.mhlw.go.jp/content/10805000/00567572.pdf>, 2025年1月30日
2. 竹内久美子; 小溝早紀; 小笠原祐子; 杉山由香里. 諸外国における潜在看護師リフレッシュプログラム研究の動向～潜在看護師の減少を目指す継続的キャリアを支援する取り組み～. *和洋女子大学紀要*, 2022, 63: 135-141.
3. 竹内久美子; 小溝早紀. 潜在看護師の復職支援に関する研究～潜在看護師支援に関する文献から検討する日本の課題～. *和洋女子大学紀要*,

2023, 64: 175-183.

4. 植田満美子; 舟島なをみ; 中山登志子. 潜在看護師の離職から復職に至る過程の解明— 潜在看護師の経験の二次分析—. 千葉看護学会誌= Journal of Chiba Academy of Nursing Science, 2022, 28.1: 99-107.
5. 虫明昌一. 潜在看護師の雇用を促進: 訪問看護職員の不足を解消するマッチング. 医事業務: bi-weekly medical services, 2023, 30.646: 34-36.
6. 榊茜; 深堀浩樹. 潜在看護師が復職後に復職をした自分になじむまでの過程. 日本看護管理学会誌, 2014, 18.2: 114-124.

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、近年では未曾有の災害となった。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。

1. 研究の背景

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っている。説話を基とし、QGIS を用いた空間データを作成する。

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. 今年度の実施内容と結果

今年度の研究については以下の 2 つの内容を行った。

①対外的発表をするため論文作成

②QGIS を用いた空間データベース構築に向けたジオリファレンス作成

本報告書では、②の QGIS を用いた空間データベース構築に向けたジオリファレンス作成の手順、概要を述べる。

前年度までに入手した旧地図である井原村街頭絵図と天保 14 年の絵図を利用する。今回のポリゴンデータ作成のために絵図を、

スキャナーでデジタル化，並びにデジタルカメラで撮影した絵図は歪みが小さくなるように補正を行った。

次に2枚の絵図について，現在の位置に合わせるため経緯度を読み取る必要があった。しかしながら2枚の地図について，経緯度や地形図の縮小値など情報が抜けているため，現在でも寺社など建築物が存する区域等を井原市史や古書から照らし合わせ距離を測り，画像を縮小補正する必要がある。

新旧測地系の地形図をGIS上で重ね合わせをする場合，数百mの誤差が生じるため，測地系の違いを変換する必要がある。「Web版TKY2JGD」を利用し，1図幅あたり四隅の数値を読み取り，入力することにより経緯度を測ることが出来る。しかしながら，計測した数値を入力し，手書きの旧地図をQGIS上に表示させてみたが，位置が大幅にずれているため，現在改良中である。

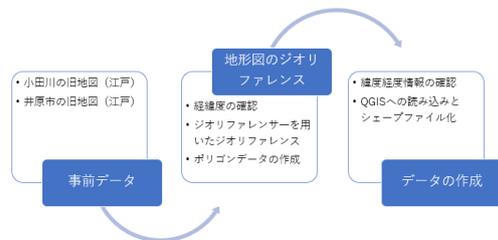


図1. 作業手順

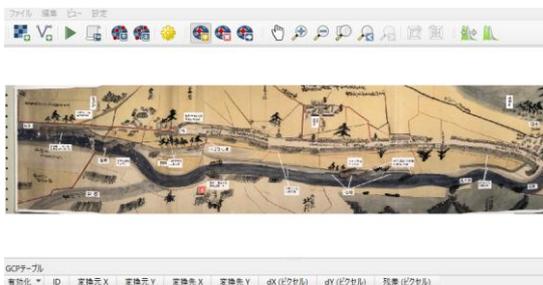


図2 ジオリファレンス

3.おわりに

今年度は，現在までの研究結果をまとめて，対外的発表をするための資料づくり，QGISを用いた空間データベース構築に向けたジオリファレンス作成を行った。しかしながら，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より得られた結果については，過去に収集されたデータにおける観測されえが実際は観測されなかったデータとなる。そのため，過去に収集したデータを用いて仮想的な施策を設計し，その性能を評価する反実仮想機械学習をすることが最適ではないかと考える。

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。

また井原語りの会「話輪和会」井上晴正氏をはじめ本研究にご協力を賜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, No.136 2019 (春季), pp.12-18, 2019
- [2]樋口耕一 (2014). 内容分析の継承と発展を目指して—社会調査のための計量テキスト分析— ナカニシヤ出版
- [3]愛知大学三遠南信地域連携センター, 地域研究のための空間データ分析入門, pp.42-53, 2019

新規ビタミンD 欠乏マウスモデル作成の試みと、それを用いたビタミンD 欠乏と健康の関連解析

岡山学院大学 人間生活学部 食物栄養学科

岡田 只士

近年、疫学研究の進展により血中ビタミンD 濃度が、がんや自己免疫疾患、急性呼吸器感染症などの様々な疾患の発症や悪性化リスクと関連することが明らかとされている。その一方で、日本内分泌学会・日本骨代謝学会の指針によれば、日本人の血中ビタミンD 濃度は、男性の72.5%、女性の88%が非充足状態であると報告されている。また、中高生に着目してみても、男子の79.9%、女子の89.8%が非充足状態にあるとの報告がある。しかしながら、ビタミンD 非充足状態が、健康や成長にどのような影響を与えるかということについてはほとんど研究報告がない。本研究では、ビタミンD 欠乏飼料を用いて食餌誘導性ビタミンD 欠乏モデルの作成を試み、それを用いてビタミンD 欠乏が成長や健康に与える影響を解析することを目指した。

表現型解析を行った結果、ビタミンD 欠乏食飼育群において、体重増加の抑制や、大腸の長さの短縮が認められた。ビタミンD 欠乏による影響と示唆されるが、そのメカニズムは明らかにできていない。今後、さらに詳細な解析を行うことで、ビタミンD 欠乏が成長や健康に与える影響を明らかにしていく必要がある。

1. 緒言

近年、疫学研究の進展により、血中ビタミンD (VD) 濃度が様々な疾患（がん、自己免疫疾患、炎症性腸疾患、生活習慣病、急性呼吸器感染症など）の発症や悪性化リスクあるいは高齢者の転倒や骨折リスクなどと相関することが報告されている。その一方で、日本内分泌学会・日本骨代謝学会の指針によれば、日本人の血中VD 濃度は、男性：72.5%、女性：88%が非充足状態であると報告されている⁽¹⁾。上記をまとめると、血中VD 濃度を充足させることは、様々な疾患の予防、健康寿命の延伸、生活の質の向上に寄与すると期待される。

一方、長期的なVD 欠乏が成長や健康に、どのような影響を与えるかについては、ほとんど研究がなされていない。長期的なVD 欠乏による影響を生体レベルで解析するためには、適切なVD 欠乏動物モデルが必要である。しかしながら、これまでに報告がある動物モデル（VD 受容体遺伝子破壊マウスなど）は、離乳後、4 週程度しか生存せず、表現型がシビアであり、長期的な解析研究には適していない。また、VD は日常的な食事やサプリメントなどにより摂取されるほか、紫外線を浴びることによる皮膚での合成もあり、VD 欠乏状態を正確に科学的に評価・解

析できるモデルが存在しなかったことが理由の1つであろうと推測された。

そこで本研究では、VD を可能な限り排除した合成飼料を用いて、食餌誘導性のVD 欠乏マウスモデルを作成し、それを用いてVD 欠乏が成長や健康に与える影響を解析することを試みた。

2. 材料と方法

飼料

飼料は日本クレア社に合成を依頼した。米国国立栄養研究所 (AIN) により定められた標準精製飼料；AIN-93G を「コントロール飼料」とし、それよりビタミンD を排除した飼料を「ビタミンD 欠乏飼料」とした。

マウスおよび飼育環境

マウスは日本クレア社より購入した。3 週齢、雄のC57BL/6J マウスを購入し、上記のコントロール飼料またはビタミンD 欠乏飼料で飼育した。飼育環境は室温 23 °C、明期 12 時間、暗期 12 時間、餌および水は自由摂食とした。

表現型解析

飼育マウスは体重、摂食量、空腹時血糖値を週に1度測定し記録した。測定は、摂餌後1週間から5ヶ月まで継続的に行った。

耐糖能試験

コントロール飼料およびビタミンD欠乏飼料摂餌後4ヶ月の時点で耐糖能試験を行った。マウスを20時間絶食した後、空腹時血糖値を測定した。その後、15%グルコース/PBSを体重10g当たり0.1ml腹腔内投与(1.5mg/g体重)した。投与後、30, 60, 90, 120分後に血糖値を測定し記録した。

試料採取

飼育後、2週間、1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月、5ヶ月においてマウスを安楽殺し試料を採取した。各時点における試料採取数は、コントロール飼料摂餌、ビタミンD欠乏飼料摂餌、それぞれ3匹ずつとした。心臓、肝臓、腎臓、精巣周囲白色脂肪をそれぞれ採取し体重当たりの重量を測定した。また、大腸の長さを測定した。肝臓および大腸においては、組織学的解析に供するため、4%パラホルムアルデヒド固定を行った。腹腔内動脈より血液を採取し、血漿を保存した。右足大腿骨を採取し、70%エタノール固定し保存した。

組織学的解析

肝臓および大腸の組織学的解析はジェノスタッフ株式会社に依頼した。4%パラホルムアルデヒドにより固定した組織はパラフィン包埋後、薄切、HE染色された。HE染色されたスライド標本は、バーチャルスライドスキャナーにより、画像データとして保存された。

血液生化学解析

血液生化学解析はオリエンタル酵母工業株式会社に依頼した。解析項目は、カルシウム、無機リン、中性脂肪、総コレステロールとした。

血中ビタミンD濃度解析

血中ビタミンD代謝体の濃度解析は、研究協力関係にある富山県立大学工学部医薬品工学科 安田准教授に依頼した。

骨密度解析

骨密度解析は、研究協力関係にある富山県立大学工学部生物工学科 西川助教に依頼した。

3. 結果

各飼料摂餌後の体重推移を以下に示す(図1)。ビタミンD欠乏飼料摂餌マウスの体重は、摂餌後7日目よりコントロール群と比して有意に低かった。

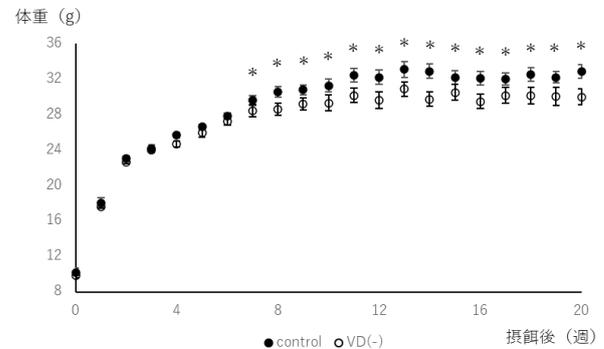


図1 体重の推移
各飼料摂餌後の体重推移を示す。各群n=4。エラーバーは体重平均±標準誤差で示す。*P<0.05

各タイムポイントにおける1日の平均摂食量を以下に示す(図2左)。ビタミンD欠乏飼料摂餌マウスの摂食量は、コントロールと比して少なかった。また、観察期間を通しての1日当たりの平均摂食量も同様であった(図2右)。

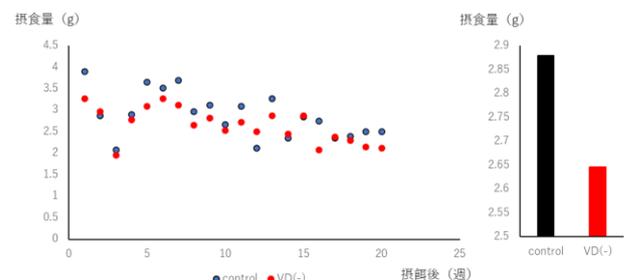


図2 1日の平均摂食量
各タイムポイントにおける平均摂食量を示す(左)。観察期間を通しての平均摂食量を示す(右)。

各タイムポイントにおける空腹時血糖値を以下に示す(図3)。ビタミンD欠乏飼料摂餌マウスおよび

コントロールマウスの空腹時血糖値は、観察期間を通して、概ね正常範囲 (70-110 mg/dl) であったが、ビタミンD 欠乏飼料摂取後5週およびコントロール飼料摂取後7、8、9週において、異常な高血糖値 (125 mg/dl 以上) が認められた。

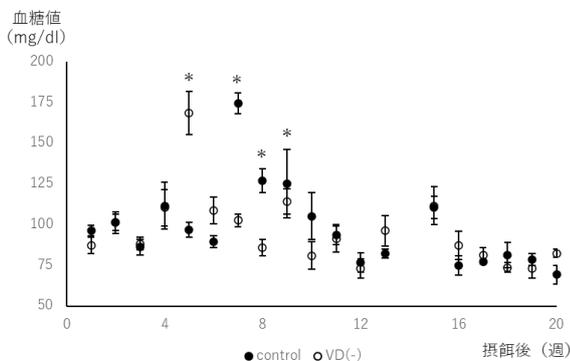


図3 空腹時血糖値
各飼料摂取後の各タイムポイントにおける空腹時血糖値を示す。各群n=4。エラーバーは空腹時血糖値平均±標準誤差で示す。*は異常値 (>125mg/dl)

飼育後4ヶ月において、耐糖能試験を行った。コントロール群およびビタミンD 欠乏食飼育群において、有意な差は認められなかった。

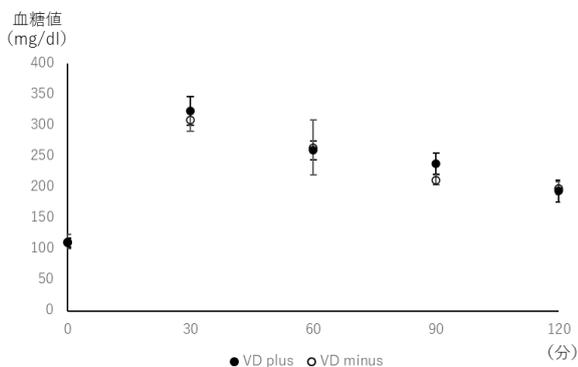


図4 耐糖能試験
グルコース投与後、30、60、90、120分後の血糖値を示す。各群n=4。エラーバーは血糖値の平均±標準誤差で示す。

飼育後、2週間、1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月、5ヶ月における種々の組織を比較解析した。心臓、腎臓、肝臓、精巣周囲脂肪について、体重当たりの重さを比較したが、差を認めることはなかった。

次に、飼育後、2週間、1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月、5ヶ月における大腸の長さを比較解析した。摂取後、2ヶ月、3ヶ月、5ヶ月において、コントロール群に比して、ビタミンD 欠乏飼料群で大腸の長さが有

意に短くなっていた。

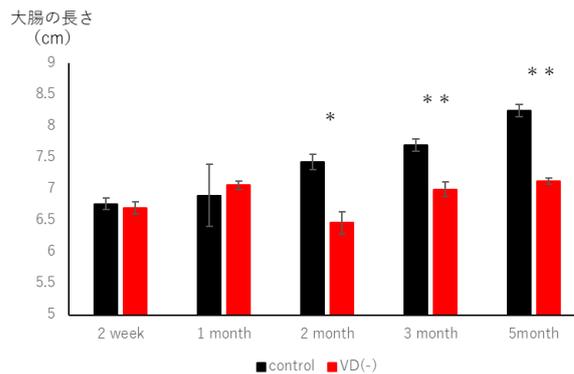


図5 大腸の長さ
各飼料摂取後の各タイムポイントにおける大腸の長さ示す。各群n=3、5monthの試料のみn=4。エラーバーは大腸の長さの平均±標準誤差で示す。
*p<0.05、**p<0.01

飼育後、3ヶ月および5ヶ月の肝臓および大腸を4%パラホルムアルデヒド固定し、HE 染色による組織化学的な解析に供した。コントロール群およびビタミンD 欠乏食飼育群において、肝臓にも大腸にも差は認められなかった。

飼育後、2週間、1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月、5ヶ月に採取した血漿について生化学解析を行った。無機リン、中性脂肪、総コレステロール値については、コントロール群およびビタミンD 欠乏食群において有意な差は認められなかった。カルシウムについては、飼育後5ヶ月より採取した試料において、ビタミンD 欠乏飼料群が有意に減少していた。

飼育後、2週間、1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月、5ヶ月に採取した血漿について、ビタミンD 代謝物の解析に供した。現在、解析途中であり、結果はまだでていない。

飼育後、2週間、1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月、5ヶ月に採取した大腿骨試料について、骨密度の解析に供した。現在、解析途中であり、結果はまだでていない。

4. 考察

本研究では、ビタミンD 欠乏が成長や健康に与える影響を明らかにすべく研究を行った。

過去の報告によると、ビタミンDがインスリン分泌を促進し、インスリン抵抗性を改善することが示唆されている。本研究では、飼料による食餌誘導性ビタミンD欠乏モデルを作成し、それを用いて成長や健康に与える影響を解析した。本モデルでは、ビタミンDが欠乏していることから、インスリン分泌が阻害され、肥満を呈すのではないかと予想された。しかしながら、結果はビタミンD欠乏食飼育群の方が有意に体重は低く、また、摂食量も少なかった。空腹時血糖値は正常範囲であり、耐糖能試験においても、コントロール群と差はなかった。血漿の生化学解析においても総コレステロール値や中性脂肪値に有意な差は認められなかった。上記のような研究開始前の予想と反した結果が得られている理由は、現在のところ不明である。血中ビタミンD代謝体の解析が、現在進行中であり、まだ結果が分からないので評価することは難しいが、1つの可能性としては、本研究で準備したビタミンD欠乏飼料では、期待したとおりに血中ビタミンD濃度が下がっていない可能性がある。しかしながら、ビタミンD欠乏食飼育5ヶ月目の血漿試料で血中カルシウム濃度の有意な減少が確認できている。ビタミンDは腸管からのカルシウム吸収に寄与していることから、血中ビタミンD濃度も減少しているものと推測される。現在のところ、未だ解析途中の実験もあるので、そちらの結果を待ち総合的に評価したいと考えている。また、手元にある試料について、他のアプローチで解析を進める予定である。

興味深い知見として、ビタミンD欠乏飼料飼育群において、飼育後2ヶ月頃より、コントロール群と比して、大腸の長さが有意に短くなっていることが確認できた。このような表現型は、大腸炎モデル動物など、大腸に炎症が認められる際によくみられる。そこで、飼育後3ヶ月および5ヶ月において、大腸試料を採取し、HE染色による組織化学的な解析に供した。コントロール群およびビタミンD欠乏食群を比較したが、有意な差は認められず、また、炎症を示唆するような染色像、例えば、マクロファージや単核球の浸潤などを認めることはできなかった。本研究では、ビタミンD欠乏の成長への影響を検討す

べく、3週齢時（離乳直後）よりコントロールおよびビタミンD欠乏飼料で飼育を行っている。以上の結果は大腸の成長にビタミンDが関わっている可能性を示唆している。大腸の成長にビタミンDが直接的に必要なのか、ビタミンD欠乏による二次的な影響により大腸の成長が阻害されたのかは不明である。今後、腸内細菌叢の解析や大腸上皮細胞の遺伝子発現を解析などを行い、ビタミンDの大腸成長への関りを検討していく予定である。

以上をまとめると、現段階では、ビタミンD欠乏が成長に与える影響について、未だ明らかにできていないことも多い。これからも本研究を推進していく計画である。一方、本研究内容では、ビタミンDが健康に与える影響についてはほとんど解析できていない。これについては、コントロール飼料およびビタミンD欠乏飼料を成長したマウスに給餌し、本研究と同様に経時的に表現型解析を行う等することで検討できると考えられる。次年度は、「ビタミンD欠乏と健康」というところに焦点を当て、さらに研究を進める計画である。

5. 謝辞

本研究を遂行にあたり、研究助成を賜りました貴財団に深く感謝いたします。

6. 参考文献

(1) 一般社団法人日本内分泌学会、一般社団法人日本骨代謝学会、厚生労働省難治性疾患克服研究事業ホルモン受容機構異常に関する調査研究班：ビタミンD不足・欠乏の判定指針、日本内分泌学会雑誌、93(1)、2017、p.1-10

島嶼部における介護予防プログラムの開発 ～島民の食事摂取状況における探索的研究～

岡山学院大学 デジタル生活学部 フードマネジメント学科

平野聡

本研究は、瀬戸内海の島嶼部に居住する高齢者を対象に、栄養素および食品群別の摂取状況を把握し、介護予防に向けた課題を明らかにすることを目的とした。対象は離島に居住する11名（男性4名、女性7名、平均年齢74.5±5.9歳）であり、簡易型自記式食事歴法質問票（BDHQ）を用いて食事調査を行った。結果は、エネルギー摂取量は個人差が大きく、特に女性にエネルギー摂取量の不足が認められた。たんぱく質摂取量は概ね目標量に近かったが、カルシウム、ビタミンD、食物繊維の摂取量は男女ともに不足しており、特に女性で顕著であった。食塩摂取量は目標量を上回る傾向がみられた。食品群別の摂取状況では、魚介類・肉類・卵類は目標量に対し半数以上が不足であった。乳類や野菜類（緑黄色野菜・その他の野菜）の摂取は著しく不足し、野菜類では、90.9%に達した。果実類は平均摂取量で目標を上回ったものの、摂取の安定性に課題があった。これらの背景には、対象地域にスーパーマーケット等の食品流通網が存在しないという地理的特性が影響しており、生鮮食品の入手困難が栄養素の偏りや摂取不足を助長していることが示唆された。

1. 研究の背景と目的

海洋島嶼国である日本は、大小あわせて14,125もの島々から構成されており、そのうち416島は、人々が暮らす有人島である¹⁾。一方、岡山県には、外周0.1km以上の島は87島ある。令和5年に改正離島振興法は法期限が10年延長され、離島の自立的発展を促進し、島民の生活の安定及び福祉の向上を図ることが掲げられ、国民経済の発展及び国民の利益の増進に寄与することが示されている²⁾。

令和5年度の国勢調査において岡山県の高齢化率は、31.3%であるが、瀬戸内海に点在する島嶼部の高齢化率は60%を超えている³⁾。島嶼部における生活の安定および福祉の向上を図る上で、島嶼部の住民の健康増進および介護予防は急務である。しかし、島嶼部に住む住民の身体活動量や骨格筋量等の運動機能の調査や栄養素の摂取状況との関連は明らかになっていない。また、島嶼部は交通の利便性の悪さからか介入研究の報告がない。

島嶼部における先行研究はないが、同じく過疎化・高齢化が進んだ中山間地域は、地域在住高齢者の低栄養のリスクが高いことが示唆されている。

本研究は、島嶼部における介護予防プログラムの

開発を目的とし、①島嶼部の住民を対象に食事摂取状況を調査、②身体状況の調査および栄養素の摂取状況の関連を分析、③島嶼部における介護予防プログラムの開発および評価を行う。島嶼部における介護予防プログラムの開発は、島嶼部の健康問題の解決だけが目的ではない。日本は人口減少と少子高齢化から「課題先進国」と言われる。本研究は、日本の中でもさらに課題が深刻な島嶼部の健康問題を明らかにし、島嶼部での介護予防プログラムを開発することである。これは、本土が10年後に抱えるであろう深刻な健康や福祉の課題を島嶼部で先んじて解決し、島嶼部だけでなく本土の公衆衛生の向上を図ることを目指している。

本年度は、島嶼部の住民を対象とした大規模な栄養素等摂取調査を行うための予備調査として、栄養素等摂取量の課題を検討した。

2. 方法

2-1. 対象者

対象者は、瀬戸内海の離島で生活する住民11名（男性4名、女性7名 平均年齢74.5±5.9歳）であった。この離島の特徴は、人口46名、高齢化率

60.7%である。また、本土までの交通手段が船のみであり、75分の時間を要し、島内には、スーパーマーケットなどの商店はない地域である。

対象者は、島のまちづくり協議会に依頼し、島民のうち、研究に参加を表明した者に対し、調査を行った。

倫理的配慮として、対象者には、調査開始前に口頭と文書で、調査は匿名であること、データは研究目的のため使用され、他の目的に使用されないこと、調査結果は個人を特定できない形で公表することを説明し、同意の得られた者のみを対象とした。

なお、本研究は、岡山学院大学研究倫理委員会の承認を得て実施した（承認番号：2024-①）。

2-2. 調査概要

食事調査は、簡易型自記式食事歴法質問票（以下、BDHQ）を用いた。BDHQは、日本に住む成人を対象として小林ら⁴⁾により開発された。通常の食品（サプリメント等を除く）から習慣的に摂取している栄養素量を比較的簡便に、個人を単位として調べ、個人ごとの栄養素摂取量、食品摂取量、その他、若干の定性的な食行動指標の情報を得るために設計された質問票である。80の質問から構成され、58種類の食品と100種類以上の栄養素の摂取量が算出できる。その結果は、集団に用いた場合には、個人ごとのデータから構成される集団のデータベースが作成され、集計や解析に用いることができ、その妥当性について検証されている⁵⁾。

今回の研究の調査時期は、11月に実施した。

2-3. 統計方法

調査結果のうち、個人の推定値は、基準値と比較し、全体の推定値は、平均値と標準偏差を算出した。

なお、今回は島嶼部での大規模調査を行うための探索的調査であり、記述統計のみを行った。

3. 結果

3-1. 調査対象者の基本属性

本研究では、瀬戸内海の島嶼部在住の高齢者11名（男性4名、女性7名 平均年齢 74.5 ± 5.9 歳）であった。対象者の身体状況を表1に示す。

対象者は、いずれも調査時に要介護認定されてお

らず、自立した生活を営む者であった。身体状況は、BMI（Body Mass Index）にて評価した。厚生労働省が示す 21.5 kg/m^2 以上 25.0 kg/m^2 未満の基準から、男性はるい痩域が1名、標準域が2名、肥満域が1名であった。女性は、るい痩域が2名、標準域が3名、肥満域が2名であった。

3-2. 栄養素等摂取状況

BDHQの解析結果より、栄養素等摂取状況を表2に示した。男性ではエネルギー摂取量、たんぱく質摂取量、ビタミンD摂取量、食塩摂取量が女性より高い傾向がみられた。一方、カルシウムおよび食物繊維摂取量に関しては男女間に大きな差はみられなかった。

本調査対象は少人数であり、統計的な有意差の検定は行っていないが、男女別にみることで摂取傾向の違いが示唆された。

3-3. 食品群別の摂取状況

食品群別の摂取状況を表3に示した。

本調査における食品群別の目標摂取量は、各種公的資料に基づき設定した。

魚介類および肉類の目標摂取量をそれぞれ80g/日と設定した。厚生労働省および農林水産省が策定した「食事バランスガイド」⁶⁾では、日常生活に必要なエネルギーと栄養素を満たすため、主食・主菜・副菜・牛乳・果物の摂取バランスが示されている。同ガイド⁶⁾では、主菜（魚、肉、卵、大豆製品）は1日3~5つ（SV）を目安とされ、1つあたりの標準的な目安量は約80g（魚または肉）とされている。

卵類の目標摂取量は、50g/日と設定した。同ガイドおよび日本食品標準成分表2020年版（八訂）⁷⁾を参考に、Mサイズ卵1個（約50g）を1日あたりの目標摂取量と設定した。

乳類の目標摂取量は、200g/日とした。同ガイド⁶⁾における「牛乳コップ1杯（約200g）」を1単位とし、カルシウム摂取確保の観点から設定した。

野菜類の目標摂取量は、350g/日とした。厚生労働省が推進する健康日本21（第三次）⁸⁾において、1日350g以上の野菜摂取が目標とされている。そのうち、緑黄色野菜は1/3以上（120g以上）摂取することが推奨されているため、緑黄色野菜を120g/日、その

他の野菜を 230g/日と設定した。

果実類の目標摂取量は、150g/日とした。健康日本 21（第三次）⁸⁾において 1 日 100~200g の摂取が推奨されており、その中央値にあたる数値を目標摂取量とした。

介護予防に資する栄養素摂取の達成を意識し、国の指針に基づいた目標摂取量を設定した。

表1 対象者の基本属性

	男性(n=4)	女性(n=7)	全体(n=11)
年齢(歳)	74.0 ± 4.9	74.7 ± 6.7	74.5 ± 5.9
身長(cm)	161.5 ± 7.0	151.9 ± 5.6	155.4 ± 7.5
体重(kg)	64.3 ± 12.0	50.8 ± 5.2	55.7 ± 10.3
BMI(kg/m ²)	24.6 ± 5.3	22.1 ± 3.1	23.1 ± 4.0

表2 対象者の栄養素等摂取状況

	男性(n=4)	女性(n=7)	全体(n=11)
エネルギー摂取量(kcal/日)	2539.5 ± 274.8	1720.6 ± 657.0	2018.4 ± 672.5
たんぱく質摂取量(g/日)	94.2 ± 11.0	62.1 ± 28.0	73.8 ± 27.7
カルシウム摂取量(mg/日)	600.6 ± 226.8	501.8 ± 195.9	537.7 ± 202.4
ビタミンD摂取量(μg/日)	16.0 ± 2.4	10.7 ± 7.0	12.6 ± 6.2
食物繊維摂取量(g/日)	13.6 ± 3.6	11.0 ± 3.7	12.0 ± 3.7
食塩摂取量(g/日)	14.0 ± 2.8	9.1 ± 3.8	10.9 ± 4.1

表3 対象者の食品群別摂取状況

	目標摂取量	平均摂取量	摂取不足者の割合
魚介類(g/日)	80	75.8 ± 36.1	54.5%
肉類(g/日)	80	79.0 ± 57.0	54.5%
卵類(g/日)	50	54.7 ± 35.5	54.5%
乳類(g/日)	200	123.6 ± 90.5	81.8%
緑黄色野菜(g/日)	120	80.8 ± 28.9	90.9%
その他の野菜(g/日)	230	125.4 ± 61.7	90.9%
果実類(g/日)	150	156.3 ± 135.8	63.6%

4. 考察

4-1 栄養素等摂取状況

本調査では、島嶼部に居住する高齢者(男性 4 名、女性 7 名)を対象に食事摂取状況を把握し、介護予防の観点から検討を行った。

まず、エネルギー摂取量は男性で 2539.5 ± 274.8kcal/日、女性で 1720.6 ± 657.0kcal/日と、男女間に大きな差がみられた。男性においては過剰摂取の傾向も懸念される一方、女性ではエネルギー摂取量の不足が観察された。特に、女性は身体活動量の低下を背景とした低栄養リスクに注意が必要である。

