

平成23年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成 24 年 4 月 13 日

日本大学 総長 殿

氏名 大井 眞二



所属・資格 法学部・教授

下記のとおり報告いたします。

1 研究課題 メディア秩序の変革期におけるジャーナリズムのパラダイム転換に関する研究		
2 研究組織		
氏名	所属部科校・資格	役割分担
○研究代表者名 大井眞二	法学部・教授	研究総括、調査設計、文献研究、聞き取り調査
○研究分担者 伊藤 英一 小川 浩一 山本 賢二 仲川 秀樹 兼高 聖雄 福田 充 小林 義寛 佐幸 信介 宮脇 健	法学部／教授 法学部／教授 法学部／教授 文理学部／教授 芸術学部／教授 法学部／教授 法学部／准教授 法学部／准教授 法学部／助手	調査設計、聞き取り調査 調査設計、文献研究 調査設計、文献研究 文献研究、データ分析、聞き取り調査 調査設計、データ分析、文献研究 調査設計、聞き取り調査、文献研究 調査設計、データ分析、聞き取り調査 調査設計、文献研究、データ分析 調査設計、文献研究、データ分析、聞き取り調査
3 本研究に関連して外部資金への申請状況、獲得状況		
<p>公募委託研究（H. 23年） 大井眞二（研究代表） 「東日本大震災とマスメディアの役割」 公益財団法人新聞通信調査会、採択</p> <p>科研費補助金（H. 23年） 宮脇 健 「リスクにおける政策過程の研究—新型インフルエンザを事例として—」（挑戦的萌芽研究）、採択</p>		

※「6 研究結果」について、ホームページ等での公開（）・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：法学部

氏名：大井眞二

4 研究目的

メディアによって作り出されたり、媒介されたりする現実(media-reality)が、現代社会ほどわれわれの生活を大きく規定している時代はない。われわれが生々の営みを続ける限り、リアルな現実はいわれわれにとって重要な意味をもつ。しかし、他方でわれわれの現実生活の有り様を批判的に振り返ってみれば、われわれが生活の対象としているのは、リアルな現実ばかりではなく、むしろ圧倒的にメディアに媒介される現実である事実に気づかされる。われわれの社会観、現実感覚、世界認識などは、メディア・リアリティの大きな影響の下に形成されていると言わざるを得ない。

今、そのメディアが、ラディカルな変革期のただ中にある。既存のメディア秩序が大きく揺らいでいる。しかし、オンラインジャーナリズム、ウェブログ、市民メディアが一定程度オルタナティブなジャーナリズムの機能を果たすようになったとはいえ、いまなお、メディア・リアリティ形成の大半を担っているのは伝統的なジャーナリズムであろう。メディア秩序や環境の変化がいかなる方向に向かうにせよ、ジャーナリズムがよって立つメディアがいかなるものになるにせよ、メディアが果たすべき公共的役割を期待されているのもジャーナリズムであり、ジャーナリストであろう。

メディアは、デジタル化を中心として、一方では融合・収斂へ、他方では分散・断片化へと異なるベクトルに向かっていくように思える。変革の只中であって、問い掛けをするならば、

- ① ジャーナリズム、ジャーナリストは今、どのような状況におかれているか。
- ② 何に悩み、何を問題とし、何に解決策を求めているか。
- ③ 公共的問題への関心の低下、公共的生活からの撤退を喧伝される市民は、メディアに、ジャーナリズムに、ジャーナリストに何を思い、期待しているか。何を問題と見なし、どのような評価を下しているか。
- ④ 伝統的な社会制度でもあるジャーナリズムは、既成の社会制度一般に対する不信の一部でもあるのか。
- ⑤ ジャーナリズムは制度疲労を起こしているのだろうか。単に不祥事として片付けられる問題は、構造的レベルに起因するのではないだろうか、

といった問題が提起される。

本研究は、これらの極めて重要な問題を、専門は異なるが広義のメディア研究に従事する研究者によって、

- ① 理論的な究明だけでなく、
 - ② ジャーナリストの集中的な面接調査
 - ③ 大規模なジャーナリストの数量的な実態調査
 - ④ メディアの言説及び内容の分析、
- などを通して総合的に考究することを目的としている。

5 研究概要

研究代表者と若干の研究分担者は、以上のような問題の状況を明らかにするため、2007年にニュースの生産に関わる制度をジャーナリズム、人びとをジャーナリストと広義に定義して、5000人を超える新聞記者、編集者、報道番組制作者などのジャーナリストを対象に、大規模な質問票調査（以下「日大調査」）を行った。調査のキーワードは「持続と変化」である。以下のように、質問項目は多岐にわたっている。

- ①ジャーナリズムの役割概念と遂行度
- ②ジャーナリストのイメージ
- ③プロフェッショナルリズム
- ④ジャーナリズム環境変化の認知
- ⑤オンライン・ジャーナリズムの評価
- ⑥ジャーナリズム活動の問題点認知
- ⑦客観報道の規範性
- ⑧オーディエンス評価
- ⑨ジャーナリストの政治的傾向
- ⑩ニュースソースとの関係

しかし、日本では、ジャーナリズム、ジャーナリストを対象にした数量的な調査それ自体が極めて乏しい状況にある。本研究は先の日大調査後の「持続と変化」を大きく発展させるものであるが、それ以前の先行研究は「新聞記者アンケート」（日本新聞協会研究所、1994年）、「民放テレビ報道担当者調査」（日本民間放送連盟、1996年）を数えるのみであり、極めて不十分な状況にある。また、そうした大規模調査に、インテンシブな面接調査、新聞・放送の言説・内容分析を加味した研究は、皆無に等しい。既存の研究は、対象とするメディアを新聞や放送などに限定し、さらに研究対象は狭く、特定の問題に考究を絞る部分的、限定的研究が大勢を占める現状にある。その意味で、本研究は、日本のジャーナリズム研究、メディア研究の既存の状況を大きく改善する意義をもっている。

本研究は、主として日本を対象としているが、比較メディア分析の視座を含む、実はグローバルなパースペクティブをもっている。この点は、内外の研究動向からの位置づけとして重要な意義をもつ。変革期においてその変化の相を明らかにしようとするならば、歴史的パースペクティブや比較ジャーナリズム学的視座が不可欠となる。時代の流れの中で、何が変わり、何が変わらなかったのか、それらは個別に日本に特殊なのか、それともグローバルな傾向の中の一部であり、普遍的現象といえるのか、などの問題の考究は極めて重要であり、そうした考察を進めている。

しかしながら、上記の研究に加えて、本年度の研究において特筆すべきは、東日本大震災に関する報道の分析であり、その報道がオーディエンスによってどのように評価されたかの研究であろう。これについては、研究の成果において詳述する。

部科校名：法学部

氏名：大井眞二

6 研究結果 (4,000字以上記入してください。)

研究代表者と2名の研究分担者は、先の日大調査を踏まえて、David Weaver、Lars Wilnut 編「Global Journalist in the 21st Century」(近刊)に1章として「The Japanese Journalist in Transition: Continuity and Change, by Shinji Oi, Mitsuru Fukuda, and Shinsuke Sako」を寄稿している。その論考は言うまでもなく、比較ジャーナリズム学的視座を含むもので、グローバルなコンテキストにおける日本の状況を考究した。

本研究は米国の研究、John W. Johnston 等編、「The News People (1976)、David Weaver 等 編「The American Journalist」(1986, 1991, and 2007)における調査結果や知見との比較考究を試みる計画であり、日本のジャーナリズム、メディア研究だけでなく、グローバルなそれらの研究にも裨益するものとなる。上記は本年5月Routledgeから刊行される。

さらに研究代表者は、国際的な比較ジャーナリズム研究プロジェクトである Worlds of Journalism Study (<http://www.worldsofjournalism.org>)において、日本のコーディネータをつとめている。平成24年度に実施する日本のジャーナリズムに関する質問票調査(第二回日大調査)は、この国際的な共同研究プロジェクトと連携するものであり、その調査結果はジャーナリズムの国際比較研究のための貴重な資料となる。

以下本年度の研究結果を列挙すると、

① 日本のジャーナリズムに関する理論研究、事例研究

主として日本のジャーナリズム研究の理論的側面に関わる文献研究を中心とした。さらに専門家に対する聴き取り調査、研究会を実施し、文献研究を補完することにした。本研究の目的適格的な事例についての研究は、主として新聞、通信、放送、オンラインニュース・メディア、ソーシャル・メディアについて、パラダイム転換のある種の方向性を示す代表的な事例、取りわけ既存のメディアの融合的な状況について、インテンシブな調査を行った。

② 世界のジャーナリズムについての理論研究、事例研究

デジタル技術を原動力とする、ジャーナリズムの世界の変化はユニバーサルであるが、ここでは、その中でも変化においてヘゲモニックな役割を果たしている米国を中心とした、主として文献研究に基づく理論および事例の研究を進めている。しかし、本研究の目的適格的な事例についての研究は、米国に限定されない。特に日本では等閑視されている分極的多元主義ジャーナリズムモデル、民主的コーポラティズムジャーナリズムモデルの理論及び事例研究を行う。他方で、米国型ジャーナリズムモデルは、ここ10年のパースペクティブから見ると、大きなグローバル化の変化の相を示している。そのため本研究では比較ジャーナリズム学的視座から、クロスナショナルな理論、事例研究を行っている。

③ 平成24年度のジャーナリスト調査に向けての事例研究

本研究では、平成24年度に大規模なジャーナリスト調査を計画している。そのため、平成23年度はそれに向けての、調査デザイン設計のため、ジャーナリストへのインタビュー調査、予備調査的なフォーカス・グループの調査を行った。後者は、新聞、通信、放送、ネットニュースメディア、ソーシャルメディアのフォーカスグループに対する予備的調査で、サンプル数は100程度のものであった。

④ 新聞・放送ジャーナリズムの言説分析、内容分析

ここでは、新聞記事(ニュース、論説、解説、コラムなど)のクリップ、内容分析、他方でテレビ番組(テレビニュース、ワイドショーなど)の録画、内容分析を行う。この作業は、人力集約的なものにならざるを得なかったが、近年のデジタル情報技術の進展に鑑み、それを適用した極めて体系的、組織的な作業が近年可能になってきている。本研究では積極的にこれらの技術を利用する。特に、テレビについては、映像や音声、キャスターや解説者の語りなどを、具体的な番組を対象に、それを録画・保存し、マルチモダリティ分析や言説分析の手法を用いて分析を行う。その際、その基礎資料として、業務委託した報道データベース、映像データベースによるメタ・データを参照しながら、番組の選択及び分析を行う。また、次年度に行う調査と比較検討することにより、放送ジャーナリストの実態を具体的な番組分析との関係において具体的に解明するにした。

さて④に関連して、本研究の大きな成果は、平成23年3月11日に起きた東日本大震災に関する報道の分析であろう。東日本大震災は「社会的危機」として概念化することができ、こうした危機に対して、伝統的なニュースメディアは長年にわた

部科校名：法学部

氏名：大井眞二

研究結果（つづき）

って、プロフェッショナル化と商業化を背景にした制度化を進め、「予想されないことを予想する（ルーティン化）する」メディア組織の構築をはかってきた。しかしながら、東日本大震災は、従来型の「ルーティン化」を超えた規模と広がりを持ち、その脆弱さを端なくも露呈したと言っている。

社会的危機に関するニュースメディアのルーティン化は、規模の大小を問わず、突発的な事件・事故といった事象の危機に対応する取材・報道のネットワーク構築、マンパワーの管理と運営、後方支援体制の確立といったハードの側面およびそうした危機に関するニュースや情報のフレーミング、ニュースのアジェンダ、公的情報源の選択などソフトの側面から構成される。

社会的危機に関する研究は、近年 U. Beck の「危機社会」の提唱以来、危機管理やリスク・コミュニケーションの領域でかなりの進展を見せている。現代社会は、地震や津波などの自然災害や地球温暖化をはじめとする環境問題あるいは世界的な感染症の流行やさらに技術化社会がもたらす原発事故など、潜在的に大きな被害者を生み出す社会的危機に常に直面している。こうした危機に対して、ニュースメディアが従来型の「予想されないことを予想する（ルーティン化）」報道体制では不十分であることを、東日本大震災は端無くも明らかにした、と言ってよい。

東日本大震災のような社会的危機への社会的対応に関しては、専門家の「科学的（リアルな）危機」観と個人や様々な社会集団の「認知される危機」に関する価値観は、時として大きな乖離を示す。しかしながら、ニュースメディアは、両者の間に立って、「不確実性」の現状の下で、ニュースメディアは、読者・視聴者に「社会的危機」のありようを報道しなければならない、という極めて重大な課題を担うことになる。本研究では、研究代表者らは、こうした問題意識に基づいて、ICT の、現在も進展しつつあるメディア環境・情報環境の下において、社会的危機に際してニュースメディアの報道の有り様を問い直す視点を、シンポジウムや研究報告会で提起した。

多くの人びとは、ニュースメディアの危機報道に不満を持っている。専門家は、報道が不正確あるいは不完全であり、あるいは危機が現実より確実なものとして提示される。政府・行政機関は、不必要なパニックが作り出され、あるいは人びとは十分な警告が与えられていない。様々な社会集団は、彼らに関心を持つ特定のイシューや問題が十分な注目を与えられていない。企業はその技術と生産物があまりにもリスクである一そしてそれらが余りにも多くの注目を与えられている。読者・視聴者は、個人としてメディアは危機に際して何に注目すべきか、何を無視して良いかについて十分な情報を提供していない。メディア学者は、メディアの危機に関する取材・報道は、あまりにも「公式情報源」に依存しすぎており、かつ科学ジャーナリズムは特に、危機に関わる長期的な傾向や発展の取材・報道を犠牲にして、短期的な「発明・発見」に執着する。本研究では、これらの不満にニュースメディアはどのように対峙すべきかを考察した。

その結果、社会的危機に関するニュースメディアのルーティン化は、規模の大小を問わず、突発的な事件・事故といった事象の危機に対応する取材・報道のネットワーク構築、マンパワーの管理と運営、後方支援体制の確立といったハードの側面およびそうした危機に関するニュースや情報のフレーミング、ニュースのアジェンダ、公的情報源の選択などソフトの側面から構成されることが明らかになった。

こうしたニュースメディアの「ルーティン化」の視座から、東日本大震災が伝統的ニュースメディアによって、どのように取材・報道されたのかについての実証的研究は、これまで「ニュースメディア」が行ってきた報道の検証や研究者による「ニュース」研究とは一線を画すものとなりつつある。

第二に、本研究は、この分析を新聞をはじめと活字メディアの報道の分析と比較・対照することで、ニュースメディアはなにを伝え、かつ伝えられなかったかを明らかにしつつある。本研究は、こうした分析・研究を通して、「社会的危機」に際して、ニュースメディアはどのような報道機能を果たしたのか、果たせなかったのかを考究している。


社会的危機は、技術的概念であるだけでなく、社会的な概念でもある。ニュースメディアの報道によって、社会的危機は増幅される場合もあれば、減衰されることもある。かつて、H. D. Lasswell は、マスメディアの役割を「環境の監視」、「社会的反応の相互の関連付け」及び「世代から世代への文化的遺産の継承」と喝破した。社会的危機の時代にあって、ニュースメディアの役割は、単なる「環境の監視」を超えると行って良く、多元化・多層化によってますます複雑になる社会制度のメカニズムをいかに相互に関連付けて報道するか、「大震災」のような社会的・個人的経験を後世にいかに伝えるか、これらはマスメディアの果たすべき重要な使命である。本研究は、必ずしも十分な考究がなされてこなかった「社会的危機とニュースメディアの関係性」に、「危機報道の有り様」に、中間報告的な形式で、様々な示唆を与える成果を生み出している。

注：必要に応じて、このページをご使用ください。

平成23年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成 24 年 4 月 27 日

日 本 大 学 総 長 殿

氏 名 齋藤 稔 

所属・資格 文理学部 物理生命システム科学科・教授

下記のとおり報告いたします。

1 研究課題		
匂いセンサを用いた匂いセンシングシステム・ロボットの開発		
2 研究組織		
氏 名	所属部科校・資格	役割分担
○研究代表者名 齋藤 稔	文理学部・物理生命システム科学科・教授	匂いセンサの開発、生物嗅覚系の生理実験、研究の統括
○研究分担者 関根 好文	理工学部・電子情報工学科・教授	嗅覚系ニューラルネットワークのハードウェアモデルの構築
内木場 文男	理工学部・精密機械工学科・教授	匂いセンシングシステム搭載マイクロロボットの開発
佐伯 勝敏	理工学部・電子情報工学科・教授	匂いセンサの開発、嗅覚系ニューラルネットワークのハードウェアモデルの構築
小松崎 良将	理工学部・物理学科・助手	生物嗅覚系の生理実験
齊藤 健	理工学部・精密機械工学科・助教	嗅覚系ニューラルネットワークのハードウェアモデルの構築、匂いセンシングシステム搭載マイクロロボットの開発
3 本研究に関連して外部資金への申請状況、獲得状況		
<p>齊藤 健：科研費 若手研究（B）「アナログ高集積化回路による人工知能を搭載したMEMSマイクロロボットの開発」平成23年度採択</p>		

※「6 研究結果」について、ホームページ等での公開（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：斎藤 稔

4 研究目的

様々な匂いを検出する匂いセンサには多くの用途が期待される。例えば、食品・飲料や化粧品などの工業分野では工程管理・製品開発・検査などに、環境計測分野では大気汚染・悪臭の計測やビル・住宅の空調管理などに、医療・健康分野では口臭・体臭テストなどに応用可能である。また、防災関連でガス爆発や火災の早期検知に使われる可能性もある。さらに、犯罪捜査・危険物検知の分野での応用も期待できる。例えば、匂いセンサを用いた麻薬臭の検出装置が開発されれば、空港などで麻薬の不法持込みの阻止に役立つ。また、火薬の匂いを検知することにより爆発物検知装置が開発されれば、空港や発電所などの重要施設におけるセキュリティ向上につながる。

これまで、いろいろなアプローチからこのような匂いセンサの開発が試みられてきた。これまで開発されてきたものでは、その感応膜として主に脂質が用いられてきた。これは、生物の嗅覚系では匂い物質が嗅細胞の細胞膜の脂質二層膜部分で受容されると考えられているからである。しかしながら、脂質は生体物質であるため、これを感応膜に用いた匂いセンサには耐熱性・耐光性・耐候性・耐薬品性などに問題があり、実用化された例はほとんど無い。そこで本研究では、人工的な有機材料であるフタロシアニンやトリエタノールアミンを感応膜とした匂いセンサの開発を行う。特にフタロシアニンは電子写真感光体、光電変換素子、非線形光学素子などとしてエレクトロニクス分野や光エレクトロニクス分野で広く実用化されているように、その安定性・信頼性について保証されており、また極めて安価な材料であるので、匂いセンサの実用化に非常に適した材料ある。

本研究では同時に、実験動物、特に軟体動物の嗅覚系の生理実験を行い、匂い情報がどのように脳の神経細胞の活動パターンによって処理されるかを解明する。そして、それに基づいて嗅覚系ニューラルネットワークのハードウェアモデルを構築し、上記の匂いセンサと組み合わせ、高感度・高性能な匂いセンシングシステムを構築する。本研究の匂いセンサは数 mm 角であり、また嗅覚系ハードウェアモデルは IC 化が可能であるため、それらを組み合わせた匂いセンシングシステムも極めて小型化が可能である。そこで本研究では、それを搭載したマイクロロボットの開発も行う。

5 研究概要

本研究ではまず、本匂いセンサの爆発物検知装置への応用を目指す。それは、本匂いセンサが火薬から発生する匂い物質や窒素酸化物 (NOx) に極めて高感度に応答することを見出しているからである。近年、地下鉄サリン事件に代表される公共交通機関に対するテロ、航空機を標的とした爆破テロに対する対策が急務となっている。爆発物検知に関しては、現在、X線を用いて物体の形状を判別する方法が主に用いられているが、空気中から爆薬成分の蒸気を検出し、化学分析から爆薬の有無や種類を判別する方法を併用することにより、高精度に爆発物を検知する方法が広まりつつある。このような方法を普及させため、本研究では、速い検知スピードと高い検出感度、空気中に含まれる種々の化学物質から爆発物由来の成分を判別する高い識別能力を有する匂いセンサを実現することを試みる。

本研究では同時に、実験動物、特に軟体動物の嗅覚系の生理実験を行い、匂い情報がどのように脳の神経細胞の活動パターンによって処理されるかを解明する。そして、それに基づいて嗅覚系ニューラルネットワークのハードウェアモデルを構築する。ハードウェアモデルとしてはパルス形ハードウェアニューロンモデルを用いる。これは回路構成が極めて簡単な構成 (MOSFET: 4個, コンデンサ: 2個) であるため IC 化も容易なモデルである。このような嗅覚系ハードウェアモデルを用いて、デバイスからの出力を生物の嗅覚系と同様にアトラクタとして把えることを試み、その変化から匂いを高精度に識別することができるかを検討する。以上の匂いセンサおよび嗅覚系ハードウェアモデルを組み合わせ、高感度・高性能な匂いセンシングシステムを構築する。本研究では、これを特に爆発物検知装置として実用化することを目指す。このような匂いセンシングシステムの技術が確立すれば、環境計測、医療・健康、犯罪捜査など他の分野への応用展開も可能である。

本研究の匂いセンサは数 mm 角であり、また嗅覚系ハードウェアモデルは IC 化が可能であるため、それらを組み合わせた匂いセンシングシステムも極めて小型化が可能である。そこで、それを搭載したマイクロロボットの開発も行う。本研究では爆発物検知を最初の目標としているので、まずこの技術を応用して地雷探知ロボットの開発を目指す。戦乱地域の地雷原に残された地雷の撤去作業は、世界的な大問題になっている。本研究で開発した匂いセンシングシステムを搭載した地雷探知ロボットが実用化されれば、大きな社会的インパクトをもつ。

部科校名：文理学部

氏名：斎藤 稔

6 研究結果 (4,000字以上記入してください。)

上記の通り、匂いセンサには様々な分野で多くの用途が期待されるが、本研究ではまず爆発物検知装置への応用を目指す。本匂いセンサの素子構成は、櫛形電極上あるいは水晶振動子や SAW (Surface Acoustic Wave) デバイス上に感応膜を成膜し、匂い物質が吸着した際に生じる感応膜の電気特性変化や重量変化を測定するものである。いずれも小型で量産可能な素子である。感応膜の成膜は真空蒸着により行うが、平成 23 年度には基板温度・成膜速度・膜厚等の成膜条件を詳細に制御する装置を構築した。そして、フタロシアニンとトリエタノールアミンを感応膜とした場合の本匂いセンサの爆発物検知装置への応用の可能性を検討した。爆薬から蒸気として発生するトリニトロトルエン (TNT) (一般的な火薬) やヘキソゲン (RDX)・ペンスリット (PETN) (プラスチック爆弾の主成分) に対して本匂いセンサが十分な感度を有するかは確認できなかったが、素子構成の最適化、新規な検出方法を考案することにより、同じく爆薬から発生する NO_x に対しては極めて高感度に (フタロシアニンを感応膜にした場合には ppb 以下のオーダーから) 応答することが確認された (平成 23 年度理工学部学術講演会 M-17, M-38)。新規な検出方法としては SAW デバイスの挿入損失変化を測定する方法を考案した。SAW デバイスとして共振周波数 320.09 [MHz]、Q 値 1.24×10^4 のものを用い、LabVIEW (後述) により測定器の分解能を活かしたことで 10^{-5} [dB] の分解能で挿入損失の変化量を測定することが可能になった。これにより NO_x に対する高感度化が実現できた。平成 24 年度は引き続き、センサ素子構成の最適化、基板温度・成膜速度・膜厚等の成膜条件の最適化により、NO_x に対するさらなる高感度化、TNT や RDX・PETN を測定対象にできるかの検討を行う。あるいは、SPR (Surface Plasmon Resonance) など他の素子構成や感応膜の光学的特性変化を測定するような他の検出方式を検討することも考えられる。

平成 23 年度はまた、測定器制御ソフト LabVIEW を用いて本匂いセンサの匂い応答特性の測定を自動に行う測定系を構築し、各種匂い物質に対する応答特性を系統的に調べた (平成 23 年度理工学部学術講演会 M-17, M-38)。その結果、本匂いセンサがトリメチルアミンに高感度に (フタロシアニンを感応膜にした場合には ppb オーダーから) 応答することを見出し、これに着目した (2012 年電子情報通信総合大会 A-1-4)。トリメチルアミンは VOC (工場等で発生する悪臭やシックハウス症候群を引き起こす原因とされている揮発性有機化合物 (Volatile Organic Compound)) の 1 つであり、塗料添加物、界面活性剤や樹脂硬化剤など幅広い分野に応用されている。大気汚染防止法により有機大気汚染物質に指定され、環境省により環境保全のための要調査項目に指定されている。また、悪臭の原因物質でもあることから、環境中からの除去法、検知法の確立が求められている。その臭気閾値は 0.48 ppm であり、5~10 ppm で軽度のめまい症状が見られ、10~15 ppm でめまい症状は明確に現れて眼・鼻・喉に刺激を感じ、15 ppm 以上では視覚障害や頭痛が見られる。一般に VOC は長期的な摂取による人体への悪影響が問題視されており、これを検出できる匂いセンサを開発することは重要である。

以上のような爆発物由来の匂い物質や VOC を含め、様々な匂い物質を検出する汎用的な匂いセンシング装置のプロトタイプを作製した。匂いセンサの素子構成としては櫛形電極上にフタロシアニン感応膜を成膜したタイプとし、電極間隔を従来の 50 μm から 10 μm に変更した。これにより素子の電気抵抗が $10^8 \sim 10^9$ Ω から $10^6 \sim 10^7$ Ω に減少し、電気特性変化を測定する回路の設計が容易になり 10 cm 角程度の装置を実現した。平成 24 年度は、これに開放空間からの空気の採取部や目的成分の選択的透過膜を組み込むことにより高性能・高感度化を試みる (爆発物検知装置の実用化には、排ガス中の NO_x 分析用として NO_x 採取装置が既に実用化されており、これを利用することも考えられる)。また、匂い物質に対する応答性の異なるいくつかの匂いセンサを開発し、それらの応答性の違いから匂い物質を識別することを試みる。平成 23 年度は、フタロシアニンとトリエタノールアミンを感応膜とした場合にそれらのセンサが匂い物質に対して異なった応答を示し、またフタロシアニンの中心金属を変えることにより匂い物質に対する応答特性が変化することを見出したが、さらに他の感応膜材料の探索も行う。

部科校名：文理学部

氏名：斎藤 稔

研究結果（つづき）

本研究では同時に、実験動物、特に軟体動物の嗅覚系の生理実験を行い、匂い情報がどのように脳の神経細胞の活動パターンによって処理されるかを解明する。平成23年度は、軟体動物の嗅覚系における多数の神経活動を同時測定する膜電位イメージング法の実験系を構築した。膜電位感受性蛍光色素としてはDi-4-ANEPPSを用いた。Di-4-ANEPPSは細胞に添加されると細胞膜内に埋もれて存在する。膜電位変化によって構造が変化することで細胞膜内において存在する深度が変化し、素早く蛍光強度が変化する。このような蛍光強度変化がLED励起光源と高感度CCDカメラを用いて測定される。このようにして構築された実験系を用い、実験動物ナメクジの嗅覚中枢神経節の構造・機能を調べた。その結果、ナメクジの嗅覚中枢神経節では匂い刺激前には神経活動がその先端部から基部に向かって伝播しているのに対し、触角への匂い刺激後には（特に忌避性の匂い物質に対して）神経節全体の多数の神経細胞が同調して活動することを見出した（第20回バイオイメージング学会1P-24, 1P-26）。また、このときの神経活動に対して非線形解析（Wavelet解析）を行ったところ、広い周波数帯に分布していたエネルギーが、匂い刺激後にはいくつかの周波数帯に集中しエントロピーが減少していることが分かり、匂い情報が獲得されていることが示された（第34回日本神経科学大会P3-t21）。これらの結果から、ナメクジの嗅覚系では神経活動パターン（これはアトラクタとして定式化される）を用いて様々な匂いの識別を行っていることが示唆された。同様な知見はFreemanらが実験動物としてウサギを用いて示している。以上の結果に基づき、ナメクジの嗅覚系ニューラルネットワークのハードウェアモデルを構築することを試みた。VDEC（VLSI Design Education Center）において1.2 μm のデザインルールを用いたCMOS・ICチップ設計を行い、2.3 mm角のICチップ上に嗅覚系ニューラルネットワークの基本構成要素を実装した（第34回日本神経科学大会O3-H-1-2）。

今回試作したICチップは細胞体モデルおよび抑制性シナプスモデルで構成し、4つの細胞体モデルを抑制性シナプスモデルで全結合したモデルである。細胞体モデルはパルス波形を出力する発振器であり、抑制性シナプスモデルは細胞体モデルの発振を抑制する機能を持つ。抑制性シナプスモデルで全結合した4つの細胞体モデルは、電源投入時にはランダムに発振しているが徐々に抑制し合い、最終的に4相同期となる。細胞体モデルの発振順番は外部トリガパルスの入力により自由に変更可能である。そこで平成24年度は、このような嗅覚系ハードウェアモデルに上記の匂いセンサからの出力を入力し、その情報を生物の嗅覚系と同様にアトラクタとして把えることを試み、その変化から匂いを高精度に識別する匂いセンシングシステムを検討する。このような匂いセンシングシステムの技術が確立すれば、工業分野、環境計測分野、医療・健康分野、防災関連分野、犯罪捜査・危険物検知分野など広い分野への応用展開が可能である。

本研究では、嗅覚系ハードウェアモデルを搭載したマイクロロボットの開発も行う。マイクロロボットはMEMS技術を用いてシリコンウェハを加工して作製する。平成23年度は従来の $4.0 \times 4.0 \times 3.5$ mmサイズから $4.0 \times 2.7 \times 2.5$ mmサイズへのダウンサイジングに成功した。従来のロボットはデジタル制御による動作制御を行っていたが、上記の試作したICチップは生物の脳と同様に神経細胞が出力するパルス波形を基に、ロボットの動作制御および駆動が可能である（平成23年度電気学会電子・情報・システム部門大会）。4つの細胞体モデルの出力を、アクチュエータである人工筋肉ワイヤ（形状記憶合金の一種）に入力することで加熱させ、六足歩行動作を生成する。六足歩行ロボットでは世界最小であるが、平成24年度はマイクロロボットのさらなる小型化・高機能化を目指す。また、外部刺激による前進・後進歩行のコントロールが可能であるので、上記の匂いセンシングシステムによる歩行動作の制御を試みる。ナメクジ嗅覚系の生理実験から得た知見をもとに、嗅覚系ニューラルネットワークの学習機能等の特徴を反映した生物型マイクロロボットを開発する。匂いの検知とともに生物がどのような行動をとるかの知見は、ロボットが模倣する行動とその実現のための機構設計の大きな指針となる。平成24年度はまず、この技術を応用して地雷探知ロボットの開発を目指したい。戦乱地域の地雷原に残された地雷の撤去作業は、世界的な大問題になっている。現在、地雷を探知する方法としては地中探査レーダーや金属探知機が用いられているが、それらは選択性に欠け、地雷以外の物体に反応してしまうという問題があり、化学センサを用いた方法が検討されている。本研究で開発した匂いセンシングシステムを搭載した地雷探知ロボットが実用化されれば、大きな社会的インパクトをもつ。

注：必要に応じて、このページをご使用ください。

平成23年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成24年5月16日

日本大学 総長 殿

氏 名 小川直宏



所属・資格 経済学部・教授

下記のとおり報告いたします。

1 研究課題 国民移転勘定（NTA）に基づく少子化・高齢化研究－日本を中心として		
2 研究組織		
氏 名	所属部科校・資格	役割分担
○研究代表者名 小川直宏	経済学部・教授	本研究を総括する
○研究分担者 小巻泰之	経済学部・教授	国民所得勘定とNTAのリンクに関する研究
宮里尚三	経済学部・准教授	NTAにおける年金を中心とする公的移転の研究
青木千賀子	国際関係学部・教授	NTA研究におけるジェンダー導入とアジアの家族変遷
清水浩昭	文理学部・教授	世代内・世代間の私的移転に関する研究
大井田隆	医学部・教授	医療に関する公的・私的移転分析
3 本研究に関連して外部資金への申請状況、獲得状況		
平成24年度 科学研究費補助金（特別推進研究）申請、否		

※「6 研究結果」について、ホームページ等での公開 可・否 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：小川直宏

4 研究目的

本研究では、人口高齢化が急速に進展するのに伴い著しく様変わりする世代間の経済的な助け合い（世代間移転）のパターンが政府及び家族レベルでどのように変化してきているかを最近のわが国について研究し、その成果を基にシミュレーション分析を実施し、政策提言を行うことを主な目的としている。

本研究で使われる理論的なフレームワークは国民移転勘定（NTA）システムと呼ばれるものである。従来行われてきた高齢化問題の分析アプローチでは、公的年金制度などの公的移転に関する研究はマクロデータを駆使して行われ、親子間の経済支援の問題や、老親の在宅介護負担などの家族レベルにおける私的移転の問題についてはマイクロ・データを中心とした分析が行われてきた。しかし NTA ではこれらの分析のギャップを埋め、公的・私的 2 つの移転問題に関する分析を、統計的にマイクロとマクロ同時に、しかも経済的にもこれらの間の整合性を保ちながら分析する画期的な手法となっている。しかも NTA ではすべての公的・私的移転に関する変数について年齢が組み込まれているので、年齢構造の変化による世代間移転のパターンの変化を分析することが可能となる。それにより、子ども世代の教育費用の分析を通し「教育費が少子化の理由であるのか」という問いに対して実証的に裏付けられた答えを出したり、高齢者世代が何歳から本格的に政府の年金・医療（公的移転）に依存し、何歳から子ども世代からの経済的支援（私的移転）に依存しているのかを計測することができ、「高齢者」という年齢的区分の経済的妥当性を吟味することも可能となる。

本研究の先行研究として、日本大学人口研究所が 2006 年 4 月～2011 年 3 月まで文部科学省からの高度化推進事業の一環として、1984～2004 年までの世代間移転の分析を行ってきており、今回 2009 年の分析が完成すると 1984～2009 年の 25 年間にわたる人口高齢化と政府及び家族レベルでの世代間移転の関係が様々な視点から克明に示されることになる。

NTA のフレームワークは世代間移転の観点から、少子化対策や高齢化政策をはじめ、第 1 次人口配当・第 2 次人口配当と投資機会の分析、経済成長要因の分析などにも有効な手段となっている。これらの問題はわが国だけでなく、多くの国にとっても重要な課題であるが、NTA は現在世界 37 カ国が参加するグローバルプロジェクトに成長しており、参加国間との国際比較研究も可能となっている。ジェンダーの導入など NTA のフレームワークのアップデートも着実に進められており、これまでわが国で行われた研究では着目されなかった視点からの政策提言が期待される。

5 研究概要

本研究では、既に計算されている 1984～2004 年の NTA システムに 2009 年を追加してシミュレーション分析などを実施し、政策提言を行う。

研究期間は 2 年間で、第 1 年度は新たに利用可能となった 2009 年『全国消費実態調査』などを用いて 2009 年の NTA を推計する。その際、わが国のこれまでの推計についても改良を加えたり、子ども手当などの新しい指標を追加したり、後期高齢者医療保険や年金制度改正など 2004 年以降に登場した制度のモデリングを行う。また、わが国では現在 1993 年の国連の SNA (System of National Accounts) をベースに計算しているが、2008 年 SNA の改正が迫っているため、それに対応するシステムへの変更も加味して過去の推計を改定する必要がある。さらに、本研究チームではメンバーそれぞれの専門分野（マクロ経済、医療、年金、家族、労働、ジェンダーなど）の視点から、改良できる点や新たに追加する点を浮き彫りにし、これまで行われてきた NTA 指標のリビューも試みる。

第 2 年度では第 1 年度に得られた公的・私的移転についての推計値をベースに政策志向のシミュレーション分析を行う。また、NTA のフレームワークで研究が進んでいる諸外国との分析結果と対応させ、国際比較研究を行う予定である。

このように人口高齢化や少子化、所得格差などの問題に効果的な政策提言資料を提供するのに加えて、政策提言資料としてよりその有効性が期待されているのが NTA の将来推計である。NTA 指標の将来パターンについては、NTA 指標の将来パターンと人口の推計が必要となる。人口推計に関しては日本大学人口研究所がこれまで行ってきた推計モデルやその応用などが期待できるが、NTA 指標の将来パターンについては様々な分析をベースにした一定のシナリオなどが必要となる。そのため、本研究の各メンバーは、将来のモデル推計において NTA 指標をどのように将来的に変化させるかについて研究を行い、メンバー間の意見交換及び定期的な研究成果の発表を通じてシミュレーションモデルを構築する。しかし NTA の将来推計をこれまで完成した形で行っている国はなく、本研究チームのメンバー以外からも国内外の専門家などを招聘しながら、シミュレーションモデルを構築する予定である。

部科校名：経済学部

氏名：小川直宏

6 研究結果 (4,000字以上記入してください。)

本研究チームがこれまで取り組んできた国民移転勘定 (NTA) システムに基づく研究は、21 世紀に入ってから始められた研究であり、経済学をベースに、人口学の手法を一部導入した画期的な分析方法である。現在、この分析方法に基づく研究プロジェクトは世界 37 カ国で実施されており、アメリカ合衆国、フランス、ドイツ、スウェーデン、フィンランド、日本などの主要な先進国に加え、ラテンアメリカ、アジア、アフリカの開発途上国も参加している。日本についてはこれまで本研究チームのメンバーが開発・分析を担当してきており、現時点で、日本の NTA 研究のレベルおよびその成果は、NTA プロジェクトのリーダーを務めるカリフォルニア大学、ハワイ東西センターと並び、プロジェクト参加国の中では最も進んだものである。この事実は、2011 年度に Edward Elgar から Population Aging and the Generational Economy と題する書籍が出版されたが、その中でカリフォルニア大学やハワイ東西センターの NTA 研究に加え、日本の NTA 研究やその貢献が大きく取り上げられている。この研究自体に関しても、学術的に大きな成果があると評価され、Laurence Kotlikoff 教授 (ボストン大学)、Robert Willis 教授 (ミシガン大学)、David Bloom 教授 (ハーバード大学) など人口と経済の問題に関する国際的な泰斗から推奨されるなど評価も高い。

さらに、この書籍は Association of College and Research Libraries (米国大学図書館協会) の刊行する『Choice』誌において、“Highly Recommend” という評価が与えられている。米国図書館協会の刊行する書評は、図書館員の間でも広く読まれ、蔵書構築業務に使われる影響力の大きなツールとなっている。特に、Choice 誌は月刊の書評誌で、米国の多くの大学図書館では購入の参考に使われるほど高い権威が認められている¹。

これまでの研究成果を通して、世界銀行や国連などの機関から社会保障問題と少子高齢化問題を研究する分析手段として現在 NTA が最も注目すべきものであるとの指摘があり、このようなことから、国連 (人口部) では NTA の推計方法に関するマニュアル作成プロジェクトが初められた。NTA を推計するためには、いわゆる各国政府で実施されている家計調査と言われるマイクロ・データ、国民経済計算、社会保障制度に関する詳細なデータなどを使用して推計する。各国での推計に関しては、できるだけ統一された推計方法が取られてきたが、各国で存在するデータの有無や性質に左右されるため、NTA のマニュアルの編集作業において、アジア NTA に関する技術援助を行ってきた本研究メンバーを含む日本 NTA プロジェクトチームの貢献が大きく期待されており、2011 年ブラジルで開催された NTA グローバル会議では、国連主催のもとこのマニュアル作成のためのワークショップが同時に開催され、本研究メンバーも参加した。

このブラジルで開催された NTA グローバル会議では本研究チームからは 3 つの研究成果が発表された。その 1 つとして本研究の初年度における最大の目標である日本における NTA の最新の推計結果が発表された。前述したように NTA の推計ではマイクロ・レベル・データを直接使用して推計しなければならないが、政府が実施したデータは一般的に学術目的であっても、使用は認められていない。しかし、わが国政府においても、この NTA 研究の重要性が認められ、本研究メンバーが統計局の客員研究員になることでデータの使用が可能となり 2009 年度に統計局が実施した全国消費実態調査を使用して NTA 推計が行われた。この結果をもとにブラジルにおける NTA グローバル会議では 1984 年から 2009 年までの NTA 指標に関する時系列的な分析が報告された。

