

2021 年度

井上円了記念研究助成

## 研究報告書

東洋大学

2022 年 3 月 31 日

# 目次

## 【大学院生 研究報告書】

| #  | 研究代表者  |             |             | 研究課題名  |
|----|--------|-------------|-------------|--|
|    | 氏名     | 学部/研究科/センター | 学科/専攻       |  |
| 1  | 保科 俊   | 社会学研究科      | 社会学専攻       | 明治期～平成期の怪異妖怪流言都市伝説を扱う人々を追う～社会心理メカニズムをふまえて～                       |
| 2  | 蘇 雨青   | 社会学研究科      | 社会心理学専攻     | 保護者は子どもに対する危険箇所の把握はできるのかー保護者のリスク評価に関連する環境要因と心理的要因からの検討ー          |
| 3  | 伊覇 龍信  | 社会学研究科      | 社会心理学専攻     | 新型コロナウイルスの感染者はなぜ、誰に批判されるのか？(同性間競争が感染者に与える進化心理学的影響)               |
| 4  | 齋藤 祥太郎 | 理工学研究科      | 生体医工学専攻     | 把握運動の運動プロトコルの違いが認知機能に及ぼす影響                                       |
| 5  | 坂本 悠生  | 理工学研究科      | 応用化学専攻      | 脱窒プロセスにおける有機系廃液の再利用条件の検討   |
| 6  | 小泉 慶明  | 理工学研究科      | 応用化学専攻      | A型トリコテセンを用いた抗体医薬作製の試み<br>～より副作用の少ない抗癌剤開発を目指して～                   |
| 7  | 松尾 元暉  | 理工学研究科      | 応用化学専攻      | <i>Fusarium</i> 系カビ毒 nivalenol の検出に向けた異属糸状菌酵素の利用                 |
| 8  | 小宮山 寿紗 | 理工学研究科      | 応用化学専攻      | 紫外線抵抗性好塩性古細菌の諸性質解析   |
| 9  | 曾 雪倩   | ライフデザイン学研究科 | ヒューマンライフ学専攻 | 後肢加重低減に伴うラット脛骨関節軟骨の過度な石灰化に対する運動および通電刺激の抑制効果                      |
| 10 | 水藤 飛来  | ライフデザイン学研究科 | 健康スポーツ学専攻   | 骨折後の回復促進を図る新たな通電刺激法の開発   |
| 11 | 南園 航   | ライフデザイン学研究科 | 健康スポーツ学専攻   | 後肢懸垂ラットにおける骨量維持のための異なる通電刺激法の効果の比較                                |
| 12 | 岡崎 夏鈴  | 生命科学研究科     | 生命科学専攻      | 植物の不定芽形成制御因子の探索  |
| 13 | 金子 凌   | 生命科学研究科     | 生命科学専攻      | 11-KT 以外のホルモンで GnRH3 の発現に影響を及ぼすホルモンはあるか？また、影響する際のメカニズムはどのようなものか？ |
| 14 | 比嘉 彩香  | 生命科学研究科     | 生命科学専攻      | Collapsin Response Mediator Protein4 (CRMP4) が樹状突起形成に及ぼす影響       |
| 15 | 塩野 鈴佳  | 生命科学研究科     | 生命科学専攻      | 自閉症モデルマウスを用いて自閉症に性差を引き起こすメカニズムに関する仮説を検証する                        |
| 16 | 堀口 元気  | 生命科学研究科     | 生命科学専攻      | 水陸両生植物の光合成水中順応における誘導課程と順応メカニズムの解明                                |
| 17 | 鈴木 晶貴  | 生命科学研究科     | 生命科学専攻      | ボイセンベリー成分ががん細胞に及ぼす増殖抑制効果の解析                                      |
| 18 | 飯山 桃子  | 生命科学研究科     | 生命科学専攻      | 既知菌株種による新規硝化脱窒槽の構築および微生物叢の解析                                     |
| 19 | 山下 陽平  | 生命科学研究科     | 生命科学専攻      | シナプス後部の HUB タンパク質 Homer のパートナー分子の加齢変化                            |
| 20 | 佐藤 飛翔  | 生命科学研究科     | 生命科学専攻      | 神経細胞における酸化ストレス依存的な EVs 糖鎖修飾メカニズムの解明                              |
| 21 | 下田 歩夢  | 生命科学研究科     | 生命科学専攻      | 神経細胞におけるプログラニューリンの発現制御とその生理的意義                                   |
| 22 | 小澤 光莉  | 生命科学研究科     | 生命科学専攻      | 津軽海峡において繁殖するウトウ <i>Cerorhinca monocerata</i> の採餌海域選択と餌利用         |
| 23 | 浅香 昌弘  | 生命科学研究科     | 生命科学専攻      | セルフエフィカシーがモチベーションと脳活動に与える影響                                      |
| 24 | 田上 陸   | 生命科学研究科     | 生命科学専攻      | 都市部に順応したタイワンリスの基礎生態と分布拡大メカニズムの解明                                 |
| 25 | 関 大河   | 食環境科学研究科    | 食環境科学専攻     | NK 細胞による前立腺がん幹細胞を標的とした次世代予防法の可能性                                 |

|    |       |          |         |  |
|----|-------|----------|---------|--|
| 26 | 高濱 柚黄 | 食環境科学研究科 | 食環境科学専攻 | 大腸がん幹細胞を標的にしたエピジェネティクス制御を介する新規予防法の検討                 |
| 27 | 福岡 那菜 | 食環境科学研究科 | 食環境科学専攻 | 食品機能性素材を用いた悪性黒色腫新規療法構築に向けた検討                         |
| 28 | 品川 明穂 | 食環境科学研究科 | 食環境科学専攻 | 栄養素摂取が一過性有酸素運動後の血漿ホモシステイン上昇抑制に及ぼす影響                  |
| 29 | 二宮 佑輔 | 食環境科学研究科 | 食環境科学専攻 | $\delta$ -トコトリエノール摂取によるヒト血中 LDL コレステロール低下の検討         |
| 30 | 飯村 泰弘 | 食環境科学研究科 | 食環境科学専攻 | 弾性ストッキングの着用に伴う静脈血管伸展性増大が下肢運動時の下腿部静脈還流量および一回拍出量に及ぼす影響 |

## 【校友 研究報告書】

| # | 研究代表者  |             |            | 研究課題名                                 |
|---|--------|-------------|------------|---------------------------------------|
|   | 氏名     | 学部/研究科/センター | 学科/専攻      |                                       |
| 1 | 寅野 遼   | 文学研究科       | 哲学専攻       | 井上円了と日本における神学政治問題                     |
| 2 | 藤井 明   | 文学研究科       | インド哲学仏教学専攻 | インド密教における入門儀礼と成就法の記述を通じた異宗教間交渉の比較研究   |
| 3 | 小川 祐喜子 | 社会学研究科      | 社会学専攻      | 劣化する若者支援——現場支援者の語りを手がかりに——            |
| 4 | 渡辺 芳   | 社会学研究科      | 社会学専攻      | 野宿者のもつ困難課題に関する研究                      |
| 5 | 金子 迪大  | 社会学研究科      | 社会心理学専攻    | 資源間の補償的関係の検討                          |
| 6 | 塚田 耕太郎 | 生命科学部       | 生命科学科      | アカパンカビにおける DNA 鎖間架橋修復機構と SLX4 ホモログの解析 |

## 【専任教員（個人研究） 研究報告書】

| # | 資格 | 研究代表者  |        |                 | 研究課題名                                     |
|---|----|--------|--------|-----------------|---|
|   |    | 氏名     | 学部/研究科 | 学科/専攻           |   |
| 1 | 教授 | 萩原 喜昭  | 文学部    | 国際文化コミュニケーション学科 | 巨大ブラックホールへのエネルギー供給メカニズムの観測的解明             |
| 2 | 教授 | 十重田 和由 | 経済学部   | 国際経済学科          | MS Advocates 19.2.1 が示唆する Sir Orfeo の成立過程 |
| 3 | 教授 | 金子 友裕  | 経営学部   | 会計ファイナンス学科      | インセンティブ報酬の意義と諸規制の影響                       |
| 4 | 教授 | 片山 美由紀 | 社会学部   | 社会心理学科          | 宥和行動としての言語とその教育——体系的価値観モデルを手掛かりとして——      |
| 5 | 教授 | 北村 英哉  | 社会学部   | 社会心理学科          | 道徳基盤と伝統的価値観が組織内の主張的発言に及ぼす影響についての社会心理学的研究  |
| 6 | 教授 | 松田 英子  | 社会学部   | 社会心理学科          | 悪夢と合併疾患にみられる認知機能障害に関する臨床発達心理学的研究          |
| 7 | 教授 | 田所 聖志  | 社会学部   | 国際社会学科          | 住民の視点から見たパプアニューギニアの天然ガス開発による急激な社会変動と自然災害  |
| 8 | 教授 | 波佐間 逸博 | 社会学部   | 国際社会学科          | 現代アフリカにおけるノマドの創造的復興の民族誌                   |
| 9 | 教授 | 藤本 典嗣  | 国際学部   | 国際地域学科          | コロナパンデミック下における東アジア諸国の中枢管理機能立地分析           |

|    |      |       |                      |           |   |
|----|------|-------|----------------------|-----------|---|
| 10 | 教授   | 吉岡 勉  | 国際観光学部               | 国際観光学科    | 観光サービスにおける労働生産性の向上に関する研究  |
| 11 | 講師   | 陳 秀茵  | 国際教育センター             |           | 日本語教育のための形式名詞由来の文末表現研究 –変化を表すコトニナル・コトニスル・ヨウニナル・ヨウニスルを中心に–                   |
| 12 | 准教授  | 根岸 良太 | 理工学部                 | 電気電子情報工学科 | 乱層積層した多層グラフェンの合成とその物性解明   |
| 13 | 准教授  | 平瀬 祐子 | 理工学部                 | 電気電子情報工学科 | 洋上風力直流送電の電源・負荷および極に適用する仮想同期発電機制御の研究   |
| 14 | 教授   | 田代 基慶 | 理工学部                 | 応用化学科     | 深層学習による光学活性を持つ有機小分子の de novo 設計   |
| 15 | 准教授  | 峯岸 宏明 | 理工学部                 | 応用化学科     | イオン液体中における好塩性酵素の反応評価  |
| 16 | 研究助手 | 鈴木 政史 | バイオ・ナノエレクトロニクス研究センター |           | 磁性ナノ粒子の鎖状構造体を利用した選択的酵素反応促進法の開発  |
| 17 | 教授   | 川口 英夫 | 生命科学部                | 生命科学科     | メンタルヘルス不調のセルフケア・システムの構築に向けた検討   |
| 18 | 助教   | 李 沁潼  | 生命科学部                | 応用生物科学科   | 富栄養化湖沼の湖底境界層におけるメタン酸化-脱窒プロセスの解明   |
| 19 | 助教   | 任 セア  | ライフデザイン学部            | 生活支援学科    | エビデンスに基づいた効果的な介護人材育成の仕組みの構築に関する研究 –実践現場における参入ルート・職場研修の満足度が介護人材の専門性認識に及ぼす影響– |
| 20 | 准教授  | 金子 元彦 | ライフデザイン学部            | 健康スポーツ学科  | 多摩障害者スポーツセンター開設と身体障害者スポーツ指導者養成  |
| 21 | 講師   | 熊澤 拓也 | ライフデザイン学部            | 健康スポーツ学科  | 日本占領期の駐留米軍によるスポーツ活動と日本スポーツ界への影響:海軍史料を中心に                                    |
| 22 | 助教   | 伊藤 健彦 | 情報連携学部               | 情報連携学科    | 第二言語コミュニケーションを抑制・促進する社会生態学的・心理的ネットワークの解明                                    |
| 23 | 准教授  | 加知 範康 | 情報連携学部               | 情報連携学科    | 都市域縮退を実現するための非居住地域へのグリーンインフラ導入の実現可能性検討                                      |
| 24 | 教授   | 神場 知成 | 情報連携学部               | 情報連携学科    | オンライン会議における会議活性度の定量的モデル化  |
| 25 | 講師   | 佐野 崇  | 情報連携学部               | 情報連携学科    | 畳み込みニューラルネットワークによる力学モデルの獲得と運動制御への応用   |
| 26 | 准教授  | 本多 泰理 | 情報連携学部               | 情報連携学科    | 関数解析に基づく機械学習法の性能評価および理論的設計指針の構築   |

## 【専任教員（共同研究） 研究報告書】

| # | 資格  | 研究代表者 |        |        | 研究分担者                  | 研究課題名  |
|---|-----|-------|--------|--------|------------------------|--|
|   |     | 氏名    | 学部/研究科 | 学科/専攻  |                        |  |
| 1 | 教授  | 大野 裕之 | 経済学部   | 国際経済学科 | 林田 実                   | 個人投資家の証券投資に関する行動・意思決定の総合的研究～機械学習・Causal Tree の手法を用いて |
| 2 | 教授  | 井上 貴也 | 法学部    | 企業法学科  | 後藤 武秀                  | 珠江デルタ地域における企業統治について                                  |
| 3 | 教授  | 北脇 秀敏 | 国際学部   | 国際地域学科 | 眞子 岳・福士 謙介・松藤 康司・村上 淑子 | 開発途上国における廃棄物発電の導入可能性評価モデルの開発に関する実証的研究                |
| 4 | 教授  | 小河 繁彦 | 理工学部   | 生体医工学科 | 岩本えりか                  | 運動昇圧応答の個人差が脳循環調節機能に及ぼす影響の検証                          |
| 5 | 准教授 | 井坂 和一 | 理工学部   | 応用化学科  | 池 道彦・見島 伊織             | 特殊菌を利用した 1,4-ジオキサン処理における必須微量元素と最低濃度条件の解明             |

|   |      |       |                      |        |                              |                           |
|---|------|-------|----------------------|--------|------------------------------|---------------------------|
| 6 | 研究助手 | 水木 徹  | バイオ・ナノエレクトロニクス研究センター |        | Mohamed Sheikh Mohamed・中島 義賢 | 希少糖-グラフェンハイブリッド材料の開発と機能解析 |
| 7 | 教授   | 後藤 顕一 | 食環境科学部               | 食環境科学科 | 伊藤 克治・高橋 三男・野内 頼一・生尾 光       | 実効性のある STEM 教育プロトタイプ構築    |

### 【海外協定校との共同研究 研究報告書】

| # | 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   | 研究課題名                                       |
|---|----|-------|-------------|-----------------|---------------------|---------------|---|---|
|   |    | 氏名    | 学部/研究科/センター | 学科/専攻           |                     |               |   |   |
| 1 | 教授 | 荒川 雪  | 社会学部        | メディアコミュニケーション学科 | 温州大学(中国)            | -             | 徐輝  | 冷戦初期日本共産党と中国共産党による在日中国人留学生団体への指導体制に関する実証的研究 |
| 2 | 教授 | 廣津 直樹 | 生命科学部       | 生命科学科           | スリランカ国立基礎研究所(スリランカ) | 長坂 征治         | Saman Seneweera<br>Siril Wijesundara<br>Ishara Perera           | スリランカにおけるイネ収量および亜鉛吸収効率向上のための遺伝構造解析          |
| 3 | 教授 | 矢野 友啓 | 食環境科学部      | 食環境科学科          | サンパウロ大学(ブラジル)       | -             | Maria Lucia Zaidan Dagli<br>Francisco Javier Hernandez Blazquez | ヒトメラノーマ予防を目指したイヌメラノーマモデルを用いた検討              |

### 【研究所プロジェクト(新規) 研究報告書】

| # | 研究所     | 身分 | 研究代表者 |             |          | 研究分担者                         | 研究課題名                               |
|---|---------|----|-------|-------------|----------|-------------------------------|-------------------------------------|
|   |         |    | 氏名    | 学部/研究科/センター | 学科/専攻    |                               |                                     |
| 1 | 東洋学研究所  | 教授 | 相楽 勉  | 文学部         | 哲学科      | 中里巧・大野岳史・菊地章太・播本崇史・大鹿勝之・三重野清顕 | 西洋思想の受容と日本思想の展開—キリシタン時代と明治期以後—      |
| 2 | 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・高橋典史<br>佐藤厚・水谷香奈         | 外国人研究者との連携による東アジア仏教の歴史と思想の解明        |
| 3 | 工業技術研究所 | 教授 | 加藤 和則 | 理工学部        | 生体医工学科   | 安藤 直子                         | カビ毒トリコテセン類の癌細胞増殖阻害活性の検証と抗体医薬への応用の試み |

### 【研究所プロジェクト(継続) 研究報告書】

| # | 研究所名     | 身分 | 研究代表者     |             |       | 研究分担者   | 研究課題名   |
|---|----------|----|-----------|-------------|-------|---|---|
|   |          |    | 氏名        | 学部/研究科/センター | 学科/専攻 |   |   |
| 1 | アジア文化研究所 | 教授 | 千葉 正史     | 文学部         | 史学科   | 三沢伸生・大室智人                                       | 東洋大学に所蔵される中国語諸史資料のデータベース構築と活用開発                         |
| 2 | 工業技術研究所  | 教授 | 蒲生(西谷) 美香 | 理工学部        | 応用化学科 | 相沢宏明・井坂和一・物部秀二・吉野隆・吉本智巳・村野昭人・稲本将史・伴雅人・江口美佳・中川清晴 | 新規球状ナノ炭素材料「マリモカーボン」の合成と用途探索<br>-エネルギー・環境・生体分野への応用を目指して- |

### 【2021年度井上円了記念研究助成事業報告】

...

巻末

# 明治期～平成期の怪異妖怪流言都市伝説を扱う人々を追う

～社会心理メカニズムをふまえて～

## Tracking of those who dealt with Yōkai Rumor Urban Legends from Meiji to Heisei period

研究代表者 保科 俊(社会学研究科社会学専攻)

指導教員 中村 功

研究期間／2021年4月1日～2022年2月15日

キーワード／①妖怪 Yōkai Yokai

②怪異

③都市伝説 urban legend

④流言 Rumor

⑤伝説 Legend

2021年度交付額／ 416000円

研究発表／学会および口頭発表

・保科俊（2022）「戦前期における『流言』論に関する研究」pp181-192『アジア文化研究所研究年報 56』東洋大学アジア文化研究所.

・【口頭発表】保科俊（2022）「第16回アジア文化研究所年次集会 怪異妖怪都市伝説を扱う人々を追う 明治以降の雑誌記事と現地調査報告」東洋大学第16回アジア文化研究所年次集会.

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

怪異妖怪流言都市伝説を扱ってきた人々はどういう人々で、どういう目的で検証を行ってきたのかを探る研究である。研究期間内に明らかにすることは、明治から平成にかけて怪異妖怪流言都市伝説を扱ってきた人々をレビューし系譜をたどること、また現在ネット上で都市伝説を検証している人々を網羅的に把握する。さらに戦後のうわさや流言に関する諸研究を理解している応募者が明治期～平成期の怪異妖怪都市伝説を扱う人々を見ていくことによって、その目的意識、拡散された要因を探ることを行った。

具体的な研究方法は、文献調査及びフィールドワークである。井上円了、柳田国男から、SFや学術的ではない都市伝説関連本、雑学本について、整理を行い、平成期間の都市伝説、流言、怪異、妖怪、フェイクニュースについて事例を整理することによって研究を進めた。

・文献研究、事例研究⇒東京大学附属明治新聞雑誌文庫（編）『東京大学附属明治新聞雑誌文庫 所蔵雑誌目次総覧』から関係見出しを抽出した。都市伝説、流言、怪異、妖怪、フェイクニュース等について事例整理をすすめた。SFや学術的ではない都市伝説関連本、雑学本、テレビ番組表等から都市伝説検証系番組（カテゴリー的には情報バラエティ）の整理を行った。他ツイッター上やネ

ット上で検証活動を行っているアカウントやHPの収集をした。

・現地調査⇒妖怪と名前が付く博物館及び周辺地域への現地調査。妖怪に関する調査資料収集を行った。「妖怪博物館三次もののけミュージアム」「大内かっぱハウス&山口敏太郎の妖怪博物館」他。

## 2. 研究経過および成果の概要

成果物として二点あげることができる。まず成果物の内容を述べ、次に他の状況を報告する。

・「戦前期における『流言』論に関する研究」では、『流言蜚語』の著者として有名な清水幾太郎以外の「流言蜚語」論を探ることによって、「流言蜚語」についての知見を得ることを目的としている。

まず『東京大学法学部附属 明治新聞雑誌文庫所蔵雑誌目次総覧』を使用し、「流言」や「噂」等の見出し記事を抽出した。見出しを整理し、戦前期にどのような内容について「流言蜚語」のタイトルが使われていたのかを探り、いくつかの文献を取得した。内容をレビューした。その結果、政治的内容、災害震災、銀行取り付け騒ぎ等、記者ジャーナリストの発信する情報が「流言」の場合があることについて確認することができた。また、戦後の研究では取り上げられていない記事や論考を見つけた点に新規性がある。

・「第16回アジア文化研究所年次集会 怪異妖怪都市伝説を扱う人々を追う 明治以降の雑誌記事と現地調査報告」では、『東京大学法学部附属 明治新聞雑誌文庫所蔵雑誌目次総覧』（全150巻）を研究対象とし、この文献内に掲載されている雑誌の見出し中にある「妖怪」等について抽出を行った。結果、これまで把握されていないと考えられる見出しを抽出することができた。

・形になった成果物以外では、ある地域の「漂着した死体に関するうわさに類する資料」「妖怪怪異で町おこしをする際の経緯がわかる資料」「ある1970年代前後に流行した都市伝説についての諸情報についての資料」「ある怪談話が昭和初期に掲載されていた新聞の内容」「特にネット上で〇〇が出るとうわさされるある建物についての諸情報」等についてである。具体的には、次の各調査地で入手した。概要を記す。

境港市。ここでは、妖怪や怪異を扱う人々について当事者側の経緯について確認ができた。具体的には「水木しげるロード」がつくられる時に、水木しげる氏が全て発案担当実行したのではなく、町おこし政策や市役所やコンサルタント等の会議の中で、当時の担当係長が水木しげる氏と関係がすでにあり、許可を得、実行されていったことがわかった。小泉憲貞（1915）『境港沿革史』等をコピー入手した。

三次市。ここでは、みよし市議会だより、ヒバゴンについてのおみやげ、愛郷新報、等を入手コピー等した。

銚子市。ここでの調査で得た知見や資料は、銚子地域の怪異妖怪に関する諸情報の記録、現地物品等の確認、近隣での怪異妖怪に関するうわさの確認等である。利根川沿いにある河童象を確認し、海関係の慰霊碑等をめぐりながらいくつか妖怪および噂情報を取得（詳細については省略する）。幽霊が出るという噂の建物についていくつか確認をした。地域特有の歴史的な経緯と怪異妖怪について関係があることがいくつかの資料を統合していくと推測できた。

また新型コロナウイルス拡大初期に話題となったデマや流言について確認もできた。詳細については省略する。

## 3. 今後の研究における課題または問題点

文献調査で見落としがないか確認をしていく必要がある。また抽出した見出しの内容を一つ一つ

確認する必要がある。雑学本やテレビ番組についても全て終えてない。今後の課題である。

## Summary

This research is an exploration of the people who have dealt with the urban legends, yokai, and with what purpose they have verified. The research will review and trace the genealogy of people who have dealt with urban legends of the strange and the spectral from the Meiji period to the Heisei period, and will comprehensively grasp the people who are currently verifying urban legends on the Internet. Specific research methods include literature review and fieldwork. The research was conducted by organizing science fiction and non-academic urban legend-related books and miscellaneous books, and by organizing case studies of urban legends, kaiju, yokai, and fake news in the Heisei period. In addition, the applicant, who is familiar with various studies on rumors and popular beliefs in the postwar period, looked at people who dealt with yōkai urban legends from the Meiji to Heisei periods, in order to explore their purpose and the factors.

Two results can be presented as the outcome of the research.

### ①Research on “Rumor theory” in the Prewar Period:

The purpose of this study is to gain knowledge about "ryuugennhigo" by exploring theories of "ryuugennhigo" other than those of Ikutaro Shimizu, the famous author of "ryuugennhigo". First, we extracted headlines of "Ryugen" and "Rumor" from the "Index of Periodicals in the Meiji Magazine Collection of the Faculty of Law of the University of Tokyo". By organizing the headlines, we explored what kind of content the title "Ryugen" was used for in the prewar period, and obtained several references.

The contents were reviewed. As a result, we were able to confirm that the articles were written about political contents, disaster earthquakes, bank run-ups, and other cases of information transmitted by journalist. In addition, novelty lies in the fact that we found articles and discussions that have not been covered in postwar studies.

### ②In The 16th Meeting of the Asian Cultures Research Institute:

Pursuing People Who Deal with Kaii Yokai Urban Legends, Journal Articles since the Meiji Period and Field Survey Report, we used the "Index of Periodicals in the Meiji Newspaper Magazine Collection, Faculty of Law, the University of Tokyo" (150 volumes) as our research object, and found "yokai" in the magazine headlines in this document.

Extracts were made. As a result, we were able to extract headlines that were thought to be previously unknown.

# 保護者は子どもに対する危険箇所の把握はできるのか

—保護者のリスク評価に関連する環境要因と心理的要因からの検討—

## Are Parents Able to Identify Risk Areas for Their Children?

Study of environmental and psychological factors related to parents' risk assessment

研究代表者 蘇 雨青(社会学学研究科社会心理学専攻)

指導教員 桐生 正幸

研究期間／2021年4月1日～2022年2月15日

キーワード／①リスク評価

②環境要因

③犯罪不安

④リスト認知

⑤楽観主義バイアス

2021年度交付額／ 630,000円

研究発表／学会および口頭発表

- 1) Su, Y & Kiri, M (2022). Impact of Trait Anxiety on Risk Assessment and Risk Perception - Using Stimuli from Crime Sites -, Annual Conference of Society for Personality and Social Psychology 2022, online, 16th-19th, FEB, 2022 (Graduate Travel Award 2022 Society for Personality and Social Psychology)
- 2) 蘇 雨青・田 楊・桐生 正幸 (2021). 楽観性バイアスがリスク評価に与える影響. 日本犯罪心理学会第59回大会. 2021年10月2日～10月3日
- 3) 蘇 雨青・滝口 雄太・桐生 正幸 (2021). 被害リスク評価に影響を与える環境要因の検討. 日本心理学会第85回大会. 2021年9月1日～9月8日

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

本研究課題では、介入方法として画像刺激の提示がリスク評価変化に及ぼす影響について検証することを目的として予備調査および本調査を実施した。環境要因や心理的要因とリスク評価との関連性を検討することは難しい問題である。従来の研究では、回答者の居住しているエリアを思い起こし、質問紙に回答するものであったが、文章刺激による犯罪被害のリスク判断は主観的なリスク認知になりがちであり、犯罪発生現場のリスクを客観的に評価しているとは言い難い。そこで、環境心理学を着目し、リスク評価能力を高める方法のひとつとして、地点画像刺激の提示が犯罪発生現場におけるリスク評価に及ぼす影響を検討し、犯罪予防の一環として、客観的データに基づくリスク評価の有用性を探索的検討する。

本研究では予備調査と本調査の2回を実施した。予備調査では、環境評価尺度(蘇,2020)と地

点画像を用いて、「道路特徴」、「無作法的」、「防犯」、「危険箇所」の評価視点から犯罪発生あり地点と犯罪発生無し地点の環境を評定し、地点間におけるリスク評価の違いと犯罪発生地点の環境特徴を検討した。そして、予備調査の結果を踏まえて、年齢幅の広い一般人を対象として本調査を行った。

本調査では、参照画像の提示を介入方法として、環境要因と心理的要因がリスク評価に及ぼす影響を検討することを目的とした。ここでは、荒井・吉田（2010）の犯罪不安尺度、笹竹（2013）の楽観主義バイアス尺度、蘇（2020）の環境評価尺度について回答を求めた。また、荒井・吉田（2010）と島田（2008）を参考に、リスク評価として実際に犯罪が発生したかどうかの有無を予想させ、判断理由となる環境要因に対して回答を求めた。

## 2. 研究経過および成果の概要

まず、大学生を対象としてオンライン調査ソフトウェア（Qualtrics）を通して調査を実施した。予備調査1では、東京都のT私立大学の大学生163名に対して調査を実施したところ、回答に不備があった回答者を除外し、男性46名、女性88名、計134名（M = 19.96歳, SD = 1.86, 全体有効回答率82.21%）のデータを用いて分析を行った。

また、20代～60代までの一般社会人を調査対象として選定し、本調査を行った。本調査の実施については、オンライン調査会社へ委託し、男性120名、女性151名、計271名（M = 45.01歳, SD = 13.73）のデータを用いて分析を行った。

本研究では2種類の画像刺激を用いて、環境評価と楽観主義バイアスがリスク評価変化に及ぼす影響について検討した。2つの調査の結果から見ると、画像刺激においてリスク評価には改善の傾向（地点における犯罪発生可能性の評価）が見られた。この結果は、客観的データの提示がリスク評価の向上や犯罪不安の抑制に効果をもたらす可能性を示唆するものと考えられる。また、各地点の環境評価項目の得点を用いてWard法による階層的クラスター分析を実施したところ、評価地点は犯罪発生なし地点・犯罪発生地点の2つのクラスターに分類され、リスク評価を比較するとクラスター間に有意な差が示唆され、特に犯罪発生地点におけるリスク評価は有意に高かった。環境要因についてリスク評価に及ぼす影響も明らかにした一方で、楽観主義バイアスは、犯罪に対するリスク評価に抑制効果があることが確認された。

## 3. 今後の研究における課題または問題点

本研究では、画像刺激を用いて物理的要因（環境評価）や心理的要因（楽観主義バイアス）がリスク評価に及ぼす影響を検討したが、現在までの犯罪不安やリスク評価に関する研究は、主に被害者側の視点を中心に行われてきた。しかし、実際に犯罪が発生したところは危険な環境要因を揃える場所とは限らない。そこで、加害者側の視点から犯行を実行する理由を検討する必要もあると思われる。これらのことから、犯罪発生の要因を統制し、地域の犯罪発生マップや防犯情報などに基づき、加害者、被害者と監視者、そして時間と場所の5要因からリスク評価となる要因の検討が今後の課題となろう。

## Summary

The purpose of this study was to examine the effectiveness of the presentation of visual stimuli as an intervention method on risk assessment through a preliminary survey and a

main survey.

We examined the effects of environmental factors and optimism bias on risk assessments in Survey 1 for university students and Survey 2 for the public using two types of visual stimuli. Results from the two surveys showed that there was an improving trend in risk assessment (assessment of the likelihood of crime). This result may suggest that the presentation of objective data may have a positive effect on improving risk assessment and reducing fear of crime. A hierarchical cluster analysis using the Ward method was conducted using the scores of the environmental assessment items for each assessment location, and the assessment locations were classified into two clusters: locations with no crime and locations with crime, and a comparison of the risk assessments suggested significant differences between the clusters, particularly the risk assessment in the locations where crimes occurred were significantly higher. While the effect of environmental factors on risk assessment was also identified, optimism bias was found to have a suppressive effect on risk assessment.

# 新型コロナウイルスの感染者はなぜ、誰に非難されるのか?

## (同性間競争が感染者に与える進化心理学的影響)

Why and by whom are COVID-19 infected people blamed?

(Evolutionary psychological effects of intrasexual competition on infected individuals)

研究代表者 伊覇 龍信(社会学研究科社会心理学専攻)

指導教員 大島 尚

研究期間/2021年4月1日~2022年2月15日

キーワード/①進化心理学 Evolutionary Psychology

②新型コロナウイルス感染症 COVID-19

③同性間競争 Intrasexual Competition

④リスク回避 Risk Avoidance

⑤疾病回避 Disease Avoidance

2021年度交付額/560,000円

研究発表/学会および口頭発表

・日本心理学会第86回大会(2022年9月発表予定)

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

新型コロナウイルス感染症が猛威を振るってから、感染者が非難されるという事例が多数報告されてきた(Bhanot et al., 2021)。社会心理学の分野では感染者非難を説明する理論として公正世界信念が用いられることがある(Gruman & Sloan, 1983)。この理論の予測に従えば、「世界は公正である」という、いわゆる因果応報を信じる人ほど感染者に対する非難が強いと言える。一方で、進化心理学の分野では他者に対する非難、つまり攻撃性の説明として同性間競争が注目されてきた(Buunk & Massar, 2012)。この観点からは、他者に対する非難の強さは、非難される他者と非難する人物が同じ資源(地位やお金など)を巡って争う同性の場合に激化すると考えられる。本研究では、オンライン調査を用いて新型コロナウイルスの感染者に対して一般の人々がどのようなイメージを持っているのかをまずは調べ、次にシナリオ実験を用いて被害者非難がどのように起こるのかを検討した。同性間競争の観点から考えられる主要な仮説は以下のとおりである。

仮説1: 感染者非難の強さは20代頃にピークを迎え、年齢を重ねる毎に減少していく

仮説2: 感染者非難の度合いは女性より男性において強い

仮説3: 感染者非難の度合いは同年代において最も強い

仮説4: 感染者非難の度合いは自分より年収が高い人物に対してより強い

### 2. 研究経過および成果の概要

まず初めに新型コロナウイルスに関連する非難の実態を明らかにする為に、緊急事態宣言中の自粛要請を遵守しない人物に対する否定的な態度を検討した。その結果、自粛要請に応じない人物へ

の否定的感情（どれだけ不快に感じるかやどれだけ許せないと感じるかなどの8項目の平均値によって作成された）は男性よりも女性の方が強く、この傾向は複数のシナリオ（ノーマスク、旅行、外食など）において一貫して見られた。また、実験参加者を感染者の性別（男性、女性）、年齢（年下、同年代、年上）、年収（低、同、高）が異なる18条件のどれかにランダムに振り分け、感染者非難の強さが異なるかオンライン実験を行った。しかし、仮説1～4を支持するような結果は得られなかった。女性のコロナに対する脆弱性の認識（新型コロナウイルスをどれだけ怖いと感じるかやどれだけ感染したくないと感じるかなどの6項目の平均値によって作成された）は男性よりも有意に高く、感染者に対する否定的感情とコロナ脆弱性認識には正の相関関係が見られた。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

本研究では同性間競争の観点から新型コロナウイルスの感染者に対する非難を説明できるか検討したが、仮説を支持する結果は得られなかった。これにはいくつかの理由が考えられる。まず、同性間競争は男女によって異なる形態をしており、男性では暴力や殺人などの直接的な攻撃性が知られている（Kanazawa & Still, 2000）一方で、女性ではゴシップなどの間接的な攻撃性が知られている（Hess & Hagen, 2006）。したがって、本研究での感染者非難（厳密に言えば、今回の研究では感染者に直接非難を行なっていたわけでもない）を間接攻撃と考えれば、男性の方が感染者に対して厳しく非難するという仮説は逆転してしまう。また、女性は男性よりリスク回避的ということが知られている（Campbell, 1999）。つまり、感染に繋がるようなリスクある行動を避けるという動機づけの強さから言えば、女性の方が男性よりも感染者に対して否定的な態度をとるかもしれない。以上の理由から、感染者非難を同性間競争、特に男性間の争いとすることは適切ではないと考えられる。実際、本研究では男性よりも女性の方が一貫して感染者に対する否定的な感情が高かった。これは、母親の方が父親よりも子どもの生存にとって重要なこと（Sear & Mace, 2008）や男性による遺伝的資質のシグナリングの為の嫌悪感の抑制（Fessler, Pillsworth, & Flansburg, 2004）などの同性間競争とは別の進化心理学的な理論や仮説によって説明されるかもしれない。新型コロナウイルス感染者に対する非難を説明する理論として同性間競争を検討したが、少なくとも今回の研究では仮説を支持するような証拠は得られず、今後の研究では感染者非難に対しての性差のメカニズムを検討するような研究（例えば、疾病回避）に焦点を当てることが望まれる。

## Summary

Since the outbreak of COVID-19, there have been numerous reports of infected individuals being blamed (Bhanot et al., 2021). In the field of evolutionary psychology, intrasexual competition has been focused on as an explanation for blaming others, or aggression (Buunk & Massar, 2012). From this perspective, the intensity of blaming others is thought to intensify when the blamed other and the blaming person are of the same sex competing for the same resources (e.g., status, money). In this study, the public's image of persons infected with the COVID-19 was first examined using an online survey, and then a scenario experiment was used to examine how victim blaming occurs.

First, to clarify the reality of blaming related to the COVID-19, blaming attitudes toward persons who do not comply with stay-at-home request during the declaration of a state of emergency was examined. The results showed that negative feelings toward those who do not comply with the request to stay at home were stronger among women than among men, and this trend was

consistent across multiple scenarios (e.g., no face mask, travel, eating out, etc.). An online experiment was also conducted to see if the intensity of blaming of infected persons differed by manipulating their sex (male or female), age (younger, same age, older), and income (lower, same, higher), but the results did not support predictions by intrasexual competition.

This study examined whether intrasexual competition could explain blaming of those infected with the COVID-19, but no results were obtained to support predictions. There are several possible reasons for this. First, intrasexual competition takes different forms for men and women, with men known for direct aggression such as violence and murder (Kanazawa & Still, 2000) and women for indirect aggression such as gossip (Hess & Hagen, 2006). Women are also known to be more risk averse than men (Campbell, 1999). For these reasons, it is not appropriate to view blaming of infected individuals as intrasexual competition, which occurs especially among men. In this study, women consistently had higher negative feelings toward infected individuals than men. This may be explained by some factors such as mothers being more important to the survival of their children than fathers (Sear & Mace, 2008), and the suppression of disgust due to the signaling of genetic qualities by men (Fessler, Pillsworth, & Flansburg, 2004).

# 把握運動の運動プロトコルの違いが認知機能に及ぼす影響

## Effect of different exercise protocols of handgrip exercise on cognitive function

研究代表者 齋藤 祥太郎(理工学研究科生体医工学専攻)

指導教員 小河 繁彦

研究期間/2021年4月1日~2022年2月15日

|             |                               |
|-------------|-------------------------------|
| キーワード/①実行機能 | Executive function            |
| ②認識記憶       | Memory recognition            |
| ③等尺性運動      | Static exercise               |
| ④運動昇圧応答     | Exercise pressor reflex       |
| ⑤脳血管内皮機能    | Cerebral endothelial function |

2021年度交付額/560,000円

研究発表/学会および口頭発表

- ・(学術論文) Shotaro Saito, Takuro Washio, Hironori Watanabe, Soichi Ando, Shigehiko Ogoh. Effect of intermittent isometric handgrip exercise protocol with short exercise duration on cognitive performance. *The Journal of Physiological Sciences*, 71(1), 1-7. 2021.
- ・(修士論文) 一過性運動による認知機能改善に脳血管内皮機能は関与するか

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

加齢に伴う認知機能の低下・認知症の発症は、要介護状態を招く主要因であることから、その予防・改善は、健康寿命(介護等を必要とせず身心共に健康的に制限を受けずに自立した生活を送れる期間)を延ばす上で重要な取り組みである。そして、その予防・改善策の1つとして、薬物療法と異なり副作用がない運動(例:有酸素・レジスタンス運動)が推奨されている(Basso et al., 2017)。

レジスタンス運動の中でも、把握運動は、使用機器が小さい小筋群の運動であり、また姿勢(例:仰臥位・座位)・場所(例:病床)を問わず実施可能な為、認知機能亢進のための運動様式として注目されている。実際、一過性の等尺性把握運動プロトコル[IHG1:(最大筋力の25%強度による把握運動2分+休息3分)×4セット]によって認知機能が亢進することが報告されている(Washio et al., 2021)。しかし、特に高齢者等の認知症予防のための運動様式として、臨床現場で把握運動を用いるには、2つの課題がある。課題①:認知機能低下の予防・改善が必要な高齢者や循環系疾患患者(例:高血圧症)は、運動中の血圧の増加(運動昇圧応答)が若齢健常者よりも大きいため、運動昇圧応答が大きい等尺性レジスタンス運動を行うことは、循環系疾患発症リスクを高める危険性がある。実際、上述の尺性把握運動プロトコルでは、1セットの運動時間が長く、また昇圧応答が大きい。高齢者等の認知症予防においては、運動昇圧応答が小さく、かつ認知機能を改善する把握運動プロトコルを構築する必要がある。課題②:運動により認知機能は亢進するが、その生理メカニズムは明らかでない。認知機能の亢進・改善効果を最大限にする把握運動プロトコルを構築するためには、当該生理メカニズムを明らかにする必要がある。

本研究では、この2つの課題を解決することを目的とし、以下の2つの実験を行った。

### ①. 1回の収縮時間が短いインターバル把握運動が認知機能に及ぼす影響の調査（実験1）

IHG1 と総仕事量が同等であるが 1 セットの収縮時間が短い等尺性把握運動プロトコル[IHG2: (最大筋力の 30%強度による等尺性把握運動 30 秒+休息 45 秒) ×16 セット]は、IHG1 と比較して運動昇圧応答が小さい(Millar et al., 2011)。実験 1 では、IHG1 と同じ運動量であるが昇圧応答の小さい IHG2 においても、認知機能(実行機能および認識記憶)改善効果が見られるか調査した。本研究では、健常若齢者 22 名を対象とし、IHG2 介入前後に認知機能の測定を行った(実行機能: Go/No-Go 課題、認識記憶: 認識記憶課題)。

### ②. 一過性の把握運動による認知機能改善に脳血管内皮機能は関与するかの検証（実験2）

脳血管内皮機能は、脳血管の収縮・拡張応答を制御し、脳血流調節において重要な役割を担う。脳血管内皮機能低下は認知機能障害を引き起こすことから (Manukhina et al., 2008)、運動による認知機能改善に脳血管内皮機能が重要な役割を担っている可能性がある。実験 2 では、健常若齢者 13 名を対象に、認知機能が亢進する IHG1 の介入前後に、認知機能(実行機能)・脳血管内皮機能[超音波法を用いた炭酸ガス吸入時の脳血管拡張応答 (Hoiland et al., 2021.)] を評価し、さらに認知機能と脳血管内皮機能との関連性を評価した。

## 2. 研究経過および成果の概要

### ①. 1回の収縮時間が短いインターバル把握運動が認知機能に及ぼす影響の調査（実験1）

一過性の IHG2 によって、認知機能は亢進しなかった。したがって、IHG2 は、運動昇圧応答の大きい高齢者や循環器系患者でも、安全に行える把握運動プロトコルであるが、運動刺激は認知機能を亢進するには十分な運動刺激でないことが明らかとなった。

### ②. 一過性の把握運動による認知機能改善に脳血管内皮機能は関与するかの検証（実験2）

一過性の IHG1 により認知機能は亢進する一方、脳血管内皮機能は変化せず、また個人のこれら 2 つのパラメーターの変化に統計的関連性が認められなかった。本研究結果から、脳血管内皮機能の一過性の把握運動による認知機能亢進への関与は最小限であ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

本研究は、①認知機能低下の予防・改善を特に要する高齢者や循環系疾患者が、安全に実施可能かつ認知機能を効果的に亢進できる把握運動プロトコルの構築および②把握運動により認知機能が改善する生理メカニズムの解明を目的に実験を行った。しかし、両課題の解決には至らず、更なる検証が必要である。また、本研究の対象は、健常若齢者であり、本研究結果を全て高齢者や高血圧患者、認知症患者等に置き換えることはできない。このことから、今後、高齢者や高血圧・認知症患者を対象に、再度 2 つの実験の検証を行う必要がある。

## Summary

Cognitive function is an essential component of most daily and social activities. Therefore, aging-induced cognitive impairment must be prevented by one method or another. Exercise therapy is recommended to improve cognitive performance. The handgrip exercise, a small muscle exercise, is expected as a useful exercise mode to improve cognitive impairment, particularly in the elderly and bedridden patients because the handgrip exercise is a useful exercise mode that can be easily performed in various positions (i.e. supine) and places (i.e.

hospital bed). Indeed, acute intermittent handgrip exercise (IHG) protocol improves cognitive performance [IHG1: 2-min IHG and 3-min recovery  $\times$  4 trials; the exercise intensity was 25% of the maximal voluntary contraction (MVC)]. However, IHG1 protocol increases large arterial blood pressure, thus, it may not be used for the elderly and patients who show a large exercise pressor reflex. Additionally, the physiological mechanism of exercise-induced improvement in cognitive performance is not clear. However, it is necessary to clarify this physiological mechanism to performed optimal exercise therapy for improving cognitive impairment. Empirical evidence has suggested that cerebrovascular endothelial dysfunction likely impairs cognitive function, indicating that exercise-induced improvement in cognitive performance might be related to enhancement in the cerebrovascular endothelial function. Under these backgrounds, we investigate an effect of IHG with short exercise duration on cognitive performance [IHG2: 30-s IHG and 45-s recovery  $\times$  16 trials; the exercise intensity was 30% of MVC], which minimize exercise pressor reflex, on cognitive function (experiment 1: n = 22) and the relationship between cerebrovascular endothelial function and IHG 1-induced improvement in cognitive function in healthy young adult (experiment 2: n = 13). As result, in contrast to the result of the previous study using IHG1, IHG2 did not significantly enhance cognitive performance. Moreover, IHG1 did not change the cerebrovascular endothelial function while improving cognitive performance. These findings suggest that the intermittent IHG exercise protocol with a short exercise duration may not provide enough stimulation to improve cognitive performance despite being useful as a safe exercise mode in the elderly and patients with cardiovascular disease. Moreover, exercise-induced improvement in cognitive function is induced by other physiological mechanisms (i.e., cerebral neural activation) independent of cerebrovascular endothelial function. Further studies are needed to clarify these issues.