たんぱく質摂取量は、男性 94.2 ± 11.0g/日、女性 62.1 ± 28.0g/日であった。日本老年医学会が推奨す

る 1.0~1.2g/kg 体重/日の基準を参考にすると、体重によっては女性でたんぱく質摂取不足が生じている可能性がある。たんぱく質の不足はサルコペニアの進行を助長し、転倒や要介護状態のリスクを高めるため、特に女性高齢者への介入が求められる。

カルシウム摂取量は、男性 600.6 ± 226.8mg/日、女性 501.8 ± 195.9mg/日であり、推奨量⁹⁾(男性 65~74 歳 750mg/日、女性同 650mg/日)に対して、男女ともに不足していた。カルシウム摂取量の不足は骨粗鬆症および骨折リスクの上昇と関連するため、乳製品や小魚、緑黄色野菜などを積極的に取り入れた食生活改善が必要である。

ビタミン D 摂取量は、男性 16.0 ± 2.4μg/日、女性 10.7 ± 7.0μg/日であり、目安量⁹⁾(男性 65~74 歳 9.0μg/日、女性同 9.0μg/日)に対して、女性は不足傾向が見られた。ビタミン D は筋肉機能や骨密度維持に不可欠であり、転倒・骨折予防に重要な役割を果たすため、魚介類やきのこ類の摂取促進、および日光浴の機会確保が望まれる。

食物繊維摂取量は、男性 13.6 ± 3.6g/日、女性 11.0 ± 3.7g/日であり、目標量⁹⁾(男性 20g/日以上、女性 17g/日以上)には達していなかった。食物繊維の摂取不足は、便秘リスクの増大や腸内環境悪化、さらには慢性炎症の惹起を通じて生活機能低下につながるため、野菜・海藻・きのこ類の摂取増加が課題となる。

食塩摂取量は、男性 14.0 ± 2.8g/日、女性 9.1 ± 3.8g/日であり、目標量⁹⁾(男性 7.5g/日未満、女性 6.5g/日未満)に対し、特に男性において過剰摂取が懸念された。食塩摂取量の過剰は高血圧や心血管疾患リスクと関連し、要介護リスクを間接的に高める可能性があることから、減塩指導が必要と考えられる。

本調査対象の島嶼部高齢者においては、エネルギー摂取の適正化、たんぱく質・カルシウム・ビタミン D・食物繊維の摂取量の向上、食塩摂取量の適正化が介護予防に向けた重点課題であることが示唆された。今後、地域資源を活用した食事改善支援や、継続的な栄養教育の展開が求められる。

4-2. 食品群別摂取状況

本調査における食品群別摂取状況の分析から、以下の特徴が認められた。

魚介類および肉類は、目標摂取量 80g/日に対し平均摂取量はそれぞれ 75.8g/日、79.0g/日と、比較的目標に近い水準であった。しかし、摂取不足者の割合は両者とも 54.5%に達しており、個人差が大きいことが示唆された。特に高齢者においてはたんぱく質摂取の重要性が高いことから、より安定的な主菜となる食品の摂取確保が求められる。

卵類は、目標値を上回る平均摂取量が 54.7g/日であったものの、摂取不足者の割合は魚介類や肉類と同様に 54.5%であり、個人間の摂取状況にばらつきが見られた。卵は消化吸収が良く、手軽な栄養源となることから、活用推進が有効であると考えられる。

一方、乳類は、目標量 200g/日に対し平均摂取量は 123.6g/日と大幅に下回り、摂取不足者の割合も 81.8%と高かった。カルシウム摂取源としての乳製品の重要性を踏まえ、定期的な摂取習慣の支援が必要である。

野菜類に関しては、緑黄色野菜が目標摂取量の 120g/日及びその他の野菜の目標摂取量が 230g/日に対し、平均摂取量が大きく下回っており、それぞれ摂取不足者の割合は 90.9%と非常に高かった。特に野菜類の摂取不足はビタミン、ミネラル、食物繊維の欠乏につながり、介護予防の観点からも重要な課題である。野菜摂取の増加を目指した食生活指導や、調理方法の工夫が求められる。

果実類については、目標 150g/日に対して平均摂取量は 156.3g/日と目標を上回ったが、摂取不足者の割合は 63.6%と依然として高かった。果物は嗜好性の高い食品である一方で、摂取頻度や量に個人差が出やすい傾向がみられた。適切な量と頻度で果実を取り入れる食習慣の形成が課題である。

4-3. 島の生活を踏まえて

調査対象地域には、日常的に利用可能なスーパーマーケットが存在しないという特殊な生活環境がある。この状況は、食品の購入機会や入手可能な食品種類に制限をもたらし、食生活に大きな影響を与えていると考えられる。特に野菜類、乳類、果実類といった鮮度管理が必要な生鮮食品は、島内での安定

供給が難しいことが推察される。

そのため、目標摂取量に対して大幅な不足が認められた野菜類および乳製品の摂取状況には、物流・流通の制約が影響している可能性が高い。また、島内で自家栽培や釣りによる自給が比較的可能な魚介類や一部の野菜についても、個人の栽培・漁獲能力や季節的な制約によって摂取量にばらつきが生じたと考えられる。

結果として、たんぱく質源となる魚介類、肉類及び卵類についても、全体としては平均値に近い水準を示しながらも、個人間で大きな摂取量差が発生している。さらに、果実類に関しても、島外からの持ち込みや季節限定での摂取に依存するため、摂取が安定せず、摂取不足者が一定数存在した可能性がある。

本研究より、島嶼部という地理的特性が食環境の限定性を生み、結果として特定の食品群の摂取不足や摂取のばらつきにつながっていることが明らかとなった。

今後、介護予防や栄養改善施策を検討するにあたっては、単なる食事指導に留まらず、保存性の高い加工食品や冷凍食品の活用、島内での簡易な野菜栽培支援、地域内流通の工夫など、物理的アクセス改善を含めた包括的アプローチが必要であると考えられる。

5. 今後の検討課題

本研究にはいくつかの限界が存在する。

第一に、調査対象者数が十分に確保できなかった点が挙げられる。本調査は島嶼部の特定地域に居住する高齢者を対象としたが、対象者の総数が限られていたうえ、サンプルサイズが小規模にとどまった。このため、得られた結果の一般化には慎重な解釈が求められる。

第二に、本調査は単一の島において実施されたものであり、島嶼部全体を代表するデータとは言い難い。島ごとに生活環境や食文化、流通状況が異なる可能性が高く、より広範な地域を対象とした調査が必要である。

今後の課題として、調査対象地域を拡大し、複数の島嶼部にわたる比較研究を行うことで、島嶼部高

齢者の食生活に関するより包括的かつ普遍的な知見の獲得を目指したい。また、対象者数の増加に向けた調査方法の工夫や、地域住民との連携強化も検討していく必要がある

6. 結論

本調査により、島嶼部高齢者における栄養素別および食品群別の摂取状況と、それに伴う課題が明らかとなった。

栄養素別の摂取状況は、エネルギー摂取量に個人差が大きく、特に女性において必要量を下回る例がみられ、低栄養リスクが懸念された。たんぱく質摂取量については男女ともに概ね目標を満たしていたものの、カルシウムおよびビタミンDの摂取量は推奨量に対して不足していた。食物繊維摂取量も目標量に達しておらず、野菜類の摂取不足との関連が示唆された。加えて、食塩摂取量は推奨量を大きく上回っており、高血圧や循環器疾患リスクへの影響が懸念される状況にあった。

食品群別の摂取状況は、魚介類、肉類、卵類の平均摂取量は目標量に近かったが、摂取不足者の割合は5割を超え、個人間の摂取量のばらつきが認められた。乳類、緑黄色野菜、その他の野菜類は、平均摂取量が目標を大幅に下回り、特に野菜類では摂取不足者の割合が9割を超える深刻な不足が認められた。果実類についても平均摂取量は目標をわずかに上回ったが、摂取の安定性には課題が残った。

これらの背景には、対象地域にスーパーマーケット等の日常的な食品流通網が存在しないという地理的特性が影響していると考えられる。特に、乳類、野菜類、果実類などの生鮮食品の入手困難さが、栄養素の偏りや摂取不足を助長したと推察される。また、自家栽培や漁獲による自給が一部可能な食品群についても、個人差や季節的な変動により摂取の安定性に課題がみられた。

本研究から島嶼部の栄養状態の改善にあたり

- ・ 保存性の高い食品の導入支援
- ・ 簡易な自家栽培の推進
- ・ 食塩使用量の適正化
- ・ 個別栄養状態に応じた支援

といった生活環境に即した多面的なアプローチが必要である。

今後は、地域特性に配慮した持続可能な食環境整備と介護予防を視野に入れた包括的な栄養支援体制の構築を目指すことが重要である。

7. 謝辞

本研究は、公益財団法人 ウェスコ学術振興財団の研究活動費助成事業を受けて実施されました。研究の支援を賜りました公益財団法人 ウェスコ学術振興財団に深く感謝するとともに、本研究遂行にあたり参加いただいた皆様、ご助言いただきました関係者の皆様に感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 国土交通省 国土地理院 (2023). 『令和5年2月現在 日本の島の数』.
- 2) 国土交通省 (2023). 『改正離島振興法』.
- 3) 総務省統計局 (2024). 『令和5年度 国勢調査結果 (速報値)』.
- 4) Kobayashi S, Murakami K, Sasaki S, Okubo H, Hirota N, Notsu A, et al. Comparison of relative validity of food group intakes estimated by comprehensive and brief-type self-administered diet history questionnaires against 16 d dietary records in Japanese adults. *Public Health Nutr.* 2011;14(7):1200-1211.
- 5) Imai, S., et al. (2012). Validation study of a self-administered diet history questionnaire for assessing nutrients in Japanese adults. *Journal of Epidemiology*, 22(2), 151-159.
- 6) 厚生労働省・農林水産省 (2005). 『食事バランスガイド』.
- 7) 文部科学省 (2020). 『日本食品標準成分表 2020年版 (八訂)』.
- 8) 厚生労働省 (2024). 『健康日本 21 (第三次)』.
- 9) 厚生労働省 (2025). 『日本人の食事摂取基準』

低分子抗酸化物質含有野菜による血糖コントロール組織制御機構の解明

美作大学生活科学部食物学科

渡邊理江

(概要) 近年、多くの食用植物で様々な低分子抗酸化物質が見出されている。抗酸化分子ゲニステインや DDMP サポニンを含むアピオスは、北米東部原産のマメ科植物で、塊茎部が可食部であり、抗炎症作用や高血圧予防・糖尿病予防効果があると言われている。しかし、その詳細なエビデンスは乏しい。本研究では、アピオス塊茎部長期摂取による生体機能への影響を詳細に検討した。8 週齢よりアピオス塊茎部含有食餌を継続している 68 週齢マウス(老年初期に相当)の血糖コントロールおよび小腸組織を分析した。その結果、68 週齢マウスでは、血糖コントロールへの影響は認められなかったものの、杯細胞数および杯細胞面積の有意な増加が認められ、アピオス塊茎部は、小腸杯細胞の効果を高める作用があると示唆された。さらに、小腸筋層も増大していた。すなわち、アピオスには小腸機能を活発にする効果があると推測された。また、別の低分子抗酸化物質を含むアブラナ科野菜の紫キャベツやキク科野菜のヨモギでも同様の現象が観察されるのか、検証している。

① 研究の背景と目的

超高齢社会の現代において、サルコペニアによる身体機能の低下をはじめ、様々な疾患悪化を防ぐためには、健康寿命を延ばし QOL を向上させることが今日の食品栄養科学の大きな課題となっており、食用植物である、野菜や果物に含まれるファイトケミカルの機能が注目されている¹⁻³⁾。

ファイトケミカルは、色素や香り、苦味、渋味などの成分分子でその重要性から、第 7 の栄養素として位置づけられている。機能として、抗酸化効果による老化防止、生活習慣病やガンのリスク低減などが報告されている⁴⁻⁵⁾。ファイトケミカルの種類は、ポリフェノール類、カロテノイド類、含硫化合物類、その他の分類に区分される。ポリフェノール類は、フラボノイド系と非フラボノイド系に分かれる。ダイズ・フラボノイド系のイソフラボンアグリコン型の種類には、「ゲニステイン」「ダイゼイン」「グリシテイン」の 3 つの分子が明らかにされている。また、ダイズにはサポニン類も含まれる。

本研究で用いたマメ科植物アピオス(アメリカホドイモ、学名: *Apios Americana. Medikus*)の塊茎には、ゲニステインとゲニステイン関連構造分子が含有していることが既に報告されている⁶⁾。アピオス塊茎部の機能性成分・活性としては、抗酸化物質ゲニステインを含むイソフラボンや抗酸化作用/SOD

様活性を持つ DDMP サポニンなどの含有、弱めの α -グルコシダーゼ阻害活性が示されている。アピオス塊茎部ファイトケミカルの効果に関しては、生体防御効果や抗がん作用・抗炎症作用や高血圧・糖尿病の予防等について報告されているが、詳細なエビデンスは乏しい⁷⁻¹²⁾。



図1 津山市で栽培されたアピオスと調理例

本研究では、実験動物マウスを用い、8 週齢から 68 週齢(老年初期に相当)まで、アピオス塊茎部乾燥粉末を通常食に 20%含有する長期的な食餌自由摂取飼育を行い、68 週齢での血糖コントロール評価や小腸杯細胞・小腸筋層の組織解析を実施し、その結果を報告する。

② 方法

◆ 食餌調整

アピオスは津山市(津山工業原料株式会社、松永祐輔氏より分与)で栽培されたものを使用した。これまでの私たちの研究から⁴⁾、ジャガイモは、津山産アピオス塊茎部とエネルギー量がほぼ同等であったため、対照食材として使用した。アピオス塊茎部およびジャガイモは乾燥・粉碎し、アピオス粉末、ジャガイモ粉末を通常食(CE-2)に各20%混合して、アピオス食およびジャガイモ食を調製した。通常食はCE-2のみである。

◆ 動物実験

8週齢雄性マウスを用いて、68週齢(マウスの老年初期に該当する)まで長期的な食餌負荷実験を行った。飼料および水は、自由摂取とした。また、飼育および実験は美作大学動物実験に関する指針に基づいて行った。アピオス含有食群(アピオス食群)、ジャガイモ含有食群(ジャガイモ食群)、通常食群(CE-2食群)を調製し、アピオス食群およびジャガイモ食群はマウス10匹、通常食群においては5匹用いて測定・解析を行った。



図2 食餌に含有するアピオスとジャガイモ

◆ HbA1c の測定

マウスの尻尾から血液を採取し、DCA 2000 plus (Bayer/Siemens Healthcare Diagnostics) を持ちて、HbA1c 値の測定を行った。

◆ 腸管組織の解析

麻酔下にてマウスを解剖し、小腸蠕動運動がほぼない状態で小腸組織の単離・固定を行い、組織染色(AB-PAS染色及びHE染色:岡山大学医学部共同実験室)した組織切片を蛍光顕微鏡(オールインワン蛍光顕微鏡 BZ-X700:キーエンス株式会社)にて観察した。

小腸の絨毛及び杯細胞の解析については、絨毛の1

つあたりの面積の平均と、1絨毛当たりの杯細胞の数と面積を計測・解析した。小腸の筋層については、筋層内側の環状筋と筋層外側の縦走筋の面積の解析を行った。筋層の解析にあたっては、麻酔下で蠕動運動が無い状態での小腸組織を組織固定し、アピオス食群・ジャガイモ食群・CE-2食群の小腸断面の周囲長を合わせた補正を行い、筋層縦走筋・環状筋面積の面積比較を行った。計測にあたっては、Adobe Photoshop 計測ツールを用いて計測値を算出した¹³⁾。

③ 結果と考察

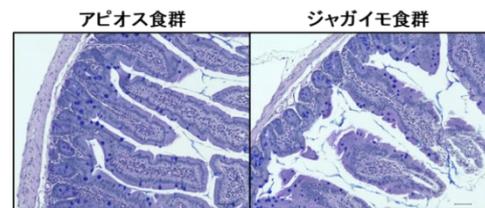


図3 小腸 AB-PAS 染色

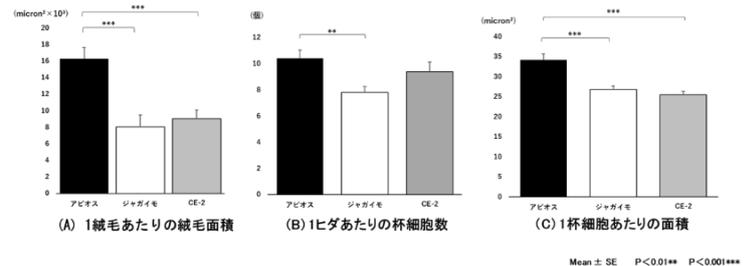


図4(A)小腸絨毛面積・(B)杯細胞数・(C)杯細胞面積

血糖コントロールに関し、68週齢マウスでは、アピオス食群およびジャガイモ食群間でのHbA1c値に有意差は無く、ほぼ同じ値であり、血糖コントロールへの影響は認められなかった(データ省略)。

図3は、小腸AB-PAS染色の代表例を示し、以下に示す各食餌群小腸組織解析に用いた。図4-(A)は、1絨毛あたりの各群の小腸絨毛面積を示している。ジャガイモ食群に比べ、アピオス食群で大きく有意な面積増加が見られた。1絨毛あたりの面積が、ジャガイモ食群の約 $8 \times 10^3 \text{ micron}^2$ と比べ、アピオス食群では約 $16 \times 10^3 \text{ micron}^2$ 以上であった(図4-(A))。図4-(B)は、1絨毛あたりの杯細胞の細胞数を示している。ジャガイモ食群に比べ、アピオス食群では有意な杯細胞数の増加が認められた。1絨毛あたり

の杯細胞の細胞数は、ジャガイモ食群の約 8 個と比べ、アピオス食群では約 12 個と杯細胞数の増加が明らかとなった(図 4-(B))。図 4-(C)は、1 杯細胞あたりの細胞面積を示している。ジャガイモ食群に比べ、アピオス食群では有意な増加が認められた。1 杯細胞あたりの面積が、ジャガイモ食群の約 $2 \times 10^3 \text{ micron}^2$ と比べ、アピオス食群では約 $5 \times 10^3 \text{ micron}^2$ 以上であった(図 4-(C))。すなわち、アピオス食群では、小腸杯細胞の割合の増加が認められ、ムチン分泌の活性化が示唆された。

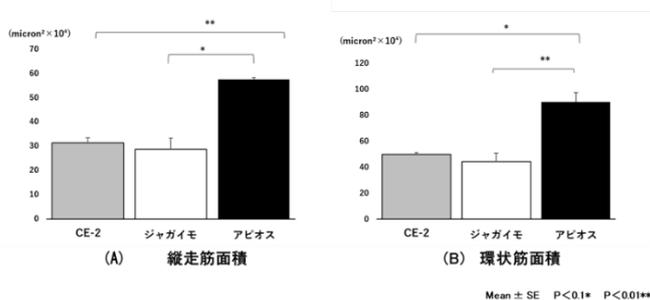


図 5 小腸の(A)縦走筋面積・(B)環状筋面積

図 5-(A)は、腸管運動のない小腸 1 輪あたりの縦走筋のおおよその面積を示している。ジャガイモ食群に比べ、アピオス食群では縦走筋面積の有意な増加が認められた。図 5-(B)は、同様に、おおよその環状筋の面積を示している。ジャガイモ食群に比べ、アピオス食群では環状筋面積においても有意な増加が認められた。アピオス食群において、縦走筋及び環状筋共に筋層面積の有意な増加が明らかとなった。

今回、食餌群の違いで小腸筋層の面積変化があることが明らかとなり、小腸運動の活性化変化の結果によるものかどうか、杯細胞でのムチン分泌活性化現象と合わせて、今後さらに、細胞レベルで詳細に検討する必要がある。

④ 今後の展望

近年、食品栄養科学分野の食物繊維やファイトケミカルを中心とした食品機能性に関わる研究は増加し続けている。科学分析技術の発展に伴って、とりわけヒトの健康維持・疾患予防という観点からの食品機能性研究が急増している。私たちの今回のアピオス研究では、血糖コントロールへの影響は認められ

なかったものの、小腸杯細胞の活性化や筋層増大が明らかとなり、ムチン粘液の生合成・分泌促進に加え小腸蠕動運動活性化の可能性が考えられた。この現象をさらに詳細に証明するために、小腸細胞や腸管神経伝達系の分子レベルの解析が必要であると考えている。さらに、低分子抗酸化物チオレドキシニン-1 遺伝子が関係しているアブラナ科野菜の紫キャベツやキク科野菜のヨモギでも同様の現象が観察されるのか、検証している。

超高齢社会の現代において、食品栄養科学研究分野で、サルコペニア予防も含め、健康寿命を延ばし QOL 向上への貢献のためには、複雑な食品成分の生体への作用を 1 つ 1 つ解明し、適正な食品機能性成分摂取量決定と疾患予防効果の構築が出来るように、継続的な研究が必要であると考えます。

⑤ 謝辞

本研究を遂行するにあたり、多大なご支援を賜りました公益財団法人ウエスコ学術財団に心より感謝申し上げます。

⑥ 参考文献

- 1) 飯沼宗和, ファイトケミカルの役割, 機能性食品と薬理栄養, 18(1):16-22(2024)
- 2) 三村純正, ファイトケミカルの機能付け, 機能性食品と薬理栄養, 18(1):23-28(2024)
- 3) 寺尾純二, ファイトケミカルとしてのフラボノイドの生理機能性, 機能性食品と薬理栄養, 18(1):35-39(2024)
- 4) 渡邊理江, 森岡優衣, 儀間章託, 坂本実由, 小原瑞祈, 山本汐里, 林香里, 津山産アピオス長期摂取の肝機能への影響, 機能性食品と薬理栄養, 16(4):243-249(2023)
- 5) 喜瀬由李代, 城間胡伊子, 玉川直実, 渡邊理江, 酸化ストレスと機能性食品, 機能性食品と薬理栄養, 6(10):374-382(2017)
- 6) Kaneta H, Koda M, Saito S, Imoto M, Kawada M, Yamazaki Y, Momose I, Shindo K. Biological activities of unique isoflavones

- prepared from *Apios americana* Medik, *Biosci Biotechnol Biochem*, 80(4):774-778, (2016)
- 7) 岩井邦久, アピオス(アメリカホドイモ)の血圧降下作用, *日本未病システム学会誌*, 11(1):188-193(2005)
 - 8) Nakahashi H, Nishino Y, Nakagawa H, Hara N, Usami A, Miyazawa M. Evaluation of the Key Odorants in Volatile Oils from Tubers of *Apios americana* Medikus, *J Oleo Sci*, 64(11):1235-1242, (2015)
 - 9) Kim HY, Kim JH, Jeong HG, Jin CH. Anti-diabetic effect of the lupinalbin A compound isolated from *Apios americana*: In vitro analysis and molecular docking study, *Biomed Rep*, 14(4):39, (2021)
 - 10) Zheng ZH, Han Y, You SY, Chen Z, Zheng XD. Improvement in post-partum uterine involution in rats treated with *Apios americana*, *J Zhejiang Univ Sci B*, 20(7):576-587, (2019)
 - 11) Kuramoto S, Kaneyoshi G, Morinaga Y, Matsue H, Iwai K, Angiotensin-Converting Enzyme-Inhibitory Peptides Isolated from Pepsin Hydrolyzate of *Apios americana* Tuber and Their Hypotensive Effects in Spontaneously Hypertensive Rats, *Food Science and Technology Research* 19(3):399-407, (2013)
 - 12) Ichige M, Fukuda E, Miida S, Hattan J, Misawa N, Saito S, Fujimaki T, Imoto M, Shindo K. Novel isoflavone glucosides in groundnut (*Apios americana* Medik) and their antiandrogenic activities, *J Agric Food Chem*, 61(9):2183-2187, (2013)
 - 13) Watanabe R, Ashida H, Kobayashi-Miura M, Yokota A, Yodoi J. Effect of chronic administration with human thioredoxin-1 transplastomic lettuce on diabetic mice, *Food Sci Nutr*, 9(8):4232-4242, (2021)

岡山県産黄ニラより単離した新規抗酸化物質 (*Z*-10-Devynylajoene) による 快眠誘導作用機序の解明

中国学園大学 現代生活学部
坪井 誠二

睡眠は、人が生存する上で衣食住とともに重要な課題である。不眠に悩んでいる現代人は多く、鬱病をはじめとする自律神経性の疾患や、睡眠不足に起因するあらゆる疾患の原因となっている。睡眠不足の原因は、不規則な生活様式を強いられることで、睡眠異常等の概日リズム障害や脳内で作られる睡眠ホルモンであるメラトニン分泌リズムの異常がその要因のひとつとして考えられる。我々は、睡眠ホルモンであるメラトニンを作り出す酵素セロトニン N-アセチルトランスフェラーゼ (NAT) 活性が、内因性トリペプチドであるグルタチオンによってレドックス制御をうけることを明らかにした。NAT が恒常的に発現している COS7/NAT 細胞を用いて、黄ニラ抽出物の投与により NAT が活性化することをみだしており、この作用は、黄ニラ抽出物が細胞内グルタチオンレベルを上昇させ、メラトニン合成の律速酵素である NAT 活性を増強させていることによると考えている。

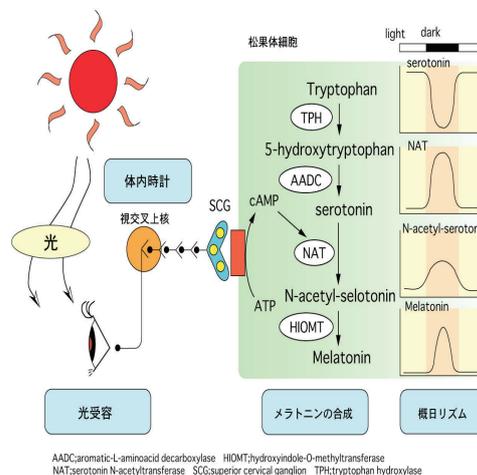
1. はじめに

概日リズムを司る松果体ホルモンであるメラトニン、その生合成は律速酵素であるセロトニン N-アセチルトランスフェラーゼ (NAT) を介して複雑に制御されている。ここでは、今まで報告されているタンパク質レベル及び転写調節レベルでの制御と、我々が明らかにしたレドックス制御機構について述べる。

2. 概日リズムとメラトニン合成機構

生物は、広く地球の自転周期に適応するため、約 24 時間周期の生物リズム (概日リズム) を持っている。概日リズムは、睡眠・覚醒だけでなく自律神経や代謝系といった全身の生理活動に影響を与え、生物が 1 日の昼夜リズムに伴って効率よく快適に生活していく上で重要なシステムである。このリズムを生み出す生物時計は、単細胞生物からヒ

メラトニンの生合成



トに至るまで広く存在しており、様々な活動や代謝の日内変動を制御している。哺乳類において、生物時計は視床下部の「視交叉上核」と呼ばれる神経細胞集団に存在している。この視交叉上核は、本来約 25 時間の自律的な内因性のリズムを持っているが、網膜で光刺激を受け、網膜視床下部神経経路を介して時間をリセットする事で、約 24 時間周期の外界

リズムに同調させている。視交叉上核で形成された概日リズムは、上頸部交感神経節の交感神経を介して松果体と呼ばれる内分泌器官に伝えられる。松果体は、概日リズムに応答してメラトニンを合成している。すなわち、松果体のメラトニン量は、昼間は非常に低レベル（ほとんど0）に抑えられているが、夜間に劇的に上昇して真夜中頃にピークとなり、その後急速に減じ、朝方には消失する。メラトニンは合成後直ちに血中に放出され、体中を循環し、メラトニン受容体を介して時間情報を全身に伝える。メラトニンは時間情報ホルモンであり、松果体は時間情報を液性情報に変換する装置である。

メラトニンは血中より供給されるL-トリプトファンを前駆物質としてトリプトファンヒドロキシラーゼと芳香族L-アミノ酸カルボキシラーゼの2つの酵素によりセロトニンに変換された後、NATとヒドロキシインドール-O-メチルトランスフェラーゼにより合成される。これらの酵素のうちNATが最もよく時間情報に反応し、その活性は強いリズム性を示す。つまり、NAT活性の変動とメラトニンの合成量はほぼ対応しており、NATはメラトニン合成の律速酵素である。従って、概日リズムの形成と維持機構を明らかにする上で、松果体におけるNAT活性の調節機構の全貌を明らかにする事は極めて重要である。NAT活性の調節機構を明らかにするために、まず、NATの構造について説明する。

3. NATの構造

NATは、207個（ラットは205個）のアミノ酸からなる分子量23,076の可溶性タンパク質である^{1,2)}。基質はセロトニンとアセチルCoAであり、N-アセチルセロトニンを生成する反応を触媒する。NATは全体的には球状であり、5つのアルファ・ヘリックス及び7つのベータ・シートを持っている。3つのポリペプチド鎖（ループ1、2及び3）がアセチルCoA結合部位の上であり、漏斗状の形をとっている。NATが活

性化するためには、まずアセチルCoAがNATのアセチルCoA結合部位に結合することが必要である。その結果、ループ1に存在するPhe 56及びPro 64、ループ3に存在するVal 183、Leu 186及びPhe 188により疎水性のポケットが形成される。セロトニンはこの疎水性のポケットに入り込み、アセチルCoAよりアセチル基を受け取り、N-アセチルセロトニンとしてNATから離れていく。すなわち、セロトニンがNATの基質となるためにはアセチルCoAによる疎水性ポケットの形成が必修条件であり、NATの安定化剤としてアセチルCoAが報告されているのはこの理由からである。

さらに、NATと14-3-3ζタンパク質との複合体の構造が報告されている³⁻⁵⁾。14-3-3タンパク質は現在9つのサブタイプ（α, β, γ, δ, ε, η, σ, τ, ζ）が同定され、松果体にはε, ζが発現しており、特にζはNATとの複合体形成に重要である^{6,7)}。リン酸化されたThr 31のリン酸基部分が14-3-3ζタンパク質のArg 56, Arg 127及びTyr 128残基と水素結合することにより、複合体を安定化しており、この結果は、14-3-3ζタンパク質とNATとの結合にリン酸化が重要であることを示している。

