平成 30(2018)年度

井上円了記念研究助成

研究報告書

東洋大学

2019 年 3 月 31 日

目次

Ⅰ 平成30年度　執行一覧

平成30年度　井上円了記念助成　執行一覧　7

Ⅱ 平成30年度　個人研究　研究報告書

【大学院学生】

	氏名	表題	頁数
1）	荻　翔一	在日コリアンの教会再建の阻害要因に関する研究 －戦後における韓国系ホーリネス教会の再建過程に注目して－	13
2）	陸　英善	感情制御の日韓比較	16
3）	倉矢　匠	ジェンダー平等主義者に対する反応 ―フェミニストとメニニストの比較を通じた検討―	19
4）	滝口　雄太	日常の嘘に関する諸調査 顕在的な疑わしさと潜在的な疑わしさに着目して	22
5）	鷲尾　拓郎	圧受容器反射による自律神経活動の変容が 脳循環調節に与える影響	25
6）	守谷　侑美	無細胞マイクロ流体デバイスを用いた ナノ粒子の血管透過性評価	28
7）	新海　航輝	新型d-type　トリコテセンの創製と構造・性状解析	31
8）	田中　千智	ヒト皮膚培養細胞の炎症モデルを用いた抗炎症物質の探索と機能解析～市販精油をターゲットとして～	35
9）	足立　健太郎	トリコテセン系かび毒の網羅的MS/MSデータベースの 構築を目指して	38
10）	榎本　茂朗	好塩性を中心としたPolyextremophilesの分離解析	42
11）	齋藤　圭汰	階段式魚道内の礫堆積がウグイの遡上および 滞留行動に及ぼす影響	45
12）	遠藤　慧	実用化を目指したZymomonas mobilis ZEM1390株の 変異箇所解析	49
13）	山田　雄介	グルタミン合成酵素GS1;1に対するSLの役割について	52
14）	堀内　愛実	アカパンカビの呼吸鎖複合体Iとalternative　NAD(P)H dehydrogenaseの機能解析	55
15）	堀口　元気	二酸化炭素形態の違いによる水陸両生植物の 光合成沈水順応機構の比較	58
16）	眞塩　悠平	メンタルヘルス不調の改善に運動が与える影響の解明	61
17）	野間　爽也佳	自閉症候群（ASD）の性差に関連する脳部位でのCollapsin response mediator protein 4(CRMP4)欠損による遺伝子発現の変化	64

18）	Perera Ishara	Genetic and molecular analysis of low phytic acid trait in rice.	67
19）	織田　明里	成熟雌ティラピアの終神経節で、雄性ホルモンによってGnRH3ニューロンが増加する際に介在するシグナル伝達経路について	70
20）	山口　友輔	アカパンカビのキチン合成酵素chs遺伝子群の機能解析	74
21）	新井　真子	円石藻ココリスの形成は酸性多糖比率が炭酸カルシウム結晶成長を制御している	77
22）	中川　侑香	血管内皮細胞から分泌されるプロスタグランジンI_2の量的変化 −マイクロチップ灌流培養システムを用いた研究−	80
23）	北村　大樹	重金属汚染に対するウグイ（Tribolodon Hakonensis）の環境応答	83
24）	細川　佳輝	共感性と同調性の関係、および脳活動との関連の検討	辞退
25）	白石　加奈	胎生期バルプロ酸ナトリウム曝露マウスのシナプス異常と遺伝子発現変化	86
26）	進藤　真登	硫酸イオン欠乏条件におけるD27を介した葉の老化機構の解明	89
27）	千明　脩人	糖修飾トリスビピリジン鉄錯体の合成とイオン応答性の評価	92
28）	天野　善継	ゴシポールに対するアルデヒド基導入およびその糖修飾とそれら機能	95
29）	平田　翔也	シロイヌナズナゲノムの超高深度シーケンシングによる変異誘発処理当代における効率的な変異検出系の開発	99
30）	Agarwal　Srishti	Dual Drug loaded Niosomes for Breast Cancer Therapy （乳癌治療のための二薬含有ニオソーム）	102
31）	田沼　友理	Synthesis and Characterisation of Magnetic Endohedral Fullerenes	111
32）	石塚　綾	終末糖化産物による骨質劣化への影響とトコトリエノールによる予防の可能性	115
33）	金子　沙妃	がん幹細胞発がん理論に基づいた食品機能性成分の組合せによる前立腺がん予防法の提案	119
34）	品川　明穂	女性アスリートの疲労骨折の一次予防における栄養素摂取が血中ホモシステインに及ぼす影響	123
35）	飯村　泰弘	持久性運動トレーニングに伴う静脈コンプライアンスの増大が安静時および運動時の循環応答に及ぼす影響	127
36）	中井　真悟	低周波治療器を用いた理学的介入による骨量改善機序の解明	130
37）	荒木　美智子	発育期ラット脛骨の骨端板および一次海綿骨における細胞の分化過程に関する組織学的研究	133
38）	小林　紀明	介護支援専門員のケアマネジメント能力における「協働的能力」に関する研究ートライアンギュレーション研究方法による「協働的能力」構成要素の抽出と構造ー	136

【校友】

1）	竹内　洋介	宋代墓誌の基礎的研究	139
2）	園田　沙弥佳	東アジアにおける五護陀羅尼の構成と展開	143
3）	飯塚　勝重	新仏教徒能海寛－チベット出立前、郷里宗門の整備について	146
4）	大室　智人	明朝洪武帝期における琉球馬獲得の背景	150

【専任教員】

1）	稲垣 諭	パフォーマティヴな演劇的身体の現象学研究と その臨床的、実践的展開	153
2）	岩下 哲典	静岡県藤枝市岡部町廻沢町内会所有松岡神社文書の 総合的研究	155
3）	杉江　典子	位置特定技術を用いた図書利用者の館内行動に関する 量的データの収集・分析方法	158
4）	三宅 和子	海外における継承日本語をめぐる親・子供・教師の 実践リアリティ：多角的・総合的研究	163
5）	藤尾 美佐	海外研修を「真のグローバル人材」育成につなげるための 多角的・長期的取り組み	167
6）	幸田　浩文	ローカルスモールビジネスの地域経営圏の確立 －長寿・売薬企業の文献・実態調査研究－	171
7）	安藤　和宏	著作権契約法に関する総合的研究	176
8）	李　芝妍	責任保険の故意免責と懲罰的損害賠償に係る体系的研究	180
9）	佐々木　直樹	無細胞腫瘍組織マイクロモデルを用いるナノ薬剤の特性解析	184
10）	廣津　直樹	アンタゴニストによるイネ粒重制御機構の解除	188
11）	伊藤　政博	Mrp型Na^+/H^+アンチポーターのNa^+輸送阻害剤の探索と その作用機序の解明	191
12）	八木　裕子	ICTによる平時・発災・復興のシームレスな包括的災害支援の 情報連携に関する研究	194
13）	田口　潤	介護福祉士の実践経験からの学びのプロセスと キャリア・コミットメントに関する研究	197
14）	高橋　良至	公共交通機関とパーソナルモビリティビークルによる 次世代移動支援に関する研究	200
15）	浦　剣	二次感染を考慮した数理モデルによる牡蠣を介する ノロウイルスの感染リスク評価	203
16）	谷　智子	日中異文化接触場面における「利害」が生じる会話に見られる イン／ポライトネス研究	207
17）	BORAH ANKITA	To develop a dendritic cell vaccine against temozolomide (TMZ) resistant glioblastoma multiforme (GBM)	211

Ⅲ平成30年度　共同研究　研究報告書

【専任教員】

1）	橋本 泰元	南アジアにおける思想的・文化的融合の動態的研究 ――バクティ思想を中心として	217
2）	大原 亨	ビジネスモデルの変革プロセスの追跡	221
3）	太矢 一彦	高齢者施設等における介護事故をめぐる介護事業者の 法的責任の判断枠組	225
4）	上田　知亮	社会運動・法形成・権利実践からみる 現代インドの民主主義と立憲主義	228
5）	別所　正博	公共交通分野のオープンデータを活用した 視覚障碍者の移動支援に関する縦断的研究	232

【海外協定校との共同研究】

1）	劉　文君	日中大学の教育質的向上の取り組みに関する調査分析 ―本学と協定校との比較研究を中心に	236

Ⅳ平成30年度　大型研究特別支援助成　研究報告書

【継続2年目】

1）	相楽　勉	日本文化の背景となる仏教文化の研究	241
2）	松本　誠一	「一帯一路」経済政策による中国経済の海外進展と その関係諸地域に及ぼす文化的影響	247

Ⅴ平成30年度　共同研究　研究所プロジェクト　研究報告書

【新規 】

1）	宮越　雄一	慢性炎症により惹起される生活習慣病予防に関する研究	253

【継続2年目】

1）	白川部　達夫	越後宮川新田高橋家文書の研究	256
2）	鈴木　道也	グローバル時代の歴史学――社会史・文化史を再考する	259
3）	伊吹　敦	東アジアにおける仏教思想の成立と展開、並びにその意義の解明	263
4）	子島　進	在日ムスリムによる多文化共生社会構築の試み―インドネシア 人、トルコ人、パキスタン人の宗教ネットワークを事例に	269

【継続3年目 】

1）	三沢　伸生	アジア諸言語史資料の汎用性データベース開発と構築	273

平成30年度井上円了記念研究助成　執行一覧

※原則として採択者の所属・身分・指導教員は応募時

【個人研究】

＜大学院学生＞

（単位：円）

	身分	研究代表者			指導教員名	研究課題名	採択額	執行額
		氏名	研究科	専攻				
1	院生	荻　翔一	社会学研究科	社会学専攻	植野　弘子	在日コリアンの教会再建の阻害要因に関する研究－戦後における韓国系ホーリネス教会の再建過程に注目して－	630,000	622,037
2	院生	陸　英善	社会学研究科	社会心理学専攻	安藤　清志	感情制御の日韓比較	630,000	629,736
3	院生	倉矢　匠	社会学研究科	社会心理学専攻	安藤　清志	ジェンダー平等主義者に対する反応―フェミニストとメニニストの比較を通じた検討―	630,000	630,000
4	院生	滝口　雄太	社会学研究科	社会心理学専攻	桐生　正幸	日常の嘘に関する諸調査　顕在的な疑わしさと潜在的な疑わしさに着目して	560,000	558,924
5	院生	鷲尾　拓郎	理工学研究科	生体医工学専攻	小河　繁彦	圧受容器反射による自律神経活動の変容が脳循環調節に与える影響	560,000	559,965
6	院生	守谷　侑美	理工学研究科	応用化学専攻	佐々木　直樹	無細胞マイクロ流体デバイスを用いたナノ粒子の血管透過性評価	630,000	630,000
7	院生	新海　航輝	理工学研究科	応用化学専攻	安藤　直子	新型d-type　トリコテセンの創製と構造・性状解析	558,000	557,992
8	院生	田中　千智	理工学研究科	応用化学専攻	安藤　直子	ヒト皮膚培養細胞の炎症モデルを用いた抗炎症物質の探索と機能解析～市販精油をターゲットとして～	558,000	557,972
9	院生	足立　健太郎	理工学研究科	応用化学専攻	安藤　直子	トリコテセン系かび毒の網羅的MS/MSデータベースの構築を目指して	560,000	559,829
10	院生	榎本　茂朗	理工学研究科	応用化学専攻	吉田　泰彦	好塩性を中心としたPolyextremophilesの分離解析	560,000	560,000
11	院生	齋藤　圭汰	理工学研究科	都市環境ﾃﾞｻﾞｲﾝ専攻	青木　宗之	階段式魚道内の礫堆積がウグイの遡上および滞留行動に及ぼす影響	630,000	629,978
12	院生	遠藤　慧	生命科学研究科	生命科学専攻	三浦　健	実用化を目指した*Zymomonas mobilis* ZEM1390株の変異箇所解析	617,000	616,834
13	院生	山田　雄介	生命科学研究科	生命科学専攻	梅原　三貴久	グルタミン合成酵素*GS1;1*に対するSLの役割について	630,000	629,584
14	院生	堀内　愛実	生命科学研究科	生命科学専攻	藤村　真	アカパンカビの呼吸鎖複合体Ⅰとalternative　NAD(P)H　dehydrogenaseの機能解析	585,000	506,228
15	院生	堀口　元気	生命科学研究科	生命科学専攻	廣津　直樹	二酸化炭素形態の違いによる水陸両生植物の光合成沈水順応機構の比較	560,000	560,000
16	院生	眞塩　悠平	生命科学研究科	生命科学専攻	川口　英夫	メンタルヘルス不調の改善に運動が与える影響の解明	558,000	558,000
17	院生	野間　爽也佳	生命科学研究科	生命科学専攻	金子　律子	自閉症候群（ASD）の性差に関連する脳部位でのCollapsin response mediator protein 4(CRMP4)欠損による遺伝子発現の変化	551,000	511,809
18	院生	Perera Ishara	生命科学研究科	生命科学専攻	廣津　直樹	Genetic and molecular analysis of low phytic acid trait in rice.	560,000	559,991
19	院生	織田　明里	生命科学研究科	生命科学専攻	金子　律子	成熟雌ティラピアの終神経節で、雄性ホルモンによってGnRH3ニューロンが増加する際に介在するシグナル伝達経路について	559,000	549,462
20	院生	山口　友輔	生命科学研究科	生命科学専攻	藤村　真	アカパンカビのキチン合成酵素chs遺伝子群の機能解析	520,000	519,579
21	院生	新井　真子	生命科学研究科	生命科学専攻	長坂　征治	円石藻ココリスの形成は酸性多糖比率が炭酸カルシウム結晶成長を制御している	520,000	520,000
22	院生	中川　侑香	生命科学研究科	生命科学専攻	金子　律子	血管内皮細胞から分泌されるプロスタグランジンI$_2$の量的変化 －マイクロチップ灌流培養システムを用いた研究－	550,000	543,586
23	院生	北村　大樹	生命科学研究科	生命科学専攻	柏田　祥策	重金属汚染に対するウグイ（*Tribolodon Hakonensis*）の環境応答	560,000	560,000
24	院生	細川　佳輝	生命科学研究科	生命科学専攻	川口　英夫	共感性と同調性の関係、および脳活動との関連の検討	494,000	辞退
25	院生	白石　加奈	生命科学研究科	生命科学専攻	児島　伸彦	胎生期バルプロ酸ナトリウム曝露マウスのシナプス異常と遺伝子発現変化	560,000	560,000
26	院生	進藤　真登	生命科学研究科	生命科学専攻	梅原　三貴久	硫酸イオン欠乏条件における*D27*を介した葉の老化機構の解明	560,000	560,000
27	院生	千明　脩人	生命科学研究科	生命科学専攻	長谷川　輝明	糖修飾トリスピリジン鉄錯体の合成とイオン応答性の評価	492,000	492,000
28	院生	天野　善継	生命科学研究科	生命科学専攻	長谷川　輝明	ゴシポールに対するアルデヒド基導入およびその糖修飾とそれら機能	414,000	413,864
29	院生	平田　翔也	生命科学研究科	生命科学専攻	鳴海　一成	シロイヌナズナゲノムの超高深度シーケンシングによる変異誘発処理当代における効率的な変異検出系の開発	558,000	558,000
30	院生	Agarwal　Srishti	学際・融合科学研究科	ﾊﾞｲｵ・ﾅﾉｻｲｴﾝｽ融合専攻	D. N. Sakthi Kumar（ダサバン ナイル　サクチ　クマール）	Dual Drug loaded Niosomes for Breast Cancer Therapy （乳癌治療のための二薬含有ニオソーム）	630,000	630,000
31	院生	田沼　友理	学際・融合科学研究科	ﾊﾞｲｵ・ﾅﾉｻｲｴﾝｽ融合専攻	内田　貴司	Synthesis and Characterisation of Magnetic Endohedral Fullerenes	535,000	535,000
32	院生	石塚　綾	食環境科学研究科	食環境科学専攻	矢野　友啓	終末糖化産物による骨質劣化への影響とトコトリエノールによる予防の可能性	700,000	699,680
33	院生	金子　沙妃	食環境科学研究科	食環境科学専攻	矢野　友啓	がん幹細胞発がん理論に基づいた食品機能性成分の組合せによる前立腺がん予防法の提案	630,000	630,000
34	院生	品川　明穂	食環境科学研究科	食環境科学専攻	矢野　友啓	女性アスリートの疲労骨折の一次予防における栄養素摂取が血中ホモシステインに及ぼす影響	560,000	559,669
35	院生	飯村　泰弘	食環境科学研究科	食環境科学専攻	大上　安奈	持久性運動トレーニングに伴う静脈コンプライアンスの増大が安静時および運動時の循環応答に及ぼす影響	560,000	547,489
36	院生	中井　真悟	福祉社会ﾃﾞｻﾞｲﾝ研究科	ﾋｭｰﾏﾝﾃﾞｻﾞｲﾝ専攻	大迫　正文	低周波治療器を用いた理学的介入による骨量改善機序の解明	700,000	700,000
37	院生	荒木　美智子	福祉社会ﾃﾞｻﾞｲﾝ研究科	ﾋｭｰﾏﾝﾃﾞｻﾞｲﾝ専攻	大迫　正文	発育期ラット脛骨の骨端板および一次海綿骨における細胞の分化過程に関する組織学的研究	630,000	630,000
38	院生	小林　紀明	福祉社会ﾃﾞｻﾞｲﾝ研究科	ﾋｭｰﾏﾝﾃﾞｻﾞｲﾝ専攻	渡辺　裕美	介護支援専門員のケアマネジメント能力における「協働的能力」に関する研究－トライアンギュレーション研究方法による「協働的能力」構成要素の抽出と構造－	544,000	436,541
						大学院学生　計38件	21,843,000	21,083,749

＜校友＞

（単位：円）

	資格	研究代表者			研究課題名	採択額	執行額
		氏名	学部/研究科	学科/専攻			
1	校友	竹内　洋介	文学研究科	史学専攻	宋代墓誌の基礎的研究	630,000	629,704
2	教授	園田　沙弥佳	文学研究科	ｲﾝﾄﾞ哲学仏教学専攻	東アジアにおける五護陀羅尼の構成と展開	629,000	629,000
3	准教授	飯塚　勝重	文学部	史学科	新仏教徒能海寛－チベット出立前、郷里宗門の整備について	271,000	250,996
4	助教	大室　智人	文学部	史学科	明朝洪武帝期における琉球馬獲得の背景	333,000	295,348
					校友　計4件	1,863,000	1,805,048

＜教員＞

	資格	研究代表者			研究課題名	採択額	執行額
		氏名	学部/研究科	学科/専攻			
1	教授	稲垣 諭	文学部	哲学科	パフォーマティヴな演劇的身体の現象学研究とその臨床的、実践的展開	630,000	630,000
2	教授	岩下 哲典	文学部	史学科	静岡県藤枝市岡部町廻沢町内会所有松岡神社文書の総合的研究	855,000	855,000
3	准教授	杉江　典子	文学部	日本文学文化学科	位置特定技術を用いた図書利用者の館内行動に関する量的データの収集・分析方法	479,000	479,000
4	教授	三宅 和子	文学部	日本文学文化学科	海外における継承日本語をめぐる親・子供・教師の実践リアリティ：多角的・総合的研究	1,395,000	1,394,371
5	教授	藤尾 美佐	経営学部	会計ファイナンス学科	海外研修を「真のグローバル人材」育成につなげるための多角的・長期的取り組み	828,000	828,000
6	教授	幸田　浩文	経営学部	経営学科	ローカルスモールビジネスの地域経営圏の確立－長寿・売薬企業の文献・実態調査研究－	794,000	794,000
7	教授	安藤　和宏	法学部	法律学科	著作権契約法に関する総合的研究	900,000	900,000
8	教授	李　芝妍	法学部	法律学科	責任保険の故意免責と懲罰的損害賠償に係る体系的研究	855,000	855,000
9	准教授	佐々木　直樹	理工学部	応用化学科	無細胞腫瘍組織マイクロモデルを用いるナノ薬剤の特性解析	1,499,000	1,499,000
10	教授	廣津　直樹	生命科学部	生命科学科	アンタゴニストによるイネ粒重制御機構の解除	1,800,000	1,800,000
11	教授	伊藤　政博	生命科学部	生命科学科	Mrp型Na^+/H^+アンチポーターのNa^+輸送阻害剤の探索とその作用機序の解明	1,361,000	1,361,000
12	准教授	八木　裕子	ライフデザイン学部	生活支援学科	ICTによる平時・発災・復興のシームレスな包括的災害支援の情報連携に関する研究	866,000	803,775
13	助教	田口　潤	ライフデザイン学部	生活支援学科	介護福祉士の実践経験からの学びのプロセスとキャリア・コミットメントに関する研究	529,000	439,303
14	教授	高橋　良至	ライフデザイン学部	人間環境デザイン学科	公共交通機関とパーソナルモビリティビークルによる次世代移動支援に関する研究	939,000	939,000
15	助教	浦　剣	情報連携学部	情報連携学科	二次感染を考慮した数理モデルによる牡蠣を介するノロウイルスの感染リスク評価	1,800,000	1,797,650
16	助教	谷　智子	情報連携学部	情報連携学科	日中異文化接触場面における「利害」が生じる会話に見られるイン／ポライトネス研究	900,000	796,338
17	研究助手	BORAH ANKITA	バイオ・ナノエレクトロニクス研究センター		To develop a dendritic cell vaccine against temozolomide (TMZ) resistant glioblastoma multiforme (GBM)	582,000	582,000
					教員　計17件	17,012,000	16,753,437

個人研究（院生・校友・教員）　計59件	40,718,000	39,642,234

【共同研究】

＜教員＞

	資格	研究代表者			研究分担者	研究課題名	採択額	執行額
		氏名	学部/研究科	学科/専攻				
1	教授	橋本 泰元	文学部	東洋思想文化学科	沼田一郎　三澤祐嗣　澤田容子　相川愛美	南アジアにおける思想的・文化的融合の動態的研究――バクティ思想を中心として	1,125,000	1,114,913
2	講師	大原 亨	経営学部	経営学科	山口　裕之　阿部智和	ビジネスモデルの変革プロセスの追跡	945,000	944,562
3	教授	太矢 一彦	法学部	企業法学科	矢田尚子	高齢者施設等における介護事故をめぐる介護事業者の法的責任の判断枠組	797,000	797,000
4	准教授	上田　知亮	法学部	法律学科	石坂晋哉・板倉和裕・木村真希子・小西公大・鈴木真弥・舟橋健太・山本達也	社会運動・法形成・権利実践からみる現代インドの民主主義と立憲主義	1,800,000	1,800,000
5	准教授	別所　正博	情報連携学部	情報連携学科	金智恩	公共交通分野のオープンデータを活用した視覚障碍者の移動支援に関する縦断的研究	1,169,000	737,482
						教員計5件	5,836,000	5,393,957

＜海外協定校との共同研究＞　（単位：円）

	身分	研究代表者			海外協定校（国/大学名等）	研究分担者（本学専任教員）	共同研究先の主な研究者	研究科題名	採択額	執行額
		氏名	学部	学科						
1	准教授	劉文君	IR室	IR室	中国／北京理工大学・中国海洋大学・上海対外貿易大学	なし	王戦軍・宋文紅・宋彩萍	日中大学の教育質的向上の取り組みに関する調査分析―本学と協定校との比較研究を中心に	1,600,000	1,496,634
								教員　計1件	1,600,000	1,496,634

共同研究（専任教員5件・海外協定校との共同研究1件）　計6件	7,436,000	6,890,591

【大型研究 研究所】

＜継続2年目＞　（単位：円）

	研究所	資格	研究代表者			研究分担者	研究課題名	採択額	執行額
			氏名	学部	学科				
1	東洋学研究所	教授	相楽　勉	文学部	哲学科	谷地快一、伊吹敦、渡辺章悟、菊地章太、水谷香奈、高橋典史、大鹿勝之、佐藤厚、コプラ・ヴィクター・パブー	日本文化の背景となる仏教文化の研究	3,600,000	3,600,000
2	アジア文化研究所	教授	後藤武秀	社会学部	社会文化ｼｽﾃﾑ学科	郝仁平、松本　誠一、井上貴也、三沢伸生、子島進、王雪萍、朱大明、福田義昭、高橋圭	「一帯一路」経済政策による中国経済の海外進展とその関係諸地域に及ぼす文化的影響	4,000,000	3,999,438
							教員　計2件	7,600,000	7,599,438

大型研究　計2件	7,600,000	7,599,438

【共同研究　研究所プロジェクト】

＜新規＞　（単位：円）

	研究所	資格	研究代表者			研究分担者	研究課題名	採択額	執行額
			氏名	学部	学科				
1	ライフイノベーション学研究所	教授	宮越　雄一	食環境科学部	健康栄養学科	近藤和雄・矢野友啓	慢性炎症により惹起される生活習慣病予防に関する研究	1,590,000	1,501,217
							教員　計1件	1,590,000	1,501,217

＜継続2年目＞　（単位：円）

	研究所	資格	研究代表者			研究分担者	研究課題名	採択額	執行額
			氏名	学部	学科				
1	人間科学 総合研究所	教授	白川部　達夫	文学部	史学科	岩下哲典、松本剣志郎	越後宮川新田高橋家文書の研究	1,590,000	1,580,215
2	人間科学 総合研究所	教授	鈴木　道也	文学部	史学科	後藤はる美、髙畠純夫、道重一郎、渡辺賢一郎	グローバル時代の歴史学――社会史・文化史を再考する	2,000,000	2,000,000
3	東洋学研究所	教授	伊吹　敦	文学部	東洋思想文化学科	原田香織、渡辺章悟、山口しのぶ、川崎ミチコ、高橋典史、水谷香奈、佐藤厚、舘隆志、伊藤真	東アジアにおける仏教思想の成立と展開、並びにその意義の解明	1,800,000	1,800,000
4	アジア文化研究所	教授	子島　進	国際学部	国際地域学科	三沢伸生、服部美奈	在日ムスリムによる多文化共生社会構築の試み―インドネシア人、トルコ人、パキスタン人の宗教ネットワークを事例に	364,000	363,380
							教員　計4件	5,754,000	5,743,595

＜継続3年目＞　（単位：円）

	研究所	資格	研究代表者			研究分担者	研究課題名	採択額	執行額
			氏名	学部	学科				
1	アジア文化研究所	教授	三沢　伸生	社会学部	社会文化ｼｽﾃﾑ学科	松本誠一、千葉正史、斎藤里美、石井隆憲、竹内洋介	アジア諸言語資料費の汎用性データベース開発と構築	1,600,000	1,599,955
							教員　計1件	1,600,000	1,599,955

共同研究（研究所プロジェクト）　計6件	8,944,000	8,844,767

【刊行の助成】

（単位：円）

	身分	著者			出版書名	採択額	執行額
		氏名	学部/研究科	学科/専攻			
1	教授	永井　晋	文学部	哲学科	〈精神的〉東洋哲学	744,000	744,000
2	教授	水野　剛也	社会学部	ﾒﾃﾞｨｱｺﾐｭﾆｹｰｼｮﾝ学科	有刺鉄線内の市民的自由　日系人戦時集合所と言論・報道統制	900,000	900,000
3	講師	箕輪　允智	法学部	企業法学科	経時と堆積の自治	1,000,000	1,000,000
4	校友	バフマン・ザキプール	文学研究科	哲学専攻	井筒俊彦の比較哲学	800,000	800,000
5	校友	武藤　伸司	文学研究科	哲学専攻	力動性としての時間意識	1,000,000	1,000,000
6	校友	松本　剣志郎	文学研究科	史学専攻	江戸の都市化と公共空間	937,000	937,000
7	校友	徐　瑞静	法学研究科	私法学専攻	国際私法における私的自治	630,000	630,000
					教員　計3件・校友　計4件	6,011,000	6,011,000
					刊行の助成　計7件	6,011,000	6,011,000

（単位：円）

個人研究、共同研究（海外協定校との共同研究）、大型研究（研究所）、共同研究（研究所プロジェクト）、刊行の助成　計80件	70,709,000	68,988,030

【東洋大学出版会による刊行の助成】

	身分	著　者			職	共同執筆者	出　版　書　名
		氏名	学部	学科			
1	教員	菊地　章太	ﾗｲﾌﾃﾞｻﾞｲﾝ学部	健康ｽﾎﾟｰﾂ学科	教授	単著	位牌の成立－儒教儀礼から仏教民俗へ
2	教員	高畠　純夫	文学部	史学科	教授	単著	アイネイアス『攻城論』－解説・翻訳・註解－

（単位：円）　（単位：円）

			措置額	執行額
東洋大学出版会審査・運営経費等	東洋大学出版会経費	書籍・電子書籍制作費：2件・審査料等　計6,419,682円	9,291,000	7,976,770
	審査・運営経費等	審査謝礼・運営委員会開催・執行関連書類送付等　計1,557,088円		

合計	80,000,000	76,964,800

在日コリアンの教会再建の阻害要因に関する研究

―戦後における韓国系ホーリネス教会の再建過程に注目して―

Inhibitory Factors of the Reconstruction of the Churches for Korean Residents in Japan: Focusing on the Post-War Reconstruction Process of the Korean Holiness Churches in Japan

研究代表者　荻　翔一（社会学研究科社会学専攻）
指導教員　山本　須美子　　印

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
キーワード／①韓国系ホーリネス教会　Korean Holiness Churches in Japan
②在日コリアン　　Zainichi Korean (Korean residents in Japan)
③再建　　Reconstruction

平成 30 年度交付額／630,000 円

研究発表／論文投稿

・在日コリアンの教会再建の阻害要因―戦後における韓国系ホーリネス教会の再建過程に注目して―（仮）（アジア文化研究所第 14 回年次集会、2020 年 1 月予定）

研究経過および成果の概要

１．研究方法

本研究の目的は、戦後における在日コリアン中心のホーリネス教会（以下、韓国系ホーリネス教会）の再建を阻害した要因を解明することである。在日コリアンの一部はプロテスタント教会を各地に設立し、同胞の信仰や日本での生活を支えてきた。これまで在日コリアンのキリスト教会といえば、1934 年に在日コリアンが中心となり日本で結成された在日大韓基督教会という超教派の教団が基本的に対象とされ、その再建過程もしばしば言及されている。他方、韓国系ホーリネス教会は、同じ「民族教会」として再建を試みながらも、そのほとんどが再建を果たせず歴史の中に埋もれている。本研究は韓国系ホーリネス教会を対象とすることで、順調に再建された例のみを扱うのではみえてこない、在日コリアンの「民族教会」の再建という運動の維持存続が阻害される要因を考察したい。

調査の方法としては、主に文献調査とインタビュー調査とした。文献調査では、日韓で発行されたキリスト教会関係の資料を分析した。また現在、再建された韓国系ホーリネス教会は東京・大阪・広島に存在する。それらの教会が発行している資料の収集・分析も行った。さらに上記教会などで戦後の再建過程を知る牧師・信者などの関係者へインタビュー調査を行うことで、データを補完した。

２．研究経過および成果の概要

韓国系ホーリネス教会は、戦前、大韓基督教聖潔教会という本国の教会組織の下で、宣教師が派遣され、各地に設立されていった。しかし戦時下に日本の同教派との合同・日本基督教団

への編入、そして宗教弾圧を受けたことで、本国教団との関係がいったん絶たれており、十分な記録は残っていない。本研究では戦後の動向について確認できた、以下の 3 カ所の教会を中心に調査を行った。結果の概要は次のとおりである。

事例①：A 教会（東京都新宿区）

戦前に在日ホーリネス教会として最初期に設立された A 教会は、ホーリネス弾圧にともなう牧師の検挙によって在日大韓基督教会系列の教会と合同した。戦後も在日大韓基督教東京教会の一部として再建された。教派色を無くした韓国系の教会としての再建という道を選択した（せざるをえなかった）といえる。なお、1970 年代に元信者が本国から牧師を呼び寄せ、A 教会の後継とされるホーリネス教会を設立し、日韓双方のホーリネス教団に所属している。

事例②：B 教会（大阪府大阪市城東区）

1930 年頃に設立された B 教会は戦時下に閉鎖され、信者は長老教会へ移るなどした。戦後は自立して教会運営を行っていた時期はあるものの、少なくとも一時的に在日大韓基督教会に編入されていた。A 教会と同様に、在日大韓基督教会に加入するということは、すなわちホーリネスという教派アイデンティティを（少なくとも形式的に）捨て去ることで存続の道を選択したといえる。現在、B 教会は在日大韓基督教会に加入している。

事例③：C 教会（広島県広島市東区）

戦前に設立された C 教会は、戦時下に教会の解散処分を経て、信者らが日本基督教団の教会に合流した。終戦後は、在日大韓基督教会のもとで再出発した。しかし中核的信者である X 氏を中心に、ホーリネスという教派アイデンティティを中核とした教会を別個に設立するに至った。そこで支援を求めたのが日本基督教団を脱退した日本ホーリネス教団であった。だが日本人牧師が赴任することによって、日本人信者も教会に多く参与するようになった。その結果、日本人との軋轢が生じ、言語別に教会が分裂した。その後、在日コリアンの牧師が赴任したことにより、在日コリアン中心のホーリネス教会、すなわち韓国系ホーリネス教会として教会活動がなされるようになった。現在、C 教会は A 教会と同様に、日韓双方のホーリネス教団に所属している。

以上の事例から、韓国系ホーリネス教会の再建を阻害した要因をあげよう。第一に、戦時下のホーリネス弾圧が指摘できる。それによって、牧師の検挙・教会解散処分などがなされ、組織的打撃を受けた。いずれの教会も戦時下においてホーリネス教会としては存立することは難しく、他の教会と合同するか、近隣の教会に信者が移動することを余儀なくされた。戦後もその影響を引きずり、再建を図る際の人材集めや組織づくりが円滑に進められなかったのではないかと考えられる。

第二に、本国の教会組織の下で設立された韓国系ホーリネス教会が、在日大韓基督教会のように、日本で独自の組織を十分に形成できていなかったことがあげられる。韓国系ホーリネス教会は、戦時下に日本の教会に合同したことで本国との関係が絶たれた。戦後は日本の教会から離れたものの、本国の教会組織は、朝鮮戦争などの影響でそれどころではなかったと考えられる。そのため、再建をバックアップする同教派の組織を見つけることが困難だった。そこで、教派は異なるものの同胞が中心となる在日大韓基督教会のもとで戦後、活動していったのだと思われる。なかには C 教会のように、在日大韓基督教会から離れ、日本ホーリネス教団に支援を依頼する事例もあったが、その後の軋轢からわかる通り、決して順調に再建できたわけではないといえる。

３．今後の研究における課題または問題点

本事例の考察から、戦後における在日コリアンの民族教会の再建は決して容易なことではなく、むしろ特定の教派（ホーリネス）や本国の教派をベースとした組織にとっては、多くの困難をともないうるものであったことを提示した。

今回は各地の事例の共通性を主に抽出したため、各々の地域性については十分に考察することはできなかった。そのため、例えば、なぜ C 教会だけが在日大韓基督教会を離れたのかということについては必ずしも説明できてはいない。今後は、近隣の教会との関係や在日コリアン集住地域としての地域的性格などを踏まえたより詳細な検討が必要だと考える。

また A 教会や B 教会のように、教派が変化した教会において、信者らにどのような葛藤が生じたのか、あるいはどのように適応していったのかなど、信者レベルでの調査も今後必要となってくるだろう。

Summary

This study is to elucidate the factors that hindered the reconstruction of the holiness churches (Korean Holiness Churches in Japan) that were established for Zainichi Koreans (Korean residents in Japan) after the WWII. After arriving in Japan, Zainichi Koreans established Protestant churches, which supported their faith and lives in Japan. Korean Holiness Churches in Japan were this type of church. However, most of them were not rebuilt as Korean Holiness Churches in Japan after they were destroyed in the war. In this research, we explore possible reasons.

This study mainly uses a literature survey and an interview survey for data collection. The data show that the following two points can be cited as factors inhibiting reconstruction.

(1) Korean Holiness Churches in Japan suffered damage to the organization by arrest of the pastor and dissolution of the churches because of religious persecution during the war.
(2) Korean Holiness Churches in Japan established under the church organization in the home country did not form a unique organization in Japan.

Because of (1), any church that was under investigation had difficulty existing as a religious entity during the war, and it was forced to join other churches, or the congregation switched to a neighboring church. It is thought that after the war, the necessary human resources and organization creation during reconstruction could not be smoothly promoted.

About (2), Korean Holiness Churches in Japan was transferred to the Japanese church during the war. As a result, for a while after the war, relations with the home country organization were not formed. Thus, it can be said that it was difficult to find an organization of the same denomination to support the reconstruction.

In light of these points, it can be said that the reconstruction of the Zainichi Korean churches in the postwar period was accompanied by many difficulties specific to certain church organizations from the home country or based on certain denominations.

感情制御の日韓比較

Emotion Regulation of Self-Construal in Dampening Comparing Korean and Japanese.

研究代表者　陸　英善（社会学研究科社会心理学）
研究分担者　陸　英善（社会学研究科社会心理学）

指導教員　　安藤清志

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
キーワード／①感情制御　Emotion Regulation
②感情抑制　Emotion Suppression
③否定的感情　Negative Emotion
④文化的自己観　Self-Construal
⑤文化比較　Cross-Cultural
平成 30 年度交付額／630,000 円

研究発表／学会および口頭発表

・Positive Emotion Regulation of Self-Construal Style in Dampening Comparing Korean and Japanese.『Society for Personality and Social Psychology 20th annual convention』Portland, OR, USA ,Oregon Convention Center
平成 31 年 2 月

・The Effect of Emotion Regulation Strategy on Self-Construal Style『International Convention of Psychological Science (ICPS 2019) 』Paris, France ,Le Palais des Congrès de Paris
平成 31 年 3 月

研究経過および成果の概要

１．研究方法

・使用した質問紙

(1) ポジティブ感情反応 (Responses to positive Affect :RPA)

ポジティブ感情反応尺度はポジティブ感情に反応するとき、使用する戦略を測定するため Feldman,Joormann&Johnson(2008)が開発した尺度である。

(2) 総合独立的自己観 (Independent Self - Construal Scale：I SCS)

Singelis(1994)が開発した尺度を使用した。この尺度は、文化的自己観 (Self- Construal)を測定する尺度であり、他人と区別される程度を示す独立の自己解釈尺度と自分と他人との関係性の程度を示す相互依存自己解釈尺度で構成されている。

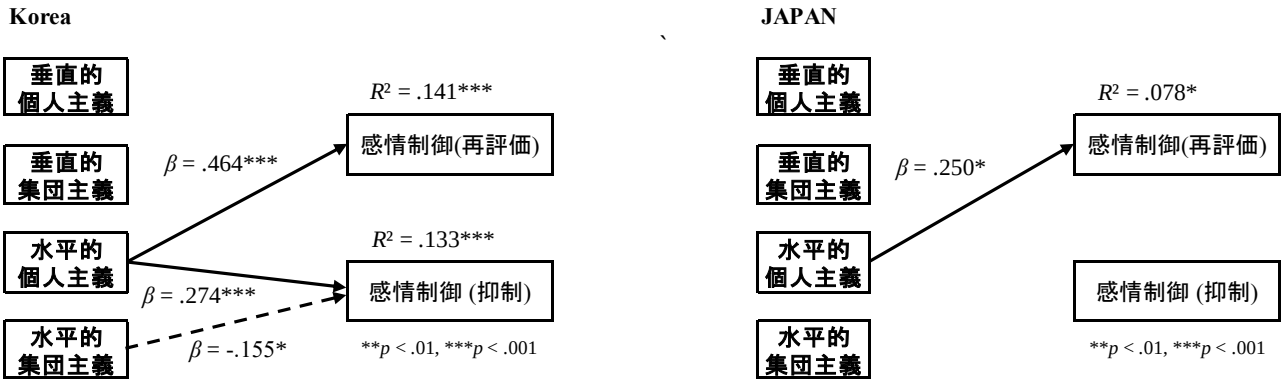
(3) 文化的自己概念 (Self - Construal Scale)

犬宮(2005)が、開発した尺度を使用した。この尺度は、Markus と Kitayama の自己の解釈(Self-Construal)に基づいた新たな３つの自己の解釈(Self-Construal)した尺度である。社会の文脈と自己と関係した認識から始まるのは、家庭での主体性-対象性-自律性自己観を提案している。

２．研究経過および成果の概要

本研究の仮説は、日本と韓国においてそれぞれこのなる文化的自己観をもっていて感情制御がそれによってまた異なる影響を与えることであった。

以上の手続きで得られた分析を行った結果、次の通りになる。



3. 今後の研究における課題または問題点

今後の課題としては、今回行うことができなかったポジティブ感情制御に着目し、ウェルビーイングとの関係を確認する。その際、その関係に自己観がどのような影響を与えているのか確認する。

Summary

Since the 1970's, there has been numerous research and many comparative studies that studies countries with distinct cultures, emotion expressing, emotion suppression, and emotion regulation. Although there are many researches which examined positive and negative emotion of emotion expression and suppression, there has been very few studies which examined positive emotion regulation in emotion regulation. According to Quoidbach, positive emotion regulation strategy can be divided into 4 sections, suppression, distraction, fault finding, and negative mental time travel (2010). This research will be examining how positive emotion regulation strategy and self-construal correlates with each other. In this experiment, Japanese (N = 100) and Korean (N = 100) were asked to participate in a survey which indicated their levels of effect of positive emotion regulation strategy on self-construal style. In every culture, there are individualists, collectivists, and a mixture of both individualists and collectivists. In many comparative cultural studies, the differences in culture were easily explained through differences in individualism and collectivism. In doing so, they could create and accomplish many research in culture. So far, comparative studies of expression between different cultures

have been largely centered on Japan and the United States whereas only few compares Japan and Korea which is further reduced when the study focuses on positive emotion regulation strategy especially because both Japan and Korea are categorized as collectivist culture. However, it is important to realize that there is limitation in defining people as either individualist or collectivist, due to vast differences in their perceptions, opinions, and behaviors. In general, Japanese people tend to suppress their emotions while Koreans are more open to free expression. So, this research will confirm that even within collectivist cultures, there are unique self-construal style which in turn changes positive emotion regulation strategies.

ジェンダー平等主義者に対する反応

―フェミニストとメニニストの比較を通じた検討―

The Reactions toward Gender Egalitarians：Comparison between Feminist and Meninist

研究代表者　倉矢　匠（社会学研究科社会心理学専攻）
指導教員　安藤　清志

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
キーワード／①ジェンダー　Gender
②ジェンダー平等主義者　Gender Egalitarians
③バックラッシュ効果　Backlash Effects
④偏見　Prejudice
⑤社会システム正当化動機　System-justifying Motive
平成 30 年度交付額／630,000 円

研究発表／(1)学会発表

1) Kuraya T., & Ando, K. (2019). “Male dilemma behind the endorsement of gender clichés that exaggerate gender dissimilarities.” The 20th annual convention of the Society for Personality and Social Psychology (SPSP 2019), February 9, 2019, at the Oregon Convention Center, Portland, OR, USA.
2) Kuraya T., & Ando, K. (2019). “Male gender dichotomization and endorsement of gender clichés.” ICPS (International Convention of Psychological Science) 2019, March 8, 2019, at The Palais des Congrès de Paris, Paris, France.

研究経過および成果の概要

１．研究方法

近年，日本国内でも，多様性受容の議論が活発化しており（e.g.，「一億総活躍社会」），個々人の望む多様な在り方が性別によらず等しく認められる社会の実現に対する問題意識が高まり，男女格差や性差別を解消しジェンダー平等を実現することが重要な課題となっている．しかし，「ジェンダー平等」という表現がなされながらも問題意識のほとんどが「女性の問題」のみに集中し，男性を取り巻く不平等な状況はおざなりにされている．このギャップを埋めるためには，女性の権利拡大を促す活動家（フェミニスト）と同様，非伝統的な男性の在り方を促進する活動家（メニニスト）が社会の中で存在感を示すことが重要といえる．しかし，非伝統的な在り方をする男女には差別や偏見（i.e., バックラッシュ効果）が生じることが多くの研究で明らかとなっており，その偏見は彼女らを支持するフェミニストにも波及することも示唆されていることから，非伝統的な男性の在り方を支持するメニニストに対しても偏見や差別が生じる可能性が十分に考えられる。

本研究では，「メニニスト」を含むジェンダー平等主義者に対して否定的な反応が生じるか否かを検証することを目的とした。特に，バックラッシュの主たる目的が現行のジェンダーシステムの

維持にあるという知見に基づき，ジェンダー平等主義者が現行システム維持に対する脅威者とみなされ偏見の対象となるという仮説を立て，システム正当化動機を操作することでその仮説を検証した。具体的には，以下の 2 つのステップに分け研究を実施した。

(1) 男性を取り巻くジェンダー問題について，大学生と社会人に対しアンケート調査を実施し具体的な問題事例をすくい取る．

(2) 上記の調査で得られた問題事象を用いて，メニニストの人物に関するシナリオ刺激を作成し，それに対する人々の反応を調査する．

なお，上記（2）の調査の際に，フェミニストとメニニストの違い，さらにそれぞれの人物の性別の違いによる影響を比較し，なおかつ，回答者のシステム正当化動機の強さを実験的に操作する．

はじめに（1）では，まず大学生への質問紙調査によって，男性が社会の中で受けている性差別や偏見について，自由記述形式で具体的な考え，問題意識を収集した。その中から出現率の高かった事例を 10 個抽出し，それに対する問題性の認知を確認した．さらに大学生同様，社会人からも自由記述形式で具体的な考え，問題意識を収集した．最後に，最初の大学生とは異なる大学生に対し，それまでに得られた問題意識の事例について，問題性の認知を確認した．

次に（2）では，（1）をもとに，架空の人物についてのシナリオ文を作成した．シナリオの中では，（1）で問題性が比較的高く認知されていた男性ジェンダー問題を取り上げ，その架空の人物がその問題を解決する必要性を訴え，活動しているメニニストであることが記されていた．なお，シナリオは 2 種類用意され，メニニストの性別に関する情報のみが異なっていた．これと同様の手順で，フェミニストについてのシナリオも用意された．すなわち，シナリオは計 4 種類であった．なお，シナリオ内で取り上げられる問題意識や，主張内容の論理的整合性については，事前調査を行い，フェミニスト条件とメニニスト条件の間で大きな差が存在していないことが確認されていた．オンライン上に設置されたアンケート回答ページで，実験参加者にはこれら 4 つのシナリオのうち 1 つがランダムに呈示され，対象人物（フェミニストとメニニスト）に対する好意，有能さ，敬意，男性らしさや女性らしさ，同性愛ステレオタイプ的特性を有する程度，さらに主張の論理的整合性，説得力などが評価された．

２．研究経過および成果の概要

実験の結果，メニニストの男性はメニニストの女性に比べて，好感度が低く，また主張内容の論理的整合性や説得力の評価も低いことが示された．また，メニニストの男性は男性的特性が欠けており，女性的特性が高いとみなされていた．さらにゲイ・ステレオタイプに当てはまる特性も高く評価されていた．また，フェミニストの女性は男性的特性，とくに作動性が高く，女性らしさに欠けるものと評定されていたが，メニニストの女性はとくに男性的特性が高いものとはみなされておらず，むしろ温かさなどの女性的特性が高いものとみなされていた．さらにそれらのネガティブな反応は，システム正当化の動機づけが高まった際に強まっていた．

３．今後の研究における課題・展望

本研究からは，同じジェンダー平等主義者であっても，男性ジェンダー問題に対する支援者と女性ジェンダー問題に対する支援者では，背景にある心理プロセスが異なることが示唆されている．今後実験を繰り返し，その心理プロセスを詳しく解明した上で，ジェンダー主義者へのネガティブな反応を弱め，解消する方法を探っていくことが望まれる．

Summary

In Japan, there are growing calls for gender equality. However, almost everyone is talking about not men issues but women issues. Also, we can find a lot of feminists in society, but few meninists, who appeal for the need to resolve discrimination against men, misandry. Gender egalitarians are vital for both gender's progress, yet attitudes toward and beliefs about them are underinvestigated. Actually, even though some studies have demonstrated that there are negative reactions towards male and female feminists, we cannot find any empirical studies about reactions toward meninists.

This study was conducted to address this gap. Especially, it was tested whether system justification motive encourages people to react negatively toward gender egalitarians. First, we investigated the perceptions of male gender issues which under graduate students and other adults had. Next, we conducted the experiment in which participants read some vignettes about gender egalitarian which were made based on the previous research. There were four types of vignettes: male meninist, female meninist; male feminist, female feminist. Participants were randomly assigned to read one of them, and after reading, they rate about the gender egalitarians' masculine and feminine traits, likability, warmth, competence, and homosexual-stereotypic traits. In addition, they rated the validity of the egalitarians' claim and how persuasive they thought the arguments was and how strongly they endorsed them. Prior to reading the vignettes, in all conditions, system threat was manipulated: participants were exposed to news articles reporting that Japan was either in decline, on the rise, or neither.

We utilized separate ANOVAs for each measure, including egalitarian's gender and vignette condition (meninist vs. feminist) as between-subjects factors. Results revealed that participants viewed male meninist as feminine, non-masculine and gay-stereotypical guy. Also, male meninist were viewed less likable, less competent than female meninist. More interestingly, participants rated the validity of male feminist's claim were less than female one's. In turn, compared with male feminist, male meninist's femininity is not specially high. However, male meninist's claim is less persuasive than male feminist's one.

These results indicate that people may think male meninists complain the male gender issues based on their personal experience and problem. Also, there may be different psychological processes between negative reactions toward meninist and feminist. In the future direction, it is important to investigate the way to soften those negative reactions toward gender egalitarians.

日常の嘘に関する諸調査
顕在的な疑わしさと潜在的な疑わしさに着目して
The survey of a various lies in daily life
the view of conscious lies and potential lies

研究代表者　滝口　雄太（社会学研究科　社会心理学専攻）
指導教員　桐生　正幸　　印

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
キーワード／①嘘の種類　The Type of Lie
②欺瞞性認知　Cognition of Deceptiveness
③猜疑心　　Suspicion
④対人信頼　　Interpersonal Trust
平成 30 年度交付額／560,000 円

研究発表／学会および口頭発表

1）Takiguchi, Y. & Kiriu, M. (2018). “The Mind of Believing and Suspecting ：Is the person who believes strange accidents suspicious?” The 30th APS (Association for Psychology Science) annual convention, May 24-27, 2018, at the Hilton San Francisco Union Square Hotel, San Francisco, CA, USA.

2）Takiguchi, Y. & Kiriu, M. (2018). “The relationship between the perception of lie and suspicion: Could the suspicion predict others’ deception?” Annual Conference of the European Association of Psychology and Law 2018, June 26-29, 2018, at the Åbo Akademi University, Turku, Finland.

3）滝口 雄太（印刷中）. 疑わしい人は特殊詐欺に遭わないのか？―高齢者に対する意識調査からの検討―　東洋大学大学院紀要, *55*.

研究経過および成果の概要

１．研究方法

嘘や欺瞞に関する研究を概観すると、嘘を見抜く能力や嘘を上手く話す能力に目を向けたものが多数である（e.g., Ekman, 2001; Vrij, 2000)。このような研究では、嘘の話し手や受け手の置かれている状況を操作されているが、パーソナリティ特性も考慮されるべき要因である。こうしたパーソナリティ特性は対人関係における嘘の判断や動機に対して影響を及ぼしていることが示されている。嘘を上手く見抜くことができる人はどんな人かを理解するためには、（１）人がどのように嘘を捉えているのか、そして、（２）嘘を感知する状態（i.e., 欺瞞性認知）を作り出す要因は何か、ということを調べることが重要だと考えられる。本研究では、上記の２つの視点に基づいて、一般的な嘘に対するイメージや嘘の知覚の鋭敏さには相違があり、そのために他者に対して抱く疑わしさも異なって、虚偽検出課題における嘘の判断率を予測すると想定した。

はじめに、世間的に広まっている嘘に関する概念を文献および大学生への質問紙調査によって収集した。その後、文献から得られた嘘に関する概念を中心に、大学生の回答を嘘の種類および嘘の機能に分

類した。また、同じ学生に対して、猜疑心尺度、嘘の許容性（Lie Acceptability)、対人信頼感についての測定を行った。続いて、高齢者を対象にしたオンライン調査を実施し、大学生で確認された猜疑心の相違が同様に見られるかを調べた。ただし、高齢者のオンライン調査に関しては、妥当性の問題が存在する。そのため、認知機能が良好であり十分に設問の意味を把握しているかを確かめるために、認知機能の測定として、記憶問題と描画問題、老研式活動能力指標の各項目に回答を求めた。認知機能が十分に確認された後に、大学生と高齢者の両者のデータを用いて、猜疑心が年齢によって変化しているのか、また、嘘に関するネガティブな経験を通して変化するのかどうかを検討した。

２．研究経過および成果の概要

文献を通して、嘘に関する概念の整理を行ったところ、人が嘘をつくときの動機は大きく４種類に分類されることが明らかになった。具体的には、「利他的な嘘」、「衝突を回避するための嘘」、「社会的な容認を示すための嘘」、「自己利益を追求する嘘」のことを指している。大学生から収集した自由記述の内容を分析したところ、利他的な嘘および衝突を回避するための嘘は日常的に用いられる頻度が高いが、受け手の視点では、あまり認識されていなかった。反対に、自己利益を追求する嘘は頻繁に用いられているわけではないが、その内容が露呈したときのネガティブな印象のために、嘘を想定する際の大部分を占めていたことが示された。また、嘘そのものに対するエピソードについても、経験時に感じたポジティブ、ネガティブな感情の程度が影響していると考えられ、感情負荷が低いほど、漠然とした概念が報告されていた。

猜疑心尺度の分析から、高齢者においても大学生と同様の２因子構造が確認され、十分な当てはまりが示された。関連が予想される対人信頼感や Lie Acceptability、リスク回避志向性との相関があり、外的妥当性も確認された。それゆえ、猜疑心を測定する尺度の得点を項目ごとに大学生と高齢者の間で比較した結果、他者に対する疑いを前提にしている項目は大学生の方が有意に高い得点で、基本的に信頼することを前提にしている項目では、高齢者の方が有意に得点が高かったことが示された。各項目の値と年齢は対応するかたちの相関関係があり、年齢と共に疑いにくく、そして、信頼を前提とするようになる可能性が挙げられる。さらに、他者に対して疑わしい人は嘘の知覚が生起しやすいことが欺瞞場面における被害が少なくなるかどうかを検証したところ、猜疑心の傾向は欺瞞被害に有意な影響を及ぼしていた。この影響は大学生と高齢者の双方で見られ、他者に対して疑わしい人ほど、日常的な場面での欺瞞経験を多く報告し、実際の被害が少ない傾向にあった。

３．今後の研究における課題・展望

本研究の調査から、我々の描いている嘘に関する心像は、嘘の話し手と聞き手の違いによって異なることが示された。特に、聞き手の立場にあるときにはネガティブな印象が強く、嘘によって喚起された感情生起と関連している可能性がある。しかし、感覚的に嘘を捉えている人も多く、言語化することが難しいような潜在的なものなのか、単に嘘の範囲が明確に定義されていなかったことが問題かを区別することができていなかった。また、尺度を用いて測定した猜疑心は嘘の知覚を前提とする被害経験を予測していたが、実際に疑い深い人が真偽判断のような課題時に多くの虚偽判断を示すかどうかの根拠は不十分であり、詳細な検討が課題であると言える。実験的な実証を通して、このようなパーソナリティ特性の違いが真偽性の判断に影響を及ぼすかどうかを検討することが望まれる。

Summary

Taking a general view of researches on lie and deception, the most of them have focused on the ability to detect lies or to lie successfully (e.g., Ekman, 2001; Vrij, 2000). In these researches, the setting where the speaker or the receiver of lie is asked to involve could be designed to experimentally manipulate. Similarly, personality traits are factors to be considered, indicating that they have an effect on the judgment or motivation of lie in interacting with others. To understand the person who can catch lies better, it could be Important to examine (1) how people consider lies in daily life and (2) what factors make people more sensitive to lies (i.e., cognition of deceptiveness). In present study, on the basis of the perspective that we have a different cognitive structure associated with lies, we assumed that the suspiciousness to others would vary among people, and in the deception detection task this tendency could predict the number of judgments which are lie.

First, we summarized the construct related to lies by meta-analysis. As a result, this revealed that the motivation to lie were categorized into four types; altruistic, conflict avoidance, social acceptance, and self-gain lies. Analyzing the content of experiments associated with lie in undergraduates, altruistic and conflict avoidance lies which are often used in everyday life were rarely reported. Rather, this result showed that we might consider a large part of lies as self-gain lies and the experiences with negative emotion produced such conceptual structure. Second, we conducted the survey that examined the trait of suspicion of undergraduates (N =286) and elderly people (N = 842) with Suspicion Scale. Surprisingly, there are few studies that collected the date of elderly people via online survey. Therefore, we added measurement of cognitive dysfunction into the survey to ensure whether they correctly understood each items and instructions. Pre-analysis indicated that there was no difference among them, and then, all date was used to analyze. Pertaining to Suspicion Scale, the structure of this scale was same in both samples, and found to have an acceptable fit. Then, it positively correlated with the inclination toward risk-averse and negatively with interpersonal trust as expected. When each item was compared between undergraduates and elderly people, items representing to suspiciousness were higher in undergraduates, and items representing to basic trust ware higher in elderly people. As people live longer, they may hardly suspect others. Moreover, the suspiciousness could partly predict the prevalence of deceptive experiences, suggesting this tendency might influence the judgment or cognition of lie.

圧受容器反射による自律神経活動の変容が脳循環調節に与える影響

Influence of change in the autonomic nervous system by baroreflex function on cerebral circulation

研究代表者　鷲尾　拓郎（理工学研究科　生体医工学専攻）

指導教員　　小河　繁彦　　印

研究期間／平成 29 年 4 月 1 日～平成 30 年 3 月 31 日

キーワード／①ずり応力　Shear stress

②インターバル運動 Interval exercise

③持久性運動　Continuous exercise

④内頸動脈　Internal carotid artery

⑤超音波ドップラ Doppler Ultrasound

平成 30 年度交付額／560,000 円

研究発表／学会および口頭発表

・ HIITing the brain enhances cerebrovascular shear stress; the link to neuroprotection?

（共著）Damian M. Bailey, Takuro Washio, Kazuya Suzuki and Shigehiko Ogoh, ACSM's 66th Annual Meeting, Orland, Florida 平成 31 年 5 月 28 日－6 月 1 日

研究経過および成果の概要

１．研究方法

血管壁の最も内層に位置する血管内皮は、血管調節因子などに関連する生理活性物質を産生・分泌し、血管調節としての生理機能を有する。この血管内皮における血管調節機能を血管内皮機能と呼び、その機能低下は、動脈硬化など様々な疾患につながることが報告されている。これらの知見から、血管内皮機能は、循環機能の恒常性維持において重要な役割を担っていることが推察される。

運動の血管調節機能に及ぼす影響は、心臓循環系疾患者等に対するリハビリテーションなどにおいて、重要な情報を提供する。例えば、インターバル運動は、短時間の高強度な運動と短時間の休息または低強度の運動を繰り返し行う運動であり、先行研究では、持続性運動と比較して圧受容器反射の感受性の改善が大きいことが報告されている。この圧受容器反射の感受性の変化と頸動脈におけるずり応力は関連があることから、インターバル運動は持久性運動と比較して頸動脈にかかるずり応力が高まる可能性が考えられる。しかしながら、この運動様式の違いが頸動脈にかかるずり応力に及ぼす影響は明らかになっていない。本研究では、同じ仕事量でもより強度の高い運動を短時間で行うインターバル運動において頸動脈にかかるずり応力が大きくなることが、血管内皮機能をより亢進させるとの仮説を立てた。本研究において、この仮説を検証するための実験を行った。

本実験では、異なる 2 条件（持続性運動条件又はインターバル運動条件）の測定を行った。インターバル運動条件では安静時 2 分間測定後に、自転車エルゴメータを用いて 40ｗでウォーミングアップを 2 分間行った後に、60w で 2 分間、100w で 2 分間を 1 セットとし、これら 3 セットを連続的に行った。持続性運動条件では同様に 2 分間の安静時の後、80w で 12 分間行い、インターバル運動条件と仕事量が等しくなるように設定した。実験中は、心拍数及び血圧を常時モニタリングし、適切な運動強度で運動が行われているか観察した。運動時の内頸動脈の血流速度及び血管径を

超音波ドップラにて測定し、血管にかかるずり応力を算出した。

２．研究経過および成果の概要

被験者は、若年男性 11 名（年齢 21.4±0.8、身長 173.1±3.3、体重 62.1±6.4）を対象に行った。相対的な運動負荷は同様であるインターバル運動及び持続性運動時における内頸動脈の血管径及び、血流量に差異は観察されなかった（P=0.447、P=0.104）。一方、持久性運動と比較してインターバル運動では、血流速度及び運動によって増加する内頸動脈にかかるずり応力は高値を示した（P=0.045、P=0.039）。運動時における経時的な内頸動脈にかかるずり応力の変化において、持続性運動ではずり応力の増加における経時的な差異は観察されなかったが、インターバル運動時の低強度の期間（60w）では持続性運動（80w）と比較して高値を示し、運動後においても高い値が続いた（図 1）。したがって、強度のより高いインターバル運動時（100ｗ）に誘発されるずり応力の増加による影響は、運動強度が変化しても持続することが明らかとなった。このずり応力の増加は、内皮の細胞全体を周辺へ引っ張る張力として作用し、運動時に引き起こされるずり応力の違いが血管内皮機能に影響を及ぼすことが明らかになっている。したがって、これらの知見から、インターバル運動は、持久性運動と比較して脳血管内皮機能がより亢進することが示唆される。

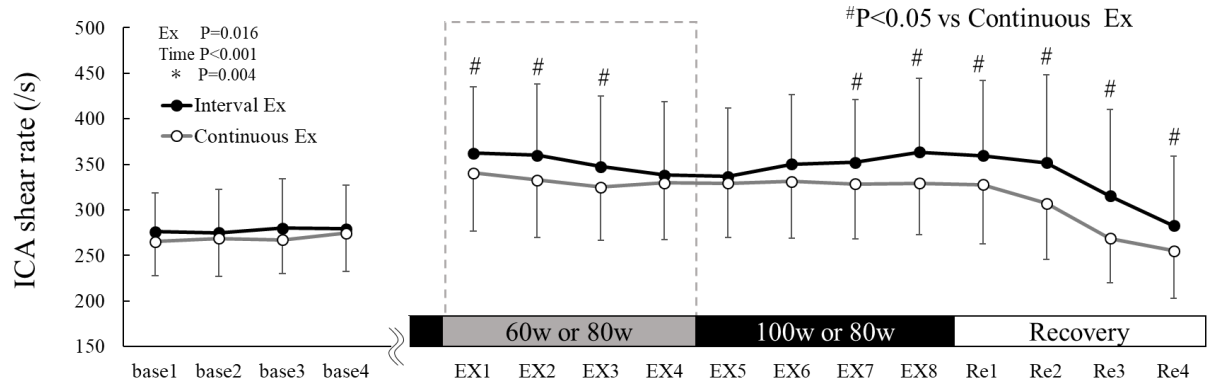


図1. 運動中の内頸動脈にかかるずり応力の経時的な変化（30秒平均）

３．今後の研究における課題または問題点

本研究において、運動様式の違いが運動時に引き起こされる内頸動脈へのずり応力に影響を及ぼすことが明らかになった。したがって、運動様式の違いにより脳血管内皮機能への影響も異なることが示唆される。この運動時の内頸動脈におけるずり応力の増加は、脳血管内皮機能への影響に加え、圧受容器反射の感受性や自律神経系への影響など関連する体循環の変容を介して、脳血管にどのような影響を及ぼすか明らかでない。今後、運動の脳循環機能に及ぼす影響を明らかにするため、様々なアプローチにより、関連する生理メカニズムを検証していく必要がある。

Summary

It has been considered that high-intensity interval exercise (HIIE) training is a more time-efficient alternative exercise compared with moderate-intensity continuous exercise training. However, the impact of HIIE on cerebrovascular remains unknown. The purpose of the present study was to examine the response of cerebrovascular shear stress to an acute bout of interval and continuous exercise (Ex).

METHODS

Eleven subjects participated in the present study (age 21.4±0.8, height173.1±3.3 cm, weight 62.1±6.4 kg) and performed both interval and continuous Ex (semi-recumbent cycling) randomly. Subjects took a rest between exercise trials to recover their hemodynamics to the resting baseline values (at least 15 min). The interval Ex consists of 3 sets of 4 min interval cycling exercise at 60W and 100W (for 2 min at each workload), while continuous Ex consists of 12 min cycling exercise at 80W. Diameter, blood flow and shear rate in the internal carotid artery (ICA) were measured using Doppler ultrasound at rest and averaged over the final 4 min of both interval and continuous Ex.

RESULTS

There is no significant difference in the ICA diameter and blood flow between different exercise mode (diameter and flow; P=0.447 and P=0.104). On the other hand, ICA blood velocity during interval Ex were higher compared to continuous Ex (P=0.045). The increased ICA shear rate during continuous Ex unchanged, while the both low and high intensity phase during interval Ex was higher at the end of exercise protocol than continuous Ex (P=0.039, Figure 1).

CONCLUSIONS

The present study demonstrated a greater elevation in ICA shear rate during interval Ex compared to that of continuous Ex (equivalent of exercise amount). These findings suggest that the response of cerebral endothelial function to interval Ex is larger than that of the continuous Ex.

無細胞マイクロ流体デバイスを用いたナノ粒子の血管透過性評価

Simulation of vascular permeation of nanoparticles using a cell-free microfluidic device

研究代表者　守谷 侑美（理工学研究科　応用化学専攻）
指導教員　　佐々木 直樹 印

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
キーワード／①マイクロ流体デバイス　Microfluidic device
②ナノドラッグデリバリーシステム　Nano drug delivery system
③腫瘍　Tumor
④血管透過性　Vascular permeability
⑤無細胞 Cell-free
平成 30 年度交付額／630,000 円

研究発表／学会および口頭発表

・“無細胞マイクロ血管モデルを用いるナノ粒子の透過性評価”
守谷侑美、紺野仁美、佐々木直樹
日本分析化学会第 67 年会、東北大学川内キャンパス、2018 年 9 月

・“A membrane-integrated microfluidic device for simulating nanoparticle extravasation in tumor microenvironment”
Yumi Moriya, Naoki Sasaki
The 22nd International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2018), Kaohsiung, Taiwan, November, 2018

・“Simulation of nanoparticle extravasation using a cell-free microfluidic tumor capillary model”
Yumi Moriya, Naoki Sasaki
第 28 回日本 MRS 年次大会、福岡、2018 年 12 月

・“無細胞マイクロ腫瘍血管-間質モデルを用いるナノ粒子の血管漏出性評価”
守谷侑美、佐々木直樹
東洋大学　研究ブランディング事業　合同シンポジウム、東洋大学川越キャンパス、2019 年 2 月

研究経過および成果の概要

１．研究方法

近年、ナノ粒子を用いて腫瘍へ薬物を送達するナノドラッグデリバリーシステム(ナノ DDS)が注目されている。腫瘍組織では、ナノ粒子が血管壁を透過して漏出しやすく、かつリンパ管から回収されにくいため、ナノ粒子は腫瘍に蓄積しやすい。よって、ナノ粒子に薬物を封入し血管に投与することで、腫瘍に選択的な薬物送達が期待できる。このナノ粒子の粒径や形状といった特性が粒子の血管漏出性に与える影響を評価できれば、より効率的なナノ DDS の実現が期待できる。しかし、生体内には血管壁の隙間の孔径や血管内外の圧力差といった不定な要素が存在するため、これらがナノ粒子の血管漏出性に与える影響を定量評価することは難しい。

そこで、ナノ DDS の評価系としてマイクロ流体デバイスが注目されている。これは、微細加工技術で作製された、深さ・幅が数 μm～数百 μm ほどの流路を有する小型の実験装置である。血管と同等のサイズのマイクロ流路を用いることで、生体内に類似した環境下でナノ粒子の血管透過性評価が可能となる。既存研究では、細胞培養したマイクロ流路を用いてナノ粒子の血管透過性を評価していたが、粒子の特性や生体内の要素がナノ粒子の血管透過性に与える影響を定量評価できていない。

本研究では、細胞を用いずにマイクロ流体デバイス上に疑似生体内環境を構築し、ナノ粒子の血管透過性を定量評価することを着想した。まず、孔径が均一な多孔膜を組み込んだマイクロ流体デバイスを作製し、この膜を疑似腫瘍血管壁として用いることでナノ粒子の透過性を孔径と結び付けて評価する。さらに膜によって区切られた一方の流路に間質に相当する物質を組み込み、疑似間質を構築し、もう一方の流路を疑似血管として見立て、ナノ粒子を含む懸濁液を送液する。ナノ粒子の疑似間質への透過を評価することで、ナノ粒子の粒径や形状といった特性がナノ粒子の血管漏出性に与える影響を明らかにする。加えて、疑似血管側を加圧することにより、生体内に存在する血管内外の圧力差を考慮した条件下でナノ粒子の血管透過性評価を行う。

２．研究経過および成果の概要

はじめにマイクロ流体デバイスの作製に取り組んだ。レーザー加工機を用いてアクリル板を H 字流路パターンに加工し、これを鋳型とした。これにポリジメチルシロキサン(PDMS)を流し込み、流路パターンを有する PDMS 基板、パターンを有さない PDMS 基板を作製した。これらの基板を直接接合し、流路を 2 つに区切るように切り込みを入れ、そこに多孔膜(孔径 0.4、1、3 μm)を挟み込んで再接合し、これを無細胞マイクロ流体デバイスとした。

作製したデバイスを用いて、ナノ粒子の粒径が血管透過性に与える影響を評価した。デバイスを 4℃に設定した倒立顕微鏡の温調プレート上に設置し、一方の流路に疑似間質としてコラーゲンゲルを注入した。注入後、37℃で 1 時間インキュベートしゲル化させた。その後、シリンジポンプを用いて疑似血管側に蛍光標識ナノ粒子(粒径 20 nm、40 nm、100 nm)の懸濁液を送液した。流速は毛細血管の平均線速度である 0.3 mm s^{-1} とした。ナノ粒子送液直後は疑似血管側にのみ蛍光がみられたが、送液 60 分後には疑似間質側にも蛍光がみられ、ナノ粒子が多孔膜を透過してゲル中へ拡散していることが確認できた。疑似間質側の蛍光輝度の時間変化を解析し、粒子の透過のしやすさを示す指標である透過係数を算出した結果、粒径が小さいほど透過しやすいことが示された。

次に多孔膜の孔径がナノ粒子の透過性に与える影響を評価した。上記と同様に、蛍光ナノ粒子(粒径 20 nm)を送液し、ゲル中への拡散を確認した。疑似間質側の蛍光輝度の時間変化から各孔径の透過係数を算出した結果、孔径によるナノ粒子の透過に違いはみられず、粒径 20 nm の粒子の拡散透過は孔径に依存しないことが示唆された。

さらに、流路内外の圧力差がナノ粒子の透過性に与える影響を評価した。蛍光標識デキストラン(平均分子量 70k、ストークス径 12 nm)の懸濁液を疑似血管側に充填し、圧力コントローラーを用いて疑似血管側の流路を加圧して蛍光観察した。加圧直後は疑似血管側にのみ蛍光がみられたが、加圧 60 分後には疑似間質側にも蛍光がみられ、蛍光標識デキストランが多孔膜を透過してゲル中へ拡散していることが確認できた。同様に疑似間質側の蛍光輝度の時間変化から透過係数を算出した結果、蛍光標識デキストランの透過速度は圧力差に対して直線的に増

加することが示唆された。

以上より、本研究ではナノ粒子のサイズや生体内の不定な要素がナノ粒子の血管透過性に与える影響を、マイクロ流体デバイスを用いて定量評価できたといえる。このことから当初目的としていた多孔膜の影響評価、間質の組成、圧力差の影響評価について一定の評価を得られたと考える。

３．今後の研究における課題または問題点

本研究では、ナノ粒子の粒径に着目した評価を行ってきたが、今後はナノ粒子の形状や表面修飾といった特性について評価検討が必要であると考えている。ナノ薬剤開発に求められる要素を慎重に検討しながら、今後の研究を進めていきたい。

Summary

Nanoparticles have been widely utilized as delivery vehicles for tumor-targeted drug delivery. In order to achieve efficient tumor-targeted drug delivery, nanoparticles need to permeate through tumor vascular walls and surrounding interstitium. Therefore, physical properties of nanoparticles (*e.g.* size and shape) are important for efficient extravasation and subsequent tumor accumulation of nanoparticle. Hydrostatic pressure in tumor capillaries is also one of the important factors for efficient nanoparticle extravasation because it can transport the nanoparticles by convective flow. Animal models have been used to evaluate the efficacy of nanoparticle-based drug delivery. However, physical properties of tumor tissues (*e.g.* vascular pore size, interstitial pore size) of the animal models are essentially non-uniform, so it is difficult to clarify the relationship between the amount of permeated nanoparticles and the aforementioned physical properties. Furthermore, hydrostatic pressure is uncontrollable *in vivo*, and the effect of hydrostatic pressure differences on the nanoparticle extravasation has not been quantitatively clarified. Recently, microfluidic devices have attracted attention as a novel evaluation model of nanoparticles instead of animal models. A microfluidic device is a small experimental model having microchannels, and nanoparticle permeability can be evaluated on the device under blood flow-like conditions. The permeation of nanoparticles have been evaluated by using microfluidic devices.

In this study, we present a cell-free microfluidic device to simulate the nanoparticle permeation under in vivo- like conditions. We utilized a membrane-integrated microfluidic device that has a porous membrane as artificial tumor vascular walls and collagen gel as artificial interstitium. We focused on the evaluation of sub- 100 nm nanoparticles that have been suggested to be efficient for tumor-targeted delivery to solid tumors. Because the shape and size of pores are uniform, the relationship between the permeability of nanoparticles and the *in vivo* physical properties can be clarified. We also pressurized the microchannel to impose convective flow between the microchannel and the artificial interstitium to evaluate the effect of convective flow on the permeation.

新型 d-type トリコテセンの創製と構造・性状解析

Creation and the structure and properties analysis of the new d-type trichothecenes

研究代表者　新海　航輝（理工学研究科応用化学専攻）
指導教員　安藤直子　印

研究期間／平成 29 年 4 月 1 日～平成 30 年 3 月 31 日
キーワード/①トリコテセン　Trichothecene
②毒性　Toxicity
③構造活性相関　Structure activity correlation
④免疫抑制剤　Immunosuppressant
⑤糖抱合　Sugar conjugation
平成 30 年度交付額／558000 円

研究発表／学会および口頭発表

- SHINKAI, K., MATUI, K., KIMURA, M., TAKAHASHI-ANDO, N. Glucoside formation of d-type trichothecene at C-4 position by *Fusarium* app. The 16th International Symposium on Bioscience and Nanotechnology. Kawagoe. (2018/12/18).
- 新海 航輝、松井 宏介、相川 俊一、木村 真、安藤 直子: 「*Fusarium* 属菌による各種トリコテセンの糖抱合の解析」日本マイコトキシン学会　第 83 回学術講演会　サンピアンかわさき（2019 年 1 月 11 日）
- 新海 航輝、岡田 彩希、松井 宏介、相川 俊一、木村 真、安藤 直子：「構造活性相関の解明に向けた新規トリコテセンの創製と性状解析」第 114 回　日本食品衛生学会学術講演会　広島国際会議場（2018 年 11 月 15 日−16 日）
- 新海 航輝、岡田 彩希、木村 真、安藤 直子：「*Trichothecium roseum* を用いた新規 t-type トリコテセンの創製」日本マイコトキシン学会　第 82 回　学術講演会　帯広畜産大学（2018 年 8 月 24 日）
- TANAKA, A., SHINKAI, K., MAEDA, K., NAKAJIMA, Y., ISHII, S., YOSHIDA, Y., KIMURA, M. and TAKAHASHI-ANDO, N. Comparison of HPLC-UV and LC-MS methods for evaluating the amount of deoxynivalenol-type trichothecenes in axenic solid culture of *Fusarium graminearum*. *JSM Mycotoxins* (in press). doi: https://doi.org/10.2520/myco.69-1-2.

研究経過および成果の概要

トリコテセンはその生合成経路により、d-type と t-type に分類される。本研究では、*Spicellum roseum* と *Trichothecium roseum* という d-type トリコテセン生産菌を用い、d-type トリコテセンの生産を試みた。その他、t-type トリコテセンや t-type トリコテセン生産菌を利用し、新規のトリコテセンの生産を試みた。さらに、その構造と性状の解析を行った。

1. 研究方法

①d-type 生産菌の *Spicellum roseum* を YS-30 培地に植菌し 7 日間回転培養を行った。培養液を酢酸エチルで少量抽出し、TLC で生産確認を行った。生産確認後、酢酸エチルで大量抽出、濃縮を行い、順相系分取クロマトグラフィーで精製した。精製物を HPLC の顕著なピークを分取した。分取物を

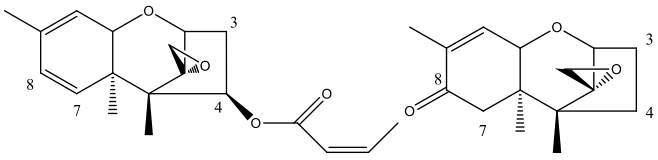
LC-MS/MS にて構造推定し、NMR で構造確定を行った。構造が確定した新規トリコテセンの半数生育阻害濃度(IC_{50})を求めるために WST assay を行った。

②d-type 生産菌の *Trichothecium roseum* を YS-30 培地に植菌、t-type である isotrichodermol を添加し 7 日間回転培養を行った。培養液を酢酸エチルで少量抽出し、TLC で生産確認を行った。生産確認後、酢酸エチルで大量抽出、濃縮を行い、順相系分取クロマトグラフィーで精製した。得られたトリコテセンの 3-hydroxy 8-deoxytrichothecin (3-H 8-deTCN)を基質に rTRI101、アセチル CoA、Tris-HCl buffer (pH7.5)を混合し 24h、30℃でインキュベーションした。変換した新規トリコテセンを HPLC で確認後、顕著なピークを分取した。分取物を LC-MS/MS にて構造推定し、NMR で構造確定を行った。構造が確定した新規トリコテセンの半数生育阻害濃度(IC_{50})を求めるために WST assay を行った。

③t-type 生産菌の *Fusarium sporotrichioides* Δ*Tri5* 胞子を GYEP 培地に植菌し 28℃で培養を行った。2 日後滅菌済の茶こしとガーゼで菌糸のみにし、新たな GYEP 培地に植菌を行った。そこに d-type である trichodermol (TDmol), 8-ketotrichodermol (8-ketoTDmol)を添加して 2 日間 28℃で振盪培養を行った。培養液を等量のアセトニトリルで抽出し TLC、HPLC、LC-MS/MS で解析を行った。HPLC で顕著なピークを分取し NMR で構造解析を行った。また、Rf 培地に t-type 生産菌の *Fusarium graminearum* Δ*Tri5*Δ*Tri101* を植菌し、3 日間 20℃で振盪培養を行った。そこに t-type である HT-2 toxin, 3,15-diacetylnivalenol (3,15-diANIV)を添加して 2 日間 20℃で振盪培養を行った。培養液を等量の酢酸エチルで抽出し TLC、HPLC、LC-MS/MS で解析を行った。

2. 研究経過および成果の概要

①新規トリコテセンを 3 種発見し、2 種の構造確定に成功した（Fig. 1）。構造から 7,8-didehydro-4-butenyl trichodermol と 8-keto-12,13-epoxytrichothec-9-ene と命名し、略称として 8-deTCN-X（8-deTCN の 7,8 位が二重結合になった化合物）と 8-ketoEPT と呼称する。使用した菌体の主生産物の 8-deTCN と毒性を比較した結果、8-deTCN より弱いことが分かった(Fig. 2)。現在これら新規化合物の生成メカニズムの解明を行っている。



7,8-didehydro-4-butenyl trichodermol (8-deTCN-X)

8-keto-12,13-epoxy trichothec-9-ene (8-ketoEPT)

Fig. 1. *S. roseum* が生産する新規トリコテセン

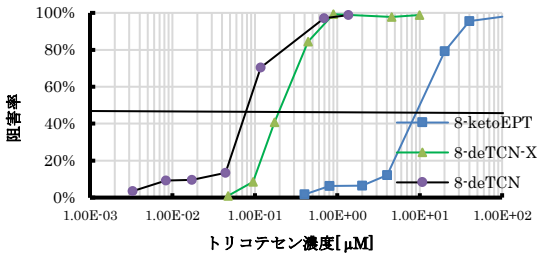
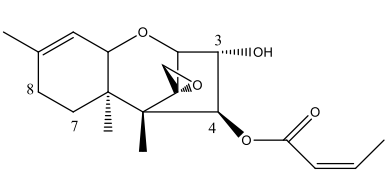


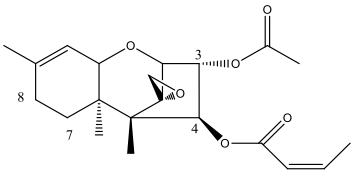
Fig. 2. 実験①の毒性評価

②*T. roseum* に ITDmol を添加した結果、特異な修飾をした 3-H 8-deTCN が得られた。それを基質に rTRI101 とアセチル CoA で反応させた結果、他の物質に変換していることが確認され、LC-MS/MS の結果より $C_{21}H_{28}O_6$ の組成式の物質であることがわかった。基質の組成式が $C_{19}H_{26}O_5$ なので C-3 位がアセチル化したと考えられた。さらに、NMR の構造解析により C-3 位がアセチル化していると確定したので 3-acetyl 8-deTCN (3-A 8-deTCN)と命名した（Fig. 3）。これらの 2 物質に加えて C-3 位に置換基を持たない 8-deTCN の 3 種でどのような毒性の違いが出るのか検証するために WST assay を行った。その結果、毒性の強さは 3-H 8-deTCN ≧ 3-A 8-deTCN ＞ 8-deTCN となった（Fig. 4）。本来ならば毒物は水酸基が付加することで親水性が上がり毒性が下がることが多いが、今回の結果から C-3 位は水

酸化することで毒性が上がったため C-3 位の修飾は毒性に重要だと考えられた。



3-H 8-deTCN



3-A 8-deTCN

Fig. 3. *T. roseum* を用いて得られた新規トリコテセン

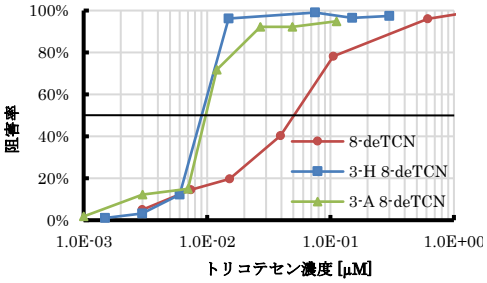


Fig. 4. 実験②の毒性評価

③FsΔ*Tri5* に添加した d-type トリコテセンの TDmol と 8-ketoTDmol は 24h 後に TLC で検出されなくなった。よって、他の物質に変換していることが考えられ、LC-MS/MS で解析した結果、基質にモノヘキソースが結合した組成式と一致する MS が得られた。さらに、NMR の解析より TDmol の C-4 位にモノヘキソースが結合した物質であることが確定した（Fig. 5）。8-ketoTDmol は NMR へ向け大量生産・精製中である（Fig. 6）。

FgΔ*Tri5*Δ*Tri101* に添加した t-type トリコテセンは TDmol 等のように TLC で検出されなくなることは無かった。LC-MS/MS で解析した結果、両物質とも配糖体に変換していなかった。*Fusarium* が糖抱合する条件として C-4 位が水酸基であることではなく C-3 位に置換基を持たないことが重要であることが示唆された。

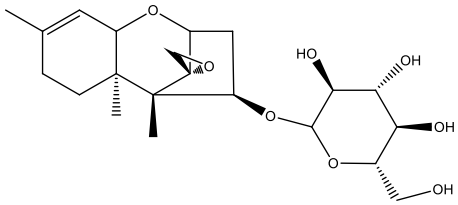


Fig. 5. TDmol-*O*-4-glucoside

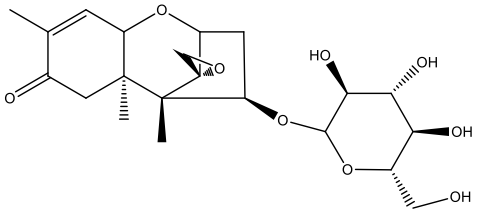


Fig. 6. 8-ketoTDmol-*O*-4-glucoside

3. 今後の研究における課題または問題点

今回創製に成功した新規トリコテセンの中にはどのようなメカニズムや条件で生成されているか不明確な物質も複数あるので、詳細な解明が必要である。そのメカニズム等が解明できれば、応用して新たなトリコテセンの創製が可能になるため、重要なカギを握っていると言える。

また、異なったトリコテセン生産菌の生合成経路を用いることで新たなトリコテセンが生まれるということは天然の圃場でも起こりうることを示している。そこで LC-MS/MS 等を用いてデータベースを作成することにより、より迅速な対応が可能になると考えられる。また、トリコテセンの持つ様々な生理活性から、薬剤等への応用利用も考えられるため、異なる属種のトリコテセン生産菌を利用する今回の方法は、新規物質生産のための重要なツールとなり得よう。

Summary

Trichothecene is a group of mycotoxins produced when *Fusarium* and others infect important crops, and *Trichothecium* and others infect fruits and mushrooms. There are more than 200 kinds of trichothecenes which structures were identified. Ingestion of contaminated grains can cause vomiting, diarrhea, and alimentary toxic aleukia. On the other hand, such toxicity has attracted attention in terms of medical care, however, structure-activity correlation has not been well elucidated. Therefore, we screened and created novel trichothecenes in order to contributing to elucidation of structure-activity correlation.