## 脱窒プロセスにおける有機系廃液の再利用条件の検討

### Reuse of organic wastewater as hydrogen donor for denitrification process

研究代表者 坂本悠生(理工学研究科応用化学専攻)

指導教員 井坂和一

研究期間/2021年4月1日~2022年2月15日

キーワード/①脱窒 Denitrification  
②メタノール Methanol  
③有機廃液 Organic waste  
④再利用 Recycle  
⑤排水処理 Wastewater treatment

2021年度交付額/552,000円

研究発表/学会および口頭発表

松川由佳、坂本悠生、茂木綾香、井坂和一：脱窒プロセスにおける水素供与体が及ぼす影響、日本水処理生物学会（2022年10月 発表予定）

研究経過および成果の概要

#### 1. 研究方法

窒素排水は環境汚染の要因となっており、健全な水環境保全のため、適切に処理することが極めて重要である。現在利用されている窒素処理技術のうち、生物学的硝化脱窒法の脱窒工程では、水素供与体（有機物源）の添加が必要である。水素供与体源としてメタノール（MeOH）が広く用いられているが、MeOH添加は、引火性の危険物であるだけでなく、廃水処理コストの主な要因となっている。半導体工場で使用されているイソプロピルアルコール（IPA）や食品排液から発生する有機酸は、水素供与体として脱窒工程に利用できる可能性があるが、他の有機物源に突然切り替えると、脱窒性能が不安定になることが報告されている。そのため、有機物源の切り替え方法については詳細な検討が必要である。また、脱窒工程では様々な担体法が開発されており、担体法によって、これら水素供与体を切替える影響が異なる可能性がある。

そこで本研究では、IPAを用いた脱窒プロセスにおいて有機物源をIPAからMeOHへ段階的に切り替える方法を考案し、窒素処理性能への影響を検証すると共に、異なる2つの担体法を用いて、担体法の違いによる影響についても合わせて検証した。

供試排水として硝酸ナトリウムを窒素源とする合成排水を用いた。窒素濃度を100 mg L<sup>-1</sup>、水素供与体としてIPAを188 mg L<sup>-1</sup>、リン濃度は4 mg L<sup>-1</sup>に設定した。担体として活性汚泥をポリエチレングリコール系のゲルで固定化した包括固定化担体と、ポリビニルアルコール製の付着担体の2種類の担体を用いた。

#### 2. 研究経過および成果の概要

連続試験方法としては、有機物源としてIPAを用いた連続系の立ち上げ試験を行い、担体当たりの窒素処理速度として10 kg-N m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup>以上となるよう、水理学的滞留時間（HRT）を減少させ、

脱窒性能を上昇させた。連続系試験の立ち上げ後、有機物源を IPA から MeOH に段階的に切り替える方法を考案し実施した。これは、添加する全ての水素供与体 (MeOH+IPA) のうち、MeOH の割合 (MeOH 比) を①0%、②20%、③40%、④100%と段階的に切り替え、有機物源の変化による窒素処理性能への影響を抑制する方法である。

立ち上げ試験の結果、担体当たりの脱窒速度 (DNR) として、包括固定化担体では  $11 \text{ kg-N m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ 、付着担体では  $12 \text{ kg-N m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  を達成し、高い窒素処理性能を確認した。所定の脱窒性能が得られたので、有機物源を切り替える試験を実施した。包括固定化担体を用いた系および付着担体を用いた両系において、有機物源を 0% MeOH (IPA100%) から 20%MeOH (80%IPA) に切り替えた結果、一時的な脱窒性能の低下がみられたが、脱窒性能は速やかに回復した。包括固定化担体を用いた処理系では、20%MeOH に切り替え時に窒素除去率が 82%まで低下したが、翌日には窒素処理性能は回復しており、水質の低下は一時的なものであった。付着担体を用いた系においても、有機物源を切り替えた影響は確認されたが、包括固定化担体を用いた系よりも、影響を受けにくい傾向であった。その後、メタノールの比率を 40%MeOH、100%MeOH へと切替えたが、窒素処理性能への大きな影響は確認できなかった。

結論として、IPA を用いた脱窒プロセスにおいて、一時的な水質低下はあるものの、有機物源を段階的に切り替えることで、MeOH へ完全に切り替えることが可能であることを確認した。なお、切り替え初期段階においては、水質の影響が現れやすく、注意が必要であることが示された。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

従来困難とされた脱窒プロセスにおける水素供与体の切り替え、すなわち MeOH と IPA の相互利用の可能性を確認することができた。生物叢への影響を考慮し、段階的に切り替えることで可能となったものである。さらにこれら 2 つの基質の互換性を確認するには、逆方向の切り替え (MeOH から IPA) を検証する必要がある、今後の調査が期待される。

また、食品系廃液の再利用を想定した場合、IPA だけでなく酢酸・プロピオン酸などの有機酸の利用についても検討する必要がある、それらの有機物質と現在利用されている MeOH との互換性について確認する必要がある。

さらに今回の結果から、初期の切り替え (20%相当を切替え) 時に、窒素処理性能に影響が確認された。このことから、初期の切り替えは 20%よりさらに低い濃度条件での切り替える方法を検討し、窒素処理性能への影響を少なくする必要がある。これらの課題については、継続して検討を行う予定である。

また、脱窒プロセスでは反応過程において温室効果ガスである亜酸化窒素 ( $\text{N}_2\text{O}$ ) が発生することが報告されている。 $\text{N}_2\text{O}$  は環境中に残留しやすい温室効果ガスであるため発生量を抑制する必要がある。今回の有機物源の切り替えにより  $\text{N}_2\text{O}$  発生量が抑制できるか、さらなる検討が必要である。

## Summary

Development of denitrification process with low cost is one of the important issues to keep clean water environment. Conventionally, methanol (MeOH) is widely used as hydrogen donor for denitrification process. Organic waste such as 2-Propanol (IPA) waste or organic acids has a potential of use as a hydrogen donor for denitrification process. However, it has been reported

that sudden switching of all organic sources significantly reduces nitrogen treatment performance. Also, since the methylotrophic microorganisms utilizing methanol has a special metabolic pathway, compatibility with other organic sources has not been investigated.

In the present study, effect of organic substrates as hydrogen donor for denitrification process was evaluated using different types of biomass carriers. IPA was used for start-up of the denitrification processes. In order to immobilize the denitrification bacteria in the reactor, two types of carrier, polyvinyl alcohol (PVA) gel beads and polyethylene glycol (PEG) gel carriers, were used for continuous feeding tests. After sufficient denitrification activity was observed, 20% of hydrogen donor was replaced from IPA to MeOH. Consequently, nitrogen removal efficiency of the nitrogen removal process using PEG gel carrier was reduced from 97% to 82 % temporarily, but recovered the next day. Regarding the nitrogen removal process using PVA gel beads was not affected significantly by the change of hydrogen donor. After that, the ratio of MeOH was increased to 40% and 100%, but no significant effect on the nitrogen removal performance was observed. From these results, it was shown that the hydrogen donor for denitrification can be changed from IPA to MeOH without significant effect of nitrogen removal performance. There is a possibility that other organic substances can be used in combination with MeOH, and it is necessary to investigate the use of various organic substances in future study. In particular, if organic acids such as an acetic acid or a propionic acid can be used for hydrogen donor instead of methanol, there is a possibility of using food-based waste for denitrification process as a hydrogen donor.

Furthermore, emission of  $N_2O$  from the denitrification process is also serious issues for the operation because the  $N_2O$  has high potential of greenhouse effect. In future study, effect of organic substrates on the emission of  $N_2O$  should be investigated.

## A型トリコテセンを用いた抗体医薬作製の試み

～より副作用の少ない抗癌剤開発を目指して～

An attempt to produce antibody drug using A-type trichothecenes.  
～Toward the development of anticancer drug with fewer side effects.～

研究代表者 小泉 慶明(理工学研究科応用化学専攻)

指導教員 安藤 直子

研究期間/2021年4月1日～2022年2月15日

|            |                     |
|------------|---------------------|
| キーワード/①カビ毒 | Mycotoxin           |
| ②抗癌剤       | Anticancer drug     |
| ③抗体医薬      | Antibody drug       |
| ④モノクローナル抗体 | Monoclonal antibody |
| ⑤乳癌        | Breast cancer       |

2021年度交付額/560,000円

研究発表/学会および口頭発表

- 1) 小泉 慶明、楠本 和史、岩澤 卓弥、加藤 和則、安藤 直子「カビ毒トリコテセンを用いた癌細胞増殖阻害活性の検証」、東洋大学理工学フォーラム 2021、2021年7月
- 2) 楠本 和史、小泉 慶明、加藤 和則、安藤 直子「トリコテセンを用いた抗体医薬作製の試み」、日本化学会 生体機能関連化学部会 第15回バイオ関連化学シンポジウム、2021年9月
- 3) 小泉 慶明、楠本 和史、荻原 廉、高橋 華奈、岩澤 卓弥、加藤 和則、木村 真、安藤 直子「各種癌細胞株におけるトリコテセンの増殖阻害活性性能検証」、日本マイコトキシン学会 第87回学術講演会、2022年1月
- 4) 楠本 和史、荻原 廉、高橋 華奈、小泉 慶明、安藤 直子「抗体医薬作製のためのトリコテセン探索」、東洋大学工業技術研究所 研究発表会、2022年2月
- 5) 荻原 廉、高橋 華奈、楠本 和史、小泉 慶明、安藤 直子「カビ毒トリコテセン類の有する皮膚癌増殖の阻害能」、東洋大学工業技術研究所 研究発表会、2022年2月
- 6) 高橋 華奈、荻原 廉、楠本 和史、小泉 慶明、安藤 直子「D型トリコテセン誘導体の生産・精製と抗癌候補トリコテセンの毒性評価」、東洋大学工業技術研究所 研究発表会、2022年2月

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

トリコテセンとは、主に *Fusarium* 属等がムギなどの穀類に感染した際に二次代謝産物として生産するカビ毒の一群である。特に細胞分裂が盛んな細胞に対して強い毒性を示すことに加え、200種類以上の類縁体が存在するトリコテセンは、抗癌剤などのリード化合物として応用利用が試みられてきた。しかし、毒性の強さゆえ、癌細胞のみでなく正常細胞に関しても強い毒性を示してしまうため、応用利用は見送られてきた。しかしながら、近年の抗体医薬における技術的進歩が著しく、

癌細胞のみを選択的に攻撃するスキームが可能となってきた。

本研究では、癌細胞のみを選択的に攻撃するスキームとして、Antibody Drug Conjugate (ADC) と呼ばれる抗体薬物複合体において、薬物をトリコテセンに置き換えることで、トリコテセンを用いた ADC であるトリコテセン結合抗体の作製を試み、トリコテセン単体とトリコテセン結合抗体の癌細胞に対する増殖阻害能の比較検討を行った。本検証では、以下の(1)~(4)について実験を行った。

### (1). 3種のトリコテセンの生産と精製

*F. sporotrichioides* NBRC 9955 株を GYEP 培地で 7 日間振盪培養した。酢酸エチルにて抽出し、順相系液体分取クロマトグラフィー Purif-RP2 と逆相分取 HPLC を用いて精製を行った。

精製された T-2 toxin を用いて、*Bacillus sp.* (LC466616) から得られた C-4 位脱アセチル化酵素によって C-4 位アセチル基を脱離させ、HT-2 toxin を生産した。また、アンモニアを添加することで脱アセチル化、脱イソバレリル化させ、T-2 tetraol を作製した。

### (2). 抗 EpCAM モノクローナル抗体の生産と精製

抗 EpCAM モノクローナル抗体を生産するハイブリドーマ細胞 1B7 株を RPMI 培地で培養し、遠心分離によって細胞培養液上清を得た。硫酸分画と ProteinG カラムにより抗体を精製し、BCA 法によるタンパク質定量を行った。

### (3). トリコテセンと抗体の結合

各トリコテセンと抗 EpCAM モノクローナル抗体を有機合成により結合を試みた。

### (4). トリコテセン単体とトリコテセン結合抗体のヒト乳癌細胞 MCF-7 に対する増殖阻害能の検証

ヒト乳癌細胞 MCF-7 を 96-well plate に播種し、1 日間培養後、(1)にて生産・精製したトリコテセン単体と(3)にて作製したトリコテセン結合抗体、抗 EpCAM モノクローナル抗体を阻害剤として添加した。各種トリコテセンの毒性は WST assay により検証した。

## 2. 研究経過および成果の概要

### (1). 3種のトリコテセンの生産と精製

*F. sporotrichioides* NBRC 9955 株を GYEP 培地で 7 日間振盪培養を行った結果、1 L の GYEP 培地から約 80 mg の T-2 toxin が生産することができた。純度を上げるには、さらなる精製が必要であった。また、*Bacillus sp.* (LC466616) から得られた C-4 位脱アセチル化酵素により、T-2 toxin を HT-2 toxin に変換することに成功した。T-2 tetraol の生産には、アンモニア添加による T-2 toxin の脱アセチル化を現在実施中である。

### (2). 抗 EpCAM モノクローナル抗体の生産と精製

ハイブリドーマ細胞 1B7 株を RPMI 培地で 2 週間ほど、継代を行いながら培養し、1 L の細胞培養液上清から約 20 mg の抗 EpCAM モノクローナル抗体が生産することができた。

### (3). トリコテセンと抗体の結合

(1)にて生産された T-2 toxin と(2)にて精製した抗 EpCAM モノクローナル抗体をアミド結合のリンカーでつなぐ方法について試みた。始めにリンカーを有機合成した中間体の合成を試みた結果、TLC や LC-MS/MS 解析により、それぞれの中間体の合成が成功したことが確認された。次に中間体に対して抗 EpCAM モノクローナル抗体を加え、トリコテセン結合抗体の EpCAM-T-2 の合成を試みた。

また、現在収集段階である HT-2 toxin にも同様に合成を試みているが、ヒドロキシ基が 2 つあ

る HT-2 toxin は T-2 toxin に比べ、リンカー合成が特異的でないために対応を検討中である。

#### (4). トリコテセン単体とトリコテセン結合抗体のヒト乳癌細胞 MCF-7 に対する増殖阻害能の検証

(1)にて生産された T-2 toxin、(2)にて精製した抗 EpCAM モノクローナル抗体、(3)にて作製されたトリコテセン結合抗体の EpCAM-T-2 をヒト乳癌細胞 MCF-7 に添加し、WST assay で毒性を検証した結果、IC<sub>50</sub>は(1)の T-2 toxin は  $8.77 \times 10^{-2}$  µg/mL、(3)のトリコテセン結合抗体の EpCAM-T-2 は 8.95 µg/mL であることが示された。(2)の抗 EpCAM モノクローナル抗体に関しては、本検証における濃度帯では増殖阻害能を示さなかった。つまり、(3)にて作製したトリコテセン結合抗体の EpCAM-T-2 が示した増殖阻害活性は、結合したトリコテセンの T-2 toxin 由来であると考えられるため、トリコテセン結合抗体の合成は成功したと示唆された。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

今後の課題として、現在収集段階の HT-2 toxin、T-2 tetraol について継続的に生産を行っていく必要があるが、これら 2 つのトリコテセンは抗体結合部位であるヒドロキシ基の数が異なり、結合部位の特異性が失われるため、リンカー合成方法の検討を行っていく必要がある。さらに今回試したリンカーは 1 種類であるため、リンカーを変えた際の増殖阻害能の検証も行っていく必要がある。

### Summary

Filamentous fungi such as *Fusarium* spp. infect important cereals and produce trichothecene mycotoxins as secondary metabolites. The toxicity of trichothecenes is highly toxic to cells with high cell proliferation and is expected to be used for anti-cancer drug applications. There are more than 200 analogues of trichothecenes, and they have been expected to be lead compounds for drugs. However, trichothecenes exert toxicity not only to cancer cells but also to normal cells, and research of trichothecene application has been postponed. In recent years, however, advances in technologies that specifically attack cancer cells, such as antibody drugs, have brought renewed attention to the use of trichothecenes as drugs. In this study, we aimed to use this scheme to apply trichothecene as a lead compound for anti-cancer drugs with less side effects.

In this study, an A-type trichothecene, T-2 toxin, and its analogs, HT-2 toxin and T-2 tetraol, were selected. In addition, anti-human EpCAM monoclonal antibody, which is a monoclonal antibody against EpCAM, a cancer cell-specific surface antigen, was selected as an antibody for this trial. The growth inhibitory effects of these trichothecene-conjugated antibodies and trichothecenes in themselves were determined against human breast cancer cells MCF-7.

In the production and purification of trichothecenes, *Fusarium sporotrichioides* NBRC 9955 strain successfully produced about 80 mg T-2 toxin in 1 L of GYEP medium. Regarding to deacylated products of T-2 toxin, HT-2 toxin was successfully produced by applying crude enzyme of *Bacillus* sp. (LC466616) to T-2 toxin, while T-2 tetraol was obtained by adding ammonium to T-2 toxin and deacetylating it at C-4, C-8 and C-15 positions.

In the results of production and purification of anti-human EpCAM monoclonal antibody, the hybridoma cell line 1B7 was cultured in RPMI medium for about 2 weeks and successfully

produced about 20 mg per liter.

We bound each trichothecene to antibody EpCAM in organic synthesis and found the intermediate to be successfully synthesized. Since no analytical means were available to find binding efficiency of the intermediate to the anti-human EpCAM monoclonal antibody, we compared the toxicity of the anti-human EpCAM monoclonal antibody itself and the trichothecene-bound antibody by applying each to MCF-7.

In the results of growth inhibition study, only T-2 toxin-conjugated antibody showed growth inhibition effects, but not antibody itself. The fact that the anti-human EpCAM antibody showed no growth inhibitory activity suggests that the growth inhibitory effect of the trichothecene-binding antibody attributed to T-2 toxin, and that the trichothecene-binding antibody was successfully synthesized.

# *Fusarium* 系カビ毒 nivalenol の検出に向けた異属糸状菌酵素の利用

## Use of fungal enzymes from non-fusaria for the detection of *Fusarium* mycotoxins, nivalenol

研究代表者 松尾 元暉(理工学研究科応用化学専攻)

指導教員 安藤 直子

研究期間/2021年4月1日~2022年2月15日

キーワード/①ニバレノール nivalenol (NIV)

②C4位アセチル化酵素 4-O-acetyltransferase

③*Trichoderma brevichompactum*

④添加実験 feeding assay

⑤ELISA

2021年度交付額/556,000円

研究発表/学会および口頭発表

- ・松尾元暉、武田博音、加瀬正浩、安藤直子「Nivalenol系トリコテセンのC-4位アセチル化の試みと応用利用」2021年度工業技術研究所研究発表会（2022年2月24~25日 川越、オンライン開催）

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

トリコテセンとは、*Fusarium* 属などが穀物などに感染し、二次代謝産物として生産するカビ毒の一群であり、人の摂取機会も多いため、食の安全を脅かす存在といえる。本研究では、食品への汚染がしばしばみられるB型のnivalenol (NIV)系トリコテセンに着目した。nivalenol (NIV)は、deoxynivalenol (DON)と同じB型トリコテセンに属するが、DONよりも毒性が強い。しかし、規制対象となっているのはDONのみであり、NIVを含めたNIV系トリコテセンの規制がされていないため、問題視されている。その主な原因の一つとして、NIV系トリコテセンを簡易に検出する方法が確立されていないことが挙げられる。そのため、本研究ではNIV系トリコテセンの検出系を確立することを目的とし、ELISA法を利用したキットで簡易検出する方法を考案した。NIV系トリコテセンの中でELISA法での検出が可能なのは3,4,15-triacetylnivalenol (3,4,15-triANIV)のみであり、NIV系トリコテセンをトリコテセン生合成TRI酵素群等により、3,4,15-triANIVへの変換を試みることにした。しかし、そのC4位アセチル化酵素であるTRI7は非常に安定性が悪く、実用化に堪えない。そこで、本研究では、*Fusarium* 属菌以外にも探索の目を向け、TRI7の代替酵素をトリコテセン生産菌から探索した。今回着目したのが、C4位にアセチル基を有するtrichodermin (TDmin)を主生産物とするトリコテセン生産菌*Trichoderma brevichompactum* (Tb)株である。この菌株を利用し、NIVから3,4,15-triANIVへの変換系を構築することを考案した。

主な研究方法としては、国内外で購入した8つのTb系状菌を静置培養、振とう培養を用いて培養し、TDminが生産しているかについて、TLC・HPLC・LC-MS/MSを用いて確認し、選別した。

生産物を大量生産、精製し、NMR で構造決定を行った。まず、TDmin 生産菌に 15-ANIV・3,15-diANIV を feeding し、4,15-diANIV・3,4,15-triANIV に変換されるかを確認した。その結果を踏まえて、この菌株の粗酵素を抽出し、活性を調べた。さらに、C4 位アセチル化酵素遺伝子である TbTri3 の DNA を pColdII に挿入し、大腸菌に遺伝子組換えをすることで、大腸菌による rTbTRI3 酵素の発現を試みた。SDS-PAGE での発現確認と、生産物の確認を行った。

## 2. 研究経過および成果の概要

TLC・HPLC・LC-MS の解析の結果から、8 株の中で Tb CBS 112444 株が最も効率的に TDmin を生産できることが示唆された。また、NMR の構造決定で、Tb CBS 112444 株の生産物が TDmin であることを確定できた。そして、NIV 系トリコテセンに対して Tb CBS 112444 株が C4 位アセチル化活性を示すかについて、Feeding 実験で調べたところ、TLC において 15-ANIV が 4,15-diANIV になることが分かった。そのため、HPLC・LC-MS によって確認を行ったところ、その変換が確認された。また、3,15-diANIV を基質にした場合は、TLC において 3,15-diANIV が 3,4,15-triANIV に変換したことが考えられた。そのため、15-ANIV 同様に HPLC・LC-MS での確認を行ったところ、活性を持つ可能性が示唆された。以上のことから、Tb 株の C4 位アセチル化活性が NIV 系トリコテセンにおいても作用することが示された。そのため、Tb CBS 112444 株の菌体破砕物での TbTRI3 粗酵素の取得を試みたが、この粗酵素では、NIV 系トリコテセンの C4 位アセチル化活性を確認できなかった。同様に、大腸菌を利用した TbTRI3 リコンビナントタンパク質の作製を試みたが、こちらの方法では、発現も十分ではなく、活性のある酵素を得ることができなかった。

## 3. 今後の研究における課題または問題点

今回の研究の目的としては、NIV 系トリコテセンを簡易検出するために使用する予定だった TRI7 が失活しやすいことで、実用化に至っていないという背景から、代替酵素を探すために、C4 位アセチル化酵素の存在が示唆される Tb 株を使用して C4 位アセチル化酵素の取得を目指した。そして、*Trichoderma* 属の CBS 112444 株において、異属の *Fusarium* が生産する NIV 系トリコテセンに対し、C4 位アセチル化が証明されたのは大きな収穫であった。しかし、この活性は *in vivo* でしか見られず、*in vitro* での活性の発現を実現することができなかった。粗酵素の取得条件、遺伝子組換え大腸菌を利用した TbTRI3 の取得がうまくいかなかった理由を解明し、*in vitro* での活性を得ることが次の課題と言えよう。

## Summary

Trichothecenes are a group of mycotoxins that contain a trichothecene skeleton (12,13-epoxy-trichothec-9-ene; EPT) in their structures. To date, many trichothecenes with various modifying groups have been found. They are produced by several genera of fungi, including *Fusarium*, *Spicellum*, *Trichothecium*, *Trichoderma*, and *Myrothecium*. Based on their chemical structures, trichothecenes are classified into four types: A to D. Nivalenol (NIV)-type trichothecenes as well as deoxynivalenol (DON)-type are belong to Type B. The acceptable daily intake (ADI) of nivalenol (NIV) in food is 0.4 µg / kg. Although NIV is evaluated more toxic than DON, which is under regulation, NIV is not sufficiently regulated, partly because NIV can not be easily detected. Therefore, we have tried to devise a method that enables simple detection of NIV using the ELISA

method. Since only 3,4,15-triacetylnivalenol (3,4,15-triANIV) can be detected in ELISA, because of existence of useful antibody with enough affinity. Thus, we aimed to convert NIV to 3,4,15-triANIV with trichothecene biosynthetic enzymes, TRI enzymes, TRI101 (3-*O*-acetyltransferase), TRI3 (15-*O*-acetyltransferase), TRI7 (4-*O*-acetyltransferase). However, we found that TRI7 is very unstable and could not be useful for practical use. Therefore, in this study, we tried to find an alternative to TRI7 from *Trichoderma brevicompactum* (Tb). We obtained 8 strains of Tb and examined to find which strains produce trichodermin (TDmin) with acetyl group at C4 position. We found that CBS 112444 seemed to produce TDmin most efficiently by TLC / HPLC / LC-MS analysis among the eight Tb strains. In addition, NMR structure determination confirmed that the product of the Tb CBS 112444 strain was TDmin itself. Next, we fed 15-acetylnivalenol (15-ANIV) and 3,15-diacetylnivalenol (3,15-diANIV) to liquid culture medium inoculated with Tb. We obtained and extracted a portion of the medium with ethyl acetate and found that 15-ANIV was efficiently converted to 4,15-diacetylnivalenol (4,15-diANIV) by TLC / HPLC / LC-MS analysis. It is the first finding that NIV-type trichothecenes can be acetylated *in vivo* at C4 position by non-fusaria. Next, we tried to obtain TbTRI3 crude enzyme from the culture solution of Tb CBS 112444 strain. We collected fungal mycelia by centrifugation and disrupted it using ultrasonication and prepared crude enzyme solution. However, we could not confirm the C4 acetylation activity of NIV-based trichothecene with this crude enzyme. We also tried to produce recombinant TbTRI3 which gene was integrated into pColdII vector and incorporated into *E. coli* BL21. However, we could not observe TbTRI3 band on SDS-PAGE, and could not express C4 acetylase activity toward NIV-type trichothecenes. We need to use more appropriate condition for *in vitro* experiments.

## 紫外線抵抗性好塩性古細菌の諸性質解析

### Analysis of ultraviolet resistant Haloarchaea

研究代表者 小宮山 寿紗(理工学研究科応用化学専攻)

指導教員 峯岸 宏明

研究期間/2021年4月1日~2022年2月15日

キーワード/①好塩性古細菌 Haloarchaea

②古細菌 Archaea

③紫外線 Ultraviolet

④DNA 修復 DNA repair

⑤*Halorubrum*

2021年度交付額/560,000円

研究発表/学会および口頭発表

- ・日本 Archaea 研究会 第33回講演会 2021年7月「紫外線抵抗性好塩性古細菌 sp. 176-9 および 590-2 株の UV 曝露後応答諸性質解析」発表
- ・2021年度 第22回極限環境生物学会 2021年11月「紫外線抵抗性好塩性古細菌 176-9 株および 590-2 株の UV-C 曝露後生存曲線の解析」発表

研究経過および成果の概要

#### 1. 研究方法

##### ①紫外線抵抗性好塩性古細菌候補株への紫外線曝露後応答確認試験

市販塩サンプルから紫外線曝露スクリーニングによって分離した 590-2 株を研究対象とした。590-2 株の Growth curve を測定し、mid-Log phase の推定を行った。UV 曝露実験には mid-Log phase まで培養した培養液 (mid-Log 培養液) を用いることとした。曝露実験は 2 パターン行うこととした。

パターン 1: 強い UV 照度、短時間 (10 分間) で UV 曝露させる試験。培養開始から 30 時間時点 を mid-Log 培養液として UV 曝露を開始した。

パターン 2: 弱い UV 照度、長時間 (2~24 時間) で UV 曝露させる試験。培養開始から O.D.660 が 0.5 になった時点 を mid-Log 培養液として UV 曝露を開始した。

実験の共通事項: mid-Log 培養液を  $\phi$  70 mm のシャーレに入れ、インビトロシェーカーで振盪させながらクリーンベンチ内で UV 曝露 (UV-C(253.7 nm)、15 W) を行う。曝露中は照度計を用いて UV 照度を測定する。一定時間後、mid-Log 培養液を回収して O.D.660 を経時的に測定し、菌体の増殖挙動を確認する。

##### ②候補株の遺伝子解析

研究対象である 590-2 株からフェノール/クロロホルム法によりゲノム DNA を抽出してゲノム解析に用いた。ゲノム解析は今年度購入したナノポアシーケンサーの MinION を用いたシングルセルでの解析および、共同研究先である JAMSTEC に依頼し、MiSeq での解析を行った。

## 2. 研究経過および成果の概要

### ①紫外線抵抗性好塩性古細菌候補株への紫外線曝露後応答確認試験

プレ試験では、マグネチックスターラーで UV 曝露させた mid-Log 培養液では、再現性があるデータを取ることができなかった。理由として、攪拌による流速が中心部とシャーレの淵とで異なる事で曝露が均一に行えなかった事が考えられる。また、攪拌子による攪拌で菌体が UV 曝露に関係なく弱体化もしくは死滅したことが考えられる。よって、本試験では卓上小型振盪機を用いることとした。

パターン 1 結果 (図 1) : 590-2 株に対して、UV 強度 0.540-0.720 kJ/m<sup>2</sup>、10 分間の曝露 (UV 照度 0.09-0.12 mW/cm<sup>2</sup>) を行ったところ、死滅を確認することができなかった。しかし、最終 O.D.660 が 1 回目と 2 回目とで異なった。1 回目では培養開始 200 時間頃から増殖が再開したが、2 回目の試験では曝露時から増殖が増加しなかった。そこで 250 時間経過後、培養液を固体培地に塗布し培養したところ、1,2 回目とも菌体の生育を確認することができた (図 2)。このことから、両試験とも曝露後死滅に至らなかったことが判断できる。UV 曝露培養液の最終 O.D.660 に違いが生まれた原因として、1 回目と 2 回目の 30 時間前培養時点で O.D.660 が異なる事が考えられる。O.D.660 は 1 回目が約 0.30、2 回目が約 0.07 であった。このことから、パターン 2 では mid-Log を培養時間ではなく、O.D.660 の数値を指標とすることとした。

パターン 2 結果 (図 3) : UV 強度 2.38 kJ/m<sup>2</sup> まで生存する事が確認できた。4~5 時間以降の生存曲線は、装置の測定可能時間を超過したため計測することができなかった。その後、計 300 時間培養したが、4,5 時間曝露の培養液には懸濁が見られず、また O.D.660 の数値も増加していなかったことから死滅したと考えられる。したがって本試験では 590-2 株は UV 曝露 3 時間 (2.38 kJ/m<sup>2</sup>) まで増殖する事が分かった。

### ②候補株の遺伝子解析

ナノポアシーケンサーの MinION で解析した結果、得られたデータは短いライブラリーであり、また解像度は悪かったため、詳細な解析にいたらなかった。一方、研究共同先である JAMSTEC での MiSeq によるゲノム解析は、ロングリードのライブラリーが得られた。現在は、590-2 株の近縁種であり、完全長ゲノム配列が公開されている *Halorubrum lacusprofundi*、*Halorubrum ezzemoulense* および *Halorubrum sodomense* 等を比較対象としてアノテーション作業を行っている。これまでの研究により、590-2 株は *uvr* 遺伝子を有していることが分かっているので、ゲノム解析後にそれらについて詳細に研究していく予定である。

## 3. 今後の研究における課題または問題点

### ①紫外線抵抗性好塩性古細菌候補株への紫外線曝露後応答確認試験から、590-2 株は UV 強度 2.38

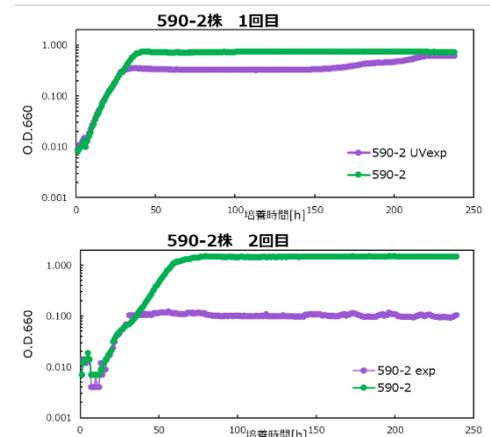


図 1. パターン 1 生存曲線結果

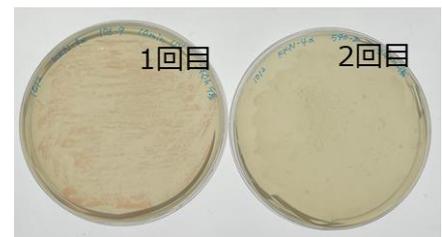


図 2. パターン 1 培養結果

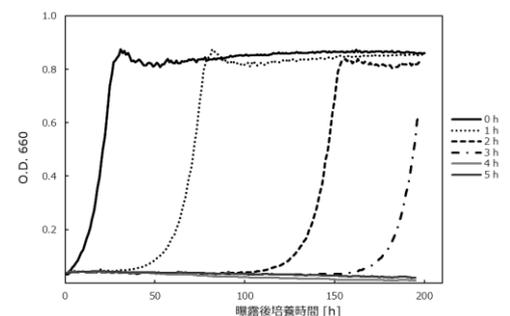


図 3. パターン 2 生存曲線結果

$\text{kJ/m}^2$  まで生存する事が分かった。しかし、正確な死滅 UV 強度は測定できなかった。また 590-2 株に UV 抵抗性がある事は判明しているが、その抵抗性要因の生化学的解析が今後の課題であると考えられる。例えば、二本鎖 DNA 鎖切断修復能の測定、UV 曝露後カロテノイド発現量の比較評価が挙げられる。

②ナノポアシーケンサーの MinION でシングルセルにおけるゲノム解析はその報告が少なく、今後解像度を上げるためにはライブラリー調製時の条件検討が必要になる。

## Summary

The study subjects were sp. 590-2 isolated from commercial salt samples by UV exposure screening. UV experiment was conducted in which UV was exposed in a clean bench while shaking the mid-Log culture medium of sp. 590-2 with a shaker. Two patterns of UV experiments were performed. Pattern 1: Strong UV illumination, 10 minutes exposure. Pattern 2: Weak UV illuminance, UV exposure for 2-24 hours. Result of two patterns of UV exposure experiments, it was found that the sp. 590-2 survived after UV exposure of  $2.38 \text{ kJ / m}^2$ . As a result of the pattern 1 experiment, the sp. 590-2 could not be killed by the method of exposing to strong UV illuminance in a short time. It was also found that the mid-Log culture medium should be judged not by the passage of time but by the numerical value of O.D.660. The reason is that the condition of the cells can be made uniform. This is because in the pattern 1 experiment, the final degree of bacterial growth was different due to the difference in O.D.660 when exposed.

After pattern 2 experiment, when the cells were cultured for more than any hour, it was confirmed that the culture medium exposed for 4,5 hours did not grow. Therefore, it is considered dead. However, it was not possible to accurately measure the sterilizable UV illuminance of the sp. 590-2. The future task is to biochemically analyze the UV resistance mechanism. For example, measurement of double-stranded DNA strand cleavage repair ability and comparative evaluation of carotenoid expression level after UV exposure can be mentioned. In the gene analysis experiment of the sp. 590-2, genomic DNA was extracted by the phenol / chloroform method and used for analysis. Single-cell analysis using MinION and MiSeq analysis at the collaborative research destination JAMSTEC were performed. As a result, analysis of MinION did not lead to a detailed analysis. On the other hand, analysis by MiSeq gave a long-read genomic library. Currently, we are annotating strains of *Halorubrum lacusprofundi*, *Halorubrum ezzemoulense* and *Halorubrum sodomense* for comparison. In the future, in order to increase the resolution of analysis with MinION, it will be necessary to consider the conditions when adjusting the genomic library.

後肢加重低減に伴うラット脛骨関節軟骨の過度な石灰化に対する運動および通電刺激の抑制効果

Inhibitory effect of exercise and electrical stimulation on excessive calcification of ~~rat~~ tibial articular cartilage accompanied with reduction of mechanical loading to hindlimb-in rats

研究代表者 曾 雪倩(ライフデザイン学研究科ヒューマンライフ学専攻)

指導教員 大迫 正文

研究期間/2021年4月1日~2022年2月15日

キーワード/①軟骨 Cartilage

②変形性膝関節症 Osteoarthritis of the knee

③通電刺激 Electrical stimulation

④石灰化層 Calcified layer

2021年度交付額/ 70万円

研究発表/学会および口頭発表

・ Xue-Qian Zeng, Hirai Suito, Wataru Minamizono, Nao Yashima, Chuwei Yang, Masafumi Ohsako: Study in effects of different periods of interventions with electrical stimulation on structural changes of tibial articular cartilage induced by hind-limb suspension in rats. European Collage of Sport Science (Glasgow / Scotland, Virtual congress), 8-10, September, 2021.

・ 曾 雪倩、水藤飛来、南園 航、宇南山 伸、鈴木哲郎、大迫正文：加重低減によって引き起こされるラット脛骨関節軟骨の構造変化に対する異なる介入時間の通電刺激の影響。第76回日本体力医学会大会（津市、リモート学会）9月17-19日。

・ 曾 雪倩、水藤飛来、南園 航、八嶋奈央、楊 楚薇、大迫正文：加重低減に伴うラット脛骨関節軟骨の構造変化に及ぼす異なる介入時間の通電刺激の影響。第39回日本骨代謝学会（神戸市、リモート学会）10月8-10日。

研究経過および成果の概要

1. 研究方法

実験1

材料としてウイスター系雄性ラット40匹を用い、それらを後肢懸垂群(HS)、自動運動群(WE)、他動運動群(PE)および対照群(各10匹)に分類した。CO以外の群は3週間、尾部をケージの天井から吊し、COはそれと同期間、ケージ内で正常飼育した。WEには傾斜角度10°、速度10m/分のトレッドミル上り歩行を行なわせ、PEにはモーター駆動性運動装置を用いて、他動的な膝関節の屈曲伸展運動(80回/分)を行わせた。いずれの群の実験条件も1時間/日、5日/週、3週間とした。

実験2

材料としてウイスター系雄性ラット40匹を用い、それらを後肢懸垂群(HS)、VP通電群(VP)、経皮通電群(TE)および対照群(CO)に分類した。なお、HSおよびCOのデータは実験1と共有した。

TE はパッドを大腿遠位部の内側面および外側面に貼り、80kHz の搬送波を用いた直流電流（60V、50Hz、200μsec）による刺激を、10 分間/日与えた。VP は、VP 装置内で、交流、67mV、20kHz、0.13mA 条件で 30 分/日通電した。いずれの群の実験条件も 1 時間/日、5 日/週、3 週間とした。

いずれの実験においても、実験期間終了後、各群を深麻酔による安楽死させ、脛骨の関節軟骨を摘出した。その後、速やかに固定液に浸漬し、それらを用いて、脱灰パラフィン切片および非脱灰樹脂包埋研磨標本作製し、種々な染色を施して光学、傾向および走査電子顕微鏡により観察した。

## 2. 研究経過および成果の概要

### i. 研究経過

当初の計画通り、実験 1 は 5 月～9 月に、また実験 2 は 10 月～1 月に実施した。その間に前述のごとく、国内・外の 3 つの学会において発表した。

### ii. 成果の概要

#### <背景と目的>

本研究は後肢懸垂したラット脛骨関節軟骨に加重低減による構造変化を引き起こし、それに対する運動および通電刺激の影響について形態学的に比較、検討することを目的とした。

#### <結果および考察>

#### 実験 1

軟骨細胞の密度に関しても群間に差はみられなかったが、軟骨細胞の大きさは HS が最も大きく、次いで WE となり、CO および PE はそれらに比べて小さかった。CO では関節軟骨の中間層から深部にかけてメタクロマジーを強く起こしているが、HS ではその上下的な範囲が狭かった。(図 1) 次亜塩素酸処理した標本の間中層を SEM で拡大して観察すると、CO の中間層は平坦で、WE および PE もそれに近い状態にあったが、HS では基質線維が露出した。(図 2)

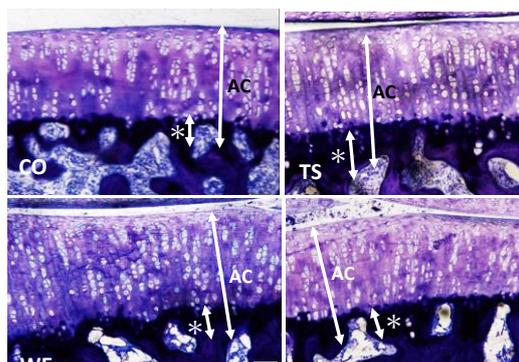


図 1. 各群の関節軟骨の厚さ

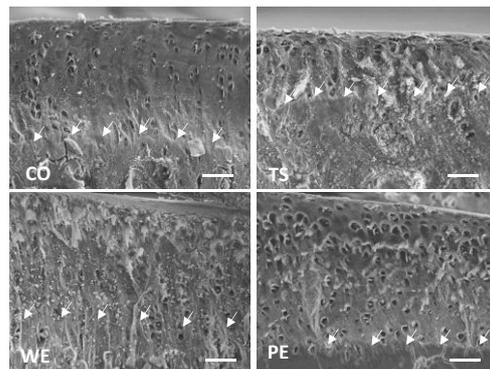


図 2. タイドマークの形状の比較

#### 実験 2

サフラニン O 染色では関節軟骨の基質（プロテオグリカン）が赤色に染色される CO と VP は関節軟骨全体の染色性が同様程度であったが、HS の関節軟骨その染色性が低い傾向にあり、特に HS では HS3 の関節軟骨浅層および中間層が染まらなかった。MMP-3 は軟骨の構成成分であるプロテオグリカンを分解する酵素である。MMP-3 免疫染色の結果を見ると、HS のみ陽性反応が認められた。また、サフラニン O の結果に一致して、MMP-3 は浅層から中間層に局在した。

し

しかし、CO および VP に関しては、それらの反応は CO1 および VP1 の段階からすでに認められなかった。MMP-3 の増加は軟骨基質の破壊を示す一つの指標であると考えられる。このことから、後肢懸垂によって、関節軟骨の基質破壊に伴って石灰化層の上昇が生じ、この現象は VP によって抑制されたと考えられる。(図 3)

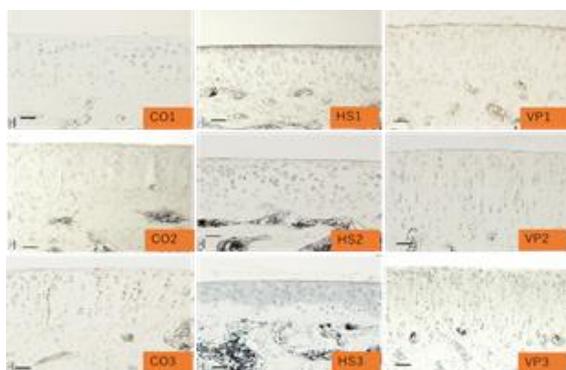


図 1. 異なる実験期間の影響 (MMP3)

ク)

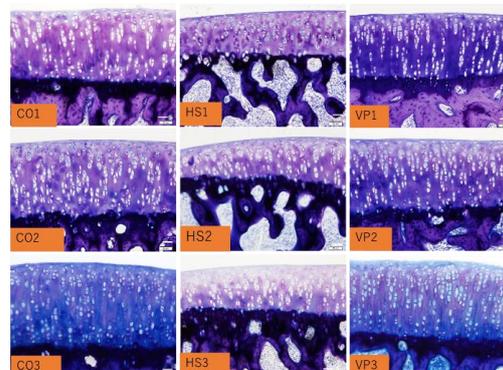


図 2. 異なる実験期間の影響 (タイドマー

軟骨全体の厚さを比較すると、HS では実験開始 1 週間後からすでに減少した。それに対して、VP は 1 週間後から関節軟骨の厚さが維持された。関節軟骨下部に位置する、紺色に染まる石灰化層の厚さを比較すると、HS2 および HS3 では厚さが顕著に増した。一方、VP の石灰化層の厚さは薄く、CO に近い状態にあった。HS の関節軟骨の中間層から深層では、染色性の低下が認められたが、VP と CO におけるそれらの層では、メタクロマジーを強く起こした (図 4)。

<結論>

後肢懸垂によって関節軟骨の石灰化層の上昇と基質破壊が誘導されるが、その誘導は VP による通電刺激の初期段階から抑制され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

変形性膝関節症 (OA) は加齢とともに膝関節の軟骨がすり減ることにより、炎症や骨自体の変形が生じて痛みや腫れが起こり、膝関節の機能の低下を招く病気である。近年、OA における軟骨下骨の役割が注目されている。先行研究では、OA の早期の段階は軟骨下骨の変化が軟骨の変化に先行する可能性が示唆されている。OA 早期の軟骨下骨では骨梁が細く、軟骨下骨が薄いプレート状に薄くなり、これは本研究における後肢懸垂した結果と同様であった。しかし、VP と HS では同じ各実験期間で後肢懸垂したが、VP の軟骨下骨は CO に近い状況にあった。このような軟骨下骨の骨梁の太さを維持するには、VP による通電刺激による破骨細胞の活性化を抑制が関わっていると考えられるが、そのメカニズムに関しては今後の研究課題としたい。

## Summary

### [Background and Purpose]

Recently, a treatment method for Osteoarthritis using a vector potential (VP) has been developed and is drawing attention. The method is characterized by an extremely low burden

on the body because the electrical stimulations aren't directly given to body. Although VP may contribute as a therapy for OA, the effect of VP on the articular cartilage of OA has not been examined histologically.

The purpose of this study was, using tail-suspended rats, to morphologically compare and investigate the effects of electrical stimulation with VP on structural changes of the tibial articular cartilage caused by mechanical unloading.

[Materials and methods]

One hundred and eight male rats (wistar strain, 7-week-old) were used as materials and they were divided into HS, VP and CO, and moreover, each group subdivided, by experiment periods, into HS1, HS2, HS3, VP1, VP2, VP3, CO1, CO2, and CO3. CO1, CO2 and CO3 were normally bred in the cages for 1, 2 or 3 weeks, respectively. Tails of HS1, HS2, HS3, VP1, VP2 and VP3 were suspended in cages for 1, 2 and 3 weeks, respectively. The experiment was conducted under anesthesia using a VP generator (Sumida Denki Co., Ltd.). The conditions of electrical stimulation of VP were 67mV, 20kHz, 0.13mA AC, and were set to 30 minutes / day, 5 days / week. After the experimental period, knee Joint in each group was excised and was analyzed histologically.

[Results and Discussion]

The stainability of safranin O tended to be low in the articular cartilage of HS, and in HS3 in particular, the stainability of the superficial and intermediate layers of articular cartilage had almost disappeared. The results of immunostaining of MMP-3 showed positive reactions only in the HS group, and those reactions localized from superficial to intermediate layers of HS3. However, for CO and VP, those reactions were no longer observed from the CO1 and VP1 stages. MMP-3 has a role of degrading cartilage matrix. In other words, an increase in MMP-3 means an indicator of cartilage substrate destruction. From these facts, it is considered that the suspension of the hindlimbs caused the substrate destruction of the articular cartilage and then the elevation of the calcified layer, and this phenomenon was suppressed from the early stage of VP-electrical stimulation.