2 つ目は NTA 指標で使用される国民経済計算に関するものである。この国民経済計算は国連によって統一された SNA (System of National Accounts) をベースに各国政府がそれぞれ推計している。わが国では現在 1993 年版の SNA (以下 93SNA) を使用して GDP など指数が計算されており、NTA の研究に参加するほとんどの国においても 93SNA をベースにした計算が行われている。しかし、国連ではすでに新しい SNA として 08SNA (2008 年改訂版) を発表しており、各国では新しい国民経済計算への移行手続きが進行している。NTA の推計手順を簡潔に説明すると国民経済計算に年齢の概念を新しく加える作業であり、基本となる値は国民経済計算に準拠している。この特徴によって各国間との国際比較などが可能となる。このように国民経済計算をベースにすることで多くのアドバンテージを持つ NTA であるが、その比較のためには同じ SNA をベースにした推計

¹ Choice 誌が毎年 1 月号で発表する “Outstanding Academic Titles” は、同誌が前年に書評を掲載した中から特に優れた出版物を選定したもので、これに選ばれることは学術研究・大学教育用の書籍にとって大きな名誉とされている。

部科校名：経済学部

氏名：小川直宏

研究結果（つづき）

が必要である。本研究チームでは現在使用している各国の SNA に関する調査および NTA 指標における 93SNA と 08SNA との問題点などを分析した結果を発表した。この成果はグローバルな研究が行われている NTA の研究者においては非常に有益な情報を与えるものであった。

3 つ目はわが国における世代会計に関する研究成果についてである。世代会計は経済学の分野ではよく知られている指標である。一般的には個人が一生の間に政府に支払う額と政府から受け取る額を、世代別に推計し、国民負担の世代間格差を示す指標として用いられるものである。税金・社会保険料などの負担額と、年金・医療保険・補助金の給付などの受益額の差額を世代別に算出し、現在の価値に換算して比較するものである。世代会計では公的な世代間の移転のみを推計し、家族間など私的なレベルでの移転は含まれていないという欠点が生じしばしば指摘されているが、NTA はその世代会計にさらに、私的な移転を加えたものであると評価されている。NTA は国際的なプロジェクトとして研究活動が進められており、その中の 1 つのプロジェクトとして NTA 指標を利用した世代会計に関するプロジェクトも進行中である。これら NTA 指標を応用した世代会計に関する結果は、今後書籍として出版する予定であり、本の編集者としては世代会計を開発した Alan Auerbach 教授（UC バークレー）も参加する予定でプロジェクトが進められている。

初年度における本研究での主な研究成果はブラジルにおける NTA グローバル会議での報告に集約されるが、このブラジルでの NTA グローバル会議では、研究成果の報告以外にも NTA 指標を応用した各研究項目に関するワークショップも同時に開催されている。前述した世代会計に関するプロジェクトもその 1 つであり、ワークショップにおいて計算方法の改良や各国で共通する問題に関する協議などの議論が展開された。この他にも NTA のジェンダー指標に関するワークショップ、シミュレーションに関するワークショップ、遺産の推計に関するワークショップなどが行われ、これらのワークショップにおいても本研究メンバーは参加し、幾つかの問題点や計算方法などの提案を行っている。特に、ジェンダー指標に関するワークショップや遺産推計に関するワークショップに関しては、本研究チーム内で開催した研究会から得られた知見を基にした資料を議論上のベースとした。これらの研究会では文理学部の清水浩昭教授が報告した「親子間の交流—家事・生活費の援助を中心として」からはわが国における家族内の遺産に関する移転と世帯形成の具体的な症例。国際関係学部の青木千賀子教授が報告した「NTA 研究におけるジェンダー導入の課題」からは、アジアにおける家族移転や家庭内での役割など、日本ばかりでなくアジアの他の国におけるジェンダー的な特徴に関する研究結果が大きく貢献している。

本研究が携わる NTA の研究においては、個人の公的、私的な経済活動を全て推計するという試みであり、それについてカバーしなければならない研究領域はミクロ・マクロの両レベルにおいて多岐に渡る。特に、本研究の初年度において、学会発表や論文の発表を通して、新たな研究領域の萌芽が形成されている。国際的な研究としてはスタンフォード大学が新たに創設しようとする健康に関する研究センターへの参加要請や、アジア開発銀行、世界銀行などによりプロジェクトが推進されている。また、ドイツのマックスプランク研究所においては NTA 指標を利用したシミュレーションに関する研究、オーストリアの国際応用システム分析研究所（IIASA: International Institute for Applied Systems Analysis）とも年齢別の生産性に関する新しい研究が始められている。

国内においては、本研究メンバーが、2011 年 9 月より独立行政法人経済産業研究所と一橋大学とが共同で実施している『くらしと健康の調査（JSTAR: Japanese Study of Aging and Retirement）』の研究メンバーとして参加するように要請され、将来的には NTA 指標と JSTAR から得られる各種データとのドッキングおよび応用的分析の可能性が模索されよう。例えば、JSTAR から得られるミクロ・データに基づき、公的および私的部門にかかる高齢者医療費の実証的な分析が可能となり、そのマクロ経済に対する今後のインパクトを NTA のフレームワークに取り入れ、政策シミュレーションを行うことが可能となる。また、国内における労働経済、医療経済の第一人者である大竹文雄・大阪大学教授とは NTA 指標を応用した経済的な格差に関する共同研究が進められている。さらには、池上直己・慶應大学教授などとも社会保険、特に介護保険などの受給状況などの格差を地域的な見地から分析を進める研究などが検討されている。

初年度における代表的な研究成果に関しての具体的な実績について以下の通りである。

注：必要に応じて、このページをご使用ください。

部科校名：経済学部

氏名：小川直宏

研究結果（つづき）

【研究発表】

- Naohiro Ogawa, "Asset Relocations and Population Aging in Asia", Manila Dialogue, 14 April, 2011.
- Naohiro Ogawa, Andrew Mason, Sang-Hyop Lee, An-Chi Tung, Nicole Mun Sim Lai and Rikiya Matsukura, "Very Low Fertility and the Rising Cost of Children in Japan and Other East Asian Countries", 2011 Population Association of Taiwan Conference, 28 April, 2011.
- Naohiro Ogawa, Andrew Mason, Sang-Hyop Lee, An-Chi Tung, Nicole Mun Sim Lai and Rikiya Matsukura, "Low Fertility and the High Cost of Children in Japan and Other East Asian Countries", International Conference on Economic Implications of Low Fertility and Aging Population in Northeast Asia, 18 May, 2011.
- Naohiro Ogawa, Sang-Hyop Lee, Rikiya Matsukura, An-Chi Tung and Mun Sim Lai, "Population Aging, Economic Growth, and Intergenerational Transfers in Japan: How Dire Are the Prospects?", Workshop on Demographic Transition and Economic Growth in Asia, 20 May, 2011.
- 小川直宏・松倉力也, 「少子化と子供への投資：日本と東アジアにおける子供の質と数のトレード・オフ」, 日本人口学会第63回大会, 2011年6月12日.
- Naohiro Ogawa, Sang-Hyop Lee, Andrew Mason, Rikiya Matsukura An-Chi Tung and Mun Sim Lai, "Population Aging, Economic Growth and Intergenerational Transfers in Japan", ADB workshop on Demographic Transition and Economic Growth in Asia, 22 July, 2011.
- Naohiro Ogawa, Andrew Mason, Sang-Hyop Lee, An-Chi Tung, Nicole Mun Sim Lai and Rikiya Matsukura, "Declining Fertility and the Rising Costs of Children and the Elderly in Japan and Other East Asian Countries", Twentieth Northeast Asia Economic Forum, 9 August, 2011.
- Naohiro Ogawa, Sang-Hyop Lee, Andrew Mason, Qiulin Chen, An-Chi Yung, Nicole Mun Sim Lai, Srawooth Paitoonpong and Rikiya Matsukura, Seminar on Thailand National Transfer Accounts, 6 September, 2011.
- Naohiro Ogawa, "Changing demographic landscape in East Asia", The Stanford Kyoto Trans-Asian Dialogue: Demographic Change in East Asia: Economic, Social and Security Implications, 8 September, 2011.
- Sang-Hyop Lee, Andrew Mason, Qiulin Chen, An-Chi Tung, Nicole Mun Sim Lai and Rikiya Matsukura, "Population Aging and Changing Generational Transfers in Japan and Other Selected Asian NTA Countries", Workshop on Intergenerational Economics 2011, 13, September, 2011.
- Naohiro Ogawa, "Comments: Population Aging and Rising Health Care Costs", Technical Policy Seminar on the Economics of Aging, September, 2011.
- Naohiro Ogawa, Hirofumi Ando and Rikiya Matsukura, "Population Aging and Intergenerational Transfers in Japan: An Update", 8th NTA Workshop, 8 December, 2011.
- Naohiro Ogawa, "Comments: Special Topics and Extensions: Wealth Accounts, Capital Transfers, Gender Dimension, Remittances", United Nations Expert Group Meeting on National Transfer Accounts Manual: Strengthening Capacity in the Production, December 2011.
- Naohiro Ogawa, "Population Aging, Changing Labor Income Profiles and Intergenerational Transfers in Japan and Other East Asian", International Workshop on Population Ageing and the Labour Market, February 2012.
- 小巻泰之, 「中国・社会資本限界生産性の推計」, 新潟大学経済研究会, 2011年6月17日.
- Yasuyuki Komaki, "Base year revision of CPI in the conduct of monetary policy using Real-Time data", The 31nd International Symposium on Forecasting, 27 June, 2011.
- 小巻泰之, 「70年代のインフレ期における金融財政政策の効果—政策ルール及び貨幣需要関数のリアルタイム分析—」, 統計研究会金融班, 夏季コンファレンス, 2011年8月29日.

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：小川直宏

研究結果（つづき）

小巻泰之, 「財政変数のリヴィジョン・スタディー-国際比較-」, 2011年度統計関連学会連合大会, 2011年9月5日.

Yasuyuki Komaki, "Reassessment of NTA estimation from the viewpoint of SNA: bead on a preliminary fact-finding survey", 8th NTA Workshop, 9 December, 2011.

Naomi Miyazato, "Intergenerational Redistribution Policies of the 1990s and 2000s in Japan: an analysis using generational accounts", 8th NTA Workshop, 9 December, 2011.

Chikako Aoki, "Impact of Microfinance Services on Socio-Economic Empowerment of the Mahila Samuha (Women's Group) in Nepal", International Conference on Geography of Governance: Dynamics for Local Development, 1 November, 2011.

青木千賀子, 「ネパールの女性グループによるマイクロファイナンスの活用実態と内発的開発の課題」, 日本比較生活文化学会 第27回研究発表大会, 2011年11月20日.

【論文】

Naohiro Ogawa, Rikiya Matsukura, and Amonthep Chawla, 2011, "The elderly as latent assets in aging Japan", *Population Aging and the Generational Economy: A Global Perspective*, pp. 475-487.

Sang-Hyop Lee and Naohiro Ogawa, 2011, "Labor income over the life-cycle", *Population Aging and the Generational Economy: A Global Perspective*, pp. 109-135.

Andrew Mason, Naohiro Ogawa, Amonthep Chawla, and Rikiya Matsukura, 2011, "Asset-based flows from a generational perspective", *Population Aging and the Generational Economy: A Global Perspective*, pp. 209-236.

小川直宏, 2011, 「特集 平成22年国勢調査でみる日本の人口(1): 労働力人口の年齢構造と労働力率の変化」, 『統計』, 第62巻, 第10号, pp. 21-30.

小川直宏, 2011, 「特集 平成22年国勢調査でみる日本の人口(2): 変化する就業構造と従業上の地位」, 『統計』, 第62巻, 第11号, pp. 20-29.

Robert D. Retherford, Naohiro Ogawa, and Rikiya Matsukura, 2011, "Explaining Trends in Coresidence of Newly Married Couples with Parents in Japan", *Asian Population Studies*, Vol. 7, No. 3, pp. 195-218.

Naohiro Ogawa, "Low Fertility and the High Cost of Children in Japan, South Korea, and Taiwan", *Low Fertility and Aging Populations in Northeast Asia: Economic Implications*, pp. 53-78.

"Low Fertility, Human Capital, and Economic Growth: the Importance of Financial Education and Job Retraining", *World Development*, 2012 forthcoming.

"Population Aging, Economic Growth and Intergenerational Transfers in Japan", Routledge, 2012 forthcoming.

小川直宏「少子高齢化と世代間経済: 最新データと新たなる視点からの分析」シリーズ監修: 橘木俊詔・宮本太郎, ミネルヴァ書房, 2012年刊行予定.

Naomi Miyazato, 2011, "The Consequence of Applying Individual Accounting to Social Security: Public Pensions as a Form of Risk-Sharing", Shirahase, Sawako (ed) *Demographic Change and Inequality in Japan*, pp. 181-202.

宮里尚三, 2012, 「社会保障と財政」, 『土居丈朗編『日本の財政をどう立て直すか』, pp. 93-133.

青木千賀子, 2012, 「ネパール東部開発区のマヒラサムハ(女性グループ)の活動実態とエンパワーメントへの課題」, 日本大学国際関係学部研究年報, 第33号, pp. 11-22.

清水浩昭, 2011, 「家族構造と家族構成の地域性-国勢調査と理論構築-」, 『統計』第62巻, 第11号.

清水浩昭, 2011, 「高齢化社会における居住形態と介護の地域性」, 『家族関係学』, 30号.

清水浩昭, 2011, 「家族の範囲」, 『統計』, 第63巻, 第1号, pp. 25-28.

部科校名：経済学部

氏名：小川直宏

研究結果（つづき）

【講演会】

- 7月15日 「カンボジアの2008年人口センサスとその結果の概要」 講演者：大友 篤（㈱アイコンズ）
8月4日 「Intergenerational Comparison of Childbearing Intentions and Births in Taiwan」
講演者：Yu-Hua Chen（国立台湾大学）
11月30日 「日本の出生率の低下・反転」 講演者：廣嶋清志（島根大学法学部山陰研究センター）

【研究会】

- 4月12日 「国民移転勘定（NTA）に基づく少子化・高齢化研究：日本を中心として」 発表者：小川直宏
7月8日 「親子間の交流－家事・生活費の援助を中心にして」 発表者：清水浩昭
7月29日 「NTAにおけるSNA国際基準改定の影響」 発表者：小巻泰之
9月30日 「NTA研究におけるジェンダー導入の課題」 発表者：青木千賀子

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 11-008
	継続
	総 10-011

平成23年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成24年4月16日

日本大学 総長 殿

氏 名 新宮清志



所属・資格 理工学部・特任教授

下記のとおり報告いたします。

1 研究課題 シェル・空間構造の振動減衰定数ならびに減衰特性の究明		
2 研究組織		
氏 名	所属部科校・資格	役割分担
○研究代表者名 新宮清志	理工学部・特任教授	研究総括、起震機実験による減衰評価、減衰特性の究明、減衰行列の評価式の提案
○研究分担者		
川島 孝幸	理工学部・教授	人力加振実験による減衰評価、減衰データベースの構築
三井 和男	生産工学部・教授	常時微動観測による減衰評価、固有振動解析
近藤 典夫	理工学部・准教授	衝撃加振実験、錘落下実験による減衰評価
小川 清	工学部・教授	既往の減衰データ収集と分析、常時微動観測による減衰評価
3 本研究に関連して外部資金への申請状況、獲得状況		
東京工業大学共同利用研究費： ・平成23年度「大空間構造物の減衰特性と振動抑制に関する研究」（研究代表者：新宮清志）、採択 ・平成24年度「大空間構造物の減衰特性と振動抑制に関する研究」（研究代表者：新宮清志）、採択		

※「6 研究結果」について、ホームページ等での公開 (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：理工学部

氏名：新宮清志

4 研究目的

研究の学術的背景

「減衰」は構造物の振動・応答に関わる重要なパラメーターの一つであるが、多くの要因が関与しており理論的に算出する手法は無く、従来から実測評価に頼っている。設計段階で精度良く減衰評価を行い、構造物の動的挙動を明らかにすることが可能となれば、建築構造部材の応力低減や構造コストの低減、安全性の向上に繋がる。実測評価では、構造材料・仕上げ材料等の種類や測定方法・評価方法の選定によって評価結果にばらつきを与えてしまう。このような複雑さが減衰評価の精度悪化に繋がり、シェル・空間構造物の構造設計に関して減衰の取り扱いが議論されることはほとんど無かった。

研究目的

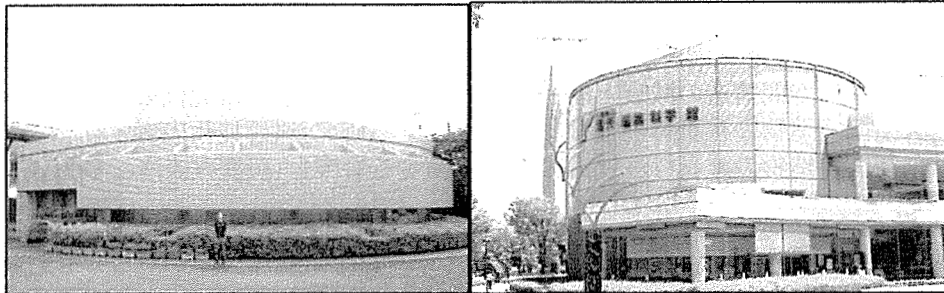
前述の事を踏まえ、本研究では、数棟のシェル・空間構造の減衰定数を明らかにすること、減衰データベース作成を目的とし、既存のシェル・空間構造を対象に、常時微動観測・人力加振実験・衝撃加振実験・錘（砂袋）落下実験、更には起震機実験を実施する。また、併せて文献調査を行い、立道作成のデータベース（データベース1と呼称）に対して、新たに実施される実験結果と、本対象構造物を含む実験結果を新規に追加した減衰データベース2の作成を行う。これらの結果から、シェル・空間構造の減衰特性の究明、減衰行列の提案を行う。

以上は、研究計画書に記載した「研究目的」の概要である。

5 研究概要

写真に示す4棟のシェル・空間構造の減衰評価と55棟のシェル・空間構造について減衰傾向分析を行う。

プラネタリウム館は、球形シェル屋根であり、研究が少なく貴重なデータとして考えられる。船橋総合教育センター・プラネタリウム館（左上）は昨年も実験を行ったが、再度計測を行っている。習志野市総合教育センター・プラネタリウム館（左下）は、船橋市総合教育センター・プラネタリウム館と比べ、スケールが少し小さく同形状シェルとして比較できる。市川市現代産業科学館（右上）は、既往研究に鉄骨円錐シェル屋根のものがあり、それと比較できる。日本大学理工学部スポーツホール（右下）は、大空間構造物である。大空間構造物は、地震や災害等の避難場所として使用されることが多いために動的挙動や減衰評価を行うことが社会的急務となっているために選定をしている。



部科校名：理工学部

氏名：新宮清志

6 研究結果 (4,000字以上記入してください。)

対象構造物

- 1) 船橋市総合教育センター・プラネタリウム館シェル屋根
千葉県船橋市総合教育センター内にあるプラネタリウム館の球形シェル屋根である。シェル屋根は半径11.60m、ライズ8.11m、シェル厚が0.08mである。また頂点部は直径4.00mの円形PC板で蓋をしている構造となっている。
- 2) 習志野市総合教育センター・プラネタリウム館シェル屋根
千葉県習志野市総合教育センター内にあるプラネタリウム館の球形シェル屋根である。シェル屋根は半径9.75m、ライズ8.70m、シェル厚が0.08mである。シェル屋根の表面は銅板葺き仕上げとなっている。
- 3) 市川市現代産業科学館 円錐形状屋根
千葉県市川市現代産業科学館のサイエンスドーム・円錐形状屋根である。半径13.97m、高さ21.65m、ライズ6.51mの鉄骨円錐状構造物である。この構造物の内部はプラネタリウムとして使用されている。
- 4) 日本大学理工学部スポーツホール
日本大学理工学部・船橋キャンパスにある日本大学理工学部スポーツアリーナである。長辺×短辺が74×58m、高さが20.98mの鉄骨張弦梁の構造物である。

実験方法

本研究では、対象構造物を強制的に加振させる衝撃加振実験と、平常時の微動を観測する常時微動観測を行う。計測機器はサーボ型速度計を使用し、1点につき3軸（水平2方向、鉛直1方向）の計測を行う（次ページ写真参照）。

実験結果

本研究で得られた減衰定数を表1に示す。

表1 各シェル・空間構造物の減衰定数 (%)

	衝撃加振実験	常時微動観測
船橋市総合教育センター・プラネタリウム館	3.3	1.3
習志野市総合教育センター・プラネタリウム館	3.9	1.2
市川市現代産業科学館	1.6	1.1
日本大学理工学部スポーツホール	2.9	1.1

減衰傾向分析

シェル・空間構造物の減衰特性の検討を行うために、減衰傾向分析を行う。既往の研究より作成されたデータベースに、新宮・平塚・湯川・大塚の研究で48件、その後51件の物件になった後、本研究で新たに4件のデータを追加し、本データベースでは55件の物件（図1参照）となる。

減衰定数のばらつきがあり、相関性は十分でないが、スパンが増大すると減衰定数の値が増加する傾向が見られる。これらの関係を、最小二乗法により近似直線を求め、これを式(1)に示す。

$$h = 0.0152L + 1.45 \quad (1)$$

ここで、h：減衰定数 (%)、L：スパン (m)、(スパンは約10m以上で適用可)

まとめ

本対象構造物（4棟）の減衰定数は、次のとおりである。

- ・ 衝撃加振実験：1.6%～3.9%
- ・ 常時微動観測：1.1%～1.3%

本研究で得られたシェル・空間構造物の減衰定数推定式は、式(1)のとおりである。しかし、減衰定数-スパン関係の相関係数は0.31であり、相関は十分でないため、データベースを更に充実させる必要がある。

部科校名：理工学部

氏名：新宮清志

研究結果 (つづき)

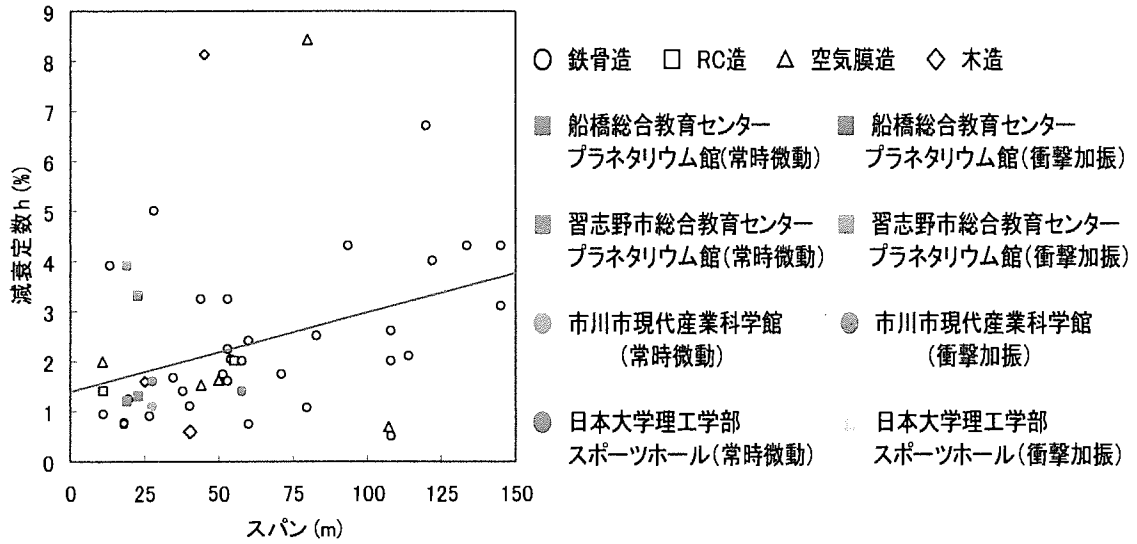


図1 減衰定数-スパン関係

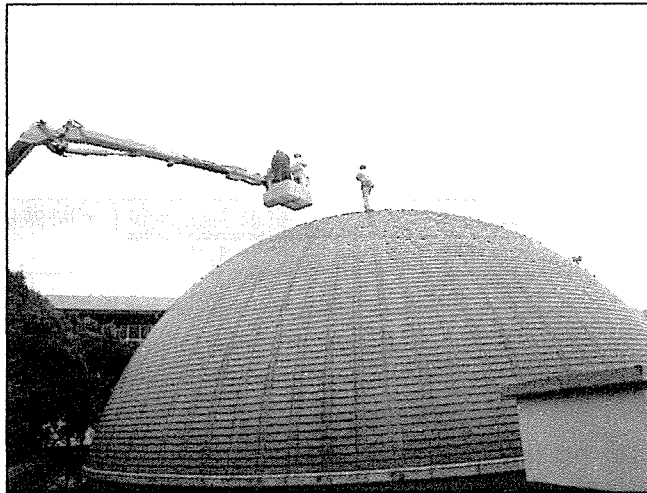


写真 サーボ型速度計設置状況 (習志野市総合教育センター・プラネタリウム館)

以上

平成23年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成24年5月16日

日本大学 総長 殿

氏 名 増田 光 一



所属・資格 理工学部・教授

下記のとおり報告いたします。

1 研究課題		
地球環境問題対策のための超大型浮体技術の研究 —NU フロート実現に向けて—		
2 研究組織		
氏 名	所属部科校・資格	役割分担
○研究代表者名 増田光一	理工学部・教授	研究統括, 流体力解析法の検討
○研究分担者		
中西 三和	理工学部・教授	高強度コンクリート開発, 耐海水性向上と材料性能評価
畔柳 昭雄	理工学部・教授	大洋州島嶼国の実態調査, 意匠設計
小林 昭男	理工学部・教授	島嶼国海岸保全技術・実態調査
登川 幸生	理工学部・教授	設計ツールのビジュアル化
廣海 十朗	生物資源科学部・教授	水産養殖クローズドシステム開発
梅村 靖弘	理工学部・教授	コンクリート修復, 自己修復技術検討
居駒 知樹	理工学部・准教授	超大型浮体耐波性能評価・解析
齋藤 俊克	工学部・助教	高強度・高耐海水性コンクリート調査
3 本研究に関連して外部資金への申請状況, 獲得状況		
なし		

※「6 研究結果」について, ホームページ等での公開 (☑・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：増田光一

4 研究目的

本研究は、地球規模の気候変動の影響に対して地理学的、地政学的さらに経済的に脆弱さを抱える大洋州を中心とする島嶼国の現状を理解しながら、浮体構造物設計技術や海洋利用技術による支援の可能性を探りながら、これらの技術水準を大幅に向上させることを目的とする。そこで、平面的に 1000m を超える規模の超大型浮体を利用して人工島を建造・成立させるための **simulation based design** 技術を確立するための要素技術として、浮体性能評価技術、建造材料技術、エネルギー供給技術を開発する。さらに、問題を抱える島嶼国の人々の意識と具体的問題を調査することを目的とする。

A) 大洋州における生活環境変化と被害の実態把握

- 大洋州でのヒアリング

B) 任意形状超大型浮体の波浪中応答評価技術の確立

- 3 次元的超大型任意形状浮体の弾性応答解析技術の簡略化技術の確立

C) 意匠デザインから要求される浮体形状の複雑化に伴う流体力学的問題の把握と解決策の検討

- 意匠設計から要求される浮体形状の、耐波性能上と流体力解析技術検討・開発

D) 超長期耐用構造材料としてのコンクリート性能向上とメンテナンス技術の確立

- 強度試験の実施と評価

E) 海洋空間利用の付加価値創出と水質環境保全の基礎技術としての水産養殖クローズドシステムの開発

- 水産養殖クローズドシステムの可能規模の把握（継続）

F) 波浪発電技術および海流・潮流発電技術の流体力学的性能向上に関する研究

- 可変ピッチ垂直軸水車と波浪発電システムの開発（継続）

5 研究概要

本研究は地球環境対策および海洋空間の有効利用を実現するための浮体式海洋構造物技術とエネルギー的自律を目指す技術を研究するものである。対象とする海洋構造物は浮体式であり、規模も超大型浮体と呼ばれるものである。

本研究ではコンクリート製および鋼製浮体を実現するために研究が進んでいないコンクリート材料の検討を行うとともに、大規模でかつ平面的に任意形状な浮体の波浪中応答解析システムを構築する。さらに大規模浮体に海洋エネルギーでも最もポピュラーな波力発電システムを搭載した場合の浮体応答およびエネルギー変換特性解析システムを構築する。

当初の研究背景にある大洋州への地球温暖化対策への支援方策および課題抽出・整理と連携研究環境構築のために現地でのワークショップを開催し、大洋州で最大の南太平洋大学との情報交換を実施する。現地調査項目としては、水産業と漁獲高および海域情報データ収集、海岸保全状況および今後の対応方策、電力供給システムと離島および小規模島嶼国の実態等についてヒアリングを行った。

NU フロート関連のコンセプト提案としてイメージパースを製作する。このイメージ浮体の計画に当たり、開発した波浪中弾性応答計算プログラムにて居住性能を評価し、最も適当な浮体平面形状を選択する。これを基に計画案を示す。

電力自給を目指すために、波力発電および潮流・海流発電装置の基本コンセプトを提案し、それらの基本性能評価を実施する。

部科校名：理工学部

氏名：増田光一

6 研究結果 (4,000 字以上記入してください。)

大洋州現地調査および南太平洋大学との情報交換について

大洋州各国の地球温暖化問題に対する各種情報を最も多く保有しているのが、11 か国が出資して創設・運営されている南太平洋大学 (University of South Pacific: USP) である。本プロジェクト参加教員の数名がフィジーの本校を訪問しワークショップを実施した。訪問は平成 23 年 8 月それに合わせて大洋州島嶼国の実態と各種観測データの有無や状況についてヒアリングを行った。さらに、今後の日本大学との研究連携について学部長との懇談会を実施した。フィジー訪問中は JICA 事務所を訪れ、JICA の大洋州での活動の実際について、ヒアリングを行った。以上をまとめると本調査の成果は以下のようになる。

JICA 事務所への訪問とヒアリングより、フィジーの客観的情勢や今後の開発の方針だけでなく、大洋州全体の開発の方向性と気候変動への認識の差異等について理解することができた。本出張では大洋州の島嶼国への今後の支援技術の方向性と浮体技術のあり方について改めて考察する機会を得た。また、USP との学術交流を継続することになり、海洋環境に関する研究・教育への当学科の参加とエンジニアリング技術に関する研究交流を USP から当学科へという方針で合意することができた。USP は大洋州の 12 か国が出資してできた総合大学であり、気候変動とエネルギー問題への関心が極めて強いことも議論の中で明らかとなった。今後の交流により互いの研究に貢献し合えることになる。

大型浮体への波力発電装置の設置とその解析方法について

図 1 のように振動水柱型波力発電装置を搭載した大型浮体の、波エネルギー変換性能評価を行えるようにした。理論計算には線形ポテンシャル理論を適用し、ディフラクション問題とラディエーション問題を解くことで弾性応答計算を実施している。また、各々の問題に対して振動水柱の運動が空気室になす仕事を断熱圧縮によって表現できるよう定式化し、それにより波エネルギー吸収機構を表現している。波パワー吸収性能と弾性応答の計算結果を図 2 に示す。

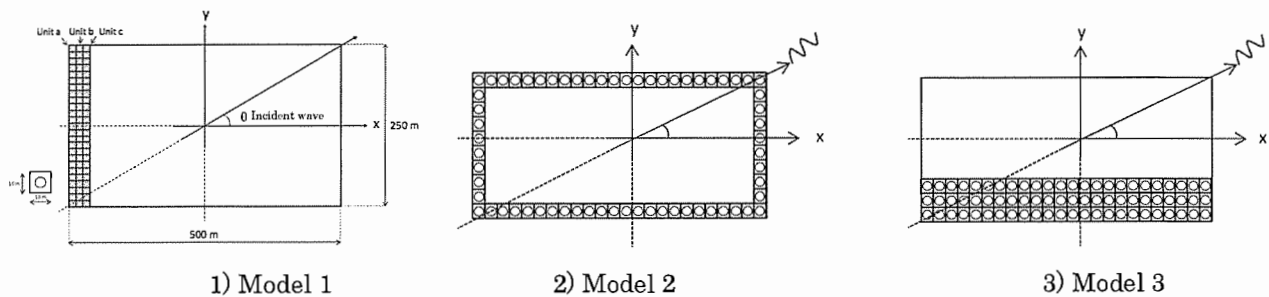


図 1 波力発電装置付浮体

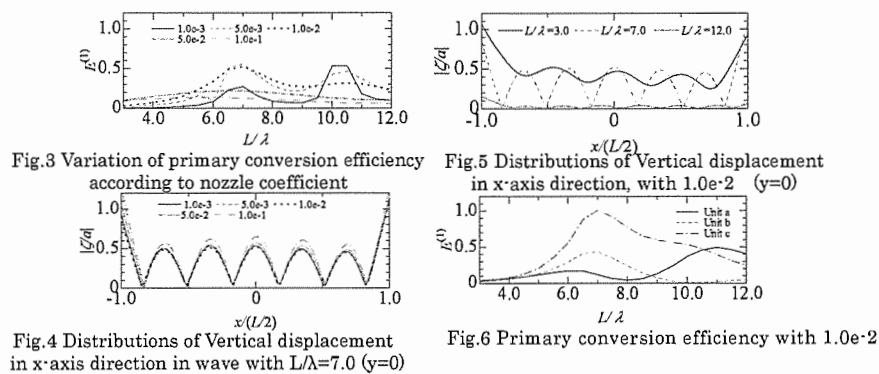


図 2 弾性応答と波パワー吸収性能

部科校名：理工学部

氏名：増田光一

NU フロートの設計

NU フロートを想定して作成した複雑な平面形状をもつ4パターンの計画案について検討を行った。ムーンプールを多く設け入り江を想定した突起のある最も複雑な計画を Plan A (図4)、ムーンプールを持たないが外周に特徴のある一塊の計画を Plan B、広い敷地を囲むように配置した構造物を持つ計画を Plan C、複雑な外周を持つ平面計画の中央にムーンプールを設けた計画を Plan D とした。これら4つのプランは全て図3の六角形ユニットを複数組み合わせることで計画している。平面規模は大きなもので760[m]×600[m]といった超大型浮体となる。提案した浮体計画の共通計算条件として、単位幅剛性 $EI/B=2.0 \times 10^8 [Nm^2/m]$ 、ポアソン比 $\nu=0.3$ 、浮体密度 $\rho=1000 [kg/m^3]$ とする。流浪場の計算条件として、水深 $h=500 [m]$ 、入射波の入射角度はX軸に平行な0度入射とした。入射波周期域は6.5~20秒とし、規則波浪中での計算を周波数領域で行った。

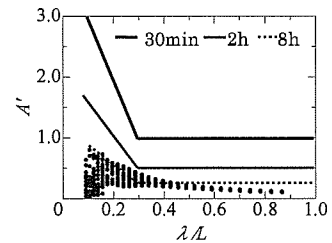
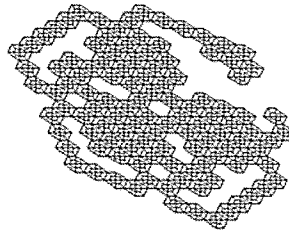
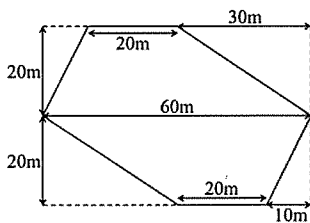


図3 ユニット浮体

図4 NUフロート Plan A

図5 加速度実効値

流力弾性応答計算のために、汎用有限要素法構造解析ソフトウェアを用いて、各モード形における固有値と固有関数を求めた。それらを用いて、8節点アイソパラメトリック要素に対応した圧力分布法1)の計算コードを適用し弾性応答を計算する。また、鉛直加速度実効値を合わせて算出する。参考として、成人男性の約10%が動揺病にかかるであろう限界を、滞在時間30分、2時間、8時間毎にチャート化した加速度実効値のグラフを図5に示す。

Plan Aの詳細な不快限界の位置について調べるため、敷地を大きくI~IIIの3つに分けた。3つの敷地からそれぞれ19点選び、加速度実効値を比較すると、入射側に位置しているIとIIの敷地では、いくつかの点で $A' = 0.4$ という値が見られた。それに比べてIIIの敷地では、 $\lambda/L=0.2$ で $A' = 0.3$ の値が2ヶ所みつかったが、そのほかの点は $\lambda/L=0.2$ でも $A' = 0.25$ 程度であることがわかった。このことから、医療施設や研究施設等は、敷地内でも垂直振動が最も小さい敷地IIIに計画することが望ましいといえる。Plan Aに関しては、3つの敷地で抽出したどの点でも $A' = 0.5$ を超えておらず、さほど大きな垂直振動も見られないため、比較的自由に計画が進められるということが分かった。

本研究での平面計画では、“NUフロート”3)の特徴であった六角形ユニットを応用した。最終案を図6に示す。浮体上部の敷地に緑を多く配置し、その中心に住居を配置した。浮体右部には垂直動揺を考慮し、医療施設及び研究施設、また入り江を設けた配置計画にしている。浮体左部は主に入射波の影響を受けやすいため、波浪発電などのインフラ設備を設置した。また、農産物の生産や屋上緑化を積極的に行い、住居の周辺や浮体中心部にかけていたるところに公園や緑を多く取り入れることで、海上生活でのストレスを心身ともに癒す効果を期待した。また中心部からそれぞれの機能が発展する平面計画によって、浮体という閉ざされた空間での“大規模な共同生活”において最も重要なコミュニケーションを築くのに適した計画となっている。このように動揺性能評価を行いながら、それを考慮した上で意匠デザインを意識した浮体計画を提案することができた。

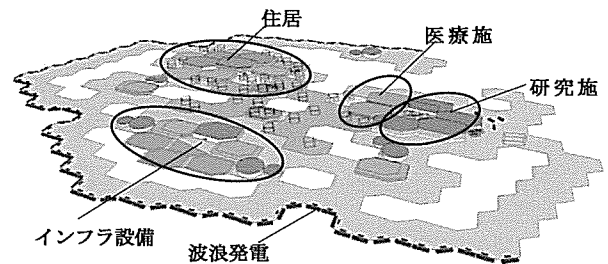
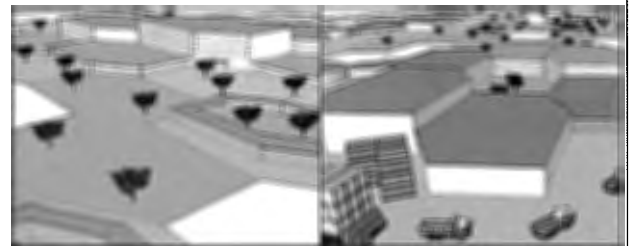


図6 NUフロートの最終案

平成23年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成24年4月6日

日本大学 総長 殿

氏 名 吉開 範章



所属・資格 理工学部・教授

下記のとおり報告いたします。

1 研究課題		
コンピュータウイルス感染時の人の行動・心理に基づく セキュリティシステムの研究		
2 研究組織		
氏 名	所属部科校・資格	役割分担
○研究代表者名 吉開範章	理工学部・教授	総括リーダー
○研究分担者 西川貴雄	理工学部・専任講師	情報セキュリティデータへの多変量分析モデル の活用
青柳美輝	理工学部・助教	統計学習に基づくセキュリティ対策の効果検証
栗野俊一	理工学部・専任講師	評価実験システムの構築と実験運営
善本 潔	理工学部・准教授	グラフ理論を使った集団心理の数理モデル
中村喜宏	生産工学部・准教授	評価実験システムのための Web インタフェース の研究
3 本研究に関連して外部資金への申請状況、獲得状況		
<p>・平成24年度戦略的情報通信研究開発推進制度（SCOPE）ICTイノベーション創出型研究開発 ： 不採択</p>		

※「6 研究結果」について、ホームページ等での公開（）・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：吉開範章

4 研究目的

米国や韓国の国防総省のコンピュータへの国際テロ攻撃や企業活動妨害等、ボットウイルスに感染したPC群を使った破壊攻撃が社会問題となっている。攻撃パターンの検知・分析を基に、その対策は技術的に色々検討されているが、まだ抜本的な対策は見つかっていない。一般的に、ボットウイルス感染したPCユーザーは、感染したことに気がつきにくい傾向がある。わが国でも、問題の重要性を認識した総務省・経済産業省が連携プロジェクトとしてサイバークリーンセンター（CCC）を立ち上げ、ボット対策に本格的に取り組んでおり、トラフィック分析により、容易にウイルス感染したPCユーザーを見つけることが可能であり、ユーザーの契約しているインターネット提供者（ISP）を通じて、感染をユーザーに注意喚起する活動を行ってきた。ところが、CCCが感染をユーザーに注意喚起しても、ウイルス駆除ソフトのダウンロードまで実施するユーザーは、通知されたユーザーの3割であるというデータが報告されている⁽¹⁾。その原因としては、感染ユーザー自身の危機管理意識の欠如、特に情報セキュリティに対する防衛意識の低さが考えられる。一方、社会心理学的な検討としては、地震や津波等の災害時のパニック状態における研究はなされているが、コンピュータウイルス感染時の研究は全くなされおらず、実験参加者の心理や行動についての基礎データすら存在しなかった。CCCでの感染PCの検知は、主として存在しないIPアドレス宛ての通信はDDoS(Distributed Denial of Service)攻撃と仮説を立てて分析を行っており、ボットネットの検知法としては、極めて有効であるが、全ての感染PCを発見できる訳ではない。また、最新のウイルス対策ソフトを用いたとしても、ウイルスの発生後に対策ソフトが開発される以上、百パーセント感染検知を実施することは、不可能である。本研究では、従来のネットワーク側から見た通信トラフィック分析によるDDoS攻撃検出に加え、PCユーザー自身のウイルス検知を加味して高精度の感染PCを認知する方法を基本にした新DDoS攻撃対策システムについて研究開発を行い、大きな設備投資を伴うことなく、情報セキュリティ被害の削減を実現する対策を示す。