Trichothecene can be divided into t-type trichothecene and d-type trichothecene due to differences in the biosynthetic pathway, depending on to which stage the oxidation has progressed when trichothecene skeleton is formed (second cyclization reaction). As a result, t-type trichothecenes have a substituent group at C-3 position and d-type trichothecenes do not have, and once trichothecene skeleton is formed, trichothecenes in these two types do not mutually convert.

In this study, we first tried to analyze the unknown trichothecene products of *Spicellum roseum*, and we succeeded to find several new d-type trichothecenes. We named the one 7,8-didehydro-4-butenyl trichodermol and the other 8-keto-12, 13-epoxytrichothec-9-ene. We also performed WST assay to evaluate their toxicities.

In addition, we performed a feeding assay to incorporate one type trichothecene into cell culture of fungi which produce the other type trichothecenes, to utilize heterogenous biosynthesis pathway. In this study, we fed t-type trichothecene to *Trichothecium roseum,* and succeeded to obtain a novel t-type trichothecene with butenyl group at C-4 position, which has never found in t-type trichothecenes. Furthermore, we applied TRI101, trichothecene 3-*O*-acetyltransferase on this product and acetylated it at C-3 position.

We also performed another feeding assay to feed d-type trichothecene to t-type trichothecene producers, *Fusarium graminearum* and *F. sporotrichioides*. As a result, the products of glucose conjugation at C-4 of trichothecenes were found, and it was the first time to report the novel glucose conjugation of trichothecene at C-4 position.

In this study, we could produce several novel trichothecenes. The fact that new trichothecenes were formed using the biosynthetic pathway of different trichothecene-producing fungi, indicates that it can occur also in natural field. Therefore, creating MS/MS database could contribute to more prompt detection and response, once novel trichothecenes prevail in nature. We also believe that from various physiological activities of trichothecenes, their medical application may be considered in the future.

ヒト皮膚培養細胞の炎症モデルを用いた
抗炎症物質の探索と機能解析
～市販精油をターゲットとして～

Screening and characterization of anti-inflammatory essential oil
using HaCaT keratinocytes

研究代表者　田中　千智（理工学研究科　応用化学専攻）
指導教員　安藤　直子　印

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
キーワード／①アトピー性皮膚炎　Atopic dermatitis
②ヒト表皮角化細胞　HaCaT cells
③炎症性サイトカイン　IFN-γ/TNF-α
④ケモカイン　TARC
⑤精油　Essential oils
平成 31 年度交付額／558,000 円

研究発表／学会および口頭発表

・International Symposium on Engineering and Applied Science（ISEAS）"Some Essential Oils Inhibit Induction of Thymus and Activation-regulated Chemokine in the Human Keratinocyte Cell Line HaCaT", Guam, Chisato Tanaka, Naoko Takahashi-Ando　(2018/08)

・日本食品衛生学会　「ヒト表皮細胞炎症モデルを用いた天然植物香料による炎症抑制効果の検討」田中千智、根建美也子、野田信三、安藤直子　広島、平成 30 年 11 月

研究経過および成果の概要

本研究では、ヒト皮膚角化細胞に炎症性サイトカインを添加することで、炎症皮膚モデルを作製し、精油などの抗炎症候補剤のスクリーニングを行った。選抜された精油については、さらにそのメカニズムについて検証を行った。

1．研究方法

[1] 抗炎症候補剤（精油等）のスクリーニング

精油は EtOH にて 3×10^2 倍、1×10^3 倍、3×10^3 倍、1×10^4 倍、3×10^4 倍の濃度に希釈した。HaCaT 細胞濃度 5×10^4 個/ml を 96 well プレートに 100 µl ずつ加え、24 h 培養後、各濃度に調製した候補剤を 1 µl ずつ添加した。1 h 培養後、IFN-γ/TNF-α（最終濃度 10 ng/ml；以後、炎症性サイトカインとするをそれぞれ 1 µl（最終濃度 10 ng/ml）ずつ添加し、24 h 培養した。その後、WST assay を用いて無毒性濃度検証を行った。また、並行して HaCaT 細胞濃度 4×10^5 個/ml を 96 well プレートに 200 µl ずつ加え、24 h 培養後、各濃度に調製した抗炎症候補成分を 2 µl ずつ添加した。1 h 培養後、炎症性サイトカインをそれぞれ 2 µl（最終濃度 10 ng/ml）ずつ添加し 24 h 培養した。その後、TARC ELISA により、TARC 値を評価した。

[2] 炎症性サイトカイン添加による炎症関連 mRNA の変動評価

8~9 割程度のセミコンフルエント状態の HaCaT 細胞へ炎症性サイトカインを添加し、0, 1, 2, 3, 6, 12

h 後、細胞から RNA を回収した。販売元のプロトコールに従い、RT-PCR を行い、炎症関連 mRNA の変動をアガロース電気泳動にて確認した。

[3] 炎症モデルへ精油（パチュリ）を添加した際の影響

8~9 割程度のセミコンフル状態の HaCaT 細胞へ①100%EtOH（vehicle）と炎症性サイトカイン、②パチュリ（1×10^3 倍）と炎症性サイトカインを添加し、0, 2, 6, 12h 後に RNA を回収し上記同様目的 mRNA の相対量を確認した。

2. 研究経過及び成果の概要

[1] 精油全 75 種のうち、パチュリ、カモマイル・ジャーマン、メリッサ、イモーテル、ラバンジン（アブリアリス）において細胞毒性を示さず、TARC 値を基準よりも 50%以上下げることがわかった。また、パチュリは Fig. 1 における斜線部で細胞毒性を示すことく、TARC 産生量を抑制し、最大阻害率は約 94%という結果となった（Fig. 1）。

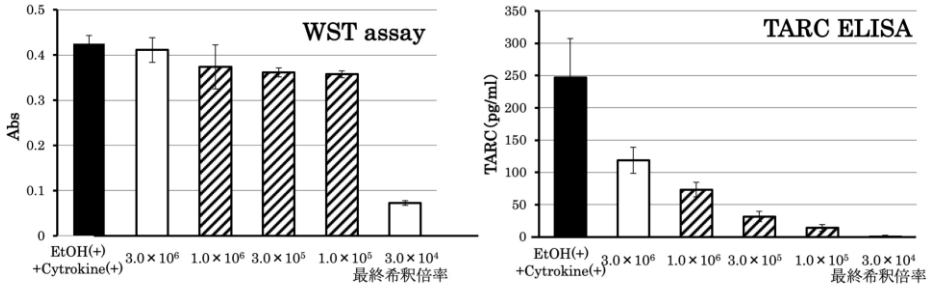


Fig. 1. パチュリのWST assayとTARC ELISA

[2] 炎症性サイトカインの添加後、ハウスキーピング遺伝子 GAPDH の mRNA がほぼ一定に発現していることを確認できたため、各種 mRNA の変動を評価した。炎症性サイトカインにより産生を促される TARC は、1~3 h で徐々に産生量が増加しており、アレルギー性炎症との関わりが指摘されているケモカインの CCL5/RANTES も TARC と類似した産生の様子を示した。皮膚のバリア機能に関与する Filaggrin は 3 h までは発現が確認できたが、徐々に発現が弱くなっており、6 h ではまったく観察されなかった。皮膚バリア機能に対して、炎症性サイトカインが何らかの影響を及ぼしている可能性が示唆された（Fig. 2）。

[3] パチュリは 2 より得られた変動 mRNA のうち、最も強く CCL5/RANTES の産生阻害を示した。TARC mRNA の場合、パチュリによるこのような産生阻害は見られなかった。そのため、パチュリが特異的に CCL5/RANTES mRNA に対して産生阻害作用を及ぼしていることが示唆された。（Fig. 3）。

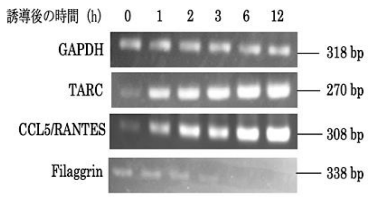


Fig. 2. 炎症性サイトカインによるmRNAの変動

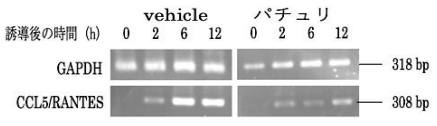


Fig. 3. 抗炎症候補パチュリによるmRNA発現への影響

3. 今後の研究における課題または問題点

今後は精油が実際に使用される場面を想定し、精油を誰でも安心して使用できる状態にする方法を構築する必要がある。例えば、化粧品に多用されているリポソーム（Fig. 4）の封入について考案している。

リポソームは二重ラメラ構造（玉ねぎ構造）を有する小胞体で、細胞融合やエンドサイトーシスを起こしやすい傾向にある。現在、精油の安定な封入と細胞への導入条件を検討している。本研究では有用な精油が見出されたため、安全な塗布方法を開発できれば、AD 皮膚への応用も可能になってくるかもしれない。

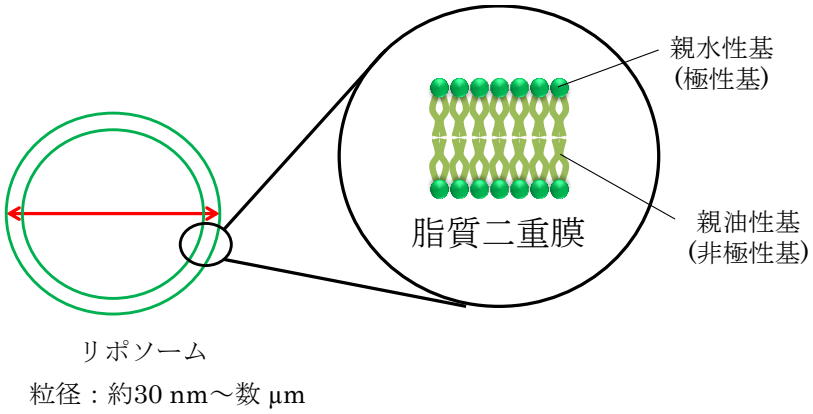


Fig. 4. リポソーム

Summary

Atopic dermatitis (AD) is an eczema with pruritus and repeats exacerbations and remissions. Serum IgE values have been used as indicators of severity of AD, however, recently the level of thymus and activation-regulated chemokine (TARC) produced by keratinocyte is often used instead. TARC is a chemokine specific for AD and correlates well with severity of AD. Topical corticosteroids are widely prescribed for AD, but may cause skin atrophy, tachyphylaxis, and exacerbation of symptoms after discontinuation of long-term use.

It is known that TARC production is induced by adding the inflammatory cytokine Interferon-γ (IFN-γ) and tumor necrosis factor-α (TNF-α) to human epidermal keratinocyte HaCaT cells. Therefore, in this study, we aimed to explore anti-inflammatory candidate agents from 75 essential oils using this keratinocyte model. We performed TARC ELISA and WST assay for this purpose. In addition, in order to verify the mechanism of action of the candidate agent, we investigated the levels of mRNA, possibly related with skin inflammation (28 genes: chemokine, cytokine, neurotransmission related protein, hormone related protein, barrier function protein etc.) using RT-PCR. Furthermore, in order to establish reliable introduction of the candidate agent into keratinocyte, a method of enclosing essential oil in the liposome was examined.

Of the 75 essential oils, patchouli was most effective to inhibit TARC induction without causing any cytotoxicity in WST assay and the maximum inhibition rate was about 94% in ELISA. However, using RT-PCR, no inhibition was observed in TARC mRNA by patchouli, however, some inhibition was observed in CCL5/RANTES mRNA, another kind of chemokine. Other than patchouli, German chamomile, Roman chamomile, Melissa, Immortelle and Lavandin Abriallis were effective to inhibit TARC induction in ELISA.

We are now in the middle of the trial to encapsulating the essential oil in liposome for its efficient and safe delivery into skin cell. Since useful essential oils were found in this study, their application to AD skin may become possible, if safe application methods could be developed.

トリコテセン系かび毒の網羅的 MS/MS データベースの構築を目指して

Aiming at the comprehensive MS / MS database of trichothecene mold toxin

研究代表者　足立　健太郎
指導教員　安藤　直子　　印

研究期間／平成 29 年 4 月 1 日～平成 30 年 3 月 31 日
キーワード／①トリコテセン　Trichothechene
②毒性　Toxicity
③食の安全　Food safety
④データベース　Database
⑤創製　Creation
平成 30 年度交付額／560,000 円

研究発表／学会および口頭発表

- KAMATA, K.（共著）, "Exploring an artificial metabolic route in *Fusarium sporotrichioides*: Production and characterization of 7-Hydroxy T-2 toxin", *J. Nat. Prod.*, 2018 Apr 27
- 足立健太郎、「新規トリコテセン創製に向けた *Fusarium* 属菌および基質の条件検討」、日本マイコトキシン学会第 82 回 学術講演会、 2018 年 8 月 24 日
- 足立健太郎、「「トリコテセン前駆体生産と性状解析に向けた *Fusarium graminearum* 遺伝子破壊株の生産物解析、第 114 回 日本食品衛生学会学術講演会、2018 年 11 月 15 日-16 日
- 足立健太郎、"Production and structural analysis of unnatural type A trichothecenes using enzymatic reaction", The 16th International Symposium on Bioscience and Nanotechnology, 2018 年 12 月 18 日
- 足立健太郎、「*Fusarium sporotrichioides* 二重遺伝子破壊株による新規 C-7 位水酸化 A 型トリコテセンの創製」、日本マイコトキシン学会 第 83 回 学術講演会、2019 年 1 月 11 日

研究経過および成果の概要

1.研究方法

本研究では食の安全を脅かしているトリコテセンについて今後発生しうるものを創製し LC-MS/MS でライブラリー化することで、新規トリコテセンが発生した際に早期に対応できる検出系の構築を試みた。そのために、A 型トリコテセン生産菌の *Fusarium sporotrichioides* (Fs) 株の生合成経路に着目した。Fs 株は生合成経路上で C-7 位を水酸化しないため、天然には C-7 位水酸化 A 型トリコテセンは存在しないことが知られている。そこで、A 型トリコテセン生産菌である Fs 株の遺伝子破壊株に C-7 位水酸化トリコテセンを基質として培養液に添加することで、C-7 位水酸化 A 型トリコテセンの生産を行い、LC-MS/MS ライブラリーの拡充を行った。

まず、*Fusarium graminearum* (Fg) 株の生合成遺伝子 *Tri11* を破壊した菌体を培養して、C-7 位水酸化トリコテセンの 7-hydroxyisotrichodermin (7-HIT) を生産し、液体クロマトグラフィー、TLC のかきとりによって精製を行った。

次に Fs 株のトリコテセン骨格形成を担う生合成遺伝子 *Tri5* を破壊した株に 7-HIT を添加して C-7 位水酸化 A 型トリコテセンの 7-hydroxy T-2 toxin (7-H T-2 toxin) を生産した。さらに土壌菌から採取した C-4 位脱アセチル化酵素や C-3 位アセチル化酵素 TRI101 で反応させ、7-hydroxy HT-2 toxin (7-H HT-2 toxin)、3-acetyl-7-hydroxy T-2 toxin (3-A-7-H T-2 toxin)、3-acetyl-7-hydroxy HT-2 toxin (3-A-7-H HT-2 toxin) の生産を行った。これらを精製し、構造同定や検量線作製を行った。

また Fs 株の生合成遺伝子 *Tri5* と C-4 位水酸化酵素遺伝子の *Tri13* を二重破壊した菌体に精製後 7-HIT を添加して 4-deoxy-7-hydroxy T-2 toxin (4-de-7-H T-2 toxin) の生産を試みた。その後生産物の精製を行い、LC-MS/MS で解析を行った。また精製前 7-HIT 添加時と比較を行い目的生成物の生産量の比較を行った。

2.研究成果および成果の概要

Fg 株の生合成遺伝子 *Tri11* を破壊した菌体を培養し、7-HIT の生産後、TLC のかきとりによって、カラム精製では取り除けなかった不純物を除き 7-HIT の精製に成功した（Fig. 1)。また 7-HIT に混在していた不純物は、Fg 株などから報告されている culmorin というトリコテセンとは異なる環構造を持つ物質である可能性が示唆された。

7-HIT を Fs 株のトリコテセン骨格形成を担う生合成遺伝子 *Tri5* を破壊した株に添加した結果、7-H T-2 toxin を生産した。これを土壌菌から採取した C-4 位脱アセチル化酵素で反応させた結果、7-H HT-2 toxin を生産した。これらをそれぞれ C-3 位アセチル化酵素 TRI101 で反応させた結果、3-A-7-H T-2 toxin、3-A-7-H HT-2 toxin を生産した。3-A-7-H T-2 toxin は NMR での構造同定、qNMR での定量、HPLC での検量線作製を行い、3-A-7-H HT-2 toxin は qNMR での定量、HPLC での検量線作製を行った。これにより複数の C-7 位水酸化トリコテセンの検量線を得ることができた（Table 1)。

Fs の *Tri5*、*Tri13* 二重遺伝子破壊株に精製した 7-HIT 添加した結果、20.4 min 付近にこれまで得られなかったピークが HPLC で確認された。LC-MS/MS で解析した結果、今年度初めて 4-de-7-H T-2 toxin と m/z が一致したピークとその MS/MS を得られた。7-H T-2 toxin や 4-deoxy T-2 toxin (4-de T-2 toxin) と比較した場合、この MS/MS のフラグメントパターンに矛盾はなく、4-de-7-H T-2 toxin が生産されたことが示唆された (Fig. 3)。また、不純物が混在している 7-HIT を添加した際には 4-de-7-H T-2 toxin は殆ど得られず（Fig. 4)、4-de T-2 toxin と 7-H T-2 toxin が生産されてしまった。この結果より、これまで未知だった Fs 株の代謝経路の存在が示唆された。以上のことから C-7 位が水酸化された基質の

場合、不純物が基質の取り込みと代謝に大きく影響すると考えられる。

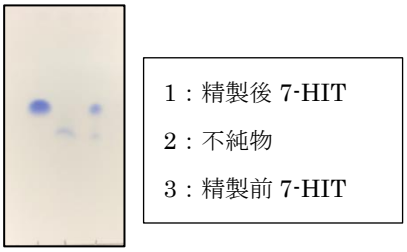


Fig. 1. 7-HIT の精製

Table 1. C-7 位水酸化トリコテセンの検量線

トリコテセン名	トリコテセン含有量（μg）
T-2 toxin	$y=4.93\times10^{-7}\times$peak area
7-H T-2 toxin	$y=7.09\times10^{-7}\times$peak area
7-H HT-2 toxin	$y=8.18\times10^{-7}\times$peak area
3-A-7-H T-2 toxin	$y=8.98\times10^{-7}\times$peak area
3-A-7-H HT-2 toxin	$y=1.99\times10^{-7}\times$peak area

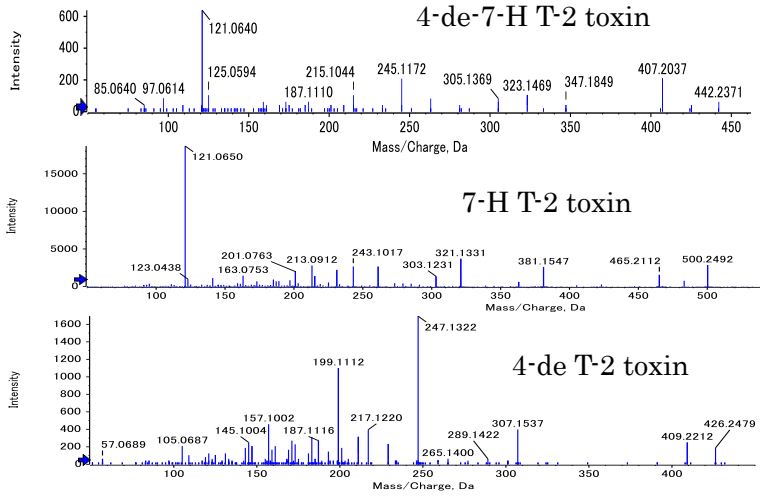


Fig. 2. MS/MS パターン（NH_4^+付加体）

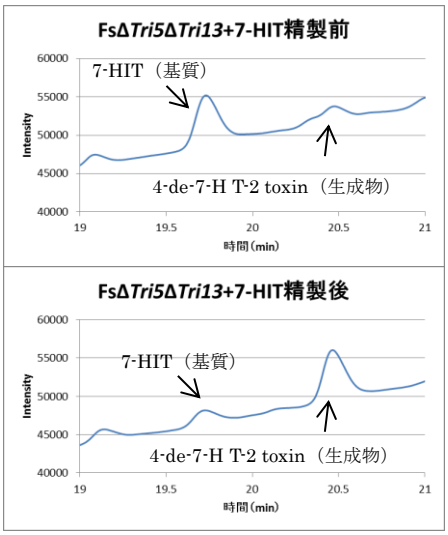


Fig. 3. 精製前後 7-HIT による基質の取り込まれ方の違い

3.今後の研究における課題または問題点

本研究で得られた 3-A-7-H HT-2 toxin の検量線が理論値と大きく異なっていたため再度精製し、NMR による構造同定、qNMR による定量、HPLC による検量線作製を再度行い、検量線の再測定を行ったほうが良いと言える。

さらに 4-de-7-H T-2 toxin を生産するためにより生産効率の良い条件探索を行い大量精製、NMR による構造同定、qNMR による定量、HPLC による検量線作製を再度行っていく必要がある。最終的に毒性評価を行い、構造活性相関を解明する 1 つとして解析を行っていき、4-de-7-H T-2 toxin 生産の系と毒性について解析しておくべきである。さらに TRI101 を用いれば 3-acetyl-4-deoxy-7-hydroxy T-2 toxin を生産できるため、更なるデータベース拡充が行える。今後は、構造活性相関とともに最終的には MS/MS データベースを広げ、食の安全や創薬への応用・貢献へつなげられるように研究を行っていくことを目標とする。

Summary

Trichothecene is a group of mycotoxins produced by fungi including *Fusarium*, and these toxins were roughly divided into types A to D based on the difference in their structures. One of notorious type A trichothecene is T-2 toxin, which is produced by *F. sporotrichioides* (Fs), while deoxynivalenol (DON) and nivalenol (NIV) are known as type B trichothecenes produced by *F. graminearum* (Fg). These type A and type B trichothecenes contaminate important grains such as wheat, barley and corn, and cause poisoning symptoms when people or animals ingest contaminated cereals. So far, more than 200 kinds of trichothecenes have been identified. In addition, new trichothecene-producing fungi and unknown trichothecenes have been reported recently, thus, food safety is considered to be threatened. Therefore, we designed possible trichothecenes which could be produced in the future, and tried to construct a MS/MS library of trichothecenes, so that we could detect these newly appearing trichothecenes quickly once they prevail in nature.

In this study, focusing on the biosynthetic pathway of the Fs strain of type A trichothecene producer, we produce unnatural A type trichothecenes with hydroxy group at C-7 position by feeding assay. First, 7-hydroxyisotrichodermin (7-HIT) was produced by the FgΔ*Tri11* strain and purified. Purified 7-HIT was added to the culture medium of FsΔ*Tri5* strain to produce 7-hydroxy T-2 toxin. Furthermore, 7-hydroxy HT-2 toxin was obtained using C-4 position deacetylase collected from soil microorganisms (*Bacillus*, No. 3743). We also obtained 3-acetyl-7-hydroxy T-2 toxin and 3-acetyl-7-hydroxy HT-2 toxin by acetylating 7-hydroxy T-2 toxin and 7-hydroxy HT-2 toxin at C-3 position by TRI101, trichothecene 3-*O*-acetyltransferase. Calibration curve was constructed for each unnatural trichothecene.

Likewise, 7-HIT was added to the culture fluid of FsΔ*Tri5*Δ*Tri13* strain to try to produce 4-deoxy-7-hydroxy T-2 toxin. TRI13 is a biosynthetic enzyme which hydroxylate at C-4 position of trichothecenes. By feeding highly purified 7-HIT to FsΔ*Tri5*Δ*Tri13*, we believe that we successfully biosynthesized this compound based on the result of MS/MS. We furthermore need to confirm its structure by NMR.

In this study, we succeeded to produce 5 novel unnatural A type trichothecenes with hydroxy group at C-7 position. By creating novel trichothecenes and expanding a MS/MS library of trichothecenes, we possibly deal with the problems caused by newly appearing toxins.

好塩性を中心としたPolyextremophilesの分離解析

Isolation of characterization of polyextremophiles

研究代表者　榎本 茂朗（理工学研究科応用化学専攻）
指導教員　　吉田 泰彦　　印

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
キーワード／①好塩性　Halophilic
②古細菌　Archaea
③好塩性古細菌　Haloarchaea
④極限環境微生物　Extremophiles
⑤スクリーニング　Screening
平成 30 年度交付額／560,000 円

研究発表／学会および口頭発表

・2018 年度極限環境生物学会第 19 回年会（松江）
P-01「好塩性マンナナーゼの探索と諸性質解析」
○**榎本茂朗**、峯岸宏明、嶋根康弘、近藤悠介、亀倉正博、吉田泰彦
・2018 年度極限環境生物学会第 19 回年会（松江）
P-08「好塩性マンナナーゼの探索と諸性質解析」
○櫻井菜々子、**榎本茂朗**、近藤悠介、嶋根康弘、亀倉正博、峯岸宏明
・2018 年度極限環境生物学会第 19 回年会（松江）
P-10「好塩耐／好アルカリ性好塩性古細菌の分離」
○早船瑞麗、**榎本茂朗**、近藤悠介、嶋根康弘、亀倉正博、峯岸宏明
・2019 年度極限環境生物学会第 20 回年会にて発表予定（2019 年 11-12 月：京都）

研究経過および成果の概要

１．研究方法

本研究は，好塩性を中心とした polyextremophiles の微生物ライブラリーを構築するために、分離報告例がほとんどない好塩性を含む 3 種類以上の極限環境因子に適応した polyextremophiles を分離し、それらの系統関係、微生物的性状を解析することを目的とした。分離源として岩塩、天日海塩、天日湖塩などの市販塩を使用した。市販塩は好塩性微生物の多様性に富んでおり、採掘したままの岩塩、加熱した煎ごう塩などが含まれる。また、パッケージングの際に紫外線照射をしている試料もあり、複数の極限環境因子に適応した好塩菌の分離が期待できる。現在、微生物スクリーニングでは様々な手法が用いられているが、最も重要なのは培地成分であり、培地組成を少し変えるだけで、分離される微生物叢は異なる。

本研究では、これまで分離されていない複数の極限環境に適応した微生物のライブラリー構築を最終的な目標としているが、第一段階として、特に報告例のない好圧性、好熱性を有する好塩性古細菌の分離、微生物性状解析を目的とした。また、好塩性微生物の分離培養時間は時間がかかるため、好熱性好酸性好塩性および好熱性好アルカリ性好塩性古細菌などの polyextremophiles のスク

リーニングも同時に行った。

810 種類の市販塩サンプルを最終濃度 25%なるように酸性、中性、アルカリ性緩衝液に溶かし、その試料を、各種培地にスポット塗布して 37℃で 2~4 週間培養を行った。コロニーが確認できた試料を再度寒天培地に塗布し、色、形の異なるコロニーをピックアップして純化作業を行った。単離後、分離株から DNA を抽出し、PCR 法により 16S rRNA 遺伝子を増幅し、その塩基配列を解析し系統解析を行った。新属または新種の可能性が高い分離株の増殖プロファイルを評価した。また、polyextremophiles が生産する各種酵素に関しても基質の分解斑により確認を行った。

２．研究経過および成果の概要

810 種類の市販塩サンプルから各種条件（圧力、温度、pH）・培地にてスクリーニングを行った結果、60 MPa で増殖可能な好圧性好塩性古細菌が 177 株、p 60℃以上で増殖可能な好熱性好塩性古細菌が 22 株、pH 10 以上で増殖可能な好アルカリ性好塩性古細菌が 50 株、pH 4.5 で増殖可能な好酸性好塩性古細菌が 46 株分離できた。

分離した好圧性好塩性古細菌 177 株中 4 株は 60℃で増殖可能であり、これらは現在 16S rRNA 遺伝子塩基配列を解析中である。また、60℃以上で増殖可能な好熱性好塩性古細菌が 22 株に関して 61-66℃までの限界生育温度を確認した結果、5 株が 63℃で増殖可能で、1 株が 62℃で増殖可能であった。これらの内 2 株は *Natronomonas* 属に近縁な新属であることが示唆された。また、分離した好アルカリ性好塩性古細菌 50 株中 12 株は Halobacteria 綱の *Haloparvum* 属、*Halorubrum* 属、*Halostagnicola* 属、または *Salinarchaeum* 属に近縁な新属である可能性が示唆され、pH 12.0 以上で増殖可能であった。これら 12 株を pH 12.5, 12.8, 13.0, 13.2 の培地で 1-2 週間培養後にその生存を確認した結果、7 株は pH 13.0 でも生存していた。一方で、pH 4.5 以下で増殖可能な好酸性好塩性古細菌の 16S rRNA 遺伝子塩基配列を解析した結果、これまでの好酸性好塩性古細菌として報告のない *Halococcus* 属が分離されていることが分かり、その相同性解析から *Halococcus* 属の新種である可能性が示唆された。本研究により 5 種類の新属および多数の新種が分離され、これらは少なくとも 2 種類以上の極限環境因子に適応していることが分かった。

現在、新規性が高く、2 種類以上の極限環境因子に適応した好熱性、好圧性、好アルカリ性および好酸性古細菌に関して、3 つ目の極限環境因子に適応できるかを確認している。また、新属と推定された分離株に関しては、優先的に分類同定試験を行っており、新属として提唱する予定である。

３．今後の研究における課題または問題点

新規培地を構築した結果、各種条件で数多くの新属または新種の可能性が高い株が分離できた。しかしながら、培地組成がそれぞれ異なるために、同じ培地で試験を行うことができないので、これらの分類同定には多くの試験用培地が必要となる。そのため、作製に多大な時間と費用が必要である。今後は、多くの分離株および既知株が増殖可能な汎用培地を開発し、合理的な方法で分類同定を行う必要がある。現在、汎用的な分類同定用培地に関しても開発中である。

Summary

Haloarchaea is classified within the class Halobacteria. The class Halobacteria consists of a large group of aerobic microbes that live and grow in hypersaline environments such as salt lakes,

salterns, solar salts and subsurface salt formations. Haloarchaeal strains require high concentrations of NaCl for their growth, with optimum concentrations of 10–30%. Currently, the family Halobacteriaceae contains 60 genera comprising 253 species that display a wide variety of morphology and physiology including ranges of salinity, temperature, pH etc. for growth. In this study, we isolated new polyextremophiles using various conditions (hydrostatic pressure, temperature or pH) and media. Total DNA was extracted by the method of Cline *et al.*. The full-length 16S rRNA gene of isolates were amplified by PCR with the forward primer H16S-For and reverse primer 23S-Rev2 using Ex Taq polymerase. PCR products were purified by agarose-gel electrophoresis and then sequenced with the following primer set: forward primers H16S-1F, H16S-627F, H16S-1134F and H16S-1276F, and reverse primers H16S-256R, H16S-744R, H16S-915R, H16S-1161R and H16S-1468R, using a Big Dye Sequencing kit version 3.1 by an ABI 3130 DNA sequencer.

We collected 810 natural sea salts and rock salts available in Japan. Many samples were solar salts, either imported from Australia, France, Mexico, etc., or produced in Japan. Some samples were re-crystallized in Japan from the imported solar salts. A part of samples were rock salts imported from Bolivia, China, Italy, etc., and most salt samples were produced in Japan from seawater by boiling.

These eight hundred ten salt samples (0.3 g each), domestic and imported, were dissolved in 1 ml 5% sterile NaCl solution, and 100 µl each was spread on agar plates of each medium. The pH of the medium was adjusted to pH 4.5, 7.0 or 10.0 with a variety of buffer. After incubation at 37 or 60℃ for 2-4 weeks, colonies were picked up and transferred to fresh agar plates and pure cultures were obtained by plating serial dilutions and repeated transfers on agar plates.

We isolated 177 strains which can grow at 60 MPa at piezophilic haloarchaea, 22 strains which can grow at 60℃ as thermophilic haloarchaea, 50 strains which can grow at pH 10.0 as alkalophilic haloarchaea (>pH 10.0) and 46 strains which can grow at pH 4.5 as acidophilic haloarchaea.

A phylogenetic tree reconstructed by NJ method suggested that some strains may represent a novel genus of the class Halobacteria. In particular, under alkaline conditions many new genera were able to be isolated. These were closely related to the genus *Haloparvum*, *Halorubrum*, *Halostagnicola* or *Salinarchaeum*.

階段式魚道内の礫堆積がウグイの遡上および滞留行動に及ぼす影響

The Effect of gravel deposit in A Pool-and-weir-fishway
on the behavior of run-up and retention of *Tribolodon hakonennsis*

研究代表者　齋藤 圭汰（理工学研究科都市環境デザイン専攻）
指導教員　　青木 宗之 印

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
キーワード／①階段式魚道　Pool-and-weir-fishway
②礫堆積　Gravel deposition
③流れの乱れ　Flow disturbance
④流速　Flow velocity
⑤魚の遊泳行動　Fish behavior
平成 30 年度交付額／630,000 円

研究発表／学会および口頭発表

【学会および口頭発表（※○は口頭発表者）】

・○齋藤圭汰，青木宗之，品田　瞭：河床材料の違いとウグイの遊泳行動，第 46 回土木学会関東支部技術研究発表会，2019.3

・○齋藤圭汰，青木宗之：礫の堆積による階段式魚道の機能低下とそれに対する簡易的な改善策の提案，土木学会第 63 回水工学講演会，2018.11

・青木宗之，○齋藤圭汰，芦刈晃司，船越智瑛：階段式魚道内の礫堆積がウグイの遡上および滞留行動に及ぼす影響，土木学会第 46 回環境システム研究発表会，2018.10

・○齋藤圭汰，青木宗之，下鳥一樹，井上皓介：礫が堆積した階段式魚道に対する魚道機能改善策の提案，土木学会第 73 回年次学術講演会，2018.8

【論文】

・齋藤圭汰，青木宗之：礫の堆積による階段式魚道の機能低下とそれに対する簡易的な改善策の提案，土木学会論文集 B1（水工学），Vol.74, No.5, pp.I_445-I_450, 2018.11

・青木宗之，齋藤圭汰，芦刈晃司，船越智瑛：階段式魚道内での礫堆積がウグイの遡上および滞留行動に及ぼす影響，土木学会論文集 G（環境），Vol.74, No.6, pp.II_157-II_163, 2018.10

研究経過および成果の概要

１．研究方法

河川において，魚類や甲殻類の縦断的な移動（遡上および降下）を手助けする方法として，魚道が設けられていることが多い．その魚道の形式はプールタイプ，ストリームタイプ，オペレーションタイプの 3 つに分類され，プールタイプの階段式魚道が最も多い[1]．階段式魚道は，落下流と表面流がある．魚の遡上には，落下流状態が適している．また，魚道プール内に礫や土砂が堆積しやすく，魚道機能低下（魚の遡上率の低下）へ繋がっていることが確認されてい

る．これは，礫床（魚道床）付近で生じる流れの乱れによって，魚が滞留したためである[2]．そこで，本研究では礫が堆積した階段式魚道において，魚道床付近の流れの乱れを抑制し，魚の遡上率を向上させるための簡易的な改善策の提案を目的として，実魚を用いた挙動実験と水理実験を行った．

実験には，幅 60(cm)，全長 1,500(cm)の実験水路の中央部に設置した，幅 60(cm)，プール長 50(cm)，隔壁厚さ 10(cm)の階段式魚道を用いた．なお，プールは 3 つ設けており，上流側から *pool*-1, *pool*-2, *pool*-3 とした．また，プール間落差を 5(cm)とし，魚道勾配を 1/12 とした．隔壁形状は，剥離流抑制のために R 型とした．なお，埼玉県内の階段式魚道プール内には粒径 d=20(mm)程度の礫が堆積している[3]ため，本実験でも，同程度の礫を使用した．

魚道床での流れの乱れの抑制方法は，礫上に平板を設置して滑面とすることを考えた．しかし，礫上に平板を設置するだけではプール水深が小さくなり，プール内の流速が大きくなるため，魚が遊泳困難となる可能性がある．そこで，魚道プール内の礫堆積量を減らし，プール内の通水する体積を確保し，流速を抑制することも考えた．

実魚を用いた挙動実験では，供試魚として平均体長$\overline{BL}$が 8.5(cm)のウグイを用いた．実験方法は，*pool*-2 に魚止めネットを設置し，そこにウグイを 10 尾放流して，5 分間流水と水温に馴れさせた．その後，魚止めネットを外し，30 分間ウグイの遊泳行動をビデオカメラで撮影した．実験終了時に，ウグイがどの領域に存在したかを確認し，遡上率等を算出した．動画解析では，ウグイが魚道内でどのような遊泳行動（遡上経路や滞留箇所など）であったかを確認した．

水理実験では，流速と水深，礫堆積厚さの計測をした．流速の計測には 3 次元電磁流速計を用い，サンプリング周波数を 20(Hz)として 512 個のデータを単純平均した．水深および礫堆積厚さの計測には，ポイントゲージを用いた．

２．研究経過および成果の概要

実魚を用いた挙動実験の結果，魚道床が礫と滑面の両ケースで，ウグイは魚道床付近を遊泳し遡上時には側壁付近を遡上することが確認された．また，魚道プール内でのウグイの主な滞留箇所は魚道プール下流側の隔壁付近，かつ，魚道床付近と同様の傾向があった．魚道床が礫のケースでは，礫の堆積量を減らすことでウグイの遡上率が大きく向上した．これは，魚道プール内で通水可能な体積が大きくなり，落下流が大きく形成されたため，ウグイが遡上経路を認識しやすくなったためであると考えられる．一方で，魚道床が礫に比べて，平板を設置して魚道床を滑面にしたとき，ウグイの遡上率は低下し，*pool*-2 より下流に押し流されたウグイの個体数も増加した．これは，礫堆積量を減らしたケースでも同様であった．このことから，平板を設置し魚道床を滑面にしたとき，ウグイが遊泳困難な流況が形成されていた可能性が考えられた．そこで，ウグイの遡上に大きく影響する魚道プール内の流速の大きさと流れの乱れの大きさに着目した．

魚道床が礫のとき，礫床付近でウグイが長時間の遊泳が可能な 1～4$\overline{BL}$(cm/s)程度の流速が形成されていたが，平板を設置して魚道床を滑面にしたときには，平板付近の流速の大きさが 4～6$\overline{BL}$(cm/s)程度とウグイにとって長時間の遊泳が困難な流速であった．また，流れの乱れの大きさを確認すると，礫堆積量にかかわらず，平板を設置して魚道床を滑面にしたときには少し大きな値を示した．このことから，本研究で意図していた平板設置による魚道床での流れの

乱れの抑制は実現されなかった．また，平板付近の流速がウグイにとって長時間の遊泳が困難な流速となってしまい，ウグイの遡上率の低下と下流へ押し流された個体数の増加へつながった可能性が示唆された．一方で，魚道床が礫のときでも，礫堆積量を減らすことで魚道プール内での落下流の領域が拡大し，ウグイの遡上率の向上へつながった可能性が考えられる．

３．今後の研究における課題または問題点

本研究により，ウグイの遡上率の改善方法として，礫上に平板を設置して魚道床を滑面とすることを考えたが，平板付近でウグイにとって長時間の遊泳が困難な流速が形成されてしまい，ウグイの遡上率の低下と下流に押し流された個体数が増加につながった．一方で，魚道床が礫のままでも，礫堆積量を減らすことで落下流領域は拡大し，ウグイが遡上経路を認識しやすくなったため，ウグイの遡上率は向上した．これらの結果から，今後は流れの乱れの抑制はあまり考慮せず，ウグイが認識しやすい落下流を形成し，かつ，魚道床でウグイが長時間遊泳できる流速を形成できるような改善策を模索していく必要があると考えている．なお，改善策を考える際に，実河川の階段式魚道での施工の容易さやコスト面を考慮したうえで，実験水路での検討をすることに注意する．

参考文献

1）中村俊六：魚道のはなし，pp.2-89，山海堂，2002.

2）青木宗之：礫堆積時における階段式魚道内の流れとウグイの遊泳行動特性について，土木学会論文集 B1（水工学），Vol.73, No.4, pp.I_403-I_408, 2017.

3）青木宗之，向井健朗，菊池裕太，松木　越：階段式魚道のプール内における礫の堆積が魚類の行動に及ぼす影響，土木学会論文集 B1（水工学），Vol.71, No.4, pp.I_1099-I_1104, 2015.

Summary

For rivers, fishways are often provided as a method to help longitudinal movement of fish and crustaceans. Fishway types are classified into three types. Additionally, the pool-and-weir-fishway of pool type is the most installed in Japan. As the features of the pool-and-weir-fishway, the flow in the fishway has plunging flow and streaming flow. Moreover, plunging flow is suitable for running up the fish. In addition, it has been confirmed that gravel tends to deposit in a pool of fishway. And the run-up ratio of fish was decreased by the gravel deposit. Because, the turbulence of flow occurs near the gravel bed and the fish stayed on there. As above, if the turbulence of the flow on the fishway bed could be control, the run-up ratio of fish would improve.

In this study, as a simple remedy for improving the run-up ratio of fish, to set a flat plate on the gravel to make it a smooth surface. Experiments were carried out observe the movements of real fish and hydraulic experiment.

As the results, irrespective of the amount of the gravel, it was found that when the flat plate was installed, the turbulence of the flow at the fishway bed was not suppressed. Additionally, the run-up ratio of fish decreased. The reason for this is that the flow velocity in

the vicinity of the flat plate was set by installing the flat plate, and the flow velocity was such that the fish couldn't swim for a long time. On the other hand, even when the fishway bed is the gravel, by reducing the amount of the gravel the run-up ratio of fish improved. As this factor, as the amount of gravel decreases, the plunging flow area in the fishway has expanded. Therefore, it seems that the fish became easier to recognize the run-up route. It is thought that the run-up ratio of fish can be improved by such a method that the fish can easily recognize the plunging flow even without considering the turbulence of the flow on the fishway bed.

実用化を目指した *Zymomonas mobilis* ZEM1390 株の変異箇所解析

Mutation site analysis of *Zymomonas mobilis* ZEM1390 strain toward practical applications

研究代表者　遠藤　慧（生命科学研究科　生命科学専攻）
指導教員　三浦　健　印

研究期間／平成 30 年 4 月 10 日～平成 31 年 2 月 15 日
キーワード／①ザイモモナス・モビリス　*Zymomonas mobilis*
②生育温度向上　Growth temperature rise
③2 次元電気泳動解析　2-D electrophoresis analysis
④ゲノム変異解析　Genome mutation analysis

平成 30 年度交付額／617, 000 円

研究発表／学会および口頭発表

＜海外＞

- Kei Endo, Toru Mizuki, Takeshi Miura. Elucidation of non-filament formation at high temperature of thermotolerant mutant *Zymomonas mobilis*. 12th International Congress on Extremophiles, Naples, Italy - September 2018.

＜国内＞

- 遠藤 慧、山賀 啓、水木 徹、三浦 健　*Zymomonas mobilis* の高温における細胞伸長の改善　日本農芸化学会　2018 年度大会、 名古屋、2018 年 3 月
- 遠藤 慧、水木 徹、三浦 健　熱ストレスにおける *Zymomonas mobilis* の細胞伸長の原因究明　極限環境生物学会 2018 年度（第 19 回）、松江、2018 年 12 月
- 遠藤 慧、水木 徹、三浦 健　熱ストレス下における *Zymomonas mobilis* の細胞伸長の解明　日本農芸化学会　2019 年度大会、 東京、2019 年 3 月予定

研究経過および成果の概要

1. 研究方法

本研究の目的は実用化を目指した *Zymomonas mobilis* ZEM1390 株の変異箇所解析である。これまでに *Zymoomnas mobilis* NBRC 13756（野生株）を変異源であるニトロソグアニジンを用いて遺伝子変異を誘発させ *Z. mobilis* ZEM1390 株を作出した。ZEM1390 株は限界生育温度を野生株（39 ˚C）と比較して 3˚C 上昇した。さらに、ZEM1390 株は従来の野生株が 37˚C 以上で生じる細胞伸長の抑制が示された。

本研究はまず、温度別生育試験を行った。*Zymoomnas mobilis* NBRC 13756 を対照株として ZEM1390 株を 30, 35, 37, 40˚C で培養した。生育は分光光度計を用いて濁度法で測定した。さらに、同時にガスクロマトグラフ法を用いたエタノール生産量を測定した。

次に、野生株と ZEM1390 株で熱ストレス環境における全タンパク質発現量の解析を行った。両株を 30˚C（非熱ストレス）、37˚C（熱ストレス）で培養を行った。培養後に、細胞質全タンパク質を抽出しブラッドフォード法で定量後 2 次元電気泳動を行った。そして 2 次元電気泳動後にソフトウェア上でスポット検出、マッチングを行った。

さらに、ZEM1390株の変異箇所解析を行った。ZEM1390株のゲノムDNAをキット(TaKaRa Bio)で抽出した後、「GENEWIZ」に次世代シーケンス解析を用いた変異箇所解析を委託した。ゲノム比較対象として *Z. mobilis* ATCC 29191（NBRC 13756と同一ゲノム）株の全ゲノム（NCBI: National Center for Biotechnology Information より引用）を使用した。そして、変異箇所解析の結果から詳細な機能を KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes と NCBI を用いて検索した。

2. 研究経過および成果の概要

① 温度別生育試験およびエタノール生産量の測定

ZEM1390株の生育を野生株と比較した結果30˚Cにおいて生育の減少が見られた。一方、37, 40˚Cにおいて生育の向上が見られた（野生株は40˚Cで生育が見られず)。35˚Cは両株とも大きな生育の変化はなかった。

野生株とZEM1390株を比較すると30, 35˚Cでエタノール生産量に大きな変化は見られなかった。そして野生株では温度の上昇と共にエタノール生産量が低下した。一方、ZEM1390株では、37˚C 培養の時に高いエタノール生産量が測定された。40˚C 培養では野生株と ZEM1390株はエタノール生産が著しく低かった。以上のことから ZEM1390 株は生育温度向上と高温下（37˚C）におけるエタノール生産の向上が示された。

② タンパク質の2次元電気泳動解析

30˚Cで培養した野生株の2次元電気泳動結果をコントロールとして各サンプルのスポットの出現・消失やスポット濃度の増加・減少を比較した。30˚Cで培養したZEM1390株はpH 4, 7側でスポット濃度の増加・減少が検出された。37˚Cで培養したZEM1390株は対照とは全てのスポット濃度の低下が見られた。しかし、37˚Cで培養した野生株が明らかに全条件でのサンプル中で最もスポット濃度の低下とスポットの消失が検出された。以上のことからタンパク質の合成に関わる遺伝子に変異が生じ、タンパク質の過剰発現や耐熱性の獲得があった可能性が示唆された。

③ 次世代シーケンスを用いた変異箇所解析

次世代シーケンスによる変異箇所解析は12箇所の塩基の置換と1箇所の挿入が特定された。ZEM1390 株の遺伝子変異箇所はアミノ酸合成やエタノール生産などの代謝に関わる遺伝子であった。しかし、既知の耐熱性に関与する遺伝子群(Kannikar, *et al.*, 2017; Hayashi, *et al.*, 2012)やヒートショックプロテイン遺伝子への変異は見られなかった。以上のことから *Zymomonas mobilis* ZEM1390の細胞内における代謝経路への変異が生育温度向上に関与することが示唆された。

3. 今後の研究における課題または問題点

本研究において、*Zymomonas mobilis* ZEM1390の遺伝子変異箇所解析を試みた。しかし、プロテオーム解析でタンパク質同定に向けたサンプル調製に課題点が残る結果であった。MALDI-TOF/TOF MSを用いたMSとMS/MS解析にてトリプシンのピークが大きく検出された。その結果MASCOT検索の信頼性に大きく影響を受けた。続いて、次世代シーケンス解析を用いた変異箇所解析は研究当初の細胞膜関連の機能に変異が生じ生育温度が向上したという仮説が否定された。しかし、細胞内における代謝経路への変異が生育温度向上機構の解明に繋がる可能性が示唆された。その根拠としてアミノ酸合成経路に欠損があった。よって各アミノ酸合成量の変化があ

りタンパク質発現量に影響する可能性が示された。以上のことから遺伝子変異箇所を野生株である *Zymomonas mobilis* NBRC 13756 に対して全ての対象遺伝子について変異導入もしくは破壊用プラスミドを組み込んだ株を構築する予定である。

Summary

Zymomonas mobilis is a gram-negative facultatively anaerobic bacterium. This organism can ferment specific sugars to ethanol via Entner - Doudoroff, glyceraldehyde - 3 - phosphate - pyruvate, and pyruvate - ethanol. However, the TCA cycle of *Z. mobilis* is incomplete, as the genes for malate dehydrogenase (*mdh*) and 2-oxoglutarate dehydrogenase complex (*ogdh*) are not encoded in the genome. Despite this deficiency, exhibits a high uptake rate of sugars, fermenting these to ethanol at specific rates. In addition, the production of ethanol approaches theoretical maximum yields (97%), while only 90–93% can be achieved for *Saccharomyces cerevisiae*. These are advantages for generating higher ethanol production. Thus, *Z. mobilis* is a promising alternative microorganism to *S. cerevisiae* as an ethanol fuel producer.

In addition Ethanol production at high temperature has received much attention because fermentation processes conducted at elevated temperatures will significantly reduce cooling costs and improve simultaneous saccharification, fermentation, distillation, and suitability for use in tropical countries. However, the temperatures suitable for *Z. mobilis* are relatively low (25 - 32 ˚C). *Z. mobilis* is unable to produce ethanol effectively under high temperature (above 38 ˚C). Crest of the heat-resistant strains will be of great value for the ethanol industry.

We obtained thermotolerant strain *Z. mobilis* ZEM 1390 (mutant type) using 1-Methyl-3 nitro-1-nitrosoguanidine (NTG) for *Z. mobilis* NBRC 13756. When grown in RM plates at different temperatures from 30˚C to 40˚C , ZEM1390 strain grew well at temperatures up to at 40˚C (limit growth temperature 42˚C), but the wild type strain did not. Comparison of growth of ZEM 1390 strain with wild type strain showed a decrease in growth at 30˚C. On the other hand, the growth was observed at 37 and 40˚C (no growth was observed at 40˚C for the wild type strain). 35˚C had no significant change in growth in both strains. Comparing the wild type strain with the ZEM 1390 strain, there was no significant change in ethanol production at 30, 35˚C. And in wild strains the ethanol production decreased with increasing temperature. On the other hand, in ZEM 1390 strain, high ethanol production was measured at 37˚C incubation. In 40˚C culture, wild strain and ZEM 1390 strain showed remarkably low ethanol production. From the above, ZEM 1390 strain showed growth temperature rise and improved ethanol production at high temperature (37 ˚C).

In the mutation site analysis by the next generation sequence, substitution of 12 bases and insertion of 1 site were specified. The gene mutation site of ZEM 1390 strain was a gene involved in metabolism such as amino acid synthesis and ethanol production. However, there was no mutation in the gene group related to the known thermostability (Kannikar, et al., 2017; Hayashi, et al., 2012) and the heat shock protein gene. These findings suggested that mutation of *Zymomonas mobilis* ZEM 1390 strain into metabolic pathway in the cell was involved in the growth temperature rise mechanism.

グルタミン合成酵素 *GS1;1* に対する SL の役割について

Effects of Strigolactones on Glutamine Synthetase *GS1;1* in Rice

研究代表者　山田　雄介　生命科学研究科　生命科学専攻
指導教員　梅原　三貴久　　印

研究期間／平成 30 年 4 月 10 日～平成 31 年 2 月 15 日
キーワード／① イネ　rice
② ストリゴラクトン　strigolactone
③ 老化　leaf senescence
④ 転流　translocation
⑤ グルタミン合成酵素　glutamine synthetase

平成 30 年度交付額／630,000 円

研究発表／学会および口頭発表

・Effects of Strigolactones on Grain Yield and Seed Development in Rice（Yusuke Yamada, Mami Otake, Takuma Furukawa, Masato Shindo, Koichiro Shimomura, Shinjiro Yamaguchi, Mikihisa Umehara）, Journal of Plant Growth Regulation, 2018 年 11 月 15 日　印刷中

研究経過および成果の概要

1. 研究方法

ストリゴラクトン（SL）は、寄生や共生のシグナルとして働くだけでなく、植物の枝分かれを抑制する植物ホルモンでもある。植物が低リン酸環境下の植物は、SL の内生量を急激に増加させ、濃度依存的に植物の枝分かれを抑制することから、SL は栄養飢餓環境で植物の生長を制御し、養分の浪費を抑えるためのシグナルであると考えられる。申請者は、葉の老化が、SL 処理によって促進されること、リン酸欠乏条件では内生 SL の増加によって葉の老化が促進されることを明らかにした。植物は古い下位葉を積極的に老化させ、アミノ酸や無機栄養を回収して若い上位葉や種子へ養分を転流させて再利用する。葉の老化が遅延する *d* 変異体では、古い葉から回収される養分の再分配が遅れ、種子収量が減少すると予想された。イネの種子収量における SL の影響を明らかにするため、リン酸濃度 6、60、600 μM の条件で栽培した野生型および *d* 変異体の種子収量を調査した結果、野生型はリン酸濃度に関わらず結実した種子に対する登熟した種子の割合が 60%を超えたが、*d* 変異体では登熟種子の割合が 40%未満となり、種子収量が減少した。これらの結果から、SL は種子形成に影響を及ぼすと考えられる。今年度は、*d* 変異体における種子の大きさの測定、過剰な分げつを除去した時の収量調査、SL 処理による相補試験を行った。また、CE-MS による一次代謝産物の一斉解析を行った結果、*d* 変異体では野生型に比べて、転流アミノ酸 Asn と Gln が低下していた。そこで、Gln および Asn 合成酵素遺伝子の発現解析を行い、変動した遺伝子発現に対する SL 処理の相補試験を行った。これらの実験によって、イネの養分の転流機構における SL の役割について明らかにすることを試みた。

2. 研究経過および成果の概要

2-1. 野生型と *d* 変異体における種子の大きさ

d 変異体の種子の大きさが野生型よりも小さかった。そこで、種子の発生における SL の影響を評価するために、野生型および *d* 変異体における胚の長さ、胚乳面積、種子重量を測定した。野生型および *d* 変異体における胚の長さはほとんど差が認められなかったが、*d* 変異体の胚乳の面積は、野生型よりも約 25%小さかった。同様に *d* 変異体の種子重量も、野生型よりも約 25%軽かった。このとき、異なるリン酸濃度で栽培しても種子サイズに変化は認められなかった。また、*d* 変異体の種子サイズが小さくなった原因は、*d* 変異体の胚乳細胞の大きさが野生型よりも小さかったためである。

2-2. *d* 変異体の過剰な分げつを除去した時の影響

d 変異体で種子の大きさが野生型よりも小さかったのは、SL のホルモンとしての作用によるものか、あるいは過剰な分げつによって単に栄養が分散したためなのかを明らかにするために、分げつを除去し、主茎だけにした時の収量を調査した。野生型では、分げつの除去の有無に関わらず、結実した種子数、登熟歩合に差が認められなかった。一方、*d* 変異体では分げつの除去によって種子の大きさや登熟歩合はむしろ減少した。胚の長さと胚乳の面積についても調査したが、野生型および *d* 変異体いずれも分げつの除去の有無による変化は認められなかた。したがって、*d* 変異体で種子の大きさが野生型よりも小さかったのは、SL のホルモンとしての作用によると考えられる。

2-3. SL 処理による相補試験

SL 合成アナログ GR24 を 1 μM の濃度で水耕液に添加し、野生型および *d10* 変異体（SL 生合成欠損変異体）を 3 ヶ月間水耕栽培した。その結果、*d10* 変異体の草丈、成熟種子の割合、総種子数はほぼ野生型と同等にまで回復した。しかしながら、種子の大きさや胚乳の面積に関しては、処理濃度が低めであったためか、SL の効果は認められたが不完全であった。

2-4. *GS1;1* 遺伝子の発現における SL 処理の相補試験

d 変異体 *GS1;1* の発現量が野生型に比べて低下していた。GR24 処理で SL 生合成欠損変異体 *d10* の *GS1;1* 発現量が野生型と同等まで回復するかどうか調査した。前培養を 1 週間、水耕液で 1 週間栽培した後、1 日 1 μM GR24 処理を行い、RNA を抽出し、リアルタイム PCR で *GS1;1* の遺伝子発現解析を行った。しかしながら、野生型および *d* 変異体の *GS1;1* の発現量は GR24 処理によって変化しなかった。

3. 今後の研究における課題または問題点

これまでの研究で、SL が葉の老化、種子の大きさや収量を制御していることを明らかにできた。しかしながら、イネの窒素代謝制御および転流機構に対する SL の役割についてはまだ未解明な部分が残されており、特に *GS1;1* の発現制御に関しては GR24 処理による相補試験の方法についてまだ検討の余地が残されている。また、Gln や Asn の定量についても分析条件は確立したが、実際の定量には至っていない。今後、これらの実験を行う必要がある。

Summary

Strigolactones (SLs) are not only communication signals for parasitism and symbiosis but also a class of endogenous phytohormones that regulate tiller bud outgrowth. Reduction of inorganic phosphate (Pi) induces the accumulation of SLs, which inhibit tiller bud outgrowth in wild-type (WT) rice plants, but not in SL mutants. This suggests that SLs have an important role in plant adaptation to Pi-deficiency. Thus, we investigated effects of SLs on grain yield and seed size in WT

and *dwarf* (*d*) mutant of rice in various Pi concentrations. In both WT and *d* mutants, plant growth, chlorophyll levels, panicle number, number of hulls, and total grain number decreased as Pi decreased, indicating that SL is not required to mediate these Pi responses. The *d* mutants produced more panicles than the WT control, but grain yield did not increase, and seed-setting rate decreased. Removal of outgrowing tillers did not affect grain yield in *d* mutants. GR24 (a synthetic SL analogue) treatment rescued grain yield in *d* mutants. The *d3* and *d53* mutants had the lowest grain yields among *d* mutants. Furthermore, the endosperm of *d* mutants was 25% smaller than that of WT plants; there were no significant differences in embryo length between WT and *d* mutants, but the endosperm cell area of the *d* mutants was approximately 30% smaller than that of WT plants.

In addition, we performed comprehensive analysis of primary metabolites using CE-MS, and found that Asn and Gln levels reduced in *d3* grown under Pi sufficient condition, compared WT. To investigate relationship of SL and amino acid decrees, we evaluated gene expression level of nitrogen metabolism genes. We found *glutamine synthetase* 1;1 (*GS1;1*) levels markedly degreased in *d* mutants compared WT. However, GR24 treatment did not affect *GS1;1* expression level in this study.

アカパンカビにおけるミトコンドリア複合体Ⅰと複合体Ⅲの

阻害剤に対する感受性およびバイパス酵素の役割

Sensitivity to inhibitor and role of bypass enzymes of mitochondrial complex I and III in *N.crassa*

研究代表者　堀内　愛実（生命科学研究科生命科学専攻）

指導教員　藤村　真　印

研究期間／平成 30 年 4 月 10 日～平成 31 年 2 月 15 日

キーワード／①ミトコンドリア　Mitochondria

②電子伝達系　electron transfer system

③バイパス酵素　Bypass enzyme

④感受性　Sensitivity

⑤役割　Role

平成 30 年度交付金額／585,000 円

研究発表／学会および口頭発表

・糸状菌分子生物学コンファレンス　第 18 回糸状菌分子生物学コンファレンス
平成 30 年 11 月

研究経過および成果の概要

1. 研究方法

アカパンカビの野生株、シアン耐性呼吸欠損株（*aod-1*）、複合体 I の欠損株計 23 株と複合体 I のバイパス酵素欠損株（*nde-1*、*nde-3*）を使用した。薬剤は QoI 剤（azoxystrobin）と METI 剤（tebufenpyrad、pyridaben、fenpyroximate、fenazaquin、tolfenpyrad、pyrimidifen、diflumetorim）を使用した。感受性試験は薬剤を添加した Vogel 最少寒天培地に菌糸ディスクを接種し、18 時間後に生育菌糸長の測定を行い、無処理との比率で阻害率を計算した。遺伝子の発現解析はリアルタイム定量 PCR を用いた。Vogel 最少液体培地で 17 時間培養後、薬剤処理を 1 時間行い、菌体を回収した。この菌体を FastRNA Pro Red Kit（Q-Biogene）を用い、RNA 抽出を行った。RNA 抽出後 total RNA を逆転写キットで cDNA に合成した。このサンプルをリアルタイム定量 PCR に用いた。リアルタイム定量 PCR は LightCycler System（Roche）を使用し、Universal ProbeLibrary probe（Roche）を用いた TaqMan Probe 法で行った。*ndi-1*、*nde-2* 遺伝子欠損株の作製を行った。まず上流下流それぞれ約 1 kb 含む *ndi-1*、*nde-2* 遺伝子を PCR で増幅し、pGEM-T easy vector に TA クローニングを用いて導入した。pCSN 44 から *hygromycin* 遺伝子を PCR で増幅し、in fusion 法を用いて *ndi-1*、*nde-2* 遺伝子と置き換えを行った。このサンプルプラスミドを制限酵素（ApaI）処理し、*mus52;his3* 株にエレクトロポレーション法を用いてアカパンカビに形質転換した。

2. 研究経過および成果の概要

①複合体 I の PSST 部位を標的とする殺ダニ剤（METI 剤）がアカパンカビに抗菌活性を示すか検証するために、上市 7 薬剤の抗菌活性を調べた。その結果、4 剤（tebufenpyrad、fenazaquin、pyrimidifen、diflumetorim）が 6.1 mg/L では抗菌活性を示したが、すべての化合物で 1.6 mg/L では抗菌活性は認められなかった。しかし、これらの抗菌活性は野生株と *psst-1* 株で顕著な差は見

られなかった。このことから METI 剤単独で検出される抗菌活性は PSST 阻害によるものではないことが明らかになった。

②我々は QoI 剤（azoxystrobin）と METI 剤（tebufenpyrad）を混合することで相乗的な抗菌活性が認められることを見出している。そこで 7 種の METI 剤を azoxystrobin（0.1 mg/L）と混合したところ、すべての化合物が 0.025 mg/L で相乗効果を示した。また、psst-1 株で混合効果が消失したことから、METI 剤はアカパンカビの PSST を阻害する可能性が高いと考えられた。

③複合体 I は PSST を含めて 14 種のタンパク質を必須とし、真核生物ではほかにもアクセサリーのタンパク質を持つことがわかっているが、複合体 I を構成するタンパク質の機能は必ずしもよくわかっていない。アカパンカビの複合体 I は約 40 個のタンパク質から構成されている。我々は QoI 剤が *psst-1* 株に抗菌活性を示すことを見出している。そこで Knockout Library に存在した遺伝子欠損株 23 株の QoI 剤感受性を調べた。その結果、QoI 剤感受性（≒*psst-1* 株）、中度感受性、非感受性（≒野生株）の 3 種類に分類できることがわかった。複合体 I のコアタンパク質の欠損株（*nuo51*、*psst-1*、*nuo49* など）は高感受性となり、複合体 I の活性に影響しない欠損株（*nuo21*、*nuo13.4*）は野生株と同等となった。複合体 I の活性がなくなる因子の欠損株は QoI 剤感受性になる可能性がある。このことから、QoI 剤感受性となる欠損株の因子は、複合体 I の活性に必須であると考えられる。

④複合体 I の欠損株がなぜ QoI 剤に感受性を示すのかを調べるために、シアン耐性呼吸（*aod-1*）の遺伝子発現解析を行った。その結果、野生株では azoxystrobin で顕著に誘導された（＞50 倍）。驚くべきことに tebufenpyrad でも *aod-1* が誘導された（＞10 倍）。複合体 I の欠損株（*nuo51*、*nuo49*）では野生株ほどではないが azoxystrobin により *aod-1* が誘導されたが、tebufenpyrad による誘導は消失された。ただし、欠損株での *aod-1* の基礎発現量は野生株よりも明らかに高かった。このことから、複合体 I の欠損は複合体Ⅲのバイパスである *aod-1* を誘導することが本研究により明らかになった。

⑤METI 剤は野生株に抗菌活性を示さない。また、複合体 I の欠損株は野生株とほとんど生育が変わらない。このことは複合体 I に 4 つバイパス酵素があるためと考えられているが、その機能分担は不明である。そこで、各バイパス酵素の遺伝子の発現を調べた。その結果、*nde-2* が最も高発現しており、*nde-3* はほとんど発現していなかった。ただし、いずれの遺伝子も METI 剤と QoI 剤による顕著な誘導は見られなかった。また、複合体 I の欠損株でもバイパス酵素の発現量は野生株と変わらなかった。このことから、主要なバイパス酵素は NDE-2 で、ミトコンドリアの損傷によるバイパス酵素の発現制御は受けないと考えられた。

⑥遺伝子欠損株が取得されている *nde-1*、*nde-3* 株は野生株と同様に METI 剤に対する感受性を示さなかった。

⑦取得できていない *ndi-1*、*nde-2* 遺伝子欠損株をそれぞれ 2 株、7 株取得したが、いずれも遺伝子がヘテロであった。このため、現在純化を行っている。

3. 今後の研究における課題または問題点

ミトコンドリアの電子伝達系の活性を調べていないため、METI 剤が電子伝達系複合体 I を阻害しているかは不明である。そのため、ミトコンドリア抽出を行い、ミトコンドリアの活性を調べるか、共焦点顕微鏡を用いた Mito-tracker によるミトコンドリアの活性を蛍光で調べる。

相同組み換え法による遺伝子欠損株の作製で、ヘテロ株ができた原因を調べる。*mus52* 株は相同組み換え法でよく利用されているが、導入した 2 遺伝子の株すべてがヘテロになる確率は高くはない。この

ため、導入した遺伝子が悪いのか、所持している *mus52* 株が悪いのか調べる必要がある。

Summary

The mitochondrial electron transfer system is well preserved in all eukaryotes. However, fungi and plants have bypass enzymes in complex I and III (alteinative NAD(P)H dehydrogenase and alternative oxidase). The QoI inhibitor binds to the Qo site of cytochrome b of complex III and inhibits electron transfer. Antimicrobial activity against wild-type strain of QoI inhibitor is not noticeable due to alternative oxidase (AOD-1), but *aod-1* strain shows high sensitivity. Other part, the METI agent inhibits the PSST site of Complex I and shows acaricidal activity, but it shows almost no antibacterial activity to fungi. Although the cause that the METI agent does not show remarkable antibacterial activity is unknown, it is considered that the METI agent which is an acaricide does not bind to the PSST site of the filamentous fungus, or the fungus have plural alternative NAD (P) H dehydrogenase (NDI-1, NDE-1, NDE-2, NDE-3). We have found that synergistic antimicrobial activity is exhibited by mixing QoI inhibitor and METI agent. In this study, we aimed to clarify the reason why the METI agent alone does not show antibacterial activity and the cause of the synergistic effect between METI agent and QoI inhibitor.

It is suggested that the METI agent inhibits PSST of fungi, because the effect of mixing the METI agent and the QoI inhibitor disappeared in the *psst-1* strain.

We found that the deficient strain of major constituent factor of complex I becomes sensitive to QoI inhibitor.

Since induction of *aod-1* gene is involved in QoI inhibitor susceptibility, we have verified the possibility that *aod-1* gene is suppressed by METI agent. As with the QoI inhibitor, the METI agent induced the expression of *aod-1*, and it was revealed that *aod-1* gene is constitutively highly expressed in the deficient strain of complex I. The *aod-1* gene may be induced not only by complex III damage but also by mitochondrial injury.

Of the four bypass enzymes of complex I, the *nde-1, nde-3* strain did not show sensitivity to METI agents, it was revealed that at least these two types of bypass enzymes are not essential.

From the above, the METI agent inhibits the activity of complex I. However, due to the presence of the bypass enzyme, the METI agent does not appear to exhibit remarkable antibacterial activity.

On the other hand, we found that inactivation of complex I induces the expression of *aod-1*. It seems that some mitochondrial damage has occurred due to the METI agent. When complex I and complex III were inhibited at the same time, electron transfer and the formation of H^+ ion concentration gradient due to bypass enzyme alone could not be made, and it seemed that strong inhibition of growth was observed.

二酸化炭素形態の違いによる水陸両生植物の光合成沈水順応機構の比較

Underwater photosynthetic acclimation to different dissolved inorganic carbon forms in the amphibious plant

研究代表者　堀口　元気（生命科学研究科生命科学専攻）
指導教員　廣津　直樹　印

研究期間／平成 30 年 4 月 10 日～平成 31 年 2 月 15 日
キーワード／①水陸両生植物　amphibious plant
②水中での光合成　underwater photosynthesis
③炭酸水素イオン輸送　bicarbonate ion transport
④異形葉性　heterophylly
平成 30 年度交付額／560,000 円

研究発表／投稿論文および学会発表

- 堀口元気、廣津直樹　“水陸両生植物 *Hygrophila difformis* は水中環境での光合成において HCO_3^-を利用する”　（第 60 回日本植物生理学会年会、名古屋市、2019 年 3 月予定）
- Horiguchi G, Nemoto K, Yokoyama T, Hirotsu N. “Photosynthetic acclimation of terrestrial and submerged leaves in the amphibious plant *Hygrophila difformis*” ***AoB PLANTS*** (In Press)

研究経過および成果の概要

１．研究方法

水陸両生植物 *Hygorophila difformis* は同一の個体が陸上と水中の両環境で生育することができ、それぞれの環境で異なる形の葉を形成する。これまでに本研究室では、陸上で形成された葉（陸上葉）と水中で形成された葉（水中葉）で水中での光合成機能が異なっていることを見出した。そこで本研究では、水中では pH によって光合成の基質となる炭酸の形態が二酸化炭素（CO_2）のみならず炭酸水素イオン（HCO_3^-）や炭酸イオンに変化することに着目し、炭酸形態の違いによる *H. difformis* の光合成の水中順応機構を比較した。

まず、*H. difformis* が光合成に HCO_3^-を利用するかを明らかにするために pH drift 試験を行った。陸上葉と水中葉および 10 日間の沈水処理を行った沈水処理陸上葉を HCO_3^-を含む溶液に浸け、光合成をさせるために 6 時間の光照射をしたときの溶液の pH 変化を測定した。HCO_3^-を光合成に利用している場合、炭酸脱水酵素（CA）により HCO_3^-は CO_2 と OH^-へと変換される。植物は OH^-を葉の外部へと放出するため溶液の pH は上昇する。そのため、光照射によって溶液の pH が上昇すれば HCO_3^-を光合成に利用していると考えられる。

次に、炭酸形態の違いによる水中での光合成速度の変化を調べた。CO_2 と HCO_3^-が 1 : 1 の割合で存在する pH 6.3、ほぼ全てが HCO_3^-として存在する pH 8.3 という pH を変化させた 2 種類の測定用バッファーを用い、液相型酸素電極によって陸上葉と水中葉、沈水処理陸上葉の水中での光合成速度を測定した。

さらに、*H. difformis* がどのようなメカニズムで HCO_3^-を利用しているかの解明を行った。HCO_3

$^-$の利用に関する 3 種類の阻害剤を添加して水中葉の光合成速度を測定した。3 種類の阻害剤はそれぞれ作用部位が異なるため、どの阻害剤が水中での光合成を阻害するかでどのようなメカニズムを用いて HCO_3^-を利用しているかが予測できる。

また、ショットガン法によるプロテオーム解析により、陸上葉、水中葉および沈水処理陸上葉のプロテオームを比較した。

２．研究経過および成果の概要

pH drift 試験によって、*H. difformis* の陸上葉は HCO_3^-を利用できないが、水中葉と沈水処理陸上葉は HCO_3^-を利用できることが明らかとなった。このとき、沈水処理陸上葉の pH の上昇は陸上葉と水中葉の中間程度であった。この結果から、葉が形成された環境によって HCO_3^-利用能力が異なることが示された。

陸上葉、沈水処理陸上葉は pH 8.3 よりも pH 6.3 で水中での光合成速度が有意に高く、HCO_3^-よりも CO_2 を光合成に利用していることが示された。一方で、水中葉は pH 6.3 よりも pH 8.3 で水中での光合成速度が有意に高く、CO_2 よりも HCO_3^-を光合成に利用していることが示された。また、それぞれの葉における pH 8.3 のときの光合成速度を比較すると、水中葉は陸上葉と比較して有意に酸素発生速度が増加しており、沈水処理陸上葉は陸上葉と水中葉の中間程度であった。これらの結果より、陸上葉と水中葉で光合成に利用する炭酸の形態が異なることが示唆された。

水中葉への阻害剤処理において、細胞膜内の CA を阻害するエトキシゾラミドのみ光合成速度を低下させた。水中葉への阻害剤処理によって、水中葉が細胞膜外で HCO_3^-を CO_2 に変換して CO_2 の形態で取り込むのではなく、HCO_3^-のまま細胞膜内に取り込み、膜内の CA を用いて CO_2 に変換するというメカニズムによって HCO_3^-を光合成に利用しているということが示唆された。

さらに、プロテオーム解析による陸上葉と水中葉、沈水処理陸上葉のプロテオームの比較において、水中葉と沈水処理陸上葉は陸上葉と比較して活性酸素消去系や光化学系Ⅱに関わるタンパク質の発現量が有意に増加しており、光合成の電子伝達系を変化させていることが示唆された。一方で、CA の発現量に陸上葉と水中葉で差が見られず、これまで同定されている HCO_3^-トランスポーターと相同性が高いタンパク質は検出されなかった。しかし、ABC トランスポーターと相同性のあるタンパク質の発現が水中葉で増加していたことから、これらのトランポーターが水中での HCO_3^-の取り込みに関与している可能性が考えられた。

３．今後の研究における課題または問題点

本研究において、水陸両生植物 *H. difformis* における炭酸形態の違いによる水中での光合成順応機構を比較し、水中葉は陸上葉よりも HCO_3^-利用能力が高くなっていることを明らかにした。また、水中葉における HCO_3^-利用メカニズムはトランスポーターによって HCO_3^-を細胞膜内に取り込み、細胞膜内の CA によって CO_2 に変換し、光合成に利用するというものであることが示唆された。しかし、そのメカニズムは阻害剤等を用いて光合成速度を測定したものから予測されるものである。そのため今後は、HCO_3^-トランスポーターなどの HCO_3^-利用に関する遺伝子のクローニングを行い、遺伝子発現を比較するなど分子的実体を明らかにする必要がある。また、どのようなメカニズムで細胞膜内へ HCO_3^-を取り込んでいるのかは明らかにすることができていないため、より詳細な HCO_3^-取り込みメカニズムを明らかにしていく必要がある。これらの課題を解決していくことができれば、大きな移動能力を持たない植物がどのように周囲の環境変化に対応しているのか、ということをより包括的に理解することにつながると期待される。

Summary

Amphibious plants can grow both terrestrial and submerged conditions. *Hygrophila difformis*, a heterophyllous amphibious plant, develops serrated or dissected leaves when grown in terrestrial or submerged environments, respectively. Recent accumulated evidence indicated that underwater photosynthetic ability is different between terrestrial and submerged leaves in *H. difformis*. In this study, to elucidate how this amphibious plant photosynthesize underwater, we investigated underwater photosynthetic acclimation to different dissolved inorganic carbon forms in terrestrial and submerged leaves.

First, we compared HCO_3^- utilization between terrestrial leaves (TL), submerged leaves (SL) and 10 days after submersion of terrestrial grown leaves (STL) by pH drift experiment. The HCO_3^- utilization was greater for SL than for TL. STL had intermediate ability to use HCO_3^-that was between TL and SL. It is shown that the ability of HCO_3^- utilization is different by the environment when leaf developed. Next, the photosynthetic rate of plants acclimated to different dissolved inorganic carbon forms were measured by oxygen electrode. The underwater photosynthetic rates for each type of leaf were measured at pH 6.3 and pH 8.3. The photosynthetic rates of TL and STL were higher at pH 6.3 compared with measurements taken at pH 8.3. On the other hand, SL had higher photosynthetic rate at 8.3 than that at pH 6.3. At pH 6.3, there was no significant difference in photosynthetic rate among the leaves. In contrast, underwater photosynthesis of SL at pH 8.3 was higher than that TL. STL had an intermediate photosynthetic rate between TL and SL. The data indicated that carbonic acid used to photosynthesis is different in TL and SL. Then, the underwater photosynthetic rate of SL with an inhibitors of HCO_3^- use was measured. In this experiment, we used three inhibitors of HCO_3^- utilization, ethoxyzolamide, acetazolamide and Tris (hydroxymethyl) aminomethane. Ethoxyzolamide, an inhibitor of intracellular carbonic anhydrase, significantly decreased the photosynthetic rate of SL. It suggest that HCO_3^- is exchange to CO_2 by intracellular carbonic anhydrase after it was taken up into the cell. The result of proteomics analysis showed that SL changed photosynthetic electron transport system from TL.

In conclusion, we herein provide the importance of HCO_3^- utilization ability in photosynthetic acclimation to submerged condition. We also indicated the mechanism of HCO_3^- utilization in submerged leaves. *H. difformis* induces a bicarbonate transporter in submerged condition.

メンタルヘルス不調の改善に運動が与える影響の解明

Relationship between the risk of mental health disorders and dietary habits: A cohort study

研究代表者　眞塩　悠平（生命科学研究科　生命科学専攻）

指導教員　川口　英夫　　印

研究期間／平成 30 年 4 月 10 日～平成 31 年 2 月 15 日

キーワード／①メンタルヘルス不調　mental health disorder

②筆跡情報　handwriting characteristic

③コホート研究　cohort study

④運動　exercise

⑤身体的健康度　physical health

平成 30 年度交付額／558,000 円

研究発表／学会および口頭発表

- Relationship between the risk of mental health disorders and life habits: A cohort study, Y. Mashio, T. Yshizaki, H. Kawaguchi, *IBNS*, 1P37 (2018)
- 前向きコホート研究によるメンタルヘルス不調のリスクに生活習慣が与える要因の解明、眞塩悠平、吉﨑貴大、川口英夫、*計測自動制御学会ライフエンジニアリング部門シンポジウム 2018*、1B1-6（2018）
- 高齢者フレイルの要因の可視化、眞塩悠平、永田翔子、髙田理子、川口英夫、*可視化情報シンポジウム*、108（2018）

研究経過および成果の概要

1. 研究方法

東洋大学生命科学部のボランティア学生 115 名を対象に、デジタルペンを用いた内田クレペリン検査、5 因子性格検査 NEO-FFI、生活習慣を測定する質問票 DIHAL.2、食習慣を測定する質問票 BDHQ を実施した。実施期間は 4 月中であった。さらに、本研究ではメンタルヘルス不調と運動の関係性について経年変化を検討し、メンタルヘルス不調に陥る要因を調べるため、本研究で得られた調査データと平成 28 年度と平成 29 年度（1, 2 年次）に行った調査データを結合したデータセットを用いた。

デジタルペン（日本アノト社製）は、筆跡を 13ms、0.3mm の時空間分解能で記録できる。内田クレペリン検査は、1 桁の足し算をできるだけ早く 15 分間、2 セッション（休憩 5 分間）続ける一種のストレス負荷検査である。NEO-FFI は、5 尺度各 12 問の質問で構成され、偏差値で各因子の強弱を測る。長期間一定の性格を測ることができる。DIHAL.2 は、健康度（身体的・精神的・社会的）と生活習慣（運動・食事・睡眠）に関し 47 の質問項目で構成され、各質問項目は 5 段階の得点で評価される。得点が高いほど健康度と生活習慣が良いと評価される。BDHQ は、専用の栄養価計算プログラムにより過去 1 ヵ月間の約 30 種類の栄養素と 50 種類の食品の摂取量を定量的に分析できる。

デジタルペンで取得した筆跡の時間情報から数字 4, 5, 7 の 1 ストローク目と 2 ストローク目の間隔時間（t_1）および数字の書き終わりから次の数字の書き始めの間隔時間（t_2）を抽出し、これらの時間の比をストローク間隔時間比（t_2/t_1）とした。参加者は、t_2/t_1 値が 10 以上の人を高リスク群、それ以外を低リスク群に分けられた。1 年次に高リスク群であった 7 名を除外し、1 年次から 3 年次に低リスク群

から高リスク群に移行した群を「悪化群」、1 年次と 3 年次に低リスク群であった群を「維持群」と定義した。その後、これら 2 群間での 1 年次における参加者の特徴、各質問票の結果スコアと BDHQ による各栄養素および食品群摂取割合を比較した。連続変数は対応のない t 検定または Mann-Whitney の U 検定、カテゴリー変数は χ^2 検定または Fisher の直接法を用いて統計的に検討した。さらに、メンタルヘルス不調のリスクの移行（悪化群・維持群）を従属変数とし、上記の検定で有意であった変数、メンタルヘルス不調と関連がある変数と交絡変数（年齢・性別・BMI 等）を独立変数として用いて多重ロジスティック回帰分析（変数増加法）を行った。解析ソフトウェアは SPSS ver.22 を用いた。本研究は、本学の倫理審査委員会で承認されたプロトコルに従い実施した。

2. 研究経過および成果の概要

1 年次における参加者の平均年齢は悪化群、維持群それぞれ 18.5 ± 0.6 歳、18.3 ± 0.6 歳であり、有意な差はみられなかった。また、男性と女性の割合、居住条件と BMI は両群で有意差はなかった。メンタルヘルス不調のリスク指標 t_2/t_1 値では、悪化群は維持群と比較して高かった（有意傾向 $p < 0.10$）。1 年次における NEO-FFI は、悪化群が維持群と比較して神経症傾向のスコアが高いことが分かった（有意傾向 $p < 0.10$）。生活習慣に着目すると、1 年次における現在の運動の仕方は、悪化群が維持群と比較して「運動をしていない・するつもりがない」と回答した人が有意に多かった（$p < 0.05$）。また、DIHAL.2 各尺度スコアでは、悪化群は維持群と比較して身体的健康度のスコアが有意に高かった（$p < 0.05$）。食習慣に着目すると、1 年次における BDHQ による栄養素および食品群の摂取割合では、悪化群は維持群と比較してパルミチン酸の摂取割合が有意に高く、調味料・香辛料類の摂取割合が有意に低かった（$p < 0.05$）。さらに、上記で有意であった変数、メンタルヘルス不調と関連がある変数と交絡変数を用いた多重ロジスティック回帰分析を表 2 に示した。1 年次における身体的健康度はメンタルヘルス不調のリスクの移行と有意に関連していることが分かった（OR = 0.32, 95%CI：0.10－0.96）。

以上の結果より、1 年次における悪化群は良好群と比較して「運動をしていない・するつもりがないと回答した人が多く、身体的健康度のスコアが低いことから、運動習慣がなく、身体的健康度が低いことが示された。また、1 年次における悪化群は良好群と比較してパルミチン酸の摂取割合が多く、調味料・香辛料類の摂取割合が少なかった。DSM-Ⅳの大うつ病の診断基準を満たす患者を対象とした調査では、患者群は健常群と比較してオレイン酸やパルミチン酸の赤血球上脂肪酸濃度が増加していた報告があり、パルミチン酸の摂取はメンタルヘルス不調のリスクと関係がある可能性がある。しかし、調味料・香辛料とメンタルヘルス不調間の関連について調べられた研究はほとんどなかった。さらに、1 年次の身体的健康度がメンタルヘルス不調のリスク移行と有意に関連した。身体健康度は運動や食習慣といった生活習慣と有意に相関関係があるため（$p < 0.05$, r=0.69）、適度に運動を行い、バランスのとれた食事をすることで身体的健康度を高くことがメンタルヘルス不調のリスクへの介入手段になり得ることが示唆された。

3. 今後の研究における課題または問題点

本研究では、身体的健康度はメンタルヘルス不調のリスク移行と関連があった。また、ボランティア学生を対象に活動量計を 3 週間装着した調査を実施したところ、精神健康度が向上し、ストレスが下がったことが分かった（$p < 0.05$）。したがって、今後は介入研究を行い、活動量計を用いた生活習慣の向上がメンタルヘルス不調のリスクを軽減するか調べる必要がある。

本研究では、いくつかの制限があった。本研究では悪化群と良好群間で参加者人数（n 数）の偏りが大きかった。n 数の偏りが大きい場合、統計的に検出力が下がる傾向がある。それゆえ、統計的に「差

がある」のに「差がない」と誤って判定された変数が存在したかもしれない。さらに、本研究に参加した研究協力者は大学生のみであった。そのため、従業員や高齢者において同様の対処方法を提案できるとは限らない。

Summary

The number of individuals with mental health disorders has been observed to be increasing over time. In a previous study, we found that it may be possible to predict individuals' risk of mental health disorders by analyzing temporal information about their handwriting, which is obtained using a digital pen. We then investigated the relationship between the risk of mental health disorders and life habits to establish feasible coping strategies to be implemented at the individual level in a high-risk group. In total, 104 students aged 18–21 years were recruited for a follow-up cohort study conducted over 3 years. The participants voluntarily completed the Uchida–Kraepelin test using a digital pen and DIHAL.2 and BDHQ questionnaires. Time intervals between the first and second number strokes (4, 5, 7; mean time interval, t1) and those between the completion of a number and initiation of the next number (mean time interval, t2) were analyzed. The participants were classified into two groups according to the mean time interval ratio (t2/t1) observed each year. One group included participants with a t2/t1 ratio ≥ 10 (high-risk group, n = 7), whereas the other group included those with a t2/t1 ratio < 10 (low-risk group, n = 97). Participants were assigned to one of two groups based upon the changes observed in the risk of mental health disorders. One group included participants who moved from the low-risk to the high-risk group between years 1 and 3 (the worsening group), whereas the other group included those who remained in the low-risk group (the healthy group). Participant characteristics and questionnaire scores from year 1 were used to analyze the differences between the worsening and healthy groups. Using multiple logistic regression analysis, we established and evaluated factors that were predictors of shifting from the low-risk to the high-risk group. Significant differences were observed in physical health, current exercise status, and intake of palmitic acid and seasoning/spice in year 1 ($p < 0.05$). The worsening shift was associated with the physical health recorded in year 1 (OR = 0.32, $p < 0.05$). In year 1, physical health significantly correlated life habits (r = 0.69, $p < 0.05$). These findings suggest that interventions, including the implementation of better physical health and life habits, may improve mental health. The protocols used in this study were approved by the Ethics Committee of Toyo University, Japan.