# 骨折後の回復促進を図る新たな通電刺激法の開発

## Exploitation of new electrical therapy for promotional recovery on bone injury

研究代表者 水藤飛来(ライフデザイン学研究科ヒューマンライフ学専攻)

指導教員 大迫正文

研究期間/2021年4月1日~2022年2月15日

キーワード/①骨損傷 Bone injury

②組織修復 Histological recovery

③通電刺激 Electrical stimulation

④モデリング modeling

⑤リモデリング remodeling

2021年度交付額/700000円

研究発表/学会および口頭発表

2023年度東洋大学大学院紀要 執筆予定

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

7週齢 wistar 系雄性ラット 24頭を用い、それらを対照群(Control group, CO, n=8)と骨損傷群(Bone Injury group, BI, n=16)に分類した。

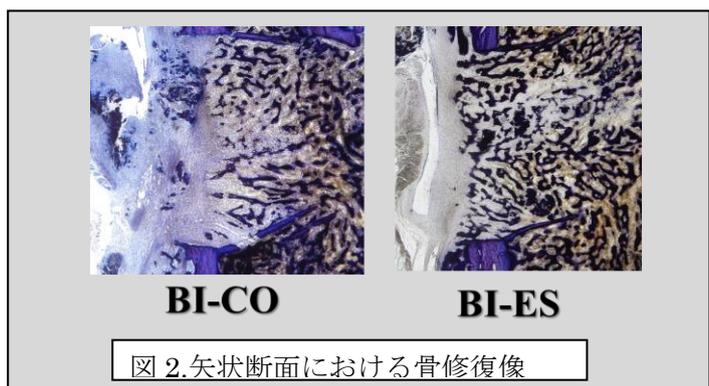
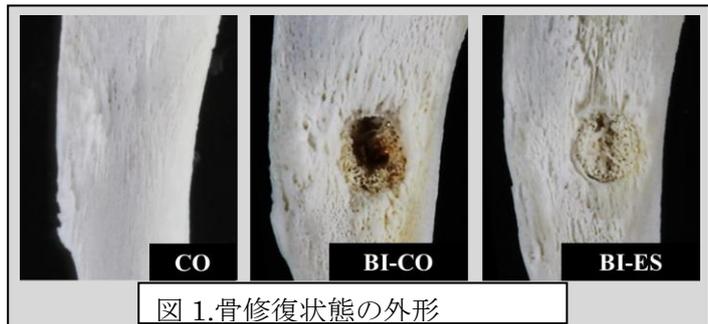
さらに BI は、骨損傷後通常飼育を行った群(Bone injury and Control group, BI-CO, n=8)と、非接触性通電刺激を行った群(Bone injury and Electrical Stimulation group, BI-ES, n=8)に分類した。なお、本実験は1週間実施した。

### 2. 研究経過および成果の概要

本研究は、非接触性通電刺激が骨損傷後の治癒過程に及ぼす影響について比較、検討することを最終目標としている。

BI-CO の骨損傷部位には、欠損部に網状の海面構造が疎に形成されていた。一方で、BI-ES は BI-CO に比べ、密に観察された。(図1) さらに、骨損傷部を矢状断面で観察すると、BI では骨髄内部に海面様の骨組織が細く疎に形成され、本来の皮質骨の部位には未だ骨が形成されていなかった。(図2)

これは、骨損傷は、骨内面から骨形成が進み、次第に皮質骨表面へ修復されることが推測される。一方で、BI-ES では、骨内面の修復組織が BI-CO に比べて、密に観察された。さらに、BI-ES の修復組織は、骨内面のみならず、本来の皮質骨の部位にまで骨形成が進んでいた。これらのことから、非接触性通電刺激は骨形成能力を高め、早期修復治療器として臨床現場で応用できる可能性が示唆された。先行研究によると、骨損傷後の通電刺激は、従来



の骨修復よりも早く骨形成が進むことが示されている。しかしながら、従来の通電刺激法は、鍼通電や骨髄内部に通電装置を埋め込むため、生体に対し非常に侵襲性の高い方法である。さらに、鍼通電は、鍼を介して骨組織へ刺激をするため、その部位の固定を外さなければならないため、骨損傷部の治癒を遷延化する可能性がある。これらの先行研究から、通電刺激は骨修復を促進する能力があるが、その反面、治療の際に侵襲性が高いことや固定装置を外さなければならないため、通電刺激による骨修復促進の能力に抑制をかけていることが推測される。対照的に、これらの問題点を解決できる非接触性通電刺激は、固定装置を外すことなく治療することが可能である。本研究はその装置の効果を検証し、その機序を解明することが最終目標であった。本年度では機序解明に至ることはできなかったが、その効果を組織学的に検証し、証明することができた。さらに詳細な検討をするため、来年度以降も実験を遂行し、早期的に社会還元できるよう努めることを約束する。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

#### 課題

1.通電刺激が骨修復を促進した原理の追求(mechanosensor や mechanosensitive positon の特定)  
→古くから、骨組織におけるモデリング-リモデリングの相互作用は、力学的環境に依存することが知られており、機械的刺激の増減によって骨組織内部の組織構造が変化することが報告されている。しかしながら、そのような「力」はどのように生体組織が認知し、調整されるメカニズムについて不明な点が多く残されているが、骨におけるメカノストレス研究において、「p130Cas」と呼ばれるタンパク質が発見されたのを継起に、そのタンパクは皮膚内部にも存在することから骨組織の形成は骨組織のみならず、皮膚やその他の器官に及ぼされる影響も起因されることが近年明らかにされている。以上のことから、本研究における非接触性通電刺激が骨形成を促進したメカニズムとして、「P130Cas」の存在が大きく関わるものと思われ、以降の研究において証明していくことをひとつの課題としている。

2.骨形成への効果のみならず、骨吸収への効果を解明する。

→前述の如く、本研究において骨形成の促進に非接触性通電刺激が関わることが示唆された。一般的に、骨組織の代謝回転には、骨吸収と骨形成のバランスが重要であり、過剰な骨形成や骨吸収は骨組織の脆弱化を招く危険性がある。従って、非接触性通電刺激が骨形成のみならず、骨吸収に及ぼす効果も証明しなければ社会的な還元は困難であると思われる。その機序解明には、成熟破骨細胞のマーカーとして知られる Cathepsin K の免疫局在や遺伝子発現レベルの解析によって、評価することで解決される。以上のことから、今後の実験計画に、メカノストレスや骨代謝回転を評価することを加えることを考えている。

#### Summary

7 weeks old rats (n=24) were randomly selected for the control group (CO, n=8), bone injury group (BI, n=16). Furthermore, BI was categorized to normal breeding after bone injury (BI-CO, n=8) and electrical stimulation after bone injury (BI-ES, n=8). In this result, BI-CO was loosely formed in cancellous bone. In contrast, BI-ES was densely structured a cancellous bone. In other words, electrical stimulation is speculated to promote bone formation. Furthermore, when the bone injured part was observed in a sagittal section, in BI and natural bone tissue was formed thinly and sparsely inside the bone marrow, and bone was not formed in the original cortical bone. It is speculated that bone damage progresses from the inner surface of the bone to the cortical bone surface. On the other hand, BI-ES repair tissue on the

inner surface of the bone was observed more closely than that in BI-CO. Furthermore, in the repair tissue of BI-ES, bone formation progressed not only to the inner surface of the bone but also to the original cortical bone site. These results suggest that non-contact electrical stimulation enhances bone formation potential and may be applied in clinical practice as an early repair treatment device. Previous studies have shown that electrical stimulation after bone injury promotes bone formation faster than that of conventional bone repair. However, the conventional electrical stimulation method is extremely invasive to the living body. Because an acupuncture electrical needle is inserted on the periosteum. In addition, acupuncture electrical stimulation to bone tissue via acupuncture, which may prolong healing of the injured bone because the site must be unfixed. From these previous studies, electrical stimulation was thought to promote bone repair. However, it is highly invasive during treatment and the fixation device removed. It is possible to promote bone repair by electrical stimulation, but also it is presumed that it is suppressing. In contrast, non-contact energization stimuli that can solve these problems can be treated without removing the fixation device. We are thinking of applying to prevention in bone injury by up-regulation for bone strength. If this comes true, we can think that not only prevention in bone weakening due to aging but also guarding against secondary bone fracture. These hypotheses should be proved by immunohistochemistry, quantitative reverse transcription PCR and in situ hybridization.

# 後肢懸垂ラットにおける骨量維持のための異なる通電刺激法の効果の比較 Comparison of effects of methods of different electrical stimulations for bone volume-maintaining in hindlimb-suspended rats

研究代表者 南園 航 (ライフデザイン学研究科健康スポーツ学専攻)

指導教員 大迫 正文

研究期間/2021年4月1日~2022年2月15日

キーワード/①後肢懸垂 hindlimb suspension

②加重低減 mechanical unloading

③大腿骨 femur

④骨梁減少抑制 inhibition of decrease in bone trabeculae

⑤通電刺激 electrical stimulation

2021年度交付額/ 630,000 円

## 研究発表/学会および口頭発表

- ① W. Minamizono, H. Suito, X. Q. Zeng, C. W. Yang, N. Yashima, M. Ohsako : Study in effects of contact and no-contact electrical stimulations on structural changes of femur caused by mechanical unloading in rats. 26th Anniversary Congress of European College of Sport Science, (Glasgow / Scotland, Virtual congress), 8-10, September, 2021.
- ② 南園 航、八嶋奈央、楊 楚薇、水藤飛来、曾 雪倩、大迫正文 : 後肢加重低減に伴うラット大腿骨の初期の構造変化に対する非接触性通電刺激の影響. 第76回日本体力医学会大会(津、リモート学会)9月17-19日.
- ③ 南園 航、八嶋奈央、楊 楚薇、水藤飛来、曾 雪倩、大迫正文 : ベクトルポテンシャル発生装置を用いた通電刺激によるラットの骨量維持の試み. 第23回日本骨粗鬆症学会(神戸、リモート学会)10月8-10日
- ④ 南園 航、水藤飛来、八嶋奈央、中井真悟、大迫正文 : 後肢加重低減に伴うラット大腿骨の皮質骨構造に対する非接触性通電刺激の影響. 第30回日本柔道整骨接骨医学会 (東京、帝京平成大学)11月14日.

## 研究経過および成果の概要

### 1. 研究の方法

#### 1). 研究の目的

実験1では、異なる介入時間(15、30、60および90分)のVP通電刺激の効果について検討し、至適介入時間を求める。実験2では、異なる介入期間(1、2および3週間)のVP通電刺激の効果を比較するとともに、VPと経皮通電との効果の比較を行った。

#### 2). 研究方法

実験1: 材料として7週齢のウィスター系雄性ラット60匹(各10匹)を用いた。それらを後肢懸垂群(HS)と、後肢懸垂・VP通電群(VP)、対照群(CO)に分類し、さらにVPは通電時間別に15(VP15)、30(VP30)、60(VP60)および90(VP90)分群に分類した。

実験2: 実験1において、VPの至適時間が得られた後に行う。ここでは暫定的に30分とする。7週齢のウィスター系雄性ラット40匹(各10匹)を用いる。それらを通後肢懸垂群(HS)、後肢懸垂・VP通電群(VP)、後肢懸垂・経皮通電群(TE)、対照群(CO)に分類した。

いずれの実験においても、HS、VP および TE は7 週齢から3 週間、尾部をケージの天井より吊して体幹および後肢への加重低減を図った。また、VP および経皮鍼通電刺激のいずれの場合にも、通電刺激は麻酔下で行い、また、通電の頻度は、いずれも介入頻度は5 日/週、3 週間とした。VP は、VP 装置内で30 分/日通電し、その条件は67mV、20kHz、0.13mA の交流とした。TE は電極であるパッドを大腿遠位部の内・外面に貼り、80kHz の搬送波を用いた直流(60V、50Hz、200  $\mu$  sec)の通電刺激を 10 分間/日与えた。両実験ともに、実験期間終了後、各群を CO<sub>2</sub> ガス吸引により安楽死させ、死亡を確認した後に、大腿骨および腰椎を摘出し、速やかに固定処置を行い、通法にしたがって種々な標本を作製し、光学・蛍光・電子顕微鏡により組織学的に観察した。また、一部の標本を用いて形態計測学的な測定も行う。

## 2. 研究経過および成果の概要

実験および組織学的な解析は予定通りに終了し、その成果は海外および国内の学会を合わせて4 つの学会で報告した。

### 〈結果〉

実験1: 各群の大腿骨遠位骨幹端における海綿骨の幅を比較すると、CO の海綿骨は上下的に広い範囲を占めているが、HS はかなり狭かった。一方、VP30、VP60 およびVP90 となるのにしたがって、海綿骨の幅が徐々に増加するが、特に HS と VP30 の違いは顕著であった。(図 1)

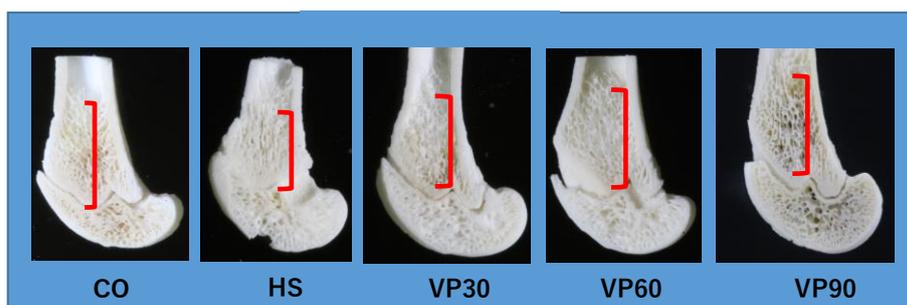


図1. 通電時間による大腿骨海綿骨の骨梁構造の違い

実験2: 各群の大腿骨遠位部の表面を走査電子顕微鏡で拡大して観察すると、HS が最も粗造であった。TE および VP の骨梁の太さは CO より細かったが、いずれも HS の構造よりも CO に類似した構造が示された。一次海綿骨では骨量の太さに変化を確認できなかったが二次海綿骨の骨梁の太さは HS がもっとも粗造であった。骨内面の二次海綿骨では VP 群は CO よりも粗造であるが HS より骨梁の太さが太く、TE 群は骨内膜面の二次海綿骨は粗造で HS に類似した構造を示した。一方、骨外膜面では VP 群と TE 群も同様に骨量の太さは CO に類似した構造を示した。

### 〈考察〉

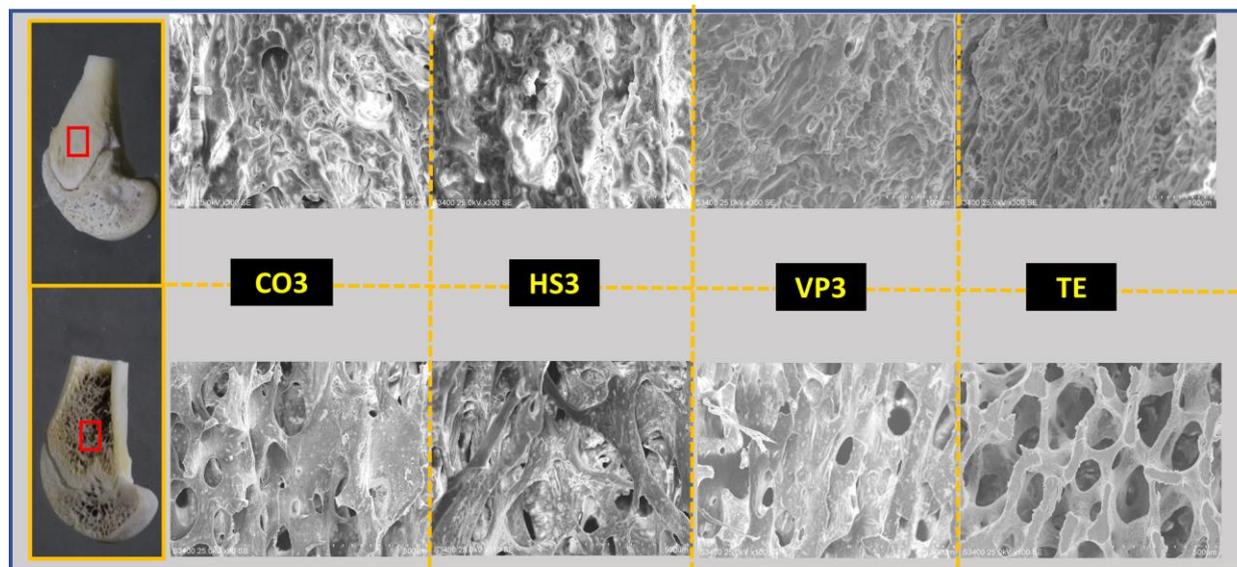
骨外膜面では VP 通電装置と経皮通電装置では骨量減少に寄与したが骨外膜面では VP 通電装置のみ骨量減少に対して抑制的に寄与した。経皮通電刺激は小林、望月らの報告によると週に10 分間週5 日の同様な条件下では骨量減少に抑制的に作用したということから一日の通電時間が30 分の通電刺激は骨内面側には過剰であった可能性が考えられる。一方の VP 通電装置は骨内面側の深部まで通電刺激が加わり骨量減少に抑制的に寄与したと考えられる。

### 〈結論〉

異なる通電刺激が荷重低減に伴うラット大腿骨の骨量減少に及ぼす効果は経皮通電刺激では骨外面の表層のみ骨量減少に抑制的に寄与し、VP 通電刺激では骨深層まで骨量減少に抑制的に寄与す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

本研究では形態学的に通電刺激による効果を報告した。今後は骨粗鬆症の薬剤療法の効果を診断する際に用いられる血液検査を行うことでより臨床に則したパラメーターを増やしていくことを検討することにより、通電刺激の効果をさらに多くの観点から検証していきたい。



大腿骨遠位骨幹端における皮質骨外面の構造 (上段bar= 100µm) (下段bar= 500µm)

(左：次亜塩素酸ナトリウム処理標本 右：走査電子顕微鏡拡大画像)  
上段：骨外面、下段：骨内面二次海綿骨

### Summary

[Purpose] The purpose of this study is to compare and examine the effects of different electrical stimuli on the bone loss of femur associated with unloading in rats.

[Materials and Methods] Forty-eight male rats (wistar strain, 7-week-old) were used as materials and they were divided into a hindlimb-suspended group (HS), a hindlimb-suspended and a transcutaneous electrical stimulation group (TE), a hindlimb-suspended and Vectorpotential electrical stimulation group (VP) and a Control (Co).

In TE, TEs, using 80kHz carrier wave, was performed from the front surface of the femur under the conditions of direct current, 60V, 31Hz, and 200µsec. In VP, electrical stimulation was performed under the conditions of alternating current, 60mV, 0.13mA, and 20kHz. In both VP and TE, the electrical stimuli were performed under the anesthesia for 30 minutes / day, 5 times / week, and the experimental period was 3 weeks. Each group was euthanized by carbon dioxide inhalation at the end of the experimental period, and the femur was removed and observed histologically.

[Results] The bone trabeculae of HS were loosest and those of TE and VP were thinner than CO. The bone trabeculae in HS were loosest in the secondary cancellous bone, although no change in thickness of the bone trabeculae was observed in primary cancellous bone.

In TE, the trabecular bone of the secondary cancellous bone showed a structure similar to HS

that had thick bone trabeculae. In VP, the trabecular bone of the secondary cancellous bone was loose than CO, but they were thicker than HS. There were many bone-resorbing-grooves at the of periosteum surface of epiphysis in HS and the surface of the area was rough. On the other hand, there were little bone-resorbing-grooves at that surface in CO, VP and TE and those areas were rough.

[Discussion.] Both VP and transcutaneous electrical stimulation were effective to maintain the structures of epiphyseal surface but only VP electrical stimulation showed inhibitory effect on a bone loss by mechanical unloading.

Kobayashi and Mochizuki had reported that transcutaneous energization for 10 minutes per week for 5 days per week had an inhibitory effect on bone loss under the same conditions. It might be that the transcutaneous electrical stimulation for 30 minutes per day was lesser or electrical stimulation couldn't reach to a deep area of the bone. It is thought, on the other hand, that VP electrical stimulation reached until the deeper area of the bone and contributed to inhibit the bone loss by the mechanical unloading.

[Conclusion] It was suggested that the transcutaneous electrical stimulation may inhibit the bone loss only at the outer surface of the bone, while VP electrical stimulation may contribute to inhibit the bone loss of the deeper area, too.

## 植物の不定芽形成制御因子の探索

### Screening of factors regulating adventitious shoot formation in plants

研究代表者 岡崎 夏鈴(生命科学研究科 生命科学専攻)

指導教員 梅原 三貴久

研究期間/2021年4月1日~2022年2月15日

キーワード/①不定芽形成 adventitious shoot formation

②サイトカイニン cytokinin

③ストリゴラクトン strigolactone

④オーキシン auxin

⑤遺伝子発現差異解析 differentially expressed gene analysis

2021年度交付額/630,000円

研究発表/学会および口頭発表

- 1) Karin Okazaki, Sachi Watanabe, Imari Koike, Kojiro Kawada, Shinsaku Ito, Hidemitsu Nakamura, Tadao Asami, Koichiro Shimomura, Mikihiisa Umehara, “Strigolactone signaling inhibition increases adventitious shoot formation on internodal segments of ipecac”, *Planta*, vol. 253, 123, 2021
- 2) Karin Okazaki, Sachi Watanabe, Imari Koike, Kojiro Kawada, Shinsaku Ito, Hidemitsu Nakamura, Tadao Asami, Koichiro Shimomura, Mikihiisa Umehara, “Strigolactone-biosynthesis inhibitor and antagonist stimulate adventitious shoot formation on internodal segments of ipecac”, The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2021, Online, December 16, 2021
- 3) 岡崎夏鈴、渡邊早智、小池衣茉莉、川田紘次郎、伊藤晋作、中村英光、浅見忠男、下村講一郎、梅原三貴久「トコンの不定芽形成におけるストリゴラクトンとストリゴラクトン関連阻害剤の影響」第56回植物化学調節学会（オンライン）、2021年11月13日
- 4) 岡崎夏鈴、小池衣茉莉、山口勝司、重信秀治、下村講一郎、梅原三貴久「トコンの不定芽形成開始前に発現する遺伝子のトランスクリプトーム解析」第38回日本植物バイオテクノロジー学会（つくば）大会（オンライン）、2021年9月10日
- 5) Karin Okazaki, Imari Koike, Sayuri Kera, Katushi Yamaguchi, Shuji Shigenobu, Koichiro Shimomura, Mikihiisa Umehara, “Gene expression profiling before and after internode culture for adventitious shoot formation in ipecac”（投稿準備中）

研究経過および成果の概要

#### 1. 研究方法

トコン (*Carapichea ipecacuanha* (Brot.) L. Andersson) は植物ホルモン無処理で節間切片から不定芽を簡単に誘導できる。過去のトコンの不定芽形成における研究で、植物ホルモンのストリゴラクトン (SL) が不定芽形成を抑制することが示唆された。本研究では、トコンの不定芽形成における SL の役割を明らかにするため、トコン節間切片を SL 生合成阻害剤 TIS108 および KK5、SL アンタゴニスト KK094 をそれぞれ添加した培地で培養し、節間切片上に形成された不定芽の形成数を計測した。また、SL 合成アナログ GR24、TIS108、KK094 を処理した時の内生 IAA と CK

量の変化を調べるため、GR24 を処理して培養 1 週間後、SL 関連阻害剤を処理して培養 1、3、5 週間後の節間切片中における IAA と CK 量を LC-MS/MS で定量した。

次に、トコン節間切片の培養初期に発現変動する遺伝子を網羅的に解析した。これまでに、節間切片切除直後から培養 1 週目にかけて発現変動する遺伝子群を *de novo* RNA-sequencing (RNA-Seq) で解析したところ、培養 1 週目の節間切片の茎頂側では、培養 0 週目茎頂側、培養 1 週目の基部側と比較して 276 個の遺伝子の発現が増加した。そこで、本研究では培養 1 週目の茎頂側で発現が増加した 276 個の遺伝子がどのような機能情報を持つかを調べるため、gene ontology (GO) 解析を行った。また、GO 解析によって検出された GO-term から器官形成に関係する遺伝子群を選抜し、定量的リアルタイム PCR (qRT-PCR) によって RNA-seq の結果を確認した。

## 2. 研究経過および成果の概要

SL 関連阻害剤を処理すると不定芽形成数はコントロールよりも約 2 倍に増加した。次に、GR24 を処理して培養 1 週目、SL 関連阻害剤を処理して培養 1、3、5 週目の節間切片における内生 IAA と CK 量を定量解析した。IAA は無処理では節間切片の基部側に蓄積したのに対し、GR24 を処理時すると基部側の IAA 量が著しく減少した。SL 関連阻害剤処理した時に IAA 量は無処理と大きな変化が認められなかった。CK は無処理では節間切片の茎頂側に主に分布していたのに対し、GR24 を処理すると節間切片の茎頂側で減少し、中央部で増加した。SL 関連阻害剤を処理すると、培養時間の経過に伴って節間切片の茎頂側で増加した。これらの CK の分布パターンは不定芽形成部位と一致した。このとき、SL はオーキシンの極性輸送を阻害することで不定芽形成部位を変化させ、茎頂側の CK 分解を促進したことによって CK が減少し、不定芽のメリステム形成を抑制したと考えられる。一方、SL 関連阻害剤は SL のシグナルを弱め、CK の分解が抑制されたことで内生 CK 量が増加し、不定芽形成が促進されたと考えられる。以上の結果から、SL 関連阻害剤が植物の組織培養における、新規の植物生長調節剤として利用できる可能性が示唆された。

次に、培養 1 週目の茎頂側で発現が増加した 276 個の遺伝子について GO エンリッチメント解析を行った。その結果、shoot system morphogenesis、plant organ formation、cytokinin metabolic process、response to auxin など、器官形成や植物ホルモンの代謝に関わる GO-term が検出された。検出された GO-term には、多能性細胞の獲得、細胞分化の促進、細胞周期の促進、CK 生合成に関わる遺伝子群が含まれていた。これらの遺伝子群について、qRT-PCR を行った結果、RNA-seq の結果を支持していた。細胞の多能性の獲得に関わる遺伝子群には、根の幹細胞組織の形成中に発現する遺伝子が検出された。また、細胞周期を促進する *CYCD3* は CK に応答して細胞分裂を促進する。これらの結果から、トコン節間切片の茎頂側では、表皮細胞上に幹細胞様組織を形成し、メリステムの形成や細胞周期を促進する遺伝子群が発現することで不定芽形成が起こったと考えられる。さらに、CK 生合成量が活性化されたことによって細胞周期が促進されると考えられる。

以上の実験結果から、トコンの不定芽形成では節間切片の内部で CK 生合成が促進されることで、不定芽のメリステムが形成され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、内生 CK の生合成が活性化されることで不定芽のメリステム形成が促進されることが示唆された。CK 生合成遺伝子は根圏の硝酸イオンに応答して転写が制御されることが報告されているが、トコン節間切片の RNA-seq 解析では、硝酸イオン誘導性の転写制御因子は検出されな

かった。このことから、トコンの不定芽誘導系では、トコン特異的な CK 生合成遺伝子の傷害誘導型転写制御因子が働いていると考えられる。また、トコンの不定芽は CK 生合成遺伝子の他にも、多能性細胞の獲得や細胞分化などの遺伝子群が同時期に発現することで誘導される。本研究では培養 0 週目と 1 週目のみで解析したため、検出された遺伝子群が節間切片切断直後から培養 1 週目にかけてどのように発現変動を示すのかはまだ不明である。今後、節間切片の切断直後に発現変動する遺伝子群の網羅的な発現解析を経時的に行い、トコンの不定芽形成遺伝子がどのように発現が変動するのか、さらに調査を進める。

## Summary

Plant tissue culture is the aseptic culture of cells, tissues, or organs under defined physicochemical conditions, and is an important tool in propagating economically important crops and regenerating transgenic plants. In general, *de novo* organogenesis requires exogenous application of phytohormones, such as auxin and cytokinin (CK), which are added to the culture media. In ipecac (*Carapichea ipecacuanha* (Brot.) L. Andersson), however, adventitious shoots can be formed without phytohormone treatment. Therefore, it is easy to study the effects of endogenous phytohormones during adventitious shoot formation by using tissue culture system of ipecac. In addition, it is possible to evaluate the direct effects of exogenously applied chemicals. Effects of auxin and CK on *de novo* organogenesis are well known, but that of strigolactone (SL) is poorly understood. In this study, we evaluated adventitious shoot formation of ipecac treated with effects of SL, SL biosynthetic inhibitor, and SL antagonist. We found that exogenously applied SL suppressed auxin transport in internodal segments, decreased the number of adventitious shoots formed on apical region of internodal segments, increased the number of shoots on middle region on internodal segments. In contrast, SL-related inhibitors promoted adventitious shoot formation on apical and middle regions of the segments. The total number of adventitious shoots almost doubled compared with the control samples. Especially, SL antagonist treatment increased an endogenous CK in internodal segments. The distribution pattern of isopentenyl adenine (iP) was associated with the position of adventitious shoots formed on internodal segments, indicating that iP type-CK might have an important role in the stimulation of adventitious shoot formation of ipecac.

Wounding is one of the triggers for plant regeneration. Our previous studies showed that 276 differentially expressed genes were upregulated in the apical region of internodal segments after 1 week of culture, compared to apical region before culture and basal region after 1 week of culture. In this study, to investigate function of the 276 genes, we performed gene ontology analysis. As a result, phytohormone-related and organogenesis-related GO-terms were detected in apical region of internodal segments after 1 week of culture. These GO-terms included genes for acquisition of cell pluripotency, promotion of cell division and CK biosynthesis. The results indicate that the gene expression spontaneously starts at almost the same time by wounding, elevated endogenous CKs induces adventitious shoot formation without callusing on internodal segments.

11-KT 以外のホルモンで GnRH3 の発現に影響を及ぼすホルモンはあるか？

また、影響する際のメカニズムはどのようなものか？

Are there any hormones other than 11-KT that affect GnRH3 expression?  
What is the mechanism by which it is affected?

研究代表者 東洋大学 生命科学研究 科生命科学専攻

指導教員 金子 律子

研究期間／2021 年 4 月 1 日～2022 年 2 月 15 日

キーワード／①モザンビークティラピア *Oreochromis mossambicus*

②性転換 Sex reversal

③脳スライス培養 Brain slice culture

④甲状腺ホルモン Thyroid hormone

⑤インスリン様成長因子 1 Insulin-like growth factor-1

2021 年度交付額／ 555,000 円

研究発表／学会および口頭発表

金子凌（共著）「Involvement of IGF-1R-PI3K-AKT-mTOR pathway in increased number of GnRH3

neurons during androgen-induced sex reversal of the brain in female tilapia」(Oda *et al.*, 2022

Scientific reports *in press*)

金子凌「甲状腺ホルモンが雌ティラピア終神経節の GnRH3 ニューロン数に与える影響とその経路」

2022 年 日本動物学会 地方会

井上咲良「雄性ホルモンが引き起こす成熟雌ティラピアの脳の性転換における IGF-1 の関与について」

2021 年 日本動物学会

金子凌「ティラピア雌脳の雄性化を引き起こすバイオアッセイ系」2020 年 工業技術研究所研究発表会

研究経過および成果の概要

1. 研究方法

### 1.IGF-1 の検証

脳スライス培養法を用いて、IGF-1 を含む培地で脳切片の培養を行い、培養後に染色した GnRH3 ニューロンの数を実験群とコントロール群で比較することで検証を行った。

### 2.甲状腺ホルモン (T3) の検証

IGF-1 と同様の操作で T3 が GnRH3 ニューロン数に及ぼす影響を調べた。その後、T3 が GnRH3 ニューロン数に影響を及ぼす経路の調査を行うために T3 および T 受容体 (R) 阻害剤を用いた薬理学的実験 (コントロール群に T3 添加、実験群に T3+TR 阻害剤を添加)、RT-qPCR (ティラピアの終神経節を含む脳部位での TR- $\alpha$  および TR- $\beta$  の発現確認)、GnRH3 ニューロンと TR- $\alpha$  および TR- $\beta$  の免疫染色での共局在の確認を行った。

## 2. 研究経過および成果の概要

これまで当研究室では、雄性ホルモン (11-KT) が成熟雌ティラピアの脳の GnRH3 ニューロン数の増加を引き起こすことを示してきた。私が行った当研究では新たに、雄性ホルモン以外に成熟雌ティラピアの脳の GnRH3 を引き起こすホルモンの調査を行った。

### 1. IGF-1 の検証

結果、終濃度 100 nM の IGF-1 添加群がコントロール群と比較をして統計的に有意な GnRH3 ニューロン数の増加を引き起こした。IGF-1 が GnRH3 ニューロン数の増加を起こす経路については、当研究室の先輩によって行われた実験から IGF-1 受容体 (R) /PI3K/Akt/mTOR シグナル伝達経路が GnRH3 ニューロン数の増加に関与していることを明らかにしていることから、同経路を用いていることが考えられる。これらの結果 (IGF-1 による GnRH3 ニューロン数の増加および IGF-1R から始まるシグナル伝達経路の関与) については、論文を投稿している (Oda *et al.*, 2022 Scientific reports *in press*)。

### 2. 甲状腺ホルモン (T3) の検証

結果、T3 添加群 (終濃度 10, 100 nM) がコントロール群と比較をして統計的に有意な GnRH3 ニューロン数の増加を引き起こした。この時、100 nM の T3 よりも 10 nM の T3 がコントロール群と比較をしてより有意に GnRH3 ニューロン数の増加を引き起こした。

T3 が GnRH3 ニューロン数の増加を引き起こしたことから、この経路についても調べた。GnRH3 ニューロン遺伝子のプロモーター上流に甲状腺ホルモン受容体 (TR) 結合領域が存在しているという報告 (Kitahashi *et al.*, 2011) や GnRH3 ニューロンに TR が存在しているという報告 (Ogawa *et al.*, 2020) から、IGF-1 のようにシグナル伝達経路を介した作用ではなく、T3 は TR に結合をし、その後 GnRH3 ニューロンの転写調節領域に結合をして、GnRH3 ニューロン数の増加を引き起こすという仮説を立て、検証を行った。

まず初めに、T3 および TR 阻害剤を用いた薬理学的実験を行った。これについても脳スライス培養法を用いている。

結果、T3 (10 nM) および TR 阻害剤 (終濃度 100 nM) を同時に添加すると、T3 (10 nM) 単独添加と比較をして GnRH3 ニューロン数の増加が有意に抑えられていた。この時、TR 阻害剤の単独添加が GnRH3 ニューロン数に影響を及ぼさないことをあらかじめ調べている。

次に、ティラピアの終神経節を含む脳部位で TR (TR- $\alpha$ 、TR- $\beta$ ) が発現しているかを確認するため、RT-qPCR を行った。

結果、終神経節を含む脳部位で TR- $\alpha$ 、TR- $\beta$  の発現を確認することができた。この時、TR- $\alpha$ 、TR- $\beta$  の発現量に大きな差はみられなかった。

最後に GnRH3 ニューロンと TR (TR- $\alpha$ 、TR- $\beta$ ) が共局在しているかを免疫染色法で調べた。

結果、GnRH3 ニューロンと TR- $\alpha$  の共局在はほとんど認められなかったが、GnRH3 ニューロンと TR- $\beta$  の共局在が観察できた。

これまでの報告と今回の結果を合わせて考えると、T3 が GnRH3 ニューロンに与える影響は、まず T3 が TR- $\beta$  に結合をし、その後 GnRH3 ニューロンの転写調節領域に結合をして、GnRH3 ニューロン数の増加を引き起こすという仮説が支持された。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

本研究は *in vitro* での検証しか行えていない。つまり、生体内でのその他の器官の影響を加味しないものとなっている。そのため、今後の大きな課題の一つとして *in vivo* での検証が必要である。

### Summary

This study was an *in vitro* investigation of hormones that affect the number of GnRH3 neurons in mature female Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*).

Hormonal effects were verified using the brain slice culture method. The results showed that IGF-1 and T3 caused an increase in the number of GnRH3 neurons. The pathway through which IGF-1 caused the increase in the number of GnRH3 neurons may be as follows. The involvement of the IGF-1R/PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in the increase in the number of GnRH3 neurons upon androgen addition has been shown. This suggests that IGF-1, like androgens, is likely to be mediated through the signaling pathway starting from IGF-1R. The following experiments were performed to investigate the pathways that T3 provides to GnRH3 neurons. Pharmacological experiments were conducted using TR inhibitors in brain slice culture methods. The results showed that when TR inhibitors were added simultaneously with T3, the increase in the number of GnRH3 neurons was suppressed compared to when T3 was added alone. Next, we used RT-qPCR to examine the expression of TRs mRNA in brain regions including the terminal ganglia. The results showed that TRs (TR- $\alpha$  and TR- $\beta$ ) were expressed in brain regions including the terminal ganglia. Finally, we examined whether TR- $\alpha$  or TR- $\beta$  co-localized with GnRH3 neurons using immunostaining. The results showed that co-localization of GnRH3 neurons and TR- $\alpha$  could not be observed, and co-localization of GnRH3 neurons and TR- $\beta$  was observed. In other words, it was shown that GnRH3 neurons have TR- $\beta$ . In addition, single-cell real-time PCR results on tilapia GnRH3 neurons have reported that GnRH3 expresses TR- $\beta$  (Ogawa et al., 2020) and the presence of a TR-binding region upstream of the GnRH3 gene promoter in tilapia (Kitahashi et al., 2011). Taken together, the results of the present study and the reports suggest that the effect of T3 on GnRH3 neurons involves a pathway in which T3 first binds to TR- $\beta$ , which then binds to the transcriptional regulatory region of GnRH3 neurons, causing an increase in the number of GnRH3 neurons.

The present study demonstrates the effects of non-sex hormones (IGF-1, T3) on GnRH3 neurons. We also investigated the pathways involved and found that different hormones have different approaches to GnRH3 neurons.

# Collapsin Response Mediator Protein4 (CRMP4) が

## 樹状突起形成に及ぼす影響

### Effect of Collapsin Response Mediator Protein4 (CRMP4) on neural dendrite formation

研究代表者 比嘉 彩香(生命科学研究科 生命科学専攻)

指導教員 金子 律子

研究期間／2021年4月1日～2022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 コラプシン応答媒介タンパク質 4

(Collapsin Response Mediator Protein4, CRMP4)

③ 樹状突起 (dendrite)

④ 分枝 (branching points)

⑤ 細胞骨格タンパク質 (Cytoskeleton Proteins)

2021年度交付額／557,000円

研究発表／学会および口頭発表

- ・「自閉症患者で見つかった Collapsin Response Mediator Protein4 (CRMP4) の点変異が引き起こす樹状突起形成異常メカニズムの解明」比嘉 彩香、塩野鈴佳、佐藤健二郎、大谷・金子 律子  
第74回関東支部大会日本動物学会 2022年3月5日

研究経過および成果の概要

#### 1. 研究方法

生後1日齢のマウスから深麻酔下で大脳皮質を摘出し、抗CRMP4抗体を用いた共免疫沈降法と各抗体を用いたWestern Blot法によって、CRMP4が結合する細胞骨格関連タンパク質の同定を行なった。

次に、男性ASD患者から見出された点変異CRMP4が、先行研究により樹状突起形成異常(分枝形成異常)を引き起こすことが明らかになっている。このことから、CRMP4の点変異が上記の実験で同定されたタンパク質とCRMP4との結合にどのような影響を及ぼすのかを検証するために、大腸菌で野生型CRMP4と変異型CRMP4発現するpETベクターを構築した。構築したベクターを大腸菌に形質転換して野生型CRMP4および変異型CRMP4を発現させ、タンパク抽出と精製・濃縮を行なった。濃縮したそれぞれのCRMP4タンパク質と、PD1 *Crmp4*-KOマウス大脳皮質由来タンパク抽出液とを混合し、前述の実験と同様の実験を行なった。

さらに、点変異CRMP4がCRMP4の立体構造に及ぼす影響について調べるために、野生型CRMP4及び点変異CRMP4のタンパク質立体構造予測をAlphaFoldを用いて行なった。

最後に、点変異CRMP4がCRMP4のリン酸化に及ぼす影響について調べるために、CRMP4のプライミングキナーゼであるDYRK2を用いた*in vitro*リン酸化実験を行った。

## 2. 研究経過および成果の概要

本研究から、CRMP4 が結合する細胞骨格タンパク質または細胞骨格関連タンパク質として少なくとも  $\beta$ -actin、 $\beta$ -tubulin、MAP2B の3つが同定された。このことから、CRMP4 の樹状突起調節機構に関する基礎的知見を得ることができた。また、男性 ASD 患者から見出された点変異 CRMP4 が、CRMP4 と  $\beta$ -actin との結合を有意に減少させ、CRMP4 と  $\beta$ -tubulin、MAP2B との結合を有意に増加させることが明らかとなった。このことから、男性 ASD 患者から見つかった CRMP4 の点変異が引き起こす樹状突起形成異常メカニズムとして、これらの結合の違いによるものである可能性が示唆された。

また、AlphaFold による野生型 CRMP4、変異型 CRMP4 のタンパク質立体構造予測を行なった結果、CRMP4 の点変異による CRMP4 のタンパク質立体構造変化が、マウス CRMP4 とヒト CRMP4 の両方で確認された。このことから、先の結果で得られた CRMP4 と細胞骨格タンパク質との結合変化は、CRMP4 の立体構造の変化によるものである可能性が示唆された。

さらに、CRMP4 の点変異によって、CRMP4 の Thr509 のリン酸化が変化することが明らかとなった。

以上のことから、CRMP4 の点変異が引き起こす樹状突起形成異常メカニズムとして、点変異 CRMP4 が① 細胞骨格関連タンパク質との結合に変化を及ぼすこと、② CRMP4 の立体構造を変化させること、③ CRMP4 の Thr509 のリン酸化に変化を及ぼすことが明らかとなり、これら 3 つの変化が、点変異 CRMP4 が引き起こす樹状突起形成異常メカニズムに関与している可能性が示唆された。今後は、これらの変化と樹状突起形成との関連をさらに調べていく予定である。より詳細な樹状突起形成異常メカニズムを明らかにすることができれば、ASD の発症メカニズム解明に貢献できると考えている。

## 3. 今後の研究における課題または問題点

本研究では、CRMP4 が結合するタンパク質として少なくとも  $\beta$ -actin、 $\beta$ -tubulin、MAP2B の3つが同定された。しかし、これらのタンパク質との結合部位や、これらが CRMP4 に直接結合しているのか、何か他の分子を介しているのかは明らかになっていない。また、主な細胞骨格関連タンパク質との結合しか検証できていないため、今後はさらに分枝形成に関与しているタンパク質との結合についても調べていく必要があると考えられる。さらに、本実験で得られた結果と、樹状突起形成異常との関連について、今後さらに詳細に調べていく必要があると考えられる。

## Summary

Autism spectrum disorder (ASD) is one of the neurodevelopmental disorders, and its main symptoms are social and communication deficits, and repetitive and restrictive behaviors. Several abnormalities including those in the formation of spines and dendrites have been proposed to explain ASD pathogenesis, but the precise mechanism remains unclear.

Our laboratory has reported an association between "ASD development" and "CRMP4 loss or abnormality" since we found a male ASD patient with a point mutation in CRMP4 only (Tsutiya *et al.*, 2015, 2016, 2017; Ohtani-Kaneko, 2019).

In particular, morphological observations revealed that deletion of CRMP4 promotes dendrite formation in experiments using primary cultured cells derived from mouse hippocampus and

that point mutations in CRMP4, similar to those found in male ASD patients, increase dendritic branching (Tsutiya *et al.*, 2017). These findings suggest that CRMP4 normally suppresses dendritic arborization. Therefore, the abnormality in dendritic formation caused by deficit or mutation of CRMP4 may cause the atypical neural networks, which in turn induce the autistic-like pathogenesis. The mechanism of abnormal branching caused by the point mutation of CRMP4 found in the human male ASD patient is not yet clear. **The purpose of this study is to clarify the mechanism of abnormal dendritic branching caused by the point mutation of CRMP4. For the purpose, we searched for (1) binding proteins of CRMP4 in neurons, (2) effect of point mutation CRMP4 on binding to the protein identified in (1), (3) Effect of point mutation CRMP4 on the protein conformation of CRMP4, and (4) effect of point mutations in CRMP4 on the phosphorylation of CRMP4.**

As a result, at least three proteins,  $\beta$ -actin,  $\beta$ -tubulin, and MAP2B, were identified as CRMP4 binding proteins. In addition, point mutations in CRMP4 significantly decreased binding of CRMP4 to  $\beta$ -actin and significantly increased binding of CRMP4 to  $\beta$ -tubulin and MAP2B. The results also revealed that point mutations in CRMP4 alter the protein conformation of CRMP4 and phosphorylation of CRMP4.

These results suggest that they may be involved in the mechanism of abnormal dendrite formation caused by the point mutation CRMP4. In the future, we intend to further investigate the relationship between these results and abnormal dendrite formation in detail.

自閉症モデルマウスを用いて自閉症に性差を引き起こすメカニズムに  
関する仮説を検証する

Verifying the hypothesis of the mechanism that causes sex differences in  
autism using autism mouse model

研究代表者 塩野 鈴佳(生命科学研究科生命科学専攻)  
指導教員 金子 律子

研究期間／2021年4月1日～2022年2月15日

キーワード／①自閉スペクトラム症 Autism spectrum disorder

②性差 Sex difference

③性ステロイド仮説 Sex steroid hypothesis

④表現型 Phenotype

⑤ビスフェノール A Bisphenol A

2021年度交付額／559,000円

研究発表／学会および口頭発表

・第44回 分子生物学会年会 2021年12月1日～3日

・第74回 日本動物学会関東支部大会 2022年3月5日

研究経過および成果の概要

#### 1. 研究方法

(1) 目的：「ASDの性差は周生期の性ステロイドホルモンの影響である」という仮説を検証するために、「周生期の性ステロイドホルモンや内分泌攪乱物質投与がASD発生に及ぼす影響」を調べる。

計画：性ステロイドホルモンとしてテストステロン(T)、内分泌攪乱物質として Bisphenol A (BPA) を選択した。雄個体の精巣から分泌される雄性ホルモンTは、脳内で芳香化酵素により女性ホルモン(エストラジオール、E2)に変換されて脳の性分化を引き起こすと一般的に考えられている。そのため、E2型の内分泌攪乱物質であるBPAを選択した。Tが脳の性差に影響するのは、周生期(マウス：胎生18日～出生後6日程)とされているため、この期間を網羅するようにBPAを投与した。

方法：ヘテロマウス同士の交配により妊娠した母マウスに対してBPAを好物(ピーナッツバター)に混ぜて与える方法で実験を行った。BPAの投与期間は[胎生期(胎生11日)～出生後授乳期(7日)まで]とした。上記から生まれた同腹の野生型、ホモノックアウトを実験に用いた。また、*Crmp4*-Knockout (KO) マウスの性差が生じる原因を探るため、発現に雌雄差のある遺伝子を探した。具体的な方法としては、親から仔を単離した際に発する超音波を計測した。既に*Crmp4*-KO マウスは野生型と比較して発声回数が少ないことを明らかにしており、その発声回数にも*Crmp4*-KO マウスには雌雄差があることがわかっている。そのため、BPAを投与した際の発声回数が雌雄でどのような変化があるかを調べた。

(2) 目的：雌雄差のある遺伝子を探すため、*Crmp4*欠損時に野生型と比較して変化があり雌雄差があるものを探索することを目的とした。

計画：まず、野生型と *Crmp4*-KO マウスのオスでトランスクリプトーム解析により網羅的に発現変化のある遺伝子を探した（研究予算外）。そこで発現に変化のあった遺伝子を qPCR で調べ、雌雄の発現を比較した（研究予算）。

方法：ヘテロマウス同士の交配により妊娠した母マウスから産まれた仔を実験に用いた。野生型及び *Crmp4*-KO マウスのオス各 3 匹から RNA を抽出し、トランスクリプトーム解析を委託した。その結果、野生型と *Crmp4*-KO マウス間で発現に変化のあった遺伝子を選び qPCR でメスマウスのも含めた 4 群間比較を行った。

## 2. 研究経過および成果の概要

### (1) 超音波試験

BPA 投与マウスとコントロールマウスの超音波発声の回数を比較したところ、コントロール群と比較して BPA 投与マウスの超音波発声回数は野生型であっても、*Crmp4*-KO マウスであっても少ない傾向にあった。また、*Crmp4*-KO マウスオスの発声回数は野生型マウスオスの発声回数よりも少ない傾向にあったが、BPA を投与した野生型マウスオスの発声回数は *Crmp4*-KO マウスオスの発声回数と同程度まで低下していた。BPA を投与することにより、*Crmp4* 欠損時と同様に超音波発声回数が低下する傾向があった。今後、*Crmp4*-KO メスマウスの N 数を増やし解析を行っていく予定。

### (2) 遺伝子発現

野生型と *Crmp4*-KO マウスとで網羅的に遺伝子発現解析を行った結果、4 倍以上 ( $p < 0.05$ ) 発現が変化した遺伝子は 1337 個見つかった。CRMP4 タンパク質は微小管重合や F-アクチンの束化を促進することが知られており、細胞のシグナル伝達経路の下流で機能する遺伝子であると考えられている。しかし今回、1000 以上 ( $FC \pm 4$  倍、 $p < 0.05$ ) の遺伝子発現が *Crmp4* 欠損により変動したことから、CRMP4 が他の遺伝子発現の調節を介して、多機能にわたる可能性が示唆された。また、ASD 症状の発現との関連が示唆されている遺伝子（例：Reln, Tbr1 など）の発現変化が見られた。

## 3. 今後の研究における課題または問題点

超音波試験では、BPA を投与することにより、発声回数の低下を確認することができたが、BPA を投与した *Crmp4*-KO メスマウスが生まれなかったために多群間比較ができなかった。急ぎ、*Crmp4*-KO メスマウスのサンプルの確保をすることが課題となった。

遺伝子発現を調べた実験では、Reln、Tbr1 を例にしたが、*Crmp4* 欠損時に野生型と比較して発現変化が確認できたが、雌雄どちらも発現が変化していたため、発現に雌雄差がある遺伝子の発見には至らなかった。

## Summary

Autism Spectrum Disorder (ASD) is a congenital brain dysfunction characterized by symptoms such as social disorders and excessive persistence. It is known that the incidence of ASD is generally about 4: 1 in men and women, which is higher in men than in women, and that there are gender differences in symptoms (review, Ferri *et al.*, 2018).