4. NATの制御機構

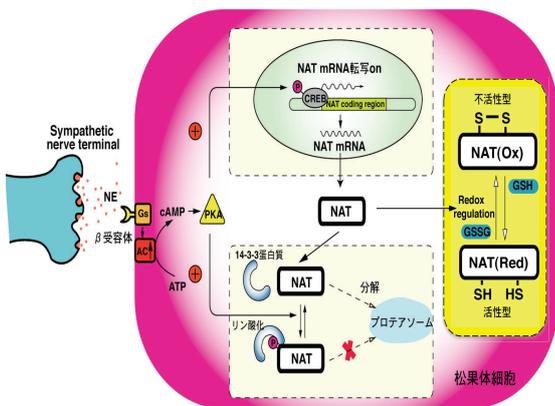
1) 転写調節レベルでの制御

生体時計によるNAT活性の制御機構の研究は、転写調節制御とタンパク質レベルでの活性制御の両方向から研究が進められてきた。転写調節による制御については、ラットやヒトの細胞を用いてこれまでに次のカスケードが明らかになっている。すなわち、時間情報により夜間に交感神経末端より放出されたノルアドレナリンは、松果体細胞上のβ受容体に結合し、Gsタンパク質を介してアデニル酸シクラーゼを活性化し細胞内のcAMP濃度を上昇させる。その結果、Aキナーゼが活性化され、転写因子CREBがリン酸化される。リン酸化CREBはNAT遺伝子の転

写量を増加させ、その結果、NAT 活性が上昇しメラトニン出力が増加する。この一連のカスケードは夜間にのみ起こる。明け方には交感神経からのノルアドレナリン入力なくなり、NAT 活性上昇とメラトニン出力もなくなる⁸⁾。ヒツジ等の有蹄類においても、同様に NAT 活性は昼低く（ほとんど検出されない）夜高いというリズム性を示すが、NAT 遺伝子の転写量は昼と夜の間でほとんど差がない。従って、この場合はラットやヒトで見られるような転写調節による活性制御より、後述するタンパク質レベルでの活性制御が優勢であると考えられる。

2) タンパク質レベルでの制御

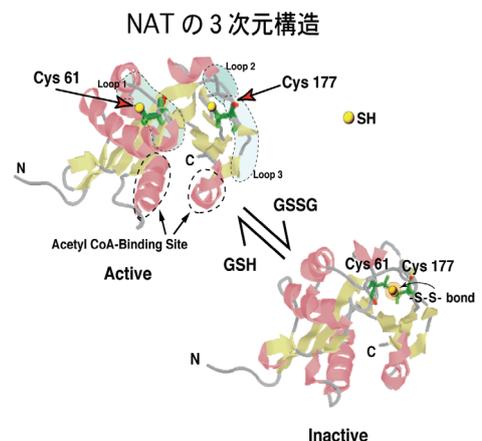
タンパク質レベルでの制御は次のように理解されている。すなわち、ノルアドレナリン刺激により活性化された A キナーゼは NAT タンパク質自体をもリン酸化する。NAT タンパク質は、昼間はプロテアソームにおいて分解されているため検出できないが、夜間、リン酸化された NAT にはシャペロンである 14-3-3 タンパク質が結合する。そのためこの複合体はプロテアソームで分解されず、活性を維持していることが明らかとなっている⁹⁾。



5. グルタチオンによる NAT のレドックス制御機構

NAT 活性制御が cAMP を介して転写及びタンパク

質レベルで行われていることを述べてきた。しかし、実際の生理現象はもっと複雑である。例えば、夜間に強い光を受けると NAT 活性は急速に消失する。この現象を cAMP を介する制御だけで説明することは困難である。そこで、全く別の制御機構の存在が示唆された。以前より、NAT は *N*-ethylmaleimide (NEM) のような SH 基修飾試薬によって活性が阻害される事から、活性発現に重要なシステイン残基を有していることが予想されていた¹⁰⁾。我々は NAT をアセチル CoA で前処理した場合、NEM による活性阻害が抑制されることから、¹⁴C-NEM を用いてアセチル CoA 存在下または非存在下における ¹⁴C-NEM の取り込みを比較することにより、このシステイン残基を同定した。その結果 Cys 61 及び Cys 177 が活性発現に重要であることがわかった。この 2 つのシステイン残基の間で -SH/-S-S- の交換反応が起こり、還元型 (-SH 型) で 100%の活性を示す一方、酸化型 (-S-S- 型) では活性がゼロになることが判明した¹¹⁾。NAT の立体構造からこの現象を考えると、Cys 61 と Cys 177 のシステインの間での -S-S- 結合の形成が、触媒部位へのアセチル CoA の結合を阻害していると考えられる。つまり、-SH/-S-S- 結合の変換がアセチル CoA の触媒部位への入り口を開閉するスイッチの役割を果たしており、基質が活性中心に到達することをここで制御していると考えられる。-S-S- 結合が解裂して 2 つのシステイン残基が還元型になること



で NAT 活性がオンとなり、酸化型については -S-S- 結合が形成され、アセチル CoA 結合部位の上部を閉じたため NAT 活性が消失したと考えられる。

さて、重要なことは、NAT の分子内 -SH/-S-S- 結合の変換 (スイッチング) は細胞内においても観察されたことである。すなわち、過酸化水素を加えて酸化型グルタチオンを増加させてやると NAT は酸化型に変換され活性はなくなるが、細胞内環境を還元状態にしてやると NAT は活性型になった¹¹⁾。更に、最近の研究結果より酸化型 NAT はアセチル CoA が結合できないだけでなく A キナーゼによるリン酸化を受けないことが明らかとなった (未発表)。このことは、NAT の分子内 -SH/-S-S- 結合の変換がタンパク質レベルでの制御に影響を及ぼしていることを示している。夜間において NAT が酸化型になった場合、活性が消失するだけでなくプロテアソームによる分解を受けることが示唆された。

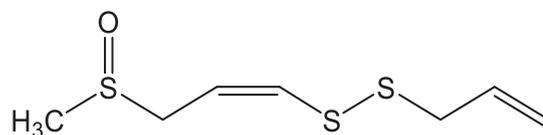
我々の得たこの結果は NAT の制御について重要な意味があると考えられる。すなわち、既知の cAMP を介した制御機構だけでなく細胞内の酸化・還元状態によっても制御されている可能性があるわけである。

6. 終わりに

グルタチオンは種々の生物に高濃度に存在するトリペプチドであり、細胞内の主な非タンパク性チオールである。グルタチオンは抗酸化作用等種々の生理活性を持つことが知られており¹²⁻¹³⁾、生体防御機構において重要な役割を果たしている。また、脳内グルタチオンは睡眠リズムに一致したサーカディアンリズムをもって変動することから内因性睡眠物質であることが知られており、この睡眠作用は N-メチル-D-アスパラギン酸レセプターを介するものである¹⁴⁾。

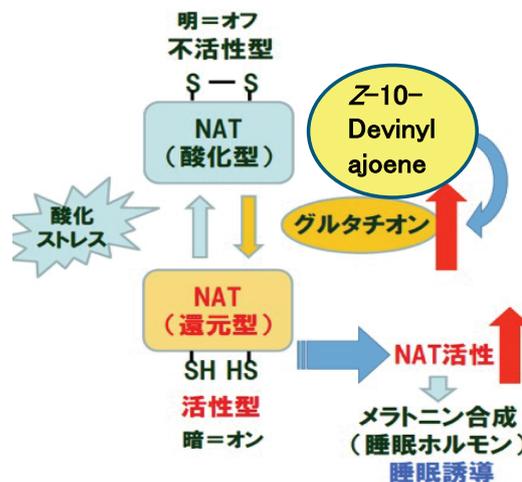
我々は、細胞内の酸化・還元状態でオン・オフが切り替わるといふ NAT 活性の分子内スイッチを同定した。このスイッチの切り替えにグルタチオンが重要な働きをしており、前述した睡眠効果とは異なった

メカニズムでのグルタチオンによる概日リズム制御であった。今回明らかにした成果は、細胞内の酸化・還元状態により NAT 活性が制御できること、即ち、細胞内中のグルタチオンの酸化・還元状態を調節することによりメラトニンの合成を制御し、最終的に人工的に概日リズムを制御する方法の開発につながるものと考えており、実際、細胞中グルタチオン量を増加させる物質が報告されている^{15, 16)}。我々の研究室においても、黄ニラ抽出物より睡眠を誘導する新規抗酸化物質 (Z-10-Devinylojoene) を同定しており、臨床への応用が期待されている。



Z-10-Devinylojoene (m/z 208.365)

予想される Z-10-Devinylojoene によるグルタチオンを介する NAT のレドックス制御機構



引用文献

- Hickman, A.B., Namboodiri, M.A., Klein, D.C., and Dyda, F.: The structural basis of ordered substrate binding by serotonin *N*-acetyltransferase: enzyme complex at 1.8 Å resolution with a bisubstrate analog., *Cell*, **97**, 361-369 (1999).

- 2) Hickman, A.B., Klein, D.C., and Dyda, F.: Melatonin biosynthesis: the structure of serotonin *N*-acetyltransferase at 2.5 Å resolution suggests a catalytic mechanism., *Mol. Cell*, **3**, 23-32 (1999).
- 3) Liu, D., Bienkowska, J., Petosa, C., Collier, R.J., Fu, H., and Liddington, R.: Crystal structure of the zeta isoform of the 14-3-3 protein., *Nature*, **376**, 191-194 (1995).
- 4) Yaffe, M.B., Rittinger, K., Volinia, S., Caron, P.R., Aitken, A., Leffers, H., Gamblin, S.J., Smerdon, S.J., and Cntley, L.C.: The structural basis for 14-3-3: phosphopeptide binding specificity., *Cell*, **91**, 961-971 (1997).
- 5) Obsil, T., Ghirlando, R., Klein, D.C., Ganguly, S., and Dyda, F.: Crystal structure of the 14-3-3 zeta: serotonin *N*-acetyltransferase complex. a role for scaffolding in enzyme regulation., *Cell*, **105**, 257-267 (2001).
- 6) Aitken, A., Howell, S., Jones, D., Madrazo, J., and Patel, Y.: 14-3-3 alpha and delta are the phosphorylated forms of raf-activating 14-3-3 beta and zeta. *In vivo* stoichiometric phosphorylation in brain at a Ser-Pro-Glu-Lys MOTIF., *J. Biol. Chem.*, **270**, 5706-5709 (1995).
- 7) Ganguly, S., Gastel, J.A., Weller, J.L., Schwartz, C., Jaffe, H., Namboodiri, M.A.A., Coon, S.L., Hickman, A.B., Rollag, M., Obsil, T., Beauverger, P., Ferry, G., Bontin, J.A., and Klein, D.C.: Role of a pineal cAMP-operated arylalkylamine *N*-acetyltransferase/14-3-3-binding switch in melatonin synthesis., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **98**, 8083-8088 (2001).
- 8) Klein, D.C., Coon, S.L., Roseboom, P.H., Weller, J.L., Bernard, M., Gastel, J.A., Zatz, M., Iuvone, P.M., Rodriguez, I.R., Begay, V., Falcon, J., Cahill, G.M., Cassone, V.M., and Baler, R.: The melatonin rhythm-generating enzyme: molecular regulation of serotonin *N*-acetyltransferase in the pineal gland., *Recent Prog. Horm. Res.*, **52**, 307-358 (1997).
- 9) Gastel, J.A., Roseboom, P.H., Rinaldi, P.A., Weller, J.L., and Klein, D.C.: Melatonin production: proteasomal proteolysis in serotonin *N*-acetyltransferase regulation., *Science*, **279**, 1358-1360 (1998).
- 10) Namboodiri, M.A.A., Favilla, J.T., and Klein, D.C.: Pineal *N*-acetyltransferase is inactivated by disulfide-containing peptides: insulin is the most potent., *Science*, **213**, 571-573 (1981).
- 11) Tsuboi, S., Kotani, Y., Ogawa, K., Hatanaka, T., Yatsushiro, S., Otsuka, M., and Moriyama, Y.: An intramolecular disulfide bridge as a catalytic switch for serotonin *N*-acetyltransferase., *J. Biol. Chem.*, **277**, 44229-44235 (2002).
- 12) Joachim, D.U., Patrick, J.M., and Danyelle, M.T.: Glutathione and redox signaling in substance abuse., *Biomed. Pharmacother.*, **68**, 799-807 (2014).
- 13) Ji, L.L., Fu, R.: Response of glutathione system and antioxidant enzymes to exhaustive exercise and hydroperoxide., *Am. J. Physiol.*, **189**, 549-554 (1992).
- 14) 塩見浩人, 睡眠誘発機構と痛覚制御機構 –睡眠誘発へのオピオイドペプチドの関与, 井上昌次郎, 山本郁男 編, 睡眠のメカニズム, 74-102, 朝倉書店 (1997).
- 15) Yama, K., Sato, K., Abe, N., Murao, Y., Tatsunami, R., and Tampo, Y., Epalrestat increase glutathione, thioredoxin, and heme oxygenase-1 by stimulating Nrf2 pathway in endothelial cells., *Redox Biology*, **4**, 87-96 (2015).
- 16) Lou, H., Jing, X., Ren, D., Wei, X., and Zhang, X.: Eriodictyol protects against H₂O₂-induced neuron-like PC12 cell death through activation of Nrf2/ARE signaling pathway., *Neurochem. Int.*, **61**, 251-257 (2012)

VR/AR を用いた災害の疑似体験と非常食の調理・試食の活動から成る小学校防災教育プログラムの開発と評価

中国学園大学¹⁾，矢掛町立中川小学校²⁾

(氏名) 佐々木弘記¹⁾，多田賢代¹⁾，高坂由理¹⁾，村木美晴²⁾

本研究の目的は、豪雨による浸水等による災害における非常時に対応するための防災教育プログラムを開発し、小学校での授業実践を通してその効果を検証することである。プログラムの具体的な3つの目標を設定し、その目標を達成することをねらいとして「VR/ARを用いた災害の疑似体験」と「非常食の調理・試食」の活動から成る防災教育プログラムを開発した。プログラムの効果を検証するために授業実践の前後で児童を対象としたアンケート調査を実施し、結果を分析したところ、おおむね目標を達成できたことが明らかになった。

1. はじめに

岡山県は従来、災害が少ない地域と見なされてきたが、2018年7月の西日本豪雨災害に見舞われた。本教育実践研究の舞台となる矢掛町立中川小学校はその豪雨災害の際に校舎の1階天井近くまで浸水するという被害を経験した。その後、地域住民や多くのボランティアの協力で支えられ復旧された。それまでの学校教育目標は「豊かな心を持ち、たくましさと自主性に充ちた子どもの育成」であったが、2019年度には「郷土を大切に子ども」を新たに追加。学校は指定緊急避難場所でもあり、豪雨による浸水等による災害における非常時に対応する能力や地域社会と協力して災害に対応する意欲を児童に養うことが課題となった。

西日本豪雨災害の経験を風化させず、教訓を新たな目的で、2024年度には中川小学校では研究主題に「自他の安全について自ら考え、他者と話し合いながら判断し、主体的に行動できる児童の育成」を掲げ、安全教育の教科横断的なカリキュラムを実施している。安全教育の中に防災教育を中核として位置付け、共同研究者が大学での専門性を活かして中川小学校と協働した教育実践研究として防災教育プログラムを開発することとなった。

2. 研究の目的

豪雨による浸水や地震等による災害における非常時に対応する能力や地域社会と協力して災害に対応する意欲を児童に養うことねらいとした防災教育プ

ログラムを開発し、授業実践を通じてその有効性を検証することが本研究の目的である。

防災教育プログラムの開発については、共同研究者が大学での専門的な知見を活かした教材や指導法を中川小学校に提供するため、VR/ARを用いた災害の疑似体験をする活動及び非常食を調理・試食する活動を防災教育プログラムに組み込むこととした。開発するプログラムの対象は、児童の発達段階を考慮し5,6年生の児童とした。

3. 先行研究

学校教育における防災教育プログラムについては、井上(2020)は中学校社会科公民的単元においてシティズンシップの育成を目指す防災教育を実施している。また、河野(2020)は都道府県教育委員会作成の防災教育冊子に掲載されている防災教育展開例を収集し分析している。更に、前田ほか(2021)は、ローリングストックと新教材であるカード型アクティブラーニング教材を提案し、実践を通して教育効果を検証している。一方、防災教育としていくつかの業者がVR/ARを用いた災害体験などのプログラムを提供しているが非常に高価である。

これまでに、VR/ARを用いた災害の疑似体験をする活動、非常食を調理する活動をそれぞれ単独で行う活動はあったが、VR/ARを用いた災害の疑似体験と非常食の調理・試食を組み合わせで行うプログラムを開発し、小学校での実践を通して効果を検証する研究は過去に例を見ない。

4. 防災教育プログラムの開発

(1) 目標

本研究における防災教育のねらいは、豪雨による浸水等による災害における非常時に対応する能力や地域社会と協力して災害に対応する意欲を児童に養うことである。そこで、中川小学校の学校教育目標に沿って、次のような防災教育プログラムの3つの目標を設定した。

- ① 災害の経験を風化させず教訓を新たにすため「西日本豪雨災害時の本校の被害の状況をVR/ARを用いて認識し、避難の心得や手順等の対応方法を考えることができる〔思考力・判断力・表現力等〕」
- ② 災害から生き残るために「食料に関する基礎知識を獲得し災害時に手元にある非常食を利用して調理する方法を習得することができる〔知識・技能〕」
- ③ 中川小学校の新しい学校教育目標である「郷土を大切にす子ども」を育成すため「地域社会で協力して災害などに対応していこうとする意欲を持つ〔主体的に学習に取り組む態度〕」

なお、防災教育プログラムは、「ア.VR/ARを用いた災害の疑似体験」「イ.非常食の調理・試食」から成るので、プログラムの目標①は主にアの活動において、目標②は主にイの活動において、目標③はプログラム全体を通して達成を目指すこととした。また、プログラムを中川小学校の安全教育の教科横断的なカリキュラムの一部として位置付けた。

(2) 内容

ア. VR/ARを用いた災害の疑似体験

学級活動に位置付けられた安全教育の授業として1単位時間(45分間)で実施できるよう計画した。中川小学校の5,6年の担任の教師が指導し、大学の共同研究者は教材や指導法等の支援を行う。

まず、西日本豪雨災害時の中川小学校の被害の状況を疑似的に体験できるようにするために、ARを用いて当時の浸水被害の様子をタブレットの画面に再現し、それを観察する。具体的には、iPadを活用しARで浸水のシミュレーションができるアプリ「ARERT」を用いて、実際にある昇降口や一階の廊下

などの映像を背景にして浸水のアニメーションを重ねて表示する。

次に、避難の心得や手順等の対応方法を考えることができるようにするために、児童が豪雨災害を模擬体験することが必要だと考えた。具体的には、豪雨災害時の3Dアニメーションを視聴できるヘッドセットを装着し、災害の様子を視聴し避難の心得や手順に気付けるようにする。災害のアニメーションVRとして、広島県防災You Tube Channelが提供する「ひろしま自然災害体験VR」²⁾を用いる。これは360°を見渡すことのできる動画で、災害の予兆などを感じながら避難までを体験することができる(図1)。



図1 ひろしま自然災害体験VR

上記のようなARアプリやVRアニメーションを活用した災害の疑似体験を通して、災害が起きた時に児童が自分たちの身を守るための行動を考えることができることをねらいとした授業の学習指導案を授業担当の教師が作成した(図2)。

イ. 非常食の調理・試食

家庭科の調理実習の授業として、2単位時間(45分間×2)で実施できるよう計画した。非常食の調理実習については大学の共同研究者がゲストティーチャーとして授業に加わる。

食料に関する基礎知識や調理方法を伝達するために、パワーポイントのスライドを提示する。まず、電気、ガス、水道等のライフラインが使えなくなった時に食事についてどのような問題が起こるか児童が考える場面を設ける。そして、非常時の食事における問題点についてまとめる(図3)

次に、ライフラインを使わずにカセットコンロやポリ袋を使用した調理方法があることを提示する(図3)。

単元の目標		本時の目標	学習活動	教師の指導・支援	評価基準及び評価方法
○学級活動の単元目標 中川っ子の未来を語る会(熱議)を通して考えた防災の体験活動をするという課題から、その課題を解決するために話し合い自主的・実践的に取り組むことができるようにする。 ◎安全の単元目標 シミュレーション学習であるAR・VRによって、大雨での災害を疑似体験し、そのときの対応する力を身に付けることができるようにする。		○教科の本時目標 課題を発見し、自分ならどう行動するかについて意見を出し合い、話し合えるようになる。 ◎安全の本時目標 AR・VR体験を通して、災害が起きたときに自分たちの身を守るための行動について考えている。	1, 前時を振り返り、本時の見通しをもつとともに、めあてをつかむ。 2, 自力解決をする。 3, 話し合いをする。 4, 発表をする。 5, まとめをする。 6, 振り返りをする。	○前時(課外)のアンケート結果を振り返り、本時の見通しをもてるようにする。 ○AR体験(IPad)を用いて1階を歩き、実際に中川小学校で起きた大雨による災害について知るとともに、率直な感想を出し合い、めあての設定につなげる。 〇前時(課外)のアンケート結果を振り返り、本時の見通しをもてるようにする。 〇VR体験では、自分の家の周りの状況(川が近い・山が近い)によって、視認する動画を換え、自分ならどうするかを考えるようにする。 〇①警報②避難情報③高齢者避難④避難指示を時系列に表し、児童に示すことで、場面ごとに自分ならどう行動するかを考えられるようにする。 〇視聴後、ワークシートに①②の場面避難する。③自分たちの身を守るためにできたことを視点ごとに意見を書くことで、この後の話し合い活動に生かせるようにする。 〇話し合いでは、意見の理由も付け加えて伝えることで、話し合いを深めることができるようにする。 〇全体に発表することで、身を守るときには一人一人の行動の違いに気付くことができるようにする。 〇本時の学習について、板書に注目させ「早めの準備・避難・声掛け」というキーワードを確認することで、まとめにつなげる。 〇「自動」「共助」の視点で振り返りを行うことで、本時の学習してきた内容から、これから生かしていけることを書くことができるようにする。	○自分たちの身を守ることに考えている。 【思・判・表】 (発言・ワークシート)
単元観 平成30年度7月の西日本豪雨では、西日本の広範囲に壊滅的な被害をもたらした。矢掛町でも全壊や半壊など大きな被害があった。本校でも1階部分や体育館が壊滅的な状態となった。そこで、本単元では、学級活動(1)ア「学級や学校における生活上の諸問題の解決」から、大雨での災害を自分ごととして捉え、実際に災害が発生した場合に、知識や経験をもとに、適切に判断し、自分の身を守りながら対応できる力を身に付けさせたいと考える。				め VR体験を通して、自分たちの身を守るための行動について考えよう。	
児童観 本学級の児童は、11名である。毎年6月に垂直避難訓練を行っており、水害時の避難方法や保護者への引き渡しについては理解をしている児童が多い。しかし、2階に避難するための避難訓練になっていることから、AR・VR体験を活用することで、児童が目の前で起きる大雨による災害の恐怖やリスクを理解し、自分たちの身を守るための行動を考えられるようになる。 発表や話し合い活動では、目的に沿った意見を言ったり、話し合いを進めたりすることはできる。しかし、発表する児童が固定されていたり、話し合いのときに意見を言うのが苦手だったりする。そこで、全員が発言しやすい雰囲気作りをしたり、話し合うグループの人数を少なく設定したり、視点を決めて話し合わせたりと、手立てを講じている。					
指導観及び研究主題との関わり 本校の研究主題「自他の安全について自ら考え、他者と話し合いながら判断し、主体的に行動できる児童の育成」を踏まえ、本単元ならびに本時では、以下のことを大切にしていきたい。 ①実践的な活動・・・AR・VRによって、大雨災害を疑似体験することで、児童が目の前で起きる大雨による災害の恐怖やリスクを理解し、自分たちの身を守るための行動を考えられるようにする。 ②話し合い活動・・・グループ活動を取り入れる際に、話し合いの視点を設定し、話し合いが活発に行われるようにできるようにする。 ③振り返り・・・「自動」「共助」の視点で振り返ることで、主体的な活動につなげることができるようにする。					
単元計画(全3時間) 課外 事前学習: アンケート 第1時 AR・VR体験をして、自分の身を守るための行動について考えよう(本時) 課外 事後活動: アンケート					

図2 学習指導案

ライフライン以外で非常時の食事にどんな問題が起こるだろう?

- ・バランスの良い食事をとりにくい。
→特に野菜、肉、魚などの食材がとりにくい。
- ・偏った食事になりやすい。
→特にごはんやパンに偏りがちに。
- ・水分が不足しやすい。
→水がいつもより手に入りにくい。自由に使えない。風呂、手洗い、トイレなど生活の中で水を使う場面はたくさんあり、水は貴重なものになる。
- ・流通が止まる可能性がある。
→食材や食品がいつもより手に入りにくい。

図3 スライド1

非常時にも作ることができる調理にチャレンジしよう!

ポリ袋(高密度ポリエチレン)を使った調理の良い点

- 電気を使わずに調理できる
- 水の節約ができる

図4 スライド2

次に、手に入りやすい食材を活用し、栄養バランスに優れた非常食を、電気を使わずカセットコンロで調理する方法を紹介する。また、手作り紙皿などを利用して、食後の食器洗いに必要な水の使用量を削減する配膳方法も提案する。(図4)。

(3) 評価の方法

プログラムの3つの目標の達成状況を把握するため、各目標に対応した質問項目(表1)から構成されるアンケート調査をプログラム実施の前後に実施する。アンケートは5段階評価方式を採用し、実施前後の平均値の変化についてt検定により有意差を検証する。

5. 防災教育プログラムの実践

(1) VR/ARを用いた災害の疑似体験

ア. 日時, 対象, 場所

器も工夫することで水節約が可能

手作り紙皿、サランラップ、ポリ袋などを使うことでお皿を洗う水を節約することができます。

図5 スライド3

- ・日時：2024年11月27日（水）3,4校時
- ・対象：3校時6年生11人，4校時5年生9人
- ・場所：5,6年生教室

イ. 授業の様子

授業の初めに，教師が西日本豪雨災害の被害の様子を伝え，実際に中川小学校がどれくらい浸水したのかを疑似体験することを告げた。児童は一人一台のiPadを保持し，「ARERT」を起動させた。児童の教室は2階なのでiPadを携えて一階に下り，昇降口付近や廊下にiPadのカメラを向けて，背景の映像にアニメーションで浸水の様子を重ね合わせて観察した。児童からは「あんなに高いところまで水が来たのだ」「おぼれてしまいそうだ」などの声が上がっていた（写真1）。



写真1 ARで水害の疑似体験

次に，教室の戻り，浸水被害の様子をバーチャルリアリティで疑似体験する活動に移った。事前に操作の練習をしていた甲斐もあり，児童はスムーズに操作し，VRで指定した映像を視聴することができた。VRの映像を視聴しながら児童は「本当に水が迫って来ているようだ」「早く逃げないと危ない！」等の声を上げていた（写真2）。



写真2 VRで災害の疑似体験

疑似体験の後，災害時の避難の心得や方法等について教師がまとめをして授業を終えた。

(2) 非常食の調理・試食

ア. 日時，対象，場所

- ・日時：2024年11月27日（水）5,6校時
- ・対象：5年生9人，6年生11人
- ・場所：調理室

イ. 授業の様子

授業の初めに，ゲストティーチャーが「水や水道などのライフラインが使えなくなると食事にどのような問題が起こるだろうか」と問いかけた。すると，児童は「水が使えないと料理ができない」「同じものばかり食べていると栄養が偏ってしまう」等の考えを述べた。そして，教師はスライドを示しながら非常時の食事の問題点をまとめた（写真3）。



写真3 実習の導入

次に，非常時に使える調理として，ポリ袋を使った調理方法を紹介した。更に，児童は食器を工夫することで，食後に食器を洗う水を節約する方法を学んだ。次に，「塩こんぶごはん」「サ



写真4 非常食の調理

パのサンガ焼き」「切り干し大根の和え物」のレシピが紹介され、児童は実際の調理に移った。児童は指導者の指示に従ってきばきとレシピに沿って調理を進め、時間内に料理を完成することができた（写真4）。

そして、デザートとして「お麩（ふ）チョコ」も作り、作った料理を試食して授業を終えた（写真5）。



写真5 完成した料理

6. 結果と考察

評価の方法に従って、事前（20人）事後（19人）のアンケート調査を実施した。実施後、各項目について平均点を算出し、対応のないt検定を用いて、事前事後での変容を調べた（表1）。

まず、目標①の7つの質問項目（以下、項目）については、「ア.VR/ARを用いた災害の疑似体験をする活動」に関する質問である。問5を除く項目について全て平均値は事前よりも事後の方が高くなっている。ただし、いずれにも有意差（5%）は見られなかった。問5については、事前に平均値が4.6とかなり高く、VRやARを用いた災害の疑似体験についての期待が高かったことがうかがわれる。事後には平均値が4.37とやや低下したが有意差（5%）はなく、項目の中では最も高い値であった。目標①に関する7項目については、事後に平均値が全て4.0以上であったことから、目標を達成できたといえることができる。

次に目標②の7つの項目については、「イ.非常食を調理する活動」に関する項目である。7つの項目のうち、5つの項目で平均値が高くなっている。問

8と問9については有意差（1%）が見られた。児童は調理の方法や工夫について身に付けたことがうかがわれる。問9は僅かに低下しているがほとんど差はない。問8については約0.3低下しているが、3.95と高い水準を維持している。これは中川小学校では10月に、非常食に関する行事があり、その際、既にかかなりの知識を持っていたため、事前の平均値が4.25と最も高かったのではないかと考えられる。一方、問12については、事後に平均値は上がってはいるが、3.47と7つの項目の中では最も低かった。このことから、児童に非常食の調理について自信を持たせるまでには至らなかったことがうかがわれる。しかし、7つの項目の内、5つの項目が平均値4.0以上であったことから目標②についても概ね達成することができたと考えられる。

