

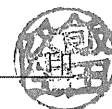
注：課題番号を記入してください。

## 平成19年度 学術研究助成金実績報告書

平成 20 年 4 月 23 日

日 本 大 学 総 長 殿

氏 名 飯 田 隆



所属・資格 文 理 学 部・教 授

下記のとおり報告いたします。

1 種目	奨励研究/一般研究(個人)/一般研究(共同)/ <input checked="" type="checkbox"/> 総合研究	注:該当する種目を○で囲んでください。
2 研究課題	酵素機能をもつ新規金属ポルフィリン錯体触媒の創製と未利用有機天然資源への高度利用	
3 研究の目的	本研究の目的は、① 従来型化学酸化剤が全く持たない不活性基質分子中への一段階遠隔含酸素官能基化を可能にする、という天然酵素に極めて酷似する機能を有する新規で特異性に優れる金属ポルフィリン触媒 / 酸素ドナー系酸化剤を分子設計・創製し、②さらにその高酸化機能を巧みに利用し、未利用有機天然資源から高付加価値ステロイド、テルペノイド医薬の簡易で高効率な合成法の開発に繋げることにある。	
4 研究の概要	チトクロム P-450 は、生体内において多種・多様な酸化還元反応を司る最も重要な酵素群で、不活性な炭化水素を直接酸化し、生命維持に必須な種々の生理活性物質を産生する。本課題は、この天然チトクロム P-450 の酵素機能に着目し、これに限りなく類似した新規バイオミメティック酸化剤[金属ポルフィリン錯体触媒 / 酸素ドナー系酸化剤]を開発し、それを用いて未利用有機天然資源（コレステロール等）からスクアラミン等の有用生理活性物質の産生を企てるものである。	
5 研究組織（共同研究・総合研究のみ該当します）	・研究代表者 飯田 隆（全体計画の統括と推進）  ・研究分担者（役割分担） 若槻 康雄（新規金属ポルフィリン錯体触媒/酸素ドナー系酸化剤の分子設計と創製） 為我井秀行（〃〃） 藤本 康雄（未利用有機天然資源の遠隔含酸素官能基化生成物の単離と構造決定） 秋久 俊博（〃〃） 鈴鹿 敢（各種スペクトル法を用いる金属ポルフィリン触媒の微細構造と反応機構の解明） 齋藤 義雄（〃〃） 安川 憲（酸化生成物のバイオアッセイと医薬品評価） 後藤 順一（〃〃）	

※ホームページ等での公開の・否) いずれかを○で囲んでください。否の場合は、理由書を添付して下さい。

部科校名：文理学部

氏名：飯田 隆

## 6 研究の結果（総合研究の研究代表者は、4,000字以上記入してください。）

本研究課題は平成 20 年度も引き続き継続採択されているため、以下の研究結果は「経過」であることを先ず記しておく。

当該年度（平成 19 年度）は、不活性炭素原子への位置選択的な一段階遠隔含酸素官能基化を可能とする新規金属ポルフィリン触媒 / 酸素ドナー系の分子設計と創製を行った。すなわち、ペルオキシダーゼ類のような含ヘム酸化酵素の活性種は、高原子価鉄オキソ (0=Fe) ポルフィリンで、この酸素源としての酸素分子や過酸化水素、アルキルパーオキシドが鉄原子に酸素原子の移行を行っていることが明らかにされている。したがって、図 2 に示すように、酸素ドナー (X-O) から金属ポルフィリン  $M^{n+}(\text{Por})$  (I) に酸素原子を移行させ、高反応性のオキソ金属ポルフィリン酸化活性種  $O=M^{n+2}(\text{Por})$  (II) を発生させて、触媒的に不活性基質の酸化を行う。このとき副反応の抑制や十分な触媒回転数等の課題も併せて検討しなければならない。これら課題を考慮した上、優れた金属ポルフィリン触媒 / 酸素ドナー系酸化剤を設計するためには、X-O および X が高い反応性の活性種 II と反応を起こしにくいことが特に重要なポイントと考え、以下の 1) ~ 2) について詳細かつ系統的に検討した。

- 1) オキソ金属ポルフィリン酸化活性種 (II) の発生源となる前触媒、つまり種々の金属ポルフィリン錯体誘導体 (I) を合成した。ポルフィリン骨格及び中心遷移金属の違い（金属種や金属配位子の違い）が酸化生成物の位置・立体選択性に及ぼす影響を比較・検討した。具体的には、ポルフィリン中心金属 (M) としては 8 族元素の Fe, Ru, Os や 7 族の Mn を導入し、一方、*meso*-位置換基 (R) として、種々のアリアル基（フェニル、ナフチル、アンズリル基等）、電子供与性の 2,6-ジクロロフェニル基、2,4,6-トリメチルフェニル基等、電子吸引性のペンタフルオロベンジル基等について反応性を精査した。合成した金属ポルフィリン錯体、Fe(TPP)Cl, Fe(TPPF)Cl, Mn(TMP)Cl, Mn(TPPF)Cl, Ru(TMP)CO, Ru(TMP)(O)<sub>2</sub>, Os(TMP)CO, Os(TPPFP)CO の 8 種である。
- 2) 上記 1) で創製した金属ポルフィリン錯体に至適な酸素ドナー (X-O) を検索した。具体的には、分子状酸素、過酸化水素、芳香族複素環 *N*-オキシド類、ヨードシルベンゼン、ジオキシラン類、*tert*-ブチルヒドロペーオキサイド (TBHP) について検討した。

その結果、種々のステロイド基質に対して、金属ポルフィリン錯体 / X-O 酸化剤システムとして、Ru(TMP)CO / 2,6-ジクロロピリジン *N*-オキシド (DCPO) と Os(TMP)CO / TBHP が極めて高活性・高選択的な遠隔酸化反応特性と触媒活性をもち、しかも両酸化剤系は全く異なる位置選択性を有することが判明した。

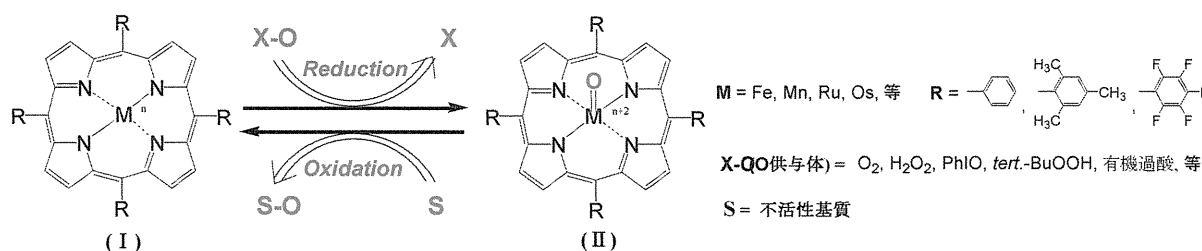


Fig. 1

これら研究成果の詳細は米国化学会発行の“*J. Org. Chem.*, 77, 823-830, 2007”誌（藤本、真野、飯田との共著）、ヨーロッパ化学連合発行の“*Eur. J. Org. Chem.*, 2007, 3555-3563”誌（若槻、藤本、飯田との共著）及び、米国生化学・分子生物学会発行の“*J. Lipid Res.* 48, 2682-2692, 2007”（眞野、為我井、柿山、飯田との共著）に掲載され、また NUBIC 経由で特許出願中（特願 2007-208756）（若槻、飯田の共同）である。

部科校名： 文理学部

氏名：飯田 隆

## 研究の結果 (つづき)

一方、Ru(TMP)CO / 2,6-ジクロロピリジン *N*-オキシド (DCPO)、Os(TMP)CO / TBHP 酸化剤系を用いる未利用有機天然資源からの生理・薬理活性物質の高効率・短段階合成も同時平行で進めている。具体的には、① コレステロールからの抗菌・抗癌性アミノステロイドであるスクアラミンとそのアナログ類の合成を行っており、現在までに合成中間体 (24-oxo-cholesterol) を 8 段階反応で得ている (Fig.2 参照)。② トリテルペン系化合物であるウルソール酸、オレアノール酸、カウレン酸、ルペオール、アミリン、シクロアルタノール、ファラジオールについて、そのバイオミメティック遠隔酸化反応成績体の単離・構造決定と薬理活性について現在研究を進めている。

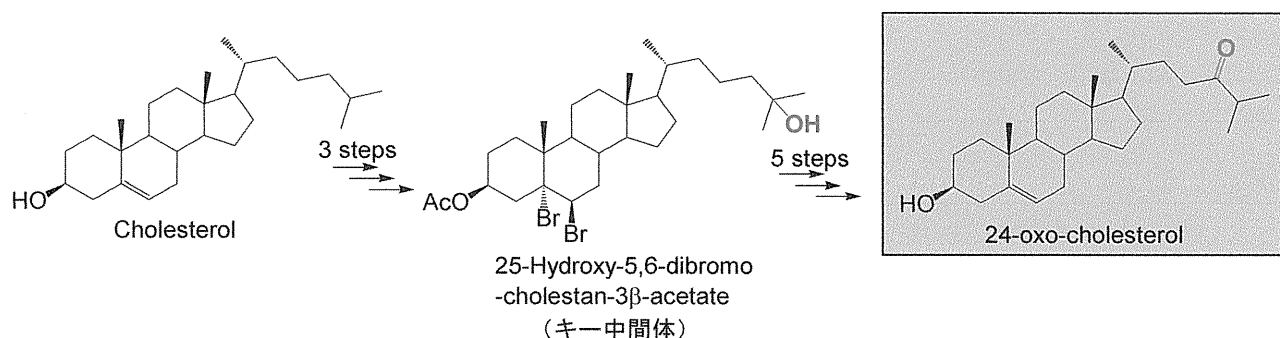


Fig. 2

平成 19 年度に得られた上記知見を基に引き続き平成 20 年度は、金属ポルフィリン触媒 / 酸化剤系 [Ru(TMP)CO / DCPO と Os(TMP)CO / TBHP 系] を用いて、さらに種々の不活性基質 (S) へのバイオミメティック遠隔酸化を試み、反応生成物の単離・構造決定並びにバイオアッセイを行なう。基質としては高脂溶性の未利用ステロイド、テルペノイド資源を対象とする。具体的には、以下の研究計画を予定している。

- 平成 19 年度に引き続き、より強力な酸化能と選択性を有する金属ポルフィリン錯体触媒 / 酸素ドナー系の開発を行うと共に、物理化学的手法を用いて金属ポルフィリン触媒の微細構造と酸化反応機構を解明する。
- 未利用天然ステロイド原料を用い、上記で創製した金属ポルフィリン錯体触媒 / 酸素ドナー系による薬理活性物質の短段階・高効率な化学合成法の開発を企てる。具体的には、コレステロールを原料として新規抗癌剤、抗菌剤として注目されているスクアラミンの合成を計画している。スクアラミンは、海鮫肝臓の中に極微量にしか存在せず、医薬としての安定供給には化学合成法の開発が焦燥の急務とされている。キー反応は上記で創製したバイオミメティックな P-450 型の金属ポルフィリン錯体触媒 / 酸素ドナー系を用いて不活性な C-25 位コレステロール側鎖に一段階でヒドロキシル基を導入するルートを計画している。また、現在唯一の胆石溶解剤として臨床に用いられているウルソデオキシコール酸よりも薬理活性の増強と持続性に富む水溶性含酸素アナログあるいは修飾化合物を牛胆汁から豊富に得られるコール酸を原料として化学合成する。
- 植物から比較的多量に得られるテルペノイドの中には、腫瘍細胞に対する細胞毒性、一酸化窒素産生抑制、 $\alpha$ -グリコシダーゼ阻害作用など様々な優れた生理活性を有する物質が存在する。そこで、疎水性の未利用テルペノイド (ウルソール酸、オレアノール酸等) から新しい活性の発現を期待して、新規な含酸素水溶性誘導体を合成し、酸化成績体をバイオアッセイし、医薬品としての評価を行う。

注：必要に応じて、このページをご使用ください。

注：課題番号を記入してください。

## 平成19年度 学術研究助成金実績報告書

平成 20年 5月 9日

日本大学 総長 殿

氏 名 大塚友美



所属・資格 文理学部・教授

下記のとおり報告いたします。

1 種目	奨励研究/一般研究(個人)/一般研究(共同)/ <u>総合研究</u>	注：該当する種目を○で囲んでください。
2 研究課題	多民族地域における社会経済開発と民族共生に関する研究	
3 研究の目的	本研究の目的は、①沿海部と内陸部の格差が拡大している中国、特に少数民族と漢民族との間の格差拡大が懸念される新疆ウイグル自治区（多民族地域）を主たる研究対象として、②多民族地域における社会経済開発と民族共生の政治メカニズムに関する学際的な比較分析を行い、③同地域の安定に寄与するとともにわが国の同地域への国際貢献に資することにある。	
4 研究の概要	<p>急速な経済発展を遂げている中国は、国際社会に大きな影響力を及ぼす一方、その発展の急激さゆえに地域間格差・民族間格差の拡大問題に直面している。その結果、多くの少数民族を抱える内陸部（例えば新疆ウイグル自治区等）は、分離独立をも誘発しかねない亀裂要因を有している。</p> <p>本研究においては、中国の研究機関との共同研究を通して現地調査などを行い、多民族地域における社会経済開発と民族共生の政治メカニズムに関する学際的な比較分析を行なった。</p>	
5 研究組織（共同研究・総合研究のみ該当します）	<ul style="list-style-type: none"> <li>・研究代表者 大塚友美（研究の総括、多民族地域の経済発展と人口変動）</li> <li>・研究分担者（役割分担） <ul style="list-style-type: none"> <li>青木一能（国際関係における少数民族問題）</li> <li>水嶋一雄（地理環境の分析と農業）</li> <li>葭田光三（少数民族の生態と文化）</li> <li>守屋政平（情報化の進展と社会的影響）</li> <li>信夫隆司（多民族地域と環境問題）</li> <li>林 幸博（乾燥地帯農業の生産方式）</li> <li>辻 忠博（多民族地区の経済開発）</li> <li>段 瑞聡（社会体制と民族自治政策）</li> <li>日吉秀松（多民族宥和政策の分析） （旧氏名：劉松）</li> <li>六辻彰二（少数民族問題の比較研究）</li> </ul> </li> </ul>	

※ホームページ等での公開の  (可) 否) いずれかを○で囲んでください。否の場合は、理由書を添付して下さい。

部科校名：文理学部

氏名：大塚友美

## 6 研究の結果（総合研究の研究代表者は、4,000字以上記入してください。）

## 1. 問題意識

本研究の目的は、中国における少数民族問題および少数民族政策の特徴を明らかにした上で、これが同国内のみならず、わが国を含む諸外国へ及ぼす影響を考察し、将来を展望することにある。

1980年代以降、中国は目覚ましい経済発展を遂げてきた。その結果、中国の社会経済の在り方は、今日では国際社会に大きな影響を及ぼしている。この構図は、今後も変わることなく、21世紀における中国の動向は、世界の政治経済により一層の影響力をもつと考えられている。

ここに我々が慎重に考慮すべき問題がある。中国の経済発展は急激であったため、その恩恵に浴せる沿岸部と、発展の波に乗り遅れた内陸部との社会経済的格差は拡大してきた。この格差は、少数民族問題に微妙な影響を及ぼす。中国の総人口13億1500万人のうち92%は漢民族であり、55の少数民族は8%を占めているに過ぎない。彼らの総人口に占める割合は小さいものの、居住地域は5つの自治区、30の自治州、120の自治県・旗にわたる内陸部の広大な範囲を占めている。しかも、その典型例であるチベット・内モンゴル・新疆ウイグル自治区などでは、中央政府への根強い抵抗運動がある。

中国政府が改革開放政策を採用して以来、この社会経済的格差と少数民族問題の相乗作用は、分離独立運動をも誘発させかねない深刻な問題と化しており、中国国内の政治経済情勢に大きな影響を及ぼす要因と化している。そこで、中国政府は少数民族に対して統合・宥和政策を採ると同時に、新疆ウイグル自治区、チベット自治区などの地域において西部大開発政策を推し進めている。

その成果もあってか、今日では、こうした地域の政情は比較的安定しているように見うけられる。しかし、開発政策の進展如何によっては、社会経済的格差がさらに拡大する危険性も否定できない。つまり、開発政策が少数民族への統合・宥和政策を破綻させることもあり得るため、統合・宥和政策と開発政策との微妙なバランスを維持することが中央政府に求められているのである。

こうした状況は、最悪の場合、分離・独立を目指す遠心的な力を顕在強化し、中国全体の安定に大きな脅威を投げかける危険性もある。そして、中国政情の不安定化は日本を含むアジア情勢と直接的に連動していることから、21世紀の国際情勢に暗い影をもたらすことにもなる。中国に隣接し、緊密な関係にあるわが国としては、中国情勢に関する情報の収集と分析能力を強化する必要がある。

本研究の主たる目的は、このような問題意識のもとに、中国の内政上重要な問題の1つである“社会経済開発と民族共生の相互関係”を理論と実証的の両面から把握すべく、多民族地域の典型例である“新疆ウイグル自治区”を分析対象として、学際的かつ実証的な調査・研究を行なうことにより、中国における民族共生の実状と今後の展開とを検証していくことにある。

## 2. 研究経過

以上の問題意識のもとに、本研究（平成19年度）においては、①政治学・開発経済学・人口経済学・民族学・農学などの多角的な観点から、民族共生問題に関する調査研究を行なうために、また、②そうした研究に関する情報や研究の成果を、国際シンポジウムなどの場を通して中国の研究機関や研究者と交換するために、③各専門分野の研究者から成るチームを中国に派遣してきた。なお、目的（テーマ）・派遣期間・派遣先および派遣チームの構成は下記の通りである。

## (1) 調査団等の派遣

## 【平成19年度】

## ①日本大学・石河子大学・北京大学国際シンポジウム

テーマ：シルクロードと中央アジア文明

開催地：中国・新疆ウイグル自治区・石河子大学

開催期間：平成19年9月8日～平成19年9月9日

参加者：4名（青木一能、林幸博、六辻彰二、日吉秀松（劉松））

部科校名：文理学部

氏名：大塚友美

## ②平成19年度調査団

目的：研究情報の交換および今後の研究方針の検討

派遣先：中国・新疆ウイグル自治区・石河子大学

派遣期間：平成20年3月26日～平成20年3月31日

調査団員：2名（六辻彰二、日吉秀松(劉松)）

なお、この研究活動をさらに進展させるべく、平成20年には日本大学・石河子大学・北京大学による国際シンポジウムを、日本大学にて開催する予定である（その原案は、下記の通りである）。

## 【平成20年度国際シンポジウム一次案】

参加大学：日本大学・石河子大学・北京大学

テーマ：中央アジア研究（テーマの詳細は検討中）

開催地：日本大学文理学部

開催期間：平成19年9月6日～平成19年9月7日

参加者：日本側・中国側合計30数名程度

## (2) 研究成果

以上の研究過程において得られた研究成果や知見は、国際シンポジウムやワークショップなどの場において発表すると同時に、下記の刊行物などの形をもって随時発表してきた。

①『絲綢之路与中亜文明』石河子大学、2007年9月。

②『シルクロードと中央アジア文明(日本大学・石河子大学・北京大学国際シンポジウム報告書)』日本大学文理学部地域研究戦略センター、2008年3月。

ちなみに、本研究の分担者らが発表した、本研究に関連する先行の刊行物には下記のものがある。

①『日本大学・石河子大学共同研究 研究経過報告書』日本大学文理学部地域研究戦略センター編、2006年4月。

②『「内陸アジアの歴史と社会（内陸亜州的歴史与社会）」に関するプロシーディングス』北京大学、2006年8月。

③『「多民族地域における社会文化変容の分析（中国・新疆ウイグル自治区の事例分析）」に関するプロシーディングス』日本大学文理学部、2007年3月。

## 3. 本研究からの知見

上記のように、本研究の過程においては、国際シンポジウムの開催や報告書等の刊行を通して、適宜研究成果を公表してきた。そうした研究成果のいずれからも読み取れる知見は、“多民族地域において社会経済開発を行なう際には、それが想定外の複雑多岐にわたる微妙な影響を及ぼす恐れがあることから、特に少数民族に対しては慎重な配慮が必要である”、というものである。なぜなら、仮に良い結果を期待して立案された政策でも、少数民族にはそう映らない危険があるからである。

急激な経済発展をもたらした歪み（地域間格差や民族間格差）を解消するためには、発展の波から取り残された地域（数多くの少数民族が居住する内陸部）の社会経済開発を推し進める必要があることは、先に既に述べた通りである（「1. 問題意識」を参照）。とはいうものの、そうした開発政策がもたらす影響やそれが及ぶ範囲は、政策立案者の想定を超えることが少なくない、といえる。

ここでは、その代表的事例を幾つか挙げておこう。まず第1は、情報化の推進である。IT革命が

注：必要に応じて、このページをご使用ください。

部科校名：文理学部

氏名：大塚友美

進展している今日、世界各国は高度情報通信ネットワークを整備する必要に迫られている。中国の「西部大開発計画」も、この世界的潮流と無関係ではあり得ない。この高度情報通信ネットワークの整備は、表面的には何ら問題はないように思われる。しかし、ここに留意すべき点がある。

コンピュータへの情報の入力、西欧では「ローマ字入力」、日本では「仮名漢字入力」で行なわれるが、中国では「ピンイン方式」（中国語のローマ字表記）によって行なわれる。この中国語情報処理が普及することによって、少数民族のなかには漢語化現象が発生はじめている。ここで重要なことは、少数民族の“民族としてのアイデンティティー”を維持する上で、これまで言語が重要な役割を果たしてきたことである。インターネットなどの普及がもたらした漢語化現象の発生は、少数民族独自の言語を消失させかねず、このことが少数民族社会に微妙な影響をもたらしはじめている。

第2は、社会経済開発の推進である。地域間・民族間の格差解消が焦眉の急となっている中国では、急速に開発を推し進めるための野心的計画、すなわち「西部大開発計画」が現在進行中である。また、この計画の中核となっているのは、多額の資金を必要とする大規模開発プロジェクトである。しかしながら、開発をこのように精力的に推し進めるほど、少数民族の地域社会が混乱をきたす恐れはそれだけ強くなる。たとえば、域外からの投資への過度な依存は、地域経済の域外経済への依存を高め、少数民族の反感を招くことになる。また、このような計画を急速に推し進めようとするれば、それを担うにたる人材は域外から調達せざるを得ず、漢民族の少数民族地域へのさらなる移住が促されることになる。その結果、多民族地域における漢民族のプレゼンス（存在感）はよりいっそう高まることになるが、そのこと自体が少数民族の反感をさらに煽ることになる、という悪循環を生み出している。

こうした状況に、第3の政治的要因が拍車をかける。少数民族の居住する内陸部（＝辺境地域）は、反政府勢力の根強い政情が複雑かつ微妙な地域であると同時に、石油をはじめとする地下資源の豊富な地域でもある。その結果、少数民族の“資源ナショナリズム”なども、当然強まることになる。こうした要因とイスラム原理主義など結びつけば、政情はさらに不安定化することになる。

本研究では、社会経済開発と民族共生との関係に関する理論・実証的な研究を通して、“一見すると好ましい社会経済開発が、かえって民族共生の障害ともなり得る”、といった逆説を浮き彫りにした。平成20年度に向けて研究本格化のための準備を開始した平成20年3月初旬、はからずも中国のチベット自治区や新疆ウイグル自治区において（反中央政府）暴動が発生した。このことは、本研究が浮き彫りにした逆説が同国で大きな影響力を有していることを示唆している、ともいえよう。

今後は、本研究をさらに推し進め、民族共生の方途を探る所存である。

注：課題番号を記入してください。

## 平成19年度 学術研究助成金実績報告書

平成20年5月8日

日本大学 総長 殿

氏 名 乾 友 彦



所属・資格 経済学部・教授

下記のとおり報告いたします。

1 種目	奨励研究/一般研究(個人)/一般研究(共同)/ <u>総合研究</u>	注:該当する種目を○で囲んでください。
2 研究課題	アジアにおける経済のグローバル化と経済成長	
3 研究の目的	日中韓の文化交流や観光による人の移動は経済の相互依存性を高めることだけではなく、先進国から開発途上国への技術移転を促進できるような制度や環境整備において大きな役割を果たしている。但し、文化のグローバル化の効果全体を経済的に分析することは難しい。そこで本研究では、アニメーションやゲームなどを含むソフトウェア産業を中心にアウトソーシングなどの国際分業体制と共通文化コード形成過程を分析する。	
4 研究の概要	文化や制度が経済成長に与える効果に関しては、経済学による定量的な分析が難しい研究分野であることはいうまでもない。アジア文化や制度と経済成長間の全体像を分析することは不可能である。従って、ソフトウェア産業に限定して、人的交流、アウトソーシングおよび模倣などがソフトウェア産業発展に及ぼした効果をなるべく定量的な分析を実施する。	
5 研究組織（共同研究・総合研究のみ該当します）	<ul style="list-style-type: none"> <li>・研究代表者 乾 友彦</li> <li>・研究分担者（役割分担） 井尻 直彦（波及効果分析）、権 赫旭（日本経済分析）、宮里 尚三（日本経済分析） 村上 直樹（ソフトウェア産業分析）、濱田 治雄（ソフトウェア産業分析）、 木村 政司（ソフトウェア産業分析） 深尾 京司（日本経済分析）、戸堂 康之（波及効果分析）、伊藤由希子（波及効果分析） David Greenaway（波及効果分析）、Jong-Wha Lee（波及効果分析）、Jungsoo Park（波及効果分析）</li> </ul>	

※ホームページ等での公開の  可  否 いずれかを○で囲んでください。否の場合は、理由書を添付して下さい。



部科校名：経済学部

氏名：乾 友彦

## 6 研究の結果（総合研究の研究代表者は、4,000字以上記入してください。）

19年度は、技術移転を検討する際の前提となる日本・中国・韓国企業の生産性の比較研究を行った。経済学においては、技術水準、生産性の水準を比較する際に、全要素生産性（Total Factor Productivity, TFP）を代理指標として使用することが一般的である。

そこで本研究では、上場企業に関する公開財務データを用いて、日中韓の企業の全要素生産性（TFP）の成長率およびその水準を国際比較する。このように企業レベルのデータを使用して、TFPの成長率およびそのレベルを国際比較した研究は筆者たちの知る限り例がない。これはTFPを推計する際に必要なデータを、企業レベルでかつ各国間で比較可能となるようなベースで収集することが非常に困難であること、また各国を比較する際に、企業の産出額、投入額のそれぞれを、購買力平価（PPP）を使用して比較可能なものとする必要があるが、産出、投入を国際的に比較可能とするようなPPPの推計例は、先進国に関しても少なく、また途上国に関しては支出ベースのPPP以外は推計されていないことによる。

しかし、われわれは幸いなことにEU委員会による産業レベルでの経済成長、生産性等を計測するためのデータベースを構築するEUKLEMSによるICOP（International Comparison of Outputs and Productivity）プロジェクトと共同した経済産研究所における環太平洋諸国の生産性比較（ICPA）プロジェクトにより、日本、韓国、中国のPPPの推計が利用することができ、日中韓の生産性の比較が可能となった。このデータを使用してデータベースを作成した（計算方法の詳細については、Fukao, Inui, kabe and Liu “An International Comparison of the TFP Levels of Japanese, South Korea and Chinese Listed Firms,” Seoul Journal of Economics, Volume 21 Number 1 Spring 2008）を参照）。

また19年度末において、このデータに関する幾つかの問題点について修正に加えて、今後の拡張の方向性を検討した。データに関する修正点は、国際的な取引が活発になっている現代の経済において、企業の生産活動において輸入品が中間投入での果たす役割が重要になってきているが、中間投入価格に関して、国産品、輸入品に関して価格が同一であるとの仮定を置いて当該データベースでは推計した。しかし、日本企業等が廉価な輸入品を活用して生産効率の改善を図っている実態と一致しない。また、中間投入価格の推計に関して、アウトプットPPPを使用している。アウトプットPPPは生産者価格であり、本来中間投入は購入価格で評価する必要がある。具体的には商業マージン、運送費等を考慮する必要がある。そこで、これらの点に関して、日本貿易振興機構アジア経済研究所の「アジア国際産業連関表1995年」を活用することによって、日本、韓国、中国、台湾、米国等の産業別中間投入に占める輸入先別のシェアを求め、この情報から輸入財の中間投入価格、各国における商業マージン等の情報を使用して推計作業を行った。この結果、日本企業のTFPは中国、韓国の企業の生産性を上回るが、機械系の産業を中心に韓国の企業のTFPは急上昇しており、一般機械、電気機械産業においては日本企業の平均を大きく上回る韓国企業が多数存在することが分かった。20年度においては、19年度に台湾企業のTFP推計を実施しており、上記3カ国に加えて台湾企業のTFPのレベルを国際比較できるようデータベースの拡張を行う。

以上の研究は、製造業が中心であるため、今後は非製造業の生産性の国際比較研究を実施していく。非製造業、特にサービス産業は、アウトプットの定義が困難であるため、国内に関する生産性についても研究の蓄積が遅れている。そこで、生産性を直接ではなく効率性に関して、日本と韓国の銀行業の効率性の比較の研究を実施した。効率性を研究する際に、多く使用される手法は、Data Envelop Analysis と Stochastic Frontier Analysis であるが、ここではデータに推計誤差等が含まれる可能性が高いことを考慮して、後者の方法を使用した。また後者についても様々な手法が考えられるが、本年度の研究においては、最近の研究において多く採用される Translog Output Distance Function を使用して推計を行った。日韓の銀行の1991年-2005年の財務データを使用して計測を行ったところ、金融機関のアウトプットの定義（具体的には、intermediation approach, value-added approach, operating approach）によって効率性、TFP成長率は異なるものの、効率性のレベルに関しては、韓国の銀行は常に日本を下回るとの結果を得た（詳細は、Inui, Park and Shin “International Comparison of Japanese and Korean Banking Efficiency,” Seoul Journal of Economics, Volume 21 Number 1 Spring 2008）を参照）。

サービス産業に関しては、銀行業の研究にみられるようにアウトプットの定義が重要であり、サービス産業のアウトプットをどのように測定し、またその質の変化をどのように測定するかの予備調査を開始している。

加えて、アウトソーシングを含めたグローバル化が日本経済に与えた影響について研究を実施した。特に日本経済が対外直接投資やアウトソーシングが企業の生産性に与える効果に着目して分析を実施した。

経済産業省が実施している「企業活動基本調査」による企業パネルデータを使用して、1) 対外直接投資を初めて行なう

部科校名：経済学部

氏名：乾 友彦

## 研究の結果（つづき）

（以下、これを「海外進出する」と呼称する）ことによって日本企業は生産性、生産量、雇用量をどのように変化させたか、(2) 海外への生産委託によって企業は生産性成長率をどのように変化させたかの 2 点について分析を行った。特に海外直接投資による海外進出と海外生産委託の 2 点に焦点を当てるのは、直接投資や海外生産委託によって日本国内における産業の空洞化がおきるという議論が存在するが、これらの 2 つのグローバル化の手段が企業レベルでは生産の効率性を上昇させ、日本国内の産業に正の効果をもたらす可能性があると考えたからである。

本分析では、経済産業省による「企業活動基本調査」による企業レベルデータを利用して、対外直接投資による海外進出と海外への生産委託が日本企業のパフォーマンス、特に生産性に与える影響を推計した。その際に、海外進出や生産委託の内生性や企業に固有の固定効果を修正するような計量的な手法を用いたのが本分析の特徴である。

海外進出によって生産拠点が海外に移転すると、国内の生産や雇用の減少が減少する「空洞化」や、また工場レベルのスケールメリットが失われることによって国内企業の生産性が低下する可能性といったマイナスの効果を予想することもできる。しかし、ここではプロペンシティー・スコア・マッチングの手法に「差の差の手法」を組み合わることによって、自己選択による内生性や企業固有の固定効果による推計の偏りの問題を回避するような実証分析を行った結果、企業は直接投資による海外進出によって自らの売上や雇用を増加させていることが見出され、生産性についてもやや有意性が弱いながら正の効果があることが確認された。

また、海外生産委託は国内生産要素の再配置によって TFP 成長を向上させる可能性があり、本分析の推計では確かに海外生産委託は生産性成長に寄与することが確かめられた。さらに、技術レベルの低い企業の方が海外生産委託によって生産性成長をより大きく増加させることも見出されたが、これはすでに高い生産性を持つ企業は海外への生産委託によって生産性を向上させる余地が小さいためであると考えられる。

ただし、以上のように企業が海外進出や海外生産委託をすることによってその企業自身にはメリットがあることが確かめられた。しかし注意しなければならないのは、このような経済のグローバル化を促進することで日本がマクロ的に利益を得るかどうかは本章の結果によっては明らかではない。なぜならば、ある企業のグローバル化がその企業の下請けや競合企業に対してどのような影響があるか、またグローバル化した企業内においてもその恩恵が特定の事業所に集中し、他の事業所に対してはむしろ負の影響があるのではないかなどの問題に関しては、ここでの研究では分析されていないからである。これらは今後の課題としたい。以上の分析結果は、海外の学術誌に投稿し、アウトソーシングが生産性に与える効果については、” Does Offshoring Pay? Firm-Level Evidence from Japan, ” と題して、Economic Inquiry 誌に掲載予定である。

日本企業の中国へのソフトウェア事業のアウトソーシングの実態を調査するため、以下の概要のアンケートを実施した。現在、中国では、海外からのソフトウェア開発受託の発展に期待が集まっている。北京、上海、大連といった東部沿海部のみならず、内陸部でもその振興が積極的に図られており、今回、調査対象とした四川省・成都市はその代表的地域の 1 つである。19 年度は、まず、成都市において政府の産業政策関係部門、個別のソフトウェア企業を対象とした聞き取り調査を行った。づついで、その成果を踏まえてソフトウェア企業 100 社ならびに各企業が実施した開発プロジェクトをサンプルとしたアンケート調査を実施した。回答結果はすでに回収されており、現在、その整理、解析を進めている。ここでの主要な目的は、日本企業など海外企業からのアウトソーシング受託を円滑に遂行するための条件を具体的かつ理論的に検討し、実際、ソフトウェア企業が生産性に与えるその効果を計量的に捉えることである。より具体的には、たとえば、ブリッジ SE (BSE) と呼ばれる技術者の役割を明らかにすることなどが含まれる。

注：必要に応じて、このページをご使用ください。


課題番号	総 07-004
------	----------

注：課題番号を記入してください。

平成19年度 学術研究助成金実績報告書

平成 20 年 5 月 15 日

日 本 大 学 総 長 殿

氏 名 曾 根 進 

所属・資格 日本大学 経済学部 教授

下記のとおり報告いたします。

1 種目	奨励研究/一般研究(個人)/一般研究(共同) <input checked="" type="radio"/> 総合研究	注：該当する種目を○で囲んでください。
2 研究課題	アジア諸国の英語教育と学習目標 — 母語と教授法の調査・研究 —	
3 研究の目的	日本の英語教育がアジア各国の英語教育と比較すると劣る点は、どのような要因があるのか調査・研究してきた。これまでこの教育比較は余り実施されて来っていないため、明瞭な答えは得られなかった。そこで、この研究プロジェクトではアジアの主要国を中心とする英語教育の目標や英語学習方法を調査・研究することが出来た。	
4 研究の概要	平成18年と平成19年度の2年間で、日本の英語教育とアジアの主要国々の英語教育事情を調査・研究してきた。それぞれの国の外国語政策や方向などを調査し、その国の英語教育の目標などを研究分析してきた。これまでの研究では、調査が進めば進む程に調査・研究が必要となってきた。しかし、平成20年度の秋をメドに完了へ結びつけることになる。	
5 研究組織 (共同研究・総合研究のみ該当します)	<ul style="list-style-type: none"> <li>研究代表者 <u>曾根 進</u> (総括、英語運用能力と企業の求める英語基準)</li> <li>研究分担者 (役割分担)                     <ul style="list-style-type: none"> <li>・ 佐藤 三武郎 (日本大学の将来の英語教育目標)</li> <li>・ 高橋 公雄 (日本の英語教育の対応)</li> <li>・ 黒滝 真理子 (中国の英語教育 “ ”)</li> <li>・ 斎藤 伸 (オーストラリア “ ”)</li> <li>・ 谷岡 良月 (アジア諸国と英語教育)</li> <li>・ 金子 利雄 (韓国の英語教育の対応)</li> <li>・ Pimporn Chandee (タイ国の “ ”)</li> <li>・ Nuttapon Kongpolphon (シンガポール国の “ ”)</li> <li>・ Seikoku Teruya (米国の英語教育の対応)</li> <li>・ Antonio J.H. Tsai (台湾の英語教育の対応)</li> <li>・ Susan Williams (イギリスの英語教育の対応)</li> </ul> </li> </ul>	

※ホームページ等での公開の  可・否) いずれかを○で囲んでください。否の場合は、理由書を添付して下さい。

部科校名： 経済学部

氏名： 曾根 進

6 研究の結果（総合研究の研究代表者は、4,000字以上記入してください。）

## 「アジア諸国の英語教育と学習目標 - 母語と教授法の調査・研究」

この英語の研究チームが結成されて、早くも2年間が経過しました。この研究の成果は12名中、8名は論文提出となっております。ただ、調査・研究の多岐な分野などに関して、平成20年夏までに完了することになっています。現在は4名は研究が進行中であることを報告します。また、韓国の英語学者も協力したいと申し出ているので計13名の論文が提出されるかと考えています。研究チームの内訳は日本大学教授7名と海外の研究協力者5名+(1名)=計6名の(13名)<sup>12名</sup>となるはずですが、但し、最終の報告書は英文論文を予定しているもので、少々遅れることもあり得る。

これまでの研究チームの研究について述べることになりましたが、チームは各自異なる研究領域をカバーしていただくことで実行して来られました。日本の英語教育（日本大学の現状教育）のあり方、アジア諸国の国々の英語教育のあり方、北米、メキシコ、英国、豪州を含む英語教育のあり方、等々を種々の角度から分析し、調査してきました。特に、メキシコなど英語教育やインドなどの多民族国家の英語教育なども含め、多方面に分れて研究して来られました。しかし、以下の研究ポイントに基づいて調査・研究をして来られました。

1. 国の英語教育目標
2. 英語教育の内容とその期間
3. 国語（母語）と英語の類似性
4. 英語運用能力と職業（就職）
5. 英語圏の国々のESL英語教育  
(メキシコ、カナダ、イギリス、オーストラリア etc.)