Although the onset mechanism of ASD is not yet known, studies using ASD model mice prepared by gene modification or drug administration are ongoing. However, although there are many model mice that develop ASD-like symptoms, few model mice have male-female differences similar to humans in their symptoms. Under such circumstances, in my laboratory,

I found a human ASD patient with a point mutation only in the Collapsin Response Mediator Protein 4 (CRMP4) gene by whole-exome sequencing (Tsutiya *et al.*, 2017). They found that *Crmp4*-deficient mice exhibited some autism-like symptoms and had male-female differences in the symptoms (Review, Ohtani-Kaneko, 2019).

One of the hypotheses about the causes and mechanisms that cause gender differences in ASD is the "sex steroid hypothesis" (Schaafsma & Pfaff, 2014). In general, sexual differentiation of the brain is thought to be caused by testosterone (T) secreted from the testes of male individuals or estradiol (E2) converted by aromatase before and after birth in mammals including humans and rodents. The theory that "this mechanism also brings gender differences to ASD" is the "sex steroid hypothesis." However, this hypothesis has not been tested because few ASD model animals have distinct gender differences. In this study, we will examine "whether prenatal and postnatal sex steroids cause sex differences in ASD-like characteristics" using ASD model mice (*Crmp4*-deficient mice) that show marked differences between males and females.

**METHODS:** BPA, an E2 type endocrine disruptor, was mixed with a favorite (peanut butter) and given to pregnant mother mice. The administration period of BPA was [from the embryonic period (11 days of embryonic development) to the postnatal lactation period (7 days)]. The littermate wild type, homoknockout, born from the above was used in the experiment. In addition, in order to investigate the cause of gender differences in *Crmp4* deficient mice, we searched for genes with different male and female expressions. First, transcriptome analysis was performed on male wild-type and *Crmp4*-deficient mice, and genes with altered expression were examined by qPCR, and the expression of males and females was compared.

- (1) Behavioral test: The effect of BPA on gender differences in ASD symptoms was investigated.
- (2) Expression of various genes: Identification and quantification of genes that cause gender differences

# 水陸両生植物の光合成水中順応における誘導過程と順応メカニズムの解明

## Induction and mechanisms of photosynthetic acclimation in the amphibious plant *Hygrophila difformis*

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

研究期間/2021年4月1日~2022年2月15日

キーワード/①水陸両生植物 Amphibious plant

②環境応答 Environmental response

③光合成 Photosynthesis

④炭酸脱水酵素 Carbonic anhydrase

⑤トランスクリプトーム Transcriptome

2021年度交付額/630,000円

研究発表/学会および口頭発表

・堀口元気、廣津直樹、水陸両生植物 *Hygrophila difformis* における光合成の短期的な水中順応過程とその光合成特性、日本植物学会第85回大会、オンライン開催、2021年9月(ポスター発表)

・堀口元気、廣津直樹、水陸両生植物 *Hygrophila difformis* の光合成の水中順応におけるトランスクリプトームの経時変化、第63回日本植物生理学会年会、オンライン開催、2022年3月予定(ポスター発表)

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

水陸両生植物 *Hygrophila difformis* は、水没後5日以内に重炭酸イオン ( $\text{HCO}_3^-$ ) を利用して光合成を行う。また研究代表者は、*H. difformis* の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)のトランスクリプトーム解析によって、水中葉で発現量が増加する遺伝子群から二酸化炭素 ( $\text{CO}_2$ ) と  $\text{HCO}_3^-$  の相互変換を触媒する炭酸脱水酵素 (carbonic anhydrase, CA) をコードすると予測された遺伝子を発見した。CAは  $\text{HCO}_3^-$  を利用する水生光合成生物において、細胞内に取り込んだ  $\text{HCO}_3^-$  を  $\text{CO}_2$  に変換する役割を担う。そのため、*H. difformis* の水中葉で増加した CA 遺伝子にコードされたタンパク質も、水中での光合成に寄与することが予想される。しかしながら、これらの遺伝子がどのような発現特性を示すのか、そもそも CA 候補遺伝子にコードされた分子が CA 活性を有しているのかなど、基礎的な知見が乏しい。

本研究課題では陸上で生育した *H. difformis* へ  $\text{CO}_2$  ガスを通気した水没処理 (high  $\text{CO}_2$  水没処理) と空気を通気した水没処理 (low  $\text{CO}_2$  水没処理) と、 $\text{CO}_2$  添加量が異なる条件での水没処理を施した。水没処理から5日後の葉を採取し、液相型酸素電極を用いた溶存無機炭素が異なる条件でのガス交換速度の測定、および、RNA-seq 法によるトランスクリプトーム解析を行うことで、水没時の  $\text{CO}_2$  条件が光合成の水中順応誘導や、CA 遺伝子をはじめとしたトランスクリプトームにどのような影響を与えるのか調査した。また、水中葉で発現量が増加した CA 候補遺伝子が大腸菌で

発現させ、組み換えタンパク質の CA 活性を測定することで、CA 候補遺伝子にコードされた分子が CA 活性を示すのかどうかを検証した。

## 2. 研究経過および成果の概要

High CO<sub>2</sub> 水没処理あるいは low CO<sub>2</sub> 水没処理から 5 日後の葉を採取し、CO<sub>2</sub> と HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> が 1 : 1 で存在する条件およびほぼすべての無機炭素が HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> として存在する条件での光合成速度を比較したが、有意な差は認められなかった。一方、トランスクリプトーム解析において、水中葉で発現量が増加した CA 候補遺伝子のうち、*Hdα-CA1* 遺伝子は、陸上葉と比較して High CO<sub>2</sub> 水没処理あるいは low CO<sub>2</sub> 水没処理により、有意に発現量が増加した。*Hdβ-CA1* 遺伝子は、陸上葉と比較して high CO<sub>2</sub> 水没処理では発現量に有意な変動は認められなかった一方、low CO<sub>2</sub> 水没処理では発現量が有意に減少した。このほか、陸上葉と水中葉の比較では発現量が変化しなかった CA 候補遺伝子についても発現量の変動が観察された。本研究課題で得られたトランスクリプトームデータと、これまでの研究で蓄積された陸上葉と水中葉、水没処理後の経時変化のデータを用いて階層的クラスタリングおよび主成分分析を行った。High CO<sub>2</sub> 水没処理後の葉は水中葉と、low CO<sub>2</sub> 処理後の葉は水没処理 6 時間後の葉と類似していることが示唆された。

人工合成して pET16-B ベクターに組み込んだ *Hdα-CA1* 遺伝子を大腸菌 Origami B 株、*Hdβ-CA1* 遺伝子を大腸菌 BL21 株にそれぞれ形質転換して発現させ、組み換えタンパク質をカラムクロマトグラフィーによって精製し、組み換え *Hdα-CA1* (reHdα-CA1) と組み換え *Hdβ-CA1* (reHdβ-CA1) を得た。組み換えタンパク質の CA 活性を測定したところ、reHdα-CA1 と *Hdβ-CA1* とともに CA 活性が検出された。reHdα-CA1 と reHdβ-CA1 の CA 活性を比較したところ、reHdα-CA1 の CO<sub>2</sub> 加水反応活性が reHdβ-CA1 より有意に高い値を示した。

## 3. 今後の研究における課題または問題点

本研究課題では、水陸両生植物 *H. difformis* へ high CO<sub>2</sub> 水没処理あるいは low CO<sub>2</sub> 水没処理を施したが、それぞれの環境に順応させた葉の水中での光合成速度は同程度であった。このことは一見、*H. difformis* の光合成水中順応の誘導とその順応メカニズムにおいて、水没時の CO<sub>2</sub> 条件は影響を及ぼさないと考えられる。しかしながら、種々のサンプルを交えたトランスクリプトームの比較解析では、low CO<sub>2</sub> 水没処理を施した葉は水没処理 6 時間後の葉と類似していた。水没処理 6 時間後は、酸化ストレスを受けており、また水中での光合成速度も水没処理を施さなかった葉と比較して減少する傾向にある。本研究では、low CO<sub>2</sub> 水没処理として空気を通気したが、そのことによって CO<sub>2</sub> が追い出され、想定以上にシビアな条件設定となっていた可能性がある。今後、溶存無機炭素の定量方法を確立し、正確かつ再現性のある条件設定を行って改めて解析する必要がある。

また本研究課題の遂行によって、トランスクリプトーム解析によって得られた CA 候補遺伝子の塩基配列から、組み換えタンパク質を精製しその活性を測定することに成功した。*H. difformis* は非モデル植物でありゲノム配列の情報を基盤とした生物学的解析は行われてこなかったことを鑑みると、本研究の成果の意義は大きい。しかしながら、今回解析した reHdα-CA1 と reHdβ-CA1 はどちらも CO<sub>2</sub> を HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> に変換する活性が高く、外環境から取り込んだ HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> を CO<sub>2</sub> に変換する役割を担うとは言い難い。HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> を直接光合成の基質として利用することはできないため、CO<sub>2</sub> への変換は必須である。*H. difformis* の水中での光合成メカニズムを解明するため、ほかの CA 候補遺伝子についても解析を進める必要がある。

## Summary

*H. difformis*, a heterophyllous amphibious plant, induces bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ) use photosynthesis at 5 days after submersion.  $\text{HCO}_3^-$  use photosynthesis of *H. difformis* is driven by  $\text{HCO}_3^-$  uptake into the cell via transporter and bidirectional conversion of carbon dioxide ( $\text{CO}_2$ ) and  $\text{HCO}_3^-$  by carbonic anhydrase (CA). In previous studies, we obtained submerged-responsive putative CA genes, *Hd $\alpha$ -CA1* and *Hd $\beta$ -CA1*. However, there was no additional information, such as gene-expression responses to dissolved inorganic carbon and CA activity of protein, about *Hd $\alpha$ -CA1* and *Hd $\beta$ -CA1* genes. In this study, therefore, to reveal the effect of  $\text{CO}_2$  condition under submerged environment on photosynthetic acclimation, we compared photosynthetic rate and transcriptome between leaves acclimated to low or high  $\text{CO}_2$  submerged conditions. Furthermore, we measured CA activities of recombinant Hd $\alpha$ -CA1 (reHd $\alpha$ -CA1) and Hd $\beta$ -CA1 (reHd $\beta$ -CA1).

Clonal seedling cuttings of *H. difformis* were grown under terrestrial condition into two grass tanks. After 2 weeks of initial growth, the uppermost fully expanded leaves were marked with marker, and plants were separated into two submerged treatments: low  $\text{CO}_2$  and high  $\text{CO}_2$ . The low  $\text{CO}_2$  and high  $\text{CO}_2$  submerged treatments were achieved by adding 25 L tap water to the tank with atmospheric air and  $\text{CO}_2$  gas, respectively. The 5 days after submergence after terrestrial-grown leaves were used for experiments.

There were no significant differences in the photosynthetic rate between low and high  $\text{CO}_2$  submerged treatment leaves. Transcriptomic analysis revealed that *Hd $\alpha$ -CA1* gene expression of both submerged treatment leaves significantly increased than that of the terrestrial grown leaves. *Hd $\beta$ -CA1* gene expression significantly decreased under low  $\text{CO}_2$  submerged condition compared to the terrestrial condition, whereas there was no significant difference between high  $\text{CO}_2$  submerged and terrestrial conditions. Furthermore, some putative CA genes expression in low and high  $\text{CO}_2$  submerged treatment leaves were differences compared to that in terrestrial leaves.

To confirm whether Hd $\alpha$ -CA1 and Hd $\beta$ -CA1 have CA activity, we expressed *Hd $\alpha$ -CA1* and *Hd $\beta$ -CA1* genes in *Escherichia coli* and purified recombinant proteins. The purified reHd $\alpha$ -CA1 and reHd $\beta$ -CA1 showed dominant  $\text{CO}_2$  hydration activity than  $\text{HCO}_3^-$  dehydration activity.

In this study,  $\text{CO}_2$  conditions under submerged environment did not affect underwater photosynthetic rate of *H. difformis*. On the other hand, the expression patterns of putative CA genes were differences between low and high  $\text{CO}_2$  submerged conditions. Here, low  $\text{CO}_2$  submerged treatment was achieved by adding atmospheric aeration. This treatment may be severe for *H. difformis*. Further studies under mild  $\text{CO}_2$  stress condition will be required to determine the effect of  $\text{CO}_2$  condition under submerged environment on photosynthetic acclimation. Additionally, our results suggested that Hd $\alpha$ -CA1 and Hd $\beta$ -CA1 optimize inorganic carbon form to perform bicarbonate use photosynthesis.

# ボイセンベリー成分ががん細胞に及ぼす増殖抑制効果の解析

## Analysis of growth inhibitory effect on cancer cell of Boysenberry components.

研究代表者 鈴木 晶貴 (生命科学研究科 生命科学専攻)

指導教員 三浦 健

研究期間/2021年4月1日~2022年2月15日

キーワード/①ボイセンベリー Boysenberry  
②アントシアニン anthocyanin  
③がん cancer  
④抑制効果 inhibitory effect  
⑤生存率 viability

2021年度交付額/ 609000円

研究発表/学会および口頭発表

・日本食品科学工学会第68回大会「ボイセンベリー成分ががん細胞の増殖に及ぼす影響の解析」

2021年8月

・日本農芸化学会2022年度大会「ボイセンベリーアントシアニンが結腸がん細胞の増殖に及ぼす影響」

2022年3月予定

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

本研究では、ボイセンベリー成分であるアントシアニンが、がん細胞の増殖にどのような影響を与えているか、細胞の生存率や作用機序の解明を行ってきた。

#### (1) ボイセンベリーアントシアニンが細胞の増殖に及ぼす影響の解析

4種のアントシアニン溶液が、がん細胞及び正常細胞に与える影響解析を Presto Blue Assay を用いて行った。

ボイセンベリーから抽出・精製されたアントシアニン (Cyanidin-3-glucoside chloride、Cyanidin-3-rutinoside chloride、Cyanidin-3-sophoroside chloride、Cyanidin-3-(2G-glucosylrutinoside) chloride) を購入し、1種類ごとのサンプル溶液を調製した。がん細胞 (DLD-1) および正常細胞 (CCD 841 CoN) を 96 穴プレートで培養 ( $1 \times 10^4$  cells/well) し、上清除去後アントシアニン溶液を加えた培地 (濃度: 100  $\mu$ M、50  $\mu$ M、25  $\mu$ M、12.5  $\mu$ M、) を添加し CO<sub>2</sub> インキュベータ内で 72 時間静置培養した。FBS を含まない培地で細胞を洗浄後、10% Presto Blue/PBS を加え CO<sub>2</sub> インキュベータ内で静置 (30 分~1 時間) 後にプレートリーダーで蛍光 (560 nm/590 nm) を測定し、得られたデータから細胞の生存率の算出を行った。

#### (2) ボイセンベリーアントシアニンの組み合わせの違いによる細胞への影響解析

アントシアニンを 2 種、3 種など複数の組み合わせで混合し、細胞への影響などの機能に変化が生じるか検証した。ボイセンベリーアントシアニンの標準物質を、組み合わせ全通り

(2種混合: 6通り、3種混合: 4通り、4種混合、ボイセンベリー組成)を調製後、上記(1)と同様に Presto Blue Assay を用いて生存率の算出を行った。

## 2. 研究経過および成果の概要

### (1) ボイセンベリーアントシアニンが細胞の増殖に及ぼす影響の解析

ボイセンベリーアントシアニンを1種類ずつ細胞に添加したところ、細胞の生存率が減少した。生存率の減少は、DLD-1、CCD 841 CoN での変化は特に見られなかった。各アントシアニンの添加による影響差も全体的には見られなかったが、Cyanidin-3-rutinoside chloride の低濃度において CCD 841 CoN より DLD-1 へ高い影響が見られた。このことから、アントシアニン個々による影響差というものは小さいと考えられる。

### (2) ボイセンベリーアントシアニンの組み合わせの違いによる細胞への影響解析

ボイセンベリーアントシアニンを2種類ずつ混合して添加した結果、細胞の生存率が減少した。また、CCD 841 CoN よりも DLD-1 に高い影響が見られた。中でも、Cyanidin-3-glucoside chloride と Cyanidin-3-rutinoside chloride を組み合わせた高い濃度において、40%ほど生存率に差が出た。ボイセンベリーアントシアニンを3種類ずつ混合して添加した結果、細胞の生存率が減少した。また、CCD 841 CoN よりも DLD-1 に高い影響が見られた。しかし、CCD 841 CoN の生存率が50%程度にまで減少した組み合わせもあるため、正常細胞にも高い影響が出る事を確認した。ボイセンベリーアントシアニンを4種類全て混合して添加した結果、100  $\mu$ M でのみ、細胞の生存率が減少した。また、DLD-1 と CCD 841 CoN における生存率の差は見られなかった。ボイセンベリーアントシアニンをボイセンベリーに含まれている組成で混合し添加した結果、細胞の生存率が減少した。DLD-1 と CCD 841 CoN どちらにも高い影響が出ており、DLD-1 の生存率は5%以下にまで減少した。(1)とこれらの結果を踏まえると、アントシアニンは個々ではあまり影響差が見られないが組み合わせていくことで、細胞への影響に違いが出る事を確認した。また、アントシアニンの量が多ければその分高い影響が出る訳ではないことも示唆された。

## 3. 今後の研究における課題または問題点

今後は、細胞への影響がどのようにして行われているか、メカニズムを明らかにすることが重要である。具体的には、細胞死の起こり方や、抗がん剤の作用様式でも分類されている細胞周期への影響解析などを明らかにしていきたい。課題としては、がん細胞のみではなく正常細胞にも影響が出てしまう点が挙げられるが、影響差が大きい組み合わせを掘り下げていくことでがん細胞のみに効果が出る濃度の特定や、がん細胞にのみアタックできるシステムの構築(ドラッグデリバリーシステム)を考えていくことでクリアにしていきたいと考えている。

## Summary

Health consciousness has increased, and the effects on health of various foods and their ingredient have been studied. It is widely known that anthocyanins contained in many fruits have antioxidant and anti-inflammatory effect. In recent years, it has been reports that they suppress the growth of cancer cells. Boysenberry native to North America is rich in four types of anthocyanins and is therefore expected

to have the health benefits.

The purpose of this study was to analyze the effects of boysenberry anthocyanins on the proliferation of colon cancer cells (DLD-1). Addition of boysenberry anthocyanins during DLD-1 culture reduced cell viability. In addition, boysenberry anthocyanins mixtures were added in different formulations. As a result, there was a difference in cell viability even with the same combination depending on the blending amount. I have demonstrated that boysenberry anthocyanins have a cancer cell growth inhibitory effect, and that different effects can be seen depending on the blending amount. The combination that produced the highest inhibitory effect on the cancer growth was the combination that matched the boysenberry concentration. Furthermore, it was found that even if there are many types of anthocyanins, the effect is not so high. It is thought that they influence each other by combining them. It was also found that normal cells also have a growth inhibitory effect. These results are also an indication that boysenberry anthocyanins have a strong inhibitory effect, but in order to apply them to foods and pharmaceuticals, the effect on normal cells should also be considered.

In the future, it will be necessary to clarify the mechanism of the effects on cells, and we should consider their application to drug delivery systems in order to exert an effect only on cancer cells. Specifically, we would like to investigate the effects on apoptosis induction and cell cycle, clarify cytotoxicity, and examine how to apply it to drugs. Our research group is also developing a drug delivery system (DDS), that can give the effect of the drug only on cancer cells, as part of our research. I will actively consider the application of boysenberry anthocyanins, which is the result of this research, to DDS.

# 既知微生物固定化担体を用いたアンモニア態窒素除去リアクターの構築

## Construction of ammonia nitrogen removal reactor using known microbial immobilization carriers

研究代表者 飯山 桃子(生命科学研究科生命科学専攻)

指導教員 三浦 健

研究期間/2021年4月1日~2022年2月15日

キーワード/①アンモニア態窒素  $\text{NH}_4^+\text{-N}$

② 従属栄養硝化-好気性脱窒 heterotrophic nitrification-aerobic denitrification

③リアクター reactor

④16S rRNA 遺伝子解析 16S rRNA gene amplicon sequencing analysis

⑤担体 carrier

2021年度交付額/552,000円

研究発表/学会および口頭発表

- ・日本農芸化学会 2022年度大会、既知微生物固定化担体を用いたアンモニア除去リアクターの構築、口頭発表、2022年3月(予定)

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

本研究室の硝化リアクターから従属栄養硝化-好気性脱窒能を有する候補株 a5、a10、b4 および d1 株の単離に成功した。そこで、本研究の目的を従属栄養硝化-好気性脱窒反応を行う単離株を用いて、微生物固定化担体の作製および  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  除去システムを構築し、菌叢構造を明らかにすることとした。

#### ・単離菌株の $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 除去性能評価

LB 液体培地 50 mL で a5 株を 24 h、a10、b4 および d1 株を 72 h、30°C、125 rpm で培養後、集菌した。リン酸緩衝生理食塩水で洗浄後、 $\text{OD}_{660}=0.1$  となるように NM 培地 (Glucose および  $\text{NH}_4\text{Cl}$  含有) 10 mL で 30°C、125 rpm で培養した。培養 3 日目と 6 日目にアンモニア態窒素 ( $\text{NH}_4^+\text{-N}$ )、全窒素 (T-N)、亜硝酸態窒素 ( $\text{NO}_2^-\text{-N}$ )、硝酸態窒素 ( $\text{NO}_3^-\text{-N}$ ) の分析および  $\text{OD}_{660}$  の測定を行った。サンプリング後の培養液は 0.22  $\mu\text{m}$  孔径フィルターを用いてろ過をした。水質分析は  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  濃度はインドフェノール青吸光光度法 (JIS K-0102) に準じて測定した。 $\text{NO}_2^-\text{-N}$  および  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  濃度はイオンクロマトグラフを用いて測定した。T-N の分析には TOC、TN 計を用いた。

#### ・固定化担体の作製、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 除去リアクターの構築および 16S rRNA 遺伝子解析

$\text{NH}_4^+\text{-N}$  除去リアクターの構築には、単離株 4 株 (a5、a10、b4、d1) と硝化細菌 *Nitrosomonas europaea* NBRC 14298 および脱窒細菌 *Pseudomonas denitrificans* NBRC 13302 の合計 6 株を用いた。微生物固定化のための担体は 4 mm 角の PVA スポンジ担体を使用し、4 つの  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  除去リアクターを構築した。RUN-1 には単離株 4 株を固定化した担体 (A)、RUN-2 には NBRC 14298 および NBRC 13302 の 2 株を固定化した担体 (B) を充填した。RUN-3 は 2 槽構造とした。原水側の反応槽を反応槽 1 とし、NBRC 14298 のみを固定化した担体 (C)、処理水側の反応槽 2 には NBRC 13302 のみを固定化した担体 (D) を充填した。RUN-4 には 6 株を固定化した担体 (E) を

充填した。RUN-1、RUN-2、RUN-3 反応槽 1 および RUN-4 は好気状態にするため曝気を行った。RUN-3 反応槽 2 は反応槽内を無酸素状態にするため、曝気を行わずに、マグネチックスターラーを用いて攪拌を行った。連続処理運転の原水は NM 培地とした。水理学的滞留時間 (HRT) は 72 h とした。各リアクターの処理水は活性炭およびメンブレンフィルターを通したのち、オスバン処理を行った。

担体からの DNA 抽出は NucleoSpin® Soil を使用し、添付プロトコールに従って行った。メタ 16S rRNA 遺伝子解析は、ゲノムリード株式会社に委託した。

## 2. 研究経過および成果の概要

### ・単離菌株の $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 除去性能評価

単離株 a5、a10、b4 および d1 はそれぞれ *Stenotrophomonas* sp.、*Mesorhizobium* sp.、*Gordonia* sp. および *Microbacterium* sp. と同定された。全ての単離株において  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  濃度の減少が見られた。a5、a10、b4、d1 の単培養および 4 株の複合培養は培養 6 日目に最小の  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  濃度を示した。T-N の減少量は  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  減少量とほぼ同等な値を示した。6 日間を通して  $\text{NO}_2^+\text{-N}$  および  $\text{NO}_3^+\text{-N}$  の生成は検出されなかった。OD<sub>660</sub> は培養 3 日目において増加が見られた。

### ・ $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 除去リアクターの連続処理運転

構築した全てのリアクターは、42 日間の連続処理実験を通して非常に安定した高い  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  除去性能を示した。また、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$  除去に関与する単離株をあらかじめ担体に固定化したことで、スタートアップの速いリアクターの構築に成功した。担体表面には微生物によるバイオフィームが観察された。さらに、走査型電子顕微鏡による観察を行った結果、担体の表面および内部には桿菌や球菌などの無数の微生物の付着が確認できた。

### ・メタ 16S rRNA 遺伝子解析

連続処理運転 0、14、28、42、日目の担体において菌叢構造解析を行った。0 日目の担体にはあらかじめ固定化した *Stenotrophomonas* 属および *Pseudomonas* 属などが高い割合で検出された。連続処理運転 14、28、42 日目には *Flavobacterium* 属および *Delftia* 属などの混入菌の増加が確認できた。これらの混入菌が本研究で用いた単離株に何らかの良い影響を及ぼし、高い  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  除去に寄与したことが示唆された。さらに、既知微生物と混入菌には AHL や A-factor などのシグナル物質を介した共生関係が成り立っていた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

本研究を通して、それぞれのリアクターにおける菌叢構造が解明され、さらに、さまざまな微生物が  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  除去に関与していたことが示唆された。菌叢構造は処理水の水質と密接な関係があり、菌叢構造の把握が処理水の水質の安定化を実現する大きなカギである。しかし、本研究では菌叢構造の解明はできたが、検出された微生物間における相互関係を見出すことはできなかった。そのため、単離株のバイオフィーム形成能やクオラムセンシングによるシグナル物質のやり取りの解明を行う。これによって、微生物間の相互関係を明らかにでき、リアクター内で起きている現象の理解に繋がることを期待できる。さらに、実廃水を想定した東南アジアに近い環境下において、微生物を固定化した担体の作製および新たなリアクターを構築する。そして、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$  処理性能を評価することで実用化を目指し、世界中に安全な水とトイレの普及化へ大きな貢献が期待できる。

## Summary

We decided to construct a microbial-immobilized carrier and an  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  removal system with an isolated strain that undergoes a heterotrophic nitrification-aerobic denitrification reaction to clarify the flora structure. In the evaluation of  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  removal performance of isolated strains,  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ , T-N,  $\text{NO}_2^-\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  were analyzed and  $\text{OD}_{660}$  was measured on the 3rd and 6th days of culture using NM medium. Preparation of immobilized carriers, construction of  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  depletion reactor and 16S rRNA gene analysis showed that 4 isolated strains (a5, a10, b4, d1), nitrifying bacterium *Nitrosomonas europaea* NBRC 14298 and denitrifying bacterium *Pseudomonas denitrificans* NBRC 13302. A 4 mm square PVA sponge carrier was used as the carrier for microbial immobilization. 16S rRNA gene amplicon sequencing analysis was outsourced to Genome Lead Co., Ltd. In the  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  removal performance evaluation of the isolated strains, that 4 isolated strains were identified as *Stenotrophomonas* sp. (a5), *Mesorhizobium* sp. (a10), *Gordonia* sp. (b4), and *Microbacterium* sp. (d1). In 4 isolated strains, a decrease in  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  concentration was observed in all isolated strains. In the continuous treatment operation of the  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  removal reactor, all the reactors constructed showed very stable and high  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  removal performance through the continuous treatment experiment for 42 days. We also succeeded in building a fast-start-up reactor. Innumerable microorganisms such as bacilli and cocci were observed on the surface and inside of the carrier with a scanning electron microscope. In 16S rRNA gene amplicon sequencing analysis, pre-immobilized *Stenotrophomonas* sp. and *Pseudomonas* sp. were detected in high proportions on the carrier on first day. Contaminated bacteria such as *Flavobacterium* sp. and *Delftia* sp. increased in the continuous treatment operation on the 14th, 28th, and 42nd days.

It was suggested that these contaminating bacteria had some positive effect on the 4 isolated strains used in this study and contributed to high  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  removal. Furthermore, it was suggested that a symbiotic relationship was established between known microorganisms and contaminating bacteria via signaling substances such as AHL and A-factor.

In the future, we would like to elucidate the effect of contaminating bacteria on the  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  removal reactor and examine the raw water composition assuming actual wastewater.

# シナプス後部の HUB タンパク質 Homer のパートナー分子の加齢変化

## Age-related changes in binding partner of the postsynaptic HUB protein Homer.

研究代表者 山下 陽平(生命科学研究科生命科学専攻)

指導教員 児島 伸彦

研究期間/2021年4月1日~2022年2月15日

キーワード/①シナプス可塑性      Synaptic plasticity  
                  ②Homer タンパク質      Homer protein  
                  ③タンパク質相互作用      Protein interaction  
                  ④シナプトソーム      Synaptosome

2021年度交付額/                      560,000円

研究発表/学会および口頭発表

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

我々の脳の中で、記憶や学習がどのように行われているかを解明することは神経科学において重要な課題である。これには神経細胞同士の結合部のシナプスのうち、後部構造であるスパインの形態およびタンパク質ネットワークが重要な働きを持つとされる。このタンパク質ネットワークの中で HUB の役割を持ち、様々なタンパク質同士を繋ぎ合わせるタンパク質に Homer がある。Homer はさらに、drebrin と結合し、アクチン線維の束化を制御することでスパイン形態制御にも関わるとされる。そしてこれらスパイン内のタンパク質ネットワーク、特に Homer を中心としてネットワークは週齢や神経活動によって変化することが想定される。そこで本研究では Homer の結合タンパク質を網羅的に取得することを目的とした。加えて、神経活動によって変化すると想定されるシナプス前部およびシナプス後肥厚部を含むシナプトソームの Homer 関連タンパク質についても解析した。

### 各アッセイによる Homer1 相互作用解析

①共免疫沈降アッセイ: Dynabeads Co-Immunoprecipitation kit (Thermo Fisher Scientific) に従い、M-270 epoxy-beads に抗 Homer1 抗体を結合させた。成体 C57BL/6N マウスより大脳皮質タンパク質を抽出し、抗 Homer1 抗体ビーズと 4℃で 30 分間反応させ、抗体結合タンパク質を回収した。結合タンパク質は SDS-PAGE 後、銀染色およびウェスタンブロッティングにて検出した。

②label transfer アッセイ: pCold-GST ベクターにサブクローニングし、大腸菌で発現させた GST 融合 Homer1a タンパク質を精製し、Sulfo-SBED で標識した。これと成体メス C57BL/6N マウスの大脳皮質より抽出したタンパク質をインキュベートさせた後、UV 照射して、GST-Homer1a に結合した脳タンパク質にビオチンを遷移結合させた。GST-Homer1a と結合したビオチン標識タンパク質を SDS-PAGE およびウェスタンブロッティングにて検出した。

③epoxy プルダウンアッセイ: M-270 epoxy-beads に GST-Homer1a を結合させ、それに大腸菌

で発現させた drebrin (drebrin E および A) を 4°C で一晩反応させ、非結合タンパク質を洗浄除去した後、GST-Homer1a 結合タンパク質を溶出し、SDS-PAGE 後銀染色にて検出した。

#### 細胞分画によるシナプトソームおよび PSD 画分の調製

ペンチレンテトラゾル (45 mg/kg 体重) の腹腔内注射でけいれんを誘発させた成体 C57BL/6N マウス的大脑皮質を取り出し、ホモジナイズバッファー(0.32 M スクロース、5 mM HEPES、cOmplete™プロテアーゼインヒビターカクテル)内でホモジナイズ後、4°C、1000×g、10 分間遠心して得た上清 (S1) を 4°C、12,000×g、10 分間遠心し、得た沈殿からショ糖密度勾配遠心によって、1.0 M と 1.2 M の間に分画されるシナプトソーム画分を回収した。シナプトソーム画分を 0.5% Triton X-100 で処理し、32,000×g、20 分間遠心し、PSD 画分を得た。

## 2. 研究経過および成果の概要

### 各アッセイによる Homer1 相互作用解析

共免疫沈降アッセイでは抗 Homer1 抗体を用いて結合パートナーを探索した結果、Homer1 自身と既知の Homer 結合タンパク質である代謝型グルタミン酸受容体 5 (mGluR5) は検出されたが、もう一つの既知結合タンパク質 drebrin は検出されなかった。また、銀染色による全タンパク質解析では、Homer1 に結合したタンパク質の大部分はネガティブコントロールの IgG 抗体にも結合するタンパク質として回収されており、Homer1 に特異的に結合するタンパク質の網羅的解析は困難であった。

この方法では強固に結合するタンパク質以外は単離同定できないという欠点もあるため、次に GST-Homer1a タンパク質をベイトとして、一過性の結合も検出できる label transfer アッセイを行った。しかし、非特異的な内在性ビオチン様タンパク質および GST 結合タンパク質が検出されたのみで、Homer1a 特異的結合タンパク質は検出できなかった。

非特異的結合を除去するために、ストレプトアビジン beads を用いて内在性ビオチン様タンパク質の吸収を試みたが、完全除去はできなかった。また、Homer1a との融合タンパク質部分である His-GST との非特異的結合を除去するために His タグ融合 HRV3C プロテアーゼを用いて GST-Homer1a から GST 除去を試みた。しかし、His タグ精製用 beads の非特異的結合により Homer1a が bead に吸着してしまい、回収ができなかった。

drebrin と GST-Homer1a との個別結合を調べるために、epoxy プルダウンアッセイを行ったが、drebrin と GST-Homer1a の結合は確認されなかった。

Homer1-mGluR5 は確認されるものの、Homer1-drebrin は検出されなかったことから、drebrin と mGluR5 内の Homer 結合モチーフは Homer 内の EVH1 ドメインに対する結合力に違いがあることが分かった。

### 細胞分画の解析

ウエスタンブロットで Homer 結合タンパク質を解析したところ、けいれん誘発剤ペンチレンテトラゾル (PTZ) 刺激によってシナプトソーム画分の drebrin が減少した。一方、PSD 画分では差はなかった。mGluR5 は両画分において差はなかった。この結果から、Homer1a の誘導によって、シナプトソームの drebrin が PSD から遊離した可能性があげられる。一方、PSD 画分に残留した drebrin は Homer との架橋により神経活動が起きても PSD から離れない可能性がある。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

共免疫沈降アッセイにおいては、Homer1 と結合タンパク質の結合を阻害しないバッファーや抗体の検討があげられる。

label transfer アッセイにおいては、ベイトと脳タンパク質の比率の検討、GST 除去 Homer1a の安定的な獲得のための His タグ精製用 beads の検討があげられる。

epoxy プルダウンアッセイにおいても、GST 除去 drebrin を安定的に獲得できるような His タグ精製用 beads を検討することにより、ベイトとプレイタンパク質の比率の検討が可能になる。

これら相互作用アッセイは今後、条件を細かく検討することで網羅的解析方法が確立され、週齢や神経活動によって変化する Homer 結合タンパク質を同定することが期待される。

また、Homer 内の EVH1 ドメインと各 Homer 結合モチーフとの結合力の違いのメカニズムについても今後明らかにしていく。

PTZ 刺激によってシナプトソームの drebrin が減少したことから、今後の課題として drebrin 結合タンパク質の一つである CaMKII  $\beta$  の調査があげられる。また、上記の Homer 結合タンパク質の網羅的解析法の確立後、PTZ 刺激により変化する Homer 結合タンパク質についても今後明らかにしていく。加えて、シナプトソームはポストシナプスのうち PSD しか含んでおらず、drebrin が多量に含まれる部分は含まれていないので、ポストシナプスを多く含むシナプトニューロソームでも同様に PTZ 刺激によるタンパク量の比較が今後の課題としてあげられる。

### Summary

Homer is predicted to play the role as a Hub in the complex protein network in the spine, and the network would be changed depend on neural activity and age. In this experiment, I investigated a method to comprehensively analyze the Homer-binding partners. In addition, I investigated Homer-related proteins in synaptosomes that change with neural activity.

In the co-immunoprecipitation assay of this experiment, mGluR5 known as Homer-binding protein was detected but it was difficult to perform a comprehensive analysis because of the large amount of non-specific binding. Future work should focus on the composition of washing buffer and use of preclean to reduce non-specific binding.

In the label transfer assay, which transient weak binding can be detected, it was difficult to detect GST-Homer1a binding proteins comprehensively because there were many GST-binding proteins and endogenous biotinylated proteins. This could be improved by using GST-Homer1a protein as bait, but the GST-Homer1a was adsorbed on Ni beads, making it difficult to recover Homer1a. The ratio of bait to prey protein is also an issue for future studies.

To investigate Homer1-drebrin binding individually, I used epoxy pull-down assay with GST-Homer1a and drebrin. As a result, Homer1-drebrin binding was not detected. To examine the ratio of bait to prey protein in this assay, it is needed to obtain the tag removal drebrin stably. For this purpose, it is necessary to examine the beads for His-tag purification.

Homer1-mGluR5 was identified, but Homer1-drebrin was not detected, indicating that the Homer binding motifs within drebrin and mGluR5 differ in their binding strength to the EVH1 domain within Homer. The physiological significance of the different binding strengths between the EVH1 domain within Homer and each Homer-binding motif will also be clarified in the

future work.

I investigated the changes in the protein network in the spine of PTZ-induced convulsions in mice. As a result, the localization of the Homer-related protein drebrin was altered in PTZ-induced convulsions, suggesting that Homer may play a role as a Hub in the protein network in the spine, given that Homer1a has been reported to be expressed by PTZ. Future work includes the analysis of CaMKII $\beta$ , which is a drebrin-binding protein and has been reported to move to the PSD during neural activity, and the analysis of the synaptoneurosome fraction, which contains more post-synaptic sites than synaptosome fraction. The establishment of a comprehensive analysis method for the above-mentioned Homer-binding proteins will help to clarify the physiological significance of PTZ-stimulated changes in the composition of proteins in synaptosomes in the future work.

# 神経細胞由来細胞外小胞における酸化ストレス依存的な

## 糖鎖修飾及びその生理的意義

### Role of oxidative stressors on glycan modifications of extracellular vesicles derived from HT22 murine hippocampal cells

研究代表者 佐藤 飛翔 (生命学研究科生命科学専攻)

指導教員 根建 拓

研究期間/2021年4月1日~2022年2月15日

キーワード/①神経細胞 Neuron

②酸化ストレス Oxidative stress

③細胞外小胞 Extracellular vesicles

④糖鎖 glycan

⑤シアル酸 sialic acid

2021年度交付額/630,000円

#### 研究発表/学会および口頭発表

- (1) T. Sato, A Shimoda, N Miyanishi, T Nedachi. Oxidative stressors induce glycan modifications of extracellular vesicles derived from HT22 murine hippocampal cells. Society for Neuroscience (SfN) 2021 meeting. Chicago, IL, USA, Online, December 2021.
- (2) A Shimoda, T. Tanabe, T. Sato, T Nedachi. Society for Neuroscience (SfN) 2021 meeting. Chicago, IL, USA, Online, December 2021.
- (3) 下田 歩夢、田辺、岳海、佐藤 飛翔、根建拓 「酸化ストレスは HT22 細胞の神経突起伸長を制御するために PGRN の発現を誘導する」 日本分子生物学会、第 44 回年会、横浜、2021 年 12 月
- (4) 沈 玉菠、下田 歩夢、佐藤 飛翔 根建拓 「神経細胞 HT22 における暑熱依存的な PGRN の発現制御」 日本分子生物学会、第 44 回年会、横浜、2021 年 12 月

#### 研究経過および成果の概要

##### 1. 研究方法

脳内における酸化ストレスの増大は、認知症をはじめとした神経変性疾患の進行に大きな影響を与えている。近年、神経変性疾患においてアミロイドβや過剰リン酸化タウなどの神経変性タンパク質を内包した細胞外小胞 (Extracellular Vesicles; EVs)が分泌され、これが拡散することで疾患の進行に影響を与えることが示唆されており、大きな注目を集めている。EVsは内包するタンパク質や核酸などを他細胞へ伝達する機能を有し、細胞間コミュニケーションにおいて重要な役割を担っていると考えられている。近年、EVsには糖鎖も発現することが明らかとなり、EVsと標的細胞の相互作用に何らかの役割を果たしていることが示唆されているが、EVs糖鎖の発現量が微量であることから研究がほとんど進んでいない。そこで、本研究では、EVsの高感度糖鎖解析方法を確立し、酸化ストレス依存的なEVsの糖鎖変化及びその生理的意義について明らかにすることを目的とした。

まず、マウス海馬由来神経細胞 HT22 を 150 cm<sup>2</sup> dish に 7.5×10<sup>5</sup> cells/dish になるように播種し、48 時間

の培養を行った。その後、EVs-free 培地 で 48 時間培養し、培養上清液を回収した。培養上清液は低中速遠心等で不純物を除去したのち、超遠心法を用いて EVs の精製を行った。EVs の精製度の評価は、EVs マーカーの発現や透過型電子顕微鏡解析、動的光散乱法分析を用いた。EVs の糖鎖解析は Permethylation 法および Lectin Blotting 法を用いて行い、糖転移酵素の発現は qPCR 法を用いて調べた。EVs の HT22 細胞への取り込み能の測定は、PKH26 Red Fluorescent ラベルした EVs を用いた。

## 2. 研究経過および成果の概要

昨年度までに、ピリジルアミノ蛍光標識法を用いた EVs の N 結合型糖鎖解析により、HT22 細胞が酸化ストレス状態になると放出される EVs の糖鎖構造が変化することを明らかにした。その一方、検出感度の問題があったため、詳細な糖鎖構造解析までには至っていなかった。そこで、異なる糖鎖解析方法であるパーメチレーションを用い EVs の糖鎖構造解析を試みたところ、HT22 細胞への酸化ストレスの負荷により、シアル酸修飾された N 結合型糖鎖及び O 結合型糖鎖の発現増加が示唆された。さらに、Lectin Blotting によるシアル化糖タンパク質の発現を調査したところ、シアル化 N 結合型糖タンパク質及び O 結合型糖タンパク質の発現に増加が見られたことから、酸化ストレスが EVs のシアル化を促進させることが明らかとなった。また、EVs の放出元となる HT22 細胞では、酸化ストレスが N 結合型糖鎖の合成経路に関与するハイマンノース型糖鎖の減少を引き起こすことが明らかになった。そこで、酸化ストレスが N 結合型糖鎖合成経路関連酵素及びシアル酸転移酵素の発現に影響を与えているのではないかと考え、qPCR による遺伝子発現解析を行った。その結果、酸化ストレスは N 結合型糖鎖の合成に関わる MAN1A1 の遺伝子発現を有意に増加させることが明らかとなった。また、GnT-I および MAN2A1 の遺伝子発現も増加する傾向が見られた。さらに、シアル化 N 結合型糖鎖の合成に関わる ST6Gal I および O 結合型糖鎖のジシアル化に関わる ST6GalNAc III の遺伝子発現が有意に増加していたことから、酸化ストレスによる EVs のシアル化糖鎖の増加は、HT22 細胞内での N 結合型糖鎖合成経路関連酵素の発現増加に伴うハイマンノース型糖鎖の減少とシアル酸転移酵素の発現増加により生じる可能性が示唆された。

さらに、酸化ストレスによる EVs のシアル化糖鎖の増加が、HT22 細胞への取り込みにどのような影響を与えるか調査した。酸化ストレス処理 EVs は、酸化ストレス未処理 EVs と比較して、HT22 細胞への取り込みが有意に増加することが明らかとなった。一方、酸化ストレス処理 EVs の膜表面のシアル酸を除去すると、HT22 細胞への取り込みが有意に抑制された。これらの結果から、EVs に存在する糖鎖のシアル化は、HT22 細胞への取り込みを規定する重要な修飾であることが明らかとなった。

以上、本研究ではマウス海馬由来神経細胞 HT22 を用いた EVs の高感度糖鎖構造解析方法の確立と酸化ストレス依存的な EVs の糖鎖変化を解明し、これら EVs 糖鎖変化の生理的意義を明らかにした。酸化ストレスの増加が原因の一つとされている神経変性疾患においては、神経変性に関与するタンパク質を内包した EVs が拡散することにより疾患の進行に影響を与えることが報告されている。このことから、本研究で明らかとなった現象が神経変性疾患の進行に関与している可能性が示唆される。本研究が進展していくことで、神経変性疾患のメカニズム解明につながるだけでなく、治療ターゲットやバイオマーカーとして有用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

神経細胞由来の EVs が神経細胞以外にもミクログリアやアストロサイトなどを標的としている報告がされている。そこで、酸化ストレスによる EVs のシアル化が、神経細胞以外の細胞認識に影響を与えるかについて調査し、酸化ストレスが EVs の動態にどのような変化をもたらすか確認する必

要がある。

## Summary

Oxidative stress has been implicated in the progression of neurodegenerative diseases. Recently, it has been reported that extracellular vesicles (EVs) derived from neurons, contain substantial amounts of dementia-related proteins such as amyloid  $\beta$  and phosphorylated tau, which suggested that EVs might contribute on the progression of neurodegenerative diseases. EVs express glycans as well as proteins and nucleic acids, and the glycan modification of EVs is crucial for their internalization into the target cells. However, the impact of oxidative stress on glycan modification(s) of EVs has not been well understood. In this study, we analyzed the surface glycosylation of EVs released from HT22 cells and investigated the potential role(s) of the oxidative stress-dependent modification of EV glycosylation.

HT22 cells were cultured with or without 250  $\mu$ M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for 48 hours and the released EVs were purified by using the ultracentrifugation method. The purity of EVs was then routinely confirmed by western blotting, transmission electron microscopes, and nano particle analysis. To analyze surface glycans of EVs, we used the permethylation and lectin blotting method. The expression of glycosyltransferases was examined using qPCR. The PKH26 Red Fluorescent labeled EVs were used to measure the uptake of EVs into HT22 cells.

The permethylation method was suitable for robust analysis of small amounts of glycan samples, such as purified EVs. Results indicated that both the N-linked glycan and O-linked glycans in EVs contained sialic acids, and the proportion of sialylated glycan in EVs was significantly increased by oxidative stress. Furthermore, oxidative stress activated N-linked glycosylation pathway and induced gene expression of sialyltransferase. Moreover, we investigated whether the increase in the sialylated glycan of EVs affects the uptake into HT22 cells. EVs from oxidative stressed cells were more uptaken by HT22 cells, compared to that from control cells. In addition, the removal of sialic acid from EVs attenuated the incorporation of EVs into HT22 cells. Overall, the present studies suggested that the sialylated glycan on EVs has an important role for regulating EV uptake into HT22 cells.

Given that the release and incorporation of EVs in central nervous systems is important for the progression of several neurodegenerative diseases, the glycan modification of EVs may be an attractive therapeutic target as well as an useful biomarker for neurodegenerative diseases.

## 神経細胞における酸化ストレス依存的な

### プログラニュリンの発現制御と生理的意義 (和題)

### Oxidative stress-dependent regulation of progranulin expression and physiological significance in nerve cells (英題)

研究代表者 下田 歩夢(生命科学研究科生命科学専攻)

指導教員 根建 拓

研究期間/2021年4月1日~2022年2月15日

キーワード/①神経細胞 Nerve cells

②酸化ストレス Oxidative stress

③プログラニュリン Progranulin

④神経突起伸長 Neurite outgrowth

⑤小胞輸送 Vesicle trafficking

2021年度交付額/700,000円

研究発表/学会および口頭発表

#### (1) 論文による発表

・ Shimoda A, Tanabe T, Sato T, Nedachi T. (2021) Hydrogen peroxide induces progranulin expression to control neurite outgrowth in HT22 cells. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 85 (10): 2103–2112.