目標③の9つの項目については、プログラム全体に関わる関心や意欲に関する質問である。問23について有意差（1%）が見られた。防災についての関心を高めることができたと言える。ただ問20の事後が3.95と他に比べて低いことから、自分が災害時に役立つという有用感の高揚までには至っていないことが分かる。しかし、この項目を除く8つの項目についてはいずれも平均値が4.0以上であったことから目標③についても概ね達成することができたと考えられる。

7. おわりに

本研究では、豪雨による浸水等による災害における非常時に対応する能力や地域社会と協力して災害に対応する意欲を児童に養うことねらいとして防災教育プログラムを開発し、授業実践を通じてその有効性を検証した。具体的な目標として、3つの目標を設定し、VR/ARを用いた災害の疑似体験と非常食の調理・試食の活動から成る防災教育プログラムを開発した。授業実践の前で児童を対象としたアンケート調査を実施し、結果を分析したところ、おおむね目標を達成できたことが明らかになった。今後の課題としては、開発した防災教育プログラムをWeb上に公開し、他の学校にも利用を呼び掛けたたり、地域の公民館などで社会教育の一環として実施

していくことである。

謝辞

本研究は公益財団法人ウエスコ学術振興財団による
2024 年度研究活動費助成事業を受けている。

注

- 1) ARERT: https://www.pu-kumamoto.ac.jp/users_site/iimulab/apps/ARERT
- 2) ひろしま自然災害体験 VR: <https://www.pref.hiroshima.lg.jp/soshiki/249/dosyasaigai-vr.html>

参考文献

井上昌善(2020) シティズンシップ育成を目指す防

災学習の論理—中学校社会科公民的分野単元「災害に強いまちのあり方を考えよう!」, 防災教育学研究, 1 (1), 81-92

河野 崇(2020) 小学校における防災教育展開例の内容と特徴—都道府県教育委員会作成の防災教育冊子の分析を通して—, 防災教育学研究, 1 (1), 119-128

前田 緑ほか(2021) ローリングストック手法と災害時の栄養問題を解決する知識を学ぶ カード型アクティブラーニング教材「家庭の食料備蓄について 学ぼう!」の開発, 防災教育学研究, 1 (2), 63-70

表1 アンケート結果

番号	質問	事前		事後		t値	有意判定
		平均	標準偏差	平均	標準偏差		
①西日本豪雨災害時の本校の被害の状況をVR/ARを用いて認識し、避難手順や救急処置等の対応方法を考えることができる[思考力・判断力・表現力等]							
1	災害が起きたとき、自分はどう行動すればよいかを考えることができる。	4.05	1.19	4.11	1.05	-0.15	
2	災害に備えて、ふだんからどんな準備ができるか考えることができる。	4.05	1.19	4.16	1.01	-0.30	
3	防災について学んだことを、まわりの人に伝えることができる。	3.85	1.18	4.16	1.17	-0.82	
4	西日本豪雨の経験を今後の防災のために活かしていくことができる。	3.90	1.33	4.21	1.13	-0.78	
5	VRやARで災害の疑似体験をすることは、災害時の行動について考えるのに役立つ。	4.60	0.99	4.37	1.26	0.64	
6	災害が起きたとき、とるべき行動について判断することができる	3.95	1.15	4.26	0.93	-0.93	
7	災害のときの避難をする手順について、人に伝えることができる。	3.70	1.03	4.11	1.10	-1.19	
②食料に関する基礎知識を獲得し災害時に手元にある非常食を利用して調理する方法を習得することができる[知識・技能]							
8	非常時に役立つ食べ物について理解している。	4.25	0.97	3.95	1.27	0.84	
9	災害のときに備えて食べ物を用意しておくことの大切さが分かっている。	4.50	1.10	4.47	1.02	0.08	
10	災害時に食べ物を使って調理する時の工夫を知っている。	3.00	1.34	4.32	0.89	-3.60	**
11	災害が起きたときにできる、かんたんな調理方法を知っている。	2.90	1.48	4.00	0.82	-2.85	**
12	非常食の調理ができる自信がある。	3.00	1.38	3.47	1.26	-1.12	
13	災害のときに栄養バランスを考えて食事をとることの大切さを理解している。	3.60	1.50	4.21	1.13	-1.43	
14	災害時の水の使い方について理解している。	3.75	1.33	4.26	1.10	-1.31	
③地域社会で協力して災害などに対応していこうとする意欲を持つことができる[主体的に学習に取り組む態度]							
15	地域で災害が起きたとき、自分も協力したい。	4.25	1.25	4.37	1.16	-0.31	
16	災害のとき、近所の人と助け合うことが大事だ。	4.40	1.27	4.63	1.12	-0.60	
17	災害が起きたとき、自分にできることを考えることができる。	3.90	1.25	4.16	1.12	-0.68	
18	防災について、もっと知りたい。	4.10	1.37	4.37	1.07	-0.68	
19	災害のとき、困っている人を助けたい。	4.30	1.26	4.32	1.29	-0.04	
20	自分も災害時に役立つことができる。	3.50	1.24	3.95	1.08	-1.20	
21	防災の授業で学んだことは役立つ。	4.35	1.27	4.47	1.26	-0.30	
22	地域の防災訓練に参加したい。	3.70	1.30	4.11	1.10	-1.05	
23	防災に対する関心が高い。	3.40	1.05	4.16	0.90	-2.42	*
						* : p < 0.05	** : p < 0.01

アフターコロナにおけるフィットネス事業者の 新たな事業戦略に関する研究（2年目）

佐々木 公之¹、桃原 司²、梶西 将司³、大田 住吉⁴

¹中国学園大学、²川崎医療福祉大学、³就実大学、⁴日本国際学園大学、

（概要）

本研究は、コロナ禍が一定の区切りを迎えた状況下で、フィットネス事業者が今後、どのようなニューノーマル（新たな常態）な事業展開をすべきかについて、实在企業をモデルに分析、考察および事例検証を行うことで、フィットネス業界全体における持続可能な事業モデルの構築に寄与することを目的としている。

研究1年目(2023年度)は、「事業者側の視点」から、山陽・山陰地方のフィットネス事業者（6社24店舗）のインストラクター112名に対するアンケート調査、および事業管理者14名に対するインタビュー調査を実施した。研究2年目(2024年度)は「利用者側の視点」から、岡山県と広島県のフィットネスジム（5店舗）の利用者279名に対し、コロナ前後の意識変化、新たな事業への関心度等についてアンケート調査を行った。

以上の結果から、①事業者と利用者のコロナ前後の意識変化の違い、②新たな事業戦略の一つと考えられる高品質パーソナル指導に対する事業者と利用者の価値認識の違い、③コロナ後のフィットネスジム利用の決定要因に対する事業者と利用者との認識・価値観の違い、等が明らかとなった。

I 本研究の背景

2020年以降、世界的な新型コロナウイルス感染症拡大により、フィットネス事業者（以下、同事業者）は深刻な打撃を受けた。業界各社では、施設内でのクラスター発生や外出の抑制、風評被害等により退会や休会が相次ぎ、時短営業やプログラムの見直し、感染予防の徹底など、社会環境の変化に合わせた事業方針の変更等を余儀なくされた。

しかし、こうした状況下にもかかわらず、コロナ禍以降の同業界の事業戦略について明確に論じた研究は、現時点では存在しない。

本研究は、2023年度から同事業者が今後どのような事業展開をすべきかについて、实在企業をモデルに、(a)医療福祉機関など関連業種との連携、(b)動作解析による予防医療運動プログラム開発、(c)DX技術の活用による新サービスの提供等について、分析、考察および事例検証を行うことを目的としている。

研究1年目(2023年度)は、「事業者側の視点」から、山陽・山陰地方のフィットネス事業者（6社、24店舗）のインストラクター112名に対し、コロナ前と後での利用者のニーズ変化、注力すべき分野などについてアンケート調査を行った。また、事業管理者（14名）に対してもインタビュー調査を実施し、コレスポンス分析、AIを用いたワードクラウド分析等の統計解析を行った。

その結果、①業態を問わず、利用者はコロナ禍後、衛生面を強く意識している、②全業態で新たな事業

モデル構築のために、人材教育が不可欠、③各業態で改善すべき点、注力すべき分野などが異なる、④今後は、外部医療機関との連携・協力も必要と考えている、等が明らかとなった。

研究2年目(2024年度)は、「利用者側の視点」から、山陽地方（岡山県・広島県）のフィットネスジムに通う利用者に対し、①コロナ前後でのフィットネスジムに対する意識変化、②高品質パーソナル指導への関心度、③コロナ後のフィットネスジム利用の決定要因、等について調査研究を行った。

II 本研究の調査手法

2025年1～2月、フィットネスジム5店舗（岡山3店、広島2店）に通う利用者279名に対し、無記名アンケート調査を実施した（写真1参照）。



写真1 利用者へのアンケート調査

アンケート調査は、Google FormsにてQRコードを読み込み回答するものと、アンケート用紙記入の選択制とし、回答者に負担が掛からないよう心がけた。アンケートの回答項目は、性別・年齢別・利用しているフィットネス業態別などに分類した計9

項目に及ぶが、コロナ前後の利用者の意識変化およびコロナ後のフィットネス業界の新たな事業戦略についてフォーカスするため、とくに以下の3項目を重視した。

- ①コロナ前後でのフィットネスジムへの意識変化
- ②高品質パーソナル指導(栄養管理等を含む)への関心度
- ③コロナ後のフィットネスジム利用の決定要因

なお、アンケート調査の結果については、クロス集計による各カテゴリーの割合を求め、定量的に分析・検証した。

Ⅲ アンケート調査データの集計結果

Ⅲ-1 研究対象者(データ母数)

Ⅲ-1-1 回答者の性別、年齢層

フィットネスジムの利用者279名(男性136名、女性142名、性別回答なし1名)から回答を得た。年齢別では、60歳以上が172名(61.6%)と6割を超えた(表1参照)。

表1 回答者の年齢層

回答項目	回答数(名)	回答率(%)
60歳以上	172	61.6%
50~59歳	38	13.6%
40~49歳	16	5.7%
30~39歳	19	6.8%
20~29歳	32	11.5%
20歳以下	2	0.7%

Ⅲ-1-2 利用しているフィットネスジムの業態

利用しているフィットネスジムの業態別では、総合型フィットネスジム199名(71.3%)、24時間型ジム73名(26.2%)、パーソナルジム3名(1.1%)、その他4名(1.4%)となった(表2参照)。

表2 利用しているフィットネスジムの業態

回答項目	回答数(名)	回答率(%)
総合型スポーツジム	199	71.3%
24時間型ジム	73	26.2%
パーソナルジム	3	1.1%
その他	4	1.4%

Ⅲ-1-2 ジムで頻繁に行う運動メニュー

利用者がフィットネスジムで頻繁に行う運動メニューについての回答結果は、筋力トレーニング193名(69.2%)、ストレッチ161名(57.7%)、有酸素運動136名(48.7%)、スタジオレッスン111名(39.8%)の順であった(表3参照)。

表3 利用者が頻繁に行っている運動メニュー

回答項目	回答数(名)	回答率(%)
筋力トレーニング	193	69.2%
ストレッチ	161	57.7%
有酸素運動(マシン利用)	136	48.7%
スタジオレッスン	111	39.8%
スイミング	84	30.1%
その他	4	1.4%

また、これを年代別に見ると、60歳以上の利用者では「ストレッチ」の回答が128名(74.4%)と多く、高齢者にとってこうした運動メニューのニーズがかなり高いことが明らかになった(表4参照)。

表4 頻繁に行っている運動メニュー(年代別)

年齢別	40~49歳		50~59歳		60歳以上		全体	
回答者数	16		38		172		279	
項目	回答数	回答率	回答数	回答率	回答数	回答率	回答数	回答率
筋力トレーニング	10	62.5%	28	73.7%	106	61.6%	193	69.2%
ストレッチ	1	6.3%	24	63.2%	128	74.4%	161	57.7%
有酸素運動	7	43.8%	21	55.3%	82	47.7%	136	48.7%
スタジオレッスン	7	43.8%	24	63.2%	78	45.3%	111	39.8%
スイミング	2	12.5%	9	23.7%	71	41.3%	84	30.1%
その他	0	0.0%	1	2.6%	3	1.7%	4	1.4%

Ⅲ-2 コロナ前後での利用者の意識変化

Ⅲ-2-1 利用者の意識変化の割合

コロナ前とコロナ後でフィットネスジムに対する意識の変化を聞いたところ、「大きく変化した」「少し変化した」の回答が合わせて36.9%(103名)であった。一方で、「あまり変わらない」「変わらない」の回答は63.1%(176名)であり、利用者の意識として、コロナ禍の影響がきほど大きくないことが分かった(図1参照)。

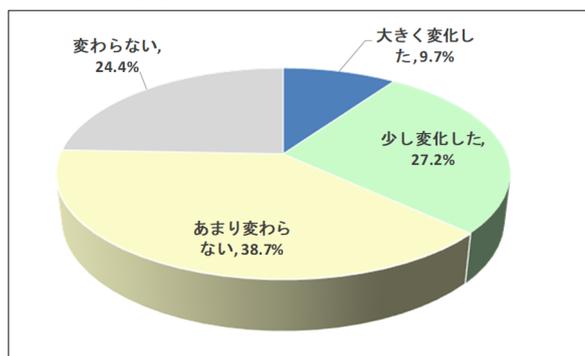


図1 コロナ前後での利用者の意識変化

これを年代別に見ると、「大きく変化した」「少し変化した」と回答した者のうち、30歳以下は37.8%、40~59歳以下35.2%、60歳以上37.2%だった。

これらの結果により、コロナ前後での利用者の意識変化においては、年代別に大きな差がないことが分かった(表5参照)。

表5 コロナ前後での利用者の意識変化（年代別）

年齢別	39歳以下		40～59歳		60歳以上	
回答者数	53		54		172	
項目	回答数	回答率	回答数	回答率	回答数	回答率
大きく変化した	11	20.8%	7	13.0%	9	5.2%
少し変化した	9	17.0%	12	22.2%	55	32.0%
あまり変わらない	18	34.0%	21	38.9%	69	40.1%
変わらない	15	28.3%	14	25.9%	39	22.7%

Ⅲ-2-2 意識変化の項目

Ⅲ-2-1 で「大きく変化した」「少し変化した」と回答した 103 名に対し、意識変化の項目を聞いたところ(複数回答)、「健康に関する意識」との回答が 85 名(82.5%)と最も多く、次いで「安全に関する意識」が 45 名(43.7%)、「体力・健康データに関する意識」36 名(35.0%)と続いた(図2参照)。

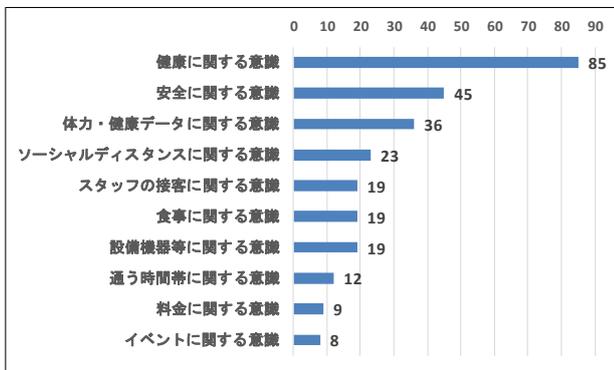


図2 コロナ前後での利用者の意識変化項目

Ⅲ-3 高品質パーソナル指導(栄養管理等を含む)への関心度

Ⅲ-3-1 高品質パーソナル指導への関心度

コロナ後のフィットネス業界の新たな事業戦略について考察するため、医療機関と連携した高品質パーソナル指導(栄養管理等を含む)への関心度について聞いたところ、「とても興味がある」、「興味がある」と回答した者は合わせて 52.4%(143 名)と、過半数を超えた。一方、「あまり興味がない」「興味がない」が 40.3%(110 名)、「分からない」が 7.3%(20 名)であった(図3参照)。

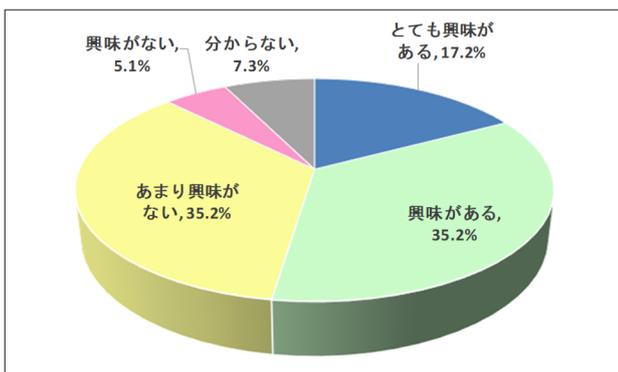


図3 高品質パーソナル指導への関心度

男女別では、男性 47.0%(64 名)に対して、女性 55.6%(79 名)と、女性の方が高品質パーソナル指導への関心度がやや高いことが分かった(表6参照)。

表6 高品質パーソナル指導への興味(男女別)

性別	男性		女性	
回答者数	136		142	
項目	回答数	回答率	回答数	回答率
とても興味がある	26	19.1%	21	14.8%
興味がある	38	27.9%	58	40.8%
あまり興味がない	53	39.0%	43	30.3%
興味がない	8	5.9%	6	4.2%
分からない	9	6.6%	10	7.0%
回答なし	2	1.5%	4	2.8%

さらに、年齢別にみると、50～59 歳 63.2%(24 名)が最も高く、次いで、49 歳以下 53.6%(37 名)、60 歳以上 47.7%(82 名)と続いた(表7参照)。60 歳以上は、割合としては他の年代よりもやや低いが、人数では 82 名と最も多い結果となった。

表7 高品質パーソナル指導への興味(年齢別)

年齢別	49歳以下		50～59歳		60歳以上	
回答者数	69		38		172	
項目	回答数	回答率	回答数	回答率	回答数	回答率
とても興味がある	15	21.7%	8	21.1%	24	14.0%
興味がある	22	31.9%	16	42.1%	58	33.7%
あまり興味がない	22	31.9%	9	23.7%	65	37.8%
興味がない	3	4.3%	2	5.3%	9	5.2%
分からない	7	10.1%	3	7.9%	10	5.8%
回答なし	0	0.0%	0	0.0%	6	3.5%

これらの結果から、高品質パーソナル指導に関しては、各年齢層ともに過半数以上または過半数近い利用者が関心を持っていることが判明した。

Ⅲ-3-2 高品質パーソナル指導への関心項目

高品質パーソナル指導について、どのような項目に関心があるか聞いたところ(複数回答)、「医療機関との連携」と回答した者が 70 名(49.0%)と最も多く、次いで、「食事管理指導」66 名(46.2%)、「個別運動プログラム」58 名(40.6%)の順であった(図4参照)。

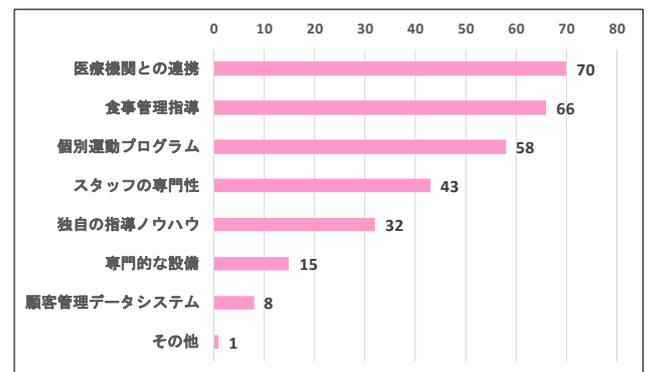


図4 高品質パーソナル指導への関心項目

なお、当然ながら、フィットネスジムが高品質パーソナル指導を行う際は、利用者一人一人のニーズに寄り添った指導メニューの開発、設備機器の充実、スタッフの育成等が不可欠となる。コロナ後の利用者のニーズ意識変化に合わせ、業界内でのさらなる取り組みが必要と言える。

Ⅲ-4 コロナ後におけるフィットネスジム利用

Ⅲ-4-1 施設利用において重視する決定要因

コロナ後のニューノーマルなフィットネスジム利用の視点から、利用者が施設を選ぶ際に重視する決定要因を聞いたところ(複数回答)、「設備の充実度」「立地とアクセス面」と回答した者が177名(63.4%)と最も多く、次いで「施設の雰囲気」122名(43.7%)、「スタッフの対応」111名(39.8%)、「利用のしやすさ」104名(37.3%)、「サービスの充実度」100名(35.8%)と続き、これら6項目がいずれも100名超の回答結果となった(図5参照)。

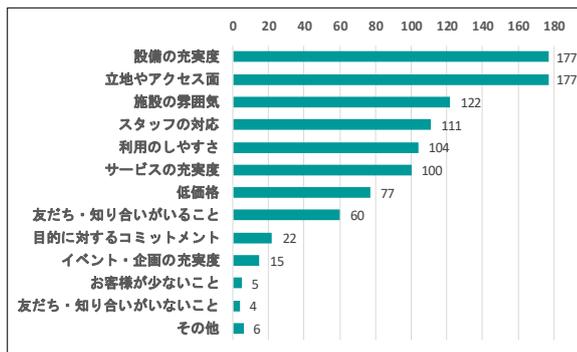


図5 施設利用において重視する決定要因

Ⅲ-4-2 男女別、年齢別、形態別の決定要因の違い

コロナ後のフィットネスジム利用の決定要因を男女別に見ると、男女共に「設備の充実」「立地やアクセス面」を上位に挙げている。このうち、女性は、半数以上が「施設の雰囲気」「スタッフの対応」をフィットネスジム利用の決定要因として回答している(表8参照)。

表8 フィットネスジム利用の決定要因(男女別)

項目	男性		女性	
	回答数	回答率	回答数	回答率
設備の充実度	86	63.2%	91	64.1%
立地やアクセス面	83	61.0%	94	66.2%
施設の雰囲気	45	33.1%	77	54.2%
スタッフの対応	32	23.5%	79	55.6%
利用のしやすさ	51	37.5%	53	37.3%
サービスの充実度	32	23.5%	68	47.9%
低価格	47	16.8%	30	21.1%
友だち・知り合いがいること	22	7.9%	38	26.8%
目的に対するコミットメント	9	3.2%	13	9.2%
イベント・企画の充実度	6	2.2%	9	6.3%
お客様が少ないこと	3	1.1%	2	1.4%
友だち・知り合いがいないこと	1	0.4%	2	1.4%
その他	3	1.1%	3	2.1%

また、年齢別では、全ての年齢層で「設備の充実度」「立地やアクセス面」を約6割の利用者が決定要因に挙げている(表9参照)。

なお、60歳以上では「施設の雰囲気」「スタッフの対応」、50~59歳では「サービスの充実度」、49歳以下では「利用のしやすさ」を5割以上の利用者が挙げている。「低価格」に関しては、年齢が上がるにつれて回答率が低くなった。

表9 フィットネスジム利用の決定要因(年代別)

項目	49歳以下		50~59歳		60歳以上	
	回答数	回答率	回答数	回答率	回答数	回答率
設備の充実度	39	56.5%	23	60.5%	115	66.9%
立地やアクセス面	42	60.9%	24	63.2%	111	64.5%
施設の雰囲気	22	31.9%	11	28.9%	89	51.7%
スタッフの対応	10	14.5%	13	34.2%	88	51.2%
利用のしやすさ	36	52.2%	13	34.2%	55	32.0%
サービスの充実度	14	20.3%	22	57.9%	64	37.2%
低価格	30	43.5%	14	36.8%	33	19.2%
友だち・知り合いがいること	5	7.2%	1	2.6%	54	31.4%
目的に対するコミットメント	2	2.9%	0	0.0%	20	11.6%
イベント・企画の充実度	2	2.9%	6	15.8%	7	4.1%
お客様が少ないこと	2	2.9%	0	0.0%	3	1.7%
友だち・知り合いがいないこと	1	1.4%	0	0.0%	3	1.7%
その他	0	0.0%	1	2.6%	5	2.9%

さらに、業態別で見ると、総合型フィットネスジムと24時間ジムともに、「設備の充実度」「立地やアクセス面」の回答率が高い。

また、総合型フィットネスジムでは「施設の雰囲気」「サービスの充実度」を4割以上の回答者が決定要因として挙げている。一方、24時間フィットネスジムでは、「利用のしやすさ」が42名(57.5%)と最も高かった。さらには、「低価格」が32名(43.8%)と総合型フィットネスジムと比べ高い回答率となった(表10参照)。

表10 フィットネスジムの決定要因(総合型と24時間)

項目	総合型		24時間	
	回答数	回答率	回答数	回答率
設備の充実度	135	67.8%	37	50.7%
立地やアクセス面	132	66.3%	41	56.2%
施設の雰囲気	82	41.2%	25	34.2%
スタッフの対応	73	36.7%	13	17.8%
利用のしやすさ	57	28.6%	42	57.5%
サービスの充実度	87	43.7%	12	16.4%
低価格	44	22.1%	32	43.8%
友だち・知り合いがいること	40	20.1%	3	4.1%
目的に対するコミットメント	16	8.0%	2	2.7%
イベント・企画の充実度	11	5.5%	3	4.1%
お客様が少ないこと	0	0.0%	3	4.1%
友だち・知り合いがいないこと	1	0.5%	0	0.0%
その他	4	2.0%	1	1.4%

以上の結果から、サービス内容の充実度を求める総合型フィットネスジムと、価格や利用の手軽さを求める24時間ジムなど、業態によって利用者ニーズがかなり異なることが明らかになった。

IV 事業者と利用者のアンケート回答比較

これまで2年度にわたり、フィットネスジムの事業者側、利用者側、それぞれの視点からアンケート調査、インタビュー調査を行い、回答について集計・分析を行ったが、それらの結果を踏まえ、両者の価値認識の違いについて考察したい。

IV-1 コロナ前後の認識変化に関する相違

図6で示すとおり、コロナ前と後の意識変化については、事業者側と利用者側の意識には、かなりズレ(温度差)があることが明らかになった。

事業者は、「大きく変化した」「少し変化した」の回答が合わせて69.7%を占めるのに対し、利用者は36.9%にとどまっている。これは、コロナ禍による影響が、会員数減など経営側の要因の方がより強いことを物語っている。

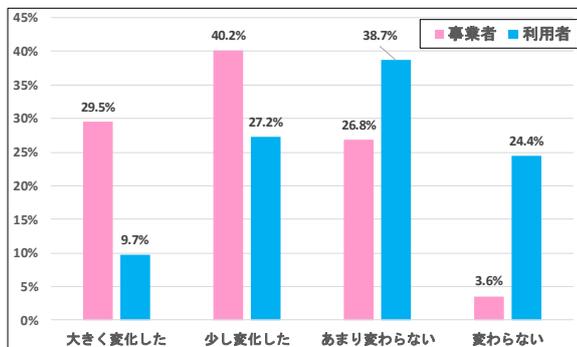


図6 コロナ前後の意識変化の相違

さらには、意識変化の項目についても、両者の認識の違いが見られる(図7参照)。

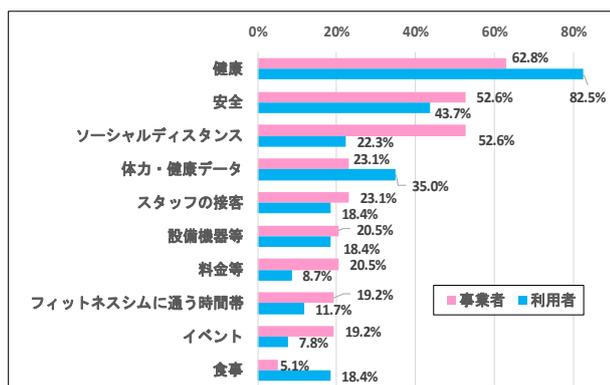


図7 コロナ前後の意識変化項目の相違

すなわち、「安全」「ソーシャルディスタンス」「料金等」などの項目については、事業者側の回答率が利用者の回答率を上回っているのに対し、逆に「健康」「体力・健康データ」「食事」などの項目は、利用者の回答率が事業者を上回る。これは、コロナ禍において「巣ごもり状態」が長期化したことにより、利用者側に体力・健康回復に向けた新たなリベンジニーズが生まれている、と考えられる。

IV-2 高品質パーソナル指導への関心度の相違

フィットネス業界にとって、コロナ後の新たな事業戦略のひとつと考えられる高品質パーソナル指導への関心度についても、事業者側と利用者では認識の違いが見られる。

高品質パーソナル指導に「興味がある」(「大変興味がある」を含む)の回答率は、事業者では72.3%であるのに対し、利用者は52.4%にとどまる。逆に、「興味がない」(「あまり興味がない」を含む)の回答率は、事業者では8.0%であるのに対し、利用者は40.3%と、大きな差が見られた(図8参照)。これは、現時点においては、利用者側に高品質パーソナル指導に関する具体的なイメージが分かりにくいという側面がある、と考えられる。

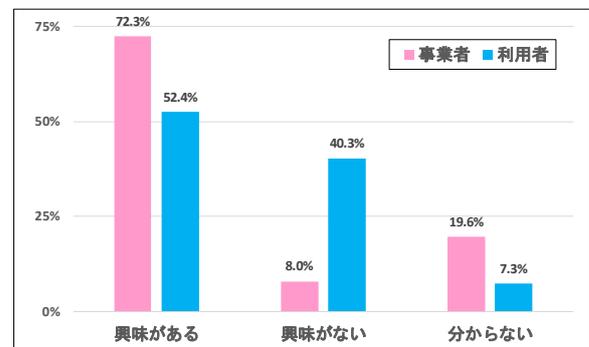


図8 高品質パーソナル指導への関心度の相違

IV-3 フィットネスジム利用の決定要因の相違

コロナ後のフィットネスジム利用において重視する決定要因についても、項目によって、事業者と利用者で違いがあることが明らかになった。

例えば、「低価格」は事業者の67.0%がジム利用の決定要因として回答しているのに対して、利用者では27.6%にとどまる。同様に、「利用のしやすさ(営業時間・予約システムなど)」「スタッフの対応」「施設の雰囲気」「目的に対するコミットメント」等の項目についても、事業者と利用者の回答率に違いが目立った(図9参照)。