部科校名：経済学部

氏名：曾根 進

研究の結果 (つづき)

6. Toefl のデータに基づく Score 分析

7. 日本の英語教育の実践について

以上の項目に基づいて研究と調査を進めて来ている。もちろん、すべてをカバーしきれている訳ではないが、研究チームとしてはそれぞれの研究領域でそれぞれの成果を語っている。今後は研究会や討論会、学会などを含めて、発表されることになっているはずである。編集委員会としては四名の論文を待ち、本を刊行する予定である。

現在、研究チームの報告書はほぼ最終段階に入っているが、入試などの出題、あるいは学部などの要職にあり遅れている。特に、研究の範囲が広範囲に広がっている点とアジア諸国の政策を含めて、あれこれ異っており、総合的な英語教育の判断に結びつかない面があります。その国の母語の特徴に対する研究資料不足にあり、適切な言語学的な分析や把握がしきれない点が大きく遅れている理由として挙げられます。

例えば、インド、フィリピン、香港、シンガポールなどは英語が公用語であります。しかし、それぞれの住民(即ち、国民)はヒンズー語、タガログ、中国語(広東語含む)を多数が話す社会であります。このことは教育政策の中に二分化が存在し、競争社会から生れている優劣を決める階級社会が見られる。このことが国の政策と英語運用能力と結びついていることが判明してきます。国民の上層階級は幼児期から良い学校教育(英語教育)に接し、英語を身に

注：必要に応じて、このページをご使用ください。

部科校名：経済学部

氏名：菅根 進

## 研究の結果 (つづき)

つけることが、それぞれの国では死活問題となっている。特に、社会活動(公務活動)、ビジネス界などは否定できない。

日本、韓国、台湾、などの自由主義の国々においては、類似した現象が多く生きている点があげられます。どの国も国民に画一的な英語教育に参加できるように教育政策をとってきています。しかし、自由社会の中でも競争原理があり、教育の優劣や学校間格差が存在しているはずです。この度合が英語教育の面と社会活動(就職の職場など)が結びつき過熱していることが政府や産業界に見られると言えます。以下の3点が国の教育を示すものだと思います。

1. 国民全体がどの年齢から英語教育を受けるか
2. 英語教育と就職の結びつき方
3. 高等教育(大学教育)の中の英語教育は国際的視野にあるか

小学校の英語教育は日本を除く、ほとんどの国々はスタートしていると言えます。そして、就職の条件は労働者でない場合はほとんどの英語運用能力が試されていると言えます。また、大学教育、専修学校などの機関は英語運用能力比重が高く、ハードルとして設定されるケースも少なくなっています。国際的な評価基準とある Toefl, Toiec などの判定を尺としている点などが挙げられます。

ESL (English as a Second Language) について触れることになりませんが、いずれのアジアの国々も国際競争力を強めるために、英語運用能力は高めてきています。しかし、日本の社会の閉鎖的な考え方

部科校名： 経済学部

氏名： 曾根 進

## 研究の結果 (つづき)

が強ければ「強いほど英語運用能力が低くなる傾向があります。日本の場合、アジア諸国の中で、Toefl データに基づけば、北朝鮮に次ぐ低い英語運用能力と言えます。しかし、国際化に力を入れているから全体は高い英語と秀えませんが、現実の英語運用能力は上層階級と呼ばれるアジア各国の中で <sup>「Toefl score によれば」</sup> 最下位と言わざるを得ないでしょう。

Japan	65
Korea	72
North Korea	69
Singapore	100
Taiwan	71
Thailand	72

2006年の最新データによれば最下位を占めています。データは120点満点の中で、日本が示すテスト・スコアは国際化社会の中では通用しないスコアと言えます。その他、いろいろのデータを基に分析し、調査してきていますので、論文の刊行を期待して下さい。

課題番号	総07-005
------	---------

注：課題番号を記入してください。

## 平成19年度 学術研究助成金実績報告書

2008年 5月 15日

日本大学 総長 殿

氏 名 真 屋 尚 生



所属・資格 商 学 部 教 授

下記のとおり報告いたします。

1 種目	<input checked="" type="checkbox"/> 奨励研究 / <input type="checkbox"/> 一般研究(個人) / <input type="checkbox"/> 一般研究(共同) / <input type="checkbox"/> 総合研究	注：該当する種目を○で囲んでください。
2 研究課題	地球規模の少子高齢化と社会保護政策への提言	
3 研究の目的	<p>「社会保護 (social protection)」という概念は、比較的近年のものである。日本における「社会保障」概念が、一般に「社会保険」「公的扶助」「社会福祉」「公衆衛生」「医療」「老人保健」などを含むとされているのとは対照的に、ヨーロッパ諸国における「社会保障」の概念は、歴史的に限定されており、「所得保障」「社会保険」と同義に通常解される。これに対して「社会保護」は、日本における「社会保障」に近い概念であり、人びとの生活の安定に関連する諸問題を幅広く扱う「政策」「制度」を意味する。なぜ「社会保障」ではなく、「社会保護」なのか。その背景には、政策課題としての生活問題が、一段と深刻化し、複雑化してきている、という事情がある。本研究においては、こうした「社会保障」から「社会保護」への国際的な潮流をふまえ、地球規模で進行する少子高齢化がもたらす、さまざまな生活問題に関連する課題の解明に取り組み、地球規模の福祉社会を構築するための政策提言を目指している。換言すると、本研究の目的は、地球規模での少子高齢化に対応するための経済政策・社会政策の課題の分析とその解決に向けての政策提言を行うことにある。</p> <p>少子高齢化問題は、今や、先進諸国のみならず、最貧国を含む地球規模で急速に深刻化の度合いを深めてきており、豊かな少子高齢社会・日本に対する国際的な期待が非常に大きいにもかかわらず、多くの日本人は、そのことに気付いていない。日本に対する期待は、大別すると、2つある。1つは、問題解決に向けての日本からの資金援助に対する期待である。他の1つは、日本が、歴史上前例のない高度少子高齢化への対応を図ってきた、そして現在も課題に取り組んでいる、その経験と成果に関する、グローバルな視点からの利用が可能なかたちでの、日本からの情報発信である。後者については、大方の日本人が気付いていない。本研究には、その研究の過程において、また成果の発表を通じて、この点に関する社会・経済的效果を十分に期待しうる。</p> <p>日本における国際比較研究は、従来、欧米先進諸国の制度紹介が中心であった。たとえば、比較的近年まで、社会保障の国際比較研究がなされる場合、概して日本と特定の先進国または先進諸国との比較にとどまり、発展途上諸国・地域を視野に入れての研究は非常に少なかった。そのうえ、学際的な視点からの研究になると、事実上、皆無に近い状態であった。これに対して、本研究では、経済学と経営学を柱とする、国際的かつ学際的な視点からの、グローバルな規模で進行する少子高齢化がもたらす諸問題の解明とその解決に向けての政策提言に、発展途上諸国・地域の状況をも取り込んだかたちで、取り組んでいくものであり、その独創性・発展性・実現可能性を十分に主張しうる。</p>	



#### 4 研究の概要

日本は発展途上国に対する最大の資金援助国でありながら、アフリカにおいて、先進諸国とはまったく異質な少子高齢化が進行していることを、多くの日本人は知らないままである。こうした状況を視野に入れた研究が、今、世界的に要請されているにもかかわらず、日本では、その重要性について必ずしも十分には認識されていない。本研究では、初年度（2006年度）における研究の成果を踏まえつつ、こうした状況をも視野に入れた問題提起を行い、一定の政策提言を行うことを、究極的には目指している。

本研究では、社会科学を中心にしてではあるが、多分野にまたがる、多彩な研究者の交流を通じて、国際比較研究の特性を活かしつつ、グローバルな視点からの少子高齢化に関連する、新たな課題の発見と、その解決方法についての検討を重ねていく。

#### 5 研究組織（共同研究・総合研究のみ該当します）

・研究代表者： 真屋 尚生

・研究分担者（役割分担＝研究課題）

- (1) 真屋「少子高齢化と社会保護政策—発展途上国における諸問題を中心にして—」
- (2) 竹内幸雄（商学部教授）「自由主義と福祉国家思想—グローバル化をふまえて—」
- (3) 芝村良（商学部准教授）「少子高齢化と国際協力—発展途上国の動向を中心にして—」
- (4) 円居総一（国際関係学部教授）「少子高齢化と経済発展—国際金融の動向をふまえて—」
- (5) 高久保豊（商学部教授）「少子高齢化とアジア経済—中国を中心にして—」
- (6) 高橋巖（生物資源科学部准教授）「少子高齢化と地域農業—日本の経験をふまえて—」
- (7) 永山利和（商学部教授）「少子高齢化と労働力移動—日欧における形態の異同を中心にして—」
- (8) 小阪隆秀（商学部教授）「少子高齢化と非営利組織—日本型ボランティア活動の可能性—」
- (9) 吉田達雄（商学部教授）「少子高齢化と社会保障財政—社会保障費負担の国際比較—」
- (10) 矢野聡（法学部教授）「少子高齢化と社会サービス—介護サービスの国際比較を中心にして—」
- (11) 森山「少子高齢化と医療保障政策—日本の経験をふまえて—」
- (12) 小島智恵子（商学部准教授）「少子高齢化と科学技術—科学技術の利用に関する国際協力の視点から—」
- (13) 渡邊武一郎「少子高齢化と宗教文化—死生観と福祉思想の視点から—」

※ホームページ等での公開の  可  否 いずれかを○で囲んでください。否の場合は、理由書を添付して下さい。

部科校名： 商 学 部

氏名： 真 屋 尚 生

## 6 研究の結果（総合研究の研究代表者は、4,000字以上記入してください。）

社会保障は、基本的に国民・住民の一人一人の生活の維持に直接関わる制度であり、社会保障を通じて提供される各種の給付・サービスは、各人の個別的なニーズに対応したものであることが望ましい。しかしながら社会保障制度の運営や実際の対応においては、夫婦単位・家族単位・世帯単位での生活が現実的・一般的とされ、しばしば個人は、その中に埋没していく（Falkingham, Jane and Hills, John (eds.) (1995) *The Dynamics of Welfare: the Welfare State and the Life Cycle*, Prentice Hall/Harvester Wheatsheaf, Hemel Hempstead）。それどころか、家族構成員の間における差別的な扱いにつながっていくことさえある。

たとえば、どのようにすれば、「無収入・無所得」の被扶養配偶者・専業主婦（第3号被保険者）に保険料負担能力を付与することができるのか？彼女たちの多くはパート労働などに従事し、いくばくかの稼得を有しているが、税制上の壁があって、その水準は、絶対的にも、相対的にも低い。つまりパート労働によって退職後・老後の生活を確保しうるだけの年金給付を受けるに足るだけの保険料を負担することは、非常に難しい、ということであり、女性が正規労働者としての労働に継続して従事できるようにするためには、家事・育児・介護などに関連する社会的な支援策の整備が不可欠になってくるのである。また、主として女性が担っている、家事・育児・介護など、収入をとまなわぬ労働の経済的な価値を、誰がどのように評価し、誰がその報酬を支払うのか？雇用形態が多様化していくなかでの「最低賃金」を、どのように定めるのか？社会保障の費用負担ともからめての税制改革を、どのように推し進めるのか？これらの課題を解決できなければ、理念としては非常に魅力的な個人単位の年金制度へ向けての制度改革は、社会保険方式をとるかぎり、非常に困難である、といわざるをえない。

日本では長年にわたって、たとえば、被用者を対象にした健康保険における被保険者本人と被扶養者との間の給付率の格差が容認されてきた。こうした格差の存在は、社会保障における平等原則重視の視点からは絶対に容認できないところであるが、こうした社会保障の理念にも関わる非常に重要な課題が、日本では本格的な議論の対象とされることなく、放置されてきた、という歴史的事実を、誰も否定できないであろう。公的年金保険制度における個人単位を徹底させるのであれば、年金以上に日常生活に深く関わり、生命の維持に直結している、といってもよい医療保険制度における被保険者とその家族（被扶養者）との間における給付率の格差の解消についても、あわせて議論する必要があった。それも、財政上の観点から給付率を引き下げて、低水準で均一化・均等化・平準化する、という方向ではなく、国民・住民の医療保障ニーズに見合ったかたちでの調整を行う必要があった。

基本的人権としての生存権と密接不離の関係に社会保障制度があることからすると、社会保障制度は、理念的には、個人を対象にした個人単位の対応を図っていくべきであるが、現代の日本社会における通念は、生活は夫婦・家族・世帯を単位として営まれるものとしている。それに社会保障の財政上の制約条件が加わり、事態をますます複雑化させ、ひいては混乱を引き起こしてさえいる。公的年金制度についていえば、国民年金のように個人単位の制度と、厚生年金保険のように個人単位の部分を不明確なかたちで包含しつつ、夫婦単位になっているものとが並存しており、不明確な立場におかれている無所得の（専業）主婦と低所得の主婦をめぐる議論を引き起こすことにもなっている。

また、視点をかえて、公的年金制度上の学生と専業主婦の立場を考えると、両者は、経済的には、厚生年金保険加入者の原則として被扶養者とみなしうるにもかかわらず、前者は個人単位で国民年金に加入して、保険料を支払っているのに対し、後者は被扶養者にして被保険者である夫と一体化し、いわばその陰に隠れるかたちで国民年金に加入している。ところが、健康保険については、学生も専業主婦も、被扶養者として扱われることになっている。

部科校名：商学部

氏名：真屋尚生

## 研究の結果（つづき）

社会保障における原理原則が、このように混乱している状態のもとで、問題の解決を、個々の社会保障制度の枠組みの中で図ろうとしても、基本的に無理である。社会保障の原理原則が社会保障財政上の便宜主義のためにゆがめられ、社会保障の理念と生活の実態が乖離しているもとで、社会保障制度の改正を企てても、常に問題の根本的な解決にはいたらなかったり、新たな問題を引き起こしたりすることになるであろう。

このように考えてくると、社会保障計画の前提として「児童手当」「包括的な保健およびリハビリテーション・サービス」「雇用の維持」を掲げたベバリジの洞察力は、歴史的な限界を内包しつつも、卓越していた。さらに付言するならば、イギリスが海外に多くの植民地を持ち、歴史的にもヨーロッパ大陸との長い交流を続けてきていた、という点を考慮するにしても、社会保障制度に関する国際協定まで、あの第2次世界大戦中という時点で視野に入れていたベバリジ構想（Beveridge, William (1942) *Social Insurance and Allied Services, Report by Sir William Beveridge*, HMSO, London）は、まさに「イギリス型福祉国家のマグナ・カルタ」（Harris, Jose (1994) *Beveridge's Social and Political Thought*, Hills, John et al. (eds.), *Beveridge and Social Security: An International Retrospective*, Oxford University Press, Oxford）と呼ぶにふさわしいものであり、ベバリジが「福祉国家の父・近代的社会政策の守護神」（Harris, Jose (1997) *William Beveridge — A Biography* —, Oxford University Press, Oxford）と讃えられる所以でもある。

それにひきかえ、日本における今日の社会保障をめぐる議論は、財政論に偏っていたり、技術論に終始したり、効率化重視・民営化推進であったりして、総合的な視野を欠くものとなっていないであろうか。今こそジェンダー論をも積極的に視野に入れての社会保障の本質論が戦わされるべきとき、といえよう。そしてまた、1948年の第3回国際連合総会で採択された以下の「世界人権宣言」の第22条と第25条における社会保障と生活水準の権利についても、ジェンダー視点からの再検討が試みられるべきときでもあろう。

「すべて人は、社会の構成員として、社会保障の権利を有し、かつ、国内的努力及び国際的な協力により、また各国の組織及び資源に応じて、その尊厳と人格の自由な発展に不可欠な経済的、社会的及び文化的な権利の実現を求める権利を有する。

すべて人は、自己及びその家族のための食糧、衣類、住居、並びに医療及び必要な社会サービスにより、健康及び福祉に十分な生活水準を保持する権利、並びに失業、疾病、心身障害、配偶者の死亡、老齢、その他不可抗力による生活不能の場合に、補償を受ける権利を有する。

母及び子は、特別の保護及び援助を受ける権利を有する。すべて児童は、嫡出であると否とを問わず、同一の社会（的）保護を受ける。」（「世界人権宣言」の訳文は筆者が一部変更した。）

「世界人権宣言」にいう「社会（的）保護（social protection）」という概念は、近年、その新たな具体的展開がヨーロッパ諸国を中心にしてみられるようになってきている。日本における「社会保障」概念が、一般に「社会保険」「公的扶助」「社会福祉」「公衆衛生」「医療」「老人保健」などを含むとされているのとは対照的に、ヨーロッパ諸国における「社会保障」の概念は、歴史的に限定されており、「所得保障」「社会保険」と同義に通常解される。これに対して「社会（的）保護」は、日本における「社会保障」に近い概念であり、人びとの生活の安定に関連する諸問題を幅広く扱う「政策」「制度」を意味する。なぜ「社会保障」ではなく、「社会（的）保護」なのか。その背景には、政策課題としての生活問題が、一段と深刻化し、複雑化してきている、という事情がある。こうした「社会保障」から「社会（的）保護」への国際的な潮流をもふまえ、地球規模で進行する少子高齢化がもたらす、さまざまな生活問題に関連する課題の解明に取り組み、地球規模の福祉社会を構築するための、換言すると、地球規模での少子高齢化に対応するための経済政策・社会政策の課題の分析とその解決に向けての政策提言が求められている。

注：必要に応じて、このページをご使用ください。

## 研究の結果（つづき）

## （主要参考文献）

- Ash, Timothy Garton (2005) *Free World: Why a crisis of the West reveals the opportunity of our time*, Penguin Books, London.
- Baldock, John *et al.* (eds.) (2003) *Social Policy*, 2nd ed., Oxford University Press, Oxford.
- Baldwin, Sally and Falkingham, Jane (eds.) (1994) *Social Security and Social Change: New Challenges to the Beveridge Model*, Harvester Wheatsheaf, Hemel Hempstead.
- Barr, Nicholas *et al.* (1990) *The State of Welfare: The Welfare State in Britain since 1974*, Oxford University Press, Oxford.
- Beveridge, William (1942) *Social Insurance and Allied Services, Report by Sir William Beveridge*, HMSO, London.
- Cutler, Tony *et al.* (eds.) (1995) *Keynes, Beveridge and Beyond*, Routledge & Kegan Paul, London.
- Engels, Friedrich (1892 (1962)) *Der Ursprung des Familie, des Privateigentums und des Staat : Im Anschluss an Lewis H. Morgans Forschungen*, in *Karl Marx-Friedrich Engels Werke*, Band 21, Dietz Verlag, Berlin.
- Falkingham, Jane and Hills, John (eds.) (1995) *The Dynamics of Welfare: the Welfare State and the Life Cycle*, Prentice Hall/Harvester Wheatsheaf, Hemel Hempstead.
- 50th Anniversary of the Beveridge Report 1942–1992, *prepared by the Department of Social Security and the Central Office of Information*.
- Fox, Robin (1984) *Kinship and Marriage: An anthropological Perspective*, Penguin Books, Harmondsworth.
- Glennerster, Howard (2000) *British Social Policy since 1945*, 2nd ed., Blackwell Publishers, Oxford.
- Glyn, Andrew and Miliband, David (eds.) (1994) *Paying for Inequality: The Economic Cost of Social Injustice*, Rivers Oram Press, London.
- Goodman, Alissa, Johnson, Paul and Webb, Steven (1997) *Inequality in the UK*, Oxford University Press, Oxford.
- Graham, Hilary (1984) *Women, Health and the Family*, Wheatsheaf Books, Brighton.
- Grossbard-Shechtman, Shoshana A. (2003) *Marriage and the Economy: Theory and Evidence from Advanced Industrial Societies*, Cambridge University Press, Cambridge.
- Harris, Jose (1994) Beveridge's Social and Political Thought, Hills, John *et al.* (eds.) , *Beveridge and Social Security: An International Retrospective*, Oxford University Press, Oxford.
- Harris, Jose (1997) *William Beveridge — A Biography —*, Oxford University Press, Oxford.
- Harris, C. C. (1983) *The Family and Industrial Society*, George Allen & Unwin, London.
- Hills, John (ed.) (1996) *New Inequalities: The Changing distribution of Income and Wealth in the United Kingdom*, Cambridge University Press, Cambridge.
- hooks, bell (1994) *Teaching to Transgress: Education as the Practice of Freedom*, Routledge, New York.
- Hornby, A S [A P Cowie (ed.)] (1989) *Oxford Advanced Learner's Dictionary of Current English*, 4th ed., Oxford University Press, Oxford.
- Hunt, Pauline (1980) *Gender and Class Consciousness*, The Macmillan Press, London.
- Illich, Ivan (1982) *Gender*, Pantheon Books, New York.

## 研究の結果（つづき）

- Johnson, Paul, Conrad, Christoph and Thomson, David (eds.) (1989) *Workers Versus Pensioners: Intergenerational Justice in an Ageing Society*, Manchester University Press, Manchester.
- Keohane, Nannerl O., Rosaldo, Michelle Z. and Gelpi, Barbara C. (1982) *Feminist Theory: A Critique of Ideology*, Harvester Press, Brighton.
- Le Grand, Julian (1982) *The Strategy of Equality: Redistribution and the Social Services*, George Allen and Unwin, London.
- Lewis, Jane (1984) *Women in England 1870-1950: Sexual Division and Social Change*, Wheatsheaf Books, Brighton.
- Lowe, Rodney (1993) *The Welfare State in Britain since 1945*, Macmillan Press, Basingstoke.
- Maya, Yoshio (2000) A Changing Japan?: Welfare Support: What should be provided for and how will it be paid for?, *The Study of Business and Industry*, No.16.
- Maya, Yoshio (ed.) (2004) *Health and Welfare*, Nihon University Research Center, Tokyo.
- Mill, John Stuart (1869) *The Subjection of Women*, 2nd ed., Longman, Green, Reader, and Dyer, London.
- Orme, Joan (2001) *Gender and Community Care: Social Work and Social Care Perspectives*, Palgrave, Basingstoke.
- Parker, Julia (1988) *Women and Welfare: The Victorian women in Public Social Service*, The Macmillan Press, Basingstoke.
- Percy-Smith, Janie (ed.) (2000) *Policy Responses to Social Exclusion: Towards Inclusion*, Open University Press, Buckingham.
- Rapoport, R. N., Forgy, M. P. and Rapoport, R. (eds.) (1982) *Families in Britain*, Routledge & Kegan Paul, London.
- Riska, Elianne and Weagar, Katarina (eds.) (1993) *Gender, Work and Medicine: Women and the Medical Division of Labour*, SAGE Publications, London.
- Sachs, D. Jeffrey (2005) *The End of Poverty: How We Can Make It Happen in Our Lifetime*, Penguin Books, London.
- Sainsbury, Diane (ed.) (1999) *Gender and Welfare State Regimes*, Oxford University Press, Oxford.
- Sen, Amartya (1999) *Development as Freedom*, Oxford University Press, Oxford.
- Sloane, Peter J. (ed.) (1980) *Women and Low Pay*, The Macmillan Press, London.
- Smith, Adam (1784 (1976)) *An Inquiry of the Nature and Causes of the Wealth of Nations*, 3rd ed., in *The Glasgow Edition of the Works and Correspondence of Adam Smith*, Vol. II, Oxford University Press, Oxford.
- Social Security: 50 Years after Beveridge: An International Conference at University of York, England, 27 September—30 September 1992, volumes A and 1—6.
- Stibbs, Anne (ed.) (1993) *Word of Women: Over 3,000 Quotations by and about Women*, Bloomsbury Publishing, London.
- Swindells, Julia (1985) *Victorian Writing and Working Women: the Other Side of Silence*, Polity Press, Oxford.

部科校名：商 学 部

氏名：真 屋 尚 生

## 研究の結果（つづき）

- Thane, Pat (1982) *Foundations of the Welfare State*, Longman Group, London.
- Timms, Nicholas (1995) *The Five Giants: A Biography of the Welfare State*, Fontana Press, London.
- Ungerson, Clare (ed.) (1990) *Gender and Caring: Work and Welfare in Britain and Scandinavia*, Harvester Wheatsheaf, Hemel Hemstaed.
- Walker, Alan (ed.) (1996) *The New Generational conflict: Intergenerational Relations, Old Age and Welfare*, University College London Press, London.
- Weller, Sam (1999) *Guide to Funerals and Bereavement*, Kogan Page, London.
- Whitelegg, Elizabeth *et al.* (eds.) (1985) *The Changing Experience of Women*, Basil Blackwell in association with The Open University, Oxford.
- Williams, Karel *et al.* (eds.) (1987) *A Beveridge Reader*, Allen & Unwin, London.
- Wilson, Elizabeth (1982) *Women: Women and the Welfare State*, Tavistock Publications, London.

注：課題番号を記入してください。

## 平成19年度 学術研究助成金実績報告書

平成 20 年 3 月 31日

日本大学 総長 殿

氏 名 中村 英夫



所属・資格 理工学部・電子情報工学科 教授

下記のとおり報告いたします。

1 種目	奨励研究/一般研究(個人)/一般研究(共同)/ <u>総合研究</u>	注：該当する種目を○で囲んでください。
2 研究課題	車両の総合的安全を目指したオンボード・センシングシステムの構築に関する研究	
3 研究の目的	<p>福知山線の列車事故や平成17年12月に発生した羽越線の列車脱線事故はこれまでの前提や管理限界を越える「超限界要因」による事故とはいえ、今後の鉄道輸送の安全確保には抜本的な取組が要請されている。これまで車両によるデータ収集は、専用検測車を用いた「詳細ではあるがインターバルの長い保全データ収集」が行われてきた。これは緩慢な状況変化を前提としたものであり、「超限界要因」を前提とした事象の対策には、高頻度でかつ各種要因の総合作用による運動特性データから本質的な保全データを抽出する技術の確立が求められている。具体的にはプローブ車両等の先行研究を進展させ、上記目的にかなうオンボード・センシング技術としてまとめることであり、データの中から軌道系や車両系、そして風圧など自然の影響を弁別して抽出する技術の確立が期待される。</p>	
4 研究の概要	<p>(1) オンボード・センシングシステムの開発 開発するオンボード・センシングシステムは、データ収集部とデータ処理部からなり、データ収集部は情報の管理に不可欠な位置検知機能を基本に、車両運動解析や軌道状態の計測及び各種保安システムの状態を計測するデータ収集機能を有する。データ収集部はこれらの計測データを解析処理する。</p> <p>(2) データ収集部構成要素の開発と検証</p> <p>① 位置検知処理機能は、加速度センサと回転角速度計を組み合わせた簡便な方法により、軌道の勾配に影響されず、走行中の車両の位置を精度よく検知できるシステムを開発する。</p> <p>② データ集積機能としては自然状態や車両と軌道状態に伴う車両運動を計測する機能と地上側の信号を計測する機能を基本とする。信号設備の計測機能としては、自動列車停止装置(ATS)及び軌道回路を対象としてきた先行研究を進展させ、踏切制御子への適用を検討する。車両運動計測機能は先行研究の成果を集約発展させ、車両運動から軌道状態や車両状態そして突風など自然状態の影響を評価し得る技術を検討する。</p>	
5 研究組織	<ul style="list-style-type: none"> <li>・研究代表者 中村 英夫 理工学部・教授 研究統括 システム統合の検討</li> <li>・研究分担者(役割分担) <ul style="list-style-type: none"> <li>網島 均 生産工学部・教授 軌道計測診断部の検討</li> <li>高橋 聖 理工学部・専任講師 保安システム制御診断部・位置検知処理部の検討</li> <li>丸茂 喜高 生産工学部・専任講師 車両運動解析部の検討</li> <li>望月 寛 理工学部・助手 保安システム制御診断部・位置検知処理部の検討</li> <li>松本 陽 独立行政法人 交通安全環境研究所 車両運動解析部の検討</li> <li>水間 毅 独立行政法人 交通安全環境研究所・主幹研究員 位置検知処理部の検討</li> </ul> </li> </ul>	

※ホームページ等での公開の(○)・否) いずれかを○で囲んでください。否の場合は、理由書を添付して下さい。

部科校名：理工学部

氏名：中村 英夫

6 研究の結果（総合研究の研究代表者は、4,000字以上記入してください。）

本年度は、システムの試作と基本計測部の開発を行った。

(1) 位置検知処理部の開発

現在、車上で位置検知は速度発電機のパルス積算が主流である。しかし、速度発電機の取り付け艱装には向上での工事が必要となり、簡易計測の用途としては、パルス積算方法は適していない。そのため、速度発電機によらず3次元加速度計とジャイロスコープによる計測手法を確立することにし、計測原理の検討と基本回路を用いた現車試験を実施した。

加速度センサを用いた位置検出は加速度の2回積分になり、ノイズ等による誤差の除去が不可欠になる。特に勾配が及ぼす影響は無視できない。

勾配が0のときは水平方向をX軸、垂直方向をY軸とする。実際の鉄道線路は0から30パーミル（1000mで30m上昇または下降）程度である。このため、勾配に対する加速度センサの分解能が少ないため、加速度センサを45度傾斜させる計測方法を考案した。このときの加速度 $\alpha$ は、

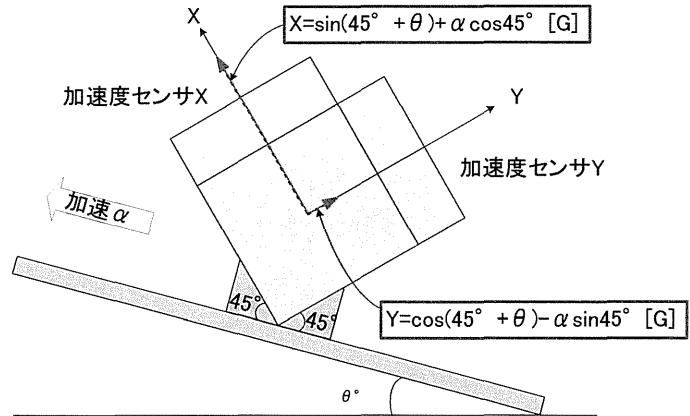


図1 45度の傾斜をつけたセンサー

それぞれの加速度センサにはたらく成分

式を展開すると2重解が得られる

$$\begin{aligned} X &= \sin(45^\circ + \theta) + \alpha \cdot \cos 45^\circ \\ Y &= \cos(45^\circ + \theta) - \alpha \cdot \sin 45^\circ \end{aligned}$$



$$\alpha = \frac{\sqrt{2}(X - Y) \pm \sqrt{(-\sqrt{2}(X - Y))^2 - 4(X^2 + Y^2 - 1)}}{2}$$

で求められる。

2重解のうちいずれを採るかは、勾配が上りであるか、下りであるかによってきまる。

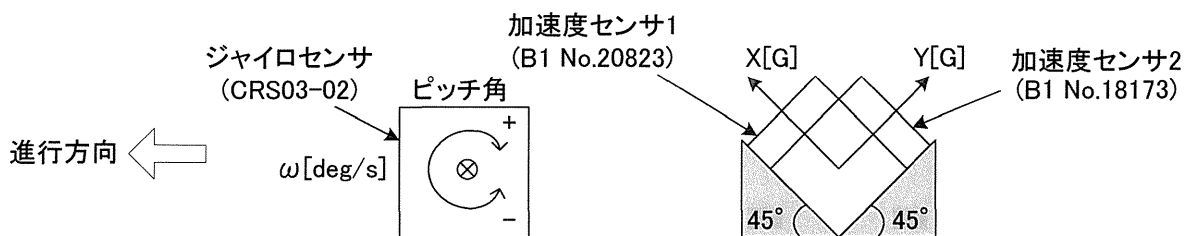


図2 位置検知計測系

上り下りの弁別を自動的に行うには、あらかじめ線区データを用意する方法とセンサーに委ねる方法がある。今回は、ジャイロを利用することにより弁別することにした。

以上の方法により、現車試験によって計測したデータを次に示す。なお右図では、速度が速度発電機で得られたものと一致している。

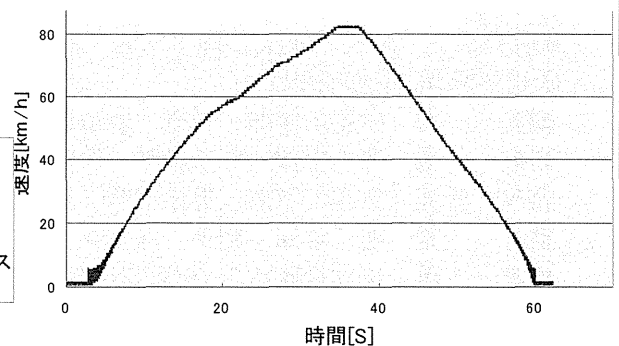
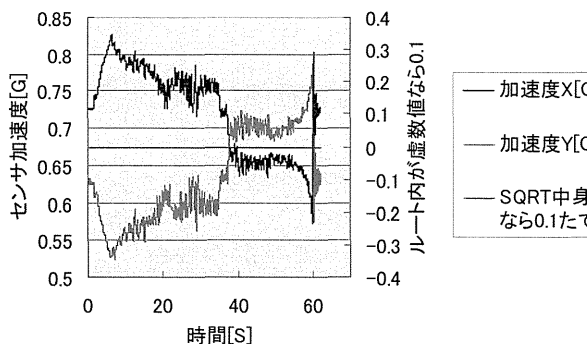


図3 位置検知試験結果



研究の結果（つづき）

(2) 信号保安装置

地方鉄道における踏切制御が課題としてクローズアップされてきた。列車密度の低さによる浮錆や、経営状況の悪化に起因する不十分な保全等により、列車検知の性能劣化の懸念である。列車の車軸の短絡感度は列車と軌道回路間の競合問題であるため、列車走行時のデータ計測が不可欠で、計測器を設置するなど沿線の踏切のメンテナンスは多大な労力を要する。一方、地方交通線の経営状況等は厳しいものがあり、踏切制御子の保全により以上の労力をかけることが困難な状況にある。この状況を打破するには、新たな保全管理手法の提案が必要と考える。

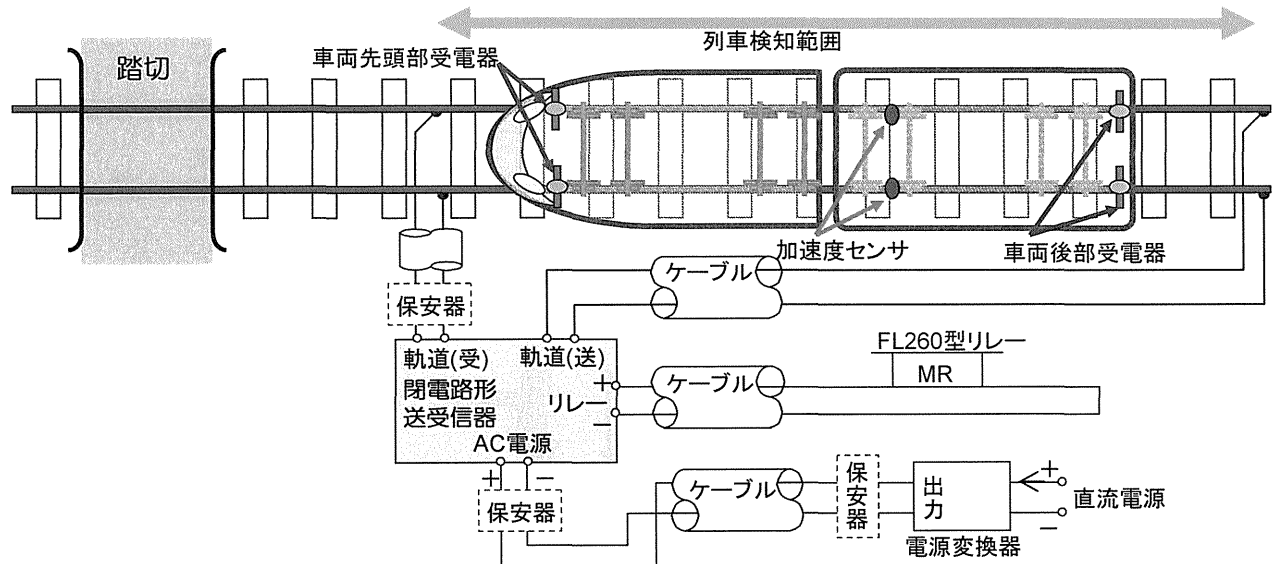


図4 踏切制御子のオンボード・センシング手法

この課題に対し、オンボード・センシング車両で開発した軌道回路計測の技術の適用可能性について検討した。踏切の制御には、民鉄の場合軌道回路を用いているが、JRは国鉄時代に開発された短小軌道回路式の踏切制御子を用いている。