#### (2) 学会による発表

・ Shimoda A, Tanabe T, Sato T, Nedachi T. Oxidative stress induces Progranulin expression to control neurite outgrowth in HT22 cells. Society for Neuroscience (SfN) 2021 meeting. Chicago, IL, USA, Online, December 2021.

・ 下田 歩夢、田辺 岳海、佐藤 飛翔、根建 拓: 酸化ストレスは HT22 細胞の神経突起伸長を制御するために PGRN の発現を誘導する、日本分子生物学会、第 44 回年会、横浜、2021 年 12 月

研究経過および成果の概要

#### 1. 研究方法

前頭側頭葉変性症 (FTLD) は全体の約 70%が 45~65 歳で発症する若年性認知症で、未だ根本的な治療法は存在しない。発症の原因についても不明な点が多いが、近年、FTLD 患者の一部に共通してプログラニュリン (PGRN) 遺伝子の変異が見られることが報告された。PGRN は、中枢神経系で豊富に発現する多機能成長因子であり、抗炎症作用や細胞保護作用を有することが知られている。さらに、PGRN の発現はいくつかの神経変性疾患に関与している酸化ストレスによって発現が増加することが分かっているが、その発現制御メカニズムや誘導後の生理作用については完全には解明

されていない。本研究では、HT22 マウス海馬由来神経細胞における酸化ストレス誘発性 PGRN の発現制御メカニズムと生理学的役割を解明することを目的とした。

本研究では、神経細胞の酸化ストレス研究に汎用されるマウス海馬由来神経細胞 HT22 を用いて行った。酸化ストレス依存的な PGRN の遺伝子発現、タンパク質発現、タンパク質分泌量は、それぞれ RT-qPCR、Western blotting、ELISA 法を用いて測定した。各種遺伝子のノックダウン (knockdown; KD) は small interfering RNA (siRNA) を用い、Lipofectamine™ RNAi MAX Transfection Reagent のプロトコールに従って実施した。酸化ストレス依存的な神経突起伸長の評価は ImageJ Software を用いて行った。小胞輸送経路の下流に存在する Lysosome 活性化は、AcidiFluor™ ORANGE を用いて評価した。

## 2. 研究経過および成果の概要

まず、HT22 細胞において酸化ストレス依存的に活性化するシグナル伝達経路を調査したところ、3 種類の MAPK (Erk1/2, JNK, p38 MAPK) の活性化が生じることが明らかとなった。次にそれぞれの MAPK の阻害剤を用いた実験を行った結果、酸化ストレスによる PGRN 誘導は p38 MAPK 選択的な阻害剤である SB203580 によって抑制されることが分かった。すなわち、酸化ストレス依存的な PGRN の発現は、p38 MAPK の活性化を介していることが示唆された。

次に、HT22 細胞における酸化ストレス依存的な反応を調査した結果、神経突起の長さや数が有意に増加することを発見した。この現象が酸化ストレスによって増加した PGRN によるものであるか確認するために、PGRN 遺伝子の KD を行ったところ、酸化ストレス依存的な神経突起の長さや数の増加は確認されなかった。すなわち、酸化ストレス依存的な神経突起制御の少なくとも一部は、PGRN 発現によって媒介されることが示唆された。さらに、PGRN によって制御される小胞輸送制御因子 Alix (ALG-2-interacting protein X) の遺伝子を KD した場合も、酸化ストレス依存的な神経突起制御は観察されなくなった。神経細胞内では、細胞膜構成成分をエンドサイトーシスによって細胞内に小胞として取り込み、この小胞を別の場所まで輸送し、再び細胞膜と融合させることで細胞膜構成成分を別の場所で再利用するリサイクリング経路が存在する。すなわち、酸化ストレス依存的な PGRN 発現亢進による Alix 量の増加は、リサイクリング経路を活性化することで膜構成成分の供給量を増加させ、酸化ストレスによる神経突起伸長に貢献していると考えられた。

酸化ストレス依存的な PGRN 発現亢進によって小胞輸送経路が活性化されることが示唆されたため、最後に、小胞輸送経路の下流に存在する Lysosome に着目した研究を行った。その結果、酸化ストレスによって Lysosome 活性が低下し、PGRN 遺伝子の KD を行うことでさらに活性が低下することが明らかとなった。この結果から、酸化ストレスによって Lysosome 機能は強く抑制されるが、酸化ストレス依存的な PGRN 発現亢進は Lysosome 機能抑制を緩和してい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

本研究によって、HT22 細胞への酸化ストレスが p38 MAPK を介して PGRN の発現を誘導し、誘導された PGRN は Alix の発現を調節することで神経突起伸長を制御することが初めて明らかとなった。また、酸化ストレス依存的な PGRN の発現増加は、Lysosome 機能低下を緩和している可能性も示唆された。FTLD 患者で見られる PGRN のハプロ不全は、本研究で明らかとなった酸化ストレス依存的な PGRN 機能を減弱させることで、脳神経系のネットワーク形成不全やリソソ-

ム機能の異常低下を引き起こし、FTLD の発症および進行に寄与している可能性が考えられる。しかし、本研究ではすべての実験を単一の株化細胞で実施しており、脳全体で普遍的に見られる現象であるのかどうかはわからない。そこで、別の細胞株、特に神経細胞の形態観察に優れた PC12 細胞を用いた神経突起伸長の調査や、マウス初代培養細胞を使って同様の実験を行い、本研究と同様の結果が得られるのか調べる必要があると考える。さらに、本研究では酸化ストレス依存的な PGRN が小胞輸送経路に働きかけていることが示唆されたため、PGRN のリソソーム機能制御を、関連遺伝子やタンパク質発現などを調べることでさらに深部まで調査し、また、エクソソーム放出への影響を調べることで、小胞輸送経路全般への影響をさらに調査する必要があると考えている。

## Summary

Progranulin (PGRN) is a multifunctional growth factor abundantly expressed in central nervous system. When heterozygous mutations occur in the Pgrn gene, it will cause PGRN haploinsufficiency. The PGRN haploinsufficiency has been reported for the association with frontotemporal lobar degeneration (FTLD), but the detailed mechanism(s) has not been clarified. Moreover, although PGRN expression is regulated by oxidative stressors, its regulatory mechanism(s) has not been completely understood. In this study, we have investigated physiological roles of the oxidative-stress induced PGRN expression in HT22 murine hippocampal cells. In addition, we also analyzed the molecular mechanism(s) of how the oxidative stressors control PGRN expression.

Initially, we investigated the oxidative stress-dependent response of HT22 cells and found the lengths and numbers of neurites are significantly increased by oxidative stress. Pgrn knockdown (KD) experiments suggested that these changes were mediated by oxidative stress-induced PGRN expression, at least in a part. We investigated proteins that were regulated by PGRN and identified ALG-2-interacting protein X (Alix) as one of these proteins. Since Alix has been reported to regulate neurite outgrowth, we performed Alix KD experiments and found that Alix induction is required for the oxidative-stress induced neurite outgrowth. Finally, we investigated signaling pathway(s) responsible for PGRN induction by oxidative stress in HT22 cells. We observed the activation of MAP kinase by adding oxidative stressors, and SB203580, a selective inhibitor of p38 MAP kinase, attenuated PGRN induction by oxidative stress.

Overall, these results suggested that oxidative stress on HT22 cells induce PGRN via p38 MAP kinase pathway, regulating Alix expression and controlling neurite outgrowth in HT22 cells. Importantly, the intracellular PGRN accumulation by oxidative stress appears to be crucial for neurite outgrowth at least in HT22 cells. Deficiencies in this system due to reduced PGRN levels in PGRN haploinsufficiency may contribute to the progression of FTLD.

# 津軽海峡で繁殖するウトウ *Cerorhinca monocerata* の

## 採餌海域選択および餌利用

### Foraging area selection and prey utilization of rhinoceros auklets breeding on islands in the Tsugaru strait, Japan.

研究代表者 小澤 光莉 (生命学研究科生命学専攻)

指導教員 伊藤 元裕

研究期間/2021年4月1日~2022年2月15日

キーワード/①津軽海峡 Tsugaru strait

②ウトウ Rhinoceros auklets

③採餌行動 Foraging behavior

④利用餌 Forage fish

⑤環境応答 Environmental response

2021年度交付額/560,000円

研究発表/学会および口頭発表

・ Hikari Ozawa, Motohiro Ito, 「ECOROGICAL RESPONSES TO THE ENVIRONMENTAL CHANGE IN RHINOCEROS AUKLETS BREEDING ON ISLANDS IN THE TSUGARU STRAIT, JAPAN」, 49th Annual Meeting of the Pacific Seabird Group VIRTUAL (Pacific Seabird Group), 2022年2月

・ Hikari Ozawa, Motohiro Ito, 「Foraging area selection of Rhinoceros auklet breeding in the Tsugaru strait, Japan」, The 7th International Bio-Logging Symposium (International Bio-logging Society), 2021年10月

・ 小澤光莉、佐藤咲良、横川舜、伊藤元裕、「津軽海峡で繁殖するウトウによるカタクチイワシの利用と繁殖の好転」、日本鳥学会 2021年度大会 (日本鳥学会)、2021年9月

研究経過および成果の概要

#### 1. 研究方法

2021年6、7月に、津軽海峡の陸奥湾に位置する鯛島(青森県むつ市)、太平洋側に位置する弁天島、日本海側に位置する松前小島において、採餌海域調査、利用餌および成長調査を行った。採餌海域調査は、鯛島および弁天島では、ウトウ *Cerorhinca monocerata* に深度計内臓型 GPS ロガーを装着し行動追跡を行い、その潜水深度と位置情報から、ウトウの採餌場所を明らかにした。GPS ロガーによって収集されたデータは、繁殖地に設置した受信機との遠隔通信によって取得した。選好した採餌場所の環境を推定するために、採餌場所と非採餌場所の海面水温 (SST)、クロロフィル a 濃度 (Chl a)、水深、コロニーまでの距離を用いて、一般化加法モデルによるハビタットモデ

リングを行った。一方、松前小島-江差町札前漁港間での船上目視調査を行い、ウトウの採餌場所を推定した。

利用餌調査では、親鳥が帰巢時に嘴にくわえてくる雛への餌を、親鳥を捕獲することで収集し、各餌種の湿重量組成を算出した。さらに、雛の体重と日齢の指標となる翼長を計測することで、雛の成長度を明らかにした。

## 2. 研究経過および成果の概要

鯛島と弁天島のウトウは津軽海峡東部、太平洋沿岸域の他、鯛島のウトウのみ陸奥湾周辺でも採餌を行っていた。また、どちらのウトウも津軽海峡東部で高頻度に採餌を行っていた。ハビタットモデリングの結果では、弁天島のウトウの採餌は SST、水深によって有意に説明され、Chl a は有意傾向であった。鯛島のウトウの採餌は SST、Chl a、水深、コロニーまでの距離によって有意に説明された。両島のウトウが選好した SST (約 17°C) から、ウトウは津軽暖流水を選好したと考えられた。我々が 2019 年に弁天島で行った調査では、ウトウは噴火湾周辺で高頻度に採餌しており、SST 8°C未満のハビタットを選好していた。また、寒冷性魚類であるマイワシ *Sardinops melanostictus* を主に利用していると考えられ、これらより親潮系水を選好したことが示唆された。

船上目視調査では、航路上で多数のウトウの採餌行動や、津軽海峡に向かって飛翔する個体を多く観測した。これらより、松前小島で繁殖するウトウも、松前小島周辺や津軽海峡内で採餌を行っていることが示唆された。

全ての繁殖地において、ウトウは雛の成長に好影響を及ぼすカタクチイワシ *Engraulis japonicus* を最も多く給餌していた (鯛島：57.3%、弁天島：100%、松前小島：72.3%)。ウトウの長期モニタリングが行われている北海道天売島では、近年、ウトウはホッケ *Pleurogrammus azonus* やマイワシをはじめとする寒冷性魚類を多く利用していることが報告されており、津軽海峡のウトウの利用餌は天売島と大きく異なっていた。また天売島での先行研究において、カタクチイワシの利用割合が低いと雛の成長も低下し、その利用割合が高いと雛の成長も高くなることが報告されている。実際に、カタクチイワシの利用割合が低かった 2016、2017 年に松前小島と鯛島 (2016 年のみ) では、雛の成長が低かった。一方、その利用割合が増加した 2021 年の雛の成長は、2016 年頃より有意に高かったことから、津軽海峡の繁殖地においても、カタクチイワシが雛の成長に大きく寄与したことが示唆された。

日本周辺では、2014 年に生じた寒冷レジームへのシフトによって、寒冷性魚類の資源量が増加し、カタクチイワシの資源量が減少している。それに伴いウトウの世界最大の繁殖地である北海道天売島では、2014 年以降ウトウの繁殖成績が低下していると報告されている。本研究で出現したカタクチイワシは、その尾叉長やウトウの採餌場所から、これまで天売島で出現していた系群とは異なる系群であり、2021 年に津軽海峡東部に特異的に出現したと考えられた。本研究では、津軽海峡域で繁殖するウトウは、海洋環境の変化を敏感に察知し、津軽海峡域に存在する多様なハビタットを能動的かつ柔軟に利用することで、採餌効率だけでなく、繁殖成績も高めていたことが示唆された。このような素早い能動的な環境応答は、激しい海洋環境変動が繁殖に与える影響を緩和することに寄与していると考えられた。

## 3. 今後の研究における課題または問題点

本研究では、鯛島と弁天島で GPS ロガーによる行動追跡が行えたものの、松前小島では繁殖地

の環境が GPS ロガーと受信機の遠隔通信に不適であり、行動追跡を行えなかった。松前小島のウトウの採餌場所とハビタットをより詳細に明らかにすることで、多様なハビタットが形成されている環境下でのウトウの環境応答をより体系的にできると考えられる。さらに、松前小島が位置する対馬暖流域において、カタクチイワシは資源量が減少すると南方海域に分布を縮小させると報告されている。そのため、松前小島のウトウは繁殖地より南方の海域や津軽海峡東部に出現するカタクチイワシを潜在的に利用可能であると考えられる。このような環境下において、ウトウの採餌行動を追跡することで、本研究では明らかに出来なかった、好適な餌の出現を察知するメカニズムを明らかにすることが出来ると考えられる。そのため、位置情報を 3G 回線によって調査者へと送信する GPS ロガーをウトウに装着し、行動追跡を行うことを今後行っていくべき調査として提案する。

## Summary

Large-scale changes in the marine environment cause to changes in the fish resources on which seabirds feed. In this study, we obtained data of foraging locations by GPS trucking and ship based visual survey, bill-loads and chick measurement from breeding Rhinoceros auklets *Cererhinca monocerata* in 3 adjacent colonies, Tai Island and Benten Island, Matsumae-kojima Island, located in the Tsugaru Strait, Japan, in 2021. Rhinoceros auklet is a diving piscivorous Alcid that forage mainly on pelagic fish, during breeding season. They breed on islands in the North Pacific. In Japan we have several breeding colonies of the auklet in the northern part of Japan, Hokkaido and Tohoku area. Around the Tsugaru Strait that breeding the auklets, the Tsushima Warm Current (Sea of Japan), the Tsugaru Warm Current (Tsugaru Strait) and the seasonal front area of the Oyashio Cold Current (Pacific Ocean) are closely located.

In 2021, the most of auklets on foraged on the Pacific side of the coast of the Tsugaru Strait, around 17°C in SST, and the majority of bill-loads were Japanese anchovies *Engraulis japonicus* in all colonies. So, it is suggested that they forage in the Tsugaru warm water. However, according to we conducted on Benten Island in 2019, the auklets mainly foraged along the coast of Hokkaido, around 8°C in SST, and might mainly forage on Japanese sardine *Sardinops melanostictus*. So, it is suggested that they forage in the Oyashio cold water.

Accordingly, chick growth was especially higher in 2021 in all colonies than in other years when the anchovies were not available. In recent years, after 2014, it is known that abundance of anchovy has been crashed in the waters around Japan due to the cold regime shift. The mechanisms of the sudden increase of anchovy availability around the Tsugaru Strait is still unclear in 2021.

During cold regime, the auklets usually forage cold-water fishes in the Oyashio cold water and feed them to their chick, so chick growth might be low. However, when the year anchovies suddenly occur at the Tsugaru warm water area, the auklets detect that event in some way and change the foraging sites immediately. And the auklets feed them to their chicks and improve chick growth. Our study suggested that such active environmental responses may help auklets to mitigate the negative effects of food shortage caused by marine environmental change.

# セルフエフィカシーがモチベーションと脳活動に与える影響（和題）

## Effects of Self-Efficacy on Motivation and Brain Activity（英題）

研究代表者 浅香 昌弘(生命科学研究科生命科学専攻)

指導教員 川口 英夫

研究期間／2021年4月1日～2022年2月15日

キーワード／①self-efficacy

②motivation

③brain

④fNIRS

⑤perceptual learning

2021年度交付額 560,000円

研究発表／学会および口頭発表

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

本研究では、知覚学習課題の一種である音域識別課題を使用して、練習時のフィードバックを操作することによって自己効力感を操作し、練習後のパフォーマンスを検討した。本研究で用いた音域識別課題は十分に集中して練習しないとパフォーマンスが向上しないことが知られており、この課題の成績の変化はモチベーションの指標として用いることができる。

さらに、fNIRS装置を使用して練習前後の脳活動を計測することにより、フィードバックの違いが脳活動にどのような影響を与えるかについても検討を行った。

### 2. 研究経過および成果の概要

従来の研究では練習時にフィードバックを与えることで自分の成長が可視化され、モチベーションが向上するとされてきた。しかし、教育等の場面において初学者はそのスキルの未熟さからネガティブなフィードバックを受けることが多く、フィードバックがモチベーションを向上させない可能性がある。これは「パフォーマンスが向上するまで練習することができる」という自己効力感がうまく機能しないためであると考えられる。そのため、初学者における適切なフィードバックを検討することは重要な課題である。

本研究では初めにリズムゲームを模した知覚運動学習を作成し、「練習回数」をフィードバックすることでモチベーションを向上させることを試みた。「練習回数」は練習に伴い必ず増加するため、初学者でも有効なフィードバックとなる可能性がある。しかし、パフォーマンスである「点数」と「練習回数」をそれぞれフィードバックした場合での有意な違いは見られなかった。

そこで、先行研究に基づき音域識別課題を作成した。この音域識別課題は「練習前テスト」「練習」「練習後テスト」で構成されており、「練習前テスト」と「練習後テスト」のパフォーマンスを比較することでどの程度真剣に練習したか、すなわちモチベーションを間接的に計測することができる。

実験参加者は3つの群に群分けされ、練習セッションにおいてそれぞれ操作された誤答率がフィードバックされた。向上フィードバック群では0.8倍された誤答率が、通常フィードバック群ではそのままの誤答率が、そして低下フィードバック群では1.2倍された誤答率がフィードバックされた。これにより自己効力感が操作された。また、練習前後のテストセッション中にはfNIRS装置を着用していただき、練習前後の脳活動も比較した。その結果、通常フィードバック群では練習前後のパフォーマンスに有意な差は見られなかったが、向上フィードバック群および低下フィードバック群のパフォーマンスは有意な向上が見られた。脳活動に関しては、低下フィードバック群でのみ前頭前野背外側部と縁上回での活動が練習後に有意に低下していた。

低下フィードバック群でモチベーションの向上が見られたことに関して、どれだけパフォーマンスが向上したかという学習率が影響した可能性がある。実際の誤答率が50%であった場合、通常フィードバック群では50%、向上フィードバック群では40%、低下フィードバック群では60%の誤答率であるとフィードバックされる。しかし、練習が進みパフォーマンスが向上し実際の誤答率が20%となった場合、通常フィードバック群では20%、向上フィードバック群では16%、低下フィードバック群では22%の誤答率であるとフィードバックされる。実際の誤答率が50%の場合と20%の場合の差は通常フィードバック群は30%、向上フィードバック群は24%、低下フィードバック群では38%である。つまり、向上フィードバック群は点数そのものは実際よりも良くフィードバックされているが、どれだけ練習によりパフォーマンスが向上したかという成長率は低下している。反面、低下フィードバック群では点数そのものは実際よりも悪いフィードバックされているが、成長率は実際よりも良くフィードバックされている。つまり、「点数」と「成長率」の改善がそれぞれモチベーションに影響を与えると考えられる。さらに、「成長率」を改善した低下フィードバック群でのみ脳活動の変化が見られたことから、この「点数」と「成長率」はそれぞれ異なる脳メカニズムに影響を与えたという事が示唆された。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

本研究では、ネガティブなフィードバックを与える場合において、フィードバックを操作することで自己効力感およびモチベーションが向上することを明らかにした。さらに「点数」と「成長率」がそれぞれ異なる脳メカニズムに依存してそれらを変調させることも示唆された。しかし、本研究では実験参加者への負荷の問題点から練習前後の脳活動のみを計測しており、モチベーションに関する脳活動の変化を直接計測できていない。また、「点数」と「成長率」が具体的にどのようなメカニズムで脳活動に作用しているかは不明である。よって、今後の研究ではこれらの点の検討が必要である。

## Summary

The present study examined the effects of manipulating negative feedback on motivation and self-efficacy.

We created a tone identification task consisting of a "pre-test," "practice," and "post-test. The register identification task is a type of perceptual learning task. The increase in sensitivity due to perceptual learning in this task can be used indirectly as a measure of motivation.

Participants in the experiment were divided into three groups to examine the effect of feedback. The normal feedback group received feedback in which the error rate was multiplied by one. The improvement feedback group received feedback in which the error rate was multiplied by 0.8. In the reduced feedback group, the error rate was multiplied by 1.2. This manipulated motivation and self-efficacy.

The effects of feedback on brain activity were also examined by measuring brain activity in the pre-practice and post-practice tests using the fNIRS device.

Pre- and post-test were compared using the paired t test. There was no increase in sensitivity in the normal feedback group. On the other hand, there was a significant increase in sensitivity after practice in the improvement and reduced feedback groups ( $p < 0.05$ ). With respect to brain activity, no significant change was found between the normal and improved feedback groups. There was a significant decrease in brain activity in the reduced feedback group. The DLPFC and the supramarginal gyrus were the regions of reduced brain activity. DLPFC is activated by high-difficulty assignments. The supramarginal gyrus is involved in spoken language processing. It is likely that these regions decreased in activity due to a decrease in subjective difficulty as perceptual learning progressed.

The sensitivity was increased even in the reduced feedback group, where the error rate was multiplied by 1.2, which was worse than the actual rate. This may be due to the fact that the growth rate gradient was also multiplied by 1.2. In other words, self-efficacy and motivation are thought to be affected by "score" and "gradient," respectively. In other words, "scores" improved in the improving feedback group, while "gradient" improved in the decreasing feedback group. The fact that brain activity was altered only in the reduced feedback group, in which the gradient was improved, suggests that "score" and "gradient" may depend on different brain mechanisms to improve perceptual learning.

## 都市部に順応したタイワンリスの基礎生態と分布メカニズムの解明

### Basic ecology and elucidation of distribution mechanisms of Taiwan squirrel adapted to urban areas

研究代表者 田上 陸(生命科学研究科 生命科学専攻)

指導教員 伊藤 元裕

研究期間/2021年4月1日~2022年2月15日

キーワード/①生息地利用

②食性

③都市緑地

④特定外来生物

⑤タイワンリス

2021年度交付額/ 700,000円

研究発表/学会および口頭発表

・田上陸、寫本樹、江口勇也、片平浩孝、伊藤元裕「胃内容物分析によるクリハラリスの食性解析—5つの主要生息地での比較—」、日本哺乳類学会 2021 年度大会 (日本哺乳類学会)、2021 年 8 月、ポスター発表

・田上陸、伊藤元裕「都市部に順応したクリハラリス (*Callosciurus erythraeus*) の 1 年を通じた生息地利用」、日本哺乳類学会 2021 年度大会 (日本哺乳類学会) 自由集会、2021 年 8 月、口頭発表

研究経過および成果の概要

#### 1. 研究方法

目視観察及び GPS ロガーの装着による行動追跡を行うことでタイワンリスの生息地利用を、胃内容物染色及び肝臓を用いた安定同位体比分析によって本種の食性明らかにした。

目視観察では、神奈川県横浜市に点在する小緑地及び舞岡公園において目視踏査ルートを設定し、範囲内で確認された対象種やその行動を記録した。GPS ロガー装着による行動追跡では、神奈川県横浜市戸塚区の小緑地において、本種を捕獲し GPS ロガーを装着して行動でデータを得た。得られたデータは QGIS を用いて各個体の本種の生息地利用と緑地内外における滞在割合を算出した。本種の様々な土地分類における滞在割合を算出するとともに、測位点の最も外側を繋ぎ多角形を作り行動圏算出する最外殻法と、複雑な分布に対しても偏りの少ない分布推定値を算出が可能なカーネル密度推定によって都市緑地における本種の行動圏とコアエリアを推定した。

食性解析では、茨城県坂東市、神奈川県横浜市、横須賀市、鎌倉市、静岡県浜松市において有害鳥獣駆除のため捕殺された個体を解剖し摘出した胃内容物を用いた。胃内容物は、重量を測定した後、少量ずつペトリ皿上に取り出し、メチレンブルー染色、フロログルシン・塩酸呈色反応、ヨード・ヨードカリ反応を利用してそれぞれ染色した。メチレンブルー染色は細胞の細胞膜および細胞質、フロログルシン塩酸呈色反応は樹皮に含まれるリグニンに反応し、ヨード・ヨードカリ反応は種子中に含まれるデンプン質に反応する。染色した後、双眼実体顕微鏡下で界線スライドグラス上の胃内容物が被う格子点(格子は 1.0×1.0mm)の数を計測しサンプル中に占めるその他・デンプン

質・リグニンの 3 種類および昆虫類の割合を算出した。胃内容物分析を行った個体から、解剖により別途、肝臓を摘出して、乾燥、脱脂処理を行った後、窒素・炭素安定同位体比を測定した。

## 2. 研究経過および成果の概要

目視観察による各植生の選好指数解析の結果、針葉樹林を最も選好し、竹林を忌避する傾向があった。針葉樹林が選好された理由として他の環境と比較して、樹高が高く 1 年を通して常緑なものが多いため捕食者から身を隠しやすく、餌も豊富に存在するためだと考えられた。

GPS ロガーによる行動追跡の結果、頻度は少ないながら緑地外での行動が複数回確認されたが、全ての個体がほとんどの時間を緑地内で過ごしていることが明らかとなった。また、詳細な土地分類ごとで見ると緑地内でも混合林における滞在割合が高く、竹林での滞在割合は極めて低い結果となり、目視観察の結果と矛盾しなかった。得られた測位点データから、最外殻法・カーネル密度推定を用いて行動圏・コアエリア推定を行なったところ、全個体が緑地を中心に 5-15 ha ほどの行動圏をもち、各季節、時間において緑地内の狭い範囲を集中的に利用していることが明らかとなった。これらのことから、本種は多少の緑地外行動を行う能力を有するものの今回調査を行なったような、広葉樹が優占し針葉樹が点在する混合林により構成される緑地が都市域において重要な生息地となっていることが示唆された。

本研究における食性解析の結果、年間を通した胃内容物の割合は変わらず種子や樹皮以外の茎や葉、花、果実などの植物質と考えられる消化物（ただし、区別しきれなかった昆虫などの動物質が一部含まれる）が主に含まれていた。同位体比分析による食性解析の結果からも、本種は植物質の餌を主に摂食しており、昆虫などの利用率は低いことが示唆された。さらに、植物質であっても、畑、果樹園等で栽培される農作物の利用は極めて少ないことが示唆された。そのため本種は年間を通して緑地内の植物質の餌を主に利用していると考えられた。

以上のことから、本種は、都市部に点在する非常に狭い小緑地にも順応できており、都市域において断続的に存在する都市緑地が生息地、また分散経路として機能しており、こうした環境が本種の都市部における急速な分布拡大に寄与している可能性があると考えられた。

## 3. 今後の研究における課題または問題点

これまで、本種が農作物に多大な食害を引き起こしていると言われていたが、本研究の結果からは横浜市の個体は農作物の利用は少ないと推定された。実際に周辺地域での聞き取り調査でも、調査地周辺における本種の食害は、鎌倉市や逗子市等の一部地域より少ないことが示唆されている。今後は、さらに、農作物被害が多い地域においても行動追跡と食性調査を行い、これらの地域間比較を行う事で本種の人間社会への軋轢やその地域間変異を実測していく必要があると考えられる。また、本研究では、本種の行動解析を詳細に行ったが、データを得られた期間が短く、回収個体数も少なかった。今後は、ロガーの装着数を増やすとともに、遠隔通信をもちいたデータ収集の技術を発展させることで、本種より長期間にわたる生息地利用や分散行動が明らかにでき本種の分布拡大防止や食害対策に寄与できると考えられる。

## Summary

In this study, we conducted research on the behavior, distribution, and diet of the Taiwan squirrel, an invasive alien species, in order to clarify basic ecological information and the functions of urban green spaces for this species. For the surveys on behavior and distribution,

we conducted direct visual observation using the line transect method and behavioral tracking using GPS loggers. For the dietary analysis, we collected stomach contents and livers from individuals that had been exterminated as pest animals in each urban area. From the stomach contents analysis, we collected information on the prey species that the squirrels feed on. And by stable isotope ratio analysis using their liver, we obtained the diet information over a longer time period. Preference index analysis of each vegetation types based on visual observation revealed that the species prefer mixed forests and avoid bamboo forests or outside of the forest area (urban area). GPS data also revealed that all individuals spent most of their time in the green space. The percentage of time spent in mixed forests was higher than that in bamboo forests, which was consistent with the results of visual observations. The obtained GPS data revealed that all the individuals had a 5-15 ha activity zone at green space, and that they intensively used a small core area within the green space all the time. These results suggest that, green spaces composed of mixed forests with dominated by broad-leaved trees and scattered coniferous trees are important habitats in urban areas. The results of the diet analysis in this study revealed that the squirrels mainly foraged on plant matters such as stems, leaves, flowers, and fruits other than seeds and bark or animals. The stable isotope ratio analysis also suggested that this species feed mainly on plant matter in mixed forests, but not for those from urban area and other animal matter such as insects. Therefore, those results suggested that the squirrel mainly utilizes mainly on plant matter prey in green spaces composed of mixed forests throughout the year. These results suggest that this species adapt to very small green spaces under the urban environment, and that the intermittent existence of urban green spaces in urban areas functions as a habitat and dispersal route of the squirrel and that such environment may contribute to the rapid expansion of the distribution of this species in the urban environment.

# NK 細胞による前立腺がん幹細胞を標的とした次世代予防法の可能性

## Potential for Next-Generation Prevention by Targeting Prostate Cancer Stem Cells with NK Cells

研究代表者 関 大河(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/2021 年 4 月 1 日~2022 年 2 月 15 日

キーワード/①NK 細胞 Natural Killer cell

②前立腺がん Prostate Cancer

③がん幹細胞 Cancer stem cell

2021 年度交付額/ 630,000 円

研究発表/学会および口頭発表

・ Title : NK Cells Can Preferentially Target Prostate Cancer Stem-like Cells via the TRAIL/DR5 Signaling Pathway, *Biomolecules*, 2021 Nov 16;11(11):1702.

・ SYDNEY CANCER CONFERENCE 2021 2021.9.9-9.10 ポスター発表 (オンライン)

演題名 : NK cells preferentially target prostate cancer stem-like cells

・ 第 80 回日本癌学会学術総会 2022.9.30-10.3 ポスター発表 (オンライン)

演題名 : Death receptor pathway in NK cells regulate prostate cancer stem cells

・ 日本薬学会 第 142 年会 (予定) 2021.3.25-3.28 口頭発表 (名古屋)

演題名 : ナチュラルキラー (NK) 細胞は去勢抵抗性前立腺がん幹細胞を優先的に傷害する

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

#### 【背景・目的】

前立腺がんは、1975 年から日本において罹患者数が増加し続けているがんである。世界的に見ても前立腺がんは男性における罹患者数 2 位のがんであり、2020 年には年間約 140 万人の新規患者と 37 万 5 千人の死亡が推定されている。前立腺がんの問題点の 1 つとしてホルモン非依存性のがん幹細胞 (CSC) が原因で発生する去勢抵抗性前立腺がん (CRPC) が挙げられる。自己複製能と多分化能を駆使して不均一な腫瘍組織を形成する CSC は従来の化学療法の標的になりにくいいため、治療時には CSC のみが生き残り、前立腺がんにおいては CRPC を発症の原因となる。CRPC 患者の予後は悪く、発症後数年で死に至る。また、CSC は前立腺がん発症にも関与しており、前立腺がんの克服には CSC を排除することが有効であると考えられる。しかし、現在までに CSC を直接排除する方法は確立されていない。

そこで、我々は自然免疫の主役を担うヒトリンパ球であるナチュラルキラー (NK) 細胞に注目した。NK 細胞は生体内を常時パトロールし、腫瘍細胞やウイルス感染細胞などの異常細胞をいち早く傷害し除去している。NK 細胞は抗腫瘍免疫としても知られる NK 細胞は、乳がん等のいくつかのがん種の CSC を優先的に傷害すると報告されている。以上の報告から、我々は NK 細胞が腫瘍内の CSC を除去することでがんの発症リスクを低減できる可能性を考えた。これまでに、NK 細胞が前立腺がん幹細胞を傷害するか、また、NK 細胞が CSC を標的にする詳細なメカニズムは解明されていない。

本研究では、前立腺がんの発症・再発予防を目指し、前立腺がん幹細胞のNK細胞感受性とNK細胞のCSC標的機構の解明することを目的とした。

#### 【方法】

NK細胞としてヒトNK様細胞株KHYG-1、進行度の異なる前立腺がん細胞としてアンドロゲン依存性ヒト前立腺がん細胞株LNCaP（発症初期）および去勢抵抗性ヒト前立腺がん細胞株PC-3（発症後期）を使用した。また、3次元培養法で濃縮したLNCaP幹様細胞（LN-stem）とPC-3幹様細胞（PC-stem）を前立腺がん幹様細胞として使用した。

##### 1) NK細胞による前立腺がん幹様細胞傷害の検討

LNCaP親細胞（LN）とLN-stem、PC-3親細胞（PC）とPC-stemをそれぞれNK細胞と共培養したあとの細胞生存活性をWST-8にて評価した。

##### 2) NK細胞による前立腺がん幹細胞傷害と脱顆粒経路の関係

LNCaP細胞およびPC-3細胞におけるNK細胞の脱顆粒経路の開始に必須であるNK細胞活性化リガンドの発現をFACS、qRT-real time PCRで解析した。また、NK細胞のがん幹細胞傷害がどれだけNK細胞活性化受容体NKG2Dに依存しているか評価するために、中和抗体を用いてNKG2Dをブロックした条件下で細胞生存活性(WST-8法)を評価した。さらに、NK細胞が前立腺がん幹細胞に対して脱顆粒を行なうかELISAにより評価した。

##### 3) NK細胞による前立腺がん幹細胞傷害とデスレセプター経路の関係

LNCaP細胞およびPC-3細胞のデスレセプター発現をFACS、qRT-real time PCRで解析した。また、LNCaP細胞およびPC-3細胞にTRAILを処理し、細胞生存活性をWST-8法にて評価した。

## 2. 研究経過および成果の概要

#### 【結果】

##### 1) NK細胞による前立腺がん幹様細胞傷害の検討

LNCaPおよびPC-3の両細胞株においてNK細胞は親細胞よりもがん幹様細胞の方を優先的に傷害した。

##### 2) NK細胞による前立腺がん幹細胞傷害と脱顆粒経路の関係

LN-stemおよびPC-stemにおいてNKG2DリガンドMICA/Bの高発現が確認された。NKG2D中和抗体で処理したNK細胞とLNCaP細胞およびPC-3細胞を共培養したところPC-stemへの傷害性のみ減弱した。また、PC-3細胞とNK細胞を共培養後に培養上清中のパーフォリン濃度を測定したところPCよりもPC-stemと共培養した群においてパーフォリン濃度が上昇した。

##### 3) NK細胞による前立腺がん幹細胞傷害とデスレセプター経路の関係

LNCaP細胞およびPC-3細胞においてのデスレセプター発現は親細胞よりもがん幹様細胞において高発現していた。TRAIL処理をしたところLNよりもLN-stemの生存活性が有意に低下した。PC-3細胞では、TRAIL感受性の違いは確認できなかった。

#### 【考察】

NK細胞が乳がんや口腔上皮がん幹細胞を優先的に傷害したという報告と同様、前立腺がんにおいてもがん幹細胞を優先的に傷害した。LNCaP幹様細胞は、デスレセプターの高発現とTRAILにより生存活性が有意に低下したことから、NK細胞のデスレセプター経路により優先的に傷害されることが示唆された。一方で、PC-3幹様細胞はNK細胞活性化リガンドMICA/Bの高発現、NKG2D中和抗体によ

る傷害性の低下、共培養後パーフォリン濃度の上昇より、NK 細胞の脱顆粒経路により優先的に傷害され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

今後、この NK 細胞の傷害経路を標的にした機能性食成分を用いた、新たな前立腺がん予防・治療法の可能性を検討する必要がある。また、本研究は、あくまで *in vitro* の実験であるためヒトの生体内で同様の結果が得られるかは検討が必要である。

## Summary

**[Background]** One of the problems with prostate cancer is castration-resistant prostate cancer (CRPC), which is caused by hormone-independent cancer stem cells. Cancer stem cells possessing high tumorigenicity are involved in the development of cancer and subsequent infiltration / metastasis. In recent years, the formation of cancer stem cells in tumor tissues is considered as the first step in carcinogenesis. Therefore, direct elimination of cancer stem cells is thought to lead to primary, secondary and third prevention of cancer, but the effective approach has not yet been established. Thus, we focused on NK cells playing central roles of nature immunity. It has been reported that NK cells directly attack cancer cells and virus-infected cells without pre-sensitization, and the higher the activity, the lower the risk of developing cancer. Until now, it has not been clarified why this phenomenon occurs. On the other hand, we hypothesized that the cancer stem cell targeting mechanism of NK cells might be involved. In this study, we focused on prostate cancer, which is more easily infiltrated by NK cells of various tissues, and estimated the effect of NK cells on prostate cancer stem cells.

**[Methods]** Prostate cancer stem-like cells (LN-stem, PC-stem) were enriched from androgen-dependent human prostate cancer cell line LNCaP (LN) and castration-resistant prostate cancer cell line PC-3 (PC) by three-dimensional culture method. LNCaP and PC-3 were co-cultured with human NK-like cell line (KHYG-1) and KHYG-1 was subsequently removed, and cell viability was measured by WST-8. Gene expression analysis and FACS analysis were also performed to identify the cytotoxic pathway of NK cells.

**[Results]** KHYG-1 injured LN-stem and PC-stem more significantly than LN and PC. Gene expression and cell surface expression of DR5, a receptor of the death receptor pathway, were higher in LN-stem than in LN, and TRAIL treatment significantly decreased cell viability in LN-stem than in LN, and expression of NK cell activation ligand was significantly higher in PC-stem than in PC. The amount of degranulation was higher when KHYG-1 was co-cultured with PC-stem than with PC.

**[Discussions]** This study revealed that prostate cancer stem-like cells are more susceptible to NK cell attack than normal prostate cancer cells. In addition, prostate cancer stem-like cells near the early stage of development are damaged by the death receptor pathway. Prostate cancer stem-like cells near the late stage of development are damaged by the degranulation pathway.

# 大腸がん幹細胞におけるエピジェネティクス制御を介した

## 発がん抑制に関する研究

### Studies on carcinogenesis suppression via epigenetic regulation in colorectal cancer stem cells

研究代表者 高濱 柚黄 (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/2021年4月1日~2022年2月15日

キーワード/①大腸がん Colorectal cancer

②がん幹細胞 Cancer stem cells

③酪酸 Butyrate

④エピジェネティクス Epigenetics

⑤HDAC

2021年度交付額/700000円

研究発表/学会および口頭発表

#### 【国際学会における発表】

・ **Yuzuki Takahama, Tomohiro Yano** Sodium butyrate exerts antitumor effect via the restoration of Dkk1 in colon cancer stem cells. SYDNEY CANCER CONFERENCE 2021, 2021.9.9-10

#### 【国内学会における発表】

・ **高濱柚黄、藤本直樹、矢野友啓** 大腸がん幹細胞におけるエピジェネティック制御に酪酸は有効か? 日本薬学会 第140年会 2020年3月25日-28日 京都

・ **高濱柚黄、遠藤大輝、矢野友啓** 大腸がん幹細胞のエピジェネティクス制御に対する酪酸の影響 第79回日本癌学会学術総会 2020年10月1日-3日 広島 (オンライン発表)

・ **高濱柚黄、矢野友啓** 酪酸は、大腸がん幹細胞に対して細胞死と分化を誘導する。 第80回日本癌学会学術総会 2021年9月30日-10月2日 横浜 (ポスター発表)

・ **高濱柚黄、矢野友啓** 大腸がん幹細胞に対する酪酸が及ぼす抗腫瘍効果の解析 第19回日本機能性医学会 2021年12月11-12日 Web 特設サイト (口頭発表) 優秀演題賞受賞

研究経過および成果の概要

#### 1. 研究方法

我が国における令和2年の死亡数は137万2648人であり、死因順位別に見てみると第1位はがんであり全体の約3割を占めている。その中でも、大腸がんは全てのがん種の中で最も罹患しやすいがんであると予測されている。大腸がんの原因として考えられている因子は、「食の欧米化」「飲酒」「加齢」「運動不足」である。従って、大腸がんは比較的私たちの生活習慣に左右される疾病であると考えられる。これらの生活習慣により変化すると共に、大腸がんと深く関与しているものが腸内細菌の「酪酸産生菌」である。実際に、酪酸産生菌の割合を健康人と大腸がん患者で比較した先行研究

では、大腸がん患者において割合が減少していることが明らかになっている。酪酸が及ぼす抗がん効果は、ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) 阻害、分化誘導、細胞死誘導が存在する。現に、酪酸産生菌が産生する酪酸と大腸がん細胞の先行研究では、成長と運動性を低下させ細胞の分化とアポトーシスを誘導することが明らかになっている。これらから、分化した大腸がん細胞に対して酪酸は抗がん効果を発揮すると言える。しかし、我々がターゲットにしたのは「がん幹細胞 (Cancer stem cell)」である。がん幹細胞はがん発生の第一歩とされ、がんの根治にはがん幹細胞を叩くことが有効であると我々は考えている。しかし、大腸がんにおけるがん幹細胞を標的にした酪酸の有効性は未だ研究がなされていない。そこで我々は、酪酸がもつ抗がん作用はがん幹細胞においても発揮されるという仮説のもと、1)大腸がん幹細胞を濃縮し、2)酪酸の有効性を明らかにすることを本研究の目的とした。

ヒト大腸腺がん細胞株 HT-29、Caco-2 を用い、3次元培養法にて細胞集団である Spheroid を作成した。

1)細胞集団である Spheroid のがん幹細胞性を評価するため、がん幹細胞マーカーの mRNA 及びタンパク発現レベル、抗がん剤処理による生存活性、低酸素条件下における Spheroid 形成能、足場非依存環境下におけるコロニー形成、細胞周期を解析した。

2)酪酸の有効性を評価するため、1)の Spheroid に対して 2mM の酪酸を 24、48、72 時間処理し、24 時間ごとに以下の方法を用いた。分化の評価系では、まず ALP 活性を解析した。次に、分化マーカー、細胞周期関連マーカーの mRNA 発現レベルを解析した。最後に、酪酸による分化誘導効果を検証するため、酪酸及び抗がん剤併用による細胞生存活性、酪酸処理による自己複製能を解析した。細胞死の評価系では、まず細胞生存率及びカスパーゼ 3 活性を評価した。次に、Wnt シグナル伝達経路に位置する分子の mRNA 発現レベルを解析した。最後に、死細胞に当たる sub-G1 期を評価可能な細胞周期分布を評価した。作用機序の評価系では HDAC 阻害に依存しているか確かめるため、酪酸処理による mRNA 発現レベル、遺伝子サイレンシングによる各分子の mRNA 発現レベルを解析した。

## 2. 研究経過および成果の概要

Caco-2 及び、HT-29 は 3次元で 1週間培養を行うことにより Spheroid を形成した。両 Spheroid を解析した結果、Caco-2 由来の Spheroid は死細胞を多く含み全細胞数においても少なかった。一方で、HT-29 由来の Spheroid は生細胞数が多く、全細胞数も多かった。そのため、HT-29 由来の Spheroid を今後の実験系に採用した。

1) Spheroid は、2次元培養の Adhesion よりがん幹細胞マーカーの高い発現レベル、抗がん剤に対する高い生存活性、低酸素環境下における Spheroid 形成力、足場非依存環境下におけるコロニー形成、増殖を示した。また、Spheroid は Adhesion よりも G1/G0 期の割合が高かった。これらから、3次元培養法により形成した Spheroid は、がん幹細胞マーカーの発現、薬剤耐性能、低酸素適応能、自己複製能、静止状態 (G0 期) を有する細胞集団であると推察し、がん幹細胞性を示す細胞集団を濃縮したことが示唆された。

2)酪酸を 1)の Spheroid に対して処理した結果、分化を示す結果 (ALP 活性の有意な上昇、分化マーカーの上昇傾向) と細胞死を示す結果 (細胞生存率の有意な減少、24 時間時点のカスパーゼ 3 活性の上昇、sub-G1 期の増加) を得た。これらの結果から、酪酸は Spheroid に対して分化と細胞死を並行して誘導することが示唆された。また分化には、*FBXW7*, *P27* の mRNA 発現レベルの減少及び *C-MYC*, *KPC1* の mRNA 発現レベルの増加がみられた。このことから、細胞周期からの脱出機構 (*FBXW7*, *c-myc*) の抑制及び細胞周期への再進入機構 (*KPC-1*, *p27*) の促進が関与していることが示唆された。更に、細胞

死には大腸がんで亢進している Wnt シグナル伝達経路の分子 *DKK1* の mRNA 発現レベルの上昇、*β-CATENIN* の mRNA 発現レベルの減少を確認した。これらのことから、Wnt シグナル伝達経路の阻害因子である *DKK1* が経路を阻害したことにより下流の *β-catenin* が減少したと推察した。これらの結果が、酪酸の HDAC 阻害作用によるものか検証するため、クラス I HDACs の mRNA 発現レベルを解析した。その結果、クラス I の中でも特に *HDAC2,8* に mRNA の阻害効果がみられた。更に *HDAC2,8* の mRNA を単独及び同時に特異的阻害を行った結果、分化にて評価した分子 (*FBXW7, C-MYC, KPC-1, P27*) に関しては酪酸同様な変化はみられなかった。それに対して、細胞死にて評価した分子 (*DKK1, β-CATENIN*) に対しては酪酸同様な変化がみられた。このことから、酪酸は Spheroid の *HDAC2,8* を阻害することにより *DKK1* の mRNA 発現レベルを回復させ、それにより W 経路が阻害され *β-CATENIN* の mRNA が減少したと考えられる。以上の結果より本研究では、がん幹細胞性を示す Spheroid に対して酪酸は分化及び細胞死を誘導することにより有効性を発揮することを明らかにした。また、それには *HDAC2,8* 阻害によるエピジェネティクス制御が関与してい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

遺伝子発現を司るエピジェネティクス制御は、HDAC の作用だけでなく DNA メチル化の作用も重要である。本年度では、新型コロナウイルスの影響により未達成に終わった DNA メチル化の作用を検討することが課題だと考える。

## Summary

### 【Background】

Colorectal cancer is the most prevalent malignant tumor in Japan. Cancer stem cells (CSCs), which are present in 0.1% to 1% of many cancer tissues, including colorectal cancer, are attracting attention as a potential target for cancer eradication. Recent studies have shown that tumor cells, including CSCs, have increased epigenetic abnormalities that regulate gene expression. Butyrate, a fermentation product of dietary fiber, is a short-chain fatty acid and an inhibitory component of endogenous histone deacetylases (HDACs).