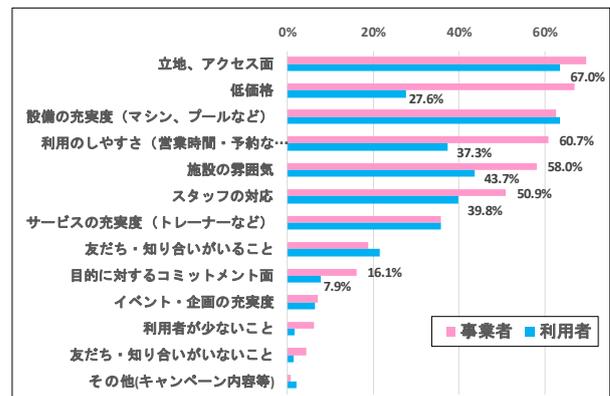


図9 フィットネスジム利用の決定要因の相違

V 総括

本研究は、フィットネス業界に大きな影響を与えたコロナ禍が一定の区切りを迎えた状況下、各事業者が今後どのようにニューノーマル(新たな常態)な事業展開をすべきかについて、ヒントとアイデアを得ることを目的に始まった。「過去に戻るだけでは意味がない」-これが、本研究におけるフィットネス業界に対する研究コンセプトである。

2024年度は、研究2年目として、フィットネスジムの利用者側の視点から、様々な項目についてアンケート調査を実施し、データ分析および考察を行った。加えて、研究1年目に得られた事業者側の視点による集計データと比較することで、両者の価値認識の違いについて分析・考察を行った。

本研究を通じて、大きく以下の3点が判明した。

- (1) コロナ前と後で、事業者側と利用者側の意識変化には、かなりズレ(温度差)があることが明らかになった。事業者は、「大きく変化した」「少し変化した」の回答が合わせて69.7%を占めるのに対し、利用者は36.9%にとどまっている。

これは、コロナ禍による影響が、会員数減など経営側の要因の方がより強いことを物語っている。

- (2) コロナ後の新たな事業戦略のひとつと考えられる高品質パーソナル指導への関心度については、事業者と利用者ニーズへの価値認識に大きな違いがあることが分かった。総じて、事業者側の関心度が高いのに対し、利用者の関心はさほど高くない。しかし一方で、利用者の年齢別に見ると、各年齢層ともに過半数以上または過半数近い利用者が関心を持っていることが判明した。

現時点においては、利用者側に高品質パーソナル指導に関する具体的なイメージが分かりにくく、事業者としては今後、利用者一人一人のニーズに寄り添った指導メニューの開発、設備の充実、スタッフの育成等への取り組み等により、こうした潜在需要の掘り起こしが必要と言える。

- (3) コロナ後のフィットネスジム利用の決定要因については、「低価格」「利用のしやすさ(営業時間、予約システムなど)」「スタッフの対応」「施設の雰囲気」「目的に対するコミットメント」等の項目について、両者の回答率に違いが目立った。

また、業態別では、サービス内容の充実度を利用者が求める総合型フィットネスジムと、価格や利用の手軽さを求める24時間ジムなど、業態による利用者のニーズの違いが鮮明になった。

VI 今後の研究に向けて

本研究は、2年度にわたり、事業者側、利用者側、

それぞれの視点から入念なアンケート調査、インタビュー調査、集計データの統計解析等を行い、両者の価値認識の違いについて明らかにするなど、現状分析という点においては一定の成果があったと言える。

また、コロナ後の新たな事業展開として期待される高品質パーソナル指導への取り組みや、利用者が今後ジム利用を決定する要因についても、一定の方向性を示すことができた。

本研究の最終年度となる2025年度においては、これまでの研究成果を踏まえ、当初の計画通り、医療福祉業界との連携による予防医療(一次予防)の運動プログラム等について検討したい。前述表4が示す通り、60歳以上の利用者では「ストレッチ」の回答率が74.4%と高く、高齢者にとってこうした運動メニューのニーズが高いことが示されている。

また、さらにはデジタル技術を用いた動作解析や運動プログラムの改良など、フィットネス事業の新たな可能性について考察していきたい。

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)ウエスコ学術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インタビュー調査にご協力頂いた山陽地区のフィットネス事業者の関係者、利用者の皆様にも厚く御礼申し上げます。

地域の親集団が生み出す「ケアの本質」に関する研究

中国短期大学 保育学科

清水憲志

(概要)

本研究では、おやじの会に着目し、メイヤロフが提唱する“ケア”に焦点を当て、調査・分析を行った。

おやじの会の関係者にインタビューを行い分析した結果、“自己体験を踏まえたケア提供”、“成長を促すケアの実践”、“ケアの感情的報酬”、“地域空間としての支援的ケア”の4つが明らかになった。

自己体験を踏まえたケア提供は、参加当時はケアの意識が無くても、活動を通して自身がケアを受けた結果ケアの意識が芽生えたことが分かった。成長を促すケアの実践は、他者の関わりや自己の子どもだけでなく、他者の子どもの様子を見る事で、価値観に変化が見られた。ケアの感情的報酬は、感謝や日常の挨拶を受けたことで、個別的な思いが強くなり、個々の関わりを強化していた。地域空間としての支援的ケアは、様々な活動がそれぞれにとっての居場所を生み出しケアを生み出していた。おやじの会の会員の活動や会という居場所が、ケアをもたらしていることは明らかになった。さらに、ケアを受けたものが相手に伝わり、大人に限定されず子どももケアを行う姿が見られるように変化していた。

問題

昨今、SNSの普及により、人と人のつながりに対して、色々な地域及び世代との出会いなど多くの可能性をもたらすようになってきている。しかし、その一方で若者を中心としてモラルの低下を露呈することにもつながっている。その原因は、現在の“地域関係の希薄化”にあると考えられる。現在の子育ての環境は、昭和の頃に行われていた「地域・学校及び親戚で育てる」時代から平成の時代を経て、「地域とは距離を置いた弧育て」と言っても過言ではない。結果、母親の育児不安及び虐待の増加が問題となり高畑(2018)・清水(2024)等が示すように“子育て環境”の改善が求められている。佐々木(2000)でも語られたように、父親も育児を行うことが親として望ましいため、その父母の養育に対して十分な支援を行い、家庭や子育てに夢を持ち、子育てに伴う喜びを実感できる社会環境を整備する必要がある。おやじの会という父親を中心にしながら、志が同じ仲間活動する親集団がある。

1980年代におやじの会という父親の子育ての参加を促すことを目的とした団体が生まれた。地域や学校に拠点を置きながら、それぞれが活動を行っていたが、2003年に香川にて全国おやじサミットが行

われて以降、年に一回の交流を行うようになっていく。内閣府によるとおやじの会の最初の団体は川崎市の「いたか」とされており、その時の社会状況を表すように、家庭や地域に父親がいないことが当たり前で、たまにいと子どもから「いたか」と言われたことが理由である。

おやじの会が与えるものとして、京須(2006)、他の研究では、おやじの会が父親同士の関係を作り、結果として父親達の子育て不安を解消し、父親自身が子育てへ主体的に関ろうとする意欲を高め、男女共同参画のきっかけとなる事が示唆された。一方で、吉岡(2019)は、これらの根底に根付くのは“母親支援”の一端であると語り、父親が子育ての主体とは言えない状況である。また、京須(2007)は、従来の性別役割分業を維持したまま、妻や世間の建前として子育てを行うという新たなモデルであることを示した。松阪(2007)の調査では“子育て”を“子どもと遊ぶこと”と捉える中で地域活動に参加するようになったため、育児に関わっているようには見えていくが、家庭及び地域での具体的な関与の在り方については示唆されていなかった。ここまで、おやじの会の調査では、地域や学校とのつながりを作ったり、共通のイベントに参加することで家庭内で

の話題が増えたりするなど、関係性の強化や表面的な関わりの増加という子育てにおける一側面にしか焦点をあてていない。

その環境に期待するものとして、メイヤロフ(1987)が提唱する“ケア”という価値観である。“ケア”を「他者を自分自身の延長とを感じる。また、独立したものとして成長する欲求を持っているものとして感じる」と述べ、他者と自分が共に成長することを幸福と捉えている。地域で生活するものが“ケア”の精神を持って相互に関わる事が必要だと考える。“ケア”については、誰でもよいわけではなく、両親にとっての子どものように、明確に関連性がある事が求められる。

“おやじの会”は全国サミット及び地域サミットが各地で行われるなど、全国でつながりがある。また、SNSを有効に活用しながら、日々つながりを持ち続けている。全国サミットも20回目を超え、当時は子どもだった人が親になり参加する姿も見れるようになっている。つまり、“おやじの会”を通して“ケア”の関係性が継承される可能性があるのではないかと考える。それにより、“自分を含めた他者の成長を願う”ことが必然となり、それぞれをケアし合う構造が生まれると考えられる。また、学区、地域、全国というつながりからもたらされている“ケア”の意義も考えられる。

本研究では、メイヤロフのケアに依拠し、おやじの会におけるケアに関する現状を明らかにする。

研究方法

「全国おやじサミット」の関係者を通じて、インタビューの協力を依頼し、ZOOMで3名に半構造化面接に基づくインタビューを行った。調査時期は2024年10月～11月に実施した。詳細は表1の通りである。

表1 対象者一覧

	性別	年齢	子どもの数	年数
A	男性	40代	3	11
B	男性	40代	2	10
C	女性	50代	3	6

分析方法：調査により得られたインタビューデータについて、文字起こしを行った。その後、MAXQDA2022を用いて“ケアに関すること”についてコーディング作業を行った。

倫理的配慮

調査に先立ち、所属研究機関の倫理審査(承認番号T24002)を受け承諾された。また、研究協力者に依頼する際、研究の目的、方法、時程等を説明し、途中辞退できることも伝え、Zoomでインタビューを行った。なお、同意書の記入については、同意書の存在を示し、口頭で承諾を得た後に、後日郵送にて同意書を送付し、返送していただいた。また、調査対象者名は全てアルファベット表記として、個人が特定されることの無いように配慮した。

結果

インタビューデータについてMAXQDA2022を用いて分析した結果、“自己体験を踏まえたケア提供”、“成長を促すケアの実践”、“ケアの感情的報酬”、“地域空間としての支援的ケア”の4つが明らかになった。以下、分析結果の根拠となる代表的なローデータを囲み内に示しながら、考察する。なお、コード数は表2の通りである。

表2 コード数一覧

自己体験を踏まえたケア提供	11
成長を促すケアの実践	7
ケアの感情的報酬	5
地域空間としての支援的ケア	20
合計	43

(1) 自己体験を踏まえたケア提供

おやじの会に参加するようになり、実際に子どもと関わったことで、変化した様子が伺えた。また、自己の子どもだけではなく、他者の子どもにも意識が芽生え、その結果家庭での関わり方にも変化が見られた。

(協力者 B)

比較的みんな子どもと接する機会が多い人間は角が取れてきますよね。本当になんかつんつんしてたやつらが、こう、少しずつ丸くなって丸くなって。やっぱりすごく家庭を大事にするやつが増えたな

このように実際に関わったことで、変化が生まれ、ケアの意識を持つようになり、また、他者に対して影響を及ぼす可能性が見いだすことができるのだろう。

次の例では、父親だけでなく、子ども同士にもそのような意識が芽生えた例である。

(協力者 A)

ちょうど6年、6年入学式の時に、6年生のずっと遊んでくれて、一緒に活動してるお父さんの子どもが、「Sくん。学校の先生に、おい、お前」って言っちゃダメだよかっていうような、なんでしょうね、そういう、子どもが子どもに言うところ、やっぱりそこは素直に聞かなくて、やっぱり親が言うみたいな、大人が言うんじゃない、子どものちょっと上のお兄ちゃんがうっていうのはすごく聞くんだ

年下の子どもに対して、望ましくない言動をした際に注意している。協力者も述べているように、時として大人が伝えるだけでなく、身近な存在が伝えることで効果を促進させることもある。

そして、実際に低学年の時には、参加者だった子どもが成長したことで、変化が見られた。

(協力者 A)

子どもイベントの中で子どもリーダーっていうのを作るときに、やっぱりあれ？つい数年前までこんなちっちゃかったのに、すごい子どもたちなんだろうな、下の子をまとめるなっていう形で、やっぱり連続して来てる子ども、なんか、この子なんかは成長度合いが見える

いつでも、参加者として立場が変わらないのではなく、自身が受けたことを循環しながら、新たな参加者へ伝えるという様子が伺える。自分自身が活動を通して人と関わったことでケアを受け、その結果自分がされたように自然と同じようなケアとしての関わりをするように変化することが分かった。

(2) 成長を促すケアの実践

ケアをしていくことで実感している自己の変化について、次のように語られた。

(協力者 B)

比較的自己肯定感が高まるんだと思うんですよ。その家庭との関係が悪くなるから。だから自己肯定感が高まると他人の肯定感も高まっている感じ

会の活動を通して、互いに認め合う状況になることで、ありのままの自分を受け入れ、他者の良い所を尊重し、影響を受けていることが分かる。

また、他者の様子を見る事で、別の形でもいいのではないかと考え方に変化が見られた。

(協力者 A)

寛容になるって言うんですかね、いや、本当、スタートがもう、子どもはこうなんだろうな、こう整えるものみたいな、そういう感じだったのが、なんだろうな、動きしても、まあまあ別に騒いでる時は騒いでもいいしで、いや、本当にダメな時はダメだっていった形で、別に、うん、ニュートラルの時、別に遊んでてもいいじゃんという時は、別にそんなね、うるさいとかって言わなくてもいいのかなってところでの、自分が寛容差をもてるような

他者の関わりや自己の子どもだけでなく、他者の子どもの様子を見る事で、自分の中の物差しに変化が見られ、広がっている様子が伺える。

自分の経験に基づく、固定的な考えが色々な関わり方、考え方を目の当たりにすることで、変化した

と言える。そのためには、自分の中で試してみることが必要なのだろう。

(3) ケアの感情的報酬

何かを期待しているわけではないが、「ありがとう」という言葉を言われたことが次への意欲につながっていることが語られた。

(協力者 C)

知らない子が「お疲れ様です」って。「いつも綺麗にしてくれてありがとうございます」って言うてくれたら、「お花興味あるの?」とか、「何部なの?」って。で、「写真部です」ってわかると。「写真部だったら、こういうお花の写真とか撮ったりする?」とか、「好きで撮ってます」っていうと、あと、「学校の他のいろんな場所どういうところ撮るの好き?」とか。で、「その写真のこういうところが好きなんだ」とか、その子が学校の生活何を楽しく過ごしてるのかなとか。で、もっとその写真部なら、写真の、「こういう学校に面白い場所があるよ」、「こういうところ撮ってごらん」、「こういう行事行ってみた?」とか、「旅行するのが好き」って言ったら、「どういうところ旅行してるの?」とか、「こういう田舎の青森県って知ってる?」とかそういう感じで、その子の好きな興味がちょっとプラスアルファ、知らない人と話すことで広がってくれたら、面白いだろうな

感謝されたことから、個別的な思いが強くなり、個々の関わりを強化していた。

また、子どもだけでなく、学校での清掃活動によって、学校の教職員からも感謝の言葉もらったことが、学校への思いを強化している語りがあった。

(協力者 C)

子どもたちが「うわ、すごい綺麗になった」って喜ぶし、先生たちは喜ぶし、管理職、校長を含め管理職たちもすごい喜ぶし、その学校に代行される業者さんも、「いつもこの学校本当

綺麗ですて来賓の方とか営業の方とか、いろんな出入りすね」、って言ってもらえる。で、その方たちが喜ぶと先生たちも喜ぶ、管理職も喜ぶで「あ、おやじの会、いつもやってくれて本当助かります。ありがとうございます」。

「ありがとう」などの感謝の言葉は何気ない一言かもしれないが、人との関わりの中では、欠かしてはいけないのだろう。

感謝の言葉などを自然と伝えていたことで、中高生になった後も“挨拶”という身近な言葉をかけ続けている語りがあった。

(協力者 B)

別に今のこの年になって、中学生と小学校高学年ぐらいから何も言わなくてもしっかり挨拶できるし。自分以外のおやじの会のメンバーにもしっかり挨拶してるのを見ると、なんというか、人としてある程度、最低減のやってほしいことはやれるようになってくれたし、それはおやじの背中ではなくて、多分本人たちがやろうと思ってやってくれてんだろうなと思うので、それはすごく良かったなって思ってます。

コロナがあり、対面での関わりが一時的に減少したことで、他者に対する直接的な言葉をかける機会も減ってしまったが、感謝という自分の気持ちを表出することが、日常の挨拶ということも当たり前の慣習となり、その姿が活動を継続することへの一助となっている。

(4) 地域空間としての支援的ケア

会の会員としての関わりを意識について次のような語りが聞かれた。

(協力者 A)

地域の人を繋げる、その結婚してる、子どもがいるとか関係なく、地域の人をなんか結ぶハブみたいな形のじゃあ面白いことやってるね、ちょっと遊びに行こうとか、いいよ遊びに来なよとか。

対象を学校に関わる子どもに限定するのではなく、地域という枠組みの中で居場所となれるように意識して関わっていることが窺える。それは、同じ地域に住む者として関わるきっかけとなり、人と人がさらにつながることが願っているための行動である。

(協力者 A)

地域コミュニティの1つの枠、新しい枠から、でもっと言うと、最終的にはそうな、結婚してるとか子どもいるとか関係なく、じゃあ別にね、でもやりたいんだったら、結婚しなくてもいいから子どもを見てよう。とかね、なんかそういうような受け皿になるといいのかな。

また、支援の場として、子どもと関わってみたいという思いがあれば良いという語りもあり、子どもの育成だけに関わらず、子どもとの関わり方を学ぶ場としても考えている。それをきっかけに、我が子を育てたいという思いを芽生えさせることにもつながりうると考えられる。また、一つの形として継続に関することも次のように語られている。

(協力者 C)

娘のこと、娘のお友達だけじゃなくって、クラスメイトだったり、習い事で一緒だったりするような子たちが成長してきている、その姿を見たいっていう状況がすごく強い。

関わりが増える中で、その対象となる人々は増える。色々な思いにより、個々がケアされることによって、居場所への思いも強くなるだろう。

(協力者 C)

その居場所を感じられた人は残っていく。来るようになる。居場所を感じられない人がだんだん来なくなる。もう幽霊部員になっちゃう。その居場所ってというのは、飲み会の席だけじゃなくって、飲み会には来ないんだけど、作業だけに来て、その自分の職業柄持ってる自分の機材がとても役に立つ。

継続の在り方に関しては、課題が見られる。得意とする活動、興味のある活動など多様な入口を提供することができれば、居場所として感じられる人は増えると考えられる。しかし、その結果、負担感になってはいけないため、内容の調整はする必要がある。おやじの会の原則として、「できる人ができる時に」というものがある。それぞれにとっての居場所と思える場所や内容は残しつつ、居場所としての在り方は変容していくと考えられる。

総合考察

本研究では、おやじの会の会員にメイヤロフが提唱する「ケア」の概念に基づき、インタビューを行った結果、“自己体験を踏まえたケア提供”、“成長を促すケアの実践”、“ケアの感情的報酬”、“地域空間としての支援的ケア”が明らかになった。必ずしも最初から、人が育つことを求めているとは言い切れないが、活動に参加し自身がケアを受けたことによって、そのような意識のもとで関わっている姿もあった。それは、大人である会員に関わらず、低学年から参加していた子どもが、高学年などになったことによって、年下にケアをする姿もあった。おやじの会の会員の活動や会という居場所が、ケアをもたらしていることは明らかになった。さらに、ケアを受けたことが相手に伝わり、連鎖的にケアが巡ることも分かった。

大人だけでなく子どもの声も聞くことで更なるケアの在り方についても明らかにすることができると考えられる。

今後の研究に向けて

本研究では、メイヤロフの「ケア」の概念に基づいて調査を行ったが、トロント(2015)によると、ケアは一方向的なものになると、パターンリズムになる恐れがあるため、「共にケアすること」というように変化することが求められると語られているため、会員ではないものの声も聞く必要がある。また、本調査でも大人視点で子どもがケアの視点での関わりは語られたが、子ども自身の声を聞く必要性もある。そのため、今後は、全国サミットを通じて声を

聞くと共に、各おやじの会の活動に参加し、会員以外の声も集めることで、おやじの会員と行事参加者という双方向から、おやじの会のケアについて言及していきたい。

引用文献

- 内閣府（1988）父親同士のつながりが地域社会の教育力を高める—川崎市・おやじの会「いたか」
- 京須希実子・橋本鉦市（2006）おやじの会と父親の育児参加（1）—グラウンデッド・セオリー・アプローチによる分析の試み—「研究年報」東北大学大学院教育学研究科
- 京須希実子・橋本鉦市（2007）「おやじの会」と父親の育児参加（2）-B 会を事例として-「研究年報」東北大学大学院教育学研究科
- 松坂雅子（2007）子育て世代における地域参加と人間関係の形成—おやじの会を事例に「立正大学社会学論叢」（6）立正大学
- ミルトン・メイヤロフ・田村真・向野宣之（1987）「ケアの本質：生きることの意味」ゆみる出版
- 佐々木保行・大日向雅美・平塚裕子・窪田信子・森和子・山口亜希子（2000）日本における最近10年間の父親研究の動向「鳴門教育大学紀要」（15）鳴門教育大学
- 清水憲志（2024）持続するおやじの会がもたらす子育て環境としての効果に関する研究「日本社会福祉マネジメント学会誌」（4）日本社会福祉マネジメント学会
- 高畑芳美（2018）主体的な子育て・親育ちのための子育て支援に関する研究—0,1,2 歳児の親子の遊びを中心に—「兵庫教育大学博士論文」兵庫教育大学
- Tronto, J. C. (2015) Who Cares?: How to Reshape a Democratic Politics, Ithaca and London: Cornell University Press. (岡野八代訳『ケアするのは誰か?—新しい民主主義のかたちへ』, 白澤社.)
- 吉岡亜希子（2019）父親の子育てネットワーク活動の成立条件と類型化—家庭教育を支える学習組織としての役割に注目して「北海道文教大学論集」

(20) 北海道文教大学

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ウエスコ振興財団様とご協力いただいたおやじの会の関係者の皆様に厚く御礼申し上げます。

運動によるメカニカルストレスが骨代謝関連因子に及ぼす影響

環太平洋大学体育学部体育学科

十河 直太

本研究は、日常的な運動の継続によるメカニカルストレスが骨代謝関連因子に及ぼす影響を健康することを目的とした。被験者は K 大学に所属する女性アスリート 122 名を対象とし、超音波骨量計による骨量測定、血液検査(血中ビタミン D, オステオカルシン)および体組成の測定を実施した。超音波骨量計による測定結果では、若年成人平均値(YAM: Young Adult Mean)の平均が $108.4 \pm 13.4\%$ であったことから、日常的な運動が骨量の維持・増加に有益な影響を与えていることが示唆された。グループ間の比較では、一般に骨量が低いとされる審美系種目であるダンスを日常的に行なっている学生においても、他のグループとの有意差は認められなかった。これについては、被験者の体脂肪量の多さが骨量保持に影響を及ぼしている可能性が示唆された。一方、血中ビタミン D 濃度の測定結果からは、ダンス部に所属する学生にビタミン D 欠乏の傾向が多く見られた。この結果については、ビタミン D 欠乏の影響が骨量として顕在化するまでに一定の時間を要する可能性が考えられる。したがって、今後は測定結果の被験者へのフィードバックに加え、栄養指導などの介入を通じたサポートが必要であり、縦断的な検証を継続して行うことが求められる。

1. 背景

運動による力学的刺激が骨量を増加させることはこれまで多くの研究者により報告されており、Wolff の法則によると、骨には荷重に応じて形態・量・構造を変化させる機構が備わっているとされている(Regling, 1993)。また、メカノスタット理論では、骨量や骨強度を決定する主因は骨自身に加わる力学的負荷(メカニカルストレス)であり、骨にはメカニカルストレスを感知するセンサーが内蔵するとされる。運動などにより骨の歪みが一定の閾値を超えると骨量が増加し、逆に病気などで長期臥床状態となり、この閾値を下回ると骨量が減少する(Frost, 2000)。

骨量は運動による力学的刺激が荷重されることによって増加することは良く知られている。また、骨量増加に適した負荷は high impact かつ high strain rate であるものが適しており、バレーボールや柔道などがそれに該当する。骨に対する力学的負荷が大きいほど骨量が高く、陸上長距離選手や水泳選手の骨量は低いことが多いことが報告されている。

さらに近年では、サーチュイン遺伝子と骨代謝の関連についても注目が集まっている。サーチュイン遺伝子は老化制御遺伝子あるいは長寿遺伝子とも呼ばれ、ヒトにおいては 7 種類(SIRT1 から 7)が同定されている。その中の一つである SIRT1 は寿命制御に関与する可能性が高いことが報告されている(大田, 2010)。また、

SIRT1 は骨芽細胞分化を促進することが報告されており、骨代謝にも影響することが明らかにされている(Bäckesjö, C.M. et al., 2008)。しかしながら、これらの研究成果の多くは動物実験や in vitro 実験によるものであり、ヒトを対象とした検証は乏しく、今後の研究が望まれる。

アスリートは日々の過酷なトレーニングによって健康を損なうことがある。女性アスリートに多い問題として「利用可能エネルギー不足(Low Energy Availability)」、 「運動性無月経」、 「骨粗鬆症」は女性アスリートの三主徴(Female Athlete Triad ;FAT)と呼ばれる。体育会活動が盛んな K 大学においても、多くの女性アスリートが在籍しており、これらの三主徴を潜在的に抱える学生が多数存在すると考えられる。該当者をスクリーニングにより早期に発見し、個別にフォローしていく体制の整備は喫緊の課題である。

先述のように、骨量増加に適した運動負荷を継続的に受けることで骨量の維持に寄与することは明らかであるが、女性アスリートの骨指標を縦断的に検討した研究は少ない。そこで本研究では、女性アスリートに焦点を当て、専門競技と骨量に関連する諸因子との関連を明らかにし、日常的な運動の継続が骨指標に及ぼす影響を検討することを目的とする。

Table 1 各クラブの身体的特徴

	n	height (cm)	weight (kg)	fat (kg)
Dance	11	158.0 ± 5.5 _{a,b}	49.2 ± 4.3 _{a,c}	20.9 ± 5.4
Cheerleading	15	158.2 ± 4.9 _{a,b}	54.0 ± 5.7 _c	11.4 ± 2.2 _{a,d}
Volleyball	27	167.2 ± 7.2	61.2 ± 7.7	17.1 ± 7.2
Softball	6	161.1 ± 4.4	55.4 ± 4.1 _c	10.8 ± 2.6 _d
Kendo	2	161.8 ± 2.5	64.0 ± 2.1	18.4 ± 2.8
Baseball	2	163.8 ± 6.0	66.5 ± 12.5	21.5 ± 3.7
Judo	23	162.3 ± 6.5	67.7 ± 12.4	16.2 ± 8.4 _b
Track and Field	36	166.9 ± 7.6	56.3 ± 8.6 _c	7.9 ± 4.7 _{a,c,d}
total	122	163.8 ± 7.4	58.8 ± 10.0	14.7 ± 7.3

a, vs. Volleyball, $P<0.05$, b, vs. Track and Field, $P<0.05$, c, vs. Judo, $P<0.05$, d, vs. Dance, $P<0.05$

2. 方法

1) 被験者

被験者はK大学体育会に所属する女子学生122名(ダンス部11名, チアリーダー部15名, バレーボール部27名, 女子ソフトボール部6名, 女子剣道部2名, 女子硬式野球部2名, 女子柔道部23名, 陸上競技部36名)であった。

2) 測定項目

骨量については, 超音波骨量計 Benus evo(日本光電)を用い, 右踵骨の超音波伝搬速度(SOS: speed of sound)と骨梁面積率, 若年比較(Young Adult Mean;YAM)を測定した。また, 採血により血中25-ヒドロキシビタミンD(25-OHD), オステオカルシン濃度を測定した。体重, 体脂肪量等の身体組成についてはInbody430(インボディ・ジャパン)を用いて測定した。身長についてはデジタル身長計(ムラテック KDS)を用いた。

3) データ処理

グループ間の比較には一元配置分散分析(one-way ANOVA)を用いた。なお, 有意水準は5%とした。剣道, 野球については被験者数が少ないことから統計解析から除外した。

3. 結果・考察

1) 種目別に見た身体的特徴

各グループの身体的特徴はTable 1に示した。身長において, バレーボール部および陸上競技部の学生

は, ダンス部およびチアリーダー部よりも有意に高い値を示した。体重においては柔道部がダンス部, チアリーダー部, ソフトボール部, 陸上競技部よりも有意に高く, バレーボール部はダンス部よりも有意に高い値であった。

体脂肪量に関しては, ダンス部がチアリーダー, ソフトボール, および陸上競技部と比較して有意に高い値を示した。チアリーダー部はバレーボール部より有意に低い体脂肪量を示した。また, 女子バレーボール部は, 陸上競技部および柔道部と比較して有意に低い値を示した。さらに, 柔道部と陸上競技部の間にも, 有意な差があり, 女子柔道部は陸上競技部に比べて有意に高い体脂肪量を示した。これらの結果から, 特にダンス部の体脂肪量が多い結果となった。

2) 超音波骨量計による骨量比較

本研究において, 骨粗鬆症の診断基準に用いられる若年比較(YAM)については全被験者の平均値が $108.4\pm 13.4\%$ であったことから, 運動の継続が骨量増加に有益な影響を与えていることが示された。グループ間の比較では, チアリーダー部が陸上競技部よりも有意に高い骨量を示した。この結果は, チアリーダーにおけるジャンプや支持動作など, 高負荷のメカニカルストレスが影響していると考えられる。一般的に, ダンスは骨量が低いとされる審美系種目であるが, 本研究ではその傾向は認められなかった。その要因として, 被験者の体脂肪量が高かったことが考えられ, 減量期における再測定が必要である。

Table 2 超音波骨量計による骨指標

	n	YAM (%)	SOS (m/sec)
Dance	11	101.5 ± 17.0	1566.2 ± 42.3
Cheerleading	15	118.1 ± 11.6a	1597.9 ± 27.6
Volleyboll	27	108.6 ± 18.6	1581.2 ± 39.3
Softball	6	109.1 ± 10.5	1578.7 ± 14.9
Judo	23	106.6 ± 11.7	1581.7 ± 27.1
Track and Field	36	106.1 ± 10.7	1583.1 ± 23.7
total	118	108.3 ± 13.4	1581.5 ± 29.2

a, vs. Track and Field, $P < 0.05$

3) 血液成分による比較

採血による骨代謝に関連する指標として血中ビタミン濃度と血清オステオカルシン濃度を測定した (Table 2)。その結果、骨形成の指標である血中ビタミン D 濃度において、ビタミン D 不足とされる 30ng/ml を全てのクラブで下回る結果となった。特にダンス部の平均値は 17.3ng/ml であり、ビタミン D 欠乏とされる 20ng/ml をも下回っていることから、原因の究明とともに改善を促すためのアプローチが必要となろう。次にグループ間の比較に目を向けると、陸上競技部がダンス部、バレーボール部、ソフトボール部よりも有意に高い値を示した。さらに、ソフトボール部がダンス部と柔道部よりも有意に高い値を示した。これはビタミン D については日光浴により体内で自己生成できるため、陸上競技部やソフトボール部のように屋外競技種目である 2 つのクラブが高値を示した要因かもしれない。同じく骨形成マーカーである血清オステオカルシンについて比較したところ、本研究において、グループ間に有意な差は認められなかった。

4) 今後の展望

将来的な骨粗鬆症の発症リスクを低減することは、特に罹患率の高い女性にとって重要な課題である。今後も縦断的な検証を通じて新たな知見を得るとともに、骨量と関連する因子や運動種目との関係、特に SIRT1 などの分子レベルでの影響についてさらなる検証を進めていくことで、骨粗鬆症予防に資するエビデンスの構築を目指したい。

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。

参考文献

Regling G. (1993). Law and connective tissue regulation (Wolff's ED).