自閉症候群（ASD）の性差に関連する脳部位での Collapsin response mediator protein 4（CRMP4）欠損による遺伝子発現の変化

Changes in gene expression due to Collapsin response mediator protein 4 (CRMP4) deficiency in the brain region related to sex of Autism spectrum disorders (ASD)

研究代表者　野間　爽也佳（生命科学研究科　生命科学専攻）
指導教員　金子　律子　　印

研究期間／平成 30 年 4 月 10 日～平成 31 年 2 月 15 日
キーワード／①CRMP4　CRMP4
②自閉症　Autism
③性差　Sex difference
④性ステロイドホルモン受容体　Sex steroid hormone receptors
⑤オキシトシン受容体　Oxytocin receptor

平成 30 年度交付額／551,000 円

研究発表／学会および口頭発表
・野間爽也佳、中野結、吉津葵、土屋貴大、大谷−金子　律子、Collapsin response mediator protein 4 (CRMP4) 欠損がマウスの嗅球でのホルモン受容体遺伝子発現に及ぼす影響、東洋大学研究ブランディング事業合同シンポジウム、2019 年 2 月 22 日、川越キャンパス

研究経過および成果の概要

1. 研究方法

動物

本実験では、*Crmp4*-knockout (KO) マウス（C57BL/6N, 横浜市立大学医研究科 横浜市立大学医研究科 五嶋良郎教授から提供されたものを自家繁殖）と野生型 (WT) マウス（C57BL/6N, 日本チャールズリバーから購入および自家繁殖）を使用した。全動物実験は、東洋大学委員会より許可を得た上で本規定に従って施した。マウス遺伝子型の判定は、ジェノタイピングより行った。

Crmp4 欠損による嗅球内の性ステロイドホルモン受容体およびオキシトシン受容体の遺伝子発現の影響

本実験には、生後 0 日（PD0）、生後 7 日（PD7）、生後 10 週齢（10W）の雌雄の WT マウスおよび *Crmp4*-KO マウスを用いた。深麻酔下で断頭後、マウスの脳を摘出し、嗅球を顕微鏡下で採取した。採取した後、RNA iso (Takara) を用いて RNA を抽出した。RNA 抽出後、QuantiTect Reverse Transcription Kit (QIAGEN) により cDNA へ逆転写した。そして、各齢の WT マウスおよび *Crmp4*-KO マウスの雌雄サンプルについて ERα・ERβ・G-protein coupled receptor (GPR30) ・Androgen receptor (AR) および OXTR の mRNA 発現を定量的リアルタイム PCR (qRT-PCR) により比較した。なおこの際、*β-actin* mRNA 発現量を内在性コントロールとした。

2. 研究経過および成果の概要

本研究は、研究者の一身上の都合（就職活動等）により、当研究室で CRMP4 の遺伝子欠損による様々な影響を多く明らかにしてきたマウスの脳部位の嗅球に絞って研究を行った。

PD0 から 10W まで、WT マウスおよび *Crmp4*-KO マウス嗅球での ERα・ERβ・GPR30・AR・OXTR の遺伝子発現がみられた。またそれらの遺伝子発現量には、生後の変化や *Crmp4* 欠損の影響および性差がみられた。

(1) ERα　PD0 では、雌雄の WT マウスと *Crmp4*-KO マウス間に有意な差はみられなかった。PD7 では、オスの WT マウスよりメスの WT マウスで発現が有意に高かったが、*Crmp4*-KO マウスではオスの方がメスより発現量が有意に高かった。さらにオスでは、WT マウスと *Crmp4*-KO マウスとの間に有意差が認められた（*Crmp4*-KO マウス > WT マウス）。10W では、WT マウスでの有意差は消失していた。またオスでは WT マウスと *Crmp4*-KO マウスとの間に PD7 とは逆の有意差が認められ、*Crmp4*-KO マウスの方が発現量が低かった。

(2) ERβ　PD0 では雌雄の WT マウスと *Crmp4*-KO マウス間に有意差はみられなかった。PD7 では雌雄とも *Crmp4*-KO マウスの方が WT マウスよりも発現量が低かったが、オスの方がその差が顕著であった。10W では、オスの WT マウスと *Crmp4*-KO マウスとの間のみに発現量の差が認められ、*Crmp4*-KO マウスの方が有意に高かった。

(3) GPR30　PD0 では、多重比較により雌雄の WT マウスと *Crmp4*-KO マウス間に有意差はみられなかったが、*Crmp4*-KO マウスではメスの方がオスより発現量が高かった（Student *t*-test）。さらにメスの *Crmp4*-KO マウスの方がメスの WT マウスより発現量が高かった。PD7 の WT マウスでは、メスの方がオスより発現量が高かったが、*Crmp4*-KO マウスではこのような雌雄差は見られなかった。またオスでは、WT マウスより *Crmp4*-KO マウスで発現量が高かった。10W では、雌雄両方ともに *Crmp4*-KO マウスの方が WT マウスよりも発現量が有意に高かった。

(4) AR　PD0 では、雌雄の WT マウスと *Crmp4*-KO マウス間に有意な差はみられなかった。PD7 では、多重比較により雌雄の WT マウスと *Crmp4*-KO マウス間に有意差はみられなかったが、*Crmp4*-KO マウスオスの方が WT マウスオスよりも発現が有意に高かった（Student *t*-test）。10W では、WT マウスに発現の雌雄差が見られた（オス < メス）。

(5) OXTR　PD0 の嗅球では、多重比較により雌雄の WT マウスと *Crmp4*-KO マウス間に有意な差は見られなかったが、Student *t*-test では *Crmp4*-KO マウスでメス > オスであった。PD7 では、WT マウスにも *Crmp4*-KO マウスにも雌雄差が見られた。また、オスでは *Crmp4*-KO マウスでの発現が WT マウスよりも有意に抑えられていた（Student *t*-test）。10W では、雌雄の WT マウスと *Crmp4*-KO マウス間に有意な差は認められなかった。

以上の結果から、①PD0 の雌雄の WT マウスと *Crmp4*-KO マウス間で ERs および AR の mRNA 発現量に多重比較による有意差がみられなかったこと。それに対して、②PD7 では、ERs および OXTR の mRNA 発現量に WT マウスと *Crmp4*-KO マウス間で有意差が存在し、しかも雌雄差も生じていること。③10W では、オスの WT マウスと *Crmp4*-KO マウス間で ERs の mRNA の発現に有意な差が見られることが、明らかになった。

3. 今後の研究における課題または問題点

今回の研究で私は、WT マウスと比較して、感覚異常（Tsutiya *et al.*, 2015, 2017）や遺伝子発現変化

(Tsutiya *et al.*, 2015, 2017) 等が顕著であった生後 7 日のオスの *Crmp4*-KO 仔マウスでは、性ステロイド受容体やオキシトシン受容体の遺伝子発現異常がオスで顕著になることを明らかにした。また、*Crmp4*-KO マウスの自閉症様の症状や遺伝子発現などに雌雄差が存在した原因には、性ステロイド受容体やオキシトシン受容体、中でも女性ホルモン受容体が関与する可能性を示唆したが、そのメカニズムは不明である。今後はそのメカニズムを解明するため、女性ホルモン受容体やオキシトシン受容体が、*Crmp4* 遺伝子の異常や欠損により生じる細胞レベルおよび個体レベルの変化に関与するか、する場合にはどのようなメカニズムで関与するか、について今後明らかにしたい。

Summary

Autism spectrum disorders (ASD) are more common among men and boys than women and girls. The ASD male-to-female ratio is generally around 4:1. We identified collapsin response mediator protein 4 (CRMP4) as a protein exhibiting sex different expression during sexual differentiation of the sexually dimorphic nucleus of the hypothalamus (AVPV) (Iwakura et al., 2013). We obtained the following results so far (Tsutiya & Ohtani-Kaneko, 2012; Tsutiya *et al.*, 2015, 2016), but also reported on the relationship between CRMP4, brain sex difference and ASD (Iwakura *et al.*, 2013; Tsutiya *et al.*, 2017). (1) The sex difference increases with the brain parts and the types of neuron in *Crmp4*-knockout (KO) mice as compared with the female wild-type (WT) mice (Iwakura *et al.*, 2013). (2) We found a *de novo* mutation of *CRMP4* in a male patient with ASD (Tsutiya *et al.*, 2017). (3) Deletion of CRMP4 caused some autistic-like behaviors and paresthesia in male mice (Tsutiya *et al.*, 2017). (4) *Crmp4*-KO mice exhibited higher expression levels of receptors for excitatory neurotransmitters in the brain (olfactory bulb, cortex and hippocampus), compared with WT mice (Tsutiya *et al.*, 2015). However, the mechanisms are unknown. Thus, we would like to investigate the change of gene expression of the sex steroid hormones (estrogen receptor (ER) α, ERβ, G-protein coupled receptor (GPR30) and androgen receptor (AR)) caused there by deletion of CRMP4 in mice of olfactory bulb. We also investigated the receptor of oxytocin (Oxytocin receptor, OXTR), which has been reported to be involved in social behavior and sympathy formation. The experiments were performed by quantitative real-time PCR (qRT-PCR) using male and female WT mice and *Crmp4*-KO mice at postnatal day (PD) 0, PD7, 10 weeks old (10W).

Gene expressions of ERα, ERβ, GPR30, AR, OXTR in the WT mice and *Crmp4*-KO mice were observed. In addition, the expression levels of these genes were affected by postnatal changes and *Crmp4* deficiency and sex differences. In PD0, there were no significant difference in ERs and AR mRNA expressions. On the other hand, ERs and OXTR mRNA expressions were significant differences between WT mice and *Crmp4*-KO mice in PD7. In addition, sex differences also occurred. In 10W, ERs mRNA expressions were significant differences between WT males and *Crmp4*-KO males.

In this study, it was suggested that sex steroid hormone receptor and oxytocin receptor may be involved in the cause of sex differences in autism-like symptoms and gene expressions of *Crmp4*-KO mice.

Genetic and molecular analysis of low phytic acid trait in rice.

低フィチン酸含量イネの遺伝的および分子生物学的解析

研究代表者　Perera Ishara（生命科学研究科生命科学専攻）
指導教員　廣津　直樹（生命科学研究科生命科学専攻）

研究期間／平成 30 年 4 月 10 日～平成 31 年 2 月 15 日
キーワード／①Rice
②Phytic acid
③Genome wide association study
④Biosynthesis
⑤Grain development
平成 30 年度交付額／560,000 円

論文発表

・Ishara Perera, Ayaka Fukushima, Mako Arai, Kenta Yamada, Seiji Nagasaka, Saman Seneweera, Naoki Hirotsu “Identification of low phytic acid and high Zn bioavailable rice (*Oryza sativa* L.) from 69 accessions of the world rice core collection” *Journal of Cereal Science* 85, 206-213 (2019)

研究経過および成果の概要

Background

Rice (*Oryza sativa* L.) is one of the world's most important crops, providing nutrition for approximately one-half of the global population.　Compared to other cereals, rice is a poor source of essential micronutrients to fulfill daily human nutritional requirements. Therefore, even a slight improvement in the nutrient content would benefit a large population around the world, especially in developing countries. Antinutrients present in cereals such as phytic acid (PA) substantially reduce the absorption of micronutrients inside the human intestine. PA is the principle storage form of phosphorus (P) in cereals and legumes and accounts for 65%–85% of the total seed P. Efforts to improve micronutrient bioavailability in rice has seemed challenging until the present. Proper exploitation of the variation existing within the rice germplasm should be beneficial toward improving rice micronutrient bioavailability through conventional or marker-assisted breeding programs. Genome-wide association study (GWAS) is an efficient tool that has been widely used to identify the genetic variation of complex traits in rice. This study was aimed at identifying low PA rice from the natural variation of rice and understanding the genetic basis of natural variation in PA content in the world rice core collection (WRC). I already identified 3 high and 3 low PA accessions from WRC. Here, micronutrient and heavy metal contents of those accessions were determined to observe effects of the PA content on other elemental contents owing to their importance in human nutrition and health. Finally, a GWAS was conducted to identify the significant genetic polymorphisms controlling PA content in the WRC.

1. Materials and Methods

Sixty-nine rice cultivars of the World Rice Core collection obtained from the gene bank of Japan were used in the study.

Determination of mineral and heavy metal contents

Dehusked rice seeds of 69 WRC were digested with concentrated HNO3 in Teflon cases heated on a hotplate starting at 80 °C and increasing up to 150 °C at 30 min intervals. The calcium (Ca), manganese (Mn), iron (Fe), and copper (Cu) contents of the digested low PA (WRC 5, WRC 12 and WRC 30) and high PA (WRC 6, WRC 22 and WRC 44) samples (n=3) were analyzed by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICPMS). Heavy metals, arsenic (As), cadmium (Cd), tin (Sn), mercury (Hg), and lead (Pb), were also analyzed by the same ICPMS procedure.

Correlation among phenotypic traits of WRC

Data on phenotypic traits, including the number of days to heading, culm length, panicle number, panicle length, grain length, grain width, and amylose content, were obtained from the data available at the Genebank Project, NARO (https://www.gene.affrc.go.jp). Plant height seed length, seed width, seed weight, PA and Zn were measured from field experiment and harvested seeds.

Genome-wide association study

Genotyping data were obtained from a high-density rice array single-nucleotide polymorphisms (SNPs) database (http:// www.ricediversity.org.) that consists of 700,000 SNPs. SNP loci with more than a 10% missing rate and minor allele frequencies of less than 0.05 were removed. After quality control, a total of 185,146 SNPs was used in the association study in PLINK software. The SNP sites in the peak region ($p < 10-4$) were considered as significantly associated.

2. Progress and Summary of Research

Variation in the mineral and heavy metals contents

There were no significant differences ($p > 0.05$) in the contents of Ca, Mn, Fe and Cu among the three low and three high PA accessions. Among the accessions, WRC 30 and WRC 5 had the lowest Ca and Mn contents respectively, whereas WRC 22 had the highest levels. The heavy metal content varied randomly among the WRC accessions. No substantial differences were noted for the heavy metal content between low and high PA groups.

Correlation among morphological traits

The PA content was negatively correlated ($p < 0.05$) with the amylose content, and no significant correlations were observed with any other phenotypic traits. The Zn content was significantly ($p < 0.05$) and negatively correlated with seed length, grain length and seed weight.

Genome-wide association study

GWA mapping on PA content identified 12 significant loci located on Chromosomes 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8,11 and 12. Among these identified SNPs, no gene coding regions co-located with PA biosynthetic or accumulation-related genes. The locations of the other SNPs that are on Chromosomes 1, 5, 8, 11 and 12 have not previously been identified as having PA genes.

3. Challenges for the future

PA acts as a strong chelator of metal cations and is considered an anti-nutrient as it reduces the bioavailability of micronutrients. Global climate change effects, particularly rising atmospheric carbon dioxide concentration [CO2], are expected to increase the PA content and reduce the concentrations of essential micronutrients in rice grain. Information on the effect of elevated [CO2] on PA is inadequate at present and organized research is needed on developing breeding programs designed to alter the genetic makeup accordingly. Low-PA rice mutants have been developed that have a significantly lower grain PA content, but these mutants also had reduced yields and poor agronomic performance. A holistic breeding approach is essential for developing successful low-PA rice lines. Further, additional investigation is needed to know more about the mechanism of PA accumulation in rice grain and to understand the genetic architecture of PA content.

Summary

Phytic acid (PA) is the principle storage form of phosphorus (P) in cereal grains, and may account for 65%–85% of the total seed P. It is considered as an antinutrient which strongly chelates cations such as calcium (Ca^{2+}), magnesium (Mg^{2+}), potassium (K^{+}), iron (Fe^{3+}) and zinc (Zn^{2+}) and usually exists as mixed salts. These very insoluble salts prevent the absorption of important nutrients in the human intestine that lead to micronutrient deficiencies. Among the cereals, rice (Oryza sativa L.) is one of the most important staple foods for nearly one-half of the global population and the most important crop in Asia. Although rice is the major source of energy, protein and minerals for mankind, the grain does not provide sufficient amounts of essential micronutrients to fulfill the daily human nutritional requirements. Therefore, improving the micronutrient content and reducing the PA content in major staple food crops through plant breeding techniques are considered sustainable strategies to increase micronutrient bioavailability to overcome micronutrient malnutrition especially in developing countries. Accordingly, a better understanding of the genetic basis of PA content in rice is essential. This study documents the variation in mineral and heavy metal contents in low and high PA rice and identifies useful genetic determinants in natural genetic variation of rice using the World Rice Core collection (WRC). Mineral contents were determined using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICPMS) and association mapping was carried out using high-density rice array single-nucleotide polymorphisms. No significant differences were observed in the mineral or heavy metal contents among low and high PA lines suggesting that different mechanisms are controlling these traits, so that manipulating the PA content could be achieved without affecting the concentration of these elements. A genome-wide association study revealed that a chromosomal region near several significant SNPs determines the natural variation in rice PA content. The significant SNPs identified in this study for PA, do not co-localize with the identified PA biosynthetic genes These results indicate that the PA content is under genetic control, not only by mutation within the coding region of PA biosynthesis genes but also other mutations within unknown genes or cis-regulatory regions that may affect the expression of PA biosynthesis genes. Novel type of molecular mechanisms regulating grain PA contents might be harbored around found SNPs. Further, other mechanisms such as P uptake, translocation and remobilization inside the plant may have considerable effects on PA accumulation in seeds.

成熟雌ティラピアの終神経節で、雄性ホルモンによって

GnRH3 ニューロンが増加する際に介在するシグナル伝達経路について

On the signaling pathway mediated by the increase of GnRH3 neurons by the male hormone at the terminal ganglion of mature female tilapia.

研究代表者　　織田　明里（生命科学研究科 生命科学専攻）
指導教員　　金子　律子　　印

研究期間／平成 30 年 4 月 10 日～平成 31 年 2 月 15 日
キーワード／①生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン　GnRH
②雄性ホルモン　Androgen
③分化　Differentiation
④脳スライス培養　Slice culture
⑤阻害剤　Inhibitor
平成 30 年度交付額／559,000 円

研究発表／学会および口頭発表

・ティラピア性転換メカニズムの解明 ー雄性ホルモンによる雌脳 GnRH3 ニューロン増加に関与するシグナル伝達経路ー
織田 明里、安次富 萌、齋藤 眞子、沖田　圭介、大谷-金子　律子
公益社団法人 日本動物学会 第 89 回札幌大会
平成 30 年 12 月 9 日

・Study on the signaling pathway involved in 11-KT induced increase of GnRH3 neurons in the female tilapia brain.
織田 明里、安次富 萌、齋藤 眞子、沖田　圭介、大谷-金子　律子
第 10 回 東洋大学川越・朝霞・板倉キャンパス研究交流会
平成 30 年 7 月 21 日

研究経過および成果の概要

1．研究方法

本研究で用いたモザンビークティラピアは人工的に性転換可能な魚で、雌雄の生殖行動がはっきり分かれており、脳の性転換の実験に適している。ティラピアには 3 種類の生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン（Gonadotropin-Releasing Hormone; GnRH1、GnRH2、GnRH3）が存在し、GnRH1~3 の抗血清を脳室に投与する実験から、GnRH3 に対する抗血清のみがティラピア雄の生殖行動（巣穴堀り、攻撃行動）を抑制することが分かっている（Ogawa et al., 2006）。さらに先輩の研究から、GnRH3 ニューロンは嗅球よりの終脳に局在すること、GnRH3 ニューロンの数には明瞭な雌雄差があること、雄性ホ

ルモンである 11-ketoteststsrone（11-KT）を雌に腹腔内投与すると GnRH3 ニューロンの数が雄と同程度まで増加することが明らかになった（Kuramochi et al., 2011）。その増加の仕方として、神経新生と分化が考えられ、私はその中でも分化に着目し以下の 2 つの実験を行った。

①脳スライス培養法を用いた 11-KT および各種阻害剤の効果検討

11-KT により雌の終神経節内で GnRH3 ニューロンが増加する際、どのような細胞内シグナル伝達経路が使われているかを、脳スライス培養法と各種阻害剤を用いて薬理学的に調べた。脳スライス培養法は、特定の脳部位を含むスライスを作製し培養を行うもので、異なる脳領域ごとの神経細胞や神経回路の特徴を生理学的および薬理学的に解明する上で非常に有効な研究手法である（Gähwiler *et al.*, 1997）。また本研究の実験動物であるティラピアについても、脳スライス培養法を用いて、脳の視床下部-下垂体スライスに対する GnRH1 の長期暴露に関する研究報告がされている（Bloch *et al.*, 2014）。

これまでの先輩方の研究から、成熟雌ティラピアに雄性ホルモンを腹腔内投与することで GnRH3 ニューロンが増える（*in vivo*）ことは確認できていたが、本研究のように終神経節を含む脳スライスの状態（*in vitro*）においても、雄性ホルモンによって GnRH3 ニューロンが増加するのかは、検討する必要があった。そのため、まずは「実験（1）脳スライス状態での 11-KT による GnRH3 ニューロン数の変化」について調べ、その後阻害剤を用いた「実験（2）11-KT により GnRH3 ニューロン数が変化する際に関与する経路を各種阻害剤を用いて検討」を行った。

本研究の対象である GnRH3 ニューロンに関しては、胚発生時期の魚類（ゼブラフィッシュ）に対して BMS-754807（IGF-1R 阻害剤）や LY294002（PI3K 阻害剤）などの阻害剤を用いた実験があり、IGF シグナル伝達系を阻害すると、GnRH2 及び GnRH3 ニューロンの出現を遅らせることや異所的な出現が引き起こされることが報告されている（Onuma *et al.*, 2011）。これらのことから、IGF シグナル伝達系（IGF-1/PI3K）は GnRH2 及び GnRH3 の移動や分化に影響することが示唆されている（Onuma *et al.*, 2011）。そこで私は、神経細胞の分化に関与するとされる IGF 受容体の下流に位置する PI3K/Akt シグナル伝達系に焦点を当て、これらが、11-KT が誘導する GnRH3 ニューロンの増加に関与する可能性を、阻害剤を用いた脳スライス培養法により調べた。さらに、ニューロン分化に働くとされる ERK シグナル伝達系や JAK シグナル伝達系についても、11-KT による GnRH3 ニューロンへの分化誘導に関与するか、同様に検討した。また IGF-1/PI3K/Akt 経路の検証では、その下流に位置すると考えられている Mechanistic target of rapamycin（mTOR）についても、調べた。

②免疫染色法により GnRH3 ニューロンでの IGF-1R の発現を検討

11-KT 投与によって GnRH3 ニューロンが増加する際に関与する細胞内シグナル伝達系は、GnRH3 ニューロンに発現しているか、という点について免疫染色法を用いて解析した。①で調べた細胞内シグナル伝達系の入り口である IGF-1R と GnRH3 ニューロンを免疫染色法を用いて染め分け、それぞれの細胞の同定を行った。

2．研究経過および成果の概要

①脳スライス培養法を用いた 11-KT および各種阻害剤の効果検討

実験（1）から、終神経節を含む脳スライス培養で 11-KT によって GnRH3 ニューロンが増加することが明らかとなった。このことにより、終神経節を含む脳スライス培養でも、雄性ホルモン（11-KT）

によって GnRH3 ニューロンが増加することが明らかとなった。これは、成熟雌ティラピアに 11-KT を腹腔内投与した際、GnRH3 ニューロンが増加するという我々の *in vivo* の結果と一致した（Kuramochi *et al.*, 2011）。

実験（2）から、11-KT による GnRH3 ニューロンの増加は、IGF-1R 阻害剤、PI3K 阻害剤、Akt-1/2/3 阻害剤 または mTOR 阻害剤によって抑制され、Akt-1/2 阻害剤、ERK 阻害剤または JAK 阻害剤は抑制しない、ということが明らかとなった。これらの結果から、終神経節を含む脳スライス培養中で、11-KT によって増加した GnRH3 ニューロンのほとんどが、IGF シグナル伝達系を介して増加したものである可能性が示唆された。IGF/PI3K/Akt/mTOR は同一カスケード上に位置するキナーゼであると一般的に考えられている。これらのことから、終神経節周囲の脳領域から 11-KT により GnRH3 ニューロンが分化・成熟する際には、IGF-1R/PI3K/Akt/mTOR シグナル伝達経路（Akt については Akt-3 が働くと思われる）が介在する可能性が示された。

<u>②免疫染色法により GnRH3 ニューロンでの IGF-1R の発現を検討</u>

GnRH3 陽性細胞と IGF-1R に染色を施したところ、GnRH3 ニューロンは IGF-1R を発現していることが明らかとなった。このことから、IGF-1R 以下のシグナル伝達経路（PI3K/Akt-3/mTOR）も GnRH3 ニューロン内で働いている可能性が高いと考えられた。

3. 今後の研究における課題または問題点

我々の研究室では、11-KT により GnRH3 ニューロンが分化誘導される際の経路として、「❶終神経節付近の雄性ホルモン受容体（AR）を持つ細胞が 11-KT を受容後、IGF-1 あるいはそれに類似する構造分子を放出し、❷終神経節の IGF-1 受容体を持つ、おそらく❶とは別の細胞が、IGF-1 からの刺激を受け、IGF-1 受容体の下流の細胞内シグナル伝達経路（PI3K/Akt-3/mTOR シグナル伝達経路）を介して GnRH3 ニューロンに分化・成熟する」という仮説を考えている。この仮説を確かなものにするため、今後は、IGF-1 あるいはそれに類似する分子が脳室周囲の細胞で合成されていることを、リアルタイム PCR 法や *in situ* hybridization 法により明らかにしようと考えている。

Summary

Mozambique tilapia is suitable for experiments of sex reversal of the brain because reproductive behaviors are clearly different between males and females. Tilapia have three types of Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH1、GnRH2、GnRH3) . Ogawa et al. reported that only antiserum against GnRH3 suppresses male specific reproductive behaviors when antisera of GnRH 1-3 were administered to the ventricle (Ogawa et al., 2006) .

In our previous studies, the followings were found; ①GnRH3 neurons are localized in the terminal nerve of the brain. ② The number of GnRH3 neuron is higher in males than in females. ③ The treatment with 11-ketoteststsrone (11-KT) increases the number of GnRH3 neurons in mature females to a level similar to that in males (Kuramochi et al., 2013) .

We aimed to examine the molecular mechanism causing the sex reversal of the female brain after 11-KT treatment. In order to simplify the experimental condition, we performed the slice culture of

the brain and pharmacologically examined the effect of 11-KT and some inhibitors on the number of GnRH3. In addition, the expression of IGF-1R in GnRH3 neurons was examined using immunostaining method.

The increase in GnRH3 neurons by 11-KT was suppressed by IGF-1 R inhibitors, PI3K inhibitors, Akt-1/2/3 inhibitors or mTOR inhibitors. This result suggested that most GnRH3 neurons are increased by the IGF signaling system in the brain slice culture including the terminal nerve. In general, IGF / PI3K / Akt / mTOR is thought to be a kinase located on the same cascade. Based on these findings, it was suggested that the IGF-1 R / PI 3 K / Akt / mTOR signaling pathway may mediate when GnRH 3 neurons differentiate and mature with 11-KT from the brain region around the terminal nerve .

Staining of GnRH3 positive cells and IGF-1R revealed that GnRH3 neurons express IGF-1R. From this, it seems likely that the signaling pathway below IGF-1 R (PI3K / Akt/ mTOR) is also working in GnRH3 neurons.

アカパンカビのキチン合成酵素 chs 遺伝子群の機能解析

Functional analysis of chitin synthase (chs) genes in *Neurospora crassa*

研究代表者　山口　友輔（生命科学研究科生命科学専攻）
指導教員　藤村　真　印

研究期間／平成 30 年 4 月 10 日～平成 31 年 2 月 15　日
キーワード／①キチン　Chitin
②細胞壁　Cell wall
③遺伝子発現　Gene Expression
④OS 経路　OS pathway
平成 30 年度交付額／520,000 円

研究発表／学会および口頭発表

・Fungal Genetics and Biology に論文投稿予定（平成 31 年）

研究経過および成果の発表

1. 研究方法

（1）細胞壁合成阻害剤に対する感受性試験（ディスク接種）による感受性試験

アカパンカビの野生株、各キチン合成酵素遺伝子（*chs*）欠損株の胞子液を SOR 培地（1%ソルボース含有 Vogel 最少培地）にスポットし、コロニー形成の有無から感受性の確認を行った。薬剤はキチン合成酵素阻害剤であるポリオキシン（25 mg/L）、キチン合成阻害剤であるミカファンジン（0.1、0.025 mg/ L）、GPI アンカータンパク合成阻害剤であるアミノピリフェン（0.1、0.025 mg/L）を使用した。

（2）キチン合成酵素（*chs*）遺伝子群の薬剤フルジオキソニル処理時の遺伝子発現解析

実験にはアカパンカビの野生株、MAP キナーゼ *os-2* 変異株、*chs-5* 欠損株、*chs-7* 欠損株を使用した。前培養として Vogel 最少液体培地 100ml に胞子を 10^7 cell 接種し、17 時間培養後、OS 経路亢進剤であるフルジオキソニルを 1 mg/L 処理し、1 時間培養を行った。処理菌体から mRNA の抽出を行い、60 分間の逆転写により cDNA を獲得した。遺伝子発現解析には Universal Probe を用いた TaqMan 法を行い、qPCR を行った。

（3）細胞壁合成酵素遺伝子群の浸透圧処理における遺伝子発現解析

実験にはアカパンカビの野生株、*os-2* 変異株を使用した。前培養は（2）と同様の条件で行い、17 時間前培養を行った。浸透圧処理は前培養した菌体に等量の 1M ソルビトール含有 Vogel 最少液体培地を加え、最終濃度 0.5M ソルビトール下で 30 分、1 時間、48 時間培養を行った。培養後、菌体を回収し、（2）と同様の方法で解析を行った。

2. 研究経過および成果の概要

アカパンカビを含め、糸状菌はキチン合成酵素（chs）遺伝子をゲノム上に 7 種類持っていることが知られている。しかし、その機能分担については不明な点が多くある。はじめにキチン合成阻害剤であるポリオキシン、グルカン合成阻害剤であるミカファンジン、GPI アンカータンパク合成阻害剤であるアミノピリフェンに対する感受性を確認したところ、ポリオキシン処

理により野生株を含めたすべての株で胞子形成の抑制が見られた。しかし、*chs-5*、*chs-7* の 2 株が無処理でも胞子発芽が抑制されていた。またミカファンジン、アミノピリフェン両剤に対しては *chs-1*、*chs-5*、*chs-7* の 3 株が感受性を示した。また、これらの株を接種後 24 時間形態観察したところ、*chs-5*、*chs-7* の 2 株が球状に膨張することが認められた。このことから CHS-5、CHS-7 が胞子形成、細胞極性、細胞壁損傷に対する応答に関係することが示唆された。

次に、浸透圧シグナル伝達経路 OS 経路の MAP キナーゼ変異株である *os-2* 株が高浸透圧下で細胞壁がほとんどない細胞になることに着目しました。本来、*os-2* 株は浸透圧に応答できないため浸透圧感受性になることが知られている。しかし、高浸透圧下で *os-2* 株を培養すると、異常に膨れ上がった細胞になり、この細胞のキチンをカルコフルオロホワイトで染色するとキチンがほとんど確認できないことから MAP キナーゼである OS-2 がキチン合成に大きく関係していることが示唆されていました。そこで OS 経路の亢進剤であるフルギオキソニルを処理した時のキチン合成酵素遺伝子の発現変動を調べた。その結果、薬剤処理後 1 時間で *chs-5*、*chs-7* の 2 つの遺伝子が 2 倍から 4 倍の発現誘導が見られた。また、発現誘導が OS-2 に依存しているかを確認するために *os-2* 変異株にフルジオキソニルを処理したところ、その発現誘導が消失した。この結果から *chs-5* と *chs-7* の 2 遺伝子は OS-2 に制御されていることが明らかになった。*chs-5* と *chs-7* は糸状菌において同一染色体上に逆向きに隣り合って存在していることが知られており、*Fusarium* 菌では同一の制御を受けていることが報告されているが本研究で欠損株を用いた発現解析を行ったところ、両者が同一の制御を受けていることは認められなかった。

OS-2 の下流でキチン合成酵素が制御されていることが明らかになったことから高浸透圧下で *os-2* 変異株がアメーバ状の生育することとの関連について解析した。*os-2* 変異株を 0.5M ソルビトール下で培養した時の chs 遺伝子の遺伝子発現を経時的に確認した。その結果、驚くべきことにキチン合成酵素遺伝子の発現誘導が認められた。しかも OS 制御であるはずの *chs-5* と *chs-7* そして *chs-1*、*chs-4* が暴露後 48 時間で誘導されていることがあきらかになった。また、chs-2、chs-3 の 2 遺伝子はソルビトール暴露後 30 分で誘導が起こり、48 時間後には元に戻っていた。細胞壁にはキチン以外にもグルカンやマンナンなどの構成成分があるためキチン合成酵素遺伝子を含めた計 18 遺伝子をリスト化し、浸透圧ストレス時の発現変動の解析を行った。

その結果、β-1,3 グルカン合成酵素遺伝子の *fks-1* はほとんど変化が見られなかったがα-1, 4 グルカン合成酵素遺伝子である *ags-1*、*ags-2* が暴露後 30 分で誘導が見られた。また、本来 OS 経路に制御を受けているはずの *gel-1* や *ncw-3* が暴露後 48 時間で誘導が認められた。これらは OS 経路に依存しない新たな浸透圧応答経路が存在することを示しており、本研究の成果はその解明につながることが期待される。

3. 今後の研究における課題または問題点

今回の研究でキチン合成酵素のうち chs-5、chs-7 が浸透圧ストレス応答に関わる MAP キナーゼ OS-2 の制御を受けていることが明かになった。しかし、この制御はソルビトール処理による浸透圧ストレスでは誘導が起こらなかった。この原因は不明である。また菌糸生育の場合先端に合成酵素が集中していることが既に知られているが *chs-5*、*chs-7* の欠損株が薬剤処理により球状に膨張した時にキチンが存在しているか、また、合成酵素の局在がどのようになっているかを確認することは今後の課題であると考えられる。

Summary

Fungi including *Neurospora crassa* has 7 chitin synthase (CHS), but these division of function is not known. Sensitivity of cell wall synthesis inhibitors indicates showed that deletion of chs-5 or chs-7 results in a deficiency of sporulation and loss of cell polarity. CHS-5 and CHS-7 have myosin motor like domain and are related to cytoskeleton. These results suggest that CHS-5 and CHS-7 are associated with cytoskeleton response to cell wall stress. We focused on osmotic sensitive strain *os-2*. This strain specifically disappears chitin under high pressure. Gene expression analysis when OS pathway is accelerated by fludioxonil showed that expression of *chs-5* and *chs-7* increased. However, induction of its expression was small. But *os-2* strain was not shown induction of expression. These results suggest *chs-5* and *chs-7* are controlled by MAP kinase OS-2. These two chitin synthase genes are adjacent in opposite direction on the fungi genome. Gene expression analysis in deficient strains of chs-5 and chs-7 suggested that both are controlled independently. We analyzed that expression of cell wall synthesis related genes during hyperosmotic stress. First we did genes listing from the *Neurospora* genome. The analyzed genes were α-1, 3 glucan synthase（*ags-1*, *ags-2*）, β-1,3-glucan synthase（*fks-1*）, α-1,2-mannosyltransferase（*NCU01388*, *Kre5*）, non-anchored cell wall protein（*ncw-1*, *ncw-3*）, glycolipid-anchored surface protein（*gel-1*）, polysaccharide synthase（*cps-1*）, cell wall glycosyl hydrolase（*dfg-5*）, glycosylhydrolase family（*gh76-3*）, chitin synthase（*chs-1*, *chs-2*, *chs-3*, *chs-4*, *chs-5*, *chs-7*）and WSC-1（*NCU06910*）. Gene expression induction did not occur even when osmotic stress was given to wild type. However osmotic stress was given to *os-2* strain two kinds of expression induction patterns were observed. The genes that responded for a short time were *chs-2*, *chs-3*, *ags-1*, *ags-2*, *dfg-5*. These genes were up-regulated in 30 minutes and returned at once. On the other hand, the genes that responded for a long time were *chs-1*, *chs-4*, *chs-5*, *chs-7*, *gel-1*, *ncw-3*, *gh76-3*, *cps-1*. Induction of these genes was observed 48 hours after osmotic stress. These two expression inductions were controlled independently of OS-2. We conclude that chitin synthase genes *chs-5* and *chs-7* are controlled to OS-2 which is the MAP kinase of the OS pathway.

円石藻ココリスの形成は酸性多糖比率が

炭酸カルシウム結晶成長を制御している

The ratio of three acidic polysaccharides affects coccolith formation

研究代表者　新井 真子（生命科学研究科生命科学専攻）
指導教員　長坂 征治　　印

研究期間／平成 30 年 4 月 10 日～平成 31 年 2 月 15 日
キーワード／①石灰化　biomineralization
②円石藻　coccolithophorid
③結晶成長　crystal growth
④酸性多糖　acidic polysaccharide
⑤*Pleurochrysis carterae*
平成 30 年度交付額／520,000 円

研究経過および成果の概要

１．研究方法

天然海水で前々培養、人工海水で前培養を行った *Pleurochrysis carterae* を使用して、5 つの実験を行った。①栄養塩濃度変化培地での培養：前培養後の細胞を使用してリンまたはカルシウム濃度を変化させた培地をそれぞれ 3 種用意し、それらの培地で 1 週間の本培養を行った。本培養中は濁度およびクロロフィル濃度を測定し生育の指標とした。本培養後、細胞を回収し以下の 4 つの方法でココリスの形成への影響を評価した。②ココリスの形態観察：回収した細胞を固定液で固定した後、凍結乾燥を行いサンプルとした。観察には電子顕微鏡を使用した。③細胞、ココリス中のカルシウム含有量の測定：回収した細胞を 1%酢酸で脱灰し遠心分離を行った。上清にココリス中の成分が溶解しているものとし、ココリスサンプルとして測定に使用した。沈殿物は細胞とし、乾燥させ重量を測定した後に湿式分解を行い細胞内の金属を抽出した。測定には ICP-MS を使用しカルシウム濃度を測定した。④ココリスに含まれる多糖の解析 : 回収した細胞を 100 mM EDTA で脱灰し遠心分離を行った。上清を使用し限外ろ過によるサンプルの精製を行った。その後、カルバゾール硫酸法、フェノール硫酸法による多糖量の測定と、PAGE による 3 種の酸性多糖の組成比を確認した。また、HPLC を使用して糖の分画を行なった。移動相は 20 mM Tris-HCl pH8.0 と 20 mM Tris-HCl-500 mM MaCl pH8.0 を使用した。カラムは逆相カラムを使用した。分画後、それぞれの分画中の酸性多糖量を測定した。⑤培養細胞の遺伝子発現解析：細胞中の多糖を除去するために Fruit-mate for RNA Purification（タカラバイオ社）を添加し、ガラスビーズによる細胞破砕を行った。RNA の抽出には TriPure Isolation reagent（シグマドリッチジャパン社）を使用した。抽出後、リチウム沈殿法を用いて RNA の精製を行った。その RNA を使用して ReverTra Ace（東洋紡社）で cDNA の合成を行った。合成後、ReverTra Ace qPCR RT Master Mix with gDNA Remover（東洋紡社）を使用してリアルタイム PCR による遺伝子発現解析を行った。解析はココリスの形成に関与していると思われる炭酸脱水酵素を含む 7 つの遺伝子で行った。

２．研究経過および成果の概要

①生育測定では、クロロフィル濃度は栄養塩濃度による影響はみられなかったが、濁度においては栄養塩濃度によって差が生じていた。これは、クロロフィル量は細胞の数に対応しているのに対し、濁度は細胞数だけでなく、ココリスの影響を受けているのではないかと考えられる。よって栄養塩濃度によるココリス形成への影響が示唆された。②ココリスの形態観察では、低栄養塩濃度区ではコントロールと比較してココリスの結晶形成が抑制され細胞が球形を保てないものが多く、高栄養塩濃度区では結晶形成が促進されVとRのユニットが厚くなっていた。また、低栄養塩濃度区、高栄養塩濃度区においてリンとカルシウムでユニットの形が異なっていたことからココリスの形成機構に異なる影響を及ぼしていることが示唆された。③細胞、ココリス中のカルシウム含有量の測定を行ったところ、細胞内、ココリス共に栄養塩濃度に比例してカルシウム濃度が上昇していた。高カルシウム濃度区でのココリス中のカルシウム含有量はコントロールより約2倍増加していた。これらのことからカルシウムだけでなくリンも細胞内へのカルシウムの取り込みや輸送に関与しているのではないかと考えられる。④ココリスに含まれる多糖の解析を行ったところ、酸性多糖量は低カルシウム濃度区ではコントロールよりも減少していたが、低リン濃度区ではコントロールの約2倍の量が検出された。またPAGEでは低リン濃度区では3種の酸性多糖が相対的に少なくなっていたが、低カルシウム濃度区ではPS-2のみが薄くなっていた。HPLCで多糖の分画を行なったところ、低リン濃度区では3種の酸性多糖以外の酸性多糖が多量に含まれていることが分かった。リンとカルシウムによって酸性多糖の組成に異なる動向がみられたことから、糖の合成経路に異なった影響を及ぼしていることが明らかとなった。⑤培養細胞の遺伝子発現解析では、数個の遺伝子において、低リン濃度区ではコントロールよりも発現が増加し、低カルシウム濃度区ではコントロールより減少するという酸性多糖含有量の動向と似た傾向がみられた。その中には、ココリスの源材料となる重炭酸イオンを生成する炭酸脱水素酵素をコードしている遺伝子も含まれていた。これらのことから、リン濃度の減少によって酸性多糖の合成経路に正の影響を与えるが、これは3種の酸性多糖以外の糖を合成している事が示唆された。

３．今後の研究における課題または問題点

今回の研究によって培地中の栄養塩濃度がココリスの形成に影響を及ぼしていることが遺伝子レベルで示唆された。本研究で使用した遺伝子は機能が解明されていないものも含まれている。しかし、栄養塩濃度によって炭酸脱水素酵素などの機能が解明されている遺伝子と同様の動向が確認されたことから、ココリスの形成に何らかの影響を及ぼしているのではないかと考えられる。よって今後はその遺伝子の機能解明とともに、リンおよびカルシウムの両方の濃度を変化させた培地で培養を行い栄養塩によるココリスの形成への影響を解析、ココリス機構の解明を行っていきたい。

Summary

Pleurochrysis carterae is a unicellular sea alga, which produces coccoliths. These coccoliths contain three types of acidic polysaccharides (PSs), PS-1, PS-2, and PS-3. In this study, we identified that the ratio of these three PSs changed due to the concentration of P in the media and that this change directly affected the maturation of the coccoliths. Media containing either high/low Ca or high/low P concentrations were used to culture the P. carterae in comparison with a control.

Even though there was no significant difference for the cell growth of the alga compared with the control, the amount of acidic polysaccharides of the coccoliths produced was significantly different. The amount of acidic polysaccharides increased with the increment of the Ca concentration of the media from low to high. On the other hand, when the algal cell was cultured in media with different P concentrations, the content of PSs in coccoliths increased in both low and high P concentrations in the media. PAGE analysis was employed to measure the ratio of three PSs. A change in the ratio of the PSs was observed only in the coccoliths isolated from the cells cultured in media with different P concentrations, but not in the coccoliths from the cells cultured in media with different Ca concentrations. Scanning electron microscopic analysis revealed that the coccoliths on the cells cultured in low concentrations of Ca and P were immature, while the coccoliths on the cells cultured in a low P concentration contained a high amount of PSs compared to the control cells. We conclude that not only the amount but also the ratio of the acidic polysaccharide plays a significant role in coccoliths formation.

血管内皮細胞から分泌されるプロスタグランジン I_2 の量的変化

-マイクロチップ灌流培養システムを用いた研究-

Quantitative change of prostaglandin I_2 secreted from vascular endothelial cells

- Research using microfluidic cell culture system -

研究代表者　中川　侑香（生命科学研究科　生命科学専攻）
指導教員　　金子　律子（生命科学部　生命科学科）　　印

研究期間／平成 30 年 4 月 10 日～平成 31 年 2 月 15 日
キーワード／①血管内皮細胞　vascular endothelial cell
②マイクロチップ灌流培養システム　microfluidic cell culture system
③熱ストレス　heat stress
④プロスタグランジン I_2　prostaglandin I_2
⑤一酸化窒素　nitric oxide
平成 30 年度交付額／550,000 円

研究発表／学会および口頭発表

- 熱ストレスが血管内皮細胞の NO 産生に関わる因子や HSP 遺伝子の発現に及ぼす短期的影響（日本動物学会　第 89 回札幌大会、札幌、平成 30 年 9 月）
  ※北海道胆振東部地震のため中止だったが、のちに同学会の代替大会（東京、平成 30 年 12 月）に参加。
- 熱ストレスが血管内皮細胞の NO 発生に及ぼす影響(第 41 回日本分子生物学会年会、横浜、平成 30 年 11 月)
- 論文投稿予定

研究経過および成果の概要

1. 研究方法

心筋梗塞や脳梗塞などの心血管疾患は、日本人の死因の上位を占めている。心血管疾患は患者を死に至らしめるリスクが高いのみならず、治療の長期化や後遺症の問題にも繋がり、個人的及び社会的損失が大きい。血管内皮細胞は様々な血管作動性物質を分泌し、血管機能の恒常性の維持に重要な役割を果たしている。血管内皮細胞から分泌される血管作動性物質の中にプロスタグランジン I_2 (prostaglandin I_2：PGI_2) や一酸化窒素（nitric oxide：NO）がある。これらは心筋梗塞や脳梗塞の原因となる血栓の発生を抑えたり、血液循環の制御を行なったりする血小板凝集抑制作用及び血管拡張作用を持つ。また、生体内の NO 量の低下は、内皮機能不全の大きな原因の一つであり、心血管疾患の死亡率にも相関することが明らかになっている。そこで、本研究では熱ストレスによる血管内皮細胞からの PGI_2 及び NO 分泌機構を明らかにすることを目的として研究を進めた。血管内皮細胞は生体内で常に血流に曝されている細胞であるため、流路に面した血管内皮細胞を用いて環境変化に対する細胞応答を調べることが望ましい。したがって本実験では、「静置培養系」とマイクロチップ灌流培養システムを用いた「灌

流培養系」の両方で解析を行い、熱ストレスに対する PGI_2 及び NO の分泌変化とそのメカニズムで調べた。

熱ストレスによる血管内皮細胞からの PGI_2 及び NO 分泌量の経時的変化：本実験では、ヒト臍帯動脈由来血管内皮細胞（Human umbilical artery endothelial cells : HUAECs）を使用した。細胞の静置培養及び灌流培養を行い、熱ストレス（40℃、1 時間）を負荷した。熱ストレス負荷前及び熱ストレス直後、37℃に戻し 2 時間と 4 時間後の細胞から細胞培養液を回収し、回収した細胞培養液中の PGI_2 及び NO 量は測定した。PGI_2 は液体クロマトグラフィー質量分析装置（LC-MS）、NO は Griess 法により調べた。

熱ストレスによる血管内皮細胞内の NO 量変化：熱ストレスを負荷させている時の血管内皮細胞内の NO 量を Diaminofluorescein-2 diacetate (DAF-2 DA) により測定した。

熱ストレスによる血管内皮細胞の NO 産生関連遺伝子発現量の継時的変化：熱ストレス負荷前及び熱ストレス直後、37℃に戻し 2 時間と 4 時間後の細胞から RNA を回収し、逆転写を行った。その後、定量的リアルタイム PCR 法を用いて遺伝子の発現量を調べた。解析した遺伝子は *eNOS*、*CAV-1*、*CALM*、*HSP90*、*VEGFR-2*、*PI3K*、*AKT* である。

2. 研究経過および成果の概要

熱ストレスによる血管内皮細胞からの PGI_2 及び NO 分泌量の経時的変化：血管内皮細胞（HUAECs）に熱ストレスを負荷させた時の細胞培養上清中の PGI_2 の量を測定しようと試みたが、検出限界を下回ったため PGI_2 の測定はできなかった。一方、NO 量は熱ストレスにより一過性に増加し、その後、NO 分泌量は一旦減少してから再び増加して、一定量を保つことがわかった。この経時的変化は、静置培養でもマイクロチップ灌流培養システムを用いた灌流培養でも同様であった。この結果より、本研究では熱ストレスに対する血管内皮細胞の応答について、NO のみに着目して研究を進めることにした。

熱ストレスによる血管内皮細胞内の NO 量変化：細胞内 NO 量は熱ストレスを与えた直後から急激に減少し、その後一定となった。

熱ストレスによる血管内皮細胞の NO 産生関連遺伝子発現量の継時的変化：熱ストレスにより、*eNOS* mRNA の発現量は増加傾向にあること、*HSP90* mRNA 発現量は有意に増加することがわかった。また、熱負荷直後の *CALM* mRNA の発現量は増加傾向にあり、熱負荷終了 2 時間後には有意に減少した。熱負荷終了 4 時間後には再び増加傾向にあることがわかった。*CAV-1*、*VEGFR-2*、*PI3K*、*AKT-1* mRNA 発現量は熱負荷によってほとんど変化しなかった。

以上の結果から、熱ストレスによる血管内皮細胞の NO 分泌には短期的変化と長期的変化があることが示唆された。また、血管内皮細胞から NO が産生される経路には eNOS の活性化が関与し、①PI3K-Akt 経路を介して eNOS がリン酸化されるものと、②Ca^{2+}/CaM 及び HSP90 依存的なものの 2 種類があることが報告されている。今回の研究から、熱ストレスによって *eNOS* 及び *HSP90* mRNA が増加していることや、*CALM* mRNA 発現量の変化と静置培養及び灌流培養によって得た培養上清中の NO 量変化の傾向が類似していることがわかった。したがって、熱ストレスによる NO の産生には、②の Ca^{2+}/CaM 及び HSP90 に依存的な経路が優勢に働いて起こる可能性が示唆された。

3. 今後の研究における課題または問題点

本研究では、LC-MS を用いて熱ストレスによる血管内皮細胞から分泌される PGI_2 の測定を試みたが、検出限界を下回ったため測定することができなかった。よって LC-MS 以外の ELISA 法などを用いて測定することを検討したい。

また、熱ストレスによる NO 分泌には Ca^{2+}/CaM に依存的な経路が関与することが示唆された。今後は、熱ストレスによる血管内皮細胞内のカルシウムイオン濃度の変化や、熱感受性チャネルの活性化についても明らかにする必要がある。

Summary

The cardiovascular disease is one of the major causes of death and disability in Japan. Cardiovascular disease not only has a high risk of dying the patient but also leads to problems of prolonged treatment and sequelae. In heart and all blood vessels, endothelial cells (ECs) are the thin layer of cells lining the interior surface of them, and constantly exposed to blood flow. EC also secretes vasoactive substances such as prostaglandin I_2 (PGI_2) and nitric oxide (NO). Thus thrombosis, fibrinolysis, inflammation, angiogenesis, vasoconstriction, and involved in many vascular functions including vasodilation and maintaining the homeostasis of blood vessels. Therefore, EC dysfunction increases the risk of developing cardiovascular disease.

We recently designed and evaluated an easy-to-use microfluidic cell culture system for monitoring sequential changes in ECs under various levels of fluidic shear stress or other stresses, including heat stress. This system consists of a disposable polystyrene microchip, a polytetrafluoroethylene valve, flow rate controller, and a temperature controller, and can mimic the in vivo environment that is experienced by ECs in the presence of blood flow. Furthermore, by using this system, we can detect secreted proteins from ECs by heat stress in vitro. So, we decided to investigate the response of PGI_2 and NO to heat stress.

Various things became clear from our experiment. First, by using liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS), we confirmed secretion of PGI_2 from ECs when the temperature was changed, and we could not measure it because prostaglandin was below detection limit. Also, we found that the secretion of NO from ECs was altered by heat stress. Secondly, we found that the intracellular NO content decreased after heat stress. Therefore, it is considered that NO in the vascular endothelial cells was released to the outside of the cell due to thermal stress. Finally, we found that factors (eNOS, HSP90, CALM) which are thought to regulate NO secreted from vascular endothelial cells change by heat stress.

These findings suggested that NO secretion of vascular endothelial cells by heat stress has short-term change and long-term change. In addition, it was suggested that Ca^{2+} / CaM-dependent pathway may occur predominantly in producing NO by heat stress.

重金属汚染に対するウグイ（*Tribolodon hakonensis*）の環境応答

Environmental response of Japanese dace (*Tribolodon hakonensis*)
for heavy metal pollution

研究代表者　北村　大樹（生命科学研究科　生命科学専攻）
指導教員　柏田　祥策　　印

研究期間／平成 30 年 4 月 10 日～平成 31 年 2 月 15 日
キーワード／①重金属　　Heavy metal
②小進化　　Microevolution

平成 30 年度交付額／560,000 円

研究発表／学会ポスター発表
タイトル: “Heavy metal contamination as environmental factor of microevolution in Japanese dace, *Tribolodon hakonensis”*, Daiki Kitamura, Hideaki Tomiyama, Chisato Kataoka, Seiji Nagasaka, Haruki Tatsuta, Hisato Takeuchi[5], Yuichi Iwasaki and Shosaku Kashiwada

研究成果および成果の概要

1.　研究背景および目的

足尾銅山は，1610 年から 1973 年にかけて銅鉱石の採掘および銅の製錬が行われ，年間銅生産量は最大 17,457 トンにまで達し，日本の近代化の一翼を担った。しかし，採掘，選鉱，製錬等の全工程から出る重金属を含む廃水は，足尾銅山近傍を流れる渡良瀬川の水質悪化を招くと共に生態系に壊滅的な被害を与えた。この足尾銅山鉱毒事件は，人為的な環境汚染と生態系の破壊として，我が国で初めて報告された公害事例である。現在は，重金属汚染に対する予防対策および銅山の閉山（1973 年）により新たな汚染被害は報告されていないが，今日においても渡良瀬川の河川水および底質に含まれる重金属濃度は，他河川と比較して高いことが報告されている。すなわち，それは渡良瀬川流域の生物は現在に至るまでの長期間，重金属曝露を受け続けていることを意味している。その一方では，今日では渡良瀬川流域の生態系は多種多様な生物種が観察されるまでに回復している。化学的選択圧による生物の小進化により，化学物質に対して耐性を獲得した生物の出現事例はいくつか報告されており，渡良瀬川流域の生物も同様に小進化した可能性がある。本研究では重金属汚染が生物多様性に与える影響を評価することを目的として，渡良瀬川流域に生息するウグイ（Tribolodon hakonensis）を用いて，重金属バイオマーカーの測定等を行った。

2.　研究方法

2018 年 3 月から 9 月にかけて過去に重金属汚染の履歴のある渡良瀬川の上流に位置する草木ダムに棲息するウグイ，渡良瀬川の下流（足利市）に棲息するウグイおよび対照河川として選定した思川（栃木市）に棲息するウグイをそれぞれ 30 尾ずつ採捕した。捕獲したウグイは血液を採取した後，解剖により肝臓を摘出した。主に鉛曝露の指標として用いられるヘモグロビン濃度，ポルフィリン濃度および ALAD 活性を採血された血液を用いて分析した。重金属の排泄に関連する ABC 輸送体（ABCB1, ABCC1, ABCC2）誘導遺伝子を選定し，肝臓から抽出された RNA を使用した qRT-PCR 分析を行った。さらに肝臓の一部を用いて重金属誘導型活性酸素種の除去および重金属の排泄に関連するメタロチオネインおよび還元型グルタチオン濃度を分析した。

3. 研究経過および成果の概要

ABCB1，ABCC1 および ABCC2 遺伝子の発現量は地点間で差はなかった。血中ヘモグロビン，ポルフィリン濃度および ヘモグロビンの生成に関連する ALAD 活性の Km 値については集団間で有意な差は検出されなかったが，草木ダムに棲息するウグイの ALAD 活性の Vmax（最大速度）は他集団より有意に高かった。重金属の一つである Pb による生体影響に関して，ウグイの血中ヘモグロビンおよび遊離プロトポルフィリン濃度を測定した結果，河川間において有意な差はなかったが，草木ダムのウグイの血中 ALAD 活性の Vmax 値は 200.41±11.09 nM/PGB mg Hb/min であり，思川のウグイと比較して高かった。草木ダムのウグイは，Pb 曝露に対する拮抗的な生物応答として，高い ALAD 活性に支持されたヘム合成阻害回避機能を背景にして，血中ヘモグロビンを正常に維持していると考えられた。草木ダムのウグイの肝臓中メタロチオネイン濃度は 262.60±33.17 nM/mg protein であり，思川のウグイより 1.58 倍低い値であったが，草木ダムのウグイの肝臓中 GSH 濃度は 20.82±2.37 nmol/mg protein であり，思川のウグイより 1.74 倍高い値を示していた。草木ダムのウグイでは，体内重金属の排出において，GSH が主要な役割を果たしている可能性が考えられた。

4. 今後の研究における課題または問題点

草木ダムに棲息するウグイの ALAD 活性の Vmax（最大速度）は他集団より有意に高かったことから，草木ダムのウグイは ALAD のアイソフォーム持つ可能性があり更なる調査が必要である。草木ダムのウグイの重金属に対する応答の違いを調査するために草木ダムのウグイおよび思川のウグイを共に草木ダムの湖水で飼育する実験をする必要がある。

Summary

From late 1800s to early 1900s, Watarase River, running through the north Kanto region of Japan, was seriously contaminated with heavy metals from Ashio copper mine (located nearby upstream of Watarase River). And then fish population was totally destroyed at once. After closing the mine in 1973, Kusaki-dam (1977) and Lake Yanaka (1989) were established on upstream and downstream of Watarase River, respectively, for heavy metal sedimentation. Nowadays, heavy metal concentrations significantly decreased (e.g. Cu concentration in river water decreased from 450–2300 to 8–39 μg/L in 1960-2010), and about 40 fish species are living in the river. However, despite indications the concentrations remain comparatively higher than those of Omoi River (unpolluted reference river). In this research, to understand biological and ecological responses to heavy metals

in aquatic ecosystem, In this study, we measured the heavy metal biomarkers using Japanese dace (Tribolodon hakonensis) inhabiting the Watarase River basin with the aim of evaluating the influence of heavy metal contamination on biodiversity. Vmax value of ALAD activity in the blood of Japanese dace in the Kusaki dam was 200.41 ± 11.09 nM / PGB mg Hb / min, which was higher than those of Japanese dace in Omoi river. Japanese dace in Kusaki dam was considered to be maintaining blood hemoglobin normally as an antagonistic biological response to Pb exposure, against the backbone of heme synthesis inhibition function supported by high ALAD activity. Metallothionein concentration in the liver of Japanese dace in Kusaki dam, was 262.60 ± 33.17 nM / mg protein, which was 1.58 times lower than those of Japanese dace in Omoi river. But concentration of GSH in the liver of Japanese dace in Kusaki dam was 20.82 ± 2.37 nmol / mg protein, which was 1.74 times higher than those of Japanese dace in Omoi river. It was considered that GSH plays a major role in excretion of heavy metals in Kusaki dam's Japanese dace. These results indicates that Japanese dace conducts environmental adaptation (microevolution) against long-term heavy metal exposure, and consequently biodiversity of Japanese dace is being influenced.

胎生期バルプロ酸ナトリウム曝露マウスのシナプス異常と遺伝子発現変化

Prenatal exposure of mice to sodium valproate causes synaptic abnormality and change in gene expression in the brain.

研究代表者　白石　加奈（生命科学研究科 生命科学専攻）
指導教員　児島　伸彦　印

研究期間／平成 30 年 4 月 10 日～平成 31 年 2 月 15 日
キーワード／①自閉症スペクトラム障害　Autism spectrum disorder：ASD
②バルプロ酸ナトリウム　Valproic acid：VPA
③マウス　Mouse
④神経細胞　Neuron
⑤神経突起　Neurite
平成 30 年度交付額／560,000 円

研究発表／ポスター発表

- WFSBP Asia Pacific Regional Congress of Biological Psychiatry
  2018 年 9 月 7 日-9 日　神戸コンベンションセンター
- 第 10 回 東洋大学 川越・板倉・朝霞キャンパス 研究交流会
  2018 年 7 月 21 日　東洋大学 朝霞キャンパス
- 東洋大学 研究ブランディング事業 合同シンポジウム
  2019 年 2 月 22 日　東洋大学　川越キャンパス

研究経過および成果の概要

１．研究方法

自閉症スペクトラム障害（Autism Spectrum Disorder：ASD）は Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-Ⅴにおいて「社会的コミュニケーション及び相互的関係性における持続的障害、興味関心の限定および反復的なこだわり行動・常同行動」を主症状とする発達障害と定義されている。近年、ASD は中間表現型として神経細胞の器質的異常があることが示唆されているものの、その異常がどの発達段階で呈されるかについては不明のままである。本実験では数ある ASD 動物モデルから、胎生期バルプロ酸ナトリウム（VPA）曝露マウスを使用した。VPA は抗てんかん薬や気分安定剤として広く用いられているが、胎生期に母親が VPA を摂取し、胎児が VPA 曝露されることで ASD の発症率が上昇することが知られており、ASD モデルとして用いた先行研究も多い。本研究では作成したモデルの表現型を解析するともに、神経細胞の形態観察、神経機能に影響を持つ遺伝子の異常を検証することによって、VPA モデルにおける、行動、細胞、遺伝子レベルの差異を探索することを目的とした。

モデルマウス作成と自閉症様行動の評価：VPA モデルマウスの作成は先行研究のモデル作成手順に準じ、胎生 12.5 日目の母体に、500 mg/kg の VPA/生理食塩水を腹腔内注射することで、胎仔に対し VPA 曝露を行い、生まれてきた仔を自閉症モデルマウスとした。生後 7 日にて仔

から母親へのコミュニケーション能力を測るため超音波測定を実施、大人として成熟した 8 週齢にて、基礎活動量や情動行動を測るためにオープンフィールドテスト、明暗箱往来テストを、社会性を測るためにスリーチャンバー型社会相互作用テストを行った。

発現変動遺伝子の探索:生後 7 日前脳から単離した RNA を鋳型として cDNA を作成し、RT2 Profiler PCR Array (QIAGEN) 「Dopamine and Serotonin Pathway アレイ」「Synaptic Plasticity アレイ」を用いて遺伝子発現量を測定した。得られた結果を比較ΔCT(ΔΔCT)法にて計算し、コントロール群の遺伝子発現を 1 倍とした際の各遺伝子の発現量変化を算出した。

初代培養における神経細胞の発達 : 神経細胞培養は Banker 法に準じて行った。胎生期 18.5 日目のマウス海馬より神経細胞を採取し、Poly-L-Lysine コートを施したカバースリップへ播種した。細胞の定着後、カバースリップをアストロサイトフィーダーと共培養した。7 日間培養の後、細胞を固定し、蛍光標識ファロイジンで F-アクチン染色を行い、神経細胞の神経突起形態、樹状突起の発達過程を解析した。

２．研究経過および成果の概要

自閉症様行動の評価 : 生後 7 日の超音波測定実験において VPA マウスは雌雄によらず、鳴き始めるまでの潜時が長く、超音波の啼鳴回数が少ないことが示された。従って生後 7 日では VPA マウスはコントロール群に比べて、コミュニケーション能力が低下していることが示された。一方、9 週齢の VPA マウスの 3 チャンバー型社会性相互作用テストでは、他マウスとの相互作用に有意な差は見られなかった。オープンフィールドテストおよび明暗箱往来テストにおいては、大きな差は見られないものの、VPA マウスに不安が低い傾向にあった。複数の研究から VPA モデルの社会性は成長するにつれ回復する報告も存在し、今後、生後 7 日から 9 週齢の間（例えば生後 21 日から 4 週齢）で行動実験を行う必要がある。

発現変動遺伝子の探索 : Dopamine and Serotonin Pathway アレイにおいては、各モノアミンの合成酵素、受容体、モノアミン輸送の遺伝子発現に変化がみられた。また、Synaptic Plasticity アレイでは、転写因子、細胞接着、細胞分化、一部のグルタミン酸受容体の遺伝子発現に変化がみられた。2 つのアレイプレートから差の見られた遺伝子発現の変動が、脳の微細構造から高次機能まで幅広い影響を与えていることが考えられる。

初代培養における神経細胞の発達 : 培養 7 日目において、VPA マウス神経細胞の樹状突起から出ている神経突起の本数が多いことが明らかとなった。さらに発達面では、VPA 神経細胞において樹状突起の分枝数が増加する一方で、樹状突起 1 本あたりの長さは短くなる事、細胞体に近い場所で樹状突起の複雑性が増すことが判明した。これらの観察結果から VPA 神経細胞ではこの過剰生成または余剰除去の機構に問題を生じていることが示唆された。

本研究では作成したモデルの行動表現型を解析するともに、神経細胞の形態観察、神経機能に影響を持つ遺伝子の異常を検証することで、VPA モデルにおける、行動、細胞、遺伝子レベルの差異を探索した。結果、本研究では発達期の神経細胞の微細構造を定量化することができ、また発現変動する遺伝子も複数同定するに至った。

３．今後の研究における課題または問題点

VPA 曝露による形態異常の発展として、検証をするために、さらに幅広い時間軸での形態観察が今後の課題として挙げられる。具体的には、GFP トランスジェニックマウスを用いて脳内

の神経細胞を可視化し、胎生期から出生後、さらには大人として成熟するまでを追跡する。マウスの成長段階でリアルタイムに追跡することで、VPA 曝露が引き起こす神経細胞の形態異常を、生体内で発達過程ごとに観察、定量化することが可能となる。加えて、今回の遺伝子探索で挙げられた遺伝子を、培養細胞やマウスに、おいて過剰発現またはノックダウンを行うことで VPA 群の異常が回復するのか、SAL 群が VPA 様の異常を示すのかを追跡することも必要であると考える。これらの実験を行うことで、遺伝子と神経形態の異常における相互関係が一層明らかとなり、ASD を呈するモデル生物の神経細胞の形態異常と遺伝子発現異常に、直接的な関連があることの証明になると考える。

Summary

Autism is a neurodevelopmental disorder characterized by deficits in social interaction, communication and stereotyped behaviors. The fact that several genes are involved in synapse formation suggests that disrupted synaptic development is associated with pathology of autism. Furthermore, some previous report suggested ASD neurons has organic dysfunction as ASD endophenotype. Therefore in this study, we examined the neuronal development in vitro and change in gene expression in the brain of mice prenatally exposed to sodium valproate (VPA) as an animal model of autism. VPA was intraperitoneally injected to pregnant mice at gestational day 12.5. For primary neuronal cultures, the E18 embryos were sacrificed, and hippocampal neurons were dissociated and cultured with astrocyte feeder layer. Neurons from the saline-treated embryos were used as a control. Neurons were fixed at 7 DIV, and the developmental processes were compared with control neurons. For gene expression profiling, after the completion of the series of behavioral tests including maternal separation-induced ultrasonic vocalization and social interaction tests, total RNA was isolated from the forebrain, and PCR arrays of dopamine & serotonin related genes and synaptic plasticity related genes (QIAGEN) were conducted.

VPA-exposed mice exhibited the autism-like phenotypes, such as less vocalization after maternal separation at first week after birth, and less exploring activity to the unfamiliar mouse in the juvenile age. Then, we analyzed the morphology of cultured neurons at early developmental stage (DIV7). We found that the arborization of proximal dendrites were significantly increased In VPA-exposed neurons, whereas each dendrite was significantly shorter in length. We also found that the density of protrusions (both spines and filopodia) was increased in VPA neurons. To identify the responsible genes for phenotypes of VPA neurons, we conducted a large-scale screening of expression of dopamine & serotonin transmission-related and synaptic plasticity-related genes in VPA-exposed mouse brain. We found altered expression of several genes including genes for monoamine synthetic enzymes, receptors, monoamine transporters, transcription factors, cell adhesion molecules, cell differentiation-related molecules, and several glutamate receptors. The alteration in expression of these genes may affect various processes of brain development from micro-structure of neurons to neural network formation.

硫酸イオン欠乏条件における *D27* を介した葉の老化機構の解明

Elucidation of leaf senescence mechanism through *D27* under sulfate ion deficiency

研究代表者　進藤 真登（生命科学研究科 生命科学専攻）
指導教員　梅原 三貴久　印

研究期間／平成 30 年 4 月 10 日～平成 31 年 2 月 15 日

キーワード／
①ストリゴラクトン　Strigolactone
②非生物学的ストレス　　Abiotic stress
③*DWARF27*
④イネ　*Oryza sativa* L.
⑤クロロフィル含量　Chlorophyll contents

平成 30 年度交付額／560,000 円

研究発表／学会および口頭発表

1）原著論文（すべて査読有）

- "Up-regulation of *DWARF27* is associated with increased strigolactone levels under sulfur deficiency in rice", **Masato Shindo**, Koichiro Shimomura, Shinjiro Yamaguchi, Mikihisa Umehara, *Plant Direct*, vol.2, e00050, 2018
- "Low infection of *Phelipanche aegyptiaca* in Micro-Tom mutants deficient in *CAROTENOID CLEAVAGE DIOXYGENASE 8*", Shoko Hasegawa, Takuya Tsutsumi, Shunsuke Fukushima, Yoshihiro Okabe, Junna Saito, Mina Katayama, **Masato Shindo**, Yusuke Yamada, Koichiro Shimomura, Kaori Yoneyama, Kohki Akiyama, Koh Aoki, Tohru Ariizumi, Hiroshi Ezura, Shinjiro Yamaguchi, Mikihisa Umehara, *International Journal of Molecular Sciences*, vol.19, 2645, 2018
- "Effects of Strigolactones on Grain Yield and Seed Development in Rice", Yusuke Yamada, Mami Otake, Takuma Furukawa, **Masato Shindo**, Koichiro Shimomura, Shinjiro Yamaguchi, Mikihisa Umehara, *Journal of Plant Growth Regulation*, 2018, in press

2）和文総説（査読無）

- 「栄養欠乏に応答して増加するストリゴラクトンの役割」、**進藤 真登**、梅原 三貴久、*アグリバイオ*、vol.2、pp.84-86、2018

3）学会発表（すべて査読無）

- 第 36 回 日本植物細胞分子生物学会　「イネのストリゴラクトン生合成における硫黄認識部位と栄養欠乏の組み合わせの影響」　口頭発表　2018 年 8 月 金沢商工会議所会館・石川県文教会館
- 第 4 回　植物の栄養研究会　「硫酸イオン欠乏に適応するために *D27* の働きが必要である」ポ

スター発表　2018 年 9 月　京都大学

・第 60 回　日本植物生理学会　「イネの葉身屈曲におけるストリゴラクトンとブラシノステロイドの相互作用」口頭発表　2019 年 3 月　名古屋大学（発表予定）

研究経過および成果の概要

１．研究方法

植物は固着性があるため、環境の変化に応答して自身の形態を変化させることでその場の環境に適応する。降雨や連作は根圏栄養の減少を引き起こし、植物の生育阻害や種子収量の低下など様々な栄養欠乏症の原因となる。栄養欠乏環境に適応するための戦略の 1 つとして、ストリゴラクトン（SL）の産生量を高める。SL は枝分かれ抑制、葉の老化促進、主根伸長促進など多様な作用を示す植物ホルモンで、窒素（-N)、リン酸（-P）欠乏条件で SL の産生量が増加する。このことから、栄養欠乏環境で増加する SL は、栄養の浪費を防ぎ、転流を促すことで栄養欠乏環境への適応に寄与すると考えられる。研究代表者はこれまでに硫酸イオン欠乏（-S）においても SL 産生量が増加し、SL 生合成酵素をコードする遺伝子のひとつ、*D27*が-S で高発現することを明らかにした。*d27*変異体が S 欠乏症を強く発症した。*d27*変異体が発症した主な S 欠乏症は、分げつ数の減少や葉の黄化である。面白いことに、他の SL 欠損変異体を-S で栽培しても、これらの S 欠乏症はほとんど観察されない。そこで、本研究では-S で栽培した *d27*変異体の葉が黄化した原因を追究することを目的とした。-S で SL 変異体を栽培した結果、*d27*変異体のみ葉の老化が促進されたことから、他の栄養欠乏に対する葉の老化の応答性を調べるために、SL 産生量が増加する条件の 1 つ、-P でイネ野生型（WT）と *d27*変異体を栽培して、第 3 葉のクロロフィル含量を SPAD-502 Plus を用いて測定した。-S で栽培した *d27*変異体の葉が黄化と SL 欠損の関係を調べるために、-S 栽培による SL 産生量の変化と *d27*変異体に合成 SL の GR24 処理による第 3 葉のクロロフィル含量への影響を調べた。

２．研究経過および成果の概要

WT と *d27*変異体を栄養十分条件、-S、-P で栽培して、第 3 葉のクロロフィル含量を測定した。その結果、栄養十分条件と比べて-S で栽培した WT は約 2/3、*d27*変異体は約 1/2 クロロフィル含量が低下した。これに対して、WT と *d27*変異体を-P で栽培しても栄養十分条件とほぼ同程度のクロロフィル含量であった。これらの結果から、*d27*変異体は-S 特異的に葉の黄化が促進されることが示唆された。次に、-S 栽培による SL 産生量の変化を調べるために、WT と *d27*変異体を栄養十分条件、-S、-P で栽培して、根における内生 SL 量を LC-MS/MS を用いて定量分析した。その結果、栄養十分条件と比べて-S で栽培した WT は約 10 倍、-P で栽培した WT は約 80 倍 内生 SL 量が増加した。一方、*d27*変異体は検証した全ての実験条件において内生 SL 量は検出限界以下であった。また、-S で栽培した *d27*変異体に GR24 処理した結果、第 3 葉のクロロフィル含量は対照区とほぼ同程度であった。これらの結果から、-S 栽培で栽培した *d27* 変異体は、SL 以外の植物ホルモン（アブシシン酸やエチレンなど)、もしくは活性酸素種に代表される老化制御因子によって葉の老化が制御される可能性が考えられる。

３．今後の研究における課題または問題点

当該研究期間において、-S で栽培した *d27* 変異体の葉が黄化した原因を解明するには至らなかったが、いくつかの可能性を提案する。*d27*変異体は SL を産生することができないにも関わらず、-S 特異的に葉の黄化が促進された。これらの結果から、*D27*は SL 生合成遺伝子として働くのみでなく、-S へ

の適応に重要な役割を持つ可能性が考えられる。すなわち、この役割が欠損している *d27* 変異体では、S 欠乏症を強く発症した可能性である。-S で栽培した *d27* 変異体に GR24 処理した結果、第 3 葉のクロロフィル含量は対照区とほぼ同程度であった。この結果は、GR24 が第 3 葉まで輸送されていない可能性を示しており、葉切片に対して GR24 を処理するなど追加検証が必要である。

S 認識部位がイネのどこにあるのかを調べるために、2 つに分けたイネの根をそれぞれ異なる条件に曝す根分け法を用いて硫黄含量を ICP-MS を用いて定量した。その結果、地上部の硫黄含量の低下が SL 産生量の増加を誘導する可能性が示唆された。これらの結果から、-S で生育するイネは地上部の硫黄含量が低下することで、根で SL 産生が増加し、葉の老化が促進される。一方、*d27* 変異体ではなんらかの葉の老化制御因子の恒常性が変化するため、葉の老化が促進されることが考えられる。さらに、*D27* はアーバスキュラー菌根菌（AM 菌）との共生シグナル因子である *NODULATION SIGNALING PATHWAY* によって遺伝子発現が制御される。すなわち−S で *D27* が高発現することで、AM 菌との共生が促進される可能性がある。そこで今後の研究では、−S で高発現していた *D27* が根圏微生物との共生に与える影響についても検証する。

Summary

Strigolactones (SLs) are a class of plant hormones that inhibit shoot branching and promote leaf senescence. Plants produce SLs in roots in response to nitrogen (−N) and/or phosphate (−P) deficiencies. In my previous study, I elucidated whether SL levels increased under sulfur deficiency (−S) are due to a high expression of *D27*. Tiller number of *d27* mutant was higher than that of wild-type (WT) but lower than other SL mutants under −S. Chlorophyll (Chl) contents of *d27* mutant were similar to WT and other SL mutants under +S, but lower than that in other SL mutants under –S. In this study, I focused on stimulation of leaf senescence in *d27* mutant under –S. I evaluated that Chl contents of WT and *d27* in the 3rd leaves under control, –S, and –P. In addition, I checked SL levels in *d27* under –S, and effects of a SL analogue GR24 on leaf senescence of *d27* mutant.

Chl contents decreased by 2/3 in WT and 1/2 in *d27* mutant under –S compared with +S. In contrast Chl contents did not change largely in both WT and *d27* mutant under –P compared with +P. These data indicate that stimulation of leaf senescence under –S is *d27* mutant specific. In WT, SL levels increased by 10 times under –S and 80 times under –P compared with control. On the other hand, SL was not detected in *d27* mutant under control, –S, and –P. Thus, GR24 treatment did not change Chl contents in *d27* mutant under +S and –S. However, GR24 might not be transported to the 3rd leaves. I will carry out GR24 treatment in leaf segment.

Here, I suggest two possibilities on stimulation of leaf senescence in *d27* mutant. First, *D27* plays an important role in adaptation to –S in rice because Chl contents decreased in *d27* mutant under –S. As a result, *d27* mutant might show –S symptom strongly. Second, leaf senescence of *d27* mutant under –S might be regulated by leaf senescence regulator. *D27* expression is regulated by *NODULATION SIGNALING PATHWAY* (*NSP*) that is a transcription factor associated with arbuscular mycorrhizal (AM) fungi symbiosis. Therefore, rice *D27* contributes to promote symbiosis with AM fungi through *NSP* regulation under –S.

糖修飾トリスビピリジン鉄錯体の合成とイオン応答性の評価

Preparation and conformational analysis of tris-bipyridine ferrous complexes having multiple glycoclusters and ion-induced changes of their carbohydrate packings

研究代表者　千明　脩人（生命科学研究科 生命科学専攻）
指導教員　長谷川　輝明　印

研究期間／平成 30 年 4 月 10 日～平成 31 年 2 月 15 日
キーワード／①糖鎖間相互作用　CCIs
②糖パッキング　Carbohydrate packings
③コンホメーション変化　Conformational change
平成 30 年度交付額／492,000 円

研究発表／(1)学会および口頭発表

- 第 37 回日本糖質学会
  平成 30 年 8 月
- 第 12 回バイオ関連化学シンポジウム
  平成 30 年 9 月
- 第 8 回 CSJ 化学フェスタ 2018
  平成 30 年 10 月
- The 16th International Symposium on Bioscience and Nanotechnology
  平成 30 年 12 月

研究経過および成果の概要

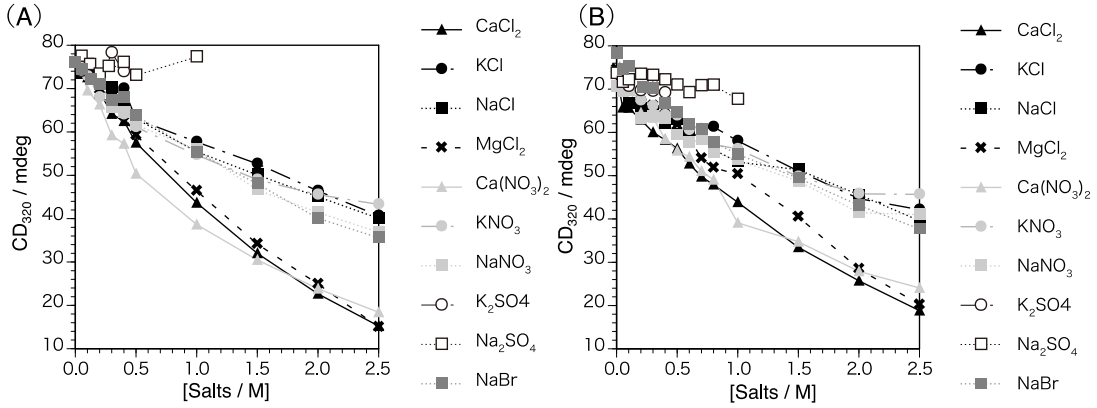
１．研究方法

トリスビピリジン鉄錯体を合成するのにあたり、ラクトース（Lac: Gal-β1.4-Glc）またはマルトース（Mal: Glc-α1.4-Glc）と、スペーサーとしての L-セリンを出発原料とした 8 段階の反応で、アセチル化 Lac 修飾ビピリジンおよびアセチル化 Mal 修飾ビピリジンを合成した。その後、$NaBH_4$ を用いたメチルエステルの還元とアセチル基の加水分解によって、Lac 修飾トリスビピリジンおよび Mal 修飾トリスビピリジンを合成した。その後、これらの糖修飾ビピリジンの水溶液に $FeCl_2$ を添加することで $[Fe(bpyLac)_3]^{2+}$（Lac 錯体）および $[Fe(bpyMal)_3]^{2+}$（Mal 錯体）を合成した。これらの糖修飾トリスビピリジン鉄錯体に、各種無機塩（塩化物塩、硝酸塩、硫酸塩、臭化物塩）と共存させて CD スペクトルを測定することで、これらの無機塩の存在によって引き起こされる糖クラスターのコンホメーション変化を解析した。

２．研究経過および成果の概要

糖修飾トリスビピリジン鉄錯体は、錯体中心のねじれや糖鎖の空間配置が異なる 2 つの異なる異性体

（Δ型、Λ型）が存在する。これらの異性体はお互いに動的平衡条件下にあり、各種イオンの添加により特定の異性体内部で CCIs が誘起されれば、それが引力として当該異性体が安定化され、その存在比が増大する。この異性体存在比の変化を検出することが可能である CD スペクトル測定により、異性体存在比を詳細に解析することができ、糖クラスターのコンホメーション変化を解析することができる。Lac 錯体および Mal 錯体の糖クラスターのコンホメーション変化を CD スペクトル測定にて解析した。Lac 錯体および Mal 錯体ともに、塩非存在下では 320 nm に正の、300 nm に負のピークを有する CD スペクトルを示した。これは□型特有の CD スペクトルであり、Lac 錯体および Mal 錯体ともに□型の存在量が□型と比べて多く、塩非存在下では□型の方が安定であることを示している。次に、塩化物塩（NaCl、$CaCl_2$、KCl、$MgCl_2$）、硝酸塩（$NaNO_3$、$Ca(NO_3)_2$、KNO_3）、および臭化物塩（NaBr）をそれぞれ錯体水溶液に添加したところ、Lac 錯体および Mal 錯体ともに、濃度依存的に前述の CD シグナル強度が減少した。NaCl または KCl 添加時の CD スペクトル変化、もしくは $NaNO_3$ または KNO_3 添加時の CD スペクトル変化をそれぞれ比較した結果、大きな違いがないことから、Lac 錯体および Mal 錯体と相互作用しているのは、陽イオン（Na^+や K^+）ではなく陰イオン（Cl^-や NO_3^-）と考えられる。また、硫酸塩（Na_2SO_4、K_2SO_4）添加した際の CD スペクトルでは変化が見られないものの、UV スペクトル測定において MLCT 吸収帯のピークが上昇していることから、コンホメーション変化が起きていると判断できた。



次に、錯体のどの部位とこれらの陰イオン（Cl^-、NO_3^-）が相互作用しているのか特定するために Lac 錯体または Mal 錯体水溶液（1 M $CaCl_2$）に Lac を添加し、CD スペクトル測定を行った。得られた CD シグナルの値に大きな変化がないことから、$CaCl_2$ に含まれる Cl^-は溶液中の Lac と相互作用することなく Lac 錯体
と Mal 錯体のみ　図 1. 各種塩添加による Lac 錯体 (A) および Mal 錯体 (B) の CD320
と相互作用して
いることが判明した。このことから、陰イオンは錯体中の糖鎖部位とではなく、セリン骨格と相互作用していると判断できる。セリン骨格の中で陰イオンと相互作用しそうな部位としてはアミド基が考えられ、細胞膜に含まれているスフィンゴ糖脂質もその分子内のアミド基で Cl^-や NO_3^-と相互作用し、糖部位のコンホメーション変化を引き起こしている可能性が十分に考えられる。

３．今後の研究における課題または問題点

当初申請していた研究内容では、セリン骨格と GlcNac を有するビピリジン鉄錯体を合成し、酵素を用いた糖転移反応によって sLe^x を有するビピリジン鉄錯体を合成する予定だった。しかし、セリン骨格を有する糖鎖を合成するにあたり、収量を得ることができず、当初予定していた実験系では研究を試

みることができなかった。そこで、より安価に入手できる糖鎖として Lac と Mal を修飾したトリスビピリジン鉄錯体を構築し、各種無機塩添加による糖パッキングの変化を評価した。よって、セリン骨格と sLe^x 有するビピリジンの合成方法を検討する必要がある。

Summary

Glycosphingolipids (GSLs) on cell surfaces laterally aggregate into microdomains presenting densely packed carbohydrate clusters (glycoclusers), and the resultant glycoclusters play essential roles in various cellular recognition events. Especially, interfacial interactions between two microdomains on adjacent cells are now widely recognized as "carbohydrate-carbohydrate interactions (CCIs)". Such CCIs have attracted increasing research interest, since they initiate various cell-cell adhesions including cancer metastases. Little information concerning CCIs has been obtained so far, suffering from fluidic and heterogeneic natures of cell surfaces. It is, however, widely recognized that certain ions, Ca^{2+} in most cases, are essential to induce CCIs. In spite of its importance, not only fluidic nature but also fluctuations of glycosphingolipid levels on the cell surfaces make it quite difficult to investigate CCIs in a detailed manner. Simple and well-designed model systems are, therefore, highly required in this research field.