オンボード・センシング車両には軌道回路電流の計測用に受電器を設備している。この受電器のほか、踏み切り制御子用としてさらに最後尾車両にも図4に示すように受電器を設置する。車両が踏切制御子の上を進行すると、最初に先頭車両受電器が車両によって短絡された後の残留電流を計測する。踏切制御子の受信端に到達しても一定のレベル以下に減衰しなければ、何らかの理由により短絡不良となっていることになる。踏切制御子の送電端からの信号レベルの変化は、車両後部の受電器によって計測できる。ただし、車両による短絡の影響を踏まえたものであり、先頭車両の受電器のレベルとつぎ合わせることで、この制御子の回路的性質が把握可能である。

この図4の場合、本来なら車両先頭部の受電器が踏切制御子の信号（残留電流）を受信することはないが、車輪と車軸による短絡が十分でない場合には信号電流を受信することになる。短絡不良は踏切の無遮断という悪性の障害を引き起こしかねないため、オンボード・センシング車両で短絡の傾向を検出する効果は大きい。

また、車両の前後に配置した受電器の受信レベルを管理することにより、車両自身の短絡状況が把握できる。このデータは軌道回路の管理にも有効に利用できる。また、レール締結部における車輪の落ち込みの状態を検知するために、左右の軸箱に1組の加速度センサを設置するが、これは次に説明する2段階動作検知のためである。

注：必要に応じて、このページをご使用ください。

## 研究の結果（つづき）

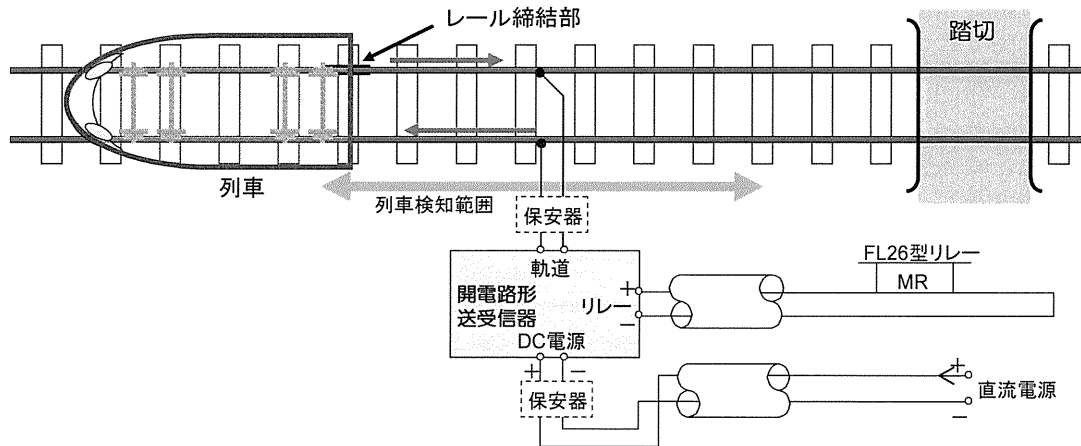


図5 終止点の踏切制御子の状態計測方法

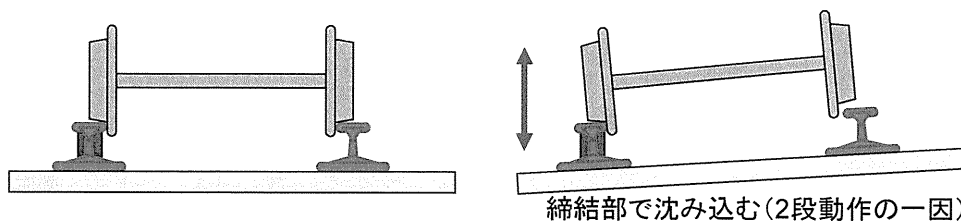


図6 レール締結部での沈み込みと2段動作の説明図

2 段動作の原因の一つとして、レール締結部の箇所での車軸の沈み込みが左右不均一になった場合に、一時的な短絡不良が発生し、それが要因であるとの主張がある(図6 参照)。事実、その箇所の軌道突き固めを行うと、発生が解消されるとの報告もある。したがって、単なる踏切制御子電流の計測に留まらず、軌道状態の計測も重要な意味を持つ。

以下、オンボード・センシング車両による短絡事象管理を行うことにより、2 段動作の事前把握を検討する。

オンボード・センシング車両で設備した先頭車両と後尾車両の受電器のほかに、レール接続部での沈み込みを計測するため、加速度センサを台車の左右の車輪間に設置する。

車軸による短絡が正常に行われれば、図4の鳴動開始点の踏切制御子の場合なら先頭車両部の受電器では制御子電流を検知できない。これに対し、後方車軸群による短絡が不完全であると、先頭車両の受電器で制御子電流がピックアップできることになる。2 段動作では、一旦受信できていなかったものが、瞬時受信できまた受信不能になるという挙動を示す。

また、踏切制御子部分にレール締結部が入る場合には、加速度センサによるデータからその箇所での左右の沈み込みを検出し、2 段動作の可能性について吟味する。

2 段動作については、軸箱に設置した加速度センサにより、その原因の一つとされる軌道の突き固め状態を推定できる。また、計測結果を有効利用するなら、事前に対策を練ることができる。実際に2 段動作が発生したときには、送電点近傍の受電器入力が一瞬停止状態になるため、このレベル計測データが有効になる。

注：必要に応じて、このページをご使用ください。

## 研究の結果（つづき）

## (3) 車両振動及び軌道状態計測

車両や軌道の状態計測は、これまで地上側のレールなどに歪みゲージや変位計を設備して計測するか、車輪に歪みゲージを貼付し、スリッピングを用いて取り出すなどの方法がとられてきた。これらの方法は、特定の時間や場所で一時的に計測を行うもので、全線の軌道を常時監視するには経費、労力、耐久性等の面から問題があった。オンボード・センシング車両では、車両に備えたセンサーにより全線軌道を常時監視する。今回実施した車両・軌道系のオンボード・センシング試験から、波状摩耗の計測について紹介する。

波状摩耗は、レールの頭頂部が数 cm から十数 cm の周期で摩耗する現象で、特に急曲線部に発生するものが問題となっている。波状磨耗が成長すると、著しい騒音や振動を引き起こしたり、車両部品や軌道材料を損傷させたりする原因となるため、レールの研削や交換が必要となり、都市鉄道では軌道保守の重要な課題のひとつとなっている。図7に波状摩耗の例を示す。

車体にセンサを設置し、振動や騒音などを観測し、観測信号を解析する事により、軌道の健全性を判定することが可能と考えられる。しかし、客室内などに設置されたセンサから得られる観測信号には、軌道の不規則な入力による影響などのほかに、多くのノイズが混入している。このように、有意な信号と雑音が混在している状態から、有意な異常信号を雑音から分離して検出することが重要である。この分離にウェーブレット変換に多重解像度解析を組み合わせる方法を適用し、有効であることを確認している。例えば、対象の波状磨耗について計測した結果であるが、原波形 S では波状磨耗の存在は全く検知できないが、多重解像度解析の d3 成分では波状磨耗による振動成分（周波数 160Hz 程度）をよく検出していることがわかる。これは、台車の軸箱の振動加速度とほぼ一致する波形であることも確認できる（図8）。

ところで、対象とした波状磨耗のように信号の周波数領域が限定されるような場合には、窓フーリエ変換も有効である。今回の研究で、車内騒音データの窓フーリエ変換を行い、スペクトル中の顕著な周波数のピーク高さを計算し、その時間変化を評価する方法を考案した。

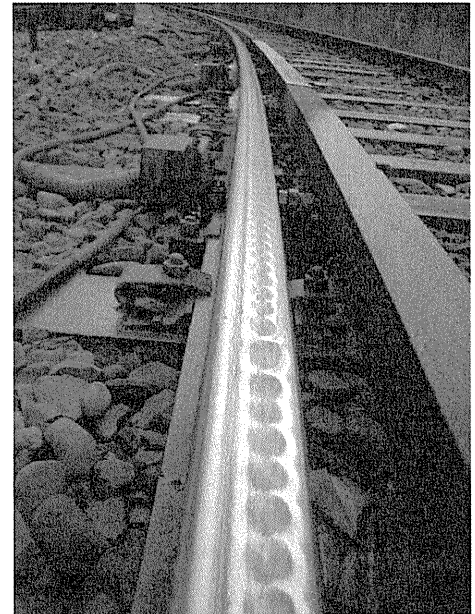
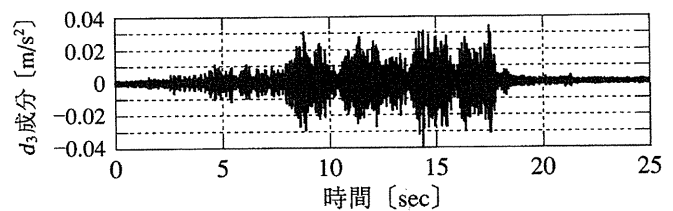
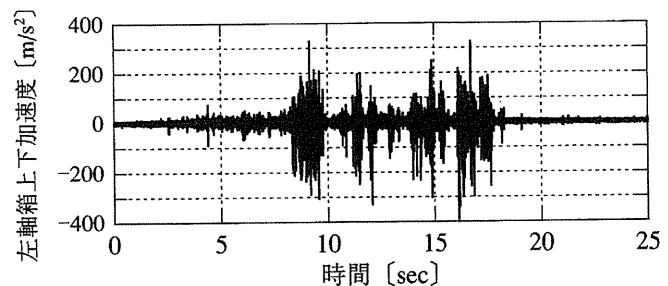


図7 波状磨耗の様子



(a) 抽出した成分



(b) 軸箱上下振動加速度

図8 ウェーブレット変換で抽出した成分と軸箱上下振動加速度の対応

## 研究の結果（つづき）

## （４） オンボード・センシングシステムの試作

上記基礎試験により確認した，個々のオンボード・センシング技術を統一的に実現するシステムとしてオンボード・センシングシステムの構成を検討した．試作したデータ収集部とデータ処理部の写真をそれぞれ図 9-A，図 9-B に示す．

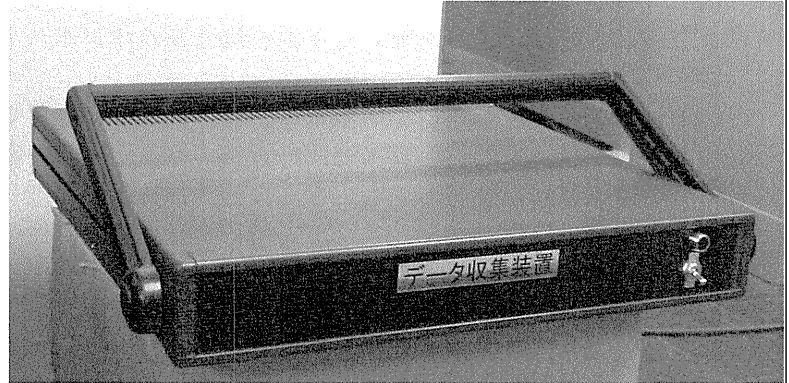
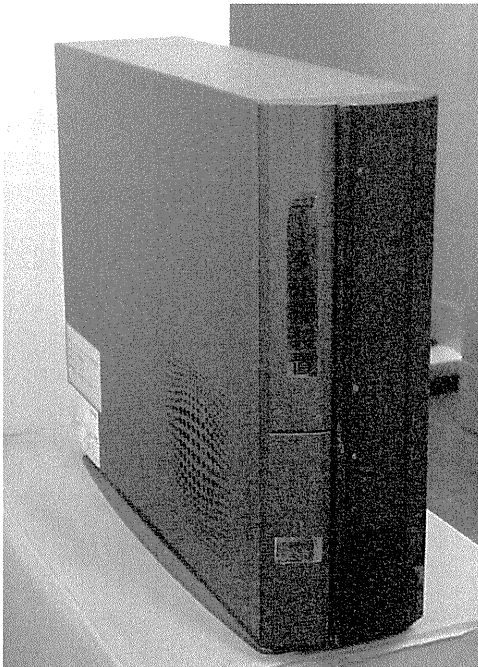


図 9-A 試作したデータ収集部(車上天にてデータ収集をする)

図 9-B 試作したデータ処理装置(オフラインでデータの統計処理をする)

## 7. 部外発表等の成果

これらの成果は，いずれも学会研究会などに発表予定であり，現在下記の成果を投稿中である．

## 海外発表論文

- (1) DEVELOPMENT OF HIGH-SPEED RAIL TRANSMISSION SYSTEM USING DIGITAL SIGNAL PROCESSOR FOR RAILWAY SIGNALING; Eleventh International Conference on Computer System Design and Operations in the Railway and Other Transit Systems, 15 - 17 September, 2008, Toledo, Spain
- (2) PROPOSAL OF CDMA-QAM METHOD AND APPLICATION TO HIGH-SPEED RAIL TRANSMISSION TECHNOLOGY FOR RAILWAY SIGNALING; The 23rd International Technical Conference on Circuits/Systems, Computers and Communications, July 6-9, 2008, Shimonoseki, Japan

## 研究会発表論文

- (3) 林，中村，高橋，望月；踏切制御子の状態監視に関する一考察，電気学会産業応用部門大会(投稿中)平成 20 年 7 月

注：課題番号を記入してください。

平成 19 年度 学術研究助成金実績報告書

平成 20 年 4 月 21 日

日 本 大 学 総 長 殿

氏 名 山 本 寛



所属・資格 理工学部・教授

下記のとおり報告いたします。

1 種目	奨励研究/一般研究(個人)/一般研究(共同)/ <u>総合研究</u>	注：該当する種目を○で囲んでください。
2 研究課題	「波長可変高輝度放射光を用いた新物質創製・精密結晶構造解析の独創的プロセス開発」	
3 研究の目的	日本大学量子科学研究所自由電子線利用施設(LEBRA)に設置された FEL・PXR を利用し、まったく新しい高機能性物質の創製や物性機能の発現、あるいは新規薄膜形成プロセスの開発、さらには X 線吸収微細構造(XAFS)解析、X 線高次構造解析、微小部高次構造分析、時分割構造解析等々、いずれも世界に先駆けた独創的な材料物性実験を行うことを目指している。	
4 研究の概要	<p>本研究においては主に次の二つのテーマを掲げて研究を遂行する。</p> <p>1. 自由電子レーザー(FEL)を用いた新物質創製：FELは赤外領域から紫外領域までの波長可変高輝度光源であるため、これを用いた光誘起反応による新物質の創製プロセス開発が期待される。特に、光励起高分子化反応の促進、レーザーアブレーションによる薄膜合成、ダイヤモンドアンビルセル高圧発生装置を用いた極端条件下での物質合成が期待される。具体的に本研究で取り込まれるテーマは以下の通りである。</p> <p>(1) 巨大炭素分子フラレン、C<sub>60</sub> やカーボンナノチューブ(CNT)集合体に高圧力で自由電子レーザー光を照射することによって、ダイヤモンド的結合による3次元的フラレンポリマー(スーパー・ダイヤモンド)の合成を目指す。</p> <p>(2) 高エネルギーエキシマレーザーと FEL を併用することにより、マイグレーションを促進する新しい薄膜成長プロセスあるいは2フォトンアブレーション過程による独創的な成膜プロセスを開発しながら、各種機能性酸化物あるいは環境半導体薄膜の創製を試みる。</p> <p>(3) 波長可変高輝度単色光を用いて多色カラーフォトメモリー物質の探索・創製を試みる。</p> <p>(4) 様々な分野で機能性材料として注目されている酸化物、窒化物の新しい合成評価法の確立をめざし、ダイヤモンドアンビルセル中に原料物質を酸素ガスや窒素ガスとともに封入し、熱源として FEL を照射することにより物質合成を行う。</p> <p>2. パラメトリック X 線(PXR)を用いた高精度結晶構造解析：PXR は指向性が強く、エネルギー可変で準単色ピコ秒パルスの X 線である。また、X 線エネルギーが放射角に比例し、そのスペクトルは一次関数的に広がり、かつ単結晶を点光源とすることからコヒーレントな性質に富んでいる。これら PXR の特徴を生かした位相差イメージング、時分割 NEXAFS(X 線吸収端微細構造)解析、極限環境下での使用実験に応用されることが期待されている。そこで、波長可変高輝度 X 線光源となる PXR を用いた吸収ならびに回折実験を行うことを目的として、自由電子レーザーを用いて合成した物質をはじめ、高圧力、低温などの極端条件下での物質の結晶構造や電子構造に関する詳細な情報を入手するための光学系を構築することを目指す。</p> <p>具体的には次のテーマを取り上げる。</p> <p>(1) PXR によるワイドバンドギャップ発光体の XAFS 観測</p> <p>(2) 時分割 X 線回折法によるスメクティック液晶の動的構造解析</p> <p>(3) PXR を用いた高圧下における X 線回折の研究</p>	
5 研究組織(共同研究・総合研究のみ該当します)	<p>・研究代表者 理工学部・教授 山本 寛(放射光によるスーパーダイヤモンド合成、薄膜形成プロセス開発、総括)</p> <p>・研究分担者(役割分担)</p> <p>理工学部・専任講師 岩田 展幸(EL 援用アブレーションによる新機能性薄膜形成プロセス開発)</p> <p>理工学部・教授 鈴木 薫(2フォトンアブレーション薄膜形成法の開発、PXR によるワイドバンドギャップ発光体の XAFS 観測)</p> <p>理工学部・助手高橋 由美子(PXR を用いた動的精密結晶構造解析法の開発)</p> <p>文理学部・教授 望月 章介・同 浅地 哲夫(FEL による光誘起構造変化・光誘起価数変化の研究と新規フォトメモリー機能物質創製)</p> <p>文理学部・教授 高橋 博樹・同 滝沢 武男・日本大学量子科学研究所・専任講師 川上 隆輝(光照射・高圧下における新規物質合成、PXR を用いた X 線結晶構造解析法の開発)</p>	

※ホームページ等での公開の  否  いずれかを○で囲んでください。否の場合は、理由書を添付して下さい。

部科校名：理工学部

氏名：山本 寛

## 6 研究の結果（総合研究の研究代表者は、4,000字以上記入してください。）

本総合研究は日本大学量子科学研究所自由電子線利用施設(LEBRA)に設置された FEL・PXR 施設をプラットフォームとして利用し、波長可変高輝度放射光を用いた5つの研究グループが相互に成果を共有、討議しながら、各テーマに関してそれぞれの目的を掲げ、平成18年度ならびに平成19年度の2年間にわたって研究を展開した。以下にそれぞれの研究グループごとにえられた成果について述べる。

## 1. スーパーダイヤモンド合成：(研究代表者) 山本寛、岩田展幸

## 概要:

日本大学 LEBRA において本グループが進めてきた、フラーレンポリマー合成に関する一連の実験的研究について以下にまとめる。本研究の目的は、スーパーダイヤモンドとも呼ぶべき3次元的に C<sub>60</sub> 分子同士が共有結合(ポリマー化)した超硬質な C<sub>60</sub>ポリマーを合成する新しいプロセスを開発するところにある。波長可変性を特徴とする FEL を用い、紫外から赤外にわたる広範囲の帯域で波長を変化させながら照射効果について調べた。

まず、バルク実験として、市販の C<sub>60</sub>粉末に高圧を加え、FEL 照射を行った。また、過飽和溶液中に沈殿させた C<sub>60</sub> についても同様な検討を加えた。

得られた試料に対して、ラマン分光分析を行った。Ag(2) 振動モードのピークシフトから判断し、試料の一部にポリマー化が進行することを明らかにした。さらに、光励起効果を促進する上で、ハロゲンの添加が有効であることを実験的に示すことができた。GPa オーダーの超高圧を印加する実験も行った。比較的低い温度の条件下においても、圧力と光照射の効果によってポリマー化反応は著しく進行することが確かめられた。

一方、C<sub>60</sub> 薄膜作製中に FEL を照射した実験も試みた。現段階では十分なポリマー化反応は見出せていない。熱的非平衡過程である薄膜の成長中のポリマー化反応促進にはさらに高いエネルギーが必要であることが分かった。

これら一連の実験の経過と成果について以下に項目ごとに詳細を述べる。

## バルクポリマーに関する実験と結果

C<sub>60</sub> 粉末(99.95%)を加圧した後、真空中(10<sup>-5</sup>Torr)で加圧しながら FEL を照射した。このとき、試料表面に不均一な圧力がかかるようにアンビル表面にのこぎり型の凹凸をつけることによって、部分的に数 GPa 級の高圧が印加された。FEL は数百 ps のマイクロパルスから構成される数十 μs のマクロパルスであり、繰り返し周波数 2 Hz で照射された。約 1350nm 基本波のエネルギーは約 0.5mJ/pulse であった。主に照射に用いたのは基本波の第3高調波であり、BAND Pass Filter(BPF)を通した後のレーザー強度はかなり低くなり、正確な値は計測することが出来なかった。照射時間は約2時間とした。

えられた試料の評価には Raman 分光装置 (HoloLab 5000R モジュラーリサーチラマン顕微システム カイザー社)、X 線回折装置 (RAD-C 株式会社リガク) を使用した。

圧力印加後、試料表面を観察すると金色の光沢を示す部分が形成された。その顕微鏡写真における白色に見える部分はアンビルの凸部に対応しており、推定 7 GPa を越える高圧が印加された領域であることが分かった。圧力印加のみでは重合反応は進行していなかった。このことは、すでに報告してきた光重合ポリマー形成における結果が不均一な圧力の下で形成された相に関する結果であったことを示唆している。

一方、FEL 照射後にその領域のラマン測定を行った結果、C<sub>60</sub> オリジナルの 1469cm<sup>-1</sup> ピークに加え、光重合反応の進行を示唆する 1455cm<sup>-1</sup> 付近の明確なピークが観察された。

この結果は、圧縮によって分子間距離が短縮された状態での光照射が重合反応を促進したことを示している。観察されたポリマー相はラマンピーク波長から判断して、重合が著しく進行していることが分かる。通常報告されている光重合相は 1460cm<sup>-1</sup> 付近にラマンピークを示しており、明らかに今回得られた試料の重合度が高いことが理解できる。つまり、分子間距離を十分に縮小した後、レーザー照射することによって効果的に C<sub>60</sub> 光重合反応を促進できることが明らかになったといえる。

部科校名：理工学部

氏名：山本 寛

## 研究の結果（つづき）

X 線回折ピークによる結晶構造解析については十分な検討は加えられなかった。しかし、ポリマー化によって回折ピーク強度の減少やブロード化に示されるような結晶性の低下は確認された。これは、山中ら<sup>6</sup>が報告している、良質な 2 次元単結晶から結晶性 3 次元ポリマーを形成するプロセスと大きく異なる点である。

## 薄膜ポリマーに関する実験と結果

薄膜作製に用いた装置上部には赤外線ヒーターがあり、試料の加熱が可能となっている。また、ロータリーポンプとターボ分子ポンプを用いることで、 $10^{-6}$ Pa 程度の高真空が実現できる。装置内部にはミラーが設置してあり、装置外部からのレーザ光を試料に照射する。

天然マイカを  $20 \times 20 \text{ mm}^2$  にカットし、カッターでへき開させ、新たに出た面を基板表面とした。マイカ基板を基板ホルダーにセットし、装置上部に取り付けた。蒸着量は水晶振動子を用いた膜厚計で測定した。赤外線ヒーターにより  $300 \text{ }^\circ\text{C}$  で 1 時間基板の脱ガスを行った後、基板温度を  $100 \text{ }^\circ\text{C}$  にし、 $C_{60}$  を  $2.0 \text{ \AA/s}$  で蒸着すると同時に、FEL 照射を 2 時間行った。FEL は帯域通過フィルタ (BPF) を通し、 $1500 \text{ nm}$  から  $500 \text{ nm}$  を取り出した。試料に対する評価は X 線回折 (XRD)、Raman 散乱で行った。

それぞれの試料の XRD スペクトルを比較した結果、FEL 無照射のものも、照射したものも、同じ位置にピークが観察された。明確な結晶構造変化は見出せなかった。

一方、それぞれの試料の  $Ag(2)$  振動モードの Raman スペクトルを比較検討した。無照射の物は  $1469.5 \text{ cm}^{-1}$  に、FEL を照射したものは  $1468.8 \text{ cm}^{-1}$  にピークが観察されており、ほとんど変化していない。

XRD スペクトルでは、それぞれの試料において、 $C_{60}$  の (0002)、(0004)、(0006) ピークが得られたことから、 $C_{60}$  薄膜は六方最密構造をしていることがわかった。 $C_{60}$  がポリマー化すると面間隔は  $0.04 \text{ nm}$  程度縮むとの報告<sup>7</sup>があるが、XRD スペクトルの (0002) 角度から算出した面間隔はどちらも  $0.81 \text{ nm}$  であった。

バルク  $C_{60}$  の実験で明らかなように、ポリマー化すると、ラマンピークは  $9 \text{ cm}^{-1}$  程度低波数側にシフトする。これは、 $C_{60}$  分子間の共有結合により各炭素原子が振動制限の影響を受けるためである。今回、いずれの薄膜試料においてもピークのシフトは確認できなかった。

$C_{60}$  蒸着中に FEL を照射した試料において、XRD、Raman 分光測定共に変化が起きず、薄膜のポリマーは作製できなかった。FEL 照射による  $C_{60}$  薄膜ポリマー実現へ向け、使用する基板を変えることによって  $C_{60}$  分子間距離を縮めたり、あるいは照射レーザ強度を上げる等の試みを続ける必要があると思われる。

## 結言

$C_{60}$  ポリマーを合成する新しいプロセスを開発することを目指し、バルクならびに薄膜を取り上げて光重合の可能性を探ってきた。

バルク試料においては、GPa オーダーの高圧下で分子間距離を縮めることがポリマー化反応を促進する上で大きな効果をもたらすことが確かめられた。今後 10GPa 級の超高压実験を進めていく予定である。一方、現在までの薄膜形成プロセス中での FEL 照射効果は見出せていない。照射エネルギー強度の影響についても今後検討を加えていく予定である。

## 成果論文

- 1) S. Mochizuki, F. Fujishiro, A. Iino, K. Shibata, and H. Yamamoto, "Photo-induced defects of metal oxides: MgO and rutile  $\text{TiO}_2$ ", *Physica B*, 401-402(2007)426-429.
- 2) N. Iwata, S. Ando, R. Nokariya, and H. Yamamoto, "Synthesis of polymerized  $C_{60}$  bulk and film in three dimensions by irradiating a free electron laser", *Jpn. J. Appl. Phys.*, 47(2007)1412-1415.
- 3) S. Ando, R. Nokariya, R. Koyaizu, N. Iwata, and H. Yamamoto, "Synthesis of  $C_{60}$  Polymer by Free Electron Laser Irradiation with Hole-Doping Effect", *Trans. Mate. Res. Jpn.*, 32(2007)1251-1254.

注：必要に応じて、このページをご使用ください。

部科校名：理工学部

氏名：山本 寛

## 研究の結果 (つづき)

- 4) T. Asada, K. Nagase, T. Yamada, N. Iwata, and H. Yamamoto, "Fabrication of Magnetoelectric Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Films for Application Single Flux Quantum Device", Trans. Mate. Res. Jpn., 32(2007)1231-1234.
- 5) M. Yoshikuni, S. Ide, N. Iwata, and H. Yamamoto, "Preparation of Carbon Nanofiber Emitters for Field Emission Display using Organic Thin Films", Trans. Mate. Res. Jpn., 32(2007)329-332.
- 6) N. Iwata, T. Asada, K. Nagase, T. Yamada, and H. Yamamoto, "PREPARATIONS OF MAGNETOELECTRIC THIN FILMS FOR SUPERCONDUCTING DEVICES", Physica C, 463-465(2007)1005-1008.
- 7) H. Okuyama, N. Iwata, and H. Yamamoto, "Growth of Vertically Aligned Carbon Nanotubes Depending on Thickness of Catalyst Films by Plasma-Enhanced Chemical Vapor Deposition", Molecular Crystals and Liquid Crystals, 472(2007)599-606.
- 8) S. Ando, R. Nokariya, R. Koyaizu, N. Iwata, and H. Yamamoto, "Synthesis of C<sub>60</sub> Polymer by Free Electron Laser Irradiation with Tunable Wavelength", Molecular Crystals and Liquid Crystals, 472(2007)255-262.
- 9) M. Yoshikuni, S. Ide, N. Iwata, and H. Yamamoto, "Field Emission from Low Density Carbon Nanofiber Emitters Prepared by Spray Spreading Method", Molecular Crystals and Liquid Crystals, 472(2007)477-484.
- 10) N. Iwata, Y. Hata, M. Yoshikuni, and H. Yamamoto, "Preparations of Carbon Nanofiber Emitters for Diode Type Field Emission Display with Organic Luminescence Thin Films", Mat. Sci. Eng. C, 27(2007)1174-1180.
- 11) H. Okuyama, N. Iwata, and H. Yamamoto, "Position-selective growth of vertically aligned carbon nanotubes for application of electronic-measuring nanoprobe", Physica E, 37(2007)49-53.
- 12) H. Yamamoto, N. Iwata, R. Hashimoto, and S. Ando, "Photo-assisted synthesis of C<sub>60</sub> polymers by laser irradiation", Appl. Surf. Sci., 253(2007)7977-7980.

## 2. PXR を用いた位相差イメージング：高橋由美子

PXR はパルス性、波長可変性、指向性、コヒーレント性など市販の X 線源にない特徴を有し、物性研究のためのプローブとして用いることで新たな情報を得られる可能性が高い。しかし 1985 年にその存在を確認された新しい現象であるため、理論と一致しない部分もあり、これまでのところ実用応用された例は無い。そこで本研究では PXR の基礎特性を検証しつつコヒーレントな性質を活用した位相コントラスト・イメージング法を確立し、生体組織や液晶・高分子のようなソフトマターへの応用を可能にすることを目標として研究を行ってきた。

位相差イメージング法は従来の吸収イメージング法ではコントラストを得にくかった軽元素領域で吸収コントラストの約 1000 倍の感度が期待できるが、位相シフトは通常 10<sup>-6</sup> オーダーの微小量であるため、これを検出するためにはコヒーレントな光源と高精度な光学系を構築する必要がある。

昨年度(H18 年度)は、回折強調法 (DEI: Diffraction Enhanced Imaging) の光学系を組み上げ、DEI の特徴であるアナライザ角度に依存したコントラスト反転などを確認が、画像解像度に問題があったため、その主要因である光源の安定化に取り組んだ。電子ビーム・フィードバック機構の導入、冷却系温度制御の精密化など、加速器スタッフの協力によってビームの安定性が大幅に増し、画像のボケ、時間変化などの問題を改善することができた。

本年度は引き続き画像解像度の改善に取り組み、ビーム取り出し窓より下流の光学系を刷新した。具体的には除振台・7 軸ゴニオメータの導入、光学系のカバーによる温度変化防止などで、特にゴニオメータでは 40kg の大型ゴニオとタンジェントバーを組み合わせることによって安定性と最大 2×10<sup>-6</sup> 度の精度を実現した。アナライザ結晶のパラメータの検討・特性評価によって最適化を図った。また、検出器として II-CCD を導入し、検出側の空間分解能が 50・m(IP)から 15・m(II-CCD)に向上した。

注：必要に応じて、このページをご使用ください。



部科校名：理工学部

氏名：山本 寛

## 研究の結果（つづき）

これらの結果、DEI 画像としては十分実用に耐える解像度を確保できた。くも・とかけ・魚などの生物標本、生花、マウス心臓などの生物試料、プラスチック・ファイバーやプラスチック・ボールなどのソフトマターについて位相コントラスト像を得ることができた。

さらに、新たな光学系の検討を行った。Bragg case の DEI は視野が X 線の入射角とアナライザ結晶幅に依存し、現状では試料幅が 10mm (16keV, 90mm 幅アナライザ) 程度に制限されてしまうため、PXR の特徴である大面積 (~ 100mm) が活用できない。そこでアナライザ結晶の面積をそのまま利用できる Laue case の DEI、およびアナライザを用いない伝播法 (Propagation-based Imaging) について予備的な実験を行い、基礎データの収集を行っている。

現在、位相差イメージングの研究では、必要なコヒーレンシーを確保するために数 10m の長尺ビームラインやマイクロフォーカス X 線源が用いられているので、比較的小規模のビームライン (約 8m)、大きなビームサイズ (1.5×1.5mm<sup>2</sup>) で位相コントラストが可能となったことは有意義であり、医療応用など産業化への道を開くものである。また、PXR は 2/θ (θ : ローレンツ・ファクター) の角度発散を有するため、X 線取り出し口におけるビームサイズが 70 mmφ 以上 (E = 17.5 keV) となり、特別な光学素子を用いることなく比較的大型の試料を測定できることも他の施設に勝る点である。

本研究の結果から、光源・ビームラインの改良により X 線強度を増加することで位相差イメージング法を実用レベルに発展させることができるとの感触を得た。

## 成果論文

1. Y. Hayakawa, K. Hayakawa, M. Inagaki, T. Kuwada, K. Nakao, K. Nogami, T. Sakae, T. Sakai, I. Sato, Y. Takahashi, T. Tanaka, "Dependence of PXR beam performance on the operation of the pulsed electron linac", submitted to Nucl. Instr. and Meth. B(2008)
2. Y. Hayakawa, K. Hayakawa, M. Inagaki, T. Kuwada, A. Mori, K. Nakao, K. Nogami, T. Sakae, T. Sakai, I. Sato, Y. Takahashi, T. Tanaka, "Advanced applications of PXR at LEBRA, Nihon University", Proceedings of SPIE-The International Society for Optical Engineering (2007), 6634 (International Conference on Charged and Neutral Particles Channeling Phenomena II, 2006), 663411/1-663411/10.
3. Y. Takanishi, H. Hakezoe, J. Watanabe, Y. Takahashi, A. Iida, "Analysis of the intralayer molecular orientation in the B1 phase of a bent-core liquid crystal molecule using X-ray microbeam", Bussei Kenkyu, 89(1)(2007)pp.21-22.

## 3. 2 フォトンアブレーション薄膜形成法の開発、PXR によるワイドバンドギャップ発光体の XAFS 観測 (鈴木薫)

分子振動を共鳴励起する自由電子レーザー光や電子共鳴励起に必要な紫外線波長可変エキシマレーザー光によるレーザーアブレーション法により酸化チタン (TiO<sub>2</sub>) やオキシサルファイド (LaCuOS)・酸化亜鉛 (ZnO) 等の環境半導体を成膜し発光素子への応用をはかると同時に、レーザー転写法によりポリ乳酸やキトサンなどのバイオマテリアルを動物の歯や爪のような生体硬組織の表面上にマーキングする方法の開発、及び 2 フォトンプロセスによりその機能性を高めることを実験の目的とする。また、パラメトリック X 線による ZnO や LaOCuS・CuO・ZnS 等のワイドバンドギャップ発光体を XAFS 観測するにより、酸素やイオウの局在と発光波長の相関を解明する。

水分解用光触媒ランタン添加酸化チタンのパルスレーザー堆積 (PLD) 法成膜

義歯の表面に抗菌や脱臭作用を生じる環境半導体である酸化チタンを薄膜形成する研究を行い成功したため

注：必要に応じて、このページをご使用ください。

部科校名：理工学部

氏名：山本 寛

## 研究の結果 (つづき)

、これに希土類元素のランタンを添加して太陽光などの光エネルギーにより水を分解する薄膜を PLD 法によって低温成膜した。結果として、LaO<sub>2</sub> と TiO<sub>2</sub> を 1:1 で混合し圧縮成型したターゲットを波長 266nm の YAG ×4 レーザによる PLD 法で成膜した試料において、Xe ランプ光照射時におけるメチレンブルーの分解と水分解が進行しており、試料の Post Annealing 温度に依存して光触媒反応により分解が生じることが判明した。発光素子 LaOCuS のパルスレーザ堆積(PLD)成膜

透明 p 型酸化物半導体であるオキシサルファイド(LaOCuS)と n 型酸化物半導体の ZnO はワイドバンドギャップ半導体デバイスなどへの応用が期待されている。LaOCuS の組成比や不純物を添加した ZnO の非結晶化ターゲットを用いた PLD 法により薄膜を作成した。XRD 測定より、結晶性の良い ZnO と LaOCuS の薄膜を作製できた。PL 測定結果より ZnO に Al を添加した試料において 390nm にエキシトン発光のピークが確認され、3.2eV のワイドバンドギャップ半導体であることや、Al の添加量によって PL 発光の特性を制御でき、透明な薄膜が形成できた。LaOCuS では Cu と S を過剰に添加することで青緑・橙・白色の発光を制御できることが確認された。

## 針状炭素の生成とカーボンナノファイバー(CNF)配線

炭素供給源としてエタノールを用い、熱源としてシリコン基板へ直流通電した時のジュール加熱による熱分解で CNF 生成を試みた結果、加熱温度や時間・触媒等の条件により特異な形状の針状炭素の生成と CNF による配線が観測された。観察の結果、直径 1 μm の円錐状の炭素物質である針状炭素が対向成長し、その先端から単独の CNF (直径 30 nm) が配線されていた。この針状炭素を集束イオンビーム(FIB)加工し、厚さ 10nm 程度に薄片化した試料の制限視野回折像から、針状炭素の付け根部分では同心円上の回折パターンが観測されランダムな方位を有する多結晶構造が、針の先端部分では楕円形の回折パターンであるため結晶の配向性が観測された。また、針先端の透過型電子顕微鏡(TEM)像から炭素六角網面が間隔:0.33nm で積層しておりグラフェンシートが巻き付いた状態になっていることが確認された。触媒の鉄微粒子に対して反応性の高い硫黄をエタノール中に添加することにより、針状炭素対と CNF 配線の生成が促進され、エタノールのみでは 44 対であったものが 575 対へと急増した。波長 488nm と 515nm のアルゴンレーザを同時に照射した場合には非照射時には針状炭素と CNF が生成できなかった 600°C で CNF の生成が認められた。

## 生分解性樹脂のナノ微粒子化と成膜による高機能化

犬や猫などのペットにおける血統や飼い主及び牛や豚などの家畜における飼育環境などの情報を無血で非破壊な個体識別法として開発するために、爪や歯などの表面にマーキングを施す方法を検討した。蟹などの甲羅から抽出した生分解性で抗菌・脱臭作用を有するバイオマテリアルであるキトサンを溶媒とし、それを所定のパターンに転写できるレーザ転写(LIFT)法を用い、溶媒の固有な分子振動に共鳴吸収する波長を選択し、最適な波長を特定するために自由電子レーザを光源としている。自由電子レーザをキトサンの-CH 伸縮振動に共鳴吸収する波長(3.38 μm)とし、ドットの間隔は 50 μm、8×8 ドットの正方形に CST NU をマーキングしたときに 1 ドットの直径は 37 μm が最小であった。また、犬や猫牛の歯や爪などの生体硬組織による生体蛍光とキト

サンの蛍光は似通った波長であるため、識別用蛍光剤に可視光領域は Rhodamin6G を添加した結果、Rh6G は蛍光の発光効率が高く自由電子レーザによる LIFT における損傷にも耐えることが確認された。

## 成果論文

1. 鈴木, 自由電子レーザ転写法によるバイオマテリアルのマーキング, 電気学会論文誌 C, 127(2007)pp. 1352-1357.