### 【Aim】

In this study, we focused on this butyrate and studied the mechanism of its anti-tumor effect through epigenetic regulation (histone modification). In addition, we decided to enrich and target CSCs from colon cancer cell lines.

### 【Material & Method】

HT-29 was used as the human colon cancer cell line.

- 1) Spheroids with cancer stem cell properties were generated by 3D culture method and evaluated for CSCs properties.
- 2) Spheroids were treated with 2 mM butyrate for 0-72 hours, and cell viability, gene expression, and cell differentiation were evaluated. MTT method, qRT-real time PCR method, and ALP activity were evaluated. PCR and ALP activity, respectively.

### 【Result】

- 1) Spheroids cultured in 3D had expression of cancer stem cell markers, drug resistance, hypoxic adaptation, self-renewal, and quiescence (G0 phase).

2) Butyrate significantly decreased the cell viability of colon CSCs in a time-dependent manner. butyrate, an HDAC inhibitory component, inhibited HDAC2 and 8 in colon CSCs. In particular, inhibition of HDAC2 restored the expression of DKK1, an inhibitor of the Wnt signaling pathway that regulates cell death, and decreased the expression of  $\beta$ -CATENIN. In addition, ALP activity, a typical differentiation marker in the colon, was significantly increased in a time-dependent manner. In the cell cycle marker expression analysis, the expression of FBXW7, which prevents entry into quiescence, was decreased and that of C-MYC was increased. In addition, the expression of KPC1, which prevents re-entry into the cell cycle from quiescence, was increased, and the expression of P27 was decreased.

**【Conclusion】**

Butyrate, a short-chain fatty acid, may have induced differentiation of colon CSCs by regulating cell cycle activity. Furthermore, we speculated that the differentiated colon cancer stem cells were again targeted by butyrate, and cell death was induced via suppression of the Wnt signaling pathway. Inhibition of HDAC2, an epigenetic control, was also involved in the signal suppression.

## 食品機能性素材を用いた悪性黒色腫新規治療法構築に向けた検討

### Investigation for the construction of a new treatment method for malignant melanoma using functional food materials

研究代表者 福岡 那菜(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/2021年4月1日~2022年2月15日

キーワード/①悪性黒色種 Malignant melanoma

②がん幹細胞 Cancer stem cell

③食品機能性素材 Food functional materials

④三次元培養 Three-dimensional culture

⑤細胞分化 Cell differentiation

2021年度交付額/700000円

研究発表/学会および口頭発表

・ Nana Fukuoka、Tomohiro Yano、Mechanism analysis of malignant suppression of cancer by Bowman Birk protease inhibitor (BBI)、SYDNEY CANCER CONFERENCE 2021、2021.09.09-10 オンライン

・ 福岡那菜、金井美奈、矢野友啓、Efficacy of Bowman-Birk protease Inhibitor (BBI) on canine melanoma cells、第80回日本癌学会学術総会、2021.09.30-10.03 神奈川 (一部オンライン)

・ 福岡那菜、矢野友啓、イヌ悪性黒色腫細胞株に対する Resveratrol (Res) が及ぼす影響、日本薬学会第142年会、2022.03.26-28

研究経過および成果の概要

#### 1. 研究方法

現在、世界におけるがん研究は、肺がん、大腸がん、胃がん、乳がんといった罹患数の多いメジャーがんが中心となっており、治療法の確立や、予防法の研究が数多くなされている。一方で、10万人当たり6例未満と定義付けられている希少がんは、その症例数の少なさから研究が進んでいない。2014年に文部科学省・厚生労働省・経済産業省により「がん研究10か年戦略」が制定され、希少がんは重点研究領域のひとつに指定された。このことから、希少がん研究は国全体で取り組むべき課題であると言える。

希少がんのひとつに、メラノサイトのがん化により発症する悪性黒色腫がある。悪性黒色腫は紫外線などの外的要因や、肌の色などの遺伝的要因により発症すると考えられている。地球では温暖化が進みオゾン層の破壊が深刻化していることから、地上に降り注ぐ紫外線の量が増加し、紫外線を発症要因とする悪性黒色腫の発症が今後増加することが考えられる。また、悪性黒色腫は化学療法剤に抵抗を示し、放射線治療も効果が見られにくい。一旦進行すると急速に転移と言われており非常に悪性度の高いがんである。近年、治療法の1つとして免疫チェックポイント阻害薬が開発されたことにより、悪性黒色腫の治療の選択肢が広がった。しかし、肺炎や腎障害、神経・筋障害など様々な副作用が起こる可能性がある。副作用の少ない安全な悪性黒色腫の新規治療法の構築は急務である。

先述した悪性黒色腫の悪性度の高さに関与していると近年考えられているのが“がん幹細胞”である。がん幹細胞はがんの親玉であると言われており、自己複製能や多分化能を有する。また、化学療法剤・放射線治療への抵抗性を示す。これらの特徴が、悪性黒色腫の特徴と酷似していることに着目した。がん幹細胞の研究は、近年増加傾向にあり、がん幹細胞を死滅させることががんの完全な治療に繋がると言われている。そこで、本研究では悪性黒色腫幹細胞を標的としたがんの根本的な新規治療法の構築を第一目的とした。

また、安全な新規治療法の構築のために着目したのが食品機能性素材である。食品機能性素材を用いたがん幹細胞の悪性化抑制を本研究の第二の目的とした。

#### 【1. 三次元培養が及ぼすがん幹細胞性への影響】

ヒト由来の悪性黒色腫細胞株 A375 を低吸着性細胞培養プレート及び、Tumor sphere 形成用培地を用いて三次元培養を行い、スフェロイド集団を形成した。形成したスフェロイド集団のがん幹細胞性を確認するために、qRT-リアルタイム PCR 法にてがん幹細胞性マーカー (CD133, OCT4, SOX2) の mRNA 発現レベルを評価した。また、形成したスフェロイド集団への抗がん剤の耐性を評価した。抗がん剤はドセタキセルを使用し、MTT 法にて細胞の生存率を測定した。

#### 【2. 悪性黒色腫幹細胞に及ぼす食品機能性素材の影響】

悪性黒色腫幹細胞の悪性度を低下させる食品機能性素材のうち、レスベラトロールとオールトランスレチノイン酸 (ATRA) に着目し、細胞の悪性化抑制効果を評価した。DNA メチル化阻害剤であるレスベラトロールを処理後、ATRA を添加し、細胞のがん幹細胞性の評価を qRT-リアルタイム PCR 法にて評価した。レスベラトロールおよび ATRA の併用による抗がん剤への感受性の変化を MTT 法にて評価した。

### 2. 研究経過および成果の概要

#### 【1. 三次元培養が及ぼすがん幹細胞性への影響】

三次元培養にて形成したスフェロイド集団は二次元培養集団と比較し、がん幹細胞性マーカー (CD133, OCT4, SOX2) の mRNA 発現レベルを有意に上昇させた。抗がん剤への抵抗性を評価したところ、二次元培養集団よりも三次元培養集団において抗がん剤への抵抗性が高く、生存率が低下しないことが明らかとなった。これらの結果から、三次元培養によって形成されたスフェロイド集団は悪性度の高いがんの親玉であるがん幹細胞に近い集団であることが示唆された。本研究では、スフェロイド集団を悪性黒色腫幹細胞とし、その後の評価を行う事とした。

#### 【2. 悪性黒色腫幹細胞に及ぼす食品機能性素材の影響】

悪性黒色腫幹細胞の悪性度低下を目的とし、未分化状態の細胞を分化させることで、既存の治療法の感受性増強に繋がるのではないかと考え、分化誘導剤として急性前骨髄性白血病の治療に用いられている ATRA に着目した。ATRA はビタミン A 誘導体の 1 種であり、ほとんど副作用が見られないことで知られている。悪性黒色腫幹細胞への分化誘導効果を期待し、単独処理による悪性度低下を試みたが、効果は見られなかった。これは悪性黒色腫幹細胞に ATRA の受容体であるレチノイン酸受容体  $\beta$  (RAR  $\beta$ ) の発現が低下していること原因であると考えられた。そこで、RAR  $\beta$  の発現メカニズムについて調査したところ、DNA メチル化が RAR  $\beta$  の発現減少の原因であると報告があった。このことから、DNA のメチル化を阻害する食品機能性素材：レスベラトロールに着目し、二段階での分化誘導を試みた。レスベラトロール 25 $\mu$ M 処理により、悪性黒色腫幹細胞において DNA メチル化転移酵素の一つである DNMT1 の mRNA 発現が有意に低下したことが明らかとなった。さらに、RAR  $\beta$  の mRNA の発現が有意に上昇した。これらの結果から、レスベラ

トロールにより、DNA のメチル化が阻害され、RAR $\beta$  の発現が上昇した可能性が示唆された。次に、レスベラトロール 25 $\mu$ M と ATRA 20 $\mu$ M の併用処理により、悪性黒色腫幹様細胞のがん幹細胞マーカーの発現レベルの変化について評価を行った。結果は未処理群と比較し、併用処理群においてがん幹細胞性マーカーである CD133, OCT4 の有意な発現減少及び、SOX2 の発現減少傾向が確認された。以上の事から、レスベラトロール・ATRA の併用により悪性黒色腫幹様細胞の悪性度が低下した可能性が示唆された。

最後に、レスベラトロール・ATRA の併用による悪性度の低下により、抗がん剤への抵抗性が緩和されるかどうかを評価した。未処理群の悪性黒色腫幹様細胞に対して、レスベラトロール単独及び ATRA 単独処理では抗がん剤への感受性は変わらなかった。しかし、レスベラトロールと ATRA の併用処理による抗がん剤への抵抗性は有意に緩和されたことが明らかとなった。

以上の結果により、レスベラトロール及び ATRA の併用により、悪性黒色腫幹様細胞の悪性化が抑制されたことが明らかとなった。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

分化マーカーの発現を確認し、レスベラトロールと ATRA による分化誘導を確認すること。

#### Summary

**【Background】** One of the rare cancers is malignant melanoma, which is a cancerous growth of melanocytes. Malignant melanoma is thought to be caused by external factors such as ultraviolet rays and genetic factors such as skin color. As global warming progresses and the depletion of the ozone layer becomes more serious, the amount of ultraviolet rays falling on the earth will increase, and the incidence of malignant melanoma caused by ultraviolet rays is expected to increase in the future. Malignant melanoma is also resistant to chemotherapeutic agents and radiation therapy is not effective. Malignant melanoma is a highly malignant cancer that is said to metastasize quickly once it progresses. In recent years, immune checkpoint inhibitors have been developed as one of the treatment methods, expanding the treatment options for malignant melanoma. However, there is a possibility of various side effects such as pneumonia, kidney damage, and neuromuscular damage. There is an urgent need to develop a new treatment for malignant melanoma that is safe and has fewer side effects. Recently, cancer stem cells are thought to be involved in the high malignancy of malignant melanoma. Cancer stem cells are said to play a leading role in cancer and have the ability to self-renew and multidifferentiate. In recent years, there has been a lot of research on cancer stem cells, and it is said that if cancer stem cells are killed, it will lead to a complete cure for cancer.

**【Aim】** The first objective of this study is to develop a novel and fundamental cancer therapy targeting malignant melanoma stem cells. The second objective is to inhibit the malignant transformation of cancer stem cell-like cells using functional food materials.

**【Result】** The spheroid population formed in three-dimensional culture significantly increased the mRNA expression of cancer stem cell markers (CD133, OCT4, SOX2) compared to the two-dimensional culture population. When resistance to anticancer drugs was evaluated, the three-dimensional culture population was more resistant to anticancer drugs than the two-dimensional culture population, and the survival rate was not reduced. These results

suggest that the spheroid population resembles cancer stem cells, which are the parental cells of highly malignant cancers. In the hope of inducing differentiation into malignant melanoma stem cells, we attempted to reduce the malignant potential of ATRA and resveratrol alone. Therefore, we focused on resveratrol, a functional food material that inhibits DNA methylation, and tried to induce differentiation in two steps. As a result, we found that resveratrol treatment significantly decreased the mRNA expression of DNMT1, a DNA methyltransferase, in malignant melanoma stem-like cells. Furthermore, the mRNA expression of RAR $\beta$  was significantly increased. These results suggest that resveratrol may have inhibited DNA methylation and increased the expression of RAR $\beta$ . Next, the combination treatment significantly decreased the expression of CD133 and OCT4, which are cancer stem cell markers in malignant melanoma stem-like cells, and the expression of SOX2 also showed a downward trend. Furthermore, the combination of resveratrol and ATRA significantly mitigated the resistance to anticancer drugs.

**【Conclusion】** It is suggested that the combination of resveratrol and ATRA may have reduced the malignancy of malignant melanoma stem-like cells.

栄養素摂取が一過性有酸素運動後の  
血漿ホモシステイン上昇抑制に及ぼす影響

Effect of nutrient intake on suppression of plasma homocysteine elevation  
after acute aerobic exercise

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/2021年4月1日~2022年2月15日

キーワード/①ホモシステイン Homocysteine

②一過性有酸素運動 Acute aerobic exercise

③ビタミン B<sub>2</sub> Vitamin B<sub>2</sub>

④ビタミン C Vitamin C

⑤ビタミン E Vitamin E

2021年度交付額/630000円

研究発表/学会および口頭発表

- ・品川明穂, 山崎倫生, 細井悠里, 宮越雄一, 矢野友啓, 太田昌子  
一過性有酸素運動が血漿ホモシステイン濃度と血中酸化型アルブミン比に及ぼす影響  
第75回日本栄養・食糧学会大会, オンライン開催, 2021.7.3-4.

研究経過および成果の概要

1. 研究方法

対象者は、20代の健康な大学生男性32名とした。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。本研究に同意をいただいた対象者から唾液採取・保存キット「Oragene®DNA」を用いて各自の唾液を採取し、PCR-RFLP法にてMTHFR C677T多型を特定した。

研究デザインは、ビタミン摂取条件とコントロール（プラセボ摂取）条件の二重盲検クロスオーバー試験とした。摂取期間は、それぞれ14日間とし、ビタミンは、先行研究をもとにビタミンB<sub>2</sub> (V.B<sub>2</sub>)、ビタミンC (V.C)、ビタミンE (V.E)の混合したものを朝と夕の1日2回に分けて摂取してもらった。サプリメントは、V.B<sub>2</sub> (ネイチャーメイド, 大塚製薬)、V.C (ネイチャーメイド, 大塚製薬)、V.E (ネイチャーメイド, 大塚製薬)を使用した。なお、ビタミンのサプリメント摂取量は、国民健康栄養調査(令和元年度)を参考とし、日本人の食事摂取基準(2020年版)の耐容上限量を超えない範囲とした。摂取開始15日目の午前中に一過性有酸素運動を行った。運動内容は、自転車エルゴメーターを用いた65%Heart Rate Reserve (HRR)、40分間の一過性一定負荷運動とした。この運動モデルは、当研究室の先行研究において、血漿ホモシステイン(Hcy: Homocysteine)濃度が上昇することが確認されている。各条件の間には2週間のウォッシュアウト期間を設けた。なお、試験期間中は、その他のサプリメントやビタミンが強化された食品の摂取、喫煙を禁止した。食事や運動については、厳しい条件は設定しなかったが、試験開始から2つの条件が完了するまで、同じような生活を求めた。

採血ポイントは、1) ビタミンまたはプラセボ摂取開始日の早朝（12 時間以上の絶食後、ビタミンまたはプラセボの摂取前）、2) 運動開始前（ビタミンまたはプラセボ摂取開始 15 日目）、3) 運動 30 分後、4) 運動 90 分後の 4 点で、各条件の計 8 点とした。採血は、業者へ委託し、業者委託先に在籍する臨床検査技師または看護師行った。血液の採取方法は、原則、前腕肘窩静脈からとし、18 mL/日以内の採血量とした。血液成分の分析項目は、血漿 Hcy 濃度、血中酸化型アルブミン比、血中 V.B<sub>2</sub> 濃度、血清 V.C 濃度、血漿 V.E 濃度、血清クレアチニン濃度とした。採取した血液サンプルは採血同日に遠心分離を行い、研究室にて分析するものは滅菌済み 1.5 mL チューブに必要量を分注し、分析まで -30°C で保管した。血漿 Hcy 濃度、血漿 V.E 濃度は当研究室にて高速液体クロマトグラフィーで測定した。血中酸化型アルブミン比、血中 V.B<sub>2</sub> 濃度、血清クレアチニン濃度の分析は、株式会社 LSI メディエンスに委託し、血清 V.C 濃度の分析は日研ザイル株式会社に委託した。

対象者の身長、体重、筋肉量、体脂肪量などの身体特性は InBody770 を用いて、各条件の運動実施前に測定した。また、各条件の運動実施日に自記式食事歴質問票（DHQ : self-administered diet history questionnaire）に回答してもらい、過去 1 ヶ月間の習慣的な栄養素摂取量を把握した。

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.26) を用い、二元配置分散分析を行った。検定は、全て両側検定とし、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

対象者 32 名のうち、1 名が試験中に離脱し、最終的な解析対象者は 31 名となった。

なお、本研究は、新型コロナウイルス感染症の影響で実験開始時期が予定より遅くなってしまったため、その他の結果は現在解析中である。

## 3. 今後の研究における課題または問題点

本研究の限界点として 1) ビタミン 1 つずつの効果は確認できておらず、どのビタミンが最も血漿 Hcy 濃度及び血中酸化型アルブミン比に影響を及ぼすかは確認することができないこと、2) 採血は運動実施 90 分後までしか実施できていないため、その後の血液成分の変動を追うことができていないこと、などが挙げられる。運動後の血漿 Hcy 濃度上昇を軽減することができれば、運動後の酸化ストレス上昇を軽減することができるかもしれない。酸化ストレスの上昇は、筋損傷のプロセスに寄与している可能性があるといわれている。今後は、それぞれのビタミンの効果や摂取期間、摂取量の検討を重ねたいと思う。

## Summary

It is generally believed that health benefits are increased by increasing physical activity and enhancing physical fitness. However, there are reports that blood homocysteine (Hcy) levels temporarily increase after transient exercise. Hcy is an intermediate metabolite of methionine metabolism, and elevated blood levels of Hcy are a risk factor for cardiovascular disease and osteoporosis. Hcy, which cannot be completely metabolized in cells, moves into the blood and generates active oxygen when it binds to proteins and the like in the blood. This leads to the generation of oxidative stress. Oxidative stress affects the performance and conditioning of

exercisers. Therefore, it is desirable to reduce the occurrence of oxidative stress after exercise. The purpose of this study was to reduce the occurrence of oxidative stress associated with the increase in plasma Hcy concentration and the increase in Hcy after transient exercise by ingesting nutrients.

This study used a double-blind crossover design with intake of vitamins and control (intake of placebo) conditions; the two trials were separated by at least two weeks. Under the vitamin intake conditions, vitamin B<sub>2</sub> (V.B<sub>2</sub>); 28 mg/day, vitamin C (V.C); 1000 mg/day, and vitamin E (V.E); 536 mg/day were taken in two divided doses a day. The intake period for each condition was 14 days. In the morning of the 15th day after the start of intake, acute exercise was performed. The content of the exercise was a acute exercise of 65% heart rate reserve using a bicycle ergometer. During the study period, other supplements, vitamin-enriched foods, and smoking were banned. Blood was collected before the start of vitamin or placebo intake, before exercise (15 days after the start of intake), 30 minutes after exercise, and 90 minutes after exercise. The analysis items of blood components were plasma Hcy concentration, blood oxidized albumin ratio, blood V.B<sub>2</sub> concentration, serum V.C concentration, plasma V.E concentration, and serum creatinine concentration. The study enrolled 32 healthy individuals aged >20. One person withdrew during the study period, and the final number of subjects for analysis was 31. All statistical analyses were carried out with SPSS statistical software version 26. All tests were two-sided, and the significance level was set at P=0.05.

In this study, the start time of the experiment was delayed due to the influence of the new coronavirus infection, so other results are currently being analyzed.

If the increase in plasma Hcy concentration after exercise can be reduced, it may be possible to reduce the increase in oxidative stress after exercise. In the future, I would like to study the effects of each vitamin, the period of intake, and the amount of intake.

# ビタミン E 同族体 $\delta$ トコトリエノールの短期摂取における血中動態と 脂質代謝の変動

## Variations in blood kinetics and parameters related to lipid metabolism during short-term intake of delta-tocotrienol, a vitamin E homologue.

研究代表者 二宮 佑輔 (食環境科学研究科)  
指導教員 矢野友啓 教授  
太田昌子 准教授

研究期間 2021 年 4 月 1 日～2022 年 2 月 15 日

キーワード ① $\delta$ -トコトリエノール ② $\alpha$ -トコフェロール ③動脈硬化 ④HMG-CoA 還元酵素

2021 年度交付額 630,000 円

研究発表 ・第 75 回 日本栄養食糧学会大会 2021 年 7 月

### 研究経過および成果の概要

#### 1. 研究方法

本研究の研究デザインは、プラセボを対象とした、クロスオーバー法を用いた盲検ランダム化比較試験である。また、研究に関してはヘルシンキ宣言に定められたヒトを対象とした研究に関するガイドラインに準拠して実施され、「東洋大学における人を対象とする医学系研究に関する倫理規程」に則り、東洋大学倫理研究委員会の承認を得た。研究を行うにあたり協力を依頼した被験者全員に本研究の目的や研究での侵襲、個人情報保護など被験者に不利益がないよう書面および口頭にて説明し、文書にて同意を得た。また、ビタミン摂取期間は各期間 14 日間とし、コントロール期 (C 期)、 $\alpha$ -TP 摂取期 ( $\alpha$ -TP 期)、 $\delta$ -T3 摂取期 ( $\delta$ -T3 期)、倍量  $\delta$ -T3 摂取期 (倍量  $\delta$ -T3 期) の 4 期間実施した。参加者は 21 名で、そのうち、すべての実験期間に参加した被験者は男性 10 名、女性 10 名の計 20 名であった。実験期間は、C 期、 $\alpha$ -TP 期、 $\delta$ -T3 期、倍量  $\delta$ -T3 摂取期をそれぞれ 14 日間とし、介入前後の早朝に採血を実施した。また、採血の当日に身体計測を実施した。採血および身体計測は東洋大学板倉キャンパス内で実施した。また、14 日間の摂取終了日の採血後、自記式食事歴法質問表である DHQL による食事調査を行った。各期の間には 28 日以上 wash-out 期間を設け、各期間のサプリメント摂取の影響がないようにした。サプリメント摂取期間中はアルコールの摂取、過度な運動を制限し、採血前日には採血時間から 12 時間前までに食事を済ませるよう依頼した。サプリメント摂取期間以外の生活に関しての制限はせず、食事や生活習慣は自由であった。被験者に喫煙者はいなかった。被験者に摂取してもらうサプリメントの成分量は  $\alpha$ -TP: 268mg/d、 $\delta$ -T3: 250mg/d、 $\delta$ -T3 $\times$ 2 : 500mg/d であった。なお、プラセボはいずれの成分も含まない。これらは食事摂取基準 (2020 年版) およびこれまでの先行研究などを考慮した量を設定した。被験者は、朝食後と夕食後にサプリメントを各 1 錠摂取することとした。血液分析に関して、測定項目は、血漿中  $\alpha$ -TP、 $\delta$ -T3 濃度および、血清中総コレステロール (T-Cho)、中性脂肪 (TG)、LDL コレステロール (LDL-C)、HDL コレステロール (HDL-C) であり、血漿中  $\alpha$ -TP、 $\delta$ -T3 濃度はそれぞれ学内にて液体クロマトグラフィー: High performance liquid chromatography (HPLC) によって分析した。また、血清中の T-Cho (酵素

法)、TG (酵素法)、LDL-C (酵素法-直接法)、HDL-C (酵素法-直接法) は、株式会社 LSI メディエンスに業務委託し、分析した。

## 2. 研究経過および成果の概要

各期間の血液項目において、 $\alpha$ -TP 摂取により、血漿  $\alpha$ -TP 濃度は、 $16.9 \pm 3.2 \mu\text{mol/L}$  から  $34.7 \pm 10.9 \mu\text{mol/L}$  に有意に増加し ( $p < 0.001$ )、さらに血漿  $\delta$ -T3 濃度も  $0.10 \pm 0.02 \mu\text{mol/L}$  から  $0.15 \pm 0.04 \mu\text{mol/L}$  に有意な増加が認められた ( $p < 0.001$ )。また、 $\delta$ -T3 摂取によって、血漿  $\delta$ -T3 濃度は  $0.11 \pm 0.03 \mu\text{mol/L}$  から  $0.45 \pm 0.28 \mu\text{mol/L}$  に有意に増加した ( $p < 0.001$ )。 $\alpha$ -TP の 400IU 摂取においては、これまでの報告で長期摂取において血漿中  $\alpha$ -TP 濃度が増加することが知られている。しかし、本章では健康なヒトへ  $\alpha$ -TP を 400IU、2 週間という短期摂取によっても 4 週間以上の摂取と同程度の増加が認められることを明らかとした。また、これまでの報告では、T3 のバイオアベイラビリティは低く、 $\alpha$ -TTP への親和性が高い  $\alpha$ -TP が血中のほとんどを占め、T3 は TP に変換されることが知られている。しかし、本研究では、400IU の  $\alpha$ -TP 2 週間摂取によって、 $\delta$ -T3 の有意な増加が認められた。これは、これまでの報告にみられない結果である。また、 $\delta$ -T3 摂取に関してもこれまで具体的ではなかった継続的な  $\delta$ -T3 摂取における血中  $\delta$ -T3 の動態が明らかとなった。これらの結果は、今後の V.E 同族体、特に  $\alpha$ -TP、 $\delta$ -T3 のヒトに対する介入研究において基礎データとして有用であると考えられ、短期摂取においても  $\alpha$ -TP、 $\delta$ -T3 は増加し脂質異常症などの疾病予防効果が作用する可能性があることを示した。また、倍量  $\delta$ -T3 (500mg/d) 摂取によって血漿  $\delta$ -T3 濃度は  $0.09 \pm 0.03 \mu\text{mol/L}$  から  $0.64 \pm 0.41 \mu\text{mol/L}$  に有意に増加した ( $p < 0.001$ )。このことから、 $\delta$ -T3 は用量依存的に血漿中に増加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

$\alpha$ -TP および  $\delta$ -T3 摂取による血中脂質代謝への影響について、若年男女が 268mg(400IU)/d の  $\alpha$ -TP、250mg/d の  $\delta$ -T3 サプリメントを 2 週間摂取した結果、脂質代謝に関する血中項目に有意な差は見られなかった。 $\alpha$ -TP の 400IU 摂取に関する報告から、 $\alpha$ -TP の 400IU、2 週間摂取において、血漿  $\alpha$ -TP が増加し、T-chol や LDL-C などの血中脂質項目への改善効果があると推測していたが、若年の健康な男女への短期摂取では  $\alpha$ -TP の作用が十分に発揮されないことが示唆された。また、 $\delta$ -T3 の 250mg/d、2 週間摂取によって血中脂質項目の変化は見られなかった。これまでの報告では、 $\delta$ -T3 の摂取に関して、トコトリエノールの摂取が血中脂質項目に及ぼす影響を無作為化比較試験のメタ分析によって調査した報告では、トコトリエノールの摂取によって、HDL-C の増加に有意な効果を示したが、LDL-C、総 Chol および TG 濃度を減少させないことを実証している。これらのことから、本章で若年の健康なヒトに対する  $\delta$ -T3 の短期摂取では、血中の脂質代謝に関する項目への影響は正常値の範囲内に収まり、影響が少ない可能性があることが推測された。また、500mg/d の  $\delta$ -T3 摂取時に血清中 TG の増加が見られた。これらの血中脂質項目への影響に関して、絶食時間の設定やサプリメント摂取期間、用量など検討が必要であると考えられた。

## Summary

In recent years, Japan has become a super-aging society, and the challenge is to curb the increase in medical costs caused by the prolongation of healthy life expectancy. On the other hands, one of the factors limiting healthy life expectancy is lifestyle-related diseases. Cardiac and cerebrovascular

diseases caused by arteriosclerosis are representative of lifestyle-related diseases. The key to preventing arteriosclerotic diseases is early prevention.

Vitamin E is mainly bound to lipoproteins in plasma. It is able to prevent endothelial dysfunction in the early stages of atherosclerosis by being taken up by the vessel wall. Based on the antioxidant and inhibitory effects of tocotrienol (T3) on HMG-CoA reductase, this study aimed to clarify the blood kinetics of  $\delta$ -T3 when ingested by healthy humans. We also examined lipid metabolism markers in the presence of  $\alpha$ -TP and  $\delta$ -T3 intake. Subjects were randomly assigned to one of four treatment groups (14 days treatment with at least 4 weeks of washout): 1)  $\alpha$ -TP (268 mg/d), 2)  $\delta$ -T3 (250 mg/d), 3)  $\delta$ -T3 double-dose (500 mg/d), or 4) placebo.

We demonstrate that treatment with  $\alpha$ -TP (268 mg/d) elicits a significant increase in  $\alpha$ -TP after only 14 d, which is shorter than a prior study that identified a similar increase after 3 weeks. This new finding suggests that dietary approaches aimed at  $\alpha$ -TP modification can be shorter than 3 weeks.

$\delta$ -T3 (250 mg/d) and  $\delta$ -T3 double-dose (500 mg/d) treatment resulted in a dose-dependent 4-fold and 7-fold increase in plasma  $\delta$ -T3 concentration, respectively. In the  $\delta$ -tocotrienol intake group, as in the  $\alpha$ -tocopherol intake group, a significant increase in plasma was found after 14 days of short-term intake. This suggests that the antioxidant and antitumor effects of  $\delta$ -tocotrienol can be expected even after short-term intake.

TG concentration was also significantly increased when 500 mg/d of  $\delta$ -T3 was ingested. In previous reports, the number of LDL particles increased with increasing serum TG levels in a dose-dependent manner, but LDL-C levels decrease when TG levels rise above 300 mg/dL. Since TG levels in this study were less than 300 mg/dL, the cholesterol-lowering effect of  $\delta$ -T3 were unlikely to have been engaged.

These results suggest that when using health food supplements to capitalize on the antioxidant properties of vitamin E, 14 days of  $\delta$ -T3 consumption (at 250-500 mg/d) may be sufficient. Longer duration treatments may be required to inhibit HMG-CoA reductase and prevent atherosclerosis without induction of side effects.

弾性ストッキングの着用に伴う静脈血管伸展性増大が

下肢運動時の下腿部静脈還流量および一回拍出量に及ぼす影響

Effect of increased calf venous compliance  
with wearing compression stocking  
on venous return from calf and stroke volume during lower limb 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

研究期間/2021年4月1日~2022年2月15日

キーワード/①つま先立ち運動 Tiptoe exercise

②循環調節 Circulatory regulation

③下腿部容積変化 Change in calf volume

④静脈閉塞プレチスモグラフィ Venous occlusion plethysmography

⑤

2021年度交付額/630,000円

研究発表/学会および口頭発表

・ 学会発表

Y. Iimura and A. Oue (共著). 「Effect of increased calf venous compliance with wearing graduated compression stocking on venous return from calf and stroke volume during exercise」. 26<sup>th</sup> Annual Congress of the European College of Sports Science Virtual Congress. 2021年9月.

・ 論文執筆 (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、弾性ストッキングを着用する条件（静脈血管伸展性が増大する条件）は、弾性ストッキングを着用しない条件（静脈血管伸展性が増大しない条件）と比較して、つま先立ち運動時の下腿部静脈還流量が増大し、一回拍出量が増加するという仮説を検証することであった。

当初、仮説の検証を2日間で行う予定であり、ストッキングを着用する条件と着用しない条件のつま先立ち運動を2日目にまとめて行う予定であった。しかし、予備検討において、つま先立ち運動（1回2セットと連続10回2セット）に伴う下腿部の疲労感が大きく、休息前後で同程度のつま先立ち運動を行うことが困難であった。そこで、実験日程を2日間から3日間に変更し、つま先立ち運動の検証をストッキングを着用する条件と着用しない条件をそれぞれ別日に検証した。

本研究は、健康な若年男女12名（男性8名、女性4名、年齢： $22 \pm 7$ 歳、身長 $167 \pm 7$ cm、体重 $63 \pm 12$ kg、収縮期血圧： $128 \pm 14$ mmHg、拡張期血圧： $77 \pm 9$ mmHg、心拍数： $62 \pm 9$ 拍/分）を対象とした。実験条件は、弾性ストッキングを着用する条件（ストッキング条件）と着用しない条件（コントロール条件）を設定した。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。

被験者は、実験室に3日間来室した。1日目は、ストッキング条件およびコントロール条件における仰臥位安静時の下腿部容積変化の測定を行い、2日目と3日目は本実験として、つま先立ち運動時の下腿部静脈還流量と一回拍出量の測定を行った。なお、ストッキング条件とコントロール条件は、2日目と3日目でランダムに実施した。

1日目の仰臥位安静時の下腿部容積変化の測定は、まず、被験者の右大腿部に加圧用カフを、右下腿部にストレインゲージを装着し、仰臥位姿勢で20分以上の安静を保った後に9分間の測定プロトコールを実施した。その後、実験条件をかえて、仰臥位状態で10分以上の休息を挟んだ後、再び同様の測定プロトコールを行った。なお、ストッキング条件とコントロール条件はランダム順に実施した。測定プロトコールの詳細は以下のとおりである。大腿部のカフに60 mmHgの圧力を加え、8分間維持する。その後8分目から9分目にかけて1 mmHg/秒の割合で60 mmHgから0 mmHgまで脱気した。加圧中および脱気中の9分間の下腿部容積変化を静脈閉塞プレチスモグラフィ法により測定した。8分目から9分目にかけてのカフ圧と下腿部容積の変化の関係からカフ圧一下腿部容積曲線を求め、さらに、そこからカフ圧一下腿部静脈血管伸展性関係を算出した。

2日目と3日目の本実験は、被験者の右下腿部にストレインゲージを、左手中指に一回拍出量を測定する器具を装着し、以下の運動プロトコールに沿って行った。まず、被験者は、仰臥位状態のまま両脚を20°の角度まで挙げ10分間維持した。その後、座位、立位へと姿勢を変え、つま先立ち運動1回を2セットとつま先立ち運動連続10回を2セット実施した。プロトコールを通して、下腿部容積変化と一回拍出量を測定した。つま先立ち運動開始直前の下腿部容積を下腿部静脈容量（血管内に貯めることのできる血液量の指標）とし、さらに、つま先立ち運動に伴う下腿部容積変化から下腿部静脈還流量（下肢からの血液還流量の指標）を評価した。さらに、つま先立ち運動1回と連続10回のデータは、それぞれ2セット分のデータを平均した。

## 2. 研究経過および成果の概要

安静時のカフ圧一下腿部容積変化曲線とカフ圧一下腿部静脈血管伸展性関係はともに、コントロール条件に比べストッキング条件が有意な高値を示した ( $P < 0.05$ )。この結果は、弾性ストッキングの着用により下腿部静脈血管の容積と伸展性が增大していたことを示している。

つま先立ち運動1回および連続10回において、つま先立ち運動直前の下腿部静脈容量は、コントロール条件に比べストッキング条件で有意な高値を示したが ( $P < 0.05$ )、運動時の下腿部静脈還流量は、実験条件の間で有意な差が見られなかった。さらに、つま先立ち運動時の一回拍出量も運動1回と連続10回とともに、ストッキング条件とコントロール条件の間で差が見られなかった。

これら結果は、弾性ストッキング着用に伴う下腿部静脈血管の容積と伸展性の増大は、つま先立ち運動直前の下腿部静脈容量を増大させるが、運動時の下腿部静脈還流量を増大させず、さらに一回拍出量も増加させない可能性を示唆している。

## 3. 今後の研究における課題または問題点

下腿部静脈血管の容積と伸展性が増大したにも関わらず、つま先立ち運動時の一回拍出量が増大しなかった理由として、下腿部静脈還流量が増大しなかったためと考えられる。さらに、運動直前の下腿部静脈容量は増大したにもかかわらず、つま先立ち運動時の下腿部静脈還流量に増大は見られなかった。しかし、この理由は本研究では明確にすることができなかったため、この点について今後、より詳細に検討していく必要がある。

## Summary

The purpose of this study was to test our hypothesis that increased calf venous volume and compliance with graduated compression stocking (GCS) could cause the increase in venous return from calf during exercise, and secondary could enhance stroke volume. Twelve healthy young people participated in this study. The participants came to our laboratory on three occasions. On first day, change in calf volume in supine rest with or without GCS was measured. On the second and third days, the calf venous return from calf and the stroke volume during tiptoe exercise were measured under the conditions wearing GCS or no stocking (Control: CON) on separate days. To measure the change in calf volume in supine rest, the venous collecting cuff was wrapped around the thigh and strain gauges was placed on the calf. The collecting cuff was inflated to 60 mmHg for 8 min and then the cuff pressure was deflated from 60mmHg to 0mmHg at rate of 1 mmHg/s. Cuff pressure–calf volume curve was generated from relationship between the cuff pressure and the calf volume for 8min to 9min. In addition, the calf venous compliance relationship in supine rest was calculated as the numerical derivative of the cuff pressure–calf volume curve. To measure the calf venous return from calf and stroke volume during tiptoe exercise, the participants rested in supine position with their both legs raised 20° for 10 min and then stood up and two single–tiptoe exercise followed by two 10–tiptoe exercise. From the change in calf volume thorough this protocol, the amount of venous capacitance and the ejection volume during tiptoe exercise were calculated as index of stored amount of blood in the venous vessel and the venous return from the calf, respectively. In the supine rest, the cuff pressure–calf volume curve and the cuff pressure–calf compliance relationship were greater in GCS than CON ( $P < 0.05$ ). The venous capacitance was also higher in GCS than CON ( $P < 0.05$ ), but the ejection volume during exercise did not differ between GCS and CON. In addition, the change in stroke volume during exercise was similar between GCS and CON. These results suggested that the increase in calf venous volume and compliance with wearing GCS in healthy young adults could enhance venous capacitance but not venous return from the calf and stroke volume during tiptoe exercise.

# 井上円了と日本における神学政治問題

## Inoue Enryō and the Theologico-Political Problem on Japan

研究代表者 寅野遼(校友)

研究期間／2021年4月1日～2022年2月15日

キーワード／①井上円了

②神学政治問題

③日本の近代化

④排耶論

⑤近代政治思想

2021年度交付額／ 675,000円

研究発表／学会および口頭発表

2021年度：なし

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

①井上円了の著作を『宗教哲学』および『日本政教論』を中心に読解することで、円了自身の宗教に関する立場を明らかにする。②彼の思考法を明治期日本の思想潮流の中で考察し、その特異性を探る。③円了の思考法に影響を与えた西洋思想の論理構成を解明する。

### 2. 研究経過および成果の概要

井上円了は一貫してキリスト教に対して批判的な立場をとっている。これは従来の研究でも指摘されてきたことである。しかし、今回の研究において明らかになったのは、円了の排耶論は宗教的な動機というよりも政治的な動機が目立つという点だ。『日本政教論』においてはキリスト教に対する激しい批判が見られる一方で、キリスト教に仏教を必ずしも対置させていない。注目すべきは、彼は仏教を日本の公認教とすべしと提言する一方で、その理由を仏教の教説には求めていないことである。あくまでも、日本において長期間信仰されており、そこに政治的な危険性がないことを理由に仏教は公認教として認められるべきであると主張されている。

こうした立場は、17世紀の哲学者スピノザが『神学政治論』の中で述べた「普遍宗教」の考え方を思わせる。すなわち、移り気な民衆の心を1つにし、政治を安定させるために宗教は必要不可欠であるが、その内容は必ずしも特定の宗教の教義を深く取り入れる必要はないというものである。『宗教哲学』の記述を読む限り、円了は『エチカ』に展開されるスピノザの形而上学や倫理学の思考そのものよりも、『神学政治論』に展開される宗教と政治の関係に関心を持っていたと推測できる。それどころか、彼は現在『神学政治論』と訳される書名を『政教論』と訳している。だとすれば、彼の『日本政教論』は、スピノザの『神学政治論』で展開された思想を日本の現状に合わせた著作であると考えられる。ここに、従来の研究では思想の類似性のみで注目されていた円了とスピ

ノザの新たな繋がりを見出すことができるだろう。これは同時に西洋の近代化において大きな問題であった神学政治問題は、明治期日本の近代化においても無縁ではなかったことの証左になるだろう。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

井上円了の思想を神学政治問題の中で読み解くという試みの端緒を開いたことは、本研究の大きな成果と言える。今後はまず、ここまでで明らかになったことを学会報告・論文発表を通じて公表しなければならない。2021年度は研究計画書執筆時点では想定していなかった就職やコロナ禍で、計画通りの活動ができなかったが、次年度は集中的に活動したい。

内容的な部分での課題は、円了における日本の宗教の位置づけが、現時点ではまだ明確ではないことだ。円了は天皇制や教育勅語を肯定的に評価する立場へと向かう。その場合、まさに神学政治問題として、国家神道をどのように位置付けるかが問われるはずである。しかし、『日本政教論』では、国家神道の興隆により仏教が弾圧されたことには触れられていない。同時代の動向を見る限りでは、神道と仏教を含む他宗教との緊張関係はこの時代の思想界における一大関心事のひとつであった。キリスト教を排除する点で一貫していたとしても、なぜ神道は公認教ではありえないのか。あるいはまた、円了は儒教を宗教と見なしていないが、教育勅語やそれを下に作られた体制においては、「忠孝」などの儒教に由来する教えは極めて政治的な意味を持っていたと考えられる。こうした問題を明らかにすることは、円了においては究極的に政治と宗教はどちらが重要なのかを問うことになるだろう。この課題に取り組むためには、円了の著作をより広い範囲で探り、そこに展開された思想を可能な限り再構成する必要がある。

### Summary

Our research centred on Inoue Enryō's *Philosophy of Religion* and *Theological-Political Treatise on Japan*. What we have learned from this is the superiority of politics over religion in his theory. He argues that Buddhism should be the authorised religion of Japan, but he is not concerned with its doctrines. His aim is to exclude Christianity, and Buddhist doctrine is not a key argument in doing so. What remains to be seen is what he thought of Buddhism and other Japanese religions (Shintoism and Confucianism).

インド密教における入門儀礼と成就法の記述を通じた異宗教間交渉の比較研究（和題）

A Comparative Study of Interfaith Negotiation through Descriptions of Introductory Rituals and Accomplishment Methods in Indian Tantric Buddhism（英題）

研究代表者 藤井 明（校友）

研究期間／2021年4月1日～2022年2月15日

キーワード／① *Bhūtaḍāmaratantra*

- ② 密教儀礼
- ③ インド密教
- ④ ヒンドゥー教
- ⑤ 異宗教間交渉

2021年度交付額／ 689 千 円

研究発表／学会および口頭発表

口頭発表

藤井明「Siddhadravya の定義と用例」日本印度学仏教学会第72回学術大会. 於大谷大学オンラインリモート会議システム第4部会. 2021年9月

藤井明「*Bhūtaḍāmaratantra* のマンダラ観想法—BBT、HBT の記述比較」東洋大学東洋学研究所 2021年度第4回オンライン研究発表例会. 於オンラインリモート会議システム. 2021年12月

論文発表

FUJII, Akira. 2022. "Definitions and Examples of Siddhadravya". *Journal of Indian and Buddhist Studies*. 70(3). Japanese Association of Indian and Buddhist Studies. 査読有（掲載予定）

藤井明. 2022. 「*Bhūtaḍāmaratantra* のマンダラ観想法—BBT、HBT の記述比較」『東洋学研究』東洋大学東洋学研究所、第59号. 査読有（掲載予定）

研究経過および成果の概要

1. 研究方法

本研究は、仏教版とヒンドゥー教版でタイトルを共有する *Bhūtaḍāmaratantra* という文献を中心に、仏教とヒンドゥー教の宗教間交渉ないし宗教的混交の具体的事例を提示することを目的とした。

本文献の写本を用いたサンスクリットの校訂テキストはまだ提出されておらず、これまで蒐集してきた各写本の校訂と読解、比較対照を行った。また、当文献の仏教版には漢訳とチベット語訳も

残されている為、その比較読解も行った。本年は特に、仏教版 *Bhūtaḍāmaratantra* (BBT)の第4章で説かれ、またヒンドゥー教版 *Bhūtaḍāmaratantra* (HBT)の第6章で説かれている、マンダラの記述の後のマンダラの観想法に焦点を当てて、両宗教におけるマンダラを用いた観想法の比較を行った。BBTにおいてはこの章は *siddhimaṇḍalavidhi* と呼ばれており、前の章で説かれたマンダラの各尊格の勧請方法や観想の方法、そして尊格それぞれのマントラが説かれている。

また、仏教版、ヒンドゥー教版双方で示される儀礼の中には特有の意味合いで使用される術語が用いられていることも多々ある為、その語の用例と定義の確定も必要であった。そこで、今後の更なる研究に資する為に、各種文献からテクニカルタームの用例を示し、定義を確定する作業を行った。本年度に扱ったテクニカルタームは、サンスクリット語で *Siddhadravya*、チベット語で *grub pa'i rdzas* という単語である。この用語の定義の確定の為に、*Bhūtaḍāmaratantra* だけでなく、*Mañjuśrīyamūlakalpa* および『大日経広釈』、『妙吉祥最勝根本大教経』(*Krodhaviḥāraśāstra / KVT*)とその注釈文献(*Krodhaviḥāraśāstratīkā / KVTT*)も利用して広く密教経軌中の用例を検討した。

## 2. 研究経過および成果の概要

BBT を含む密教経軌に示される *Siddhadravya* というテクニカルタームはこれまでの先行研究においても"any magical object"という定義が提示されているのみであった。文献中に現れるこの用語の検討の結果、このテクニカルタームに対して2つの定義を提示した。先行研究において示されていなかったテクニカルタームを定義したことで、今後の研究におけるこの用語を含む記述の更なる理解に資すると言える。この成果は *Journal of Indian and Buddhist Studies* 70 (3)号に"Definitions and Examples of Siddhadravya"として掲載予定である。

また、両 BT で説かれるマンダラを用いた観想法の記述の比較をすることによって、仏教における観想とヒンドゥー教における観想法の相違点と類似点を提示した。マンダラの観想法の写本校訂、翻訳を通して各要素を詳細に比較検討した結果、マンダラ観想次第において一つの重要な位置を占めている勧請の方法には両 BT 中に差異が認められた。

その具体的差異の中で着目すべきものは、① HBT における心月輪の観想の欠如、② HBT における空の観想の欠如、③ HBT におけるクンダと水晶の如きものの観想の欠如、④ HBT における八葉蓮華の観想の欠如、⑤ 尊格を勧請してくる場の相違である。両 BT 間のマンダラの観想次第における相違点は、その多くが仏教版に認められる記述がヒンドゥー教版に認められない、という点にあることが分かった。これらの差異は、各宗教の伝統的思想や教理に基づいている為、お互いの宗教にとって「共有されない要素」とみなされたとはいえる。この成果は『東洋学研究』第59号に「*Bhūtaḍāmaratantra* のマンダラ観想法—BBT、HBT の記述比較」として掲載予定である。

## 3. 今後の研究における課題または問題点

本年度の研究において、先の「マンダラ観想儀礼」に関連する章である「マンダラ引入儀礼」(*maṇḍalapraveśa*) の比較読解もおおよそ完了している為、この研究成果の発表準備が課題として挙げられる。

また、仏教版、ヒンドゥー教版双方の *Bhūtaḍāmaratantra* を取り巻く諸文献との引用関係を明らかにする為には、インドの研究所に保管されている写本を必要とする。しかしながら、新型コロナウイルスの影響によって公的機関が稼働していない期間が長く、十分な資料を入手することが困難であ

った。海外の研究者との連絡を密に行い、この問題を解決していく必要がある。

## Summary

The purpose of this study is to present concrete examples of interreligious negotiation and religious mixture between Buddhism and Hinduism, focusing on the *Bhūtaḍāmaratantra*, which shares its title with the Buddhist and Hindu versions.