Recently, we developed tris-bipyridine ferrous complexes presenting hexavalent lactosides ($[Fe(bpyLac)_3]^{2+}$) and maltosides ($[Fe(bpyMal)_3]^{2+}$) and assessed their conformations in aqueous media containing various concentrations of salts.

Each of these metalloglycoclusters ($[Fe(bpyLac)_3]^{2+}$ or $[Fe(bpyMal)_3]^{2+}$) is composed of two diastereomers (Δ and Λ) having own carbohydrate packings. Since these two diastereomers are under dynamic equilibrium and Δ-Λ ratio can be readily assessed through circular dichroic (CD) spectral analyses, the metalloglycoclusters function as unique artificial models to probe ion-induced rearrangements of carbohydrate packings within the glycoclusters. In fact, we found that the Δ–Λ ratios of these metalloglycoclusters changed on additions of various ions (Na^+, K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Cl^-, NO_3^-, SO_4^{2-}). Although mechanisms of these ion-induced rearrangements of their carbohydrate packings are still unclear, these data imply that glycoclusters on the cell surface also bind various cations/anions to change their carbohydrate packings.

ゴシポールに対するアルデヒド基導入およびその糖修飾とそれら機能

Preparation and functional analysis of formylated gossypol and that having four glycolsides

研究代表者　天野 善継（生命科学研究科生命科学専攻）
指導教員　長谷川　輝明　　印

研究期間／平成 30 年 4 月 10 日～平成 31 年 2 月 15 日
キーワード／①ゴシポール　Gossypol
②配糖体化　Glycosidation
③抗腫瘍活性　Anti-tumor activity
④細胞部位標的性　Cell-organ specificity
⑤ペプチド固相合成　Solid phase peptide synthesis
平成 30 年度交付額／414,000 円

研究発表／学会および口頭発表

- Preparation and functional analysis of gossypols having two carbohaydrate appendages 第 37 回日本糖質学会
  平成 30 年 8 月
- Synthesis of glycosylated gossypols and their anticancer activity
  第 12 回バイオ関連化学シンポジウム
  平成 30 年 9 月
- Introduction of carbohydrates into Gossypol and functional analysis of the resultant glycoconjugates　第 8 回 CSJ 化学フェスタ 2018
  平成 30 年 10 月
- Synthesis of gossypols having two glycosides and their anticancer effect
  The 16th International Symposium on Bioscience and Nanotechnology
  平成 30 年 12 月
- 日本化学会　第 99 回春季年会
  平成 31 年 3 月（予定）

研究経過および成果の概要

１．研究方法

綿実中に含まれる黄色化合物であるゴシポール（Gos）は、抗菌、殺虫作用および抗酸化作用によって植物の防御機構の一端を担っている。一方で、Gos は抗ウィルス活性や抗腫瘍効果などの優れた薬理活性を示すため、薬学分野において大きな注目を集めている。当研究の最終目的は、Gos の抗がん剤への応用である。その第 1 ステップである前研究では Gos のアルデヒド基がアミノオキシ基を有する化合物と脱水縮合してイミンを形成することに着目し、アミノオキシ基を有する糖鎖誘導体を合成したのち、Gos が有する 2 つのアルデヒド基に対して糖鎖を 1 分子ずつ導入した。結果として、糖 2 分子修飾 Gos（glyco$_2$Gos）は Gos に由来する抗腫瘍活性を示したものの、糖に由来する機能（水溶性および細胞標的性）が十分に発揮されておらず、最終目的を達するには未だ改善の余地があった。

そこで、本研究では Gos に導入する糖鎖を増やすことで糖鎖に由来する機能を向上させることを試みた。具体的には Fmoc ペプチド固相合成法によって分子末端に計 4 分子のラクトース（Lac）と 1 つのアミノオキシ基を有するペプチドを合成し、得られたペプチドを Gos とカップリングすることで Lac を 8 分子導入した Gos（Lac_8Gos）の合成を行った。

その後 Lac_8Gos の高濃度水溶液を作製し、UV-vis スペクトル測定にて水溶性を評価した。続いて、ヒト結腸腺がん由来の DLD-1 細胞およびヒト肝がん由来の HepG2 細胞に対して Lac_8Gos を 48 時間処理し、WST-8 アッセイを行うことで Lac_8Gos の抗腫瘍活性を調査した。

２．研究経過および成果の概要

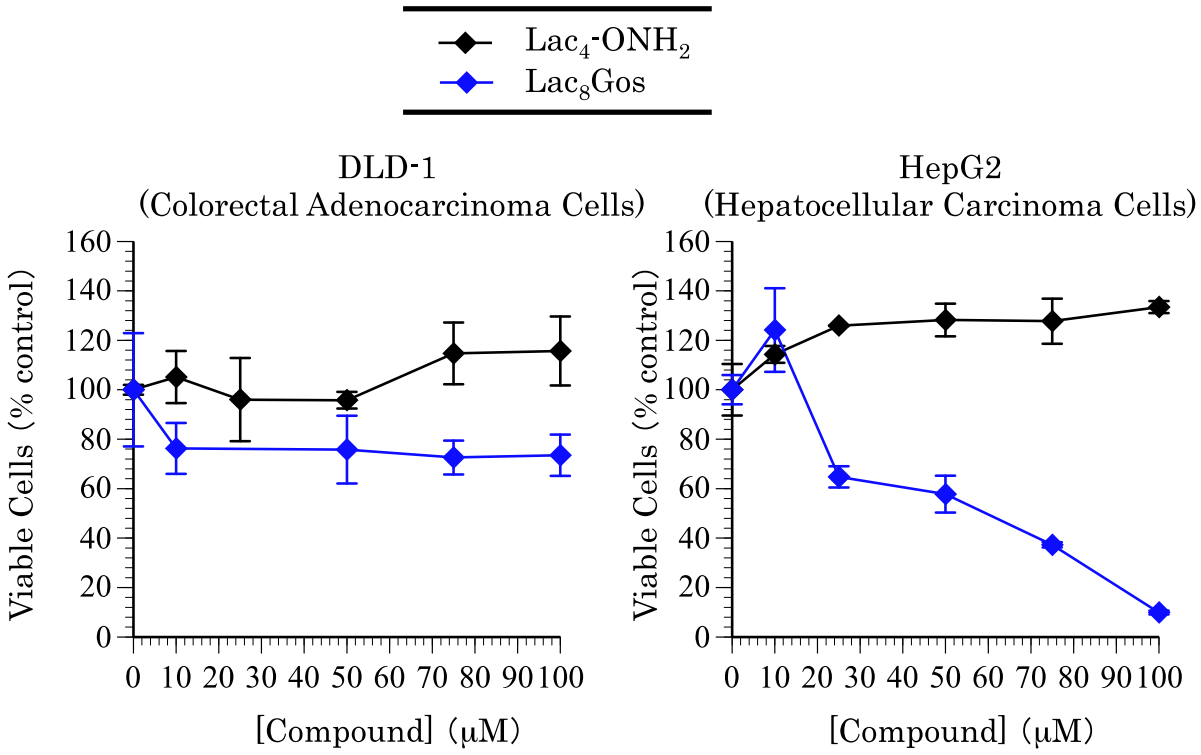
本研究の開始段階において、当初は Gos の 4、4'位にアルデヒド基導入を行うことで、アミノオキシ基を有する糖鎖の結合部位を増やし、糖鎖を 4 分子修飾することを試みていたが、結果的に Gos のホルミル化方法を確立することはできなかった。この原因として、Gos のアルデヒド基の反応性の高さと Gos が 2 量体構造であることが挙げられる。まず、Gos のアルデヒド基はヒドロキシ基を有する有機溶媒と脱水縮合したり、Gos 分子内のヒドロキシ基とヘミアセタールを形成し互変異性を起こしたりするだけでなく、有機溶媒中では分子内脱水縮合を起こすことが知られている。また、2 量体であるために、薄層クロマトグラフィーや高速液体クロマトグラフィーにおけるスポットやピークの数が単量体時よりも複雑になる。これにより、複数の不純物が生じるような反応を行なった場合、そのスポットやピークは膨大な数となり、目的物を特定、精製することが非常に難しくなる。以上のことから、本研究では Gos のホルミル化を諦め、前述したように 1 つのアルデヒド基に対して修飾する糖鎖の数を増やすことで糖鎖に由来する機能を向上させるアプローチを採った。この手法であれば、反応性の高いアルデヒド基はアミノオキシ基によってすぐさま置換され、不純物が生じることはない。

Fmoc（9-フルオレニルメトキシカルボニル）ペプチド固相合成法によって分子末端に 4 つのアミノ基および 1 つの Boc（*tert*-ブトキシカルボニル）保護されたアミノオキシ基を有する樹状オリゴペプチドを樹脂上で合成した。一方で 2,3,6,2',3',4',6'-ヘプタ-*O*-アセチル-β□ラクトシルアジドを 4-ペンチン酸と Huisgen 環化し、カルボキシ基を有するアセチル化 Lac 誘導体（AcLac-COOH）を合成した。次いで、樹状オリゴペプチド樹脂の 4 つのアミノ基と AcLac-COOH との脱水縮合反応、90%TFA aq.による Boc 基の脱保護および樹脂からの樹状オリゴペプチドの切り出し、さらにはナトリウムメトシドによる脱アセチル化を経て、分子末端に Lac を 4 つとアミノ基を 1 つ有するデンドロン（Lac_4-ONH_2）を合成した。Lac_4-ONH_2 を Gos と混和することで Gos をコアに有する糖デンドリマー（Lac_8Gos）を合成した。

得られた Lac_8Gos の高濃度水溶液を作製し、UV-vis スペクトル測定にて水溶性を評価した。その結果、Lac_8Gos の水溶性は少なくとも 10 mM 以上であることが示され、Gos に導入する糖鎖を 2 分子から 8 分子に増やすことによって、水溶性が劇的に向上することが示された。具体的には Gos と比較して 10 万倍、$glyco_2Gos$ と比較しておよそ 600～1600 倍以上の水溶性の向上が確認された。また、この水溶性は一般的な抗がん剤の水溶性（> 10 mM）と同程度であったことから、Gos の難水溶性の問題点を糖鎖修飾によって完全に克服したと考えた。

続いて、ヒト結腸腺がん由来の DLD-1 細胞およびヒト肝がん由来の HepG2 細胞に対して、様々な濃度に調整した（0～100 μM）Lac_8Gos を 48 時間処理した後、WST-8 アッセイにて各々の細胞増殖抑制効果を評価した。結果として Lac_8Gos は、DLD-1 には細胞増殖抑制効果を示さず、HepG2 に対してのみ濃度依存的にその増殖を抑制したことが確認された。このことは、Lac_8Gos がその高い水溶性によって細胞へ非特異的に浸透拡散しなくなった一方で、HepG2 の細胞膜上の糖鎖受容体によって特異的に HepG2 へ Lac_8Gos が取

り込まれたことを意味している。すなわち、Lac_8Gos は標的とする細胞に対してのみ効果を発揮する、



優れた細胞標的性を獲得したといえる。

図1.　WST-8 アッセイによる DLD-1、HepG2 に対する Lac_8Gos および Lac_4-ONH_2 の細胞増殖抑制効果評価

３．今後の研究における課題または問題点

本研究において合成された Lac_8Gos は、前研究からシリカゲルやイオン交換樹脂などの担相を用いた精製が難しいことが予想されていたため、特に精製を行っておらず、原料である Lac_4-ONH_2 を含んでいる。Lac_4-ONH_2 は WST-8 アッセイにて細胞毒性を有していないことを確認していたものの、Lac_8Gos を医薬品として用いるには Lac_4-ONH_2 を取り除く必要がある。また、抗腫瘍活性のメカニズムに関しても、果たして原料 Gos の抗腫瘍活性メカニズムと同様なのかは本研究では明らかにしていない。

したがって、今後の予定としては精製方法の確立と Lac_8Gos の抗腫瘍活性を解明するための研究を進めていく予定である。

Summary

Gossypol (Gos), a polyphenol isolated from cotton plants, shows antioxidative, antibacterial, and insecticidal activities and therefore, it is widely believed to play central roles in protection systems in these plants. In addition, Gos shows anticancer activity for human and contraceptive activity for male. However, its cytotoxicity and low water-solubility stemmed from its two aldehyde groups and naphthyl rings, respectively, strongly hinder its application as an anticancer drugs. Introduction of carbohydrate units onto these aldehyde groups would be the most promising strategy to simultaneously solve both these problems. In addition, the resultant Gos-based anticancer drugs should have potential cell/organ specificities originating from the carbohydrate units. In the previous study, we focused our attention on dehydration reaction between aldehyde (-CHO) and

aminooxy groups (H_2NO-R) to form iminooxy linkages (-CH=N-O-R). In detail, we synthesized carbohydrate derivatives having aminooxy groups (H_2NO-R) and mixed with Gos to access $glyco_2$Gos in which two carbohydrate units are tethered onto Gos scaffold through iminooxy linkages. The $glyco_2$Gos showed moderate cell/organ specificity and slightly improved water-solubility. However their cell/organ specificity and water solubility were still low. In this study, we synthesized new Gos having eight lactose (Lac_8Gos), since that is expected to have improved cell/organ specificity and water solubility. We prepared peptide-based dendron having four lactoside terminals (Lac_4-ONH_2) by solid-phase peptide synthesis (SPPS) and then Lac_4-ONH_2 were mixed with Gos to give Lac_8Gos. Successful syntheses of that Gos-based glycoconjugates were confirmed through their ESI-TOF MS. We also evaluated water solubility of Lac_8Gos through UV-vis spectral measurement. As a result, Lac_8Gos indicated high solubility that is more than 10 mM to water.

In order to investigate anticancer activity of Lac_8Gos, we carried out WST-8 assays for DLD-1 cells and HepG2 cells. The WST-8 assays elucidated that Lac_8Gos has selective antiproliferation effect for HepG2. This fact indicates Lac_8Gos gained prominent cell/organ specificity derived from lactosides.

シロイヌナズナゲノムの超高深度シーケンシングによる変異誘発処理当代における効率的な変異検出系の開発

Development of mutation detection system in mutagenized Arabidopsis plants by maximum-depth sequencing

研究代表者　平田 翔也（生命科学研究科　生命科学専攻）
指導教員　　鳴海 一成　印

研究期間／平成 30 年 4 月 10 日～平成 31 年 2 月 15 日
キーワード／①突然変異　Mutation
②シロイヌナズナ　Arabidopsis
③シーケンシング　Sequencing
平成 30 年度交付額／558,000 円

研究発表／学会および口頭発表

・平田翔也ら「植物色素フラボノイドに着目した変異誘発処理当代植物における突然変異検出」平成 31 年 3 月　日本農芸化学会　口頭発表（予定）

研究経過および成果の概要

１．研究方法

本研究では、バクテリア用に開発された超高深度シーケンシング（Maximum-depth sequencing; MDS）法を植物研究に適用することを目的に、モデル植物シロイヌナズナのフラボノイド合成遺伝子である *TT4* 遺伝子および *TT8* 遺伝子をターゲットとして、MDS に資する植物 DNA ライブラリー作製法のプロトコル化を行った。バクテリアの MDS 法に倣い、*TT4* 遺伝子中に、次世代シーケンサ（NGS）ショートリードで解析可能な約 150 bp の関心領域（ROI）を設定した。この領域を特異的に増幅するために、(i) ROI に特異的にアニールする配列、(ii) 各 ROI 配列分子を独立にラベルするためのバーコード配列（N_{14}）、(iii) NGS による解読を可能とするアダプター配列、からなる、ROI の 3'側にアニールするオリゴ DNA（以下、ROI-3'オリゴ DNA とする）を合成した。また、上記(i) および (iii) の要素で構成される、ROI の 5'側にアニールするオリゴ DNA（以下、ROI-5'オリゴ DNA とする）も合成した。

通常条件で育成したシロイヌナズナ植物からゲノム DNA を抽出した。各ゲノム分子に由来する ROI に独立のバーコードを付与するために、ROI の 3'部位を認識する制限酵素でゲノム DNA を切断後、ポリメラーゼによる ROI-3'オリゴ DNA の付加・伸長反応を行った。反応産物を精製後、ROI-3'オリゴ DNA 中に配置したアダプター配列をプライマーとして、各 ROI 分子の線形増幅を行った。この線形増幅過程によって特定のバーコードを有する ROI が複製され、オリジナル ROI に存在していた変異塩基は、複製産物の全てで共通して存在する。一方で、増幅過程でのエラーに起因する変異塩基は一部の増幅産物のみに存在するため、両者を識別することができる。

線形増幅の後、ROI-5'オリゴ DNA を添加し、ROI-3'オリゴ DNA 中および ROI-5'オリゴ DNA 中に配置した 2 種類のアダプター配列をプライマーとして用いて、ROI を特異的に増幅した。得られた増幅産物をアガロースゲル電気泳動で確認し、必要に応じて、目的とする ROI 配列を含む断片のみをアガロースゲルから回収した。

２．研究経過および成果の概要

研究代表者のこれまでの研究で、モデル植物シロイヌナズナにおいて、複数の異なる遺伝子座における突然変異出現頻度を簡便に検出する実験系の構築に成功し、2 つの遺伝子（*TT4* および *TT8*）における突然変異頻度が異なる可能性を示唆する結果を得ている。そこで、まず *TT4* 遺伝子に ROI を設定し、この領域に関する MDS 用 DNA ライブラリーの作製を試みた。バクテリアにおける反応手順や反応組成に基づいて *TT4* 遺伝子の ROI 増幅を試みたところ、目的断片は増幅されなかったことから、以下に述べる条件検討を行った。

ROI を特異的に増幅するためには、最初のステップである ROI-3'オリゴ DNA の付加反応が非常に重要である。そこで、ROI-3'オリゴ DNA 付加および伸長反応時におけるオリゴ DNA 濃度を検討し、最適な濃度を見出した（0.1 μM）。ついで、次のステップである線形増幅および PCR 反応におけるプライマー濃度を検討した。その結果、0.5 μM のプライマーを添加した際に目的断片が増幅されるが、同時に、複数の非特異的断片も増幅されることが分かった。非特異的な増幅を抑制するためにはアニーリング温度の上昇が効果的と考え、ROI-3'オリゴ DNA 付加・伸長反応におけるアニーリング温度をこれまでの 68℃から 71℃まで上昇させた場合の増幅様相を観察した。しかしながら、上記の検討範囲では、非特異的産物を抑えて目的断片を増幅する条件は見出すことができなかった。次のステップである線形増幅および PCR 反応におけるアニーリング温度も同様に検討したが、非特異的産物の抑制には至らなかった。一方で、非特異的増幅産物が目的産物よりも大きい断片であったことから、線形増幅および PCR 反応における伸長時間の短縮による効果を検討した。これまでの 15 秒の伸長時間を 5 秒に短縮したところ、非特異的産物の増幅を抑制しながら、目的断片のみを効率よく増幅することを見出した。サンガー法によって、目的断片が設定した ROI 領域を含むことを確認し、MDS に供試できる DNA ライブラリーの作製に成功した。

上記実験においては、ペアエンド（PE）法による NGS 解読作業を想定していたが、近年の NGS 解析では解読可能情報量が格段に向上している傾向を受け、現在では、多数の検体を同時解析するマルチプレックス（MP）シーケンスが主流となっている。また、上記実験で用いた 2 種類のオリゴ DNA が約 100 mer と非常に大きいため、その合成に時間とコストがかかっていた。様々な ROI における増幅を検討するためには、それぞれの ROI に適したオリゴ DNA を合成することが不可欠で、その合成に係る時間とコストを低減することが MDS 解析成功の鍵を握ると考えられる。これらのことから、上記 2 種類のオリゴ DNA に含まれる要素配列を分断化させたオリゴ DNA を用いて、ライブラリー作製条件を最適化することが重要と考えた。そこで、異なる遺伝子（*TT8* 遺伝子）中に設定した ROI を対象に、アダプター配列中に含まれる PE 用配列を MP 用配列に変更するとともに、要素配列を分断化した 4 種類のオリゴ DNA（58～68 mer）を設計して、MDS 用 DNA ライブラリーの作製を試みた。その結果、要素配列を分断化させたオリゴ DNA を用いた場合でも、十分な目的産物が得られることを確認できた。このようにして、MDS 解析に供試可能な DNA ライブラリー作製方法を、植物ゲノムにおいて初めてプロトコル化することに成功した。

３．今後の研究における課題または問題点

本研究の当初計画では、MDS に係るライブラリー作製を完了し次第、受託 NGS 解析へ供試することを計画していた。一方で、バクテリアにおける MDS 法が開発されて以降、NGS 機器においても種々のプラットフォームが発展してきている。それらに対応するためには、異なるアダプター配

列を有した場合でのライブラリー作製や、異なる複数の遺伝子座におけるライブラリー作製といった不可欠要素をプロトコル化することが重要と考え、業務委託費として計上していた予算を消耗品費に変更した。その結果、2 つの遺伝子座について、異なるシーケンシング法に対応した MDS 用ライブラリー作製方法を構築することに成功した。現在、作製したライブラリーを用いた NGS 解析を進めている。これにより、MDS に必要な情報量や、突然変異を誘発した場合における検出感度などを把握することにつながり、研究代表者がこれまでに見出している *TT4* 遺伝子と *TT8* 遺伝子の突然変異頻度について、DNA レベルでの知見が得られるものと期待される。

Summary

In order to develop a system that can detect mutations in mutagenized plants, maximum-depth sequencing (MDS) was modified from the original bacterial protocol. For completing MDS, the target sequence was is set as region of interest (ROI), and multiple copies of the target sequence derived from individual plant genomes are pooled to use as a DNA library in next generation sequencing (NGS) analysis. In this work, a part of *TRANSPARENT TESTA4* (*TT4*), one of the flavonoid biosynthetic genes in model plant Arabidopsis, was chosen as a target sequence. Oligonucleotides consisting of P5 adaptor sequences, barcode sequences, and specific sequences that anneal to 3'-site of ROI (called ROI-3' oligo DNA), and of P7 adaptor sequences and specific sequences that anneal to 5'-site of ROI (called ROI-5' oligo DNA), were separately synthesized. Polymerase reaction with ROI-3' oligo DNA labels each of target DNA molecule with arbitrary barcode sequences. After labeling with ROI-3' oligo DNA, linear amplification was performed with P5 sequences as primers. This step copies the original ROI molecules including original mutation sites but reduces polymerase errors during amplification. Then, the ROI-5' oligo DNA was added, and PCR reaction was performed with P5 and P7 primers. The first trial according to the method of bacterial genome could not produce the target DNA amplification from Arabidopsis genome. For MDS, the initial step by ROI-3' labeling is prerequisite for specific amplification of ROI. Then, the best concentration of ROI-3' oligo DNA in reaction mixture was investigated, and 0.1 μM was found to be the best concentration. Next, primer concentration in linear amplification and PCR reaction was considered. When 0.5 μM primers were included in the reaction, amplification of the target sequences, as well as other non-specific amplification products, were observed. To reduce the non-specific amplification, annealing temperature in linear amplification and PCR reaction was modified. However, this approach did not reach the purpose to reduce non-specific products. Then, extension time in linear amplification and PCR was modified. When shortening the extension time from 15 sec to 5 sec, effective amplification of the target sequences with reducing non-specific amplification was succeeded. Thus, amplification of ROI in Arabidopsis *TT4* was completed. Amplification of different target sequence (*TT8* gene) was also tried. In this case, different kinds of oligo DNA sequences were included. According to the method mentioned above, specific amplification of *TT8* ROI were also succeeded. As a result, this work can contribute to establish a protocol for DNA library amplification from plant genome by MDS.

乳癌治療のための二薬含有ニオソーム

Dual Drug loaded Niosomes for Breast Cancer Therapy

研究代表者　Srishti Agarwal (Doctoral Course, Bio Nano Fusion)
指導教員　　Prof. D.N. SakthiKumar　印

研究期間／平成 29 年 4 月 1 日～平成 30 年 3 月 31 日
キーワード／①Breast Cancer
②17-AAG
③Morusin
④Dual-drug
⑤Nanoparticles
平成 30 年度交付額／630,000 円

研究発表／学会および口頭発表

Thesis Publication:

- Therapeutic Nanoparticles as Efficient Drug Delivery Systems for Applications in Cancer Nanotechnology.

Scientific Papers:

- **Srishti Agarwal,** M.Sheikh Mohamed, Sreejith Raveendran, Ankit K. Rochani, Toru Maekawa and D. Sakthi Kumar. Formulation, characterization and evaluation of morusin loaded niosomes for potentiation of anticancer therapy, ***RSC Adv.***, 2018,**8**, 32621-32636.
- Chlorotoxin Modified Morusin-PLGA Nanoparticles for Targeted Glioblastoma Therapy. **Srishti Agarwal**, M. Sheikh Mohamed, Toru Mizuki Toru Maekawa and D. Sakthi Kumar (submitted).
- Dual drug delivery of morusin and 17-AAG loaded PLGA nanoparticles for combination therapy against breast cancer. **Srishti Agarwal**, Toru Maekawa and D. Sakthi Kumar (To be submitted).

Poster Presentations:

- Morusin Loaded Niosomes for Targeted Anticancer Therapy (poster presentation). **Srishti Agarwal,** M. Sheikh Mohamed, Sreejith Raveendran, Ankit K. Rochani, Toru Maekawa and D. Sakthi Kumar. Presented at International Conference on Nanomedicine and Nanobiotechnology (ICONAN) September 2018, Rome, Italy.
- Morusin Loaded Niosomes for Potentiation of Anticancer Therapy (poster presentation). **Srishti Agarwal**, M. Sheikh Mohamed, Sreejith Raveendran, Ankit Rochani, Toru Maekawa, D. Sakthi Kumar. 16th International Symposium on Bioscience and Nanotechnology (2018), BNERC, Toyo University, Kawagoe, Japan.
- Drug Loaded Niosomes for Targeted Cancer Therapy (poster presentation). **Srishti Agarwal,** Sreejith Raveendran, Sivakumar Balasubramanian, Ankit Rochani,

Priyadharshni Muniyandi, Toru Maekawa and D.Sakthi Kumar. 15th International symposium on Bioscience and Nanotechnology (2017), Toyo University, Japan.

研究経過および成果の概要

１．研究方法

○ **Synthesis of dual drug loaded nanoparticles**: The particles were synthesized using single-emulsion solvent evaporation method. Void nanoparticles (devoid of drug), 17-AAG, Morusin and Coumarin-6 (C-6) nanoparticles were synthesized likewise.

○ **Determination of yield, entrapment and loading efficiencies:** The UV-Vis absorption spectrum of free morusin, free 17-AAG, void PLGA nanoparticles and 17-AAG-MOR NPs was recorded using UV-Vis spectrophotometer. In order to analyze the entrapment efficiency of morusin and 17-AAG in the synthesized nanoparticles, the amount of free morusin and 17-AAG in the supernatant after each centrifugation step was computed. The amount of free drug was then measured against the calibration curve of the drug and the unknown quantity was computed.

○ **Physiochemical characterization of the nanoparticles:** The nanoparticles were dispersed in Milli Q water for all the analyses. The size and morphology of the synthesized nanoparticles was done using Hitachi SU6600 scanning electron microscope (SEM) and transmission electron microscopy (TEM). Zeta-potential and particle size distribution were calculated using zetasizer (Malvern, Nano-ZS).

○ ***In vitro* drug release profile of morusin and 17-AAG from dual drug loaded nanoparticles:** In order to study the release kinetics of 17-AAG and morusin from NPs, drug release studies were done. The nanoparticles were disseminated in phosphate saline buffer (PBS) in two different pH conditions (4.5 and pH 7.4). All experiments were performed in triplicates

○ **Cell culture studies:** Human breast adenocarcinoma (MCF-7) and triple negative human breast cancer (MDA-MB-453) cell lines were selected to carry out *in vitro* cell studies and analyze the therapeutic efficacy of NPs. L929 (mouse fibroblast cells) was principally used as a control cell line for the *in vitro* cell viability and proliferation studies.

○ **Cytocompatibility analysis:** To evaluate whether the bare nanoparticles (void NPs) display any toxicity, cytocompatibility analysis was carried out.

○ **Uptake and co-localization studies of NPs:** The internalization of NPs in MDA-MB-453, MCF-7 and L929 was examined by confocal microscopy. As morusin and 17-AAG are non-fluorescent, coumarin-6 nanoparticles were synthesized and used.

○ **Cell viability studies:** In order to check the efficacy of the NPs on MDA-MB-453, MCF-7 and

L929, cell viability was evaluated using presto blue.

○ **Live/dead assay:** In order to analyze the apoptotic and necrotic cell populations, the qualitative valuation of live and dead cells after nanoparticle treatment was done using confocal microscopy.

２．研究経過および成果の概要

○ **Nanoparticle synthesis and its characterization studies:** Nanoparticles (void, 17-AAG loaded morusin loaded, coumarin-6 loaded and dual drug loaded) were prepared using single emulsion-solvent evaporation method. For every batch of dual drug loaded NPs synthesized, the % yield was 30.12% ± 1.56 while void NPs had % yield around 39.23 ± 1.82. SEM and TEM images disclosed the size of dual drug loaded NPs in the range of 100- 200nm. The DLS measurements revealed NPs to have a size distribution in the range of 200-300 nm having a Z-average size of 235.2 nm

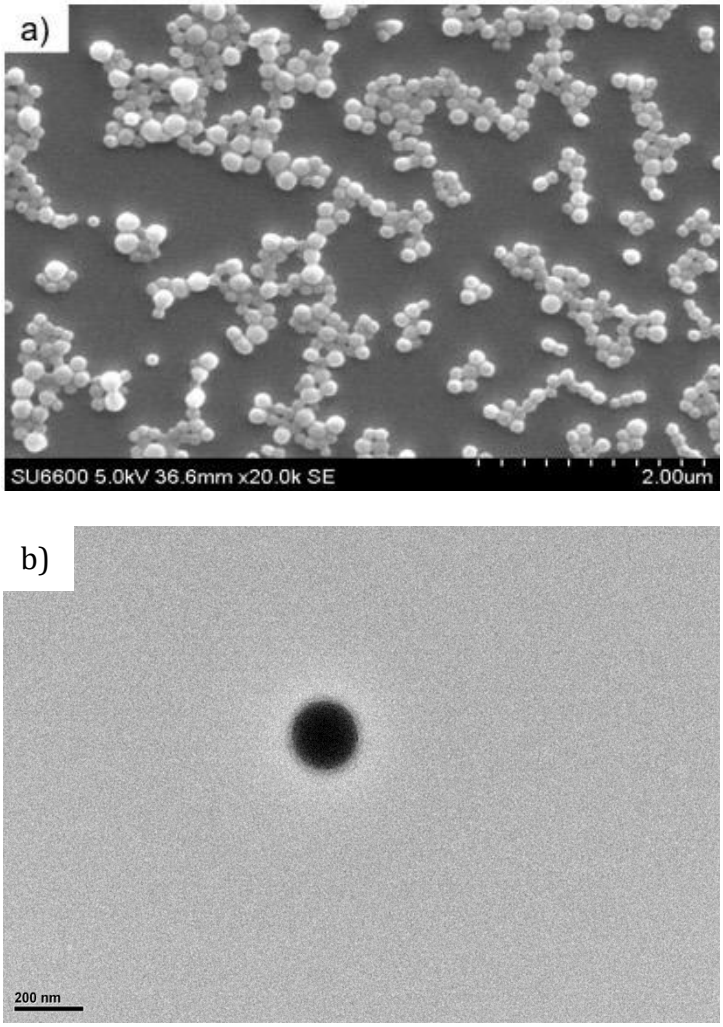


Figure 1. a) SEM image of dual drug loaded NPs b) TEM image of dual drug NPs

In order to confirm the entrapment of morusin and 17-AAG inside the polymeric core matrix of dual drug loaded NPs we performed UV-Vis absorption spectroscopy. Morusin shows λmax at wavelength 269 nm and 17-AAG at 334 nm which was also observed in case of dual drug loaded NPs thus

confirming encapsulation of morusin and 17-AAG inside the NPs. In case of void NPs no such peak was observed

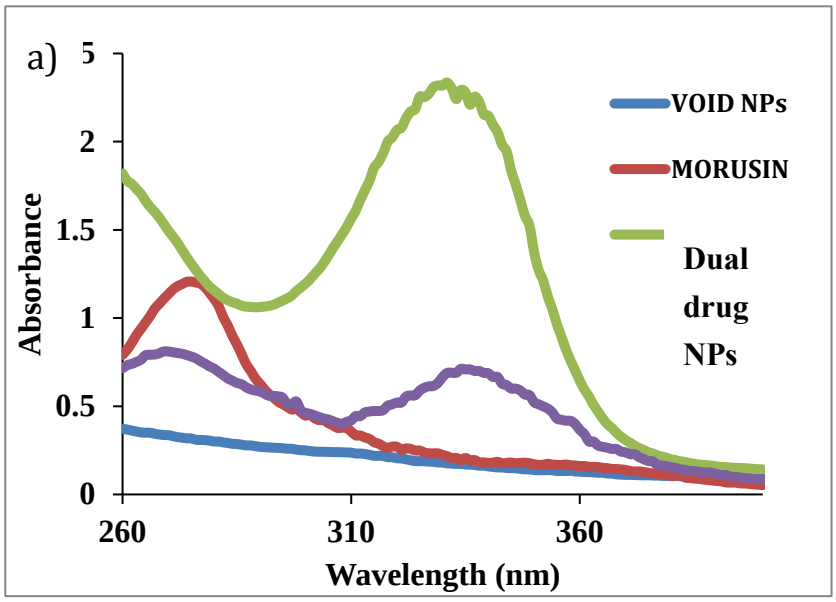


Figure 2. UV absorption overlay spectra for morusin, 17-AAG, vooid and dual drug loaded NPs

- **Drug release studies:** The drug release kinetics of morusin and 17-AAG from 17-AAG-MOR NPs was calculated using UV-Vis spectrophotometer for a period of 6 days under orderly conditions of 37°C with continual stirring at 120 rpm during the experiment. The percentage release of morusin after 72 h was 63.22% while for 17-AAG it was 50.54% in acidic pH. The release of morusin was high compared to the release of 17-AAG in both acidic and physiological pH.

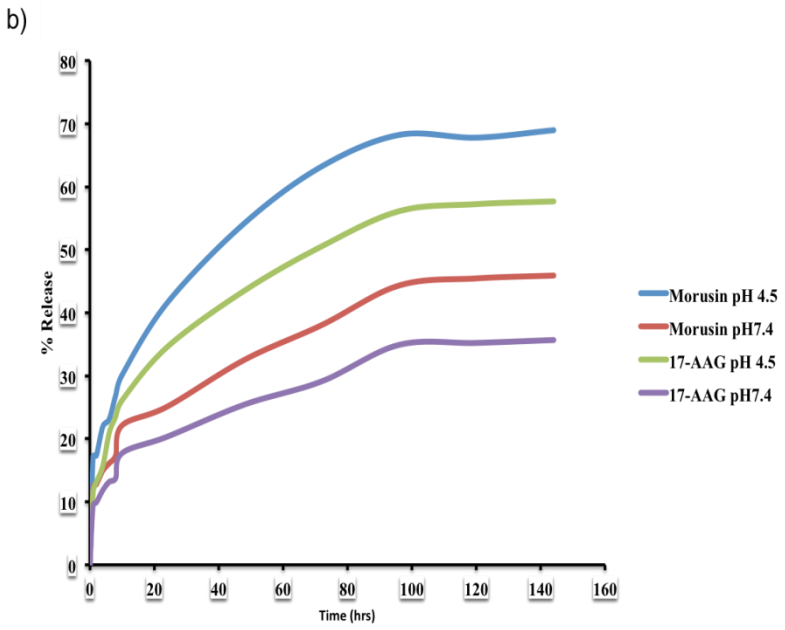


Fig 3. Drug release studies for morusin and 17-AAG from dual drug loaded NPs

- **Cellular uptake studies:** The uptake studies for dual drug loaded nanoparticles were done using coumarin-6 as a model drug since morusin and 17-AAG do not have any intrinsic fluorescence of their own. Coumarin-6 loaded nanoparticles were prepared like dual drug loaded NPs. The cells were incubated with 50 µg/ml of C-6 NPs succeeding which lysotracker deep red and nuc blue were added in order to stain the lysosomes and nucleus. The control cells showed no fluorescence thus ruling out any auto fluorescence from the cells themselves. Both MCF-7 and MDA-MB-453 had higher accumulation of C-6 nanoparticles **(Fig 4. d5, f5).** L929 cells had limited particle accumulation **(Fig 4. b5)** as particles could be seen scattered in the cytoplasm.

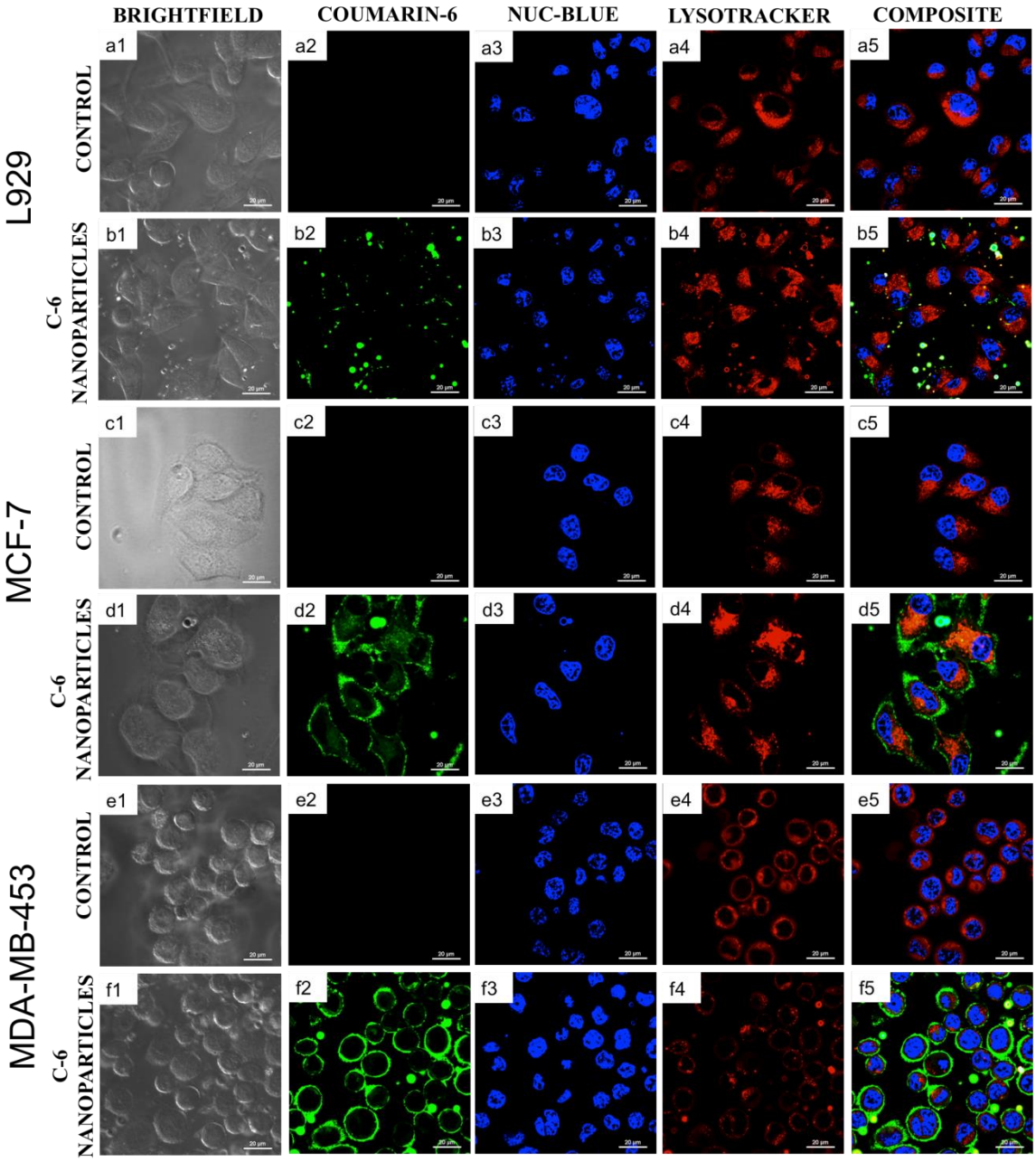


Figure 4. Confocal microscopy images representing cellular internalization of coumarin-6 nanoparticles by cancer cells.

- **Therapeutic efficacy of Dual Drug loaded NPs**: To analyze the therapeutic efficacy of dual drug loaded NPs, cell viability assay was done using Void NPs, Morusin NPs, 17-AAG NPs and 17-AAG-MOR NPs. Cells were exposed to five different concentrations (50 µg/ml, 100 µg/ml, 250 µg/ml, 500 µg/ml and 1 mg/ml) for 24,48 and 72 h. Instant cell death and reduced viability could be seen post 24 hours exposure in both MCF-7 and MDA-MB-453 cell lines with enhanced effect observed in MDA-MB-453.The effect at the lowest dose (50-100 µg/ml) was comparatively less noticeable while the maximum cytotoxic effect was seen at 1 mg/ml concentration. With a decrease in concentration of nanoparticle exposure, the inhibition rate also decreased denoting the dose-dependent nature of therapeutic efficacy. In case of MCF-7 cells **(Fig. 5. c, d)**, cell viability with dual drug nanoformulation after 24 h was 42.32 % at 1 mg/ml concentration while with only morusin loaded NPs it was 53.12% and with 17-AAG loaded NPs it was 57.12% signifying the enhanced cytotoxicity occurring because of the dual drug nanoformulation. After 48 h the cell viability decreased to 30.22 % with the use of dual drug nanoformulation. In case of MDA-MB-453 **(Fig. 5 e, f)**, cell viability with dual drug nanoformulation after 24 h was 40.32 % at 1 mg/ml concentration while with only morusin loaded NPs it was 59.12% and with 17-AAG loaded NPs it was 51.12%. The effect of the dual drug nanoformulation was more potent in MDA-MB-453 indicating its efficacy against triple negative breast cancers. Also, in order to determine the cytocompatibility of the synthesized NPs, we used void NPs in order to check whether they exert any cytotoxic effects on the cells **(Figure 5)**. As seen from **Figure. 5.** the cellular viability remained above 80% in all cell lines even at highest concentration of nanoparticles (1 mg/ml). Hence, it was confirmed that the synthesized nanoparticles were highly compatible in nature.

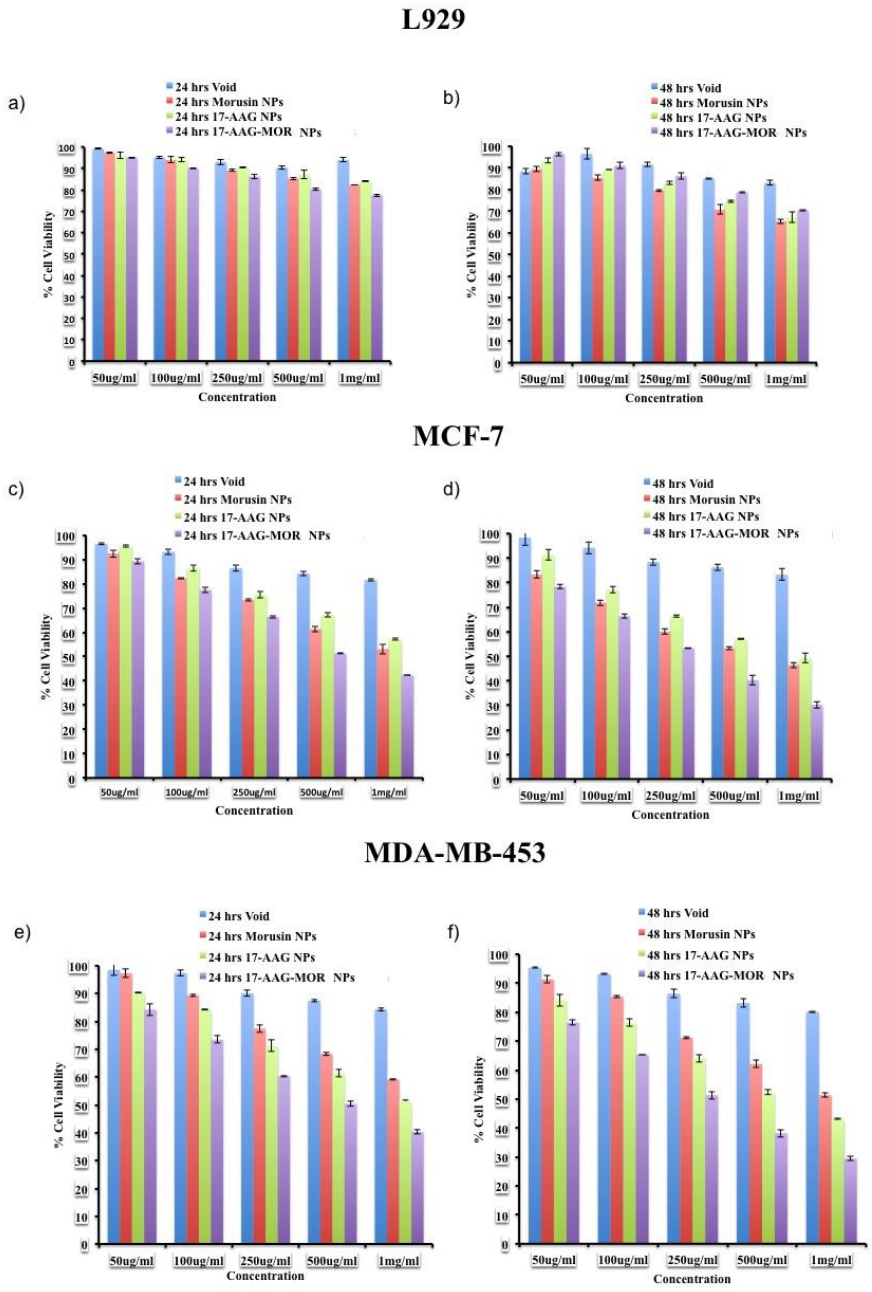


Figure 5. Therapeutic efficacy of Morusin NPs, 17-AAG NPs and 17-AAG-MOR-NPs in (a-b) L929 (c-d) MCF-7 and (e-f) MDA-MB-453 cell lines

- **Live/dead viability assay:** In order to scrutinize activation of apoptosis in cancer cells when treated with dual drug loaded NPs in comparison with only Morusin and 17-AAG loaded NPs, we executed live/dead viability assay to detect early apoptotic and necrotic cells **(Figure 6)**. The viability of cells was examined post 24 h by live dead viability staining. EthD-1 enters dead cells through damaged membranes, binds to their nuclei, and releases red fluorescence however live cells enzymatically convert calcein AM in fluorescent calcein which emits green fluorescence. Significant number of dead cells could be observed with dual drug loaded NP treated groups in MCF-7 and MDA-MB-453 **(Fig 6. h*, l*)** compared to single drug

nanoformulations **(Fig 6. h', h", l', l").** L929 was used as a control cell line, and as seen from **Figure 6. d', d", d*,** the cytotoxicity was less pronounced compared to cancer cell lines.

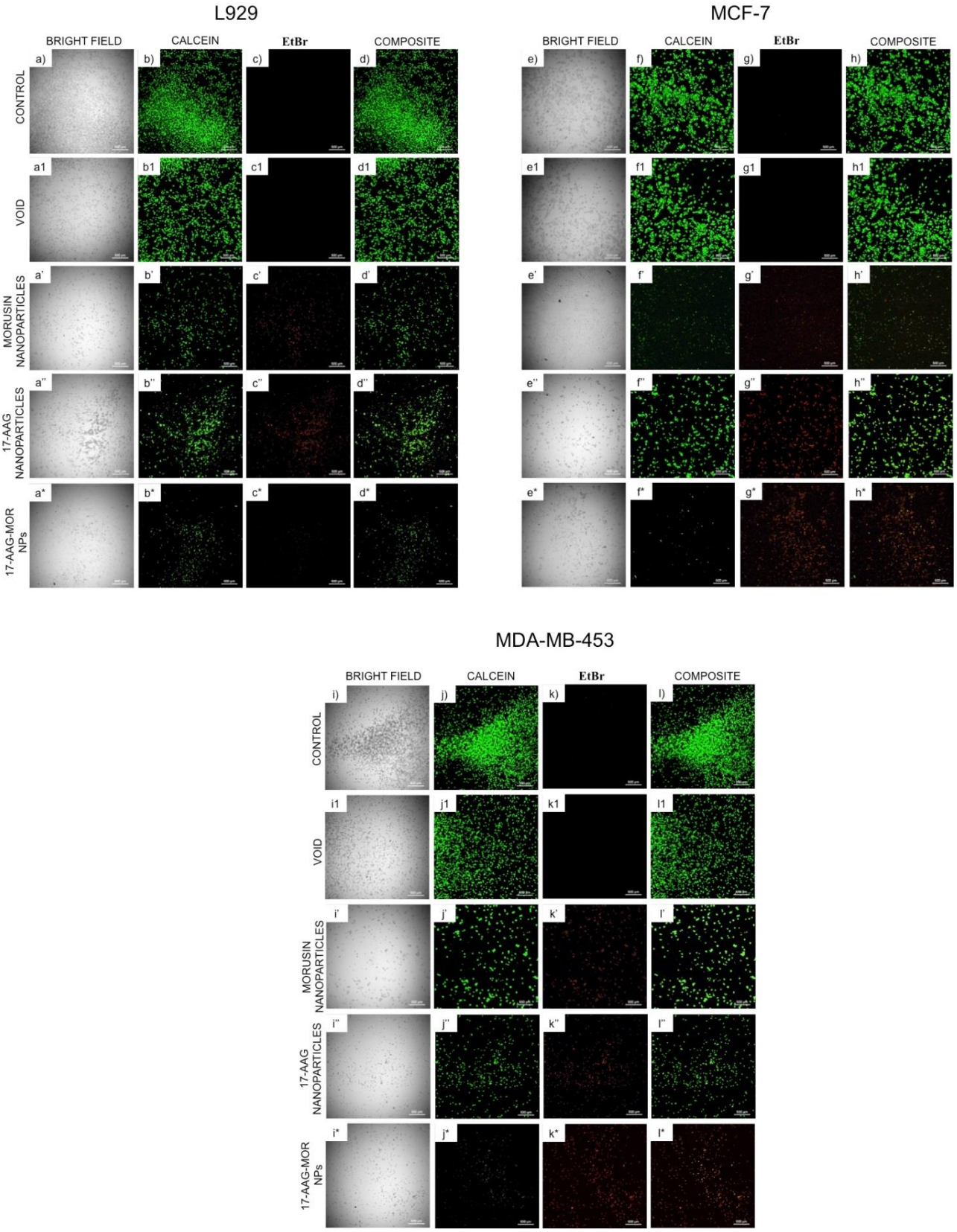


Figure 6. Live/Dead Assay using Void, Morusin loaded, 17-AAG loaded and 17-AAG-MOR-PLGA NPs in L929, MCF-7 and MDA-MB-453 cell lines.

３．今後の研究における課題または問題点

The synthesized dual drug loaded nanoformulation displayed considerable toxicity against breast cancer cells compared to single drug loaded nanoformulations. The efficacy of the nanoparticles can be further enhanced by conjugating them with active targeting ligands specific for receptors expressed by breast cancer cells thus leading to increased internalization and toxicity. Thus, in future we would like to conjugate our synthesized dual drug nanoformulation with targeting ligands and carry out our research study.

Summary

The present study emphasizes the favorable synergistic blend of anticancer drug morusin and hsp90 inhibitor, 17-AAG in single nanocarrier. Nanoparticles entrapping the two drugs, individually or in combination, were created using single emulsion solvent evaporation method. The formulated nanoparticles had a size about 235.2 nm. The entrapment efficiency of 17-AAG and Morusin was found to be 98 % □ 01.04 and 96 % □ 0.67 respectively. The release kinetics of morusin and 17-AAG from dual drug loaded nanoparticles followed a biphasic pattern illustrated by an early burst, followed by a steady and continuous release. The anticancer activity of the dual nanoformulation was much higher compared to the single drug nanoformulations when tested against breast cancer (MCF-7) and triple negative breast cancer cells (MDA-MB-453). Our findings clearly show that morusin along with 17-AAG significantly enhanced cellular accumulation of drugs and imparted greater cytotoxicity in MDR cells. Co-delivery of both drugs synergistically acts to trigger augmented apoptosis by eliciting many signaling pathways. Overall, we anticipate that this drug combination will display new perspective in treatment of breast and triple negative breast cancer.

Synthesis and Characterisation of Magnetic Endohedral Fullerenes

Principal investigator: Yuri Tanuma
Bio-Nano Science Fusion Course, Graduate School of Interdisciplinary New Science
Supervisor: Toru Maekawa

Research term: 1st April 2018 – 15th February 2019

Keywords: 1. Metallofullerenes
2. Arc discharge
3. Liquid chromatography
4. Mass spectrometry
5. Iron halide

Grant amount: ¥535,000

Research activities:

Scientific paper: Yuri Tanuma, Takashi Uchida, Toru Maekawa, "Synthesis of ultra fine magnetic particles: $FeClHC_{60}$ endohedral fullerene", *Nanotechnology*, Institute of Physics (to be submitted)

Poster presentation: Yuri Tanuma, Takashi Uchida, Toru Maekawa, "Chromatographic behaviour of magnetic endohedral fullerenes", *The 16th International Symposium on Bioscience and Nanotechnology*, P-11, Toyo University, Kawagoe, Japan (December 2018)

Poster presentation: Yuri Tanuma, Takashi Uchida, Toru Maekawa, "Synthesis and chromatographic behaviour of FeCl-fullerene Complexes" (**Prize for Best Poster Presentation**), *Kawagoe Forum 2018*, P-62, Toyo University, Kawagoe, Japan (October 2018)

Oral presentation: Yuri Tanuma, "Fullerenes and its applications in nanotechnology", *Japan-Asia Youth Exchange Programme in Science; Sakura Exchange Programme in Science organised by the Japanese Science and Technology Agency (JST)*, Toyo University, Japan (September 2018)

Oral presentation: Yuri Tanuma, Takashi Uchida, Toru Maekawa, "Synthesis of smallest magnetic nanoparticles: Endohedral fullerenes", *Physics/Materials Science Seminar, University of Exeter*, Exeter, United Kingdom (September 2018)

Poster presentation: Yuri Tanuma, Takashi Uchida, Toru Maekawa, "Isolation and characterisation of FeCl-fullerene complexes" (**Poster Prize Award**), *NanoteC18, University of Sussex*, Brighton, United Kingdom (August 2018)

Oral presentation: Yuri Tanuma, Takashi Uchida, Toru Maekawa, "Synthesis and chromatographic isolation of FeCl-fullerene complexes", International Symposium on Nanoscience and Nanotechnology, *Marie Skłodowska-Curie ITN "Enabling Excellence", Horizon 2020, Toyo University*, Kawagoe, Japan (May 2018)

Abstract

1. Experimental

1.1 Investigation of the insoluble components

I produced compounds composed of mainly carbon and iron by conventional arc discharge using pure carbon cathodes and carbon anodes containing anhydrous $FeCl_2$. The obtained soot was dispersed in toluene and insoluble soot was collected. I investigated the components and structures of the soot by transmission electron microscopy (TEM), Raman spectroscopy, and X-ray diffractometry (XRD).

1.2 Investigation of the soluble components

I produced compounds by arc discharge under the same conditions as explained above. Fullerene components in the obtained soot were extracted by 1,2,4-trichlorobenzene using a Soxhlet extractor, and the solvent was replaced with toluene. After the filtration of the sample, liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) was carried out for the solution.

1.3 Investigation of the chromatographic behaviour of fullerenes

In order to improve the intensity ratio of FeCl-fullerene complexes to by-products and retention factors and also to identify the fullerene structures, I analysed the chromatographic behaviour of fullerenes by LC-MS using 5 different columns; that is, Buckyprep, Buckyprep-M, 5PYE, 5NPE, and PBr, and changing the mobile phase compositions; i.e., the ratio of toluene to *n*-hexane.

2. Results and discussion

2.1 Investigation of the insoluble components

A TEM image of a compound, which was produced in the experiment explained in Section 1.1 is shown in ***Figure 1***. Particles of 10 nm diameter were captured in a parcel. From the elemental analysis by energy dispersive X-ray spectrometry (EDX), it can be concluded that the particles and parcels were, respectively, composed of Fe and C. It was also confirmed that the particles were crystallised judging by their lattice fringe. I obtained XRD and Raman spectra of the compound, which are shown in ***Figures 2*** and ***3***. From the XRD spectrum, it is supposed that the particles were composed of Fe_3O_4 crystals, and a peak corresponding to graphite was originated from the parcel. The ratio of D to G bands in the Raman spectrum and the Raman shift of the G band (1580 cm^{-1}) indicated that the carbon parcel is composed of nanocrystalline graphite [1].

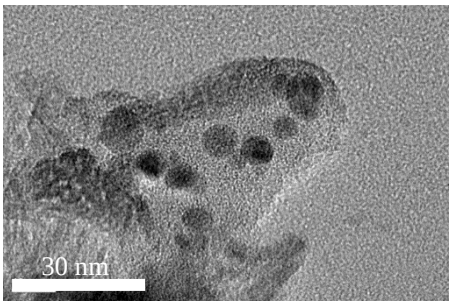


Figure 1. TEM image of insoluble soot

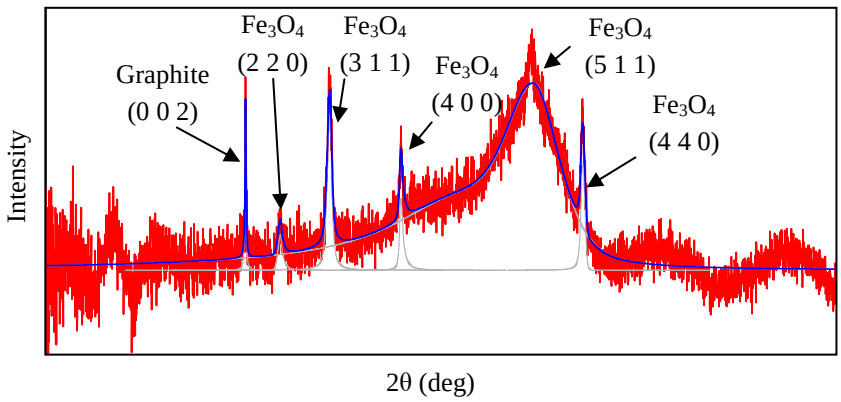


Figure 2. XRD spectrum and reference peaks of graphite and Fe_3O_4.

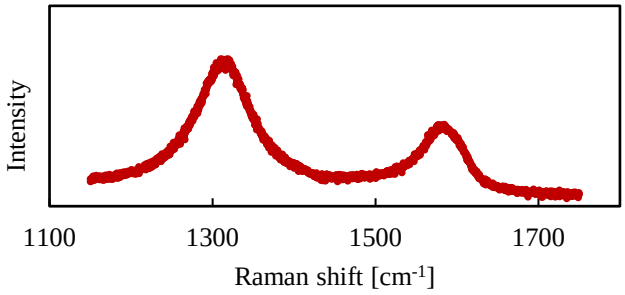


Figure 3. D and G bands in the Raman spectrum of the carbon parcels.

2.2 Investigation of the soluble components

UV chromatogram obtained using a mobile phase of 100% toluene is shown in ***Figure 4***. Most of the peaks in the chromatogram were assigned as empty fullerenes (C_{60}, C_{70}, C_{76}, C_{78}, C_{80}, C_{82}, C_{84}, C_{86}, C_{88}, C_{92}, C_{94}, C_{96}), and oxidised ones ($C_{60}O$, $C_{60}O_2$, $C_{60}O_3$, $C_{70}O$, $C_{120}O$, $C_{120}O_2$) based on their mass to charge ratio and isotopic distribution patterns. The isotopic pattern of FeCl-incorporated fullerenes ($FeClHC_{60}$), in which two small peaks before the main peak are characteristics of Fe-incorporated fullerenes, was in accordance with the simulated one as shown in ***Figure 5***. $FeClHC_{60}$ were detected earlier than the empty C_{60} in the UV chromatogram (see ***Figure 4***). It is supposed that FeCl encapsulated in C_{60} attracted π-electrons from the cage surface and as a result, the interaction between $FeClHC_{60}$ and the stationary phase became weaker than that between the empty C_{60} and the stationary phase. An H atom is considered to be attached to the outside of a C_{60} cage during the ionisation process for MS.

2.3 Chromatographic behaviour of fullerenes

The intensity ratio and retention factors, which are, respectively, defined as the ratio of the peak intensity of $FeClHC_{60}$ to that of all of the by-products detected at the same retention time and the retention time of $FeClHC_{60}$ divided by that of C_{60}, were thoroughly analysed. Note that the results obtained using a 5NPE column were not included since almost all of the components were simultaneously eluted without any π-π interactions between fullerenes and the stationary phase, which was originated with NO_2 on a six-membered ring of the stationary phase. It is supposed that the present $FeClHC_{60}$ is an endohedral fullerene and possesses polarity induced by London dispersion force. Moreover, I investigated the effects of the mobile phase compositions on the intensity ratio and retention factors using two columns; Buckyprep and PBr, which were selected considering the intensity ratio of $FeClHC_{60}$ to by-products, and 3 mobile phase compositions; (toluene : *n*-hexane) = (8:2), (7:3) and (6:4) for each column. It was found that the intensity ratio of $FeClHC_{60}$ to by-products increased and longer retention was performed with an increase in the ratio of *n*-hexane to toluene since fullerenes are almost insoluble in *n*-hexane [2]. The optimal LC conditions for the isolation of $FeClHC_{60}$ was finally obtained as follows; (a) the Buckyprep column should be used and (b) the mobile phase compositions; (toluene : *n*-hexane), should be (7:3), from the point of view of the intensity ratio and realistic retention time. The intensity ratio of $FeClHC_{60}$ to by-products was remarkably improved, raised up to 73.3% under the above optimal LC conditions.

3. Future plan

I will be carrying out detailed quantum calculations of the electron distribution in $FeClHC_{60}$ in order to support its chromatographic behaviour and molecular structure obtained in this study. I will also be collecting a large quantity of $FeClHC_{60}$ to identify the actual molecular structure and properties such as the optimal and magnetic ones.

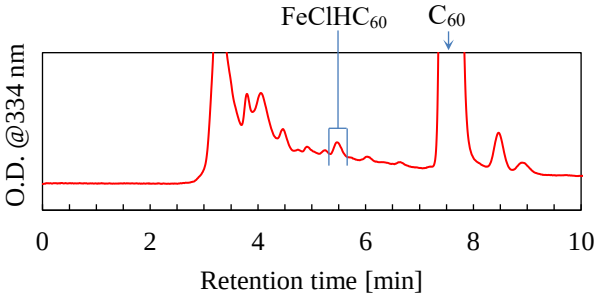


Figure 4. UV chromatogram obtained by LC-MS with a mobile phase of toluene.

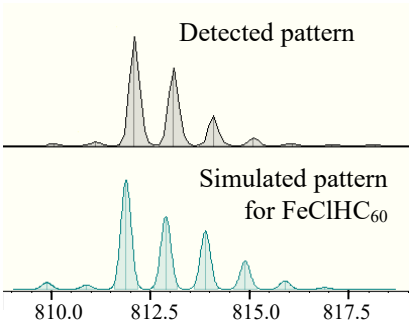


Figure 5. Isotopic patterns of $FeClHC_{60}$. The peaks at (m/z =) 810 and 811 correspond to Fe-incorporated fullerenes.

Summary

Fe_3O_4 particles covered by nanocrystalline graphite and $FeClHC_{60}$ were successfully synthesised by dc arc discharge between pure carbon cathodes and carbon anodes containing $FeCl_2$. The structure and components of the materials were analysed by TEM, Raman spectroscopy, XRD, and LC-MS. $FeClHC_{60}$ was produced, identified by the isotopic distribution pattern with the characteristic peaks of Fe-incorporated fullerenes. Surprisingly, $FeClHC_{60}$ was detected before empty C_{60}. It is supposed that $FeClHC_{60}$ is an endohedral fullerene and the intercalated FeCl attracts π-electrons of the cage towards the inside, as a result of which π-π interactions between the stationary phase and $FeClHC_{60}$ become weaker than those between the stationary phase and empty C_{60}. In order to clarify the molecular structure of $FeClHC_{60}$, I investigated their chromatographic behaviour by LC-MS using different stationary phases and mobile phase compositions; toluene and *n*-hexane. Considering the retention factors and intensity ratio of $FeClHC_{60}$, it is supposed that $FeClHC_{60}$ is an endohedral fullerene, possessing a polarity. Furthermore, in order to increase the final yield of $FeClHC_{60}$ for detailed analysis, I investigated the optimal isolation conditions of $FeClHC_{60}$ using two columns; Buckyprep and PBra, and a mixture of toluene and *n*-hexane as a mobile phase. A higher percentage of *n*-hexane showed the higher intensity ratio of $FeClHC_{60}$. However, the addition of *n*-hexane caused prolongation of the retention time since the solubility of fullerene to *n*-hexane is extremely low [2]. Therefore, for the realistic isolation of $FeClHC_{60}$, I reached the conclusion that a combination of Buckyprep column and 7:3 mobile phase compositions is the optimal LC conditions. Detailed quantum calculations for $FeClHC_{60}$ will be carried out in order to support the chromatographic behaviour and the molecular structure predicted in this study. Moreover, a large quantity of FeCl-fullerene complexes will be collected under the newly obtained optimal conditions in order to confirm their actual molecular structure and properties. It is highly probable that Fe-fullerene complexes such as $FeClHC_{60}$ will be utilised for drug delivery systems, bio imaging, and magnetic memory devices as the smallest magnetic nano particles [3,4].

References

[1] A.C. Ferrari, J. Robertson, *Physical Review B*, **61** (1999) 14095-14107.
[2] R.S. Ruoff, D.S. Tse, R. Malhotra, and D.C. Lorentsz, *The Journal of Physical Chemistry*, **97** (1993) 3379-3383.
[3] M.B. Javan, N. Tajabor, M. Behdani, M.R. Rokn-Abadi, *Physica B*, **405** (2010) 4937-4942.
[4] M.B. Javan, N. Tajabor, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* **324** (2012) 52-59.

終末糖化産物による骨質劣化への影響と

トコトリエノールによる予防の可能性

The effect of advanced glycation end-products on bone-quality deterioration and possibility of prevention with tocotrienol

研究代表者　石塚　綾（食環境科学研究科　食環境科学専攻）
指導教員　　矢野　友啓　　印

研究期間／平成 30 年 4 月 10 日～平成 31 年 2 月 15 日
キーワード／①糖尿病　Diabetes
②骨質　　Bone-quality
③終末糖化産物　　Advanced glycation end-products
④トコトリエノール　Tocotrienol
⑤リジルオキシダーゼ　　Lysyl oxidase
平成 30 年度交付額／700,000 円

研究発表／学会および口頭発表

1. 石塚　綾
   骨芽細胞培養系を用いた終末糖化産物によるリジルオキシダーゼ発現抑制機序の解析
   第 36 回日本骨代謝学会学術集会　2018 年 7 月 26 日～28 日 長崎
2. Aya Ishitsuka, Kakeru Kono, Tomohiro Yano
   ADVANCED GLYCATION END-PRODUCTS SPPRESS LYSYL OXIDASE EXPRESSION VIA SECRETION OF TNF ALPHA IN OSTEOBLASTIC CELLS
   7th Asia-pacific osteoporosis conference　2018 年 11 月 29 日～12 月 1 日　オーストラリア，シドニー

研究経過および成果の概要

１．研究方法

細胞株として、MG-63（ヒト骨肉腫由来骨芽細胞株）を用いた。試薬には AGEs として Albumin glycated human（グルコース,ヒトアルブミン由来)、T3 として、DELTA GOLD70 (δ-T3 :90 %, γ-T3 :10 %)を用いた。

1. AGEs による LOX 発現抑制機序の解析

AGEs 0 –100 μg/mL 含有培地で MG-63 を培養し、LOX mRNA 発現を評価した。次いで AGEs 100 μg/mL 含有培地で MG-63 を培養し、LOX の上流因子である JAK2 のリン酸化レベル（pJAK2）を経時的に評価した。pJAK2 レベルの上昇が見られた 2 つの時間帯において、pJAK2 レベル、サイトカイン（TNFα, IL-6, IL-1β）mRNA 発現を評価した。最後に、TNFα 阻害薬を用いて LOX 発現を評価した。

2. AGEs による LOX 発現抑制作用に対する T3 の効果の検証

MG-63 を T3 10 μg/mL で 5 時間処理後、AGEs を添加し 20 時間培養後に LOX と AGEs 受容体で

ある RAGE（membrane-bound RAGE：mRAGE）mRNA 発現を解析した。また、T3 0 -10 μg/mL の濃度で MG-63 を培養し、TNFα mRNA 発現と pJAK2 レベルを評価した。

3．高グルコース・高インスリンによる影響

非糖尿病モデルのグルコース濃度を 5 mM（L-Glu）,インスリン濃度を 5 nM（L-Ins）とし、糖尿病モデルのグルコース濃度を 20 mM（H-Glu）、インスリン濃度を 25 nM（H-Ins）とした。これらの条件を組み合わせ、L-Glu、L-Glu / L-Ins、H-Glu、H-Glu / H-Ins 4 つの条件で MG-63 を 24-72 時間、及び 96 時間（72＋24 時間）培養し、LOX、mRAGE 発現および pJAK2 レベルを評価した。

4．高グルコース・高インスリンの影響に対する T3 の効果

L-Glu、L-Glu / L-Ins、H-Glu、H-Glu / H-Ins また、糖尿病モデルに T3 10 μg/mL を添加した H-Glu / T3、H-Glu / H-Ins / T3、計 6 種類の培地を調製し MG-63 を 24 時間培養後、LOX 発現及び pJAK2 レベルを評価した。

２．研究経過および成果の概要

1．AGEs による LOX 発現抑制機序の解析

AGEs100 μg/mL で LOX 発現は顕著に抑制された。また、AGEs 処理 30 分後及び 6 時間後に pJAK2 レベルは上昇傾向にあり、6 時間後の pJAK2 レベルのみ AGEs 濃度依存的に増加した。各サイトカインの発現量は TNFα のみ AGEs 濃度依存的に上昇した。また、LOX 発現は TNFα 阻害薬の濃度依存的に増加した。

2．AGEs による LOX 発現抑制作用に対する T3 の効果の検証

T3 で前処理を行った群は、非添加の群と比較し LOX 発現はされなかった。また、pJAK2 レベルは T3 の濃度依存的に抑制された。mRAGE と TNFα 発現に顕著な変化は見られなかった。

3．高グルコース・高インスリンによる影響

24 時間培養後、L-Glu と比較して H-Glu の LOX mRNA 発現は顕著に抑制された。96 時間（72＋24 時間）培養後は L-Glu / L-Ins と比較し H-Glu / H-Ins 群の LOX mRNA 発現は顕著に抑制された。72 時間培養後では L-Glu と比較し L-Glu と L-Glu / L-Ins における mRAGE 発現が顕著に増加した。また、培養 24 時間後の pJAK2 レベルに顕著な変化は見られなかった。

4．高グルコース・高インスリンの影響に対する T3 の効果の評価

T3 添加群は非添加群と比較して、LOX 発現、pJAK2 レベル共に顕著な変化は無かった。

AGEs と高血糖/高インスリン血症は共に生理的架橋の形成因子である LOX 発現を抑制することが示唆され、AGEs はその機序として TNFα の分泌を介し JAK2 を活性化させることで LOX の抑制を惹起することが示唆された。また、高血糖/高インスリン血症は、AGEs の受容体である mRAGE の発現を増加させ、AGEs の影響を増大させる可能性も得られた。これに対し T3 は、pJAK2 レベルの抑制を介し、AGEs による LOX 発現抑制を防ぐことが示唆された。

３．今後の研究における課題または問題点

糖尿病の治療において、臨床の現場では罹患者が食事指導を受けることがほとんどであり、トコトリエノールをサプリメントとして用い実用化に至るまでには、糖尿病治療薬との併用における安全性や、トコトリエノールの骨代謝に対する作用に関して、確実な根拠がなければならない。本実

験はトコトリエノールによる骨質劣化予防の可能性を検討することを目的とした研究であり、今後、糖尿病発症モデルを用いた動物実験で、生理的架橋、非生理的架橋への影響や、骨形成、骨吸収への影響を評価し、トコトリエノールの効果や副作用、安全性について科学的根拠を蓄積していく必要がある。
また、本研究ではⅡ型糖尿病合併症を背景としており、AGEs や高血糖、高インスリン血症の影響を骨芽細胞培養系を用いて評価したが、糖尿病という疾患や骨という臓器は、様々な臓器とクロストークをしている。骨芽細胞のみならず、糖尿病や骨に関する他の臓器やホルモン、AGEs そのものの形成に対する効果など、より広い観点で研究を進めることで、Ⅱ型糖尿病合併症「骨質劣化型骨粗鬆症」に対して、興味深いトコトリエノールの新たな効果を発見でき、この点がⅡ型糖尿病合併症「骨質劣化型骨粗鬆症」研究において重要な点であると考える。

Summary

Objectives

To investigate the effect of glycation stress on bone quality and possibility of prevention with tocotrienol.

Material and Methods

In this study, we used tocotrienol rich fraction (TRF) obtained from annatto as T3, we used Albumin glycated human derived from glucose and human albumin as AGEs.

1. Analysis of mechanism that AGEs inhibits LOX expression

MG63 cells were cultured by 0~100 μg/ml AGEs and assayed LOX mRNA expression. To elucidate the pathway to regulate LOX, the cells were stimulated with a JAK2 inhibitor. The cells were cultured with 100 μg/ml AGEs for 0~12 h and the phosphorylated-JAK2 level was analyzed by western blotting. To elucidate whether the phosphorylated-JAK2 level was increased in a dose dependent manner of AGEs, the phosphorylated-JAK2 level were assayed at 30 min and 6 h after exposure to 0~100 μg/ml AGEs. TNFα, IL1β and IL6 mRNA levels were assayed for 6 h treatment with 100 μg/ml AGEs. Finally, to investigate effect of TNFα on pathway that AGEs suppress LOX mRNA expression, the cells were cultured with AGEs and TNFα antagonist, and subsequently LOX mRNA level was assayed.

2. The effect of tocotrienol on AGEs influenced-LOX level

MG63 cells were treated with 10 μg/ml T3 and then grown in 100 μg/ml AGEs, then MG63 cells were assayed LOX, mRAGE mRNA expression. MG63 cells were treated with 0~10 μg/ml T3 for 24 h , then it was assayed TNFα mRNA level and phosphorrelated-JAK2 level.

3. The effect of high-glucose and high-insulin

MG63 cells were treated with high-glucose medium: H-Glu(glucose:20 mM), low-glucose medium:L-Glu(glucose:5 mM), high-glucose/high-insulin medium: H-Glu/H-Ins(glucose:20 mM/insulin:20 nM), low-glucose/low-insulin medium:L-Glu/L-Ins(glucose:5 mM/insulin:5 nM) for 24~96 h and then, LOX, mRAGE mRNA levels and phosphorylated-JAK2 level were assayed.

4. The effect of tocotrienol on high-glucose and high-insulin

MG63 cells were treated with high-glucose medium: H-Glu, L-Glu, H-Glu/H-Ins, L-Glu/L-Ins, H-Glu/T3 (glucose:20 mM/T3 10 μg/mL), H-Glu/H-Ins/T3 (glucose:20 mM/insulin:20 nM/ T3 10 μg/mL)

Result

The expression of LOX mRNA was significantly inhibited after treatment with 100 μg/ml AGEs ($p < 0.01$ vs control). JAK2 inhibitor treatment led to increase in the LOX mRNA expression in a dose dependent manner. Phosphorylated-JAK2 level showed an increased tendency at 30 min and 6 h after 100 μg/ml AGEs treatment. In addition, at 6 h after AGEs treatment, phosphorylated-JAK2 level was increased in the dose dependent manner. TNFα mRNA level was increased in a dose dependent manner for 6 h AGEs treatment. Treatment with TNFα antagonist induced the increase of LOX mRNA level in the dose dependent manner of TNFα antagonist.

When compared with untreated group and only AGEs treatment group, LOX mRNA level were increased after AGEs/T3 treatment. mRAGE and TNFαmRNA level was not change. phosphorylated-JAK2 level was decreased in a T3 dose dependent manner.

After treatment with various glucose and insulin concentration, H-Glu/H-Ins decreased LOX mRNA level compared with L-Glu/L-Ins group.

After treatment with combination with various glucose and insulin concentration and T3, LOX mRNA level was not significantly change.

Conclusion

T3 inhibited LOX mRNA suppressed by AGEs via the inhibition of phosphorylated-JAK2 level. It's concluded that AGEs decrease LOX mRNA level via secretion of TNFα from MG63 cells.

がん幹細胞発がん理論に基づいた

食品機能性成分の組合せによる前立腺がん予防法の提案

Proposal of prostate cancer prevention method by combining food functional ingredients based on cancer stem cell carcinogen theory

研究代表者　金子 沙妃（食環境科学研究科 食環境科学専攻）
指導教員　　矢野 友啓　　印

研究期間／平成 30 年 4 月 10 日～平成 31 年 2 月 15 日

キーワード／①がん予防　Cancer Prevention
②前立腺がん幹細胞　Prostate cancer stem cells
③機能性食品素材　Functional Food Component
④BBI　Bowman-birk protease inhibitor
⑤併用　Combination

平成 30 年度交付額／630,000 円

研究発表／学会および口頭発表

・Saki Kaneko, Tomohiro Yano, “A new strategy to prevent prostate cancer stem cells” 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology. 2018.7.1-6. Kyoto, Japan.

・金子 沙妃、矢野 友啓、コネキシン 43 の誘導を介したがん幹細胞を標的とした新規予防法の提案　第 77 回日本癌学会学術総会、2018.9.27-29　大阪

・Saki Kaneko, Takumi Yamazaki, Kazunori Kato, Tomohiro Yano. “A new strategy to reduce prostate cancer stem cells by combining of BBI and α-TOS. Sydney Cancer Conference. 2018.11.10-11 Sydney Australia

・金子 沙妃、山崎 拓実、加藤 和則、矢野 友啓、食品機能性素材の組み合せによる前立腺癌幹細胞を標的とした新規予防・治療の可能性、第 16 回 日本機能性食品医用学会総会、2018.12.15-16.　新潟

研究経過および成果の概要

1. 研究方法

現在までの研究により、前立腺がん幹細胞において、大豆由来成分 BBI は Connexin43（Cx43）を誘導し、抗がん剤感受性を高めることがあきらかとなった。しかしながら、BBI による抗がん剤感受性の上昇ががん幹細胞性の低下によるものであるかは未解明であり、Cx43 機能回復とがん幹細胞性への影響の検証が求められている。また、BBI は抗がん剤の併用により前立腺がん幹細胞の細胞生存活性を抑制することは可能ではあるが、抗がん剤は副作用の問題があること、また「予防」という観点から安全性の高い新規予防法の構築が求められている。

本研究では科学的根拠に基づくがん幹細胞を標的とした新規予防法の提案を実現するため、抗がん作用（細胞増殖抑制活性）が報告されている既存の食品機能性成分のスクリーニングを行う。そして食品機能性成分である BBI とのの併用効果を実証し、がん幹細胞に効果的かつ、低濃度で効果を実現できる人体に悪影響のない安全な食品機能性成分を用いた新たな有効性が高い前立腺がん予防法の提案を目指し、研究を遂行した。

① BBI による Connexin43 機能回復と前立腺がん幹細胞性への影響の評価

以前の解析結果により、BBI は Cx43 遺伝子の発現を誘導したが、Cx43 タンパク発現量およびその局在性は明らかになっていなかった。そのため、Cx43 タンパク発現量およびその機能を解明するため、蛍光免疫染色を用いて BBI 処理による Cx43 発現とその機能を検証する。

また、Cx43 阻害によるがん幹細胞性への影響を評価するため、Cx43 阻害剤または siRNA を用いて WST-8 法による細胞生存活性率を評価し、生存シグナルへの影響を Western Blotting により解析し、前立腺がん悪性化への影響を検証する。Spheroid Formation Assay を用いて腫瘍形成能を評価し、抗がん剤感受性を WST-8 法により解析し、がん幹細胞性への影響を検証する。

② BBI と併用効果をもたらす食品機能性素材のスクリーニング

以前の解析結果より、BBI が前立腺がん幹細胞に対する抗がん剤感受性を高めたことが明らかとなっており、抗がん剤に代わる安全性の高い食品機能性成分の探索を行う。疫学的研究により前立腺がん予防食品として認められる食品の機能性成分に着目し、作用点のことなる食品機能性成分を選択した。代表的な抗がん成分としてビタミン E 誘導体 α-Tocopherol acid succinate（α-TOS）を用い、アブラナ科野菜由来成分としてイソチオシアネート類（ITC）、ジインドリルメタン（DIM）、ビタミン E アナトー由来トコトリエノール：Tocotrienol Rich Fraction：TRF を選択し、WST-8 法による細胞生存活性および Cell analyzer を用いて細胞死誘導の有無を特定することで、BBI との併用効果が強く、ヒトでの安全性が確認できる実用化の可能性が高い食品機能性成分を絞り込む。

③ 食品機能性素材の併用による前立腺がん幹細胞に対するアポトーシス誘導機序の解明

BBI との併用効果が示された食品機能性成分の解析結果を生化学的に裏付けるために、細胞誘導死に関係するシグナル分子の関与を Western Blotting および RT-Realtime 法で評価する。

以上の結果を総合して、BBI と食品機能性成分の併用による前立腺がん幹細胞における細胞死誘導機構を明らかにし、前立腺がん予防戦略を構築するための 1 つの科学的根拠にする。

２．研究経過および成果の概要

①の研究経過および成果の概要

BBI は、Cx43 タンパク発現量の上昇および細胞膜への局在性強めることが明らかとなった。また、Cx43 の阻害は、細胞生存活性の上昇、生存シグナルの活性化、薬剤抵抗性の増強をもたらし、前立腺がんの悪性化およびがん幹細胞性の増強が認められた。したがって、BBI は Cx43 の機能回復を介し、がん幹細胞マーカー発現、細胞生存活性、腫瘍形成能の抑制および抗がん剤感受性を高めたことが示唆された。

②の研究経過および成果の概要

BBI とビタミン E 誘導体 α-TOS の併用は、抗がん剤と同様に前立腺がん幹細胞における細胞死を効率的に誘導した。

食品機能性成分であるアブラナ科野菜由来 ITC、DIM、アナトー由来トコトリエノール TRF の併用処理は、ITC 類では併用効果が認められなかったが、DIM、TRF では、それら単独処理と比較して、細胞生存活性を抑制し、アポトーシス誘導を増強した。

③の研究経過および成果の概要

BBI との併用による前立腺がん幹細胞における細胞死誘導機構を明らかにするため検証を行った結果、BBI と α-TOS の併用はミトコンドリアに依存したアポトーシス誘導を強め、BBI と TRF の併用処理は小胞体ストレスを介したアポトーシス誘導を強め、BBI と DIM の併用処理は、Akt の不活性化を介したアポトーシス誘導を強めることにより、効率的に前立腺がん幹様細胞のアポトーシスを誘導したことが示唆された。

以上の結果を総合すると、BBI の分化誘導作用と抗がん作用を持つ食品機能性成分の併用は、がんの発症や再発の要因となるがん幹細胞を標的とすることで、前立腺がんの発症・再発予防に貢献できる可能性が期待できる。

３．今後の研究における課題または問題点

本研究の結果から、*in vitro* における BBI と α-TOS、TRF、DIM の併用処理により前立腺がん幹細胞の細胞死誘導の可能性が示唆された。しかしながら、*in vitro* 研究にとどまり、生体内動態は未解明である。今後、マウスモデルを用いた BBI と抗がん成分の併用による抗前立腺がん幹細胞効果の検証が求められている。これらの併用による抗がん作用が前立腺がん予防として臨床応用されるためにはさらなる *in vitro* および *in vivo* での研究データの蓄積が必要となる。

Summary

Background: Cancer stem cells (CSCs) contribute to oncogenesis and recurrent cancer cells. However, there is still no effective prevention and treatment strategy against cancer stem cells. Soybean is known as a cancer-preventive food. The most predominant protease inhibitor in soybeans is Bowman-Birk inhibitor (BBI), a well-established cancer chemo-preventive agent. Our previous study has shown that BBI induces connexin43 (Cx43), a tumor suppressor gene for prostate cancer that forms the gap junction (GJ). The formation of GJ can restore normal cell functions. In our research to date, it became clear that BBI induces Cx43 and increases sensitivity to cancer drugs on prostate CSCs. The effect of Cx43 function recovery on stemcess of cancer stem cell is unknown and its verification is required. Furthermore, anticancer agents have severe side effects, and it is required to establish new safe preventive methods. On the other hand, it is known that mitocan has strong cancer suppressive effect by targeting mitochondria and that crucifers and tocotrienol have strong anti-cancer effect. So we focused on Alpha-Tocopherol succinate (α-TOS), 3,3'-diindolylmethane (DIM) from crucifers and tocotrienol rich fraction (TRF) from anato having anti-cancer effect.

Aim: Our aim is to propose a new preventive strategy targeting on prostate cancer stem cells by combining BBI and functional food component.

Method: Androgen-dependent prostate cancer cells and LNCaP were used, and we created spheroid-formed CSCs from LNCaP parental cells. We evaluated cell viability using WST-8 assay, the mRNA level through RT-Real time PCR, the protein level using Western blotting, and the localization of protein through Immunohistochemistry.