5 研究概要

DDoS攻撃の手法は、ウイルス感染したPC群をネットワーク化したボットネットを使う方法が一般的である。攻撃メッセージから、感染PCユーザーを検知することは比較的簡単であり、ウイルス駆除ソフトのダウンロードを実施させることに成功すれば、ボットネットを除去し、実質的にDDoS攻撃被害を削減することが可能となる。そこで、社会心理学的手法も活用して、感染PCを有する利用者が、自分でウイルス感染を認知し、さらに脅威を感じてウイルスを駆除する方法について探究する。そのための対策方法について探究する。

研究開発目標としては、社会心理学的手法を取り入れ、ヒトの心理・行動との整合性がとれたセキュリティ対策を実現するために、PCユーザーのボットウイルス認知意識を醸成し、さらに予防対策まで可能となるシステムを、実験も踏まえて実現性を示す。具体的には、ウイルス感染を知ったユーザーに、ウイルス駆除ソフトをダウンロードさせるために、説得コンテンツの作成と、その提供システムの実現、さらに、それらを科学的に解明するための研究手法を明らかにすることを目標とする。

また、目標の達成方法としては、ウイルス感染時におけるヒトの心理や行動に関する基礎検討から開始する。基本的には、実験データから、ヒトのプロファイルに基づく行動モデルを作り、対策についての仮説を作成する。仮説の一案としては、通常の災害時においては、簡単な直観に訴える「マニュアル」が提示されることにより、ヒトは行動を誘発されることが分かっているので、情報セキュリティにおいても、対策マニュアルの効果を検証する実験環境を作成し、実証実験を行う。実験に先立ち、被験者のプロファイルと、防護動機理論に基づくアンケート調査を行い、被験者の行動予測データを分類し、実験に参加する被験者をアンケート回答者の中から、選択する。マニュアル自体は、紙ベースの方法だけでなく、基本は、PC上にインシデント表示の方法や、ファイルのダウンロード先、あるいは、問い合わせ先を出すなど、コンテンツやメディア自体の様々な方法があり、実験環境としては、各方法が実装可能なアーキテクチャにする。また、説得に応じない被験者に対しての強制的な遮断手段も準備し、強制対応時の被験者の心理状況や理由等のデータも収集する。

次に、説得メッセージを提供できる「相談センター」を仮想ゲーム実験システムの中に構築し、感染したPCを使用するユーザーの必要な情報提供及び行動誘導などの効果を検証する。

部科校名：理工学部

氏名：吉開範章

6 研究結果 (4,000字以上記入してください。)

1. 実験システムと方法

(1) 実験の必要性：

一般に心理学の調査においては、Web や電話、紙ベースでの質問を用いたアンケート調査が主体である。しかしアンケートのような仮想的な環境では、倫理的には正直な回答を行うインセンティブを低くする可能性があり、対策意欲を示してもその対策意志と実施実行にはギャップが存在する。その結果、アンケート結果と実証データの違いが発生すると考える。従って、ウィルス感染のような環境において、ヒトの行動自体をアンケートのみで調査することだけでは、正確なデータが得られないと考える。そのため、実際の行動を伴う環境での行動観察実験を行い、対策意志と実施実行に何が影響しているのかを明らかにする必要がある。

(2) 実験関係者：

実験関係者としては、次の3種類が必要となる。なお、今回は全て学生が担当した。

(1) 実験協力者；実験の対象者。

(2) 実験実施者；実験協力者に扮して、協力者の行動の監視や誘導を行う。

(3) 説明員；全体の進行役。実験の説明や実験終了後の対応を行う。

1名の実験協力者に2名の実験実施者が両サイドに座り、どちらかが、協力者の行動を観察し、もう一方が、極力、協力者との親密な関係を維持しながら、対話により、協力者の心理状況を把握するように行動する。

(3) 事前準備：

実験協力者を学生から、ランダムに選出し、実験参加依頼を交渉する。交渉では、作業内容説明・参加日時(約2時間)・謝礼金(2千円相当のカード)の説明を行う。ここで実験協力者には、ウィルスの実験ということはふせ、教材用コンテンツ作りと偽っておく。内容を偽る理由は、ウィルスの実験であることを伝えてしまうと、それを念頭に置いて行動してしまい、実験結果に大きな影響が出てしまうためである。これらの3つが了承されれば実験協力者が確定する。実験当日は、実験協力者の行動を観察するために、ビデオやボイスレコーダーの設置を行う。

(4) 実験実施：

実験協力者、実験実施者がそろった時点で説明員が登場し、説明を始める。ここでも真の内容はふせ、教材用コンテンツ作りという偽りの作業内容の説明をする。作業内容の説明時には、作業マニュアルを実験協力者および実験実施者に配布し、マニュアル通りに作業を進めるよう指示をする。続いて、実験協力者、実験実施者に、作業のためにPCの設定が必要であることを告げ、ウィルス対策ソフトをインストールしているようであれば常駐監視機能をオフにさせる。この際、協力者に疑念を抱かせないために、「作業に必要なソフトがウィルス対策ソフトと相性が悪く、常駐監視機能をオフにしておけばソフトが使用できない」という偽りの説明を行う。作業の説明、およびPCの環境設定を終えると、説明員は退出する。ここから実験実施者は実験協力者に扮しながら、協力者と同様に説明員の指示に従いマニュアル通りに作業を開始する。マニュアル通りに作業を進めていくと、CDを用いたウィルススキャンを行う項目にたどり着く。これを指示どおりに進めると実験協力者にはウィルスが検知されてしまい、実験実施者にはウィルスが検知されないという分岐が起きる。ここからの実験協力者の行動を観察する

(5) 擬似ウィルス発生方法

今回の実験ではテストウィルスを用いてウィルスの擬似感染を行った。このテストウィルスは、本来、使用しているセキュリティソフト・ウィルス対策ソフト・アンチウィルスソフトが、ウィルスを検出した際にどのような警告を表示し対処を促すのか、対策ソフトとして問題なく動くかどうかを確認するためのものである。テストウィルスという名前ではあるが、正確にはウィルスではなく、対策ソフトの開発元が故意にウィルスと判定するようにしてあるファイルのため、本物のウィルスのような挙動はない。

ウィルスの発生手順を以下に述べる。まずウィルススキャンソフトとテストウィルスが入っているCDを、実験協力者が持参したPCに挿入する。持参したPCに常駐監視機能がある対策ソフトをインストールしている場合、そのソフトがテストウィルスに反応してしまうため、CDの挿入前に常駐監視機能をオフにしておく。CD内の指定されたファイルを実行すると、ウィルス対策ソフトを起動するだけではなく、同時にウィルスが入ったフォルダをPCにコピーする。

部科校名：理工学部

氏名：吉開範章

研究結果（つづき）

（6）実験終了条件

実験は実験協力者のウイルス駆除行動の有無で終了する。実験協力者が、実験実施者からの指示や助言を得ずに駆除してしまった場合は、その場で実験終了となる。ウイルス検知のポップアップが出て、時間をおいてもなかなか駆除しなかったり、あるいは、ポップアップを無視して、本来の作業の目的で伝えられている作業用コンテンツ作りを始めようとした場合は、実験実施者からの助言や誘導を行い、駆除の有無を観察した。助言や誘導を受けてもウイルス駆除行動を行わない、あるいは、作業用コンテンツ作りを始めた時点で、その協力者は「対象行動なし」と判定し、実験を終了とする。実験終了後、説明員が再び登場し、実後アンケートを取った後、実験全体が終了となる。実後アンケートでは、以下の項目をインタビュー形式で質問した。

- ・ウイルス駆除行動を行った（行わなかった）理由
- ・スキャンによってウイルスが発見された際にどのように感じたか
- ・ウイルス感染経験の有無
- ・ウイルスについてどのようなイメージを持っているか
- ・ウイルスに対する危機感の有無
- ・ウイルス対策の状況
- ・今後本物のウイルスに感染した場合、どのような行動をとるか

（7）事後アンケート

実験後のアンケート（実後アンケート）とは別に、一定の時間をおいて、改めて、実験協力者に対し、事後アンケートを行った。アンケートは計7問で、ウイルス感染をしたときに対処行動をした協力者は、ウイルスに関する知識や意識、危機感などを持ち合せているという仮説の下、作成されたものである。また、各質問項目の回答が2値に分割できるように回答を設定した。

2. 実験データと分析方法

（1）実験データ

今回の実験データは、実後アンケートのデータおよび事後アンケートのデータの2種類がある。実後アンケートはテキスト形式、事後アンケートは数値でのデータとなっている。今回は数値によってウイルス対処行動と関連のあるパラメータを見出すために、事後アンケートのデータを用いて分析を行った。実験協力者および事後アンケート有効回答者の分布を表2に示す。実験協力者は総勢38人（対象者：大学生、男：23人、女：15人）で、ウイルス駆除行動をとったのが22人（誘導あり：3人、誘導なし：19人）、行動なしが16人であった。全ての実験協力者に対し、Webアンケートを用いた事後アンケートを行った。有効回答が得られたのは27人（対処行動あり：13人、対処行動なし：14人）であった。

実験協力者と事後アンケート有効回答者の分布

(1)実験協力者

	対処行動あり		対処行動なし	合計
	誘導あり	誘導なし		
男	2	10	11	23
女	1	9	5	15
合計	3	19	16	38
	22			

(2)事後アンケート有効回答者

	対処行動あり		対処行動なし	合計
	誘導あり	誘導なし		
男	0	8	10	18
女	0	5	4	9
合計	0	13	14	27
	13			

部科校名：理工学部

氏名：吉開範章

研究結果（つづき）

(2) 分析手法

対処行動の有無と、事後アンケート各項目間の関連を調べる目的で相関係数を求めた。アンケート各項目の回答を2値に分割し、対策の有無との2×2分割表を作成した。相関係数の中でも最も単純な係数としてφ係数があげられる。φ係数を求める際にはχ²乗値を必要とするが、今回のデータからカイ二乗値を求めると、一部の期待度数が5未満となり、カイ二乗値が歪んでしまう。そこで、ピアソンの積率相関係数を2×2の分割表に適用した四分点相関係数を用いた。また有意性の検定には、今回のデータの一部の期待度数が5未満であるため、カイ二乗分布を用いた検定は適切ではない。したがって、四分点相関係数での分析の際によく用いられ、2×2分割表での検定に適しているフィッシャーのExact検定（フィッシャーの正確確率検定）を用いた。なお、分析ツールとしてはRを用いた。

3. 実験結果と分析結果

事後アンケートの各項目と対処行動の有無との四分点相関係数及びp値を下表に示す。

- (1) ウィルス感染経験の有無との相関；協力者のウィルス感染経験の有無について四分点相関係数を求めたところ、弱い相関が表れた($r = 0.34$)。フィッシャーのExact検定を行ったところ、有意性はなかった($p > 0.05$)。
- (2) ウィルスに対する危機感の有無との相関；協力者がウィルスに対して危機感を持っていたかどうかについて同様に相関係数を求めたところ、強い相関が表れた($r = 0.63$)。有意性の検定を行ったところ、有意的な値を示した($p < 0.01$)。
- (3) 実験参加時のウィルス対策の有無との相関；協力者が実験参加時にウィルス対策を行っていたかどうかについて同様に相関係数を求めたところ、弱い相関が表れた($r = -0.35$)。有意性の検定では、有意的な値は表れなかった($p > 0.05$)。
- (4) 実験後のウィルスに対する意識の変化との相関；実験参加後にウィルスに対する意識が変化したかどうかについて相関係数を求めたところ、強い相関が表れた($r = -0.48$)。また検定でも有意的な値が表れた($p < 0.01$)。
- (5) ウィルスの感染経路についての知識との相関；ウィルス感染経路と対処行動の有無の間には弱い相関が表れた($r = 0.23$)。しかし、検定では有意性は示せなかった($p > 0.05$)。
- (6) ウィルスによる被害についての知識との相関；ウィルスが及ぼす影響についての知識と対処行動の間には、有意性はなかったものの($p > 0.05$)、弱い相関が表れた($r = 0.35$)。
- (7) ウィルスの種類についての知識との相関；ウィルスの種類についての知識と対処行動の有無については相関はなかった($r = -0.19$)。検定においても有意性はなかった($p > 0.05$)。

以上をまとめると、相関係数が有意な値を示したのは、「ウィルスに対する危機感の有無 ($r = 0.63, p < 0.01$)」と、「ウィルスに対する意識の変化 ($r = -0.48, p < 0.01$)」の2つの項目であった。つまり、「対処行動を取る協力者は、ウィルスに対する危機感を持ち合せており、実験終了後にウィルスに対する意識の変化が起きていない傾向にある。」、また「対処行動を取らなかった協力者は、ウィルスに対する危機感をあまり持ち合せておらず、実験終了後にウィルスに対する意識に何かしらの変化が出る傾向にある。」という事がわかった。その他の項目においては、検定において有意的な値を示せなかったが「ウィルス感染経験の有無 ($r = 0.34$)」、「実験前のウィルス対策の有無 ($r = -0.35$)」、「ウィルスに対する知識（ウィルスが及ぼす影響） ($r = 0.35$)」など弱い相関が表れている項目も存在するため、実験の改良やサンプル数の追加などの検討を行う必要がある。対処行動を取らない協力者に対して意識の変化を与えることができるであろうという結果が表れたことから、ウィルスに感染するという経験を擬似体験することの重要性が示唆された。

分析の結果

項目	相関係数	p値
Q1 ウィルス感染の有無	0.34	0.12
Q2 ウィルスに対する危機感の有無	0.63	0.002 (**)
Q3 ウィルス対策の有無	-0.35	0.103
Q4 実験後のウィルスに対する意識の変化の有無	-0.48	0.021 (*)
Q5 ウィルスに関する知識(感染経路)	0.23	0.385
Q6 ウィルスに関する知識(ウィルスが及ぼす影響)	0.35	0.12
Q7 ウィルスに関する知識(ウィルスの種類)	-0.19	0.596

(* = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$)

部科校名：理工学部

氏名：吉開範章

研究結果（つづき）

4. ブール代数分析

(1) ブール代数分析とは

Ragin によって、国際データの比較分析のために提案された分析手法であり、国際比較の場合のように、十分なサンプル数が得られない場合に有効とされる分析手法である。手法としては、事例を比較する際に、ある条件が存在する場合をT(Tは true を表す)、存在しない場合をF(Fは false を表す)として真理値表を作成する。それを基にブール演算式の形で表現し、その式を縮約して分析する方法である。

例を示して説明する。鄧小平の言った「白猫であれ黒猫であれ、ネズミを捕るのが良い猫である。」というエピソードを真理値表で表して考える。Aを「猫であるか否か」、Bを「ネズミを掴まえるか否か」、Cを「良い猫か否か」という条件を表す。この場合、AとBの条件に依存して、Cの状態も変化する。つまり、独立変数はAとBであり、従属変数が結果のCとなる。真理値表から、CがTとなる条件を抽出、論理式で表すと、このエピソードの場合は $C = A * B$ (*は論理積を表す)となる。

(2) 特徴

ブール代数分析の長所としては、少ないサンプル数に対応できることの他に、変数間の複雑な相互作用効果を詳細に分析可能であること、及び一般の事例研究に比べると多くの事例を一度に比較分析できる点が挙げられる。一方、短所としては、一般に、検定が出来ない、及び独立変数も、従属変数も必ず2値変数でなければならないことが挙げられる。

前者は、作業は煩雑化するが、同じデータに対するロジット分析により解決可能である。また後者については、実際のデータは2値化できる場合がほとんどであり、また2値化が困難である場合には、多値変数の2値化処理により解決可能である。その為、質的比較分析の多くの分野でブール代数分析は使用されている。

ところが従来のブール代数分析においては、入力データを作成する際の統計処理する独立変数を決定する場合に、研究者の主観が入る余地があり、結果に対する「曖昧さ」が発生する可能性があった。例えば、アンケートで得られたデータ項目の中から研究者が結果に関係すると直感した項目を独立変数にして分析を行い、さらにその結果に解釈を与えることが通常のプロセスであった。しかし、この方法では、選択された独立変数によって、ブール代数分析の結果は大きく変化し、一義的な結論が得られない可能性が出てくる。そこで分析に曖昧さを残さないで客観的なプロセスのみで、一義的な分析を可能とする方法を新たに考案した。

(3) 提案分析手法

アンケートによって得られたm人の人物のプロファイル情報と、n個のアンケート項目について、その人物の実験行為の結果が与えられた環境において、ブール代数分析を実施する場合を考える。従来の分析方法では、n個のアンケート項目の中から、結果に影響すると分析者が考えたk個のアンケート項目を選択し、その項目毎の回答に応じて真理値を作成して、ブール代数分析を実施することが一般的である。これは、分析に利用する項目数が多くなると、結果の論理式を求める計算量が大きくなりすぎて現実的には処理できなくなってしまうからである。しかし、多くの場合、アンケートで収集した項目は、実験行為の結果に影響を及ぼさない属性がほとんどであり、それらは分析の途中で自動的に削除される。それにも関わらず、これらの結果に影響を及ぼさない変数の存在が多くの計算量を費す要因となり、分析を困難にしている。そこで分析者が予め無関係と判断したアンケート項目を取り除き、影響があると判断した要素だけを選択する事により、この計算量を減らす必要があったわけである。

具体的には、選択されたk個の項目を独立変数として、そのアンケート回答者の実験における行動を従属変数とする真理値表を構成する。この時、分析者の意図に応じて、選択されるアンケート項目は異なり、そのため異なった真理値表が構成されることになり、分析結果が一意に決まらないという事態が発生する。

そこで、我々が提案するアンケート項目を取り除く手順は次のようになる。実験協力者の回答したアンケート項目から任意の項目を1つ取り真理値表を構成し、異なる従属変数を持つ、各実験協力者の独立変数の値によって構成されるプロファイルと比較する。従属変数が異なるにも関わらず、同じプロファイルがあった場合は、矛盾があると考えアンケート項目から別の項目を1つ追加し、真理値表を構成し同様の作業を行う。これを矛盾が発生しなくなるまで繰り返す。

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：吉開範章

研究結果 (つづき)

ここでいう「矛盾」とは、選択した独立変数の値が同じであるにもかかわらず、従属変数(行為)が異なる状態のことである。また、従属変数に実験結果を用いているため、構成した真理値表が、必ずしも、起こりうる全ての状態を示していることにはならず、提案するアルゴリズムを用いたとしても、最適解のみを示す保証はなく、複数の解の存在を示す場合が生じる。

それらに対する処理としては、次のような検定を実施して更なる絞り込みが可能と考える。一つの解から得られた分析結果の意味する内容とは、逆のパターンを作り、そのパターンに対応するプロファイルをもつ実験被験者を探し、その行為を、検定の対象である仮説と比較することにより、棄却するかどうかを判断できる。なお、全ての独立変数を用いた状態における「矛盾」は、データ自体の正当性が無いことを意味し、ロジット分析により検定は済んでいるという前提で、上記、アルゴリズムを考える。

以上のような方法を用いることにより、独立変数の選択において、研究者の主観が入る余地がなく、一意に変数が決定され、誰が分析しても、同じ分析結果を得ることが可能となる。

(4) アルゴリズムの性質と証明

提案するアルゴリズムについて以下のような性質を持つ事が示せる。

[定義 1] (Q_i と P の関係)

$n+1$ 個の論理変数 Q_i ($i=1..n$), P に対して、その値の組み合わせ (true/false の $n+1$ 個の並びで、 $x=\langle x_0, x_1, \dots, x_n \rangle \in R$ の時、 x_i は Q_i の値で、 x_0 は P の値を表す) の集合 R を「 Q_i と P の関係」と呼ぶ。また、この時、 P を関係 R の従属変数、 Q_i を独立変数と呼ぶ。

[定義 2] (Q_{i_j} ($j=1..n'$) に関する下位互換な関係)

Q_i と P の関係 R が与えられているとする。この Q_i の中から n' 個の変数 (Q_{i_j} ($j=1..n'$)) を選択し、 R の要素について、その選択した変数以外の値を取り除いて作った集合 R' ($R' = \{ y = \langle y_0, y_1, \dots, y_n \rangle \mid y_0 = x_0, y_j = x_{i_j}, x \in R \}$) を R に対して、 Q_{i_j} ($j=1..n'$) に関する「下位互換な関係」と呼ぶ。

[定義 3] (矛盾する要素)

$n+1$ の真偽値並びの二つの組み合わせ $x=\langle x_0, x_1, \dots, x_n \rangle$ と $y=\langle y_0, y_1, \dots, y_n \rangle$ に対して、最初の要素だけが異なり、他は一致する場合 ($x_0 \neq y_0, x_i = y_i$ ($i=1..n$))、この二つの組み合わせは「矛盾」している呼ぶ。

[定義 4] (矛盾を持つ関係)

Q_i と P の関係 R が与えられている時、この中に矛盾する要素が含まれている場合、この関係 R は矛盾しているという。

[定義 5] (無矛盾な関係)

関係 R が矛盾を持たない場合は、その関係は無矛盾であると呼ぶ。(関係が無矛盾であるという事は、 P が Q_i の関数として表現できる事を意味する。)

[定義 6] (無矛盾な Q_i と P に関する関係 R を説明する論理式 Φ)

Q_i と P に関する無矛盾な R が与えられているとする。この時、 Q_i からなる論理式 $\Phi(Q_1, \dots, Q_n)$ が、 R に含まれる任意の要素 $x=\langle x_0, x_1, \dots, x_n \rangle$ に対して $x_0 = \Phi(x_1, \dots, x_n)$ が成立する時、この論理式 $\Phi(Q_1, \dots, Q_n)$ を R を説明する論理式と呼ぶ。

[補題 1] (R を説明する論理式の存在)

無矛盾な R が与えられている時、それを説明する論理式 $\Phi(Q_1, \dots, Q_n)$ が存在する。

(証明) 具体的に次のように Φ を構成すればよい。

$$\Phi(Q_1, \dots, Q_n) = \left(\sum_{x \in R} \left[\prod_{i=1}^n Q_i \Leftrightarrow x_i \right] \right) \Rightarrow x_0$$

この論理式の構成方法から明らかに、 $\Phi(Q_1, \dots, Q_n)$ は Q_1, \dots, Q_n の論理式である。さらに、 R が無矛盾の時、 $x=\langle x_0, x_1, \dots, x_n \rangle \in R$ であれば、 $x_0 = \Phi(x_1, \dots, x_n)$ となる事も実際に代入して確かめられる。

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：吉開範章

研究結果（つづき）

[補題 2] (R と下位互換な関係を説明する論理式)

無矛盾な関係 R に Q_{i_j} ($j=1..n'$) に関して下位互換でかつ無矛盾な関係を R' とし、 $\Phi' (Q_{i_1}, \dots, Q_{i_{n'}})$ を R' を説明する論理式とする。この時、形式的に、論理式 Φ を $\Phi(Q_1, Q_2, \dots, Q_n) = \Phi' (Q_{i_1}, \dots, Q_{i_{n'}})$ で定義すると、この Φ は、R を説明する論理式である。

(証明) R に含まれる任意の要素 $x = \langle x_0, x_1, \dots, x_n \rangle$ に対して、 $x_0 = \Phi(x_1, x_2, \dots, x_n) = \Phi' (x_{i_1}, \dots, x_{i_{n'}})$ が成立する事を示せばよい。実際、 R' は R に対して下位互換なので、任意の $x = \langle x_0, x_1, \dots, x_n \rangle \in R$ に対して、 $j=i_k$ ならば、 $x_j = x_{i_k}$ を満たす $y = \langle x_{i_0}, x_{i_1}, \dots, x_{i_{n'}} \rangle \in R'$ が存在し $\Phi(x) = \Phi'(y)$ となる。R の変数の中で、 R' で選択しなかった変数は、 Φ' の計算では用いられず、また、選択されたものに関しては、 Φ' が R' を説明するので、 $\Phi'(y) = x_0$ が成立する。したがって、結局、任意の $x = \langle x_0, x_1, \dots, x_n \rangle$ に対して、 $x_0 = \Phi(x_1, x_2, \dots, x_n)$ が成立する。

[性質 1] このアルゴリズムで得られた独立変数からなる論理式を使って、与えられた関係を説明する論理式を作る事ができる。

(証明) このアルゴリズムでは、元の関係の独立変数からなる集合を作り、その変数に関する下位互換な関係を作り、それが矛盾していないかどうかを判定して、矛盾していない場合に、その変数の組み合わせを出力している。すなわち、このアルゴリズムが出力するのは、元の関係に無矛盾な下位互換な関係が作れる変数の組である。補題 1 によって、この変数に関する下位互換な関係から、それを説明する論理式 Φ' を作る事ができこれは、出力された変数からなる論理式である。さらに、補題 2 より、それを使って元の関係を説明する論理式が作れるので、このアルゴリズムが出力した変数からなる論理式で、元の関係を説明する論理式が作れる。

[性質 2] このアルゴリズムは、元の関係を説明する論理式で、最も変数の個数が少ない論理式を作る変数の組を出力する。

(証明) このアルゴリズムでは、変数の個数の少ないものから順に組み合わせを作り、無矛盾の確認を行っている。したがって、出力された変数の組み合わせより、組み合わせの個数の少ないものは、すべて矛盾する事が分かる。

[性質 3] 無矛盾な性質 R が変数 P に関して、true になる場合と false となる要素が含まれていれば、これを説明する論理式は、少なくとも一つの独立変数を含む。

(証明) 独立変数をまったく含まない下位互換な関係 R' を作る事を考える。仮定より、元の関係 R には、P が true になる場合と false になる場合が含まれるため、この関係 R' は $R' = \{\langle \text{true} \rangle, \langle \text{false} \rangle\}$ という二つの要素を含む集合になる。これは定義により矛盾している。したがって、R を説明する論理式は存在しない(逆に、P の値が、true かあるいは false しか存在しない場合は、 $\Phi = \text{true}$ あるいは false とする事によって、R を説明する変数をまったく含まない論理式を作る事ができる)。

(5) ウイルス分析過程

提案するアルゴリズムを用いた結果として、以下の 8 個の質問の組み合わせで、ウイルス対策を実施した人と実施しなかった人の区別が可能であることがわかった。

- [A] Twitter の閲覧や書き込みを行うことができる。
- [B] ボットウイルスに感染した場合、ウイルスの駆除手順を実行する責任がある。
- [C] 今までにボットウイルスに関する報道を見たり聞いたりしたことがある。
- [D] インターネット上の大多数の人がボットウイルスの駆除を行っていない。
- [E] 友人集団の仲間の望むように行動する必要はないと思う。
- [F] 友人集団の仲間がどう思おうと、私は自分のやり方でものごとを行う。
- [G] 技術的な仕組みが整備されているので、インターネット上での情報のやり取りは安全である。
- [H] 契約しているインターネットサービスプロバイダは信頼できる。

次に、ウイルス対策を実施した 15 人に対してこの 8 つの質問から真理値表を作成し、ブール代数分析を行った。ブール代数分析で用いる論理式は、各質問を A ~ H で表わし、条件が存在するものを “A”，条件が存在しないものを “ \bar{A} ” と表現した。

部科校名：理工学部

氏名：吉開範章

研究結果（つづき）

Rをウイルス対策を実施する行動を表す、として縮約を行った結果、以下の論理式となった。

$$R = \overline{ABDEFGH} + \overline{ABCDFGH} + \overline{ABCDEGH} \\ + \overline{ABCDEFH} + \overline{BCDEFGH} + \overline{ABCDEFHG} \\ + \overline{ABCDEFHG} + \overline{ABCDEFHG}$$

(5) 分析結果

縮約された式から、ウイルス対策を実施した人は次の特徴を持つことが示される。

1. インターネットの信用(G)とプロバイダへの信頼(H)に関係なく、メディアスキル(A)は高い。
2. インターネットへの信用(G)とプロバイダへの信頼(H)を持つ者は、ウイルスの駆除を義務(B)と感じている。
3. ウイルスの駆除の義務(B)を感じており、社会的ジレンマの認知(D)している人は、プロバイダへの信頼(H)がある。

5. まとめ

コンピュータウイルス感染時のヒトの意識&行動に関する基礎データを、アンケートと共に実験も使って世界で初めて明らかにした。

さらに、分析法として、少ないデータから、有効な情報を取り出すとされてきたブール代数分析法について考察を加えて、精度を向上させたアルゴリズムを考案した。

その方法を使い、ウイルス感染実験で得られたデータを基に、人物のプロファイル情報と、その人物の実験行為の結果から、ブール代数分析を用いて、ウイルス対策行動を取る人の傾向を分析した。またその際、独立変数の選択方法により分析結果が大きく影響されるという欠点を回避した方法を提案した。今後さらにこの方法の有効性、およびウイルス対策行動を取ることを誘導する対策の具体化について検討を進める。

課題番号	総 11-012
	継続 総 10-017

平成 23 年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成 24 年 4 月 13 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 研究課題 近赤外分光法 (NIRS) を応用したブレイン・コンピュータ・インターフェースの開発		
2 研究組織		
氏 名	所属部科校・資格	役割分担
○研究代表者名 網島 均	生産工学部・教授	
○研究分担者 中村 英夫	理工学部・教授	意図の認識技術の開発・ハードウェア化
酒谷 薫	医学部・教授	NIRS による脳機能計測, リハビリテーション分野への応用
山本 隆充	医学部・教授	NIRS による脳機能計測, 高齢者脳機能解析
高橋 聖	理工学部・准教授	意図の認識技術の開発・ハードウェア化
栗谷川 幸代	生産工学部・准教授	自動車運転支援システムへの応用
岩館 雅子	生産工学部・助教	NIRS による脳機能計測, 運動関連領域の持つ機能の解明
3 本研究に関連して外部資金への申請状況, 獲得状況		
<p>申請状況</p> <p>研究助成名: タカタ財団平成 23 年度助成研究</p> <p>課題名: ポータブル NIRS を用いたドライバの脳活動モニタリングとディストラクションの検出</p> <p>内容: 本研究では, 運転者に負担をかけることなく, 運転時の自然な状態で脳活動を長時間計測することが可能なポータブル NIRS (Near-InfraRed Spectroscopy) を用いて, ドライバの脳活動をモニタリングし, 運転時の負担や注意力を評価し注意力の低下を検出することを目的とする。ポータブル型 NIRS 装置を用いることにより, これまでマルチチャンネル型 NIRS では, できなかった自動車運転中の注意力低下をリアルタイムに計測・評価する。</p>		

※「6 研究結果」について, ホームページ等での公開 (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：綱島 均

4 研究目的

非侵襲式の運動出力型 BCI の従来研究には、国内外とも脳波 (EEG) を使ったものが多数ある。その多くは「脳波スイッチ」と呼ばれており、ヒトの意図を反映した情報を解読するのではなく、特定の脳波パターンをある種の合図として用いるものである。本研究では、時空間パターンに対する高い認識能力を有する人工神経回路モデルを提案し、従来研究では達成されていない、安全かつ簡便で、ヒトの意図を反映したリアルタイムな BCI システムの構築を目指すものである。

マルチチャンネル型 NIRS 装置に対して、開発する BCI システムを適用した場合には、リハビリテーションへの応用が最も有効であると考えられる。この場合、運動の意図を検出することが最も重要となる。しかし、「動く」ことに対する身体適応のメカニズム、特に「安全性」確保に不可欠であり、かつ多数の因子が複雑に作用する運動時の循環調節機序は十分明らかにされていない。前頭連合野および運動野の脳活動に焦点を当て、上肢と下肢の運動準備期の脳血流信号および心循環応答を比較し、活動筋の大きさの違いによる予測的循環調節と大脳皮質領域の活動特性を明らかにすることにより、新しいリハビリテーションが実現できる。

マルチチャンネル型 NIRS 装置を用いた場合には、脳血流の情報量が多くなることから、意図を抽出できる可能性が大きくなるが、チャンネル数が多いため、機器が大きく自動車への常時搭載ができないこと、運転者への負担が大きいため、自動車に搭載して運転者の状態を計測することができなかった。チャンネル数が少ないポータブル型の NIRS 装置を使用した場合には、正確な意図の判別は困難になるが、車両に常時搭載して、注意の低下などをリアルタイムで計測できる可能性がある。これによって、ドライバの運転支援を脳活動の状況に応じて行うことが可能になり、自動車交通の安全性に大きく寄与する。

5 研究概要

- (1) 人工神経回路モデルによる意図識別システムの開発 (脳情報と人工神経回路モデルによるヒトの意図の解読) : NIRS 装置で取得した脳情報から直接ヒトの意図を解読することを検討する。脳情報の時空間パターンを、ハードウェア人工神経回路モデルに入力して認識実験を行う。人工神経回路モデルは、入力パターンから特徴抽出を行った上で認識するので、課題として与える機器操作の種類に対応した脳情報が正しく認識ができれば、その脳情報にヒトの意図が含まれていることになる。平成 23 年度においては、前頭連合野を対象として意図識別を実施する。
- (2) リハビリテーションシステムにおける検証 : 医学部保有の筋刺激装置を用いたリハビリテーションシステムにおいて、健常な被験者 20 名程度を対象に実験を行う。また、実際の片マヒ患者を対象にした実験も行い、リハビリテーションの効果を筋電位から評価する。この実験をもとにして、認識アルゴリズムの高精度化を検討する。さらに、ポータブル NIRS 装置を用いて、リハビリテーションシステムの小型化を行い、臨床応用のための準備を行う。
- (3) 運動の準備期における大脳皮質領域の脳活動の解明 : 平成 22 年度実施する内容の深度化を図り、運動意図の検出可能性を検討する。
- (4) 自動車運転支援システムへの応用 : 脳活動から注意力を評価することが可能か検証するために、記号探索課題を設定し、マルチチャンネル NIRS 装置を用いて、脳活動計測を行う。さらに、ドライビングシミュレータを用いて、運転中の脳活動を計測し、注意力の評価を行う。この実験結果から、脳の注意力に関連した部位の特定を行い、ポータブル NIRS 装置で計測する部位を決定する。最終的には、実交通環境下において、運転中のドライバの脳活動を計測し、注意力の低下が検証できるか検討する。

部科校名：生産工学部

氏名：網島 均

6 研究結果 (4,000字以上記入してください。)

平成23年度の実施内容とその成果は以下のとおりである。

(1) NIRS データのリアルタイム信号処理システムの開発

生産工学部所有のマルチチャンネルNIRS装置およびポータブルNIRS装置から出力された信号をリアルタイムで処理できる信号処理システムを製作した。離散ウェーブレット変換による多重解像度解析を用いて、脳活動に関連する周波数成分をリアルタイムに抽出する。この信号処理システムをGUI化し汎用性を高めた。

また、この信号処理システムを利用して、使用者に自身の脳活動を呈示し、認識させることで脳活動を制御するニューロフィードバックシステムを開発した。リアルタイムに解析したNIRS信号を色刺激として提示し、その情報をもとに訓練を行うことで脳活動を制御できるか検証した。これらの成果を以下の論文で発表した。

- ・ Tsunashima H., Yanagisawa k., Iwadate M., “Measurement of Brain Function Using Near-Infrared Spectroscopy (NIRS)”, *Neuroimaging - Methods*, Prof. Peter Bright (Ed.), ISBN: 978-953-51-0097-3, InTech
- ・ Yanagisawa K., Asaka K., Tsunashima H., *Brain Computer Interface Using Portable NIRS*, Proceedings of the 26th Symposium on Biological and Physiological Engineering(BPES2011)
- ・ Asaka K., Yanagisawa K., Tsunashima H., *Neruoefeedback Training for Brain Computer Interface Using Near Infrared Spectroscopy*, Proceedings of the 26th Symposium on Biological and Physiological Engineering(BPES2011)

(2) 人工神経回路モデルによる意図識別システムの開発 (人工神経回路モデルのハードウェア化)

研究分担者の中村、高橋らは時空間パターン認識のための人工神経回路モデルを提案してきた。これまではソフトウェアによる実装であったので、パターンの学習や認識に多くの時間を要し、実用上問題があった。リアルタイムで認識を行うためにはモデルのハードウェア化が不可欠である。人工神経回路モデルをFPGA (Field Programmable Gate Array) でハードウェア化するための基本回路設計を行った。本モデルの主要な要素であるS細胞回路とC細胞回路を、積和器、平方根計算器、除算器で構成した。さらに、NIRS信号を脳イメージング動画像に変換するためのアルゴリズムの検討と、この変換を行うためのソフトウェア開発を行った。これを用いて、昨年度に引き続き2つのカテゴリからなる言語課題に対して、NIRS信号により識別できる可能性を示した。さらに、カテゴリを増やし、4つのカテゴリからなる想起課題 (言語・空間など) の識別の検討も行なった。これらの、成果は以下の学会において発表した。

- ・ Komatsuzaki, R., Takahashi S., Nakamura H., Tsunashima H., *Letter compositon task classification using NIRS and neural network*, 2011 11th International Conference on Control Automation and Systems (ICCAS2011)
- ・ 高橋聖, *BCIを目的としたNIRS信号の時空間パターン識別*, 第2回NU-Brainシンポジウム -光脳機能イメージングの研究開発および臨床応用に関するシンポジウム-

(3) 運動の予測に伴う心循環反応と大脳皮質脳血流信号との対応についての検討

本年度は昨年度に引き続き、運動準備期のセントラルコマンドと大脳皮質活動との対応を明らかにするため、掌握運動時の前頭および運動領域の酸素化動態と同時計測した心拍数および心拍変動との関連を検討した。昨年度と同様に、準備期にカウントダウンを行った後に随意最大筋力を発揮するプロトコルを用いて、呼吸統制を伴う安静2分間および準備期2分間における脳血流反応および交感神経・副交感神経活動バランスの変化を検討した。その結果、最大筋力を発揮する場合には、準備期において左前頭前野の血流増加がみられ、副交感神経活動も低下した。しかし、最大筋力の5%という弱い負荷の場合には、これらの反応がみられなかった。

部科校名：生産工学部

氏名：網島 均

研究結果（つづき）

この結果は、努力を伴う運動の場合には、左前頭領域が顕著に活動し、これと対応して循環反応もみられることから、これらの領域がセントラルコマンドと深く関連していることが示唆された。これらの成果を以下の学会で発表した。

- ・Iwadate M, Yanagisawa K, Tsunashima H, Extended mental preparation affects the left prefrontal cortex regardless of the laterality of handgrip execution: a NIRS study, Society for neuroscience 2011
- ・岩館雅子, 運動準備期の予期心拍反応と大脳皮質前頭および運動領域の関係, 日本健康行動科学第10回学術大会

(4) リアルタイム信号処理システムおよび識別アルゴリズムのリハビリテーションシステムへの実装

マルチチャンネル NIRS 装置を使用して運動の意図を検出するリアルタイム信号処理システムおよび識別アルゴリズムの検討を行った。NIRS によって計測される oxy-Hb とその微分値に注目し、自動的に運動意図による脳活動が顕著に現れている部位抽出し、その変動パターンを学習する識別アルゴリズムを提案し、リアルタイムに運動の意図を検出できる可能性を示した。また、この方法が昨年度までに開発した識別アルゴリズムより高い精度で運動の意図を識別できることを確認した。これらの成果を以下の学会で発表した。

- ・Sawai H., Yanagisawa K., Tsunashima H., NIRS-BCI System Using Perceptron, Proceedings of the 26th Symposium on Biological and Physiological Engineering(BPES2011)
- ・Sawai H., Yanagisawa K., Asaka K., Hitoshi Tsunashima, Development of Robot Control System Using NIRS, 2011 International Symposium on Application of Intelligent Information and Signals(ISAIIS 2011)
- ・澤井英幸, 網島均, 柳沢一機, パーセプトロンを用いた NIRS-BCI システムの開発, 第2回 NU-Brain シンポジウム -光脳機能イメージングの研究開発および臨床応用に関するシンポジウム-

また、上記の成果について、下記の特許出願を行なった。

- ・特許願 2011-193886, 発明の名称「脳活動状態解析装置、リハビリテーション補助装置、思念制御型駆動装置、思念制御型表示装置、測定ポイント選択方法、測定ポイント選択プログラム」, 出願日 2011 年 9 月 16 日