注：必要に応じて、このページをご使用ください。

部科校名：理工学部

氏名：山本 寛

## 研究の結果 (つづき)

## 4. 多色カラーフォトメモリー物質の探索・創製：望月章介、浅地哲夫

KTaO<sub>3</sub>、SrTiO<sub>3</sub>、Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、Sm<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、Y<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、ZrO<sub>2</sub>、TiO<sub>2</sub>等の酸化物結晶、原子レベルで表面加工された酸化物結晶、異分子で表面修飾された酸化物結晶を作製・準備して、これらを日大自由電子レーザーや研究室に現有する数台の紫外レーザー装置を用いて紫外光照射して次の事柄を研究した。

(1) フォトルミネッセンスの色の多色化、(2) 光メモリー性と書き込まれた光情報の消去性、(3) 紫外レーザー光誘起局所的構造変化、について検討を進めた。

その結果、これら酸化物は消去可能な光メモリー性を有する事が明らかになった。

さらに、これ等の物質の多色メモリー化を可能にする実験を行った。また、これまでの外殻電子の光励起のみならず内殻電子励起でも、量子常誘電体 KTaO<sub>3</sub> や SrTiO<sub>3</sub> の局所的構造変化や相転移を誘起できる可能性があり、極低温で日大パラメトリック X線の照射しつつ誘電率やフォトルミネッセンススペクトルの測定を行った。

一方、様々な分野で機能性材料として注目されている酸化物、窒化物の新しい合成を目指し、ダイヤモンドアンビル中で酸素ガスと酸化物を直接反応させ、酸素の含有量制御による物性変化を調べた。

## 成果論文

1. S. Mochizuki, F. Fujishiro, A. Iino, K. Shibata and H. Yamamoto, "Photo-induced defects of metal oxides: MgO and rutile TiO<sub>2</sub>", *Physica B* 401-402 (2007) 426-429.
2. S. Mochizuki, F. Fujishiro, K. Shibata, A. Ogi and T. Konya, "Optical, electrical and X-ray-structural studies on Verneuil-grown SrTiO<sub>3</sub> single crystals", *Physica B* 401-402 (2007) 433-436.
3. S. Mochizuki and F. Fujishiro, "Optical and dielectric studies on nanoparticles and atomically-engineered surfaces of superparaelectric SrTiO<sub>3</sub>", *Physica Status Solidi (C)* 4 (2007) 515-517.
4. S. Mochizuki, F. Fujishiro, T. Mochizuki and H. Yamamoto, "Erasable photomemory phenomena in Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-, Y<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-and SrTiO<sub>3</sub> nanoparticles at room temperature", *Physica Status Solidi (C)* 4 (2007) 518-520.
5. F. Fujishiro and S. Mochizuki, "Excitons in AgI-based glasses and composites", *Proceedings of the 1st International Discussion Meeting*, eds. J. Kawamura, S. Yoshikado, T. Sakuma, Y. Michihiro, M. Aniya and Y. Ito (World Scientific, Singapore) (2007) 86-96.
6. K. Ishiwata and S. Mochizuki, "Structural, electrical and optical studies on SrTiO<sub>3</sub> films", *physica status solidi (c)* 3 (2006) 3516-3519.
7. S. Mochizuki and F. Fujishiro, "Excitons in pristine silver iodide crystal", *physica status solidi (c)* 3 (2006) 3586-3591.
8. F. Fujishiro and S. Mochizuki, "Excitons in AgI-oxide particle composites: AgI-SrTiO<sub>3</sub>", *physica status solidi (c)* 3 (2006) 3592-3597.
9. S. Mochizuki, F. Fujishiro, K. Ishiwata and K. Shibata, "Defect-induced optical absorption and photoluminescence of SrTiO<sub>3</sub> crystal", *Physica B* 376-377 (2006) 816-819.
10. F. Fujishiro and S. Mochizuki, "Photo-induced reversible spectral change in several AgI-oxide particle composites", *Physica B* 376-377 (2006) 827-830.

注：必要に応じて、このページをご使用ください。

部科校名：理工学部

氏名：山本 寛

## 研究の結果 (つづき)

## 5. 超伝導・磁性および発光機能を持つ新物質の創製と解析：高橋博樹、滝沢武男、川上隆輝

(1) 充填スクッテルダイト  $\text{La}_{0.8}\text{Rh}_4\text{P}_{12}$  の圧力効果

充填スクッテルダイトの一般的な化学式は  $\text{MT}_4\text{X}_{12}$  (M、T、X はそれぞれ希土類とアルカリ土類金属、遷移金属、プニクトゲン) である。現在超伝導体として 14 種類の充填スクッテルダイトが報告されているが、その中でも  $\text{La}_x\text{Rh}_4\text{P}_{12}$  が 17K と最も高い超伝導転移温度 ( $T_c$ ) を示している。充填スクッテルダイト  $\text{MT}_4\text{X}_{12}$  の結晶構造は、M 元素を体心位置としてそれに近接する計 12 個の X 元素が 20 面体を形成しており、さらにその周りを T 元素による立方格子が覆うように存在している。

本研究テーマでは、多数の充填スクッテルダイト化合物の中で最も高い  $T_c$  を持つ  $\text{La}_x\text{Rh}_4\text{P}_{12}$  の超伝導状態の圧力効果を調べることを目的とし、ピストンシリンダーとダイヤモンドアンビルセル高圧発生装置を用いた 0.5GPa から 15GPa までの高圧下における電気抵抗測定及び、マルチアンビル高圧発生装置を用いた格子定数測定を行った。結果より、 $T_c$  は 3.0GPa 以下では -0.3K/GPa の割合で、それ以上では -0.5K/GPa の割合でそれぞれ減少している。また、体積は圧力に対してほぼ線形に減少している。この結果から求めた体積弾性率は 118.64GPa ( $B_0' = 4$ ) であり、これは同等の格子定数を持つ充填スクッテルダイトの中では比較的低い値であった。

(2) 鉄ベースの高温超伝導体  $\text{LaOFePn}$  ( $Pn = \text{P, As}$ ) の圧力効果

鉄ベースの高温超伝導体  $\text{LaOFePn}$  ( $Pn = \text{P, As}$ ) は  $\text{Fe}-Pn$  面を伝導面にもち、F-doped  $\text{LaOFeAs}$  は onset で 32 K の  $T_c$  を示すことが最近報告された。 $\text{LaOFeP}$  はオンセット  $T_c \sim 8\text{K}$  の超伝導体であるが、 $\text{Fe}-P$  層はたとえば銅酸化物超伝導体の  $\text{Cu}-\text{O}$  層に比べ、圧力に対し大きく変化することが期待された。電気抵抗の圧力効果を測定し、 $T_c$  の圧力効果を調べたところ 12GPa で約 13K まで上昇することがわかった。圧力発生装置はピストンシリンダー、キュービック、ダイヤモンドアンビルである。また、高圧 X 線回折実験からは面に垂直な c 軸が a 軸に比べ、高圧下で大きく圧縮されることがわかった。一方、 $\text{LaO}_{1-x}\text{F}_x\text{FeAs}$  は非常に大きな圧力効果を示し、4GPa で 43K まで  $T_c$  が上昇することがわかった。

(3)  $\text{CaCu}_3\text{Fe}_4\text{O}_{12}$  の高圧下でのメスバウアー分光と電気抵抗測定

$\text{CaCu}_3\text{Fe}_4\text{O}_{12}$  は高い原子価  $\text{Fe}^{4+}$  を伴うペロブスカイト型鉄酸化物である。メスバウアー分光によって、約 220 K 近傍で電荷分離 ( $2\text{Fe}^{4+} \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{Fe}^{5+}$ ) および磁気秩序が同時に起こることがわかっている。また、電気抵抗は約 220 K 近傍から大きく増加し始める。さらに、220 K から 200 K までの温度範囲で、磁気秩序していない  $\text{Fe}^{4+}$  と磁気秩序している  $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Fe}^{5+}$  の共存相の存在が確認されている。本研究では、電荷分離、磁気秩序および電気抵抗の圧力効果について調べた。

電気伝導・磁性・電荷分離の圧力効果を調べるために、高圧下で電気抵抗測定と  $^{57}\text{Fe}$  メスバウアー分光測定を行った。高圧発生装置にはダイヤモンドアンビルセルを用いた。電気抵抗とメスバウアー分光測定は、それぞれ圧力範囲は 0.5 GPa から 28 GPa、大気圧から 50GPa まで行った。

室温・高圧下におけるメスバウアー分光を解析した。4 GPa までの圧力では、圧力印加に対し singlet 1 成分の常磁性を示した。5 GPa まで加圧すると siglet 1 成分の常磁性成分の裾に、僅かに磁気秩序した sextet 成分が含まれ、6.5 GPa まで加圧すると singlet の常磁性成分と 2 種類の鉄の価数の異なる磁気秩序した sextet 成分がはっきりと現れた。この結果から、磁気秩序と電荷分離が同時に起こるものと考えられる。7 GPa まで加圧すると、常磁性成分は完全に消滅し、磁気秩序した sextet 2 成分のみになる。15 GPa のスペクトルは、7 GPa と同様に磁気秩序した sextet 2 成分であるが、内部磁場が大きくなっている。そのため、磁気転移温度が更に上昇していると考えられる。30 GPa まで圧力を加えると、磁気秩序した成分は無くなり、主に doublet 1 成分で解析できる。

今後の研究は、様々な圧力下で温度変化をさせてメスバウアー分光測定を行い、キュリー温度の圧力依存性を詳しく調べる予定である。

注：必要に応じて、このページをご使用ください。

部科校名：理工学部

氏名：山本 寛

研究の結果 (つづき)

成果論文

1. T. Hosoya, H. Takahasi, D. Yamada, and S. Todo, "Pressure Effects on Magnetic Susceptibility in  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ", Supplement A to the Journal of the Physical Society of Japan, Vol 76 (2007) 108-109.
2. Y. Matsunagaa, F. Nakamura, H. Takahashib, and T. Hashimoto, "Analysis of relationship between magnetic property and crystal structure of  $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{CrO}_3$  ( $x=0.13, 0.15$ )", Solid State Communications 145 (2008) 502-506.

注：必要に応じて、このページをご使用ください。

注：課題番号を記入してください。

## 平成19年度 学術研究助成金実績報告書

平成 20年 4月 1日

日本大学 総長 殿

氏 名 網 島 均



所属・資格 生産工学部 ・教授

下記のとおり報告いたします。

1 種目	奨励研究/一般研究(個人)/一般研究(共同)/ <u>総合研究</u>	注：該当する種目を○で囲んでください。
2 研究課題	脳神経活動と運転行動に基づく高安全度運転支援に関する研究	
3 研究の目的	平成18年度採択の日本大学学術研究助成金（総合研究）「運転操作／支援と脳・自律神経活動に関する基礎的研究」において、運転行動と脳・自律神経活動に関する基礎的データの収集を実施している。本研究では、本研究ではfNIRSとfMRIの同時計測により、暗算課題を用いて、脳機能計測による客観的評価と、被験者自身の主観的評価により作業負荷を評価し、適切な運転支援を行う上での作業負担を脳機能から評価する方法を検討する。	
4 研究の概要	近赤外光脳機能イメージング装置を使用し、自動車運転時の生体情報計測実験を行う。また、近赤外光脳機能イメージング装置によって得られた結果の妥当性を検証するために、機能的磁気共鳴画像を用いてfNIRSとfMRIの同時計測実験を行う。研究内容としては以下の項目を実施する。1) 脳神経活動からの意図の検出2) 操作からの意図の検出3) 運転支援方策の検討	
5 研究組織(共同研究・総合研究のみ該当します)	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 研究代表者 網島 均</li> <li>・ 研究分担者（役割分担） <ul style="list-style-type: none"> <li>泰羅 雅登（脳機能評価）</li> <li>中村 英夫（機械の信頼性評価）</li> <li>内堀 朝子（言語インタフェース）</li> <li>塩澤 友規（脳機能・自律神経活動計測）</li> <li>丸茂 喜高（ヒューマンファクタ評価）</li> <li>稲垣 敏之（運転行動モニタリングとその評価）」</li> </ul> </li> </ul>	

部科校名：生産工学部

氏名：綱島 均

## 6 研究の結果（総合研究の研究代表者は、4,000字以上記入してください。）

## 1. 緒言

近年、ドライバの運転支援システムの研究・開発が行われ、実用化もされている。しかし、運転者の集中力の低下などにより、予期せぬ事故が引き起こされる可能性も考えられるため、ドライバの運転時の注意の評価をする必要がある。特に、認知・判断などの作業負荷時の高次脳機能を明らかにする必要がある。脳活動を非侵襲的に計測する方法には、機能的磁気共鳴画像（fMRI：functional Magnetic Resonance Imaging）や機能的近赤外分光法（fNIRS：functional Near-Infrared Spectroscopy）がある。fMRIは、磁気を用いて脳内の酸素化ヘモグロビン濃度変化を測定する方法である。fNIRSは近赤外光を用いて、血液中の酸素化ヘモグロビン（oxyHb）、脱酸素化ヘモグロビン（deoxyHb）の変化量を測定する装置であり、大脳の機能局在を広範囲にマッピングして評価することが可能である。体動の制限が少なく、被験者に自然な状態で実験が行えるため、このような評価を行う上で有望な方法である。

本研究ではfNIRSとfMRIの同時計測により、暗算課題を用いて、脳機能計測による客観的評価と、被験者自身の主観的評価により作業負荷を評価し、その内容と結果について述べる。さらに自動車運転への適用を考慮して、ドライビングシミュレータを用いて、運転中の脳活動の計測を行った結果について報告する。

## 2. 脳機能計測

## 2.1 機能的近赤外分光法（fNIRS）の原理

機能的近赤外分光法は、光を用いて脳血流の変化を計測することによって間接的に脳の活動を捉える非侵襲的計測法である。神経活動が生じることにより局所脳血流が増加し、血中のヘモグロビン濃度が増加する。機能的近赤外分光法は、波長700～900nmの近赤外光を組織に照射することにより透過光、散乱光から酸素化ヘモグロビン（oxy-Hb）および脱酸素化ヘモグロビン（deoxy-Hb）の濃度変化を計測できる。

## 2.2 機能的磁気共鳴画像（fMRI）の原理

fMRIは強い静磁場をかけることで、脳の構造と活動の同時計測を間接的に捉える非侵襲的計測法である。神経細胞が活動すると、組織のぶどう糖と酸素の代謝要求は増加し、血流量や酸素を失った脱酸素化ヘモグロビンも増加する。このように脳活動を間接的に反映している生理現象をMR信号変化に結びつけることがfMRIの撮像原理である。

## 3. 暗算課題時の脳機能計測

## 3.1 ワークロードの設定

作業負荷時の高次脳機能計測として暗算課題を用いた。暗算課題は難易度低・難易度中・難易度高とし、以下のように設定した。

難易度低タスク：1桁の繰り上りの無い足し算

（例）  $3 + 5$

難易度中タスク：3つの数字の足し算

（例）  $6 + 5 + 9$

難易度高タスク：小数点の引き算と割り算

（例）  $234 \div (0.61 - 0.35)$

部科校名：生産工学部

氏名：綱島 均

### 3.2 実験方法

暗算課題を作業負荷として、脳機能計測を行った。実験のデザインを図1に示す。実験はタスク・レストの順番で、1セットをタスク28秒とレスト36秒で難易度低・中・高を各三回ずつランダムで配置し、合計9セット、592秒行った。

被験者にはタスク時の28秒間は、難易度低を2秒間隔14問、難易度中を2.8秒間隔10問、難易度高を14秒間隔2問でPC画面に提示される問題を見て、声に出さずに解答させることとした。レスト時36秒間は、PC画面に提示される十字記号を注視させた。被験者は健康な20代から40代の女性と男性、計9名とした。7×3の32チャンネルの光ファイバを前頭部に配置し、fMRIとの同時計測を行った。

### 3.3 NASA-TLXによる作業負荷の評価

本実験では、暗算によるワークロードをfNIRSによる客観的評価との相関を測るために日本版NASA-TLXにより、被験者のメンタルワークロードの測定を試みた。NASA-TLXは精神的要求、身体的要求、時間的要求、作業成績、努力、フラストレーションの6つの尺度から構成されている。被験者はワークロードを評価する前に、自分がその作業を遂行する際のワークロードの要因として、どちらがより重要と思われるか、という基準で尺度の重要度を一対比較する。

15回の一対比較の判断の中で何回選択されたかが各尺度の重みとなる。作業のワークロードを評価する際には、被験者は6つの尺度ごとに両極端の間に引かれた線分の中の適当な位置に印をつける。

印の位置を0～100の評価として読み取り、これに一対比較によって定められた尺度ごとの重みをかけて平均したものがWWL得点である。

## 4. 脳機能計測結果とその解析

### 4.1 多重解像度解析

一般に脳が賦活してもとに戻る場合のoxy-Hbとdeoxy-Hbの変化は、oxy-Hbが上昇し、deoxy-Hbが減少するパターンをとることがわかっている。fNIRSの信号は、血圧変動・心拍・体動変化の影響や、測定装置のノイズなど脳活動に由来しない信号も含むため、詳細な評価を行うためには、これらを分離する信号処理が必要になる。

ウェーブレット変換は、マザーウェーブレットと呼ばれる小さな波を平行移動、伸縮させて解析したい波形の局所的な様子を表し、これを元に波形を解析していくものである。通常、離散ウェーブレット解析の2進格子配置は、正規直行となるように選ばれる。これにより、原信号の完全な再生が冗長なしに可能になる。

多重解像度解析は、離散ウェーブレット変換を用いて信号を階層構造に分解するものである。対象の波形をいくつかの近似成分（低周波数成分）と詳細成分（高周波数成分）に分解する。

### 4.2 fNIRS信号の分解と再構成

タスク、レストの反復が64秒であるので、 $d_1$ 成分がタスクに関連する変動の中心成分となる。そこで、タスクに関連する $d_1$ 、 $d_6$ 、 $d_9$ を加算して信号を再構成した。暗算課題遂行時にoxy-Hbが上昇し、deoxy-Hbが減少する脳活動パターンが観察され、脳が賦活していることが確認された。

### 4.3 解析結果

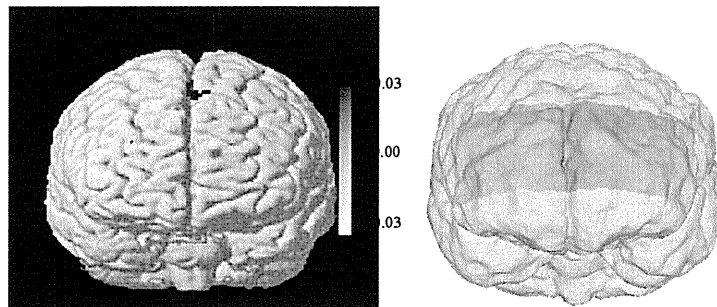
再構成したfNIRS信号から作成した脳機能画像を脳の形態画像に表示したものと、fMRIによる脳機能画像、難易度高の暗算課題遂行時の脳機能画像を図1に示す。

fNIRS脳機能画像の結果より、前頭前野背外側において難易度低・中・高の順番に脳活動も上昇していることが確認できる（図中の黒色部分）。またfMRI脳機能画像の結果から、難易度が上がると脳の活動が広範囲になり、活動も上昇している（図中、脳表の黒色部分）。また、fNIRS画像とfMRI画像を比較すると、NIRSマッピングでの脳活動位置とMRI画像による脳活動の位置が、ほぼ一致していることがわかる。

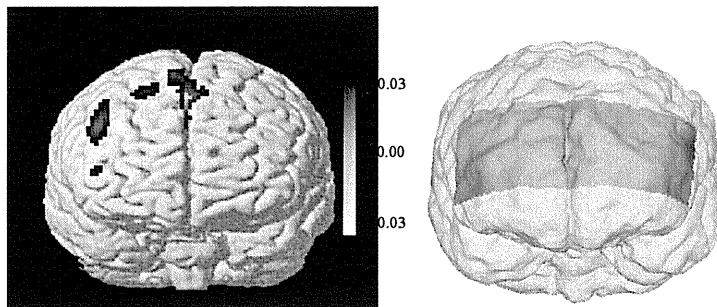


部科校名：生産工学部

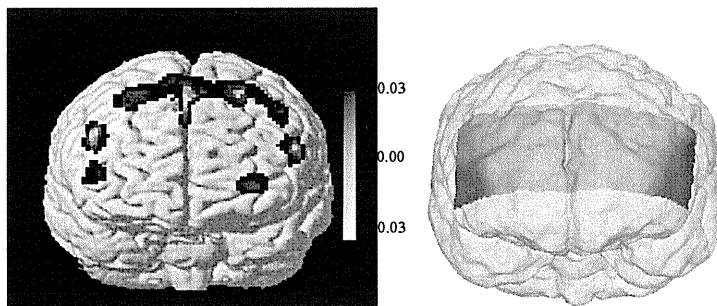
氏名：網島 均



(a) 低難易度の暗算



(b) 中難易度の暗算

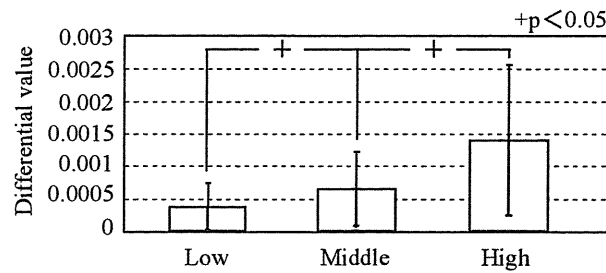


(c) 高難易度の暗算

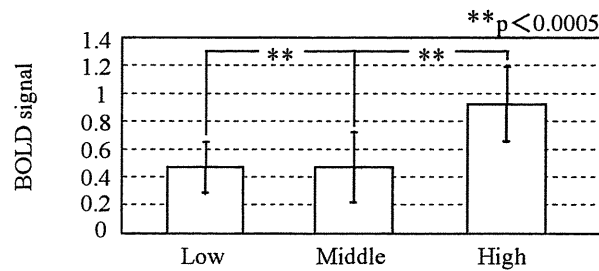
図1 暗算負荷時の脳機能画像 (fMRI と fNIRS の比較)

部科校名：生産工学部

氏名：綱島 均



(a) fNIRS 信号の微分値



(b) BOLD 信号

図2 多重比較結果

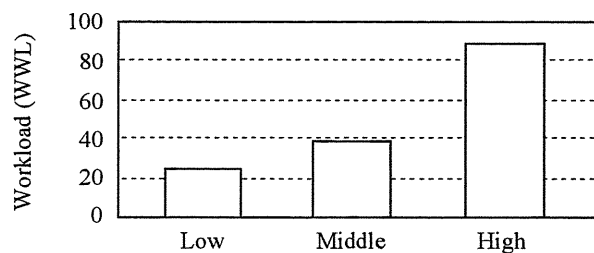


図3 NASA-TLX によるワークロード評価

fNIRS 信号は相対値であり、評価するに当たって、脳活動の数値化が必要になる。そこで再構成した fNIRS 信号の、同じ難易度の oxy-Hb の信号を加算平均して、単位時間当たりの傾きの最大値を難易度別に求めた。なお、難易度低の一回目のタスクは、実験開始したことによる賦活の影響があるので、解析から除外した。

再構成した fNIRS 信号から求めた微分値と、BOLD 信号を、被験者 9 名の平均値について多重比較による検定を行った結果を図 2(a), (b) に示す。

その結果(a), (b) 両方において、難易度低と難易度中、難易度低と難易度高で優位な差がみられた。また図 2(a), (b) の脳機能計測による客観的評価の結果と、図 3 の NASA - TLX による作業負荷の主観的評価の結果を比較すると、相関が確認できた。これらの結果から、fNIRS より得られた脳血流信号から、ワークロードを評価できる可能性があることが示された。

## 5. 自動車運転時の脳機能計測

### 5.1 運転課題

fNIRS を用いて、運転操作に対応する脳活動を捉えられるかどうか検討するため、発進と停止を繰り返し、運転課題を設定した。被験者は図 4 のような運転画面で実験を行った。口頭による合図を受けて発進させ、市街地の直線道路を 40km/h で走行し、次の交差点の停止線手前に停止させる。これを 20 秒間ずつ 4 回繰り返し、全体で 200 秒の運転課題とした。実験にはドライビングシミュレータを使用し、ドライバの脳機能計測を行った。脳機能計測と合わせてドライバの運転操作を記録した。被験者は健康な 20 代男性、計 9 名とした。9×3 の 42 チャンネルの光ファイバを配置して前頭部の脳血流変動を計測した。

部科校名：生産工学部

氏名：綱島 均



図4 ドライビングシミュレータによる実験

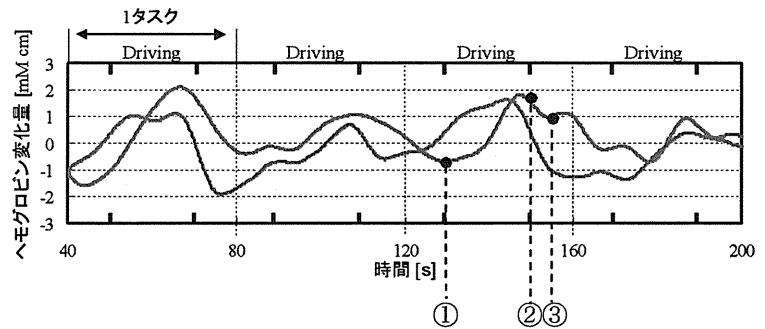


図5 33チャンネルのzスコア (被験者6名の平均)

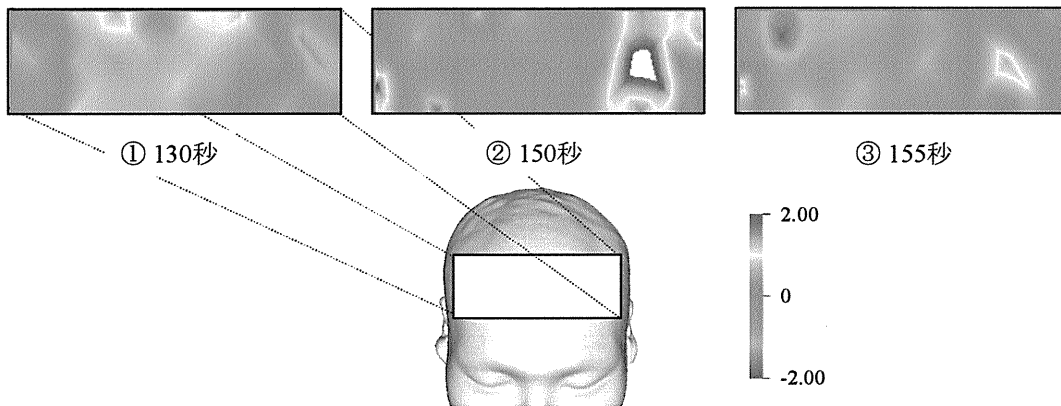


図6 zスコアによるマッピング結果 (被験者6名の平均)

## 5.2 解析結果

再構成した信号 (27 チャンネル) と車両速度の関係を図5に示す。運転課題遂行時に脳活動パターンが観察され、脳が賦活していることがわかる。また、図6に示す脳機能画像から、①の運転開始時には低かった脳活動が、②の運転課題終了時には前頭前野両外側部で脳活動が上昇していることがわかる (図中の白色部分)。また③の停車中には左右両外側部で  $\text{oxy-Hb}$  が低下していることから、走行中に賦活した部位がもとの状態に戻るため  $\text{oxy-Hb}$  が低下していると考えられる。列車運転士を対象とした実験においても、ブレーキ操作後と同じ部分の活動が上昇されていることが報告されている。このことは、ブレーキ操作が、前頭連合野背外側部と強く関連しているものと考えられる。

## 6. まとめ

暗算課題による作業負荷時の被験者の脳活動を機能的近赤外線分光装置 (fNIRS) と機能的磁気共鳴画像 (fMRI) により計測した。fNIRS 信号を、ウェーブレット変換を用いた多重解像度解析により分解、再構成し、再構成した fNIRS 信号から作成した脳機能画像と MRI 画像を比較した。その結果、前頭前野背外側部で暗算難易度の上昇による脳活動が fNIRS, fMRI で確認された。

fNIRS 信号の微分値、BOLD 信号をそれぞれ多重比較により検定した結果、有意差が確認できた。また、NASA-TLX によるワークロードの主観評価と比較した結果、fNIRS と fMRI の信号が NASA - TLX より得られたワークロード得点と相関していることが確認できた。この結果から、fNIRS より得られた脳血流信号から、作業負荷を評価できる可能性があることが示された。


ドライビングシミュレータを用いた実験より、運転中に前頭前野背外側部の脳活動が上昇することがわかった。今後は、運転課題において注意や認知・判断などの作業負荷時の脳活動を、fNIRS を用いて評価していく予定である。

注：課題番号を記入してください。

## 平成19年度 学術研究助成金実績報告書

平成 20年 4月 1日

日 本 大 学 総 長 殿

氏 名 神 田 亮   
生産工学部  
所属・資格 建築工学科 准教授

下記のとおり報告いたします。

1 種目	奨励研究/一般研究(個人)/一般研究(共同)/ <u>総合研究</u>	注:該当する種目を○で囲んでください。
2 研究課題	揺れによる低頻度大災害の心理的・物理的・経済的リスクマネジメント	
3 研究の目的	本研究の目的は、自然現象が引き起こす大災害を如何に軽減し安全な生活環境を維持するかを、工学的な立場のみならず、社会学のおよび心理学的な側面から検討し、それを理論的に検証することである。	
4 研究の概要	本研究では、多方面のアプローチをうまく研空に組み込みお互いの成果を反映させながら研究を遂行するため、WGを設ける。そのWGは、WG1：リスクに関する評価と社会的心理、WG2：揺れの心理的評価、WG3：リスク軽減のための居住空間の構築、WG4：リスクアセスメントとライフサイクルコストである。	
5 研究組織（共同研究・総合研究のみ該当します）	<ul style="list-style-type: none"> <li>・研究代表者 神田 亮 研究の総まとめ、リスクアセスメントとライフサイクルコスト</li> <li>・研究分担者（役割分担）</li> <li>○ 研究分担者（学内） 小野 清秋 リスク軽減のための居住空間の構築 鳥居塚 崇 揺れの心理的評価 中村 卓史 リスクアセスメントとライフサイクルコスト 吉田 典正 揺れの心理的評価 渡辺 亨 リスク軽減のための居住空間の構築 時田 学 リスクに関する評価と社会的心理</li> <li>○研究分担者（学外） 大鳥 靖樹 リスクに関する評価と社会的心理 菊池 真弓 リスクに関する評価と社会的心理 八木 絵香 揺れの心理的評価</li> </ul>	

※ホームページ等での公開の  (可)・否) いずれかを○で囲んでください。否の場合は、理由書を添付して下さい。

部科校名：生産工学部

氏名：神田亮

## 6 研究の結果（総合研究の研究代表者は、4,000字以上記入してください。）

研究計画書でも記述したように、この研究グループでは、多方面のアプローチをうまく研空に組み込みお互いの成果を反映させながら研究を遂行するため、4つのWGを儲け、そのWGごとに研究を遂行した。さらに、年数回の打ち合わせ会を開催し、各WGの情報交換を行い、その情報をもとに、研究遂行について若干の修正を行った。以下に、WGごとに平成19年度の研究成果を報告する。

## WG1：リスクに関する評価と社会的心理

建築構造物が地震等の外乱を受けた場合の、居住者のリスク認知の把握を目的としている。偶然にも、本プロジェクト遂行中に、災害を伴う大規模な地震である新潟県中越沖地震が発生したため、被災地の住民へのヒアリング、およびアンケートにより研究を進めた。具体的には、地震発生時における住民の安全・安心に対する意識の把握、避難所における安全・安心に対する意識の把握、および災害発生時（避難所への避難時）におけるコミュニティの運営方法の把握を行った。なお、避難所に関わるものについては、安全・安心に加えて、快・不快の把握も行った。

上記の目的のもと、新潟県柏崎市内のコミュニティセンターおよそ30ヶ所のうち、中越沖地震発生時に避難所を開設したコミュニティセンター20ヶ所における、コミュニティセンター長およびセンター主査を対象にヒアリング調査を行った。また、各コミュニティセンターにつき20名ずつの住民とセンター職員3名ずつを対象に、アンケート調査を行った。

地震発生時における住民の安全・安心に対する意識については、倒壊した建物が多数であったことや、身近に倒壊した建物が存在するケースが多かったこと、建物は倒壊しないまでも室内の大型家具が著しく移動したり「飛んだ」りしたことなどから、安全が確保されなかったと捉えている住民が多く、大きな地震が発生しても倒壊しないような、さらには室内の大型家具が大きく移動することのないような建物が望まれていた。少なくとも、一般住宅については、安全の確保が可能な建物の普及が必須であることが判った。

避難所における安全・安心に対する意識について、避難所はすべて倒壊に至らなかったものの、倒壊の危険度が高いために避難所開設に至らなかった建物1棟、避難所として開設されたが筋交いが大きく歪んだものや床に浪打が発生したもの数棟など、非常に大きな損傷を受けていた避難所が散見された。このような建物は、ともすると避難所の役割を果たさなくなる可能性があったため、避難所になりうる建物については、避難住民の安全を確保すべく、相応の耐震性能を確保する必要があると考えられた。また、照明等の落下を防ぐなど二次被害の防止も想定した設計が必要であることが判った。加えて、避難したものの、不安を抱く住民、不満（不快）を抱く住民が散見されたとの報告も多かったことから、安全の確保はもちろん、避難所としては安心や快適についても考慮する必要があることが判った。

災害発生時（避難所への避難時）におけるコミュニティの運営方法については、避難所の運営がスムーズだったコミュニティとそうでないコミュニティの相違と、その要因が明らかとなった。具体的には、コミュニティの指揮系統や、情報の在り方、およびコミュニティ内のつながりの度合いがキーワードとなっていることが判った。また、近い将来に予想される都市圏に発生するであろう大地震を想定し、いくつかの地方、地域において、コミュニティ内のつながりに関する調査を並行して行い、その相違点や共通点について検討した。

以上、分析が現在進行中のものも幾つか存在するため、平成20年度には、計画中の研究と並行して、平成19年度に収集したデータの解析および考察を行うこととする。

部科校名：生産工学部

氏名：神田亮

## WG2：揺れの心理的評価

地震や台風などの自然災害大国日本では、それらに起因する建物の揺れを抑制する装置である制振・免振装置が発達している。その評価法としては、建築構造学的な物理的測定がほとんどであったが、人間に与える心理的な影響も加味した、感性工学的な評価方法の検討が今後は必要になろう。そこで、そのような評価方法の構築を目標に「ユラユラ」「グラグラ」などの揺れを表現することばの質的評価を行うことを目的として、研究を進めた。