Result: Levels of Cx43 mRNA and protein were increased by BBI. In parallel with the Cx43 induction, cell viability was inhibited in a dose-dependent manner, and some markers of CSCs and chemo-resistance was decreased. The combination of BBI and α-TOS, TRF, DIM could suppress the cell survival at low concentrations. Combination of BBI and α-TOS was mediated through mitochondria, combination treatment of BBI and TRF mediated through endoplasmic reticulum stress and combination treatment of BBI and DIM was mediated by inactivation of Akt, suggested that enhancing apoptosis induction efficiently induced apoptosis of prostate cancer stem-like cells.

Conclusion: Herein, we propose a new strategy targeting prostate cancer stem cells. BBI induces the differentiation and decreases the characteristics of cancer stem cells. Subsequently, α-Tos, TRF or DIM can induce cytotoxic effect on BBI-differentiated prostate cancer stem cells. Therefore, the combination of BBI and α-Tos, TRF or DIM can lead to apoptosis of cancer stem cells.

女性アスリートの疲労骨折の一次予防における栄養素摂取が

血中ホモシステインに及ぼす影響

The effect of nutrient intake on female athlete's primary prevention
of fatigue fracture on blood homocysteine

研究代表者　品川　明穂（食環境科学研究科食環境科学専攻）
指導教員　矢野　友啓

研究期間／平成 30 年 4 月 10 日～平成 31 年 2 月 15 日
キーワード／①女性アスリート　Female athlete
②骨質　Bone quality
③ビタミン B_2　Vitamin B_2
④ビタミン E　Vitamin E
⑤ホモシステイン　Homocysteine
平成 30 年度交付額／560,000 円

研究発表／学会および口頭発表

・学会発表

Akiho Shinagawa, A Minematsu, T Yamazaki, R Furuki, Y Miyakoshi, T Yano, M Ota.
Influence of exercise management on fasting plasma homocysteine concentration in female long-distance runners.
Nutrition Society of Australia, Canberra（Australia）,27-30 November 2018

研究経過および成果の概要

１．研究方法

対象者は、2018 年 1 月から 2018 年 11 月末までに大学に所属していた女子長距離陸上選手 16 名とした。なお、同じ大学の陸上部に所属している女子長距離陸上選手であり、競技特性も同じであったため、対象者の除外基準は設けなかった。本研究は東洋大学ヒト試験倫理委員会の承認を得て実施した（承認番号：TU2018-16）。

ビタミンの介入は大きく 2 回に分けて実施した。まず、対象者全員にビタミン B_2 粉末を食事に混ぜて摂取してもらった。2 週間のウォッシュアウト期間を設け、その後 14 日間ビタミン E を同様に食事に混ぜて摂取してもらった。十分なウォッシュアウト期間を設けた後に、2 回目の介入試験を行った。14 日間のコントロール期間（プラセボ摂取）を実施し、2 週間のウォッシュアウト期間を経た後に、ビタミン B_2 粉末およびビタミン E 粉末を単独摂取試験時同様に食事に混ぜて併用摂取してもらった。各摂取量はビタミン B_2 粉末 28 mg/day、ビタミン E 粉末 300 mg/day とした。摂取したビタミン B_2 粉末は食品添加物リボフラビン F（三菱ケミカルフーズ株式会社）、ビタミン E 粉末は食品添加物抽出α－E 末（三菱ケミカルフーズ株式会社）を使用した。ビタミン E 粉末においては、重量の 20%が総ビタミン E 量となるため、ビタミン E 粉末 300 mg/day 摂取することで、ビタミン E としては 60 mg/day 摂

取したこととなる。なお、それぞれの摂取期間においては、朝食と夕食の 1 日 2 回に分けて 1 日分を摂取してもらった。各ビタミンの摂取量は先行研究をもとに、日本人の食事摂取基準（2015 年版）で定められた耐容上限量を超えないように設定した。

対象者全員に採血を実施した。採血は介入 0 日目と 15 日目の早朝空腹時に実施した。測定項目は血漿ホモシステイン（Homocysteine：Hcy）濃度、血漿ペントシジン濃度、血中ビタミン B_2 濃度、血中ビタミン B_6 濃度、血中ビタミン B_{12} 濃度、血中葉酸濃度、血中ビタミン E 濃度とした。採取した血液サンプルは研究室内にて測定を実施するものは、採血同日に遠心分離を行い、滅菌済み 1.5 mL チューブに必要量分注して分析まで−30℃で保管した。血漿 Hcy 濃度および血中ビタミン E 濃度は高速液体クロマトグラフィー（High performance liquid chromatography：HPLC）、血漿ペントシジン濃度は競合法の酵素免疫測定法（Enzyme-linked immunosorbent assay：ELISA）で測定した。HPLC の条件は後述した。血中ビタミン B_2 濃度、血中ビタミン B_6 濃度、血中ビタミン B_{12} 濃度、血中葉酸濃度の分析は株式会社 LSI メディエンスに委託した。対象者のメチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素（Methylenetetrahydrofolate reductase：MTHFR）の一塩基多型（Single nucleotide polymorphism：SNP）は DNA 抽出キット Oragene®を用いて採取した唾液から判定した。対象者の特性として年齢、身長、体重、競技歴、疲労骨折の有無、月経状態等については介入開始時に実施した自記式のアンケート結果より集計した。

本研究で得られたデータの統計解析には SPSS（Statistic Packed for the Social Science Ver.24）を用いた。介入前後の郡内比較では対応のある t 検定または Wilcoxon の符号付順位検定を実施し、各介入試験における変化量の群間比較では一元配置分散分析を行った。各測定項目との相関を確認する際には、Spearman の順位相関係数を行った。検定はすべて両側検定とし、いずれも統計的な有意水準は 5%未満とした。

２．研究経過および成果の概要

介入開始時である 2018 年 1 月時点での対象者の特性は、年齢 19.9±0.8 歳、身長 159.3±5.3 cm、体重 46.4±5.2 kg、競技歴 8.1±2.9 年であった。

すべての試験に参加できた対象者は 12 名であった。それぞれの介入試験における介入前における血漿 Hcy 濃度を 0 としたとき、介入後において血漿 Hcy 濃度が最も低下したものはビタミン B_2・ビタミン E の併用摂取であり、次いでビタミン B_2 単独摂取、ビタミン E 単独摂取であった。これらの結果より、ビタミン E の単独摂取に比べてビタミン B_2・ビタミン E の併用摂取およびビタミン B_2 の単独摂取が有意に血漿 Hcy 濃度を低下させ、さらにビタミン B_2 単独摂取に比べ、ビタミン B_2・ビタミン E の併用摂取でより血漿 Hcy 濃度が低下することが示された。SNP 別に血漿 Hcy 濃度の変化量の比較をした結果では、一貫した結果は得られなかった。同様に血漿ペントシジン濃度の変化量を各試験で比較したときには、ビタミン B_2 単独摂取群においては、わずかな減少傾向がみられた。また、ビタミン B_2 単独摂取群の変化に比べビタミン B_2 とビタミン E の併用摂取群において血漿ペントシジン濃度は有意に上昇していたが、その他の群間差はみられなかった。血中ビタミン B_2 濃度は、ビタミン B_2 単独摂取試群およびビタミン B_2・ビタミン E 併用摂取試験では介入後で有意に上昇し、ビタミン E 単独摂取試験では有意に減少した。これより、ビタミン B_2 粉末を 28 mg/day、14 日間摂取することにより血中ビタミン B_2 濃度は有意に上昇することが示された。一方で、ビタミン E 単独摂取群では、血中ビタミン B_2 濃度は有意に低下することが分かった。血中ビタミン B_6 濃度、血中葉酸濃度に関しては、検出限界値を上回っており、数値を求めることはできなかったが、正常範囲内に収まる結果となっていた。血中ビ

タミン B_{12} 濃度では、いずれの試験においても介入前後で有意な差はみられなかった。血中ビタミン E 濃度においては、ビタミン E 単独摂取試験およびビタミン E・ビタミン B_2 併用摂取試験においては介入後に血中ビタミン E 濃度の有意な上昇がみられた。これより、ビタミン E 粉末を 300 mg/day、14 日間摂取することにより血中ビタミン E 濃度は有意に上昇することが示された。また、ビタミン B_2 単独摂取においては介入後、有意に血中ビタミン E 濃度が減少した。

３．今後の研究における課題または問題点

本研究において問題点として、1）本研究は短期介入であったため、血漿ペントシジン濃度の変動をみるためには、さらなる介入期間および摂取量の検討が必要であること、2）血漿 Hcy 濃度は運動によっても上昇するといわれているが、本研究では短群試験であり、介入期間において運動の管理は実施していないため、各介入期間での運動量や季節の差の可能性を取り除けていないこと、3）体内の抗酸化状態を判断するにあたり、血中ビタミン E 濃度のみの測定しか実施できておらず、その他の抗酸化ビタミン等を含めた抗酸化状態を把握することができていない、という 3 点が挙げられる。今後、本研究の展望として、各ビタミンの摂取量や摂取期間、測定項目に関して検討を重ねたのちに、SNP にも考慮したテーラーメイド栄養学に応用することを目的とした研究を実施する必要がある。

Summary

For athlete's fatigue fractures are fatal injuries. Fatigue fracture is caused by a decrease in bone strength. Bone strength is regulated by both of bone density and bone quality. Recently, plasma homocysteine (Hcy) concentration has attracted attention as biomarker of bone quality.

Subjects in this study comprised of 16 college female long-distance runners. Subjects were separated in the following group, only vitamin B_2 intake, only vitamin E intake, placebo intake, combination of vitamin B_2 and vitamin E intake. Each intervention period was for 14 days. A 14-days washout period was established during each intervention period. Blood sampling was carried out at the early morning on fasting days 0 and 15 of the intervention. Plasma Hcy concentration and vitamin E concentration were measured by HPLC（High performance liquid chromatography）, and plasma pentosidine concentration was measured by ELISA（Enzyme-linked immunosorbent assay）. Measurement of blood vitamin B_2, B_6, B_{12}, and folic acid concentration was committed to other labs. For statistical analysis, the test was performed with SPSS (ver.24) ($p < 0.05$).

12 subjects participated in all intervention studies. When the plasma Hcy concentration before intervention in each intervention study set to 0 level, the one with the lowest plasma Hcy concentration after the intervention was intake of vitamin B_2 and vitamin E combination. No consistent results were obtained with changes in plasma pentosidine concentrations. There was an increase in blood vitamin B_2 concentration in the group with intake of vitamin B_2. Similarly, in the group with intake of vitamin E, there was an increase in blood vitamin E concentration. So it was found that each vitamin concentration in the blood rises by ingesting vitamin B_2 powder 28 mg/day and vitamin E powder 300 mg/day for 14 days.

From these results, it was suggested that intake of vitamin B_2 and vitamin E combination is more likely to be effective than single ingestion of vitamin B_2 and vitamin E when aiming at reducing

plasma Hcy concentration. In addition, when examining its intake period, it was found that the effect could be expected even in short term intake for 14 days. In athlete who is an SNP holder of MTHFR and who is considered to be a high risk group of fracture, by taking vitamin B2 and vitamin E in combination as a primary prevention, there is a possibility of lowering the plasma Hcy concentration and reducing the risk of fracture.

持久性運動トレーニングに伴う静脈コンプライアンスの増大が
安静時および運動時の循環応答に及ぼす影響

Effect of increased venous compliance with endurance training
on circulatory responses at rest and during acute exercise

研究代表者　飯村　泰弘　（食環境科学研究科　食環境科学専攻）
指導教員　　大上　安奈　　印

研究期間／平成 30 年 4 月 10 日～平成 31 年 2 月 15 日
キーワード／①一回拍出量　Stroke volume
②一過性運動　Acute exercise
③インターバルトレーニング　Interval exercise training
④静脈閉塞プレチスモグラフィ　Venous occlusion plethysmography
平成 30 年度交付額／560,000 円

研究発表／学会および口頭発表

- 飯村泰弘：持久性運動トレーニングに伴う静脈コンプライアンスの増大が安静時および運動時の循環応答に及ぼす影響。
  第 74 回日本体力医学会大会、茨城、平成 31 年 9 月（予定）
- 論文投稿予定

研究経過および成果の概要

1. 研究方法

本研究の目的は、持久性運動トレーニングに伴う下腿部静脈コンプライアンス（CVCPL）の増大は安静時および運動時の一回拍出量（SV）の増大に関与する、という仮説を検討することであった。

CVCPL を増大させる運動トレーニング内容に関する予備検討において、一定負荷運動よりも間欠負荷運動の方が、CVCPL を増大させる運動として適していることが確認された。そのため、本実験において間欠負荷運動トレーニングを採用した。

本実験では、健康な若年男女 16 名を対象とした。なお，本研究を行うにあたり、研究の目的や手順および危険性について口頭または文書で説明し、同意を得てから実験を行った。まず、被験者を運動トレーニングを行う群［TRA 群 : 8 名（年齢 : 20.6±0.4 歳、身長 : 168.1±1.4 cm、体重 : 66.0±2.5 kg、収縮期血圧 : 115±3 mmHg、拡張期血圧 : 63±2 mmHg、心拍数 : 60±3 拍／分)］と行わない群［CON 群 : 8 名（年齢 : 21.1±0.2 歳、身長 : 166.4±2.4 cm、体重 : 57.5±2.8 kg、収縮期血圧 : 108±4 mmHg、拡張期血圧 : 58±2 mmHg、心拍数 : 66±5 拍／分)］に分けた。TRA 群は、最大酸素摂取量（$\dot{V}O_{2max}$）の 40%と 80%に相当する強度（40%$\dot{V}O_{2max}$ と 80%$\dot{V}O_{2max}$）の運動を 2 分間交互に繰り返す間欠負荷自転車運動を 1 回 40~60 分間、週 3 回、8 週間実施した。1 回の運動時間は、1~2 週目では 40 分間、3~4 週目では 52 分間、さらに、5~8 週目では 60 分間とした。両群ともに 8 週間の前（Pre）と後（Post）

の CVCPL を比較・検討した。一方、CON 群は、特別な運動を行なわない通常の生活を 8 週間実施した。8 週間のトレーニングまたは通常生活の前後（Pre と Post）で、両群ともに $\dot{V}O_{2max}$、下腿部容積変化（下腿部静脈コンプライアンス）および一過性運動時の循環応答を測定し、Pre と Post 間のデータを比較・検討した。

まず、被験者の $\dot{V}O_{2max}$ と運動負荷を決定するために、漸増負荷運動テストを実施した。被験者は、自転車エルゴメーター上で 3 分間の安静座位を保った後、ウォーミングアップとして 20~50 W の負荷を 3 分間漕ぎ、引き続き、2～30 W／分で負荷を漸増させる運動を疲労困憊まで行った。この時、呼気ガスは breath-by-breath 法で測定した。さらに、漸増負荷運動テストの日から 2 日以上あけ、下腿部容積変化を測定した。被験者の左大腿部に加圧用カフを、左下腿部に水銀ストレンゲージを装着し、仰臥位姿勢で 20 分以上の安静を保ったのち測定を行った。具体的な測定方法は以下のとおりである。カフに 60 mmHg の圧力を 8 分間加えた後、1 mmHg／秒の割合で 0 mmHg まで 60 秒間かけて脱気した。加圧プロトコールを通して、下腿部の容積変化を静脈閉塞プレチスモグラフィ法で測定し、カフ圧－体肢容積変化曲線を求め、そこから、CVCPL を算出した。また、一過性運動時の循環応答の測定は、ベースライン値の測定に引き続き、5 分間の運動を行ない、その後、回復をとるプロトコールを、低強度と中強度の順に実施した時の循環応答を測定した。なお、運動強度は、被験者ごとにトレーニング前後で同一の絶対負荷を用いた（低強度：65±4 W、中強度：105±6 W）。プロトコールを通して、循環パラメータは、volume clamp 法を用いて、心拍数（HR）、SV、心拍出量（CO）、収縮期血圧（SBP）、拡張期血圧（DBP）および平均動脈血圧（MAP）を測定した。

2. 研究経過および成果の概要

8 週間の間欠負荷運動トレーニングにより、TRA 群の CVCPL と $\dot{V}O_{2max}$ は Pre に比べ Post で有意に増大した（$P<0.05$）。一方、CON 群は 8 週間の前後で CVCPL および $\dot{V}O_{2max}$ に有意な変化は認められなかった。

安静時および一過性運動時の CO および SV は、いずれの強度ともトレーニング前後でほぼ同程度であったが、HR は Pre に比べ Post で低値を示した（$P<0.05$）。さらに、安静時および低強度運動時の血圧は、トレーニング前後で差はみられなかった。また、中強度運動時の DBP および MAP はトレーニング前後で差はみられなかったものの、SBP は Pre に比べ Post で低値を示した（$P<0.05$）。また、運動トレーニング前後における CVCPL の増大程度（Post の値－Pre の値）を横軸に、トレーニング前後の安静時および運動時の循環応答の変化量（Post の値－Pre の値）を縦軸にとり、運動トレーニングに伴う CVCPL 増大と安静時および運動時の循環応答の変化の関連性について検討した結果、両者の間に相関関係は認められなかった。この結果から、本研究で用いた 8 週間の間欠負荷運動トレーニングに伴う CVCPL 増大は、安静時および運動時の SV 増大に関与しない可能性が示唆された。

3. 今後の研究における課題または問題点

運動様式（ランニングやレジスタンス運動など）やトレーニング内容（運動強度、頻度および期間など）により、静脈コンプライアンスの適応や運動時の循環応答の適応の程度が異なると考えられる。従って、今後、運動トレーニングの様式や期間を変化させた場合に生じる静脈コンプライアンスの増大が SV に及ぼす影響を検討していく必要があると考えられる。

Summary

The purpose of this study was to investigate whether increased calf venous compliance (CVCPL) with interval exercise training contributed to increase in stroke volume (SV) at rest and during exercise. Sixteen young participants were divided into a training group (n = 8) and control group (n = 8). The training program consisted of cycling exercises in alternating 2-min intervals at 40% of maximal oxygen uptake ($\dot{V}O_{2max}$) and 80% $\dot{V}O_{2max}$ for 40-60 min/day, 3 days/week for 8 weeks. CVCPL at rest, $\dot{V}O_{2max}$ and circulatory responses to exercise were measured before (Pre) and after (Post) 8 weeks. CVCPL was evaluated from the change in calf volume during the cuff deflation protocol as following. The venous collecting cuff wrapped on the thigh was inflated to 60mmHg for 8 min, and then cuff pressure was deflated from 60mmHg to 0mmHg at rate of 1 mmHg/sec. Through the cuff deflation protocol, calf volume was measured by strain gage plethysmography. CVCPL was calculated as the numerical derivative of the curve of calf volume plotted against cuff pressure as follows: venous compliance = change in limb volume / change in cuff pressure. In addition, participants performed a cycling exercise at low (65 ± 4 W) and moderate (105 ± 6 W) workload for 5 min and then had a recovery periods of 5 min. The same absolute workloads were used each subjects in both Pre and Post. Heart rate (HR), SV, cardiac output (CO), and systolic (SBP), diastolic (DBP) and mean (MAP) blood pressure were measured during exercise. During exercise at both low and moderate intensity, HR was lower in Post than Pre ($P < 0.05$), although CO and SV were similar between Pre and Post. DBP and MAP during exercise at both intensities also did not differ between Pre and Post, while SBP during exercise at only moderate intensity was lower in Post than Pre ($P < 0.05$). Increase in CVCPL with exercise training showed no correlation with the changes in HR, SV, CO, and blood pressure during exercise from Pre to Post. In present study, SV during exercise did not change after training despite the increase in CVCPL with interval exercise training. The increased CVCPL might be too small to cause a change in SV at rest and during acute exercise. These results suggest that increased CVCPL with endurance training for 8 weeks might not cause the increase in SV at rest and during acute dynamic exercise at low and moderate workload.

低周波治療器を用いた理学的介入による骨量改善機序の解明

Elucidation of mechanism of bone volume improvement by physical intervention using low frequency treatment device

研究代表者　中井　真悟（福祉社会デザイン研究科ヒューマンデザイン専攻）
指導教員　大迫正文　印

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
キーワード／①　ラット大腿骨（rat' femur）
②　鍼通電刺激（electrical acupuncture stimulation）
③　骨量（bone mass）
④　骨折線（fracture line）
⑤　骨構造（bone structure）

平成 30 年度交付額／700,000 円

研究発表
東洋大学大学院紀要　投稿予定

研究経過および成果の概要

1．研究方法

材料として，7 週齢のウィスター系雄性ラット 60 匹を用い，後肢を不動状態にする群(IM)，その不動状態と同期間に鍼通電刺激を施す群(IMEA)および対照群(CO)に分類した．IM および IMEA のラットは 7 週齢から 2 週間，不動装置によって関節固定を行った(図 1)．CO は同期間，通常飼育を行った．IMEA は 2 週間の不動期間中に鍼通電刺激を行った．皮膚抵抗を排除するため，ステンレス針を大腿前面の内側部および外側部に体表から骨膜まで刺入した．連続的交流鍼通電刺激（250μsec，50Hz，0.24mA(500Ω 負荷時)）を 10 分／日，毎日，2 週間実施した．実験期間終了後に，大腿骨を摘出して骨膜以外の周囲の軟組織を除去した．左脚を速やかに浸漬固定し，右脚は骨強度試験器で破断した後，固定液に浸漬して破折面を組織学的に観察した．さらに，免疫組織化学的手法を用いて骨吸収抑制の機序について比較，検討した．

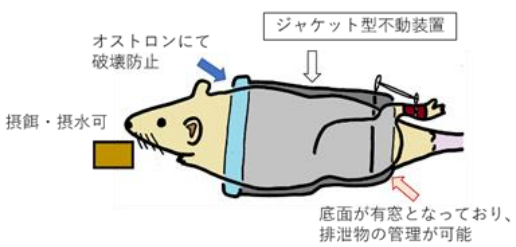


図1．不動装置
股関節伸展位，内・外転制限，
膝関節屈曲位保持

2．研究経過および成果の概要

皮質骨の骨基質を観察すると，CO と IMEA では，接合線が層板構造をなす骨基質と，その深部の層板構造をもたない骨基質の境に存在した．また，休止線が層板間にみられたが，IM ではそのような構造は認めなかった（図 2）．SEM を用いて各群の骨表面にある吸収窩を観察すると，IM の骨表面には深い吸収窩を多数認めたが，CO ではその数は多くなかった．また，IMEA は CO の骨表面

の構造に類似していた（図 3）．

次に，Three-point bending によって破断点に達して不可逆的に変性した標本の骨幹中央部または骨幹端部の前面を観察した．CO および IMEA の皮質骨を弱拡大で観察すると、骨幹中央部の皮質骨は 3 層に，骨幹端部は 2 層に剥離されたが，IM では観察できなかった．骨幹中央部を詳細に観察すると CO および IMEA では内・外環状層板に挟まれた深部に微細な骨片が形成されたが，IM ではそのような骨片は認めなかった．CO および IMEA では，接合線または休止線の近傍に骨長軸方向へ走行する亀裂を認め，特に接合線に沿って大きな亀裂が生じた．一方，IM の破断方向に垂直な亀裂はわずかであり，概ね破断方向と一致していた（図 4，5）．本実験では myostatin の蛍光免疫染色を施したが，いずれの群も細胞質または膜上に蛍光を示さなかった（図 6）．

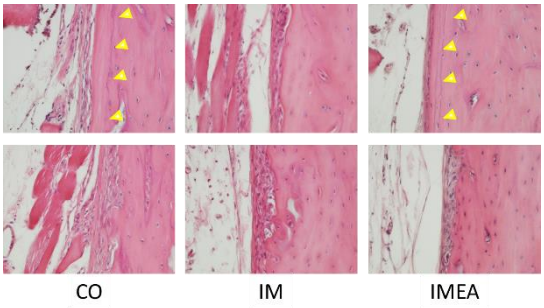


図2．皮質骨前面の拡大像　（矢頭：接合線，縦断像）
上段：骨幹中央部　下段：骨幹端部

COとIMEAでは接合線は層板構造をなす骨基質とその他の骨基質の境に存在し，休止線が層板間にみられ，基質線維が規則的に並ぶ層板構造を明瞭に認めたが，IMではそのような構造は認めなかった．

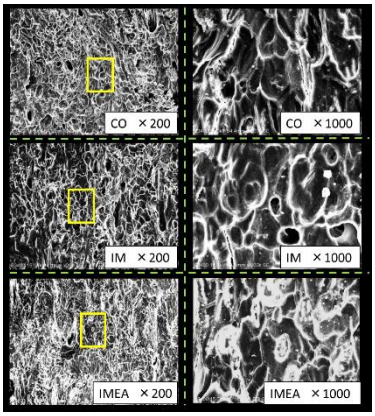


図3．骨幹端部における骨表面の微細構造
（右図は黄枠の拡大）

IMの骨表面には深い吸収窩を多数認めたが，COではその数は多くなかった．また，IMEAはCOの骨表面の構造に類似していた．

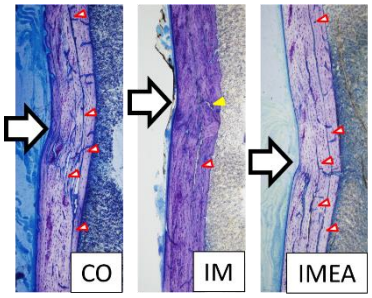


図4．骨幹中央部における破折面の微細構造（縦断像）
（赤矢頭：骨長軸方向の亀裂、黄矢頭：破断方向への亀裂）

COおよびIMEAでは内・外環状層板に挟まれた深部に微細な骨片が形成されており，IMではそのような骨片は認めなかった．COおよびIMEAでは見かけ上，3層に剥離されたが，IMでは認められなかった．さらに、COおよびIMEAでは，接合線または休止線の近傍に骨長軸方向へ走行する亀裂を認め，特に接合線に沿って大きな亀裂が生じていた．一方，IMではそのような亀裂は認められなかった．

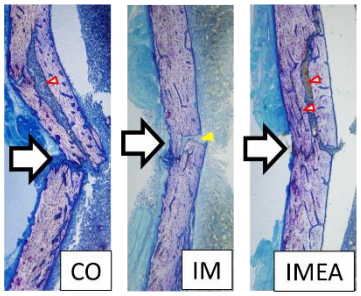


図5．骨幹端部における破折面の微細構造（縦断像）
（赤矢頭：骨長軸方向の亀裂、黄矢頭：破断方向への亀裂）

COおよびIMEAでは皮質骨深部に存在する接合線に沿って骨長軸方向へ裂けるような亀裂を認めたが，　IMの破断方向に垂直な亀裂はわずかであり，概ね破断方向と一致していた．COおよびIMEAでは見かけ上，2層に剥離されたが，IMでは認められなかった．

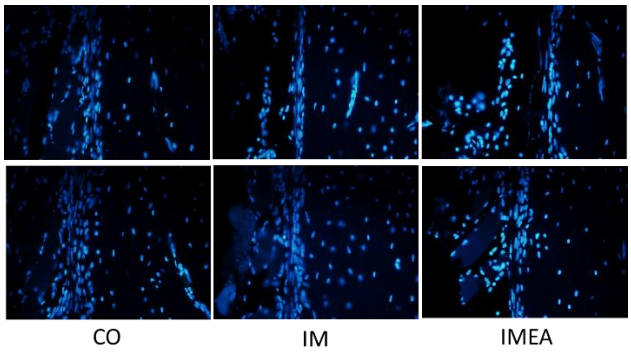


図6. 皮質骨前面の拡大像　（青：DAPIによる核染色）
上段：骨幹中央部　下段：骨幹端部

いずれの群も細胞質または膜上に蛍光(Myostatin)を示さなかった.

3. 今後の研究における課題または問題点

本実験では，不動化によって生じる骨の変化を観察し，物性のみならず構造の脆弱化していることが分かった．しかし，そのような変化は鍼通電刺激によって抑制されていた．さらに，鍼通電刺激によって骨強度の維持されており，高い再現性が得られた．この結果は，鍼通電を用いた物理的刺激が骨量の維持に寄与すること，そして，このことが寝たきり状態の患者やリハビリ期におけるアスリートにも応用しうる可能性，発展性を有することを示すものである．

しかし、本実験は，ヒトへの応用を想定して実験動物を用いたものであるが，皮下組織の厚さや骨の大きさが異なっており，本研究で得た結果をヒトに当てはめることができない．さらに，一連の実験で得た知見は，電気刺激が骨に直接影響するのか，または，筋収縮を介して生じた牽引力が骨に影響したのかについて断定するに至っていない．また，骨形成促進および吸収抑制にどのような代謝系のもとで行われているかについても検討するに至らず，今後の課題としたい．

Summary

Sixty male rats (wistar strain) of 7-week-old were used as maetrialas. They were divided into three groups：immobilization group (IM), immobilization and electrical acupuncture group (IMEA) and control group (CO). Hindlimbs of rats of IM and IMEA were immobilized for two weeks, using jacket-type immobilizing apparatus. Acupunctures were inserted from the anterior face of femur until a periosteum and the femur was stimulated by the alternating current (250μsec, 50Hz, 0.24mA) for 10 minuites per day, every day, during the experimental period, in IMEA. Each rat was anesthetized, and the femur was excised. They were fractured by three-bending test equipment and those fractured portions were analyzed histologically.

Lamellar bones were observed in a cortical bone and reversal lines exited at the boundary between the lamellar and non-lamellar bones in IMEA and CO. Resting lines were also recognized in the cortical bone of CO, but they didn't exist in that of IM. When observing the cortical bone of fractured portion in IM, cracks occurred in direction which is unrelated to the direction of the resting lines and the reversal lines. However, in CO and IMEA, the cracks appeared agreed with those lines. Results of immunofluorescence staining of myostin didn't show the difference between each group.

It was understood that the shapes of the fracture-line in the diaphysis and distal epiphysis of rat's femur by the electrical acupuncture related closely in bone structures.

発育期ラット脛骨の骨端板および一次海綿骨における細胞の

分化過程に関する組織学的研究

Histological study on differentiation process of
growth plate and primary cancellous bone in growing rats

研究代表者　荒木美智子
（福祉社会デザイン研究科 ヒューマンデザイン専攻）
指導教員　大迫正文　印

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
キーワード／①骨端板 Growth plate
②一次海綿骨 Primary cancellous bone
③発育変化 Developmental change
平成 30 年度交付額／630,000 円

研究発表／学会および口頭発表
・発育期ラット脛骨骨端板の荷重抵抗性を高める構造変化
第 73 回日本体力医学会大会（福井）、口頭発表
・学外雑誌へ投稿予定

研究経過および成果の概要

1. 研究方法

実験材料として、発育段階に当たる 3、7、13 週齢の wistar 系雄性ラット各 7 匹を使用した。これらを炭酸ガス吸引により安楽死させ、心停止を確認した後に脛骨を摘出した。脛骨近位端をハンドモーターにて矢状割断し、浸漬固定した。その後、一部の標本は 8%EDTA にて脱灰し、パラフィン切片および走査電子顕微鏡（SEM）観察用標本を作製した。パラフィン切片には、safranin O 染色、マッソン・トリクローム染色、TRAP 染色、ALP 染色、免疫染色(osterix, osteocalcin, osteopontin,osteoprotegerin, sRANKL)を施して光学顕微鏡で観察した。また、SEM 観察用標本の作製のために、次亜塩素酸ナトリウム溶液にて骨端板の有機質を部分的に溶解した。非脱灰標本からは、エポキシ樹脂包埋準超薄切片および超薄切片を作製した。準超薄切片はトルイジンブルーにて染色した後、光学顕微鏡で観察した。超薄切片は電子染色を施し透過型電子顕微鏡（TEM）にて観察した。

2. 研究経過および成果の概要

【結果】 safranin O 染色を施した切片で骨端板を観察すると、週齢が進むにしたがい骨端板は厚さが減少した。。準超薄切片を観察すると、増齢後の 13 週齢では、増殖軟骨細胞においてゴルジ野や粗面小胞体が密に存在した。一方、肥大軟骨細胞は週齢が進むにしたがい顕著な小型化が見られ、それに伴って縦隔の石灰化軟骨基質は幅を増した。次亜塩素酸ナトリウム溶液にて処理した標本を SEM で観察すると、発育後期の 13 週齢では軟骨細胞柱を取り巻く鞘状の構造物が明瞭に認められ、その内部には籠状に配列するコラーゲン線維束が認められた。一方、発育初期の 3 週齢ではこのような明瞭な構造の違いは認められず、骨端板の軟骨基質

は一様に溶解した。

マッソン・トリクローム染色を施した切片で一次海綿骨を観察すると、週齢が低い場合には骨梁は細く、骨基質は疎な基質線維から構成されていた。一方、発育後期の 13 週齢では骨梁は太く、密な基質線維から構成される骨基質が多く添加された。これらの基質線維の密度の違いは、TEM による電顕的な観察からも明らかとなった。これらの部位に存在する骨芽細胞系細胞は、増齢に伴って骨端板により近い部位で多く出現した。事実、準超薄切片で骨端板直下を観察すると、3 週齢では明調で細胞質の乏しい細胞が骨梁表面から離れた部位で多く見られたのに対し、13 週齢では暗調で大型の細胞が骨梁表面に上皮様に配列した。TRAP 陽性細胞は発育初期の 3 週齢でやや多く出現したが、sRANKL または OPG 陽性細胞の局在には、発育による大きな差が認められなかった。

【結果のまとめ】

本研究は、発育期に特有の組織である骨端板と、骨端板の石灰化軟骨基質を芯とし、幼若な骨梁からなる一次海綿骨の組織学的変化について検討した。発育によって骨端板の軟骨細胞の成熟度の上昇および基質産生能の増加が示唆された。これに伴い石灰化軟骨基質の幅の増加と、軟骨基質の線維密度の増加が観察された。また、幅および線維密度の増した石灰化軟骨基質を芯として添加される骨基質は、成熟骨芽細胞によって産生された線維密度の高いものであった。このような構造変化は、発育に伴う自重および活動量増加に抵抗するためであると考えられる。

3. 今後の研究における課題または問題点

発育期に特徴的な組織である骨端板と一次海綿骨の境界部は、骨端線離開と呼ばれる障害の好発部位である。特に、スポーツでのオーバーユースによる発生が問題となっている。

一次海綿骨が成熟した二次海綿骨に置換される骨リモデリング過程については、そのメカニズムの詳細は明らかになっている。しかしその前の段階として、一次海綿骨がどのようなメカニズムで形成されるかについては不明である。本研究では、発育に伴って両組織で細胞および基質の成熟度上昇が認められた。分化度の高い細胞が、密な線維構造を持つ基質を形成したことが推測される。この変化は、メカニカルストレスへの抵抗性を高めるのに有利な変化であると考えられる。しかし、細胞が具体的にどのようなファクターによって制御されて、基質合成能を高めるかについては、本研究では検討することができなかった。

以上のことから今後の課題は、発育過程の両組織の形成についてさらに詳細なメカニズムを明らかにすることである。発育過程における組織変化のデータは、将来的に運動負荷による影響を検討し、骨端線離開の予防や治療について理解を深める上で重要な基礎的データとなり得る。これらのメカニズムの分析には、免疫染色や *in situ* hybridization 法を用いることで局所的なタンパク質および遺伝子の発現を検討することが必須となる。加えて、ホルモンや無機質について全身の代謝の状況を、局所的な変化と併せて考察することで新たな示唆が得られると思われる。

Summary

[Purpose] The purpose of this study was to investigate the structural changes in the primary cancellous bone and the growth plate at an early or a late growing stages in rats.

[Materials and methods] Male wistar strain rats aged 3, 7 and 13 weeks were used as materials. Their proximal tibiae were excised, were divided in sagittal direction and were fixed in 4% paraform aldehyde or karnovsky fixation solution. And then, some specimens were decalcified in 8%

ethylenediaminetetraacetic acid. Paraffin sections were prepared for safranin O staining, Masson's trichrome staining, TRAP staining, ALP staining, and immunohistochemistry (osterix, osteocalcin, osteopontin, osteoprotegerin, sRANKL). Some decalcified specimens were parcially dissolved by sodium hypochlorite solution for observation of the growth plate by SEM. Calcified specimens were embedded in epoxic resin. And then, semi- and ultra-thin sections were cut by an ultramicrotome. Semi-thin sections were stained with toluidine blue dye. On the other hand, electron staining was performed on ultra-thin sections for observation by TEM.

[Results] Density of cell organelle increased in the proliferative chondrocytes in the growth plate of 13-week-old. Thickness of the longitudinal septa increased with growth. The cartilage matrix of the growth plates of 13-week-old was dissolved by sodium hypochlorite and were observed by a scanning electron microscopy. The chondrocyte column surrounded by sheath-like structure containing basket-like structure inside was recognized clearly. The collagen bundles composed of those structures were thicker and denser in late growing stage.

The thickness of the trabecular bone increased with growth in the primary cancellous bone. Density of the organelle was enhanced in the osteoblasts of 13-week-old. Osterix-positive bone forming cells and osteocalcin- or osteopontin- positive mature osteoblasts were localized near the growth plate in late growing stage. In addition, density and the thickness of the collagen fibers of the bone matrix increased by growth. TRAP-positive cells increased slightly with growth. However, localization of sRANKL- or OPG- positive cells did not change.

[Conclusion] It was understood that maturation of the cell elevated in both the growth plate and the cancellous bone, and then, high-resistant structure to mechanical loading was acquired in 13-week-old. It was suggested that mature cells form mature matrix in both the growth plate and the primary cancellous bone in late growing stage. These changes might be advantages to resist to increasing mechanical loading during postnatal growth.

介護支援専門員のケアマネジメント能力における「協働的能力」に関する研究

－トライアンギュレーション研究方法による「協働的能力」構成要素の抽出と構造－

A Study of “Cooperative Ability” in Care Management Ability of Care Managers: Extraction and Structure of “Cooperative Ability” using the Triangulation Research Method

研究代表者　小林　紀明（福祉社会デザイン研究科ヒューマンデザイン専攻）
指導教員　　渡辺　裕美　　印

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日

キーワード／①多職種連携　Interprofessional Cooperation
②介護支援専門員　Care Managers
③協働的能力　Cooperative Ability
④ケアマネジメント　Care Management
⑤地域連携　Regional Collaboration

平成 30 年度交付額／544,000 円

研究発表／学会および口頭発表
平成 31 年 9 月 29 日（日）第 12 回日本保健医療福祉連携教育学会学術集会で発表する予定。

研究経過および成果の概要

１．研究方法

本研究は、介護支援専門員（以下、CM）のケアマネジメント能力における多職種連携に必要な「協働的能力」とその構造について明らかにすることを目的とし、トライアンギュレーションの研究デザインを用いた３段階の調査１～３によって構成した。調査１は、多職種連携に必要なケアマネジメント能力の中の「協働的能力の具体的要素」を抽出するため、CM を対象に計 13 名のインタビュー調査を実施した。当初の計画では、調査２として利用者またはその家族を対象とした質的研究から「利用者が認識する有効なサービスに関連する協働的能力」を抽出し、調査１・2 の結果から CM の「協働的能力」を測定するオリジナルの調査項目を整理する計画であったが、調査３の、全国の CM を対象とした自記式質問紙調査を実施した後に、調査２を実施する方法へ変更した。現段階で、調査３は自記式質問紙調査票の検討、プレ調査および本調査の準備段階まで進んでいる。

２．研究経過および成果の概要

CM１３名のインタビューデータは、事例コードマトリックスの手法を用いて分析し、既存の「協働的能力」と比較検討した。

その結果、CMのケアマネジメント能力における多職種連携に必要な「協働的能力」として、１）コミュニケーション・情報交換、２）職種間での積極的な情報共有と活用、３）関係性のある職種・事業所等に働きかけて一緒に行動する、４）連携を高めるための自己研鑽、５）目標や方向性を共通認識する、６）ケアマネジャー間連携・能力向上、７）自職種を省みて発信する、８）他の職種を理解する、９）積極的な言動、10）多職種のやる気を引き出し役割を与える、11）専門性の尊重、12）受容・調整する、の１２の焦点的コーディング（＝協働的能力）が抽出された。

春田ら（2016）が示す『協働的能力としての多職種連携コンピテンシーモデル』と、現段階における本研究結果を比較してみると、先行研究のモデル：１～６【2つのコア・ドメイン：「１ 患者・利用者・家族・コミュニティ中心」「２ 職種間コミュニケーション」と、4つのドメイン：「３ 職種としての役割を全うする」、「４ 自職種を省みる」、「５ 他職種を理解する」、「６ 関係性に働きかける」】は、それぞれ、５）１）２）７）８）３）に該当する内容で、先行研究とおおむね一致していた。しかし、前述の下線で示した6項目【４）、８）、９）、10）、11）、12）】は、先行研究のモデルには該当しない新たな「協働的能力」の可能性が示唆された。また、１２の焦点的コーディングの下位概念にあたる「オープンコーディング」から抽出した、介護支援専門員のケアマネジメント能力における「協働的能力」測定項目(案)（①～㊲）を以下に示す。

１）：①研修や懇親会の場に参加し、共通のケースに返って話すことで情報交換ができる、②ケアマネだけでは限界があり、多職種との連携によって情報交換ができる、③積極的にコミュニケーションを図ることで役割を認識してもらう

２）：④惜しみない協力や情報提供ができる、⑤情報を他の専門職にとタイムリーに共有しサービス提供に反映する、⑥他の職種に対して素直な気持ちで知識・技術を活かしあう、⑦それぞれの専門の立場に該当する課題を委ねる

３）：⑧事業所に個人のニーズに合った社会資源の活用を促しネットワークを広げる、⑨他職種や他施設の力を借りて、利用者を受け入れやすい状況を整える、⑩職種間で意見が異なるときは、利用者の意向を再確認し導入時の優先順位を検討する、⑪行政を巻き込んで困難事例を解決する

４）：⑫研修や交流会・会議などへの参加による知識の向上を図る、⑬お互いの顔を知ることでの連携しやすい環境を作る

５）：⑭同じ視点を持ち解決に向かう、⑮お互いの目標や役割を共通認識できるように根気よく説明する

６）：⑯正しいアセスメントができるようにサポートすることで必要なサービスの提供につなげられる、⑰CM同士が思っていることを聞き出す（傾聴）、⑱同じケアマネとして共感を引き出す

７）：⑲自身の役割を認識することで積極的に行動できる、⑳自分の役割をわかりやすく他者に伝えられることで連携しやすくなる、㉑CMの強みを惜しみなく発信できる

８）：㉒他の職種に対して興味・関心を持つ、㉓他の職種の立場・役割を理解する、㉔敢えて他の職種の実践現場に参画し状況を把握して方向性を共通認識する

９）：㉕連携する職種が苦手とする部分に介入し、自身が表に出ないようにサポートする、㉖困難なケースでも労を惜しまず、行動したり発言できる、㉗関連施設や多職種が集う場に積極的に顔を出す、㉘基礎資格の関係なく、自分の役割や知り得たいことを明確に伝えるように行動する、㉙相手の立場や状

況に配慮しながら繰り返し話し合いをする
10）：㉚他の職種に対して選択肢を提案し実践できるかどうか働きかける、㉛他の職種に役割を与えやる気を引き出す
11）：㉜自身の専門性を高める努力をしてサービスを提供する、㉝異なる職種の専門性を尊重する
12）：㉞食い違う意見に対して折り合いを付けられるような協調性が重要、㉟利用者の課題に適した専門家の目で判断してもらえるように調整する、㊱相手の思いや感情を受け入れてから提案する、㊲食い違う相互の意見を尊重しながら調整する

３．今後の研究における課題または問題点

今後は、調査１の分析結果の見直しと同時に、焦点的コーディングを概念的カテゴリに集約してカテゴリ間の関係性を明らかにし、概念図を構築する必要がある。また、それと並行して、職種連携に必要な「協働的能力」に関する先行研究とすり合わせをし、「協働的能力」に対する介護支援専門員の認識を測定するオリジナルの調査項目を完成し、３月中に調査２のプレ調査、本調査を実施する予定である。

Summary

This study aimed to determine “cooperative ability” in the care management ability of care managers, which is essential for interprofessional cooperation, and to clarify its structure. From the findings in this year, 12 cooperative abilities were extracted. Of these items, six items were consistent with those in previous studies, while the possibility of new “cooperative abilities” was suggested from the remaining six items as follows: “Self-development to enhance cooperation,” “Understanding of other occupations,” “Active speech and behavior,” “Stimulating motivation of the staff of other occupations and assigning responsibilities,” “Respect for individual specialty,” and “Acceptance and adjustment.”

宋代墓誌の基礎的研究

The Fundamental study of tomb inscription in Song Dynasty

研究代表者　竹内　洋介（校友）

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
キーワード／①宋代　Song Dynasty
②墓誌　Tomb inscriptions
③中国　China
④形状　Form
⑤目録　Catalog
平成 30 年度交付額／630,000 円

研究発表／学会および口頭発表

〔編著〕

・大室智人・竹内洋介編『刻まれた記憶と記録―中国石刻史料データベースの構築・利用と可能性―』ACRI Research Paper Series 12、東洋大学アジア文化研究所、2019 年 2 月、Ⅵ＋135 頁

〔論文〕

・「宋代墓誌の概況と傾向」
大室智人・竹内洋介編『刻まれた記憶と記録―中国石刻史料データベースの構築・利用と可能性―』ACRI Research Paper Series 12、東洋大学アジア文化研究所、2019 年 2 月、63～86 頁

〔口頭発表〕

・「宋代墓誌の概況と傾向―目録作成のための中間報告―」
東洋大学アジア文化研究所公開シンポジウム「刻まれた記憶と記録―中国石刻史料データベースの構築・利用と可能性―」、2018 年 9 月 29 日、東洋大学白山校舎 2 号館 16 階スカイホール

・「宋代出土墓誌の諸相―唐・五代との比較を中心に―」
第 209 回宋代史談話会、2018 年 10 月 13 日、大阪市立大学文学部棟 122 会議室

・「宋代の「墓誌」について」
第 72 回用語解研究会、2019 年 2 月 22 日、東洋文庫 7 階第 1 会議室

研究経過および成果の概要

1、研究方法

本研究は、近年の中国前近代史研究における重要な史料として活用されている「墓誌銘」（以下、「墓誌」と記載）と呼ばれる史料について、とくに宋代（960~1279）のものを収集整理することで宋代史研究を行う際の基盤形成を行うことを第一の目的とした。

墓誌は、ある人物が亡くなり埋葬される時に棺の横に安置された石で、墓主の名前・経歴・家族構成などが刻まれている。作成の際には当時の著名な文人などに文章を依頼することがあり、従来は文人の文集に掲載されている墓誌を中心に利用がなされてきた。しかし、近年の中国では、多くの墓誌が発掘により出土し、これまで知られていなかった者たちの墓誌が発見されるに至っている。このような中で魏晋南北朝隋唐史研究や元朝史研究では、墓誌を利用した研究が近年盛んに進められているものの、宋代史研究では既に利用できる編纂史料が多く、そのために出土墓誌の積極的な利用はなされていないという現実があった。この差異は、上記の通り史料の残存具合に依るところが多いが、一面では、宋代墓誌の全体像が把握されていないことにあった。

本研究では、①墓誌石刻史資料集、②文物発掘報告書、③地方志、④逐次刊行物所掲新規発掘報告の 4 点を中心に宋代墓誌の収集を行い、これらを解読・分析することで、誌主の名前・死亡年月日・埋葬年月日・出土場所・掲載史料名などを確定し、宋代墓誌の全体像の把握に努めるとともに、唐宋変革期という中国史上屈指の社会変動の中で墓誌が如何なる変遷を辿ったのかという実態を明らかにしようと試みた。

2、研究経過および成果の概要

本研究は最終的に『宋代墓誌目録』の作成を目指したものであるが、ここでは、その過程において明らかとなった宋代墓誌の概況と傾向について報告しておく。

現在管見の宋代墓誌はおよそ 7,500 方である。当初 10,000 方程度の存在を推定していたが、史料集掲載墓誌などには重複する掲載があるためこの数となった。これらについて、墓主の名前・死亡日・埋葬日・出土場所・掲載史料名・形状などのデータの収集・分析を行い、既に 12,000 方を越える墓誌が把握され、目録も刊行されている唐代（618～907）の墓誌と比較検討を行ったところ、興味深いデータが得られた。

（1）概況と変遷

唐代墓誌に比べ現在把握できる宋代墓誌の総数が少ない理由は明らかではないが、宋代各皇帝の時期別推移を見ると、墓誌の数は第 6 代神宗、第 7 代哲宗、第 8 代徽宗の 3 代 62 年間で北宋全体の 65.3%を占めており、北宋中期から末期にかけて墓誌作成が拡がっていく状況を示している。また地域的には、洛陽（現河南省洛陽市）が墓誌の主要な出土地（埋葬地）であり、全体の 60%強を占めていた唐代の状況に対して、宋代は各地への分散化傾向が見られる。北宋期は河南地域の数量（41%）が依然として多いものの、そのうち洛陽地域の比率は低下する一方、皇帝陵の置かれた鄭州市鞏義や安陽市の比率が増加している。南宋期に入ると、金朝の侵攻により淮水以北の地を失ったことで、河南・陝西・山西など

からの出土はほぼ無くなり、浙江（44%）・江西（33%）へと出土の中心地域が移るなど、歴史的な実態を反映するとともに、北宋から南宋へと移行していく中で、墓誌を作成する社会階層が、地方末端の基層社会にまで拡大していく状況が明らかとなった。

（2）形態

既に目録の活用などによって定量分析が進んでいる唐代墓誌にあっては、形状・内容は一般的に定型化がなされていることが知られるが、宋代墓誌ではこれが大きく変化する。すなわち、内容・形状の多様化である。

①名称の多様化

各種石刻史料集を紐解いてみると、まず、宋代墓誌には様々な名称が存在する。中でも特に注目に値するのが「壙誌」であり、ほぼ 90%が南宋期の浙江・江西地域で作成され、その誌主は地方基層社会の人間に集中していることなどが確認できた。

②内容の多様化

墓誌の内容構成を見ると、墓誌の文章を起草した「撰者」、文章を書した「書者」、石に文章を刻んだ「刻者」などの記載があるが、宋代墓誌では多くの事例で詳細に記載されており、特に撰者に関しては、北宋期で全体の 82%、南宋期で全体の 95%の墓誌に記載があるなど、急激に比率が上昇していく傾向が見られた。墓誌文に関しても、唐代には「題」（表題）＋「序」（誌主の履歴などが記載された序文）＋「銘」（本文。序文を簡潔にした 2 章あるいは 4 章句で構成）という形にほぼ定型化されていたが、宋代墓誌では、「題」や「銘」の無い墓誌が増加し、「序」のみであるものが現れるようになり、最終的に「序」文が本文化していく傾向が見られた。

③形状（外観）の多様化

唐代墓誌の基本的形態は、誌文の書かれている正方形の墓誌本体の上に、同サイズの四方に紋様が刻まれた台形の蓋（墓誌蓋）が載せられ、墓中に埋葬されていた。しかし、唐代後半期から宋代にかけて、従来の形状にとらわれない①長方形、②「額」形式（蓋に代わり圓首または方首の額が付与）、③「罐」形式（陶磁器の形状）、④「幢」形式（六角形あるいは八角形の石柱）、⑤「墓表」形式（誌文の中央に題が大きく刻される）、といった墓誌が登場し、多様化していくことを確認した。

なお、上記内容については、前掲拙稿「宋代墓誌の概況と傾向」（大室智人・竹内洋介編『刻まれた記憶と記録―中国石刻史料データベースの構築・利用と可能性―』ACRI Research Paper Series 12、東洋大学アジア文化研究所、2019 年 2 月、63～86 頁）として公表しているので、参照されたい。

3、今後の研究における課題または問題点

本研究課題を遂行し、宋代墓誌の「特殊性」が明らかになったことで、このような現象が登場する背景について検討する必要が認められ、今回作成した墓誌データを元に、唐代～宋代にかけての長期的なスパンで社会階層・地域的な状況を調査することが重要である

と考えている。そのためには、基礎となる『宋代墓誌目録』を早期に完成させることが目下最大の課題であり、2019 年度中の公表・刊行を進めていく予定である。

Summary

This research is related to the study of "Tomb inscriptions" (墓誌 "mù zhì") of the Song Dynasty (宋朝) in China (960-1279). Tomb inscriptions are the stones placed beside coffins when mainly upper-class elite people were buried. Because the names, biographies and family members of the dead (誌主" zhì zhǔ") were engraved on these stones, historians pay attention to them as a historical document. This paper attempts to grasp the number of them created during the above period. We collected about 7,500 data, including names of the dead, dates of death, burial dates, places where they were found and so on. As already known, the forms and contents of the tomb inscriptions of the preceding era, i.e. during the Tang Dynasty were generally standardized with title, preface and inscription sentences. However, our analysis reveals that the forms and contents during the Song Dynasty were diversified into various kinds. Specifically, they did not have lids and no title or inscription sentences existed. Furthermore, our research confirms that the "preface" changed into the "inscription sentences" in this era.

東アジアにおける五護陀羅尼の構成と展開

The Formation and Development of the Pañcarakṣā in East Asia

研究代表者　園田 沙弥佳（校友）

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
キーワード／①インド密教　Indian Tantric Buddhism
②五護陀羅尼　Pañcarakṣā
③陀羅尼　dhāraṇī
④『サーダナ・マーラー』　*Sādhanamālā*
⑤『大護明陀羅尼』　*Mahāmantrānusāriṇī*
平成 30 年度交付額／629,000 円

研究発表／学会および口頭発表
（論文）
・園田沙弥佳「『大護明陀羅尼』*Mahāmantrānusāriṇī* 別本について」、『印度學佛教學研究』第 67 巻第 1 号、平成 30 年 12 月、
・園田沙弥佳「『サーダナ・マーラー』における 2 種の五護陀羅尼マンダラ」、『東洋学研究』第 56 号、平成 31 年 3 月予定（ページ未定）
（口頭発表）
・「『大護明陀羅尼』*Mahāmantrānusāriṇī* 別本について」、日本印度学仏教学会第 69 回学術大会（東洋大学）、平成 30 年 9 月
・「『サーダナ・マーラー』におけるマハープラティサラー」、東洋大学東洋学研究所研究発表例会（東洋大学）、平成 30 年 12 月
・発表要旨「『サーダナ・マーラー』におけるマハープラティサラー」、『東洋学研究』第 56 号、平成 31 年 3 月予定（ページ未定）

研究経過および成果の概要

１．研究方法

五護陀羅尼（Pañcarakṣā，パンチャラクシャー）とはインド密教において、『大随求陀羅尼』*Mahāpratisarā*、『守護大千国土経』*Mahāsāhasrapramardanī*、『孔雀王呪経』*Mahāmāyūrī*、『大寒林陀羅尼』*Mahāśītavatī*、『大護明陀羅尼』*Mahāmantrānusāriṇī* という特定の 5 種の初期密教経典、およびそれらの経典が神格化された女神のグループを示す。主にネパール、チベット、中国、日本等に広まった。

上記経典のうち『大寒林陀羅尼』と『大護明陀羅尼』にはそれぞれ 2 種類の内容が存在する。第一はサンスクリット・テキストに説かれており、同様の内容の漢訳やチ

ベット語訳が存在する。第二は、チベット語訳にのみ存在するものである。第二の具体的な内容構成についてはこれまで明らかになっておらず、今回 2 種の『大護明陀羅尼』の内容構成およびその特色について考察した。

また、各経典は 7〜8 世紀までにそれぞれ単独で神格化され、その後五護陀羅尼として一括されたという。インドでは 11〜12 世紀頃に編纂された観想法儀軌『サーダナ・マーラー』*Sādhanamālā* に、五護陀羅尼各明妃の観想法が収録されている。上記テキストを中心に、インド後期密教に見られる五護陀羅尼の図像的特色を明らかにした。

本研究では、五護陀羅尼と呼ばれる 5 種の初期密教経典に見られる機能と、インド後期密教の観想法や実際の作例に見られる図像的特色を比較検討し、東アジアにおける五護陀羅尼信仰の展開を明らかにするものである。研究方法としては、主に京都大学、高野山大学等の研究機関に所蔵されている文献を収集し、テキスト版本とサンスクリット写本、チベット訳、漢訳を比較して、翻訳研究を中心に比較考察を行った。

２．研究経過および成果の概要

上記の方法によって、初期密教経典に見られる機能とインド後期密教の観想法に見られる図像的特色、および実際の作例を比較検討した。まず、サンスクリット・テキストに見られる『大護明陀羅尼』（略号 MN-A 本）の内容は、根本説一切有部律『薬事』と同様であることが先行研究で指摘されている。本研究ではチベット語訳にのみ存在する『大護明陀羅尼』（略号 MN-B 本）の内容構成を明らかにし、MN-A 本や他経典と比較考察を行った。結果、先行研究において MN-A 本と MN-B 本はともに『大護明陀羅尼』と見なされているものの、その内容構成は大きく異なっており、チベットでは MN-B 本の方が『大護明陀羅尼』として採用されたことがわかった。

また、『大随求陀羅尼』は女尊マハープラティサラーMahāpratisarā として神格化された。今回『サーダナ・マーラー』 No.194〜197, 201, 206 の和訳を通して、体色や関連する五仏を中心にマハープラティサラー明妃の図像的特色について比較考察を行った。また、京都清水寺版「随求陀羅尼」と『サーダナ・マーラー』に説かれる姿を比較し、特色について口頭発表で述べた。今回の研究によって、五護陀羅尼マンダラにあらわれる中尊の体色やマンダラ内庭の塗分け方から、2 種類の五護陀羅尼マンダラが説かれていたことが明らかとなった。テキストに説かれる体色と対応する五仏の特徴から、当時のインドでは金剛界五仏の展開に伴い、五護陀羅尼マンダラもまたその影響を受けて展開したことが推察される。

３．今後の研究における課題または問題点

今回入手した京都大学所蔵サンスクリット写本には、MN-A 本の内容が含まれていることが分かった。他の写本の内容も検討し、傾向について調査したい。また、先に述べた通り、チベットでは MN-B 本が『大護明陀羅尼』として採用され、大蔵経に収録されている。同様のことは以前発表した『大寒林陀羅尼』にも生じており、その経緯については今後の課題としたい。そのほか、今回入手した清水寺蔵版「随求陀羅尼」に記されている梵文は、

経題から不空訳の『大随求陀羅尼』と思われる。こちらも今後精査する。

Summary

This study compares features observed in early tantric scriptures known as the Pañcarakṣā with iconographic characteristics found in late Indian tantric sādhana and actual samples. The study elucidates the development of Pañcarakṣā belief in East Asia. My research method entails comparing original text, Sanskrit text, Tibetan translations, and Chinese translations. I then conducted a comparative study focusing on translation studies.

In Indian tantric Buddhism, Pañcarakṣā denotes five specific early tantric scriptures, *Mahāpratisarā*, *Mahāsāhasrapramardanī*, *Mahāmāyūrī*, *Mahāśītavatī*, and *Mahāmantrānusāriṇī*, as well as the group of goddesses that are the deifications of these scriptures. It extended principally into Nepal, Tibet, China, and Japan, although it also reached other countries.

There are two types of content in the *Mahāmantrānusāriṇī*. The first type contains Tibetan and Chinese translations of content taught in the Sanskrit text (abbreviation: MN-A). The second type contains only Tibetan translations (abbreviation: MN-B). Specific content and formation have not been elucidated for the latter type, so I have conducted a study of the content and formation of the two types of *Mahāmantrānusāriṇī*. In prior research, both MN-A and MN-B have been regarded as *Mahāmantrānusāriṇī*, yet the results of the study show that their content and formation differ greatly.

Furthermore, by the 7th or 8th century, each of the Pañcarakṣā scriptures had been individually deified, and afterwards they were lumped together as the Pañcarakṣā. Sādhana for each of the Pañcarakṣā Wisdom Queens are mentioned in the *Sādhanamālā*, a sādhana book of rites compiled in India from the 11th to 12th century.

Mahāpratisarā was deified as Mahāpratisarā. With the Japanese translation of Sādhanamālā nos. 194-197, 201, and 206, I have conducted a comparative study of the iconographic characteristics of the Mahāpratisarā Wisdom Queen focusing on body coloration and the related Five Tathāgatas. The results revealed that two types of Pañcarakṣā mandalas are set forth from the body coloration appearing in the central image of a Pañcarakṣā mandalas and the painting color variations in the corresponding Diamond Realm Five Tathāgatas. The Pañcarakṣā mandalas could have evolved while being influenced by the development of the Diamond Realm Five Tathāgatas at that time in India.

As noted above, in Tibet, MN-B is used as the *Mahāmantrānusāriṇī* and is recorded in the Tripitaka. The same issue occurs for the *Mahāśītavatī*, as I have previously presented, and I would like to address this in the future.

新仏教徒能海寛―チベット出立前、郷里宗門の整備について

A New Buddhist Yutaka Nomi and his remedy for his religious sect
In his hometown, before his leaving for Tibet.

研究代表者　飯塚　勝重（校友）

・研究期間　平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
・キーワード　①能海 寛　　Yutaka Nomi
②新仏教徒　　NEW BUDDHIST
③チベット探検　　Explore Tibet
④浄蓮寺史　　The history of　“JYO-REN Temple (浄蓮寺)”
⑤謄写　　A mimeograph
・平成 30 年度交付額／271,000 円

・研究発表／学会発表及び口頭発表
1、飯塚勝重「新仏教徒能海寛―チベット出立前、郷里宗門の整備について―」
『東洋大学アジア文化研究所研究年報』第 53 号、2019 年 2 月刊
2、飯塚勝重「能海寛と浄蓮寺史作成について―本邦初か岡本家系・浄蓮寺家系図謄写とは―」
『石峰』第 24 号、能海寛研究会、2019 年 3 月刊
3、シンポジウム・パネリスト
(1)「能海寛の宗教思想」
能海寛生誕 150 年記念『今、能海寛から学ぶもの』2018 年 7 月 8 日、於島根県浜田市金城町波佐・ときわ会館
(2)「能海寛の宗教実践」
能海寛生誕 150 年記念『新仏教徒 能海寛』2018 年 10 月 20 日、於東洋大学白山校舎 2 号館 16 階スカイホール、総合企画立案への参加及びパネラーとして分担報告（P.P 使用）
(3) 能海寛生誕 150 年記念シンポジウム開催にともなう各パネリスト意見の総合化の試み（『東洋大学アジア文化研究所研究年報』第 53 号、2019 年 2 月）

・研究経過および成果の概要
これまでの能海寛研究については、チベット探検とそれに伴う思想及び行動の実践についての追求が主であった。能海が短期間（4～5 年）での帰還を望んでいたとしたならば、彼の郷里出発前は大変多忙であったであろうが、能海はこの時期、普通教校に学んだ由縁

により真俗二諦論（詳細は上記論文 1 を参照されたい）を駆使して自坊浄蓮寺の檀家（360～380 戸）の寺院教導体制下の福利厚生を考えていた。実はこのことは 1999 年に刊行した拙著『長江物語』（大修館書店刊）において、当時新発見として取り上げた文献の一部に記載がある（文献資料を複写送付頂いた隅田正三氏の配慮に対し深甚の感謝を捧げたい)。当時の三峡遡行は命がけの旅であり、危険の迫る中で、なお寺の存在と檀家の福利を必死に考えていた能海は不敵な探検家といえるであろう。

自坊浄蓮寺と檀家間を結び円滑な運営を行うため、能海の発案した機構の一つに「波佐倶楽部」の提案がある。真俗二諦を機械的に当てはめたのでは､寺院と檀家の間は常に緊張した関係に追いやられる。能海はあくまで縁の下の力持ちとして、倶楽部の拠点を波佐・潤郷館楼上に置き、檀家の有望な壮年を登用して各村落をつなぐ要とし、自分は周旋人以上には出なかった。(波佐倶楽部については隅田正三氏の詳細な研究があり、前掲拙著も参照。)

この能海の最も注目したものが 2 点ある。一つは自坊浄蓮寺の規則である。明治初期の法制度から見れば、いわば公法であった。もう一つは檀家と寺、或いは檀家間の日常規則であり、いわば民法にあたるものである。能海はチベット探検行中も頻りに両者の法制化を考えていたのであるが、能海自身が浄蓮寺規則は幕藩体制下と殆ど変化を必要としていないと述べているように、より必要としているのは浄蓮寺史そのものであったため、こちらをチベット出立前に是非完成したいと積極的な姿勢を示していた。今回はこの両者について、上記論文 1 に取り込むはずであったが、紙数の関係で檀家「教会法」を解説するに止め､『浄蓮寺史』に関しては上記論文 2 として別途発表した

ここで取り上げた『浄蓮寺史』には、神代から始まる能海関係世系表を上げ、取りあえず明治 27 年 1 月までの東西本願寺派門主名を誌し、次に「浄蓮寺歴代世系」は開基洞円を挟み、第 13 代謙信まであげている。ただし 2・3 代目までには幾つかの異論をめぐって論争が絶えなかったという（上記論文 2、30～31 頁)。「浄蓮寺由緒縁起図解」は世系者抜きで､「青尾　京羅瀬　真宗道場　能海蔵之介弘治 2 丙申（1556）年 1 月 1 日創立　是則浄蓮寺開基也」とあるように前の世系と矛盾するが、能海自身は洞円の開基を譲らない姿勢を示していたことを指摘した。

3　今後の研究に於ける課題、または問題点

以下に掲げる 2 項目は事の大小がいずれかは問えないが、可及的速やかに改善若しくは解決すべき問題を含んでいる。

（1）これまでの能海寛研究では、能海が第三次のチベット行以降、比較的早期に行方不明となったことで、幾つもの郷里に残してきた課題や解決方法の提示については、彼の遺言の一種として取り扱うべきであり、必ずしも全面的に従う必要がないのではないのかと、いわば客観的に見てきた。しかし今後の研究では、能海がチベット探検中に会得した知見を踏まえ、3～4 年後の日本帰国を待つまでもなく、これをもとに彼がその場で既に著作の改訂を企図していたという積極的な姿勢を以て研究にあたるべきではないか。

（2）『石峰』第 24 号所掲の上記論文 2 で取り上げた毛筆体世系表（同論文 35 頁。但し能海寛の指図明治 30 年は同 31 年の誤りにつき訂正）の二つの図は毛筆体での書写を前提としている。同頁の右図の間違いなく毛筆体を発明した山内不二門の作品（明治 22 年）と対照しても明らかである。能海は先祖岡本家の家系図謄写版に倣って自分の世系表を謄写したとするが、その謄写版がないのは何故か。尤も、山内の毛筆体も四国の優秀な紙を床＝版としているが、能海寛の実父はこの毛筆体用紙の優秀な石州和紙を生産する土地の専光寺出身であり、これを床＝版としたと考えられる。後は溶剤＝インクの問題が残るものの、いずれにしても明治 4 年（1871）年までに「岡本家家系図」謄写版は完成しており、能海はこれに倣ったという。年代的に云えばまさに日本初となろう。但し、これについては更なる研究が必要であろう。

・英文要旨

1. A New Buddhist, Yutaka Nomi and his remedy for his religious sect in his hometown, before his leaving for Tibet.

Yutaka Nomi, who had published his work “The Buddhist in the world” in the year 1893(M.26), finished his three-year program of “Tetugaku-kan” (the institute of philosophy) founded by Enryo Inoue, came home Joren-ji Temple in Nagata, Kanagi-Village, Naka-County, Shimane-Prefecture. He had been talking about his exploring Tibet to many people around him.

In the hometown, he assisted hard the temple priest, his father, with priest’s common work. He had been expecting the permission of going to Tibet from the headquarters of the sect. However, in July 1894(M.27), the war between Japan and Ching, China broke out. Nomi’s going to Tibet was not permitted against his expecting.

Expecting the war ends soon and his being able to go to Tibet, Nomi returned home to assist hard his father. He founded “Haza Club” with young people and gave them a large amount of knowledge. They contributed altogether to promote industries in the town. Shortly the war was over. Nomi was given the permission and funds from the headquarters. In November 1898(M.31), he left for Tibet.

Nomi’s purposes of going to Tibet were having got the real Buddha’s history and the correct Sutra. Moreover, as Asian 5 hundred million people are Buddhist, he was going to look for a new Buddhism, which the people could accept easier. Unfortunately, Nomi had been missing after April 1900(M.33). In this year, it is 150 years from his birth.

2. Nomi’s life after his coming home back

In July 1893(Meiji 26) Nomi came back home temporarily, because he claim the Higashihonganji-Temple in Kyoto to permit his going to Tibet and spending money

（¥600）for his exploration. However, at the end of that month, the Sino-Japanese War broke out. Therefore, Nomi's going to Tibet was entirely stopped, only he had been believing that the war was finished sometime and his desire would be realized. So, he came home back during the War and he would perform following two projects. 1. He would be going to compile a history of his Joren-ji Temple and to clear up who the founder of the Temple was, for the sake of reinforcement of the temple's missions. 2. He was going to establish an organization to promote industries of the village, for the welfare of 380 doors of the believers of the temple.

Bun'yu Nanjo, Nomi's teacher, advised him to come back to Tokyo again and learn the language, according as Nomi's firm belief that the War would be over. In March 1896(M.29), Nomi came back to Tokyo. Nomi, who never forgot his hometown, had finished to compile the history of the temple, which he wished earnestly for long term.
Around this, a miracle had happened. A history of the Senko-ji Temple, from which Nomi's real farther, Joren-ji Temple XII, came, was written, and duplicated by mimeograph. It had been finished before at least 1871(M.4) late. So, Nomi was also going to duplicate his history of the temple. He wrote it down in August 1898(M.31).

According to Shouko Shimura（志村章子）"The history of the Gariban style mimeograph", 2012, Taishukan-shoten, 1. the Gariban style mimeograph in Japan began in August 1894（M.27) in Tokyo (Horiuchi model mimeograph), 2. the writing brush style mimeograph, which was major before the War, was invented 1888(M.21) by Fujimon　Yamanouchi (山内不二門) who came from Ishinomaki-city, Northeast of Japan. He established Ten' yodo 1897(M.30) to promote his mimeograph.

In comparison with this, Nomi insisted that the history of Senkoji-Temple had been duplicated before 1871(M.4), and the printed letters were quite similar to the writing brush style. The duplication had done in Sekishu of Kansai-district, where the source of Sekishu-paper was.

Is the duplication of Senkoji, if there were used chemical materials of sulfuric acid as the ink for the writing brush, just the first achievement of the brush style mimeograph in Japan?

Nomi's history of the temple was finished in January of 1897(M.30) according to his diary. However, in reality, it was drawn up in January of 1898(M.31), and proofreading had been finished in August of the year. There will be a year between the former (the date of his diary) and the latter (the real date). It might need almost one year, from Nomi's ordering a mimeograph craftsman to process, until the process had done. So, we would need to research more about this.

明朝洪武帝期における琉球馬獲得の背景

Background on the Acquisition of Horses from the Ryukyu by the Ming Dynasty Under the Hongwu Emperor

研究代表者　大室　智人（校友）

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
キーワード／①明　Ming Dynasty
②馬　Horse
③軍事　Military Affairs
④琉球　Ryukyu
⑤高麗　Goryeo
平成 30 年度交付額／333,000 円

研究発表／学会および口頭発表
・平成 31 年度に論文発表予定

研究経過および成果の概要

１．研究方法

朱元璋によって成立した明政権にとって、洪武５年（１３７２）以降の中心的な軍事課題は、北元をはじめとした元の残存勢力との紛争、とりわけ華北における軍備の充実であって、これを遂行する上において、軍馬不足は喫緊の課題であった。かかる背景の下、馬の獲得は幾つかの手段によって行われたが、琉球馬に軍馬としての期待をかけ獲得した、とする先行研究による見解がある。これを踏まえ、洪武５年に、明の太祖朱元璋が琉球中山国へ朝貢を要求する使者を派遣して以降、明朝洪武帝期に行われた琉球馬の獲得について、本研究では、特に洪武１６年（１３８３）に内官梁民が派遣されて実施された９８３頭の琉球馬購入に着目し、その前後の明政権の状況から、この馬獲得が意味するところの考察を試みる。

まず、当該時期の明政権による軍事作戦、あるいは作戦案内において、馬の需要がどのように生じていたのか、『明実録』をはじめとした史料を精査し、琉球まで相当数の馬獲得の手を伸ばすに至った背景を明らかとする。同時に、１４世紀後半の琉球三山時代に琉球で飼育されていた馬の形質について中琉関係史料などの調査を行い、琉球馬の性質から明側がいかなる需要を満たすことを期待していたのか、若干の考察を添加する。

２．研究経過および成果の概要

先行研究と史料の検討から、現在以下のように進展が得られており、平成３１年度に

論文として発表予定である。

元の衣鉢を継ぐ形で成立した明だが、馬政においては、元の中心的な牧場は、朝鮮の済州島、モンゴルのバイカル湖畔、甘粛、雲南方面に存在し、元の統治下における中国内地、とりわけ初期明政権の中心地域となる応天府付近での馬政は頽廃しており、これを引き継ぐだけでは十分な馬の確保は困難であったと考えられる。一方で、元の残存勢力との引き続く軍事紛争を考慮すれば、軍馬の充実は必須の施策であり、そのために国内における養馬、そして明の勢力拡大に伴う段階的な市馬の拡充、そして従属勢力からの貢馬がその手段となった。

こうした状況下、洪武５年に洪武帝が朝貢を促して以来、琉球では中山・山北・山南の琉球三山勢力からの貢馬が行われ、洪武中の１７年間にわたって数量が確認できるだけで５００頭超の馬が明に献上されている。しかし、問題となる洪武１６年に梁民が行った購入は１回で１０００頭に迫る頭数であった。

この１年だけ突出して琉球馬が大量に明へ送られた理由を軍事目的として考える場合、いくつかの状況が複合的に絡み合って生じた事象であったのではないか、と思われる。まず、先述のように明は元の残存勢力に対する軍備充実が必要であった。この点は北元や中国東北部に盤踞したナガチュとの対立という局面を第一に考えるべきであるが、当時の情勢を鑑みた場合、洪武１５年（１３８２）になって明の支配下に入った雲南を含む西南方面を統治するための軍備体制充実を図る上でも、十分な数量の馬が必要であったと考えられる。しかしながら馬の供給体制という面で見ると、四川・陝西を中心に整備した市馬ではなお南北領域で同時に必要とされる数量には届かず、済州島を擁して明から多数の貢馬要請を受けていた高麗の政治的混乱による貢馬の不履行などの影響も等閑視できない。このように考えていった場合、小格馬である四川・貴州の馬と形質的に近似する琉球馬が、西南方面における明政権の馬需要を満たすことが一定程度期待されたのではないか、という推測が成り立つ余地はあると考えられる。

３．今後の研究における課題または問題点

上述の進展をふまえ、洪武年間の市馬体制についてさらに検討することは必須であり、『皇朝馬政紀』などの活用によって、より詳細に状況を精査するべきである。また、雲南省成立に寄与した傅友徳、沐英らをはじめとした人物の動向、ならびに同地を明が維持する上で重要な交通ルートとなる貴州省の成立と駅站の設置についても、広く関連性を探るべきであろうと考える。

Summary

After 1372, the Ming Dynasty, which was established by the Hongwu Emperor, faced militaristic resistance as a result of the power that the previous dynasty still

held, and the shortage of war horses was a significant issue. Although horses were obtained through several methods, this paper focuses on the acquisition of horses from the Ryukyu by examining the significance of the 983 horses purchased from the Ryukyu in 1383.

Attempting to nurture horses within the boundaries of China under the previous dynasty, especially near Nanjing, the center of the early period of the Ming Dynasty, was destructive, making it difficult to secure enough war horses. On the other hand, due to resistance from the remaining power of the previous dynasty, a thorough supply of war horses was essential. Therefore, horses were acquired by nurturing them within the nation, incrementally increasing their importation in accordance with the expansion of power of the Ming dynasty, and receiving them from subordinate powers.

Under these circumstances, over 500 horses have been confirmed to have been received by the Ming Dynasty from the Ryukyu across 17 years following the demand from the Ming Dynasty in 1372. However, the Ming Dynasty purchased nearly 1,000 horses in a single transaction in 1383.

The purchase of a large number of horses from the Ryukyu in this instance can be seen as a result of a combination of factors present at the moment. First, thorough militaristic preparation was essential in response to the existing power of the previous dynasty, as noted earlier. Regarding this matter, the northern regions must certainly be considered first, but examining the circumstances at the time, it may also have been necessary to strengthen military forces in order to control the southwest regions, including Yunnan, which fell under Ming rule in 1382. However, observing the status of horses being supplied at that time, the framework for nurturing them had been insufficient, and the political turmoil in Goryeo, which had been demanded to provide the Ming Dynasty with large numbers of horses, may have impacted the status of importation significantly. Based on these considerations, it has been surmised that horses from the Ryukyu, which have similar qualities as horses in the southwest regions of China, became a militaristic need for the Ming Dynasty to mainly cover the demand for the area surrounding Yunnan.

パフォーマティヴな演劇的身体の現象学研究と

その臨床的、実践的展開

A phenomenological investigation of theatrical body on performativity and its clinical and practical development.

研究代表者　稲垣　諭（文学部哲学科）

研究機関／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
キーワード／①現象学　phenomenology
②身体　body(Leib)
③パフォーマティヴィティ Performativity
④システム論　System Theory

平成 30 年度交付額／630,000 円

研究発表／学会および口頭発表

- 研究論文（共著）「精神科臨床のシステム論的記述の試みー精神科医の視点から」、『臨床精神病理』(2018 年 8 月)
- 研究論文「男性原則の彼岸―男の現象学はどこまで可能か？」(2019 年 1 月)
- 研究論文「終焉の存在論―終わることの困難と魅惑」、『現代思想』(2019 年 2 月)
- 研究論文「実装された『泡のモナドロジー』」、『ユリイカ』(2019 年 3 月)

研究経過および成果の概要

1.　研究方法

本研究は、身体存在として運動し、行為する人間の「パフォーマティヴ性」に焦点を当て、その現象学的な経験を剔抉することを目指すものである。ただし本研究助成は科研費プロジェクトの申請が次年度以降に採択されることを見越した上での補助期間をつなぐ基礎準備の研究として開始された。そのため本年度は、上記課題を遂行するための事例を演劇、アート、病理的経験から広く収集することを第一の目標とし、それらの事例を貫く行為の特質を可能な限り分析することが次なる主題となった。

２．研究経過および成果の概要

年度前半に公表された「精神科臨床のシステム論的記述の試みー精神科医の視点から」は、精神科医の二人の研究者との共著論文であり、前回の科研費プロジェクトの延長にある成果発表でもある。臨床という診察場面における医師と患者の関わりは、相互に固有なパフォーマンスのモードを創出する。とりわけ双方の発話というパフォーマンスは固有のコードに制約されながら、相互が直接制御できない臨床システム（コミュニケーションの継起的ネットワーク）を形成する。そしてこの臨床システムの作動の如何に応じて医師と患者の双方の心的システムにも間接影響が生まれる。

論文「男性原則の彼岸―男の現象学はどこまで可能か？」では、生物学的な性差があると信じられて

いる男性という性が、歴史上、人類学上、文学上、どのようなパフォーマンスを行ってきたのか、そしてその影響とともに成立する人間中心主義が、男性という性を普遍化し、僭称したにすぎないものであることを明示した。ルソー、ウィトゲンシュタイン、ドゥルーズといった偉大な哲学者でさえ、男性としてのパフォーマンスから逃れられなかったこと、それにより哲学の重要な要件である「純粋性」や「普遍性」といったものでさえ、性のパフォーマンスが浸透していることを浮き彫りにした。

論文「終焉の存在論―終わることの困難と魅惑」では、生が二重の意味でのパフォーマンスであること、すなわち一方で「能力を発揮」し、他方で「生を虚構する」ものであることを基本として、人が生を区切る、つまり終わりのパフォーマンスについて解明した。その際、以下の人物の生を事例として用いた。高倉健、マザーテレサ、アルチュセール・ランボー、山口百恵、安室奈美恵、マルセル・デュシャン、三島由紀夫、坂口安吾、太宰治。彼らはそれぞれの生の中で自らの能力を発揮すると同時に、代替の効かない仕方で固有な生を閉じるパフォーマンスを行っていたことが明示された。

論文「実装された『泡のモナドロジー』」では、上遠野浩平によるライトノベル「ブギーポップ・シリーズ」が、それぞれ限定づけられた視点しか持ち得ない多数の人物によるモナドロジーになっていることを明らかにした。その核心には、個々の登場人物には無限の認識と振る舞いの可能性があるのに、その個々の視点からは決して見通せない種々の困難さが不可避的に出現してしまうことがある。観察者なり、読者は、本作では限定づけられた視点をその外部から観望することで神の視点を繰り返し経験できる仕組みになっており、そのことを泡が増殖する経験とモナドロジーに類似したものであることを論じた。

3. 今後の課題

上記の論文発表以外にも、俳優が自らの演技と身体性の拡張を試みる身体ワークショップの内容を視察したが、その分析は現段階では終わっていない。近いうちに論文としてその成果をまとめる予定である。さらに上記の論文の成果も著書として出版できればと考えている。

Summary

This project was started as a preparatory research until the Grant-in-Aid for Scientific Research is adopted. Its purpose is to focus on the "performativity" of the human being who acts with the living body, and to seek out its phenomenological experiences. In order to carry out the above tasks, I first collected various cases widely, for example, from theater works, art works, and pathological experiences which show phenomenological noteworthy performativity in the life world. Second, based on those cases, it was revealed that life is a performance with a double meaning. On the one hand, a life exercises its own ability as much as possible, and on the other hand, the life fictions itself. Life is like a device that creates divergence between what it is doing and its external appearance. Finally, in the papers published during the current year, I could clarify various modes of performativity, e.g., 1) clinical experiences that occur between psychiatrists and patients, 2) typical performances that masculinity as a gender has historically, anthropologically and literary demonstrated, and 3) performances to finish the life or to enter retirement.

静岡県藤枝市岡部町廻沢内会所有松神社文書の総合的研究

The all-round study about the documents of Matsuokajinnjya shrine,
Megurisawa ,Okabemachi-town Fujieda-city: Shizuoka prf.

研究代表者　岩下哲典（文学部・史学科）

研究機関　平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
キーワード　①松岡神社　②松岡萬　③幕臣　④廻沢　⑤高橋泥舟　⑥山岡鉄舟

平成 30 年度交付額　855000 円

研究発表・学会および口頭発表

岩下哲典編集『松岡神社史料を用いた調査研究報告書』平成 31 年 3 月刊行

廻沢町内会住民向け調査研究報告発表会　平成 31 年 2 月 2 日（藤枝市岡部町廻沢公民館）
調査の経緯と祭神松岡萬の経歴および史料の概要・岩下哲典
「知行御割目録　[文政三年六月日]」「知行御割目録　[安政六年二月十五日]」・毛塚万里
「御殿公卿兵僧巻絵図」・毛塚万里
「新田岩松猫画」新田岩松家の「猫絵」から見る幕末維新の一幕・橋本真吾
『無題』（谷文晁　中国武人画）・ 川島丈尚
「異船渡来」綴四冊（弘化元年～文久元年）・都築博子
「異国船到来より天下混乱之次第（明治四年)」・イアン・アーシー
「無題（徳川斉昭自筆 戊午の勅諚)」について・岸本萌里
松岡神社史料の調査研究発表会に出席して・清水　明
岩下哲典「知られざる高橋泥舟の出自と出世そして三舟の書によせて」『筆禅』第 41 号平成 31 年 1 月 22 日
岩下哲典『江戸無血開城』吉川弘文館、平成 30 年 7 月 1 日

研究経過および成果の概要

１．研究方法

松岡神社にある藤枝市岡部町廻沢に赴き、神社史料を 1 点ごとの調査を行い目録を作成した。あわせて保存対策を行った。すべての目録を作成し、保存対策を完了した。これにより、松岡神社史料は、藤枝市郷土博物館に寄託されることとなった。さらに、岩下が松岡萬の人物研究を、協力者各自が、史料 1～3 点を抽出し調査研究を行い、住民向け発表会を行い、報告書を作成を目指した。

２．研究経過および成果の概要

8 月 13～15 日、現地で史料調査を行った。参加者は、岩下、毛塚万里に加えて、都築博子、橋本真

吾、川島丈尚、岸本萌里であった。この調査では、目録作成と写真撮影が終了した。

2019 年 2 月 2 日、廻沢地区の住民の方々に向けた調査研究発表会を開催した。ここでは、まず岩下が代表として挨拶をし、調査研究の報告をさせていただくメンバー紹介をした。そして「松岡萬と松岡神社文書の概要」の報告をした。次に、毛塚氏以下、夏の調査に参加した全員にイアン・アーシー氏を加えそれぞれ研究報告した。報告は以下の通り。

「知行御割目録　[文政三年六月日]」「知行御割目録　[安政六年二月十五日]」・毛塚万里

「御殿公卿兵僧巻絵図」・毛塚万里

「新田岩松猫画」新田岩松家の「猫絵」から見る幕末維新の一幕・橋本真吾

『無題』（谷文晁　中国武人画）・ 川島丈尚

「異船渡来」綴四冊（弘化元年～文久元年）・都築博子

「異国船到来より天下混乱之次第（明治四年)」・イアン・アーシー

「無題（徳川斉昭自筆 戊午の勅諚)」について・岸本萌里

全報告の後には、山岡鉄舟研究会会員の清水明氏から、講評があった。聞いていただいた廻沢地区の住民の方々と報告に関する質疑ならびに、討論を行った。松岡神社宮司の石塚氏より、さらに松岡萬の家族ならびに子孫に関する研究について推進すべきとの話がでた。また、神社総代だった綿間瀬氏より調査への感謝の言葉があり、最後に、町内会長の渡辺敏博氏よりそれぞれの報告に対し、なぜ多くの史料の中からこれらの史料を選んだのか、との質問が提起された。それらに報告者一人一人が真摯に回答した。報告会終了後、報告会に関する反省会を行ない、報告書作成にむけて議論を重ねた。その成果を、報告書として作成し、刊行することが出来た。これは廻沢全住民に戸別に配布した。なお、松岡神社史料は、藤枝市郷土博物館に寄託されることとなったことは本調査研究の大きな成果の一つである。

３．今後の研究における課題または問題点

今後は、松岡神社史料の個別研究を進めるとともに、磐田市教育委員会所蔵の旧池主神社所蔵史料の悉皆調査を行うことによって、どのような観点で松岡神社と池主神社に史料が分けられたのかなどを追求する必要があろう。また、萬自身やその家族などの調査研究も推進すべきと考えられる。

現在、科研費も申請中であり、それが採択されれば、松岡萬の総合的研究を進め、いずれきちんとした研究書や伝記も刊行したく思う。萬の研究は、幕臣尊攘派の研究でもあり、薩長史観の克服を目指してもいるものだ。薩長史観がすべて悪いのではないが、薩長が官軍であったため、これまで幕府・幕臣・佐幕派は悪者ないしは明治新政府への抵抗勢力とされてきた。歴史学は、善悪で判断するのではなく、理性的、客観的に歴史を、そして萬を眺める必要があるのは言うまでもないだろう。

ともかく、幕臣にとって明治維新とは何だったのか、この古くて新しい問題は、どうしても避けて通れない問題であろう。実際、旧幕実務吏僚層が、どのくらい新政府の官僚層になるのか、その実態研究が求められる。萬の研究は、そうした観点にも一定の示唆をあたえてくれるものと考えられる。

物事には光と影が存在する。幕臣の歴史は、どちらかと言えば影の歴史ではあるが、それが分からなければ、本当の幕末維新史は描くことができない。光ばかりでは、本当の歴史ではない。明るい歴史ばかりではないのだ。そうしたことをも知らしめてくれるのが、松岡神社史料なのである。

Summary

We went to Megurisawa ,Okabemachi-town Fujieda-city: Shizuoka prf. at summer vacation. We made a detailed inquiry about all documents of Matsuokajinnjya shrine. We drew up a catalogue of all Matsuokajinnjya shrines documents. We wined Megurisawa inhabitants gratitude. And they had placede there all documents to Fujieda city museam.