(5) ポータブル NIRS 装置を用いた運転注意力のモニタリング

ポータブル NIRS 装置に開発した信号処理システムを組み込むことにより、自動車運転中の注意力をリアルタイムにモニタリングすることが可能になると考えられる。そこで、運転中の脳活動を連続して長時間記録できるポータブル NIRS 装置を用いて、ドライビングシミュレータ内で運転中の注意力をモニタリングできるか検証を行った。まず、マルチチャンネル NIRS 装置を用いて、前方障害物衝突警報によるドライバの注意力の変化を脳活動から評価した。先行車の急減速実験を行い、ドライバの脳活動を計測した結果、警報の有無により前頭葉右外側部の活動が異なることを確認した。さらに、ポータブル NIRS 装置を用いて、マルチチャンネル NIRS 装置と同様にドライビングシミュレータ運転時の脳活動を計測することができるか検証実験を行った。

部科校名：生産工学部

氏名：網島 均

研究結果（つづき）

平成23年度に実施した総合研究の成果は、下記の第2回 NU-BRAIN シンポジウムにおいて発表した。以下に会議の内容と出席者の評価を示す。

第2回 NU-BRAIN シンポジウム

平成23年11月5日から平成23年11月5日まで

会場名：日本大学理工学部駿河台校舎1号館 CST ホール 開催地：東京

140人（内訳 学外者87名、学内者53名）

実行委員：

網島 均（総括，講演者），酒谷 薫（NIRSと健康科学，ヒューマンコミュニケーション担当，講演者），中村 英夫（NIRSにおける信号処理とBCIへの応用担当），高橋 聖（実行委員長，講演者），岩館 雅子（実行委員，講演者）

開会の挨拶 日本大学医学部 酒谷 薫

日本大学におけるNIRSを用いた連携研究の取り組み 日本大学生産工学部 網島均

個別セッション

NIRSにおける信号処理とBCIへの応用（1）

- （1）招待講演1 「fNIRS計測における表層信号の除去について」（独）産業技術総合研究所 山田亨
（2）「BCIを目的としたNIRS信号の時空間パターン識別」 日本大学理工学部 高橋 聖

NIRSにおける信号処理とBCIへの応用（2）

- （1）招待講演2 「非侵襲計測によるBCI：ユーザに働きかけるBCIを目指して」
東北工業大学工学部 加納慎一郎
（2）「NIRSを用いた小型BCIの開発とその応用」
日本大学生産工学部 柳沢一機 網島 均，日本大学医学部 酒谷 薫

ポスターセッション

- （1）「運動準備期の予測性循環反応と関連する大脳皮質領域の検討」
日本大学生産工学部 岩館雅子，網島 均，柳沢一機
（2）「fNIRSとfMRIを用いた言語処理研究 - 照応形を含む文法処理時の脳活動 -」
日本大学生産工学部 内堀朝子，秋田大学教育文化学部 上田由紀子
（3）「脊髄くも膜下麻酔の脳血流酸素代謝に対する影響」 日本大学医学部 近藤裕子
（4）「近赤外時間分解スペクトロスコーピーを用いたくも膜下出血における脳循環状態の評価」
日本大学医学部 横瀬憲明
（5）「高時間分解能NIRSを用いた脳血管内治療周術期の脳循環モニタリング」
日本大学医学部 五十嵐崇浩
（6）「軽症うつに対する運動のリラクゼーション効果」 日本大学医学部 小松一俊
（7）「アルコールの摂取が前頭前野神経活動に対する影響」 日本大学医学部 辻井岳雄
（8）「自動車運転時のドライバの脳活動計測」
日本大学生産工学部 若林翔太，網島 均，柳沢一機 筑波大学 伊藤誠，稲垣敏之
（9）「パーセプトロンを用いたNIRS-BCIシステムの開発」
日本大学生産工学部 澤井英幸，網島 均，柳沢一機
（10）「NIRS-BCIシステムにおけるニューロフィードバックトレーニングの効果」
日本大学生産工学部 浅賀恭平，網島 均，柳沢一機

部科校名：生産工学部

氏名：網島 均

研究結果（つづき）

- (11) 「シリアスゲームを利用した BCI の制御能力向上方法の提案」
日本大学生産工学部 神野貴之, 古市昌一, 網島 均, 柳沢一機
- (12) 「BCI を目的とした語想起課題の識別」
日本大学理工学部 小松崎諒, 高橋 聖, 中村英夫, 日本大学生産工学部 網島 均
- (13) 「BCI を目的としたネオコグニトロン型動画像識別モデルのハードウェア化に対する検討
- 回路規模および処理時間に対する考察 -」 日本大学理工学部 秋田谷穰 高橋 聖, 中村英夫
NIRS と健康科学, ヒューマンコミュニケーション

- (1) 招待講演 3 「real-time NIRS を用いた神経リハビリテーションの可能性」
社会医療法人大道会 森之宮病院 三原雅史
- (2) 「NIRS の健康科学への応用」 日本大学医学部 酒谷 薫
- (3) 招待講演 4 「NIRS 信号に基づく聴覚刺激呈示に伴う不快情動反応の判別」
愛知県立大学 小栗宏次

シンポジウムについての聴衆の感想（アンケート結果から抜粋）：

- ・大変内容の濃いものでした
- ・年々、研究が進展して来ており、素晴らしい。
- ・BCI について各学部が行っている研究内容が知れてよかったです。
- ・医学に関する BCI の話は聞く機会が少なかったのが新鮮だった。
- ・普段、交通に関する研究を行っているので、自分の専門外の分野の様々な話を聞いて大変有意義であった。
- ・BCI に関しての説明が分かりやすく、ニューロフィードバックについて理解できるようになった。
- ・研究のための参考用の話を多く聞きました。感謝です。
- ・ポスターセッションでは質問したり、実際に体験することができるようになっていたので身近に感じる事ができた。
- ・臨床現場で NIRS を使用していますが、今回のシンポジウムで基礎から臨床まで幅広い分野からのお話を聞くことができ参考になった。

今後の取り組みに対する意見（アンケート結果から抜粋）：

- ・思考しただけで動作するロボットシステムの研究開発に携わりたいと思った。
- ・人の情動、またはストレスに関するテーマをやってほしい。情動の識別やストレスの量等で何が異なるか非常に興味がある
- ・快-不快に対する研究についてより知りたい。
- ・BCI に関する発表が多かったので、もう少し認知系の発表が聞きたかった。
- ・BCI と神経科学が融合できればと思います。
- ・リハビリテーション分野についての話を聞いていただきたい。
- ・NIRS や BCI の分野の新技术があれば、その話が聞きたい。
- ・継続を希望する。

これらの結果から、総合研究の成果とその意義を国内の多くの研究者に周知できたものと考えられる。

課題番号	総 11-013 継続 総 10-018
------	----------------------------

平成23年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成 24年 4月 12日

日本大学 総長 殿

氏 名 清水耕作



所属・資格 生産工学部 電気電子工学科・教授

下記のとおり報告いたします。

1 研究課題 酸化物半導体の pn 接合形成と太陽電池への応用		
2 研究組織		
氏 名	所属部科校・資格	役割分担
○研究代表者名 清水耕作	生産工学部・教授	酸化物半導体薄膜の物性評価
○研究分担者 日秋俊彦	生産工学部・教授	溶液下での p 型酸化物堆積技術の開発
新妻清純	生産工学部・准教授	薄膜作製技術と化学組成・微量元素の機器分析
北野幸樹	生産工学部・准教授	光透過性窓材の建築学的要請と美的評価
佐藤敏幸	生産工学部・助教	P 型酸化物材料作製技術開発
3 本研究に関連して外部資金への申請状況、獲得状況		
<p>科学研究費 基盤研究 (B)、サポインへの応募を検討している。 「スタック型透明酸化物太陽電池の開発と実用化に関する研究」</p> <p>既に本研究の一部は、埼玉県産業部産業支援課より「次世代エネルギープロジェクト」として、2 件の採択内示をもらっている。 「熱電変換型太陽電池プロジェクト」 「低消費電力型太陽光追尾装置開発プロジェクト」</p>		

※「6 研究結果」について、ホームページ等での公開 (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：清水耕作

4 研究目的

薄膜、バルクを問わず太陽電池において現在短波長側の400nm以下($\sim 3\text{eV}$ 以上)の光は殆ど利用できていない。一般に半導体は紫外光に対して非常に高い吸収係数を持つため極表面で光は吸収され電子正孔対が生成する。しかしこの電子正孔対は表面で形成されることからポテンシャルの“傾き”がある空乏層に移動することなくその場で再結合し消滅する。このため発電には寄与できないわけである。理論上ワイドギャップ半導体($>3.0\text{eV}$)を用いれば紫外光に相当する光は吸収し、発電に用いることができる。本研究では酸化物半導体を用いて、これまで用いられることのなかった可視-紫外領域の光を効率よく吸収し太陽電池を作製することを目的とする。この太陽電池が実現すれば、過剰フォトン効果による太陽電池の加熱も抑制できることから、実現できれば価値は大きい。

なお開発に当たっての要素技術は以下の通りである。

- (i) p型、およびn型の半導体を作製すること
- (ii) p型半導体とn型半導体の接合を作製すること
- (iii) 電荷収集層としての透明電極、金属電極の最適設計すること
- (iv) 短波長側吸収のための蛍光材添加方法を確立すること

5 研究概要

(1) 酸化物半導体のpn接合

前年度の検討によりpn接合が形成される指針を得ているので、さらに性能を向上させるべく検討を行う。平成23年度の目標はスパッタリング法においては以上の検討を通して、接合を制御性良く作製する技術、材料の安定性と再現性についての技術を確立することである。

スパッタリングによる方法

- 膜厚の制御と再現性の検討
- 欠陥の制御についての検討
- 界面処理の検討
- 材料の安定性に関する検討

特に欠陥の制御および界面の処理は、現在酸素処理、水素化処理などを中心に考えているが、主として酸素の欠損が大きな役割を果たしていることが既に分かっている。この事実を考慮に入れ酸素プラズマ処理を中心に条件の検討と表面改質の可能性について検討を進める予定である。また材料の安定性に関する部分では、耐環境性を中心に、温度、水などの影響によって材料が改質しないか、またその場合はどのように保護するかについて検討を行う。

化学的方法は、検討することができなかった。

部科校名：生産工学部

氏名：清水耕作

6 研究結果 (4,000字以上記入してください。)

DCマグネトロンスパッタ法によりInGaZnO₄、CuAlO₂薄膜を作製、電気特性・光学特性の評価を行う。成膜に用いたターゲットはIn-Ga-Zn-O焼結体、Cu-Al-O(アルミン酸銅)焼結体を用いた。なお成膜時の基板加熱、成膜後のアニール処理は行わない。電気特性評価は四探針法より導電率、Hall測定よりキャリア密度・Hall移動度、光学特性評価では可視紫外分光光度計より透過率を測定、それをもとにTaucプロット法を用い、バンドギャップの算出を行った。

n型半導体InGaZnO₄薄膜のスパッタリング条件依存性より、太陽電池に影響を与える電気特性、透明太陽電池に応用するためバンドギャップの評価を行う。

1 ガス圧依存性

n型酸化物半導体InGaZnO₄のDCスパッタリング法におけるガス圧依存性を検討した。ガス圧の上昇と共に導電率の低下が見られた。InGaZnO₄は酸素欠損により伝導に寄与するキャリアが生成される。ガス圧を上昇させるとスパッタリング粒子が対向基板へ飛散する際の平均自由行程が短くなるため、反応室内の酸素分子、酸素原子との反応が起こり、堆積した膜はガス圧が上昇するほど導電性の低い膜となったと考えられる。

またこのときキャリア濃度は成膜ガス圧が上昇するとともに、減少傾向にあることを確認した。これは上述のガス圧を上昇させるとスパッタリング粒子が反応室内の酸素分子、または酸素原子と反応が起こることで自由な電子を形成し、酸素欠損が減少したためであると考えられる。成膜ガス圧が変化しても、Hall移動度は0.6cm²/Vs~0.8cm²/V・sと大きく変化することはなかった。成膜ガス圧が最も影響を与えるのがキャリア密度であり、それによって導電率も上昇していった。バンドギャップもHall移動度と同様、バンドギャップは大きく変わらず3.05eV~3.08eV付近の値を示し、近紫外領域に対応したバンドギャップを有することを確認した。

2 投入電力依存性

InGaZnO₄のDCスパッタリング法における投入電力依存性を検討した。条件は成膜ガス圧を0.5Pa、Ar流量100sccm、O₂ガス流量0.5sccm、基板間距離を10.7cmに固定し投入電力を100W~300Wまで変化させたときの電気特性(導電率σ[S/cm]、キャリア密度n[cm⁻³]、Hall移動度[cm²/V・s])、光学特性(バンドギャップE_g[eV])について検討を行った。投入電力20W~300Wと変化させると、導電率は100W近傍では約10⁻⁶S/cmを示したが、投入電力が増加すると10⁻¹¹S/cmと急激に減少することがわかった。200W以降は抵抗が高くHall測定によるキャリア密度の算出が困難であった。20Wでのキャリア密度は5.45×10¹⁴、Hall移動度は0.009[cm²/Vs]を示した。導電率と同様に投入電力を大きくすることで、バンドギャップは減少する傾向にあることがわかった。

3 酸素流量依存性

CuAlO₂のDCスパッタリング法における酸素流量依存性を検討した。条件は投入電力100W、成膜ガス圧を0.5Pa、基板間距離を10.7cmに固定し酸素流量比を0.5%~50%まで変化させた酸素流量増加とともに堆積レートは低下していく。酸素流量比の増加にともない導電率は減少傾向となった。30sccm付近から飽和する形をとった。導電率と同様に酸素流量の増加にともないバンドギャップは減少傾向にある。Ar:O₂流量比1:1ではバンドギャップは1.6eVを示し、酸化銅CuO(1.4eV)に非常に近い値となった。今回のDCマグネトロンスパッタリング法の成膜条件におけるCuAlO₂薄膜への影響と、太陽電池へ応用するための最適な条件の設定が必要となる。

4 光学特性

今回のガス圧依存性、投入電力依存性、酸素流量依存性において、バンドギャップが可視光領域に対

部科校名：生産工学部

氏名：清水耕作

研究結果 (つづき)

応した値となった。この要因として、ガス圧依存性と同様、作製した CuAlO_2 薄膜が成膜段階で組成に変化が生じたためだと推察される。酸素の注入は CuAlO_2 のキャリアを生み出すが、過剰に入り込むことで 1:1:2 の組成バランスを崩し、目的物である CuAlO_2 と可視光領域に対応したバンドギャップを持つ Cu_2O (2.0eV) と CuO (1.4eV) の混在した薄膜となってしまった。ガス圧依存性および酸素流量比依存性では、過剰に酸素が入り込んだことが原因だと考えられる。また CuAlO_2 の銅原子の状態は+1 価であり、過剰酸素の導入が安定度の高い+2 価の状態へと変化させたことや、 CuAlO_2 をスパッタした際、イオン半径の小さい Al (0.051nm) はスパッタされにくく、よりイオン半径が大きい Cu (0.096nm)、 O (0.140nm) がスパッタされたことで、 Cu_2O 副成分が形成されたことも考えられる。組成を崩さず堆積させるためには、低電力、高ガス圧、低酸素流量での成膜が必要である。

5 電気特性

DC マグネトロンスパッタリング法での成膜条件で、成膜ガス圧・投入電力において導電率の顕著な変化が見られた。この変化に関して考えられることが以下のとおりである。

- (1) 組成変化による移動度の大きな低下
- (2) 内部に Al_2O_3 の絶縁物質が形成

上述の光学特性でも述べた組成のずれは酸化銅(CuO)、亜酸化銅(Cu_2O)のみならずアルミナ(Al_2O_3)も生成されていると考えられる。内部に導電性の低い Al_2O_3 が局所的に存在することで膜の抵抗が高くなったのではないかと。以上より高い導電性をもち広いバンドギャップを有する薄膜を、低電力(100W)、高ガス圧(1.0Pa)、低酸素流量での成膜が必要である。

6 InGaZnO₄/CuAlO₂ 接合

CuAlO_2 、 InGaZnO_4 薄膜の基礎特性評価後 $\text{InGaZnO}_4/\text{CuAlO}_2$ 接合素子を作製する。2cm角の無アルカリガラス基板上に抵抗加熱法を用いて裏面電極(Cr)を堆積させる。その上にDCマグネトロンスパッタ法を用い、 $\text{InGaZnO}_4 \cdot \text{CuAlO}_2$ を連続成膜する。さらに上部電極として再び抵抗加熱法を用いて、0.2cm角のCr電極を堆積させる。pn接合の評価は、電流-電圧特性より整流性、ソーラーシミュレータを用いAM1.5の光照射下における太陽電池特性(変換効率・曲線因子・短絡電流・開放端電圧)、1.0~4.0eV(波長310~1240nm)の範囲での量子効率特性の評価を行った。なお光学系を用いる評価方法(太陽電池特性・分光感度特性)を除いて、すべて大気中・室温・暗所で行った。

接合素子の評価を行う際、半導体界面の障壁を正確に評価するため、電極に用いた金属(Cr)と半導体の界面はオーミック性接触であることが必要である。金属半導体界面にエネルギー障壁が形成されている場合、作製した太陽電池の整流性に差異が生じる、ダブルダイオードのような特性を示すなど正確な評価が行えない。この評価のため、それぞれの膜単体に抵抗加熱蒸着法でCr電極を堆積し、電流-電圧特性およびアレニウスプロットにより金属-半導体界面のコンタクト評価を行った。またこの成膜条件でのそれぞれの半導体薄膜の結晶性、膜質の評価を行った。

バイアスの印加に伴う障壁高さの変化が見られず、またこのプロットより最小二乗法より求めた障壁高さの値は InGaZnO_4 薄膜が 32meV、 CuAlO_2 薄膜が 50meV と非常に小さな値を示した。このことから両半導体-金属界面にはエネルギー障壁が形成されていないと判断した。

7 整流特性

$\text{InGaZnO}_4/\text{CuAlO}_2$ 接合の電流-電圧特性を検討した。順方向・逆方向バイアス印加時において電流の非対称性を確認し整流性を確認した。 InGaZnO_4 、 CuAlO_2 薄膜のコンタクト評価より、金属/半導体界面はオーミック特性を示すことから、 $\text{InGaZnO}_4/\text{CuAlO}_2$ 接合界面でエネルギー障壁が形成され、ダイオードとして機能していることを確認した。整流比は±2Vで $10^3 \sim 10^4$ 倍の差を出した。

部科校名：生産工学部

氏名：清水耕作

研究結果（つづき）

また、この電流-電圧特性より見積もった直列抵抗は $39.6\text{k}\Omega$ 、シャント抵抗は $344\text{M}\Omega$ となった。 CuAlO_2 薄膜の電気伝導性が低く、直列抵抗成分が高くなる。この抵抗成分を考慮しなければ生成した。キャリアを発電に利用することができず損失となり、発電効率の低下につながる。より高効率な接合素子とするために、キャリア濃度及び移動度の向上・制御を行い半導体層の電気特性の最適化し、直列抵抗成分を数 Ω ~ 数十 Ω まで低減することが必要である。また単純に薄膜の抵抗成分を低減しただけでは、並列抵抗成分も低下し数十 $\text{k}\Omega$ 付近となり、漏れ電流の増加が起こる。接合界面の欠陥評価が同時に必要である。そのため、現状で Si 太陽電池との積層を考えた場合、直列接続ではなく四端子による並列接続である必要がある。

ソーラーシミュレータを用い放射照度 $100\text{mW}/\text{cm}^2$ 、AM1.5 における太陽電池特性を評価した。光照射により光電流の発生を確認し太陽電池として機能することを確認した。またそのときの諸特性は、短絡電流密度は $1.84 \times 10^{-5}\text{A}/\text{cm}^2$ 、開放端電圧は 580mV となった。また、曲線因子は 35.1%、近紫外光領域（波長 $350\sim 450\text{nm}$ ）での変換効率は約 0.03% となった。フォトン数の少ない紫外光領域を利用し発電するため、従来の太陽電池と相対して低い変換効率となるが、可視光吸収太陽電池上に積層させるためにはさらなる変換効率の向上が必要である。

$\text{InGaZnO}_4/\text{CuAlO}_2$ 接合素子の量子効率および透過率を検討した。近紫外光領域の $350\sim 450\text{nm}$ の範囲で吸収・発電を確認した。 InGaZnO_4 のバンドギャップに対応する 400nm 付近で最も高い量子効率を得られ、2.9%の効率を示した。また 350nm (3.5eV) 付近の吸収と可視光域 $450\sim 600\text{nm}$ ($2.0\sim 2.8\text{eV}$) での変換も確認された。これは CuAlO_2 薄膜の評価の際にも見られた、 CuAlO_2 と可視光領域に対応したバンドギャップを持つ Cu_2O (2.0eV)、 CuO (1.4eV) の混在した薄膜となっていることが原因としてあげられる。接合素子の透過率が約 20% と十分な透過が得られていないため、上部電極を透明導電膜に変更することでさらなる効率が得られると考えられる。また単膜特性評価において懸念された CuAlO_2 薄膜の可視光領域透過率の向上が必要である。そのためスパッタリング法での成膜段階で、組成のずれを低減する条件を検討し、 CuAlO_2 薄膜の光学特性の改善を行うことによって、紫外光吸収・可視光透過太陽電池として利用できると期待される。

8 アニール依存性

作製した $\text{InGaZnO}_4/\text{CuAlO}_2$ 接合素子の効率向上を検討するためにアニール処理を施し、ダイオード特性および太陽電池特性の変化を見た。アニール処理は大気圧中で 100°C 、 150°C 、 200°C 、アニール時間はそれぞれ 30 分間行った。

アニール処理後、太陽電池特性（開放端電圧・短絡電流・変換効率）、温度特性およびアレニウスプロットの評価を行い、それぞれの比較を行った。

電流密度の増加と立ち上がり電圧の 0 軸方向へのシフトが見られたが、アニール処理前と比較して立ち上がり電圧が低くなっている。アレニウスプロットで算出したオフセット電圧は 887mV となり、やはりアニール処理前とはジャンクションの状態が異なっていることを確認した。電流電圧特性において接合素子に流れる電流、整流比に大きな変化は見られない。

温度上昇と共に電流密度の増加を確認。アニール処理なし、 100°C アニール処理を行った接合素子と比べさらに立ち上がり電圧が低くなった。算出したオフセット電圧が 650mV とさらに小さくなりアニール温度の上昇が接合部分に影響を与えることを確認できる。

アニール処理を行うことで電流密度が低下していき、 200°C で整流特性がなくなることが確認された。また整流比の比較からアニール処理によって漏れ電流の低減がされることもなかった。アニール処理を施すことで開放端電圧・短絡電流密度が減少し、変換効率が低下していくことが確認された。また 200°C アニールを施した $\text{InGaZnO}_4/\text{CuAlO}_2$ 接合素子は発電を確認できず、完全にジャンクションが破壊されたと考えられる。以上、アニール処理は、原子の相互拡散を助長することがわかった。

平成23年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成24年 5月 10日

日本大学 総長 殿

氏 名 若林 裕之



所属・資格 工学部 ・ 教授

下記のとおり報告いたします。

1 研究課題 レーザ計測に基づく大規模実環境に忠実な3次元モデルの全自動構築技術		
2 研究組織		
氏 名	所属部科校・資格	役割分担
○研究代表者名 若林 裕之	工学部・教授	研究とりまとめ, 森林バイオマス計測および推定技術の開発
○研究分担者 李 和樹	理工学部・教授	縁石認識・街路樹モデリング技術の開発
白井 健二	工学部・教授	産業プラントアズビルトモデリング技術の開発
原 靖彦	工学部・教授	縁石認識・街路樹モデリング技術の開発
岩城 一郎	工学部・教授	コンクリート建造物のスケーリング量経年変化の評価技術の開発
小林 義和	工学部・准教授	データ取得, 産業プラントアズビルトモデリング技術の開発
子田 康弘	工学部・准教授	データ取得, コンクリート建造物のスケーリング量経年変化の計測および評価技術の開発
溝口 知広	工学部・助教	データ取得, コンクリート建造物のスケーリング量経年変化の評価技術の開発, 森林バイオマス推定技術の開発, 産業プラントアズビルトモデリング技術の開発
3 本研究に関連して外部資金への申請状況, 獲得状況		
1. 公益財団法人国際科学技術財団研究助成, 代表者: 溝口知広, 100万円, 平成24年度(H24.01-H24.12) 「3次元レーザ計測に基づくコンクリート建造物のスケーリング定量的評価」 2. 科学研究費補助金, 若手研究(B), 代表者: 溝口知広, 350万円, 平成23-25年度 「3次元レーザ計測に基づく大規模環境高度診断技術の開発」		

※「6 研究結果」について, ホームページ等での公開 (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：工学部

氏名：若林 裕之

4 研究目的

レーザ計測機とは、計測対象物にレーザ光を照射しその反射光を解析することにより、対象物の3次元位置情報を取得する技術であり、これまでは主に比較的小型オブジェクトの計測に利用されてきた。近年、計測機の計測精度の向上、計測可能範囲の拡大、計測時間の短縮、計測機の小型化・軽量化といった急速な性能向上に伴い、「人工物および自然物の既存状態を正確に把握する」目的で、社会インフラ、プラント、建築、土木、農林など、その利用範囲が大規模実環境計測へと拡大している。

しかし、この計測データは計測対象物の表面を大量の点群で表現したデータであり、その点数は数千万から数十億に及ぶほど膨大であり、さらに計測ノイズを多く含んでいる。このような大規模計測データからの特徴認識技術や認識結果に基づく3次元モデル構築、環境・設備の検査、大規模データ管理技術に関しては過去の研究例も少なく、市販ソフトウェアもほとんど整備されていないのが現状であり、レーザ計測の実業務への利用にはデータ処理上の課題が多く残っている。

そこで我々は、データ量が膨大で計測ノイズを多く含んだ大規模実環境のレーザ計測データから、実環境をより小さな誤差で忠実に再現し、ユーザが実業務で有効利用可能な形式へと変換した、高品質かつ構造化された3次元モデルを全自動構築する技術の開発を目的とする。

5 研究概要

平成23年度は、以下の4つの研究を行った。

1. コンクリート構造物のスケーリング量経年変化の評価技術の開発

近年の融雪剤や凍結防止剤の大量散布に起因するスケーリングに伴う、コンクリート構造物表層部劣化の経年変化を定量的に評価した。このため、既存のICP(Iterative Closest Point)法を応用し、スケーリング深さの経年変化を高精度に評価可能な技術を開発した。

2. 森林バイオマス推定技術の開発

森林によるCO₂吸収量評価のためのバイオマス推定を目的とし、森林計測データ中の各樹木をそれぞれ独立に抽出する2つのセグメンテーション技術を開発した。さらに独立させた樹木データより、バイオマス推定に必要な胸高直径及び樹高を全自動推定可能な技術を開発し、その精度評価を行った。

3. 縁石認識・街路樹モデリング技術の開発

車両移動型レーザ計測による市街地データより、地図台帳作成の際に重要となる縁石を自動認識可能な技術を開発した。また都市計画等での利用を目的とし、街路樹のデータより、樹木の回転対称性認識に基づき、樹木全体形状を認識可能な技術も開発した。

4. 産業プラントアズビルトモデリング技術の開発

老朽化したプラントの維持管理や設備更新シミュレーションに必要なCADモデル構築を目的とし、大型プラントのレーザ計測データより、マンハッタンワールド仮説とRANSAC(RANdom SAmple Consensus)法に基づきプラント中のパイプや型鋼を網羅的に全自動認識可能な技術を開発した。

部科校名：工学部

氏名：若林 裕之

6 研究結果 (4,000字以上記入してください。)

研究1：コンクリート構造物のスケーリング量経年変化の評価技術の開発

近年、融雪剤の凍結防止剤の大量散布に起因し、スケーリングによるコンクリート構造物表層部の劣化が顕在化しており、これを定量的に評価可能な技術の開発が必要とされている。本年度は、昨年度計測を行った2つの道路橋に加え、新たに別地域にある3つの道路橋の計測データを取得した。また昨年度と本年度に取得した2時期データから、既存のICP法をベースとし、その詳細な位置合わせを行い、さらにその差分を計算することで、スケーリング深さの経年変化を定量的に評価可能な手法を開発した。取得したデータに基づく様々な実験より、コンクリート構造物は最大で5センチ程度経年変化していることが確認できた。これらの成果を、国際会議1件、国内学会2件にて発表を行った。今後は、地域差によるスケーリングの進行速度の違いを検証する予定である。

研究2：森林バイオマス推定技術の開発

森林破壊や植林活動による森林CO₂吸収量変化を診断する技術の開発が求められている。吸収量評価のためには、森林バイオマスを高精度に推定することが重要である。このバイオマスは、森林中の各樹木の胸高直径及び樹高より算出でき、高精度なバイオマス推定のためには、胸高直径と樹高を高精度に推定することが重要となる。昨年度は、北海道苫小牧市にて取得したレーザ計測データから、市販ソフトウェアにてユーザが対話的に胸高直径の推定を行った。また同地にて、手作業で測定した樹木ごとの胸高直径及び樹高データとの比較を行い、レーザ計測の有効性を検証した。本年度はこの推定処理を自動化するための技術開発を行った。まず森林全体の計測データより、複数本の樹木をそれぞれ独立に抽出するため、円筒座標展開と平面投影に基づく2つのセグメンテーション手法を開発した。これらの手法により、大部分の樹木を独立に抽出することが可能となった。しかし、1本の樹木が上下に複数個に分割される場合や、隣り合う左右の木が合わさって1本の樹木と判定される場合もあった。今後はこれら2つの手法を組み合わせ、より正確にセグメンテーションが行える手法へと拡張していく予定である。さらには手作業にて1本に独立させた樹木データより、その樹高と胸高直径を全自動推定可能な、RANSAC法と円柱当てはめに基づく効率的な手法を開発した。こちらの手法では、データの位置合わせが高精度に行えている場合には、1センチ程度の誤差で胸高直径が推定可能であることを確認した。今後は得られた樹木データより、バイオマスを算出しその精度を検証していく予定である。

研究3：縁石認識・街路樹モデリング技術の開発

レーザ計測機を自動車に搭載し、市街地を通常速度で移動しながら周辺の3次元データを取得する移動型計測が近年急速に普及し、道路台帳の作成、都市計画、災害状況の把握、災害シミュレーションなど様々な分野に利用されるようになってきている。使用データは研究分担者が参加する委員会から提供された計測データを使用した。本研究では、道路台帳作成時に重要となる道路縁石を対象とし、レーザ計測データ中よりこれを自動認識可能な手法を開発した。その結果、データ中に存在するほぼ全ての縁石を認識できることを確認済みである。しかし、一部では本来縁石ではない物体も誤って縁石と認識されるケースがあった。一方で、都市計画で重要となる街路樹を対象とし、樹木の持つ回転対称性の認識に基づき、レーザ計測では取得できない樹木裏面をも含めた樹木全体形状を推定可能な手法を開発した。今後は、非線形最適化を用いてより高精度に全体形状を認識可能な手法へと発展させていく予定である。

部科校名：工学部

氏名：若林 裕之

研究結果（つづき）

研究4：産業プラントアズビルトモデリング技術の開発

高度成長期に巨額の費用を投じて建設された化学プラントなどの大型産業設備の多くで老朽化が進んでおり、その維持管理や設備更新のため、現況設備を忠実に反映させたCADモデルをレーザ計測点群より再構築するアズビルトモデリングの要求が高まっている。大型プラントの場合、設備中に多数存在するパイプや型鋼をモデル化することが最重要となる。本研究ではこの目的のため、マンハッタン仮説とRANSAC法に基づく新たな手法を開発した。計測データは研究分担者が参加する委員会よりご提供いただいたものを使用した。実験より、合計で1億点ほどにもなる大規模データからも数分程度で効率的に、設備中のパイプや型鋼を網羅的に全自動認識可能であることが確認できた。この成果を国内学会2件にて発表を行った。また国際会議にも1件採択が決定している。今後はこの成果をさらに発展させ、CADモデルを全自動構築可能な手法を開発する予定である。

主な研究業績

1. Tomohiro Mizoguchi, Tomokazu Kuma, Yoshikazu Kobayashi, Kenji Shirai, "Manhattan-world assumption for as-built modeling industrial plant," Proc. International Conference on Precision Engineering, *accepted*.
2. A. Watanabe, T. Yoshida, T. Mizoguchi, Y. Kobayashi, K. Shirai: FUNDAMENTAL STUDY OF COATING USING ELECTRICALLY POWERED SLIDERS, ASPE2010 Annual Meeting, 2011年11月.
3. 原靖彦, 河田成広, 白井健二, 小林義和, 足立秀之, 滝沢義信, 菅野純一: 2次元画像検出器を用いた3角測量方式微小ボール高さ検出法, 表面実装技術, Vol.12, No.10, pp.54-60, 2011年10月.
4. 熊友和, 溝口知広, 小林義和, 白井健二, 「マンハッタン仮説を用いたプラント計測データからの配管認識」, 計測自動制御学会東北支部第268回研究集会, 268-14, 2011年11月.
5. 生田目貴徳, 溝口知広, 小林義和, 白井健二, 「マンハッタンワールド仮説を用いたアズビルドモデリング」, 精密工学会秋季大会講演論文集, F06, 2011年9月.
6. T. Mizoguchi, Y. Kobayashi, K. Shirai, S. Kanai: Parts Identification and Motion Estimation on CT Scanned Assembly Meshes, SIGGRAPH2011, 2011年8月.
7. Tomohiro Mizoguchi, Yasuhiro Koda, Yoshikazu Kobayashi, Ichiro Iwaki, Yasuhiko Hara, Kenji Shirai, Hwa-Soo Lee, and Hiroyuki Wakabayashi, "Quantitative Damage Assessment of Concrete Structures based on 3D Laser Scanning," 2011 IEEE International Geoscience and Remote Sensing Symposium, pp.2129-2132, 2011年8月.
8. 溝口知広, 子田康弘, 岩城一郎, 若林裕之, 「3次元レーザ計測に基づくコンクリート構造物のスケーリング評価」, 日本リモートセンシング学会第50回(平成23年度春季)学術講演会論文集, pp.7-8, 2011年5月.
9. 溝口知広, 子田康弘, 若林裕之, 岩城一郎, 「3次元レーザスキャナを用いた実RC部材のスケーリング計測手法の考案」, 第65回セメント技術大会, pp.198-199, 2011年5月.
10. 溝口知広, 「大規模レーザ計測データの位置合わせに関する国内外の研究動向調査報告」, 動体計測研究会 ARIDA, 2011年5月.
11. T. Yoshida, T. Mizoguchi, Y. Kobayashi, K. Shirai: Development of Micro-Object Position Detection System for the Automation of Robot Hand, euspen2011, 2011年5月.

平成23年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成24年 4月 28日

日本大学 総長 殿

氏 名 石原 務



所属・資格 工学部 ・ 准教授

下記のとおり報告いたします。

1 研究課題 ナノテクDDSによる先端ナノ医療システムの構築		
2 研究組織		
氏 名	所属部科校・資格	役割分担
○研究代表者名 石原 務	工学部・准教授	研究統括、DDS 製剤調製、細胞試験
○研究分担者		
榎島 誠	医学部・教授	生化学評価、薬理試験
春木 満	工学部・教授	タンパク医薬調製
斎藤 義雄	工学部・准教授	核酸医薬合成
平野 展孝	工学部・准教授	リガンド分子探索/調製
3 本研究に関連して外部資金への申請状況、獲得状況		
<ul style="list-style-type: none"> ・石原務 22-24年度 基盤研究(C) ダブルDDS製剤処方による新規C型肝炎治療法の確立 採 ・榎島誠 22-23年度 基盤研究(C) 肝臓免疫系細胞のビタミンD受容体による炎症及び代謝の調節機構 採 ・斎藤義雄 21年度 若手研究(B) 多情報DNA検出システムのための蛍光プローブの開発 採 ・平野展孝 22-23年度 若手研究(B) セルラーゼ・ヘミセルラーゼ超分子複合体の無細胞合成と試験管内再構成 採 ・榎島誠 18-22年度 特定領域研究 代謝環境センサーとして機能する核内受容体の分子ダイナミズム 採 ・春木満 23-24年度 基盤研究(C) 3本鎖DNAを利用した新規コンビナトリアル合成レセプターライブラリーの開発 採 ・石原務 21年度 熊本大学科学研究費補助金インセンティブ ナノ粒子化プロスタグランジンによる新規疾病治療システムの構築 採 ・石原務 22年度 NEDOイノベーション実用化助成事業(共同研究) ステルス型ナノ粒子PGE1製剤の実用化開発 採 ・石原務 23年度 NEDOイノベーション実用化助成事業(共同研究) ステルス型ナノ粒子PGE1製剤の実用化開発 採 		

※「6 研究結果」について、ホームページ等での公開 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：工学部

氏名：石原 務

4 研究目的

我が国の国民総医療費は約3.5兆円にもものぼり、年々その額は増加傾向にある。その20%を占める医薬品は国により最重要産業の一つと位置付けられており、その発展が21世紀の我が国の発展に必須であることは間違いない。ところが、上市される新薬の数は年々減少傾向にある(2010年問題)。この主な原因は、予想外の副作用の発生や既存薬に対し優位性を示せず臨床試験が失敗することである。新薬が生み出されないこの現状は、医療技術の進歩の大きな妨げである。

そこで、既に臨床で使われている医薬品をDDS(ドラッグデリバリーシステム)技術で改良し新薬とする創薬研究戦略が脚光を浴びるようになった。この戦略の大きな特徴の一つは、これまでの臨床試験のデータが活用できるため、より短期間で、より低コストで、より安全な新薬を開発可能な点にある。またDDS医薬は、従来医療では治療できなかった難治性疾患の治療法の提供や、副作用の低減など疾病者の生活の質の向上を可能にする。さらに、1980年代以降の遺伝子工学の発展は、タンパク質や核酸分子などの機能性分子を主成分としたバイオ医薬を生み出してきた。しかし、それらは生体内で安定性が低くそのまま医薬品として用いることは難しい。DDS技術はバイオ医薬の有効性を高める有望な手段としても着目されている。このようにDDS医薬は、未来医療を拓くブレークスルーとなる可能性を秘めており人類の健康と福祉に大きく貢献できる。

本研究では、革新的な疾病治療システムを構築することを最終目標とし、医工連携プロジェクトとしてナノテクノロジーを駆使した画期的なDDS医薬開発に挑む。汎用性が高い基本的なDDS技術の開発をおこなうことで、容易に(少ないエネルギーとコストで)多くの新しい医薬品を一気に創出できる可能性(医薬品開発におけるジャックポット)がある。このような基幹技術開発は、今後のナノメディシンの潮流を決定する大きな転機となりうると考えられる。

5 研究概要

我々はこれまでに独自手法によりDDS用のナノ粒子デバイスの開発に成功している。上市済みあるいは臨床開発中の他のDDSデバイス(例えばリポソームや高分子ミセルなど)は単一の機能しか有していないが、このナノ粒子は複数の機能(ターゲティングと薬理効果の持続)を有した初めての多機能型ナノ粒子デバイスである。ナノ粒子表面にポリエチレングリコール(PEG)を配したことで、EPR効果による受動的ターゲティングが達成できること、そして、粒子コアに生分解性高分子を用いたことで、その加水分解に伴い薬物の徐放出(薬理効果の持続)が誘導できることを既に多数の論文で報告してきた。実際に、薬物としてステロイドやプロスタノイドを封入したナノ粒子は、疾病モデル動物を用いた複数の異なる薬理試験において既存薬より有意に高い薬理効果を示すことが証明されている。

このナノ粒子デバイスをベースにした基幹技術を確立することで、多くの疾病を網羅したナノ治療システムを構築できると考えられる。そこで、本研究ではナノテクノロジーを駆使し、更にこのナノ粒子に以下のような改良を加えることで、より汎用性/機能性が高く、より効果的な治療が可能な医療デバイスを創出する。

- ① **ポストPEG**：多くのナノDDS医薬は、細網内皮系への取り込みを抑制するためPEGで修飾されている。しかし、頻回投与に伴い体内動態が劇的に変化する現象[Accelerated Blood Clearance(ABC)現象]が近年発見されたことから、PEGの使用が危惧されるようになった。したがって、PEGに代わる高分子(ポストPEG高分子)を探索し、より安全な次世代型ナノDDS医薬を開発する。
- ② **薬物集積性**：受動的ターゲティングでは、適応疾患が限定され薬物運搬効率にもまだ改善の余地が残る。そこで、疾患の種類に応じた標的細胞/組織に高い親和力で結合できるリガンド分子を見つけ出す。このリガンドをナノ粒子に付与することで、薬物の集積性を劇的に向上させることが可能になる。
- ③ **バイオ医薬への応用**：我々が開発した薬物封入技術は、水溶性薬物も安定に粒子内に封入することを可能にした。よって、この技術を基にバイオ医薬もナノ粒子化することが可能になり、その汎用性が飛躍的に高まる。