A revised Sanskrit text using the manuscripts of this literature has not yet been submitted. Therefore, I have revised, read, compared, and contrasted each of the manuscripts that I have collected. The Buddhist version of this literature has Chinese and Tibetan translations; thus, I also compared the two translations. I focused especially on the visualization of maṇḍalas after the description of maṇḍalas, and compared visualization using maṇḍalas in the two religions. The chapter on the visualization of maṇḍalas is called siddhimaṇḍalavidhi in the Buddhist version of *Bhūtaḍāmaratantra*.

Moreover, since many of the rituals presented in both the Buddhist and Hindu versions use technical terms with specific meanings, it was necessary to determine examples and definitions of these terms. Therefore, to contribute to further future research, I showed examples of the use of technical terms from various literature and analyzed them to determine their definitions. The technical terms that I have dealt with are Siddhadravya in Sanskrit and grub pa'i rdzas in Tibetan. To determine the definition of this term, I used not only the *Bhūtaḍāmaratantra*, but also the *Mañjuśrīyamūlakalpa*, 大日経広釈, 妙吉祥最勝根本大教経 (*Krodhaviḥayakalpāgūhyatantra/KVT*), and its commentary (*Krodhaviḥayakalpāgūhyatantraṭīkā/KVTT*) to examine examples in tantric literature.

The technical term Siddhadravya, which appears in tantric literature including Buddhist *Bhūtaḍāmaratantra*, has been defined as "any magical object" in previous studies. As a result of the analysis of this term as it appears in the literature, two definitions for this technical term have been proposed. The definition of the technical term that has not been shown in previous studies will contribute to the further understanding of the descriptions that include this term in future studies. The results will be published as "Definitions and Examples of Siddhadravya" in the *Journal of Indian and Buddhist Studies* 70 (3).

In addition, by comparing the descriptions of visualization using maṇḍalas taught in both *Bhūtaḍāmaratantras*, I presented the differences and similarities between Buddhist and Hindu visualization. The results will be published in the *Journal of Oriental Studies* No. 59 as "Visualization of the Maṇḍala in the *Bhūtaḍāmaratantra*: Comparison of the descriptions in BBT and HBT."

# 劣化する若者支援—現場支援者の語りを手がかりに—

## Deteriorating Youth Support—Narratives from Supporters—

研究代表者 小川祐喜子(校友:人間科学総合研究所)

研究期間/2021年4月1日~2022年2月15日

|                 |                              |
|-----------------|------------------------------|
| キーワード/① 若年無業者支援 | The Unemployed Youth Support |
| ② 支援者           | Supporter                    |
| ③ 劣化する若者支援      | Deteriorating Youth Support  |
| ④ NPO           | NPO                          |
| ⑤ KH Coder      | KH Coder                     |

2021年度交付額/450,000円

研究発表/学会および口頭発表

・「劣化する若者支援」(仮)『フォーラム現代社会学』第21号 投稿予定

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

これまでの研究からは、若年無業者や若年無業者支援における世論の関心は一時期よりも潜在的な社会問題となっており、他方、「地域若者サポートステーション」(下記「サポステ」と表記)で支援する7割以上が賃金待遇に満足していない支援環境にも関わらず、9割以上の支援者がやりがいを感じながら支援を行っている現状が郵送調査結果から明らかとなった。それは、「やりがい搾取」のような支援現場であり、若年無業者支援者支援の必要性が確認できるものであった。

そこで本研究では、実際の支援者の語りから「支援とは何か」、「支援者とは何か」、「支援者がもつ支援の意味とは何か」、「NPO組織の社会的意義とは何か」などの問いとともに、「若者支援の場における支援の劣化」、支援の劣化をもたらしている「企業化するNPO」と「劣化するNPO」の実態を数値で明らかにすることを目的とした。そこで本研究では、2回(「劣化する支援とNPO~若者支援の事例からミッション・ドリフトを考える」、「NPOと広報~戦略、方法、意味」)のワークショップを開催し、支援者が語った言葉をデータ化し、KH Coderコマンドを用いて計量テキスト分析を行った。

### 2. 研究経過および成果の概要

まず、「劣化する支援NPO~若者支援の事例からミッション・ドリフトを考える」の語りからは、「サポステ」、「支援」、「人」、「若者」の出現回数が多く見られた。「共起ネットワーク」でその関係性を見ると、「サポステ」、「支援」、「若者」が強い共起関係にあり、「居場所」と「就労」、「行政」と「職員」、「代表」と「理事」、「仕事」に共起関係が見られた。さらに、出現回数が多い「サポステ」を関連語検索すると、「若者」、「大阪」、「支援」、「居場所」、「初期」、「プラッツ」に共起関係が見られた。次に「支援」の関連語検索では、「サポステ」、「大阪」、「プラッツ」、「居場所」が共起関係にあり、「支援」、「若者」、「人」の共起関係が見られた。「人」の関連用語検索では「キャリアコン」、「入る」、「話」に共起関係が見られ、次いで「人」、「支援」、「若者」に共起関係が見られた。「若者」の関連用語検索では、「サ

ポステ」、「事業」、「モデル」、「プラッツ」が共起関係にあり、「厚労」、「求める」、「空洞化」と「若者」、「支援」、「人」に共起関係が見られた。さらに、テーマである「劣化」を関連語検索で詳細に見ると、「人材」、「交流」、「地域」、「状況」、「仕掛け」、「内側」、「始まる」に強い共起関係が見られた。

「劣化」をテーマにしたワークショップの語りからは、支援者がこれまでに実施してきた支援内容と「サポステ」との関係、そこでの支援内容や人との関係、さらには若者について語られていたことがわかる。また若者支援で頻繁に語られる「就労」は「居場所」と共起関係にあることから、若者を就労につなげるためには「居場所」が必要であることが可視化された。さらに若者支援事業などを委託する「行政」は「職員」と「評価」に共起関係があり、「評価」は「違う」と「求める」に共起関係が見られたことから、支援事業は何らかの評価が求められているが、支援者は評価に対して容認するところもあるが否定的な部分もあることが明らかとなった。

他方、「NPO と広報～戦略、方法、意味」では「広報」、「NPO」、「団体」、「基準」、「人」の出現回数が多く見られた。「共起ネットワーク」でその関係性を見ていくと、「広報」は「NPO」、「考える」、「意味」と共起関係にあり、「報道」は「団体」、「基準」、「メディア」、「見る」、「受ける」と共起関係にある。「問題」は「社会」、「ソーシャルセクター」と共起関係があり、「かわいそう」は「アピール」、「お金」「集まる」に共起関係が見られた。次にワークショップのテーマでもあり出現回数が多い「広報」と「NPO」の関連語検索結果を見ていくと、「広報」では、「NPO」と「広報」に共起関係が見られ、さらに「社会」、「ソーシャルセクター」、「問題」、「場合」、「事業」に共起関係が見られ、「ミッション」、「ドリフト」、「活動」、「非常」に共起関係が見られた。また「意味」、「戦略」、「方法」にも共起関係が見られた。他方「NPO」の関連語検索では、「NPO」と「広報」、「基準」に共起関係が見られ、「ソーシャルセクター」と「意味」、「考える」、「非常」に共起関係が見られた。他方、「事業」では、「寄付」と「法人」が共起関係にあり、「支援」は「寄付」と「団体」に共起関係が見られた。

以上の結果から NPO の活動には広報が必要であるが、その発信は「データ」、「出す」、「共感」、「活動」の共起関係からデータが活動に関わる様相や、また「寄付」と「集まる」、「集める」が共起関係にあり、「集まる」が「かわいいそう」と「アピール」、「集める」が「お金」と共起にあることから、寄付がかわいいそうなどの心理的なものと結びついて様相が明らかになったといえる。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

本研究で実施したワークショップは、子ども若者支援に長きに渡り携わってきた代表者を中心とした語りであった。今回のデータでは、インタビュー調査では得ることの出来ない自由な語りから、さらに KH Coder を使用することで、質的調査方法の視点では捉えることができなかった語りの部分が可視化できたといえる。けれども、まだ支援歴が短い支援者などの語りを得ることはできなかった。そこで今後の課題としては、支援現場で働く資格取得者や支援歴が短い支援者の語りを同様の方法で可視化していく必要があると考えている。

## Summary

The purpose of this study was to quantify the "deterioration of support in the youth support arena" and the "corporatizing NPO" and "deteriorating NPO" that are causing the deterioration of support. Therefore, in this study, two workshops were held, the words spoken by the supporters were converted into data, and a quantitative text analysis was conducted using the KH Coder command.

In the first "Deteriorating Support and NPO" workshop, "support," "support," "people," and "youth" appeared more frequently. In the "co-occurrence network," there were strong co-occurrence relationships among "supposte," "support," and "youth," and co-occurrence relationships among "place" and "work," "government" and "staff," "representative" and "board member," and "work." The workshop revealed a co-occurring relationship between "employment" and "whereabouts". In other words, it was visualized that a "place" is necessary to connect young people to employment. On the other hand, "administration" had a co-occurring relationship with "staff" and "evaluation," while "evaluation" showed a co-occurring relationship with "different" and "seeking. It became clear that support services are required to be evaluated, but that supporters have some negative attitudes toward evaluation.

In the second workshop, "NPO and Public Relations - Strategies, Methods, and Meanings," "public relations," "NPO," "organizations," "standards," and "people" appeared more frequently. "Public relations" was co-occurring with "NPO," "thinking," and "meaning. The word "press" was co-occurring with "organization," "standard," "media," "see," and "receive. "Problem" was co-occurring with "society" and "social sector," and "poor" was co-occurring with "appeal," "money," and "gather. The results of the workshop showed that publicity is necessary for NPO activities, and that the dissemination of such information is related to activities based on the co-occurring relationship between "data," "putting out," "empathy," and "activity" data. In addition, "donation" and "gather," "gather" and "cute-looking," "appeal," and "gather" and "money" were co-occurring relationships. It can be said that the psychological aspect of donation became clear.

The narrative of this workshop was centered on representatives of child and youth support. And the data, by using the KH Coder, revealed parts of the narratives that could not be captured from the perspective of qualitative research methods. In the future, we would like to use the same method to clarify the narratives of supporters other than the representatives.

## 野宿者のもつ困難課題に関する研究（和題）

## Research on the difficult problems of the homeless people（英題）

研究代表者 渡辺 芳(人間科学総合研究所)

研究期間／2021年4月1日～2022年2月15日

キーワード／①野宿者・ホームレス

②困難課題

③社会福祉

④資源ごみ収集

⑤ソーシャルアクション

2021年度交付額／ 496,000 円

研究発表／学会および口頭発表

2022年度福祉社会学会研究大会にて個人研究報告(予定)

2022年度白山社会学会研究大会にて個人研究報告(予定)

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

研究代表者（以下、渡辺）は、2007年より川崎市で活動する野宿者・ホームレス支援団体「NPO川崎水曜パトロールの会（水パト）」の巡回相談に参加して、調査研究を行っている。調査では、参与観察、野宿者・ボランティアへのインタビュー調査を行う他、支援団体のメール文書、ビラ、機関紙を収集した。この他に、支援団体の支援記録および、一時宿泊施設の利用者記録を参照した。調査研究は、調査協力者の人権に配慮し、東洋大学の研究倫理規定にしたがって行った。

### 2. 研究経過および成果の概要

当初予定した研究計画では、生活基盤がより脆弱な野宿者、特に障害・傷病のある野宿者、高齢野宿者、薬物依存回復施設に通所する元野宿者を対象とするインタビュー調査を実施する予定であった。しかし、2020年7月に資源ごみの回収に関する条例制定の報道があった。資源ごみ条例の制定は、野宿者の生活への多大な影響が予想されたため、当初の計画を変更し、支援団体によるソーシャルアクションへの参加、アルミ缶収集をする野宿者への参与観察ならびにインタビュー調査を実施することにした。

研究経過は、以下のとおりである。一つ目は、支援団体のソーシャルアクションへの参加である。渡辺は、川崎市環境局が主催した条例制定の公聴会（「野宿者の声を聴く会」）に参加し、そこで市の環境局・健康福祉局と野宿者の意見交換について参与観察を行った。次いで、条例へのパブリックコメント提出を野宿者ならびに地域住民に呼びかけを行った（野宿者のパブリックコメントは50通を超えた）。このほかに、市議会議員団との話し合いに参加し、環境委員会に陳情書提出をした（渡辺は陳情書の執筆を行った）。2022年10月の市議会本会議で条例制定が可決されたが、環境局と支援団体との間でアルミ缶収集の取り決め書を取り交わし、アルミ缶収集規制にあたっては人

権擁護を第一とすることを約束させた。

インタビュー調査では、アルミ缶収集をする野宿者に対して聞き取りを行った。建築日雇い労働が難しくなった野宿者は、アルミ缶収集を地域住民との協力によって行う。そこには地域住民に対する配慮がある。また、アルミ缶収集のコツや方法を、新規野宿者に伝えることで、野宿者のつながり形成の契機ともなる。この他に、住居をもつ生活困窮者によるアルミ缶収集を観察することが出来た。また、川崎駅バスターミナルで寝泊まりをする野宿者にも聞き取りを行った。固定した寝場所をもたない野宿者は、生活基盤がより脆弱である。そこには、高齢者、女性、新規野宿者、何らかの理由で家族とのつながりを持たない人々を含んでいる。

元野宿者による活動については、女性の元野宿者によるもんじゅの会、カトリック貝塚教会を母体に行われているアルトスの会、薬物依存症者回復施設・川崎マックの活動に対して参与観察を行った。いずれの団体においても、生活相談と物資支給が行われている。野宿以前の人間関係を失った人々が、野宿で得た知見をもとにボランティア活動にかかわることで、新しい役割や過去の経験を生かしながら、社会再参入をおこなっている。

研究成果は以下の通りである。第一に、アルミ缶条例制定後の野宿者支援をめぐる環境変化が予想される。これまでの支援は、福祉健康行政と野宿者支援団体が協働形成してきたが、環境行政が、公的支援体制を担うアクターとして登場したことによって、野宿者支援にどのような変化があるのか、継続調査を行うことにしたい。

第二に、野宿者にとってアルミ缶収集は現金収入の手段であると同時に、地域参加の経路でもあって、地域のつながりのなかでそれが行われている。野宿者と地域住民の関わりというテーマに、襲撃と排除だけではなく、共生と参加があることも付け加えたい。

第三に、元野宿者によるボランティア活動が、野宿経験を生かすことにより行われていることである。野宿で得られた経験を生かしたボランティア活動は、地域参加であると同時に、彼らの人生のとらえ直しの機会でもある。野宿という苦難の記憶が彼らの活動に意味と意義を与えることになるが、その苦難の記憶はどのように保持・継承されるのかを見守っていきたい。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

今後の課題または問題点は以下のとおりである。第一に、アルミ缶条例をめぐるアクターとして川崎市環境局、環境行政にかかわる川崎市議会議員に対する調査が不足をしている。第二に、アルミ缶条例制定後に、野宿者の生活がどのように変化をしたのか、継続調査をすることにしたい。第三に、研究者による調査対象に関する距離についての課題である。これまで、渡辺は支援団体の側から、調査を行ってきたが、研究者と支援団体との認識のずれが存在する。そこで、研究者と研究対象との距離に対する社会学的な検討が必要となる。

## Summary

### 1. Research method

I participated in the social actions of the NPO Kawasaki Suiyo Patrol (SuiPato). SuiPato is a homeless support group.

### 2. Summary of research progress and results

I participated in social activities against the Kawasaki City the Recycling Ordinance. There are three research areas in this study.

( 1 ) Participatory survey of homeless support groups.

I attended a hearing of the Environment Bureau and listened to the opinions of homeless people. Next, I called for public comments against the Recycling Ordinance. Finally, I discussed with the city council and filed a petition.

( 2 ) Interview surveys and participant observations with homeless people.

I interviewed homeless people who make a living by collecting aluminum cans, who stayed at Kawasaki Station. They have a fragile living base. Those who have just lost their homes, those who cannot use welfare services, and those who have no connection with their families.

( 3 ) Interview surveys and participant observations with the former homeless people.

I conducted a participant observation on the activities of three former homeless groups. Activities of women, Catholics and drug addicts. Through volunteering, they have acquired new roles and are re-entering society.

## Results

( 1 ) I expect that the support environment for homeless support will change after the enactment of the Recycling Ordinance.

( 2 ) For homeless people, collecting aluminum cans is not only a means of cash income but also a channel of community participation. The relationship between the homeless and the local population is not only assault and elimination, but also symbiosis and participation.

( 3 ) Volunteer activities by three former homeless people are being carried out by making the best use of the experience of the field lodging. Their activities are also an opportunity to recapture their lives.

## 3. Issues or problems in future research

( 1 ) There is a shortage of surveys on Kawasaki City Environment Bureau and Kawasaki City Council members involved in environmental administration.

( 2 ) This is an analysis of the living problems of the camp inhabitants who have difficult life problems such as old age, disability, drug dependence, and crime. I would like to continue to investigate how their lives have changed since the enactment of the Recycling Ordinance.

( 3 ) The need for epistemological examination of the research relationship between researchers and research subjects.

## 資源間の補償的關係の検討

### Examining the compensatory relationship between resources

研究代表者 金子 迪大(校友)

研究期間／2021年4月1日～2022年2月15日

キーワード／①資源 Resources

②対人関係 Interpersonal relationships

③社会的再結合理論 Social reconnection theory

④社会的排斥 Social exclusion

⑤摂食行動 Eating Behavior

2021年度交付額／ 560,000円

研究発表／学会および口頭発表

- ・ Kaneko, M., Goto, T., Ozaki, Y., Kuraya, T., & Kutsuzawa, G. (2022). Trait self-control is associated with lower negative affective instability: Findings from an experience sampling survey. *Asian Journal of Social Psychology*.

研究経過および成果の概要

#### 1. 研究方法

人の生存を支える機能は複数存在する。そのような機能のうちひとつが欠落した場合、その機能を回復するように動機づけられる。しかし、常にその機能を回復できるとは限らない。そのような場合、生存できなくなるのであろうか。それとも、他の機能を発揮することにより生存可能性を高めるように動機づけられているのであろうか。本研究では、そのような機能を支える資源に着目し、資源間の関係性に補償関係があるかを検討する。つまり、特定の資源が失われた際、他の資源を欲求するか否かを検討する。

人間には複数の資源が必要であり、検討対象となる資源も複数あるが、本研究では特に対人関係資源と食べ物資源に焦点を当てる。人類は社会の中で進化してきた。そこでは他者と協働することで生存可能性が高まる。同時に、他者と喧嘩をしたりして社会集団から排除されることは生存可能性を低下させる危険性がある。つまり、他者とは資源として利用される。このような進化環境を反映するかのように、人は所属欲求 (need to belong; Baumeister & Leary, 1995) を持つことが知られている。

一方、人は行動のために外界から物質を通してエネルギーを得て、貯蔵し、消費する。このエネルギー取得の主な源泉は食べ物であり、食べ物が枯渇すると死に至る。そのため、人は食べ物という資源を確保するために動機づけられる。

これら二者はマズローの欲求階層説にも登場するものであり、古くから人間において重要な欲求であるということが知られている。欲求間に厳密な階層性があるか否かの議論は別にしても、近年進化的視点から欲求階層説が再検討された際にも、これらの欲求は依然候補に挙げられている (Kenrick, Griskevicius, Neuberg, & Schaller, 2010)。したがって、両欲求の検討は十分に心理学的意義があると考えられる。

両者の関係はこれまでいくつかの研究で検討されてきたが、不十分な点もあり、本研究の実施により詳細な見取り図が描けることが期待される。

## 2. 研究経過および成果の概要

本研究においては、先行研究のレビュー、実証的検討、および論文執筆を行った。本研究の成果として示唆されることとして、対人関係資源の枯渇は食欲の増進に寄与することが挙げられる。具体的には、空腹感や摂食量の増加、日常的な食べ過ぎの傾向の増加である。これらの結果は、特定の資源の枯渇が他の資源への欲求を促していることを示唆していると考えられる。

また、対人的資源の枯渇時に、本当に対人的資源を求めているのかという本研究の前提の一部となる議論についても実証的な検討を行い、現在分析中である。

また、このような資源補償関係の安定性は、制御的に行われ、また安全性のシグナルであるポジティブ感情が安定すると考えられるが、このような検討を行った論文が *Asian Journal of Social Psychology* に受理された (Kaneko, M., Goto, T., Ozaki, Y., Kuraya, T., & Kutsuzawa, G. (2022). Trait self-control is associated with lower negative affective instability: Findings from an experience sampling survey.)。

## 3. 今後の研究における課題または問題点

今後の研究における課題は複数存在する。第一に、食べ物資源が対人関係資源の枯渇をどのような形で補償するかである。ここまでの研究では、対人関係資源が枯渇した時に食べ物資源を求めることまでは分かってきた。このことは生存可能性を高めるであろう。この次の課題としては、食べ物資源を得た時に、対人関係資源がもはや不要となっているか否かである。第二に、逆に食べ物資源の枯渇時に対人関係資源が補償するか否かの検討である。マズローやケンリックの階層説は緩やかなものであるが、その中で食べ物をより基礎的なものとして考えていることから示唆されるように、高次の欲求を低次の欲求が補償することはあり得ても逆はあり得ないかもしれない。実際に、温かな他者に囲まれていても、食べ物が無ければ人は死んでしまう。しかし、部分的な補償は存在するかもしれないので、その検討は必要であろう。第三に、このような補償関係が確立されたならば、他の欲求や資源との間の補償関係も存在するか否かを検討することが重要である。つまり、ネットワーク的な補償関係が存在するのか、ということである。これらの問いに答えることで、人間の行動原理が明らかになるとともに、つらい状況に陥ったとしても回復する道筋を示すことが出来るかもしれない。

## Summary

### 1. Research method

There are multiple functions that support human survival. When one of such functions is missing, we are motivated to restore it. However, it is not always possible to restore that function. In such a case, will survival be impossible? Or are they motivated to improve their chances of survival by performing other functions? In this study, we focus on the resources that support such functions and examine whether there is a compensatory relationship between the resources. In other words, we will examine whether or not people desire other resources when a particular resource is lost. For the purpose, we will investigate interpersonal resources and

food resources.

## 2. Research progress and results

In this study, we reviewed previous studies, conducted empirical studies, and wrote the paper. One of the suggested outcomes of this study is that depletion of interpersonal resources contributes to increased appetite. Specifically, this is an increase in hunger, food intake, and the tendency to overeat on a daily basis. These results may suggest that depletion of certain resources promotes desire for other resources.

An empirical examination of the argument that is part of the premise of this study, whether people really seek out interpersonal resources when they are depleted of them, is also underway and is currently being analyzed.

## 3. Issues or problems for future research

There are multiple issues to be addressed in future research. First is how food resources compensate for the depletion of interpersonal resources. Research to date has shown that when interpersonal resources are depleted, they seek food resources. This would increase the likelihood of survival. The next question is whether interpersonal resources are no longer needed when food resources are obtained. Second, conversely, is the consideration of whether interpersonal resources compensate when food resources are depleted. Although Maslow and Kenrick's hierarchy theory is loose, as suggested by their consideration of food as more fundamental, it may be possible for higher-order needs to be compensated for by lower-order needs, but not vice versa. Indeed, one would die without food even if surrounded by warm others. However, partial compensation may exist and should be considered. Third, once such a compensatory relationship has been established, it is important to consider whether a compensatory relationship with other wants and resources also exists. In other words, does a network-like compensatory relationship exist? Answering these questions may help clarify the principles of human behavior and provide a path to recovery even if one finds oneself in a difficult situation.

アカパンカビにおける DNA 鎖間架橋修復機構と

*SLX4* ホモログの解析

Analysis of interstrand crosslink repair and *SLX4* homologue in  
*Neurospora crassa*

研究代表者 塚田 耕太郎 (校友)

研究期間／2021 年 4 月 1 日～2022 年 2 月 15 日

キーワード／①DNA 鎖間架橋修復 DNA interstrand crosslink repair

②SLX4

③核分裂周期 Nuclear division cycle

④ファンコニ貧血 Fanconi anemia

⑤アカパンカビ *Neurospora crassa*

2021 年度交付額／560,000 円

研究発表／学会および口頭発表

【論文】

1. **Kotaro Tsukada**, Ryouhei Yoshihara, Shin Hatakeyama, and Shuuitsu Tanaka, *Neurospora* SLX4 contributes to replication-coupled interstrand crosslink repair (2022 年投稿予定)
2. **Kotaro Tsukada**, Ryouhei Yoshihara, Shin Hatakeyama, and Shuuitsu Tanaka, Synchronisation of the nuclear division cycle in *Neurospora crassa* (2022 年投稿予定)

【学会発表】

1. **塚田耕太郎**, 吉原亮平, 畠山晋, 田中秀逸, アカパンカビの核分裂周期を同調させた実験手法の確立, 日本分子生物学会第 44 回年会, 12 月, 2021 年, ポスター発表
2. **塚田耕太郎**, 吉原亮平, 畠山晋, 田中秀逸, アカパンカビにおける DNA 鎖間架橋修復関連遺伝子 SLX4 ホモログの解析, 日本遺伝学会第 93 回大会, オンライン開催, 9 月, 2021 年, 口頭発表

研究経過および成果の概要

1. 研究方法

*SLX4* はヒトにおける遺伝性疾患であるファンコニ貧血の原因遺伝子として報告されている。ファンコニ貧血の一連の原因遺伝子には DNA 鎖間架橋 (Interstrand

crosslink, ICL) 修復に関与する因子が多く存在しており, SLX4 もその修復系に関与するとされているが詳細な分子機構は不明である。そこで, 本研究ではモデル生物である糸状菌類アカパンカビを用いて SLX4 の解析を行い, 遺伝学的アプローチによって機能解明を目指した。前年度までに, ゲノムデータベースからアカパンカビの SLX4 ホモログを同定し, ノックアウト株の作製が完了した。さらに, ノックアウト株が ICL 損傷剤であるシスプラチンに感受性を示したことから, アカパンカビにおいても同様に SLX4 が ICL 修復に関与すると考えられた。

まず, アカパンカビ *slx4* のエピスタシス解析を行うため, 既存のノックアウトライブラリーから ICL 修復に関与する候補遺伝子ノックアウト株を数十種類選抜し, *slx4* ノックアウト株との多重欠損株を作製した。これらの株のシスプラチン感受性を定量的に評価することで, 他の遺伝子との上位関係を決定した。

次に, ICL 修復の活性を直接検出するために, サザンブロットティングによる実験系を確立し, 解析を行った。一定時間薬剤処理したアカパンカビのコニディアからゲノムを抽出し, 制限酵素 *BspT104I* で消化した。このサンプルを変性処理し, アガロース電気泳動を行った後にサザンブロットティングを行い, *his-3* 遺伝子座の検出を行った。検出配列内に ICL が生じた場合, 変性せずに泳動度が変わるため, これを指標にして各株の ICL 修復能を評価した。

同定されたアカパンカビ *slx4* は, 種間で高度に保存されている C 末端領域の SAP ドメインと CCD ドメインに加えて, N 末端領域に MLR ドメインが存在することが, ドメイン解析により明らかとなった。そのため, これらの領域を欠損させた変異株を作製し, シスプラチンに対する感受性を測定することで, これらドメインの ICL 修復に対する寄与について検討した。

エピスタシス解析の結果よりアカパンカビ SLX4 が複製と共役した ICL 修復に関与する可能性が示されたことから, アカパンカビの核分裂周期を同調させ, 複製期と非複製期における ICL 修復活性を評価する系の確立を試みた。核分裂周期の進行を阻害させるために, アカパンカビにおいて核分裂周期を G1 期で停滞させることが報告されているピコリン酸を用いた。ピコリン酸処理後のコニディアを洗浄し, 通常の液体培地で培養することで, 核分裂周期を再開させた。経時的にコニディアをサンプリングし, DNA 量, 培養液の濁度, コニディアあたりの核数, さらに細胞周期マーカーである PCNA の発現レベルを測定することで, 核分裂周期の同調及び, 再開後の複製開始のタイミングを確認した。

## 2. 研究経過および成果の概要

他種生物で報告されている ICL 修復関連遺伝子のホモログとアカパンカビ *slx4* のエピスタシス解析を行ったところ, 特にヌクレオチド除去修復に関与する *mus-43* との二重欠損株で, シスプラチンに顕著に高い感受性を示すことが明らかとなった。一方, 同じヌクレオチド除去修復関連遺伝子である *mus-38* との二重欠損株は相乗的な感受性

を示さず、*slx4* は *mus-38* の下位で機能することが示された。相同組換えに関与する *mei-3* および *mus-11* とのエピスタシス解析の結果、*mei-3* とは同じエピスタシス関係ではなかったものの、*mus-11* の下位で機能することが明らかとなった。これらのことから、アカパンカビにおける *slx4* は *mus-38* や *mus-11* が関わる相同組換え経路（一般的に *RAD52* 依存的経路と称される）において ICL 修復に関与することが示唆された。また、サザンブロットィングによる ICL 修復活性の測定を行ったところ、野生株に対して *slx4* ノックアウト株は実際に ICL 修復能に異常が見られることを確認した。ドメイン欠損株の解析においては、MLR, SAP, 及び CCD それぞれのドメインを単独で欠損させた株と比較して、これらすべてのドメインを欠損させた株はより顕著にシスプラチン感受性を示した。この結果から、それぞれのドメインが SLX4 の ICL 修復活性に独立して寄与していることが示唆された。SLX4 に関するこれらの成果は、2021 年 9 月の日本遺伝学会で発表した。また、原著論文として現在投稿準備中である。

ピコリン酸を用いたアカパンカビの核分裂周期の同調実験では、条件検討を行い実験系の確立に成功した。この実験により、複製と共役した修復系と非共役した修復系の活性を測定することが可能となった。本成果は本研究で初めて実証されたことであり、2021 年 12 月の分子生物学会にて発表した。また、近日中に原著論文として報告する予定である。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

アカパンカビにおける SLX4 はヌクレオチド除去修復と異なる経路で ICL 修復に関与することから、複製と共役した ICL 修復経路で主に機能すると考えられるため、今後は確立した実験系を応用して SLX4 の複製と共役/非共役した ICL 修復活性について詳細に検討していきたい。SLX4 は多くのヌクレアーゼと相互作用して機能することが報告されているため、これを検証するため免疫沈降によってタンパク質間相互作用を行う予定であったが、未だデータを得られていない。現在までに株の樹立までは完了しているため、これらのデータも併せて報告したい。

## Summary

SLX4 has been reported as the responsible gene for Fanconi anemia which is a genetic disease in humans. There are many factors involved in the DNA interstrand crosslink (ICL) repair among the responsible genes for Fanconi anemia, and SLX4 is also considered as one of the ICL repair proteins, but the detailed molecular mechanism is yet uncovered. In this study, we analysed SLX4 using the filamentous fungus *Neurospora crassa* as a model organism, to elucidate its function by using a genetic approach. In the previous year, SLX4 homologue was identified from the genome database and knockout strains were generated. Furthermore, the *slx4* knockout strain showed sensitivity to cisplatin, an ICL-inducing agent, suggesting that SLX4 is similarly

involved in the ICL repair in *N. crassa*.

Epistasis analysis of homologs of ICL repair-related genes reported in other organisms and *N. crassa slx4* revealed that the double-deficient strain with *mus-43*, which is involved in nucleotide excision repair, was markedly more sensitive to cisplatin. In contrast, double-deletion with *mus-38*, another nucleotide excision repair-related gene, did not show synergistic sensitivity, indicating that *slx4* is epistatic with *mus-38*. Epistasis analysis with *mei-3* and *mus-11*, which are involved in homologous recombination, showed that *slx4* functions under the *mus-11* pathway, although not in the same epistasis relationship with *mei-3*. These findings suggest that *slx4* of *N. crassa* is involved in ICL repair in a homologous recombination pathway regulated by *mus-38* and *mus-11* (commonly referred to as the *RAD52*-dependent pathway). ICL repair assay by using Southern blotting analysis confirmed that the *slx4* knockout strain showed an abnormality of ICL repair ability compared to wild-type strain. The *Neurospora* SLX4 has predicted functional domains including MLR, SAP, and CCD. In the analysis of domain-deficient strains, those lacking all the three domains were more significantly sensitive to cisplatin compared to strains lacking each of these domains alone. These results suggest that each domain contributes independently to the ICL repair activity of SLX4.

In conclusion, we have established the function of SLX4 in *N. crassa*. Further studies including protein-protein interaction by using co-immunoprecipitation and nuclear division cycle analysis are required to uncover more detailed roles in ICL repair.

# 巨大ブラックホールへのエネルギー供給メカニズムの観測的解明

## Observational studies of super massive black hole fuelling mechanism

研究代表者 萩原 喜昭

(文学部 国際文化コミュニケーション学科)

研究期間／2021年7月1日～2022年3月15日

キーワード／① Active Galactic Nuclei (活動銀河核)

② Super massive black hole (超巨大ブラックホール)

③ Dense molecular gas

④ Maser

⑤ Radio Interferometry (電波干渉計)

2021年度交付額／495,000円

研究発表／学会および口頭発表

査読論文

Hagiwara, Y., Horiuchi, S., Imanishi, M., and Edwards, P. G., “Second-epoch ALMA Observations of 321 GHz Water Maser Emission in NGC 4945 and the Circinus Galaxy”, 2021, The Astrophysical Journal, vol. 923, 251 (10pp)

学会および口頭発表

1. 萩原喜昭, 今西昌俊, 堀内真司, Philip G. Edwards “ALMA による近傍活動銀河核の水メーザーの連続観測”, 日本天文学会 2022 年春季年会, 2022/3/2-5, 広島大学 (オンライン開催)
2. 萩原喜昭 “Sub-millimeter VLBI Observations of Extragalactic Maser”, ALMA Workshop 2021: ALMA によるミリ波/サブミリ波 VLBI のサイエンス, 2021/12/20, 22, 国立天文台 (オンライン開催)

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

莫大な光度で輝く活動銀河核(AGN)のエネルギー源は、AGN 中心部にある太陽の百万倍以上の質量をもつ超巨大ブラックホール(SMBH)に引き付けられたガスや塵が落ち込んでいく際に生じる重力エネルギーの解放であると理解されている。中心領域の物質の運動を、高密度分子ガスで直接撮像することにより、ガスがどこでどのように角運動量を失い、SMBH へ物質が降着していくのかを観測的に実証することが本研究の目的である。観測装置としては、南米チリ共和国 標高 5000 メートルのアタカマ砂漠に建設された電波干渉計、ALMA(アタカマ大型ミリ波サブミリ波干渉計)の 0.1 秒角台の空間分解能を利用した。ブラックホールからの距離が 1-10 パーセク台(ブラックホール半径の数十万-数百万倍に相当)の広大な領域内の星間分子ガスで生じる強力なメーザー放射(可視光レーザーの電波版)を利用して、ガスの空間分布・3次元速度場を高い分解能と感度で撮像することにより、中心領域のガスの運動を空間的

に分解して運動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

ALMA の観測対象として、活動銀河核を中心に擁しガスが豊富で星形成活動が活発な銀河系近傍銀河 2 天体、Circinus 銀河及び NGC 4945 を選択した。両銀河のそれぞれの中心領域から放射される、波長 0.7mm (321 GHz) 帯のサブミリ波水(蒸気)メーザーを 0.3 秒角程度の空間分解能で観測した (大体 6 pc (パーセク)の実距離に相当)。

一方、オーストラリアの Tidbinbilla 70m 鏡を利用して 2012-2017 年の期間、数回に渡り、波長 1.3cm (22GHz) 帯の水(蒸気)メーザーの変動をモニターした。その結果、以下のことが本研究で新たに解明された。

- 1) これまで知られていなかった系外銀河中の 321 GHz 水メーザーの強度変動は、22 GHz メーザー同様に激しい変動を示すことが分かった。Circinus 銀河では強度変動比は約 2-3 倍であるが、NGC 4945 ではさらに大きいことが分かった。
- 2) Circinus 銀河中心部に 321GHz 水メーザーにより約 100 km/s の速度勾配と速度分散が検出された。速度勾配は、先行研究で明らかにされているほぼケプラー回転運動するガス円盤をトレースする 22 GHz 水メーザーの速度勾配の方向と矛盾しないことが分かった。速度分散はメーザー放射領域の一部で有意に観測され、銀河速度に対して blue-shift している速度範囲でのみ分散(約 140 km/s)が大きい。速度分散の解釈としては定性的ではあるが、321GHz メーザー放射の起源も 22 GHz メーザーと同様に回転円盤を仮定すると、観測者に対して手前側に回転する側の円盤が周囲のガスと衝突した際に生じた turbulent なガスを見ているのではないかと考察した。
- 3) Circinus 銀河に検出された銀河系統速度に対しドップラー偏移しかつ強度変動が大きい速度成分(銀河の系統速度に対して blue-shift する成分)は、22 GHz 水メーザーのスペクトルなどと比較した結果、銀河の中心部から外側へ向かうガスのアウトフロー成分であると解釈した。また 22GHz メーザーとほぼ同期して強度変動をしている様子も推定される。水素ガス密度や温度などの励起条件が、センチ波帯の 22GHz メーザーより高いサブミリ波メーザーは、降着円盤外縁部のより内側の構造やガスの運動をトレースしていると考えられる。ブラックホールの周囲に分布するガスや塵は回転しながら中心のブラックホールへと落ち込んでいく際に、円盤(「降着円盤」)を形成することが推定されているが、サブミリ波メーザーをプローブとして利用すれば、その降着円盤の半径の 1000-10000 倍程度の領域の高温・高密度の領域を調べることが可能ではないかと考えている。しかし、Circinus 銀河に分布する 321GHz 水メーザー源の空間分布や運動を詳細に調べるためには、さらに 1 桁程度(0.03 秒角以下：およそ 0.6pc に相当)に空間分解能を改善した観測が必要である。VLBI(超長基線電波干渉計)の撮像観測により、22GHz 水メーザーでは 1pc 以下のスケールで、その分布から回転円盤構造が明らかになっているからである。以上の研究を継続することで、今後 AGN の中心領域から SMBH へ、どのように物質が移動するのか、fuelling 機構の解明に近づくことが期待される。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

ALMA の観測時間提案は国際的にオープンであり研究者であれば誰でも応募できるため、重要天体に対する観測時間・希望観測周波数帯の獲得は熾烈を極めている。本課題に対象とする天体への追加観測提案は審査で却下され、競合する他グループにより観測が実施された。一方、原則としてデータ配布後 1 年後には観測データは誰にでも公開されるので、公開後にデータにアクセスして研究を進めることは可能である。しかし、データ公開前に重要な観測結果は学会等で公表・出版される可能性が大きい。ALMA に限らず、世界最高性能の望遠鏡時間を獲得するためには今後も、観測提案競争を勝ち抜く強力な観測提案書を作成することが求められていると言える。

### Summary

It is well known that 22 GHz H<sub>2</sub>O masers have proven itself to be a promising tool for tracing the sub-parsec structures and kinematics of dense molecular gas of active galactic nuclei (AGN) and estimating a dynamical mass of a super massive black hole in host galaxies. The H<sub>2</sub>O maser whose isotropic luminosity is a million times larger than that in Galactic star forming sites is named as megamaser, which is exclusively found in the nuclear regions of AGN and classified as nuclear maser.

H<sub>2</sub>O masers at sub-millimeter (sub-mm) wavelengths could be more powerful tool for probing the inner sub-parsecs of AGN. Using ALMA (Atacama Large Millimeter/submillimeter Array) at 0.3" angular resolution together with Tidbinbilla 70m telescope, we observed sub-mm H<sub>2</sub>O masers in the 321 GHz transition toward the center of Circinus galaxy and NGC 4945, which resulted in the detection of a distinct velocity gradient and dispersion of the highly intensity-variable maser in the center of Circinus galaxy. The velocity gradient is seen largely along the axis of a rotating molecular gas disk identified on sub-parsec scales with 22 GHz maser at milliarcsec resolution using VLBI (Very Long Baseline Interferometer). A value of the velocity gradient is about 110 km/s over about 12.5 pc, corresponding to the gradient of 8.8 km/s per one pc, which is very small. Moreover, the direction and velocity range of the maser are consistent with those traced by the 22 GHz maser in the earlier study using VLBI.

Since the spatial distribution of the maser has not been well resolved at the resolution in our study, there is no straightforward interpretation of the velocity gradient, however we speculate that the masers in the both 22 GHz and 321 GHz transitions could trace same gas or materials in the galaxy, in the line of sight, considering the similar velocity range, Doppler-shifted velocity components appearing at the same velocity, and timing of intensity variability of the masers in both transitions.

Overall, our new results obtained in this study suggest that the 321 GHz could trace gas kinematics of an outer part or extension of the sub-parsec scale disk revealed by the 22 GHz

maser. It is thus worth observing the dense molecular gas maser in AGN using sub-mm water masers that are inverted at higher density and temperatures in the inner sub-parsecs of nearby active galaxies in order to study the AGN fueling mechanism. Further observations at a higher angular resolution should be able to reveal the origin of the gradient and dispersion.

## An analysis of MS Advocates 19.2.1 with special reference to *Sir Orfeo*

研究代表者 十重田 和由(経済学部国際経済学科)

研究期間／2021年7月1日～2022年3月15日

|                       |                           |
|-----------------------|---------------------------|
| キーワード／① 『オルフェオ卿』      | <i>Sir Orfeo</i>          |
| ② MS Advocates 19.2.1 | MS Advocates 19.2.1       |
| ③ オーヒンレック写本           | The Auchinleck Manuscript |
| ④ 中英語                 | Middle English            |
| ⑤ 中英語ロマンス             | Middle English romance    |

2021年度交付額／ 980,000円

研究発表／学会および口頭発表

‘古典から現代における冥界’、 『経済論集』第47巻2号、共著 (pp. 148-150 担当)

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

本研究は『オルフェオ卿』の成立について探る試みとして、同作品に現存する3つの異写本 (MS Advocates 19.2.1, MS Ashmole 61, MS Harley 3810) を分析・比較し、パラレルテキストを編纂するプロジェクトの序章の役割を果たす。本プロジェクトでは National Library of Scotland が所蔵する MS Advocates 19.2.1 に主眼をおき、そこに収容されている *Sir Orfeo* の源流を明らかにすることを最終目標とし、その作品の形成および背景について調査を行うことであることが目的であった。以下の研究手法を取った。

1. *Sir Orfeo* に関連する先行研究・関連研究について調査を行う。*Sir Orfeo* の成立を探るうえで、同作品の成立に大きな影響を与えたと考えられている Marie de France による作品をはじめとする、フランス南部の作品群 Breton lai と *Sir Orfeo* との比較は必要不可欠である。
2. 紙媒体で現存するファクシミリ版 (*The Auchinleck Manuscript: National Library of Scotland Advocates MS 19.2.1*) を利用し、写本の分析を行った。
3. 近年構築された National Library of Scotland による MS Advocates 19.2.1 のデジタル版 (<https://auchinleck.nls.uk/>) を参照し *Sir Orfeo* の写本の文字起こし、およびテキストの分析を行った。この作業により再確認されたことは、これまで刊行されている A.J. Bliss による校訂版 *Sir Orfeo* (1966) に収容されている MS Advocates 19.2.1 (別称 The Auchinleck Manuscript) の校訂版が写本に忠実に再生されていることであった。
4. 上記 1, 2, 3 の作業によって明らかになった事象を、MS Advocates 19.2.1 に収納されている他の作品と比較し、同写本における *Sir Orfeo* の独自性を認識することにより、*Sir Orfeo* の成立過程について考察を行う。

## 2. 研究経過および成果の概要

本プロジェクトで採用された研究手法は、写本に収容されている作品の分析および、それらの作品が持つ *Sir Orfeo* との関連性についての調査である。*Sir Orfeo* にとどまらず、写本に収容されているその他の作品と *Sir Orfeo* との関連性について考察することにより MS. Advocates 19.2.1 の形成および、*Sir Orfeo* の形成について洞察を試みることを最終目標であった。MS Advocates 19.2.1 のデジタル版を National Library of Scotland のウェブサイトから入手し、収容されている作品の背景・特性・*Sir Orfeo* との関連性について考察および分析を行った。2021 年度の研究では MS Advocates 19.2.1 の写本に忠実に、文字起こしすることに主眼を置いた。その作業はこれまでほぼ完了している。一方、MS Advocates 19.2.1 の写本のコンテキスト中での *Sir Orfeo* の持つ独自性に関する考察・分析には着手したものの、さらなる研究・調査を要する。

## 3. 今後の研究における課題または問題点

『オルフェオ卿』はギリシャ神話のオルフェウスへと遡るが、両者を比較した場合、多くの相違点がみられ、ギリシャ神話オルフェウスから『オルフェオ卿』への系譜は明らかになっていない。本研究により、その原点は明らかでない『オルフェオ卿』の作品としての成立に光を当てることが期待された。中英語からギリシャ神話までのつながりについては、より長期的かつ継続的な研究が必要となる。

前述したように、本プロジェクトは『オルフェオ卿』の成立について探る試みとして、同作品に現存する 3 つの異写本を分析・比較し、パラレルテキストを編纂するプロジェクトの序章の役割を果たす。本プロジェクトでは National Library of Scotland が所蔵する MS Advocates 19.2.1 に収容されている *Sir Orfeo* の分析を行い、さらに同写本に収容されている他の作品の分析および比較を行う必要がある。さらに長期的には、現存する他の写本 MS Ashmole 61, MS Harley 3810 に収容されている *Sir Orfeo* の分析および、同写本中での位置づけについての研究が必要となる。

当初予定していた National Library of Scotland の訪問は遂行できなかったが、2022 年度中に実施することを予定している。

## Summary

The aim of this project was to shed light on the making of Middle English Romance, *Sir Orfeo* by focusing on the analysis of the composition of the version contained in MS. Advocates 19.2.1 housed in the National Library of Scotland. MS Advocates 19.2.1 is one of the existing three manuscripts that contain *Sir Orfeo*, and MS Advocates 19.2.1 is considered to preserve the text features the original *Sir Orfeo* would have had. The analysis of MS Advocates 19.2.1, thus, was hoped to yield information that would help find the foundation the making of *Sir Orfeo*.

The research comprised of three steps: 1. analysis of foregoing research on *Sir Orfeo*, 2. analysis of *Sir Orfeo* with reference to the facsimile edition of MS. Advocates 19.2.1, and 3. analysis of *Sir Orfeo* with reference to the digital manuscript of MS. Advocates 19.2.1. After the analyses of the facsimile and digital editions the accuracy of the transcription by Bliss (196) was confirmed. As far as the information that would elucidate the history of the making of *Sir Orfeo*, the analysis of MS. Advocates 19.2.1. did not offer clues. It is hoped further research of

the other two manuscripts, MS Ashmole 61 and MS Harley 3810 would provide insights into the history Middle English *Sir Orfeo*.