Iwashita study about Matsuoka Yorozu: The enshrined deity of Matsuokajinnjya, some cooperator study about one or some documents. So we holed a meeting at Megurizawa community hall for inhabitants, we expressed our studies. We published The report include catalogue.

位置特定技術を用いた図書館利用者の館内行動に関する量的データの収集・分析方法

The development of methods to collect and analyze quantitative data on information-seeking behavior of library users using location identification technology

研究代表者　杉江 典子（文学部 日本文学文化学科）

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
キーワード／①公共図書館　public library
②図書館利用者　library user
③ラズベリーパイ　Raspberry pi
④BLE ビーコン　BLE beacon
⑤情報探索行動　information-seeking behavior

平成 30 年度交付額／479,000 円

研究発表／学会および口頭発表

・“位置情報取得技術 BLE ビーコンを用いた図書館利用者の館内行動に関するデータ取得方法の検討”. 2018 年度日本図書館情報学会研究大会. 2018 年 11 月 4 日，琉球大学.（『第 66 回日本図書館情報学会研究大会発表論文集』p.119-120）（ポスター）

研究経過および成果の概要

１．研究方法

滞在型利用の促進を目標に掲げる図書館が増加するなかで，貸出冊数や来館者数以外のデータにより利用者の行動を把握したいという図書館のニーズは高まっている。図書館利用者の館内行動を把握するためには，得られるデータの種類や客観性の点から判断すると観察法による調査が適切である。しかし従来の人手による観察法は，データの取得に多大な労力を要することや，利用者の滞在全体を通じた行動に関する大量のデータを得にくいこと，取得されたデータの量的分析が困難であるなどの課題を抱えている。

観察法のもつ欠点を補うために，近年普及の進む位置情報取得のための技術の応用可能性が示されるようになってきた。本研究では，位置情報取得技術を用いて，図書館利用者の館内行動に関するデータを取得・分析する簡易で汎用性の高い手法を構築することを目指している。今回の研究では，これらの技術のうち，取得できるデータの種類やコスト等の点から，BLE ビーコンを用い，以下の手順で，電波の受信実験と利用者調査を行った。3)，4)については，取得されたデータの分析方法をいくつかの方法で試行を継続している最中である。

1)　利用者調査を実施予定の市立図書館内において, BLE ビーコンの電波強度測定実験を実施し

た。受信した電波強度から算出した推定距離を用いて誤判断率および正解率を導き，位置データの精度を確認した。電波受信機にはスマートフォンを使用した。

2） BLE ビーコンの電波受信機として，館内にラズベリーパイ（小型 PC）を設置し，館内に滞在した利用者の位置情報を取得するためのシステムを構築した。

3） 館内において 2 パターンの経路を，ビーコンを携帯して歩行し，ラズベリーパイによる電波受信記録を AWS（クラウドサービス）に蓄積した。受信強度の確認と分析方法の検討を行った。

4） ストラップケースに入れた BLE-ビーコンを来館者に配布して，滞在中の位置情報を取得する利用者調査を実施した。

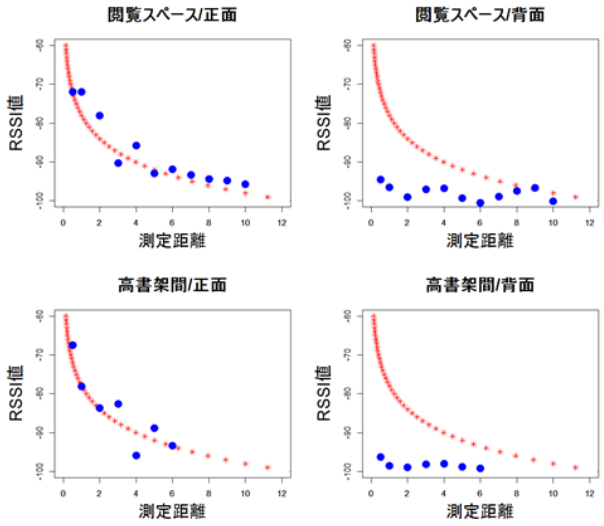
２．研究経過および成果の概要

1）BLE ビーコンの電波強度測定実験

スマートフォンとビーコンの距離（0.5～10m），測定場所（閲覧スペース/高書架間），ビーコンと受信機との位置関係（正面/背面），出力レベルの異なるパターン（-16dBm/-12dBm）で電波強度（RSSI 値）を測定し，パターンの組み合わせ間で，電波強度と推定距離の関係を比較した。その結果，ビーコンの出力レベル-16dBm で閲覧スペースにおいて，RSSI 値により算出した推定距離と，乖離距離が全体的に低く安定していた（表 1 参照）。図 1 に，出力レベル-16dBm における測定距離ごとの RSSI 平均値と，自由空間における距離に対応する RSSI 値を示した。正面と背面の RSSI 値を比べると，背面では，閲覧スペースでも高書架間でも RSSI 値と距離の間に規則性はほとんどなく全体的に微弱であり，背面からの受信において電波の反射や吸収といった複数の影響を受けていることが推測された。

表 1　出力レベル-16dBm
閲覧ｽﾍﾟｰｽにおける RSSI
と推定距離の平均値

実際距離（m）	RSSI値平均（dBm）	RSSI値標準偏差	推定距離平均（m）	乖離距離平均（m）
0.50	-71.88	3.20	0.53	0.16
1	-71.92	3.01	0.53	0.47
2	-78.08	1.68	1.03	0.97
3	-90.30	3.86	4.57	1.87
4	-85.78	3.18	2.63	1.57
5	-92.88	3.89	6.17	2.25
6	-91.80	2.89	5.21	1.77
7	-93.26	3.95	6.46	2.77
8	-94.40	3.80	7.27	2.80
9	-94.78	3.08	7.37	2.94
10	-95.76	3.22	8.26	2.89



注：図中「＊」は，自由空間における RSSI 値と距離の関係

図 1　　距離ごと平均 RSSI 値（出力-16dBm）

前述の結果から，微弱な電波を除いて位置を推定することにより精度を上げることが可能であると考えられたため，微弱な電波を除外しない場合と，除外した場合で精度を比較することとした。RSSI 値-89 dBm から-93 dBm（5 ﾊﾟﾀｰﾝ），受信機からの距離は 3～5m以上 (3 ﾊﾟﾀｰﾝ) 2 つの出力レベルで全 30 パターンの誤判断率を算出した。最も誤判断率が低かったのは，出力レベル-16dBm で，範囲 1（RSSI 値が-88 より強い場合にビーコンと受信機との距離が 5m 以内と判断して使用し，RSSI 値が-89dBm より弱い場合にビーコンと受信機との距離が 6m 以上と判断して除く）を適用した場合で，誤判断率 3.94%であった。

2）利用者調査のためのシステム構築

利用者調査実施予定の図書館内（主に一般閲覧スペース）に，23 個のラズベリーパイを電波受信機として設置した。ラズベリーパイが BLE により取得したデータは，館内 LAN を通じて AWS（クラウドサービス）に蓄積できるようにした。蓄積されたデータは図書館外部から抽出可能になった。

3）2 つの移動経路を設定した受信実験

調査対象図書館内において，ビーコンを携帯した利用者が館内に滞在中，どの程度正確に位置を取得できるかを把握するため，構築したシステムを用いて受信実験を行った。2 つの出力レベル（-16dBm/-12dBm）で，2 つの移動経路により実施した。受信機であるラズベリーパイへの訪問時刻を別途記録することにより，訪問時刻と取得された電波強度を用いて精度を確認した。さらに，時間単位で取得されたすべてのラズベリーパイの電波強度の平均値を算出し，機械学習により位置の推定が可能か検討している最中である。

4）図書館利用者調査

1）と 3）の実験結果から，BLE ビーコンとラズベリーパイを用いた利用者調査において，十分な精度を得ることが可能であることが確認されたため，2019 年 1 月～2 月の 5 日間に，実験を実施した公共図書館において利用者調査を実施した。現在，調査結果のデータの整理を行っている最中である。

３．今後の研究における課題または問題点

電波強度に関する 2 つの実験と利用者調査を実施したことで，BLE ビーコンが図書館における利用者調査において，利用者の位置をある範囲に入ったかどうかというレベルであれば利用可能であることがおおむね示された。しかし，今回取得したようなデータの分析方法には，複数の可能性があり，どの方法がより適切であるかを何パターンも試行したうえて最も良い方法を選ぶ必要ある。現時点では先行研究があまり存

在しないため, 取得された電波強度 (RSSI 値) を用いてどのように位置を推定するか, また位置に関する成果をどのような単位や形で表現するかを決定することが, 現時点では最も大きな課題となっている。取得したデータの分析を今後も継続する予定である。

Summary 400 words

This research pursues a goal to establish easy and versatile methods of collecting and analyzing quantitative data on information-seeking behavior of library users. Location identification technology, such as Wi-Fi, PDR (Pedestrian Dead Reckoning), RFID (Radio Frequency Identification), and BLE (Bluetooth Low Energy) beacons have become widely used and applied to various research fields to grasp people's indoor behavior. After considering the advantages and disadvantages of these techniques presently available to record users' locations, BLE beacons were chosen to collect data in terms of cost and data obtained.

I performed two experiments and a user study and explored the possibility of using BLE beacons according to the following procedure:

1) The experiment was conducted to measure radio field intensity at different distances to check the accuracy of BLE beacon under the same circumstances of a subsequent user study. It was found that using data with the exception of data which dropped below a threshold value raises the accuracy rate of location identification between the BLE beacon and a receiver.

2) The system to collect and accumulate received data from BLE beacons in the library was developed. It involved twenty-three Raspberry Pis in the library and a LAN network sending the data to AWS (cloud service) outside the library. Each Raspberry Pi has a Bluetooth receiver and it can receive radio waves from the BLE beacons.

3) The other experiment was conducted to measure radio field intensity under these conditions in the library. A subject with a BLE beacon walked two pathway patterns in the library. Data was collected and accumulated through the system as in procedure 2. The accuracy of user's location estimated by the radio field intensity was confirmed to know their location in a limited area.

4) The user study was conducted during January and February in 2019 under the same conditions. We handed out BLE beacons to willing participants at the entrance of the public

library and asked them to carry it around their neck during their stay in the library. We collected data from about 240 library users for 5 days. The process of organizing the received data is currently in progress.

The experiments and the user study showed that a BLE beacon has the accuracy to grasp user's location if it is used after eliminating received data below a threshold value. There are still many other methods that can identify people's location and analyze people's behavior patterns. Therefore, further studies are required to determine better ways to collect data.

海外における継承日本語をめぐる親・子供・教師の実践リアリティ：多角的・総合的研究

Multilateral Investigation of Treatment of Japanese as a Heritage Language by Parents, Children and School Teachers Living Overseas

研究代表者　三宅　和子（文学部日本文学文化学科）

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
キーワード／①アイデンティティ　Identity
②移動　Mobility
③言語の保持と継承　Language Retention and Inheritance
④インタビュー研究　Interview Research
⑤言語観　Linguistic View
平成 30 年度交付額／1,395,000 円

研究発表／学会および口頭発表

【論文】

「成長した「移動する子ども」の日本語習得―教えられなかった日本語が意味をもつ日―」岩﨑　典子・川上郁雄・三宅和子「「移動とことば」の視点から捉え直す「継承日本語」―ヨーロッパの事例をもとに―」pp.198-215 単著『ヨーロッパ日本語教育』Vol.22.

【書籍】

『移動とことば』川上郁雄・三宅和子・岩﨑典子編著　くろしお出版　2018 年 8 月

【パネル・発表】

・「複数言語環境を生きる女性の日本語の獲得と喪失をめぐる語り　－自己との対話から生まれる経験の意味づけ－」パネル『複数言語環境に生きる人の継承言語の意識とアイデンティティ形成』
ヴェネツィア 2018 年日本語教育国際研究大会 2018 年 8 月 4 日

・「LINE における「依頼」の談話的特徴を記述・分析する－メディア特性とモバイル・ライフの反映を探る－」第 24 回ひと・ことばフォーラム東洋大学 2018 年 11 月 10 日

・「ライフコースの中で捉える国際結婚家庭の継承日本語－日本語教育への示唆－」パネル「「移動

の視点」から、日本語教育を問い直す」2018 年度 日本語教育学会秋季大会（沼津）2018 年 11
月 24 日
・「「移動」の中のコミュニティの形成・変容と日本語教育への示唆」『グローカルな日本語教育実
践を構想する』第 23 回 AJE シンポジウム　ベオグラード大学 セルビア 2019 年 8 月 29 日-31
日予定
【研究会主催】
ひと・ことばフォーラム主催 2018 年度 「モビリティーズ」
・第 25 回 6/30 モビリティーズ-移動する人々のリアリティを熟視する
・第 26 回 11/10 モビリティーズ-モバイル・メディアとことば
・第 27 回 3/30　モビリティーズ-モバイル・ライブズが作る世界

研究経過および成果の概要
１．研究方法
継承日本語とは Japanese as a Heritage Language の訳であり、海外在住の日本語母語話者の親から子どもへと継承される日本語のことをさす。外務省調査（2016）によれば、義務教育相当年齢の海外在留子女数は 2016 年で 7 万 9,251 人、その約 7 割が国際学校や現地校に通っているが、週末日本人学校（補習校）や継承語学校に通う子どもも多い。未登録や長期在留・永住を考慮に入れると、海外で成育する子どもの数は多く、継承日本語教育のニーズが高まっている。
本研究は、国外に長期滞在・永住する日本人家族や国際結婚家族の継承日本語の実態、教育実践、学習ストラテジー、意識、アイデンティティの形成を検討し、継承日本語をめぐる問題系の整理と相互の関連を明らかにすると共に、21 世紀にめざすべき新しい言語観、日本語教育観、方法論を提示することを目的とする。また、継承日本語をめぐる子ども、親、家庭、社会の現実と相互の関連性を明らかにすることにより、その問題点をあぶり出し、どのような意識改革や実践の改善ができるかを提案する。本研究は、自身が「移動する」当事者／親／教師である申請者が、国外の日系コミュニティや教師・研究者等の協力を求めながら研究を進める。研究は、主に当事者へのインタビューと、その社会的歴史的背景を確認する文献調査を中心に行った。

２．研究経過および成果の概要
海外における日本語母語話者の日本、日本語、アイデンティティ、言語の継承に関する研究は 2010 年から着想を得て、テーマを変えながら継続している研究である。本年度は特にイギリスに永住して長い年月が経過した親と国際結婚の子どもの双方のイ

ンタビューから、継承日本語がどのように保持されるか／されなかったかを探った。研究は大きく分けると、１）研究公開：国際学会のパネルをはじめとする発表および書籍・論文の刊行と、２）実態調査である。

１）は８月の AJE/日本語教育世界大会（ヴェネチア）でのパネル、11 月の日本語教育学会秋季大会（沼津）でのパネル、2018 年度に 3 度主催した「ひと・ことばフォーラム」（テーマ：モビリティーズ）で、21 世紀におけるモバイル・ライブズを移動とメディアとの関連で討論する場を用意し、自らも発表した（11/10）ことが成果としてあげられる。

２）は８月の学会の後と、2～3 月に行った実態調査インタビューがあげられる。離日して 50～60 年となる老年国際結婚日本人女性と、すでに 40～60 歳代となった子どもたちに別個にインタビューを行い、日本と日本語の継承がどのように捉えられ行われたかについて調査した。それと比較する形で、30～40 歳代の国際結婚家庭の日本語保持の考え方や努力についてもインタビューを行った。これらのインタビューは文字起しを行い、分析中であり、その成果の一部は 2019 年の第 23 回 AJE シンポジウム（ベオグラード、8 月 29-31 日）でパネル発表する予定である。

本研究は１年という短いスパンであったが、これまで継続してきた研究の流れの中で、親と子どもの日本語継承に関する立ち位置や問題を、日本語と英語を駆使して別々にインタビューすることによって浮き彫りにできた点が、これまでにない成果として評価できよう。一方で、教育現場における継承日本語の扱いについては十分に調査できていないことが今後の課題である。

３．今後の研究における課題または問題点

グローバル化が進む現在、地球上では「移動」が繰り返され、母語・外国語・第 2 言語などの区分では把握できない多様な言語使用と言語意識をもつ人びとの存在が認識されるようになってきている。継承日本語問題もこの大きな変化のうねりの中にある。

本研究は日本の研究者が海外在住日本人の継承日本語調査を行うという難しい課題の遂行が課されてはいるが、調査が進むにつれ、トランスナショナルな人の移動とモバイル・ライフという時空間を超えた 21 世紀のコミュニケーションの新しい現況が強く結びついている問題であることが明らかになってきた。今後はさらにイギリスにフォーカスを続けることによって問題系の整理を行う。すなわち、社会的状況の異なる過去と現在、大都市と地方の状況を比較し、量的調査の知見(三宅 2016)も援用しながら、日本語・日本文化の保持・継承・喪失に関わる要因と実践リアリティを追究したい。

Summary

A growing number of Japanese nationals are living overseas as long-term and permanent residents (see MOFA, https://www.mofa.go.jp/mofaj/toko/tokei/hojin_sj/).

As a result, there is a rising demand for *Keisho Nihongo* (Japanese as a Heritage Language) education to support the Japanese language learning of children who are being raised overseas. "Heritage language" is the term used to describe a language that is predominantly spoken by "non-societal" groups and linguistic minorities (Valdes 2000). According to a survey conducted by MOFA, the Ministry of Foreign Affairs of Japan (https://www.mofa.go.jp/mofaj/toko/page22_000043.html), among the children living overseas in 2016, there were 79,251 pupils in compulsory education and about 70% of them were attending either international schools or local schools, rather than Japanese schools. A majority of those 70% were going to supplementary weekend classes to learn or retain their Japanese.

The aims of the current research was to uncover the hopes and efforts of those families to learn or inherit Japanese while living overseas. It examined the educational strategies adopted by the parents and teachers, as well as the learning strategies of the children. Another key focus of this research was the identity construction, awareness and changes among the 2nd and 3rd generation children living outside of Japan.

The findings suggest the children's Japanese abilities are not strongly influenced by the degrees of the hopes, consciousness and efforts of the parents or the children, but rather by factors such as the time of emigration, environmental conditions and the international importance of Japan as an economic power. Moreover, the findings shed light on several misconceptions held about language education (such as the assumption that the children's successful language attainment directly correlates to the parents' efforts) and highlight the need to further investigate the different practices and roles of *Keisho Nihongo* through individual cases. Further research in this area would open up new linguistic outlooks and enable innovations in Japanese language teaching and pedagogies that meet the needs of the increasingly mobile people of the 21st century.

This research was carried out in the UK during 2018-2019, and involved a total number of 14 participants.

The methods used were predominantly semi-structured interviews, focusing on the participants' life stories. The interviews were conducted in Japanese with the parents as it is their mother tongue, and in English with the children as this is their most fluent language. A literature review was carried out into relevant sociological and historical backgrounds to support the analysis of the findings.

海外研修を「真のグローバル人材」育成につなげるための

多角的・長期的取り組み

Multilateral and long-term perspectives to connect study-abroad programs to the development of　globally-minded leaders

研究代表者　藤尾　美佐（経営学部会計ファイナンス学科）

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日

キーワード／① 流暢性　Fluency
② 異文化間コミュニケーション能力
Intercultural Communicative Competence (ICC)
③ 事後研修　Post-Study-Abroad Curriculum
④ インバウンド　Inbound
⑤ 長期的キャリア　Long-Term Career

平成 30 年度交付額／828,000 円

研究発表／学会および口頭発表

１）2018 年 10 月 Association for Business Communication (ABC) 学会（米国フロリダ）The 83rd Annual International Conference にて発表。（発表タイトル：Challenges and Opportunities of Japanese Inbound Business towards the Olympics in 2020: How to Combine the Opportunities with University Education）

２）2019 年 10 月同 ABC 学会（米国デトロイト）The 84th Annual International Conference にて発表予定。

３）2019 年 10 月　国際ビジネスコミュニケーション学会（JBCA）第 79 回全国大会にて発表予定。

４）2020 年 7 月　JACET(大学英語教育学会）第 13 回関東支部大会にて発表予定。

研究経過および成果の概要

１．研究方法

本研究は、海外研修の成果を、言語面および異文化間コミュニケーション能力の観点から具体的に解き明かし、海外研修で伸びる・伸びにくい能力を特定し、それを帰国後どのように維持またはフォローアップし、長期的キャリアへ発展させるかを目的とした

調査である。研究者、藤尾は、先行研究の中で、帰国後に英語力が急激に落ちた例 (Fujio 2013) や、英語力を生かした仕事につけない例 (Fujio 2018) を報告しており、本研究では、これらを踏まえ、１）経営学部の Oxford 研修（夏季 3 週間）における事前・事後研修時のグループ・ディスカッションおよび研修時の授業参与、２）留学経験のある学生（長期 10 名、短期４名）へのインタビューを主要なデータとして収集した。

１）については、14 名の研修参加者を 4 つのグループに分け、同じメンバーで、事前および事後研修時に英語でグループ・ディスカッションを行ってもらった。そのデータを立ち上げ、発話量、流暢性、方略的能力（コミュニケーション方略の使用）などの観点から、現在データを分析中である。２）については、留学先の授業内容、英語の使用状況、留学中の問題点や成果、帰国後の大学教育に臨むことなどの項目ごとに、コメントを整理・分析中である。

２．研究経過および成果の概要

現時点では、データ分析を継続中であるものの、以下のような傾向が、すでに分析結果として得られている。

１）については、事後研修において、全員の発話量、発話速度ともに、明らかな伸びが見られた。また、発話交替においての積極性や、コミュニケーション方略のより効果的な使用（例えば、言い換えをスムーズにする I mean の自然な使用など）が観察された。また、全員がリスニングとスピーキングについては伸びを実感していたものの、リーディング・ライティングは授業内で扱われる量も少なく、これは今後のプログラム作成にも示唆される問題である。また、帰国後 14 名のうち 2 名が長期留学を決め、さらに 2 名が続く春休みに、それぞれ海外でのインターンシップと育児教育ボランティアに参加し、短期留学がきっかけで参加者が異文化や英語への awareness を高め、より長期の留学や目的のある留学につながって行ったことは、一つのモデルケースと言える。今後も参加者の長期的な調査を行う予定である。

２）については、留学先の学部生と１年間授業を受ける交換留学制度（３名）と、１セメスター語学留学を行う協定校留学（７名）の２種類のインタビューを行った（短期４名についてはここでは省略する）。とりわけ、現地の英語母語話者と一緒に授業を受ける前者の学生たちは、留学時点で専門的なアカデミックな知識を有していることの重要性と、海外の大学の、座学だけでなく tutorial やフィールドワークなどの重層的な授業構造により、学生自身が主体的に授業に取り組むことの重要性を指摘していた。語学留学の後者の学生たちは、事前に目標を明確にしておくことの重要性も指摘しており、目標の「可視化」を行なっていた学生もいる。帰国後の問題点としては、単位互換の対象科目が英語系の科目に限定されているので、帰国してから単位を取得できる英語科目が少ないこと、留学経験者だけのクラスを設置してほしい、留学生との交流の機会を増やしてほしいなど、大学のカリキュラム

とインバウンドを効果的に組み合わせる可能性も示唆された (Fujio 2018 口頭発表参照)。

３．今後の研究における課題または問題点

上記１）のデータに関する課題としては、帰国後の学生がどのように英語力や異文化への気づきを維持し、キャリアへつなげていくか、またキャリアの中で留学経験がどのような意味を持つのかなどの長期的調査につなげられるかどうかが課題である。

２）に関しては、今回のインタビューが希望者を募ってのインタビューであったため、留学を通じて成果が挙げられた学生のみが被験者として応募して来た可能性がある。今後は、留学中の問題点、または潜在的な問題点を洗い出せるよう、データ収集方法をさらに工夫する必要がある。また今後の発展性としては、今回のデータをベースに、深度と規模を広げていくことができる。深度という点については、今回の被験者の共通点と相違点をさらに分析し、留学の成否を分ける個人的要因を考察すること、さらに長期的データを収集することである。規模という点においては、今後アンケートなど大規模調査を行うなどの研究の可能性がある。

また、今回の分析要素である異文化間コミュニケーション能力（ICC）をさらに一歩推し進めて Global Citizenship Education [注1] の概念へと発展させ、留学経験者たちが、個人の能力を超えて、留学経験を組織、地域、社会へとどのように貢献していくのかについても、今後の研究対象としていきたい。

注１ 「教育がいかにして世界をより平和的、包括的で安全な、持続可能なものにするか、そのために必要な知識、スキル、価値、態度を育成していくかを包含する理論」（文科省ホームページ http://www.mext.go.jp/unesco/002/006/002/003/shiryo/attach/1356893.htm より）

Summary

This project was conducted in order to identify what kind of competence can or cannot be developed through an overseas study and to consider what kind of post-study-abroad education should be provided at Japanese universities and how effectively the study experience could be connected to the long-term career of each participant. In this project, two major data sets were collected: 1) group discussions in the pre- and post-sessions of a three-week summer seminar in Oxford, which was customized for the students of Faculty of Business Administration and therefore included some business lectures in addition to Business English lessons; and 2) interviews with the students of the same faculty with an overseas study experience, either one-year undergraduate program or one-semester language (English) program.

The first data set was analyzed in terms of the amount of output, turn-taking

style, fluency, and the use of communication strategies of each participant in both the pre- and post-sessions of their overseas study, with reference to their active participation in the study program. The second data set was sorted out and analyzed by each question such as what they studied in their classes, what kind of opportunities and challenges they faced, and what they expect for post-study-abroad programs when they returned to Japan.

The findings revealed that, as for the first data set, all the participants visibly improved in the amount of output and fluency as well as showing more active turn-taking patterns in the post sessions. They also felt themselves improvement in listening and speaking skills but much less in reading and writing, which might be a challenge for our future study-abroad programs. Their activities following the study program also revealed that the Oxford program became an important opportunity to enhance their awareness of overseas study since nearly one-third of the participants participated, following the Oxford program, in a longer study-abroad program or a program with a more specific purpose such as an internship at an overseas company or at an elementary school.

The analysis of the second data set disclosed that a certain amount of previous knowledge about their major is a determinant for success of a study-abroad program, especially in the case of an undergraduate program. In the case of a language program, some students pointed out the importance of setting their goals beforehand or how to visualize their goals before the study.

As for the post-session programs in Japan, many participants hoped to take further English classes when they returned as well as opportunities to contact with international students. This might be related to future opportunities of connecting university education with more field work, including inbound tourists (Please refer to the paper presentation of Fujio 2018 at the ABC conference.)

In the future, this program will be developed into two different directions. The first one is to further develop the project qualitatively, through more through comparison among participants to identify individual variations as well as common challenges. The second one is to develop into a quantitative direction, for example, developing a questionnaire based on the current results.

The current study identified many opportunities to add value to individual student achievements when embarking on overseas visits, including but not limited to incorporating pre- and post-visit planning and goal setting.

ローカルスモールビジネスの地域経営圏の確立

―長寿・売薬企業の文献・実態調査研究―

Establishment of Regional Management Zone for Local Small Business：
Research on Literature and Actual Condition Survey of Longevity Companies and Drug Companies in Japan

研究代表者　幸田 浩文（経営学部経営学科）

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
キーワード／①ローカルスモールビジネス　Local Small Business
②地域経営圏　Regional Management Zone
③長寿企業　Longevity Company
④製薬企業　Drug Company
⑤文献・実態調査研究　Research on Literature and Actual Condition Survey
平成 30 年度交付額／794,000 円

研究発表／学会および口頭発表

・【論文(単著)】「「日本四大売薬」にみる行商圏の構築・発展・転換過程－江戸中期から明治期まで－」『経営力創成研究』第 15 号, 東洋大学経営力創成研究センター, 2018 年, 5-19 頁.

・【書籍(共著)】「起業家精神と起業家教育」『スモールビジネスの経営力創成とアントレプレナーシップ―イノベーションとグローバリゼーションの実現に向けて―』学文社, 2019 年, 110-140 頁.

・【シンポジウム研究報告】①「スモールビジネス・マネジメントの創造と企業家育成」, 東洋大学経営力創成研究センター, 2018 年度　第 1 回シンポジウム（平成 30 年度私立大学戦略的研究基盤形成支援事業), 2018 年 7 月 21 日.

・②「スモールビジネス・マネジメントの創造と国際的企業家育成の研究－2014～2019 年（5 年間）の軌跡－」, 東洋大学経営力創成研究センター, 2018 年度　第 3 回シンポジウム(平成 30 年度私立大学戦略的研究基盤形成支援事業), 2019 年 2 月 2 日.

研究経過および成果の概要

１．研究方法

本研究の目的を達成するために国内の文献研究、アンケート調査、並びに面接調査による実証研究は、前年度に引き続き次の４段階を用意した。
①基礎文献研究：対象製薬・売薬企業に関連する書籍、論文、雑誌、記事類。
②専門研究機関の文献・資料・資料調査：専門研究機関との研究交流と聞き取り調査等。
③現存する末裔の代表的な製薬・売薬企業の担当者との面接研究：定型的な質問に限定せず、現場で臨機応変に柔軟な質問をするが、観察法と深層心理分析の手法を用い、隠された内面性と言葉にし難い暗黙知的な知識の掘り起こし。
④仮説検証の討論研究：以上の３段階を通じて得られた研究成果を素材にして、暫定仮説から最終仮説の設定に向けて、第３者の客観的情報を含め、今後の研究課題をより絞り込み、同時にその研究方向性をよる精緻化。より具体的には、
1) 富山県・滋賀県・奈良県・佐賀県・山口県・岡山県・新潟県の製薬・売薬（行商）に関わってきた商人・企業の経営理念・手法・販売・流通システムなどに関して、関連学問分野の文献（学術研究雑誌など）・資料・史料所蔵機関（大学・研究所等）を中心に、情報の調査・収集。
2) 上記地域に現存する末裔の代表的な製薬・売薬企業（経営者）に対するアンケート調査を実施するとともに、その後企業・経営者を訪問しヒアリング調査の実施。
3) 文献（書籍・資料・史料など）調査を通じて収集した情報・データを用いて、代表的製薬・売薬企業の経営理念・手法・販売・流通システムを比較考量し、かつ事業承継・後継者育成問題とその解決策を調べることによる長寿・百年企業の最低必要条件・要素の解明。

2. 研究経過および成果の概要

本年度は, (1) 本研究課題の研究成果として, 東洋大学経営力創成研究センターに論文(単著)を 1 本, (2) 本研究課題に関連する研究成果として, 東洋大学経営力創成研究センター刊行の書籍に論文(単著)を 1 本, (3) 東洋大学経営力創成研究センター主催のシンポジウムでの基調講演, そして(4) 東洋大学経営力創成研究センター主催のシンポジウムでのパネリストとして登壇した 。

(1) の成果概要

本論文では、上記の四大売薬地域を取り上げ、①四大売薬の成立とその背景、②四大売薬の成長と発展の背景、③売薬「仲間」と幕藩体制の関係、④明治政府の売薬行政と四大売薬の対応について比較検討することを目的とした。

第 1 に、四大売薬の発祥時期については、その代表的な売薬やその源流となる薬が創製された時期であったり、売薬行商が始められた時期などが混在して伝えられたりして、正確に特定することは難しい。とはいえ、四大売薬の代表薬が各領域内外でみられるようになるのは、おおよそ江戸時代中期・元禄年間前後のことであった。

第 2 に、主な原料の仕入先が必ずしも地元や周辺地域で調達できるものでもなかったに

もかかわらず、四大売薬（行商）が各地域で成立し、各地に行商圏を拡大することができたのは、①高い売薬への依存性、②売薬地域周辺との交通の利便性、③信仰に根づいた施薬文化、④「先用後利」の概念と「個別訪問」という販売方法が販路拡大につながったことが背景にある。

第 3 に、四大売薬の中で富山売薬は、圧倒的組織力により他の 3 つの売薬を行商人の数でも売上高でも江戸時代を通じて凌駕していた。その背景には富山藩が売薬を「第一の国産」として領域内外での行商を支援するとともに、反魂丹役所を創設して統制・管理していたことが挙げられる。また富山売薬でも当時一般的であった株仲間をつくるだけでなく、自藩・他藩の役所との交渉を担当する「組」や「向寄」を設けたことで強力な営業力をもつことができた。さらに規律・秩序と自己統制を求める仲間規約を取り決め、仲間組を相互扶助と利益を目的とする運命共同体に作り上げたことである。

第 4 に、明治維新を向かえると、和漢薬を主原料とする売薬に対する明治政府の売薬行政の影響が四大売薬に押し寄せる。その影響をもっとも受けたのが富山売薬であった。富山売薬は幕藩体制の崩壊により藩の保護・支援体制が瓦解し、株仲間の撤廃や職業選択の自由などにより、これまでの特権を喪失してしまった。一方、大和売薬や田代売薬では、農閑期の農民や旧士族がこぞって売薬業に進出し活況を呈するようになった。

以上、本論文では、明治期、四大売薬が、合薬から洋薬に舵を切るか、また近世売薬業から近代医薬業へと進路を取るか否かといった選択が、その後、四大売薬が地場産業として成長・発展を遂げることができるかどうかの岐路となったことを論証した。

(2) の成果概要

日本の起業家（精神）教育が先進諸国の中において相対的に進展していない状態が続いている。その原因は圧倒的に起業無関心者の数が多いことにある。その一方で、起業関心者が起業に踏み切る割合は起業先進国の米国に匹敵している。

そこからは、日本での起業家（精神）教育は、①教育課程の各段階において起業への関心を喚起・助長する施策を講ずることと、②起業関心者を対象とした体験型の起業家（精神）教育モードを基盤においたプログラムやコースへと転換する必要性がある。

その好例が米国のバブソン大学の教育プログラムであり、MBA の学位と中小企業診断士の資格の取得といった理論と実践を一体化した東洋大学大学院の教育プログラムにみられる。ただこうした教育プログラムの成果に対する評価基準が定まっていないために教育成果が検証できていないのが現状である。また起業家教育においては現在の教師のように教えるといったスタンス・役割ではなく、メンター（mentor）、コーチ（coach）・ファシリテーター（facilitator）といった人間重視の関与型・支援型の教育スタイルと、従来のサイエンス中心から、直観・ビジョン・創造性といった暗黙知を土台にもつアートやクラフトな部分を重視する教育プログラムへのシフトとその開発が望まれる。

(3) の成果概要

本研究報告「スモールビジネス・マネジメントの創造と企業家育成」では、主にファミリービジネスの事業継続性、長寿企業が存続している理由、長寿企業にみられる傾向、事業継続性を実現するために、永続する企業の４つの指針などについて検討した。

(4) の成果概要

本シンポジウム「スモールビジネス・マネジメントの創造と国際的企業家育成の研究－2014～2019 年（5 年間）の軌跡－」 では、主に SECI モデル、体験型起業家教育モード、東洋大学大学院経営学研究科・中小企業診断士登録養成課程修了生の進路、日本の起業家精神教育の課題と展望について報告した。

3. 今後の研究における課題または問題点

本研究では、「日本四大売薬」について各種文献・資料・史料などを用いて比較研究を行った。これまで各売薬については経済史家・歴史家によって詳細に分析されてきたが、いわゆるヨコ串を入れた研究はほとんど見あたらない状況にあった。この点においてささやかながら同研究分野に貢献できたと考える。しかし、大正期から現代に至る期間については比較できなかったことが課題となる。とくに富山県と奈良県において近代製薬業への転換についても言及することができなかったことは問題点として挙げられよう。今後の課題としたい。

Summary

(1) Representative drugs of Big Four Baiyaku (patent medicine businesses) had appeared in and out of each domain since about the mid-Edo period. Each Baiyaku could build a strong customer base in one's geographic area and enlarge its own peddling area in and out of its own domain due to the following factors: (1) dependence on expensive patent medicine, (2) transportation convenience in designated areas, (3) the dispensation of medicine rooted in faith; and (4) the concept of Value First, Money Later and the marketing method of door-to-door visits. Among Big Four Baiyaku, Toyama Baiyaku was a leading Baiyaku on both the number of peddlers and sales throughout the entire Edo period. The Meiji government's restrictive measures on Japanese and Chinese medicine accompanied by the promotion of Western drugs based on Western medicine were very severe to patent medicine businesses. As a result, they forced Big Four patent medicine businesses to sell Western drugs. Their choice of whether to take a new path from traditional medicine businesses to modern ones became a turning-point in their further development as a local industry.

(2) Entrepreneurship education in Japan has not continued to progress relatively in

advanced countries. The cause is overwhelmingly that there are a lot of entrepreneurs indifferent. On the other hand, the rate at which people interested in entrepreneurship start up a business is comparable to that of the US in industrialized countries. Therefore, in Japanese entrepreneurship education, it is necessary to take measures to stimulate and encourage people interested in entrepreneurs at each stage of the curriculum, and for those who are interested in entrepreneurs, it is necessary to switch to a program or course.

(3) In the research report " Creation of Small Business Management and Development of Entrepreneurs ", we mainly reported on ①business continuity of family business, ② reason why longevity companies survive, ③trends seen in long-lived enterprises, and ④four guidelines for realizing business continuity.

(4) In the symposium "Creation of Small Business Management and Development of International Entrepreneurs - The Trail of 2014 - 2019 (5 Years)", we mainly reported on ①SECI model, ②experiential entrepreneur education mode, ③the path of graduates of Small and Medium-sized Company Course of Toyo Graduate School of Business Administration, and ④ issues and perspectives of Japanese Entrepreneurship Education.

著作権契約法に関する総合的研究

Conprehensive Study on Copyright Contract Laws

研究代表者　安藤和宏（法学部法律学科）

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
キーワード／①著作権　Copyright
②契約法　Contract law
③終了権　Termination Right
④バリューギャップ　Value Gap

平成 30 年度交付額／900,000 円

研究発表／学会および口頭発表

・論文「音楽のインターネット送信と Value Gap 問題」論究ジュリスト 26 号（2018 年 8 月）20-27 頁

・芸団協 CPRA 主催「デジタル時代、芸術創造の新たな大循環を－今、実演家、クリエーターは適切かつ公平な対価を得ているか？」にて講演（2018 年 10 月 30 日・衆議院第一議員会館）。

・「Contractual Relationships among Artists, Record Labels, and Artist Management Companies in Japan」『The Oxford Handbook of Music Law and Policy』Oxford Univ. Press に収録（分担執筆），平成 31 年予定

研究経過および成果の概要

１．研究方法

まず、著作者保護に関する諸外国の著作権契約法制度の状況について、文献調査を中心に詳しく調査・整理した。次に、諸外国における著作権契約法の運用状況について、9 月に行われた国際著作権法学会（ALAI）に参加し、各国の関係者からのヒアリングを中心に、整理・分析した。さらに、諸外国の法制度を比較検討し、著作権契約法として、最適なモデルを提案し、課題解決に向けた立法論・解釈論を展開した。本研究では、研究協力者と適宜ミーティングを行い、討論や協議を行いながら、調査・研究を進めた。特に 10 月 5 日から 11 月 2 日まで、東洋大学法学部の短期招聘教授として来日した Luke McDonagh 講師（シティ大学ロンドン）とは、EU の著作権契約法の運用状況について、1か月にわたって一緒に議論・検討を進めた。

２．研究経過および成果の概要

6 月下旬から 7 月上旬にかけて、論文「音楽のインターネット送信と Value Gap 問題」を執筆し、論究ジュリスト 26 号（2018 年 8 月）において発表した。その中で、欧州委員会がデジタル単一市場における著作権指令案において、具体的な解決策として、①透明性の義務（14 条）、②契約を調整する仕組み（15 条）、③紛争解決の仕組みの導入（16 条）を提言したことを紹介し、著作権契約法の導入の必然性を指摘した。同論文は、日本において Value Gap 問題を最初に紹介し、その具体的な解説策を提示したものである。

6 月 27 日（水）には、日本音楽事業者協会において、公益社団法人日本芸能実演家団体協議会実演家著作隣接権センター（CPRA）主催の「Value Gap 問題等に関する勉強会」において、Value Gap 問題を中心に、インターネット配信と実演家の権利に関する課題、YouTube と実演家の権利や契約等について講演した。このセミナーは、インターネット配信からの実演家への収益分配（CPRA による集中管理）に関し、権利者団体・会員等と情報を共有し、権利拡大等の運動展開の基礎となる共通理解を醸成することを目的としたものである。特に、日本ではそれほど認知されていない Value Gap 問題を紹介し、巨大プラットフォーマーから権利者や実演家に適正な収益分配が行われていないという問題意識を共有することを主眼とした。

7 月から 8 月にかけて、Oxford Univ. Press が刊行する書籍『The Oxford Handbook of Music Law and Policy』に掲載する論文「Contractual Relationships among Artists, Record Labels, and Artist Management Companies in Japan」を執筆した。この書籍は、海外の著名な研究者による多くの論文が掲載され、2019 年に刊行が予定されている。この論文では、日本の音楽業界の現状と課題を詳細に解説し、海外の研究者の調査・研究の一助となることを目的とした。なお、英語翻訳は翻訳業者のケースクエアに委託した。

2018 年 10 月 30 日に衆議院第一議員会館にて、芸団協 CPRA 主催によるフォーラム「デジタル時代、芸術創造の新たな大循環を－今、実演家、クリエーターは適切かつ公平な対価を得ているか？」において「Value Gap 問題」をタイトルとする講演を行った。この講演でも、海外に比べて認知度が極めて低い Value Gap 問題を紹介し、Google が運営する YouTube から権利者や実演家に適正な収益分配が行われていないという問題意識を共有することを目的とした。

３．今後の研究における課題または問題点

3 月 26 日に欧州議会がデジタル単一市場における著作権指令（EU 指令）の最終案を正式に承認し、これまで独自の著作権契約法を導入していた EU 加盟国は、EU 指令に基づいた改正法を成立・施行する必要が生じることとなった。具体的には、著作者及び実演家は当初合意された報酬がその後の収入及び著作物または実演の利用から生じる利益と比べて不均衡に低い場合には、権利の利用について契約を締結した当事者からの追加的かつ

適切な報酬を求める資格を有することを確保しなければならないこととなった。アメリカではすでに終了権制度が導入されているため、この EU 指令により先進国で著作権契約法が導入されていないのは日本のみとなった。

今後、日本が EU 指令のアプローチを採用するのか、あるいはアメリカのような終了権制度を導入するのか、あるいは現行法のようにいかなる制度も導入しない方向に向かうのかは、研究者の研究・成果に大きく関わっている。この分野の研究の先駆者として、さらに研究を継続して、成果を本学から発信したいと思っている。

Summary

The purpose of this study was to explore copyright contract laws which would strike a balance between creators/performers and entertainment companies with a barganing power so that the former would be given a fair remuneration in advanced countries, particularly the U.S., Germany and France. The research method I used here is to (1) analyze relevant legislation, (2) compare case laws and draw similarities and differences, (3) refer to other legal authorities, e.g. treaties, Regulations, obiter etc., (4) discuss legal commentary and apply it to the issues, and (5) recognise and evaluate counter arguments. I also participated in the symposium of ALAI (Association littéraire et artistique internationale) in Montreal, Canada from the12th to 16th of September, 2018 in order to discuss this issue with various prominent researchers and practioners from all over the world. In addition, I did research with a famous copyright senior lecturer of City, University London, Dr. Luke McDonagh who came to Tokyo as a visiting scholar of Toyo University Faculty of Law for about one month in the fall. During his stay, he gave me great, insightful, and valuable advice which contributed a lot to my research and papers.

By doing research on this issue, I published the paper titled, “Music Digital Distribution and the Value Gap Issue” in August, 2018 which explored the complicated legal problems creators and performers have been facing for a long time and proposed the introduction of a copyright contract law into the Japanese Copyright Act. In that paper, I pointed out that the Directive of the European Parliament and of the Council on Copyright in the Digital Single Market stipulated in Article 15 that “Member States shall ensure that authors and performers are entitled to request additional, appropriate remuneration from the party with whom they entered into a contract for the exploitation of the rights when the remuneration originally agreed is disproportionately low compared to the subsequent relevant revenues and benefits derived from the exploitation of the works or performances.” This legal system is very similar to the bestseller clause of the German Copyright Act which would give a fair remuneration to creators and performers even if there is a significant difference in

barganing power between creators/performers and entertainment companies. Secondly, I made a presentation on this issue to the public at the forum organized by Geidankyo on October 30, 2018. Lastly, I wrote a thesis in English titled, “Contractual Relationships among Artists, Record Labels, and Artist Management Companies in Japan” to be published by Oxford Univ. Press in 2019. This article will be included in an e-book, “The Oxford Handbook of Music Law and Policy” edited by Sean O’Connor of University of Washington Law School.

責任保険の故意免責と懲罰的損害賠償に係る体系的研究

A Systematic Study on the Intentional Disclaimer and the Punitive Damage of Liability Insurance

研究代表者　李　芝妍（法学部法律学科）

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日

キーワード／①　責任保険　　Liability Insurance
②　故意　　Intent
③　免責　　Discharge
④　懲罰的損害賠償　　Punitive damages

平成 30 年度交付額／855,000 円

研究発表／（１）論文発表

・李　芝妍「責任保険の故意免責と懲罰的損害賠償」（仮題）
東洋法学第 63 巻 3 号への投稿予定（2020 年 3 月頃）

研究経過および成果の概要

１．研究方法

本研究では、まず日本の責任保険について、アメリカ合衆国などの諸外国の責任保険の判例・学説を比較検討したうえ、日本の責任保険の基礎理論を体系化する。主に、責任保険の根本的問題である責任保険における責任とは何か、またその責任を保険でてん補することの妥当性、責任保険の免責条項の意義と問題点について分析した。

責任保険は加害者保護と被害者保護の機能を有しているが、主な機能は被害者の保護・救済である。しかし、責任保険における故意事故を免責にしてしまうと、被害者が十分な救済を得られなくなる可能性があるため、故意による事故を免責する原則を排除する可能性について検討した。そして、悪質的な加害行為に対する懲罰的損害賠償などが注目される今日において、損害賠償を保険の側面から懲罰的損害賠償の導入と保険適用の可否を考察する。

日本の責任保険はアメリカ合衆国の責任保険を導入したものであるため、アメリカを対象として比較研究を行いながら、イギリスとフランスの理論調査・分類・分析も行うことにした。

２．研究経過および成果の概要

日本における従来の判例と先行研究などを中心に考察しながら、アメリカ合衆国の実情を把握するため、夏休み中に個人研究として現地調査を行った。アメリカで収集した保険約款を分類・分析しながら、2019 年 2 月にイギリスとフランスを現地訪問し、関連資料を収集し、実務家にヒアリングを行った。その現地調査で収集した内容は、引き続き学理的に分析しているところである。

責任保険の基礎理論を体系化する中、故意免責によって被害者を救済できなくなってしまう問題点について指摘し、その排除可能性について考察した。そして、責任保険の故意免責を全面的に排除してしまうと、不法行為責任の抑止・制裁機能に支障が生じる可能性があるため、排除可能範囲を具体化・明確化する必要があると指摘した。

また、責任保険の基礎理論について比較検討した結果、責任保険における加害者である被保険者の故意による事故であっても被害者である第三者を保護する方向に世界各国が変わりつつあることを確認できた。特に、アメリカの場合、故意的不法行為の類型の多くが責任保険の約款を明示的な根拠として保険てん補されている状況である。それは、責任保険がますます被害者の保護に争点を当てている証であると思われる。

次に、現代社会は不法行為において大量加害と大量被害という不法行為の大量化が多くみられており、その責任追及に関連して懲罰的損害賠償制度の導入に関心が高まっている状況である。懲罰的損害賠償制度は悪意的な不法行為によって発生した損害に対して填補的損害賠償に加えて不法行為者を懲罰することにより、悪意的な不法行為を抑止し、制裁することを目的としている。

日本の損害賠償制度では加害者に対する制裁や将来における同様の行為の抑止、すなわち一般予防は目的とはされていない（最判平成 9 年 7 月 11 日、平成 5(オ)第 1762 号）が、懲罰的損害賠償では制裁のみならず、予防・抑止機能、法遵守機能を有するので、その導入を疑問視する見解が多く存在する。しかし、近年、煽り運転とか酒酔い運転などの悪質的なケースが多発しており、そのような不法行為は刑事上の責任は重く科されるが、民事上の責任は重くなるケースは稀である。自動車事故の場合、損害賠償責任額は自動車賠償責任保険金で支払われるのがほとんどであり、その場合は加害者の財産から直接支払うことはない。損害賠償責任額の中でも慰謝料の場合、加害者の悪質性に対する制裁的意味合いのみならず、被害者本人あるいは遺族などの精神的苦痛に対する補償の意味合いもあるので、自己負担のない損害賠償責任をどう考えるかは大変難しい問題である。このような考えを踏まえなから、本研究では、例え自己負担を認めることになったとしても自力で賠償額を支払う経済力がなければ、被害者の保護・救済は困難となってしまうので、被害者の保護と救済を最大争点にしながら妥当な在り方について引き続き考察する。

また、本研究では懲罰的損害賠償に対して保険を適用することの可否についても考察した。その考察はアメリカ合衆国を比較対象国として行ったが、アメリカのほとんどの州では懲罰的損害賠償に保険を適用することを認めており、現在は直接責任または代表者責任のいずれも認定していない州は三つの州のみである。その保険適用実態を調査・分析する

ことによって日本での適用可能性を探る手法で考察を続けている。

３．今後の研究における課題または問題点

従来から責任保険契約をめぐる研究は、専門家賠償責任保険を中心としてなされており、未だ根本的な研究は進んでいない状況である。本研究は責任保険そのものではなく、被害者保護の観点から責任保険の故意免責を再分析するものであり、その分析結果を懲罰的損害賠償と保険付保可能性に反映しながら考察する新たな試みである。本研究を遂行しながら、日本とアメリカの不法行為制度は大きく異なる側面があると分かった。すなわち、不法行為の当事者間において、被害者が加害者から実際に生じた損害の賠償に加えて、制裁および一般予防を目的とする賠償金の支払を受けることは、日本の不法行為に基づく損害賠償制度の基本原則ないし基本理念と相いれないものである。従って、この点に関する直接的な適用可否を論じることは不可能であるため、今後の適用可能性と適用範囲、妥当な在り方などについて提案することにした。また、責任保険の側面では加害者たる被保険者の故意によって保険給付を受けられなくなってしまうことは、被害者の救済ができなくなってしまうことなどを問題点として指摘したが、その解決策を比較法的観点で考察し、悪質的な加害者に対する制裁の妥当な在り方を模索することは課題として残されている。

近日中に整理・分析した内容を論文としてまとめた上で公表する予定であるが、理論的な分析については予想以上に時間がかかるため、引き続き考察している最中である。

Summary

Based on a comparative review of the basic theory of liability insurance, it was confirmed that countries around the world are changing to protect third parties who are victims of accident due to the intention of the insured. In particular, in the United States, many types of intentional tort are covered by insurance based on the terms of liability insurance. It seems to be a sign that liability insurance is increasingly placing emphasis on the protection of victims.

Next, in today's society, there is a growing interest in the introduction of punitive damages related to the pursuit of responsibility, as there is a growing number of illegal acts, such as large-scale damages and massive damages. The punitive damages system aims to deter and punish malicious illegal acts by punishing offenders in addition to compensation for damages caused by the malicious illegal acts.

There is controversy on the proposition that insurance is not available for injuries or damage intentionally caused. Especially in liability insurance, there is hot controversial on this proposition. The supporters of this proposition argues that it would be against “public policy” to allow insurance to cover injuries or damage intentionally caused by the policyholder. Lately, however, there are an array of intentional torts for which

insurance coverage is expressly provided under liability policies. For example, insurance coverage is available for defamation, disparagement, trademark infringement, misappropriation of style doing business, unfair competition, infringement of copyright. Under well-established insurance policy interpretation principles such as contra proferentem and the "reasonable expectations" doctrine, insurers cannot escape their coverage obligations for these types of claims based upon the "expected or intended" exclusion even though these types of claims result in injuries or damages that typically are intentionally caused by the policyholder because the policyholder reasonably expects that the coverage the insurer expressly agreed to provide will, in fact, be provided. Besides, there is no empirical evidence to support the assumption that insurance promotes intentional wrongdoing. Further, there are competing public policies that favor the enforcement of an insurer's agreement to provide coverage under its policies and the need to compensate the victims. So it is necessary that a policyholder can obtain insurance coverage for punitive damages.

無細胞腫瘍組織マイクロモデルを用いるナノ薬剤の特性解析

Characterization of nanomedicines on cell-free microfluidic tumor models

研究代表者　佐々木　直樹（理工学部応用化学科）

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
キーワード／①ナノ薬剤　Nanomedicine
②薬剤送達　Drug delivery
③腫瘍　Tumor
④血管　Blood vessel
⑤間質　Interstitium
平成 30 年度交付額／1,499,000 円

研究発表／学会および口頭発表

・ Yuki Ichikawa, Tomomi Hayashi, Naoki Sasaki, "Photolithography-free tumor-on-a-chip to study nanoparticle extravasation", The 22nd International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (μTAS 2018), Kaohsiung, Taiwan, 2018.11.

研究経過および成果の概要

１．研究方法

近年、抗腫瘍剤や造影剤などの薬物をナノ粒子に担持した「ナノ薬剤」に関する研究が盛んに取り組まれている。腫瘍組織の血管では、正常組織の血管と異なり、血管壁にマイクロ～ナノメートルスケールの孔が存在することが知られている。従って、ナノ薬剤（一般的には直径 100 nm 前後）を血中に投与すると、正常組織では血管内に留まるが、腫瘍組織では血管外への漏出が起こる。この特性を利用することで、腫瘍への選択的な薬物送達が可能となり、副作用の低減と効果的な診断・治療が期待できる。

ナノ薬剤の開発研究においては、動物実験に代わる新たな評価系の開発が急務である。なぜなら、動物実験は薬剤評価の金科玉条であるものの、多くの時間を要し、倫理的問題も存在するためである。このため、試験時間が短く倫理的問題を有さない新たな *in vitro* 評価系が求められている。マイクロメートルスケールの流路内に血管内皮細胞を培養して血管に見立て、これをナノ薬剤の評価場として用いる研究は、動物実験の部分的代替法となる可能性があり、動物実験に比べ短い時間で、かつ倫理的問題なく実験できる。しかし、ナノ薬剤が透過する血管壁の孔はサイズや形状が不均一で

あり、これらの特性がナノ薬剤の血管壁透過性に及ぼす影響を定量的に明らかにすることは困難である。さらに、血管の周囲に存在する間質組織も空間的に不均一であるため、この影響の評価も必要である。

以上を踏まえ、本研究では細胞を用いずに腫瘍組織のモデルを構築し、これをナノ薬剤の特性評価に応用することを目的とした。細胞を用いる従来の研究と比べ、様々な条件で精密定量評価ができ、かつ実際の腫瘍の多様性に対応した評価が可能となり、最終的にはナノ薬剤開発の新たな方法論につながると考えた。

２．研究経過および成果の概要

本研究で得られた主な成果は下記の通りである。まず、腫瘍血管壁に相当する多孔膜を組み込んだマイクロ流体デバイスを作製した。マイクロ流路やウェルのパターンを有する基板は研究代表者の既報（分析化学、67、379 (2018)）に従って作製した。多孔膜は市販のセルカルチャーインサートから切り出し、これを上記の基板間に挟み込んでデバイスとした。また、流路を区切るように多孔膜を組み込み、試料の膜透過を容易に顕微観察できるようにしたデバイスも併せて作製した。いずれのデバイスも溶液漏れ等はなく、高い歩留まりでデバイスを作製できることが示された。

次に、腫瘍組織に存在する間質を模した材料の組み込みに取り組んだ。従来の研究ではコラーゲンが主に用いられてきたが、腫瘍組織においてナノ薬剤の血管外漏出が起こるのは新生血管であると考えられるため、生体内でその周囲に存在するフィブリンに本研究では着目した。フィブリノーゲンおよびトロンビンを含む溶液を流路内に導入し、生理的温度でインキュベートしてゲル化させることで組み込みに成功した。

最後に、本研究で構築した無細胞腫瘍組織マイクロモデルを用いてナノ粒子の血管外漏出性を評価した。はじめに、水溶性高分子である蛍光標識デキストランの水溶液を、シリンジポンプを用いて流路に一定流量で送液し、多孔膜を透過してゲル中に拡散する様子を顕微鏡下で経時蛍光観察した。蛍光輝度の経時変化から、試料の物質移動のしやすさを表す透過係数を求め、評価指標に用いた。分子量の異なるデキストランを用いて実験したところ、得られた透過係数の値はほぼ同じであった。もしもデキストランの移動が拡散によって起こっているのであれば、分子量が大きいほど拡散が遅く、透過係数は小さくなるはずである。従ってこの結果は、流路内で圧力差が生じており、これによる対流によってデキストランが一定速度で透過していることを表している。次に市販の蛍光標識ポリスチレンナノ粒子を用いて同様に実験したところ、粒径が小さいほど透過係数が大きく、透過速度も大きいという結果が得られた。ナノ粒子がゲル中に拡散するためには、ゲルの網目構造を通り抜ける必要があるため、この網目が粒子の移動を阻害することで透過係数が変化している可能性が示唆された。

３．今後の研究における課題または問題点

今後の研究では、圧力差を精密制御した上で実験できるようにすることが課題であると考えている。本研究では当初、能動的に圧力を印加して試料の移動を評価する実験も行ったが、試料がゲル内を移動するのではなく、ゲルそのものが移動してしまうという現象がみられた。マイクロ流路のデザイン、さらには流路の表面状態などを工夫することで、生体内の圧力差に相当する範囲で自在に実験できるようにする必要があると考えられる。また、サイズ以外の粒子特性にも着目して検討を進め、研究の更なる発展を図っていく。

Summary

Cell-free microfluidic tumor models to characterize nanomedicines for tumor-selective drug delivery have been developed. Nanomedicines (drug-laden nanoparticles, ca. 100 nm in diameter) have been utilized to selectively deliver anticancer drugs and contrast agents to tumor tissues. The nanomedicines cannot extravasate in normal tissues, but can extravasate in tumor tissues having a number of leaky blood vessels. The extravasated nanomedicines permeate into interstitium located between the blood vessels and tumor cells. Therefore, extravasation and permeation of nanomedicines play a fundamental role for tumor-selective drug delivery. Various systems have been utilized for preclinical evaluation of nanomedicines. Animal testing is the gold standard for the evaluation. However, it suffers from several disadvantages including ethical issues, high experimental expense, and low success rate. Cell culture insert is a typical *in vitro* system to evaluate nanomedicines. Vascular endothelial cells are cultured on the membrane of the insert, and the permeation of nanomedicines through the monolayer of the endothelial cells is evaluated. However, the situation of the cells are different from that *in vivo* in terms of size and fluid flow. Recent microfluidic tumor models that consist of tumor cells and vascular cells cultured in the microfluidic channel are promising technologies for next-generation drug development. However, the non-uniformity of intercellular would limit the efficacy of the model for drug development. In this study, we fabricated a microfluidic device possessing a porous membrane (artificial vascular wall) according to our previous report (Bunseki kagaku, 67, 379 (2018)). We employed fibrin gel, which surrounds tumor blood vessel in vivo, as artificial interstitium. A solution of fibrinogen and thrombin was introduced into the microchannel, and the device was incubated to form fibrin gel. Fluorescent-labeled dextran was utilized as a model nanoparticle. A solution of the dextran was introduced into the microchannel by a syringe pump, and the device was observed under a fluorescent microscope. Permeation of the

dextran into the gel was observed. Permeability coefficient, an index of mass transfer rate of the dextran, was independent on the molecular weight of the dextran. This result indicates that the permeation of the dextran was occurred not by diffusion, but by convection. Next, fluorescent-labeled polystyrene nanoparticles were utilized. Larger permeability coefficient was obtained by using smaller nanoparticles. Therefore, the effect of pore size of fibrin gel on the permeation was suggested. The present system will accelerate the development of nanomedicines.

アンタゴニストによるイネ粒重制御機構の解除

Development of inhibitor for the grain size limiting protein

研究代表者　廣津　直樹（生命科学部生命科学科）

研究期間／平成 30 年 6 月 25 日～平成 31 年 3 月 15 日

キーワード／①イネ　Rice

②粒重　Grain size

③収量　Grain yield

④アンタゴニスト　Antagonist

⑤インドール酢酸　Indole acetic acid

平成 30 年度交付額／1,800,000 円

研究発表／学会および口頭発表

(1) 廣津直樹、石丸健、加藤悦子“イネの収量および玄米品質を向上させる TGW6 アンタゴニストの開発”(2019) アグリバイオ Vol. 3 (4) 79-83

(2) Noguchi M, Shimizu J, Sugisaki F, Ishimaru K, Hirotsu N. “Effect of loss of *TGW6* on starch translocation and grain filling” (IRRC-01134, 5th International Rice Congress, Singapore, 17th October 2018)

(3) Kawawa S, Ishimaru K, Hirotsu N. “The Effect of IAA Inhibitor on Starch Accumulation in Rice Leaves ” (IRRC-0110, 5th International Rice Congress, Singapore, 17th October 2018)

研究経過および成果の概要

１．研究方法

これまでに，粒重に関わる *TGW6* 遺伝子をクローニングしその機能を明らかにしてきた。この遺伝子は，インドール酢酸（IAA）－グルコースを加水分解する活性をもつ新規タンパク質をコードしていた。「日本晴」や「コシヒカリ」など日本で広く栽培されているイネでは，TGW6 タンパク質により IAA が生成され，胚乳細胞数や粒重が抑制されていた。つまり TGW6 タンパク質が粒重を抑制する方向に―すなわち“リミッター”として―働いている。一方，インドの在来品種「カサラス」では，1 塩基の欠損により TGW6 タンパク質は機能を失い，IAA を生成できず抑制は起こらない。そのため，胚乳細胞の数が増加することにより玄米の粒長が伸長し，粒重が増加した。

カサラス型の機能喪失型 *TGW6* に置き換えたコシヒカリでは，葉鞘部のデンプン蓄積が増加することも明らかになっている。また，TGW6 の機能喪失により出穂期に蓄積したデンプンは，収穫期までに稈を経由して穂まで転流され，ソース能の向上により出穂後の日平均気温の上昇による未熟粒の発生を抑えることを示唆する結果を得て

いる。このように機能喪失型 TGW6 では，TGW6 タンパク質というリミッターが解除されることで粒重が増加し，最終的には収量と玄米品質が向上すると言える。

TGW6 によるイネの粒重制御メカニズムを応用し，従来の品種に機能喪失型 TGW6 を育種により導入することで，収量が増加した新品種を作出することも可能である。実際，機能喪失型 TGW6 置換コシヒカリは，いくつかの県農試で育種母本として新品種の育成に利用されている。また，ゲノム編集技術により TGW6 遺伝子を人為的に欠損させる研究も進められており，農研機構では第一種野外栽培試験が行われている。このように，TGW6 の研究は，育種による応用局面へと遷移してきている。しかしながら，これら育種による応用は，新品種を１つ１つ創り出すことが必要であり，それぞれ数年の時間と膨大な作業を必要とする。

２．研究経過および成果の概要

TGW6 の機能喪失により収量を増加させることができることから，タンパク質の特異的阻害によっても収量を増加させることが可能であると考えられる。そこで TGW6 の基質結合部位に結合し TGW6 タンパク質の機能を阻害するアンタゴニストを開発し，イネの粒重を化学的に制御するための研究をおこなった。これは，薬剤散布という汎用的な手法で TGW6 のリミッターを解除することが可能となり，国内外のほぼすべての品種の収量や玄米品質を向上させることが期待できる。TGW6 のモデリング構造を用いて候補化合物（IAA－グルコースと類似した構造でエステル結合を持たない化合物）とのドッキングシミュレーションを行った結果， TGW6 の基質ポケットと親和性を持つ候補化合物を選定することができた。さらにより精度の良いドッキングを行うためには X 線結晶構造解析が必要である。そのために，大腸菌発現系で発現させたリコンビナント TGW6 の獲得を試みた。リコンビナント TGW6 の精製には成功したが，濃度が不十分であったため，さらなるコンストラクトが必要である。TGW6 は，モデリング構造から基質ポケットが明瞭であり，その阻害により収量や品質の向上が期待されるため，TGW6 アンタゴニストが収量向上薬剤として応用できる可能性が高いと確信している。

３．今後の研究における課題または問題点

遺伝学的手法では，機能未知の遺伝子に辿り着くことがある。これまでにイネの粒形に関わる数多くの遺伝子が単離されてきたが，それらのほとんどは断片的な分子機能しか明らかになっていない。一方，上述した TGW6 の分子機能は，タンパク質のモデリング構造から基質を同定し明らかにしてきたものである。これまでの植物科学研究において，モデリング構造から酵素の機能を明らかにした成功例はなく，これはタンパク質科学と植物科学の連携の有効性を示すものである。

これまでに植物ホルモン受容体のアゴニスト・アンタゴニストは開発されてきており，ホルモン応答を調べるための研究開発ツールとして広く用いられている。特に，アブシシン酸やジャスモン酸受容体のアンタゴニストは，ストレス耐性を向上させる

ことが報告されている。これまでに，イネへの IAA アンタゴニストの処理で，機能喪失型 TGW6 の表現型を部分的に再現できることを確認している。しかしながら，これら植物ホルモンのアンタゴニストは，特定の植物ホルモンの受容をすべて阻害するものであり，植物ホルモンの作用スペクトラムの広さを考えると，作用阻害の特異性が低く，他の形質にも影響を及ぼす可能性が考えられる。そのため，IAA の他の作用を阻害することなくイネの収量を改善するためには，ピンポイントな化学的制御を可能にする TGW6 アンタゴニストのデザインが必要である。

Summary

Thousand grain weight 6 (*TGW6*) gene encoding indole acetic acid(IAA)-glucose hydrolase was isolated from indica type rice cultivar Kasalath. Nipponbare type *TGW6* supplies indole acetic acid (IAA) by hydrolysis of indole acetic acid-glucose, and suppresses grain size and grain weight of rice. On the other hand, Kasarath type *TGW6* increases grain size and grain weight due to fewer supply of free IAA. It has been shown that loss of function of *TGW6* increases grain yield by increasing grain length and grain weight (Ishimaru et al .2013). In addition, loss of function of *TGW6* also increased starch accumulation (source capacity) before heading. It has also been confirmed that starch accumulates in leaf sheaths of lower leaves by loss of *TGW6*, resulting an increase of grain yield. Actually, near isogenic line with loss of function TGW6 [NIL(*TGW6*)] showed higher grain yield compared with control Koshihikari. NIL(*TGW6*) accumulated starch at the lower leaf sheath and this accumulation caused by lower degradation of accumulated starch. Then, this accumulated starch by the loss of function *TGW6* by the heading stage was translated to panicle via culm by the Maturity stage. These results suggested that the loss of TGW6 increases starch accumulation and grain yield. Also, these results imply that that the inhibition of TGW6 protein might cause similar effect on grain yield. Actually, by IAA inhibitor treatment, Koshihikari significantly increased starch contents in lower leaf sheath, and IAA treated NIL(*TGW6*) significantly decreased starch contents in lower leaf sheath. These results suggest that the IAA inhibition partly mimic the loss of *TGW6*. We obtained recombinant TGW6 protein and are going to reveal its protein structure by X-ray. Simultaneously, we found some high affinity compounds with the substrate pocket of TGW6 by computer simulation using modeled TGW6 structure. Further research on this TGW6 protein structure are required to design an antagonist which specifically inhibit TGW6 functions. These research will be able to provide chemicals which can increase grain yield, and to show a novel approach to replace genetics with chemicals.

Mrp 型 Na^+/H^+アンチポーターの Na^+輸送阻害剤の探索と その作用機序の解明

Search for Na^+ transport inhibitors of Mrp-type Na^+/H^+ antiporter and elucidation of their functional mechanisms

研究代表者　伊藤　政博（生命科学部生命科学科）

研究期間／平成 30 年 6 月 25 日～平成 31 年 3 月 15 日
キーワード／①Mrp アンチポーター　Mrp antiporter
②Na^+/H^+アンチポーター　Na^+/H^+ antiporter
③黄色ブドウ球菌　*Staphylococcus aureus*
④阻害剤　Inhibitor
⑤細菌感染症　Bacterial infections
平成 30 年度交付額／1,361,000 円

研究発表／学会および口頭発表

・The elucidation of ion selectivity mechanisms and ion transport pathway of Mrp-type Na^+/H^+ antiporter from alkaliphilic *Bacillus*. Extremophiles2018, Ischia, Italy, 平成 30 年 9 月

・Mrp アンチポーターにおける共役カチオンのイオン選択性を担うアミノ酸残基の特定第 19 回極限環境生物学会年会、くにびきメッセ、松江市、平成 30 年 12 月

研究経過および成果の概要

１．研究方法

Mrp 型 Na^+/H^+ アンチポーターは、多くの細菌や古細菌に普遍的に存在する。また、細菌感染症を引き起こす黄色ブドウ球菌や緑膿菌では、*mrp* 欠損株がマウスへの感染率と病原性の低下を引き起こすことが報告されている。今回、創薬研究にも直結する黄色ブドウ球菌由来の Mrp を用いて、この Na^+輸送経路に特異的な阻害剤を探索するため、東京大学・創薬機構から提供された化合物ライブラリーを活用して特異的な阻害剤の探索及びその作用機序の解明を本研究の目的とした。

２．研究経過および成果の概要

黄色ブドウ球菌由来の *mrp* 遺伝子を大腸菌の多コピーベクターにクローニングし、そのプラスミドを主要な Na^+/H^+アンチポーターを欠損させた大腸菌 KNabc

株に形質転換した。KNabc 株は、pH 7.5、0.1 M NaCl 存在下で生育できない。それに対して、黄色ブドウ球菌由来の Mrp が発現した KNabc 株と大腸菌野生株は、0.6 M NaCl 存在下で生育が可能である。この Na^+耐性の差を利用する阻害剤探索のスクリーニング系で実験を行い、KNabc 株に黄色ブドウ球菌由来の *mrp* 遺伝子を発現させた株(KNabc/mrp 株)を用いてスクリーニングに最適な培地の pH と NaCl 濃度を検討した。東京大学・創薬機構から分譲された構築アッセイ系の確認に用いられる約 1500 サンプルの化合物ライブラリーに対してスクリーニング系の評価を行った。現在までに、この系を用いて 96 穴マイクロプレートを用いたハイスループットスクリーニングが可能であるという予備結果を得た。

３．今後の研究における課題または問題点

ハイスループットスクリーニングでのヒット化合物には、二次スクリーニングとしてアンチポート活性によるヒット化合物の阻害効果や Mrp 複合体の安定性など様々な角度から評価を行い、最終的な有用な阻害剤を発見し、その作用機序を明らかにするために、より効率的な実験系の構築が必要不可欠であると考えている。

Summary

Mrp antiporters are a type of cation H^+ antiporters distributed in various bacteria and archaea that contribute to salt tolerance and pH homeostasis. Moreover, *mrp* deleted *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* exhibit decreased infectivity against mice. Thus, Mrp has attracted attention as a target protein for the prevention and treatment of multidrug-resistant bacteria. There are three kinds of Mrp antiporters: Na^+/H^+, K^+/H^+ and Ca^{2+}/H^+ types. Mrp from *Bacillus pseudofirmus* OF4 is encoded by one operon (*mrpABCDEFG*) consisting of seven ORFs that form a complex necessary for activity. MrpA and MrpD are homologs to membrane embedded NuoL/M/N of the respiratory complex I in *Escherichia coli*. Thus, MrpA and MrpD are predicted to be involved in the ion transport pathway in the antiporter. Two models have been proposed as ion transport mechanisms. First, MrpA transports the coupling cation and MrpD transports H^+. The second model predicts that both MrpA and MrpD transport H^+ and the interface between both subunits is responsible for the transport of the coupling cation. Here we focus on MrpA and MrpD to verify which model is correct.

In order to search for specific inhibitors to this Na^+ transport pathway using the Mrp antiporter from *S. aureus*, which is also directly linked to drug discovery research, I used a library of small chemical compounds provided by the University of Tokyo Drug Discovery Organization. The purpose of this study is to search for specific inhibitors against Mrp antiporter from *S. aureus* and elucidate their mechanism of action.

The *mrp* gene cluster from *S. aureus* (Sa-mrp) was cloned into an *E. coli* multi-copy vector and the plasmid was transformed into *E. coli* KNabc deleted of the major Na^+/H^+ antiporter. The strain KNabc cannot grow at pH 7.5 in the presence of 0.1 M NaCl. On the other hand, strain KNabc expressing Mrp complex from *S. aureus* and *E. coli* wild

type can be grown in the presence of 0.6 M NaCl. The experiment was conducted in a screening system for the inhibitor search utilizing this difference in Na^+ resistance. Using strain KNabc/Sa-mrp, the optimum medium pH and the optimum NaCl concentration for screening were examined. The screening system was evaluated on a library of 1,500 samples used for confirmation of a constructed assay system distributed by the University of Tokyo, Drug Discovery Organization. To date, preliminary results have been obtained that high throughput screening with 96-well microplates is possible using this system.

ICTによる平時・発災・復興のシームレスな包括的災害支援の情報連携に関する研究

Research related to the information alignment for the comprehensive disaster support that seamlessly supports from usual condition, disaster occurrence to the resurrection.

研究代表者　八木 裕子（ライフデザイン学部生活支援学科）

研究期間／平成30年4月1日～平成31年3月31日
キーワード／①災害派遣福祉チーム　Disaster Care Assistance Team
②災害時の介護福祉士の役割　Role of Certified Care Worker at the Time of Disaster
平成30年度交付額／866,000円

研究発表／学会および口頭発表

⑴学会発表（口頭発表）

・「熊本地震におけるDCAT（災害派遣福祉チーム）活動の検証（第3報）」、日本介護福祉学会　第26回日本介護福祉学会大会 、2018 年 9 月 2 日、桃山学院大学

・「DCAT（災害派遣福祉チーム）における介護福祉士の支援活動の可能性－熊本 DCAT の実践を通して－」、第 16 回日本介護学会、2018 年 11 月 3 日、熊本市民会館

⑵論文発表

「熊本地震における DCAT（災害派遣福祉チーム）に関する研究（第 2 報）」、第 14 号ライフデザイン学研究、2019 年 3 月

⑶報告書作成

「福祉専門職による包括的災害時支援のために～「災害時の介護福祉士の役割」を中心とした教育マニュアルの提案～」、2019 年 3 月

研究経過および成果の概要

１．研究方法

⑴国内・国外の災害に関する文献研究および理論的整理

⑵社会や生活、あるいは人間という構成要素に関する他の学問学術領域の理論研究

⑶災害福祉・災害介護の歴史的形成過程の整理

⑷被災者（特に要配慮者）の個別性を尊重した生活を支援するために、平時から災害時、そしてまた平時と３つのフェーズに共通して必要とされる福祉、介護等の

情報項目を 2016 年の熊本地震に災害派遣福祉チーム（DCAT）として活動を行ったチーム員に対しての聞き取り調査

２．研究経過および成果の概要

包括的災害支援の情報連携のための第一段階として、これまでの国内外の災害に関する文献研究とその理論的整理を行った。また災害後、被災者の生活を支援するために、特に介護福祉士の災害時の役割について、熊本地震で活躍した災害派遣福祉チーム（DCAT）の元チーム員へのインタビューと、引き続き仮設住宅に移った被災者へ支援を続けている元チーム員の方たちへのインタビューを行うことができた。録音されたインタビュー内容の逐語録を作成し、質的記述的分析を行なった。成果としては、サブカテゴリー数は 10、カテゴリー数は 3 であった。カテゴリーとしては【避難所の支援は DCAT の役割】【災害時における福祉専門職の必要性】【被災者からの脱却に向けた支援技術】の３点を抽出することができた。本研究の結果から、福祉避難所だけでなく、一般避難所での支援に関しても、福祉専門職が必要であるため,多職種で構成される DCAT の活躍が期待されていることが明らかになった。またそこで必要とされる被災者脱却に向けた支援技術は、暮らしを継続させていく生活支援技術や共同性におけるエンパワメントアプローチ,チームマネジメント、そしてソーシャルワーク機能であり、それらを駆使しながら、１日でも早く元の生活に戻れるよう福祉専門職の被災者への伴走の重要性が挙げられた。

これまでは､災害の発災時には DMAT 等の医療職が中心の災害時ケアであったが、災害は一瞬にして人々の生活を破壊してしまう状況の中、１日でも早く被災者の生活を支えなおすには早期の福祉専門職の介入の必要性を示唆するものであった。

今回はここまでの研究結果を「福祉専門職による包括的災害時支援のために～「災害時の介護福祉士の役割」を中心とした教育マニュアルの提案～」を作成し、災害時での介護福祉士の養成の参考にと、介護福祉士養成施設へ送付し、本助成金を活用させていただいた。

３．今後の研究における課題または問題点

今回の研究成果では、平時から発災、そして復興のフェーズによって分断されがちである、被災者の生活への再建には福祉専門職の必要性が示唆されたが、今後はシームレスな包括的災害支援活動の実現へむけて、主に医療、保健、福祉の専門職間の情報の共有に注目したい。すなわち、平時から活用され、発災から復興までを支える包括的災害支援活動時に必要な情報項目の抽出を行い、ICT 化し、具体的な実証、運用ワークフローの開発、さらには普及へ向けた教育プログラムの開発を行っていきたいと考えている。

Summary

At the time of Kumamoto Earthquake occurred on April 14 in 2016, Disaster Care Assistance Team (DCAT) was dispatched, which was established for the first time by prefectures as a welfare support system. Due to continuing effects of disaster even after life was saved from the direct damage, it becomes important to prevent secondary disaster in which life is saved from indirect damage caused by the disaster, in other words, to prevent disaster-related death and to rebuild social life as well. With a common belief formed in response to revision of Disaster Countermeasure Basic Act in 2014 hat establishment of prefecture level DCAT is an urgent need, activities of DCAT in Kumamoto and Iwate have drawn attention. However, there are only a few studies that have closely investigated contents of such activities and problems.

Therefore, in the current study, we have verified whether welfare support activities of DCAT were effectively performed at the practice sites as the subject of the study by welfare professionals who were active in DCAT in a retrospective manner and collected contents of activities developed there as well as technology and knowledge which were thought to be necessary. In addition, upon analyzing and sorting out challenges and problems, it has been reviewed how certified care workers should act in the welfare support activities of DCAT in the future. As the result, it suggested necessity of early intervention by welfare professionals including certified care worker in order to support living of affected people as soon as possible amid such situation that destroys people's life is instantly destroyed by disaster even though care at the time of disaster had been led by medical care professionals including DMAT because range of professional as certified care worker to act is wide including not only welfare shelter but also general evacuation centers at the time of disaster and DCAT activities. We would like to focus on sharing of information between professionals of mainly medical, healthcare and welfare aiming at realizing seamless comprehensive disaster support activities in the future. In other words, extracting information items required at the time of comprehensive disaster support activity which supports from the time of disaster occurrence to reconstruction while being used even in ordinary times, we intend to turn them into ICT and conduct specific demonstration as well as development of operating workflow and education program to make them spread.

介護福祉士の実践経験からの学びのプロセスと

キャリア・コミットメントに関する研究

Process and career commitment of learning from practical experience of care workers

研究代表者　田口 潤（ライフデザイン学部生活支援学科）

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
キーワード／①介護福祉士　care worker
②経験からの学び　practical experience
③キャリア・コミットメント　career commitment
④複線経路・等至モデル（TEM）Trajectory Equifinality Model (TEM)

平成 30 年度交付額／529,000 円

研究発表／学会および口頭発表

・「介護福祉士の実践経験からの学びのプロセスとキャリア・コミットメントに関する研究　―経験年数 10 年以上の介護福祉士のインタビュー調査から―」日本社会福祉学会　関東部会大会（駒澤大学　駒澤キャンパス）2019 年 3 月 10 日（口頭発表）

・介護福祉士の実践経験のプロセスとキャリア・コミットメントに関する研究 - 養成施設卒業後 10 年以上の経験を有する介護福祉士の語りから - 」第 61 回日本老年社会科学会（東北福祉大学　仙台駅東口キャンパス）2019 年 6 月 7 日～9 日予定（ポスター発表：ポスター発表のみのため)

・その他、介護福祉学会、社会環境学会などに 2019 年投稿予定

研究経過および成果の概要

１．研究方法

本研究の目的は、介護福祉士が実践経験から自らの仕事への認識と行動プロセスを定性調査によって明らかにすることである。研究方法は、介護福祉士の資格を取得し、10 年以上の経験を有する介護職員を対象にインタビュー調査を行った。調査の内容は、キャリア・コミットメント 10 項目に対して、5 件法で回答したものをもとにキャリア・コミットメント得点を算出した。また、インタビュー調査として、人生曲線を描いてもらい、その曲線にそってその際の経験に関して具体的な事例を聞き取った。インタビュー内容は IC レコーダーとメモで記録し、逐語録に起こした。その後、1 年～経験した年数を 1 年から 5 年を初期キャリアの経験、6 年から 8 年を中期キャリアの経験、9 年から 10 年を後期キャリアの経験、それ

以上についてはその後の経験として区切り事象を時間軸で整理した。

本研究の分析方法としては、複線経路・等至モデル（TEM）（安田,サトウ 2012）を採用している。その理由としては、介護福祉士が介護福祉現場で働く時間の中で、様々な経験を通した意識の変容とそのプロセスを可視化するのに効果的な分析方法であると考えた。

２．研究経過および成果の概要

インタビューの分析は現在進行中であるが、現在までのところ、必須通過点（多くの人に共通して生じる経験や状態）としては、「介護福祉士として介護福祉現場で働く」となった。また、初期のキャリア、中期のキャリア、後期のキャリア、それ以降のキャリアで、分岐点（等至点に対する経路の分かれ道が発生するところ）は５つの事象に分類された。「仕事の流れを習得する」「業務を一人でできるようになる」「利用者にあったケアを実践することができる」「役職がつくことによって、利用者のケアと同時に管理的な仕事をしていく」「人手不足になることによって１人で担う仕事量が増える」であった。さらに、等至点としては、「介護福祉現場で働き続ける」両極化した等至点としては「介護福祉現場で働き続けない」となった。その上で、社会的方向付け（等至点に至るありようを阻害する力として描き出される概念）としては、「資格取得方法が多様なため他の職員に理解してもらえない」「適材適所ではない人材配置」であった。社会的助勢（等至点へ向かるありようを促進したり助けたりする力を意味する概念）については、「上司・先輩のフォロー」「利用者や家族に仕事に対して評価される」「同僚・他職種からの理解」であった。

３．今後の研究における課題または問題点

今回のインタビュー調査者は 5 名であり、本来計画していた 9～11 名には、届かなかった。そのため、介護福祉士の資格の取得方法は多様性を明らかにする必要がある。また、介護福祉士が実践経験から自らの仕事への認識と行動プロセスは類型化を示す必要がある。そのため、資格取得方法が異なっている介護職員やキャリア・コミットメントが全国平均と比較すると高くない介護職員もインタビュー対象者として今後も募りデータの精緻化をしていく必要である。

文献：安田裕子、サトウタツヤ（2012）「TEM でわかる人生の経路―質的研究の新展開」誠信書房

Summary

The purpose of this study is to clarify the cognitive and behavioral

processes from practical experience to care workers by qualitative research. The research method acquired the qualification of a care worker and conducted an interview survey for a care worker who has more than 10 years of experience. Then, as an interview survey, I was asked to draw a life line curve and listen to specific cases regarding the experience at that time. The interview contents were recorded with an IC recorder and a memo, and it was raised in the verbatim record. Then, from 1 year to the number of years experienced from 1 year to 5 years as initial career experience, from 6 to 8 years as mid-term career experience, from 9 years to 10 years as late career experience, and as for later experience the demarcation events were arranged on the time axis. As an analysis method of this research, Trajectory Equifinality Model TEM (Yasuda, Sato 2012) is adopted.