Table 3 採血による骨指標

	n	VitaminD (25-OHD) (ng/mL)	Osteocalcin (ng/mL)
Dance	11	17.3 ± 4.5a,b	22.4 ± 7.3
Cheerleading	15	20.6 ± 4.5	26.6 ± 11.0
Volleyboll	27	21.1 ± 6.4a	22.8 ± 5.0
Softball	6	27.4 ± 4.1a	20.6 ± 6.7
Judo	23	20.4 ± 4.5b	22.8 ± 5.9
Track and Field	36	25.0 ± 5.0	26.9 ± 7.7
total	118	22.0 ± 4.7	23.7 ± 7.3

a, vs. Track and Field, $P < 0.05$, b, vs. Softball, $P < 0.05$

Frost, H.M. (2000). Muscle, bone, and the Utah paradigm: a 1999 overview. *Med Sci Sports Exerc.* 32: pp.911-917.

大田 秀隆.(2010). 長寿遺伝子 SIRT1 について. *日本老年医学会雑誌* 47(1) pp.11-16.

Bäckesjö, C.M., Y. Li, U. Lindgren. (2008). Activation of Sirt1 Decreases Adipocyte Formation during Osteoblast Differentiation of Mesenchymal Stem Cells. *Cells Tissues Organs.* 189 (1-4): pp.93-97.

(表題) AI 動作解析アプリによる競泳スタート局面分析の精度検証

(所属) 環太平洋大学体育学部

(氏名) 明石啓太

(概要)

本研究は、競泳スタート局面における飛び出し水平速度 (V) および飛距離 (FD) の測定に対して、AI 動画分析アプリの精度を検証することを目的とした。被験者は男子 25 名・女子 21 名の競泳選手であり、フォースプレートや画像解析による従来手法 (V_{FP} 、 FD_{DG}) と AI 分析法 (V_{AI} 、 FD_{AI}) の計測結果を比較した。その結果、 V_{AI} は V_{FP} より有意に高く、 FD_{AI} は FD_{DG} より有意に低い値を示し、いずれの指標にも加算誤差と比例誤差が確認された。特に V においては誤差の範囲が大きく、AI 分析による重心速度の推定には限界があることが明らかとなった。誤差の主な要因として、撮影時に対象者が直立姿勢を取らないことによる身体モデル生成の精度低下や、座標系の較正精度の不足が挙げられる。AI 分析は測定の簡便化や低コスト化に大きく寄与する一方で、現時点では競技現場での精度要件を満たすには至らず、今後はアプリの改良および適切な測定プロトコルの構築が必要である。

(本文)

緒言

競泳競技の特に短距離種目においてスタート局面 (スタート～15m 通過) の重要性が指摘されている (De la Fuente et al., 2010)。多くの先行研究を俯瞰すると、離台時の水平重心速度 (以下、飛び出し水平速度をす) の増加 (García-Ramos et al., 2015; Ruschel et al., 2007; Tor et al., 2015)、大きな飛距離の獲得 (明石ほか, 2015; 明石・松田, 2022; Ruschel et al., 2007) がスタート局面のパフォーマンスを改善することが明らかになっている。しかしながら、これらの知見が実際の競技現場で有効に活用されているとはいえない。その原因は上記の指標を正確にモニタリングする難易度にあると考えられる。これまでの研究では飛び出し水平速度の算出はフォースプレートの値を積分する方法 (明石・松田, 2022; 酒井ほか, 2017) が、また、飛距離の算出は画像から 2 点間の距離をデジタイズする方法 (武田ほか, 2006; Ruschel et al., 2007) がゴールドスタンダードとされてきた。これらの方法は高価な機材を必要とし、また、分析に要する時間も長いため、競技現場に普及するのは困難である。一方で、急速に発達した AI 技術を使用した動作分析アプリが近年開発されており、歩行やランニングとい

った基礎的な動作を中心に一定程度の精度を有することが報告されている。競泳のスタート局面においても高い精度を持つことが確認されれば、これらのアプリが競技現場での飛び出し水平速度や飛距離のモニタリングに活用できる可能性がある。よって本研究は AI 動作分析アプリの使用と従来の動作分析手法との計測誤差を明らかにすることで、AI 動作分析アプリを競技現場で活用できるかについて検証することを目的とした。

方法

被験者

被験者は競泳選手男子 25 名、女子 21 名であった。

測定方法

被験者は 20 分間ウォーミングアップを行った後、測定に臨んだ。測定試技はスタートから 15 m までのクロール全力泳 2 回とし、後述する 15 m タイムの短かった試技を分析対象とした。泳者の使用するスタート台にはフォースプレート内蔵型スタート台 (Kistler 製, Z21368; Fig.1) を、スタートシグナルにスピーカー付き光刺激提示器 (DKH 製, PTS-110) を用いた。測定の際、プールサイドにビデオカメラ (Panasonic 製, W870m) を設置し、スタート台後方

から4 m地点までを固定撮影した。フレームレートは60 fps, シャッタースピードは1/200 sに設定した。

分析方法

本研究ではスタート台から離台する瞬間の身体重心水平速度 (V) および飛距離 (FD) を分析項目とした。V の算出には床反力分析法 (FP) および AI 分析法 (AI) の2つの手法を, FD の算出にはデジタイズ法 (DG) と AI 分析法の2つの手法をそれぞれ用いた。それぞれの算出方法は以下の通りである。

床反力分析法

スタート台に内蔵されたフォースプレートの力データについて, 水面と平行な泳者の前後方向を x, それに直行する泳者の上下方向を y とした。スタートシグナルから離台までに得た x 成分の力積を泳者の体重で除することで床反力分析法による離台する瞬間の身体重心水平速度を得た (V_{FP})。

デジタイズ法

ビデオカメラで撮影した映像から画像分析ソフト (DKH 製, Frame-DIAZ5) を用いて2次元 DLT 法によって指先の実座標を得た。水面とスタート壁の交点を原点, 水面と平行な泳者の前後方向を x, それと直行する泳者の上下方向を y とした。DLT 法による計測誤差は $x \leq 0.06$ m, $y \leq 0.03$ m であった。得られた実座標は Butterworth digital filter で平滑化を行った (遮断周波数 6 Hz)。原点から指先の着水地点までの x 距離を画像分析法による飛距離とした (FD_{DG})。

AI 分析法

ビデオカメラで撮影した映像を ipad air (apple 製) に取り込み, AI 動画分析アプリ (SPLYZA 製, SPLYZA Motion) によって大転子の移動速度を算出した。本アプリでは身体重心速度を算出することができなかつたため, 離台する瞬間の大転子の速度で代用した (V_{AI})。また, 水面とスタート壁の交点から指先が着水した地点の距離を AI 分析法による飛距離

とした (FD_{AI})。

統計処理

各種法で得られた値を下記の方法で比較した。 V_{FP} と V_{AI} , FD_{DG} と FD_{AI} に対して対応のある t 検定を行った。また, V_{FP} と V_{AI} , FD_{DG} と FD_{AI} に対して Bland-Altman plot を用いて変数間の妥当性を検証した。すべての検定の有意確率は5%未満とした。

結果

表1に各値の平均, 標準偏差, および有意差検定の結果を示した。 V_{FP} に対して V_{AI} は有意に高い値を示した。また, FD_{DG} に対して FD_{AI} は有意に低い値を示した。

表1 測定方法ごとのVおよびFDの比較

	FP	DG	AI
	Mean \pm SD	Mean \pm SD	Mean \pm SD
V (m/s)	4.09 \pm 0.28	—	4.31 \pm 0.51 ^a
FD (m)	—	2.88 \pm 0.34	2.81 \pm 0.43 ^c

^a: significant difference between the V_{FP} and the V_{AI}

^b: significant difference between the FD_{DG} and the FD_{AI} .
p < 0.05

図1に FD_{DG} と FD_{AI} の Bland-Altman plot を示した。 FD_{DG} と FD_{AI} の差分は -0.07 ± 0.22 m であり, 加算誤差が認められた。一致限界 (Limitation of agreement: 以下, LOA) は 0.36 m から -0.51 m であった。 FD_{DG} と FD_{AI} の差分と FD_{DG} と FD_{AI} の平均値は有意な正の相関関係にあり ($r = 0.414$, $p < 0.05$), 比例誤差が認められた。

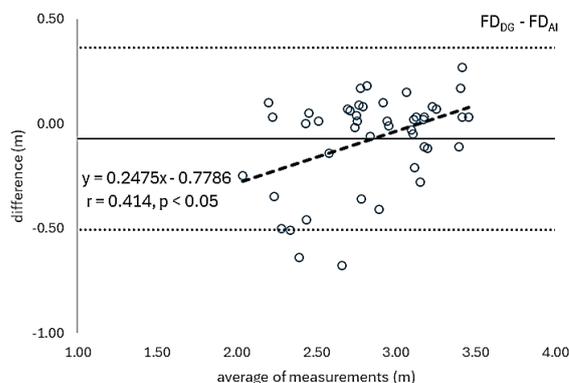


図1 V_{FP} と V_{AI} における Bland-Altman plot

図2に V_{FP} と V_{AI} のBland-Altman plotを示した。 V_{FP} と V_{AI} の差分は 0.22 ± 0.44 m/sであり、加算誤差が認められた。LOAは1.04 m/sから-0.60 m/sであった。 V_{FP} および V_{AI} の差分と V_{FP} および V_{AI} の平均値は有意な正の相関関係にあり($r = 0.608, p < 0.05$)、比例誤差が認められた。

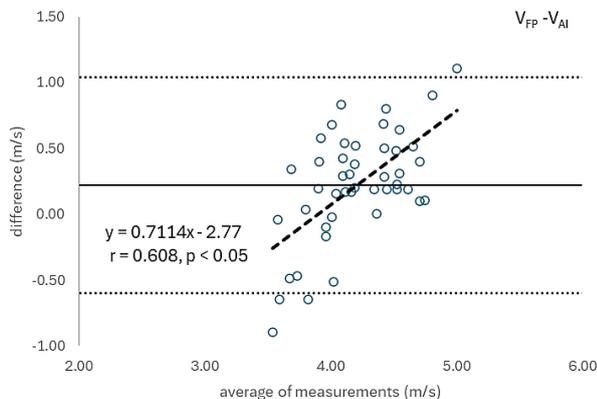


図2 FD_{DG} と FD_{AI} におけるBland-Altman plot

考察

FD 測定のゴールドスタンダードである FD_{DG} に対し、 FD_{AI} では負の加算誤差が認められ、AI 分析法は FD を過小評価する傾向にあることがわかった。また、LOA は 0.36 m から -0.51 m であり、これは FD_{AI} は FD_{DG} との比較で、最大 ± 0.43 m の誤差が生じる可能性があることを示している。本研究における FD_{DG} は 2.88 ± 0.34 m であるため、0.43 m の過大または過小評価をする可能性がある手法は精度が不十分であると考えられる。本研究で用いた AI 動画分析アプリは動画中の対象者の身体形状から身体セグメントモデルを自動生成し、入力した対象者の身長をモデルに与えることで、座標系の較正処理が実行される。よって、2 点間の距離を正確に算出するためには身体モデルを正確に作成する必要がある。本研究で用いた試技動画はスタートの構え姿勢から全身の入水完了までを撮影したものであったが、動画中に対象者が直立する場面がなかった。そのため、対象者の身体形状を正確に読み込み、高精度な身体セグメントモデルの正確な作成が困難であったと推察される。

V 測定のゴールドスタンダードである V_{FP} に対して V_{AI} は加算誤差が生じており、AI 分析法は V を過大評価する傾向にあることがわかった。また、LOA は

1.04 m/s から -0.60 m/s であり、 V_{FP} が 4.00 m/s の試技であった場合、 V_{AI} では 5.04 m/s から 3.40 m/s の値を示す可能性が高いことを示す。明石・松田 (2022) において V_{FP} は女子トップスプリンターで 4.05 ± 0.19 m/s、男子トップスプリンターで 4.50 ± 0.20 m/s と報告されている。本研究における V_{FP} と V_{AI} の LOA は明石・松田における V_{FP} の性差より大きく、 V_{AI} は V_{FP} を代用するに足る精度を有していないと考えられる。前述の通り、本研究の対象試技の場合、AI 動画分析アプリで高精度な身体セグメントモデルの作成が困難であり、座標系の較正精度が不十分であった可能性がある。また、 V_{AI} は身体セグメントモデルにおける大転子の座標値を時間微分することで算出している。そのため、 V_{AI} の精度を高めるには座標系の較正精度に加えて、離台前後の数フレームにおける大転子座標の精度も大きく影響する。 V_{FP} に対する V_{AI} の誤差は FD_{DG} に対する FD_{AI} の誤差以上に大きかった。これは座標系の較正精度のみが値に影響する FD よりも、大転子座標の精度も影響する V のほうが AI 分析として難易度が高いことを示唆している。

さらに、 V_{FP} と V_{AI} 間、また FD_{DG} と FD_{AI} 間のいずれにおいても、比例誤差が確認された。よって、 V や FD を AI 分析法によって測定した場合、加算誤差、比例誤差、および誤差範囲を考慮して値を評価する必要がある。本研究は、スタート局面の研究知見を競技現場で活用するため、AI 分析法によって V や FD の測定を簡便化しつつ、精度を確保できるかを検証することを目的とした。今回の AI 分析法は測定難易度を大きく低下させることができたが、十分な精度があるとはいえなかった。一方で、直立姿勢からスタート動作に移行するなど、撮影方法の変更により座標系の較正精度が向上する可能性もある。使用するアプリの精度に加えて、適切なプロトコル開発も今後の検証の余地があるといえよう。

文献

De la Fuente, B. and Arellano, R. (2010) Effect of start time feedback on swimming start

- performance. XI International Symposium on Biomechanics and Medicine in Swimming Proceedings, 11 : 249-251.
- García-Ramos, A., Feriche, B., de la Fuente, B., Argüelles-Cienfuegos, J., Strojnik, V., Strumbelj, B., and Štirn, I. (2015) Relationship between different push-off variables and start performance in experienced swimmers. *European journal of sport science*, 15 (8) : 687-695.
- Ruschel, C., Araujo, L. G., Pereira, S. M., and Roesler, H. (2007) Kinematical analysis of the swimming start : Block, flight and underwater phases. In H. J. Menzel & M. H. Chagas (Eds.), *XXV International Symposium on Bio-mechanics in Sports* (pp. 385-388).
- Tor, E., Pease, D. L., and Ball, K. A. (2015) Key parameters of the swimming start and their relationship to start performance. *Journal of sports sciences*, 33 (13) : 1313-1321.
- 明石啓太, 黒川隆志, 出口達也, 大塚道太, 西山健太, 森木吾郎 (2015) 競泳のキックスタート動作における熟練度による相違. *コーチング学研究*, 29(1) : 13-21.
- 明石啓太, 松田有司 (2022) 競泳トップスプリンターにおけるスタート局面パフォーマンス差の運動学的要因: 日本人選手間および日本人選手と海外選手間. *体育学研究*, 67 ; 407-418.
- 酒井紳・武田剛・佐藤智俊・椿本昇三・高木英樹 (2017) 競泳キックスタートにおけるバックプレート位置がスタート・パフォーマンスに与える影響. *体育学研究*, 62 (1) : 133-144.
- 武田剛・市川浩・杉本誠二・野村武男 (2006) 競泳スタートにおける跳び出し角度の変化が跳び出し速度, 飛距離とブロックタイムに与える影響. *体育学研究*, 51 (4) : 515-524.

「公益財団法人 大原芸術財団所蔵の考古学分野コレクションの整理と研究-」

公益財団法人大原芸術財団 大原芸術研究所

伴祐子 孝岡睦子 塚本貴之 吉川あゆみ

公益財団法人大原芸術財団は、美術分野の作品の他、考古学分野の資料も数多く有しており、倉敷考古館が昭和33年(1958)に発掘を行った安養寺第3経塚出土の瓦経もそのひとつである。当遺跡は日本の瓦経塚として初めて発掘された希有な遺跡であり、出土品である瓦経は発掘後の整理において水を使用して瓦経を一枚ずつ分離し、経経種を特定し、資料はその後木箱に立てた状態で保管されていたが、包み紙と木箱の経年劣化のため瓦経自体が崩壊する恐れが生じ、再整理を行った。破損状況を記録し、個別に樹脂箱に移し替え安全に保管できる環境が整えられた。劣化が激しい瓦経は表面観察し、通常の写真に加えて新たにひかり拓本を試みた。すでに摩滅した文字を読み取る事は困難であったが瓦経表面の調整やスノコ状の跡、未報告の絵瓦の直線の浮かび上がり確認できた。ひかり拓本は、撮影を進める中で精度を上げることが課題であるが、拓影は多くの情報を残すことに有効さが示された。

・はじめに

倉敷考古館は安養寺第3経塚から出土した「瓦経」という資料を所蔵している(安養寺第三瓦経)。この資料は昭和33年(1958)に安養寺裏山の発掘調査において粘土塊の状態で見られたもので、発見後は水を用いて一枚ずつ切り離して解読作業を行い、「安養寺瓦経の研究」(1986鎌木)において発掘調査と整理報告がなされている。

「瓦経」は一部は展示公開され、それ以外は紙で梱包して木箱に立てた状態で保管されており、劣化に伴う整理が必要となっている。

・再整理と研究の目的

最初の整理から60年が経過し、リング箱を転用した木箱や包み紙の新聞紙は経年劣化のため一部が破損が生じており、平成28年(2016)に就実大学の協力で破損した木箱から樹脂箱への移動整理が行われた。包み紙の新聞紙も脆弱化していたため、和紙を用いて包み直し、樹脂製の箱へ平置きした。包み直しの際に瓦経の撮影を行ったが、瓦経表面に刻まれているはずの経典の文字は不鮮明であった。これは瓦経の文字がもともと浅く、また表面が摩滅していたためである。箱中で瓦経同士が干渉しさらなる破損につながらないよう、1枚ずつ樹脂トレイに移動した。

安養寺第3瓦経の特徴として、焼成がごく甘く、未焼

成と言えるほど軟質であることが挙げられる。「安養寺瓦経の研究」には、水筆を用いるため、表面の摩滅は避けられず可能な限り経種を特定しておく、と書かれるように、ほぼ粘土の状態といえる性質上、表面の摩滅と、今後の劣化は免れない。そのため遺物実測図や写真記録が重要であるが、昭和33年の調査や整理の図面や記録は考古館には残されておらず、経種を記録した調書も残されていない。

安養寺経塚の発掘と、遺物に関する記録のうち、写真に関しては現在岡山理科大学が所有している。それらは、当時倉敷考古館の主事であった鎌木義昌氏(岡山理科大学教授)のご遺族から同大学に平成13年(1991)に寄贈されたものであり、ガラス乾板28枚が確認されている。安養寺経塚群の遺構と、遺物の写真であるが、瓦経の写真は一部のみである。そのため今回の整理においては移動の際に写真撮影を行うが、より多くの情報を後世に情残すため、新たにひかり拓本による記録も試み、デジタル写真、ひかり拓本の撮影、そして新たな調書を作成し整理することが今後の瓦経研究、仏教史の研究大きく貢献できるものと考えられる。

・瓦経と経塚について

ここで研究の対象とする瓦経と、瓦経が埋納された場所である「経塚」について解説を加える。瓦経とは経典を刻んだ方形の粘土板であり、基本的には焼成されるものである。安養寺第3経瓦経のように未焼成のも

のは現在のところ類例を見ない。瓦経が発見される場所のことを経塚と呼び、経塚とは仏教経典を後世に残すために土中に埋納した場所の総称であり、形態は一律ではなく、多くは塚状を為し石組みや石塔を伴う事もある。遙か未来に経典を伝える目的から、紙巻物の経典を堅固な容器に納めて埋める。時には不朽生の高い金属や石、焼物などが経典の素材として用いられた。多くの場合は紙の経典が用いられたため、それらを内包する経塚は普通経塚、一般経塚、あるいは単に経塚と呼ばれ、瓦経の埋納された経塚は一般経塚と区別して瓦経塚と呼ぶ。

経塚の造営は寛弘4年(1007)の吉野大峯山への藤原道長への埋納例がもっとも古く、遺物の紀年銘から見ると平安時代後期の藤原摂関期から院政期に最も盛んになる。経塚変化しながら近世まで造営されている。経塚は釈迦入滅後に仏法の教えが失われる事を恐れ、末法思想を背景に未来の仏である彌勒如来が56億7千万年後に、この世に現れ、衆生を救済するという彌勒信仰のもと、彌勒下生の際に地中から経典が湧き出るよう、経典を後世に残す目的で聖なる山へ埋納する宗教行為である。

瓦経塚は一般経塚に比べて圧倒的に数が少なく、遺跡としての経塚が日本国内で2000カ所以上、経塚遺物は全体が把握されていない物も多い中、瓦経塚は26件程度であり、瓦経は出土が明確ではないものも含めは約50件程度が知られている。その中で紀年銘を持つ瓦経は8例あり、そこから瓦経製作が行われていた時期は伯耆大日寺瓦経の延久3年(1071)から伊勢小町塚瓦経の承安4年(1174)、までのおよそ100年間で主流である。このほか天徳元年(1329)の紀年銘をもつ絵瓦経が知られるが、これらは塔、五輪塔を捺印したものであり、安養寺の毘沙門堂付近から同様の瓦片も発見されている。瓦経の系譜に連なると考えられるが、比較の対象とするは平安時代後期の100年間とする。現在知られている瓦経の中で、安養寺第3瓦経は應徳元年(1086)の紀年銘をもっており、経塚全体においても、瓦経だけを見ても古い部類といえる。

・安養寺経塚群について

安養寺の経塚群は、岡山県倉敷市に所在する朝原山安養寺の裏山に造営された3基の経塚を指す。昭和12年(1937)に最初の1基が発見されており、これを第1経塚としている。第1経塚の遺物は焼成された瓦経196点、塔婆型製品が8点、土製宝塔1基があり、昭和31年(1956)に国の重要文化財に指定され、(注4)現在は安養寺と東京国立博物館に収蔵されている。

続いて昭和33年(1958)に再び安養寺裏山での陶片の発見をきっかけに瓦経塚の学術的な発掘調査が日本で初めて実施された。第1経塚から数mの距離から発見された経塚を第2経塚とした。経筒は時期は不明であるが盗掘を受けたと考えられ、令和6年(2024)に岡山県指定となった金銅仏をはじめ、瓦製経筒外容器、金属器や檜扇、ガラス玉、青白磁などを伴う普通経塚であった。第3経塚は瓦経塚であり、第1経塚とわずか数十cmしか離れていない。方形の瓦経302枚、塔婆形瓦経39枚、円形板状瓦製品11枚分、塔型瓦製品1基分、ほか不明品数10点が出土している。調査当時、粘土塊の中から瓦経の単位を見極めて丁寧に引き剥がし表面を判読しており、水と筆で表面を何度も清拭しているため、後に判読できなくなる可能性がすでに示唆されていた。

第三瓦経には法華経を始め、仁王経上下巻、薬師経、不動経、阿弥陀経、寿命経、心経六部、願文、懺法(行法)など十種が判明した。特に願文に「應徳三年」の記年銘と「安養寺」の寺号も記されており、発掘による埋納状況に加えて年代の特定もされた経塚として重要な発見となった。(「安養寺瓦経の研究」1963)特に重要な紀年銘のある願文もついても文字の判読のできる写真が無く、昭和33年整理次に判読した情報のみである。

・瓦経のひかり拓本撮影

ひかり拓本は独立行政法人国立文化財機構 奈良文化財研究所がクラウドファンディングにより開発を行い、2023年に一般運用が開始されたアプリケーションである。本来の拓本とは、水を用いて紙を石造物などの対象物に貼り、その上から墨を乗せて文字や文様を写し取る伝統的な手法のことある。第3瓦経は、粘土板の脆弱性からか、水張りを伴う湿拓、乾拓ともに、

行われていない。対してひかり拓本は、対象物に直接
接触しないため、劣化の進んだ第3瓦経には有効な手
段と考えた。対象物に様々な角度で光を照射・撮影し、
複数方向からできた影から画像を合成する技術であ
る。撮影にあたってはタブレットやデジタルカメラ、スマ
ートフォンをなど一般的な機材を使用することができ、
懐中電灯の光源で撮影可能である。石碑の研究に多く
用いられているが、金石文や瓦などにも応用されて
いる。



写真1 心経

写真1は安養寺第三瓦経の中で最も状態の良いも
ので、やや黄色みを帯びた色をしている。胎土は精緻
であるが、経種は般若心経である。他の瓦経と比較す
るとやや黄色みを帯びており、幾分火を受けている可
能性があるが軟質である。洗浄や剥離作業時の水分
による縮み、亀裂は他の個体に比べると少ないが、や
はり文字のある面は文字の彫りが浅く、判読読は難し
い状態である。やや墨の付着のような部分がみられ、
意図的な墨書なのか、炭化物の付着なのかは不明で
ある。

写真2は写真1のひかり拓本による画像である。罫
線がより明瞭に確認できるが文字は明瞭とはならなか
った。第1次調査において水筆で幾度も撫でたと書か
れているため、その影響と考えられる。



写真2:心経 ひかり拓本



写真3:仁王経

写真3、写真4の仁王経は亀裂の少ない部分は通常
撮影でも文字が明確である。さらにひかり拓本では肉
眼では確認しにくい、スノコ痕のような横方向の単位
と、布目が確認できた。

スノコ状のやや荒い横方向の目地は注意深く観察
すると瓦経全体にわたっている。



写真4:仁王経(ひかり拓本)

一部には目の細かい平織りの布目が確認できる。また端部に円形の圧痕があるが、古銭などは伴出していないため、粘土剥ぎ取り時のヘラ跡の可能性もある。肉眼ではスノコ状目の痕跡は確認できず、本資料が焼成されていないことを考慮すると、第1次整理時の粘土塊からの剥ぎ取りや、翻刻時の敷物や加湿用の布痕の可能性も否定できない。またひかり拓本の画像処理上のノイズである可能性も疑わねばならないが、瓦経以外の部分に同様の文様は発生していないため、スノコ状の痕跡は瓦経の表面のものと考えられる。平織りの布目は、わずかに肉眼観察可能であり、スノコ状の痕跡と布目が瓦経写経時の物であれば製作の様子が垣間見える資料となる。

写真5、6は円形の瓦製品である。第3瓦経塚からは11枚の円形の瓦がみられ、6点については仏像などが描かれた絵瓦として「安養寺瓦経の研究」に報告されている。ひずみが非常に大きく、今回整理した瓦経の中では崩壊の度合いが最も激しい。石膏が入れていることから発掘当初から状態がよくなかったことがうかがえる。包みのメモには「丸10(4)」と注記されていたが、報告の10番の円形瓦の図像は異なる。箱破損により注記メモの混乱がみられたため、入れ替わ



写真5:円形瓦



写真6:円形瓦

っている可能性がある。本資料は通常光でも曲線が見えているため図像があることは想定されるが、細かい針先で書いた蓮花様や、後背を思わせる曲線に加え、直線がいくつも確認できる。報告書には直線のある円形瓦には触れておらず、未報告の11番の可能性が高い。直線は曲線を描いた針描より若干太く、コの字形につながると思われる。瓦経に刻まれる直線には罫線

や界線以外には曼荼羅の例があるため、何らかの図像と思われるが破損が激しいため特定は難しい。円形の瓦については神仏習合に於ける御正体(神の象徴である銅鏡に仏像等を線刻したもの)を象ったものと示唆されており、そう考えると、御正体の図像に使用される鳥居に仏像などの可能性もあてはまる。いずれにせよ、今後ひかり拓本の精度を上げての検討が必要となるが、養寺瓦経の位置付けを考える上で神仏習合も必須の要素となることに変わりはない。

・瓦経塚の現地踏査

安養寺瓦経塚の位置付けを考える上で、他の瓦経塚、また瓦経との比較を行うため、出土地の近隣へ踏査を行い、瓦経の熟覧調査を行った。

安養寺瓦経より製作年代の古い例として、瓦経の中で最も古い紀年銘を持つ鳥取県倉吉市の伯耆大日寺は、瓦経塚という遺構は残っていない。瓦経自体も散逸しているが、倉吉市立博物館所蔵の瓦経は大きさ、焼き具合の変化に富み、均一ではないことが第3瓦経との大きな違いであった。

大日寺瓦経の中には、美作間山高福寺の銘を持つ瓦経があり、最も古い瓦経に美作が関わっていることが、備中安養寺の瓦経をつなぐ手がかりになる可能性がある。美作には大日寺の個体の他、間山に瓦経塚が確認されている、大正時代の発見の後、瓦経は散逸しているが、瓦経塚は方形で現在も周溝がはっきり確認できた。当瓦経塚は間山薬師堂への参道の尾根道に所在しており、福山山頂への参道に位置する安養寺、大山の裾野に位置する大日寺とともに共通する部分を持つ。