部科校名：工学部

氏名：石原 務

6 研究結果 (4,000字以上記入してください。)

本研究は、革新的な疾病治療システムを構築することを目標に、工学部および医学部に属する研究者が実施する医工連携プロジェクトであり、ナノテクノロジーを駆使した画期的なDDS医薬開発に挑んでいる。これまでに独自手法により開発してきたDDS用ナノ粒子デバイスを基にその基幹技術を確立することで、多くの疾病への応用が可能なナノ治療システムを、より簡便により迅速にそしてより低コストで構築できると期待される。我々は、これまでに主として三つのアプローチ法によりその実現に向け研究を鋭意遂行してきた。

第一に、ナノDDSデバイス(粒子)の表面修飾剤として、ポリエチレングリコール(PEG)に代わる高分子(ポストPEG高分子)の探索をおこなった。薬物(あるいはその担体)を高分子で化学修飾した医薬品いわゆる「高分子化医薬品」が次々と上市(臨床利用)されている。これらの医薬品は、従来品に比べ薬理効果が高く副作用が少ないことから画期的な治療薬として注目される。高分子としては、PEGが主に用いられており、このようなPEG化医薬品は、今後も新規製剤開発において重要な一翼を担うと期待されている。しかし、近年、同一個体へPEG化医薬品を繰り返し投与すると、その体内動態が劇的に変化する現象[Accelerated Blood Clearance (ABC)現象]が発見された。これは頻回投与に伴い薬理効果の低減や予期せぬ副作用発生の可能性があることを意味しており、今後の高分子化医薬品の開発ストラテジーにおいて大きな障壁となりうる。そこで、本研究では、ポストPEG高分子を発見/発明し、次世代型高分子医薬品の創生を目指した。ポストPEG高分子候補として、ポリビニルピロリドン(PVP)・ポリビニルアルコール(PVA)・ポリアクリロイルモルフォリン(PAcM)・ポリジメチルアクリルアミド(PDMAA)を選択した。初めに、これら親水性高分子と疎水性高分子(ポリ乳酸)からなる両親媒性ブロック共重合体の合成をおこなった。ポリ乳酸末端のカルボキシル基にシステアミンを縮合反応により結合させチオール基を導入した。この生成物の共存下各モノマー分子をラジカル重合することでポリ乳酸と各親水性高分子のブロック共重合体をえた。ナノ粒子はこれまで確立してきたO/W型溶媒拡散法により調製した。モデル薬物として血管拡張作用のあるプロスタグランジンE1(PGE1)を用いた。ポリ乳酸・各ブロック共重合体・PGE1・塩化第二鉄・ジエタノールアミンをアセトンに溶解し、水に徐添加することでナノ粒子をえた。これらのナノ粒子はおおよそ120nmの粒子径を有し、また、ゼータ電位測定より表面が各ポリマーで被覆されていることが明らかになった。ナノ粒子をラットに尾静注し、各ナノ粒子のABC現象を評価したところ、PVP、PAcM、PDMAA被覆ナノ粒子ではABC現象は認められなかった。特に、PVPを被覆したナノ粒子では、投与量や投与間隔、投与回数を変えても一切認められなかった。ABC現象のメカニズムは未だ不明であるが、投与されたPEG化医薬品が血中の何らかの液性因子の産生あるいは活性化を誘導していることは確実であり、その重要な因子の一つがIgM抗体であると報告されている。そこで、PEG被覆ナノ粒子およびPVP被覆ナノ粒子を投与した際のIgM抗体の産生能を評価した。その結果、抗PEG-IgM抗体は産生されていたが、抗PVP-IgM抗体の産生は認められなかった。よって、この結果からもPVP被覆ナノ粒子でABC現象が誘導されないことが確認された。PEG被覆ナノ粒子ではABC現象が惹起されるため、投与のタイミング依存的に体内動態が変化し、薬理効果の低減や予期せぬ副作用が誘導される可能性がある。よって、PVP被覆ナノ粒子ではこのような懸念を考慮する必要がなくなると考えられる。さらに、PEG化医薬品に比べ投与法の汎用性が高まり適応疾患が格段に拡充されることも期待できる。

しかしながら、一方でPVP被覆ナノ粒子の血中滞留性は、PEG被覆ナノ粒子に比べ低かった。この結果は、PVP被覆ナノ粒子は、PEG被覆ナノ粒子よりも病変部位への薬物集積性に劣り薬理活性が低下する可能性を強く示唆している。この原因としてナノ粒子表面のPVPとPEGの密度の相違が考えられる。PEGの共重合体ではPEG末端の水酸基からポリ乳酸を重合しているのに対し、PVPではポリ乳酸のチオール末端からPVPを重合している。よって、未反応のポリ乳酸が混合しており表面に露出するPVPの密度がPEGに比べ低くなった可能性が考えられる。さらに、PEGの分子量が約5000であるのに対しPVPの分子量は約20000であり、この相違も血中滞留性に影響を及ぼした可能性がある。そこで、PEGのブロック共重合体の合成法と同様にPVPから開環重合によりポリ乳酸の合成を試みた。その結果、PVPの脱水を十分におこなうことで、PVPとポリ乳酸からなるブロック共重合体を合成できることが明らかになった。またPEGとほぼ同じの分子量約4000のPVPを用いたブロック共重合体の合成に成功した。今後、この共重合体を用いたナノ粒子の血中滞留性を確認する予定であり、血中滞留性がPEG被覆ナノ粒子程度まで向上できれば、「既存のPEG化医薬品のPEGをPVPに置き換える」だけで、多数の新規医薬品を一気に創出できる可能性(医薬品開発におけるジャックポット)がある。

部科校名：工学部

氏名：石原 務

第二には、標的とする組織つまり疾患部位へのターゲッティング（薬物集積）を達成できるDDSデバイスの開発をおこなってきた。C型肝炎治療を目標として、抗ウイルス剤であるリバビリンを封入したポリ乳酸ナノ粒子の調製法の確立をおこなった。ナノ粒子はこれまでに構築してきた金属イオンを用いたO/W型溶媒拡散法により調製した。その際、有機溶媒/金属イオンの種類/量など調製条件を様々に変えることで、リバビリンの粒子内への封入効率及び粒子径に及ぼす影響を評価した。その結果、リン酸基を導入したリバビリン-リン酸及び鉄イオンをpH調整しながら同時に適量添加することで、リバビリンを多く含みかつ分散安定性が高いナノ粒子がえられることが明らかになった。また、肝実質細胞へ特異的かつ大量にリバビリンを集積させるため、肝実質細胞特異的なりガンド分子であるアラビノガラクトサンの粒子表面への修飾を試みた。ポリアミノ酸であるポリリジンとアラビノガラクトサンを用い還元アミノ化反応によりポリリジン-アラビノガラクトサンコンジュゲートをえた。このコンジュゲートを混合しナノ粒子を同様に調製した。ナノ粒子の表面電位測定およびレクチンによる凝集観察の結果、アラビノガラクトタンがナノ粒子の表面に局在していることが明らかになった。したがって、このナノ粒子は、表面のアラビノガラクトタンによりウイルス感染細胞である肝実質細胞にリバビリンを運搬でき、かつポリ乳酸内にリバビリンを封じ込めることで長期間にわたりその薬理効果を持続できることが示唆された。このナノ粒子からのリバビリンの放出挙動を解析したところ、リバビリンは初期バーストすることなく数週間にわたり少しずつ粒子から漏出し徐放出が達成できていることが明らかになった。蛍光物質であるローダミンを修飾したポリ乳酸を合成し蛍光ラベルナノ粒子を調製し、肝実質細胞の細胞株であるHu h 7細胞及びHe p G 2細胞との相互作用を解析したところ、粒子が細胞内へ顕著に取り込まれていることがわかった。また、細胞内のリバビリン量を液体クロマトグラフィーにより定量したところ、この粒子を用いることで10倍程度取り込み量を増大できることがわかった。WSTアッセイにより毒性試験をおこなったところ、粒子濃度を極めて高くするとわずかな毒性が認められたものの顕著な毒性は観測されなかった。以上の研究成果より、このナノ粒子はウイルス性肝炎に対し薬理効果を発揮できると期待される。

第三には、バイオ医薬のDDSデバイスへの応用展開を試みてきた。バイオ医薬は広義には人工的に生産したタンパク質あるいは核酸分子を指す。タンパク質としては、インターフェロン、トランスフェリン、そして核酸分子としてペプチド核酸（PNA）を用いた。抗ウイルス活性があり薬物としても使用されているインターフェロンの粒子化を試みたところ、効率良く粒子内に封入できる調製条件を見出した。この結果は、一回の投与（注射）で長期にわたり体内で活性を維持できるDDS医薬が開発できる可能性があることを示唆している。よって、今後さらに活性の持続性や放出挙動評価をおこなう予定である。また、癌細胞の表面には、トランスフェリン受容体が正常細胞より多く発現している。よって、トランスフェリンをナノ粒子表面に付与することで癌細胞へのターゲッティングが可能になると考えられる。そこで、トランスフェリンを付与するのに必要な官能基を表面に配したナノ粒子の調製をおこなった。カルボキシル基末端を有するPEGを用いポリ乳酸とのブロック共重合体を合成しナノ粒子を調製した。ゼータ電位測定の結果、このナノ粒子は強く負に帯電しており、カルボキシル基が粒子表面に露出していることが明らかになった。このカルボキシル基を利用しトランスフェリン修飾ナノ粒子の調製をおこなう。PNAやsiRNAなどの核酸分子は次世代医薬品としての利用が期待されている。しかしながら、それら自身では細胞内への透過性が著しく低く臨床利用への大きなボトルネックとなっている。そこで本研究では、タンパク質の機能を利用することで細胞/組織特異的PNAキャリアーの設計を試みた。タンパク質としてはアシアロフェツインを用い、そのPNAキャリアーとしての評価をおこなった。アシアロフェツインとオリゴDNAからなる複合体（コンジュゲート）の調製をおこなったところ、アシアロフェツイン分子あたり1から3分子のDNAが結合していることがわかった。電気泳動による解析の結果、コンジュゲートのDNA鎖に対し相補的なPNAのみがコンジュゲートに結合できることがわかった。このコンジュゲートを利用することで、PNAをアシアロフェツインが取り込まれる肝実質細胞に特異的に運搬できると考えられる。

以上のように、本研究では主として三つの手法によりDDSデバイスの開発をおこなってきた。これらの個別の技術や技法が確立されていくことで基幹技術が着実に構築されてきているといえる。将来にはこの技術により多数の新規医薬品を一気に創出できる可能性があり、今後の高分子化医薬開発の潮流を決定する大きな転機となりうると期待される。

平成23年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成 24 年 4 月 25 日

日 本 大 学 総 長 殿

氏 名 麦島 秀雄



所属・資格 医学部・教授

下記のとおり報告いたします。

1 研究課題		
臍帯血、臍帯組織幹細胞を用いた新規細胞治療の開発		
2 研究組織		
氏 名	所属部科校・資格	役割分担
○ 研究代表者名		
麦島 秀雄	医学部／教授	研究の立案・総括
○ 研究分担者		
松本 太郎	医学部／教授	臍帯幹細胞のスクリーニング
野呂 知加子	生産工学部／教授	神経堤由来細胞の同定
小林 寿美子	医学部／助教	臍帯血幹細胞のスクリーニング
谷ヶ崎 博	医学部／助教	疾患モデル動物を用いた移植実験
石毛 美夏	医学部／助教	臍帯血細胞のスクリーニング
3 本研究に関連して外部資金への申請状況、獲得状況		
平成23年度～平成25年度 文部科学省 科学研究費補助金 基盤研究(C) 臍帯血・臍帯由来幹細胞の機能評価と小児疾患に対する細胞治療への応用 (研究代表者) 採択		
平成22年度～平成24年度 厚生労働省 科学研究費創薬等ヒューマンサイエンス事業 臍帯血リンパ球を主成分とする細胞治療製剤の医薬品化に関する研究 (研究分担者) 採択		

※「6 研究結果」について、ホームページ等での公開(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：医学部

氏名：麦島 秀雄

4 研究目的

臍帯血や胎盤組織中には多くの未分化細胞が存在することが知られている。我々は臍帯血の分離保存施設として、臍帯血バンクを管理運営する傍ら、採取量不足などで不合格となった臍帯血を用いて臍帯血中に含まれる造血幹細胞以外の未分化細胞を、細胞表面抗原マーカーなどを用いて分離同定する研究を行ってきた。その結果、臍帯血や臍帯組織中に発生過程の神経堤(neural crest)マーカーを発現している細胞群が存在し、この細胞は高い自己複製能を有するとともに神経細胞やグリア細胞に効率的に分化しうることなどを明らかにした。このように多能性を有する神経堤由来細胞は末梢血液中には存在しないと考えられてきたが、臍帯血や胎盤組織の一部には残存する可能性が示唆される。また胎盤間葉組織には母児間の免疫寛容の成立に重要な免疫制御細胞や間葉系幹細胞(MSC)(Lee OK et al. Blood, 103:1669, 2004)が存在すると考えられているが、その局在や特異的細胞表面抗原マーカーなど不明な点が多い。本研究計画では、臍帯血、臍帯組織中に存在する未分化多能性細胞のスクリーニングを行い、同定した多能性細胞を細胞ソースとする新しい再生医療の開発や、難治性免疫疾患に対する細胞治療の開発を目指す。

5 研究概要

1. 臍帯血・臍帯由来細胞を用いた神経再生治療法の開発

神経堤由来細胞特異的に GFP を発現するマウス(P0-Cre/Floxed-EGFP マウス)胎仔を用いて、臍帯血や胎盤付属組織に神経堤由来細胞が存在することを検証する。ヒト臍帯組織より神経堤マーカーを指標に細胞を単離し、形質解析および機能解析を行い、神経堤由来未分化細胞の同定を試みる。また効率的な神経細胞・グリア細胞への分化誘導法を検討する。さらに神経堤由来細胞を用いた難治性神経疾患モデル動物に対する細胞移植効果を評価する。

2. 臍帯幹細胞のスクリーニングと細胞治療への応用

ヒト臍帯組織を機械的に臍帯動脈、臍帯静脈、結合組織(Wharton's Jelly)に分離後、コラゲナーゼ処理により細胞を単離する。MSC マーカー、神経堤マーカー、胚性幹細胞マーカーなどを指標に単離した細胞の形質解析や各種コロニーアッセイを行い、臍帯組織中の幹細胞を同定する。MSC マーカー陽性細胞群に関しては、in vitro における免疫抑制作用の評価や、造血幹細胞の動員、生着に関わる液性因子群の発現および臍帯血 CD34⁺造血幹細胞との共培養系による造血幹細胞増殖維持能を検討し、造血微小環境構築能のある細胞群(造血ニッチ細胞)のスクリーニングを行う。さらに造血幹細胞移植後の移植片対宿主病(GVHD)に対する細胞治療の効果を検討するため、GVHD マウスモデルの作出を試みる。そしてこのマウスに免疫抑制性細胞を移植し GVHD 抑制効果を検討する。

3. 臍帯血移植における生着促進を目的とした細胞治療法の確立

ヒト臍帯血造血幹細胞を増殖維持できるストローマ細胞株(HESS-5)に放射線照射を行い、生着不全が起こる分子機序を検討する。放射線照射による骨髄破壊の処置を行った免疫不全(NOD-SCID)マウスにヒト臍帯血造血幹細胞を移植し、ヒト血液細胞の生着能を評価できるモデル動物を確立する。このモデルに造血ニッチ細胞を尾静脈より投与し、経時的に骨髄および末梢血中のヒト血液細胞をフローサイトメーターにて解析し、臍帯血生着を促進する作用があるか検討する。

部科校名：医学部

氏名：麦島 秀雄

6 研究結果 (4,000字以上記入してください。)

1. 臍帯血・臍帯由来細胞を用いた神経再生治療法の開発

前年度、神経堤由来細胞を追跡可能なマウス(P0-Cre/Floxed-EGFP マウス)胎仔を用いて、胎仔付属組織の神経堤由来細胞の局在解析を行った結果、臍帯動脈内皮下にGFP陽性を示す神経堤由来細胞が存在することが明らかになった。また神経堤マーカーの1つであるp75 neurotrophin receptor (p75NTR)を指標にして、ヒト臍帯組織に神経堤由来細胞が存在するか検索した結果、臍帯動脈内皮直下にp75NTR陽性細胞が集簇して存在することが明らかになった。これらの所見は、ヒト臍帯組織にも神経堤に由来する未分化細胞が存在する可能性を示唆している。そこで、ヒト臍帯組織からp75NTR陽性細胞を単離し、形質解析および機能解析を行い、神経堤由来未分化細胞の同定を試みた。臍帯動脈を機械的に剥離後、酵素処理により細胞を単離し、磁気ビーズ法でp75NTR陽性細胞を単離した。そして細胞表面抗原や遺伝子発現プロファイル、ニューロスフェア形成能などを検討した。これらの実験は、横須賀市立市民病院 倫理委員会および日本大学医学部附属板橋病院 臨床研究審査委員会の承認の下、妊婦よりインフォームドコンセントを得て提供された臍帯組織サンプルを用いて行った。長さ約10cmの臍帯組織から、臍帯動脈を機械的に剥離し、コラゲナーゼ処理後、磁気ビーズ法にてp75NTR陽性細胞を単離した結果、 $1\sim 3 \times 10^4$ のp75NTR陽性細胞を取得することができた。細胞表面抗原解析を行った結果、p75NTR陽性細胞はMSCマーカーPDGFR・陽性、CD90陽性、血管周皮細胞マーカーCD146陽性、NG2陽性を示し、一方、内皮細胞マーカーであるvon Willebrand Factorや造血幹細胞マーカーCD34は陰性を示した。遺伝子発現解析においてp75NTR陽性細胞は、初期神経マーカーNestin、Musashi-1や、神経堤マーカーTwist、Slug、FoxD3などの発現を認めた。またニューロスフェアアッセイにおいて、p75NTR陽性細胞はNestin陽性を示すニューロスフェアの形成が高頻度に認められた。以上の結果より、ヒト臍帯動脈内皮直下に神経堤由来未分化細胞が存在することが明らかになった。今後、臍帯動脈p75NTR陽性細胞を単離増幅し、脊髄損傷などの難治性神経疾患の神経損傷部位に移植することにより、神経再生治療への応用が期待できると思われる。これらの研究成果は、第33回日本造血細胞移植学会総会・ワークショップ(平成23年3月)、第32回日本炎症・再生医学会(平成23年6月)、第7回日本大学先端バイオフォーラム(平成23年12月)等にて発表を行った。

2. 臍帯幹細胞のスクリーニングと細胞治療への応用

妊婦より提供を受けた合計15検体の臍帯を用いて臍帯幹細胞のスクリーニングを行った結果、臍帯動脈、臍帯静脈、Wharton's Jelly領域ともにCFU-Fコロニー形成能を有するMSC様細胞が存在することが示され、その存在率はWharton's Jelly領域で最も高いことが明らかとなった。またCD105やPDGFR β などのMSCマーカーを指標に形質解析を行った結果、Wharton's Jelly領域だけでもMSCマーカーの発現プロファイルや局在部位が異なる複数のMSC様細胞が存在することが明らかになった。Wharton's Jelly由来MSC(WJ-MSC)の免疫抑制能を検討するために、ヒトCD3陽性Tリンパ球をWJ-MSC存在下または非存在下に抗CD3/CD28抗体で刺激し、3日後にT細胞の増殖反応に対するWJ-MSC共培養の効果をフローサイトメトリーにて解析した。その結果、WJ-MSC細胞数依存性にT細胞の増殖が抑制されることが明らかになった。この結果より、WJ-MSCは免疫抑制能を有することが示唆された。ヒト臍帯組織に存在する造血ニッチ細胞を同定する目的で、造血ニッチ細胞のマーカーであるSDF-1およびSSEA-4に対する免疫組織染色を行い、その局在解析を行った。その結果、臍帯及び胎盤の羊膜がSDF-1、SSEA-4二重陽性を示すことが明らかになった。そこで胎盤より羊膜を剥離後、コラゲナーゼを用いて羊膜細胞を単離し、細胞表面抗原解析および細胞増殖能の評価を行った。その結果、SDF-1、SSEA-4二重陽性を示す細胞は、CD105陽性、サイトケラチン19陰性であり、羊膜間葉系細胞であることが明らかになった。単離した羊膜由来細胞は高い増殖能を示し、8代以上の継代培養が可能であった。これらの所見より、臍帯および胎盤羊膜には、造血微小環境を構築できる造血ニッチ細胞の存在が示唆された。現在、培養増殖させた羊膜間葉細胞と臍帯血CD34⁺造血幹細胞との共培養実験を行い、羊膜間葉細胞が実際に造血幹細胞増殖維持能を有するか検証を行っている。

部科校名：医学部

氏名：麦島 秀雄

研究結果（つづき）

造血幹細胞移植後の移植片対宿主病 (GVHD) に対する細胞治療の効果を検討するため、マウス急性 GVHD モデルの作出を試みた。ドナーを C57BL/6 マウス、レシピエントを B6D2F1 マウスとし、急性 GVHD が再現性よく誘導できる至適条件 (照射放射線量、移植するドナー骨髄単核球細胞数や脾臓 CD3⁺T 細胞数など) を検討した。移植 56 日後にフローサイトメーターによる骨髄細胞のキメリズム解析を行い、ドナー骨髄の生着を確認すると共に、経時的に体重減少率、急性 GVHD の臨床スコア、生存率を測定し、急性 GVHD の評価を行った。その結果、レシピエントマウスに 11Gy の放射線投与を行い、24 時間後にドナーマウスからの骨髄単核球 1×10^7 および脾臓 CD3⁺細胞 3×10^6 を移植することで、移植 7 日後より著明な体重減少が認められるようになり、21 日後には活動性低下、亀甲、脱毛といった急性 GVHD の所見が認められるようになった。そして移植 50 日後までに検討した全例のマウスが死亡した。骨髄細胞のキメリズム解析の結果、検討した全例のマウスで骨髄細胞の 95% 以上がドナー由来細胞に置換されていることが明らかになった。以上の結果から、上記条件により骨髄移植後の急性 GVHD を再現性よく誘導できることが明らかになった。今後このマウスに免疫抑制性細胞 (WJ-MS-C) を移植し GVHD 抑制効果を検討する予定である。

臍帯血由来免疫抑制性細胞の自己免疫疾患への治療効果を検討するため、慢性腸炎モデルの作出を試みた。免疫不全 (SCID) マウスに正常免疫能を有するマウス脾臓から分離した CD4⁺, CD45RB^{hi/lo} T 細胞 (制御性 T 細胞を除くエフェクター T 細胞分画) を腹腔内投与し、経時的に体重変化、慢性腸炎の臨床・組織学的スコアを測定し、慢性腸炎の所見を評価した。脾臓由来 CD4⁺, CD45RB^{hi/lo} T 細胞の至適投与細胞数を検討した結果、 3×10^5 の細胞を投与したときに、早期に死亡せず、3 週間後より体重減少と、下血などの典型的な慢性腸炎の所見を示した。組織学的には慢性腸炎に特徴的な大腸の粘膜筋板を超える細胞浸潤や、杯細胞の減少、陰窩の増高・破壊所見が認められた。このように、免疫過剰反応によって誘導される慢性腸炎のマウスモデルの作出に成功した。今後このモデルに免疫抑制性細胞 (WJ-MS-C) を経静脈的に移植し、腸管炎症改善効果があるか検討する。

3. 臍帯血移植における生着促進を目的とした細胞治療法の確立

前年度の検討により、骨髄破壊的前処置に相当する線量の放射線照射によって、骨髄ストローマ細胞の減少や、SDF-1 の発現・分泌が低下し、移植した細胞の骨髄へのホーミングが傷害されることが明らかになった。骨髄と異なり臍帯血中には造血ニッチ細胞の含有が少ないため、臍帯血移植に伴い造血ニッチ細胞を補充するといった細胞治療法が考えられる。特に SDF-1 を高発現する MSC が、臍帯血移植における生着促進を目的とした細胞治療に用いる細胞として有望であることが示唆された。そこで放射線照射による骨髄破壊的処置を行った免疫不全 (NOD-SCID) マウスにヒト臍帯血造血幹細胞 (CD34⁺細胞) を移植し、ヒト血液細胞の生着能を評価できるマウスモデルの作出を試みた。また SDF-1 を高発現することが明らかになっている脱分化脂肪細胞 (DFAT) を尾静脈より同時投与し、経時的に骨髄および末梢血のヒト血液細胞を FACS にて解析し、SDF-1 高発現細胞が臍帯血生着を促進する作用があるか検討した。NOD-SCID マウスに 3Gy の放射線照射を行った後、ヒト臍帯血 CD34⁺細胞単独 (Control 群) またはヒト CD34⁺細胞とマウス DFAT (DFAT 群) を尾静脈より投与した。移植 12 週間後に末梢血および骨髄細胞を採取し、ヒト血液細胞の各分画について解析した。その結果、ヒト臍帯血 CD34⁺細胞を 5×10^4 投与した実験では、Control 群に比べ DFAT 群では末梢血および骨髄中のヒト血液細胞 (CD45⁺) の割合が高くなる傾向が認められたが、Control 群でもヒト血液細胞の生着が生じたため、両群間に有意差はなかった。そこでヒト臍帯血 CD34⁺細胞を 1×10^4 へと減らして検討した結果、Control 群ではヒト CD45⁺細胞はほとんど生着しなかったのに対し、DFAT 群では 13 匹中 9 匹でヒト CD45⁺細胞が生着するようになった。また、骨髄の造血幹細胞、B 細胞、単球などの各分画も DFAT 群で有意に高値を示した。以上の結果より、臍帯血生着不全モデルを確立するとともに、SDF-1 高発現細胞が臍帯血の生着促進効果があることを明らかにした。本研究成果は、第 34 回日本造血細胞移植学会総会・ワークショップ (平成 24 年 2 月) にて発表を行った。今後このモデルを用いて、羊膜 SDF-1 高発現細胞の移植効果を評価する予定である。

注：必要に応じて、このページをご使用ください。

課題番号	総 11-018
	継続 総 10-028

平成23年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成 24年 4月 11日

日本大学 総長 殿

氏 名 岡山吉道



所属・資格 医学部・准教授

下記のとおり報告いたします。

1 研究課題 ヒトマスト細胞活性化阻害によるアレルギー疾患の新規治療薬の開発		
2 研究組織		
氏 名	所属部科校・資格	役割分担
○研究代表者名 岡山吉道	医学部・准教授	研究総括、ヒトマスト細胞実験、統計処理、論文作成、外部資金の応募
○研究分担者 浅野正岳	歯学部・准教授	病理学的診断
秋久俊博	生物資源科学部・教授	創薬化学
照井正	医学部・教授	ヒト皮膚マスト細胞実験指導
権寧博	医学部・准教授	ヒト上皮細胞実験
3 本研究に関連して外部資金への申請状況、獲得状況		
<p>文部科学省科学研究費補助金</p> <p><u>基盤研究(C)</u> 平成23-25年度 課題名「RSウイルスとライノウイルスによるヒトマスト細胞活性化機構と喘息への関与の解明」研究代表者(岡山)、配分額 2011年度:2210千円(直接経費:1700千円, 間接経費:510千円) 計画額 2012年度:1950千円(直接経費:1500千円, 間接経費:450千円) 2013年度:1040千円(直接経費:800千円, 間接経費:240千円)</p> <p><u>基盤研究(C)</u> 平成22年度 課題名「ヒト高親和性IgE受容体ベータ鎖のマスト細胞と好塩基球での発現と役割」研究代表者(岡山)、配分額 2010年度:910千円(直接経費:700千円, 間接経費:210千円)</p> <p><u>基盤研究(B)</u> 平成22-23年度 課題名「FcεRIβ鎖によるマスト細胞活性化機構の解明とその制御」研究分担者(岡山)、配分額 総額:12870千円 2010年度:7020千円(直接経費:5400千円, 間接経費:1620千円) 2011年度:5850千円(直接経費:4500千円, 間接経費:1350千円)</p> <p>平成23年度第1回研究成果展開事業 研究成果最適展開支援プログラム(A-STEP)フィージビリティスタディ・ステージ 探索タイプ課題名「ヒトマスト細胞活性化阻害によるアレルギー疾患の新規治療薬の開発」研究代表者(岡山)、配分額 研究開発実施期間:平成23年8月1日~平成24年3月31日:1700千円(直接経費:1530千円, 間接経費:170千円)</p> <p>平成24年度厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業) 研究課題名(課題番号):重症呼吸器ウイルス感染症のサーベイランス・病態解明及び制御に関する研究(H22-新興-一般-011) 研究分担者(岡山)、分担配分額 1500千円</p>		

※「6 研究結果」について、ホームページ等での公開 可・否 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：医学部

氏名：岡山吉道

4 研究目的

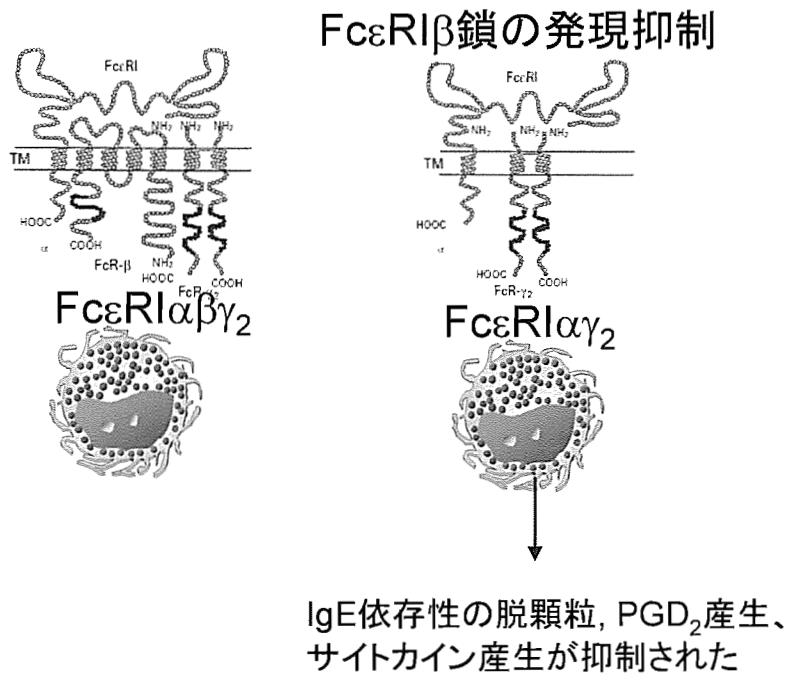
- 目的 1) $Fc\epsilon RI\beta$ 鎖が IgE 依存性のヒトマスト細胞の活性化を制御していることを明らかにする。
- 目的 2) $Fc\epsilon RI\beta$ 鎖の ITAM motif のチロシン残基をリン酸化させたペプチドがヒトマスト細胞の活性化を抑制できるかを調べる。
- 目的 3) $Fc\epsilon RI\beta$ 鎖の ITAM motif のチロシン残基をリン酸化させたペプチドがアレルギー患者の粘膜組織におけるヒトマスト細胞の活性化を抑制することを *ex vivo* で示す。
- 目的 4) マウス $Fc\epsilon RI\beta$ 鎖の ITAM motif のチロシン残基をリン酸化させたペプチドがマウスのアレルギー反応を *in vivo* で抑制することを示す。
- 目的 5) Lyn をもつマスト細胞、好塩基球以外の細胞における β 鎖の ITAM motif のチロシン残基をリン酸化させたペプチドの影響を検討する。

5 研究概要

$Fc\epsilon RI$ の架橋後の脱顆粒および脂質メディエーターの産生能、サイトカイン産生能における β 鎖の役割を検討する目的にてレンチウイルスベクターを用いた shRNA 技術にてヒト末梢血由来培養マスト細胞 $Fc\epsilon RI\beta$ 鎖の発現抑制をおこなった。 $Fc\epsilon RI\beta$ 鎖の発現が抑制されたマスト細胞では $Fc\epsilon RI$ の架橋による脱顆粒、 PGD_2 産生、サイトカイン産生は統計学的有意に抑制された。また、 $Fc\epsilon RI\beta$ 鎖の ITAM のチロシン残基をリン酸化させたペプチドがアレルギー患者の粘膜組織におけるヒトマスト細胞の活性化を *ex vivo* で抑制した。 β 鎖の発現が抑制されたマスト細胞では Lyn の細胞膜への移行が阻止されていることがわかった。Lyn の細胞膜への移行を阻止するため、 $Fc\epsilon RI\beta$ 鎖の ITAM のチロシン残基をリン酸化させたペプチドをマスト細胞へ導入すると IgE 依存性の活性化が抑制された。 $Fc\epsilon RI\beta$ 鎖の ITAM のチロシン残基をリン酸化させたペプチドは細胞内 Lyn に会合し、Lyn が細胞膜へ移行するのを抑制していることが共焦点顕微鏡を用いた検討にて確認した。自然免疫に重要な細胞である単球のセルラインである U937 細胞を用いて検討したが、この細胞での IL-8 産生はペプチドで抑制されなかった。

6 研究結果 (4,000字以上記入してください。)

1. **FcεRIβ鎖**は**FcεRI**のシグナル増幅因子である。FcεRIの架橋後の脱顆粒および脂質メディエーターの産生能, サイトカイン産生能におけるFcεRIβ鎖の役割を検討する目的にてレンチウイルスベクターを用いたshRNA技術にてヒト末梢血由来培養マスト細胞FcεRIβ鎖の発現抑制をおこなった。FcεRIβ鎖の発現が抑制されたマスト細胞ではFcεRIの架橋による脱顆粒、PGD₂産生、サイトカイン産生は統計学的有意に抑制された(未発表)。FcεRIの架橋後にβ鎖はLynなどのSrc kinaseによってITAMのチロシン残基がリン酸化され、同時にチロシンリン酸化されたβ鎖ITAMにLynが会合し、Lynが細胞膜へ移行するが、FcεRIβ鎖の発現が抑制されたマスト細胞ではLynの細胞膜への移行が阻止されていることがわかった(下図)。



FcεRI aggregation	control shRNA			FcεRIβ shRNA		
	image	FcεRIβ	Lyn	image	FcεRIβ	Lyn
-						
(1 min)						
+						

FcεRIβの発現抑制によりFcεRIαの架橋によるヒトマスト細胞のLynの細胞内局在の変化は抑制された

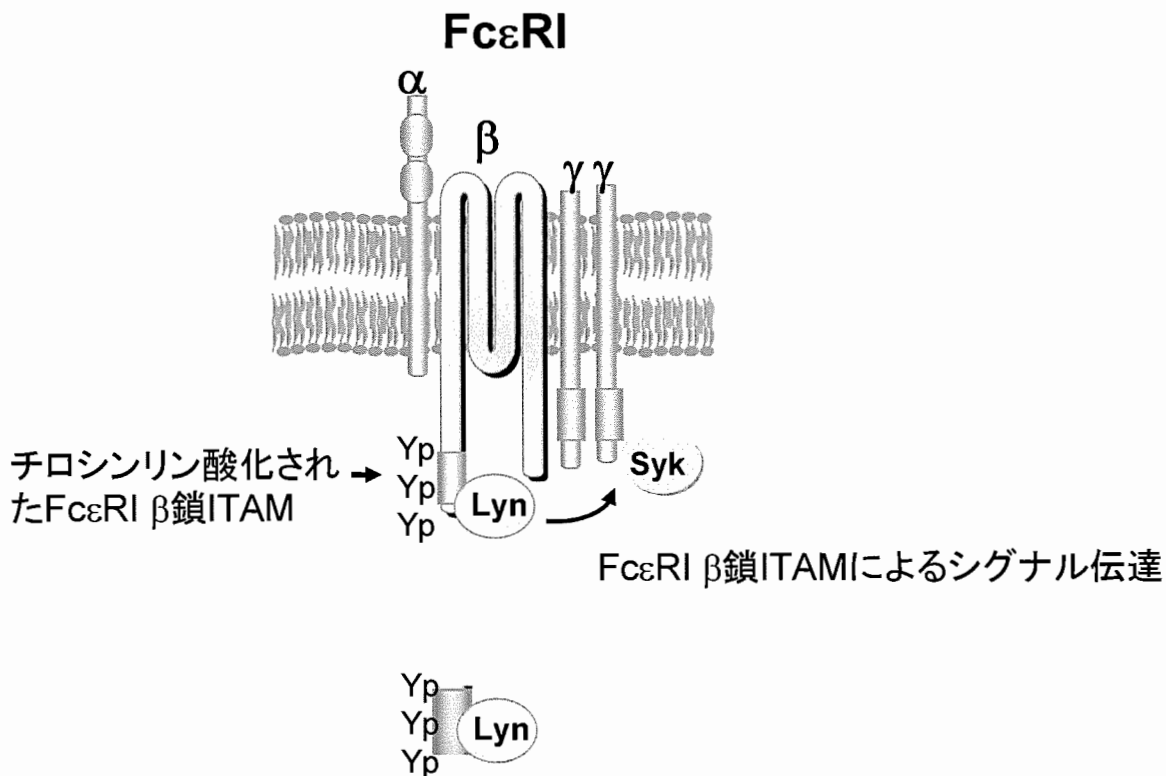
部科校名：医学部

氏名：岡山吉道

研究結果（つづき）

したがってFcεRIβ鎖がIgE依存性のヒトマスト細胞の活性化を制御していることがこれらのデータから示唆され、Lynの細胞膜への移行を阻止することがIgE依存性のヒトマスト細胞の活性化を抑制できるのではないかと考えドミナントネガティブな効果を期待しFcεRIβ鎖のITAMチロシン残基をリン酸化させたペプチドに細胞膜透過性ペプチドを結合させたペプチドを作製しその効果を検討した（下図）。

2. FcεRIβ鎖のITAMのチロシン残基をリン酸化させたペプチドがヒトマスト細胞の活性化を抑制した。FcεRIβ鎖のITAMのチロシン残基をリン酸化させたペプチドはLynに会合した。ヒトマスト細胞をヒトリコンビナントIgE (1 μg/ml)で24時間感作したのち、洗浄し、このペプチドあるいはコントロールのペプチド5 μMと細胞を10分37°Cでインキュベートし、抗IgE抗体あるいはcalcium ionophoreで30分37°Cでインキュベートしたのちの細胞上清中に遊離されたヒスタミンを測定したところFcεRIβ鎖ITAMのチロシン残基を3つリン酸化したペプチドおよび外側2つのチロシン残基をリン酸化したペプチドがIgE依存性の脱顆粒を統計学的有意に抑制した。



細胞内に投与されたチロシンリン酸化されたFcεRI β鎖ITAMペプチドはLynと会合し、Lynのβ鎖への会合を抑制



ヒトマスト細胞の活性化の抑制

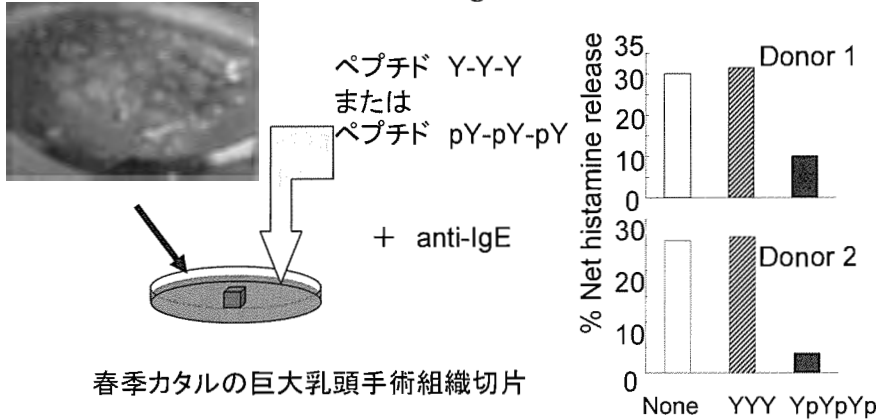
部科校名：医学部

氏名：岡山吉道

研究結果 (つづき)

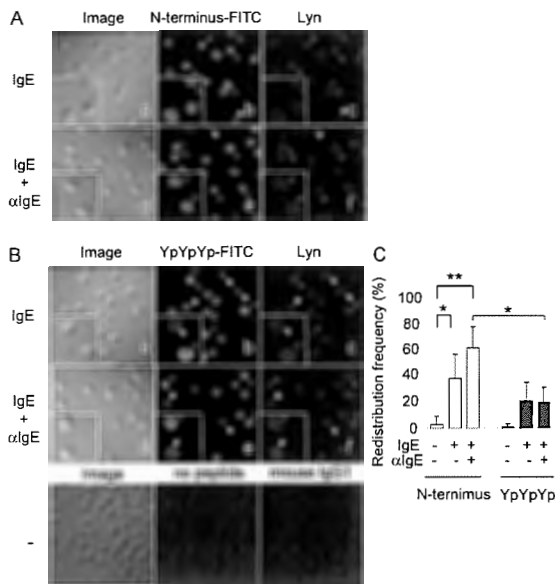
3. **FcεRIβ鎖の ITAM のチロシン残基をリン酸化させたペプチドがアレルギー患者の粘膜組織におけるヒトマスト細胞の活性化を *ex vivo* で抑制した。**

手術で得られたアレルギー疾患患者（アトピー性角結膜炎および春季角結膜炎）および健常人の結膜切片を細切し、無血清培地でこのペプチド(YpYpYp)とコントロールペプチド(YYY)を加え、抗 IgE 抗体を加えインキュベートし、組織上清と組織中のヒスタミンを測定したところ、FcεRIβ鎖の ITAM のチロシン残基をリン酸化させたペプチドが IgE 依存性の脱顆粒を有意に抑制した（下図、未発表）。



春季カタルの巨大乳頭手術組織切片

4. **FcεRIβ鎖の ITAM のチロシン残基をリン酸化させたペプチドがヒトマスト細胞の活性化を抑制した機序を検討した。** FcεRIβ鎖の ITAM のチロシン残基をリン酸化させたペプチドは細胞内 Lyn に会合し、Lyn が細胞膜へ移行するのを抑制していることが共焦点顕微鏡を用いた検討にて確認した。



部科校名：医学部

氏名：岡山吉道

研究結果 (つづき)

上記の図はペプチドが導入された細胞はペプチドを FITC 標識しているため緑色に発色している。Lyn は赤色に染色されている。コントロールペプチド(N-terminus)が導入されたマスト細胞ではマスト細胞を IgE + anti-IgE で活性化した後、約 60%のマスト細胞の Lyn は細胞膜付近に移動し、ring 様に赤く染色されるが FcεRIβ鎖の ITAM のチロシン残基をリン酸化させたペプチド(YpYpYp)の入ったマスト細胞ではマスト細胞を IgE + anti-IgE で活性化した後、約 20%のマスト細胞においてのみ Lyn の細胞膜付近への移動が観察された。

4. Lynをもつマスト細胞、好塩基球以外の細胞におけるβ鎖のITAMのチロシン残基をリン酸化させたペプチドの影響を検討する。

U937 セルライン(単球系のセルライン)を IFN-γでインキュベートし細胞表面の高親和性 IgG 受容体 FcγRI の発現を増加させたのち、FcεRIβ鎖の ITAM のチロシン残基をリン酸化させたペプチドと ITAM のコントロールペプチドを加え、ヒツジ抗マウス IgG 抗体(GAM)を用いて FcγRI を架橋させた。24 時間後に上清を回収し、IL-8 産生に対する影響を比較検討した。

実験 1.