Although the analysis of the interview is currently underway, so far, as an Obligatory passage Point (experiences and conditions that occur in common with many people), it has become "work at a care welfare site as a care worker".In addition, in the early career, the middle career, the late career, and later careers, the Bifurcation Point (where the route for the equal solstice point occurs) was classified into five events. "Can learn the flow of work" "I will be able to work alone" "I can practice the care appropriate to the user" "With the job title, at the same time as the care of the user and administrative work "I will increase the amount of work carried by one person by becoming a labor shortage," Furthermore, as the Equifinality Point, it has become " I`m to continue working in the care welfare field" and the Polarized Equifinality Point "I`m not to continue working in the care welfare spot" In addition, as Social Direction (concept drawn as an impediment to reaching the equal solstice point), "If the qualification acquisition method is diverse, it will not be understood by other staff members." There was no staffing. For Social Guidance (concepts that mean the ability to promote or help go to a solstice point), follow "superior / senior follow-ups" "Estimated for work by users and families" " Understanding from colleagues and other types of work.

There were 5 interviewers this time, and it did not reach 9 to 11 people originally planned. Therefore, it is necessary to clarify the method of acquiring the qualification of the care worker. In addition, the care worker needs to show the typology from the practice experience to their job recognition and action process.

公共交通機関とパーソナルモビリティビークルによる

次世代移動支援に関する研究

Next Generation Mobility Assistance by Personal Mobility Vehicle
Cooperate with Public Transportation

研究代表者　高橋　良至（ライフデザイン学部人間環境デザイン学科）

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
キーワード／①パーソナルモビリティビークル　Personal Mobility Vehicle
②高齢者　Older People
③公共交通機関　Public Transportation
④移動支援　Mobility Assistance
平成 30 年度交付額／939,000 円

研究発表／学会および口頭発表

・計測制御自動学会　システムインテグレーション部門講演会
2019 年 12 月予定
・日本機械学会　交通・物流部門大会（TRANSLOG2019）
2019 年 12 月予定

研究経過および成果の概要

１．研究方法

本研究は，路面を蹴り出して走行するアシスト機能付きパーソナルモビリティビークル（以下，PMV）の開発と，これを公共交通機関と組み合わせた移動の有効性について調査を行うことを目的とし， PMV を公共交通機関に持ち込み移動するユニバーサルな移動のデザインについて提案する．本研究助成においては，評価実験を行うために必要な，実際に走行可能な PMV の試作機の開発を主として行うものとする．路面を蹴り出して走行することで介護予防に貢献する新しい移動機器，アシスト機能付き PMV の開発を行うが，これまでにハンドル型電動車いすを用いた公共交通機関との連携に関する予備実験を行い，小型軽量で小さい半径で旋回可能であることが PMV に求められる要件として確認されている．そこで，旋回半径を車いすと同程度の 400mm を目標とし，折りたたみが可能な PMV の開発を行う．また，試験中の走行データを自動的に記録する機能を設ける．開発は

研究代表者が基本設計を行い，詳細設計は機械加工組立を行う企業と調整を行いながら実施し，製作を企業に業務委託する．電気電子回路やソフトウェアの設計製作は，基本的には研究代表者が実施する．

２．研究経過および成果の概要

開発した PMV は，自立することができ安定性を持たせるようにするため，前輪２輪，後輪１輪の３輪とし，JR の改札を通過することができるようにトレッドは 600[mm]とした．今回はホイールベースも同様に 600[mm]に設定した．小旋回半径を実現するため，操舵方式は後輪操舵とした．前輪操舵は，後輪操舵よりも旋回中心が車体から離れた場所にあるため，旋回半径が異なる．また，前輪は２輪となっているため，ハンドル操作角に応じて両輪の操舵角を連動させるための機構を設ける必要があり，構成部品が増え（リンケージ，キングピン，ナックルアームなど)，機構が複雑になり重量増につながると考えた．

車体はレール状のアルミフレームを組み合わせて製作し，これに車輪を取り付けることで車輪の取り付け位置をレール上で自由に変更可能なものとした．車体中央付近には座面高さを変更可能な座席を設け，座りながら路面を蹴り出すことができるものとした．前輪小径自転車用ノーパンクタイヤを使用し，後輪は外径 250W のインホイールモータ（ノーパンクタイヤ）を装備した．車輪は段差乗り越しを考慮して８インチタイヤを使用した．後輪操舵を行う場合はハンドル角と後輪舵角の位相が逆になるため，歯車機構を中間に設けた．回転比が変更可能となるように歯数の異なる歯車を用意した．

３．今後の研究における課題または問題点

図面や CG 上での検討はこれまで行ってきたが，実際に試作を行うことで分かる問題点をいくつか確認することができた．試作した PMV を走行させたところ，路面を蹴って走行する際にフレームに足が接触しやすい構造であることが確認された．車輪のトレッドが変更できるようなレール状のアルミフレームで構成可能なレイアウトとしたため，左右の前輪をつなぐフレームの位置が高くなったことが原因であり，今後修正を行う．また，座席位置と高さの調整が不十分であり，身長が低い人には運転が難しいことが分かった．今後座席の前後位置，高さの調整が十分にできるように再設計する必要がある．既存の後輪操舵車両にあっても運転操作には“慣れ”が必要であるという問題があり，後輪操舵特有のハンドル角と操舵角の関係を把握しにくいことは認識していた．本試作においてこの問題は存在し，解消できていない．ハンドル操作角と後輪操舵角の関係を動的に制御する必要があると考え，例えばステアバイワイヤにより舵角を制御する方式などについて今後検討する予定である．

走行データを記録するために加速度，角速度，磁気方位センサが一体となった慣性計測装置を設置し，マイクロコントローラと PC でログを取る機能を設けた．100Hz 程度でデータを記録することができることを確認した．マイクロコントローラには無線（WiFi）機能が搭載されていることから，将来的には無線化することで， IoT としての PMV を実現する．

Summary

We propose the personal mobility vehicle (PMV) for older people that travels by kicking the surface, and assist the wheel rotation by installed electric motor. This PMV is intended to use to combine with public transportation. It is designed for universal movement to bring in public transportation and extend moving area. In this research, we will develop the prototype of the PMV that can actually travel, which is for conducting evaluation experiments in the future.

The developed PMV has three treads, two for the front wheels and one for the rear wheels so that it can stand by itself and have stability. Tread of the front wheels is set to 600 [mm] that it can pass through the ticket gate at the station. Wheel base was also set to 600[mm]. In order to realize a small turning radius, the rear wheel steering is adopted.

The body of PMV was structured by aluminum rail frames, and attaching the wheels to this, it was possible to freely change the mounting position of the wheels. A seat capable of changing the height was provided near the center of the vehicle body, and it was possible to kick the road surface while sitting.

It has been recognized that difficulty of handling by rear wheel steered vehicles, This problem exists in this our prototype also. We think that it is necessary to dynamic wheel steering angle control by using steer-by-wire.

In order to record travel data, an inertial measurement device integrated with an acceleration sensor, angular velocity sensor, and magnetic compass was installed, and a function to log by a microcontroller and a PC was provided. It was confirmed that data could be recorded at almost 100 Hz. Since the microcontroller is equipped with a wireless communication function (WiFi), in the future we will implement PMV as IoT device.

二次感染を考慮した数理モデルによる牡蠣を介する

ノロウイルスの感染リスク評価

A survey on real samples regarding health risk assessment of norovirus-associated infectious disease caused by oysters

研究代表者　浦 剣（情報連携学部情報連携学科）

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
キーワード／①牡蠣　Oyster
②ノロウイルス　Norovirus
③水　Water
④リアルタイム定量的 RT-PCR 法　Real-time RT-qPCR
⑤中腸腺　Digestive tissue
平成 30 年度交付額／1,800,000 円

研究発表／学会および口頭発表

・E. Ito, H. Ito, J. Pu, T. Watanabe,（共著）Seasonal variation of rotavirus concentration in cultured oysters in Japan. IWA World Water Congress & Exhibition, Tokyo, Japan, September 16th, 2018

・J. Pu, S. Kakuda, T. Watanabe, K. Fukushi.（共著）Microbial risk assessment of infections from multiple water intakes, 第 5 回環境水質工学シンポジウム, 2018 年 6 月 23 日「招待有り」

・J. Pu, T. Watanabe.（共著）Introduction of Norovirus Genogroup II in Japanese Oysters. Invited speech at School of Environment, Beijing Normal University, 2018 年 11 月 16 日「招待有り」

研究経過および成果の概要

１．研究背景

ノロウイルスは、世界中の急性胃腸炎を引き起こす主な原因病原体の 1 つであり、日本における 2015 年の食中毒症例数は 21,318 件の内 69.3%はノロウイルスが原因であり、ノロウイルスの流行は、ニュースで話題にあがる食品の健康・衛生・安全安心に対する関心事である。ノロウイルスに汚染された生牡蠣を食すことは、感染の原因であり、流行の発端として考えられる。生牡蠣による感染リス

クを的確に評価し、そのリスクを低減できる適切な対策を取ることができれば、大切な食文化が保全できると考えられる。

本研究では、予算を考慮し、上記研究課題の事前準備として研究を進めた。牡蠣を介するノロウイルスの感染リスクを評価するため、カキの食用をはじめ、飲用水と環境水等の異なる感染経路によるリスクを定量的に比較する必要がある。具体的には、水と牡蠣中のノロウイルス濃度を測定し、それぞれの陽性率を求める必要があるが、様々な水試料と牡蠣試料中のノロウイルスの濃度が低い場合が多く、水と牡蠣中のノロウイルスに対する定量方法の検証を行った。

２．研究方法および成果の概要

本研究では、実際に採取した牡蠣試料、及び地域の異なる飲料水、河川水、湖水、下水の試料を用いてノロウイルスの定量を行った。牡蠣サンプルは、摘出した中腸線に対して細胞破砕を行い、RNase で前処理した。また、前処理による回収率を測定するため、マウスノロウイルスを添加してインキュベートした後、遠心分離を行い、その上清をウイルス抽出液として回収し、リアルタイム定量的 RT-PCR 法に供した。また、プロテナーゼ K、アミラーゼ、リパーゼの 3 種の酵素と低い pH のバッファーを用いることで、牡蠣中の低濃度で存在するウイルスの検出に成功した。水サンプルは、検体中のノロウイルス濃度を濃縮するために、セルローズニトレート滅菌 F ユニットという濾過ユニットで水を濾過し、酸洗浄を行い、NaOH でウイルスを誘出した。ノロウイルスの濃度測定について、10 倍の幅でサンプル RNA を階級分けし、その階級ごとにリアルタイム定量的 RT-PCR 法を適用しノロウイルス GI と GII を測定した。

結果として、リアルタイム定量的 RT-PCR 法で飲用水や海水や牡蠣などからウイルスの検出ができたことが明らかになった。また、セルローズニトレート滅菌 F ユニットを用いた水サンプルの濾過は、ウイルス濃縮の効果があることが明らかとなった。TaqMan RT-PCR 法による判定の結果（表 1 ・図 1）、74 試料中 57 試料についてノロウイルスが陽性と判定された（GII 型：飲用水 10%、河川水 0%、下水 25%、牡蠣 91% ; GI 型：河川水 0%）。冬場（2017 年 1 月～2 月）の牡蠣においては、最高値で中腸腺 1g 当たり GII が 3.3×10^3 コピーあった。

表 1 水と牡蠣中のノロウイルス（一部の結果概要）

Sample	ノロウイルス濃度（copies/l水 or copies/g牡蠣中腸線）		
	NoV GII	NoV GI	HAV
カンボジア飲用水(n=10)	未検出～1.1E+02	未検出	未検出
カンボジア湖水(n=5)	未検出	未検出	/
ラオス河川水(n=7)	未検出	/	/
フィリピン河川水(n=11)	未検出	未検出	/
カンボジア下水(n=4)	1.8E+02～5.4E+02	4.5E+02～7.5E+03	/
ラオス下水(n=4)	未検出～4.4E+04	未検出	未検出
日本牡蠣(n=56)	未検出～3.3E+03	/	/

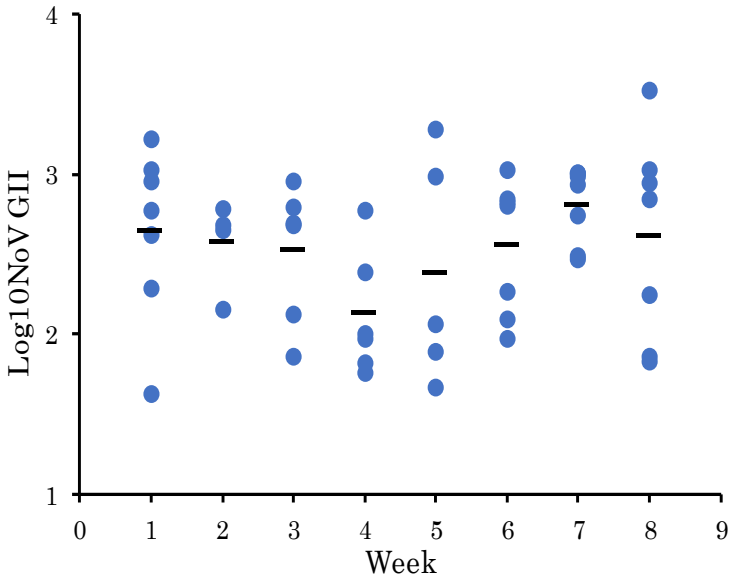


図１牡蠣から検出したノロウイルス

３．今後の研究における課題

本研究では、濃度測定値が定量下限などで打ち切りのあるデータがあった。今までは定量下限未満のデータについては、検出線の上限の 1/2 を代入して相関分析などを行ってきたが、各試料の定量下限によってリスク評価への影響が無視できないほど大きくなる場合がある。今後はそのようなデータに対しては、異なるシナリオを設定し、統計的な手法でそれぞれのインパクトを検証していく予定である。

Summary

Water and oysters were collected in Cambodia, Laos, Philippines, and Japan

(n=74). Virus particles were concentrated from sewage samples by polyethylene glycol precipitation. Digestive tissue (DT) of each individual oyster was excised and the virus was extracted. Approximately 1.5 mL viral supernatant was generated from each oyster. Viral RNA was extracted from sewage and oyster samples. Complementary DNA (cDNA) was generated via reverse transcription using the iScript Advanced cDNA Synthesis Kit (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) with a T100 thermal cycler (Bio-Rad) following the manufacturer's instructions. Norovirus was quantified in the cDNAs by quantitative real-time PCR (qPCR) targeting rotavirus on a CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad) using previously developed primers and probes. Murine norovirus (MNV) was added to samples during the viral extraction step as a whole process control. Samples with MNV recovery rates higher than 1% were considered validated. Quantification by qPCR was performed in accordance with MIQE guidelines, and samples with quantification cycles (Cq values) below 40 were considered positive with rotavirus. The results showed that 57 derived from 74 samples were positive for norovirus, in which approximately 10% of drinking water, 100% of river water, 25% of sewage water, and 91% of oyster samples were detected with norovirus GII, while 0% of river water were detected with GI. Norovirus GII in oysters collected in winter season (January to February, 2017) reached up to 3.3E+03 copies/g digestive tissue.

日中異文化接触場面における「利害」が生じる会話にみられるイン/ポライトネス研究

Im/politeness in conversations between Chinese and Japanese people focusing on their “interests”

研究代表者　谷　智子（情報連携学部情報連携学部）

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
キーワード／①ポライトネス　Politeness
②インポライトネス　Impoliteness
③利害　Interests
④デフォルト　Default
⑤社会規範　Social norm
平成 30 年度交付額／900,000 円

研究発表／学会および口頭発表

① ”Face Management in Intercultural Workplace: Balancing Between Efficiency in Business and Personal Relationship” International conference of Im/politeness, 2018, 7
②「行為促進型表現における人称ストラテジー」国際日本語教育・日本研究シンポジウム,2018,12

研究経過および成果の概要

1. 研究方法

本研究はポライトネスの観点から，実際の会話データをもとに，利害が生じる会話について分析および考察を行うものである。実際の会話の在り方を詳細に描写し，それを理論的に分析考察し，その後，適用した理論そのものにも一考察を与えていくことを目的としている。すでに収録した日中の「利害」が生じるビジネス場面の会話と，基礎データとして用いる今年度収録した中国人の談話データ，そして今後収録する予定の日本人の談話データをもとに，総合的に，日中コミュニケーションの在り方を明らかにしていく。

収集したデータに関して，本研究ではポライトネスの観点から分析考察を行う。ポライトネス研究で最も包括的で，影響力のあるものとされてきた，Brown & Levinson(1987)の

研究においては，発話行為や短いやりとりに注目し，FTA(フェイス侵害)の度合いに応じてポライトネス・ストラテジーをラベリングしていくような手法がとられていた。日本におけるポライトネス研究はそのような手法が未だ主流と言える。しかし，一方で，従来の，ポライトネスを理論的に規定し，それを，データ分析に応用するような合理主義的な形をとるのではなく，一つ一つの相互行為を詳察し社会背景等を含めて，理論化していく”discursive approach”(Watts(2003)他)というアプローチもある。本研究は，社会文化的な背景を交えて実際のコミュニケーションの在り方を描き出すことを目的とするため，”discursive approach”をとることとする。

２．研究経過および成果の概要

研究経過は以下のとおりである。まず，今年度は中国語母語話者の談話データを中国で収集した。日本でも収集は可能であるが，日本在住の中国語母語話者であれば，日本語母語話者のコミュニケーションスタイルの影響を多かれ少なかれ受けている可能性は大いにあると思われる。今回は，できるだけ中国独自の社会文化背景が直に反映されたデータを収集したいと考えたため，中国国内でのデータを収集した。現在，データ処理および分析中である。まだすべてのデータの分析は完了してはいないが，中国語母語話者の談話データにおいては，話者の自己フェイスに重きをおく発話が多数観察された。Brown & Levinson(1987)のポライトネス研究においては，ポライトネス・ストラテジーは相手フェイスに重きをおいたものとしてみなされていたと思われるが，逆に話し手自らのフェイスへの配慮が見られたというのは注目すべき点である。また，今後日本語母語話者のデータも収集し，その特徴を比較することで，得られた結果は日中接触場面の考察にも有用なものとなるといえる。

また，これまでに収録した日中ビジネス場面の会話も分析中で，今年度に一度，ポライトネスの国際大会で発表を行った。”Face Management in Intercultural Workplace: Balancing Between Efficiency in Business and Personal Relationship”というタイトルで発表し，日本人と中国人が会話に参与しているビジネス場面で，ビジネス遂行上の問題が生じている際の会話に注目し，そこにおいては，相手フェイスを侵害する・もしくはそれと同時に自己フェイスも侵害してしまうような行為も比較的顕著にみられたことを指摘した。仕事上の効率性や利益が重視されている場合は，フェイスへの配慮を十分に行わないようなインポライトな行為が多数見受けられることを発表した。質疑応答においては，一つ一つの表現を抽出するだけでなく，発話連鎖を見ることによってビジネス接触場面独自の特徴が浮き彫りになるのではないかという指摘を受けた。今後はターンテーキング等にも注目していくと，興味深い結果がでるのではないかと考えている。

３．今後の研究における課題または問題点

実際のデータをみると，社会・文化背景，その場の状況や人々の関心事，利害関係等我々が行う会話には様々な要素が含まれている。その中で，明確に「ポライトネス」・「インポライトネス」を規定するというのは単純なことではないと考えられる。このようなことを規定するべく，さらにデータ収集をすすめ，ある程度一般化できるような事象を見出していきたい。

また，社会背景等を関連させてポライトネスを見る際，その場での無標の状態ともいえる「デフォルト」という概念が重要になってくる。デフォルトが相対的なものであるのか，絶対的なものであるのかなど議論の余地はあるため，今後このような観点から理論についても検討していきたいと考えている。

＜主要参考文献＞

Brown. P. & Levinson, S., (1987). *Politeness-Some Universals in Language Use*, Cambridge
university press, Cambridge.

Watts.R., (2003). *Politeness*, Cambridge university press, Cambridge.

Summary

This research investigates how people show politeness or impoliteness in conversation, mainly focusing on conversations centered around people's interests.

In previous research, Brown & Levinson' s（1987）politeness theory has been seen as the comprehensive theory in politeness research. According to Brown and Levinson, people showed a consideration to the face of the opponent at every moment in the conversation. Basically, before people conduct certain acts, they estimate (calculate) how much they threaten the other's face by taking into consideration the ① social distance, ② relative power, and ③ rank of imposition. Then, people conduct the action with a suitable politeness strategy, such as a positive or negative politeness strategy, and so on. However, recent studies have criticized this approach that the method is only labeling each politeness strategy to each utterance, such that it can be said it only focuses on a singular speech act or a very short exchange of utterances. In order to describe the actual state of communication and take cultural / social factors into consideration, the discursive approach of politeness has been put forward.

In the discursive approach of politeness, the row conversation data are analyzed and after taking the social and cultural elements into consideration, a theory is constructed.

It is said that the discursive approach takes a bottom-up method, unlike the Brown and Levinson approach, which takes the top-down method. To describe the dynamism of the discourse, the discursive approach will be used in this research.

So far, in this research, data of conversations between Chinese and Japanese people in a business context had been collected a few years ago. In addition to this, as a base data, conversations between Chinese people were also collected in this year. After the data collection, all the data were transcribed, and translated into Japanese (if the conversations were in Chinese).

Through data analysis, although previous research of politeness has been shown that people show their consideration to the face of listeners at every moment of conversation, the face-threatening act on the listener's face, and even on the speaker's face has been observed a lot, especially in the context of business conversations. In the business context, people care about business efficiency and gains; this causes less interest in the face, especially of others. The outcomes of this study have already been presented at the International Conference of Politeness.

There are some outstanding characters in the conversation which we can see the people's interests. In future research, it is important to determine "politeness"/ "impoliteness" in definite ways. As our conversations have several elements, we should explore how we can comprehensively analyze the data and such research may perhaps even lead to the modification of the politeness theory itself in the future.

同一性と形相認識

To develop a dendritic cell vaccine against temozolomide (TMZ) resistant glioblastoma multiforme (GBM)

研究代表者　Ankita Borah（バイオ・ナノエレクトロニクス研究センター）

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
キーワード／①同一性　Multi Drug resistant Cancer
②形相　Bioperine
③認識　Hybrid Polymeric Nanoparticles
④曖昧性　Nutraceutical
⑤変化　Cancer Therapy
平成 30 年度交付額／700,000 円

研究発表／学会および口頭発表

・Presentations

None. We intend to present the work this year at an international conference.

Publications

Under preparation.

研究経過および成果の概要

１．研究方法 Research Method

The objective of this research work was to develop a dendritic cell vaccine for glioblastoma therapy. However, as per the requirements of the research proposal which is mostly on animal studies and also the high expenditures related to the work we were not able to conduct the present work in our facility. Hence, we opted to carry out our work in an area that could be conducted in the Bio-Nano Electronics Research Center and within the time frame and budget allocated to us from the Inoue Enryo grant.

The present report gives a detailed description of the new research work that we proposed and carried out utilizing the Inoue Enryo funds. In this work we have tried to develop a polymeric hybrid nanoparticle encapsulating a nutraceutical and will carry out its anti-cancer efficacy in multi drug resistant cancers. We selected Bioperine as the nutraceutical derivative of piperine which is also known for its inhibition on drug efflux mechanisms in cancers and also increasing the bioavailability of other natural compounds such as curcumin and resveratrol.

Bioperine due to its hydrophobic nature has poor aqueous solubility and bioavailability. This could be improved with the aid of nanotechnological approaches by encapsulating it inside nanocarriers. We opted to synthesize a hybrid polymeric nanoparticle that will improve the aqueous solubility, bioavailability, and the circulation of the nanoparticles for prolonged anti-tumor effect. Briefly, the polymer (PLA, polylactic acid) and Bioperine are dissolved in chloroform and left for proper mixing to form a primary emulsion. The secondary emulsion is formed by adding the Bioperine and PLA mixture dropwise to an aqueous phase comprising of polyvinyl alcohol, chitosan, and polyethylene glycol. This method is also known as the blending technique of forming hybrid nanoparticles. The emulsified mixture is then left for overnight evaporation to evaporate the chloroform. The nanoparticles are collected by centrifuging the mixture the next day and lyophilized to get a fine powder that is stored at -20 °C.

Following the synthesis, the nanoparticles will be characterized for their size, shape, and surface morphology. We aim to carry out SEM, TEM, DLS, XPS, FTIR, and XRD for the characterization studies of hybrid Bioperine NPs. The NPs will be later analyzed for their cellular uptake and also the phagocytic activity of macrophages. The anti-tumor effect will be next analyzed in multi-drug resistant cancers and also analyze the gene, protein expression studies.

２．研究経過および成果の概要 Outline of Research progress and result

The hybrid polymeric nanoparticles were spherical in shape having smooth surface and size in the range of 270 nm to 310 nm as shown in the SEM image in figure 1.

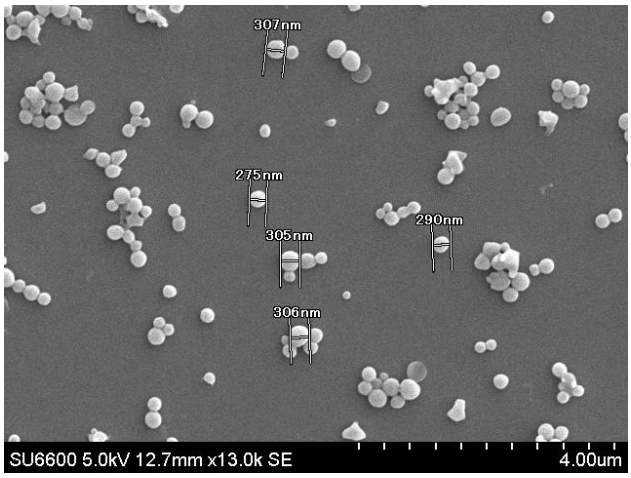


Figure 1: SEM of Bioperine-hybrid PLA NPs

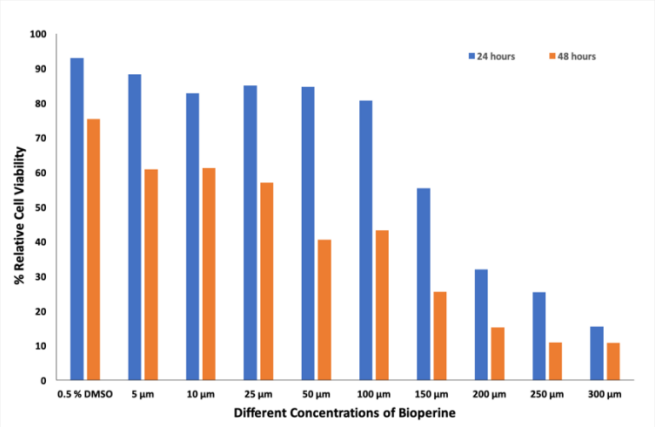


Figure 2: Relative cell viability of Bioperine-hybrid PLA NPs on MDA-MB453 cells

We also checked the cytotoxicity of the NPs in a multi-drug-resistant breast cancer cell line MDA-MB 453 as shown in figure 2. We observed that after 48 hours the NPs induced cytotoxicity to the breast cancer cells in the concentration range of 50 µM-300 µM.

We also analyzed the expression of P-glycoprotein in the multi-drug resistant cancer cell lines MDA-MB 453 and Caco2 by immunofluorescence studies as shown in figure 3 clearly the high expression of the protein in the cellular membrane of the cells. Next, we wanted to check the inhibition of the P-glycoprotein by carrying out gene expression and protein expression studies.

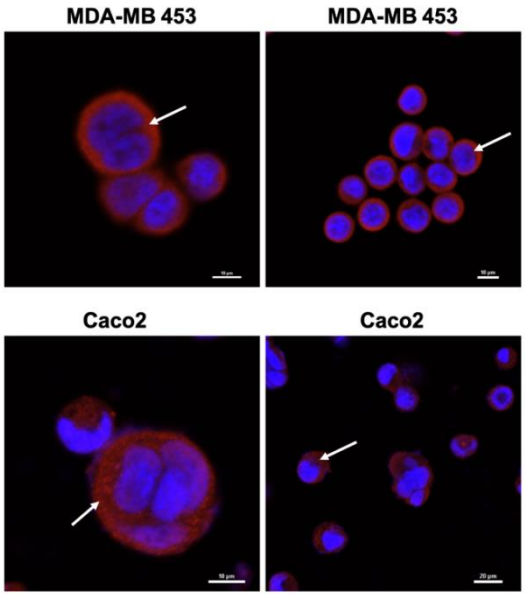


Figure 3: P-glycoprotein expression on MDA-MB 453 breast cancer and Caco3 colon cancer cells

３．今後の研究における課題または問題点 Challenges in the future research problem

The primary challenge in the treatment of multi-drug resistant cancer is the efflux of conventional chemotherapeutics by the drug efflux pumps. Hence, we hypothesized that administration of Bioperine via nanoparticles might bypass the drug efflux pumps and will be able to reach the tumor site to induce the maximum cytotoxicity and inhibit the expression of P-glycoprotein. Next challenge is to develop a suitable nanocarrier that would have longer circulation time in vivo and also prevent the phagocytic behavior of macrophages. Therefore, we opted to synthesize hybrid polymeric NPs that has chitosan and PEG blended in the PLA NPs. In the future, we will be carrying out extensive cell studies to support our claims that the Bioperine-PLA hybrid NPs will be able to successfully target multi-drug resistant cancers to prevent drug resistivity in cancer therapies.

Summary

The current research work is focused on prevent drug resistivity in cancer that leads to the failure of conventional chemotherapy. Multi-drug resistant cancers are reported to have high expression of P-glycoprotein which impedes the intracellular delivery of anti-cancer agents effectively. The usage of nanotechnology mediated drug delivery systems will be beneficial to deliver such agents to overcome the drug efflux in cancers. Bioperine a nutraceutical derivative of piperine is proven to improve the bioavailability of other nutraceuticals and also discussed by modulating drug efflux mechanisms.

We decided to incorporate Bioperine inside a hybrid polymeric nanocarrier to improve its bioavailability and aqueous solubility followed by size and surface morphology. The cell viability studies indicate the cytotoxic nature of Bioperine NPs after 48 hours at a minimum concentration of 50 μM. Furthermore, we will be carrying out molecular biology studies to analyze the inhibition of P-glycoprotein and its downstream targets involved in drug resistance mechanisms.

To develop a dendritic cell vaccine against temozolomide (TMZ) resistant glioblastoma multiforme (GBM)

南アジアにおける思想的・文化的融合の動態的研究
――バクティ思想を中心として

Dynamic Approach to the Fusion of Thought and Culture in South Asia:
An Examination of the Tradition of Bhakti

研究代表者　橋本 泰元（文学部東洋思想文化学科）
研究分担者　沼田 一郎（文学部東洋思想文化学科）
研究分担者　三澤 祐嗣（東洋学研究所）
研究分担者　澤田 容子（東洋学研究所）
研究分担者　相川 愛美（東洋学研究所）

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
キーワード／　バクティ　Bhakti
ヴリンダーヴァン　Vṛndāvan
『バーガヴァタ・プラーナ』　*Bhāgavatapurāṇa*
女神　Goddess
女性観　Womanhood
平成 30 年度交付額／1,125,000 円

研究発表／学会および口頭・論文発表

- 三澤祐嗣「『ラクシュミー・タントラ』における最高存在・信愛対象としての女神」（2018 年度第 2 回 RINDAS 研究会「バクティ観念の中世的展開に関する研究会」、2018 年 12 月 1 日、龍谷大学）
- 澤田彰宏「ヴリンダーヴァンのヴァッラバおよびチャイタニヤ教団研究にむけて」（東洋大学国際哲学研究センター「南アジア思想・文化」研究会第 4 回、2019 年 1 月 24 日、東洋大学白山キャンパス）
- 相川愛美「"A Historical and Anthropological Study of Sati in Indian Culture"と今後の展望」（東洋大学国際哲学研究センター「南アジア思想・文化」研究会第 4 回、2019 年 1 月 24 日、東洋大学白山キャンパス）
- 橋本泰元「グルー＝ナーナクの実践論」（『東洋学研究』第 56 号 2019 年 3 月 31 日）
- 澤田彰宏「ヴリンダーヴァンのチャイタニヤ派寺院の組織と運営―ラーダーラマン寺院の現地調査から―」（仮）（『東洋学研究』第 57 号、2020 年 3 月予定）

１．研究方法

本研究では、南アジアにおいて、北と南の縦断的文化流動によって発展したバクティ思想が汎インド的思想潮流となる過程を、伝播の動態的な過程から解明し、思想的・文化的融合の形成過程の実態と理論を明らかにするものである。

ここでは、2 つの視点から研究を行う。すなわち、バクティ思想が花開いた中世を主軸とし、1 古代から中世へ、2 中世から近代へというものである。これによって、中世で分断されてしまっている本邦の南アジア研究に対し、古代～中世～近代へと綿々と受け継がれてきた思想的・文化的流動の解明に寄

与できると考える。

本研究の特色は、思想的・文化的流動の中で、それらの実態を動態的にとらえること、すなわち、思想・文化を一定の静的な現象として捉えるのではなく、多様な潮流として捉えることである。そのために、文献研究とフィールドワークという 2 つのアプローチから行い、互いにフィードバックを行うことにより、より具体的で精緻な研究が可能となる。またこれにより、両者の研究協力体制の促進にも繋がるものである。

本研究においては、俯瞰的な視点から思想・文化の潮流を研究するため、複数の研究者をもってあたる。

1 古代から中世へのバクティの理論形成

A. 三澤祐嗣：バクティ思想の理論化における思想系譜の研究

B. 沼田一郎：バクティにおける法典の役割の研究

C. 澤田容子：シヴァ信仰と女神神話におけるバクティの影響の研究

2 中世から近代へのバクティの発展と実態

A. 橋本泰元：スィク教におけるバクティ思想の展開の研究

B. 澤田彰宏：バクティ教団における巡礼と開祖信仰の研究

C. 相川愛美：サティーにおけるバクティの影響の研究

また、共通の基礎研究として、『プレームサーガル』（近代に成立した『バーガヴァタ・プラーナ』のヒンディー語翻案）の研究・分析、関連研究論文の批評会を行う。個々の研究を報告し、それぞれの担当における問題点等を検証・フィードバックを行う。これらの成果をまとめ、次年度以降の共同研究におけるテーマ、分析事項等の共通化を図る。

２．研究経過および成果の概要

全体的な研究目標に対して、今年度は特に問題の共通化、資料収集などを中心に行った。まず、基礎研究として、『プレームサーガル』の勉強会を 3 回程度行った。また、国際哲学研究センターにおいて「南アジア思想・文化」研究会第 4 回（2019 年 1 月 24 日、東洋大学白山キャンパス）を開催した。そこにおいて、澤田彰宏「ヴリンダーヴァンのヴァッラバおよびチャイタニヤ教団研究にむけて」、相川愛美「"A Historical and Anthropological Study of Sati in Indian Culture"と今後の展望」という発表が行われた。両名ともそれぞれの現時点での研究成果の確認、今後の研究における問題点の浮き彫りなどを行った。澤田はバクティの代表的な宗派の教団研究に向けて、これまでの日本での先行研究を概観し、今後の現地調査を含む研究課題を報告した。

それ以外にも研究打ち合わせを 2 回程度行い、相互の研究に関する確認を行った。さらに 9 月末の日本南アジア学会全国大会に参加し、最新の研究動向の調査や他大学の研究者との共同研究の打ち合わせなどを行った。

個別研究としては、2018 年度第 2 回 RINDAS 研究会「バクティ観念の中世的展開に関する研究会」（2018 年 12 月 1 日、龍谷大学）にて、三澤祐嗣「『ラクシュミー・タントラ』における最高存在・信愛対象としての女神」と題して発表を行った。『ラクシュミー・タントラ』(9 世紀～12 世紀頃)において、インドラ神がラクシュミー女神へとバクティ（信愛）を捧げ、満足した女神が最高の教えを説くことになるが、その中で、女神がいかなる存在か、同文献に説かれる宇宙生成論に基づき検証した。

資料収集として、特に PDF 化等の電子化を行い、研究の資料収集にあたった。また、澤田彰宏はバクティ思想における重要な聖地であるヴリンダーヴァンの現地調査を実施した。そこでは今後の研究の

ための予備調査としてチャイタニヤ教団の寺院を中心に参与観察を行い、併せてサンスクリット語とヒンディー語の文献などの資料の収集も実施した。調査は今後とも継続し、その成果として 2019 年度中に『東洋学研究』に「ヴリンダーヴァンのチャイタニヤ派寺院の組織と運営―ラーダーラマン寺院の現地調査から―」（仮）という論文の投稿を予定している。

橋本泰元はスィク教の思想研究を継続して『東洋学研究』（56 号）に「グルー＝ナーナクの実践論」を投稿した。

３．今後の研究における課題または問題点

本年度の研究を通じ、バクティ思想の伝播において重要な役割を担うクリシュナ信仰において、特に、『バーガヴァタ・プラーナ』と聖地ヴリンダーヴァンを扱うことが課題としてあげられた。なぜなら、クリシュナ信仰の中核をなす『バーガヴァタ・プラーナ』におけるクリシュナと牧女（ゴーピー）との恋愛模様は、その後のバクティの方向性を決定づけ、その舞台となった北インドのクリシュナ信仰の聖地ヴリンダーヴァンは、巡礼と結びつくことによって、様々な文化の結節点としての役割を担っていたからであり、さらに、そのようなバクティの変遷において、女神・女性観が大きく変容していったからである。

そこで、この『バーガヴァタ・プラーナ』とヴリンダーヴァンを軸としながら、女神・女性観に着目することにより、南アジアにおいて、北と南の縦断的文化流動によって発展したバクティ思想が汎インド的思想潮流となる過程を、より鮮明に明らかにし、思想的・文化的融合の形成過程の実態と理論を明らかにするものと考えられる。

Summary

As it diffused throughout South Asia, Hinduism incorporated various regional elements within itself. As a result of the complicated manner in which it developed, Hinduism has become so rich in diverse elements that it is difficult to regard it as a single religion. One particularly significant influence on the shaping of Hinduism in South Asia has been the tradition of thought that concerns the concept of "*bhakti*," which can be translated as "devotion to God," or "loving and believing in God."

The concept of *bhakti* can be traced back to the *Bhagavadgītā*, which was compiled in northern India around the 2nd-century C.E. In the 7th century, however, the concept was developed into a popular religious movement through the efforts of south-Indian religious poets. It was there that the movement became strongly tied to the Kṛṣṇa faith, which enjoyed tremendous popularity with the general populace. *Bhakti* subsequently took on the form of a love for God that was practically akin to romantic love. This important stage of the concept's development is expressed in the *Bhāgavatapurāṇa*, compiled in southern India in the 10th century. *Bhakti* was subsequently incorporated into orthodox Indian thought through theorization by Vaiṣṇavism theologians. While *bhakti* diffused among the various regions, fused with the regional thought and culture that was unique to each place. The result was that it further developed as a popular movement, such that, today, *bhakti* thought occupies a central position within Hinduism.

Thus, it can be deduced that the pan-Indian development of *bhakti* thought was of key

importance for the formation of popular Hinduism in the Middle Ages. Therefore, research into this area can only hope to adequately capture the reality of Hinduism if it is considered the religion not as something static and unified but rather as a dynamic, fluid body of thinking, which incorporates a broad range of diversity within it.

In this research project, I will focus principally on the thinking during the Middle Ages, when *bhakti* thought flowered, while bringing together the two approaches of textual research and fieldwork, so that each can reciprocally guide the other. I suggest that combining the theoretical with the practical in this manner will help to make possible a more concrete and detailed investigation.

ビジネスモデルの変革プロセスの追跡

Investigation for the process of creating a highly unique business model

研究代表者　大原 亨　（経営学部経営学科）
研究分担者　山口 裕之（経営学部経営学科）
研究分担者　阿部 智和（北海道大学大学院経済学研究院）

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
キーワード／①ビジネスモデルイノベーション　Business model innovation
②連続的変化　Continuous change
③部分的適応　Local adaptation
④小規模な変化の増幅　Amplification of small changes
⑤逸脱事例の分析　Deviant case analysis
平成 30 年度交付額／945,000 円

研究発表／学会および口頭発表

・阿部、山口、大原「セコマ ： コンビニから総合流通業への転換」『Discussion Paper, Series B』, Vol. 170, pp. 1-37, 北海道大学大学院経済学研究院
平成 31 年 3 月

阿部、山口、大原「セイコーマート ： 独自性の高いビジネスモデルの確立」『Discussion Paper, Series B』, Vol. 171, pp. 1-26, 北海道大学大学院経済学研究院
平成 31 年 3 月

研究経過および成果の概要

１．研究方法

本研究の目的は、株式会社セコマという逸脱事例の記述・解釈を通じて、既存モデルの連続的な変化の蓄積を通じて独自性の高いビジネスモデルが創造されうることを明らかにすることにある。その主眼は、独自性の高いビジネスモデルの創造という現象の理解に向けて、既存研究に存在する陥穽と、その陥穽を埋める議論の出発点を明らかにすることにある。したがって、本研究で取り組む事例分析は、仮説の経験的検証（testing）や例示（illustrating)、仮説の帰納的導出ではなく、検討されるべき研究課題の提示と、その検討に向けたアイディア提起を目的としている（Siggelkow, 2007)。

セコマは、北海道市場を主たる対象に「セイコーマート」という名称のコンビニエンス・ストア（以下、CVS）を展開している。2016 年度時点で約 1200 店舗を運営し、総店舗売上高は約 1800 億円にのぼる。国内トップのセブン-イレブン（総店舗数約 19,000 店・総店舗売上高約 45,100 億円）と比べると規模は小さいものの、その事業は高く評価されており、サービス産業生産性協議会の顧客満足度調査において 2010～2014 年度および 2016～2017 年度に第 1 位を獲得している。また、北

海道市場に限定すれば、店舗数ベースでトップ・シェアを保持し続けている。1980年代半ば以降のCVS産業では、全国展開を積極的に進める大手企業との競争により多くの企業が淘汰されており、北海道を除く全国で大手3社（セブン-イレブン、ファミリーマート、ローソン）による寡占化が進んでいることを踏まえると、北海道に限定されるとはいえ、高い競争優位性を保持してきた企業であると評することができる。

こうしたセコマの競争力は、北海道市場の特徴のみに帰属するものではない。その特徴として言及される地理的な独立性の高さや、人口密集地である都市部の点在、消費者のデモグラフィック属性の分布などは、多くの地方市場圏に共通する特徴である。セコマと同様に地方市場圏を拠点としていた企業はほぼ全て、大手企業との競争に敗れている。さらに、CVS事業における競争に関して、北海道が特殊であったわけでもない。大手は北海道市場の攻略に積極的であり、北海道では他の地方以上に激しい競争が展開されてきた。そうしたなか、セコマが優位性を保持し続けている理由は、極めて独自性の高いビジネスモデルにある。詳しくは後述するが、全国の都市部に積極出店していく競合他社に対して、セコマは、出店地域を北海道および北関東に限定し、過疎地に積極的に出店している。また、多くの競合他社は、取扱製品の企画・生産・物流から店舗運営に至る価値連鎖活動の大半を外部企業に委ねるオープン型であるのに対して、セコマは、それらの大部分を内部で手がけるクローズド型で事業を展開している。

本研究でセコマを逸脱事例として扱う理由は、同社が他社と大きく異なるビジネスモデルを有していることだけではない。むしろ、そのビジネスモデル創造プロセスが既存研究の想定から逸脱したものであることにある。同社のビジネスモデルは、1990年後半頃までは今日において一般的なモデルと類似性を有していたものの、それ以降に変化を遂げ、独自性を高めていく。既存研究では、そうしたビジネスモデルの変革は、既存モデルとは独立して探索・構築された新規モデルへの転換を通じて果たされると考えられてきた。しかしながら、そうした想定とは異なり、セコマにおけるビジネスモデルの変革は、既存モデルの修正・変更という連続的な変化の蓄積により果たされたものであった。

2．研究経過および成果の概要

セコマの事例記述では、以下の資料を活用している。具体的には、同社のホームページ等の公開情報、『日本経済新聞』や『日経MJ（日経流通新聞)』、『北海道新聞』、『日本食糧新聞』の各種新聞記事、『日経ビジネス』や『週刊東洋経済』、『コンビニ』、『激流』などの雑誌記事を、同社の創業時（1971年）から2018年3月末を対象とし収集した。これらのデータに基づき、CVS産業において一般的なビジネスモデルを確認すると同時に、そうした支配的なビジネスモデルの確立においてセコマが先駆的であったことを確認した。そのうえで、この作業を通じて明らかにされたモデルから、セコマのそれが大きく乖離していくプロセスを記述した。

セコマにおいて独自性の高いビジネスモデルが構築されていったプロセスは、従来の議論の想定とは異なり、既存モデルの効率化という意図の下、2つの局所的変

化が生じ、それらが相互強化的に増幅されたものとして解釈できる。具体的には、物流システムを基盤として展開される小口多頻度配送と小規模店舗における多品目販売という資源-活動システムの効率化を目的として、生産能力および生産・仕入活動の内部化という構成要素の追加と、過疎地への積極出店という構成要素の変更という独自の局所的変化が生じていた。さらに、これら 2 つの局所的変化の間では、生産機能の内部化により過疎地への積極出店が、過疎地への積極出店により生産機能の内部化がそれぞれ更に促されるという、ダイナミックな相互作用が働いていた。

こうした発見事実からは、これまで等閑視されてきた既存モデルの連続的な変化プロセスは、ビジネスモデル実験と同等もしくはそれ以上に、ビジネスモデルの変革を生み出す重要なプロセスであることが示唆される。これまで、ビジネスモデルを構成する要素間の関連性は、変革の阻害要因として扱われてきたものの、セコマの事例からは、この関連性は、変革を阻害するだけでなく、促進する可能性が示唆されたのである。

これらの研究成果は、本研究の成果は、海外ジャーナルに投稿・査読中の論文（英語）1 編、および投稿・公開済みの以下の論文（日本語）2 編にまとめられている。

３．今後の研究における課題または問題点

連続的な変化プロセスを通じて独自性の高いビジネスモデルが創造されるプロセスの理解に向けては、独自性の高い局所的変化の発生と、その増幅という 2 つの現象に対する説明が求められるだろう。第 1 に、独自性の高い局所的変化の発生の説明に向けて、経営資源から独自性の高い用役が引き出される条件の検討が求められる。第 2 に、局所的変化が増幅されていくメカニズムの解明が求められる。セコマのビジネスモデルの独自性は、独自性の高い 2 つの局所的変化が単に生じたことだけでなく、それらが相互強化的に増幅されることで、そのビジネスモデルが経路依存性を獲得していったことにも求められる。

Summary

The purpose of this research is to clarify the overlooked process of creating a highly unique business model. The previous studies have pointed out the importance of business model experimentation due to the assumption that business models have inertia. However, some cases cannot be explained by existing research. There are some cases that the business model drastically changed through a process other than the business model experimentation. To fill the gap, we reexamine the assumption and deduce that interdependency among the constituent elements of the business model can lead to a considerable change of the existing model. Then, by describing the deviant case, we show that local changes in the business model facilitate other local changes and this amplification of local changes result in a business model largely deviating from the previous model. In this respect, we will shed new light on business model innovation.

How can a unique business model be created? This research aims to tackle this

problem, which is attracting considerable interest not only in discussions about business models but also in the field of strategic management. With this aim, we undertake a single case analysis of Secoma Company Ltd. (hereinafter Secoma). Specifically, by describing this deviant case, we show that a highly unique business model can be created through continuous changes of an existing business model, which is the change process neglected in the previous studies. In addition, we will propose future research topics on this process.

In this research, through description and interpretation of this deviant case, we show that a highly unique business model can be created through an accumulation of continuous changes in the existing model. In addition, we present the salient features of this process which should constitute topics of future studies.

The business model of Secoma has changed radically through the process which can be described above. This process is significantly different from what has been discussed in existing studies. Most of them have pointed out the importance of a process called "business model experimentation;" creating multiple new business models on a small scale, nurturing the model selected through market experiments, and then switching to the new model. In contrast to this, the business model has become more and more distinctive, as the changes in components that were aimed to patch and sustain the existing model were amplified.

This finding suggests that incremental changes in the existing model, which has been neglected, is equal to or more important than business model experiments for business model innovation. A local and small change in a business model can be amplified and result in the distinctive business model. It has been conceived that the interdependency between components suppresses a local change that may affect other components or whole. However, the case of Secoma suggested that the interdependency of components does not only impede but also facilitate a business model innovation.

高齢者施設における介護事故をめぐる介護事業者の法的責任の判断枠組

The judgment framework of the legal responsibility of the nursing care service provider involving the care accident in a senior-citizen home

研究代表者　太矢　一彦（法学部企業法学科）
研究分担者　矢田　尚子（日本大学法学部）

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
キーワード／①高齢者介護　Nursing care for the elderly people
②介護事故　Care accident
③安全配慮義務　Safety obligation of caring for workplace

平成 30 年度交付額／797,000 円

研究発表／学会および口頭発表
〔口頭発表〕「高齢者化社会における住宅金融とケア」（獨協大学国際フォーラム　人口減少・高齢化社会での住宅と法――空き地空き家・所有者不明・コンパクトシティ――）
平成 30 年 11 月（於：獨協大学）
〔論文〕「高齢者の介護事故をめぐる安全配慮義務違反―転倒事故事例に関するこれまでの裁判例を中心としてー」『藤井俊二先生古稀記念論文集　土地住宅の法理論と展開』（成文堂、2019 年 7 月出版予定[原稿提出済]）

研究経過および成果の概要
１．研究方法
2000 年の介護保険法施行に伴い、介護サービスは、措置制度から契約制度に移行し、介護サービス提供者と利用者との間の介護サービス提供契約によって提供されることとなっている。もっとも、介護サービス提供契約は、継続的に日々の生活全般にわたる広範な役務の提供を行うものであることから、個々の債務の内容を具体的に確定することは困難とされ、介護者がどのような義務を負うのかは明確にはなっていない。また、介護施設等における介護サービスの提供過程では、身体能力、精神能力の低下した高齢者を対象とするものであり、重度の認知症患者の問題行動も増えていることから、常に転倒や転落、誤飲、誤嚥等の事故の危険性を孕んでいる。さらに、現行の介護保険制度では、利用者本人の意思（自己決定）を尊重する「自立支援介護」を目指すとされており（介護保険法 1 条・2 条)、「自立支援介護」では、被介護者の自主性を尊重し、被介護者ができるだけ自立した生活ができるようになるための援助がなされることになるため、介護サービスの提供現場では、それに伴う介護事故が発生する可能性はこれまで以上に高くなっている。このようななかで、介護サービス提供契約は人身損害のリスクを引き受けたともいえ、被害法益の重大性から、介護者の責任は重いといえるが、これまでの高齢者施設等における介護事故に関する裁判例をみると、介護をする側にいささか過重ともいえる義務（結果債務に近い

万全の事故防止対策等）を課し、その義務違反をもって介護事業者に損害賠償責任を負わせていると思料される裁判例も散見される。

また、介護サービス提供契約の債務は、契約によって決せられるところ、介護サービス提供契約において中心的な債務を構成するケアプランの作成は、そのほとんどが、介護支援専門員と利用者及びその家族との話し合いによって作成されるものであることから、家族の意思と要介護者・要支援者の意思との関係が不明確である。すなわち、措置時代においては、事理弁識能力の低下した当事者に代わり、家族や近親者が手続きを行うこともできたが、契約制度に移行した現行制度では、代理権などの存否等、各契約の有効性が問題とされることになる。さらに、わが国では、平成 29 年に民法（債権法）が改正され、改正民法における契約責任においては、契約締結時に具体的にどのような内容の債務（行為）が約定されたのかということが、現行民法におけるよりも重要視されると考えられ、そのことからすれば、事理弁識能力が不十分な高齢者の意思決定支援のあり方について現在の成年後見制度の関係で考察しておく必要がある。

以上のことから、本研究では、被介護者の意思決定支援に留意しながら、介護サービス提供契約の債務内容を明らかにし、介護事故が発生した場合の法的責任の判断枠組みの構築を試みた。

２．研究経過および成果の概要

転倒・骨折に関連する裁判例を①介護サービス契約における安全配慮義務の法的構成、②注意義務の内容・程度、③説明・説得義務、④工作物責任（民法 717 条）・営造物責任（国家賠償法 2 条）の観点から総合的に分析した。その結果、①では、介護サービスにおける安全配慮義務を給付義務とするのではなく、付随義務もしくは保護義務と解するのが妥当であること、②の注意義務の程度として、結果責任まで介護者に課すのは、高齢者施設が高齢者の居住の場であり、また自立支援介護の観点からして妥当ではないこと、③の説明・説得義務については、それを介護者の注意義務の加重と解するのは妥当でないこと、④の工作物責任・営造物責任では、離床センサーなどの安全設備の設置基準については、最判昭 61・3・25 を参考とすべきことなどの結論に至った。また意思決定支援については、実践的取り組みを行っている団体(5 団体)からヒアリング調査を行い、また諸外国での取組みについても考察する為、オランダ、イタリアで文献調査とヒアリング調査を行い、実際の介護の現場を視察し、実務家・研究者から有益な情報提供を受けた。

３．今後の研究における課題または問題点

裁判例の分析については、既に原稿を提出しており、2019 年 7 月出版の予定である。しかし、意思決定支援については、未だ国内でのヒアリングの内容をまとめたに留まり、海外での意思決定支援について収取した文献の考察は十分に行えていない。今後は、海外調査の分析を急ぎ、介護者の債務の内容を明確にしながら、介護サービス提供契約における高齢者施設の法的責任の判断構造について提言を行っていきたい。

Summary

This research aims at construction of the judgment structure of the legal responsibility of the senior-citizen home in a nursing-care-services contract.

As the research procedure, I considered the example of a trial relevant to a fall and a fracture about with what kind of legal responsibility the care worker was burdened in the care accident. On that occasion, I analyzed from a standpoint of the matter and pitch of the legal structure of the obligation of caring for workplace safety in (1) nursing-care-services contract, and (2) duty of care, (3) persuasion responsibility, and (4) structure responsibility (Article 717 of civil law) and a public utility responsibility (Article 2 of State Redress Law).

Furthermore, nursing care services are provided in the current system by the nursing-care-services tender contract between the person and user who perform nursing care services. From that, the decision aiding of a senior citizen especially with insufficient ability to appreciate the nature and quality of its acts is important. I performed the hearing survey to the lawyer's office and senior-citizen home which are taking the measure practical about a senior citizen's decision aiding, and an NPO society.

I performed hearing survey and literature documentation in the Netherlands and Italy which are taking the pioneering measure. I reported results of an investigation at the symposium. Moreover, the report of research is due to be published.

社会運動・法形成・権利実践からみる現代インドの民主主義と立憲主義
Democracy and Constitutionalism in Contemporary India: Social Movement, Legal Formation, and Performing Rights

研究分担者　上田　知亮（法学部法律学科）
研究分担者　石坂　晋哉（愛媛大学）
板倉　和裕（奈良工業高等専門学校）
木村　真希子（津田塾大学）
小西　公大（東京学芸大学）
鈴木　真弥（東京外国語大学）
舟橋　健太（龍谷大学）
山本　達也（静岡大学）

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
キーワード／①現代インド　Contemporary India
②民主主義　Democracy
③立憲主義　Constitutionalism
④社会運動　Social Movement
⑤権利　Right
平成 30 年度交付額／1,800,000 円

研究発表／学会および口頭発表
［著書・論文］

- Ueda, Tomoaki（上田知亮） and Tatsuya Yamamoto（山本達也）(eds.), *Law and Democracy in Contemporary India: Constitution, Contact Zone, Performing Rights*, Palgrave Macmillan, 2018.
- Ueda, Tomoaki（上田知亮）, “Who Appoints Judges? Judicial Independence and Democratisation of the Judiciary in India”, in Yamamoto and Ueda (eds.) 2018.
- Funahashi, Kenta（舟橋健太）, “Rethinking the Reservation System in Contemporary India: A Local Point of View”, in Yamamoto and Ueda (eds.) 2018.
- Ishizaka, Shinya（石坂晋哉）, “‘The Right to Know Is the Right to Live’: The Right to Information Movement in India”, in Yamamoto and Ueda (eds.) 2018.
- Itakura, Kazuhiro（板倉和裕）, “Inventing Rights in the Indian Context”, in Yamamoto and Ueda (eds.) 2018.
- Kimura, Makiko（木村真希子）, “Protesting the AFSPA in the Indian Periphery: The Anti-Militarization Movement in Northeast India”, in Yamamoto and Ueda (eds.) 2018.
- Konishi, Kodai（小西公大）, “The Right to Sacredness: Politics Surrounding Wind Power Development in the Thar Desert”, in Yamamoto and Ueda (eds.) 2018.
- Suzuki, Maya（鈴木真弥）, “Justice and Human Rights at the Grassroots Level:

Judicial Empowerment in Dalit Activism", in Yamamoto and Ueda (eds.) 2018.
・Yamamoto, Tatsuya（山本達也）, "Introduction", in Yamamoto and Ueda (eds.) 2018.
・Yamamoto, Tatsuya（山本達也）, "Citizenship In-between: A Case Study of Tibetan Refugees in India", in Yamamoto and Ueda (eds.) 2018.

［学会発表］
・Ueda, Tomoaki（上田知亮）, "Identity Politics, Coalition Politics, and Citizenship: Modi Government and the Citizenship Bill", The 11th International Convention of Asia Scholars (ICAS 11), July 2019（予定）
・Funahashi, Kenta（舟橋健太）, "Expanding Identities and Social Inclusion: A Case Study of Dalit Converts to Buddhism in North India", ICAS 11, July 2019（予定）
・Ishizaka, Shinya（石坂晋哉）, "Quest for a non-exclusive politics: Ram Manohar Lohia and the anti-caste movement in India", ICAS 11, July 2019（予定）
・Itakura, Kazuhiro（板倉和裕）, "Muslim Political Participation in India", ICAS 11, July 2019（予定）
・Kimura, Makiko（木村真希子）, "Who are the Citizens of Assam? National Register Update of Citizens in Assam, India", ICAS 11, July 2019（予定）
・Konishi, Kodai（小西公大）, "For whom the Development tolls?: The Conflict Arises on Accessibility to Sacredness in Wind farm at Thar Desert, India", ICAS 11, July 2019（予定）
・Yamamoto, Tatsuya（山本達也）, "Citizenship under the dual legal system: a case study of Tibetan refugees in India and Nepal", ICAS 11, July 2019（予定）

研究経過および成果の概要

１．研究方法

本研究課題の目的は、現代インドの民主主義体制の持続可能性を支える要因が、社会運動と権利実践を通じた法形成過程にあることを、政府による政策の策定・運用の実態を踏まえつつ、臨地調査によって明らかにすることである。

従来のインド民主主義論には２つの瑕疵がみられる。第１は、先進民主主義諸国と同様に、インドの政治体制が単なる民主主義ではなく、自由主義と民主主義が接合された自由民主主義であることが等閑視されている。そのため、立憲主義や人権といった観点からインドの民主制が研究されることは稀である。第２に、人々が下から展開する社会運動が意見集約と利益表出のルートとして機能し、民主主義を活性化する役割を果たしていることが看過されてきた。議会制民主主義の政治過程では見捨てられがちなマイノリティの権利要求運動をミクロな視点から分析することが必要である。

こうした問題点を克服して上記の目的を達成するため、本研究では以下のような共同研究体制をとった。第１に、政治学だけでなく人類学や社会学、社会運動論など多様な研究分野の現代インド研究者を結集する。第２に、臨地調査経験の豊富な中堅・若手研究者から組織する。第３に、国際学会や英文業績を通じて国際的に研究成果を発信している研究者の参加を得て、研究成果を世界的にインパクトのあるものとする。

具体的には、①立憲主義と司法、②宗教と集団の権利、③経済発展と環境権、という３つの観点から現代インドの民主主義の動態を分析することを通じて、〈法形成と権利実践の相互作用〉の在り方から「インド型民主主義モデル」を導出することを目指した。

こうした研究計画を実行するため、共同研究者の小西、板倉、山本がインドなどでインタビュー調査や資料収集を精力的に実施した。それに加えて、英文校閲費に予算を充てて英語での研究成果公開に努めた。

２．研究経過および成果の概要

2018 年 8 月に研究会を実施し、科学研究費申請書の検討会を行ったほか、国際学会でのパネル企画について打ち合わせを行った。これが奏功して申請が採択され、2019 年 7 月にオランダのライデン大学で開催される The International Convention of Asia Scholars (ICAS) の第 11 回大会で研究成果を国際的に発信するとともに、海外研究者からフィードバックを得ることが可能となった。

海外調査としては、2018 年 8 月に小西がインド西部ラージャスターン州で部族民の教育運動について、同月に板倉が連合王国（イギリス）ロンドンでインド憲法制定過程について、2018 年 10 月に山本がインド西部マハーラーシュトラ州で難民などの市民権申請手続きについて、インタビュー調査や資料収集を実施した。

本研究課題の成果の一部は、Tatsuya Yamamoto and Tomoaki Ueda (eds.), *Law and Democracy in Contemporary India: Constitution, Contact Zone, Performing Rights* (Palgrave Macmillan, 2018) として刊行されている。本書は研究代表者の上田と共同研究者の山本が編者を務め、本研究課題のメンバー8 名全員が寄稿している（詳細は上記の研究成果を参照）。本書は、統治機構による「上からの制度化」と社会運動による「下からの制度化」とが交わる領域をコンタクトゾーンと定義したうえで、指定カーストや指定部族など様々な事例を通じて、現代インドの民主主義体制における法と権利の動態を解明している。

外部的競争資金の獲得に関しても、本研究課題の問題設定をさらに明確化することを通じて、サントリー文化財団の「人文科学、社会科学に関する学際的グループ研究助成」（研究課題「現代インド民主主義の持続性に関する学際的研究：司法積極主義と社会運動の観点から」、2018 年 8 月～19 年 7 月、100 万円）と JFE21 世紀財団の「アジア歴史研究助成」（研究課題「近現代インドの権利形成史：司法積極主義と社会運動に着目して」、2019 年 1 月～12 月、150 万円）に加えて、科学研究費補助金の基盤研究（B）（研究課題「司法積極主義と社会運動からみる現代インドの自由民主主義体制の持続可能性」、2019 年度～22 年度、内定総額 1,190 万円）を獲得した。

３．今後の研究における課題または問題点

上記の研究成果では、法形成と社会運動のつながりを十分に実証できていない面があるため、今後は分析枠組みの改善や分析対象の再検討などを通じて論証の精度を上げていくことが課題である。そのため、統治機構による「上からの制度化」としてはインド司法府の積極主義に、「下からの制度化」として社会運動に着目することで分析対象を限定していく作業を現在進めている。2019 年 7 月にオランダのライデン大学で開催される The

International Convention of Asia Scholars (ICAS) 第 11 回大会での研究発表を通じて海外研究者からフィードバックを得ることも、こうした問題点を克服するための１つの機会として活用したい。

Summary

The purpose of this research project was to show that the factor of making Indian democracy sustainable was the legal formation process through social movements and performing rights. This project was proceeded by ways of both investigation of the policy making and administration and field research. It aimed for deriving "the Indian model of democracy" from the democratic dynamism of contemporary India analyzed from the three points of view of (1) constitutionalism and judiciary, (2) religious and collective rights, and (3) development and environmental rights.

The research group of this project was organized on the three criteria; the first was that it consisted of contemporary Indian scholars in various research areas including political science, anthropology, sociology, and social movement. The second, it was formed by young and mid-career experienced field workers. The third, for the purpose of making the project outcomes globally influential, it assembled researchers who had delivered worldwide academic messages in international conferences and through academic works in English.

The project outcomes includes *Law and Democracy in Contemporary India: Constitution, Contact Zone, Performing Rights* edited by Tatsuya Yamamoto and Tomoaki Ueda (Palgrave Macmillan, 2018). All the eight members of this project contribute to this work. This book analyses legal orders, actors and democracy in contemporary India, with a particular focus on the everyday contexts and dynamics of human rights, citizenship and socio-economic rights and laws. The contributions explore both 'institutionalization from above', where the judiciary and legislative body aim to govern people, and 'institutionalization from below', where the governed attempt to expand their substantive rights embedded within their everyday lives. This analysis identifies contact zones between the two directions, which act as spaces for democratic participation and negotiation. Such a perspective should be useful to both those who are interested in Indian politics, and anthropologists and sociologists working on dynamics of laws and rights.

The members address future challenges of making the argument more accurate by improving analytic framework and reconsidering case selection because the book failed to link legal formation with social movements in an adequate way. Their researches pay attentions to Indian judicial activism and social movements. The members are going to read papers in the 11th International Convention of Asia Scholars (ICAS 11) at Leiden University, Netherland, in July 2019, which will give them academic feedbacks contributing to the research enhancement.

公共交通分野のオープンデータを活用した視覚障碍者の移動支援に関する縦断的研究

Longitudinal study on mobility assistance for the visually impaired using open data of public transportation.

研究代表者　別所　正博（情報連携学部情報連携学科）
研究分担者　金　智恩（情報連携学部情報連携学科）

- 研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
- 平成 30 年度交付額／1,169,000 円
- 成果発表
  - 坂村健, 別所正博, “INIAD バリアフリーマップ”, TRON イネーブルウェアシンポジウム, 2018 年 12 月 1 日.（口頭発表）
  - Jee-Eun Kim, Masahiro Bessho and Ken Sakamura, “Towards a Smartwatch Application to Assist Students with Disabilities in an IoT-enabled Campus”, In Proceedings of LifeTech 2019, pp.243-246. IEEE, 2019.（査読あり）

成果概要

1. 研究の背景と目的

障碍者の社会参画の支援は、情報通信技術の重要な役割の一つである。これまでの研究で、市販スマートフォンとオープンデータを活用することで、視覚障碍者に対して実用的な移動支援を提供可能であることを示してきた。本研究は、これらの成果を踏まえ、公共交通分野をはじめとした移動に関連する様々な分野におけるオープンデータ化の展開を背景に、専用機器を用いることなく安価な汎用情報端末を用いて、障碍をもつ方が移動支援のための情報にアクセスできるようにするための方法論の確立を目指すものである。

このような目標を達成するための第一歩として、近年の IoT 技術の進展とともに実用化と普及が進むウェアラブル端末が、障碍者の生活支援においてどの程度の受容性があるのかを明らかにすることを目的として、本年度の研究を遂行した。

2. 研究成果概要

2.1 ウェアラブル端末を活用した障碍者向けユーザ・インタフェースの検討

ウェアラブル端末の中には、障碍者向けの情報端末として、ユーザ・インタフェースの観点で良い特徴を持つものがある。例えば、視覚障碍者にとって、大画面をもつスマートフォンは情報を提示する手段としても入力する手段としても、必ずしも適当なものではない。一方で、スマートウォッチは、簡単に身に付けることができ紛失の恐れも少ない一方で必要最低限の入出力手段を備えており、潜在的にはより良いユーザビリティを持つことが期待できる。

本研究では、特に視覚障碍者および車椅子利用者が利用することを想定し、音声案

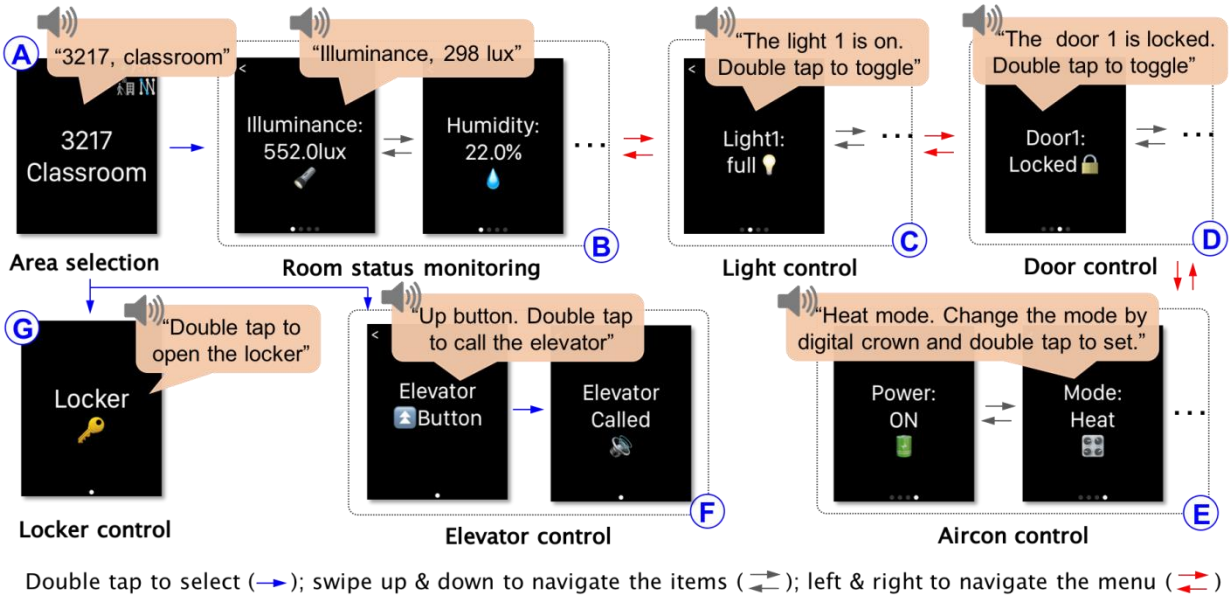
内とスワイプ操作で構成されるスマートウォッチ用の直感的なユーザ・インタフェースを検討した。また、顔の向きや「頷く」といった頭部ジェスチャを入力手段として活用することを想定し、市販のスマートグラスを用いたユーザ・インタフェースの検討も実施した。

2.2 スマートウォッチを活用した生活支援アプリの開発

これらの検討を踏まえ、スマートウォッチを活用した生活支援アプリの開発を行った。ここでは、東洋大学赤羽台キャンパスの INIAD Hub-1 に導入されている IoT 環境の API を活用し、まずは身体障碍を持つ学生を対象として、学校内の生活を支援することを目的としたアプリケーションを開発した。本アプリケーションは、スマートウォッチを通じて、主に以下の機能を提供する。

- 教室等の、照度、温度、湿度、気圧の情報をモニタリングする機能
- 教室等にある、照明や空調を制御する機能
- エレベータを呼び出す機能
- 教室等のドアを解錠する機能
- ロッカーを解錠する機能

本アプリケーションでは、これらの機能を、以下の図に示すように上下左右方向のスワイプ操作とダブルタップの組み合わせで実現する。視覚障碍者を含む多様な利用者を想定し、情報の提示は画面表示と音声読上げを併用した。



2.3 障碍をもつ利用者を対象としたヒアリングの実施

これらの結果を踏まえ、東洋大学情報連携学部に在籍する車椅子利用の学生 2 名を対象としたヒアリングを実施した。ここでは、同様の機能を提供するスマートフォンアプリケーションも用意し、実際に両者を利用した結果についてヒアリングを行った。ヒアリングの結果、スマートウォッチを活用した生活支援アプリが、車椅子利用の学

生から好意的に受け入れられることを確認することができた。またヒアリングの過程では、例えば障碍の種別によってはダブルタップ操作が難しいという意見や、緊急時にスタッフを呼び出す機能の提案など、様々な知見を得ることができた。

以上のスマートウォッチを活用した生活支援アプリと、その受容性に関する研究成果を国際会議で発表した。

3. 今後の展望

本年度の研究では、障碍者の生活支援におけるウェアラブル端末の受容性を明らかにすることを目的として研究を進め、スマートウォッチを活用したアプローチの可能性を明らかにすることができた。

本年度の研究の中では、ウェアラブル端末の受容性に関する研究と並行して、車椅子利用の学生と視覚障碍者の方を対象に、情報通信技術を活用した公共交通利用の支援についてもヒアリングを実施した。このヒアリングの中では、例えば視覚障碍者の方からは、ウェアラブル端末以外にも音声インタフェースの可能性に関する示唆など、いくつかの有用な意見が得られている。これらの結果を踏まえ、今後はウェアラブル端末を活用した公共交通利用の支援について研究を進める計画である。

Summary

In the field of assistive technology, information and communication technology has been recognized as a key enabler to support independent mobility for people with disabilities (PWDs). In our previous works, we have shown that smartphones and open data can facilitate practical mobility aids for the blind. Based on the growing movement toward open data in public transportation sectors, this research aims to establish methodology to facilitate easy access to such data for PWDs using mainstream devices without any dedicated hardware. To achieve this, in this year, we first developed a smartwatch-based application and conducted a preliminary study to identify opportunities and challenges for the use of off-the-shelf wearable devices for supporting PWDs with daily life tasks.

The prototype system is a smart campus service running on a smartwatch that assists students with disabilities (SWDs) in the independent use of campus buildings. The user interacts with the smartwatch application using gestural inputs and Text-to-Speech (TTS) output. The system consists of a user smartwatch paired with a smartphone, IoT infrastructure installed in the campus, and a cloud-based server that provides Web APIs for accessing and controlling the IoT-enabled objects at the campus. The prototype system takes advantage of the IoT infrastructure in the Faculty of Information Networking for Innovation and Design at the Akabanedai campus, Toyo University. The first version of our prototype includes the following functionalities that enhance the accessibility to physical spaces and equipment in a campus building for students with a variety of disabilities: (1) Room status monitoring, (2) In-building machine control such as

lights, elevators and air conditioners, and (3) Door and locker controls.

A preliminary study was conducted to investigate whether the intended users are able to use our prototype, to identify user requirements, and to obtain feedback regarding usability. The set of functionalities provided by the prototype was tested at the INIAD campus by two SWDs. For comparison, we also developed a smartphone application that simply provides the two functionalities of the door and light controls. Considering the possible usage scenario, we asked the participants to perform a set of tasks in a classroom and then conducted semi-structured interviews about their experiences with our prototype. The participants generally were able to complete the tasks using both applications. Overall, the participants thought the set of functionalities provided by our prototype could be helpful. They also suggested new features and functionalities for improving the usability of the prototype such as integrating context-aware features and assist call functionality to remotely notify staff when they need help. Based on the feedback from the preliminary study, we are planning to refine our prototype and conduct further user studies involving people with different types of impairments to identify additional needs. After that, we are planning to apply our approach to the services for assisting PWDs to use public transportation.

日中大学の教育質的向上の取り組みに関する調査分析
――本学と協定校との比較研究を中心に
An analysis about the education qualitative improvement of the university in Japan and China

研究代表者　劉　文君（IR 室）

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
キーワード／①教育質的向上　Improving the quality of education
②学生調査　Student Survey
③共同研究　Collaborative research
④比較研究　Comparative studies
⑤国際交流　International Exchange
平成 30 年度交付額／1,496,634 円

研究発表／学会および口頭発表

（1）日本国内学会発表、フォーラム、ワークショップ講演

①劉文君「職業能力形成における大学教育の効果－卒業時調査からの知見」日本高等教育学会第　21 回大会、2018 年 6 月 2－3 日　桜美林大学

②劉文君「東洋大学の学生の学修時間― 『新入生アンケート』『在校生アンケート』『卒業時　アンケート』による検証」東洋大学 IR 室主催「平成 30 年度 東洋大学 IR シンポジウム

③劉文君「学生の自律的な学修時間をどう増やすか」2018 年 12 月 15 日

④劉文君「留学生と日本人学生の意識の差異－新入生アンケートの分析から」東洋大学 IR 室主催「国際高等教育研究ワークショップ　大学教育の質的向上」2019 年 1 月 23 日

（2）国際会議講、

①劉文君「IR と大学教育管理」中国海洋大学海外専門家シリーズ招聘講義、2018 年 5 月 11 日

②劉文君「日本における高等教育の質向上と情報公開」全国高等教育機関質的モニタリング学会主催「全国高等教育機関質的モニタリング学術年次大会」2018 年 7 月 8 日、大連理工大学

③劉文君「“一帯一路”高等教育教育の質向上と IR」中国海洋大学主催「第三回『一帯一路』　高等教育研究国際フォーラム」、2018 年 10 月 20 日

④劉文君「日本高端創新新人才培養戦略－21 世紀研究生院政策浅析」中国高等教育学会主催「高　等教育国際フォーム及び 2018 年度学術会議、2018 年 11 月 3 日

（3）刊行物

ワーキングペーパー『国際高等教育研究ワークショップ報告書　大学教育の質的向上』2019 年 3 月

（4）成果発表（予定）

①劉文君「留日中国大陸学生与日本学生対大学教育期待的差異」上海対外貿易大学『教育研究』2019 年 6 月予定。
②劉文君「私立大学における IR」大学教育学会第 41 回大会日本大学教育学会、2019 年 6 月 1 日予定
③劉文君「学生の学修意欲をいかに高めるか」日本高等教育学会第 22 回大会、2019 年 6 月 8 日予定

研究経過および成果の概要

１．研究方法

中国の教育部（日本の文科省に相当）高等教育評価センターなどの評価機関にインタビュー調査を行い、大学の質的向上に関する政策的最新動向を把握した。また本学の協定校である北京理工大学、中国海洋大学、対外貿易大学などで現地調査を行い、関係者にインタビューし、学生調査結果について統計分析した。質的研究と量的研究を通じて、日中大学の教育質的向上の取り組みとその現状について分析を行った。

２．研究経過および成果の概要

本研究は、本学と協定大学の教育質的向上の取り組みに関する実証的な検証を蓄積することにより、東洋大学をはじめ日本の大学における今後の質保証のあり方について、包括的体系的な検討を行い、大学の教育改善・マネジメントについて具体的な支援策、政策提言を目指して研究を進めてきた。主に次の三つの分野で研究を行った。

（1）日本、中国の高等教育政策、とりわけ大学の質保証に関する取り組みについて現地調査を踏まえ、比較分析した。高等教育研究者のネットワークを形成し、さらにその成果をワークショップの開催などを通じて内外に発信した。（2）本学の国際的な研究を活性化し、本学の研究成果の国外への発信を推進するとともに、中国の協定校をはじめより多くの大学との連携を強化するため、中国の大学の教育現状について分析した。(3) 本学ＩＲ室の活動として実施した学生調査の結果、と共同研究先の大学の学生調査結果に基づきを学生の学習時間、教員の教育形態などについて比較を行った。

研究結果について、協定校の研究協力者を招き、本学の白山キャンパスで国際高等教育研究ワークショップを開催し、発表内容を『国際高等教育研究ワークショップ報告書　大学教育の質的向上』（2019 年 3 月）に掲載した。　本研究は、本学と協定校の比較研究を通して、日中の大学とりわけ本学と協定校との間に大学の教育質向上の相互的促進に重要な意義があり、また、本学と協定校の大学教育と学生の学修状況についての相互理解と今後の学術交流、学生の交流への寄与も期待できる。

３．今後の研究における課題または問題点

本研究の成果をいかに生かして、大学教育改善に寄与するかが今後の課題であり、また本研究と通じて構築した研究ネットワークに基づき、いかに本学と協定校などの海外大学の研究者との協力関係を継続的に維持し、さらに拡大するのが問題点である。

Summary

Currently, quality assurance of higher education institutions and enhancement of global competitiveness have become major concerns worldwide. In such an environment, gains in learning outcomes of university students also become the major

theme for higher education institutions worldwide. Actually, in recent decades, many institutions across nations have been forced to embed learning outcomes into their curriculum. Many previous studies have shown that learning outcomes of students are strongly associated with the quality of pedagogy and student engagement or experience. This research seeks to grasp the association of university experiences with degree of learning through the comparative research of student self-reported surveys in Japan and China. The survey collects information that helps both higher education institutions and teachers improve teaching and learning outcomes, and reports on multiple facets of the student experience.