## ①人間が揺れを認識するメカニズムを認知的観点から明確化

本研究の前提となるべき理論を認知心理学的観点から構築した。揺れ発生による環境の変化か、揺れに起因する印象を人間が抱くまでのプロセスについて、認知的観点から検討しモデル化した。

## ②揺れを表現する言葉の整理

産出法による実験によって、揺れを表現することば（オノマトペ）がどのような動きとしてイメージされているかを明らかにした。具体的には、揺れの周波数や振幅の大きさ、あるいは揺れの特性などと、揺れを表現することばとの関係を明らかにした。具体的には、揺れの大小や恐怖感との関係を左右する要因として揺れの周波数の大きさが関係していること、揺れの大きさや恐怖感に影響を与えている要因として揺れにより発生する音や聴覚による影響も考えられることが判った。

## ③揺れの視覚的評価

コンピュータ・グラフィックスによって、スクリーン上に揺れを発生させるシステムを構築し、実験を行う。平成 19 年度は、提示装置の選定および設置、ならびにある部屋をモデルとした揺れを発生させるプログラムの開発を行った。しかしながら、実験で用いるにはさらなる改善が必要であり、平成 20 年度は前半のシステム完成に向け、研究開発を進めている。

このほかに調査を実施したが、その調査は、2007 年度 I 大学・K 大学の講義受講学生 227 名を対象として、地域へのイメージ、地域ネットワーク、防災意識などの地域のつながりをテーマに調査票調査を実施したものがある。大学生の地域へのイメージは、「お祭りなどを通じた世代間交流」、「町内会での情報交換」が約 4 割であった。次に、近所の人との関係をみると、「挨拶をするくらい」が約 5 割で、単身世帯の場合「知らない」と回答した割合が高い傾向であった。一方、防災意識をみると、大地震への対策を「特に何もしていない」割合が約 5 割を占めていた。以上の結果から、大学生などの単身者も含めた地域のネットワーク化、緊急時の備えと情報提供が今後の課題といえる。

## WG3：リスク軽減のための居住空間の構築

WG3 の目的は「リスク軽減のための居住空間の構築」であるが、ここでは風・地震による建物の振動を最大のリスクとみなし、それを軽減しうる制振システムの構築を目指している。この目標に沿い、既存あるいはこれから開発される様々な制振システムの公平な評価を行うことのできるソフトウェアプラットフォームを開発することを最初の具体的な目的としている。

本年度はその目的に沿い、以下の 2 つの作業を行った。

- (1) リスク低減効果を評価するソフトウェアプラットフォームの開発
- (2) 風力係数の実験的同定

以下、それぞれの本年度の成果を報告する。

リスク低減効果を評価するソフトウェアプラットフォームの開発

## (a) プラットフォームが具有すべき性質

ソフトウェアプラットフォームを開発するにあたり、最初に「そのようなソフトウェアが備えているべき性質」について WG 内で検討を行った。その結果 (1) 公平性, (2) 汎用性, (3) 簡便性, (4) 互換性の 4 つの性質が重要であるとの結論を得た。

部科校名：生産工学部

氏名：神田亮

まず最も必要とされる性質が「公平性」である。様々な制振システムは異なる設計思想・制振メカニズムに基づいており、評価の際に特定の手法に対し有利・不利となるような事態は可能な限り避けなければならない。このため、特定の特性に偏らない多様な外乱入力・特異的な挙動を示さない平均的な制御対象・多角的な評価項目を組み合わせることで、できるだけ多くの観点からできるだけ公平に評価できるような問題設定とする必要がある。

この「公平性」と表裏一体の関係にあるのが「汎用性」である。特定の手法に対し有利・不利にならないということは、裏を返せばそれだけ多くの手法が適用可能でなければならないということである。このため、異なる制御メカニズム（せん断力、曲げモーメント、ねじりモーメント等）・異なる想定（対風/対地震、線形/非線形等）・異なる制御目標（崩壊防止、快適性向上等）に対しても適用/評価が可能となるような汎用性を有している必要がある。

ところで、ソフトウェアプラットフォーム設計者が公平性・汎用性のみを考慮するならば、必然的にそれはあらゆる手法・あらゆる想定・あらゆる評価を単純に加えた「論理和」となろう。一方、一般に制振システムの設計においては、性能を高めるためには相当程度の試行錯誤を行う必要がある。過大な複雑性は制振システムの設計を阻害し、偏った評価をもたらす可能性が低くない。従って、公平性・汎用性を保ちつつも極力簡素化を目指す、言わば「論理積」的なアプローチにより可能な限り簡素化することによる簡便性を持たなければならない。

以上3つの技術的な必須条件であったのに対し、「互換性」はむしろ社会的な要請である。当WGの目的「リスク軽減のための居住空間の構築」の実現のためには様々な制振システムの評価が不可欠であり、そのためには当WG内のみならず広く社会（大学・企業・研究所など）でこのソフトウェアプラットフォームを用いられることが望ましい。その際、本プラットフォームが「以前の事例を参考としうる」「以後の設計の参考となる」ようであれば、「技術継承のための共通プラットフォーム」としての価値が現れることとなる。このような観点から、既存の評価方法や想定との間の互換性は重要である。

#### (b) プラットフォームの全体設計

以上の議論をふまえ、ひきつづき具体的なソフトウェアプラットフォームの設計に関する検討を行い、既存のプラットフォームとの比較を踏まえ、以下のような方針で開発を行うことを決定した。

- (1) 近接する複数建物を対象とする
- (2) 地震と強風、双方の外乱を考慮する
- (3) 建物モデルでモーメントを扱えるようにする

(1) を採用した理由は、既存のプラットフォームを検討した結果、その全てが単一の構造物を対象としており、適用可能な制振手法が限定されること、また風外乱で大きな問題となるビル相互の空気力学的干渉による影響を全く考慮できないという制限があることを見出したためである。そこで近接する複数棟を対象とすることで、それらの制限を取り除くことを目指した。その具体的なモデルとして、東京・晴海の「晴海トリトンスクエア（3棟の超高層ビルが近接して建っている）」を想定した。

次に(2)においては、台風のような強風によるリスクと、地震によるリスクとが共に存在するという我が国の事情に鑑み、既存のプラットフォームのように強風・地震を個別にリスク評価するのではなく、両者を統一的に評価することを目指すために決定された。

この方針に沿い、さらに具体的に想定する地震外乱について検討した。その結果、地震波の入力レベルおよび周波数特性は、原則として建設省告示第1461号に則って定めることとし、その入力レベルは、稀に発生するレベル1相当と極稀に発生するレベル2相当とした。また、他のベンチマークとの互換性も考慮し、実在する波形記録もいくつか採用することも決定された。

一方、風外乱についても同様に、その入力レベルおよび周波数特性は、日本建築学会荷重指針に従い定めるものとし、稀に発生するレベル1相当と極稀に発生するレベル2相当とした。ただし風外乱については、その性質上風洞実験による風力係数の測定が必須であり、本年度にその測定を行った（これについては後述）。

部科校名：生産工学部

氏名：神田亮

(3) を決定した理由は、既存のプラットフォームが、部材の曲げ・せん断・モーメントを含む複雑な構造力学モデルか、単純なせん断のみを考慮した集中質量モデルの何れかであることを踏まえ、前者は簡便性に欠け、後者は汎用性に乏しいと判断したためである。両者の中間、すなわち比較的簡便でかつ汎用性に富む力学モデルとして、構造物の床面各層にばねと質点を配置する多質点・多自由度モデルとし、これにせん断変形と曲げ変形双方を表現させるため、各層では水平2方向にせん断ばねと回転ばねを配置するものとした。すなわち、各床面は水平2方向および回転の合計4つの自由度を有している。

#### (c) プラットフォームの開発

以上の設計方針の下に、実際のソフトウェアプラットフォームの開発を行った。渡辺・大鳥らが以前に開発した「地震外乱に対する複数建物のベンチマークソフトウェア」を土台とし、これに風外力を含められるようにプログラムを改造することで比較的短期間で開発を終了する見込みであったが、実際には土台となる「ベンチマークソフトウェア」が最新のコンピュータシステムと適合せず、これに適合するようデバッグすることに予想以上の時間を要し、開発完了には到らなかった。しかしソフトウェアプラットフォームの核となる、構造力学部の開発には成功した。現在はひきつづき風外乱・地震外乱の組み込みに注力している。

#### 風力係数の実験的同定

前項(b)において言及した通り、ソフトウェアプラットフォームに組み込むべき風外力の設定のために必要な風力係数の、風洞実験による実験的測定を行った。

風洞実験における測定項目は各層に作用する風力係数の時刻歴である。ただし、各層風力の時刻歴を精度良く直接測定することは技術的困難であるため、多点同時風圧計測システムを使用して各層の代表点の風圧を計測し、各軸方向の風力に換算する。

使用する風洞は日本大学生産工学部所有のエッフェル型乱流境界層風洞であり、その主な仕様は、測定部断面：高さ1.8m×幅：2.2m、ターンテーブル直径：2.0m、最大風速：約25m/sである。1/250～1/600までの自然風を精度良く再現可能である。風洞実験における実験方法の概略を以下に述べる。

##### (1) 相似条件

本実験における測定項目は、前項で示したように各層に作用する風力係数の時刻歴である。ここで満足すべき風洞実験の相似条件は、以下のものを対象とする。

- ①幾何学的相似条件：建物外形寸法を幾何学的に相似させる。本実験での幾何学的縮尺率は1/500とする。なお、自然風の特徴は、学会指針による。
- ②運動力学的相似条件：自然風の相似条件として、「平均風速」「乱れ強さ」「境界層高さ」「乱れのスケール」「風速のパワースペクトル」について相似させる。
- ③力学的相似条件：本実験では、模型自体の変形や振動までは評価しないので、構造力学的相似条件は考慮しない。また、評価対象の建物は角ばった形状をしているため、周辺の流れ性状はレイノルズ数にあまり影響を受けないと考えられる。よって、レイノルズ数の一致条件は考慮しない。

##### (2) 自然風の模擬方法

いずれの風向も学会指針に示される地表面粗度区分Ⅱとする。本実験ではボルテックスジェネレーターやラフネスブロックを風洞風路上に設置し、自然風を模擬する。

##### (3) 模型

模型の縮尺率は1/500とする。各棟の形状は厳密には再現せず、高さをそれぞれ模型寸法で390mm, 350mm, 310mm (実スケールで195m, 175m, 155m) とした三つの角柱状建物として作製する。



部科校名：生産工学部

氏名：神田亮

風圧測定点は、図に示すように上層部は1辺あたり7点、下層部は1辺あたり5点とし、3棟の模型表面に合計456点設ける。測定点の配置については、特に隅角部付近では局所的に大きな風圧が発生することがあるので、間隔を細かくする。また、本実験では応答解析用の風荷重を求めるのが目的であるため上層部の風荷重がより重要であることと、3棟の高さがそれぞれ異なるため上層部では非常に複雑な風圧分布性状が予測されるため、下層部よりも上層部に測定点の数を多く配置する。

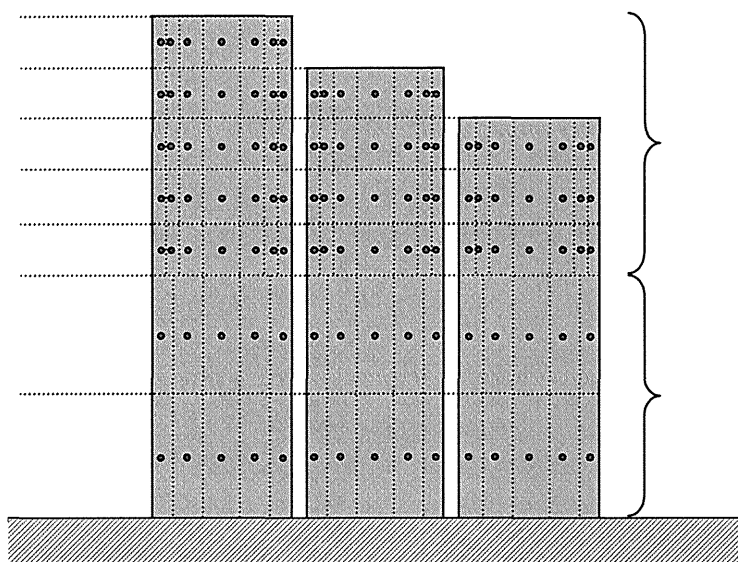


図 風圧測定点の配置

以上の設定の下で測定を行い、風力係数を得た。これにより風荷重指針に基づく風外乱の再現が可能となった。現在、ソフトウェアプラットフォーム側と風外力データのデータ形式に関する検討を行っており、規格が確定し次第風外乱波形を生成しプラットフォームに組み込む予定である。

部科校名：生産工学部

氏名：神田亮

## WG4：リスクアセスメントとライフサイクルコスト

WG4 では、高層免震建物を対象にして、地震荷重と風荷重の相反性に対して、確率的アプローチを用いた合理的な構造パラメータの決定法を提案開発し、いくつかのタイプの高層免震建物に適用した。成果の概要は次のようなものである。

本推定法は構造パラメータに対するトレードオフ解析により、その最適な構造パラメータ領域を探す方法である。トレードオフ解析は、構造物のクライテリアに対する応答値の超過確率に対して行う。設定したクライテリアに対する超過確率は応答の最大値分布から求め、最適な構造パラメータを推定していく。下図に本推定法のフローチャートを示す。

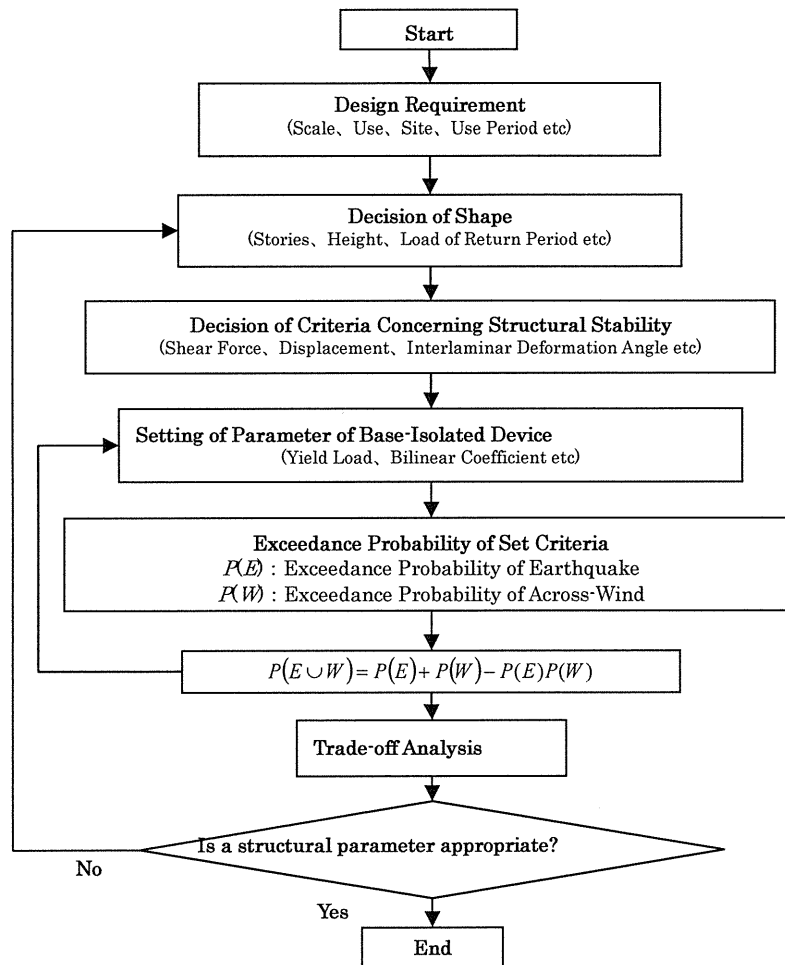


Fig. Flow Chart of Estimation of the Optimum Structural

部科校名：

氏名：神田亮

## 超過確率

今回、トレードオフ解析は構造物のクライテリアに対する応答値の超過確率を用いて行う。今回、地震外乱により応答値がクライテリアを超過する事象を  $E$ 、風直交方向外乱により応答値がクライテリアを超過する事象を  $W$  とする。各事象は独立であると仮定すると超過確率  $P(E \cup W)$  は以下のようになる。

$$P(E \cup W) = P(E) + P(W) - P(E)P(W) \dots (1)$$

ここで、 $P(E)$ 、 $P(W)$  はそれぞれの事象  $E$ 、 $W$  に対する確率とする。 $P(E)$ 、 $P(W)$  はトレードオフの関係にあると考えられるため、式(1)により求められた超過確率  $P(E \cup W)$  が最小となる構造パラメータ付近を最適な構造パラメータ領域とする。超過確率  $P(E \cup W)$  は  $P(E)$ 、 $P(W)$  を各々応答の確率分布から算定し、式(1)により推定するのが合理的である。応答の確率分布を推定する方法は耐震、耐風工学の分野においていくつか提案されているが、ここではモンテカルロシミュレーション（以下、MCS）を適用する。

MCS はある確率変数に対する既知の確率分布から他の確率変数に対する未知の確率分布を求める方法である。ここでは、外乱の地動速度及び頂部風速の  $n$  年最大値分布を既知とし、対象とする構造物の応答値から応答の最大値分布を求める。一回のシミュレーションでは確率分布に従って発生させた確率変数の値を用いて地震及び風外乱を作成し、時刻歴応答解析により構造物の応答値を求める。これを繰り返し行い応答の最大値分布を作成する。作成された最大値分布から、設定したクライテリアに対する  $P(E)$ 、 $P(W)$  を各々算定する。

## 外乱の最大値分布モデル

MCS で既知とする外乱の最大値分布は対象とする構造物の供用期間を  $n$  年とし、 $n$  年最大値分布とする。 $n$  年最大値分布を作成する際は、年最大値分布の確率分布関数を設定し、その逆関数を用いて発生させた乱数により求めた確率変数の値を用いる。

## 地震外乱の最大値分布

地震外乱では工学基盤上での 1 つの地震波形の最大速度値が年最大値分布に従うとする。年最大値分布は文献 30 の上下限値を有する極値分布とする。式(2)に文献 30 の上下限値を有する極値分布を示す。

$$F(x) = \exp \left[ - \left( \frac{\omega - x}{U \cdot x} \right)^K \right] \dots (2)$$

ここで求めた速度値が工学的基盤上での値であるため地盤増幅率を乗じて地表面最大速度値の確率分布とする。

## 風外乱の最大値分布

風外乱では対象構造物における頂部風速が年最大値分布に従うとする。年最大値分布は文献 31 を参考に式(3)に示す第 I 型極値分布とする。

$$F(x) = e^{-e^{-a(x-b)}} \dots (3)$$

$$\text{ただし、} a = \frac{\pi}{\sigma_{x_n} \sqrt{6}}, b = \mu_{x_n} - \frac{\gamma}{a} - \frac{1}{a} \ln(n)$$

ここで、 $\mu_{x_n}$  は  $n$  年最大値分布の平均値、 $\sigma_{x_n}$  は  $n$  年最大値分布の標準偏差、 $\gamma$  はオイラー定数(= 0.577215)とする。

注：必要に応じて、このページをご使用ください。

部科校名：

氏名：神田亮

## 外乱モデル

MCS のシミュレーションに用いる外乱の時刻歴波形は、MCS の性質上その波形 1 つ 1 つが確率的に独立であるように作成する。

## 地震外乱

模擬地震波は 1 組の振幅スペクトルと位相スペクトルから作成された波形とする。振幅スペクトルは Clough-Penzien スペクトル<sup>32)</sup>、位相スペクトルは一様乱数とする。これらの振幅スペクトルと位相スペクトルから逆フーリエ変換を用いて時刻歴上のデータとし、さらに包絡線関数を与える。そして各波形の速度成分の最大値が確率分布に従うものとし、波形を定数倍してシミュレーションに用いる模擬地震波とした。なお、複数発生させる波形を確率的に独立とさせるため相互相関がゼロの一様乱数を各位相スペクトルとした。

## 風外乱

模擬風力波形は鉛直方向に相関性を持つ変動風圧波形より作成する。変動風圧波形は文献 33 の方法を参考に作成し、パワースペクトル、コヒーレンス、フェイズは文献 34 を参考に設定する。以上より得られた波形に文献 34 の風力係数から時刻歴波形の標準偏差を求め乗じる。このときに用いる頂部風速が確率分布に従うものとする。この波形にモデルの見付け面積を乗じてシミュレーションに用いる模擬風力波形とする。なお、他の例では、変動の頻度分布が正規分布になるようにするため正規乱数を用いている。その正規乱数の相互相関がゼロとなるため、1 つ 1 つの波形は確率的に独立となる。

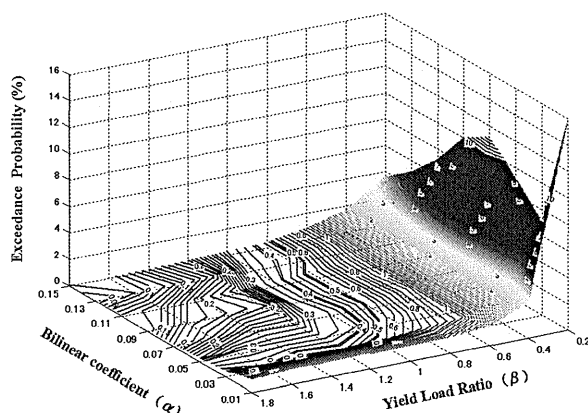


Fig. Trade-off Analytical Result (Model 1 : 1/200rad)

推定例を上図に示す。上図より、上部構造の最大層間変形角のクライテリアが 1/200rad の時、モデル 1 の最適なパラメータ領域は超過確率が最小となる  $\alpha=0.15$ 、 $\beta=1.8$  付近、Fig. 10 よりモデル 2 は  $\alpha=0.07$ 、 $\beta=1.2$  付近と推定できる。しかし、モデル 1 では端の方に超過確率が最小となるパラメータがあるので、設定するパラメータをもう少し広い範囲で考える必要がある。

この推定法は、地震と風外乱の相反性に対し、耐震性能をコストを含めもっとも適したものとする事が可能である。来年以降の発展を期待したい。

## 参考文献

田村ら、基本角柱模型の層風力に関する研究、1996.2

注：課題番号を記入してください。

## 平成 19 年度 学術研究助成金実績報告書

平成 20 年 4 月 22 日

日 本 大 学 総 長 殿

氏 名 石 井 敬 基



所属・資格 医学部・専任講師

下記のとおり報告いたします。

1 種目	奨励研究/一般研究(個人)/一般研究(共同)/ <u>総合研究</u>	注：該当する種目を○で囲んでください。
2 研究課題	2- <sup>13</sup> C <sub>uracil</sub> 呼気テストによる抗癌剤投与による副作用予測と抗癌効果予測	
3 研究の目的	目的は抗癌剤投与前に <sup>13</sup> C 標識 breath test を行い、呼気中 <sup>13</sup> CO <sub>2</sub> の変化から抗癌効果や、副作用の出現が予測可能であるかを検討する。特に、近年消化器癌の治療に用いられる、5-FU の誘導体である、S-1 の薬物代謝酵素の遺伝子多型と <sup>13</sup> C 呼気テストの結果の関連性を検討し、抗癌効果、副作用を <sup>13</sup> C 呼気テストにより予測可能であるかを検討することにある。	
4 研究の概要	健常成人 10 名、胃癌患者 22 名、大腸癌患者 11 名、膵臓患者 2 名を対象に呼気テストを施行し、呼気テストの結果と抗癌剤投与後の副作用および抗癌効果の有無を検討した。胃癌患者、大腸癌患者、膵臓患者を対象に CYP2A6 の遺伝子多型を検討し、抗癌剤投与後の副作用および抗癌効果の有無を検討した。2- <sup>13</sup> C <sub>uracil</sub> 呼気テストの結果と CYP 遺伝子多型との関係を検討し、抗癌効果や副作用とどのような関連性があるかを検討した。	
5 研究組織（共同研究・総合研究のみ該当します）	<ul style="list-style-type: none"> <li>・研究代表者：石井敬基</li> <li>・研究分担者（役割分担） <ul style="list-style-type: none"> <li>浅井聡：研究の遂行・データ解析</li> <li>高橋泰夫：研究の遂行・データ解析</li> <li>高山忠利：結果考察</li> <li>安孫子宜光：結果考察</li> </ul> </li> </ul>	

※ホームページ等での公開の（可・） いずれかを○で囲んでください。否の場合は、理由書を添付して下さい。

部科校名：医学部

氏名：石井敬基

## 6 研究の結果（総合研究の研究代表者は、4,000字以上記入してください。）

## 目的：

S-1 は内服後、テガフルが肝臓の CYP2A6 で 5FU に変換され、さらに、配合されているギメラシルが 5FU 代謝の鍵となる Dihydropyrimidine Dehydrogenase (DPD) の活性を抑制することで、5FU の血清濃度を上昇させて抗癌効果を高めようとする抗癌剤である。消化器症状を軽減する工夫 (potassium oxonate 配合) はなされているが、骨髄毒性を軽減する処置はとられていない。今回の研究目的は、S-1 の抗癌効果と副作用の発現が CYP2A6 とどのような関係にあるかを検討し、さらに、 $2\text{-}^{13}\text{C}$ -Uracil 呼気テスト (UrBT) が DPD 活性と相関することに注目し、UrBT の結果と CYP2A6 遺伝子多型を知ることで S-1 内服前に抗癌効果や副作用予測が可能であるかを検討した。

## 方法と対象：

## 基礎的検討 1-胃切除症例に於ける UrBT

S-1 は胃癌症例における術後補助化学療法や、転移・再発・進行症例に用いる。そこで、胃切除後、再発・転移所見が無い幽門側胃切除症 4 例、胃全摘症例 6 例と年齢、BMI、体表面積をマッチさせた健常者 10 例を対象に UrBT を施行し、胃切除の有無における影響を検討した。

## 基礎的検討 2-CYP2A6 の相違による血清テガフルおよび 5FU 血清濃度

S-1 の配合成分であるテガフル tegafur から 5-FU への変換に CYP2A6 遺伝子多型が関与している。CYP2A6 の野生型は (\*1/\*1) であり、1 アレルの変異 6 例 (\*1/\*X: \*1/\*4, \*1/\*7, \*1/\*9) と両アレルの変異 6 例 (\*X/\*X: \*4/\*4, \*4/\*7, \*4/\*9\*, 7/\*7, \*7/\*9, \*9/\*9) に分類し、S-1 内服後の血清テガフルおよび 5FU 血清濃度の推移を検討した。

## 進行・転移・再発症例を対象とした検討

胃癌 12 例、大腸癌 11 例、膵臓癌 2 例の計 25 例の進行再発症例を対象とした。全例に S-1 を  $40\text{mg}/\text{m}^2$  を朝夕投与した。CYP2A6 遺伝子多型は 1 アレルの変異 (\*1/\*X: \*1/\*4, \*1/\*7, \*1/\*9)、両アレルの変異 (\*X/\*X: \*4/\*4, \*4/\*7, \*4/\*9\*, 4/\*10, \*7/\*9, \*9/\*9, \*9/\*10) の 2 群に分けて検討した。UrBT は  $2\text{-}^{13}\text{C}$ -Uracil を  $2\text{mg}/\text{kg}$  を内服し、初回 S-1 内服前日と初回内服 3 時間後の 2 回施行した。 $^{13}\text{CO}_2$  測定は Exalenz 社, BreathID で  $^{13}\text{CO}_2$  を連続測定し ( $\Delta\%$ )、0-60 分までの曲線下面積 ( $\Sigma 60$ ) を測定した。 $\Sigma 60$  と抗癌効果の関係を検討し、さらに、S-1 内服後 3 時間目の血清 FT および、5FU 濃度を測定し、UrBT との関係を検討した。

## S-1 内服後の血清テガフルおよび 5FU 血清濃度の推移の検討

S-1 内服後 3 時間目の血清 tegafur および 5FU 濃度を測定し、CYP2A6 遺伝子多型との関連 (1 アレルの変異、両アレルの変異の相違) を検討した。

## S-1 内服前・後に於ける Uracil 呼気テストの変化

胃癌 12 例、大腸癌 11 例、膵臓癌 2 例、の計 25 例の進行再発症例を対象とし、UrBT は  $2\text{-}^{13}\text{C}$ -Uracil を  $2\text{mg}/\text{kg}$  を内服し、呼気中  $^{13}\text{CO}_2$  変化を Exalenz 社, BreathID で  $^{13}\text{CO}_2$  を連続測定し ( $\Delta\%$ )、0-60 分までの曲線下面積 ( $\Sigma 60$ ) を測定した。UrBT は初回 S1 内服前日と初回内服当日に、内服 3 時間後の 2 回施行した。

## 抗癌効果および副作用と CYP2A6 遺伝子多型の検討

1 アレルの変異 15 例 (\*1/\*4, \*1/\*7, \*1/\*9) と両アレルの変異 10 例 (\*4/\*4, \*4/\*7, \*4/\*9\*, 7/\*7, \*7/\*9, \*9/\*9) に分類し、抗癌効果および副作用との関係を検討した。

## 抗癌効果および副作用と Uracil 呼気テストの検討

$^{13}\text{CO}_2$  測定は Exalenz 社, BreathID で  $^{13}\text{CO}_2$  を連続測定し ( $\Delta\%$ )、0-60 分までの曲線下面積 ( $\Sigma 60$ ) を測定した。UrBT の  $\Sigma 60$  と抗癌効果および副作用との関係を検討した。

## 抗癌効果の評価と副作用の有無

抗癌効果の判定は Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST: Complete Response=CR, Partial Response=PR, Stable Disease=SD, Progressive Disease=PD) の診断基準に従った。抗癌剤の副作用は、NCI-CTC ガイドライン Ver. 3 (National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events Version3) に準じた。

## 結果 1: 基礎的検討

## 胃切除症例に於ける UrBT

胃切除の有無に於ける UrBT の結果では、 $\Delta\%$  10 分値は健常者と胃全摘症例の間に差を認め、50 分値では健常者と幽門側胃切除症例の間に有意差を認めた。しかし、UrBT- $\Sigma 60$  の比較では 3 群間に有意差を認めなかった。

部科校名：医学部

氏名：石井敬基

## 研究の結果（つづき）

## CYP2A6 の相違による血清テガフルおよび 5FU 血清濃度

テガフルの血清濃度は 1 アレルの変異(\*1/\*X)と両アレルの変異(\*X/\*X)の間に測定時間内の総ての点で有意差を認めなかった。一方、5-FU の血清濃度は 60 分以降総ての点で 1 アレルの変異が有意に高値を示した ( $p < 0.05$ )。

## 結果 2：進行再発症例を対象とした検討

## S-1 内服後の血清テガフルおよび 5FU 血清濃度の推移の検討

基礎的検討と同様にテガフルの血清濃度は 1 アレルの変異(\*1/\*X)と両アレルの変異(\*X/\*X)の間に有意差は無く、5-FU の血清濃度は 1 アレルの変異が有意に高値を示した ( $p < 0.05$ )。

## S-1 内服前・後に於ける Uracil 呼気テストの変化

S-1 内服前・後の UrBT の結果は、測定時間内の総ての点で S-1 内服後の UrBT 値は著明に低下し、 $\Sigma 60$  も低下した。

## 抗癌効果および副作用と CYP2A6 遺伝子多型の検討

CR+PR13 例 (CR2 例、PR11 例)、PD12 例であった。1 アレルの変異(\*1/\*X)で抗癌効果 (CR+PR13 例) を認めたのは 13 例中、12 例で、両アレルの変異(\*X/\*X)は 10 例中 2 例であった。感度は 86.6%、特異度 80%、尤度比 4.3、陽性的中率 0.866、受動者動作特性曲線 (ROC curve) の曲線下面積は、0.833 ( $p = 0.0006$ )であった。副作用では、Grade1 (WBC:  $< 3,000/\text{mm}^3$ )以上の血液毒性は 9 例に認め、\*1/\*X で 5 例、\*X/\*X は 4 例で、感度は 33.3%、特異度 60%、尤度比 1.5、陽性的中率 0.555、ROC curve の曲線下面積は、0.534 ( $p = 0.734$ )であった。非血液毒性は 11 例に認め、\*1/\*X で 7 例、\*X/\*X は 6 例で、感度は 46.6%、特異度 40%、尤度比 1.5、陽性的中率 0.538、ROC curve の曲線下面積は、0.532 ( $p = 0.0802$ )であった。S-1 内服後にいずれかの副作用を認めたのは 13 例で、\*1/\*X で 2 例、\*X/\*X は 9 例で、感度は 13.3%、特異度 10%、尤度比 0.6、陽性的中率 0.18、ROC curve の曲線下面積は、0.0537 ( $p = 0.742$ )であった。

## 抗癌効果および副作用と Uracil 呼気テストの検討

1) CR+PR 症 13 例と PD12 症例の S-1 内服前 UrBT の  $\Sigma 60$  に有意差は無く、内服後の  $\Sigma 60$  は PD 症例に比べ CR+PR 症例で有意に低値であった。2) 内服後  $\Sigma 60$  の抗癌効果の有りに対する ROC curve の曲線下面積は、0.782 ( $p = 0.023$ )であった。3) 内服後  $\Sigma 60$ /内服前  $\Sigma 60$  比の抗癌効果の有りに対する ROC curve の曲線下面積は、0.788 ( $p = 0.021$ )であった。4) 内服後  $\Sigma 60$  の cut off 値を 48 (%)とした時の抗癌効果の有りに対する感度は 76.9%、特異度 83.3%、尤度比 4.61、陽性的中率 83.3%であった。

副作用では、Grade1 以上の血液毒性を認めた 9 例において、UrBT- $\Sigma 60$  値は S-1 内服前・後、後/前比のいずれも、有意差を認めなかった。非血液毒性は、S-1 内服前・内服後の  $\Sigma 60$  に有意差は無く、S-1 内服後にいずれかの副作用を認めたのは 13 例においても、S-1 内服前・内服後の  $\Sigma 60$  に有意差は認められなかった。

## 抗癌効果に対する CYP2A6 遺伝子多型と Uracil 呼気テストおよび 5FU 血清濃度の関係

1) CR+PR と PD の間に単変量解析で有意差を認めたのは、\*1/\*X のアレルの有無、S-1 内服後 UrBT の  $\Sigma 60$ 、内服 3 時間後の血清 5FU 濃度であり、多変量解析で有意差を認めたのは内服後  $\Sigma 60$  であった ( $P = 0.042$ )。2) 内服 3 時間後の血清 5FU 濃度と内服後  $\Sigma 60$  の相関は  $-0.40$  ( $p = 0.045$ )であった。3) 内服後  $\Sigma 60$  の cut off 値を 48%とした時の抗癌効果の有りに対する感度は 76.9%、特異度 83.3%、尤度比 4.61、陽性的中率 83.3%であった。

## 考察

CYP2A6 は野生型が(\*1/\*1)であり、遺伝子全欠損型は(\*4/\*4)であると報告されている。そこで抗癌効果の検討を 1 アレルの変異(\*1/\*X)と両アレルの変異(\*X/\*X)に分けて検討し、抗癌効果においては(\*1/\*X)  $>$  (\*X/\*X)となる傾向が示された。しかし、副作用については、(\*4/\*4)または、(\*4/\*X)VS (\*X/\*X)においても、血液毒性および非血液毒性のいずれもが有意差は認めなかった。Uracil 呼気テストの結果では、S-1 内服後の UrBT が低値を示す症例で有意に血液毒性が高くなると予想したが、血液毒性、非血液毒性いずれも予想困難であることが示された。一方、抗癌効果予測の観点からは、Uracil 呼気テストの結果では、S-1 内服後の結果から抗癌効果が予測できる可能性が示唆された。さらに、CYP2A6 の遺伝子多型の検討に、UrBT の結果を加えて検討すると、抗癌効果有りに対する ROC curve の曲線下面積は 0.967 ( $P = 0.0008$ )となり、両検査を施行することで、抗癌効果の予測は可能であると考えられる。今後、症例を増やして検討する必要はあるが、S-1 内服後の UrBT の結果は血清 5FU 濃度との関連が高く、UrBT の結果から S-1 の抗癌効果が予測できる可能性が示唆された。