(peptide A) YYY-FITC

AAVLLPVLLAAP-KVPEDRVYEELNIYSATYSELEDPG-FITC

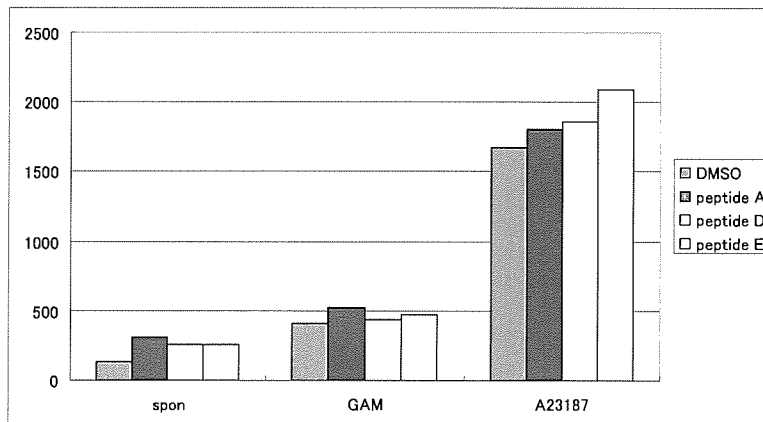
(peptide D) YpYpYp-FITC

AAVLLPVLLAAP-KVPEDRVY(p)EELNIY(p)SATY(p)SELEDPG-FITC

(peptide E) N terminus-FITC

AAVLLPVLLAAP-MDTESNRRANLALPQEPSSVPAFEV-FITC

IL-8 産生(pg/mL)



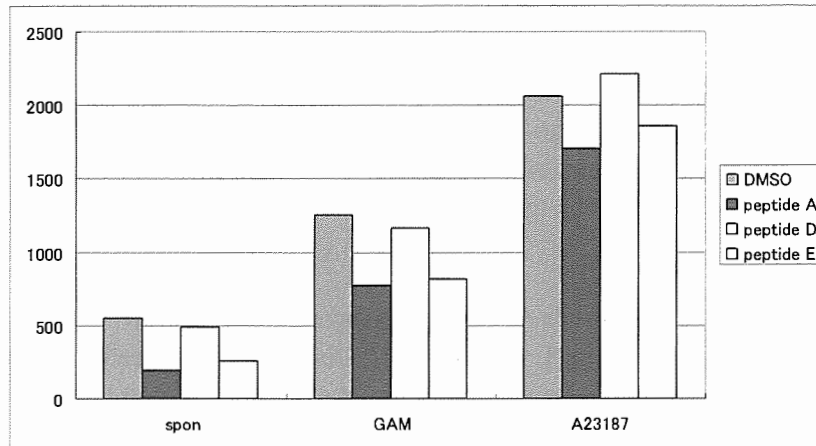
部科校名：医学部

氏名：岡山吉道

研究結果（つづき）

実験 2

IL-8 産生(pg/mL)



上記のグラフに示すとおり、2実験で(peptide D) YpYpYp-FITC は、ヒツジ抗マウス IgG 抗体(GAM)による Fc γ RI の架橋後の、IL-8 産生に対して何ら影響を及ぼさなかった。

5. マウス Fc ϵ RI β 鎖の ITAM motif のチロシン残基をリン酸化させたペプチドがマウスのアレルギー反応を *in vivo* で抑制することを示す

Fc ϵ RI β 鎖の ITAM motif のチロシン残基をリン酸化させたペプチドを *in vivo* でマウスに投与するには大きすぎることに、また、アレルギー疾患の治療薬として技術移転されるためには、このペプチドが 25 アミノ酸からなるため (KVPEDRV-pY-EELNI-pY-SAT-pY-SELEDPG ; pY はリン酸化したチロシン残基)、このなかで必須のアミノ酸だけを残し、短くしたものを作成する必要があり平成 23 年度第 1 回研究成果展開事業 研究成果最適展開支援プログラム(A-STEP)フィージビリティスタディ・ステージ 探索タイプ課題名「ヒトマスト細胞活性化阻害によるアレルギー疾患の新規治療薬の開発」の支援を受けて、現在 14 アミノ酸まで短縮できる可能性が高まった。

部科校名：医学部

氏名：岡山吉道

研究結果 (つづき)

論文発表の有無	<input checked="" type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無	<p>Kajiwara N, Sasaki T, Bradding P, Cruse G, Sagara H, Ohmori K, Saito H, Ra C, <u>Okayama Y</u>: Activation of human mast cells through the platelet activating factor receptor. J Allergy Clin Immunol 125(5):1137-1145, 2010.</p> <p><u>Okayama Y</u>, Kashiwakura J, Sasaki-Sakamoto T, Matsumoto K, Hashimoto N, Ohmori K, Kawakami T, Saito H, Ra C. Omalizumab inhibits acceleration of FcεRI-mediated responsiveness of immature human mast cells by IgE. Ann Allergy Asthma Immunol 108(3): 188-194, 2012.</p> <p><u>Okayama Y</u>, Matsuda A, Sasaki T, Nunomura S, Ohmori K, <u>Gon Y</u>, <u>Asano M</u>, <u>Akihisa T</u>, <u>Terui T</u>, Saito H, Ra C. Distribution and localization of FcεRIβ subunit in human mast cells. Int Arch Allergy Appl Immunol 2012, In press.</p> <p><u>岡山吉道</u>, 松田彰, 布村聡, 佐々木朋美, 羅智靖: マスト細胞と高親和性 IgE 受容体 beta 鎖 臨床免疫・アレルギー科 53(5):481-485, 2010.</p> <p><u>岡山吉道</u>, 梶原直樹, 佐々木朋美, 羅智靖: 血小板活性化因子 (platelet activating factor; PAF)によるマスト細胞活性化 アレルギー・免疫 17(6):124-129, 2010.</p> <p><u>岡山吉道</u>, <u>権寧博</u>, <u>浅野正岳</u>, <u>秋久俊博</u>, <u>照井正</u>, 羅智靖: PAF レセプターによるマスト細胞の活性化 臨床免疫・アレルギー科 54(2): 149-154, 2010.</p> <p><u>岡山吉道</u>, 松田彰, 佐々木朋美, 羅智靖: アトピー関連遺伝子 ST2, IL-33 のアレルギー疾患における発現とその機序 臨床免疫・アレルギー科 54(5):553-557, 2010.</p> <p><u>岡山吉道</u>, 柏倉淳一, 権寧博, 相良博典, 大森一光, 照井正, 橋本修, 羅智靖: マスト細胞 救急医学 35(5): 533-535, 2011.</p> <p><u>岡山吉道</u>, 柏倉淳一, <u>照井正</u>, <u>権寧博</u>, <u>浅野正岳</u>, <u>秋久俊博</u>, 羅智靖: マスト細胞の Fcε レセプター-I β鎖による IgE 依存性の脱顆粒抑制 臨床免疫・アレルギー科 56(5):648-653, 2011.</p>
特許出願の有無	<input checked="" type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無	<p>「新規ヒトマスト細胞活性化阻害ペプチド、特願 2009-206324 号 出願日 2009-9.7、国際特許出願 (出願番号: PCT/JP2010-065689 出願日: 2010-9.7)」</p>

平成23年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成24年4月1日

日本大学総長 殿

氏 名 中山壽之



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 研究課題 画像解析による肝細胞癌形態分類システムの樹立		
2 研究組織		
氏 名	所属部科校・資格	役割分担
○研究代表者名 中山壽之	医学部・専任講師	総括、データ解析
○研究分担者 高山忠利	医学部・教授	統計解析
伊藤彰義	理工学部・教授	画像解析
大久保貴生	医学部・講師(専任扱い)	データベース構築
檜垣時夫	医学部・助教	臨床データ集積
合計5名		
3 本研究に関連して外部資金への申請状況、獲得状況		
平成25年度科学研究費補助金に申請準備中: 本研究は平成24年度日本大学学術研究助成金の継続研究となったため、その成果をもって科学研究費に申請する計画である。		

※「6 研究結果」について、ホームページ等での公開(☑・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：医学部

氏名：中山壽之

4 研究目的

- 本研究の目的は、肝細胞癌(以下 HCC)の術前 CT 画像から独自の画像解析システムを用いて客観的で普遍性のある新たな肉眼分類法を開発することである。

〈背景〉 HCC は東アジア、南欧、地中海沿岸を中心に世界各地で発生する悪性腫瘍である。近年は超音波検査、CT 検査、MRI 検査などの発達により早期診断が可能となり外科的切除も積極的に施行されている。しかし、いまだ我が国では年間 3 万人が死亡している。患者の予後改善のために個々の腫瘍特性に応じた治療方法が求められている。特に HCC は門脈血行性に進展し容易に肝内転移を形成するが、術前診断において、どの程度このポテンシャルを有する癌腫であるかを判定することは困難である。従来、HCC の腫瘍形態は切除標本を判定し分類されたものであり、術前判定された形態分類はほとんど報告を見ない。また既報の分類は病理医の判定によるものであり人為的主観が混入する可能性は避けられなかった。

〈目的〉 本研究では術前 HCC の画像データから、新規に画像解析システムを開発し、従来にない形態分類法を構築することである。研究の第一段階は独自の画像解析システムを開発し、生の画像データから腫瘍の形態特性を数値化することである。第二段階は統計学的手法を用いて、各画像の数量化データをパターン化分類する。第三段階は新たな肉眼形態分類と患者予後との相関関係を評価することである。

5 研究概要

〈方法〉 CT 画像のデジタルデータを集積し、癌形態を数値化できる画像解析システムを開発することを第一目標とする。さらにデータ解析し臨床応用する。

1)画像データ集積

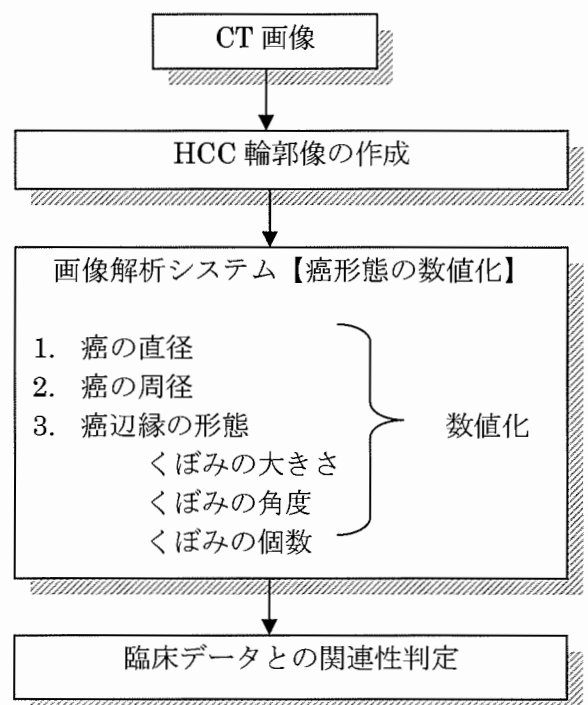
肝切除術を施行された HCC 患者の術前 CT 画像から HCC 輪郭像を作成する。画像トレーシングシステムを用いて腫瘍最大径の部位で輪郭を抽出する。これにより腫瘍の形態をデジタルデータとして取り扱うことが可能となる。

2)画像情報の数値化システム構築

癌の形態は直径、周径、辺縁の形態(凹みの大きさ、角度、個数)などで特徴づけられる。これらを定量的に測定できるよう数値化する新規システムを開発する。

伊藤研究室ではピクセル単位で画像を計測する技術を有しており、これらに応用することで対応する。

3)分類システム構築、臨床データとの比較
 数値化された画像データを用いて臨床応用する。



部科校名：医学部

氏名：中山壽之

6 研究結果 (4,000字以上記入してください。)

<患者選択>

対象は2004年1月から2009年12月に肝切除を施行された肝細胞癌468例から選択された。233例は非治癒切除、他臓器癌合併、ヨード過敏症、CT検査未施行などの理由により除外された。のこり235が検討の対象となった。患者は175人の男と60人の女で構成され、年齢中央値は70歳(範囲36-83)であった。全ての患者に対して術前にルーチンに血液生化学検査(血清アルブミン、総ビリルビン、プロトロンビン活性値、B型肝炎関連因子、C型肝炎関連因子など)、腹部造影CTスキャンが施行された。肝切除適応は、indocyanine green retention rate 15分値(ICGR15)に基づく切除範囲決定法に従って決定された。画像診断で肝癌と診断された全ての腫瘍は根治的に切除された。肝機能評価はChild-Pugh分類、肝癌評価は原発性肝癌取扱い規約に沿って判定された。

<画像選択>

対象患者に対するCT撮影は単純撮影と非イオン性造影剤を600mg/kgを注入後20秒、60秒、120秒のマルチフェイズ造影撮影が施行された。撮影されたHCCのCT画像から腫瘍の輪郭像を抽出し、分類に使用した。複数の腫瘍を有する患者では最大径の腫瘍のみが今回の分析に使用された。最初に放射線科医師によりCTが確認され、典型的肝癌と診断された後に、その腫瘍最大径における輪郭がトレースされた。トレース図形は、本研究で新規開発された画像解析システムによりピクセル単位で計測され、腫瘍輪郭の凸凹の程度が評価された。

<病理学的解析>

肝癌の個数、直径、組織学的分化度、脈管侵襲、肝内転移、肝線維化が全ての切除標本において観察された。組織学的分化度はEdmondson分類に従い、最終的に2人以上の肝臓病理医により肝癌取扱い規約上の肉眼分類が判定された。

<統計学的検討>

統計学的検討はKruskal-Wallis検定、Bonferroni分析、主成分分析、クラスター分析が使用された。患者生存解析にはKaplan-Meier法が用いられ、生存率比較にはlog-rank検定が使用された。全ての分析は棟計ソフトSPSSを用いて検討され、 $P < 0.05$ を持って有意差ありと判定された。

<画像解析>

本研究ではトレースされた腫瘍輪郭像のみに注目し内部構造は検討されなかった。腫瘍輪郭の凸凹を数値化するに当たってくぼみ領域を抽出する方法の開発に成功した。画像解析に2つのアルゴリズムを用いた。1つは「くぼみ領域の有無を検出するアルゴリズム」である。ある図形内の任意の2つの画素を結ぶ線分が、その図形の内部の画素のみを通過するとき、この図形はくぼみが無く、凸と呼ばれる。この凸凹性を調査するアルゴリズムを用いてくぼみ領域を検出した。次に「くぼみ領域を埋めるアルゴリズム」である。図形内の任意の2つの画素を結び、その画素を塗りつぶし行くとくぼみ領域を含む図形内の領域が全て塗りつぶされる。最終的にこの2つのアルゴリズムから「くぼみ領域を埋めるアルゴリズム」-「くぼみ領域を検出するアルゴリズム」でくぼみ領域を抽出した。

CT画像からトレースされた腫瘍領域から腫瘍径、面積、周囲長が計測された。さらに今回のアルゴリズムで検出されたくぼみ領域から、個数、面積、くぼみの深さ、底辺、周囲長、先鋭度が計測された。これらの値から複数の分析を行った結果、「腫瘍周囲長に対するくぼみ周囲長の割合」、「腫瘍面積に対するくぼみ面積の割合」、「くぼみ深さのくぼみ底辺に対する比率にくぼみ面積を乗じたもの」が腫瘍評価因子として挙げられた。

部科校名：医学部

氏名：中山壽之

<腫瘍評価因子の意義>

「腫瘍周囲長に対するくぼみ周囲長の割合」：癌の周囲長に対してくぼみ周囲長の値が大きい症例で増加する因子。従来の報告では腫瘍径が増加するに従い脈管侵襲や肝内転移が多く発生することが知られている。腫瘍とくぼみ領域の大きさを定量測定し病理因子と比較することにより予後判定につながるものが予測される。

「腫瘍面積に対するくぼみ面積の割合」：癌の面積に対しくぼみ面積の割合が大きい症例では増加する因子。従来の報告では単結節周囲増殖型に置いて脈管侵襲や肝内転移が多く発生することが知られており、周囲に増殖した腫瘍がくぼみ面積と関連している可能性が示唆される。本因子により従来の肉眼分類を術前に類推できる可能性がある。

「くぼみ深さのくぼみ底辺に対する比率にくぼみ面積を乗じたもの」：尖っているくぼみを多く持ち、癌の面積に対するくぼみ面積の割合が大きい症例で増加する因子。従来の報告に無い評価方法であり現意義を確認中である。

<客観性の検証>

前述の因子は腫瘍形態をトレースして得られたものであるが、元のトレースの客観性を検証するため3検者によりトレースを行った。それぞれの検者から得られた画像データについて相関関係を求めたところ $r=0.8\sim 0.9$ と非常に密接な関連性を認めた。このことより、本研究により得られたデータは、仮に第三者が実施しても同様の結果が得られる普遍性を持つ可能性が高いと思われた。

<評価因子の絞り込みと臨床応用>

上記3因子から分離度が良く合目的に画像の特徴を表現できる因子を検討中である。全ての因子を用いることは臨床応用において煩雑であり、より簡便に使用できるように因子の絞り込みが重要である。その基準として画像的に分離度が良く、肉眼的にも分類して矛盾の無いものが望ましい。最終的には1因子で代表させたいが、困難な場合は2因子に絞り込み主成分分析で1因子化させる方針である。

さらに最終決定された因子を用いて形態分類を行い、臨床病理学的特徴との比較検討を行う必要がある。客観的に評価された輪郭像数値化データを、クラスター分類法を用いて公平に形態分類を行う予定である。平成23年度の内には最終的な分類には至っていないが、テストサンプルを用いて分類した結果3~5形態に分類できることが分かった。次年度の継続研究では、はさらに詳細に検討し普遍的な分類作成を目指している。従来の肉眼分類は切除標本の断面を病理医が視認法で確認し判定されていたが、主観的な成分が含まれる危険性が残っている。われわれの分類法が完成することにより客観的で公平な分類が行われるものと考えられている。また継続研究で患者累積生存率、無再発生存率、病理学的因子などとの関連性を評価する予定である。現在、臨床データを集積している。

<腫瘍の形態分類と患者予後予測との関連性>

Kanaiらは1987年に3cm以下のHCCを対象に肉眼分類を提唱し、それは病理学的門脈腫瘍栓(macroscopic portal vein tumor thrombus: vp)と密接な関連性があることを報告した。また、Wakaiらは術前CTで描出された112人のHCC形態を調査し、肉眼的にlobular type, non-lobular typeに分類し前者の生存が良好であることを報告した。このように腫瘍の形態は、時に患者の予後を規定する因子となるため、われわれの分類法が患者予後といかなる関連性があるかを因子分析する必要がある。平成23年度内において最終的な分類は未決定であるが、上記テストサンプルによる分類では、「腫瘍面積に対するくぼみ面積の割合」および「くぼみ深さのくぼみ底辺に対する比率にくぼみ面積を乗じたもの」が小さいほど脈管侵襲が少なく予後良好である傾向が認められた。術前の画像データから客観的に予後を判定できる可能性があるため、継続研究に置いて一層の検証を行う予定である。

部科校名：医学部

氏名：中山壽之

〈三次元 CT 画像解析に対する準備状況〉

継続研究の課題として近年、急速に発達している 3D 画像への対応が挙げられる。HCC は球形を呈しており、膨張性に発育するという生物学的特徴を有している。今回の研究では腫瘍の最大径における CT 画像 (2D) のみを評価対象としたが、腫瘍の全スライスを評価することにより一層の臨床病理学的特徴が得られる可能性がある。テストケースとして 3D 構築された画像を用いて、2D と同様の検証を行った。その結果、時間を要するが立体画像を解析することは可能であり、表面を構成する画素を定量化できることが判明した。しかし問題点として 1) 3D を構築し解析するには通常のワークステーションでは長時間 (テストサンプルで 1 検体 48 時間) を要した。スーパーコンピュータを用いると解析速度を向上できるが、汎用性に乏しく臨床応用は困難である。2) 3D から得られた画素データは複雑であり、どのような因子が腫瘍の形態を合目的に表現できるかを決定するには多数の症例による検証が必要である。3) 取り扱うデータ容量が巨大なものとなり保存、処理に時間を要する。などが挙げられた。これらを解決する方法として、テストサンプルを用いた検証において、腫瘍表面を構成する全ての画素を測定するのではなく、代表的な部分のみを測定する方法であるとか、計測に楕円法、近似値法などを用いることを開発した。これにより、計測時間の短縮、データ容量の縮小化ができると思われ、継続研究では症例の追加、測定方法の改善を行い、3D データによる形態分類の完成を目指す予定である。

〈切除標本の客観的形態分類〉

前述の Kanai 分類は病理医の肉眼的分類であり、主観性を伴うが、CT 画像処理の方法を用いて客観的に分類できる方法を開発中である。腫瘍輪郭に注目し輪郭像を抽出、数値を主成分分析し分類する方法を検討中である。平成 23 年度内にテストサンプルを用いた検討では、輪郭像の抽出率に問題点があった。特に CT 画像と異なる点は、1) 資料がカラー画像であること、2) 切除標本はブルーバックを背景に撮影されており、肝表面から突出する標本ではブルーとの境界を検出する方法の開発が必要なこと、3) 腫瘍と脈管との鑑別が困難なこと、などの問題が指摘された。継続研究においてこれらの問題を解決する予定である。

〈3D 画像分類、切除標本形態分類の臨床応用〉

平成 24 年度の継続研究ではそれぞれの分類と臨床データとの関連性を比較する予定である。

3D 構築された画像を丁寧に観察すると最大径付近ではなく、周辺に置いて辺縁に不整な形態を示すものが存在する。これらの画像と予後との関連性を検証する必要がある。

Kanai 分類には分類不能と呼ばれる一群があるが、画像解析による分類ではその一群も何らかの形態分類に所属することが予測される。それらが、どのような臨床的特徴を有するかを検証する必要がある。

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 11-022 継続 総 10-033
------	----------------------------

平成 23 年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成 24 年 4 月 13 日

日 本 大 学 総 長 殿

氏 名 今 村 佳 樹



所属・資格 教 授

下記のとおり報告いたします。

1 研究課題 バーニングマウス症候群の病態解明に関する研究		
2 研究組織		
氏 名	所属部科校・資格	役割分担
○研究代表者名 今村佳樹	歯学部・教授	研究成果の統括
○研究分担者 岩田幸一	歯学部・教授	脳賦活部位の解析
浅野正岳	歯学部・准教授	血液検査における免疫学的検討
岡田明子	歯学部・准教授	研究モデルの作製、行動学的検討
小池一喜	歯学部・准教授	心理検査の解析、評価
篠崎貴弘	歯学部・助教	fMRI 撮像、刺激の付与
野間 昇	歯学部・助教	臨床症例における舌痛感覚の評価
3 本研究に関連して外部資金への申請状況、獲得状況		
平成 24 年度科学研究費基盤C「バーニングマウス症候群の病態解明に関する研究」を申請し、獲得。今後平成 24 年～26 年度にかけて研究を遂行する予定。		

※「6 研究結果」について、ホームページ等での公開 (☑・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：今村佳樹

4 研究目的

バーニングマウス症候群（以下BMS）の発症には、末梢神経障害（神経因性疼痛）の側面と精神活動の影響の側面とが関与している可能性があり、BMSの病態研究ではこれらを統合した研究計画を立てる必要がある。本研究では、神経因性疼痛としての発症機序を検討するために、中枢における疼痛の刺激伝達系について検討を加え、分子生物学的研究手法による動物研究と臨床データからBMS患者における中枢の疼痛修飾のメカニズムを明らかにする。

5 研究概要

研究は、3つの実験からなり、第1の実験は、ラットを用いた鼓索神経損傷後の痛覚の変化に関する実験で、鼓索神経から孤束核への入力が三叉神経から中枢への入力を変調しうるかを調べるものである。第2の実験は、BMS患者と健康対照を用いて免疫・内分泌系の疼痛への関与を調べるもので、BMS患者に特有な免疫反応が背景として存在しているかを検討する。第3の実験は、BMS患者における侵害刺激に対する脳活動の特異性を調べるもので、各種刺激に対する脳の反応についてfMRIを用いて観察する。

部科校名：歯学部

氏名：今村佳樹

6 研究結果 (4,000字以上記入してください。)

1) ラットにおける鼓索神経傷害時の三叉神経からの入力調整について

ペントバルビタール麻酔 (50 mg/kg) 下に7週齢のラットを用いて、左側の耳介を切除して鼓膜を明示し、鼓索神経を切断した群 (鼓索神経傷害群) と、耳介の除去と鼓膜の切開のみを行い鼓索神経は温存した群 (Sham群) を作製した。手術から7日後に再度ペントバルビタール麻酔下に手術側の舌の前方2/3にcapsaicinを用いて侵害刺激を加え、その際のMAPキナーゼ (Extracellular signal-regulated kinase: ERK) のリン酸化を指標に疼痛の発現様式を観察した。その結果、Sham群では、両側の三叉神経脊髄路核尾側亜核 (Vi/Vc領域) ならびに孤束核においてERKのリン酸化が亢進していたのに対し、鼓索神経傷害群では、手術側に特異的に著明なERKのリン酸化亢進が認められた。一方、孤束核においては両側に著明なERKのリン酸化が認められた。この結果は、平成22年度に観察した、舌に機械刺激を、加えた場合の結果とは大きく異なるものであった。すなわち、shamラットのsham手術側の舌に侵害機械刺激を加えた場合のVi/Vc領域におけるERKのリン酸化は、刺激側で強く亢進していたのに対して、capsaicin刺激では左右同等に亢進していた。また、鼓索神経傷害ラットに侵害機械刺激を加えた場合のERKのリン酸化は、ShamラットのERKリン酸化に比べて鼓索神経傷害側において強く亢進していたが、capsaicin刺激においても、刺激側において明らかに対照側に比べてリン酸化が著明だった。すなわち、capsaicin刺激時は、鼓索神経が傷害を受けていない状態では、両側に末梢からの刺激に対して両側にVi/Vc部の興奮が起こるが、鼓索神経を傷害すると、何らかの機序で、対照側の三叉神経脊髄路核尾側亜核における抑制が亢進することを示している。

このことから、機械刺激時に比べてcapsaicin刺激時には、中枢における疼痛の修飾機構に変化があり、鼓索神経傷害側には中枢からの疼痛の抑制機序がうまくかからないものの、対照側にはむしろ代償的に強く抑制がかかるのではないかと考えられた。

2) BMS患者における免疫・内分泌系反応の特性について

第2の実験として、BMSの持つ病態の特異性を患者において検討した。BMSは、従来、心理ストレスと密接な関係があるとされ、この側面からの病態解明がなされてきたが、近年、末梢神経と中枢神経系を含めた神経因性の機序が提唱されている。このことから、心理ストレス/情動系の影響とそれ以外での病態を検討することとした。平成23年度は、BMSにおける情動の影響を研究する目的で、認知行動療法の効果を、また情動の影響を受けない機序として、顎運動の影響を調べた。

まず心理検査を用いて、不安(MAS)とうつ状態(SDS)の状態を検査し、これらの心理状態と性別(女性)、年齢において有意差のないように、BMS患者9名(BMS群:平均63.3歳)と対照患者8名(対照群:平均59.0歳)を設定し、この2群を研究対象とした。BMS群と対照群においては、MASの得点はそれぞれ、 20.3 ± 1.33 と 18.3 ± 1.94 、SDSの得点はそれぞれ 42.1 ± 1.48 と 41.9 ± 2.27 と、2群間でほぼ同等であり、これら2群の抱える不安とうつの状態に差異はないと考えられた。したがって、以下の観察項目における2群間の差異は、心理ストレスに影響されない機序によるBMSの病態の特徴を表すと考えられた。

BMS群と対照群において、内分泌機能を観察するために、ACTH濃度、アドレナリン濃度、ノルアドレナリン濃度、ドパミン濃度、コルチゾール濃度を測定し、免疫機能を観察するために、ナチュラルキラー細胞(NK細胞)活性値、CD4リンパ球数、CD8リンパ球数、CD4/CD8比を測定した。その結果、ベースライン値は、ACTH濃度で対照群 16.6 ± 1.9 pg/ml、BMS群 23.4 ± 4.9 pg/ml、ノルアドレナリン濃度が対照群 326.7 ± 83.7 pg/ml、BMS群 392.0 ± 71.0 pg/ml、ドパミン濃度が対照群 13.7 ± 2.0 pg/ml、BMS群 18.3 ± 4.6 pg/ml、コルチゾール濃度が対照群 7.2 ± 0.9 pg/ml、BMS群 10.8 ± 10.5 pg/mlといずれもBMS群で高値を示した。また、免疫機能に関しても、ベースラインにおけるNK細胞活性値は、対照群 $26.9 \pm 2.7\%$ 、BMS群 $41.2 \pm 4.8\%$ と、BMS群が対照群に比較して著しい高値を示した。これらは、いずれもBMSの基礎病態を表していると考えられる。今回の研究では、特記すべき事項として、新たにBMS患者では、安静時におけるドパミンの血漿レベルが高いことが判明した。

部科校名：歯学部

氏名：今村佳樹

研究結果（つづき）

次に、BMS患者における疼痛症状について、自律訓練法とガム咀嚼前後において、それぞれVAS値が有意に減少した（自律訓練法 49.4 ± 6.8 から 13.7 ± 5.6 、ガム咀嚼 41.7 ± 7.0 から 6.1 ± 5.3 ）。これらの結果は、従来の報告と合致する。次に、それぞれの介入の前後で、内分泌、免疫機能の応答を見ると、対照群、BMS群ともに、自律訓練法の前後でアドレナリンとドパミンのレベルが著明に減少していた（アドレナリン：対照群 35.4 ± 5.0 から 26.4 ± 3.4 、BMS群 41.4 ± 6.6 から 27.3 ± 4.1 、ドパミン：対照群 13.7 ± 2.0 から 9.4 ± 1.9 、BMS群 18.3 ± 4.6 から 15.4 ± 3.6 ）。一方、ガム咀嚼の前後では、今回計測した内分泌機能、免疫機能を反映すると考えられるパラメータのいずれにおいても有意な変動は見られなかった。これらのことから、自律訓練法における鎮痛効果には、情動のコントロールを含めた全身的な内分泌機能を介した影響が関与しており、ガム咀嚼による鎮痛には、全身の内分泌、免疫系の変化として観察されるような機序ではない、中枢・末梢神経機構の調整機序が関与しているものと考えられた。

3) BMS患者における侵害刺激に対する脳活動の特性について

実験3ではBMS患者群と対照群（健常者）に侵害熱刺激を与え、その際の脳活動の差異を観察した。昨年まで使用していた医学部の研究施設が本年度、利用できないことになり、新たな被験者を対象とした研究ができなかった。そのため、昨年までに得たデータを再検討して新たな知見を得た。対象は18名の女性BMS患者と性別年齢を一致させた18名の心身共に健康なボランティアである。被験者には右側手掌と右側下口唇に熱刺激を与えた。熱刺激には、コンピューター制御された10mm角のペルチェ素子を用いて、ベースラインとして30度、そして加温時として40度と49度の温熱を加えた。また、自覚する痛みの強さは、visual analogue scale (VAS) を用いて定量的に評価した。これらの熱刺激は、32秒サイクルのブロックモデルを用いて加え、各相においてfunctional-MRI（以下f-MRI）により脳活動を記録した。この研究デザインで観察した脳活動をハードディスク上に記録し、後刻、MATLAB（Mathworks Inc., Natick, MA, USA）およびSPM5（Wellcome Department of Cognitive Neurology, London, UK）、AFNIソフトを用いて、標準脳上でマッピングを行い、脳活動状態を演算で求め、統計処理を行った。有意差の検定は、補正なしで5%の危険率をもって有意差ありとみなした。

その結果、BMS群では、口唇の侵害熱刺激時のVAS値は、対照群に比べ明らかに高値を示し、疼痛の強度は強かった。脳の賦活部位については、BMS群では下口唇に侵害熱刺激を与えた場合、刺激側の前帯状回、中心前回、前頭前皮質に亢進が見られた。一方、対照群では、前頭回以外では顕著な脳の賦活は認められなかった。このことは、口唇では、50℃程度の食事や飲み物に慣れており、手掌ほど疼痛を感じないと考えられた。一方、BMS患者ではこの温熱刺激を強く感受すると考えられた。BMS群と対照群における脳の活動部位の差を観察すると、口唇刺激時には、BMS群では島皮質や前帯状回、運動皮質での活動が優位であった。これらはいずれも疼痛の感受に重要な部位である。手掌刺激時にBMS群で対照群よりも活動が強かった部位としては、島皮質、体性感覚野などであった。一方、手掌刺激時には、視床の活動がBMS群で対照群よりも劣っていた。これに対し、口唇刺激時には、BMS群における視床の活動は、対照群と有意差は見られなかった。これらの結果を総合すると、BMS群では口唇刺激時には、対照群に比較して刺激を強く感受していると思われる。その原因として、手掌刺激時には、運動野の著明な活動により視床の活動が抑制されているものの、口唇刺激時には何らかの理由でこの機序の脱抑制が生じて疼痛の伝達機序が促進されるのではないかと考えられた。

以上の3つの研究結果をまとめると、動物モデルを用いた研究からは、BMSの発症には、鼓索神経傷害による末梢-中枢での鎮痛機序の変調が伺えた。鼓索神経の傷害によって影響を受ける受容体の差異によって機械刺激と化学刺激で反応に差異が生じるのかもしれない。BMS患者の疼痛調節機構には、全身の内分泌、免疫系を介した機序と介さないものがある。一方、痛みのイメージングを用いた研究結果からは、BMS患者ではおそらく、高位中枢からの下行性鎮痛機構の脱抑制が関与しているものと考えられ、特に口腔環境の変化がその脱抑制に特異的に関与している可能性が考えられる。

注：必要に応じて、このページをご使用ください。

平成23年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成24年 5月25日

日本大学総長 殿

氏 名 安孫子 宜光



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 研究課題		
機能ゲノム科学の応用による歯周病の予防治療戦略		
2 研究組織		
氏 名	所属部科校・資格	役割分担
○研究代表者名	安孫子 宜光 松戸歯学部・教授	研究の総括および Gene Chip/情報伝達系データベース解析
○研究分担者	飯島 洋 薬学部・教授	IT 創薬、ゲノム創薬 ヒト型抗体の作出
	田中 寅彦 医学部・准教授	
	平塚 浩一 松戸歯学部・准教授	病原因子の解析、抗体の中和機能の検定 ゲノムプロジェクト、標的分子の特定、遺伝子組換え実験
	柴田 恭子 松戸歯学部・講師	
	高宮 知子 薬学部・助教	IT 創薬、ゲノム創薬
	Bhawal Ujjal Kumar 松戸歯学部助教	プロテオーム解析、標的分子の特定
3 本研究に関連して外部資金への申請状況、獲得状況		
獲得状況(代表者)		
日本学術振興会(科研費)基盤研究B 2009-2013 歯周病の新規治療標的分子の探索とヒト型抗体療法 IT創薬開発のゲノム科学』応用研究』		
日本学術振興会(科研費)基盤研究A 2004-2009 歯周病の分子標的治療開発へのゲノミクス・プロテオミクス統合研究		
文科省私立大学学術研究高度化推進事業学術(学術フロンティア)(2008-2012) 歯周病による動脈硬化、糖尿病、低体重児出産の誘発機序の解明とその制御		

※「6 研究結果」について、ホームページ等での公開(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：安孫子 宜光

4 研究目的

近年、歯周病が動脈硬化症、糖尿病、低体重出産、肺炎、骨粗鬆症、などの全身疾患の重要なリスク因子であることが明らかとなっている。そして、歯周病学と内科学との融合医学が確立され「Periodontal Medicine」の重要性が脚光を浴びている。これを背景にして、歯科医学領域では、歯周病原菌の感染制御によって全身の健康を守ることによってQOLを推進することが歯科医療の重要課題となっている。一方、機能ゲノム医科学は、医学・生物学知識を発展させバイオインフォマティクス、ゲノムテクノロジーを飛躍的に進歩させており、治療標的分子の探索、分子標的治療の実現へとパラダイムシフトさせている。本研究では、主要な歯周病原菌 *Porphyromonas gingivalis* を標的として、当研究グループで推進しているゲノムプロジェクトを終了させて日本大学の総務センターを基盤に比較ゲノム科学情報を含むゲノムデータベースを世界に向けて発信して世界の歯周病研究者に役立てる。そしてこのゲノム情報を基盤に、効果的な新規治療標的分子を探索し、特定に成功した標的分子に対して、臨床で実用可能な安全性の高いヒト型中和抗体の作製と歯周病、歯科界では初といえるIT創薬の開発を試みる。立体構造の決定に成功したバイオフィルム形成、上皮細胞附着、ヘミン結合、チオドレキシン活性をもつ40-kDa外膜タンパクに対して *in silico* スクリーニングを行ないリード化合物の探索を行ない、歯学領域のファーマコゲノミクスの展開に役立てる。さらに新規分子の立体構造を決定する。また、本研究の研究成果を網羅的有機的に利用できるようなデータベースを構築し、歯科界の共通財産として公開することで歯周病撲滅のための研究推進に役立てる。

5 研究概要

進行性歯周炎患者のほとんどに *P. gingivalis* が感染しており、その70%がFimA II型 *P. gingivalis* であること、さらに、健常者においても *P. gingivalis* の存在が認められるが(1/3の健常者に存在)、その80%はI型 *P. gingivalis* であることが報告されている。しかし、日本国内外を問わず、ATCCからの細菌株の入手が可能なI型 *P. gingivalis* に対しての研究が主流であり、このことが *P. gingivalis* 研究が多くなされながらも、今まで歯周病撲滅に至らなかった原因の一つではないかと考えられる。そこで、当研究では、最も有力な病原菌としてFimA II型 *P. gingivalis* (TDC60) のゲノムプロジェクトを開始し、ついに完結した。これらのことからII型とI型を比較してII型で発現している病原因子は治療標的分子として重要と考え、プロテオミクス研究を応用してTDC60 (II型) に特異的に発現する分子の探索と解析を行った。妊婦の歯周病は、早産や胎児発育遅延 (IUGR) による低出生体重の原因となりうると考えられている。しかし、複数の報告に基づくメタアナリシスで相関がない、あるいは相関はあっても因果関係は証明できないとするものが多い。また、妊娠中に歯周病の管理を行っても児の出生時体重や周産期予後は改善しないという報告が少なくない。一方、歯周病は慢性尿路感染や細菌性膿症とともに妊娠高血圧症候群の重要なリスク因子となることが報告され、多くの施設におけるオッズ比は2-3 とむしろ早産・IUGR よりも高い。しかし、その機序は不明である。妊娠高血圧症候群が発症するのは妊娠後期であるが、胎盤循環不全という病態を完成するには妊娠初期における絨毛の子宮筋層への侵入が十分に行われなかったためと考えられている。本研究において我々は不死化絨毛細胞HTR8 を用い、マトリジェルへの浸潤能を検討することで妊娠高血圧症候群病態への関与を明らかにした。*P. gingivalis* ATCC 33277 株全ゲノム塩基配列を最終決定する。そして、さらに網羅的な遺伝子発現の解析をめざして、市販のDNA アレイでは得られない各遺伝子の転写単位の決定、遺伝子発現の調節領域の同定等を目指す為にカスタムtiling DNAアレイを作製する。