安養寺第3瓦経と最も近い経塚である第1経塚は、紀年銘こそ不明であるが、報告書にあるとおり非常に精緻な瓦経である。東京国立博物館所蔵の法華経を見ると、第3瓦経と文字が良く似ており、第1経塚と第3経塚の時期差を考える上での参考となった。大きな違いとしては第1瓦経は焼成されていることである、また伴出の瓦製宝塔など、共通の要素を持ちながら焼成されていないという大きな差をもつことを確認した。

安養寺瓦経の後の紀年銘をもつ徳島県阿波犬伏蔵佐谷瓦塚経は、本来は釈迦堂があったようであり、宗



伯耆大日寺瓦経 延久3年(1071) 出土地周辺



美作間山瓦経塚／大日寺瓦経に間山高福寺の銘あり



阿波犬伏蔵佐谷瓦経塚 天仁2年(1109)

教施設の背後、尾根の中腹であるが、前述の経塚より人里に近い、江戸時代から瓦経が露出していたため、散逸し、経塚の痕跡を見ることは難しい、しかし踏査の

折、法華經の瓦経片一枚を採取したため、板野町教育委員会へ届け出た。

瓦経塚は普通経塚に比べ、地域的な偏りが見られる、西日本、のなかで古い時期の紀年銘をもつ瓦経塚が中国地方から四国に分布している。

また九州北部も瓦経密集地であり、永久2年(1114)の紀年銘を持つ飯盛山瓦経は、福岡県の飯盛山の山頂付近に築かれていた、詳細な出土地にはたどりつけなかったが記録があるため、飯盛山山頂とする。同じく福岡県の愛宕山瓦経塚は姪ヶ浜の愛宕山山頂に築かれていた。また天養元年(1144)の紀年銘を持つ佐賀県の築山経塚は、安養寺経塚に次いで発掘調査の行われた稀少な例である、肥前国分寺に近い前方後円墳の頂上に築かれており、平置きで埋納めてあり、第3瓦経塚とは埋納状況が異なる。また九州のこれら3件の瓦経塚は山の高低に関わらず、山頂に造立されており、中国地方の瓦経塚の立地とは異なっていることがわかった。

・今後の課題

安養寺第3瓦経塚は数量がある上に破損しているため、すべての整理や記録を行う事ができなかった。また光拓本で文字自体を読む当初の目的は果たせておらず、操作の精度を上げる必要がある。しかし文字以外の情報が得られるなど、予想外の成果もあり、今度も引き続き整理と研究を継続していきたい。

・おわりに

これらの整理と調査は、瓦経、経塚の研究を大きく進ませることができると思われる。これまで公開されていなかった安養寺第3瓦経の写真や、光拓本の意義は大きい。散逸した瓦経が多い中、学術的発掘調査を行った安養寺瓦経塚が、新たな情報を残していく事は考古学ばかりでなく、宗教史の分野においても大きな意味を持つ。資料を安全に保管し、研究に提供できるよう今後も整理を進めていきたい。

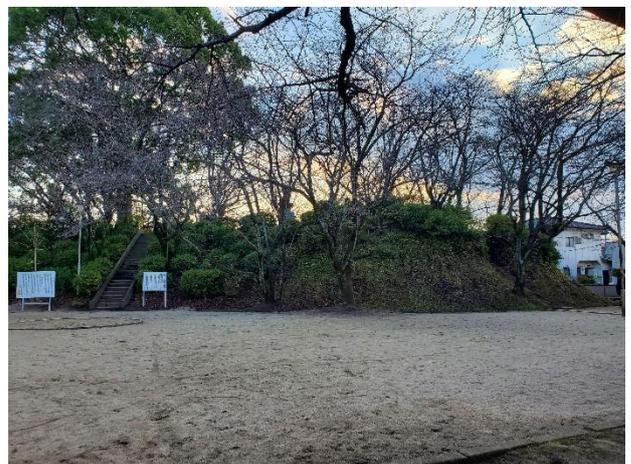
この度ウエスコ学術振興財団助成を得る事で、主要な瓦経塚の踏査と瓦経の整理を実現することができた。関わっていただいた皆様に深く感謝の意を表したい。



飯盛山瓦経塚 永久2年(1114) 山頂付近



筑前愛宕山瓦経塚 付近



肥前築山瓦経塚 天養元年(1144)／築山古墳

令和6年度 海外渡航報告書

(所 属) 岡山大学 中性子医療研究センター
(氏 名) 井川 和代

(概要)

国際会議名: 20th International Congress on Neutron Capture Therapy

渡航先: ポーランド

会場: ヤギェウォ大学、クラコフ

期間: 2024年6月24日～28日

International Society for Neutron Capture Therapy (ISNCT) は1983年に設立され、中性子捕捉療法(Boron Neutron Capture Therapy, BNCT)の継続的な発展を促進することを目的としております。6年ぶりに現地開催された国際会議では、合成化学、分析化学、薬学、原子工学、加速器工学、医学物理学、生物物理学、放射線生物学、および臨床医学などの研究者が多数参加し、活発な意見交換が行われました。学会では、6月25日にBNCT for Three-Dimensional In Vitro Oral Cancer Model、6月27日にIAEA collaboration center for BNCTについて発表しました。本発表で、動物モデルに代わるオルガノイドの手法を用いたヒト三次元培養モデルに対するBNCTの検証において、イタリアの加速器BNCT施設と共同研究をすすめることに発展しました。今後、各BNCT施設で三次元培養モデルに対するBNCTの生物学影響を比較検証し、BNCTの生物学的評価法の国際基準を確立することを目指します。



学会参加者

また、BNCT国際会議が開催されたポーランドは、原子炉と加速器を用いたBNCT研究施設を各々整備しており、6月22日にポーランド国立原子力研究センター、ワルシャワ6月28日にプロノヴィツェサイクロトロンセンター、クラコフのBNCT施設を見学しました。両施設において、中性子線の生物照射施設の整備を進めており、近い将来、共同研究が開始できることが期待できました。

今回の渡航にあたり、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。本研究はJSPS科研費23K11918の助成を受けて実施しました。

令和6年度 海外渡航報告書

岡山大学 学術研究院 環境生命自然科学学域
永禮 英明

1. 渡航の概要

渡航先：カナダ・トロント

会議名：International Water Association (IWA) World Water Congress & Exhibition 2024

会 場：Metro Toronto Convention Centre

会 期：2024年8月11日～15日

渡航日程：

8月10日 岡山→成田空港→トロント・ピアソン空港（10日着）

11～15日 会議

8月16日 トロント・ピアソン空港→関西空港（17日着）→岡山

2. 会議概要

本会議は世界最大の水に関する学会である IWA が2年ごとに開催する世界規模での会議で、発表と展示会とで構成されている。2022年の前回大会はデンマーク・コペンハーゲンで、さらにその前の2018年は東京にて開催されている（2020年は新型コロナの影響により中止）。今回の大会には7,000人が参加し、発表件数は900件、そして250の企業出展があった。発表は多岐にわたり、水施設管理、廃水処理と資源回収、飲料水と再生利用、水利用計画と運営、地域とのコミュニケーション／パートナーシップ、水資源と大規模水管理などについて議論が行われた。大学・研究機関に所属する研究者、国・地方自治体の行政担当者、民間企業技術者、NPO等職員など、参加者の構成も様々であり、多角的な視点で議論が行われていた。

会議期間中8件の基調講演が行われ、世界規模での課題と解決のためのアイデアの共有が行われた。この中で、SDGs 達成のために水分野の活動は極めて重要であること、水分野では気候変動への対応、サーキュラー・エコノミーへの貢献、施設の持続可能性など新しい課題があり、課題解決には従来にない新たな視点が不可欠であることが繰り返し強調されていた。



図1 会場 (Metro Toronto Convention Centre)



図2 基調講演の様子

3. 発表内容

筆者は、廃水処理と資源回収に関するセッション“RECOVERY OF NUTRIENTS AND CHEMICALS”にて、“Ozone treatment to achieve dominant culture of a microalga *Haematococcus lacustris* in wastewater for sustainable phosphorous recovery”と題する発表を行った。筆者らがやっている微細藻類を用いた廃水からの栄養塩回収と高付加価値物質生産に関するもので、栄養塩回収の課題、課題解決のためのアイデア、それを具体化するための手法としての微細藻類培養方法について報告した。発表に対して聴衆からは、微細藻類への化学物質・重金属の蓄積の有無、用いた微細藻類の特徴等に関する質問を受けた。会議全体を通じ、栄養塩回収技術に関する発表は複数あったものの、微細藻類を用いた高付加価値物質まで行っているものはなく、筆者らの研究が世界的にみてもユニークなものであることが確認できた。

4. 謝辞

今回の渡航に関する貴財団からのご支援に、深く感謝申し上げます。

令和6年度 海外渡航報告書

(所 属) 岡山大学学術研究院環境生命自然科学学域

(氏 名) 富田朝美

(概要)

【渡航概要】

本渡航では、2024年11月9日～29日までの日程で、アメリカ合衆国テキサス州に位置するサンアントニオ市 Henry B. González Convention Center にて 2024 ASA, CSSA, SSSA INTERNATIONAL ANNUAL MEETING (アメリカ農学、作物学、土壌学年次国際会議) への出席および研究発表、および同州カレッジステーション市に位置するテキサス A&M 大学において研究セミナーの実施、共同研究者(Dr. Endang Septiningsih)との研究打ち合わせを行なった。具体的には、2024年11月9日から10日にかけて岡山市からサンアントニオ市へ移動、その後11月13日まで4日間国際会議に出席した。会議終了後、カレッジステーション市に移動し、11月15日からテキサス A&M 大学にてセミナー、研究打ち合わせおよび施設見学を行なった。大学滞在終了後、11月28日にカレッジステーション市から岡山市へ移動し、29日に岡山市へ到着した。

【渡航の背景】

アジア、アフリカの熱帯地域の栄養供給の主役はイネである。これら多くの地域では天水田(畑作)でイネ生産が行われるが、その生産性は灌漑水田に比べると劣る(全イネ作付面積のうち天水田は30%を占めるが、生産量は20%)。この理由の1つは酸性土壌における鉄過剰害にある。天水田栽培は降雨量に依存するため、水不足を前提に陸稲品種が用いられる。一方天水田は排水性が低く、降雨により冠水すると陸稲は湿害を受ける。さらに熱帯地域の多雨高温環境では微生物活性が高く、そのため土壌有機物の分解が進むことで、土壌が酸性化、嫌気化する。このような状況では、鉄が可溶化し過剰となる。イネは鉄過剰に強い作物ではあるが、通常量の30倍を超えると古葉の褐変(ブロンジング)を呈する。これは抗酸化物質が活性酸素を消去した結果として茶褐色色素が葉身に生じるもので、生育不良と直結する。近年の地球環境変動による温度上昇や豪雨化は、天水田イネ栽培におけるブロンジング発生を助長しており、陸稲における耐褐変(ブロンジング)品種の育種が喫緊の課題である。

【研究分野の国内外状況】

これまで、イネの褐変出現に関する数多くの遺伝的要因が検出されてきた(Matthus et al. 2015, Wang et al. 2002, Wissuwa et al. 2006 など多数)ものの、遺伝子の同定には至っていない。近年では、褐変を制御するカリウムイオンチャネル制御遺伝子(Wu et al. 2019)は同定され、発症の遺伝的メカニズムの一端は明らかにされ始めてきた。このように、植物遺伝学的解析によるアプローチは進められてきたものの、褐変障害の原因となる直接的な栄養障害とその対策方法について検討はなされていない。熱帯農業の実際の現場では、施肥による化学的な障害対策のため、肥料科学的アプローチからの知見が求められる。

報告者はイネ褐変症状の発生メカニズムの解明を目指して、その発生と生産性に関する作物学的研究と遺伝育種学的研究にとりくみ、熱帯地域の土壌問題に対する将来の作物育種・生産像を描くことを試みている。

【渡航の意義】

ASA, CSSA, SSSA International Annual Meeting は、アメリカ国内を中心とする農学、作物学、土壌学の分野の第一線で活動する科学者、研究者、学生、出展者、政府関係者が一堂に会し、これら3分野の最先端の研究について議論するとともに、研究ネットワークを作る機会を提供する国際学会である。会議では、オーラルセッション、ワークショップ、ポスターセッション、展示会場、学生を対象としたプログラムなどが実施され

た。また、合計 3000 以上の研究発表が行われた。

また、テキサス A&M 大学土壌・作物科学科は、農学、植物育種学、土壌・水科学における国際的な研究実績を多数有する研究者が所属しており、持続可能な食糧生産、気候変動、土壌の安全保障など、人類が直面する農学的課題の解決に取り組んでいる。特に、受入研究者である Dr. Endang Septiningsih は、イネの冠水耐性に関する遺伝解析、作物の gene editing に関して国際的な研究業績を多数有する。

申請者の課題では、これまで遺伝・育種学的アプローチを中心に進めてきたが、本会議に出席・発表することで、特に土壌学や肥料学といったこれまでにない分野からの情報・意見交換が見込まれ、研究課題を大きく発展させると期待された。また、受け入れ研究者との打ち合わせを通して、耐褐変品種の分子育種に向けた具体的な育種戦略やその実験手法について議論を深めることが期待された。

【研究発表表題】 イネの葉身褐変障害(ブロンジング)に関する遺伝的変異

【著者】 富田朝美、清水沙英、牧田裕渡、平井儀彦(岡山大学農学部)

【発表概要】

イネ葉身の褐変症は、湛水水田で栄養障害による酸化ストレスの結果発生し、収量を減少する。国内の強還元水田やアジア・アフリカの酸性硫酸塩土壌で顕著な問題であり、抑制対策が必要不可欠である。報告者は不良環境耐性品種の開発を念頭に、これまでにストレス耐性に寄与する形態形質やそれを規定する遺伝子座探索を行ってきた。この度イネの鉄過剰耐性に着目し、その目的に足る水耕栽培系を利用して各種イネ品種の生育を比較したところ、陸稲品種がブロンジング症状を呈するを見出した。またその一部は、通常水耕栽培下でもブロンジングを生じた。本研究では、湛水水田で生育初期から登熟期まで生育期間にわたって慢性的にブロンジングを生じること、その原因が主に葉肉細胞を中心とする抗酸化物質の発生と、酸化ストレスによる抗酸化酵素のタンパク質構造変化、液胞での抗酸化物質の老廃物蓄積の過程で発現変動する遺伝子産物であることを報告した。

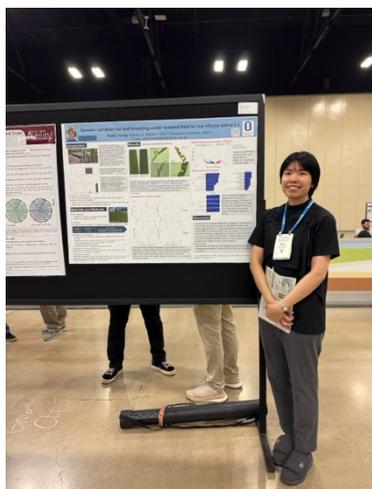


【得られた成果】

国際会議および研究打ち合わせを通して、耐褐変品種の分子育種に向けた gene editing による遺伝子改変手法や対立遺伝子の多様性、土壌環境の評価について研究者、学生らと議論を深めることができた。また、葉身だけでなく、根の形態形質の変動や、根と地上部との相互作用の有無について助言を受け、今後の研究の発展のための新たな課題や知見を得ることができた。

また本会議に出席することで、日本とは異なるアメリカ国

内の農学、作物学、土壌学の最先端の研究動向を知ることができた。特に、畑作物の生物的硝化抑制能のような気候変動に対応した研究や、芝の育種など産業に根ざした研究を多数拝見することができた。



写真上：会議内基調講演の様子

写真左下：国際会議会場入口

写真右下：ポスターセッション会場の様子

令和6年度 海外渡航報告書

(所 属) 岡山大学 生殖補助医療技術教育研究センター

(氏 名) 田崎 秀尚

(概要)

1. 渡航概要

2024年7月15日から19日にかけて、アイルランドのダブリンで開催された Society for the Study of Reproduction (SSR)の第57回年次大会および併催の The XXIII Ovarian Workshop に参加した。本大会は、SSRの歴史上初めて北米以外で開催される記念すべき大会となった。

2. 学会概要

SSRは1967年に設立された生殖科学分野における世界最大の学術団体である。現在、50カ国以上から1,200名を超える研究者、獣医師、医師、学生が所属している。本学会は、生殖科学に関する学際的なコミュニケーションの促進、国際会議の開催、優れた研究成果の公表、若手研究者の育成を通じて、生殖科学の発展に貢献している。

今回の年次大会のテーマは"Evolution of Reproductive Sciences: Where Do We Go"であり、脊椎動物の生殖パターンの進化的多様性と、生殖制御プロセスに関する理解の進展に焦点が当てられた。大会では193題のシンポジウム講演と547題のポスター発表が行われ、世界中から1,000名以上の研究者が参加した。

3. プログラム内容

大会は7月15-16日の The XXIII Ovarian Workshop から始まり、16日午後から19日にかけて、多岐にわたるセッションが開催された。

特に注目すべきプログラムとして、19日に開催された Yanagimachi Symposium on Assisted Reproduction が挙げられる。このシンポジウムは、生殖科学の世界的パイオニアである柳町隆造博士の功績を讃えて開催された。柳町博士は、哺乳類の体外受精法の確立、卵細胞質内精子注入法 (ICSI) の開発、Piezo-ICSI の基盤技術の確立など、生殖補助医療技術の発展に多大な貢献をされた。特に、その革新的な研究は男性不妊治療に新たな可能性をもたらし、現代の生殖医療に重要な影響を与えている。本シンポジウムでは、理化学研究所の小倉淳郎博士と山梨大学の若山照彦博士による講演が行われ、柳町博士の築いた研究分野のさらなる発展について活発な議論が交わされた。

その他、生殖科学分野における世界的な研究者による講演も行われた。これらの講演を通じて、生殖科学研究の最新動向や今後の展望について、包括的な議論が展開された。

4. 研究発表

私は本大会において、「In Vitro Culture Improves the Transcriptome and Chromosome Structure of Secondary Follicles in Aging Mice」というタイトルで研究発表を行った。本研究では、加齢に伴う卵母細胞の機能低下メカニズムについて、特に卵母細胞周囲の顆粒膜細胞および卵丘細胞の観点から検討を行った。

研究結果として、体外培養によって卵丘細胞の老化個体特有の遺伝子発現パターンが改善され、さらに卵母細胞の染色体構造の安定性が向上することを示した。特に、体外培養後の卵母細胞において、姉妹染色分体動原体間距離の短縮と染色体整列の改善が観察された。これらの知見は、老化個体の卵の質を改善する新たな方

法の開発につながる可能性を示唆している。

5. 研究交流

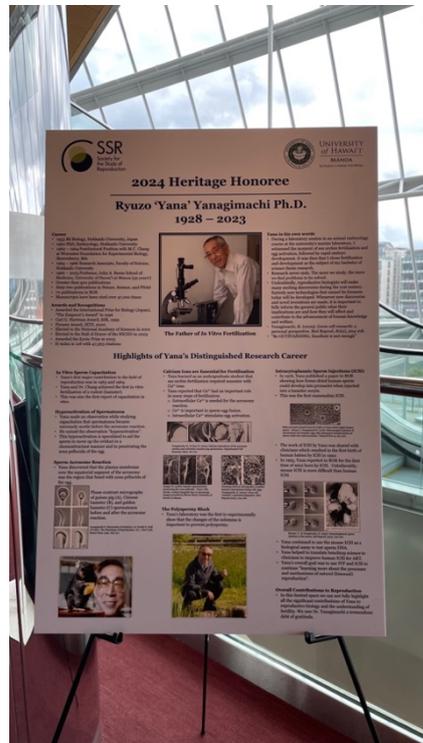
本大会では、口頭発表やポスターセッションを通じて、世界中の研究者と活発な議論を交わすことができた。特に、卵巣生物学や生殖医療技術に関する最新の研究動向について、貴重な情報交換を行うことができた。また、Trainee-Mentor Lunch などのイベントを通じて、若手研究者のためのキャリア形成に関する有益な助言も得ることができた。

6. 今後の展望

本大会への参加を通じて、生殖科学分野における最新の研究動向を把握するとともに、国際的な研究ネットワークを構築することができた。特に、加齢に伴う卵母細胞の機能の低下に関する研究について、新たな研究の方向性を見出すことができた。今後は、本大会で得られた知見と人的ネットワークを活かし、研究をさらに発展させていきたい。

7. 謝辞

本渡航および研究発表の機会を与えていただきました関係者の皆様に深く感謝申し上げます。本研究の遂行にあたりご協力とご助言いただきました共同研究者の方々、実験にご協力いただきました研究室のメンバー、そして本渡航を経済的に支援していただきましたウエスコ学術振興財団に心より御礼申し上げます。このような貴重な機会を活かし、今後も研究活動に精進してまいります。



令和 6 年度 海外渡航報告書

(所 属) 岡山大学学術研究院環境生命自然科学学域

(氏 名) 越智 拓海

渡航概要

渡航先：アメリカ合衆国 Georgia 州 Atlanta

参加学会：14th World Congress on Neurohypophysial Hormones

開催場所：The Historic Academy of Medicine

開催期間：2024 年 5 月 16 – 19 日

学会について

2024 年 5 月 16 – 19 日にアメリカ合衆国 Atlanta の The Historic Academy of Medicine において、Georgia 州立大学の Javier Stern 教授を大会長とする第 14 回世界下垂体後葉ホルモン会議 (World Congress on Neurohypophysial Hormones, WCNH) が開催され、私はシンポジストとして参加しました。WCNH は 2 年に一度、下垂体後葉ホルモンのオキシトシン (OXT)、バソプレシン (AVP) を研究する研究者が一同に集う国際学会です。OXT や AVP は脳の視床下部と呼ばれる領域に存在する神経細胞 (ニューロン) で産生され、大部分は下垂体後葉に投射する軸索末端から血中へ放出され、一部は神経ペプチドとして中枢神経系内に投射した軸索末端から放出されます。本大会では、開催国アメリカをはじめ、カナダ、イギリス、フランス、ドイツ、ニュージーランド、中国など、多数の国から 200 人近い研究者が集い、オキシトシン、バソプレシンニューロンの形態、機能から行動調節や疾患との関連といった臨床領域、非哺乳類をモデルとした比較内分泌研究まで幅広く最先端の研究が紹介されました。

発表内容

私は、会議 2 日目の「Coordinated Central and Peripheral Actions of AVP and OXT」というセッションにて発表を行いました。演題は「Oxytocinergic Control Circuits in the Spinal Cord for Male Sexual Behavior」で、OXT によるオスラットの性行動調節メカニズムについて発表しました。OXT はメスにおいて子宮筋収縮や射乳に関わることから古くからメスのホルモンとして知られてきました。一方オスでは、射精後に血中 OXT 濃度が上昇するなど、オスの性機能との関わりが示唆されていましたが詳細は不明でした。オスラットの脊髄には脊髄レベルで勃起や射精といったオスの性機能を調節する脊髄ガストリン放出ペプチド (GRP) ニューロンが存在します。私は OXT がこの脊髄 GRP ニューロンを脳から遠心性に制御すると考え研究を行ってきました。その結果、視床下部 OXT ニューロンがその軸索を脊髄にまで投射すること、脊髄 GRP ニューロンが OXT によって活性化されること、脊髄における OXT 作用の阻害が性機能の低下をもたらすことを発見しました。また、脊髄の OXT 放出は一般的な神経細胞間の接続で知られるシナプス部に依存せず、拡散によって伝達 (ボリュウム伝達) によって伝わることも発見しました (Oti et al., *Current Biology*, 2021)。さらに、私たちが発見したオスの性機能を制御する視床下部 OXT – 脊髄 GRP ニューロン系の神経伝達が性経験によって促進される可能性を見出しました (Oti et al., *Int. J. Mol. Sci.*, 2021)。これらの成果が評価され、本学会でのシンポジストに選出されました。懇親会の場では、よく引用している論文の名前しか知らなかったファーストオーサーの先生と知り合えたり、私の名前を見て「あなたの論文読んだよ」と言ってもらえるなど OXT・AVP 研究者に顔を売れる大きな機会となりました。

OXT は近年、絆形成や信頼、愛情に関わることから社会性を制御する重要分子として注目されています。自閉スペクトラム症の患者では血中 OXT 濃度の減少がみられることなどから、自閉スペクトラム症理解のための重要分子としても注目されています。私たちが発見した OXT 放出の新たなメカニズムは性機能以外にも社会性の神経基盤理解にも極めて重要であり、大変注目を集めました。国内外の多くの研究者と知己となり、新たな共同研究にも発展しました。本経験を糧にさらに研究に邁進して参りたいと思います。

近年、急激な円安が進み、数年前と比べると海外渡航費は倍以上に膨らんでいます。学会に関わらず海外での経験は非常に大きな意味を持ちますが、気軽には行けなくなってしまいました。本発表の渡航にあたり、海外渡航費助成をいただき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。



学会会場にて撮影

令和6年度 海外渡航報告書

岡山理科大学 理学部 物理学科

長尾 桂子

(概要) 2024年6月3日～6日にかけて、リスボン（ポルトガル）のリスボン大学テークニコ高等学校で開催された国際会議 PLANCK2024 に参加した。研究成果について講演し、参加者らと議論を行って、今後の課題を見つけることができた。また同時に、他の参加者らの講演を聴講して新しい研究課題に向けての情報収集も行うことができ、有意義な渡航となった。

日程：2024年6月2日：岡山→羽田→フランクフルト（経由地）へ移動

6月3日：フランクフルト→リスボンへ移動、国際会議参加・講演（～6月6日）

6月7日：リスボン→ミュンヘン（経由地）→羽田へ移動

6月8日：羽田→岡山へ帰着

1. リスボンとテークニコ高等学校

ポルトガルの首都リスボンは、インド航路を開拓したヴァスコ・ダ・ガマが出発した港町としても知られる。赤い屋根と石畳が特徴的な街並みは往時の面影を色濃く残しており、旧市街地には世界遺産であるジェロニモス修道院など歴史的な建造物が点在している。なお、石畳の歩道は見た目には美しいが、坂の多いリスボンで旅行者がキャリアートをひいて移動するには大変苦勞する道であった（図1）。国際会議が開催されたテークニコ高等学校(IST)は、旧市街地からやや北側にある新市街地に存在する。1910年に設立された学校で、リスボン大学の工学部にあたるようだ。



図1：リスボン大学前の町並み

2. 国際会議 PLANCK2024

出席・講演した国際会議は、PLANCK シリーズとして1998年から欧州の主要研究拠点で毎年開催されている国際会議である。素粒子物理学を中心に、関連領域を含めて幅広く議論される。今年度は2024年6月3日から7日にかけて開催され、私は6月3日から6日まで参加した。



図2：PLANCK2024のプレナリーセッションの様子



図3：大学正門前に掲示されたPLANCK2024の大看板

3. 講演に至る経緯

当初は会議参加のみで講演はできない予定だったが、幸いにも、私の会議参加の最終日に講演キャンセルが1件あり、その枠に入る形で講演させていただいた。代替講演が決まってから講演まで30分ほどという慌ただしいスケジュールだったが、無事に講演を終えることができた（図4）。講演後に聴衆からいくつか質問をいただき、また、その後の議論を通じて今後の研究課題も見えた。



図4：長尾の講演の様子

4. 講演

- 講演タイトル: "Directional detection of Cosmic-Ray boosted dark matter coming from Galactic center"
- 講演日時: 2024年6月6日 17:00-17:20
- 場所: リスボン大学テークニコ高等学校 Chemistry Tower Room QA1.1
- 講演要旨:

暗黒物質は、私達の身の周りに存在する普通の物質の約5倍も宇宙に存在している。その正体については未だに明らかになっておらず、未発見の素粒子ではないかと考えられている。近年の地下実験の結果から、これまで考えられていたより軽い MeV スケールの質量をもつ暗黒物質粒子が有望視され始めている。軽い暗黒物質粒子は銀河中心部で宇宙線と散乱され、加速されて地球に飛来しうる。

本研究では、加速された軽い暗黒物質粒子の地球への飛来を計算し、銀河系に存在する暗黒物質の密度モデルによらず、銀河系の中心方向から集中的に暗黒物質が飛来することを示した (図5)。この方向的な特徴を捉えるためには、方向感度をもつ暗黒物質検出実験が有効である。そのため、代表的な方向感度をもつ暗黒物質検出実験である NEWAGE 実験、NEWSdm 実験を想定し、方向的特徴の検証能力をシミュレーションの結果をもとに求めた。方向的な特徴を数値化するため、銀河系の中心方向から飛来する暗黒物質由来のイベント数と、その逆方向のイベント数の差を非対称パラメータとして定義した。非対称パラメータに対する検証能力をシミュレーション結果から見積もった結果を、図6に示す。将来想定されている実験のアップグレードの範囲内で、銀河系の中心方向から飛来する軽い暗黒物質の方向的特徴を $3\sigma \sim 5\sigma$ 以上の信頼度で検証できる見込みである。(発表は論文 "Directional direct detection of light dark matter up-scattered by cosmic rays from direction of the Galactic center", Keiko I. Nagao, Satoshi Higashino, Tatsuhiro Naka, Kentaro Miuchi, JCAP07(2023)061 に基づく)