注：必要に応じて、このページをご使用ください。

注：課題番号を記入してください。

## 平成 19 年度 学術研究助成金実績報告書

平成 20 年 3 月 17 日

日 本 大 学 総 長 殿

氏 名 前野 正夫



所属・資格 歯学部・教授

下記のとおり報告いたします。

1 種目	奨励研究/一般研究(個人)/一般研究(共同)/ <u>総合研究</u>	注：該当する種目を○で囲んでください。
2 研究課題	破骨細胞の形成と機能に視点をおいた歯根嚢胞拡大の分子機構の解明	
3 研究の目的	破骨細胞の形成は、骨芽細胞と破骨細胞前駆細胞(単球/マクロファージ)との RANKL-RANK を介する細胞間相互作用によって行われる。また、歯肉縁下歯垢内の嫌気性歯周病原菌の代謝産物である酪酸は、歯周組織への様々な影響が指摘されている。我々は、18 年度に IL-1 $\alpha$ 存在下で RANKL が成熟破骨細胞の機能発現を促進することを報告した (Fujisaki et al, Life Sci, 2007)。しかし、破骨細胞の分化過程の詳細については、不明な点が残されている。そこで、19 年度は、まず前年度とは異なる視点から破骨細胞の形成過程を捉え、破骨細胞の分化と機能発現に及ぼす IL-1 $\alpha$ および酪酸の影響を明らかにするために本研究を企図した。また、サイトカイン刺激後の軟骨破壊にも着目し、軟骨細胞による軟骨マトリックスの形成と分解に及ぼす IL-1 $\beta$ と IL-6 の影響も併せて検討した。	
4 研究の概要	破骨細胞の分化と機能発現に及ぼす IL-1 $\alpha$ の影響を調べる際には、骨芽細胞としてラット骨肉腫由来株化骨芽細胞 (ROS 細胞)、破骨細胞前駆細胞としてマウス単球 (RAW264.7 細胞) を用いた。ROS 細胞を IL-1 $\alpha$ で刺激後、破骨細胞形成に関与する種々の因子の発現を調べた。また、IL-1 $\alpha$ 刺激後に集めた培養上清に soluble RANKL を加えた培養液で RAW 細胞を培養し、RANK、M-CSF 受容体の発現およびリガンドがそれらの受容体に結合した後の細胞内シグナル伝達を調べた。酪酸の影響を調べる際には、市販のヒト正常骨芽細胞を酪酸で刺激後、骨基質タンパクおよび破骨細胞形成に関与する種々の因子の発現を調べた。軟骨破壊については、市販のヒト軟骨細胞を IL-6 および soluble IL-6 $\alpha$ で刺激し、軟骨マトリックスタンパク発現への影響を調べた。また、軟骨細胞を IL-1 $\beta$ で刺激し、PGE <sub>2</sub> とその受容体の発現に及ぼす影響を調べた。	
5 研究組織 (共同研究・総合研究のみ該当します)	<ul style="list-style-type: none"> <li>・研究代表者 前野 正夫</li> <li>・研究分担者 (役割分担) <ul style="list-style-type: none"> <li>牧村 正治 (分子生物学分野の総括的検討)</li> <li>鈴木 直人 (細胞・分子生物学分野等の一連の操作)</li> <li>武市 収 (細胞生物学・組織化学分野等の一連の操作)</li> <li>川戸 貴行 (Western blot や ELISA 等、タンパク化学分野の一連の操作)</li> <li>田邊奈津子 (細胞生物学分野等の一連の操作)</li> <li>續橋 治 (分子生物学分野の一連の操作)</li> </ul> </li> </ul>	

※ホームページ等での公開の (可)・否) いずれかを○で囲んでください。否の場合は、理由書を添付して下さい。



部科校名：歯学部

氏名：前野 正夫

## 6 研究の結果（総合研究の研究代表者は、4,000字以上記入してください。）

## ＜結果＞

① 18年度は、IL-1 $\alpha$ 存在下で soluble RANKL およびマクロファージコロニー刺激因子（M-CSF）を単独あるいは同時に RAW 細胞に作用させて、成熟破骨細胞の機能発現に及ぼす影響を検討した、19年度は、生体内で実際に起こる状況を想定した研究を企図した。すなわち、前年度のように、標品の試薬で直接 RAW 細胞を刺激するのではなく、あらかじめ骨芽細胞を IL-1 $\alpha$  で刺激後、培養上清を集め、その上清に soluble RANKL を加えて conditioned medium (CM) とし、この CM を RAW 細胞に加えて破骨細胞への分化過程を詳細に調べた。なお、破骨細胞への分化過程を調べる際、種々の因子の遺伝子発現は real-time PCR 法を用いて mRNA レベルで調べ、タンパク発現は ELISA 法あるいは Western blotting 法で調べた。骨芽細胞を 100 U/ml の IL-1 $\alpha$  刺激後に得た CM と無刺激の CM とでは、骨芽細胞が産生する M-CSF および PGE $_2$  の量は前者に多く含まれ、RANKL のおとりの受容体である osteoprotegerin (OPG) の量は、後者に多く含まれていた。破骨細胞への分化の確認は、酒石酸耐性酸ホスファターゼ (TRAP) 染色および TRAP のタンパク量を定量して調べた。いずれも IL-1 $\alpha$  刺激後に得た CM で RAW 細胞を培養した場合の方が、TRAP 陽性で多核の細胞が多く認められ、TRAP のタンパク量も多かった。RAW 細胞の RANK と M-CSF 受容体(c-fms) の遺伝子発現、RANKL が RANK に結合後の細胞内シグナル因子 (c-fos と TRAF6) の遺伝子発現、M-CSF がその受容体 c-fms に結合後のシグナル因子である ERK のリン酸化を調べた。その結果、RANK、c-fms、c-fos、TRAF6 の発現および ERK のリン酸化は、IL-1 $\alpha$  刺激後に得た CM で RAW 細胞を培養した場合の方が、強い発現ならびに強いリン酸化を示した。

□ 歯肉縁下歯垢内の嫌気性歯周病原菌の代謝産物である酪酸は、高濃度で歯肉上皮細胞の増殖を抑制し、T 細胞のアポトーシスを誘導するなど、歯周組織への影響が報告されている。そこで、酪酸が歯周組織内に浸透して歯槽骨に作用することを想定し、骨芽細胞の機能に及ぼす酪酸の影響を検討した。ヒト正常骨芽細胞を 0、10 $^{-4}$  M、10 $^{-6}$  M および 10 $^{-8}$  M 酪酸ナトリウムを含む OBM 培地で 12 日間培養後、細胞増殖、アルカリホスファターゼ (ALPase) 活性値、石灰化 nodule 形成および nodule 中の Ca 蓄積量を検討した。また、細胞外基質タンパクである I 型コラーゲン、骨シアロタンパク (BSP) およびオステオポンチン (OPN)、破骨細胞分化調節因子である M-CSF および OPG の遺伝子発現は real-time PCR、タンパク発現は ELISA 法で調べた。その結果、細胞増殖と ALPase 活性で、酪酸添加による顕著な変化が認められなかった。しかし、石灰化 nodule 形成および nodule 中の Ca 蓄積量は、酪酸の濃度依存的に増加した。I 型コラーゲンと M-CSF の発現には酪酸の影響はほとんど認められなかったが、BSP、OPN および OPG の発現は、酪酸添加によって有意に増加した。

③ 嚢胞の拡大には、IL-1 以外に IL-6 も深く関わっている。IL-6 は IL-1 や IL-11 などとともに、骨吸収因子のひとつとして知られている。しかし、IL-6 が歯根嚢胞拡大にどのように関わっているのかについての詳細な報告は見あたらない。そこで、本研究では、ヒト軟骨細胞を 28 日間培養し、細胞増殖、ALPase 活性、Sox-9、細胞外マトリックスタンパク (type II collagen、aggrecan core、link protein)、BMP-7 および BMP レセプターの発現に及ぼす IL-6 の影響を調べた。軟骨細胞に IL-6 が作用する際には、細胞膜上に発現する IL-6 受容体 (IL-6r) を介してシグナルが伝達される場合と、血清中や滑液中に存在する soluble IL-6ra (sIL-6ra) を介して細胞膜に結合後、シグナルが伝達される場合の 2 通りがある。また、軟骨細胞の IL-6r の発現は、線維芽細胞や筋芽細胞などの軟組織を構成する細胞と比較して弱いことが知られている。したがって、軟骨細胞に IL-6 が作用する際には、sIL-6ra を介して細胞膜に結合し、機能発現が起こるケースが多いと考えられる。そこで、細胞を IL-6 および sIL-6ra で刺激する際の条件は、無刺激 (control)、IL-6 単独刺激、sIL-6ra 単独刺激および IL-6 と sIL-6ra の同時刺激の 4 条件とした。細胞増殖は、IL-6 の単独刺激では、control と比較して変化が認められなかったが、IL-6 と sIL-6ra の同時刺激では、control および単独刺激よりもわずかに細胞数の増加を認めた。ALPase 活性は、IL-6 単独刺激では control よりもわずかに低下し、IL-6 と sIL-6ra の同時刺激ではさらに低下した。Sox-9 の発現は、IL-6 および sIL-6ra 刺激による顕著な影響は認められなかった。aggrecan core および link protein の発現は、IL-6 と sIL-6ra の同時刺激によって、IL-6 単独刺激および control よりも増加した。type II collagen の発現は、IL-6 と sIL-6ra の同時刺激によって、

部科校名：歯学部

氏名：前野 正夫

## 研究の結果 (つづき)

IL-6 単独刺激および control よりも顕著に増加した。Alcian blue 陽性の proteoglycan は細胞外マトリックスに認められたが、IL-6 と sIL-6ra の同時刺激と control には、染色性の相違が認められなかった。BMP-7 の発現は、IL-6 と sIL-6ra の同時刺激によって control よりも顕著に増加した。BMP 受容体である BMPr-IA および BMPr-II の発現は、IL-6 と sIL-6ra の同時刺激によっていずれも control よりも増加した。

④ 嚢胞の拡大には、IL-1 や IL-6 などの骨吸収に関連した炎症性サイトカイン以外に、プロスタグランジン E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) も深く関わっている。PGE<sub>2</sub> は IL-1β 刺激を受けた骨芽細胞や軟骨細胞によって合成・分泌される。細胞外に分泌された PGE<sub>2</sub> は、autocrine に再び軟骨細胞の受容体に結合し、その作用を発揮する。そこで、まず、0、10、100 U/ml IL-1β で軟骨細胞を刺激して、PGE<sub>2</sub> 産生を ELISA 法で調べたところ、IL-1β の濃度依存的に PGE<sub>2</sub> 産生が増加することを認めた。なお、IL-1β 刺激で増加した PGE<sub>2</sub> 産生は、cyclooxygenase (COX)-2 阻害剤である celecoxib (10<sup>-6</sup> M) 添加によって、control レベルまで低下した。次に、COX-1 および COX-2 の遺伝子発現に及ぼす IL-1β の影響を real-time PCR 法で調べたところ、COX-1 の発現にはその影響が認められなかったが、COX-2 の発現は、IL-1β の濃度依存的に増加した。なお、IL-1β 刺激で増加した COX-2 の発現は、celecoxib を添加してもほとんど変化が認められなかった。細胞が産生した PGE<sub>2</sub> の autocrine 作用を想定して、PG 受容体 (EP1-4) の遺伝子発現に及ぼす IL-1β の影響を real-time PCR 法で調べた。その結果、EP1 および EP2 の発現は IL-1β の濃度依存的に低下したが、EP4 の発現は IL-1β の濃度依存的に増加した。EP3 の発現は、IL-1β 刺激の有無に関わらず検出されなかった。IL-1β 刺激で低下した EP1 および EP2 の発現には、celecoxib 添加による影響は認められなかったが、IL-1β 刺激で増加した EP4 の発現は、celecoxib 添加によって control レベルまで低下した。PG 受容体に対するこれらの遺伝子発現の変化は、免疫組織化学的にタンパクレベルで調べても同様の傾向が認められた。

## &lt;考察&gt;

① 破骨細胞は骨吸収能を有する多核の細胞であり、単球/マクロファージ系の単核の破骨細胞前駆細胞に由来する。破骨細胞前駆細胞から破骨細胞への分化には骨芽細胞が深く関与しており、骨芽細胞は、M-CSF と膜結合型の RANKL を産生し、それぞれ破骨細胞前駆細胞が有する受容体 c-fms と RANK に細胞間相互作用によって結合して破骨細胞への分化を誘導する (Lacey et al, Cell, 1998)。一方、IL-1 は、炎症に伴う骨吸収を促進する強力な因子のひとつであり (Masi and Brandi, Quar J Nuc Med, 2001)、骨や軟骨の形成を抑制する (Ellies and Aubin, Cytokine, 1990; Aida et al, Life Sci, 2004; Tanabe et al, Life Sci, 2004)。本研究は、IL-1 刺激後の歯根嚢胞拡大の分子機構を *in vitro* で解明するための研究の一環としてなされた。すでに、我々は、IL-1α 存在下で RANKL が成熟破骨細胞の機能発現に必要な酵素の発現を増加することを報告した (Fijisaki et al, Life Sci, 2007)。具体的には、破骨細胞による無機質溶解に不可欠な酸産生酵素すなわち炭酸脱水酵素 II 型、有機質分解に不可欠なタンパク分解酵素すなわちカテプシン K と MMP-9 の発現は、いずれも RANKL によって促進されることを報告した。19 年度に行った我々の研究は、前年度とは異なる視点から破骨細胞の形成過程を捉え、破骨細胞の分化と機能発現に及ぼす IL-1α および酪酸の影響を明らかにしようとするものである。<結果>①に示した記述から、IL-1α は骨芽細胞の M-CSF と PGE<sub>2</sub> の産生増加と OPG の産生低下を介して、また破骨細胞前駆細胞の RANK と f-cms の発現増加を介して骨芽細胞と破骨細胞前駆細胞との細胞間相互作用を容易にし、TRAP 染色性およびタンパク発現を促進させることが示唆された。

② 本研究において、骨芽細胞の増殖には顕著な変化は認められなかったが、石灰化 nodule 形成と nodule 中の Ca 蓄積量は、酪酸の濃度依存的に増加した。これらの結果から、酪酸は骨形成とくに細胞外マトリックスにおけるヒドロキシアパタイト結晶の形成を促進することが示唆された。酪酸による石灰化 nodule 形成機構を解明するために、ALPase 活性と細胞外マトリックスタンパクの発現に及ぼす酪酸の影響を調べた。ALPase は、有機リン酸エステル化合物を加水分解して局所のリン酸濃度を押し上げ、また、石灰化阻害物質であるピロリン酸や ATP を加水分解する作用がある。したがって、石灰化物形成の初期段階においては、無くてはならない酵素である。

注：必要に応じて、このページをご使用ください。

部科校名：歯学部

氏名：前野 正夫

## 研究の結果（つづき）

また、細胞外マトリックスタンパクの中で、I型コラーゲンはヒドロキシアパタイトが細胞外マトリックスに沈着する際の足場として作用し、BSPはヒドロキシアパタイト結晶が形成される際の核として作用する。また、OPNは骨芽細胞がコラーゲンに接着する際の接着因子として作用する。本研究において、ALPase活性には酪酸添加による顕著な影響は認められなかった。I型コラーゲンの発現にも顕著な影響は認められなかったが、BSPとOPNの発現は、酪酸の添加によって有意に増加した。また、＜結果＞②にも記述したように、酪酸はM-CSFの発現には顕著な影響を及ぼさなかったが、破骨細胞の形成を抑制するOPGの発現は、酪酸の添加によって有意に増加した。以上のことから、低濃度の酪酸は、BSPとOPNの発現増加を介して骨形成を促進し、OPGの発現増加を介して破骨細胞形成を抑制する。すなわち、低濃度の酪酸は、生理的な骨代謝を形成系に傾けることが示唆された。

③軟骨マトリックスタンパクは、主にtype II collagen および aggrecan core やヒアルロン酸などの proteoglycan によって構成されている。この中で、aggrecan core とヒアルロン酸は、link protein を介して複雑な網様構造をとっており、これらの分子は、軟骨の turnover によって合成と分解を繰り返している (Dijkgraaf et al, J Oral Maxillofac Surg, 1995)。炎症部位に放出されるサイトカインは、生理的な軟骨の turnover のバランスを変化させ、病的な破壊と形成をもたらす。IL-1 は、顎関節の関節円板細胞と軟骨細胞による MMP の産生増加を介して軟骨マトリックスタンパクの分解を促進し (Aida et al, Life Sci, 2005; Ijima et al, Eur J Oral Sci, 2001)、軟骨細胞による軟骨マトリックスタンパクの発現を減少させる (Aida et al, Life Sci, 2004)。本研究において、ALPase 活性は、IL-6 と sIL-6ra の同時刺激によって control よりも顕著に低下した。また、増殖軟骨細胞の重要な転写因子である Sox-9 (Ducy et al, Cells, 1997) の発現は、IL-6 および sIL-6ra の単独あるいは同時刺激の有無に関わらず変化が認められなかった。これらの結果から、IL-6 は sIL-6ra 存在下で軟骨細胞の増殖を促進するが、分化を抑制することが示唆された。type II collagen は、関節軟骨の細胞外マトリックスの主要な有機成分であり、軟骨に進展力と強度を与えている (Muir, Bioessays, 1995)。関節軟骨の細胞外マトリックスには、proteoglycan が豊富に含まれる。aggrecan は、versican とともに代表的な hyaluronate (HA)-binding proteoglycan である (Hardingham and Fosang, FASEB J, 1992)。HA-binding proteoglycan は proteoglycan の凝集網様構造を形作り、collagen 線維間のスペースを埋め (Poole et al, 1982)、この網様構造は、HA-binding protein すなわち link protein の相互作用によって維持されている (Muir, Bioessays, 1995)。本研究においては、IL-6 と sIL-6ra の同時刺激によって type II collagen および link protein の発現は顕著に増加した。また、aggrecan core の発現もわずかに増加した。また、軟骨細胞による細胞外マトリックスタンパクの発現が、IL-6 と sIL-6ra の同時刺激によって増加する理由を探るために、BMP-7 の発現に及ぼす IL-6 および sIL-6ra の影響を検討した。その結果、BMP-7 の発現は、IL-6 と sIL-6ra の同時刺激によって顕著に増加し、BMP-IA と BMP-II の発現も共に増加した。以上のことから、IL-6 および sIL-6ra は、軟骨細胞の分化を抑制し、BMP-7 の autocrine 作用による type II collagen および link protein の産生を増加させ、軟骨マトリックスの修復を促進することが示唆された。

④本研究において、IL-1 $\beta$  は COX-2 発現と PGE<sub>2</sub> 産生を増加させた。しかし、IL-1 $\beta$  刺激で増加した COX-2 の発現は、COX-2 を特異的に阻害する celecoxib を添加してもほとんど変化が認められなかった。この結果は、IL-1 $\beta$  は COX-2 発現増加を介して PGE<sub>2</sub> 産生を増加させるが、増加した COX-2 の発現は PGE<sub>2</sub> を介する autocrine 作用によるものではないことが明らかになった。PG 受容体には、EP1 から EP4 まで 4 種類の subtype が知られている (Narumiya et al, Physiol Rev, 1999)。本研究において、EP1 と EP2 の発現は IL-1 $\beta$  刺激によって低下したが、EP4 の発現は増加した。一方、EP3 の発現は、IL-1 $\beta$  刺激の有無に関わらず検出されなかった。また、IL-1 $\beta$  刺激で低下した EP1 と EP2 の発現には、celecoxib 添加による影響は認められなかったが、IL-1 $\beta$  刺激で増加した EP4 の発現は、celecoxib 添加によって control レベルまで低下した。これらの結果から、IL-1 $\beta$  は PGE<sub>2</sub> 産生増加を介する autocrine 作用によって EP4 発現を増加させるが、EP1 と EP2 の発現には PGE<sub>2</sub> は関わっておらず、IL-1 $\beta$  の直接作用によるものであることが示唆された。

注：必要に応じて、このページをご使用ください。

注：課題番号を記入してください。

平成19年度 学術研究助成金実績報告書

平成20年 4月 14日

日本大学 総長 殿

氏 名 小川 明子



所属・資格 歯学部・専任講師

下記のとおり報告いたします。

1	種目 奨励研究/一般研究(個人)/一般研究(共同)/ <u>総合研究</u>	注：該当する種目を○で囲んでください。
2	研究課題 片頭痛に随伴する光過敏発症における三叉神経脊髄路核ニューロンの関与	
3	研究の目的 片頭痛は有病率の高い疾患の一つであり、片頭痛発症後に光過敏を随伴することが多いことから、光過敏は片頭痛の重要なサインの一つとされている。しかし、片頭痛と光過敏の関連性に関する神経機構は全く不明である。そこで、我々は片頭痛モデルラットを作製し、電気生理学的研究法、組織学的研究法、行動学的研究法などを用いて三叉神経脊髄路核における片頭痛に随伴する光過敏のメカニズムを解明することを目的とした。	
4	研究の概要 1) 片頭痛モデルの作成 ペントバルビタールナトリウム(20mg/kg, i.p.)による適麻酔下、Sprage Dawley(SD) 系雄性ラット約 300g を脳定位固定装置に置き、ドリルで左側頭蓋前頭骨に直径 2mm の小穴を注意深く開け、左側前頭部 transverse sinuses blood vessels と superior sagittal sinuses blood vessels 上硬膜(頭部硬膜)を露出させる。シリコンチューブを硬膜上に植立し、10%マスタードオイル 10μl (片頭痛モデル) または流動パラフィン(Vehicle) 10μl (コントロール) をマイクロシリンジポンプにて注入する。 2) 行動学的研究 ウレタン(1.3g/kg)による浅麻酔下、片頭痛モデル群とコントロール群それぞれにおいて、薬剤注入前後に左眼に強光刺激(2joule)と弱光刺激(0.3joule)を与え、瞬きの回数を測定する。右眼は光刺激が入力しないように、1時間前より黒テープの眼帯にて覆う。 3) 電気生理学的研究 片頭痛モデル群を脳定位固定装置に固定後、三叉神経脊髄路核尾側亜核、第一頸髄を露出する。術中の麻酔はイソフルレンを酸素に混ぜて行い、神経活動記録中は臭化パנקロニウムにて非動化し人工呼吸を施す。三叉神経脊髄路核および上部頸髄(C1-2)における単一ニューロン活動を記録する。強、弱光刺激を左眼に与え、応答する侵害受容ニューロンを探索する。次に、頭部チューブに 5, 10, 20%マスタードオイル 10μl をマイクロシリンジポンプにて注入し、片頭痛モデル群を作成してニューロン応答の変化を調べる。 4) 免疫組織化学的染色 a) 延髄三叉神経脊髄路核の染色 片頭痛モデル群とコントロール群において、頭部チューブに薬剤を注入して2分後に各群のラットを還流固定し、三叉神経脊髄路核から第2頸髄までの組織を取り出し、マイクロトームを用いて40μmの凍結切片を作成する。浮遊切片を10%ヤギ血清にてブロッキングを行った後、一次抗体 pERK (anti-Phospho-P44/42-Map Kinase)、二次抗体 (BA-1000) にインキュベートする。その後 ABC 反応を行い、DAB にて発色させる。また、両群において、右眼を光刺激が入力しないように還流固定の1時間前より黒テープの眼帯にて覆う。そして、左眼に強、弱光刺激を10分間与え還流固定し、同様に pERK 一次抗体にて免疫染色を行う。 b) 網膜の染色 片頭痛モデル群とコントロール群を還流固定し、両側眼球を取り出す。水晶体を取り出し後固定した後、網膜を取り出しマイクロトームを用いて10μmの貼り付け切片を作成する。次に、10%ヤギ血清にてブロッキングを行った後、一次抗体の抗 CGRP、抗 Substance P、抗 VR1 抗体そして二次抗体 (BA-1000) にインキュベートする。その後 ABC 反応を行い、DAB にて発色させる。	

部科校名：歯学部

氏名：小川 明子

## 5 研究組織（共同研究・総合研究のみ該当します）

## ・ 研究代表者

小川 明子

## ・ 研究分担者（役割分担）

今村 佳樹（組織学的検討）

岩田 幸一（モデルの作製、電気生生理学的検討）

坪井 美行（組織学的検討—三叉神経脊髄路核における免疫組織染色）

近藤 真啓（組織学的検討—網膜における免疫組織染色）

草間 貞（薬物注入後の行動解析）

※ホームページ等での公開の （可）・否  いずれかを○で囲んでください。否の場合は、理由書を添付して下さい。

## 6 研究の結果（総合研究の研究代表者は、4,000字以上記入してください。）

我々は適麻酔（ペントバルビタールナトリウム 20mg/kg, i.p.）下、SD 系雌性ラットの左側頭部硬膜に 10%マスタードオイル 10 $\mu$ l を投与して片頭痛モデルラットを作成した。この片頭痛モデルは、1990 年代より Strassman AM 達のグループにより研究が進められ、確立されたモデルを改良したものである。このモデルにおいては、頭部硬膜の機械刺激により第 1、第 2 頸髄（C<sub>1-2</sub>）後角浅層から三叉神経脊髄路核浅層にわたり多くの c-Fos 様陽性細胞が発現することが報告された（Strassman et al, 1994<sup>1)</sup>）。本研究で我々は、片頭痛モデルラットにおける細胞内侵害情報伝達マーカーである ERK のリン酸化（pERK）陽性発現を免疫組織学的に詳細に調べたところ、c-Fos 様陽性細胞の発現同様、C<sub>1-2</sub> 後角浅層に多くの発現が認められたが三叉神経脊髄路核にはあまり認められなかった。さらに、抗 pERK 抗体と神経細胞のマーカーである抗 NeuN 抗体、アストロサイトのマーカーである抗 GFAP 抗体、マイクログリアのマーカーである抗 OX-42 抗体との 2 重蛍光免疫染色を行ったところ、pERK は NeuN との多くの重なりがみられたが、GFAP や OX-42 との重なりはみられなかったことから、pERK は C<sub>1-2</sub> 後角浅層の神経細胞に発現していることがわかった。次に、中枢神経系における片頭痛に随伴する光過敏のメカニズムを解明するため、ラットの右眼を眼帯で覆い光刺激が入らないようにして、左眼に 10 分間、強光刺激（2joule）および弱光刺激（0.3joule）を与えた。その結果、コントロールラットでは、強光刺激により刺激側の C<sub>1-2</sub> 後角浅層における pERK 陽性発現が有意に増加したものの、弱光刺激では認められなかった。これに対し、片頭痛モデルラットでは、弱光刺激、強光刺激共に C<sub>1-2</sub> 後角浅層における pERK 陽性発現の有意な増加を引き起こした。この pERK 陽性発現の増加は、頭部硬膜の炎症のみによる発現よりも有意に多いのもであった。以上のことから、C<sub>1-2</sub> における pERK は片頭痛における光過敏の発症に関与している可能性が示唆された。さらに、片頭痛に随伴する光過敏のメカニズムを電気生理学的に調べた。片頭痛モデルラットを酸素に混入した 1%イソフルランで麻酔し、臭化パンクロニウムによる非動化のもと、人工呼吸を施した。そして、in vivo 状態での細胞外電気記録を行った。これまでに、片頭痛モデルラットの頭部硬膜の炎症により、硬膜から投射している三叉神経脊髄路核ニューロン活動が増加することが報告されている（Strassman AM, 1996<sup>2)</sup>）。本研究においても、三叉神経脊髄路核ニューロン活動が、10%マスタードオイルによる頭部硬膜の炎症により有意に増加することを確かめた。さらに、同ニューロンが網膜への光刺激に対しても活動が増加することを発見した。この硬膜—光応答ニューロンの神経活動は、頭部硬膜の炎症程度依存性に増加し、また光強度依存性にも増加することを示した。片頭痛モデルラットにおける光過敏症の随伴に対する行動学的研究として、我々はウレタン（1.3g/kgi.p.）による浅レベルの麻酔状態のラットを用いた。この状態のラットは自発行動や学習効果がなくなり、侵害刺激には逃避反射行動をおこし、光刺激には瞬目反射をおこすので、正確な行動観察ができる（David et al, 1996<sup>3)</sup>）。右眼を眼帯で覆い光刺激が入らないようにし、左眼に強光刺激を 3 分間与え瞬目回数を測定した。片頭痛モデルラットはコントロールラットに比べ、瞬目回数の有意な増加が認められた。

以上の結果より、正常状態では強光刺激が網膜より C<sub>1-2</sub> 後角浅層に伝えられ、同部における pERK がその情報伝達機構を担い、弱光刺激には関与しないと示唆された。一方、頭部硬膜の炎症による片頭痛状態では、C<sub>1-2</sub> 後角浅層の神経細胞に多くの pERK 陽性発現がみられたことから、同部の中枢性感作を引き起こしている可能性が考えられた。その結果、弱光刺激も強光刺激と同じように C<sub>1-2</sub> 後角浅層に伝えられ、pERK がその情報伝達機構を担う可能性が考えられ、弱光刺激でも眩しく感じる光過敏症の神経メカニズムに強くつながることが示唆された。しかしながら、従来より、光の情報は網膜の視細胞より視神経を介して、視蓋前域および上丘のみに伝達され、口腔顔面の体性感覚とは異なる情報処理がなされていると考えられてきた。つまり、網膜からの光情報が、三叉神経節を経て延髄や脊髄に入力することはないとされている。一方、口腔顔面の体性感覚、特に侵害情報は三叉神経により三叉神経節を通り、延髄や C<sub>1-2</sub> 領域へ伝達

部科校名：歯学部

氏名：小川 明子

## 研究の結果（つづき）

される。よって、強い光情報が侵害情報として、網膜に存在する神経を介して三叉神経節とC<sub>1-2</sub>領域へ伝えられる可能性が考えられた。この新たな神経経路を解明できれば、医学生理学の定説を覆す重要な発見になると考えられた。しかし、この新たな神経経路を証明するには注意しなければならない点があくつか考えられた。視神経は網膜より視蓋前域および上丘へと入力するが、角膜や網膜周囲の筋肉に分布している神経は三叉神経であり、C<sub>1-2</sub>領域に入力している可能性があった。よって、光刺激が2次的に角膜や網膜周囲筋を刺激して三叉神経を活性化させていないことを確かめた。まず、角膜は乾燥によって刺激されるため、本実験では全て、蒸留水を含ませた小コットンを角膜に置くことにより角膜の乾燥を防いだ。また、光刺激により熱が発生し角膜を刺激することを防ぐため、断熱性の光刺激装置を用いた。さらに、2%キシロカインにより角膜を局所麻酔し光刺激を与えた後のpERKの陽性発現を調べたが、局所麻酔をしない状態での発現と変わりがなかったことから、本実験においては角膜の刺激はないものと考えた。また、電気生理学的実験時に筋弛緩薬を投与しても光応答ニューロンの活動性は変化しないことから、網膜周囲の筋肉の関与もないと考えた。次に、光情報が網膜より三叉神経を介してC<sub>1-2</sub>領域に伝えられることを証明するため、フルオロゴールド(FG)10 $\mu$ lを左眼網膜に注入し、網膜の中枢側投射部位を詳細に調べたところ、反側側視蓋前域と注入側の三叉神経節第1枝領域にFGでラベルされた細胞が多く認められた。FG注入にあたっては、エバンスブルーをFGに混入し、網膜周囲組織に漏れていないことを確かめた。以上の結果より、網膜に分布する第一次求心性神経線維（三叉神経第1枝）も光刺激伝達の一つである可能性が推察された。さらに、光刺激を三叉神経節やC<sub>1-2</sub>領域に伝える受容体または神経終末を同定することを試みた。コントロールラットでは、C<sub>1-2</sub>におけるpERK陽性細胞の発現が、弱光刺激では見られなかったものの、強光刺激により見られたことから、強光刺激が侵害刺激として情報処理をされている可能性が考えられた。よって、侵害受容ニューロンを多く含むC線維末梢神経の関与を調べることにした。C線維に多く発現しているSubstance P (SP), calcitonin gene-related protein (CGRP), Vanilloid receptor 1 (VR1)の発現を調べた。網膜における抗SP, CGRP, VR1抗体を用いた免疫染色を行ったところ、SPは網膜の外網状層と内網状層に、CGRPは内網状層と杆・錐体層に、VR1は外網状層に陽性発現が認められた。これらの発現は過去に報告がなく新たな発見となった。

以上の結果より、頭部硬膜と網膜の求心性神経線維がC<sub>1-2</sub>ニューロンに収束し、C<sub>1-2</sub>ニューロンが片頭痛時の光過敏を引き起こす神経メカニズムに関与している可能性が示唆された。また、光刺激により網膜の外網状層、内網状層、杆・錐体層に存在する視細胞などに存在するSPやCGRPの受容体、VR1などが活性化され、C線維末梢神経を含む三叉神経第1枝を介して、C<sub>1-2</sub>ニューロンに光刺激が伝達される可能性も示唆された。これらの結果は、片頭痛に伴随する光過敏のメカニズムの一端を解明でき、片頭痛の治療方法の開発につながる可能性を示唆するものである。また、医学生理学の定説を覆す重要な発見となりえる可能性も考えられた。

本研究の結果をまとめ、平成19年6月にストックホルムで開催された第13回国際頭痛学会で発表した。学会では、片頭痛や光過敏症を研究している研究者達と重要な情報交換ができ、本研究をさらに発展することができた。また、本研究結果を、今年7月に福岡で開催される第30回日本疼痛学会と、8月にGlasgowで開催される12th World Congress on Painでも発表する予定である。現在は、実験もほぼ終了しており、英語論文にまとめて雑誌投稿の準備をしている段階である。

- 1) Strassman AM et al. Distribution of fos-like immunoreactivity in the medullary and upper cervical dorsal horn produced by stimulation of dural blood vessels in the rat. *J Neurosci.* 14. 1994: 3725-3735.
- 2) Strassman AM et al. Sensitization of meningeal sensory neurons and the origin of headaches. *Nature.* 384. 1996: 560-564.
- 3) David C et al. Proudfit. Nociceptive responses to high and low rates of noxious cutaneous heating are mediated by different nociceptors in the rat: behavioral evidence. *Pain.* 68. 1996: 133-140.