部科校名：松戸歯学部

氏名：安孫子 宜光

6 研究結果 (4,000 字以上記入してください。)

線毛遺伝子 *fimA* II 型の *P. gingivalis* TDC60 株のゲノムプロジェクトが終了し、これで、口腔内細菌 *P. gingivalis* 3 株の全ゲノム配列が明らかになったことになる。すなわち、すでに報告されている 2 株の *P. gingivalis*、W83 株（線毛 *FimA* 遺伝子型が IV 型）と ATCC 33277 株（線毛 *FimA* 遺伝子型が I 型）につづき、日本で分離された臨床分離株である TDC60 株（*FimA* 遺伝子型 II 型）全ゲノム遺伝子配列データ NCBI データベースに登録して公開した。全長 2,339,898 塩基対で、ゲノムから 2,254 個の推定遺伝子 (ORF) を決定した。TDC60 (II 型) の新規病原因子の探索するにあたり、TDC60 (II 型) のみで産生されている分子について、ゲノム比較だけではなく、発現タンパク質分子に焦点を絞って解析を試みた。日本で分離された臨床分離株である *P. gingivalis* TDC60 株の全ゲノム配列を決定することができた。これまで、*P. gingivalis* は実験室株である ATCC33277 株、W83 株でのゲノムが報告されているが、これらの株は、マウス腹腔モデルを用いた致死毒性判定では、いずれも病原性が低く、長年培養されていたため、病原性が著しく減退していることが予測された。また、*P. gingivalis* の臨床分離株、特に重度の歯周炎から分離される菌株は、その線毛遺伝子型が II 型であることが報告されているが、このゲノムについては報告されていなかった。今回決定した菌株は、II 型の線毛を持ち、かつマウス腹腔モデルにおいても病原性が高いため、歯周病のモデル菌株として使用することが期待できる。TOF-MS を用いた分子検索と全菌体に対するモノクローナル抗体作製との両面からの網羅的解析を行った。TDC60 株に特異的に発現している分子として、*FimA*、*Mfa1*、といった線毛分子が揚げられた。特に、ATCC33277 株など *FimA* 遺伝子 I 型株で、minor/short 線毛と呼ばれ、さらに W83 株 (IV 型) では insert により発現していない *Mfa1* 分子が、TDC60 株では強く発現していることが判明した。*Mfa1* はバイオフィーム形成にも関わる分子として報告されていることから、TDC60 株の病原性に大きく関与する可能性が示唆された。一方、プロテオーム解析によって、TDC60 株に数種のプロテアーゼが特異的に発現していることが見いだされた。その中で、*PepD*、*DppII* をクローニングし解析を行った。TDC60 で発現が多い *PepD* は、Ala-aminopeptidase の作用を示すだけでなく、遷移元素イオン存在下では、カルノシナーゼ活性を示した。カルノシンは宿主細胞内で、レドックス調節を行っていると思われる分子で、*P. gingivalis* 宿主細胞感染後に、細胞内のカルノシンを減少させることにより、宿主への病原性が増大される可能性が示唆される。また、網羅的モノクローナル作製により作製した 600 を超えるモノクローナル抗体の中で、LPS に対する抗体数は全体の 17% を占めた。また、*Mfa1* に対する抗体数も多かった (約 7%)。実際に、このような網羅的モノクローナル抗体作成方法によって抗体作成を行った場合、クローンとして重複して多く選択される分子は、抗原性の高い分子とも考えられ、興味深い。異なったエピトープを認識する多数の抗体が作製されていることから、抗体の構造解析から、抗原性と病態との関与を推測していける可能性があると考えられる。共凝集因子として報告された HBP35 (*omp 40K*) について、その共凝集機能と宿主への影響の検討を進めた。一方、本分子は、*P. gingivalis* 増殖に必須のヘミンを結合する分子であることが我々によって見いだされている。また HBP35 は分子内にチオレドキシンドメインを持ち、チオレドキシシン活性中心配列 (CxxC) を維持していることから、酸化還元状態を認識する分子としての機能部位の解明を試みた。HBP35 分子内には 4 つの Cys 残基が存在するが、この 4 つの Cys を Ser あるいは Ala に変異させた rHBP35 分子について分子の酸化還元状態を解析した結果、チオレドキシシンを構成する 2 つの Cys が、S=S 結合したときに rHBP35 は酸化状態をとること、他の 2 つの Cys 残基は、常に還元状態を維持することに関与することが判明した。さらに、HBP35 へのヘミン結合は、本分子が還元状態の時に結合することが明らかとなった。還元状態の HBP35 に対する抗体が *P. gingivalis* の増殖を抑制することから、環境の酸化還元状態とヘミン結合能、増殖との関連が示唆された。

P. gingivalis LPS は単独では高濃度でも絨毛細胞のマトリジェル浸潤に影響を与えず、カフェインやニコチンの共存化において強い抑制がみられた。この事実から、妊娠初期異に、*P. gingivalis* の菌体成分が子宮内に到達した場合、trophoblast の子宮筋層への浸潤を抑制することで母体血管改築による胎児胎盤血流の担保を阻害する。その場合、喫煙やカフェイン飲料の過量摂取が相乗的に作用する可能性が示唆された。疫学的に歯周病妊婦では喫煙やカフェイン飲料の大量摂取など他のハイリスク行動を取る患者が多いことが指摘されており、これらを含めた総合的な健康管理が妊娠合併症を予防するうえで重要であろう。

部科校名：松戸歯学部

氏名：安孫子 宜光

研究結果（つづき）

P. gingivalis は妊娠子宮に存在し、胎盤細胞に細胞周期G1 arrest を誘導して低体重出産を誘発する可能性を示した。また、*A. actinomycetemcomitans* LPS はApoptosis signaling関連遺伝子群の変動、胎児に栄養を供給する胎盤の絨毛細胞層にcaspase 群などの発現、また、胎児の成長に必須である亜鉛の輸送体遺伝子の発現を低下させることを見出した。*P. gingivalis* は重要な歯周病原菌であることが知られているが、妊娠ラットへの *P. gingivalis* 単独あるいはCaffeine 単独では、著明な低体重出産を引き起こさないが、*P. gingivalis* とCaffeine の共投与によって低体重出産が見られることから、生活習慣が歯周病による低体重出産に関与することが示唆された。*A. actinomycetemcomitans* LPS の妊娠ラットへの投与が低体重出産を誘導することを明らかにした。また、妊娠中のコーヒー摂取の生活習慣がある妊婦に歯周病原菌の感染が低体重出産のリスクを増大させることが示唆された。分子メカニズムの観点から、*A. actinomycetemcomitans* LPS が胎盤組織に影響して、多数の遺伝子発現を変動させることが判明し、Apoptosis signal pathway, 亜鉛輸送体が関与することを明らかにしたことにより、今後の治療戦略の開発に役立つと考えられる。情報伝達系データベースIPA は、疾患の発症に関与するsignal pathway を探索できるだけでなくKey になる重要な遺伝子産物に対するDrug 情報も最新データベースから入手できることから、この動物モデルで治療薬の特定が可能になり、予防薬の開発に活用できると考えられる。また、妊娠中のコーヒー摂取などの生活習慣がある妊婦に歯周病原菌の感染が低体重出産のリスクを増大させることが示唆されたことから、妊婦ではコーヒー摂取の停止などで歯周病による低体重出産の誘発を軽減できると考えられることから妊婦への生活習慣の指導が重要と思われる。

論文業績

- Ikuta T, Bhawal UK, Tsushima K, Aoki A, Kuboyama N, **Abiko Y**: Identification by DNA microarray of genes involved in *Candida albicans*-treated gingival epithelial cells. J Oral Pathol Med. 2012, in press2.
- Yuzawa S, Kurita-Ochiai T, Hashizume T, Kobayashi R, **Abiko Y**, Yamamoto M: Sublingual vaccination with fusion protein consisting of the functional domain of hemagglutinin A of *Porphyromonas gingivalis* and *Escherichia coli* maltose-binding protein elicits protective immunity in the oral cavity. FEMS Immunol Med Microbiol. 2012 Mar;64(2):265-72.3.
- Aoki A, Shibata Y, Okano S, Maruyama F, Amano A, Nakagawa I, **Abiko Y**. Sublingual vaccination with fusion protein consisting of the functional domain of hemagglutinin A of *Porphyromonas gingivalis* and *Escherichia coli* maltose-binding protein elicits protective immunity in the oral cavity. Microb Pathog. 2012 Jan;52(1):17-24.
- Watanabe T, Maruyama F, Nozawa T, Aoki A, Okano S, Shibata Y, Oshima K, Kurokawa K, Hattori M, Nakagawa I, **Abiko Y**: Complete genome sequence of the bacterium *Porphyromonas gingivalis* TDC60, which causes periodontal disease. J Bacteriol. 2011 Aug;193(16):4259-60.
- Shibata Y, Okano S, Shiroza T, Tahara T, Nakazawa K, Kataoka S, Ishida I, Kobayashi T, Yoshie H, **Abiko Y**: Characterization of human-type monoclonal antibodies against reduced form of hemin binding protein 35 from *Porphyromonas gingivalis*. J Periodontal Res. 2011 Dec;46(6):673-81.
- Nakarai H, Yamashita A, Nagayasu S, Iwashita M, Kumamoto S, Ohyama H, Hata M, Soga Y, Kushiyama A, Asano T, **Abiko Y**, Nishimura F: Adipocyte-macrophage interaction may mediate LPS-induced low-grade inflammation: potential link with metabolic complications. Innate Immun. 2012 Feb;18(1):164-70. 27.
- Du Y, Hashizume T, Kurita-Ochiai T, Yuzawa S, **Abiko Y**, Yamamoto M: Nasal immunization with a fusion protein consisting of the hemagglutinin A antigenic region and the maltose-binding protein elicits CD11c(+) CD8(+) dendritic cells for induced long-term protective immunity. Infect Immun. 2011 Feb;79(2):895-904. 28.
- Li Y, Shibata Y, Zhang L, Kuboyama N, **Abiko Y**: Periodontal pathogen *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* LPS induces mitochondria-dependent-apoptosis in human placental trophoblasts. Placenta. 2011 Jan;32(1):11-9.

平成23年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成 24年 5月 25日

日本大学 総長 殿

氏 名 吉垣 純子



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 研究課題		
口腔乾燥症の早期診断および予防法の開発		
2 研究組織		
氏 名	所属部科校・資格	役割分担
○研究代表者名 吉垣 純子	松戸歯学部・教授	本研究の立案・遂行・総括
○研究分担者 加藤 治	松戸歯学部・専任講師	唾液からの妨害タンパク質の除去法の開発
福島 美和子	松戸歯学部・助教	唾液中タンパク質の解析
布施（長井）恵	松戸歯学部・講師（専任扱）	ヒト唾液採取と解析
岡林 堅	生物資源科学部・助教	唾液腺傷害モデル実験動物の作製
杉谷 博士	生物資源科学部・教授	唾液腺傷害モデル実験動物を用いた唾液腺病態の解析
春木 満	工学部・教授	脱分化抑制ペプチドおよび新規薬剤の開発
成田 貴則	生物資源科学部・助教	脱分化抑制試薬の in vitro および in vivo アッセイ
3 本研究に関連して外部資金への申請状況、獲得状況		
<p>昨年度、本研究との関連研究として、科学研究費補助金 基盤（B）に研究代表者として「外分泌腺分泌顆粒へのタンパク質輸送を担う選択／排除シグナルの同定」という課題名で申請を行ったが、採択されなかった。今年度は、学部内の他の研究者とともに、「再生分子機構に基づく口腔疾患の解明」という共同プロジェクトを立ち上げ、平成25年度私立大学戦略的基盤形成支援事業に申請する予定である。</p>		

※「6 研究結果」について、ホームページ等での公開 (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： 吉垣 純子

4 研究目的

唾液腺の機能低下により口腔乾燥症が引き起こされると、摂食・嚥下・発声など様々な口腔機能に障害が生じ、QOLを著しく低下させる。多くの場合、唾液分泌が低下した時点では既に実質細胞が破壊されており、それからの治療には限界がある。我々は、唾液腺の機能低下が、組織傷害を引き金とする脱分化シグナルの誘導、間葉系細胞への分化転換によって起こるのではないかと予測した。そこで、唾液の分泌低下が起こるより前に、唾液腺の組織傷害を検出することによって将来起こる口腔乾燥症を予測することが可能ではないかと考えた。そのためには、唾液腺機能低下を簡便かつ超早期に診断する方法の開発が必要になる。体液の中で最も採取しやすい唾液を用いた診断法を開発することによって、自覚症状のないうちに定期的に検査を行うことが可能になると考えた。さらに、早期診断後に、組織傷害によって誘導される脱分化シグナルを阻害することにより、脱分化および分化転換を抑制すれば、機能低下を予防できる。そこで、1) 唾液を用いた口腔乾燥症の超早期診断法を開発し、2) 唾液腺傷害モデル実験動物を用いて予防法を開発を試みた。この研究の派生効果として、「唾液診断法の簡便化」、「脱分化抑制ペプチドおよび薬剤の開発」など、多くの研究に応用可能な技術の開発が期待される。さらに、本学の若手を含む研究者の技術を交換し合うことによって、本学内の研究ネットワークの形成に寄与したいと考えた。

5 研究概要

口腔乾燥症の早期診断と治療法の開発を目的として、以下の研究を行った。

1. 唾液を用いた唾液腺機能低下の超早期診断法の開発

1) 唾液中の検査妨害タンパク質のワンステップ除去法の開発 (加藤 治, 吉垣純子)

唾液からの微量成分の解析には、唾液中に多量に含まれているアミラーゼなどの唾液タンパク質の存在が邪魔になる。そこで、解析を妨害するタンパク質を唾液から簡便に除去する方法を開発した。

2) 唾液タンパク質中の唾液腺機能低下マーカーの検出 (布施(長井) 恵, 福島 美和子)

健常者と口腔乾燥症患者から採取した唾液を2次元電気泳動で分離し、口腔乾燥症患者唾液に特異的にみられるタンパク質のスポットを同定した。また、どのような条件で唾液タンパク質に変化が起こるかを検討するために、唾液タンパク質の分泌顆粒への積み込み機構について解析を行った。

2. 唾液腺機能低下を予防する方法の開発

1) 唾液腺傷害モデル実験動物の作成と解析 (岡林 堅, 杉谷 博士)

組織傷害の種類に関わらず、共通のメカニズムを介して機能低下が起こることを示すために、頭頸部への放射線照射および唾液腺導管結紮法による唾液分泌不全を起こすシステムを確立した。その中で、唾液腺機能低下を予測するマーカーを複数同定した。

2) 脱分化抑制ペプチドおよび新規薬剤による予防法の開発 (春木 満, 成田 貴則)

唾液腺の機能低下を予防するため、耳下腺腺房細胞初代培養細胞の系を用いて、より特異的な薬剤の開発を試みた。生姜由来の成分であるジングロールが唾液腺の脱分化を抑制することを示した。

これにより、「唾液腺機能低下を引き起こすような組織傷害を容易に検出し、早期に処置することにより将来の機能低下を防ぐ」という口腔乾燥症予防システムの開発を目指している。

部科校名：松戸歯学部

氏名：吉垣純子

6 研究結果 (4,000字以上記入してください。)

口腔乾燥症の早期診断及び治療法を開発するために、以下の方法で検討を行ってきた。

1. 唾液からの検査妨害タンパク質の除去法の開発

唾液を用いた診断は身体への侵襲性が低いため、応用範囲が広く、頻度高く行うことが可能である。しかし、唾液を診断に用いるにあたって、検査を妨害するタンパク質の除去が必要となると考えた。唾液中には唾液腺分泌顆粒から分泌される特定のタンパク質が多量に含まれており、微量タンパク質の解析を妨害すると考えられる。これらを効率よく除去することができれば、唾液を用いた様々な診断に応用可能になることが期待できる。まず、我々は唾液試料の電気泳動のパターンから、唾液中の妨害タンパク質として、アミラーゼやムチンに加えて、アルブミンおよび分泌型 IgA が特に多く含まれていることを確認した。これらを除去するために、多量タンパク質に対する抗体を用いたアフィニティーカラムを作製することにした。それぞれの抗体を NHS-activated Sepharose に結合させ余分の抗体を取り除いた後、唾液と反応させた。これにより多量タンパク質の多くがカラムに結合し、それ以外のタンパク質がカラムから非特異的に溶出される。得られた非結合画分について、電気泳動およびイムノブロット解析を行い、除去効率を求めた。その結果、アルブミン、分泌型 IgA を唾液から効率よく除去することに成功した。アミラーゼについては、唾液中の含有量が大きいいため、除去率を十分に上げることがむずかしかったが、使用する抗体を選択し直し、抗体濃度を高くすることによって、より効率のよい除去に成功した。また、ムチンは分子間のジスルフィド結合および Ca^{2+} を介した分子会合により巨大複合体を形成している。唾液の粘性を下げるために、還元剤であるジチオスレイトールと、 Ca^{2+} キレート剤である EDTA を添加することによって、複合体を解離させた。その結果、唾液全体の粘性が低下し、電気泳動による解析が容易になった。これらの方法を組み合わせることによって、検査妨害タンパク質を除いた微量タンパク質の解析が可能になった。

2. 口腔乾燥症を予測するマーカーの検出

唾液腺の機能低下の原因が、組織傷害を引き金とした腺房細胞の導管様細胞への脱分化や間葉系細胞への分化転換であることを我々は予想している。傷害の種類や原因に関わらず、共通の脱分化シグナルが働き、類似の遺伝子発現変化が起こると考えた。そこで、様々な組織傷害モデル動物を作成し、共通に発現する遺伝子およびタンパク質を解析することを試みた。組織傷害の1つとして、ラット頭頸部の放射線照射による唾液分泌不全に伴い、複数のタンパク質の発現が増加するが、その中で照射線量と発現量の間に高い相関が見られるタンパク質が見いだされた。そこで、その他の病因でも同様に機能不全と遺伝子発現変化の間に相関がみられるか検討した。唾液分泌機能低下の原因の一つとして唾石症がある。唾液腺の導管を人工的に結紮すると唾液分泌障害が起こり、唾石症のモデルになると考えられている。日本大学歯学部の小宮山一雄教授の協力を得て、脳動脈瘤手術用マイクロクリップを用いて、耳下腺の導管を結紮する方法を確立した。耳下腺の導管結紮により引き起こされる形態変化と遺伝子発現変化の解析を行った。その結果、結紮後7日目には腺房の萎縮が観察され、導管様構造の増加が観察された。イムノブロット解析の結果、nestin や cytokeratin などの中間径フィラメントのタンパク質発現が増加していることがわかった。さらに、免疫染色の結果、nestin 陽性細胞が増加していることも明らかになった (第89回日本生理学会大会発表)。我々は細胞骨格を固定化する試薬である japlakinolide が腺房細胞の機能低下およびアポトーシスに関わっていることも見いだしており (Arch Oral Biol, 2012)、細胞骨格の変化が腺房細胞の機能変化に重要な意味を持っていることが予測される。また、モデル生物だけでなく、ヒトにおいてもシェーグレン症候群や唾石症など組織傷害が進行している唾液腺では、モデル生物で増加するマーカータンパク質の発現が増加していることが明らかになった。したがって、組織傷害の種類に関わらず、共通のメカニズムが働いて、脱分化および機能低下を引き起こしていると考えられる。新規に見いだされたタンパク質が、ラット耳下腺初代培養細胞の脱分化過程でも一過的に発現が増加することも確認している (第11回日大口腔科学会発表)。

これらのタンパク質の唾液中への分泌も増加しているかを調べるために、健常者とシェーグレン症候群と診断された患者の唾液を採取し、2次元電気泳動による解析を行った。唾液タンパク質の分離条件を決定し、その結果、ヒト唾液の成分比率には個人差が大きく、電気泳動パターンも違いが大きいがわかった。したがって、特異的なマーカー検索のためには、なるべく多くの試料を集めて解析することが必要であると

部科校名：松戸歯学部

氏名：吉垣純子

研究結果（つづき）

思われる。そこで、多数のサンプルを効率よく比較解析するために、試料中のタンパク質に直接蛍光ラベルして電気泳動する 2D DIGE 法を用いて解析を行った。全ての採取された試料唾液を混和したものを標準サンプルとして、健常者唾液とシェーグレン症候群患者唾液と標準サンプルを同時電気泳動する。3 色の蛍光パターンを比較することにより、健常者唾液に発現せず、シェーグレン症候群患者唾液中にのみ含まれているタンパク質を同定できる。2D DIGE 法による解析の結果、シェーグレン症候群患者に特異的と思われるスポットを複数見いだした。現在、イムノブロット解析によるスポット解析と照らし合わせることで、同定を行っている。さらに、TOF Mass 解析によるタンパク質同定のために、電気泳動をスケールアップすることによりスポットの精製を試みている。

3. 口腔乾燥症を抑制する新規薬剤の検討

口腔乾燥症を予防するためには、組織傷害が引き金となる脱分化シグナルの抑制が必要であると考えた。我々はすでに、Src キナーゼの阻害薬である PP1 や p38 MAP キナーゼ阻害薬である SB203580 が脱分化シグナルを抑制し、腺房細胞としての機能低下を予防することを耳下腺初代培養細胞の系で見いだしている。しかし、これらの試薬は人体に用いるには特異性が十分に高いとはいえず、様々な副作用をもたらす危険性がある。そこで、さらに唾液腺の機能低下に特異性の高い新規薬剤を見いだすことが有用であると考えた。候補の 1 つとして、p38 MAP キナーゼに対する阻害効果があると報告されているジングロールについて検討した。ラット耳下腺腺房細胞の初代培養細胞に対して、50 μ M ジングロールを添加し、遺伝子発現や刺激依存的なアミラーゼ分泌機能についての効果を検討した。その結果、ジングロールは SB203580 と同様に、遺伝子発現変化を抑制し、腺房細胞マーカーであるアミラーゼの発現低下を抑制した。また、刺激依存的なアミラーゼ分泌能も維持された。したがって、ジングロールが唾液腺細胞の脱分化を抑制する薬剤として使用できる可能性が示された。さらに、p38 MAPK に対するより特異的な阻害薬を開発するために、そのリン酸化部位にたいするペプチドアダプターの検索を行っている。すでにジングロールの阻害活性測定やファージディスプレイ法に用いるリコンビナント p38 MAPK の発現系を作成し、大量発現を行っている。唾液腺の脱分化シグナルを誘導する p38 MAPK の活性をより特異的に抑制することにより、傷害からの回復を妨げることなく、機能低下を予防する方法を開発できると考えている。

4. 唾液タンパク質の分泌顆粒への振り分け機構の解析

唾液腺腺房細胞の分化度の指標の 1 つとして、唾液タンパク質の発現と分泌顆粒の維持が上げられる。我々は耳下腺腺房細胞の初代培養細胞を用いて、脱分化シグナルを抑制することにより分泌顆粒が多く維持されており、その数と分化度が相関することを示してきた。分泌顆粒は唾液タンパク質が積み込まれ、徐々に内容物が蓄積して成熟することによって形成される。唾液タンパク質がどのようなメカニズムで合成後に分泌顆粒へ積み込まれるか、また濃縮するかについては明らかになっていない。しかし、成熟の分泌顆粒の大きさや数は、食事条件や薬剤投与によって変化することがラットで報告されている。また、拒食症患者では耳下腺の肥大が見られることがあるが、このとき分泌顆粒の密度が低くなっているという報告がある。したがって、唾液タンパク質の分泌顆粒への積み込み機構の解析は、唾液腺の機能維持メカニズムを明らかにするために有用であると考えた。我々は、唾液タンパク質と外来タンパク質のキメラタンパク質の発現系を作成し、腺房細胞に遺伝子導入することにより、分泌顆粒へ積み込まれるに必要なシグナルの同定を試みた。ラット唾液アミラーゼの部分配列と蛍光リガンド結合タンパク質 HaloTag との融合遺伝子を作成し、耳下腺腺房細胞の初代培養細胞に導入した。遺伝子導入後、培地に蛍光リガンドを添加することにより、HaloTag タンパク質をラベルし局在を調べた。同時に細胞を固定後、抗アミラーゼ抗体でラベルし、分泌顆粒を染色した。その結果、アミラーゼのシグナル配列のみを結合した HaloTag タンパク質がアミラーゼと共局在しており、分泌顆粒へ輸送されたことが確認された。このことから、分泌顆粒への輸送には特別なシグナルは必要なく、膜透過のためのシグナル配列があれば受動的に分泌顆粒へ輸送される可能性が示された（第 53 回歯科基礎医学会学術大会発表）。

これらにより、唾液腺の機能低下に伴う唾液タンパク質組成の変化を同定し、口腔乾燥症の早期診断に役立つと考えられる。また、機能低下を抑制する新規薬剤を用いた口腔乾燥症の予防法の確立が期待できる。

注：必要に応じて、このページをご使用ください。

平成 23 年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成 24 年 4 月 5 日

日 本 大 学 総 長 殿

氏 名 林 幸博



所属・資格 生物資源科学部・教授（研究所）

下記のとおり報告いたします。

1 研究課題 中国の対アフリカ政策の学際的分析		
2 研究組織		
氏 名	所属部科校・資格	役割分担
○研究代表者名 林 幸博	生物資源科学部・教授（研究所）	中国の対アフリカ資源・農業政策によるアフリカ農村社会の変容および総括
○研究分担者 青木 一能 水嶋 一雄 水野 正己	文理学部・教授 文理学部・教授 生物資源科学部・教授	中国の対アフリカ戦略の変遷 中国のアフリカにおける国際環境協力 中国の対アフリカ協力関係における農村地域の変容
辻 忠博 新海 宏美	経済学部・教授 経済学部・専任講師	中国の対アフリカにおける開発政策 エネルギー・天然資源分野における中国の対アフリカ政策
日吉 秀松	文理学部・助教	中国国内のアフリカ人処遇政策
3 本研究に関連して外部資金への申請状況、獲得状況		
2011年に科学研究補助金基盤B（2011年度から2013年度まで）を獲得した。		

※「6 研究結果」について、ホームページ等での公開 是 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：林 幸博

4 研究目的

今日、中国のアフリカ進出が著しいことは、広く知られる。中国は、冷戦期の1960年代からアフリカ諸国と政治的協力関係を構築してきたが、現代ではこれに加えて経済関係の強化が顕著である。経済成長著しい中国は食糧および天然資源の輸入量を著しく増加させてきたが、それに比例して対アフリカ投資・貿易を拡大させ、それに伴い双方の資源貿易は急速に伸長した。著しい経済成長を背景に、食糧およびエネルギー・天然資源の供給源の多元化を求める中国は、21世紀に入り、アフリカへの接近を確保したといえる。しかし、その動向は国際的な関心を集めているが、中国の対アフリカ政策に関する学際的研究は少ない。その意味で、経済だけでなく、政治および文化面のアプローチも含めて、中国の対アフリカ政策を検討する本研究は、我が国における中国研究およびアフリカ研究の双方からみても有意かつ野心的な取り組みと確信する。

他方、本研究は我が国の対アフリカ政策を検討する点においても、重要な意義をもつと考える。日本政府は1993年以降、東京アフリカ開発会議（TICAD）を定期的に開催し、アフリカ支援をその外交政策の柱の一つに位置づけている。しかし、近年の中国の進出を前に、アフリカにおいて日本のプレゼンスは年々低下している観がある。それ故に、本研究は今後の日本の施政や政策をより有意なものにするためにも意義あるものと考えられる。ただし、本研究は単に我が国の対外的利益を念頭に置いたものではなく、日中両国が個別の案件で摩擦を抱えながらも、戦略的互惠関係の構築という原則において協調できる点を見いだすことも可能と考えている。アフリカにおいて、日中両国が無益な勢力争いに堕することなく、政策協調の可能性を模索することは、アフリカにとってのみならず、日中両国自身にとって必要となろう。この観点からも、まず中国の対アフリカ政策に対して理解を深めることは不可欠の手順であろう。

本研究は、これらの目的に沿って、本学の研究者を中心に、中国のアフリカ研究者を加えることで、より包括的かつ多角的な学際的分析による研究を目指す。

5 研究概要

本研究では、まず、国際環境の変化を踏まえて、中国の置かれた国際的立場と対外政策の変遷を総括する。次いで、中国の外交および対アフリカ政策がもつ原則や理念について取り上げ、そのなかでのアフリカの位置づけについて考察する。これらは、中国外交の輪郭と、同国がアフリカに関与するに至った経緯を描出するものであり、今日的かつ多面的な中国—アフリカ関係の個別具体的な研究の土台となるものである。

以上を踏まえて、個別の分野についての検討に入る。まず、中国による対アフリカ貿易・投資の状況について取り上げ、大陸全土におけるそのプレゼンスについて確認する。続いて、農業分野での進出について検討する。アフリカにおける中国企業の農業分野での貿易と投資について実証的に検討したうえで、これが双方に及ぼす影響についても検討を加える。次に、エネルギー・天然資源分野における中国の対アフリカ進出について取り上げる。中国は食糧と同様、エネルギー・天然資源においても輸入への依存度を高めており、この分野でのアフリカ進出が世界でも関心を集めている。これらの点で中国人研究者をメンバーに加えることで、より具体的な検証を行うことが可能となっている。エネルギー・天然資源の分野で、中国がアフリカで行っている投資状況、および前者の後者に対する依存度の変遷を、可能な限り包括的に検証することも出来る。

さらに、中国の進出がアフリカ大陸に与える影響を、政治・文化の両面から分析する。このうち、まず中国の進出が、アフリカの民主化に及ぼす影響について取り上げる。アフリカ諸国の民主化は欧米先進国の影響下で進められたものであり、相手国の主権尊重を掲げる中国の影響力伸張が、その修正あるいは停滞をもたらす要素となるかを検討することが目的である。次に、中国—アフリカの人的交流を取り上げる。アフリカにおける中国人社会については広く知られているが、近年では逆の人口移動も顕著で、特に広州ではアフリカ人居住者が20万人以上に上るといわれる。中国の移民政策や入国管理に関する検討を通じて、双方のヒトの移動がもたらす影響について検討する。最後に、中国の対アフリカ文化政策について取り上げる。経済的な影響力が増すにつれ、中国は文化面での対外進出も図っており、なかでも外国人向け中国語教育機関としての「孔子学院」の開設は、その中核を担うものである。そこで、アフリカにおける「孔子学院」の開設状況とその影響について検討し、中国のソフトパワーについて分析することとする。

部科校名：生物資源科学部

氏名：林 幸博

6 研究結果 (4,000字以上記入してください。)

本研究の目的に沿って、各研究メンバーが担当する課題に関し、中国の対アフリカ政策を政治、経済の両面から検証し、現地調査や文献の蒐集などを通じ研究を進める一方、中国人研究者との合同研究会やワークショップなどを開催したことによって、初期的な研究成果を得たといえる。

研究代表者の林幸博は、本研究全体を統括する一方、サブサハラ・アフリカの農業・農村の現状とアフリカの豊富な資源を担当した。林は農業生態学を専門とし、JICAなどの委託研究などを通じて、日本の対アフリカ食糧・農業支援の現場に携わってきた一方、ナイジェリアの国際熱帯農業研究所（IITA）で研究員としての勤務経験もある。2011年12月9日から10日にかけて日本大学会館で開催された、中国側研究者4名を交えた国際ワークショップでは、「日本の技術移転協力の現状」と題して日本のアフリカに対する農業関連技術の移転についての報告を行った。その報告では日本の対アフリカ技術移転を分析したうえで、ODAによるアフリカへの影響、とりわけ、日本政府がJICAを通じた稲作振興に対する取り組みの現状を検討し、日本の南南協力における重要な役割を指摘した。さらに、今後の日本政府の対アフリカ農業支援について展望的な論点を展開した。

分担者の青木一能は、グローバル化下におけるアフリカ地域全体の社会経済変動と、中国の進出についての考察を行った。上記ワークショップでは、「アフリカに対する国際的アプローチの現状と日本の対応」と題する報告を行い、1993年に始まった「東京アフリカ開発会議」（TICA）を主とする日本の対アフリカ政策と照らし合わせるかたちで2000年に始まった「中国・アフリカ協力フォーラム」（FOCAC）を検討し、中国の対アフリカ政策を政治、経済の両面から分析した。その上で、アメリカ、イギリス、フランスといった先進国の対アフリカ政策の経緯および現状についても分析し、新興経済体であるブラジル、ロシア、インドのアフリカへのアプローチ、韓国などアジア諸国のアフリカへの接近の現状に関してそれぞれ詳細な検証を行った。上述した諸検証を踏まえ、日本の対アフリカ戦略のあり方についても提言を行った。その提言のなかで、「NGOを含めた民と官の連携と協力そして進出を、いまこそ真剣に模索すべきであると述べるとともに、そのためには民と官の間でさらに密な情報交換と協議を制度化し、そのうえで日本としての一体感を持った新たなアプローチを実施すべきであろう」と主張した。青木の研究成果の一部は2011年に出版された『これが、アフリカの全貌だ』に収録されている。

水嶋一雄は環境保全型農業を専門とし、多くの開発途上国で農業生産の実態を調査した経験をもつ。本研究では、森林破壊や砂漠化など世界でも地球温暖化の被害を大きく受けている地域であるアフリカにおける中国の国際環境協力を分析した。2011年9月9日から12日にかけて、中国新疆ウイグル自治区にある石河子大学が主催した石河子大学—日本大学—北京大学三大学共同シンポジウムで中国の資源エネルギー戦略と環境保全の関係について報告を行った。

農学を専門とする水野正己はアフリカの農村におけるフィールドワークの経験を生かして、農業・農業開発を中心とする日本の農業支援を検討し、併せて中国を含めた外部からの農業支援によって生まれるアフリカ農村地域の変容と、これに関する中国の支援の実績と課題について検証し、分析した。

開発経済学を専門とする辻忠博は、近年は主に内陸部など従来の経済成長に不向きとされてきた地域の開発について研究しており、カンボジアや中央アジア諸国などに関するこれまでの研究を応用することで、中国の対アフリカ政策を検討した。これに基づいて、2011年9月9日から12日にかけて、中国新疆ウイグル自治区にある石河子大学が主催した石河子大学—日本大学—北京大学三大学共同シンポジウムで開発政策における中央アジアとアフリカの比較について報告を行った。

農業経済を専攻する新海宏美は、中国の対アフリカ貿易・投資を担当し、なかでも近年とくに関心が高いアフリカの原油・天然ガス市場における同国の動向について、実証的な検討を重ねた。その成果として、2011年9月7日から8日にかけて、中国浙江師範大学アフリカ研究院が開催した「中国の対アフリカ政策に関する日本大学・浙江師範大学共同研究会」で「中国・アフリカ貿易・投資状況の分析」と題する研究報告を行った。

中国政治を専門とする日吉秀松は、本研究においてまず、中国国内のアフリカ人処遇政策について調査を行った。研究経過報告として2011年8月に文理学部で研究メンバーの研究会において、広州のアフリカ人村の現状について、中国国内の社会問題との関連から、アフリカ人と広州人の関係を検証し分析した。本調査は、後述する中国での現地調査の前段にあたるものであり、今後継続的に行う予定である。その一方で、2011年12月9日から10日にかけての国際ワークショップで、「中国の内政不干渉の問題」と題する報告を行い、中国外交政策の基礎となる「内政不干渉」の原則を検

部科校名：生物資源科学部

氏名：林 幸博

研究結果（つづき）

討したうえで、スーダンのダルフール危機を中心にして、その問題点を探った。

研究協力者の六辻彰二は、アフリカ政治、なかでもガーナ政治を専門とする。本研究では、中国のアフリカ進出の具体例としてガーナを取り上げており、2011年9月7日から8日まで浙江師範大学アフリカ研究院で行われた研究会では、冷戦期と冷戦後における両国関係の変遷について報告を行った。当報告では冷戦期と冷戦後における中国とアフリカ関係を分析した結果、「中国による対アフリカ・アプローチは政治的な関与から経済的な関与に大きく比重を移した。これは中国自身のイデオロギー的な外交方針から、改革・開放後のプラグマティックな外交方針への転換に連動したものであり」、こうした中国の外交政策も中国・ガーナ関係においても反映されていると指摘した。本研究の成果の一部は、『産油国』ガーナの現状と二重の課題」という論文にまとめ、『アフリカ』（第51巻1号）に掲載された。

同じく研究協力者の段瑞聡は、中国政府が公共外交の一部と位置づける孔子学院の現状を検討し、中国の対アフリカ教育政策に関する分析を実施した。これに加えて、1950～60年代中国とアフリカ関係における台湾要因についても公表された内部資料を用いて分析を行った。「一つの中国」原則と代表権をめぐり、アフリカにおいて中国と台湾が繰り広げた援助競争の実証的に検討し、それを踏まえて中国の国連復帰とアフリカ諸国の関係を考察したうえで、この時期における中国の対アフリカ政策が常に台湾要因に影響されていたことを明らかにした。

中国側研究協力者として、北京大学アフリカ研究センターの李安山は、中国とアフリカの歴史的関係を踏まえて、中国の対アフリカ政策決定プロセスに関する解明を行っている。

中東研究を専門とする呉冰冰は、イスラームを媒介に中東との歴史的・社会的な連続性が高いアフリカの国々でのエネルギー、天然資源における中国の戦略について分析を行い、特にリビアやスーダンにおける中国の外交戦略を検証したうえで、その問題点を探った。

浙江師範大学アフリカ研究院を創設した劉鴻武は、中国・アフリカ関係の歴史変遷を解明したうえで、アフリカ国家におけるキャパシティ・ビルディングについて研究を行った。その成果として、2011年12月に日本大学会館で開催された国際ワークショップで「アフリカにおける国家能力の建設と発展の展望」と題する発表を行った。その報告では、アフリカ諸国の発展を阻害する4つの要因について分析し、明らかにしたうえで、国家におけるキャパシティー・ビルディングと経済発展の関係解明に努め、政府の役割を大いに唱えている。

同じく浙江師範大学アフリカ研究院の蕭玉華は、中国の対アフリカ経済協力を歴史的に検討し、そのうえで現代のアフリカにおける中国の経済的プレゼンスについて分析を行った。

以上の各人の研究を進めるうえで、本研究では共同研究会や中国における調査や資料の収集を重視した。具体的には、2011年9月に、浙江師範大学での共同研究会を終えてから同省の義烏市にあるアフリカ商品見本市を視察した。同見本市は、同国に進出しているアフリカ人流通業者を中国政府が一箇所に集約させたものである。同見本市を見学し、流通業者にインタビューを試み、中国政府によるアフリカ人定住者の管理の実態解明に努めた。また、同時期に新疆ウイグル自治区の石河子大学により開催した石河子大学—日本大学—北京大学三大学共同シンポジウムに日本側の研究メンバーが参加した。

これに加えて、2012年3月5日から8日にかけて中国の広州市にあるアフリカ人村を視察し、調査を行った。調査の過程では、アフリカ人によるビジネス活動の空間として知られている雑居ビル「天秀大厦」やアフリカ人がよく利用するビジネスホテル「登峰賓館」およびアフリカ人が暮らしている宝漢直街、小北路、三元里など地区を見回り、情報や資料の収集も行った。これらの地域は居住者の流動性が高いこともあり、継続的に観察する必要があるため、今後もこの部分の調査を引き続き行う予定である。

さらに、3月8日から11日にかけて、台湾で資料収集や学者間の交流を行った。具体的には、3月8日に台湾国立政治大学国際関係研究センター元センター長でアフリカ政治を専攻する嚴震生教授と台湾—アフリカ関係における中国要因について論議を交わし、そのうえで日本大学との学術交流に関する意見交換も行った。これに続いて、9日に中華民国（台湾）国史館を訪ね、館長呂芳上を表敬訪問、資料蒐集を行い、10日には国立中山大学を訪問した。以上のように、中国および台湾の研究者との会合を重ねることで、中国の対アフリカ政策をテーマとする本研究の今後の発展の素地を築くことができたと確信する。