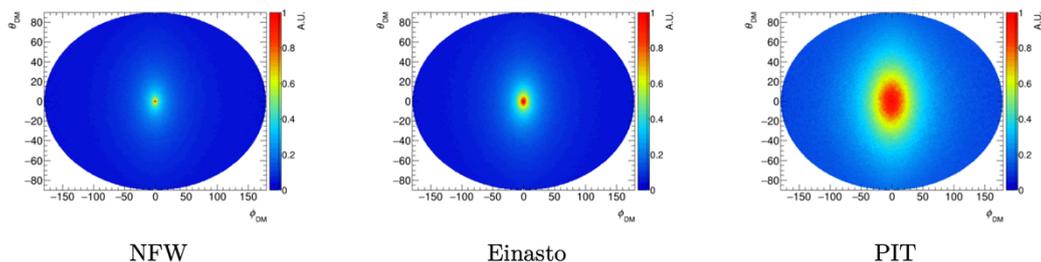


図5: 3種類の暗黒物質分布モデルを仮定した場合の暗黒物質の到来の角度分布。各図の中央が、銀河系の中心方向に対応している。

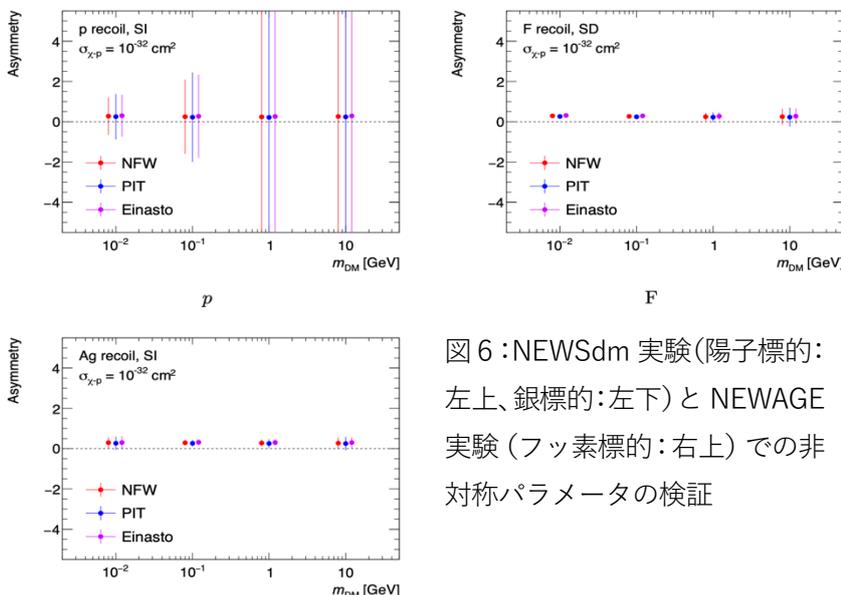


図6: NEWSdm 実験(陽子標的: 左上、銀標的: 左下)と NEWAGE 実験(フッ素標的: 右上)での非対称パラメータの検証

謝辞

国際会議での講演のための渡航にあたり、ウエスコ学術振興財団から海外渡航費助成をいただきました。また講演を行った研究の実施においても、同財団の令和3年度学術研究費助成をいただきました。ご支援に深謝申し上げます。

令和6年度 海外渡航報告書

(所 属) 岡山理科大学 生物地球学部 生物地球学科

(氏 名) 矢野 興一

(概要)

渡航先：マドリード（スペイン）

渡航目的：第20回国際植物科学会議（XX International Botanical Congress 2024: IBC 2024）に参加、研究発表

会場：IFEMA Madrid（住所：Av. del Partenón, 5, Barajas, 28042 Madrid）

渡航期間：2024年7月19日～7月29日

2024年7月19日（金）：岡山→関西国際空港→トルコ・イスタンブール国際空港（移動日）

2024年7月20日（土）：イスタンブール国際空港→スペイン・マドリード バラハス国際空港着（移動日）

2024年7月21日（日）：IBC 2024 受付、オープニング・セレモニー、オープニング・レクチャー、ウェルカム・レセプションへ参加

2024年7月22日（月）～2024年7月27日（土）：IBC 2024 出席、研究発表、情報交換

2024年7月28日（日）：マドリード バラハス国際空港→イスタンブール国際空港（移動日）

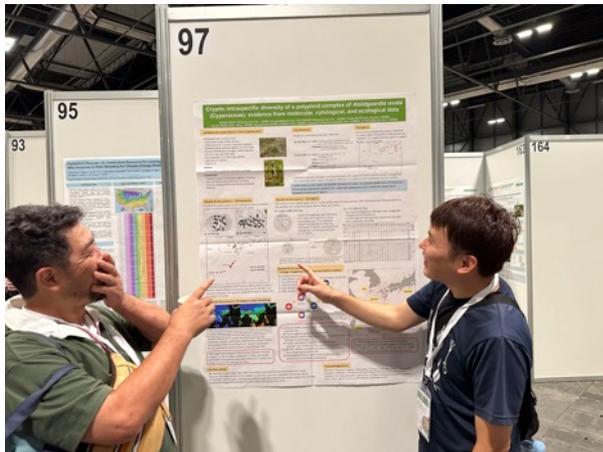
2024年7月29日（月）：イスタンブール国際空港→関西国際空港→岡山着（移動日）

国際植物科学会議（International Botanical Congress : IBC）は約6年に1回開催される国際会議であり、第1回目が1900年にパリ（フランス）で開催され、今回、第20回目のIBC 2024がマドリード（スペイン）で開催された。今回のIBC 2024では、各国から約3,000人の植物研究者が参加し、研究発表として267件のシンポジウムにおいて約1,608件の口頭発表が行われ、さらに約1,400件のポスター発表が行われた。

(研究発表・情報交換)

今回、「Cryptic intraspecific diversity of a polyploid complex of *Abildgaardia ovata* (Cyperaceae): evidence from molecular, cytological, and ecological data」(Yano O, Tamura Y, Saito Y, Ikeda H, Chung K-S, Im H-T, Ito Y) という題目でポスター発表した。内容は、東アジアから広域サンプリングしたカヤツリグサ科植物ヤリテンツキングを用いて、DNAの塩基配列データを用いた系統解析、染色体解析、生態ニッチモデリング解析をし、その詳細な遺伝的多様性とその進化過程について示したものである。ヤリテンツキはアジア以外にもアメリカやオセアニア、アフリカに広く生育しており、また日本では開発などの影響で多くの地域で絶滅危惧種にされていることから、国内外の研究者が興味を示し、発表期間中に議論し、情報を交換した。また、ポスター発表「Plastome phylogeny and early diversification of the basal lineages of *Carex* subg. *Carex* (Cyperaceae)」(Takahashi KT, Fuse S, Noda H, Yano O, Ikeda H, Yooprasert S, Poopath M, Rajbhandari KR, Yang Y-P, Tamura MN) や口頭発表「Genetic and morphological diversity in *Carex* sect. *Siderostictae*」(Chung K-S & Yano O) も共同発表者たちが発表し、これらも活発に議論がなされた。さらに、私の研究材料であるカヤツリグサ科植物は、世界に5000種以上が分布し、被子植物の中で最も多様化した分類群の一つで、様々な方面から研究されており、カヤツリグサ科植物だけを扱ったシンポジウムや私もメンバーの一員である国際カヤツリグサ科植物研究チームのミーティングも本会議の期間中に開催された。これらを通して、世界中の研究者と毎日議論でき、意見を交わすことによって、最先端の研究結果や研究手法

などを含めてカヤツリグサ科植物の多様化および進化過程の解明に関する研究アイデアや新しい知見が得られたとともに、さらなる国際共同研究へ発展することにもつながった。以上のことから、今回の国際会議に参加したことによって、今後の研究を進めていくうえでも非常に有益であった。



発表の様子（左：ポスター発表による情報交換、右：共同発表者による口頭発表）



国際カヤツリグサ科植物研究チームのミーティング後の集合写真

（謝辞）

今回、IBC 2024に参加し、発表・意見交換するにあたり、渡航費の一部を助成していただきました公益財団法人ウエスコ学術振興財団に記してお礼申し上げます。

令和6年度 海外渡航報告書

(所 属) 就実大学薬学部薬学科

(氏 名) 山田 陽一

(概要) 世界中に5万人を超える会員を有しているアメリカ微生物学会 (American Society for Microbiology (ASM)) の総会である ASM microbe 2024 に参加し、研究発表、意見交換を行った。ASM microbe は微生物分野における世界で最大の総会であり、5千人規模を上回る参加者となる。ASM microbe 2024 では8分野「Antimicrobial Agents and Resistance」、「Applied and Environmental Science」、「Clinical Infections and Vaccines」、「Clinical and Public Health Microbiology」、「Ecology, Evolution and Biodiversity」、「Host-Microbe Biology」、「Molecular Biology and Physiology」、「Profession of Microbiology」が開催された。内容は微生物に関する発表 (口頭、ポスター)、レクチャー、ショートプレゼンテーション、ディスカッションエキスパートの講演、ワークショップなどであった。

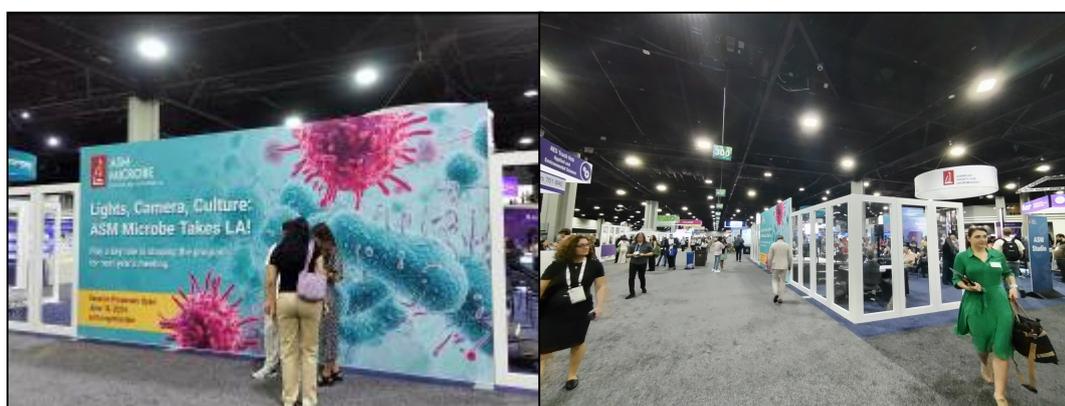


図1. 会場の様子

私は Antimicrobial Agents and Resistance の領域において「Development of Antimicrobial Sheet Using Allophane and Dehydroabietic Acid (アロフェン (土由来鉱物) とデヒドロアビエチン酸 (松脂由来物質) を利用した抗菌シートの開発)」と題して、新規抗菌シートに関するポスター発表を行った。世界で問題となっている薬剤耐性菌であるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) をはじめ、様々な細菌に効果を示す本抗菌シートは多くの研究者の興味を引いた。感染対策として、不特定の人々が接触するボタンやドアノブ等を介した細菌の間接接触感染への対策は重要である。そのような場面での細菌に対する接触感染対策として、殺菌効果だけでなく、「+α」の効果を兼ね備えた抗菌シートが求められている。そこで、本発表では就実大学と品川ゼネラル(株)、(株)エナジーフロントの共同研究の成果として開発された抗菌シートに関する発表を行った。この発表により、本菌シートが示す殺菌効果とその持続性、さらには細菌の病原性を抑制するという新規作用も併せ持つことを示した。将来への発展性として、抗菌シートが社会実装間近であることも触れた。本発表の聴衆は、本抗菌シートの新規性と将来性、さらには産学連携の研究成果の社会実装など、研究の戦略性などにも大きな関心を寄せていた。また、様々な背景 (国) の参加者から様々な質問を受けることで、世界への展開を見据えた有用なディスカッションが交わ

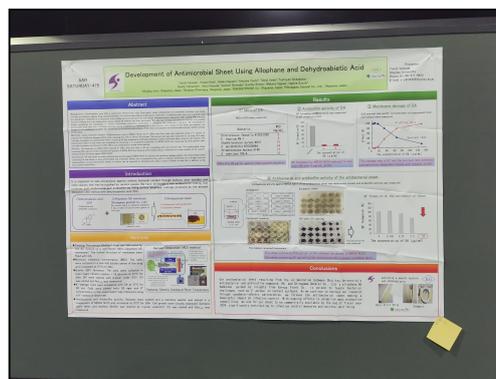


図2. 発表ポスター

された。

以下に ASM microbe 2024 の情報を記載する。

主催団体 ; American Society for Microbiology

後援企業 ; Diasorin, Biomerieux, QuidelOrtho, biolog, COPAN, Qiagen, Cepheid, BECKMAN COULTER, GenMarkDX, FERRING, illumina, HOLOGIC, Helix, Roche, Luminex, Merck, Questo, NGD など

日程 ; 2024/6/13 ~ 2024/6/17

発表分野 ; Antimicrobial Agents and Resistance, Applied and Environmental Science, Clinical Infections and Vaccines, Clinical and Public Health Microbiology, Ecology, Evolution and Biodiversity, Host-Microbe Biology, Molecular Biology and Physiology, Profession of Microbiology, climate change and microbiology

会場 ; Georgia World Congress Center, 465 Ivan Allen Jr Blvd NW, Atlanta, GA 30313 USA

プログラム ;

6/13 Courses and Workshops, Meeting, Mini-Conference

6/14 Cross Track Plenary, In Depth Symposium, Panel Discussion, Track Hub,

Career Talk, Lounge and Learn, Meet the Experts, Poster Presentations, Industry & Science Events

6/15 Cross Track Plenary, In Depth Symposium, Panel Discussion, Track Hub, Career Talk, Poster Presentations, Industry & Science Events

6/16 Cross Track Plenary, In Depth Symposium, Panel Discussion, Track Hub, Career Talk, Meet the Experts, Poster Presentations, Industry & Science Events

6/17 In Depth Symposium, Mini-Conference, Panel Discussion

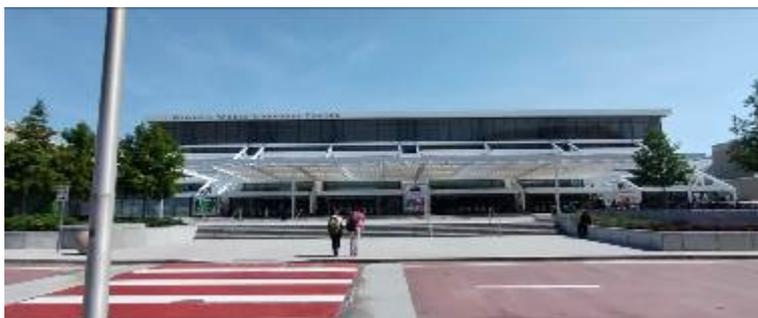


図3. Georgia World Congress Center

最後に、本発表の渡航にあたり、海外渡航費助成費金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。

ドレスデン工科大学とのハイブリッド氾濫予測モデルの構築に関する研究報告

岡山大学学術研究院環境生命自然科学学域

赤穂 良輔

本研究では、洪水予測の精度とリアルタイム適用性の向上を目的として、高解像度の物理的な浸水シミュレーションと機械学習を統合したハイブリッドモデルを提案する。物理モデルは、二次元浅水方程式に基づき、三角形の非構造格子上で有限体積法を用いて、ドイツ・ドレスデン市における浸水を、個別の建物配置を含む詳細な地形データを用いて再現する。一方、機械学習モデルは、地盤高、土地利用、有効降雨量といった特徴量を用いて浸水深を予測する。物理モデルの出力を機械学習モデルの学習データとして用いることで、このハイブリッド手法は、極端な降雨時に迅速な浸水予測を提供することを目的としている。数値実験では、ピーク強度が40 mm/hから70 mm/hのさまざまな降雨シナリオを用いて検証を行った。その結果、機械学習モデルは浸水深の分布を高い精度で予測でき、評価指標においても良好な性能が示された。

1. はじめに

近年、地球温暖化の影響により、世界各地で豪雨災害の頻度と強度が増加している。こうした災害は人的・経済的・社会インフラに甚大な被害をもたらすため、防災・減災に向けた有効な対策の確立が急務である。対策には、堤防や調整池などのハード対策に加え、ハザードマップの作成や避難計画の策定といったソフト対策が含まれる。その中でも、浸水解析は被害予測や避難戦略の立案を可能にする、極めて重要なソフト対策である。

浸水解析には、一般に高解像度の地形・土地利用データを組み込んだ二次元水理モデルが用いられる。これらのモデルは、浸水深や流速の空間分布を精緻に推定でき、避難経路の最適化やインフラ被害の評価などに活用されている。近年の計算技術および測量技術の進展により、建物単位での詳細な解析が可能となり、非構造三角格子を用いた前例のない高精度な洪水シミュレーションが実現されている。

しかし、高解像度解析は計算精度の向上をもたらす一方で、特にリアルタイム性が求められる場面では、膨大な計算コストが大きな課題となる。現状の計算資源では、従来の物理モデルによるリアルタイム洪水予測は依然として困難である。こうした背景のもと、機械学習 (ML) や深層学習 (DL) といった

人工知能 (AI) 技術が、有望な代替・補完手法として注目されている。AI 技術は、水位や降雨予測データ (例: XRAIN システム) を活用することで、高速かつ高精度な予測を実現可能とする。一方で、AI モデルは過去のデータに強く依存するため、前例のない極端な気象条件下では予測精度が著しく低下するという課題も抱えている。

本研究では、こうした課題を克服するため、高解像度の物理シミュレーション結果を学習データとして用いる、物理モデルと AI モデルのハイブリッド型洪水予測手法を提案する。このアプローチは、物理モデルの汎用性と AI モデルの即時性を融合することで、未知の降雨条件においても高い予測精度を維持することを目的とする。研究対象にはドイツ・ドレスデン市を選定し、建物単位の詳細な浸水解析を行うとともに、提案するハイブリッドモデルの精度および有効性について体系的な評価を行う。

なお、本研究の実施にあたっては、ドイツ・ドレスデン工科大学の水工学研究室に1年間滞在し、現地の実測データの収集を行うとともに、水工学分野における AI モデルの応用を専門とする Stamm 教授および Kahn 博士と意見交換を行い、相互の計算技術の導入・連携を図った。

2. モデルの概要

2.1 浸水解析モデル

本研究では、浅水方程式に基づく二次元浸水解析モデルを用いており、三角形の非構造格子と有限体積法を採用している。計算格子は都市の構造を高精度に再現できるように設計されており、これにより建物単位の高解像度な洪水シミュレーションが可能となっている。大規模な解析に伴う膨大な計算負荷に対応するため、GPGPU（汎用グラフィックス処理ユニット）技術を活用した高速並列計算システムを開発し、シミュレーション時間の大幅な短縮を実現している。

降雨条件は、土地利用に応じた流出係数を用いて有効降雨量を算出し、計算領域全体に一律な降雨が分布する前提のもと、時間変化を伴う降雨シナリオに基づいて設定されている。

2.2 機械学習モデル

機械学習モデルには、ランダムフォレストモデルを採用した。本モデルは、多次元的な入力データから複雑な関係を学習し、高精度な予測を行うのに有効な手法であり、また学習時間や導入しやすさ等、実務を見据えて有効な手法であると考えられる。

説明変数として各三角形格子セルの地盤高、土地利用特性、有効降雨量、各時刻の水深、および隣接セルの水深を用いて構築した。これらの説明変数をもとに、目的変数である各時刻における水深分布の予測を行う。

2.3 ハイブリッドモデル

本研究では、浸水解析モデルと機械学習モデルを統合したハイブリッドモデルを提案する。ハイブリッドモデルは、以下の3ステップにより構築される：
ステップ1：データ生成

多様な降雨パターンに対して浸水解析モデルを用いて水深の時系列データを生成し、学習データセットを構築する。

ステップ2：モデル学習

ステップ1で作成されたデータセットを用いて、機械学習モデルにより各時刻の水深を予測するモデ

ルを構築する。

ステップ3：予測と検証

学習済みモデルを用いて新たな降雨条件下で各時刻の水深を予測する。その結果を浸水解析モデルの結果と比較し、機械学習モデルの性能を評価する。

本手法では、学習には物理モデルの出力を用いるが、運用時には機械学習モデルのみで水深の予測が可能となる。そのため、物理モデルの再計算を要さず、リアルタイムでの洪水予測が可能となる。これにより、迅速かつ実用的な浸水予測手法としての実装性が大きく高まることが期待される。

3. 数値実験

本研究では、ドイツ・ドレスデン市街地を対象に、物理的な洪水氾濫モデルと機械学習モデルを用いた数値実験を実施した。物理モデルには、建物の配置などの詳細な地形情報を取り込み、高解像度の氾濫シミュレーションを実現している。計算領域は1,202,959の計算セルで構成されており、地盤高データとあわせて図1に示す。また、機械学習モデルの予測対象となる領域として、95,160セルからなるサブセット（予測領域）を設定した。この構成により、物理モデルは都市全体にわたる包括的なデータを提供しつつ、機械学習モデルはその一部の領域に焦点を当てて予測精度の検証を行う。

3.1. 実験設定

氾濫シミュレーションは、計算領域全体を対象に実施し、その結果のうち予測領域のデータが機械学習モデルの学習および評価に使用する。この構成により、物理モデルから得られる包括的なデータを活用しながら、都市内の特定領域における機械学習による予測性能を高い解像度で検証することができる。

降雨パターンは正規分布関数に基づいて設計し、ピーク降雨強度は40 mm/hから70 mm/hの範囲で設定した。モデル性能の独立評価を行うため、学習用として図2に実線で示した合計4ケース（ピーク強度がそれぞれ40mm/h、50mm/h、60 mm/h、70 mm/h）の降雨パターンを用い、モデル検証のテストケース

として破線で示されている 3 種類の降雨シナリオ (ピーク強度がそれぞれ 45 mm/h、55 mm/h、65 mm/h) を用いることとした。

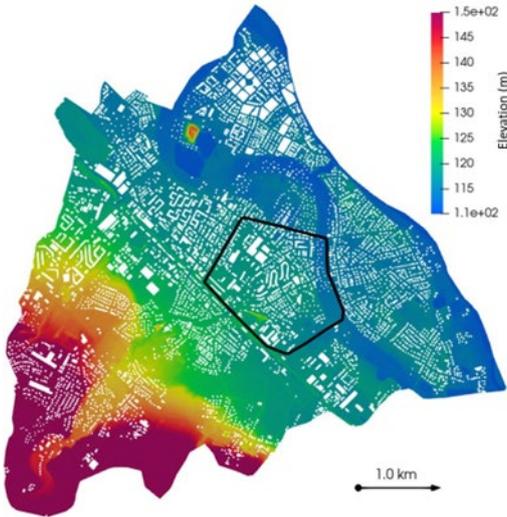


図1 計算領域および地盤高コンター

Training Case: — 40mm/h — 50mm/h
 — 60mm/h — 70mm/h
 Test cases : - - - 45mm/h - - - 55mm/h - - - 65mm/h

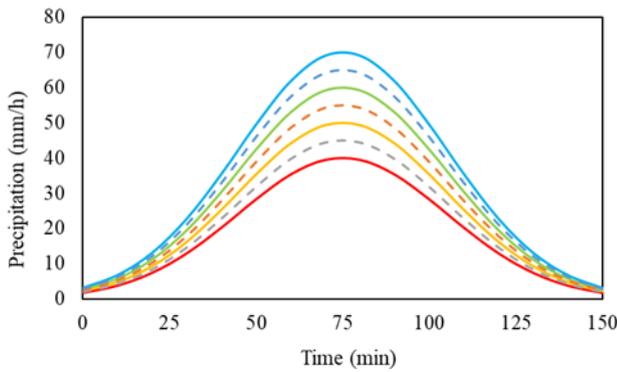


図2 降雨条件

3.2. シミュレーション条件

洪水氾濫モデルには、ドレスデン市の複雑な都市地形を再現するために三角形の非構造格子が用いられた。計算負荷の効率的な処理のため、GPGPU (汎用GPU) による並列計算が活用された。各シミュレーションは、さまざまな降雨シナリオにおける洪水挙動の動的変化を捉えるために、数時間にわたるモデル時間を対象に実施された。出力データとしては、各三角形格子セルにおける水深情報が一定の時間間隔

で得られた。

機械学習モデルは、第2章で述べた通り、物理モデルの出力を用いて訓練された。説明変数としては、地盤高、土地利用、有効降雨量、水深の時間変化などが用いられた。各訓練ケースにおいて、複数の時刻でデータを収集することで、機械学習モデルが水深の時間的変動を予測できるよう配慮された。

3.3. 評価指標

モデル性能の評価は、テストケースを用いて、機械学習モデルが予測した水深と物理モデルから得られた対応する水深との比較によって行われた。予測精度の定量的な評価には、平均絶対誤差 (MAE)、二乗平均平方根誤差 (RMSE)、決定係数 (R^2)、および F1 スコアなどの指標が用いられた。特に F1 スコアは、洪水の有無を二値分類する際に有用であり、水深が 0.01 m を超える場合を「浸水あり」と定義して評価に用いた。

4. 数値結果と考察

本章では、物理モデルと機械学習モデルの結果を比較し、その性能を評価する。例として、55 mm/h のピーク降雨における最終時刻 (140 分) での浸水深分布の結果について議論する。

4.1. 140 分時点の浸水深分布

図3は、55 mm/h の降雨シナリオにおける 140 分時点の浸水深分布を比較したものである。この図には、(a) 地盤高、(b) 物理モデルの結果、(c) 機械学習モデルによる予測、(d) 両者の差分の等高線図が示されている。両モデルの分布は非常によく一致しており、とくに計算領域右側の低地部における洪水貯留の再現性が高い。さらに、両モデルの浸水深の差異はほとんどが 5 cm 以内に収まっており、機械学習モデルが物理モデルの挙動を高精度で捉えていることが示された。

4.2. 評価指標による分析

結果の精度を客観的に評価するために、ここでは

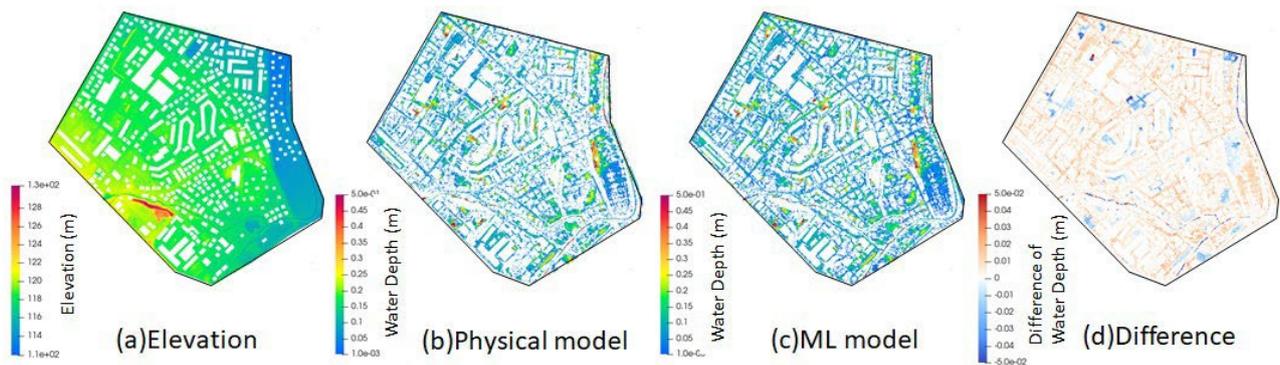


図 3 55 mm/h の降雨シナリオにおける 140 分時点の浸水深分布

(a) 地盤高、(b)物理モデルの解析結果、(c)機械学習モデルの予測結果、(d)差分((c)-(b))

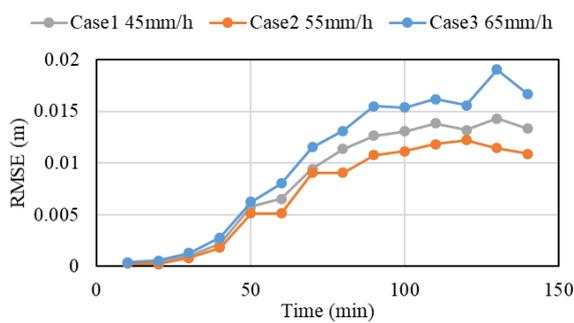


図 4 RMSE の時間変化

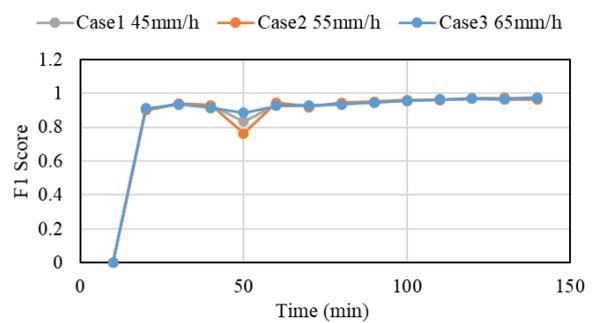


図 5 F1 スコアの時間変化

2 つの指標、すなわち二乗平均平方根誤差 (RMSE) と F1 スコアを例に挙げて示す。図 4 および図 5 には、異なる降雨シナリオにおける RMSE と F1 スコアの時間変化が示されている。RMSE のグラフからは、すべてのケースで時間の経過とともに誤差が増加する傾向が見られ、予測精度が若干低下していくことが分かる。特に、55 mm/h の降雨シナリオ (ケース 2) は最も低い RMSE 値を示しており、他のケースと比較して最も高い予測精度を達成している。

一方、F1 スコアのグラフは、すべてのシナリオにおいて洪水の有無の再現性が一貫して高いことを示しており、浸水域の分類性能の堅牢性を裏付けている。さらに、2.5 時間分のシミュレーションをわずか約 10 秒で予測できることから、本モデルはリアルタイム洪水予測にも効果的であることが示された。ただし、RMSE の増加傾向に対しては、今後さらなる改良が必要である可能性がある。

5. 結論

本研究では、物理的な洪水氾濫モデルと機械学習モデルを統合したハイブリッドモデルを開発し、ドイツ・ドレスデン市街地を対象にその性能を評価した。物理モデルには、三角形の非構造格子を用いて、個別の建物までを含む詳細な地形データに基づく高解像度なシミュレーションを実現した。機械学習モデルは、地盤高、土地利用、有効降雨などの変数を用いて学習され、ピーク降雨 55 mm/h のシナリオにおいて浸水深を高精度に予測することができた。

このハイブリッドモデルは高い精度を示し、機械学習モデルによるリアルタイム洪水予測の可能性を示唆しており、災害対応において大きな価値を持つことが確認された。一方で、一部の局所的な誤差も確認されており、学習データやモデル構造のさらなる改良が必要であることも示された。

今後の課題としては、より多様な降雨ケースを用いた評価の拡充と、リアルタイム適用に向けた計算効率の向上を図ることで、より迅速かつ高精度な洪水予測を実現し、防災・減災への貢献を目指す。