注：課題番号を記入してください。

## 平成19年度 学術研究助成金実績報告書

平成 20 年 4 月 21 日

日本大学 総長 殿

氏 名 山本 正文



所属・資格 松戸歯学部・教授

下記のとおり報告いたします。

1 種目	奨励研究/一般研究(個人)/一般研究(共同)/ <u>総合研究</u>	注:該当する種目を○で囲んでください。
2 研究課題	消化管の分泌型 IgA 抗体応答における腸管関連リンパ組織の役割	
3 研究の目的	感染症を予防する上で粘膜面に抗原特異的抗体応答を誘導するためには経口免疫法のような粘膜を介した抗原の投与が必要となるが、消化管の免疫システムを解明することは効果的な経口ワクチンを開発する上で非常に重要となる。そこで、本研究では経口投与抗原に対する腸管関連リンパ組織の分泌型 IgA 抗体誘導制御とその維持機構を明らかにする。特に、経口投与抗原に対する分泌型 IgA 抗体応答における孤立リンパ小節、腸間膜リンパ節の役割を中心に解析を加える。	
4 研究の概要	リンホトキシン遺伝子欠損マウスや胎生期のリンパ組織形成期に TNF レセプター-p55 やリンホトキシンβレセプターを介する刺激伝達経路を遮断することにより、種々の腸管関連リンパ組織欠損マウスを作製し、それらのマウスの腸管関連リンパ組織の微細構造について検討を加えた。また、タンパク抗原を発現させた組換え型 <i>Salmonella</i> を腸管関連リンパ組織欠損マウスに経口免疫し、細菌に対する腸管の分泌型 IgA 抗体応答においてそれぞれの腸管関連リンパ組織がどのような役割を果たしているかについて細胞レベル、分子レベルで詳細に検討を加えた。	
5 研究組織 (共同研究・総合研究のみ該当します)	<ul style="list-style-type: none"> <li>・研究代表者 山本 正文</li> <li>・研究分担者 (役割分担) 落合 智子 (腸管関連リンパ組織欠損マウスの作製) 橋爪智美 (<i>Salmonella</i> 抗原に対する免疫応答の解析) 上野川 修一 (小腸および大腸における IgA 抗体応答の解析) 細野 朗 (細菌が調節する IgA 抗体産生応答の解析) 片岡 宏介 (腸管関連リンパ組織の機能解析) Mi-Na Kweon (免疫組織染色による解析)</li> </ul>	

※ホームページ等での公開の (  ) 否) いずれかを○で囲んでください。否の場合は、理由書を添付して下さい。

部科校名：松戸歯学部

氏名：山本 正文

## 6 研究の結果（総合研究の研究代表者は、4,000字以上記入してください。）

本研究では細菌抗原に対する腸管関連リンパ組織の役割を明らかにするために種々の腸管関連リンパ組織欠損マウスを作製し、それらのマウスの腸管粘膜 IgA 抗体応答について検討を加えた。はじめに孤立リンパ小節の形成機序および腸管における分泌型 IgA 抗体応答における役割を解析した。孤立リンパ小節はその形成機序が他の末梢リンパ組織と異なることが示唆されている。そこで、骨髄移植による孤立リンパ小節形成（パイエル板、腸間膜リンパ節欠損）マウスの作製を試みた。パイエル板、腸管膜リンパ節、孤立リンパ小節を含んだ腸管関連リンパ組織を全て欠損しているリンホトキシン(LT)- $\alpha$ 欠損マウスあるいは同系の野生型マウスに 900rad の  $\gamma$  線を照射した後、野生型マウスあるいは LT- $\alpha$ 欠損マウスの骨髄を移入した。9 週間後、それらのマウスを解剖し、腸管関連リンパ組織の形成について解析を加えた。その結果、全ての骨髄移入 LT- $\alpha$ 欠損マウスにおいてパイエル板、腸管膜リンパ節の再構築はみられなかった。一方、野生型マウスの骨髄を移入した野生型マウスではパイエル板、腸間膜リンパ節は形成されていた。次に孤立リンパ小節の形成を検討したところ、野生型マウスの骨髄を移入した LT- $\alpha$ 欠損マウス、野生型マウスの双方に実態顕微鏡下で孤立リンパ小節の形成が認められた。そこでこれらの孤立リンパ小節について組織学的解析を行った結果、野生型マウスの骨髄を移入した LT- $\alpha$ 欠損マウスの腸管に再構築された孤立リンパ小節は B220<sup>+</sup>B 細胞ならびに CR1 陽性濾胞樹状細胞クラスターが形成されていることが認められた。さらにフローサイトメトリー解析により CD3 陽性 T 細胞、CD19 陽性 B 細胞が認められたことから、形成された孤立リンパ小節は T 細胞、B 細胞を有し、濾胞樹状細胞ネットワークが形成された成熟したリンパ組織であることが示された。一方、野生型マウスより分離した骨髄を移入した野生型マウスに形成された孤立リンパ小節は B220 を発現する B 細胞の集合は認められたが、CR1 陽性濾胞樹状細胞クラスターは形成されていなかった。さらにフローサイトメトリー解析により、CD19 陽性 B 細胞は検出されたが、CD3 陽性 T 細胞は認められなかったことから、野生型マウスの骨髄を移植された野生型マウスの孤立リンパ小節は B 細胞の集合体である未成熟なリンパ様組織であることが示された。以上の結果から、腸間膜リンパ節およびパイエル板はリンホトキシン依存性に胎生期に形成されること、リンホトキシン欠損による形成不全の場合、出生後にリンホトキシン経路を回復しても再形成されないことが示された。また、孤立リンパ小節は出生後リンホトキシン依存性に形成されるが、パイエル板存在下では B 細胞が集積する未成熟なリンパ様組織であり、パイエル板が欠損している状態で成熟したリンパ組織構造を呈することが示された。したがって、孤立リンパ小節は腸管の免疫システムにおいてパイエル板に対して代償的な働きを持つリンパ組織である可能性が示唆された。

次に、これらのマウスのマウス腸管の IgA 抗体産生能について解析を加えた。その結果、LT- $\alpha$ 欠損マウスでは腸管の IgA 産生がほとんど認められないが、野生型骨髄を移入して孤立リンパ小節を再構築することにより腸管粘膜固有層に IgA 陽性細胞が認められ、糞便中に IgA 抗体が検出された。以上の結果から、孤立リンパ小節は腸管の分泌型 IgA 抗体産生を担う重要な腸管関連リンパ組織の一つであることが示唆された。そこで、細菌抗原に対する抗原特異的 IgA 抗体応答誘導に際して孤立リンパ小節がどのような役割を果たしているかについて解析を加えるために、破傷風毒素の C フラグメントを発現させた組換え型 *Salmonella* ( $rSalmoella$ -Tox C) を野生型骨髄あるいは LT- $\alpha$ 欠損マウスの骨髄を移入した LT- $\alpha$ 欠損マウスあるいは野生型マウスに経口免疫した。その結果、野生型マウスの骨髄を移入した LT- $\alpha$ 欠損マウス（孤立リンパ小節形成マウス）、LT- $\alpha$ 欠損マウスの骨髄を移入した LT- $\alpha$ 欠損マウス（腸管関連リンパ組織欠損マウス）共に糞便中に破傷風毒素に対する IgA 抗体応答は検出されず、腸管粘膜固有層中にも僅かな数の破傷風毒素特異的 IgA 産生細胞数が認められただけであった。さらに、抗原特異的ヘルパー T 細胞活性を解析するために、免疫したマウスのパイエル板あるいは孤立リンパ小節からリンパ球を分離して *in vitro* で破傷風類毒素による再刺激を行い、細胞増殖活性を検討した。その結果、野生型骨髄を移入した野生型マウスのパイエル板では顕著な細胞増殖が認められたが、野生型骨髄を移入した LT- $\alpha$ 欠損マウスの孤立リンパ小節はほとんど認められなかった。さらに、T 細胞非依存性免疫応答についての検討を加えるために、*Salmonella* のリポ多糖に対する IgA 抗体応答を測定した。その結果、野生型骨髄を移入した LT- $\alpha$ 欠損マウスでは *Salmonella* リポ多糖特異的 IgA 抗体応答は誘導されなかったが、野生型の骨髄を移入した野生型マウスは糞便中に顕著な *Salmonella* リポ多糖特異的 IgA 抗体応答の誘導が認められた。これらの結果より、孤立リンパ小節は腸管の *Salmonella* に IgA



部科校名：松戸歯学部

氏名：山本 正文

## 研究の結果 (つづき)

抗体応答において、T細胞依存経路、T細胞非依存経路共に関与が認められず、*Salmonella*に対する腸管 IgA 誘導応答には孤立リンパ小節は誘導組織としての役割を果たしていない可能性が示唆された。そこで、*Salmonella*に対する免疫誘導におけるパイエル板の役割について検討を加えた。前述の実験結果より、パイエル板は胎生期にリンホトキシン依存性の刺激伝達経路により形成されることが示されているが、リンホトキシン依存経路は腸間膜リンパ節の形成にも主要な役割を果たしている。そこで、腸間膜リンパ節に影響を及ぼさず、パイエル板のみの欠損マウスを作製するために、パイエル板形成においてリンホトキシン依存性経路の上流にある IL-7 レセプターを介する刺激伝達経路を遮断するために、胎生期に抗 IL-7R 抗体で処理することによりパイエル板欠損マウスを作成した。形態学的・組織学的解析によりパイエル板欠損マウスの腸管膜リンパ節は正常に形成されていることが示された。また、孤立リンパ小節の組織構造について解析を加えた結果、B細胞領域、濾胞樹状細胞クラスター、CD3 陽性 T細胞、CD19 陽性 B細胞領域を有しており、成熟したリンパ組織構造が形成されていることが示された。また、腸管の全 IgA 産生量は正常マウスと同程度であり、パイエル板欠損下においても腸管の IgA 産生能は正常に保たれていた。そこで、これらのパイエル板欠損マウスに r*Salmonella*-Tox C を経口免疫し、抗原特異的抗体応答について解析を加えた。その結果、腸管に破傷風毒素特異的な IgA 応答、*Salmonella* LPS 特異的 IgA 抗体応答は誘導されなかった。さらに、腸管粘膜固有層中の破傷風毒素特異的 IgA 産生細胞数は正常マウスと比較して著しく減少していた。それに対して、出生後、*Salmonella* の免疫期間中にリンホトキシンβレセプターと IgG の複合タンパク投与により孤立リンパ小節を欠損させたマウスは正常マウス群と同程度の破傷風毒素特異的 IgA 応答、*Salmonella* LPS 特異的 IgA 抗体応答が誘導された。一方、腸間膜リンパ節における IgA 産生細胞数を解析した結果、パイエル板欠損マウスでは腸管膜リンパ節内の破傷風毒素特異的 IgA 抗体産生細胞数が正常マウス、孤立リンパ小節欠損マウスに比べ、顕著に減少した。次に抗原特異的ヘルパー T細胞機能を解析した結果、免疫後のパイエル板欠損マウスの粘膜固有層から分離した CD4 陽性細胞の破傷風毒素特異的 IFN-γ産生能は著しく減少した。これらの結果から、r*Salmonella*-Tox C の経口投与に対する腸管粘膜免疫応答誘導には T細胞依存経路、T細胞非依存経路共に、パイエル板の存在が不可欠であることが示唆された。


次に経口免疫した *Salmonella* に対する全身系免疫組織における免疫応答について解析するために、胎生期に抗 IL-7R 抗体処理により作成したパイエル板欠損マウス、胎生期にリンホトキシンβレセプターと IgG の複合タンパクと TNF レセプター-p55 と IgG の複合タンパクを投与することによって作成したパイエル板/腸管膜リンパ節欠損、胎生期に抗 IL-7R 抗体、出生後にリンホトキシンβレセプターと IgG の複合タンパクを投与して作成したパイエル板/孤立リンパ小節欠損、胎生期にリンホトキシンβレセプターと IgG の複合タンパクと TNF レセプター-p55 と IgG の複合タンパク、出生後にリンホトキシンβレセプターと IgG の複合タンパクを投与して作成したパイエル板/孤立リンパ小節/腸管膜リンパ節欠損マウス、さらには野生型骨髄移入 LT-α欠損マウス (パイエル板/腸管膜リンパ節欠損)、LT-α欠損骨髄移入 LT-α欠損マウス (パイエル板/孤立リンパ小節/腸管膜リンパ節欠損) に r*Salmonella*-Tox C を経口免疫した。免疫 4 週後に血清を採取し、破傷風毒素ならびに *Salmonella* LPS に対する IgG 抗体応答を測定した。その結果、全ての腸管関連リンパ組織欠損マウスにおいて破傷風毒素特異的 IgG 抗体および LPS 特異的 IgG 抗体が正常マウスと同程度に誘導された。また、破傷風毒素特異的 IgG サブクラス (IgG1、IgG2c、IgG2c) を解析したところ、その誘導パターンも類似していた。次に抗原特異的ヘルパー T細胞応答を解析するために、免疫後の脾臓から CD4 陽性 T細胞を分離し、*in vitro* でフィーダー細胞存在下で破傷風毒素による再刺激後の破傷風毒素特異的 IFN-γ産生を測定した。その結果、腸管において破傷風毒素特異的 IgA 抗体応答に著しい減少の認められたパイエル板欠損マウスは正常マウスと同程度の産生量であった。さらに、破傷風毒素特異的遅延型過敏反応もパイエル板欠損マウス、正常マウスともに同程度であった。以上の結果から、r*Salmonella*-Tox C の経口免疫による腸管の分泌型 IgA 抗体応答誘導においては T細胞依存性、T細胞非依存性経路ともにパイエル板が主要な役割を果たしているが、全身系免疫の抗原特異的 IgG 応答誘導においてはパイエル板、孤立リンパ小節、腸管膜リンパ節からなる腸管関連リンパ組織は関与しておらず、腸管で取り込まれた *Salmonella* 抗原は樹状細胞のような細胞に直接脾臓に運搬され、脾臓内で抗原提示と、それに続く免疫誘導が行われていることが示唆された。

注：課題番号を記入してください。

## 平成19年度 学術研究助成金実績報告書

平成 20 年 4 月 16 日

日本大学 総長 殿

氏 名 杉谷 博士  印

所属・資格 松戸歯学部・教授

下記のとおり報告いたします。

1 種目	奨励研究/一般研究(個人)/一般研究(共同)/ <u>総合研究</u>	注:該当する種目を○で囲んでください。
2 研究課題	口腔乾燥症治療にむけての分子学的アプローチ	
3 研究の目的	口腔機能の維持のために、唾液は重要な役割を担う体液である。また、多くの抗菌作用物質も含まれ、口腔内環境液としての役割も担っている。口腔乾燥症は唾液分泌低下を主症状とする疾患の総称であり、最近の調査より高齢者ばかりでなく、若年者にも多く発症することが明らかとなった。口腔乾燥症の原因として様々な因子が考えられているが、未だ詳細は明らかではない。本研究は、唾液腺における唾液分泌機構に関わる分子を明らかにし、口腔乾燥症治療や症状の改善を目指すことを目的とする。	
4 研究の概要	本研究において、唾液腺の水の分泌機構およびタンパク質の分泌機構について検討を行った。水の分泌機構においては、水チャンネルとして発見されたアクアポリンについて発現や役割について検討を行った。また、水分泌に重要な傍細胞輸送系のタイトジャンクションについて検討を行った。タンパク質分泌機構においては、分泌顆粒の形成・成熟に関して検討した。さらに、分泌機能を維持した唾液腺細胞の培養系について検討をした。	
5 研究組織 (共同研究・総合研究のみ該当します)	<ul style="list-style-type: none"> <li>・研究代表者 杉谷 博士 (本研究の立案・遂行・総括)</li> <li>・研究分担者 (役割分担)</li> <li>吉垣純子 (タンパク質分泌機構解析)</li> <li>中尾寿美 (遺伝子発現解析)</li> <li>茂呂 周 (培養系解析)</li> <li>浅野正岳 (形態学的解析)</li> <li>手塚雅勝 (水分泌解析)</li> <li>榛葉繁紀 (タンパク質発現解析)</li> </ul>	

※ホームページ等での公開の (可)・否) いずれかを○で囲んでください。否の場合は、理由書を添付して下さい。

部科校名：松戸歯学部

氏名：杉谷 博士

## 6 研究の結果（総合研究の研究代表者は、4,000字以上記入してください。）

口腔は消化管の入り口としての機能を持ち、食物を摂取し、咀嚼し、味わうための重要な器官である。また、舌を動かし、言葉を発することにも携わっている。こういった口腔機能の維持のために、唾液は重要な役割を担う体液である。また、唾液には多くの抗菌作用物質も含まれ、口腔機能環境液としての役割も担っている。そのため、唾液分泌の低下は、健全な口腔機能維持に大きく影響するばかりでなく、全身疾患発症にも深く関与することが報告されている。

口腔乾燥症は唾液分泌低下を主症状とする疾患の総称であり、最近の調査により、高齢者の約 25 パーセントが口腔乾燥を訴えていることが明らかとなった。また、高齢者に限らず、若年者にも多く発症することも明らかとなった。

口腔乾燥症に関しては原因を探り、その原因を取り除く試みはなされているが、明らかな効果は得られていない。対症療法として人口唾液等の応用も行われているが、根本的な改善には至っていない。また、発症のメカニズムに関しても不明な点が多い。

本研究においては、唾液腺における唾液分泌のメカニズムを分子レベルで明らかにし、口腔乾燥症治療や改善を目指すことを目的とした。

唾液腺からの唾液分泌は自律神経の二重支配により調節されている。自律神経系の神経伝達物質が細胞外からの情報として唾液腺細胞に作用すると、その情報を受容し、それに続く細胞内シグナルの活性化が惹起され、最終的にタンパク質分泌および水分分泌が引き起こされる。本研究では、水の分泌機構およびタンパク質分泌機構についての検討を行った。

## 1. 水分分泌調節

## 1) アクアポリンの役割

水の分泌調節に関しては、水チャンネルであるアクアポリン (AQP) について検討した。AQP は水を選択的に透過するチャンネルタンパク質として発見されたものであるが、現在までに AQP のファミリーとして 13 種類が認められている。唾液腺においては、AQP1、AQP4、AQP5 および AQP8 の発現の報告があり、AQP5 の機能についてはよく検討がなされている。従来、AQP5 は細胞膜に存在するといわれている AQP ファミリーの 1 つであったが、われわれは AQP5 が分泌顆粒膜にも存在することを既に明らかにしている。また、新たに、タンパク質分泌に関わる分泌顆粒内浸透圧調節に関与することも示唆した (J Membr Biol, 2005; 2006)。

## (1) AQP6 の発現

この一連の検討をする中で、ラット唾液腺腺房細胞に抗 AQP6 抗体に反応するタンパク質の存在をウエスタンブロット法により認めた。さらに、mRNA の発現を RT-PCR で検討したところ、既に存在が認められている腎臓と同様の産物が唾液腺腺房細胞に検出され、AQP6 の発現が示唆された。

## (2) AQP6 の局在

さらに、ラット耳下腺における局在を、共焦点レーザー顕微鏡を用いた間接蛍光法にて検討した。その結果、AQP6 が耳下腺腺腔側膜近傍に局在することを認めた。タイトジャンクションのマーカータンパク質である ZO-1 との共局在を検討したところ、ZO-1 の近傍に局在することが認められたことから、タイトジャンクション付近での局在が明らかとなった。次に、急速凍結切片を用いた免疫電顕で AQP6 の局在の検討を行った。その結果、AQP6 はタイトジャンクション近傍と分泌顆粒膜に局在することを認めた。パーコール密度勾配を用いてラット耳下腺分泌顆粒を精製し、免疫電顕を行ったところ、耳下腺分泌顆粒膜に AQP6 の局在の確認をした。さらに、精製分泌顆粒から膜画分を分離してウエスタンブロット解析を行ったところ、分泌顆粒膜上にも AQP6 の局在が確認された (Cell Tissue Res, 2008)。

## (3) AQP6 の機能

AQP は水を選択的に透過するチャンネルとしての機能を持つことで発見されたタンパク質であるが、近年、AQP の中にはイオンチャンネルとしての機能を持つことも示唆されている。AQP6 は塩素イオンを含むハロゲン族のイオン透過性をもつことが電気生理学的な手法により明らかにされており、唾液腺における AQP6 も腺疎イオンチャンネルとしての機能が推測される。塩素イオンの分泌はだえきの生成に重要な役割を担うことから、耳下腺においては腺腔側膜に局在することは唾液生成や分泌に関連すると考えられる。一方、分泌顆粒膜における AQP6 の役割については、二光子レーザー顕微鏡を用いた実験から、タンパク質分泌に伴う分泌顆粒内への水の動きが認められ、これと関連することが考えられ、さらなる検討を進めている。

部科校名：松戸歯学部

氏名：杉谷 博士

## 研究の結果（つづき）

## 2) タイトジャンクションの役割

唾液分泌課程において、水の輸送は細胞を経由する系と細胞間を経由する系が存在する。細胞間を経由する系を傍細胞輸送系とよんでいる。この傍細胞輸送系の調節に関わるのがタイトジャンクションである。我々は、タイトジャンクションの機能検討のために、ラット顎下腺由来培養細胞である SMIE 細胞を用いた検討を行った。

## (1) タイト機構

SMIE 細胞はタイトジャンクションをもつ細胞であるため、傍細胞間を経由する機能解析には極性を維持した培養系を用いた。この系を用いることにより、傍細胞間経路の機能は抵抗値とデキストランの透過性で確認できた。また、タイトジャンクションを形成するタンパク質としては、ZO-1、クローディン 3、オクルーディンの発現をウエスタンブロット解析および共焦点レーザー顕微鏡を用いた免疫組織化学により確認した。

## (2) IGF-1 による機能維持

唾液腺細胞には成長因子の一つである IGF-1 の発現が知られている。そこで、タイトジャンクション機能維持にかかわる IGF-1 の機能を検討した。有血清培地では、SMIE 細胞は増殖し、タイトジャンクションタンパク質と機能を維持していた。血清 (FCS) の代わりに HGF, EGF, TGF- $\beta$  などを用いた場合は SMIE 細胞のタイトジャンクション維持は認められなかったが、IGF-1 存在下ではほぼ血清と同様な効果が認められた。IGF-1 受容体阻害剤を用いた場合は IGF-1 の効果も血清の効果も阻害されたことから、血清中に含まれる IGF-1 が SMIE 細胞におけるタイトジャンクション機能維持に関与することが認められた。

## (2) 細胞内シグナル

IGF-1 によるタイトジャンクション機能維持に関わる細胞内シグナルについて、阻害剤を用いて検討を行った。PI3 キナーゼ阻害剤では、IGF-1 のタイトジャンクション維持機能は完全に阻害された。一方、MAP キナーゼの存在においては、IGF-1 の効果は部分的にしか阻害されなかったことから、MAP キナーゼの下流に PI3 キナーゼが存在するシグナルが IGF-1 の効果に関与することが明らかとなった。この結果は、唾液腺の機能維持に IGF-1 が大きく貢献していることを示唆するものであり、唾液腺機能異常との関連も検討することが必要と考えられる。

## 2. タンパク質分泌調節

## 1) 分泌顆粒形成・成熟

## (1) syntaxin6 の役割

タンパク質分泌に関わる因子の検討に関して、分泌顆粒形成機構の検討も行った。一連の分泌機構は分泌タンパク質の合成に始まり顆粒内への濃縮・分配、細胞内の輸送・成熟、そして開口放出という過程に分類することができる。分泌顆粒の成熟過程の解明を目的としてラット耳下腺分泌顆粒について検討を行ったところ、パーコールの密度勾配を利用することにより、未成熟と成熟分泌顆粒が分離された。それぞれの分泌顆粒膜に存在するタンパク質発現をウエスタンブロット解析により検討したところ、両者に違いがあることを明らかにした。特に未成熟顆粒には分泌顆粒の生成時への関与が考えられている syntaxin6 が多く局在し、成熟顆粒には少ないことを認めた。この結果から、分泌顆粒の生成過程に必要なである syntaxin6 が未成熟顆粒からほかのオルガネラに輸送されることが考えられた (Biochem Biophys Res Commun, 2006)。

## (2) 膜ドメインの関与

一方、細胞膜上にはコレステロールと糖脂質の会合により形成される膜ドメイン (ラフト) と呼ばれる膜脂質領域が存在する。膜ドメインは細胞膜上で膜タンパク質の局在制御機能に関与することから、細胞内膜輸送や細胞内情報伝達を調節する機構の 1 つであると考えられている。膜ドメインを界面活性剤不溶性画分として分離する方法を確立し、それを利用して分泌顆粒の成熟過程における syntaxin6 の輸送機構における膜ドメインの関与を検討したところ、syntaxin6 は未成熟顆粒上では 1 つの膜ドメインに局在し、その後、分泌顆粒上で他の膜タンパク質から選別された。このことから、syntaxin6 が分泌顆粒膜から他のオルガネラに輸送されることがより強く示唆された (Biochem Biophys Res Commun, 2007)。

注：必要に応じて、このページをご使用ください。

部科校名：松戸歯学部

氏名：杉谷 博士

## 研究の結果（つづき）

## (3) 培養細胞におけるタンパク質分泌システム

唾液腺における分泌機能や分泌顆粒の生成等に関する研究においては、培養系細胞を用いることが有利と考えられる。しかし、外分泌腺細胞は高度に分化しており、機能を維持したままの培養は極めて困難であるとされている。唾液腺においても分泌能を維持した培養細胞は確立されていなかった。このことから、我々は、分泌機能を維持した唾液腺腺房細胞の培養系の確立に着手した。その結果、ラット耳下腺腺房細胞を利用し、48 時間目までは自律神経からの神経伝達物質に対する分泌応答能を維持した初代培養系を確立することに成功した(Cell Tissue Res, 2005)。

この培養系を用いて、極性の形成についての検討を行った。耳下腺組織においては、細胞間には腺腔側から、オクルーディンおよびクローディンから構成されるタイトジャンクション、カドヘリンにより構成されるアドヘレンスジャンクション、デスモゾームが存在しており、細胞間を接着するとともに、細胞間の物質輸送に関わっていると考えられている。ラット耳下腺初代培養細胞におけるこの細胞間の有無を電子顕微鏡観察により検討した。初代培養細胞は単層になる群と、単層に広がらずに半球状のクラスターを形成する群に分類されるが、単層になった細胞間の頭頂膜側およびクラスター表面細胞間の頭頂側にタイトジャンクションが認められた。さらに、クラスター内部には腺腔が存在し、腺腔を取り囲む細胞間にもタイトジャンクションが認められた。それぞれのタイトジャンクションを持つ細胞群を単層になった M 細胞、クラスター表面の S 細胞、クラスター内部の I 細胞に分類し、さらに形態と機能を検討したところ、耳下腺組織におけるクローディンは、導管部細胞にクローディン 3 とクローディン 4 の発現が認められており、一方、腺房細胞にはクローディン 4 は認められずクローディン 3 のみの発現が認められる。初代培養細胞のうち、M 細胞や S 細胞にはクローディン 3 およびクローディン 4 の発現が認められ、I 細胞にはクローディン 3 のみの発現が認められた。アミラーゼを含む分泌顆粒の存在も検討したところ、M 細胞および S 細胞での数は少なく、I 細胞では多くの分泌顆粒が認められた。これらのことから、I 細胞が腺房細胞としての機能を維持していることが考えられた(Cell Tissue Res, 2007)。さらに、この培養細胞系における分泌機能の解析を進めている。

注：必要に応じて、このページをご使用ください。

注：課題番号を記入してください。

## 平成19年度 学術研究助成金実績報告書

平成 20 年 4 月 30 日

日 本 大 学 総 長 殿

氏 名 月瀬 東



所属・資格 生物資源科学部・ 教授

下記のとおり報告いたします。

1 種目	奨励研究/一般研究(個人)/一般研究(共同)/ <input checked="" type="radio"/> 総合研究	注：該当する種目を○で囲んでください。
2 研究課題	超ミニブタの実験用モデル動物としての応用法に関する研究	
3 研究の目的	体型が極めて小さく体重も軽い超ミニブタ（成豚体重で10kg以下）は、実験室内でのケージ飼育が可能であり、新薬開発などの各種試験にサルやイヌに替わる実験動物としての貢献が強く期待される。本研究では、人為的に作出した超ミニブタの糖尿病モデルを用いて、全身性に発生する病態を明らかにするとともに、超ミニブタが極めて有用性の高い実験用モデル動物であることを実証する。	
4 研究の概要	成熟した雄超ミニブタにアロキサンを投与し、人為的に糖尿病モデルを作出する。その後、血液性状を詳細に検査し、経時経過に伴う病態の変化を追究するとともにCTやMRIによる画像をもとに、糖尿病の進行度合いを詳細に検査し、血管を主とする諸臓器の病的変化を観察する。 また、剖検時に滑膜、眼、脾臓、泌尿器などを採取し、光学顕微鏡あるいは電子顕微鏡を用い、組織学的ならびに組織化学的に病的変化を追究する。	
5 研究組織（共同研究・総合研究のみ該当します）	<ul style="list-style-type: none"> <li>・研究代表者 月瀬 東</li> <li>・研究分担者（役割分担） <ul style="list-style-type: none"> <li>酒井 健夫（病態生理学的解析）</li> <li>金山 喜一（病態生理学的解析）</li> <li>大場 茂夫（糖尿病モデルの作出、臨床医学的観察）</li> <li>北川 勝人（糖尿病モデルの作出、臨床医学的観察）</li> <li>安井 禎（臨床医学的観察、形態学的ならびに形態化学的研究）</li> <li>木場 秀夫（臨床医学的観察、形態学的ならびに形態化学的研究）</li> <li>諸星 康雄（糖尿病モデルの作出、形態学的ならびに形態化学的研究）</li> <li>桑原 康（糖尿病モデルの作出、臨床医学的観察）</li> </ul> </li> </ul>	

※ホームページ等での公開の  可  否 いずれかを○で囲んでください。否の場合は、理由書を添付して下さい。

部科校名：生物資源科学部

氏名： 月瀬 東

6 研究の結果（総合研究の研究代表者は、4,000字以上記入してください。）

従来のミニブタに比べて、体型が極めて小さく、体重も軽い超ミニブタ（成豚体重10kg以下）の生産ラインがすでに確立されている。超ミニブタは、性質も温厚で中型犬用のケージを用いて実験室内での飼育が可能であり、実験用モデル動物としての利用が期待される。

本研究は、超ミニブタを実験用モデル動物として適用する最初の応用研究である。従って、I型糖尿病モデルを作出する前に、実験動物として未知の動物である超ミニブタの正常な組織ならびに細胞学的構築の本態を明らかにするため、以下の実験を実施した。

生後4～6ヶ月齢の雄超ミニブタから、尿生殖器系（腎臓、精巣、精巣上体、精巣輸出管、精嚢腺、前立腺、尿道球腺）、消化器系（肝臓、膵臓）、内分泌系および中枢神経系（副腎、甲状腺、下垂体、大脳）、リンパ系（脾臓、腸間膜リンパ節）、骨および関節（大腿骨、滑膜）、視覚器および外皮（眼、背部および腹部皮膚）の各器官より採取した組織片を光顕ならびに電顕用に分けて、固定、包埋した。これらを常法に従い切片とした後、各種染色を施し観察したところ、生殖腺ならびに副生殖腺はよく発達し、曲精細管の精細胞は活発に分裂し、多くの成熟した精子も観察された。精巣上体各部の上皮細胞はよく発達し、精巣上体尾部の管腔には成熟した精子の凝塊が貯留していた。また、ブタにおける雄性副生殖腺は他の哺乳類と比べて、特異的によく発達し、その腺上皮から分泌される腺液は多くの糖質を含み、精子の生理機能に重要な役割を有するとされている。本研究で観察した精嚢、前立腺、尿道球腺終末部の腺上皮は、よく発達し、上皮内には多くの分泌顆粒が認められ、腺腔内にはしばしば分泌液が貯留していた。これらの腺上皮に糖検出反応を適用すると、多くの腺細胞と腺腔内分泌物は強くないし中等度に陽性反応を示した。これらの観察結果から、雄の超ミニブタは生後4ヶ月齢で十分に性成熟に達しており、本実験に供することが可能であると判断した。

本研究で作出するI型糖尿病は、超ミニブタの膵島と肝臓、腎臓、眼、脳、皮膚、骨、滑膜の毛細血管に変化が招来されると考えられることから、超ミニブタにおけるこれらの正常な組織・細胞の構築を明らかにすることを試みた。

超ミニブタの膵島は、数百～数十箇の島細胞が集合した比較的大きなものから、数箇の細胞のものまで、膵臓の腺小葉内に存在していた。膵島を抗グルカゴン、抗インスリンおよび抗ソマトスタチン抗体を用いて免疫染色を施すと、A細胞、B細胞およびD細胞がそれぞれ特異的に陽性反応を示した。また、これらの島細胞は電顕的にそれぞれの細胞内に認められる顆粒や細胞小器官の性状により、三つの型別が可能であった。肝臓は、生体における細胞生命を維持し、細胞機能を発現させるために重要な糖代謝の中心的な器官である。肝臓を光顕ならびに電顕的に観察したところ、肝細胞には多数のグリコーゲン粒子が含まれており、これらは中性糖検出反応によっても明らかとなった。また超ミニブタの小葉間結合組織は発達し、血管系が豊富に分布していた。腎臓は毛細血管網（皮質表層、尿細管周囲）、糸球体細動脈、小葉間動脈などの動脈系が豊富に分布し、血管内皮とその基底側の間質が明瞭であった。腎臓の濾過機能において極めて重要な役割を有する糸球体基底膜が電顕観察により確認された。眼球周囲の血管膜は極めて多くの毛細血管が分布し、眼房水や硝子体の生成など、視覚機能を営む上で不可欠の機能を有する。また、網膜の内果粒層から神経線維層には、網膜を養う網膜血管系が観察された。これらの毛細血管の正常な内皮細胞と内皮周囲の基底側が光顕ならびに電顕的に観察された。大脳実質に分布する毛細血管の構造では、内皮細胞と血管周囲の構造を詳細に調べた。皮膚には毛細血管が豊富に分布し、血管内皮とその周囲の構造は主として光顕的に観察した。可動関節の最内側は滑膜が位置し、そこにはよく発達した毛細血管網が認められ、滑液の産生という重要な機能を有する。骨組織中の毛細血管も脱灰標本として光顕的に観察し、内皮の正常な状態を確認した。また、骨層板など正常な骨の微細構造についても観察した。

以上に述べたように、これらの器官は血管系が豊富に分布し、その組織構造ならびに超微細構造は従来のミニブタと比較して、差異は無いことが明らかとなった。

骨格形成についてX線CTを用いて観察した結果、超ミニブタにおける全身骨格系には形成異常や奇形などは認められず、ブタとしての正常な骨格系を示していた。また、血液検査においても超ミニブタの血液性状は、従来のミニブタと比較して、ほぼ一致していた。

以上の結果から、超ミニブタは実験用モデル動物として本研究への供試可能であることが明らかとなった。

I. 超ミニブタを実験モデル動物として用いたI型糖尿病の誘発

供試動物は、第1群（発症後3日）と第2群（発症後3ヶ月）に分け、それぞれ6頭を用意し、そのうち

部科校名：生物資源科学部

氏名： 月瀬 東

## 研究の結果（つづき）

各 4 頭を実験用として処置し、各 2 頭は対照とした。アロキササン（コダック社）を蒸留水に溶解し、100 mg/kg を静脈より投与して、アロキササン糖尿病を誘発させた。アロキササン投与 1 時間後には、血中グルコース濃度は 400～450 mg/dl に急激に上昇し、膵 B 細胞のインスリン合成機能が強く障害されたことを示した。I 型糖尿病誘発後、第 2 日目よりインスリン 1～2 U/day を皮下注射により投与して、供試動物の血中グルコース濃度を 300 mg/dl 近くに維持した。

## II. 第 1 群（発症後 3 日）の観察

アロキササン糖尿病を誘発直後の超ミニブタにおける膵島の状態を知る目的で、アロキササン投与後 3 日で剖検を実施し、膵島を中心に光顕的ならびに電顕的に観察した。

光顕的観察：切片に H-E 染色を施し観察した結果、膵島には特筆すべき変化は認められなかった。一方、抗グルカゴン、抗インスリンおよび抗ソマトスタチン抗体を用いた免疫染色を適用した膵島では、顕著な変化が観察された。すなわち、アロキササン糖尿病誘発 3 日後の超ミニブタにおける膵島の B 細胞には、対照群に比べて抗インスリン抗体による染色性が強く減弱されるか、陰性を示した。抗グルカゴン抗体の膵 A 細胞および抗ソマトスタチン抗体の膵 D 細胞に対する染色性は対照と比較して、変化はなかった。また、膵外分泌部においても変化は全く認められなかった。

電顕的観察：Epon 超薄切片にウランと鉛による二重染色を施して観察した膵島は、B 細胞内の小胞体の膨化が明瞭で、顆粒もやや縮小あるいは減少を示し、他の細胞小器官も膨化する傾向を示した。以上の結果は、超ミニブタの膵 B 細胞がアロキササンにより選択的に障害を受け、本動物にアロキササン糖尿病が誘発されたことを意味する。

## III. 第 2 群（発症後 3 ヶ月）の観察

アロキササン糖尿病を誘発して 3 ヶ月後の超ミニブタを X 線 CT により観察すると共に、剖検後膵臓、肝臓、腎臓、眼、脳、皮膚、骨、滑膜を採取して、組織学的あるいは組織化学的に観察した。

X 線 CT による観察：全身麻酔下で CT 検査を実施した。全身を撮影後、画像処理を行い、全身骨格系について詳細に観察した。軸性骨格（頭蓋、脊柱、胸郭）においては頭蓋骨および顔面骨；頸椎、胸椎、腰椎、仙骨および尾椎；肋骨および胸骨のそれぞれの特徴的な形状には全く変化は認められなかった。また、これらの軟骨部や関節部にも形態的な異常などは観察されなかった。付属性骨格（前肢、後肢）においては、前肢帯および自由前肢骨の諸骨、後肢帯および自由後肢骨の諸骨においては、形状の変化は認められなかった。また、これらの軟骨部や関節部にも形態的な異常は観察されなかった。全身の骨の骨密度はやや減少傾向にあることが示されたが、骨髄などでは著変を示さなかった。

これらの CT 検査の結果から、超ミニブタにおけるアロキササン糖尿病の CT 検査による描出は、糖尿病誘発後、6 ヶ月あるいは 12 ヶ月を経過した症例への適用が望ましいことが示唆された。また、MRI 検査も同様であろうと考えられる。

組織学的観察：膵島の H-E 染色標本による観察では、その一部に空胞化した細胞がみられた。前述のように、膵島に対して 3 種の抗体を適用して免疫染色を行ったところ、B 細胞の抗インスリン抗体に対する染色性はほとんど失われていた。膵 A 細胞および膵 D 細胞に対するこれらの抗体の染色性は、対照と比べて変化は認められなかった。膵 B 細胞の微細構造には明らかに空胞化がすすみ、顆粒構造もほとんど認められなかった。採取した組織のうち、眼、腎臓、肝臓、滑膜は特に毛細血管網のよく発達した器官であるので、ここではこれらの器官における観察所見を中心に述べる。眼球の血管膜のうち、網膜毛細血管は内皮とその周囲の線維層は極めて菲薄であり、この部位には顕著な硬化病変が認められた。他の部位における眼球血管膜の毛細血管にも、しばしば硬化による変性が観察された。腎臓における糸球体の輸入細動脈においては、明らかに硬化病変が観察された。糸球体にも同様の硬化が招来され、電顕的観察においても基板に顕著な硬化が出現していた。肝臓においては、類洞を中心とした硬化様変化が観察された。可動性関節腔の最内層を占める滑膜には、毛細血管が豊富に分布している。これらの内皮細胞とその周囲の線維層には、しばしば硬化様変化が出現していた。

本研究では、超ミニブタにアロキササン糖尿病を誘発させて、その病態を観察し、その結果をふまえて、本動物の実験用モデル動物としての利用の可否を考察した。本研究で用いた超ミニブタにおけるこれらの所見は、本動物が I 型糖尿病の典型的な症状である網膜症、腎症、関節の血管障害を発症したことを示すことから、超ミニブタが実験動物モデルとして極めて利用価値の高いものであることを明らかにした。



注：課題番号を記入してください。

## 平成19年度 学術研究助成金実績報告書

平成 20 年 4 月 8 日

日本大学 総長 殿

氏 名 榛葉 繁紀



所属・資格 薬学部・准教授

下記のとおり報告いたします。

1 種目	奨励研究/一般研究(個人)/一般研究(共同)/ <u>総合研究</u>	注:該当する種目を○で囲んでください。
2 研究課題	体内時計の脂肪細胞特異的な破綻によるメタボリックシンドローム発症とそのメカニズム	
3 研究の目的	肥満はメタボリックシンドロームの主因であり、ひいては動脈硬化をはじめとする様々な致死的な疾患をひき起こす。近年、シフトワーカーがメタボリックシンドローム様の症状を示すことが報告され、時計遺伝子の機能とメタボリックシンドロームの発症との関連性が急速にクローズアップされてきている。そこで本研究ではこれらの知見を基に時計遺伝子ノックアウトマウスを用いてメタボリックシンドロームの発症における時計遺伝子の役割を明らかにすることを目的とする。	
4 研究の概要	時計遺伝子 BMAL1 の遺伝子エクソン4-8を挟む形で lox P 配列を挿入した F1 マウスを aP2 遺伝子のプロモーター/エンハンサー部位下流に Cre 遺伝子を組み込んだトランスジェニックマウスと交配させることにより脂肪細胞特異的ホモ欠損マウスを作製する。得られたマウスについて、生化学的パラメーターならびに病理学的所見を検討する。また各臓器における遺伝子発現量の変化を測定する。	
5 研究組織 (共同研究・総合研究のみ該当します)	<ul style="list-style-type: none"> <li>・研究代表者 榛葉繁紀</li> <li>・研究分担者 (役割分担) <ul style="list-style-type: none"> <li>手塚 雅勝 (KO マウスの生化学的解析)</li> <li>石毛久美子 (KO マウスの行動薬理的解析)</li> <li>小宮山一雄 (KO マウスの病理学的解析)</li> <li>浅野 正岳 (KO マウスの病理学的解析)</li> <li>岩瀬 孝志 (KO マウスの病理学的解析)</li> <li>上野 高浩 (耐糖能実験及びその解析)</li> <li>福田 昇 (耐糖能実験及びその解析)</li> </ul> </li> </ul>	