日本文化の背景となる仏教文化の研究

A Study of Buddhist Culture as the Background of Japanese Culture

研究代表者　相楽　勉　（東洋学研究所長、文学部哲学科）
研究分担者　伊吹　敦　（文学部東洋思想文化学科）
渡辺　章悟　（文学部東洋思想文化学科）
谷地　快一　（文学部日本文学文化学科）
菊地　章太　（ライフデザイン学部健康スポーツ学科）
水谷　香奈　（文学部東洋思想文化学科）
高橋　典史　（社会学部社会文化システム学科）
佐藤　厚　（東洋学研究所客員研究員）
大鹿　勝之　（東洋学研究所客員研究員）
コプラ・ヴィクター・バブー（東洋学研究所客員研究員）

研究期間　平成 30 年 4 月 10 日～平成 31 年 2 月 15 日
キーワード／①日本文化　Japanese Culture　②仏教　Buddhism　③日本文学　Japanese Culture　④日本哲学　Japanese Philosophy　⑤仏教教育　Buddhist Education
平成 30 年度交付額／3,600,000 円

研究発表／学会および口頭発表

・相楽勉

「〈哲学〉受容の背景をなす仏教文化」（東洋学研究所井上円了記念研究助成・大型研究特別支援助成による研究「日本文化の背景となる仏教文化の研究」公開講座、2018 年 12 月 22 日、東洋大学白山キャンパス）

・伊吹敦

「井上円了の仏教理解とその影響―近代中国仏教との関連を中心に」（日本印度学仏教学会・第 69 回学術大会、パネルC「近代仏教における井上円了の位置づけをめぐって」、2018 年 9 月 2 日、東洋大学白山キャンパス）

・渡辺章悟

「寺田福寿と井上円了」（東洋大学井上円了センター研究会、2018 年 7 月 28 日、東洋大学白山キャンパス）

「大乗仏教の説法者ダルマバーナカ」（愛知学院大学禅学研究所講演会、愛知学院大学・東海仏教学会共催、2018 年 6 月 21 日、愛知学院大学日進キャンパス）

「大乗仏教の伝承者たち―bodhisattva, satpuruṣa, dharmabhāṇaka―」日本印度学仏教学会・第 69 回学術大会、2018 年 9 月 1 日、東洋大学白山キャンパス）

「日本の山岳信仰の独自性―立山信仰をめぐって」（東洋学研究所井上円了記念研究助成・大型研究特別支援助成による研究「日本文化の背景となる仏教文化の研究」公開シンポジウム、2019 年 1 月 12 日、東洋大学白山キャンパス）

・谷地快一

「日本の詩歌と釈教―芭蕉連句を軸にして―」（東洋学研究所井上円了記念研究助成・大型研究特別支援助成による研究「日本文化の背景となる仏教文化の研究」公開シンポジウム、2019 年 1 月 12 日、東洋大学白山キャンパス）

・菊地章太

「媽祖崇拝の北限をたどる―東アジア海域世界における信仰圏の拡大」、（東洋学研究所井上円了記念研究助成・大型研究特別支援助成による研究「日本文化の背景となる仏教文化の研究」公開講座、2018 年 7 月 7 日、東洋大学白山キャンパス）

・水谷香奈

「平塚らいてうと仏教」（日本印度学仏教学会・第 69 回学術大会、2018 年 9 月 2 日、東洋大学白山キャンパス）

「平塚らいてうの思想―仏教との関わりを中心に―」（東洋学研究所井上円了記念研究助成・大型研究特別支援助成による研究「日本文化の背景となる仏教文化の研究」公開講座、2018 年 11 月 10 日、東洋大学白山キャンパス）

・高橋典史

"Immigration and Religious Pluralisation in Contemporary Japan" (The University of Manchester, East Asian Studies, Research Seminar Series, 2018/11/7)

"Migrants and Religious Diversification in Contemporary Japan" (Lecture, Centre for the Study of Japanese Religions, SOAS University of London (School of Oriental and African Studies), 2019/1/17)

・佐藤厚

「島地黙雷、生田得能『三国仏教略史』と東アジア近代仏教への影響」（近代日本仏教史研究会、2018 年 5 月 26 日、仏教大学紫野キャンパス）

「井上円了の仏教・哲学―致論と近代日本宗教思想における意義」（日本印度学仏教学会・第 69 回学術大会、パネルＣ「近代仏教における井上円了の位置づけをめぐって」、2018 年 9 月 2 日、東洋大学白山キャンパス）

「島地黙雷、生田得能共著『三国仏教略史』の中国語、韓国語への翻訳―近代日本仏教が東アジア仏教に与えた影響の一例」（東洋学研究所井上円了記念研究助成・大型研究特別支援助成による研究「日本文化の背景となる仏教文化の研究」公開シンポジウム、2019 年 1 月 12 日、東洋大学白山キャンパス）

研究発表／出版物

・相楽勉

「明治期の哲学受容再考―〈宗教と科学〉問題を軸に―」（『国際哲学研究』第 8 号、2019 年 3 月）

・伊吹敦

「浄覚　注般若波羅蜜多心経」（渡辺章悟・高橋尚夫編『般若心経註釈集成〈中国・日本編〉』起心書房、2018 年 7 月

「胡適の禅研究の史的意義とその限界」（『駒澤大學佛教學部論集』第 49 号、2018 年 10 月）

「近代における傳統佛教評價の問題―日本･中國における大乘非佛說論・『起信論』中國撰述說への對應を中心に」（『東洋思想文化』第 6 号、2019 年 3 月

・渡辺章悟

「総論　中国･日本における『般若心経』の註釈と展開」（『般若心経註釈集成〈中国・日本編〉』、起心書房、2018 年 7 月）

「大乗仏教の伝承者たち ―satpuruṣa をめぐって―」（『印度学仏教学研究』第 67 巻第 1 号、 2018 年 12 月）

「Satpuruṣa 考」（『東洋思想文化』第 6 号、2019 年 3 月）

・谷地快一

「求道の終着地―長明・兼好から芭蕉へ―」（『文学論藻』第 93 号、2019 年 3 月）

・菊地章太

「北限の地から媽祖崇拝を考える ― 民間信仰と道教の連続性」(『名古屋大学中国哲学論集』第 17 号、2018 年 5 月)
『位牌の成立 ― 儒教儀礼から仏教民俗へ』(東洋大学出版会、2018 年 6 月)
「世変経成立年代考」(『東洋学研究』第 56 号、2019 年 3 月)

・水谷香奈
「平塚らいてうと仏教―浄土問題への対応とその思想的背景―」(『印度学仏教学研究』第 67 巻第 2 号、2019 年 3 月)

・高橋典史
高橋典史・白波瀬達也・星野壮編著『現代日本の宗教と多文化共生――移民と地域社会の関係性を探る』(明石書店、2018 年 4 月)
高橋典史・高山秀嗣・武井順介「日本の伝統仏教の海外展開の現状と課題」(宗教情報リサーチセンター編・井上順孝責任編集『海外における日本宗教の展開―21 世紀の状況を中心に―』、公益財団法人国際宗教研究所宗教情報リサーチセンター、2019 年 3 月)

・佐藤厚
「儀礼文献としての『一乗法界図』」(『専修人文論集』第 104 号、2018 年 11 月)

・大鹿勝之
「紀平正美『行の哲学』における大行―個性と価値、歴史、国家―」(『東洋学研究』第 56 号、2019 年 3 月)

研究経過および成果の概要

１．研究方法

本研究は、日本仏教文化の特質について、諸外国の仏教との差異を踏まえて、日本仏教の特色を明らかにし、芸能や文学作品にみられる日本的な心性、日本の哲学の独自性について、その背景となる仏教文化の影響を、文学研究者、哲学研究者と仏教研究者とのコラボレーションによって探求する。また、海外における日本仏教文化の評価を、海外への仏教の布教活動の研究、国際シンポジウムでの海外研究者の見解により考察する。そして、以上の成果について、講座の開催を通じて、研究成果が広く一般に受容される教育のあり方を検討する。

研究体制として、平成 30 年度、本研究は以下の 3 つのユニットの構成のもと、研究が進められた。

第１ユニット　日本における仏教文化の特質についての研究

構成員：

伊吹　敦　研究員（分担テーマ：日本において禅が果たした役割）

渡辺章悟　研究員（分担テーマ：大乗仏教と日本仏教）

水谷香奈　研究員（分担テーマ：浄土思想と日本仏教）

第２ユニット　日本の文学・芸能への仏教の影響、中国思想と仏教との関係、日本哲学と仏教との関係についての研究

構成員：谷地快一　研究員（分担テーマ：俳諧を中心とした日本文学と仏教）

菊地章太　研究員（分担テーマ：中国思想と日本仏教）

相楽　勉　研究所長（分担テーマ：日本における明治期以降の哲学）

大鹿勝之　客員研究員（分担テーマ：昭和初期以後の哲学と仏教）

第３ユニット　日本仏教の海外への影響についての研究、仏教教育の比較研究

構成員：高橋典史　研究員（分担テーマ：日本仏教の海外布教）

佐藤　厚　客員研究員（分担テーマ：近代東アジアにおける日本仏教）

コプラ・ヴィクター・バブー　客員研究員（分担テーマ：仏教教育の比較研究）

以上の三つのユニットに接続領域を設け、それぞれのユニット間の関係と総合について検討がなされる。三つのユニットの接続領域においては、研究成果を踏まえた講座のプログラムを検討する。研究代

表者は、各ユニットの研究者との討議の上、統括し、研究の運営に当たる。

２．研究経過および成果の概要

本研究は井上円了記念研究助成・大型研究特別支援助成を受け、東洋学研究所の研究所長を研究代表者として平成 29 年度より 2 年計画で行われたが、平成 30 年 4 月 1 日より相楽勉研究員が所長の任務に就いたため、平成 30 年度の研究代表者は相楽勉研究所長となった。

また、本研究所の園田沙弥佳奨励研究員が研究支援者として、講座・シンポジウムの開催準備など、本研究の業務を担当した。

平成 30 年度の各研究者の研究活動は以下のとおりである。

谷地快一研究員

和歌連歌俳諧における釈教の世界を中心にして、仏教的思考の影響を追跡した。

伊吹敦研究員

中国の禅思想が日本に及ぼした影響について検討した。また、第 7 回韓・中・日国際仏教学術大会に参加した。

渡辺章悟研究員

修験道に見る仏教の展開を研究テーマとして、立山の山岳信仰の歴史と実際の信仰の調査のため平成 30 年 8 月 8 日～8 月 10 日、立山山頂、立山室堂、立山博物館、岩峅寺、雄山神社の調査を行った。

菊地章太研究員

中国道教の海域神信仰と日本仏教との融合の過程について、中国における媽祖崇拝の展開、および日本におけるその足跡を辿った。

水谷香奈研究員

平塚らいてうが仏教と関わってゆく経緯と、彼女の仏教理解について確認した。

高橋典史研究員

ハワイを中心とした近代における日本仏教の海外布教の研究を進め、また、欧州のドイツにおける日本宗教の関連組織による諸活動について調査した。

大鹿勝之客員研究員

紀平正美（1874-1949）の『行の哲学』の研究を進め、紀平の議論における仏教の背景を把握し、個性と価値、歴史、国家における紀平の議論を検討した。その成果については、本研究所紀要に論文を投稿した。

佐藤厚客員研究員

日本仏教が東アジアとの交渉の中で、韓国や中国など東アジア諸国にどのような影響を与えたのかについて、『三国仏教略史』の韓国語・中国語への翻訳を一例として研究した。また、鎌倉時代（13 世紀）の凝然が著わし、当時日本に存在した 8 つの主たる宗派と新興の禅宗と浄土宗の合計 10 の宗派について整理した文献『八宗綱要』の韓国における流通・影響、および『三国仏教略史』韓国語翻訳版に関して、平成 30 年 9 月 4 日～9 月 8 日に韓国の東国大学校図書館、国立中央図書館で調査を行った。

コプラ・ヴィクター・バブー客員研究員

昨年度は平成 29 年 10 月 5 日より 10 月 15 日まで来日し、研究発表、公開講義を行い、本研究所の研究員・客員研究員・奨励研究員と研究交流を行ったが、平成 30 年度は昨年度に引き続き来日して研究交流を予定していたものの、受け入れ体制が整わず、来日を見合わせることになった。

研究成果については、研究成果が広く一般に受容される教育のあり方を検討するため、平成 30 年 7 月 7 日、11 月 10 日、12 月 22 日に公開講座を開催し、菊地研究員、水谷研究員、相楽研究所長が研究成果を講座において発表した。公開講座については、平成 30 年 10 月 6 日に本研究所の原田香織研究員に講座を依頼し、東洋大学白山キャンパスで「小倉百人一首における仏教思想」という題目での公開講座が開催された。また、平成 31 年 1 月 12 日に、研究総括としてシンポジウムを開催し、相楽研究所が司会を務め、渡辺研究員、谷地研究員、佐藤客員研究員が研究発表を行った。

海外の研究者との研究交流については、伊吹敦研究員を研究代表者とする東洋学研究所の研究所プロ

ジェクト「東アジアにおける仏教思想の成立と展開、並びにその意義の解明」と連携して研究交流が進められ、また伊吹研究員を研究代表者とする科学研究費助成事業・科学研究費補助金研究（基盤研究（A））による共同研究「海外の研究者との連携による中国・日本における禅思想の形成と受容に関する研究」（JSPS 科研費 JP17H00904）と本研究との共催で、平成 30 年 7 月 21 日・7 月 22 日に国内外の研究者を講演者・発表者に招き、「世界の道元研究の現在」というテーマで第 1 回道元国際シンポジウムを開催した。

そして、本研究の研究成果をまとめた A4・総 120 ページの研究報告書を平成 31 年 2 月 15 日に刊行した。

３．今後の研究における課題または問題点

本研究において、各研究者の研究が進展し、講座・シンポジウムの開催によって成果を示すことができたが、日本における仏教文化の特質、および仏教文化と日本文化との関係については、総合的な把握がなしえたとは言いがたい。しかしながら、今後の研究への端緒となるような成果がなされたとみている。今後も、本研究の課題に関連した研究を進め、この課題に応えていきたい。

Summary

A Study of Buddhist Culture as the Background of Japanese Culture

Buddhism has a great influence on Japanese culture as seen in Japanese literature and custom and so on. However, as for Japanese literature, in order to grasp the influence of Buddhism precisely, it needs to be acquainted to Buddhism. In this case, the collaboration between Buddhist scholar and researcher of Japanese literature complement the lack of knowledge of both of them.

In addition, there is a problem how to deliver the result of specialized Buddhist research to the public. The advanced research of Buddhism is unapproachable for the outsider. On the other hand, it is hard to say that the fruitful research results penetrate widely into the public. Therefore, it needs to examine the method of general education with regard to Buddhist research.

This research aims at clarifying the characteristics of Japanese Buddhism by the comparative study with foreign Buddhism, and inquiring the influence of Buddhism on Japanese mentality in Japanese literature and traditional performing acts, and on Japanese philosophy after Meiji era. In this way, this research tries to grasp the essence of Japanese Buddhist culture. Moreover, as to the estimation of Japanese Buddhism in overseas, the researchers in this research consider the influence of Japanese Buddhism on overseas and the opinions of foreign Buddhist researchers in the international symposium. Concerning the diffusion of Buddhist knowledge, the researchers examine the methods of educations in the open lectures.

The researchers of this research and their role are as follows.

SAGARA Tsutomu, research presentative, director of the Institute of Oriental Studies, Toyo University in 2018, integrates the members' researches and researches the background of Buddhism in Japanese philosophy after Meiji era.

IBUKI Atsushi: the influence of Zen Buddhism on Japanese Buddhism

WATANABE Shogo: the worship of Buddhist canon and Japanese Buddhism

TANICHI Yoshikazu: the relationship of Buddhism to Haiku

KIKUCHI Noritaka: Chinese thought and Japanese Buddhism

MIZUTANI Kana: the thought of pure land Buddhism and Japanese Buddhism

TAKAHASHI Norihito: the overseas missionary of Buddhism

SATO Atsushi: Japanese Buddhism in the modern East Asia

OSHIKA Katsuyuki: Buddhism and Japanese philosophy of early Showa era

Koppula Victor Babu: Comparative study of Buddhist education

The research members research in the following three units.

Unit 1: the researchers study the characteristics of Japanese Buddhism comparing with foreign Buddhism.

Researchers: IBUKI Atsushi, WATANABE Shogo, MIZUTANI Kana

Unit 2: the researchers study Buddhist influence on Japanese mentality in Japanese literature and traditional performing art, the relationship between Chinese thought and Japanese Buddhism, and the Buddhist background of Japanese philosophy after Meiji era.

Researchers: TANICHI Yoshikazu, KIKUCHI Noritaka, SAGARA Tsutomu,
OSHIKA Katsuyuki:

Unit 3: the researchers consider the overseas missionary of Buddhism, the influence of Japanese Buddhism on East Asia, and Buddhist education in India, Japan, and other countries.

Researchers: TAKAHASHI Norihito, SATO Atsushi, Koppula Victor Babu

The researchers examine comparing the research results of these three units, and consider the research results in the comprehensive way.

「一帯一路」経済政策による中国経済の海外展開と
その関係諸地域に及ぼす文化的影響

The Progress of China's Overseas Economic Expansion by "Belt and Road Initiative" (B&R) and its Cultural Influence to B&R Related Regions

研究代表者　後藤武秀（研究員、法学部法律学科・教授）
研究分担者　[研究員]
郝仁平（経済学部国際経済学科・教授）
王雪萍（社会学部メディアコミュニケーション学科・准教授）
千葉正史（文学部史学科・教授）
井上貴也（法学部企業法学科・教授）
子島進（国際学部国際地域学科・教授）
松本誠一（社会学部社会文化システム学科・教授）
三沢伸生（社会学部社会文化システム学科・教授）
[客員研究員]
朱大明（北京大学国際法学院・副教授）
福田義昭（大阪大学大学院言語文化研究科・講師）
高橋圭（日本学術振興院・特別研究員）

研究期間／平成 30 年 4 月 10 日～平成 31 年 2 月 15 日（2 年計画のうち 2 年次目）
キーワード／①一帯一路　Belt and Road Initiative
②中国経済　China economy
③粤港澳大湾区　Great Bay Area
④文化的影響　Cultural influence
⑤交通基盤　Change infrastructure

平成 30 年度交付額／4,000,000 円

研究発表／学会および口頭発表

[論文]

・後藤武秀・郝仁平「中国南部における一帯一路の一拠点『粤港澳大湾区経済圏』の展開」国際検討会論文集、遼寧大学日本研究所、2019 年 9 月

・後藤武秀・郝仁平「中国国内一帯一路建設的新動向」日本研究第 166 期、遼寧大学日本研究所

・Nobuo MISAWA, "Koji Okubo and Tatar Exiles in Interwar Japan", in ABDURRESİT IBRAHiIM VE ZAMANI (Ali Merthan DUNDAR ed.), Ankara ; Turk Tarih Kurumu, 2018, ISBN :978-975-16-3558-7,pp.55-74.

・福田義昭「昭和期の日本文学における在日ムスリムの表象（４）――軽井沢篇」『アジア文化研究所研究年報』（東洋大学アジア文化研究所）第 53 号、2018

・福田義昭「現代エジプト小説における祖国（ワタン）像《断章》」『ワタン論集（仮題）』中東現代文学研究会編、2018

・ Yoshiaki FUKUDA, "Limādhā Yutarjimūna al-Adab al-'Arabī ilā al-Lugha

al-Yābāniyya?: Naẓra ‘alā al-Nuṣūṣ al-Muḥādhiya li-l-A‘māl al-Mutarjama (Why translate Arabic Literature into the Japanese Language?: A Look at the Paratexts of the Translated Works),” Al-Mu’tamar al-Dawlī al-Khāmis: al-Tarjama wa-Ishkālāt al-Muthāqafa (5): Muntadā al-‘Alāqāt al-‘Arabiyya wa-al-Dawliyya, (5th International conference for Translation and the Problematics of Acculturation, held by The Forum for Arab and International Relations) at the Ritz-Carlton Hotel, Doha, Qatar. (December 11-12, 2018, アラビア語)
・井上貴也「珠江デルタ地帯の会社法制-香港・中国・日本の会社法制の比較-」国際検討会論文集、遼寧大学日本研究所、2019 年 9 月
・朱大明「股東決議的瑕疵分類：範囲拡張及其限局性」月旦民商法雑誌 59 号、2018 年 4 月

[国内の学会における口頭報告]
・後藤武秀「中国の一帯一路構想の延長線上にある国際社会―中華思想の現代的展開―」、地域文化学会第 21 回研究大会、2018 年 6 月 9 日、東京海洋大学
・郝仁平「中国経済の課題と展望―『中所得の罠』を乗り越えられるか―」、地域文化学会第 228 回月例研究会、2018 年 11 月 7 日、東京海洋大学
・三沢伸生「近代日本のイスラーム世界進出：諸史資料の GIS 活用に向けて」『フィールドネット・ワークショップ　地理情報から読み解く歴史：イスラーム史における GIS の活用』（於：東京外国語大学アジア・アフリカ言語文化研究所）、2019 年 3 月 21 日、開催団体：東京外国語大学アジア・アフリカ言語文化研究所（主催）

[海外のシンポジウムにおける口頭報告]
・後藤武秀・郝仁平「中国南部における一帯一路の一拠点『粤港澳大湾区経済圏』の展開」、中国遼寧大学日本研究所主催『一帯一路框架下的中日交流与合作』国際学術研討会兼中日和平友好条約締結四十周年紀念会、2018 年 9 月 8 日、中国遼寧大学
・井上貴也「珠江デルタ地帯の会社法制」、中国遼寧大学日本研究所主催『一帯一路框架下的中日交流与合作』国際学術研討会兼中日和平友好条約締結四十周年紀念会、2018 年 9 月 8 日、中国遼寧大学
・Nobuo MISAWA, “Sultan II. Abdulhamid ve Japonlar”, Vefatinin 100.Yilinda Sultan II.Abdulhamid ve Donem, Uluslararasi Kongresi, 2018 年 10 月 23 日（トルコ：イスタンブル）開催団体 Sulan II Abdulhamid Uygulama ve Arastirma Merkezi, Yildiz Teknik Universitesi （主催）、於：Cumhurbaskanlik Osmanli Arsivi, （トルコ語）

[アジア文化研究所主催によるシンポジウム等の口頭報告(招聘研究者の報告を含む)]
・後藤武秀「珠江三角地帯から粤港澳大湾区への発展」2018 年 12 月 1 日、東洋大学
・朱大明「粤港澳大湾区と会社法の発展」2018 年 12 月 1 日、東洋大学
・馬文淵(清華大学創業教育センター)「粤港澳大湾区における産業学の発展と大学の機能」2018 年 12 月 1 日、東洋大学
・易在成(マカオ科技大学)「粤港澳大湾区におけるマカオの位置づけとその役割」2018 年 12 月 1 日、東洋大学
・崔岩(遼寧大学日本研究所教授)「中国東北地区振興与一帯一路構想」2019 年 1 月 26 日、東洋大学

・崔铮(遼寧大学転型国家経済政治研究センター副主任)「中国一帯一路倡

研究経過および成果の概要

１．研究方法

研究組織を代表者以外の分担者 10 名（研究員７、客員研究員３）、研究支援者１名、RA３名で構成した。研究に用いた主要言語は、日本語以外に中国語・英語である。

「一帯一路」経済構想は中国から六大回廊（①新ユーラシアブリッジ、②中国・モンゴル・ロシア、③中国・中央アジア・西アジア、④中国・インドシナ半島、⑤中国・パキスタン、⑥バングラデシュ・中国・インド・ミャンマー）に向けて展開されているが、2018 年度も前年度と同様に「西進」班（三沢・福田・高橋）と「南進」班（後藤・子島）を立てて推進することとした。

本共同研究の核心をなす「中国経済の研究」班（郝・王・朱）では経済政策のみならず中国語教育の世界展開、法整備の対応状況などを多面的に扱うことを目指し、そして「交通網の研究」班（千葉・井上）では具体的な交通基盤の整備、交通量の変化等を追うことを視野に入れている。

中国は地理的・文化的に多様性に富み、「一帯一路」経済構想は中国全地方で創唱されており、その全体像を画一的に把握することが難しいので、中国内のどこかに視座を定めて研究内容を深化させることが肝要であろう。そのため、2017 年度に中国遼寧省の国家重点大学・遼寧大学の日本研究所とアジア文化研究所との交流協定を締結し、本年度はその成果として相互にシンポジウムを開催した。

さらに、今年度は、「一帯一路」経済構想の影響（中国経済の海外展開）の及ぶ先について、われわれはトルコに国際共同研究の交流拠点を求め、2018 年 12 月にアンカラ大学と交流協定を締結した。

２．研究経過および成果の概要

本年度は、一帯一路構想の展開過程において、中国で最も大きな投資が行われ、経済的にも文化的にも大きな変貌を遂げつつある南中国を共通の研究対象領域とした。特に、香港、マカオ､広州･深セン･珠海を海上橋で連結する港珠澳大橋が 2018 年 10 月に開通したことに伴い、この地域がどのように変貌しているかを多面的に調査研究した。中国では、この地域の名称が従来の珠江デルタ地帯という表現から粤港澳大湾区へと変わっており、これに伴って、マカオに隣接する珠海市横琴地区に巨大な投資が行われ、産業のイノベーション基地として機能しだしている状況を、現地の研究者とともに解明に努めた。その成果は、2018 年 12 月 1 日に東洋大学で開催したシンポジウムに、この地区から研究者を招聘して共同討議したことに現れている。また、昨年度に交流協定を締結した遼寧大学におけるシンポジウムに参加し、中国南部の開発の状況として報告することができた。

ほか、本共同研究の一つの課題は、若手研究者の指導と育成に注力することである。本年度は、研究支援者としてすでに博士号を有する梁凌詩ナンシー女史を採用し、RA として本学大学院博士後期課程に在籍する荻翔一(社会学研究科)、保科俊(社会学研究科)、程楽(文学研究科)を採用した。これらの若手研究者には、1 年間を通じほぼ安定して、週に 2 日程度の参加を求め、それぞれ本研究に関連する課題を提供し、基礎資料の収集と分析に携わる機会を提供した。

その最大の成果が、梁凌詩ナンシー編『一帯一路構想の進展――中国人労働者の厳雄と貿易の推移――The Progress of ‘Belt and Road Initiative:The Movement of Chinese Workers and the Trend of Trade』東洋大学アジア文化研究所 Research Paper Series: 11、2018 年 12 月の刊行である。著書として刊行することができ、同女史の将来の発展に資することができたことは、我々共同研究者としての大きな喜びである。

３．今後の研究における課題または問題点

日本における一帯一路関連の研究に最初に着手したのが本共同研究である。このことは日本の斯学において今後とも特筆されるであろう。また、ともすると政治的観点から論じられがちな本課題について、具体的データを基にした研究成果を冊子として出版することができたのも本研究の特筆すべき成果である。しかし、本課題に関する研究はいまだその緒に就いたばかりであり、多くの問題が論じられていくことになろう。そこで、アジア文化研究所としては、本課題研究のために集積した資料をオンラインで公開することができるよう努めていく。

Summary

The Progress of China's Overseas Economic Expansion by "Belt and Road Initiative" (B&R) and its Cultural Influence to B&R Related Regions since 2013 under the political regime of Chinese president Xi Jinping, "Belt and Road" initiative is seen as the fundamental arrangement of China's economic development plan. This initiative is believed that it will posit China's economic ranking in the globalizing economic world, therefore, China keeps figuring a new China-centered world economic regime. In order to export China' capital and technology to foreign countries, China establishes Asian Infrastructure Investment Bank (AIIB) and concludes certain development agreements with participating counties. Besides, China also conducts to promote Chinese language education globally to increase occasions of using Chinese as a common language by promoting Chinese technical experts and workers to work globally. International Chinese work migrants can also help to heighten linkage between the oversea Chinese worldwide and further increase the opportunity of Chinese as a common language in business. Therefore, "Belt and Road" initiative has strong influence on both economic and cultural area.

Our collaborative research aims to clarify how the key person of China's politic express or delivery message related to the "Belt and Road", what is the research trend of "Belt and Road" among the world, what kind of China related acculturation has occurred in "Belt and Road" participating countries, etc.

In 2017 and 2018, our research team has made up a timeline about "Belt and Road" by organizing the actions of "Belt and Road" key persons and its official news releases. Our research team also engage researches on how "Belt and Road" initiative is being researched among the world and the situation of Chinese language education in middle East region. We found that although "Belt and Road" has been introduced for 4 years, researches on "Belt and Road" are flourished in Chinese academia, but not in Japan or English academia. It may because most of the construction projects related to "Belt and Road" are still under discussion or construction and the main development fund provider, AIIB starts its operation in late 2015. Besides, according to our case study in middle East about Chinese language education, although Chinese government urges to promote Chinese language education together with the "Belt and Road" initiative, there is no evidence showing the demand of Chinese language education increase sharply in middle East in 2017.

慢性炎症により惹起される生活習慣病予防に関する研究

Study on the prevention of lifestyle-related diseases caused by chronic inflammation

研究代表者　宮越　雄一（食環境科学部健康栄養学科）
研究分担者　近藤　和雄（食環境科学部健康栄養学科）
矢野　友啓（食環境科学部食環境科学科）

研究期間／平成 30 年 4 月 10 日～平成 31 年 2 月 15 日
キーワード／①生活習慣病　Lifestyle-related diseases
②慢性炎症　Chronic inflammation
③骨粗鬆症　Osteoporosis
④動脈硬化　Arteriosclerosis
⑤予防　Prevention
平成 30 年度交付額／1590000 円

研究発表／学会および口頭発表

・Aya Ishitsuka, Kakeru Kono, ○Tomohiro Yano
ADVANCED GLYCATION END-PRODUCTS SPPRESS LYSYL OXIDASE EXPRESSION VIA SECRETION OF TNF ALPHA IN OSTEOBLASTIC CELLS.:7th Asia-pacific osteoporosis conference: Sydney,Australia: 2018.11
・竹内郁恵、岸本良美、岩島知未、田中未央里、田口千恵、○近藤和雄：単球系細胞における小胞体ストレスマーカー発現に及ぼす抹茶の影響：第 72 回日本栄養・食糧学会大会：岡山：2018 年 5 月
・竹内郁恵、岸本良美、岩島知未、田中未央里、田口千恵、○近藤和雄：小胞体ストレス応答機構に対する抹茶ならびに EGCG の影響：第 16 回日本機能性食品医用学会総会：新潟：2018 年 12 月

研究経過および成果の概要

１．　研究方法

①　骨芽細胞における骨粗鬆症発症に関与するシグナル系の解析

細胞株として、MG-63（ヒト骨肉腫由来骨芽細胞株）を用いた。試薬には AGEs として Albumin glycated human（グルコース,ヒトアルブミン由来）を用いた。AGEs 0 –100 μg/mL 含有培地で MG-63 を培養し、骨質形成に関与するリジオキシダーゼ（LOX）　mRNA 発現量を qRT-PCR 法で評価した。次いで AGEs 100 μg/mL 含有培地で MG-63 を培養し、LOX の上流因子である JAK2 のリン酸化レベル（pJAK2）を western blot 法で経時的に評価した。pJAK2 レベルの上昇が見られた 2 つの時間帯において、pJAK2 レベル、サイトカイン（TNFα, IL-6, IL-1β）mRNA 発現を評価した。最後に、TNFα 阻害薬を用いて LOX 発現を評価した。また、EGCG 0-1 μM 含有培地で 24 時間培養後、AGEs 100 μg/mL 含有培地で 24 時間培養後、DNMT3b と LOX の mRNA 発現量を測定した。

②　単球系細胞における動脈硬化発症危険因子である小胞体ストレスの制御機序の解析

細胞株として、THP-1（ヒト単球系細胞株）を用いた。小胞体ストレッサーとして thapsigargin を用いた。Thapsigargin 1 nM 及び EGCG 0-13 μM 含有培地で THP-1 を 6 時間培養し、小胞体ス

トレス応答機構に関与する分子 GRP78, sXBP-1, ATF6, EDEM1, ERdj5, ATF4, ATF3m, CHOP、炎症性サイトカインである TNF-α, IL-1βと抗酸化酵素である HO-1, NQO1, GPx の mRNA 発現量を qRT-PCR 法で、タンパクレベルを western blot 法で測定した。また、経口指示薬 DCFH-DA を取り込ませた THP-1 を EGCG 6.5 μM 含有培地で 1 時間培養後、さらに thapsigargin 1 nM 含有培地で 2 時間培養後、485/528 nm における蛍光強度を測定し、活性酸素(ROS)発生量を測定した。

２．研究経過および成果の概要

①の研究経過

AGEs100 μg/mL で LOX 発現は顕著に抑制された。また、AGEs 処理 30 分後及び 6 時間後に pJAK2 レベルは上昇傾向にあり、6 時間後の pJAK2 レベルのみ AGEs 濃度依存的に増加した。各サイトカインの発現量は TNFα のみ AGEs 濃度依存的に上昇した。また、LOX 発現は TNFα 阻害薬の濃度依存的に増加した。AGEs と EGCG を併用すると、顕著に LOX 発現が抑制され、それと関連して LOX 発現抑制に関与している epigenetic factor の 1 つである DNMT3b が抑制される傾向が認められた。

②の研究経過

THP-1 細胞において、thapsigargin 処理により小胞体ストレス応答関連遺伝子の GRP78、sXBP-1、ATF6、EDEM1、ERdj5、ATF4、ATF3、IL-1β、HO-1 の mRNA 発現が有意に増加したが、EGCG 添加により有意に減少した。CHOP と TNF-α では thapsigargin 処理により顕著に増加したが、EGCG 添加による有意な変化は認められなかった。NQO1 は EGCG 添加により mRNA の発現量が低下したが、GPx では thapsigargin 添加や EGCG 添加による変動はみられなかった。タンパク質発現においては、GRP78 は mRNA 同様、thapsigargin 添加により発現が誘導され、EGCG 添加によって有意に抑制された。sXBP-1、ATF4、CHOP では thapsigargin 添加によるタンパク質の発現増加は認められなかった。ROS 産生においては、thapsigargin 添加による ROS 産生の増強はみられなかったものの、EGCG 添加による ROS 産生の有意な抑制が認められた。

以上の研究成果を総括すると、①では、AGEs は、骨芽細胞において生理的架橋の形成因子であり、骨質維持に中心的因子である LOX 発現を抑制することが明確に示された。また、AGEs による LOX 発現抑制機序として、AGEs 刺激によりその下流の炎症性サイトカインシグナルが活性化され、まず、炎症性サイトカインの中で TNF-αの合成が活性化され、その分泌量が増加したと推測される。それに引き続き、オートクラインループ様式で、分泌された TNF-αを介して、その下流の JAK2 が活性化され、DNMTs 特に、DNMT3b により LOX 発現が抑制され、このシグナル経路が AGEs が原因で惹起される骨質劣化の主経路と推測された。また、EGCG は主に DNMT3b 発現を抑制することにより、LOX 発現を回復させる可能性が推測され、炎症により惹起される骨質劣化予防成分として有望である可能性が推測された。

②では、EGCG は、単球系細胞において、thapsigargin により誘導された小胞体ストレス応答関連遺伝子の誘導に対して抑制作用を有する可能性が示唆された。したがって、小胞体ストレスの抑制には EGCG が有効である可能性が示された。さらに、EGCG は炎症性サイトカインの減少ならびに ROS 産生の低下作用を有することが判明した。これらの結果は、動脈硬化の発症の主要因である単球系細胞の泡沫化に関与している酸化的ストレス、炎症及び小胞体ストレスを EGCG が軽減することが考えられた。したがって、EGCG が動脈硬化の予防成分として有効であることが推測された。

以上の結果を総合すると、EGCG は慢性炎症により惹起される生活習慣病（骨質劣化型骨粗鬆症及び動脈硬化症）に対する予防成分として有望であることが推測される。

３．今後の研究における課題または問題点

EGCG のこれらの生活習慣病予防に有効であることを検証し、実用化するためには、動物モデル及び小規模ヒト介入研究が必要であり、今後、その方向で研究を遂行するように検討する。

Summary

The extension of health life expectancy is absolutely required to suppress the increase of medical expense in Japan year by year. In order to complete this mission, the reduction of incidence of lifestyle-related disease, a main factor to reduce health life expectancy, is necessary. Chronic inflammation is very important as an essentially pathologic condition to induce most of lifestyle-related disease, and thereby, it is ultimately important to prevent the occurrence of the inflammation-induced lifestyle-related disease for the extension of health life expectancy. Of lifestyle-related diseases, there is no effectively preventive approach against osteoporosis caused by loss of bone quality, and arteriosclerosis acts as a basically pathologic condition to induce cerebrovascular and circulatory organ disease. Additionally, the two diseases mainly contribute to the reduction of health life expectancy. Thus, establishment of new and effective approaches for the prevention of the diseases is essential to complete the extension of healthy life expectancy. The present study was undertaken to perform the approaches.

AGEs (100 μg/mL) treatment could significantly suppresse both of LOX mRNA in MG63 (a cell culture model of human osteoblastic cell) and protein levels compared to non-treated group. The activation of JAK2, an upstream signal of LOX, was observed at 6 hrs and 24 hrs after the AGEs treatment. The former activation was induced by direct signal of AGEs signal, and the latter activation was induced by TNF-α. TNF-α was directly induced by AGEs stimulation, and subsequently the secreted molecule activated JAK2 in an aoutcrine-loop and finally suppressed LOX expression. DNMT3b might contribute to the suppression of LOX mRNA as a negative trans-activating factor, and at least, EGCG could restore the expression of LOX mRNA via the inhibition of DNMT3b. From this results, it is concluded that EGCG acts as a promising phytochemical to prevent chronic inflammation-induced LOX suppression, leading to the prevention of osteoporosis caused by loss of bone quality.

Thapsigargin (an ER inducer) treatment could induce the mRNA expression of several ER response-related genes,GRP78, sXBP-1, ATF6, EDEM1, ERDj5, ATF4, ATF3, IL-1, HO-1, in THP-1 cells (a cell culture model of human monocyte), and oppositely, EGCG treatment could reverse the thapsigargin-induced mRNAs in ER response-related genes. With respect to ROS production in THP-1 cells, thapsigargin did not stimulate ROS production, but EGCG could significantly suppress the ROS production in THP-1 cells. From these results, it is concluded that EGCG acts as a promising phytochemical to suppress to chronic inflammation-induced ER response in monocytes, leading to the prevention of arteriosclerosis.

越後宮川新田高橋家文書の研究

The study of Takahashi Families documents at Miyagawa-shinden, Nigata prf.

研究代表者　白川部達夫（研究員、文学部史学科・教授）
研究分担者　岩下　哲典（文学部史学科・教授）
松本剣志郎（客員研究員・法政大学文学部・専任講師）

研究期間／平成 30 年 4 月 10 日～平成 31 年 2 月 15 日

キーワード／①新潟県の地主　The landholder of Niigata prefecture
②高橋九郎　Takahashi Kuro
③名望家　The man held in high
④地域社会　The local community
⑤古文書整理　The arranging and filing about the ancient documents

平成 30 年度交付額／1590000 円

研究発表／(1)学会および口頭発表
2018 年 6 月 23 日　研究会
山崎善弘（東京未来大学モチベーション行動科学部専任講師）「近世畿内における地域管理体制とその特質」、落合功（青山学院大学経済学部教授）「塩業経営者の調整と連帯」、総合討論
(2)論文等著作物
『越後宮川新田高橋家文書の研究』Ⅰ（人間科学総合研究所共同研究 2017 年度報告書、198 頁、2018 年 7 月刊
『越後宮川新田高橋家文書の研究』Ⅱ（人間科学総合研究所共同研究 2018 年度報告書、196 頁、2019 年 2 月刊
『越後国宮川新田高橋家文書目録』（人間科学総合研究所共同研究報告書・別冊 323 頁、2019 年 2 月刊

(3)その他
なし

○研究経過および成果の概要
1. 研究方法
本研究は、学祖井上円了博士の実家、長岡市浦・慈光寺の檀那総代で、東洋大学創立に多額の寄付を寄せた功労者高橋九郎の子孫より本学に寄贈された同家文書の整理・研究を目的として組織されたものである。2012 年度から 2014 年度の間に、「近世・近代の名望家と地域社会」というテーマで、一度、共同研究を行い、報告書と仮目録を作成した。しかし目録は仮のもので、細目ができて

いなかったので、今回は目録の完成と写真撮影、史料集作成、ならびに研究を目的に再度、申請して認められたものである。したがって、研究は目録作成と写真撮影を中心に、高橋家の展開を明らかにする分析作業を行った。

2. 研究経過および成果の概要

１、目録作成は、高橋家文書東洋大学寄贈分については細目目録を完成した。神谷支所分については、細目目録には取りかかれなかったが、大学分については完了したことから、仮目録の「仮」をはずした。

２、写真の確認と撮影については、前回撮影した分は確認をしていなかったので、原本と対照して、撮影漏れの再撮影、表題付けなどの作業をしながら、未撮影分の撮影を行った。

３、史料集については、報告書Ⅰには高橋九郎と親交があり、井上円了の先生でもあった石黒忠悳（陸軍軍医総監）書簡約八〇通を掲載した。また報告書Ⅱには宮川新田と高橋家、家職として行っていた医者の官位取得一件文書、領主である長岡藩の天保期所替え一件文書、石黒忠悳の子息忠篤の書簡を掲載した。

４、研究会については 6 月 23 日に研究会を開いた。その内容は研究報告書Ⅱに示した。

5、調査については、今年度は前年度に続いて 2018 年 11 月 11 日～12 日に、京都山科の村山家文書を研究分担者松本剣志郎と井上円了記念博物館学芸員北田建二が調査した。

3. 今後の研究における課題または問題点

東洋大学寄贈分の目録は完成したが、神谷区分は若干、細目目録を作成する必要が残った。また子息に継承された近代の書状文書軸 10 数巻の目録ができていない。写真撮影も若干残したので、完成させつつ研究を進める課題が残った。

○Summary

The study of Takahashi Families documents at Miyagawa-shinden, Nigata prf.

Representative　Tatsuo SHRAKAWABE(Toyo university)

Cooperator　Tetsunori IWASHITA(Toyo university) and Kenshiro MATSUMOTO(Hosei university)

KEY WORD

The landholder of Niigata prefecture, Takahashi Kuro, The man held in high,
The local community, The arranging and filing about the ancient documents

○Summary

This is the study of Takahashi Families documents at Miyagawa-shinden of Ura village :Nagaoka city ,Nigata prf. See our Report of the 2017 academic year about circumstances

Research results

1. We made the complete catalogue of Takahashi Families documents owned by Toyo university.
2. We took photograph documents unfinished completely.
3. We published the manuscript documents by Tadazane Ishiguro, the surgeon major general of the

Army of the Great Empire of Japan and Kurou Takahasis best friend. This was counted 83 documents.

Then, we published the manuscript documents about getting the medical license and about the Land Requisition Orders at Tenpo period of Edo era.

4. We had a meeting to study Takahashi Families documents at June 23. In this meeting there were Yoshihiro yamazakis speech and Ko otiais.

5. Kenshiro Matsumoto and Kennji Kitada,who is the curator of the Enryo Inoue memorial museam, conducted the academic investigation about Murayama Families documents, at Yamashina :Kyoto city like of the 2017 .

That is the end.

グローバル時代の歴史学―社会史・文化史を再考する―

History in the Global Era：Rethinking Social and Cultural History

研究代表者　鈴木 道也（文学部史学科）
研究分担者　道重 一郎（経済学部国際経済学科）
髙畠 純夫（文学部史学科）
後藤 はる美（文学部史学科）
渡辺 賢一郎（人間科学総合研究所）

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日（3 年計画のうち 2 年次目）
キーワード／①史学史　Historiography
②新しい社会史　The New Social History
③文化論的転回　The Cultural Turn
④アナール学派　The Annales School
⑤ケンブリッジ・グループ　The Cambridge Group

平成 30 年度交付額／2,000,000 円

学会および口頭発表

・第 1 回公開セミナー　「社会史を再考する　3」
日時：2018 年 7 月 29 日（日）14:00～18:00
会場：東洋大学　白山キャンパス 10 号館 A101 号室
司会：道重一郎（東洋大学）
報告：長谷川まゆ帆（東京大学）
「時間のなかにある歴史叙述――「根をもつこと」と「闇の可視化」について――」
空由佳子（日本学術振興会）
「社会史の広がり――近世フランスにおける個人、家族、社会――」
鈴木道也（東洋大学）
「政治文化史の現在――中世フランスの象徴と権力」

・第 2 回公開セミナー　『痛みと感情のイギリス史』合評会　　※近世イギリス史研究会と共催
日時：2018 年 10 月 7 日（日）14:10～17:50
会場：早稲田大学戸山キャンパス　33 号館 3 階第 1 会議室
司会：春日あゆか（広島大学）、日尾野裕一（早稲田大学）
評者：千葉敏之（東京外国語大学）、赤江雄一（慶應義塾大学）、永島剛（専修大学）
応答：後藤はる美（東洋大学）、伊東剛史（東京外国語大学）

・第 3 回公開セミナー　「オーマイヤ教授・ヒューズ教授来日セミナー」
※関西イギリス史研究会と共催
日時：2019 年 3 月 4 日（月）13:00～18:00
会場：京都大学 総合研究 2 号館　第 10 演習室
司会：金澤周作（京都大学）、並河葉子（神戸市外国語大学）
報告：Jane Ohlmeyer（アイルランド・トリニティ・カレッジ・ダブリン大学）
"Entangled Histories: Ireland and Europe during the 1640s"
Ann Hughes（イギリス・キール大学名誉教授）
"'A Company of Ranting Sluts': Contextualising Women's Agency in the English Revolution"

・第 4 回公開セミナー　「社会史を再考する　4」
日時：2019 年 3 月 9 日（土）14:00～18:00
会場：東洋大学白山キャンパス　8 号館 125 記念ホール
司会：近藤和彦（東京大学名誉教授）
報告：Ann Hughes（イギリス・キール大学名誉教授）
"'A Company of Ranting Sluts': Contextualising Women's Agency in the English Revolution"
Jane Ohlmeyer（アイルランド・トリニティ・カレッジ・ダブリン大学）
"The 1641Depositions: Fresh Contexts and Public Perspectives"
コメント：三谷博（東京大学名誉教授）

・ワークショップ　「デジタル・ヒストリの実践」
日時：2019 年 3 月 12 日（火）14:00～18:00
会場：早稲田大学戸山キャンパス　36 号館 482 教室
講師：Ann Hughes、Jane Ohlmeyer

論文等著作物

・鈴木道也「ベルナール=グネ（鈴木道也訳）「13 世紀に歴史を書くということ――プリマと『王の物語』－(1)－」『東洋大学文学部紀要 史学科篇』44、2019 年 2 月、1～42 頁。

・道重一郎「18 世紀イングランド南部農村地域における店舗主（上）」『経済論集』（東洋大）44-2、2019 年 3 月。

・髙畠純夫『アイネイアス『攻城論』――解説・翻訳・註解――』、東洋大学出版会、2018 年 7 月 10 日、XLV + 302 頁。

・髙畠純夫・齋藤貴弘・竹内一博『図説　古代ギリシアの暮らし』、河出書房新社、2018 年 11 月 30 日、127 頁。

その他：海外研究者招聘および共同研究

・2019 年 3 月 3 日～3 月 15 日（13 日間）
Prof. Ann Hughes（キール大学名誉教授）
Prof. Jane Ohlmeyer（トリニティ・カレッジ・ダブリン大学）

研究経過および成果の概要

１．研究方法

本研究課題は、グローバル化のすすむ 21 世紀において新たな局面を迎える社会史・文化史の展開を振り返り、歴史学の今後の可能性について考察することを目的とする。本年度はフランス史やアイルランド史における展開に関心を広げ、計 4 回の公開セミナーおよび 1 回のワークショップの開催と、2 名の海外研究者の招聘による共同研究を活動の中心に据えた。

２．研究経過および成果の概要

イギリス近世史に焦点を絞った昨年度にくらべ、本年度はフランスやアイルランド、中世史の視点を取り入れることで議論を深化させることができた。

第 1 回公開セミナー（7/29）「社会史を再考する　3」では、長谷川まゆ帆氏（東京大学、フランス近世史）、空由佳子氏（日本学術振興会、フランス近世史）、鈴木道也氏（東洋大学、フランス中世史）を報告者に迎え、それぞれの研究軌跡に引き付け、社会史・文化史の展開を考察した。昨年度に扱ったイギリスとは異なる現状や主題の存在を確認することができた。

第 2 回公開セミナー（10/7）は、近世イギリス史研究会との共催で開催され、『痛みと感情の歴史学』（伊東剛史・後藤はる美編）の合評会が行われた。今回は中世史 2 名と近現代史 1 名のコメンテータを迎え、前後の時代との比較という視点から議論が深められた。

さらに 3/3～15 には、イギリスからアン・ヒューズ氏（キール大学名誉教授）、アイルランドからジェーン・オーマイヤ氏（トリニティ・カレッジ・ダブリン大学）を招聘し、東洋大学（3/9）および京都大学（3/4、関西イギリス史研究会と共催）にて社会史再考をテーマとするセミナー（第 3 回および第 4 回公開セミナー）を開催したほか、一連の共同研究を実施した。とくに主要な企画である 3/9 の東洋大学でのセミナーでは、近藤和彦氏（東京大学名誉教授）の司会のもと、イギリス＝アイルランド関係において「史上最も論争的史料」とも位置づけられる「1641 年反乱の被害者宣誓供述書」無料オンライン化プロジェクトを主導するオーマイヤ氏による報告に対し、日本近現代史の三谷博氏（東京大学名誉教授）がコメントを行い、歴史認識とパブリック・ヒストリの観点から活発な討論が行われた。他方で、イギリス革命期の女性を近年の研究対象とするヒューズ氏の報告では、「ジェンダー化」の視角を取り入れた歴史の重要性と、女性のエイジェンシー論の射程が時代を越えて議論された。

一連の公開セミナーおよびワークショップには延べ約 100 名以上の多彩な参加者を得て、さまざまな角度から歴史学の現在を考え直す機会となった。

３．今後の研究における課題または問題点

本年度は予定以上の公開セミナーを開催し、多くの成果を得たが、来日者の都合により招聘時期を 3 月に遅らせたことで、成果の活字化を年度内に行うことは困難になった（欧米と日本の学年暦

の違いから、現役で活躍する研究者を招聘できる時期は極めて限られており、3 月開催はやむを得ぬ選択でもある)。昨年度来の一連の国際セミナーでの講演は『人間科学総合研究所紀要』の別冊としてまとめ、来年度の早期に活字化をめざす。

Summary

This project aims to explore possibilities of history in the twenty-first century by rethinking the paths social and cultural histories have taken in the past fifty years. This year's scope of the project has been expanded to include French and Irish early modern histories as well as British history, while the comparisons with medieval and modern periods have been taken into account. Four consecutive seminars and a workshop were held in Tokyo and Kyoto (29 July 2018, 7 October 2018, 4, 9 and 12 March 2019) with distinguished scholars of the French, British and Irish early modern histories as key-note speakers (Prof. Mayuho Hasegawa of Tokyo University, Prof. Ann Hughes of Keele University, Prof. Jane Ohlmeyer of Trinity College Dublin). The seminars and the workshop attracted more than 100 participants in total and resulted in fruitful discussions. The outcome of these seminars will be published as a special issue of *The Bulletin of the Institute of Human Sciences* in 2019.

東アジアにおける仏教思想の成立と展開、並びにその意義の解明

Elucidation of the establishment, development and significance of Buddhist thought in East Asia

研究代表者　伊吹　敦　（文学部東洋思想文化学科）
研究分担者　渡辺　章悟（文学部東洋思想文化学科）
山口しのぶ（文学部東洋思想文化学科）
水谷　香奈（文学部東洋思想文化学科）
原田　香織（文学部日本文学文化学科）
高橋　典史（社会学部社会文化システム学科）
佐藤　厚　（東洋学研究所客員研究員）
舘　隆志　（東洋学研究所客員研究員）
伊藤　真　（東洋学研究所客員研究員）

研究期間／平成 30 年 4 月 10 日～平成 31 年 2 月 15 日
キーワード／①仏教思想　Buddhist thought
②禅思想　Zen Buddhism
③敦煌文書　Dunhuang manuscripts
④偽経　Fake Buddhist sutra
平成 30 年度交付額／1,800,000 円

研究発表／口頭発表

伊吹敦

・伊吹敦「禅宗在“人间佛教”理念中的位置」（国際シンポジウム「Chan·Zen·Seon：禅的形成及其在世界的展開」、2018 年 5 月 5 日、武漢大学（中国、武漢市））
・「井上円了の仏教理解とその影響―近代中国仏教との関連を中心に」（日本印度学仏教学会第 69 回学術大会、パネルC「近代仏教における井上円了の位置づけをめぐって」、2018 年 9 月 2 日、東洋大学白山キャンパス）
・「佛教は哲學なりや宗教なりや（上）―近代日本における佛教の宗教化と禪宗・眞宗の一元的理解の誕生」（国際禅研究プロジェクト定例研究会、2018 年 10 月 13 日、東洋大学白山キャンパス）
・「佛教は哲學なりや宗教なりや（下）―近代中國における淨土教・禪宗評價と佛教の脱宗教化」（国際禅研究プロジェクト定例研究会、2018 年 11 月 17 日、東洋大学白山キャンパス）
・「写本の変化が意味するもの―敦煌禅宗文献「大乗五方便」の諸本を中心に」（東洋大学国際哲学研究センター主催ワークショップ「知の〈アーカイブ〉の成立：写本研究を通して見える思想世界」、2019 年 1 月 12 日、東洋大学白山キャンパス）

渡辺章悟

・「寺田福寿と井上円了」（東洋大学井上円了センター研究会、2018 年 7 月 28 日、東洋大学白山

キャンパス）

川崎ミチコ

・「敦煌本佛母経と金棺出現図について」（「第 7 回　韓・中・日　国際仏教学術大会」、2018 年 6 月 29 日、韓国仏教歴史文化記念館（ソウル））

水谷香奈

・「平塚らいてうと仏教」（日本印度学仏教学会第 69 回学術大会、2018 年 9 月 2 日、東洋大学白山キャンパス）

・「平塚らいてうの思想―仏教との関わりを中心に」（東洋学研究所大型研究公開講座、2018 年 11 月 10 日、東洋大学白山キャンパス）

原田香織

・“The Japanese Medieval Thought Regarding Hakuin Zenji from the View point of Nohgaku Theatre（Noh & Kyogen, and Classical Japanese Theatre）”、（国際シンポジウム「Chan·Zen·Seon：禅的形成及其在世界的展開」、2018 年 5 月 4 日、武漢大学（中国、武漢市））

・「小倉百人一首における仏教思想」（東洋学研究所大型研究公開講座、2018 年 10 月 6 日、東洋大学白山キャンパス）

高橋典史

・“From Refugees to Supporters: Conversions Made by Religious Organizations in Contemporary Japan”,（XIX ISA World Congress of Sociology RC22 Sociology of Religion, 2018 年 7 月 17 日、メトロ・トロント・コンベンションセンター（カナダ、トロント））

佐藤厚

・「島地黙雷、生田得能『三国仏教略史』と東アジア近代仏教への影響」（近代日本仏教史研究会、2018 年 5 月 26 日、仏教大学（京都、北区））

・「養鸕徹定旧蔵『華厳経疏』（実際は『摂大乗論無性釈』への注釈書）断簡に見える行位論」（仏教思想学会、2018 年 7 月 7 日、創価大学（東京、八王子市））

・「新羅華厳の智儼伝承をめぐる一つの謎―湖北省博物館蔵『華厳経略疏』に記される「十句」」（日本印度学仏教学会第 69 回学術大会、2018 年 9 月 1 日、東洋大学白山キャンパス）

・「井上円了の仏教・哲学一致論と近代日本宗教思想における意義」（日本印度学仏教学会第 69 回学術大会、パネルC「近代仏教における井上円了の位置づけをめぐって」、2018 年 9 月 2 日、東洋大学白山キャンパス）

・「島地黙雷、生田得能共著『三国仏教略史』の中国語、韓国語への翻訳―近代日本仏教が東アジア仏教に与えた影響の一例」（東洋大学東洋学研究所公開シンポジウム、2019 年 1 月 12 日、東洋大学白山キャンパス）

舘隆志

・「日本鎌倉時代禅林漢語、日語之使用」「Chan·Zen·Seon：禅的形成及其在世界的展開」、2018 年 5 月 4 日、武漢大学（中国、武漢市））

・「中世禅林における重陽の喫茶文化―茱萸茶・菊花茶をめぐって」（日本印度学仏教学会第 69 回学術大会、2018 年 9 月 1 日、東洋大学白山キャンパス）

・「曹洞宗における重陽の受容」（曹洞宗総合研究センター第 20 回学術大会、2018 年 10 月 25 日、曹洞宗宗務庁）

伊藤真

・「今日の台湾における地蔵信仰の一側面―『占察善悪業報経』を中心に」（東洋大学東洋学研究所発表例会、2018 年 10 月 6 日、東洋大学白山キャンパス）

研究発表／出版物

伊吹敦

・「浄覚　注般若波羅蜜多心経」）（渡辺章悟・高橋尚夫編『般若心経註釈集成〈中国・日本編〉』起心書房、297-337 頁、2018 年 7 月）

・「胡適の禅研究の史的意義とその限界」（『駒澤大學佛教學部論集』四九、356-372 頁、2018 年 10 月）

・「人間佛教における禪評價の問題」（『国際禅研究』2、31-63 頁、2018 年 10 月）

・「近代における傳統佛教評價の問題―日本･中國における大乘非佛說論･『起信論』中國撰述說への對應を中心に」（『東洋思想文化』6、頁数未定、2019 年 3 月）

渡辺章悟

・「総論　中国･日本における『般若心経』の註釈と展開」『般若心経註釈集成〈中国・日本編〉』起心書房、1-25 頁、2018 年 7 月）

・「日本の山岳信仰の独自性―立山信仰をめぐって―」『東洋学研究』56、東洋大学附置東洋学研究所、頁数未定、2019 年 3 月）

川崎ミチコ

・「敦煌本佛母経と金棺出現図について」（『東アジア仏教学術論集』7、29-51 頁、2019 年 1 月）

原田香織

・「作品研究『朝長』―切腹様式と観音懺法のもつ演劇性」（『文学論藻』93、頁数未定、2019 年 2 月）

・「狂言『花子』における坐禅という仕掛け」（『東洋学研究』56、頁数未定、2019 年 3 月）

高橋典史

・高山秀嗣・武井順介との共著「日本の伝統仏教の海外展開の現状と課題」（宗教情報リサーチセンター編・井上順孝責任編集『海外における日本宗教の展開―21 世紀の状況を中心に―』、公益財団法人国際宗教研究所、宗教情報リサーチセンター、全 237 頁、共著の章全体 24-55 頁のうち、24-25 頁および 40-55 頁を担当、2019 年 3 月）

・「欧州における日本文化の発信と異文化交流を担う宗教関連組織に関する調査報告」（『「日本文化の背景となる仏教文化の研究」研究報告書』、東洋大学東洋学研究所、頁数未定、2019 年 3 月）

佐藤厚

・「儀礼文献としての『一乗法界図』」（『専修人文論集』104、専修大学人文学会、361-380 頁、2018 年 11 月）

舘隆志

・「曹洞宗における端午の受容」（『曹洞宗総合研究センター学術大会紀要』19、145-150 頁、2018 年 7 月）

・「中世禅林における重陽の喫茶文化―茱萸茶・菊花茶をめぐって」（『印度学仏教学研究』67-2、46-51 頁、2018 年 12 月）

・「鎌倉期禅僧の喫茶史料集成ならびに訓註（下一）」（『花園大学国際禅学研究所論叢』14、20-140頁、2019年3月）

伊藤真

・「今日の台湾における地蔵信仰の一側面―『占察経』を中心に」（『東洋学研究』56号、頁数未定、2019年3月）

研究経過および成果の概要

１．研究方法

本研究プロジェクトは、日本の東洋大学と中国の人民大学、韓国の金剛大学校の間で結ばれた交流協定に基づいて、毎年、三箇国の輪番で開催されることになった国際シンポジウム、「日・中・韓　国際仏教学術大会」の日本側の受け皿として東洋学研究所を位置付け、これを研究所の研究と国際化の起爆剤として活用し、研究活動の高度化を図らんとするものである。即ち、この国際シンポジウムでの毎回の統一テーマに合わせて、研究代表者・分担者が研究活動を推進し、シンポジウムでの交流を通して自らの研究を一段と高めることを目標としている。

具体的には、国際シンポジウムの開催に合わせて、三大学が三箇国の発表者を決定し、論文を書いてもらい、中国と韓国の研究者の論文については、事前にこちらで日本語に翻訳して開催国に送り（中国と韓国でも同様の作業を行う）、シンポジウム開催当日には、三箇国の発表者の原稿を三箇国で提示する論集を配布して討論を行う。そして事後には、その内容を網羅した論集を三箇国で自国語で公表するというものである。

したがって、この研究プロジェクトの中心は、この国際シンポジウム「中・日・韓　国際仏教学術大会」への参加そのものにあるが、それに向けて、海外の研究者に恥ずかしくない着実かつ視野の広い研究を行う必要があり、研究用の図書の購入や調査旅行、学会への参加、更には海外の研究者を招いての講演会やシンポジウムの開催も積極的に行い、こうした研究活動に基づいて、各研究代表者や研究分担者は、それぞれに学会発表や論文執筆等を行っている。

２．研究経過および成果の概要

本研究プロジェクトの中核を成す国際シンポジウム、「日・中・韓　国際仏教学術大会」も、平成30年度で7回目を迎え、今回は6月29日（土）・7月1日（日）の両日、韓国のソウルの韓国仏教歴史文化記念館2階の国際会議場を会場として「敦煌写本と仏教学」を統一テーマとして開催された。本研究プロジェクトからは、研究代表者の伊吹が日本側代表としての挨拶、ならびに韓国側発表者のコメンテーターを努め、また、研究分担者の川崎ミチコ氏が「敦煌本佛母経と金棺出現図について」と題して研究発表を行ったほか、近年、研究者として頭角を顕し、世界的に注目されている大竹晋氏を本研究プロジェクトとして発表者として招聘して発表して頂いた。その他、研究分担者の佐藤厚氏には通訳と韓国語原稿の翻訳をお願いし、また、同じく研究分担者の水谷香奈氏にも韓国語原稿の翻訳を担当して頂いた。このような形で本研究プロジェクトが大会の「共催」としての役割を十分に果たすことができたことに満足している。その他、日本からは発表者として敦煌禅宗文献の専門家である駒澤大学の程正氏、コメンテーターとして天台思想の世界的権威である創価大学の菅野博史氏、南北朝期の仏教文献に詳しい東洋大学東洋学研究所客員研究員の岡本一平氏が参加するなどして、日本の仏教研究のレヴェルの高さを示すことができた。

大会後は、研究代表者が中心となって発表論文・コメント・コメントへの回答の原稿整理等の作

業を行い、シンポジウムの内容を網羅した報告書、『東アジア仏教学術論集』第７号の発表と配布を行った。また、他の協定校との協議に基づいて、刊行後一年を経た『東アジア仏教学術論集』第６号のインターネットへのアップを行った。

平成 29 年度は「日・中・韓　国際仏教学術大会」を開催する立場となったため、研究費の大半をそのために使用せざるを得ずなかったが、平成 30 年度は、今後の大会テーマに沿った研究者をお招きしての講演会や国際シンポジウムを科研費によるプロジェクト「国際禅研究プロジェクト」と共催し、世界の研究動向に対する認識を新たにすることができた。具体的には、6 月 16 日にフレデリックジラールらの３名のフランス人研究者をお招きして､「フランスの研究者による禅研究」と題する国際シンポジウムを、7 月 21 日、22 日の両日には、竹村学長を初め、ラジ・シュタイネック氏、ウィリアム・ボディフォード氏ら 10 名の研究者を世界各国からお招きして「道元研究の現在」と題する国際シンポジウムを、更に、9 月 22 日には、定源氏ら 2 名の中国人研究者をお招きして「初期禅宗研究の最前線」と題する国際シンポジウムを開催した。「国際禅研究プロジェクト」との共催ということで、禅研究に関わるものが多いが、禅研究は、再来年の学術大会のテーマである「東アジア仏教における生活規範―戒律、大乗戒、清規、非僧非俗」に直接関係するものであるし、定源氏が取り上げた『金沙論』という新出文献は、中国撰述の偽作文献であり、来年度のテーマである「疑偽経と東アジア仏教」と密接に関わるものであった。これらの国際シンポジウムには、研究分担者の多くが参加して、それぞれ大きな刺激を得た。特に「道元研究の現在」では、研究分担者数人が司会や通訳、翻訳等を担当し、シンポジウムを大成功に導くことができた。

ただ、その反面、調査旅行を予定していた研究分担者が３名いたが、１名は他の研究費が得られたため、そちらで調査を行い、経費を消化できず、また、他の２名については、忙しくどうしても都合が着かなかったため調査旅行を見送らざるを得なかったことは遺憾であった。ただし、各研究分担者は同時並行的にいくつもの研究課題について研究を推進しているので、この影響は限定的であった。そのことは、各研究分担者の研究成果の豊富さによく現れている。

以上を要するに、本研究プロジェクトの最も大きな研究成果として、「日・中・韓　国際仏教学術大会」の韓国での共催と、その発表内容と討議の全てをまとめた『東アジア仏教学術論集』第 7 号の刊行があり、それ以外の成果として、東洋大学における上記の三つの国際シンポジウムの共催（その発表内容は、共催した「国際禅研究プロジェクト」の雑誌、『国際禅研究』に掲載、または掲載予定)、ならびに各研究代表者・分担者の研究発表と論文とを挙げることができる。

３．今後の研究における課題または問題点

来年度は本研究プロジェクトの最終年度であるが、事前の打ち合わせで第８回の学術大会の開催地は北京、統一テーマは「疑偽経と東アジア仏教」と決まっている。本プロジェクトからは研究分担者の佐藤厚・伊藤真両氏の発表が決まっており、佐藤氏は「朝鮮半島における『天地八陽神呪経』の受容と流通」、伊藤氏は「地蔵信仰における「鬼」―中国撰述地蔵経典とその周辺」をテーマに、現在、研究を進めており、４月中には論文を提出してもらえる手はずになっている。更に、この二人に加えて、日本仏教研究では第一人者ともいうべき東京大学の蓑輪顕量教授にも発表をお願いしており、「日本撰述の偽経について」というテーマで発表して頂けることになっている。

来年度の準備は、このように着々と進めており、大きな問題もなく実現できるものと考えているが、問題は再来年度であって、東洋大学での開催が決まっているにも拘わらず、来年度で本研究プロジェクトが終了するうえに、再来年度は制度上、応募することができない。そのため、十分な資

金を確保することが難しく、今から方法を模索している。

Summary

The purpose of this research project is to promote the internationalization of the institute of Oriental Studies and to upgrade our research abilities, by utilizing of the international symposium the “International Conference on East Asian Buddhism” that is held every year based on the “Study Exchange and Exchange Student Agreements among Toyo University in Japan and Renmin University in China and Geumgang University in South Korea”.

The seventh conference was held on Jun 29 and July 1, 2018 at the Korean Buddhism history and culture memorial hall in Seoul, and the unified theme was "the Dunhuang Manuscripts and Buddhist Study". At the symposium, not only the presenters of Japan, China, and South Korea made excellent presentations, but also the researchers who were most familiar with the presentation were invited from universities and research institutes in South Korea and Japan, and made deep comments, highly advanced discussions were held between them. It was able to give strong academic stimulation to the participants gathered from three countries. Three members of this research project gained many academic harvests by participating the international symposium.

After the conference, we concentrated on the edit of the presented papers, the commentators’ comments and the presenters’ answers to the comments, etc., and managed to publish and distribute *the Proceedings of the International Conference on East Asian Buddhism* vol.7. Also, based on consultation with other agreement schools, we uploaded *the Proceedings of the International Conference on East Asian Buddhism* vol.6, which passed one year after the publication, to the Internet.

In 2018, other than the “International Conference on East Asian Buddhism”, we invited researchers from inside and outside of Japan and held three lectures, in cooperation with the "International Zen Research Project" established by the adaptation of the “Grants in Aid for Scientific Research”. By taking the co-sponsored form, the number of the participants increased, the exchange of opinions was very active, every lecture was very successful.

Next year is the last year of this research project, and the “International Conference on East Asian Buddhism” will be held in Beijing, and the unified theme of it will be “Apocryphal Sūtras and East Asian Buddhism”. Although we think we can make the conference be successful as in the past, we have no financial support after that. So, we are worried whether we can continue this conference the year after next.

在日ムスリムによる多文化共生社会構築の試み―インドネシア人、トルコ人、パキスタン人の宗教ネットワークを事例に

Muslims efforts for making multi-cultural society in Japan: case studies of Indonesian, Turkish and Pakistani religious networks

研究代表者　子島　進（研究員、国際学部国際地域学科）
研究分担者　三沢 伸生（社会学部社会システム学科・教授）
研究分担者　服部 美奈（名古屋大学・教育発達科学研究科・教授）

研究期間／平成 30 年 4 月 10 日～平成 31 年 2 月 15 日
キーワード／①イスラーム　Islam
②日本　Japan
③地域交流　Community-based exchange
④宗教ネットワーク　Religious network

平成 30 年度交付額／364,000 円

研究発表／学会および口頭発表

・子島進「モスクと大学生との交流の可能性－大塚モスクと東洋大学の事例から－」日本福祉教育・ボランティア学習学会第 24 回あいち・なごや大会（平成 30 年 11 月）

・ザイナ・ホサム・エルデイン×子島進、2019 年「日本でも行われているシリア人によるシリア難民支援」『第三文明』3 月号（対談）。

・子島進（近刊）「プロジェクト報告　在日ムスリムによる多文化共生社会構築の試みーインドネシア人、トルコ人、パキスタン人の宗教ネットワークを事例に」『アジア文化研究所研究年報』53 号。

・子島進・服部美奈（近刊）「在日ムスリムによる地域交流―モスクでの聞き取り調査から」『アジア文化研究所研究年報』53 号。

・Nobuo MISAWA, “Koji Okubo and Tatar Exiles in Interwar Japan”, in *ABDURRESİT IBRAHiIM VE ZAMANI* (Ali Merthan DUNDAR ed.), Ankara ; Turk Tarih Kurumu, 2018, ISBN :978-975-16-3558-7,pp.55-74.

・Nobuo MISAWA, “Sultan II. Abdulhamid ve Japonlar”, Vefatinin 100.Yilinda Sultan II.Abdulhamid ve Donem, Uluslararasi Kongresi,　2018 年 10 月 23 日（トルコ:イスタンブル）開催団体　Sulan II Abdulhamid Uygulama ve Arastirma Merkezi, Yildiz Teknik Universitesi　（主催）、於：Cumhurbaskanlik Osmanli Arsivi.

・三沢伸生「近代日本のイスラーム世界進出：諸史資料の GIS 活用に向けて」『フィールドネット・ワークショップ　地理情報から読み解く歴史：イスラーム史における GIS の活用』（於：東京外国語大学アジア・アフリカ言語文化研究所）、2019 年 3 月 21 日、開催団体：東京外国語大学アジア・アフリカ

言語文化研究所（主催）。

・服部美奈(2018)「インドネシア 国際水準校: 国民教育における卓越性と教育の平等」（課題研究Ⅱ 公教育制度の第３ステージへの模索～自律的公設学校の国際比較を通して～），日本比較教育学会第 54 回大会，課題研究，東広島市芸術文化センターくらら（大会校：広島大学），2018 年 6 月 24 日
・服部美奈・西野節男・小林忠資(2018)「第 10 章　マレーシア（クランタン州）におけるイスラーム教育の発展に関する一考察」，服部美奈(2018)「第 11 章 イスラーム的な人間形成－その包括性」近藤孝弘・中矢礼美・西野節男編著 『地域研究　多様性の教育学へ』（リーディングス　比較教育学），東信堂, pp. 184-223，224-238.
・服部美奈(2018)「アジアにおける教育制度と改革動向」（第 11 章第 4 節），田中亨胤・越後哲治・中島千恵編著『改訂　未来に生きる教育学－変動期の教育の構築』，あいり出版， pp.172－178.

研究経過および成果の概要
１．研究方法
本研究においては、モスクを訪問し、インタビューを重ねる形で、資料収集を行っている。本年度は、計 4 名から長時間にわたる聞き取りを行った。
アキール・シディキ（大塚モスク）
ガリブ・ホサイン（大塚モスク）
ハルーン・クレイシ（大塚モスク）
ムハンメッド・ラーシット（東京ジャーミィ）

２．研究経過および成果の概要
本年度は、大塚モスクの地域交流の事例から、多文化共生に関するムスリムの基本的な価値観の一端について、インタビューをもとに明らかにした。とりわけ、ハルーン・クレイシ氏とガリブ・ホサイン氏への聞き取りから、この点を明らかにした。現在の地域交流の概要は以下の通りである。
大塚モスクはオープンから地域との関係を大切にしてきた。モスクの活動は大きく 3 つに分けることができえる。信者向け、地域のイベント、国内外で行う支援活動である。
信者向けとしては、子供を主たる対象とするクルアーン朗誦のコンテスト、親睦を深めるバーベキュー・パーティー、そして自然に親しみながらイスラームを学ぶキャンプなどがある。年二回のイードは、イスラームにとってとても大切な行事で、何百人というムスリムがモスクに集まり、お祝いする。社会的にも大事なお祭りで、地域住民にも参加してもらうイベントという性格もある。
地域のイベントとしては、春に行われる「南大塚さくらまつり」と、夏に行われる「東京大塚阿波おどり」にモスク開設当時から参加している。チャイやカレーの屋台を出して、近所を回ってあいさつをしている。
国内外での支援活動としては、2001 年に始めたのがアフガン難民に古着を送る活動である。2011 年の東日本大震災時には、大塚の商店街の協力のもと、食料品や日用品を集め、東北へ届けた。近年は、池袋でのホームレスへの炊き出しを行っている。長年、池袋で炊き出しや衣類の配布、医療相談を行っている NPO の TENOHASHI に協力している。
また、ここ数年は、シリアやロヒンギャの難民への支援に力を入れている。シリア人や、ロヒンギャの避難先になっているバングラデシュの人が中心になって、難民を支援している。特にシリア支援には、

若い日本人も参加している。

去年から、東洋大学との交流が活発になってきた。子供たちが運動する場所がなくて困っていたのですが、大学の体育館で学生と一緒に運動をしたり、サッカーをしたりして、子供たちも親もとても喜んでおり、この活動はこれからも続けていきたい。

聞き取りからは、「喜捨」と「ご近所を大切にする心がけ」がムスリムの基本的な価値観としてあり、それが日本での多文化共生においても生かされていることが理解できた。

本プロジェクトでは、在日ムスリムによる多文化共生社会構築の試みを、「より活性化させる一助となる」ことを目指してもいる。つづいて 2018 年度から本格的に始まった「東洋大学と大塚モスクの交流活動」について述べる。本年度の交流は下記のとおりである。

5 月　大学で講義。Sociology of Islam（担当：子島）で、シリア人男性とパキスタン人女性が英語で講義。それぞれ約 30 名が受講。

5 月～6 月（ラマダーン月）　モスク訪問。断食明けの食事に参加し、礼拝を見学。計 3 回で約 50 名が参加。

6 月下旬　第 1 回スポーツ交流会。モスク付属小学校の生徒 15 名が、大学体育館で競走、玉入れ、綱引きなど。ゼミ生を中心に、6 名がボランティアで運営。

6 月下旬　モスクで「いわき報告会」。大塚モスクは東日本大震災時に、福島県いわき市で 80 回にわたり物資の配布や炊き出し。国際学部は 2016 年からいわき市で農家支援。相互の活動を報告、いわきの農家直送の野菜で作ったカレーで会食。20 名が参加。

6 月下旬　朝霞でサッカー交流。モスクのサッカーチームとライフデザイン学部生が試合。20 名が参加（この様子は、NHK 教育で放映された）。

9 月下旬　第 2 回スポーツ交流会。幼稚園・小学校の園児・生徒 25 名が、白山キャンパスの体育館で運動。8 名が運営ボランティア。

10 月中旬　第 3 回スポーツ交流会。園児・生徒ならびにその保護者約 80 名のムスリムが運動・観戦。15 名が運営ボランティア。

11 月上旬　2 年ゼミ生 28 名がモスク訪問。礼拝見学後、幼稚園と小学校訪問。

３．今後の研究における課題または問題点

モスクでの聞き取りは順調に進んでおり、来年度も継続していきたい。今年度、学生とモスクの子どもたちとの交流が進展したことは、大きな成果である。異文化理解は、基本的に「教えてもらうだけ」の関係になりやすい（モスクで「見学」し、大学に呼んで「講義を受ける」）。 今年度、大学がホスト側となることで、初めて大塚モスクと Give and Take の関係になることができたと感じている。在日ムスリムによる多文化共生社会構築の試みを、「より活性化させる一助となる」ことを目指すという観点から、その意味は決して小さくないと言えるだろう。

2018 年末の段階で、スポーツ交流（運動会）とサッカーは、すでに来年度の準備を開始している。また、小学校の教師役（アシスタント）をゼミ生から出すことも、具体的な検討段階に入っている。さらに、成人ムスリム向けの日本語教室の開催（東洋大生が教師役）などの可能性についても検討していきたい。

Summary

Japan Islamic Trust is located at Masjid Otsuka, Toshima-ku, Tokyo. JIT is known for its volunteer activities in various fields such as relief operations for Syrian and Rohingya refugees, homeless in Tokyo, and affected people in disaster-hit areas in Japan. In this process, JIT has developed human, social and economic capital base with Japanese organizations. In the year of 2018, we have repeated interviews to JIT core members in order to understand their main volunteer activities. Through the interviews we have deepened our understanding of basic values which support Muslim volunteer activities. At the same time, we, as Toyo University students and professors, started joint programs with JIT. For example, about 80 Muslim parents and children took part in a sport festival held in Hakusan Campus in October, and Toyo University students planned and managed the festival.

From the next year onwards, we will examine JIT's relationships with other Islamic organizations, multiple sectors of Japanese society (local government, NPOs, and community leaders, etc.).

アジア諸言語史資料の汎用性データベース開発と構築

Development and Construction of the General Purpose Database
for the Documentations in Asian Languages

研究代表者　三沢伸生（研究員、社会学部社会文化システム学科・教授）
研究分担者　[研究員]
千葉正史（文学部史学科・教授）
斎藤里美（文学部教育学科・教授）
松本誠一（社会学部社会文化システム学科・教授）
[客員研究員]
石井隆憲（日本体育大学保健医療学部・教授）
竹内洋介（東洋大学文学部・非常勤講師）

研究期間／平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日（3 年計画のうち 3 年次目）

キーワード／①アジア Asia
②史資料 Source
③文書 Document
④データベース Database
⑤アーカイブ Archive

平成 30 年度交付額／1,600,000 円

研究発表／学会および口頭発表

[単行本]

・東洋大学井上円了記念博物館（編）・北田建二（監）『井上円了生誕 160 年・能海寛生誕 150 年記念特別展図録 哲学館人物伝 能海寛 : 見果てぬチベット』(ACRI Research Paper Series 11)，東洋大学アジア文化研究所, 2019 年 2 月、37 頁 【ISBN : 978-4-904279-12-0】

・大室智人・竹内洋介（編）『刻まれた記憶と記録 : 中国石刻史料データベースの構築・利用と可能性』(ACRI Research Paper Series 12)，東洋大学アジア文化研究所, 2019 年 2 月、Ⅵ＋135 頁【ISBN：978-4-904279-13-7】

・民和文庫研究会・中村民雄・石井隆憲（編著）『明治期体操学校 体育・体操書』（体育・スポーツ書集成 ：4）クレス出版, 2018 年.

[論文]

・Nobuo MISAWA, “Koji Okubo and Tatar Exiles in Interwar Japan”, in *ABDURRESIT IBRAHIM VE ZAMANI* (Ali Merthan DUNDAR ed.), Ankara ; Turk Tarih Kurumu, 2018, ISBN :978-975-16-3558-7,pp.55-74.（※分担執筆）

・千葉正史「中国第一歴史檔案館所蔵本「行政綱目」と訳註補遺訂正」『東洋大学文学部紀要』第 72 集史学科篇第 44 号, 頁数未確定.（※2019 年 3 月刊行予定）
・現代社会総合研究所 ICT 教育研究プロジェクト（松原聡・斎藤里美・藤井大輔・小河智佳子・筒井勝彦・宇佐美駿）『デジタル教科書の実証研究―先行導入した武雄市の事例を中心に―』 2018 年（※うち斎藤里美の分担執筆部分、pp1-37）
・松本誠一「済州島の老人たち：節約と自立の精神」梁聖宗・金良淑・伊地知紀子（編著）『済州島を知るための 55 章』明石書店, 2018 年, pp.118-119 （※分担執筆）.

[口頭報告（国内）]

・三沢伸生「近代日本のイスラーム世界進出：諸史資料の GIS 活用に向けて」『フィールドネット・ワークショップ　地理情報から読み解く歴史：イスラーム史における GIS の活用』（於：東京外国語大学アジア・アフリカ言語文化研究所）、2019 年 3 月 21 日、開催団体：東京外国語大学アジア・アフリカ言語文化研究所（主催）
・千葉正史「清末中国奥地の郵便事情：能海寛の手紙より探る」東洋大学アジア文化研究所能海寛生誕 150 年記念シンポジウム「新仏教徒 能海寛―哲学館からチベットへ―」第二部 パネルディスカッション「能海寛・チベットからの発信」、東洋大学、2018 年 10 月 20 日。
・竹内洋介「宋代墓誌の概況と傾向―目録作成のための中間報告―」東洋大学アジア文化研究所公開シンポジウム「刻まれた記憶と記録 : 中国石刻史料データベースの構築・利用と可能性」、2018 年 9 月 29 日、東洋大学白山校舎 2 号館 16 階スカイホール
・竹内洋介「宋代出土墓誌の諸相―唐・五代との比較を中心に―」第 209 回宋代史談話会、2018 年 10 月 13 日、大阪市立大学文学部棟 122 会議室
・竹内洋介「宋代の「墓誌」について」　第 72 回用語解研究会、2019 年 2 月 22 日、東洋文庫 7 階第 1 会議室

[口頭報告（海外）]

・Nobuo MISAWA, “Sultan II. Abdulhamid ve Japonlar” （トルコ語）, *Vefatinin 100.Yilinda Sultan II.Abdulhamid ve Donem, Uluslararasi Kongresi*（トルコ：イスタンブル）, 開催団体 Sulan II Abdulhamid Uygulama ve Arastirma Merkezi, Yildiz Teknik Universitesi （主催）、於：Cumhurbaskanlik Osmanli Arsivi, 2018 年 10 月 23 日. ※招聘
・斎藤里美「人工知能と自動翻訳の時代になぜ外国語を学ぶのか」於：華中科技大学外国語学院日本語科 20 周年記念学術大会（中国・華中科技大学外国語学院）, 2018 年 9 月 22 日. ※招聘

研究経過および成果の概要

１．研究方法

本プロジェクトは、長い歴史を有する本研究所が分析・収集してきた史資料を、汎用性の高い、すなわち国内外の大学・研究機関とさらなる共同研究の進展をはかりつつ、国際的なアジア研究を推進する基繰形成を第の目的としている。

既存の多くの研究機関が実施しているように、データベースは単なる史資料の集積物ではなく、史資料の重要性を示すように工夫・設計し公開していかなくては意味がない。したがって長い廃史

を有して多くの史資料を有している本研究所において、いかなる史資料を選択して、どのようなデータベースを構築すれば、より規模の大きい学術的な共同研究を喚起するものになるかを主眼に、研究員・客員研究員による共同研究で具体的なデータベースを設計し、必要に応じて中国人・韓国人・東南アジア諸国・イスラーム世界に関して国内外の研究者を共同研究者と迎えて、補完的な史資料の分析・整理を行って、キーワード検索をも可能とするデータベースの構築を行い、CD-ROM または DVD を用いた資料集（内外の研究者・研究機関に無償配布）の作成（または代蒋として印刷物として資料集を刊行)、さらに当初最終年度に予定していたが前倒しで、本年度から順次、本学ホームページ上に展開している本研究所のホームページにおいてデジタル・アーカイブ部分を業務委託で構築し、公開していく。

より具体的には研究期間内に、アジア研究の基幹言語たる中国語（漢籍）・ハングル（朝鮮／韓国語)、さらに国内の大学・研究機関で事例がほとんどないミャンマー語・トルコ訴の 4 言語の史資料に関して、国内外の学術的研究に寄与する汎用性の高いデータベースを構築・公開していくという方法を採用する。初年度においては 4 班の協議の上、本研究所の研究成果資産として重要性の高い、中国語（漢籍）の『華陽国志』を中心に、その人名・地名・官職名に隠しての検索可能なデータベースの設計と構築を行い、その成果を広く内外に公開・発信していくことを中心課題とした。他の 3 言語（ハングル、ミャンマー語、トルコ語）に関しては、各班のなかで研究所所蔵史資料資産の中から、データベース化、デジタル・アーカイブ化することによって広く公益に資するものを選別して対象として前述の作業を行うこととした。

２．研究経過および成果の概要

最終年度である平成 30 年度は、当初予定通りに、初年度・中間年度に引き続いて、中心的事業として中国語（漢籍）においては『華陽国誌』注釈プロジェクトで収集した膨大な量の中国民族学・民俗学史資料の整理に続いて、これに関係深い石刻史料のデータベース化を中心に進めてきた。さらにその成果として 9 月には本学において公開シンポジウム「刻まれた記憶と記録：中国石刻史料データベースの構築・利用と可能性」を開催し、国内有数の研究者が数多く参画する盛会となり、その成果を本研究所の研究叢書 ACRI Research Paper Series として刊行し、国内外に配布して高い評価を得てきた。加えて初年度に引き続き、竹内客員研究員を中心に『全宋文』所掲宋代墓誌編年目録の構築している。これらのデータベースについては、研究所ホームページ上において公開していく予定していたが、平成 30 年度秋に更新を目指した広報課による本学ホームページの技術的変更作業が大幅に遅れており、想定外の事態であるが公開作業が次年度以降にずれ込まざるを得ない。これは以下の言語に関しても同様である。

ハングル（朝鮮／韓国）語に関しては、研究所所蔵の史資料のデータベース化作業を進めて、文献索引を構築中である。松本研究員・荻院生研究員のもとで作業を進めて、本研究所所蔵のハングル語書籍のデータベース化にかんして完成し、研究所のホームページのアーカイブに格納した。

ミャンマー語に関しては、研究所に所蔵されるスポーツとりわけミャンマーの伝統的スポーツ関係の史資料の電子化作業中である。本班は元・東洋大学専任教員で、現・日本体育大学教授の客員研究員である石井隆憲客員研究員を中心に推進しているが、石井客員研究員の本務校の多忙によりやや予定より遅れている。

これら 2 言語の作業遅延の代えて、チベット関連史資料につき、本研究所主催の能海寛関係のシンポジウムと井上円了記念博物館の関連展示につき、そのデータベース化に協力して、展示資料と

そのデータベース成果を、本研究所の研究叢書 ACRI Research Paper Series として刊行した。

トルコ語に関して、昨年度に早稲田大学イスラーム地域研究機構（代表：桜井啓子・国際教養学部教授）より、問い合わせ・早稲田大学収蔵資料のデータベース製作への協力打診を受け、2017年9月30日・10月1日に早稲田大学で開催された、講演会・国際シンポジウム・史料展示に協力し2018年2月に本研究所の研究叢書 ACRI Research Paper Series として刊行し、国内外に寄贈し、大いに賞賛を得た。本年度は同じく早稲田大学イスラーム地域研究機構の協力要請により、同機構が構築した「大日本回教協会旧蔵写真資料データベース」の増補・改定に、本プロジェクトの進めるデータベースの作業と協働しながら協力した。本作業により、本研究所の所有する諸史資料のデータベースに大いに参考になり、複数研究機関の協働により相互のデータベースの充実化が可能性につき得るものが多かった。さらに加えて本作業につき、トルコ共和国国立アンカラ大学アジア太平洋協働研究センターに関心を抱いていただき、この結果、平成30年度において本研究所と同センターとの間で「研究所間協定」を締結するに至ったことも大きな成果である。

最終年度として本プロジェクトが製作したデータベースのホームページ公開を仕上げる予定であったが上記のように本学ホームページの技術的改訂作業の遅延により、急遽、成果の一端をDVD, またはBRDディスクでもって関係研究機関・研究者に配布して高い評価を得ている。

３．今後の研究における課題または問題点

3年間にわたる本プロジェクトにより、アジア諸言語の汎用性データベースにつき、開発途上における様々な問題点の洗出しとその解決につき多くの知見を得ながら、中国語・ハングル・ミャンマー語・トルコ語につき成果を上げてきた。今後の研究においてその汎用性を高めるためにも学内外の関連機関と連携を進めることが課題である。幸いにして本学東洋学研究所も強い関心をお持ちなので協力していきたい。また未解決な部分、遅延している部分に関しては本プロジェクト終了後も引き続き、本研究所において継続していき、上記したように広報課のホームページ改訂が終わればその成果を本研究所ホームページに広く公開していきたい。

Summary

[1. Method]

Our research project is organized with the aim for the development and construction of ‘the general purpose database’ for the documentations in Asian Language, which have been collected by the former and present research projects of the Asian Cultures Research Institute(=ACRI), TOYO University. Nowadays, it has become common practice for the various research institutions at home and abroad to release the publications and source materials as the database and digital archive to promote the development of the academic researches.

Specifically, we are trying to construct the above mentioned ‘the general purpose database’ for the documentations in four Asian languages; Chinese, Korean, Burmese and Turkish (the Ottoman Turkish, the Modern Turkish, the Tatar Turkish and so on). Of course, the Chinese and Korean documentations are very important for the Asian study. On the contrary, the Burmese and Turkish documentations are specific in Japan, but we had rare and precious documentations.

[2.Development Process of the Project & Abstract of the Research Results]

In the third(=last) year (2018-2019) , we continued to carry out our project for (1) *Hua Yang Kuo Chih*, and various Chinese texts, (2) the various statistics materials in the Korean languages, (3) the sports graphic magazines in the Burmese languages, (4) the various Turkish newspapers.

(1) Fortunately our data-base index of *Hua Yang Kuo Chih* was completed. And we developed the various records engraved on stones. We hold the symposium about this topic with many famous and important Japanese scholars at TOYO University (September), and published its proceeding as our research paper series No.12, and distributed the important research institutions and libraries at home and abroad, like Library of Congress (USA), the British Library (UK) and so on.

(2) We are delayed to construct for the release the database of the statistics materials in the Korean languages, because there are so many statistics materials. But we prepared about the collection of the Korean books at ACRI.

(3) We made the digital data about the sports graphic magazines in the Burmese languages at ACRI to construct the index of each articles as the database and set up the digital archive. In addition, we scanned the sports graphic magazines in the Japanese languages at ACRI, which was very rare collection in Japan, to study the source materials in two languages comparatively to understood Asian sports culture.

(4) Our collection and database of Turkish source materials are welcomed by both domestic and overseas scholars and research institutions. We continued to set up our data-base with WASEDA University and ANKARA University (TURKEY). Due to this cooperation, we concluded the research agreement with Asia-Pacific Research Center, ANKARA University.

(5) Our project also contributed the data-base on Tibetan source materials related Yutaka NOMI at the INOUE Enryo Memorial Museum, and published pictorial book as our research paper series No.11.

[3.Future Tasks for the Research Project]

As stated above, we could accomplish our purpose as the construction of the database for the documentations in four Asian Languages as the first step. But we must continue to develop our database as 'the general-purpose database' in terms of quantity and quality. Specially, we must construct our database on WEB site in very near future