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 11-029
	継続 総 10-041

平成 23 年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成 24 年 4 月 30 日

日 本 大 学 総 長 殿

氏 名 宮入 伸一



所属・資格 薬学部・教授

下記のとおり報告いたします。

1 研究課題		
生体内ビスインドールのインディルビンを基本構造とした新規生物活性物質の創製と応用		
2 研究組織		
氏 名	所属部科校・資格	役割分担
○研究代表者名 宮入伸一	薬学部・教授	研究総括、分子設計、酵素阻害活性の評価およびインディルビンの測定法の開発
○研究分担者		
小林俊亮	薬学部・准教授	無細胞系での遺伝子発現系への作用評価
大橋祥世	薬学部・助教	細胞を用いた遺伝子発現系への作用評価
小菅康弘	薬学部・助教	神経細胞への作用評価
齋藤弘明	薬学部・助教	インディルビン類縁体の合成
田畑恵市	薬学部・助教	腫瘍細胞への特異作用の評価
3 本研究に関連して外部資金への申請状況、獲得状況		
濱口生化学振興財団平成 23 年度研究助成申請(不採択) 「腫瘍細胞選択的アポトーシス誘発作用を示すインディルビン誘導体の作用メカニズムの解明」:宮入、齋藤、田畑		
科学研究費補助金平成 24 年度申請 「神経細胞のストレス応答における多機能タンパク質 YB-1 の多彩な役割の解析」:小林(不採択) 「YB-1 タンパク質の核移行に関わる因子の解析」:大橋(不採択) 「糖尿病によるスパイン形態変性における ERK の機能的役割の解明と新規治療薬開発」:小菅(採択) 「神経分化誘導型治療薬探索のための新規スクリーニング法の開発研究」:田畑(不採択)		
戦略的基盤形成事業平成 24 年度申請(不採択) 「時間薬学・時間薬理学を基盤とした脳神経疾患治療薬開発拠点の形成」		

※「6 研究結果」について、ホームページ等での公開 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。

部科枝名：薬学部

氏名：宮入伸一

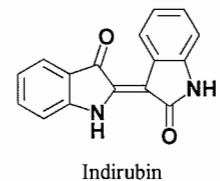
4 研究目的

Indirubin 誘導体の中には細胞周期を調節するサイクリン依存性キナーゼ(cyclin dependent kinases; CDKs)や Wnt シグナル伝達系を介して細胞周期、細胞分化、神経細胞の極性形成などに関与しているグリコーゲン合成酵素キナーゼ-3 β (glycogen synthase kinase-3 β ; GSK-3 β)の酵素活性阻害作用を示すものがある。これは、indirubin 分子がこれらキナーゼの補因子である ATP の結合を競合的に阻害するためである。さらに、これら両酵素はアルツハイマー病の特徴的病態であるタウタンパク質の異常なリン酸化への関与、糖尿病やパーキンソン病、癌などの疾病の発症への関与も疑われているものである。さらに、GSK-3 β 遺伝子をノックアウトすると、神経細胞の分化が促進されるとの報告もある。このように、ATP が結合する酵素やタンパク質に強く影響を及ぼすことが考えられる indirubin 誘導体には様々な生物活性が期待できる。それゆえ、置換基の工夫により神経系への作用や選択性の高い抗腫瘍活性を示す化合物が見出される可能性が高く、さらに抗腫瘍剤に対する多剤耐性の改善も期待できる化合物が見出される可能性も秘められている。また、indirubin にはダイオキシンの受容体である aryl hydrocarbon receptor (AhR)のリガンド活性も報告されていることから、ダイオキシンの毒性軽減効果が期待できる化合物も見出される可能性がある。

以上のような観点から、本プロジェクトは、多様な生物活性が期待できるビスインドール系化合物である indirubin を基本骨格に様々な誘導体や類縁体を合成して化合物ライブラリーを構築し、その生物活性の評価を基に新規薬物 seed を創製することを目的としたものである。

5 研究概要

本プロジェクトは、細胞周期や細胞分化に関連する種々キナーゼの ATP 結合部位に親和性を有する indirubin に着目し、その化合物ライブラリーの構築ならびにライブラリー化合物の生物活性の検討を通じて新たな生物活性を発掘し、新規医薬品 seed 化合物の開発へと繋げることを目的としている。Indirubin はインドール二量体であり、その置換基導入可能部位としては2つの芳香環上の8つの水素原子のうちの7箇所と2つの窒素原子の部分および非アミド性カルボニル基が考えられる。芳香環上にはアルキル基、アルコキシ基、水酸基ならびに種々ハロゲンなどを置換基として導入した誘導体を、また窒素原子にはアルキル基やアシル基を導入した誘導体を合成した。一方、カルボニル基については、まず誘導体化のための足場となる水酸基の導入を目的に bioisostere とも考えられているオキシム基へと変換し、そこにタンパク質との化学反応性を有する官能基などを導入した新規誘導体を合成した。引き続き、これらライブラリー化合物の生物活性を検討した。本年度は、ヒト腫瘍細胞に対する腫瘍細胞選択的細胞傷害性、哺乳類細胞における多剤耐性遺伝子発現抑制活性、神経再生促進活性ならびに小胞体ストレス誘発性神経細胞死に対する保護活性を検討対象とした。ヒト由来の神経芽腫や肝がん細胞を用いた細胞傷害性の検討では、indirubin 3'-(*O*-oxiran-2-ylmethoxime)に高い腫瘍細胞選択的細胞傷害活性が認められた。一方、多剤耐性遺伝子発現では、検討に用いた3種の細胞系すべてにおいて7-methoxyindirubin 3'-oximeが抑制的な傾向を示すことが確認された。また、神経再生促進効果はindirubin と5-bromoindirubin やその3'位オキシム誘導体で認められたが、逆に抑制的に作用する誘導体もあり、indirubin 誘導体が神経再生に影響を与えることは確認されたが、促進効果を示す特徴的構造を特定するには至らなかった。さらに、アルツハイマー病との関連が示唆されている小胞体ストレス誘発性神経細胞死に対する保護効果の検討では、幾つかの indirubin 誘導体に活性が認められ、とりわけ1-acetylindirubin と5^o-ethylindirubin が小胞体ストレスにより誘導合成され細胞死と深く関わっているとされる CHOP タンパク質の誘導量を顕著に抑制することが確認された。



以上、本プロジェクトで構築した indirubin 誘導体の化合物ライブラリーは、新規医薬品の seed 化合物探索に有用であることが明らかになった。今後、この総合研究を端緒としてライブラリー化合物の拡充を図り、新たな薬効発現メカニズムに基づく生物活性物質の開発に繋がりたいと考えている。

部科校名：薬学部

氏名：宮入伸一

6 研究結果 (4,000字以上記入してください。)

本プロジェクトは、細胞周期に関連する種々のキナーゼの ATP 結合領域に高い親和性を示し、また多環式芳香族炭化水素受容体(AhR)にも高い親和性を有するビスインドール化合物である indirubin を基本骨格とした化合物ライブラリーの構築を行い、それを用いて有用な新規生物活性を有する seed 化合物の開発を目的としている。そこで、まず本年度新たにライブラリーに追加した化合物に関する結果を述べ、次いで前年度から継続して行っている生物活性の探索について報告する。

1) 化合物ライブラリーの拡張

前年度の探索で、5'-methoxyindirubin を始めとするいくつかの indirubin 誘導体が神経芽腫に対して選択的に細胞毒性を示すことが確認された(H. Saito *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 21(18), 5370-73 (2011))。そこで本年度は、indirubin が有する細胞選択性を活かし、さらに高い細胞毒性を示す部分構造を付加した誘導体の開発を行った。すなわち、3'位カルボニル基を bioisostere になり得るオキシム基に変換後、オキシムの水酸基を足場にタンパク質との反応性を有する官能基を導入した誘導体を開発した。本化合物群(図 1)はタンパク質中のアミノ基やチオール基などとの高い反応活性が期待できるエポキシド構造を有していることを特徴としており、さらにその構造の有用性を検証するためのアリル誘導体やヒドロキシおよびジヒドロキシ誘導体も含まれている。また、インドールの窒素原子に置換基をもつ誘導体が化合物ライブラリーに不足していたことから、新たに *N*-アルキルおよび *N*-アシル誘導体を数種(図 2)合成し、化合物ライブラリーに追加した。一方、インドールの窒素原子の意義を検討する目的で酸素原子と置換したベンゾフラン誘導体(図 3)も合成した。

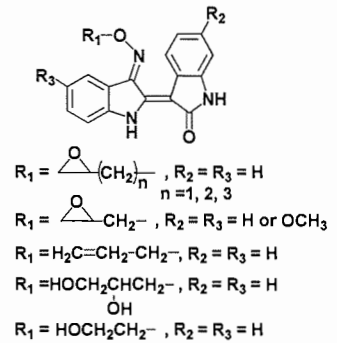


図1. Indirubin 3'-(O-alkoxime) derivatives

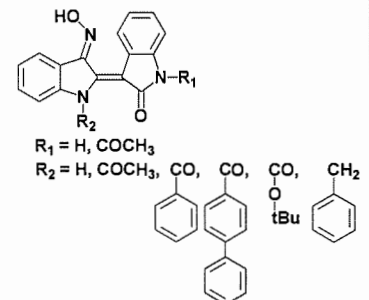
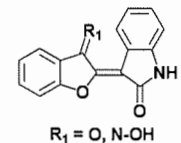
図2. *N*-Acyl or *N*-alkyl indirubins

図3. Oxa derivatives of indirubin

2) 生物活性の検討

まず、腫瘍細胞に対する選択的細胞毒性を検討した。腫瘍細胞としては前年度検討に用いたヒト由来の神経芽腫 3 種(IMR-32、SK-N-SH、NB-39)に加えて新たに神経芽腫 1 種(LA-N-1)とヒト由来の肝がん細胞(HepG2)を加えた。対照にはヒト由来の正常細胞 2 種(NHDF、HUVEC)を用い、細胞毒性を比較検討とした(表 1)。その結果、新たに合成した 3'位にエポキシドを有する誘導体は高い細胞傷害性を示したが、その細胞毒性は正常細胞に比べて腫瘍細胞に対して強く現れ、腫瘍細胞選択性が確認された。例えば、図 1 の最上部に記載した $n=1$ の化合物(I)の細胞傷害活性発現の IC_{50} 値は、正常細胞の NHDF では $61.4 \mu\text{M}$ であったのに対して、神経芽腫では $1/110 \sim 1/440$ 、肝がん細胞では $1/60$ 程度の低濃度であった。なお、正常細胞の HUVEC に対する細胞傷害性は NHDF よりも強く現れ、その IC_{50} 値は $1.75 \mu\text{M}$ であった。また、この化合物は、強力な抗がん剤として知られているシスプラチンと比べても腫瘍細胞に対する細胞傷害活性は高く、同一細胞に対する IC_{50} 値はシスプラチンの $1/4 \sim 1/86$ の濃度であった。以上のように本プロジェクトで開発した新規 indirubin 誘導体が優れた抗腫瘍活性を示したことから、現在 NUBIC を通じて特許(出願番号：特願 2011-156299)を出願中であり、また日本薬学会第 132 年会(田畑恵市ほか)において詳細な結果を報告した。

一方、前年度までの細胞抽出液を用いた gel shift assay による検討において、幾つかの indirubin 誘導体が転写因子である NF- κ B に親和性を示し、NF- κ B のシスエレメントへの結合活性を修飾することが確認されている。NF- κ B は、腫瘍細胞の悪性化の一因として注目されている多剤耐性遺伝子 MDR1 の発現に関与する転写因子であることから、MDR1 発現の阻害物質は多剤耐性の克服すなわち腫瘍細胞が耐性を獲得し無効となった抗がん剤の再使用を可能にする画期的な医薬品となる可能性を秘めている。そのような観点から、本化合物ライブラ

表 1. 細胞傷害活性

	IC_{50} (μM)	
	化合物 I	シスプラチン
NHDF	61.4	>100
HUVEC	1.75	69.8
IMR-32	0.329	28.2
SK-N-SH	0.325	12.1
NB-39	0.550	2.04
LA-N-1	0.139	1.63
HepG2	1.00	10.0

部科校名：薬学部

氏名：宮入伸一

研究結果（つづき）

リーは、新たな、より強力な医薬品の seed 化合物の探索に有効と考えられる。従前の検討により、NF-Y のシスエレメントへの結合活性を増強させる物質として indirubin 3'-oxime ならびに 7-methoxyindirubin 3'-oxime が、減弱させる物質として 5-methoxyindirubin ならびに 5'-bromoindirubin が見出されている。また、前年度、NF-Y タンパク質の *in vivo* における転写活性を評価するために GFP (green fluorescent protein) をマーカーとする reporter gene assay 系を構築した。本アッセイ系は細胞内蛍光強度の増減から転写活性を評価するものである。用いる細胞種は、マウス由来の神経芽腫細胞である NG108-15 細胞および筋芽細胞である C2C12 細胞ならびにヒト乳がん由来の MCF-7 細胞とした。これら indirubin 誘導体の各細胞に対する細胞傷害性に基づいて細胞生存率 80%以上の濃度、すなわち NG108-15 細胞では 1 μ M、C2C12 細胞および MCF-7 細胞では 5 μ M を用いてアッセイを行ったところ、7-methoxyindirubin 3'-oxime を用いる時、NG108-15 細胞では使用濃度が低いため統計学的に有意なものではなかったものの、すべての細胞において GFP の産生が抑制される傾向が確認された。なお、この結果は日本薬学会第 132 年会(田中融ほか)で報告した。また、この生物活性発現における 7 位の置換基効果を検討するため、新たに 7 位炭素原子を窒素原子に置換した 7-azaindirubin およびその 3'位オキシム誘導体を合成し、その生物活性を検討中である(図 4)。

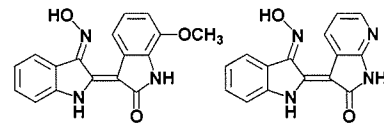


図4. 7-Methoxyindirubin 3'-oxime and 7-azaindirubin 3'-oxime

また、細胞周期に関連することが知られている glycogen synthase kinase-3 β (GSK-3 β)は、前述のごとく indirubin の標的酵素の一つであり、神経再生に深く関与しているとの報告がある。そこで、金魚の視神経細胞を用いたモデル実験系により、indirubin 誘導体の神経再生への影響を検討することとした。すなわちポリリジンでコートしたディッシュを用いて L-15 培地中で金魚網膜組織を培養し、培養開始5日後の軸索の伸展の程度から神経再生力を評価する実験系である。検討の結果、indirubin には神経再生促進効果が認められ、対照的にその 3'位オキシム誘導体には抑制効果が観察された。しかし、この対照的な効果は 3 位の構造にのみ依存するものではなく、5-bromoindirubin やその 3'位オキシム誘導体は促進効果を示すが、それらの 6 位ブromo異性体はいずれも抑制的であった。これらの結果は、indirubin 誘導体の薬理効果の新たな一面であり、神経再生を促す医薬品の seed としての可能性を示すものではあるが、構造活性相関を論じるためには更なる化合物ライブラリーの拡充が必要との結論に至った。一方、indirubin のもう一つの標的酵素である cyclin dependent kinases (CDKs)は、GSK-3 β と共にアルツハイマー病の特徴的病態であるタウタンパク質の異常なリン酸化への関与が示唆されており、神経細胞死へと続く主要な過程の一つと考えられている。そこで、本年度は細胞内の微細かつ本質的な変動を検討するための基礎的知見を収集することを目的として細胞全体への影響を大局的に観察することとし、神経細胞死に対する indirubin 誘導体の作用を検討した。すなわち、マウス海馬由来の神経様細胞である HT22 細胞を用いて、Tunicamycin が誘発する小胞体ストレスを起源とする細胞死に対する indirubin 誘導体の保護効果の検討である。その結果、indirubin 誘導体 20 μ M 存在下で、化合物自身の細胞傷害性はほとんど観察されず、かつ Tunicamycin により誘発される細胞死を有意に抑制する化合物として、5 位に臭素原子をもつ 5-bromoindirubin およびその 3'位オキシム誘導体や 5,5'-dibromoindirubin が見出された。さらに加えて、5-methylindirubin、5'-ethylindirubin、5,5'-dimethoxyindirubin、6-hydroxyindirubin、1-acetylindirubin にも同様の効果が観察された。引き続き、これらの indirubin 誘導体を用いて、小胞体ストレスにより誘導合成され細胞死と深く関わっているとされる CHOP タンパク質の誘導量抑制効果を検討したところ、1-acetylindirubin と 5'-ethylindirubin に顕著な抑制効果が認められた。

以上、平成 22 年度ならびに 23 年度の検討を通じて、本プロジェクトで構築した化合物ライブラリーが新規医薬品 seed 化合物探索に有効であることが明らかとなった。今後、本プロジェクトを端緒としてさらに多様な官能基を有する化合物の合成を続けて化合物ライブラリーの充実に努め、新たな薬効発現メカニズムに基づく生物活性物質の開発に繋げたいと考えている。

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 11-030
	総 10-042

平成23年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成 24 年 5 月 11 日

日本大学 総長 殿

氏 名 近藤 健史



所属・資格 通信教育部・教授

下記のとおり報告いたします。

1 研究課題 多言語による e-learning 日本語学習メディアに関する総合的研究		
2 研究組織		
氏 名	所属部科校・資格	役割分担
○研究代表者名 近藤 健史	通信教育部・教授	総括・多言語日本語学習メディア化の計画
○研究分担者 高綱 博文	通信教育部・教授	中国語圏担当
陸 亦群	通信教育部・准教授	中国語圏担当
松岡 直美	総合社会情報研究科・教授	学習デザインの設計・評価担当
保坂 敏子	総合科学研究所・准教授	日本語学習デザイン担当
水木 ピーター	総合科学研究所・准教授	英語圏担当
3 本研究に関連して外部資金への申請状況、獲得状況		

※「6 研究結果」について、ホームページ等での公開 (○・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：通信教育部

氏名：近藤 健史

4 研究目的

本研究は、留学生の受入れ拡大に寄与するために、日本語を第一言語（母語）としない留学生や日本への留学希望者などの多様な学習者が、多言語で日本語や日本社会・文化を学べる e-Learning 学習環境を実現することを目的とする。具体的には、現在通信教育部で利用されている e-Learning（「メディア教材」）を多言語化（英語・中国語・韓国語）し、その実用性と有効性を総合的に検証し、それを基に多言語 e-Learning 日本語学習環境を構築することを目指すものである。

5 研究概要

平成22年度は、英語・中国語・韓国語の3か国語で多言語化を図り、多言語対応教材として2科目のプロトタイプを作成した。

平成23年度は、その開発した教材について、日本で学ぶ留学生や海外で日本語を学ぶ学生を対象にして、実際に運用し検証・評価を行った。

部科校名：通信教育部

氏名：近藤 健史

6 研究結果 (4,000字以上記入してください。)

〔研究会〕

第1回の研究会では、多言語によるe-Learning日本語学習メディア教材の運用・検証を行う前提として、平成23年2月に韓国新羅大学において実施した韓国語版日本語学習メディア教材の試行・検証の結果を報告した。またそれに基づき改善を加え、多言語によるe-Learning日本語学習対応メディア教材2科目を完成させることを打ち合わせた。

第2回の研究会では、多言語によるe-Learning日本語学習メディア教材を運用した後、評価・検証の資料とするためのアンケート調査項目や実施計画・担当者などについて打ち合せした。

第3回の研究会では、9月に韓国新羅大学と中国大連大学において実施した教材運用状況とアンケート集計結果について報告をした。

第4回の研究会では、10月に東京学芸大学で実施した教材運用状況と、11月の東アジア日本語教育・日本文化研究学会のパリ国際学会における発表の報告を行った。また2年間にわたる本総合研究の研究成果報告書の作成について打ち合わせた。

〔運用実施と学会報告〕

完成した多言語によるe-Learning日本語学習メディア教材2科目について検証するため、国内外において以下のような運用と評価・検証のためのアンケート調査の実施、学会での発表、報告を行った。

①科目

- (1)「多言語による日本語・歴史学の学習～e-Learningを利用した中国概論の場合～」
- (2)「多言語による日本語・日本文化の学習～e-Learningを利用した万葉集入門の場合～」

②運用実施

- (1) 韓国 新羅大学 (平成23年9月5日～8日)
担当者 近藤健史, 崔 光準
対象学生 35名
- (2) 中国 大連大学 (平成23年9月13日～17日)
担当者 陸 亦群, 宋 協毅
対象学生 35名
- (3) 日本 東京学芸大学 (平成23年10月26日)
担当者 保坂敏子
対象学生 19名

③学会発表・論文報告

- (1) 学会発表「東アジア日本語教育・日本文化研究学会 パリ国際大会」(平成23年11月2日～6日)
担当者 保坂敏子
「多言語によるe-Learning日本語学習メディアに関する共同研究」と題して、本研究成果を保坂が代表して報告した。
- (2) 論文報告『東アジア日本語教育・日本文化研究』(第15輯 平成24年3月)
「多言語によるe-Learning日本語学習メディアに関する共同研究—専門科目を核としたe-Learning教材の試行と評価—」と題した論文を掲載(共同研究者全員連名)。

④研究成果報告書

報告書刊行『多言語によるe-Learning日本語学習メディアに関する総合研究—平成22年度～23年度日本大学学術研究助成金(総合研究)研究成果報告書』(平成24年3月15日刊行)

部科校名：通信教育部

氏名：近藤 健史

研究結果（つづき）

<目次>

はじめに

I. 多言語による e-Learning 日本語学習メディアに関する総合研究について

II. 論文「多言語による e-Learning 日本語学習メディアに関する共同研究」

III. 資料

(1)教材<万葉集入門>

①テキスト 日本語版, 中国語版, 韓国語版, 英語版

②理解度チェック 日本語版, 中国語版, 韓国語版, 英語版

(2)教材<中国概論>

①テキスト 日本語版, 中国語版, 韓国語版, 英語版

②理解度チェック 日本語版, 中国語版, 韓国語版, 英語版

(3)アンケート調査及び結果<万葉集入門>

(4)アンケート調査及び結果<中国概論>

(5)参考論文「e-Learning 教育のための実態並びに方法に関する提言」(崔 光準)

研究メンバー

おわりに

〔運用・検証〕

①教材の運用

(1)手順

多言語による e-Learning 日本語学習メディア教材の運用は、3 大学とも以下のような手順で行った。

ア. 手順書の説明 イ. 事前チェック（事前テスト） ウ. 学習

エ. 理解度チェック（事後テスト） オ. 事後アンケート

この手順に従い、2 科目分を90分の授業の中で一斉授業の形式により実施した。

②対象者（協力学生のプロフィール）

	新羅大学（韓国）	大連大学（中国）
人数	35名 (男性：13名, 女性20名, 不明2名)	35名 (男性：2名, 女性33名)
日本語能力	初級20名 中級14名 不明1名	初級2名 中級29名 上級4名
専攻	日語日文18名 日本語8名 国際観光経営2名 日本学史・広告広報学1名 不明13名	日本語21名 日本語同時通訳8名 日本経済と貿易3名 日本語言語文化1名 不明2名
e-Learning 歴	ある13名 ない20名 不明2名	ある5名 ない3名

部科校名：通信教育部

氏名：近藤 健史

研究結果（つづき）

③アンケート項目

<授業の内容について>	<教材について>
1. 授業の内容はわかりやすかった	1. 教材は使いやすかった。
2. 授業の内容は興味深かった。	2. 教材は面白かった。
3. 授業の内容は十分だった。	3. 教材はやりがいがあった。
4. 授業の内容は難しかった。	4. 教材で自信がついた。
5. 授業は中国を理解するのに役に立った。	5. 教材の構成は分かりやすかった。
6. 授業は万葉集を理解するのに役に立った。	6. 何を使って学習を進めましたか。
7. 総合的に授業の内容に満足できた。	<ul style="list-style-type: none"> ・画面と音声 ・画面と音声と翻訳付き資料（解説文、用語解説） ・画面と音声と翻訳付き資料（解説文、用語解説）とその他の資料（日本語：資料、年表、コラム）
	7. アニメーションや図による提示は効果的だった。
	8. 翻訳付き資料は授業を理解するのに役立った。
	9. 翻訳付き資料の量は十分だった。
	10. その他の資料（日本語）は分かりやすかった。
	11. その他の資料（日本語）の量は十分だった。
	12. 理解度チェックは内容が難しかった。
	13. この教材は日本語学習に役立った。
	14. 総合的にこの教材に満足した。
	15. 今後もこのような教材を使ってもっと勉強したい。

④アンケート調査方法

<当てはまる番号かボックスにチェック>
 全くそう
 思わない
 1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6
 非常に
 そう思う

・学習終了後にペーパーによるアンケート調査を一斉に行った。

[検証結果]

- (1) 専門科目を核とする e-Learning による多言語日本語学習メディア教材は、専門科目の学習に効果があり、特に韓国の学習者と中級レベルの学習者に効果的である。
- (2) 日本語学習者に役立つと感じた場合、教材や授業に対する総合的な評価が高くなる。
- (3) 学習者は動画やアニメーションなどのマルチメディア資料と翻訳資料が内容理解に役立つと感じている。

以上の結果から、本教材は日本語の有効な学習手段となり得ることが確認された。また、改善点、今後の課題なども判明した。

部科校名：通信教育部

氏名：近藤 健史

研究結果（つづき）

〔改善点・今後の課題〕

①改善点

- (1) レベルに応じたスキヤフォールディングを学習のコンテンツやデザインに組み込む必要がある。
- (2) 国別、レベル別などの学習者の属性に応じて学習のコンテンツをカスタマイズする必要がある。
- (3) 専門的な内容の理解を促進するための多様なモード、多様な言語の資料を組み込む必要がある。
- (4) 学習意欲を高めるために、文字解説を絵や写真などとリンクさせること。また、解説文の漢字語彙の読み方や意味を調べる機能をつける必要がある。

②今後の課題

- (1) e-Learning による多言語対応日本語学習メディア教材を用いての継続的な学習を通じて、専門的な内容だけでなく日本語能力自体がどれだけ高まるかを実証的に検証することが重要である。
- (2) コミュニケーション機能を使った学習の実証的検証を行うことが必要である。
- (3) 多言語対応 e-Learning の日本語学習環境を構築するために必要な要件、スキヤフォールディング等を再検討することが大切である。

なお、今回は海外に存在する日本語学習者を対象とした韓国新羅大学と中国大連大学における運用と検証結果であったが、さらに日本に留学中の英語圏の日本語学習者を対象とした東京学芸大学における調査結果を加え、その研究成果を平成 24 年 8 月末に開催される第 5 回「日本語教育とコンピュータ」国際会議において発表する予定である。

課題番号	総 11-031
	継続
	総 10-045

平成 23 年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成 24 年 5 月 21 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・教授

下記のとおり報告いたします。

1 研究課題 薬剤および食品による自己再生細胞を活性化する抗老化の総合研究				
2 研究組織				
	氏 名	所属部科校・資格	役割分担	
	○研究代表者名 福田 昇	大学院総合科学研究科・教授	研究の総括、 EPC・血管芽細胞の調節機構	
	○研究分担者 北中 進	薬学部／教授	生薬による幹細胞、前駆細胞	
	飯島 洋	薬学部／教授	生薬による幹細胞、前駆細胞	
	松本太郎	医学部／教授	EPC・血管芽細胞の調節機構	
	上野高浩	医学部／准教授	食品の臨床試験	
3 本研究に関連して外部資金への申請状況、獲得状況				
文部科学省科学研究費				
年度	研究種目	研究 課 題 名	研 究 者 名	採択金額 (円)
23	基盤研究 (C)	脂肪細胞機能を調節する天然薬物の研究	北中 進 (代表)	160 万円
23, 24	基盤研究 (C)	脱分化脂肪細胞 (DFAT) を用いた臓器移植モデルにおける急性期拒絶反応制御の検討	松本太郎 (分担)	330 万円/2 年
23, 24	基盤研究 (B)	高齢者難治性疾患に対する脱分化脂肪細胞を用いた細胞治療の確立	松本太郎 (代表)	1070 万円/2 年
24	基盤研究 (C)	高血圧病態における補体 C3 の役割	福田 昇 (代表)・ 上野高浩 (分担)	150 万円
24	基盤研究 (C)	腎炎に対する新規遺伝子制御薬 PI ポリアミドの開発	福田 昇 (分担)	150 万円
24	基盤研究 (C)	老化に関わる難治性疾患の予防・改善を目指した天然薬物の研究	北中 進 (代表)	150 万円
24	基盤研究 (C)	化合物によるカテコール-O-メチル転移酵素の生成物阻害解除機構の解明	飯島 洋 (代表)	160 万円

※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

4 研究目的

幹細胞は自己複製能と多分化能を持つ重要な細胞で、前駆細胞は幹細胞から分化した細胞である。これら幹細胞や前駆細胞は臓器傷害に応じて活性化され、自己修復細胞として組織再生を起こすことが分かっていた。ヒトの臓器障害の成り立ちとして、組織幹細胞は臓器損傷に応じて組織を修復し、前駆細胞は末梢血中から傷害部位に到達し、組織を修復しており、一義的病気が臓器傷害を起こすが、最終決定因子は幹細胞もしくは前駆細胞の組織修復能と考えられる。これら組織幹細胞や前駆細胞の寿命は酸化ストレスで短くなる事が知られている。これら幹細胞や前駆細胞の機能を活性化する薬剤や食品などを、細胞移植再生医療に対して、「保存的再生医療」として提唱し、高血圧ラットや臨床で検証してきた。我々は、薬剤として Ang II 受容体拮抗薬やスタチンが抗酸化作用を通して組織幹細胞や EPC などの自己修復細胞の機能を高め、心血管臓器保護、抗老化に働くことを見いだした。

また食品摂取はヒトの基本的な生活習慣であり、したがって抗酸化作用のある食品は抗老化、寿命の観点から保存的再生医療として重要であり、薬学部では抗酸化作用のある生薬で組織幹細胞や EPC への作用を検討してきた。本計画は、抗酸化食生活習慣と生薬の組織幹細胞や EPC の機能に対する作用を検討するものであるが、新たな心血管病に対する保存的再生医療の確立、研究に結びつく計画であり、極めて独創的である。我々は平成 22 年度の総合研究において、血管芽細胞その微小環境(ニッチ)の存在を明らかにし、酸化ストレスによる血管傷害での変化を検討する事により血管病および老化での血管芽細胞と niche の機能障害という新たなメカニズムを明らかにした。平成 23 年度は薬学部で高血圧ラットを用いて、種々抗酸化生薬による EPC、心筋幹細胞、腎幹細胞機能の活性化作用を比較検討する。また医学部と武庫川女子大学との共同で抗酸化食品および食生活習慣が修復細胞である EPC の機能への影響を評価する事を目的にする。

5 研究概要

I 種々抗酸化生薬による EPC の活性化作用の比較検討

SHR で柴胡加竜骨牡蛎湯に EPC 機能亢進作用を見出した。抗酸化β遮断剤セリプロロールも TBRAS を低下し、EPC コロニー形成数を増加した。単核球画分を色素が細胞内の酸化性反応により、2',7'-Dichlorofluorescein へ変換されたときに発する蛍光を利用して、flow cytometry で、単核球画分の細胞における酸化状態を測定し、TBARS と相関した。現在、SHR に生薬としてフラボノイドを含むマリアザミ、黄ごん、甘草、紅花、猫眼草、ルイボスティー、カテキン、スチルベン、生脈散等を順次検討している。さらに天然薬物からの活性成分の分離・構造決定を行っている。

II 抗酸化食品および食生活習慣が修復細胞である EPC の機能への影響を評価

健常男子を対象とし、2 週のベースライン研究と 2 週の栄養介入研究の 2 段階臨床試験を行った。ベースライン研究後、無作為割付により試験食群と対照群とに分け、試験食群にはタウリンを 3000 mg/日経口投与、もしくはマグネシウム 340 mg/日経口投与した。基礎 EPC コロニー形成能と酸化ストレス 8-OHdG に負の相関傾向が認められた。タウリン群においては、介入後 EPC コロニー形成能は増加し、抹消血中 TBARS は有意に低下した。このように EPC コロニー形成能は酸化ストレス状態で減弱し、抗酸化食品であるタウリンやマグネシウム摂取で増加することが認められ、抗酸化食生活が、EPC の活性化、寿命延長を介して心血管病の予防に働くと考えられた。またタウリン摂取では血清の脂肪酸の増加があったが、マグネシウム摂取では変化無く、異なったメカニズムで抗酸化、EPC 機能の増加をもたらしていると考えられた。

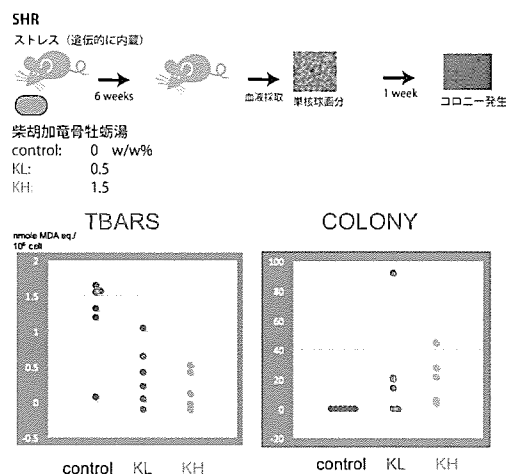
6 研究結果 (4,000字以上記入してください。)

I 高血圧ラットを用いた種々抗酸化生薬による EPC の活性化作用の比較検討

組織アンジオテンシン II が NADPH oxidase により酸化ストレスを起こしている、高血圧自然発症ラット (SHR) に候補薬剤を投与し、2週間後に末梢血単核球で TBARS による酸化ストレスアッセイを行い、さらに EPC コロニーアッセイにて血管修復能を評価した。

1. 抗酸化生薬の選択のための検討

- 1) 抗酸化作用がある漢方薬数種類について EPC 機能を検討した。その中から交感神経抑制薬である柴胡加竜骨牡蛎湯に EPC 機能亢進作用を見出した。柴胡加竜骨牡蛎湯の投与は脂質の酸化度、細胞内活性酸素濃度を低下させた。一方、ARB やスタチンなどの抗酸化薬が NADPH oxidase の mRNA 発現を抑制したのに対し、柴胡加竜骨牡蛎湯は NADPH oxidase mRNA 発現に影響せず、血圧降下作用も無く、従来の保護薬 ARB 等とは異なるメカニズムで EPC 保護作用を示している可能性が考えられた。サイトカインの変動、アンジオテンシン系以外の酸化ストレス経路への影響などについて検討した。



- 2) 次に福田らにより酸化ストレス作用が報告されているセリプロロールの活性を検出できるかを検討した。ネガティブコントロールはアテノロールを使用した。10日間の経口投与を行った。経口投与、2週間後に末梢血単核球酸化ストレスを TBARS スコアで評価したところ、セリプロロールにおいて、TBARS の低下を認めた。EPC コロニーアッセイにおいても、アテノロールよりも多数のコロニーを観察した。ただし、一群の個体数が少なく有為差はつけられなかった。
- 3) 単核球画分を 2',7'-Dichlorofluorescein diacetate 処理し、細胞に取り込まれたこの色素が細胞内の酸化性反応により、2',7'-Dichlorofluorescein へ変換されたときに発する蛍光を利用して、flow cytometry で、単核球画分の細胞における酸化状態を測定したところ、TBARS と相関した。
- 4) 現在、SHR に、生薬としてフラボノイドを含むマリアザミ、黄ごん、甘草、紅花、描眼草、ルイボスティー、カテキン、スチルベン、生脈散等を順次検討している。

2. 天然薬物からの活性成分の分離・構造決定

- 1) 生薬・漢方薬を有機溶媒を用い抽出後減圧下濃縮し、エキスを作成。エキスは更にエーテル、酢酸エチル、ブタノールの溶媒にて順次分配抽出した。
- 2) 活性の認められた画分は、シリカゲル、ODSゲル、Diaion HP20ゲル、Sephadex LH-20などの担体で繰り返し精製し、最終的には分取用 HPLC カラムで化合物を単離した。
- 3) 単離化合物の構造決定は、融点、旋光度の測定、UV, IR, NMR (¹H-NMR, ¹³C-NMR, ¹H-¹H COSY NOESY, HMQC, HMBCなどを測定)、MS (Low MS 及び High MS,) CDなどのスペクトルを測定し、解析して化学構造式を決定を現在行っている。

部科校名：総合科学研究科

氏名：福田 昇

研究結果 (つづき)

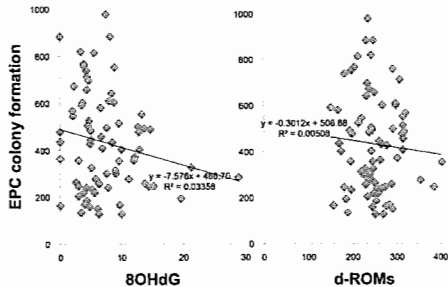
II 抗酸化食品および食生活習慣が修復細胞である EPC の機能への影響を評価

平成 22 年度から継続して、タウリン摂取とマグネシウム摂取が EPC コロニー形成能、酸化ストレス、血管内皮機能、血清の不飽和脂肪酸に及ぼす効果を臨床試験により評価した。

【方法】 20-30 歳の健常男子を対象とし、2 週のベースライン研究と 2 週の栄養介入研究の 2 段階臨床試験を行った。ベースライン研究後、無作為割付により試験食群と対照群とに分け、試験食群にはタウリンを 3000 mg/日経口投与、もしくはマグネシウム 340 mg/日経口投与した。対象群として乳糖のプラセボを二重盲検にて投与した。試験食介入前後の 2 回、採血、24 時間尿を行なった。EPC コロニーアッセイを行い、酸化ストレスは血中 TBARS、尿中 8OHdG、FRAS4 (BAP test, d-ROMs test) で評価した。さらに HOMA-R でインスリン抵抗性を評価し、Endo-PAT による内皮機能測定を行った。また血清脂肪酸分析を行った。

	プラセボ群		タウリン群		マグネシウム群	
被験者数	30		40		18	
性別	男性 30	女性 0	男性 40	女性 0	男性 18	女性 0
年齢	22.8 ± 3.0		22.8 ± 2.9		21.4 ± 1.7	
BMI	21.2 ± 2.1		22.3 ± 1.9		22.5 ± 1.8	
収縮期血圧	118.3 ± 6.9		118.9 ± 8.1		114.4 ± 7.6	
拡張期血圧	73.8 ± 6.2		73.6 ± 5.7		72.8 ± 6.3	
喫煙者	20% (6名 1日平均6.8本)		25% (10名 1日平均8.0本)		33% (6名 1日平均4.4本)	

【結果】 平成 23 年度までに、この臨床研究への参加者はコントロール 30 名、タウリン投与群 40 名、マグネシウム群 18 名であった。全員の基礎 EPC コロニー形成能と酸化ストレスマーカーである尿中 8-OHdG との間に負の相関を認めた。



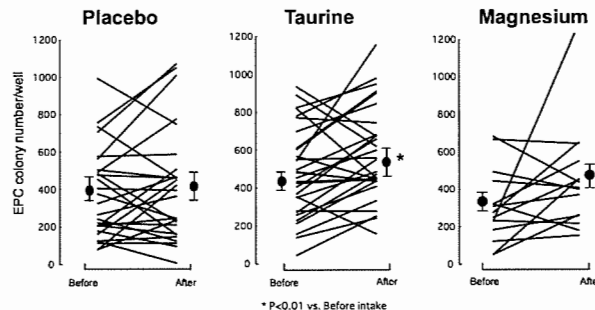
タウリン群においては、介入後 EPC コロニー形成能は有意に増加し、抗酸化力を示す BAP test では増加の傾向が認められ、抹消血中 TBARS は有意に低下した。

マグネシウム介入群においては、EPC コロニー形成能に増加の傾向が認められた。

血清の脂肪酸解析ではまた、タウリン群では飽和脂肪酸のミリスチン酸、パルミトレイン酸、1 価不飽和脂肪酸のオレイン酸、多価不飽和脂肪酸のリノレン酸、エイコセン酸、エイコサジエン酸、ドコサテトラエン酸、アラキドン酸が有意に増加したが、マグネシウム群では脂肪酸の変化は認められなかった。

今回の結果から、健常者において、EPC コロニー形成能は酸化ストレス状態で減弱し、抗酸化食品であるタウリンやマグネシウム摂取で増加することが認められ、抗酸化食生活が、EPC の活性化、寿命延長を介して心血管病の予防に働くと考えられた。またタウリン摂取では血清の脂肪酸の増加があったが、マグネシウム摂取では変化無く、異なったメカニズムで抗酸化、EPC 機能の増加をもたらしていると考えられた。

タウリン、マグネシウム摂取によるEPCコロニー形成能への影響



今後、タウリンをマグネシウムを多く含む食生活習慣を、血管内皮前駆細胞機能を高める保存的再生医療として抗老化医療として、推奨に社会に還元する。

注：必要に応じて、このページをご使用ください。