※ホームページ等での公開の (可)・否) いずれかを○で囲んでください。否の場合は、理由書を添付して下さい。

部科校名：薬学部

氏名：榛葉繁紀

## 6 研究の結果 (総合研究の研究代表者は、4,000 字以上記入してください。)

近年、高齢化社会の進展にともない、“健康に長寿を全うしていく”ことは国民の切なる願いであり、医薬学界にとっても大きな課題となっている。一方でライフスタイルの変化により糖尿病、高血圧および高脂血症などのいわゆる生活習慣病を複数クラスターし(メタボリックシンドローム)、最終的には動脈硬化症を発症する患者数は増加の一途をたどっている。したがってその予備軍も含めた患者数を考慮すれば、メタボリックシンドロームの発症メカニズムを解明し、それに基づいた適切な予防法や治療のための新たな薬剤の開発は喫緊の社会的要請である。メタボリックシンドローム患者数の急増の原因は、脂肪性食品からのエネルギー過剰摂取、交通手段の発達による運動不足、過度のストレスなど多種多様であるが、これらに加えて、勤務年数が長い女性看護師に乳がんが多いこと、また男性のシフトワーカーに前立腺がんが多いことなどからシフトワークとメタボリックシンドロームとの関連が疑われている。シフトワークと疾病発症に関する我が国における大規模疫学調査は、2006年にまとめられ、その結果において、全体の死亡リスクは変わらないものの、シフトワークによる肥満者数の増加ならびに虚血性心疾患による死亡のリスク増大が示された<sup>1)</sup>。興味深いことに、夜間に固定して勤務する限りではこのような虚血性心疾患による死亡リスクの有意な増加は認められない。同様の結果は、西欧諸国における疫学調査においても得られており、シフトワークが肥満をはじめとするメタボリックシンドロームのリスクファクターであることが示されている。これらの結果は、シフトワークによる体内時計の乱れがメタボリックシンドローム発症のリスクファクターとなることを示唆している。

これらメタボリックシンドローム発症のリスクファクターが肥満症を誘発し、その結果として糖尿病をはじめとする代謝性疾患の発症につながることはよく知られている。メタボリックシンドロームの主因である肥満症は、脂肪細胞の数の増加ならびに肥大化によって生ずる。脂肪細胞は従来、単に中性脂肪を蓄積する受け身の細胞として認識されてきたが、肥満遺伝子の産物であるレプチンの発見以来、脂肪細胞が内分泌器官として積極的にエネルギーホメオスタシスの維持に重要な役割を担っていることが明らかにされてきた。脂肪組織は成人において体重の約 20%、肥満成人においては約 40%にもおよびると推定され、重量から言えば脂肪組織は最大の内分泌臓器である。したがって肥満の成立および引き続くおこるメタボリックシンドロームをはじめとした様々な疾患の発症には、脂肪細胞数の増加ならびに肥大化、およびそれに伴う脂肪細胞特異的な分泌タンパク質(アディポサイトカイン)の産生・分泌が大きく関与する。またその制御は PPAR $\gamma$ 2 をはじめとする多くの転写因子のネットワークにより転写レベルにおいて調節されている。そこで我々は脂肪細胞機能を制御する転写因子を検索したところ、体内時計のマスターレギュレーターである時計遺伝子 **Brain-Muscle Arnt Like Protein 1 (BMAL1)** の発現が脂肪細胞分化モデルである 3T3-L1 細胞の脂肪細胞分化の進行に伴い増加することを見出した。またマウス個体においても BMAL1 は成熟脂肪細胞画分に高く発現し、前駆脂肪細胞を含む stromal-vascular 画分にはほとんど検出されない。さらに脂肪細胞、骨芽細胞ならびに軟骨細胞へと分化する間葉系幹細胞においても、BMAL1 の発現増加は、脂肪細胞分化時においてのみ特異的に観察された。これらの事実は脂肪細胞機能における BMAL1 の重要性を予感させる。事実、我々は BMAL1 KO マウス胎児より調製した線維芽細胞は脂肪細胞への分化能を欠くことを明らかにし、さらにはそれら細胞にアデノウイルスを用いて BMAL1 を強制発現させることにより分化能が回復することを示した。これら BMAL1 の脂肪細胞分化への関与は siRNA を用いた BMAL1 ノックダウン 3T3-L1 細胞においても確認された。またそのメカニズムとして脂肪細胞内で脂質代謝を制御する転写因子である SREBP-1 ならびにその標的遺伝子である脂質代謝系の酵素群の BMAL1 による発現制御を明らかにした。また最近になりメタボリックシンドローム患者の内臓脂肪組織における BMAL1 機能の異常が報告されており、さらには SNP 解析により BMAL1 機能不全と糖尿病ならびに高血圧発症との関係が疑われている。これらの事実は脂肪細胞機能維持における BMAL1 すなわち体内時計の重要性のみならず、その破綻がメタボリックシンドローム発症へと通ずることを示唆している。以上をふまえ本研究では、組織特異的な BMAL1 ノックアウト(KO)マウスを作製し、これを用いて組織特異的な BMAL1 の機能を明らかにするとともにメタボリックシンドロームの発症における時計遺伝子の役割を検討した。

## 1. BMAL1 欠損マウスの作製

組織特異的な BMAL1 欠損マウスを作製する目的でマウス BMAL1 遺伝子中にエクソン 4-8 を挟む形で loxP 配列を挿入したターゲティングベクターを構築した(Fig.1)。この loxP に挟まれた領域は bHLH ドメインを含むため、Cre リコンビナーゼ発現マウスとの交配の後、DNA との結合能を有しない不活性化 BMAL1 タンパク質が産生される。このターゲティングベクターを C57BL/6 マウス由来 ES 細胞にエレクトロポレーションし、ES 細胞クローンを単離した。得られた ES 細胞クローンをを用いてキメラマウスを作製した。さらに交配を重ね現在 F1(flox/flox)マウスを確立した(Fig.2)。

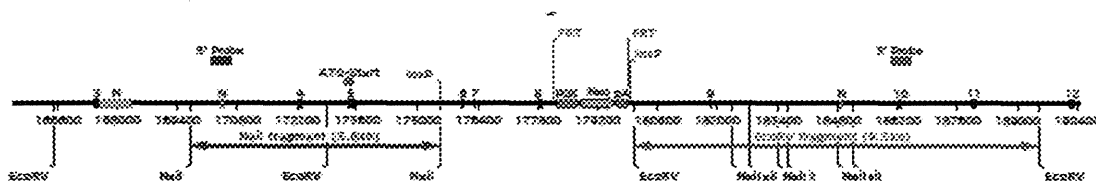


Fig.1 BMAL1 flox マウスの遺伝子構造。

部科校名：薬学部

氏名：榛葉繁紀

## 研究の結果 (つづき)



Fig.2 BMAL1 flox マウスのサザンブロッティング。  
カセットの挿入により 5' probe では 5.8kb (野生型 10.4kb)、  
3'probe では 9.5kb (野生型 14.7kb) にバンドが検出される。

5' probe 3' probe

## 2. BMAL1 KO マウスの特徴

1. で得られた BMAL1 flox/flox マウスを全身、脂肪細胞特異的ならびに肝臓特異的に Cre リコンビナーゼを発現するトランスジェニックマウスと交配し、全身性 BMAL1 KO マウス (以下、BMAL1 KO マウス)、脂肪細胞特異的 BMAL1 KO マウスならびに肝臓特異的 BMAL1 KO マウスを作製した。平成 19 年度は BMAL1 KO マウスの解析を先行させ、以下の知見を得た。

通常餌飼育下において BMAL1 KO マウスは野生型マウスに比較して低体重を示したが、高脂肪食給餌により野生型マウス以上に著しい体重の増加を示した。またそれに伴い脂肪肝、高コレステロール血症ならびに顕著な皮脂の分泌を示した。リポタンパク質中におけるコレステロール組成を解析したところ、BMAL1 KO マウスにおいて著しい LDL コレステロールの増加ならびに HDL コレステロールの減少が認められた。興味深いことに BMAL1 KO マウスにおいて血中アディポネクチン量の増加が認められた。次いで BMAL1 KO マウスの耐糖能ならびにインスリン感受性を検討した。BMAL1 KO マウスにおける耐糖能は、通常ならびに高脂肪食飼育下のいずれにおいても野生型マウスのそれに比較して著しい低下を示した。しかしながらインスリン負荷試験において両マウスに違いは認められなかった。これらの結果は、BMAL1 KO マウスにおけるインスリン分泌異常あるいは組織特異的なインスリン感受性の違いを示唆しているが、現時点では、BMAL1 KO マウスにおけるインスリン分泌異常を認めていない。そこでこれら表現型をより詳細に理解する目的で、各組織における遺伝子発現の変化を DNA マイクロアレイ上にて検討した。その結果、BMAL1KO マウス脂肪組織において、TCA サイクルならびにペントースリン酸回路を構成する酵素の発現増加が認められ、BMAL1 による細胞内還元状態の制御が示唆された。さらに BMAL1 KO マウス脂肪組織内では、コレステロール合成酵素群の増加が示され、このことが高コレステロール血症の一因であることと推察された。BMAL1 KO マウス脂肪組織における脂肪酸合成酵素の発現には変化が認められなかったが、トリグリセリド合成酵素群の発現が著しく低下しており、先に細胞レベルにおいて示された BMAL1 による脂質蓄積調節が、マウス個体レベルにおいても示された。一方、BMAL1 KO マウスの骨格筋では脂肪組織においてみられた TCA サイクル、ペントースリン酸回路ならびにコレステロール合成酵素群の発現増加は認められなかった。しかしながら脂肪酸合成に関与する酵素群の発現が著しく増加していた。また BMAL1 KO マウスの骨格筋においては  $\beta$  アドレナリン受容体ならびに UCP3 の発現が低下しており、これらの結果から BMAL1 は骨格筋において脂肪酸の燃焼を促進し、細胞内への脂質の蓄積を抑制する機能を有することが明らかとなった。BMAL1KO マウス肝臓における遺伝子発現は、脂肪組織ならびに骨格筋とは異なり、特定の代謝系における明確な変化は認められなかった。しかしながらリポプロテインリパーゼ(LPL)の発現が、野生型マウスにおけるそれに比較して約 10 倍増加していた。LPL の肝臓における過剰発現が、脂肪肝を誘発することは古くから知られており、本研究で観察された高脂肪食負荷時における BMAL1 KO マウス脂肪肝の一因としてこの LPL の過剰発現が挙げられる。

## 3. 脂肪酸による BMAL1 の発現制御

肥満に伴いマウス脂肪組織において BMAL1 発現量が顕著に増加することから、培養脂肪細胞及び肝細胞を用いて BMAL1 発現への脂肪酸の影響について検討した。3T3-L1 脂肪細胞を種々の脂肪酸により処理し、BMAL1 発現量を検討したところ、アラキドン酸処理により顕著な発現量の増加が示された。しかしながら、このアラキドン酸による BMAL1 発現量の増加はラット初代培養肝細胞においては認められなかった。次いで種々の阻害剤を用いてアラキドン酸代謝物ならびに細胞内シグナル伝達因子の BMAL1 発現への影響を検討したところ、PG 類および細胞内  $Ca^{2+}$  がアラキドン酸による BMAL1 の発現誘導に関与することが示された。事実、アラキドン酸処理により培養液中における  $PGE_2$  は著しく増加し、その濃度は BMAL1 の発現誘導に十分に高いものであった。すなわち食事由来のアラキドン酸が  $PGE_2$  に代謝され細胞内  $Ca^{2+}$  を介して脂肪細胞における BMAL1 の発現を誘導していることが示唆された。

以上の結果より BMAL1 の機能異常が、メタボリックシンドローム発症へのリスクファクターとなることが示唆された。

注：課題番号を記入してください。

## 平成19年度 学術研究助成金実績報告書

平成 20年 5月 7日

日本大学 総長 殿

氏 名 永瀬 浩喜



所属・資格 大学院総合科学研究科・教授

下記のとおり報告いたします。

1 種目	奨励研究/一般研究(個人)/一般研究(共同) <input checked="" type="radio"/> 総合研究	注：該当する種目を○で囲んでください。
2 研究課題	「哺乳動物モデルにおける組織発生分化に関わる責任遺伝子の同定」	
3 研究の目的	ゲノムの塩基配列のシトシンのメチル化は、DNA 結合蛋白による遺伝子制御に重要な役割を演ずる。本課題では組織発生分化時に、ゲノムのメチル化が組織毎の発生分化に及ぼすメカニズムの一端を明らかにする。具体的には遺伝子プロモーター領域のメチル化により遺伝子発現が制御される遺伝子群より、実際に組織発生分化に重要な役割を示す新規の遺伝子とその機能の解析を目指す。このことで今後発展が期待されるヒト幹細胞を利用した細胞移植、再生医療施行時の評価マーカー、組織分化マーカーの同定とその機能評価を行う。	
4 研究の概要	我々は実験生物で組織毎の DNA メチル化を網羅的に検索した。このデータを下にヒト組織特異的メチル化、マウス幹細胞組織分化モデル、各種腫瘍での DNA メチル化解析を行い、正常及び癌組織発生分化に関わる責任遺伝子の機能解析を行う。	
5 研究組織（共同研究・総合研究のみ該当します）	<ul style="list-style-type: none"> <li>・研究代表者 永瀬浩喜・大学院総合科学研究科</li> <li>・研究分担者（役割分担） <ul style="list-style-type: none"> <li>根本則道 医学部病理学講座・教授（病理解剖検体からの組織採取と病理診断）</li> <li>関根直樹 医学部内科学講座・消化器肝臓内科・助手（組織発生分化に関わる候補遺伝子の解析）</li> <li>加野浩一郎 生物資源科学部動物資源科学科・准教授（DFAT 細胞組織分化系の確立）</li> <li>野呂知加子 大学院総合科学研究科/生命科学専攻・准教授（組織発生分化に関わる遺伝子の同定と解析）</li> <li>木村真 大学院総合科学研究科・助手（DFAT 細胞組織分化系への遺伝子導入）</li> <li>五十嵐潤 大学院総合科学研究科・助手（表現型解析、組織採取と保存）</li> </ul> </li> <li>研究分担者（学外） <ul style="list-style-type: none"> <li>中井雄治 東京大学大学院農学生命科学研究科・特任助教授（組織発生分化に関わる候補遺伝子を情報生物学により解析）</li> </ul> </li> </ul>	

※ホームページ等での公開の  可・  否 いずれかを○で囲んでください。否の場合は、理由書を添付して下さい。

部科校名：総合科学研究科

氏名：永瀬 浩喜

## 6 研究の結果（総合研究の研究代表者は、4,000 字以上記入してください。）

近年まで学会において、分化した組織間では DNA のメチル化に差はほとんど無く、その変化による遺伝子制御はまれであると示されてきた。これは、まず DNA メチル化を網羅的に定量的に測定する方法が確立されていなかったことによるところが大きく、さらに、過去の実験で組織ごとのメチル化変化に否定的に考えられる研究結果が得られたことにもよる。すなわちメチル化維持酵素 DNMT1 により DNA メチル化は体細胞分裂時に娘細胞に維持され(Goll and Bestor, 2005 Annu.Rev.Biochem.)、そのエラーレートも約 1%程度と類推されたこと(Reik et al. 2007 Nature)、DNA メチルトランスフェラーズの異常個体でも植物で正常の発育が見られ(Kankelet al 2003 Genetics)、マウスでも組織発生にほぼ異常が見られなかったこと(Liet al. 1992 Cell)、および初期の組織特異的に発現する遺伝子の解析においても DNA メチル化と発現に相関がほとんど見られなかったこと(Walsh and Bestor 1999 Genes Dev., Warnecke and Clark 1999 Mol.Cell Biol., Jackson-Grusby et al. 2001 Nat.Genet.)によると考えられる。この膠着した考えに対するブレークスルーとなる論文を 2005 年我々は PNAS 誌に発表し、マウスでの組織特異的メチル化領域を 150 箇所ゲノム上に同定し、マウスゲノムでは少なくとも 15,500 箇所ある CpG アイランドのうち少なくとも 800 箇所の遺伝子領域が組織毎にメチル化の差を示し、この特異的な DNA メチル化の差により、多数の遺伝子が組織毎に発現が制御されているだろうことを予測した。この組織特異的なメチル化の存在は近年網羅的に DNA メチル化やヒストン修飾が解析できるようになり、多数の研究室で確認され、一般的に受け入れられている。本総合研究の助成において、さらにマウスで同定された組織特異的メチル化領域がヒトゲノム上の相同領域でも同様に遺伝子制御メカニズムとして働くことを確認し報告した (Kitamura et al. 2007 Genomics)。DNA メチル化は遺伝子の発現制御、染色体の不安定化、内在ウイルスゲノムの制御などに関係し、遺伝子配列情報と異なり、発生や老化、環境の変化、病態の進行により可逆的に変化するという点でも重要である。さらに近年、さまざまな疾患での DNA メチル化の関与が示唆されている。さらに興味深いことには、CpG アイランドの数はヒトゲノム上に 34000 とマウスの倍以上があり、ゲノム配列総数、遺伝子数はほぼ同じことより、このメチル化による制御系のヒトでの増加は、ヒトでより発達が認められるものとの関与が強く示唆される。これを補足するように、最近、ヒトでの発達が特に顕著な脳に関係する自閉症や統合失調、双極性障害といった精神性疾患に、メチル化が関与することが報告されている。癌では、遺伝子の変異が積み重なることで癌化が進行すると考えられてきたが、実際には、遺伝子配列の変異より、この DNA の修飾であるシトシンメチル化変化のほうが高頻度に見られる現象で、これにより癌抑制遺伝子が発現しなくなる高頻度の現象あることが報告されている(Costello et al. 2000 Nat.Genet.)。このように DNA メチル化を含むエピジェネティックな制御系が、哺乳類の生体生理、病理において大変重要な位置づけを示すことが徐々に解き明かされている。このようにメチル化の重要性が近年確認されるとともに、我々の組織特異的 DNA メチル化の研究成果が認められたことで、2008 年に「Epigenetics: differential DNA methylation in mammalian somatic tissues」が FEBS Journal 誌に、2007 年に「DNA メチル化と癌の遺伝子診断・遺伝子治療」が化学フロンティア ゲノム化学誌に総説として掲載される機会に恵まれました。また組織特異的なメチル化研究は、さらに発生分化特異的なメチル化そしてがん特異的なメチル化の研究へと積み重ねられ、既に上記論文 3 報、特許 1 件 (NUBIC 案件番号:11247 増殖性疾患の検出方法 出願番号:特願 2008-104321 出願日:平成 20 年 4 月 14 日 出願人: 日本大学 発明者: 永瀬浩喜、篠島由一、照井 正)、学会発表 16 回 (特別講演 1 回、ワークショップ 2 回、招待講演 1 回、口演 2 回、ポスター発表 10 回) を行っている。以下研究成果を具体的に記述する。

最初に実験動物マウスで最も高頻に使用され、全ゲノム配列が確定している近交系系統である C57BL6/J (B6) マウスを利用して PNAS 誌に掲載した組織特異的メチル化についてさらに追加実験が行われた。8 週齢 B6 マウスの精巣、腎臓、肝臓、筋肉、脳、大腸、肺、皮膚組織から DNA、RNA を抽出し、実験に使用した。加えて、B6 マウス由来の、ES 細胞、脂肪由来の間葉系幹細胞 (DFAT 細胞) の幹細胞から脂肪への再分化時に変化するゲノム上のメチル化領域を米国ロズウェルパーク研究所との共同研究で網羅的に解析した。この解析には、われわれの開発した Vi-RLGS ソフト (Matsuyama et al. 2003 NAR) を利用した 4000 か所の *NotI* 制限酵素での定量的メチル化解析法とメチル化シトシンに対する抗体で共沈する DNA を Nimblegen 社のプロモータアレイを用いて解析する MeDIP 法(Weber et al. 2005 Nature Gen)を利用して行われた。

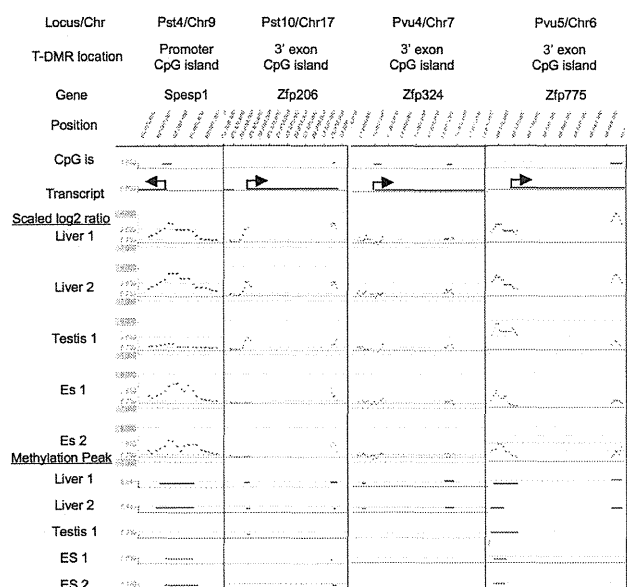
部科校名：総合科学研究科

氏名：永瀬 浩喜

研究の結果 (つづき)

このことにより得られた組織特異的、組織発生・組織分化特異的に変化するマウスゲノム上のメチル化領域についてバイサルファイトシーケンス法 (Frommer et al. PNAS 1992) で CpG サイトごとにメチル化の変化を確認した。加えて 2007 年より学術フロンティアプロジェクトで購入した Sequenom 社 MassArray を使用し、飛行時間型質量分析法による定量的 DNA メチル化フラグメントを解析する EpiTyper 法 (Ehrich et al. PNAS 2005) を利用して解析をおこなった。マウスで確認された領域は、ヒトゲノム上の相同な部位においてヒトでも組織ごとにメチル化が変化するかを検討し 14 箇所のうち少なくとも 6 箇所のゲノム領域がマウス同様にメチル化の変化がみられたことを報告した (Kitamura et al. Genomics 2007)。この研究はさらに 36 のゲノム領域に行われており、同様の結果を得て、平成 20 年度内の投稿を予定している。さらに精巣、卵巣、胎盤特異的に変化する遺伝子については、成人の他の臓器組織ではその変化が認められず、生殖機能を問わない熟年以降の世代にはなんら影響しないこととなる。しかし、これらの変化は一部の疾患、特にがんでは下流の遺伝子の発現を調節することで、下流遺伝子を利用してがん細胞の増殖に利用している (これは Cancer-Testis antigen)。そこでわれわれが同定した精巣や卵巣で特異的にメチル化が変化する領域についてヒトの癌で影響があるかを検討した。最初に 64 のがん細胞株でテストし、さらに、臨床の教室との共同研究により医学部倫理委員会で承認された同意書に基づいて集められたメラノーマ、神経芽腫、大腸がん、肝がん、食道がんにおいて検討を行っている。これらの成果の一部は「増殖性疾患の検出方法」として特許申請済みである。メラノーマの新規診断マーカー2つと神経芽腫の新規診断マーカー3つ大腸がんの新規診断マーカー2つ肝がんの新規診断マーカー3つが確認されている。これらのマーカーの一部は従来発表されている診断マーカーより頻度が高く 90% 近くの癌で確認されるものもあり、今後早期診断、再発診断、治療ターゲット等として期待され更なる研究の継続が必要と考えられる。

図 1 MeDIP methylation analysis of T-DMR loci



研究期間中に、これらの診断マーカーを血液検査で調べる方法を開発する目的で理化学研究所岡本チームリーダーとの共同研究を開始し、メチル化シトシンと特異的に結合するオスミウム反応を利用した少量のゲノムフラグメントからの定量的なメチル化の同定法を検討している (Tanaka et al. J. Am. Chem. Soc. 2007)。

マウスにおける正常発生過程でのメチル化変化については、多能性幹細胞 (ES 細胞) 特異的なメチル化の変化を MeDIP 法および RLGS 法により多数同定している。生物学的な繰り返し測定により、繰り返し確認可能なメチル化の変化した領域 2000 箇所を確認しており、これらの領域を順次各発生過程でどのように変化するかを検討しています。図 1 に MeDIP 法で検索したマウスゲノムの組織特異的なメチル化変化を示した 4 つの領域の例を示す、精巣特異的に脱メチル化している Spesp1、ES 細胞特異的に脱メチル化している Zfp206、肝臓、精巣、ES 細胞全てで脱メチル化傾向を示した Zfp324、精巣、ES 細胞で脱メチル化傾向を示した Zfp775 の 3' 側の領域を示しています。このようにして同定された領域を現在順次、メチル化領域の範囲、細胞特異性等を詳細に検討しています。

さらに、生物資源科学部で研究されている脂肪細胞から作成される多能性幹細胞 (DFAT 細胞) は、比較的容易に多能性幹細胞を個人個人より作成できるため今後の再生医療で期待されます。この DFAT 細胞での特異的なメチル化の変化も MeDIP 法および RLGS 法により同定している。安定した DFAT 細胞の脂肪細胞への再分化の系が確立しているため最初にこの系で、DNA メチル化が脂肪細胞からの DFAT 細胞作成時および DFAT 細胞から脂肪細胞への再分化時に安定して保たれているかを検討中である。

注：課題番号を記入してください。

## 平成19年度 学術研究助成金実績報告書

平成20年5月10日

日本大学 総長 殿

氏 名 福田 昇



所属・資格 大学院総合科学研究科・准教授

下記のとおり報告いたします。

1 種目	奨励研究/一般研究(個人)/一般研究(共同)/総合研究	注:該当する種目を○で囲んでください。
2 研究課題	ゲノム化学に基づく展開医療	
3 研究の目的	日本大学の総合研究としてゲノム化学に基づき、遺伝子エピジェネティクスの情報から遺伝子制御薬の診断および治療へ適応させる基礎から臨床への展開医療を行う事である。	
4 研究の概要	<ol style="list-style-type: none"> <li>PI ポリアミドの合成法の確立：既に特許化している Fmoc 法による固相合成法の改良により、PI ポリアミドの合成量をスケールアップし、高純度で精製できるようにした。</li> <li>癌原遺伝子に対する PI ポリアミドの開発：PI ポリアミドの分子設計として、ARF のプロモーターの Zbtb7 結合領域に PI ポリアミドを合成し、その結合、効果を検討した。</li> <li>PI ポリアミドの薬物動態および安全性：薬学部において PI ポリアミドの UV-HPLC 検出システムを開発し、異なる分子量の PI ポリアミドをラットに静注し、吸収、組織分布、代謝、排泄の薬物動態を検討した。また大量投与し致死量、安全性を確認した。</li> <li>腎傷害ラットに TGF-β1 に対する PI ポリアミドを4週間長期投与し、TGF-β1 と関連細胞外基質因子発現の抑制を確認。その間、ラットの安全性を確認した。</li> <li>TGF-β1 に対する PI ポリアミドの特異性を <i>in vitro</i> ではゲルシフト、BiaCore アッセイで確認した。また4週間長期投与した腎臓皮質の mRNA のマイクロアレイで、TGF-β1 関連遺伝子のみの抑制を認め、その特性が確認された。</li> <li>遺伝子エピジェネティクスの解析：遺伝子とエピジェネティクスに基づいて、福田らと PI ポリアミドを診断薬として設計し、合成して転写調節を確認した。</li> </ol>	
5 研究組織（共同研究・総合研究のみ該当します）	<ul style="list-style-type: none"> <li>研究代表者 総合科学研究科・准教授、福田 昇</li> <li>研究分担者（役割分担） 工学部・教授、齋藤烈 薬学部・教授、松本宜明 総合科学研究科・教授、永瀬浩喜 総合科学研究科・准教授、野呂知加子 医学部・助教、上野高浩</li> </ul>	

※ホームページ等での公開の (可・否) いずれかを○で囲んでください。否の場合は、理由書を添付して下さい。

部科校名：総合科学研究科

氏名：福田 昇

## 6 研究の結果（総合研究の研究代表者は、4,000字以上記入してください。）

## 1. PI ポリアミドの合成法の確立

プロモーター領域に設計された PI ポリアミドは疾病により転写活性の高まった遺伝子を抑制する遺伝子制御薬であり副作用の軽減が図れる、核酸医薬と異なり生体内で安定で、ベクター無しに投与出来るため、次世代の医薬として期待される。PI ポリアミドの創薬、試薬への開発の為には大量合成法の確立が必要であり、我々が既に知財化している Fmoc 固相合成法（特願 2005-336811）に基づいて工学部次世代型工学研究センター齋藤研にて PI ポリアミドの大量合成法を試みた。大量合成としてピロール残基の導入に関してはピロール-イミダゾールダイマーブロックを合成し、固相合成を行い、またイミダゾール残基の導入に関しては、反応を機械的な震盪下で行う。これらの改良による合成効率を検討し、さらに改良を行うことにより、最終段階で純度が 99% にアップし、HPLC 精製を行わないで合成が出来るようになった。合成に使うペプチド合成機として島津製の PSSM-8 を用いることにより、1 回の合成でそれまで最大 100 mg から 800 mg を合成できるスケールアップが可能になった。また

## 2. 癌原遺伝子 ZbTb7 に対する PI ポリアミドの開発

ZbTb7 は癌抑制遺伝子 ARF のプロモーターに結合することによってリプレッサーとして働き癌の発生進行を起こし、癌の治療の標的として有望であり、今回のプロジェクトでは PI ポリアミドの新たな分子標的とし、創薬開発を試みた。医学部で福田、上野で PI ポリアミドの分子設計として、PI ポリアミドの核結合を介し ZbTb7 の作用を抑制するため、ARF のプロモーターの ZbTb7 結合領域に PI ポリアミドを設計した。結果としてゲルシフトにてターゲット DNA への結合を確認し、BiaCore アッセイにて  $10^{-9}M$  からの強力な結合を確認した。さらに ZbTb7 遺伝子 Zbtb7 のコーディング領域にアルキル化能を持った PI ポリアミド設計した。平成 19 年度では実際に PI ポリアミドの *in vitro*、*in vivo* の効果として医学部で *p19<sup>Arf</sup>* プロモーター活性に対する PI ポリアミドの作用を検討した。つまり E1A + H-ras<sup>V12</sup> を MEFs に導入し、細胞の増殖に対し設計した ZbTb7 結合領域に対する PI ポリアミドの作用を検討した。さらに野呂との共同で発癌マウスを用いた *in vivo* の実験を行い。これらのデータを基に、ヒト ARF 遺伝子の実験に移行し、ZbTb7 の作用をブロックする PI ポリアミドを合成し、薬物動態を検討した。

## 3. PI ポリアミドの薬物動態

PI ポリアミドの遺伝子制御薬としての創薬へ向けての開発には薬物動態と安全性、毒性検討が必須である。そのために薬学部松本らにより、詳細に検討した。まず PI ポリアミドを HPLC にて UV を用いて分析、ピーク面積からスタンダード曲線を作成、薬物動態の指標としての適正を評価するシステムを確立した。次に pH、乾燥、糖成分、浸透圧などによる PI ポリアミドの代謝を HPLC、質量分析し代謝マップを作成した。PI ポリアミドの物性として、エタノール、精製水、酢酸へ溶解するが、メタノールには難溶であった。化学構造としては 2 本鎖 DNA の螺旋構造での結合は  $\beta$ -アラニンを入れることにより、結合力の増加ができ、8 塩基対に認識で分子量が約 1700 であり、薬剤としての投与では経口薬としては分子量が大きく、静注薬、またはエマルジョンでの筋肉内投与としての適応と判断した。実際の薬物動態試験として医学部、薬学部共同でラットに静注、腹腔内投与、経口投与し、経時的に血液、尿、心臓、大動脈、腎臓、肝臓、小腸、脳、精巣などの組織における PI ポリアミドのコンテンツを HPLC で分析するさらに工学部にて PI ポリアミドによる組織デリバリーの向上の為、SV40、膜透過性蛋白ペプチドの結合の化学修飾を行った。医学部、薬学部でこれらの改良による薬物動態の変化を検討した。その結果、分子量 1000 および 1700 の PI ポリアミドを静脈内投与すると、血清での減衰は通常の薬剤と同様であり、3 時間で血清から消失した。排泄経路に関しては、殆どが腎臓を介しての尿排泄であったが、一部は胆汁排泄であることが分かった。



部科校名：総合科学研究科

氏名：福田 昇

## 研究の結果（つづき）

次に PI ポリアミドの安全性試験を行った。方法としてはマウスへの大量投与試験である。分子量 1000 の 5 塩基対認識のスタンダード PI ポリアミドを合成し、薬学部においてマウスに 100  $\mu$ l の 0.1% 酢酸に溶解した 20 mg/kg 体重から 100 mg/kg 体重の PI ポリアミドを用意し、これをマウスの尾静脈から one bolus で投与した。40 mg/kg 以上の投与量ではマウスは速やかに死亡したが、20 mg/kg では全く影響なく、5 日後にマウスから採血し、血球系、蛋白、肝機能、腎機能を検査したが正常範囲であった。したがって致死量は 40 mg/kg 以上と判断した。その死亡原因については PI ポリアミドの粘性によると考えられ、精製過程で、粘性を挙げない PI ポリアミドの開発が必要であると考えられた。

4. TGF- $\beta$ 1 に対する PI ポリアミドの長期効果

ラット TGF- $\beta$ 1 に対する PI ポリアミドのラット腎傷害への作用は 2 週間投与では腎皮質及び尿中の TGF- $\beta$ 1 は著明に抑制したが、2 週間では腎硬化症は起こしておらず、4 週間の長期投与による、腎傷害への効果と安全性を検討した。Dhal 食塩感受性ラットに高食塩下ラット TGF- $\beta$ 1 に対する PI ポリアミドを 3 mg/kg 体重、隔日で 4 週間静注すると、著明に尿蛋白と腎内 TGF- $\beta$ 1 mRNA 発現を抑制し、実際の疾患にも著明な効果を示した。この間、ラット TGF- $\beta$ 1 に対する PI ポリアミドは血圧や尿量に影響せず、また体重や摂餌量に影響せず、全身投与でも副作用はなく、長期投与での安全性が確認された。

## 5. PI ポリアミドの特異性

設計した PI ポリアミドは 8 塩基対認識である。8 塩基であると多くの遺伝子に同様な配列があるため特異性の問題があため、特異性の検討を行った。まずラット TGF- $\beta$ 1 プロモーターの AP-1 結合配列にまたがるよう、PI ポリアミドを設計し、TGF- $\beta$ 1 に特異性を持たせた。確認としてゲルシフトアッセイで、ターゲット 2 本鎖 DNA に 2 塩基対の変異を入れると結合しないことより、結合の特異性を確認した。また BiaCore アッセイでは PI ポリアミドは mismatch ポリアミドに比して 700 倍の特異的結合性を確認した。

さらに TGF- $\beta$ 1 に対する PI ポリアミドの 4 週間の長期投与による Dhal 食塩感受性ラットの腎臓の皮質から mRNA を抽出し、マイクロアレイ (GeneChip) による特異性を検討した。腎皮質での TGF- $\beta$ 1 に対する PI ポリアミドにより TGF- $\beta$ 1 の mRNA 発現は約 50% 抑制され、それ以上に抑制した遺伝子をピックアップした。増殖因子は 680 の内 18 が抑制され、細胞外基質遺伝子 112 の内 14 が抑制され、その殆どは TGF- $\beta$ 1 に関係しており特異性が確認された。

## 6. 遺伝子エピジェネティクスに基づいた PI ポリアミドの設計、応用

福田、上野はターゲットとして癌、炎症性疾患、細胞増殖性疾患などで疾患への関与が示唆されている AP-1 の応答配列である TRE (TPA responsive element) 配列を選択し、その結合を特異的に結合する PI ポリアミドをデザインしてその機能解析のツールとして開発した。これに続いて、細胞の増殖や分化を調節する TGF- $\beta$  スーパーファミリーの細胞内シグナル伝達因子である Smad、肥満やメタボリックシンドローム研究で注目されている C/EBP ファミリー、SREBP、PPARs、神経芽細胞腫との関連が指摘されている N-myc など、バイオ研究において一般的ニーズが高いと考えられる転写因子についての PI ポリアミドをデザイン、合成した。現在これらの効果を確認している。それらのデータに基づいて、今後は永瀬、野呂らにより解析されたデータを作成し、PI ポリアミドを診断薬、さらに創薬へ発展させるため現在まで解析を行ってきた。

注：必要に応じて、このページをご使用ください。