# インセンティブ報酬の意義と諸規制の影響

## A Study of Incentive Compensation Affected by Regulations

研究代表者 金子 友裕(経営学部会計ファイナンス学科)

研究期間／2021年7月1日～2022年3月15日

キーワード／① インセンティブ報酬

② 役員給与

③ コーポレートガバナンス・コード

④ 令和元年会社法改正

⑤ 業績連動給与

2021年度交付額／ 700,000円

研究発表／学会および口頭発表

税務会計研究学会(特別委員会最終報告)(2021年11月27日、西南学院大学(Zoom))で報告

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

理論研究

### 2. 研究経過および成果の概要

本研究は、税務会計研究学会(特別委員会最終報告)(2021年11月27日、西南学院大学(Zoom))で報告し、研究内容は最終報告書としてまとめている。なお、この研究成果を再整理し、2022年6月頃に白桃書房より書籍(仮題『インセンティブ報酬の会計と税法』)として出版する予定になっている。この書籍の編著者となるが、執筆部分は、第1章「インセンティブ報酬の概要」及び第17章「インセンティブ報酬の会計と税法の検討に関する総括」であり、第17章は諸規制の観点からインセンティブ報酬のあり方を総括する内容になっている。

そして、研究の概要を、この書籍の構成(IV部構成)に従って示せば次のようになる。

本研究では、歴史的経緯やアンケート調査を通じた実態把握等を行い、議論の背景となる現状を明らかにしようとした。Covid-19の影響等もあり、この野心的な試みの全てが成功した訳ではないが、先行研究のレビューも含め一定の現状把握を行った(第I部)。

そして、会計や税法に関しては、各制度(規制)の目的等を意識しつつ検討を行っている。つまり、会計上の検討(第II部)では、まず、現行の我が国の企業会計の特徴として、リスクから解放された利益の計上を示している。この会計的な特徴を踏まえて現行の会計基準の確認を行った結果、現行の会計基準には一定の前提が置かれているとする。そして、この一定の前提を変化させた場合に、会計処理等はどのように変化するかを示し、その結果が我が国の企業会計の特徴との整合性があるかを検討するという方法が用いられている。つまり、現行の会計基準で置かれている労働サービスそれ自体に着目した擬制ではなく、金銭報酬と従業員等の出資の擬制を行った場合の会計処理等の検討を行い、キャッシュフローのない取引をできる限りキャッシュフローに結び付けられる等の点で会計の目的に合致しうる可能性を示している。

新たな会計基準の開発も検討されており、全体として整合的な会計基準を設計するようしなければならない。会計基準の開発には、インセンティブ報酬以外の取引も考慮するようになり、本書で示した検討はあくまでも限られた範囲での検討ということになるが、インセンティブ報酬という範囲では整合的な会計処理が考えられることを示したものである。

そして、税法上の検討（第Ⅲ部）では、次のような検討が行われている。税法においては、課税の公平が強く考慮されていることは議論を待つまでもない。このような一般的な理解に加え、税法上の給与概念や法人税法における役員給与税制のあり方を吟味した。これにより、インセンティブ報酬に対する税法上の取扱いの基礎的な考え方を整理している。ここでは、役員給与に限定せずに法人税法上の給与概念を所得税法における給与所得の異同等から検討している。そして、法人税法における役員給与税制について、恣意性の排除という考え方の存在感が増している一方で、課税の公平、あるいは課税上の弊害に加えて、費用性の否定という考え方が根強く残っているという特徴を示している。

このような基礎的な検討に加え、インセンティブ報酬に関する課税の事例的検討を行い、現状の把握を行っている。事例的な検討は、いわば点の議論であり、一般化・普遍化は射程を含めて考えたとしても限界が存在する。しかし、現行の法人税法の特徴を明らかにするために格好の素材であり、また、現行の法人税法に内在する課題を浮き出させるものとなろう。具体的には、事前確定届出給与につき、当該職務執行期間の全期間を一個の単位として判定すべきという判決や利益連動給与（現行では業績連動給与）につき、その算定方法が客観的なものとはいえないとした採決を通じて、現行のインセンティブ報酬に対する法人税法の課税の現状や課題を示している。

また、インセンティブ報酬のスキームの中から、株式交付信託における法人税法の取扱いを取り上げ、法人税法における引当金の問題との関連を示し、役員給与のみならず法人税法の諸規定と複雑に関連する問題となりうることを示されている。

そして、このような整理や現状把握の上で、インセンティブ報酬に対する課税の中心的論点となる業績連動給与の検討を行っている。ここでは、制度間の影響を強固に捉えたと仮定し、コーポレートガバナンスを踏まえたインセンティブ報酬としての最適な業績連動の検討を行い、誤った財務諸表の数値に基づいて水増しされた支給済みの業績連動報酬を会社に強制返還させる仕組みであるクローバック条項の適用可能性を提示している。そもそも、法人税法がコーポレートガバナンスを考慮する必要があるかという問題はあるが、業績連動給与で要求される客観性を開示という手段で担保するのであれば開示に関する制度との法人税法の関係をつなげる必要があり、この関連を意識するのであれば必要な検討となろう。

さらに、業績連動給与には、「適正性」と「透明性」の確保を要すると考えられる。このため同族会社にも業績連動給与の適用を認めるべきとするのであれば、これらの要件の充足が必要になる。そこで、「適正性」の確保については、社外監査役等の利用の促進等、「透明性」の確保については、同族会社における決算公告制度の拡充と利用促進等が提示されている。なお、この指摘については、批判的な検討も行われており、所有と経営の分離が問題となる可能性の指摘や適正性の確保の仕組みについて実効性の問題に関する指摘も示されている。実際に立法的な解決を模索するのであれば、このような批判的な指摘を踏まえたさらなる提案が必要になるであろう。課税の公平という観点からは、同族会社に業績連動給与の適用がないのは、不公平となっている可能性が否定できないが、同族会社の特性（外形的には、所有と経営が未分離）や実効性（有効性）や実行可能性を考慮した場合に、どのような考えが生じうるかを検討したことに意義があるものと思われる。法人税法の規

定に関するものであるから、法人税法の中で解決するというだけではなく、現行の業績連動給与が上場企業を前提とした開示制度を利用しているように、中小企業が多いと考えられる同族会社にも実行可能な開示制度とともに検討する可能性がありうるものと思われる。

最後に、これらの検討に基づいた提言や要約を行っている（第IV部）。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

本研究のような制度を取り上げた理論的検討では、制度の目的等を考慮する必要があり、その制度の目的等をどのように位置付けるかにより解は異なることになる。ましてや、制度間を含めて検討するのであれば、複雑系にならざるを得ない。このような中で、本研究では、インセンティブ報酬という取引を基軸に、諸制度のあり方を検討している。この研究成果の一部が制度化の参考になることもあるかもしれないが、その制度化による生じる新たな影響を再検討する必要があり、これによりさらに諸制度のあり方が変化することになるという点で、制度から離れたインセンティブ報酬に関する検討等には普遍性を見出しうる可能性があるが、諸制度を含めた検討は現時点における一定の成果にとどまるという研究の限界がある。

### Summary

Recently many companies applied incentive compensation. We can find many types of Incentive compensation, e.g., stock option, restricted stock, restricted stock unit, performance share, performance share unit, performance cash, phantom stock, stock appreciation right, and more. The reasons why Incentive compensation has many types are considering directors' compensation policy of each company and complying with regulations.

The regulations of incentive compensation are corporation law, corporation tax law and accounting standards (regulated by financial instruments and exchange law) in Japan. These regulations affect mutually. In this study, we find the modified Corporate Governance Code is start point of changing regulations of incentive compensation.

And we analyze incentive compensation from the viewpoint of corporation law, corporation tax law and accounting standards. For example, in corporation tax law, expenses of incentive compensation are not included in expenses for small-medium entities. We propose the treatment of including in expenses by incentive compensation for small-medium entities. The treatment must be endowed with suitability and transparency.

Our study reported at annual meeting of the Japan Tax Accounting Association and issued the final report of special committee in November 2021.

Furthermore, we will publish the results of this study as a book in June 2022. The book's title is "Accounting and Law of Incentive Compensation". The book consists of 4parts 17chapters. I consider from the viewpoint of the regulations in Chapter 17.

宥和行动としての言語—体系的価値観モデルを手掛かりとする国際比較

## Language as appeasement behavior -International comparison on the systematic values model

研究代表者 片山 美由紀 (社会学部 社会心理学科)

研究期間/2021年7月1日~2022年3月15日

キーワード/①価値モデル Values model

②円環構造 Circular structure

③多変量解析 Multivariate analysis

④抽象名詞 Abstract noun

⑤翻訳 Translation

2021年度交付額/ 85,000 円

研究発表/学会および口頭発表

東洋大学社会学部紀要 2022年 通巻第110集 への掲載 価値観モデルの検討 (予定)

日本心理学会第86回大会発表 2022年 体系的価値観モデルの測定法開発 (予定)

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

本研究は、体系的価値観モデルをもちいた国際比較研究の準備的研究をおこなうものである。限られた予算を有効に活用するため本研究では、研究タイトルの内容全体を解明するための、最初のステップの範囲内を対象とした。

価値観モデルは多数あるなか、本研究の中心的対象とする体系的価値観モデルはシュワルツ (S. H. Schwartz) の価値観モデルの特徴は (1) 数理モデルをもちいて価値観構造の全体が検証されている、(2) 繰り返し理論的な価値観構造 (円環構造) が検出され妥当性が検証されてきた、(3) 円環構造が検出されなかった研究もあるものの、少なからぬ国や地域のデータにおいて円環構造が析出されている点である。世界価値観調査 (<https://www.worldvaluessurvey.org/wvs.jsp>) にも採用され様々な知見を提供しており、それぞれ1編の論文が数千編の論文において引用されている。

### 2. 研究経過および成果の概要

報告者は既に数年来当該の価値観モデルを用いた研究を進めてきた (Caprara, Vecchione, Schwartz, Katayama ほか 2017 および 2018, *Cross-Cultural Research*)。これらの論文で使用した価値観測定項目は40項目からなる尺度 (PVQ) の邦訳版であった。近年はさらに多くの項目 (57項目) から構成される測定項目も公刊されている (PVQ-RR)。理論に基づく測定の精緻化を目的とすれば測定項目数増加は有利である。しかし回答してくださる方々に視線を移せば、同様質問項目へ繰り返し40ないし57度回答する心理的疲弊は当然予想される。項目数が少ない方が回答負担は少なく、今後さらに普及するはずのオンライン調査での活用も期待できる。

他方、少数項目の研究例をみれば、世界価値観調査におけるシュワルツ価値観モデル尺度は 10 ないし 11 項目から構成される。数十か国の国際比較により貴重な情報を提供する調査ではあるが、この 10 (11) の項目群では、シュワルツが理論上想定する環構造が得られにくいことが指摘されている。1 概念 (1 価値) をわずか 1 項目で測定し、11 項目の多次元尺度構成法で 10 価値観を円環で析出することがそもそも困難であることは自明である。

そこで本研究ではこれらの中に位置する PVQ-21、つまり理論上の 10 価値を析出でき、かつ回答者の負担がある程度低い 21 項目からなる測定尺度を研究のツールとして適切と判断し、邦訳の無いこの日本語版作成を試みた。

本研究では調査会社の登録モニター (15 歳から 59 歳) を対象として、サンプル数は少ないながら複数回の調査を行った。21 項目の測定により理論上想定される 10 価値の円環構造を析出するためには 1 つ 1 つの日本語語句の選択が結果に影響する。各調査において 21 項目内の日本語の単語をさまざまに入れ替えながら価値構造の分析をおこなうことで明らかになった事柄はつぎのようである。

まず尺度の原版である英語の項目内にある 1 つの抽象的な名詞は、一般的に英和辞書・和英辞書に記載される 1 つの日本語の抽象的な名詞に単に置き換えることによっては、元尺度の適切な翻訳とはみなせないことがデータの多変量解析により明らかになった。それゆえ、英語版内にある抽象的な名詞はそれぞれ、それが理論上意味する内容を読み取りながら、説明的な日本語により訳出することが適切であることが示された。このような訳出上の留意事項は、より項目数の多い 57 項目版および 40 項目版よりもさらに、本研究が対象とする 21 項目版では重視すべき事柄であると判断される。

また年代層 (年齢層) 別に価値観構造の分析をした場合、理論上想定される円環構造とは異なる構造が得られることも明らかになった。この原因は主に、回答者を層別化することによる分析可能サンプル数の減少に起因するものと推定される。しかしほかの可能性としては、少なくとも日本においては、年代ごとに価値観構造が異なる構造をなすことも考えうる。関連していえば、シュワルツらは、西暦 2000 年以前と以降では、多数の国々においてユニバーサリズム(Universalism)価値観と人助け (Benevolence) 価値観が、円環構造のなかでの位置づけにおいて変化を起こしている可能性を示唆している (Schwartz, et al. 2012)。ただ本研究の結果に関してはいずれにせよ、回収できたサンプル数が多くないため、明確な結論を出すことは困難であり、今後のさらなる調査および分析が待たれるところである。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

本研究は、体系的価値観モデルの円環構造が日本において析出できるかの検討を、幅広い年齢層の回答者データに対しておこなった。本研究では、調査会社モニター登録者の回答を得ることで、心理学界でしばしば問題として指摘される、大学生対象の心理学ではなくより幅広い年齢層からの回答を収集し分析することができた。一方で、予算の制限のなかごく少数のサンプルが分析対象であったことは、得られた結果の安定性判断の点では弱いことも否定できない。今後はより多くのサンプルを対象とする分析をおこなうことが望ましい。

## Summary

This is a preparatory study for an international comparative study on the Systematic Values Model. To make the most efficient use of a limited budget, this study conducted the first steps of

the research to elucidate the entire content of the study's title.

This study is based on S. H. Schwartz's basic values model although there are many other value theories. The features of Schwartz's values model are as follows. (1) The entire value structure has been confirmed using a mathematical model. (2) Theoretical value structures (circular structures) have been repeatedly detected and validated. (3) The circular structure has been found in data from many countries and regions though some studies did not find it.

There are 40-item and 57-item versions of the scale that measure this theory. However, the burden on the respondent is not light with them. A 21-item scale would be more suitable for use in online surveys. Surveys of college students are often conducted in the study field of psychology. Student samples are limited in their age and years of education. In contrast, the responses from the online survey can be from more general samples than college students and may be useful for reaching more general findings.

Multiple surveys, although with a small sample size, were administered to registered monitors (aged 15-59) of the survey company. Data analysis revealed that special attention is to be required when translating a single abstract noun within original English items into Japanese. With the multivariate analysis of the data, it was revealed that simply replacing an original word with one Japanese abstract noun cannot be considered appropriate.

When the value structure is analyzed by age group, it has become clear that the structure differed from the circular structure assumed in the theory. This is presumably due to the reduction in the number of samples available for analysis. Another possibility, however, is that the value structure may differ by age groups. It is difficult to conclude from a small amount of data. In the future, it would be desirable to analyze a larger sample.

道徳基盤と伝統的価値観が組織内の主張的発言に及ぼす影響についての

## 社会心理学的研究

# Social Psychological Study on the Influences of Moral Foundations and Traditional Values on Assertion in the Institute.

研究代表者 北村 英哉(社会学部社会心理学科)

研究期間／2021年7月1日～2022年3月15日

キーワード／①伝統的価値観 Traditional Value  
②道徳基盤 Moral Foundation  
③違反行動 Misconduct  
④主張性 Assertiveness  
⑤権威主義 Authoritarianism

2021年度交付額／ 750,000円

研究発表／学会および口頭発表

日本心理学会ポスター発表(2022年9月予定)、SPSPポスター発表(2023年1月予定)。

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

企業のコンプライアンスを高めるための方策を見出す研究の一環として、不正行動が生起する要因、不正容認の雰囲気醸成される基盤と検討する研究計画を立てた。これらを検討するために、企業の不正や、組織風土の文献を検討した。これらに影響する伝統的価値観とモラルを検討するために、価値観、宗教心、モラルなどに関わる文献や論文を収集し、検討を加えた。

不正を抑制するためには、誤りがあつた歳に告発や主張が必要とされるが、こうした主張性に関わる過去の先行研究を検討し、主張性に関わる個人差要因を検討した。主に伝統的価値態度を有するほど、主張性が弱いという傾向性が日本において見られた。

伝統的価値観と道徳基盤が、企業内での主張行動および不正容認や不正行動に及ぼす影響を検討するために、次に測定尺度を吟味した。これまで使用してきた伝統的価値観の尺度から、本研究に関連の深いものを精選し、特に権威主義的傾向を取り上げることにした。2021年10月に行った予備調査によって、尺度項目の一貫性が得られる見込みが高いことを確認した。さらに、道徳基盤尺度として、Graham et al.(2011)の日本語翻訳である金井(2013)を用いた。企業内の不正については、不正行動、不正容認とも、岡本・今野(2006)の尺度を用いた。主張性については、高濱・沢崎(2013)の作成した非主張性尺度を利用した。

2022年1月にクロスマーケティング社を通して、アメリカのデータ400名を得た。ウェブ調査を行い、主として正規社員をターゲットとして、スクリーニングをかけ、女性200名、男性200名(20-59歳、平均年齢39.2歳)のデータを得た。

## 2. 研究経過および成果の概要

尺度を構成するにあたって、アメリカでも日本でも同様な質問の意味が解釈されるように、翻訳を検討し、特に日本で作成した伝統的価値観が比較的正確に海外でも伝わるように工夫を行った。手持ち（先に検討を始めていた）日本のデータと比べると、不正行動のレベルは変わらず、違反容認傾向と主張性については、アメリカの方が高かった。

| 変数名  | 有効 N | 平均値   | 中央値   | 標準偏差  | 分散    | 最小値   | 最大値   |
|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 権威主義 | 400  | 4.284 | 4.250 | 1.259 | 1.586 | 1.000 | 7.000 |
| 非主張性 | 400  | 2.578 | 2.500 | 0.943 | 0.890 | 1.083 | 4.917 |
| 不正行動 | 341  | 1.997 | 1.250 | 1.393 | 1.940 | 1.000 | 5.750 |
| 違反容認 | 400  | 2.821 | 2.833 | 0.843 | 0.711 | 1.000 | 5.000 |
| 信頼   | 400  | 3.128 | 3.167 | 0.899 | 0.808 | 1.000 | 5.000 |
| 被影響性 | 400  | 2.615 | 2.800 | 0.729 | 0.531 | 1.000 | 4.600 |
| ケア   | 400  | 4.244 | 4.333 | 1.058 | 1.119 | 1.000 | 6.000 |
| 公正   | 400  | 4.125 | 4.167 | 0.963 | 0.927 | 1.333 | 6.000 |
| 忠誠   | 400  | 3.714 | 3.667 | 1.003 | 1.007 | 1.000 | 5.833 |
| 権威   | 400  | 3.856 | 3.833 | 1.013 | 1.026 | 1.167 | 6.000 |
| 清浄   | 400  | 3.743 | 3.667 | 1.082 | 1.171 | 1.000 | 6.000 |

| 日本            |      |      |       |
|---------------|------|------|-------|
| 米データの必要な同等化変換 | 変数名  | 有効 N | 平均値   |
| 3.189         | 権威主義 | 3191 | 3.043 |
|               | 非主張性 | 3191 | 2.759 |
|               | 不正行為 | 2257 | 1.933 |
|               | 違反容認 | 3191 | 2.414 |
|               | 信頼   | 3191 | 2.804 |
|               | 被影響性 | 3191 | 2.855 |
| 3.595         | ケア   | 3191 | 3.410 |
| 3.500         | 公正   | 3191 | 3.280 |
| 3.171         | 忠誠   | 3191 | 3.074 |
| 3.285         | 権威   | 3191 | 3.064 |
| 3.194         | 清浄   | 3191 | 3.252 |

権威主義が非主張的傾向（主張を控える傾向性）を媒介して、いかに不正行為の生起を規定するか、媒介分析を行った。いずれも単相関は有意な関係性を持つ。

その結果、権威主義が不正行為を規定する正の相関関係を、非主張性が媒介し、とりわけ男性労働者において関係が強く見られた。すなわち、伝統的価値態度として、権威主義傾向の高い者は、それに加えて、他者のいる場で、主張を控える傾向が高いことを持って、より不正行為を行い、不正摘発や不正告発を行わないという関係性が見出された。

つまり、権威主義的に上司や上位者の言うことに異を唱えることができない組織では、不正が隠蔽され、不正行為が生じやすいことが明らかになった。この媒介分析の結果は、日米で共通したものであった。後になって不正が発覚した場合の傷が深くなるので、それを防止する組織の健全化のためには、組織メンバーの民主性を高め、権威主義を低めることによって組織の機能を高めることができることが示唆された。また、道徳基盤については、忠誠基盤や権威基盤が違反容認的態度を媒介して不正行為を規定することが示された。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

組織のコンプライアンスを高め、社会的な事件にならないように未然に防止するためには、意思決定の民主化を促進し、権威者に異を唱えることができるような組織であることが、存続を安定したものとし、組織の危機管理として有効であることが本研究より判明した。

具体的な事例との関連性を検討していないので、今後、広く社会的な場面に適用できるか、さらなる道徳基盤の検討と合わせて、これが広く適用できるモデルとなるか検証を続ける。

また、今回はアメリカとの比較しか行えなかったが、社会の仕組みが異なるヨーロッパや他の社会における検討も今後求められるであろう。翻訳が正確に伝わっているかさらに慎重に検討すべき問題も若干あるが、こうした文化差について、さらに詳細に調整を行い調査を進める必要があるだろう。

## Summary

Under the title 'Influences of traditional values and moral foundations on assertion in institution', the survey study was conducted to investigate those relationships among the valuables. Preparing the measure of the traditional values, moral foundation, assertiveness, and compliance attitudes in institute. Compliance attitudes consists of overlooking attitude toward misconduct of individual and institute and own misconduct behavior. Through web survey, I got 400 response (mean age was 39.2). Analysis of variance showed the statistical difference in assertiveness and overlooking attitude toward misconduct between US and Japan, both being higher in US than Japan. Mediation analysis of the assertiveness in the effect of authoritarianism (traditional value) on misconduct behavior made clear in these relationships. Specifically, higher scores of authoritarianism leads to non-assertive attitude, which in turn causes higher rates of misconduct behaviors. As for the moral foundations, loyalty and authority had an influence on misconduct behavior, with overlooking attitude as a mediation valuable. The results imply that the democratic atmosphere would foster the compliance mind through stating each other freely and help to prevent the misconducts from spreading in institute.

## 悪夢と合併疾患にみられる認知機能障害に関する臨床発達心理学研究

# Clinical Developmental Psychological Research on Cognitive Dysfunction of Nightmares and Comorbid Disorders

研究代表者 松田 英子(社会学部社会心理学科)

研究期間／2021年7月1日～2021年9月10日

(※学術変革領域研究(A)に採択されたため交付内定日をもって助成終了となった)

|           |                       |
|-----------|-----------------------|
| キーワード／①悪夢 | Nightmares            |
| ②認知機能障害   | Cognitive Dysfunction |
| ③生涯発達     | Lifelong Development  |
| ④パーソナリティ  | Personality           |
| ⑤睡眠       | Sleep                 |

2021年度交付額／756,000円

研究発表／学会および口頭発表

<2021年度井上円了記念研究助成を受けたと明記した助成終了後の研究成果>

(学会発表) 松田英子 (2021). 強迫傾向と睡眠の不調 (2) —夢内容の質的分析— 日本パーソナリティ心理学会第30回大会 2021年9月25日

(論文) 松田英子 (2021). 強迫傾向と睡眠の不調—夢内容の質的分析— 東洋大学社会学部紀要, 59(1), 45-56. 2021年11月

(論文) 松田英子 (2022). タイプ A 行動パターンと悪夢症状の関連の検討 —悪夢の頻度, 悪夢の苦痛度, および自殺念慮からの分析— 東洋大学大学院研究科紀要, 58, 77-86. 2022年3月

<関連の研究成果>

(書籍) 松田英子 (2021). はじめての明晰夢—夢をデザインする心理学 朝日出版社 2021年10月 (ISBN: 9784255012537)

(書籍) Carducci, Bernardo J., 尾見, 康博, 渡邊, 芳之, 松田, 浩平, 松田, 英子, 小塩, 真司, 安藤, 寿康, 北村, 英哉, 日本パーソナリティ心理学会共訳(担当:編訳, 範囲:第Ⅱ部 心内の視点——力動的過程としてのパーソナリティの表出)カルドゥッチのパーソナリティ心理学: 私たちをユニークにしているものは何か? 福村出版 2021年10月 (ISBN: 9784571240973)

(学会発表) 松田英子 (2021). 抑うつ傾向と睡眠の不調 —不眠, 悪夢, 夢の情動, テーマおよび感覚モダリティの分析— 日本健康心理学会第34回大会 2021年11月15日

(学会発表) 王尚, 松田英子 (2021). 中国におけるコロナウイルス・パンデミックドリームの実際 —COVID-19 予防のための都市封鎖が夢の内容に与える影響 2021年11月15日

(学会発表) 松田英子, 松岡和生 (2021). 悪夢のイメージリハーサルセラピーにおけるイメージスク립トの分類に関する予備的研究 日本イメージ心理学会第22回大会 2021年12月4日

(学会発表) 山崎有望, 松田英子 (2021). 空想傾向の発達形成モデルの実証的研究—多母集団同時分析を用いた幼少期養育関係の検討— 日本イメージ心理学会第22回大会 2021年12月4日

(学会発表) 松岡和生, 川原正弘, 山口浩, 松田英子 (2021). ハイパーファンタジアとしての直観像素質者と共感覚者の認知特性 日本イメージ心理学会第 22 回大会 2021 年 12 月 4 日

(論文) 松田英子, 松岡和生, 岡田 斉 (2022). 自閉症スペクトラム障害の特性と夢の感覚および感情に関する予備的研究 イメージ心理学研究, 19, 1-9. 2022 年 1 月

(論文) Eiko Matsuda, Mariko Kikutani (2022). The interactive influence of life stressor and sleep disturbance on depression: A crosssectional examination on Chinese and Japanese University Students SAGE Open (J676), January-March 2022, 1-13. 2022 年 3 月

(論文) Eiko Matsuda (2022). The Effect of Type A Behavior Pattern on Insomnia and Nightmare among Japanese University Students. 東洋大学社会学部紀要, 59(2), 99-110. 2022 年 3 月

(論文) 松田英子, 松岡和生 (2022). 日本の大学生のコロナウイルス・パンデミックドリーム of 継時的変化に関する質的研究—自粛生活と夢内容の関連の分析— 行動科学, 60 巻, 特別号, 9-19. 2022 年 3 月

(シンポジウム) 松田英子 (2022). 「多様な青年のパーソナリティの発達の問題を考える」指定討論日本パーソナリティ心理学会・日本青年心理学会 オンライン合同シンポジウム 2022 年 3 月 26 日

研究経過および成果の概要 (2000 字程度)

## 1. 研究方法

主要な研究手法は、質問紙調査法 (WEB 調査, 紙媒体による集合調査), 夢日記を資料として行われる臨床的面接法によるものである。悪夢に影響する要因として認知機能障害に着目し, 自閉症スペクトラム障害等発達障害, うつ病, 統合失調症, PTSD, 認知症, アルコール依存症等との関連を検討するため, 研究対象は児童から高齢者までを想定していたが, 助成期間に取り組んだ研究は, 非臨床サンプルとしての青年 (大学生) を対象にしている。

## 2. 研究経過および成果の概要

主要な研究成果を要約すると以下の通りとなる。

①完全主義, 敵意的, ワーカホリックなパーソナリティ特徴を持つタイプ A 行動パターン (TABP) と睡眠の不調に関する一連の研究から, TABP 傾向が強い日本人大学生ほど, 不眠と悪夢の問題を多く体験していた。また悪夢に関しては想起頻度が高いのみならず, 悪夢がもたらす苦痛度も高かった。この理由として, タイプ A 者は一般的に, 日中と睡眠の両方でより高いレベルの否定的な感情を経験する可能性が考えられた。また, TABP と自殺念慮との直接の関係はなかったが, 悪夢の苦痛度と自殺念慮の関係は追認された。

②抑うつ傾向が高い日本人大学生ほど, 不眠症状が強く, 典型的な悪夢を多く想起しており, 夢の中でネガティブな感情を強く体験していた。抑うつ改善のエビデンスがある認知療法の適用により, 認知機能を調整し, 不眠症状, 悪夢症状の低減に効果が見込めると予測される。

③強迫観念の高い日本人大学生ほど, 典型的な悪夢を多く想起しており, 夢の中で鮮明な感覚体験とネガティブな感情を強く体験していた。しかし夢の内容の質的分析からは明確な関連性を検出できなかった。強迫観念および強迫行為が平均値より 2SD 以上高いサンプルの夢資料を抽出し, 強迫症状の下位尺度と夢の質的分析を行った。

④自閉症スペクトラム障害の感覚異常やハイパーファンタジアの (直観像素質, 共感覚等) 認知特性を持つ人の夢の特性について質的な分析を行った。特殊な認知特性のアセスメントを行い, 想起

された夢の特性を児童から高齢者の十分なデータで検証することが次の課題となった。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

本研究は、悪夢に影響する要因として認知機能障害を取り上げ、自閉症等発達障害、うつ病、統合失調症、PTSD、認知症、アルコール依存症に着目していたが、本研究期間内は臨床サンプルを対象にした研究を行うことができなかった。しかしながら、その前段階として、非臨床サンプルにおける抑うつ傾向、タイプ A 行動パターン、強迫的パーソナリティ、ハイパーファンタジアの強さと悪夢および不眠症等睡眠の不調の多さとの関連を検討した。抑うつ傾向やタイプ A 行動パターンは、健康により深刻な影響を及ぼす中高年の成人を対象に悪夢を含む睡眠変数との関連を検討する必要がある。またアルコール依存症や認知症は、初老期や老年期の成人を対象にして研究を継続する必要がある。一方で、ハイパーファンタジア等の認知特性を持つ人は、悪夢のみならず、明晰夢に代表されるポジティブな夢の体験も多く、これらは精神的健康を高める健康心理学研究に発展する可能性が確認された。今後の研究では、悪夢と関連性が高いパーソナリティ特性や症状を抽出し、認知機能のアセスメントを行った上で、それらが好発する年代を対象にした児童から高齢者のサンプルにて検証を行う生涯発達のエビデンスを提供することが課題である。

#### Summary (400words 程度)

This research project examined the association between personality traits such as depressive tendencies, type A behavior patterns, obsessive tendencies, autism spectrum, and hyperphantasia and sleep disruption such as nightmares and insomnia in a non-clinical sample of adolescents. The results are as follows :

(i) A series of studies on Type A Behavior Pattern (TABP) with perfectionism, hostile, and workaholic personality traits and sleep disturbance showed that Japanese university students with stronger TABP tendency experienced more insomnia and nightmare problems. Not only were the frequency of nightmares recalled, but the degree of distress caused by nightmares was also higher. A possible explanation for these findings was that Type A individuals generally experienced higher levels of negative affect both during the day time and sleep time. Although there was no direct relationship between TABP and suicidal ideation, the relationship between nightmare distress and suicidal ideation was reconfirmed.

(ii) Japanese university students with higher levels of depression had more insomnia symptoms, recalled more typical nightmares, and experienced more negative emotions in their dreams. The application of cognitive therapy, which has evidence of improving depression, is expected to be effective in reducing insomnia and nightmare symptoms.

(iii) Japanese university students with higher levels of obsessive tendencies recalled more typical nightmares and experienced more vivid sensory experiences and negative emotions in their dreams. However, qualitative analysis of dream content did not detect a clear association between obsessive tendencies and nightmares.

(iv) We conducted a qualitative analysis of the dream characteristics of people with sensory abnormalities and cognitive characteristics of autism spectrum and hyperfantasia.

Future research should use sufficient data from children to the elderly to provide lifelong

developmental evidence by assessing special cognitive function characteristics and dream characteristics.

# 住民の視点から見たパプアニューギニアの天然ガス開発による急激な社会変動と自然災害

研究代表者 田所 聖志(社会学部国際社会学科)

研究期間／2021年7月1日～2022年3月15日

キーワード／①文化人類学

②資源開発

③生業経済

④医療

⑤異文化

2021年度交付額／ 360千円

研究発表／学会および口頭発表

なし

研究経過および成果の概要

## 1. 研究方法

文化人類学の視点を用いた。文献調査を行うと同時に、これまでに得られたインタビューデータの分析を行った。

## 2. 研究経過および成果の概要

6月～10月にかけて文献調査とインタビューデータの整理及び分析を行った。8月～9月にかけては、現地医療に関する研究活動を集中的に実施した。9月以降は研究論文の執筆に着手し、準備を進めていった。平行して10月からは生業活動に関する基礎研究の準備作業も進めた。研究活動の結果、現地医療に関する論文および生業活動に関する基礎研究の草稿準備を進めることが出来た。

## 3. 今後の研究における課題または問題点

上記の論文執筆を進めると同時に、研究成果を学会において公表する。研究枠組み及び収集データについては、修正や補充調査の必要に迫られることなく当初の予定通り進められた。今後、メラネシア地域内外の資源開発地社会に関する研究への理解をさらに深めたい。

## アフリカ自然社会における動物的実存の自然誌

# Ethnography of Animal Existence in African Natural Society

研究代表者 波佐間 逸博(社会学部国際社会学科)

研究期間/2021年7月1日~2022年3月15日

キーワード/①インター-specificな関係世界 Interspecific relationships

②東アフリカ牧畜社会 East African Pastoral Societies

③ナラティブ Narrative

④潜勢力 Potential

⑤エコクリティシズム Ecocriticism

2021年度交付額/1,000,000円

研究発表/学会および口頭発表

科研費研究課題(「難民の尊厳に基づくグローバル・ガバナンスの再構築:ウガンダ社会を事例に」研究代表者、2022年度より採択決定/「アフリカ遊動社会における接合型レジリアンス探求による人道支援・開発ギャップの克服」研究分担者、「アフリカ在来知の実践的研究—持続可能な共生社会の実現のために」研究分担者、2022年度より採択決定、等)に係る研究会での報告発表、『アフリカ研究』等学術誌への投稿を予定している。

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

人間と動物の関わりの根源、動物に投げかけられる注意・解釈・想像力・情動の動態を問う途は、身体として直接に動物と関わる生活世界に深く没入することによって初めて切り拓きうる。本研究の主題となるドメインは東アフリカの牧畜民トゥルカナおよび共に暮らす動物である。このドメインから生成する物語を手がかりに、背後に息づく動機づけを照らし、サバンナの民が動物をめぐる育んでいる〈生きざま〉の全体像、すなわち実践倫理と不可分の身体的ハビトゥスと情動に浸潤された発語潜勢力を明らかにすることを本研究の目標として定位した。近年の東アフリカ牧畜社会を取り巻く気候変動などの自然環境問題・石油開発などのエネルギー問題による生存リスクを克服・回避するために、歴史的に創造・運用されてきた民族横断的な戦略を明らかにするとともに、牧畜家畜とのインター-specificな関係世界がどのような役割を担っているかを記述・分析するため、2021年12~1月および2022年2~3月にフィールドワークを実施して、ケニア北西部トゥルカナ県出身の牧畜民の、人間と動物の関わりの根源、動物に投げかけられる注意・情動の動態を、動物という別種の他者と直接的に関わる「現実そのもの」を示す談話を収集した。

### 2. 研究経過および成果の概要

本研究で実施したフィールドワークを通して、近年の東アフリカ牧畜社会でおこなわれている石油開発についての牧畜民たちの考え方が、パーソナルな牧歌エモン (*emong*) の創作という伝統的な文化実践と出会い、「ポストコロニアリズムとサバイバルの現代詩」とでも名づけることができるような詩群として集約的に表現されていることが判明した。19世紀までさかのぼる植民地支配の歴史と、トゥルカナ人とカリモジョン人、その他の牧畜民がイギリス支配に抵抗して組織された反乱の系譜をたどる詩群が生まれ、伝えられていた。カリモジョンの地域集団のひとつであるンギトメ (*Ngitome*) は「象の人びと」という意味であるが、彼らの居住地ロトメ (*Lotome*) の中心地にもっとも近い集落に居住する長老は彼自身が作ったエモンのなかで「ロトメの牛のはじまりは象牙である。わたしたちはケニアのバリngo (*Balingo*) で象牙をわたし、そのかわりにウシをうけとった。象牙はバリngoからアディスアベバ (*Addis Ababa*) に運ばれ、私たちは私たちがロトメに戻ってきた。象牙を狩るための場所、それがロトメの名前の由来」とうたいながら、「収容者との交換で手ばなされる銃は、象牙狩り隊のもとで強制労働をになった奴隷 (*epoota*→英語からの借用語) を商人からとりかえす際に、交易者にたいしてあたえられた銃の使用と何も変わらない」と詩をつないでいた。そして、今は亡きこの古老の孫にあたるトゥルカナの青年は彼自身がつくったエモンの中で、「僕らが家族を守る銃は、いま僕らから土地を奪う石油野郎ども、ターロウの脅威となり、ケニア政府が武装解除を企てている。彼らはつねに僕らの大地と土地のものを欲し、そして奪った。イギリスもその手下たちも僕たちのいのちを欲し、そして奪った」と述べている。牧畜民にとって「わたしたちを奴隷にしたイギリス人」が「大地と土地のものと僕らのいのちを欲し、そして奪った」ことは不思議なことでも奇妙なことでもなかった。なぜなら2014年のトゥルカナにおける石油採掘の開始は、これまで何度も牧畜民が組み込まれながらも抵抗をつづけてきたリフトバレー地域における植民地主義のシステムを象徴的に示しているにすぎなかったからだ。これらの詩は、石油による環境汚染や経済搾取が、遊牧民にとって民族の侵略と抑圧の歴史の延長であることを告げている。つぎに、石油を発見したとされ、たくみに石油ブームの立役者に祭り上げられていくトゥルカナの男を取り上げた詩も採録できた。今後分析を進めていくことで、困窮した遊牧民を利用して、常に社会の最下層にとどめ置くことで成り立ってきたトゥルカナの石油産業の現状が浮かびあがってくるものと思われる。ひとくちにまとめると牧畜民の現代詩が、闘争とサバイバルのナラティブの系譜をたどる作品群として、時空をこえた、相互反響的な〈語り合い〉の空間をひらいていることがうかがわれた。

### 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、これまで個別に発展してきた開発と自然環境をめぐる言説や表象を(脱)植民地主義という特定の視座から総合的に検証し、従来の気候変動・エネルギー問題に関する〈環境文学〉研究から抜け落ちていた社会運動との関係性、領域横断的なテーマ、表象形態の可能性を探求することで、トランスエスニックなナラティブをより豊かな知の体系として再編成すること、また、東アフリカの乾燥地に居住する遊牧民の口承文学(物語詩とフォークロア)から自然環境に関するものを〈環境文学〉として統括し、おもに(ポスト)コロニアリズムやエコクリティシズムの観点から考察する研究に取り組み、近年の気候変動・エネルギー問題をめぐる文学に関しては、従来の批評の枠組みが指摘するように、エコ・アポカリプスやエコ・ジェノサイドといった終末論的言説を特徴としているが、本研究では、主流文学とは明確に対

比される、牧畜民の言語実践による過去・現在・未来へと継続するエサバイバ（生存）の思想を解明する。

## Summary

The study reveals the cross-ethnic strategies that have been historically created and operated to overcome and avoid survival risks due to natural environmental problems such as climate change and energy problems such as oil development in East African pastoral societies in recent years, and how the world of interspecific relationships with pastoralists and livestock. In order to describe and analyze the role of animals, fieldwork was conducted in December-January 2021 and February-March 2022 to study the roots of human-animal relations and the dynamics of attention and emotions that are thrown to animals by pastoralists from Turkana Province in northwestern Kenya, who are directly involved with animals, another species of other. Discourse was collected that demonstrates the "reality itself. Through the fieldwork conducted in this study, the pastoralists' views on oil development in recent years in East African pastoral societies were encountered with the traditional cultural practice of creating personal pastoral song (*emong*), which could be called "contemporary poetry of postcolonialism and survival. It was found that the poems are intensively expressed as a group of poems that can be described as a group of poems. Further analysis is expected to reveal the current state of Turkana's oil industry, which has always been built on taking advantage of impoverished nomads and keeping them at the bottom of the social ladder.

As a future task, we will comprehensively examine the discourses and representations of development and the natural environment that have developed separately from the specific perspective of (de)colonialism, and explore the possibilities of relationships with social movements, cross-disciplinary themes, and forms of representation that have been missing from conventional studies of "environmental literature" on climate change and energy issues. The reorganization of transethnic narratives into a richer body of knowledge through the exploration of transethnic narratives, and the consolidation of oral literature (narrative poetry and folklore) of nomadic peoples living in the drylands of East Africa into "environmental literature" that relates to the natural environment, with a focus on (post-)colonialism and the study of the environment as the main theme of the "environmental literature". This research is concerned with the study of ecocriticism, and aims to elucidate the past, present, and future of pastoralists' linguistic practices, which are in clear contrast to mainstream literature, and to elucidate their ongoing ideas of *esabaiba* (survival).

先進国における中枢管理機能立地の国際比較－欧州・北米・東アジア 39 개국  
を中心に

A comparative analysis of the head-office locations in advanced economies:  
Europe and the Pacific Rim

研究代表者 藤本 典嗣(国際学部国際地域学科)

研究期間／2021年7月1日～2022年3月15日

キーワード／①中枢管理機能 Central Management Function

②本社立地 Head-office location

③都市システム Urban system

④東京一極集中 Agglomeration of economies in Tokyo

⑤環太平洋 Pacific Rim

2021年度交付額／630,000円

研究発表／学会および口頭発表

(口頭発表) 藤本典嗣「コロナパンデミック下における北東アジア諸国の中枢管理機能立地－日本・韓国・中国・台湾・ロシア極東の本社立地国際比較－」北東アジア学会新潟地域研究会 (ERINA) 2022年1月8日

(口頭発表) 藤本典嗣・朴美善「中国の中枢管理機能立地からみる国土の均衡ある発展の課題」進化経済学会全国大会京都大会 (zoom を用いたオンライン会議) 2022年3月26日

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

本研究では、都市システム分析として、環太平洋の7カ国（日本・米国・カナダ・中国・韓国・台湾・オーストラリア）と欧州主要13カ国（イギリス、フランス、ドイツ、イタリア、スペイン、デンマーク、フィンランド、オランダ、ノルウェー、スウェーデン、スイス、オーストリア、ベルギー）の、合計20カ国の大企業本社に焦点をあて、経済的中枢管理機能の立地を、明らかにした。補完的に、残りのOECD加盟国をあわせ、39カ国のデータを用いた。国民経済の地域的分業の地理的投影としての本社立地を明らかにするために、国ごとの本社立地を明らかにした。

2018年、2019年、2020年の各国の売上高上位2,000社の企業（日本は2,158社、人口2,000万人以下の諸国は1,000社）を、データベースより、それぞれ抽出し、国ごとの本社立地パターンを、各国の国民経済を構成する地域経済の空間スケール（州・県・省・道や市区町村、首都機能を中心とした圏域）を、単位として明らかにした。ジオコーディングとして本社立地の住所の特定をおこない、GISソフトを用い、本社立地と関連する地域経済指標との関係の分析をおこなった。そうすることで、首都機能（中央省庁など）の配置と、企業本社の立地の関連性について、本社立地の分布形態の面から、国際比較をおこなった。

### 2. 研究経過および成果の概要

首都機能を、議院内閣制の国では、内閣府 (Cabinet Office) を、大統領制の国では大統領府 (Executive Office of the President)、をそれぞれ首都機能とし、そこから 10km ごとの地帯別本社数、売上高と、それぞれの対全国比率を分析した。首都機能に最も近接する第 1 地帯への集中度が最も高いのは、1,117 社が立地する日本であり、本社数の比率で 55.9%、売上高の比率で 62.7%と、半数以上を占めている。同地帯へ本社数の立地数が半数をこえているのは日本のみである。続いて高いのは、台湾であり 935 社が立地して、比率は 46.6%と 4 割をこえている。3 割を超えているのは、フランスの 37.3%、韓国の 32.7%である。最も小さいのは、オーストラリアの 0.8%であり、16 社のみ立地であり、カナダ、米国ともに 22 社で 1.1%である。

都道府県・州・省や市区町村などの行政区画を地理的単位としても、首都機能からの距離を単位としても、日本における首都東京への一極集中は、際立っている。特に距離帯分析において、首都機能から半径 10km 圏に半数以上の本社が集中している状態は、同様の首都一極集中型である、フランス、台湾、韓国においてもみられない。

首都機能を中心とし、その周辺に本社立地が極度に集中しているのは、国民経済規模が大きく、かつ人口一人当たり所得水準が高い主要国において、日本だけであり、フランス、イギリス、スペイン、韓国、台湾では、首都や首都圏の一極集中がみられるといえども、10km 圏から外の距離帯にも一定規模の本社が立地している。米国、カナダ、オーストラリアにいたっては、首都機能から 10km 圏内の本社立地は、1%程度にすぎず、首都機能の配置と企業本社立地の間に相関はみられない。首都の行政区画としての都市や首都圏としての本社立地をみると、一極集中型であるフランス、イギリス、台湾、韓国、スペインなどは 10km 圏内への本社立地の比率は、20-50%の範囲内におさまる。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

本研究で捉えることができなかった 2 点を課題として述べる。第一に、首都の定義を明確にした上で、本社立地の要因分析をすることである。本研究では、議員内閣制の国においては行政府の所在地を、大統領制の国においては大統領府の所在地を、それぞれ首都として、そこからの距離帯ごとの本社立地を明らかにしたが、行政組織の意思決定の所在地が、行政府や大統領府の配置地点と一致するか否かの考察は本章では行っていない。また、それらの機能が、企業の本社立地をはじめとした、企業行動に、どう関連するかの考察もおこなっていない。行政府が、需要者となる公共調達、規制主体となる公的規制、支援や育成の主体となる産業政策などにおいて、企業行動と関わる。これらの関わりが、行政府のどの部署が管轄し、いかなる権限をもち、どのような都市・地域で、対面接触がおこなわれるのか、国際比較をおこなうことは、今後の研究課題である。第二に、分析対象国の拡大である。本研究では、環太平洋・欧州の主要国を対象と、資料収集上の制約から、インド、インドネシアやブラジルなどの諸国を対象としなかったが、国民経済規模が大規模な国、所得水準が高い国を、より含んで、本社立地を分析すること、今後の研究課題として必要である。

## Summary

In this research, we attempt to clarify the central business management functions in advanced economies in Europe and the Pacific Rim. The purpose of the research is to examine how the head-office location of all industries in advanced economies has changed the national land structure under the influence of Covid-19. We conceive of major 20 countries as nodes in

international networks of economic, social and information flows and add other 19 countries as complementary data. Some cities are selected for data collection and the original data collected from “D&B Hoovers (2019, 2020 and 2021 edition)” and “SPEEDA (2020 and 2021 edition)”.

We analyzed the result of head-office locations on twenty countries in Europe and the Pacific Rim. Rank-size rule was calculated according to each country and the result was that excessive location of the head-office function in national capital city, Tokyo, was an exception. Especially, the agglomeration of business head-offices around national capital administrative organization was never observed in other advanced economies. The pivotal function of central governmental organization was found in specific areas of Japan such as Chiyoda, Minato and Chuo ward.

The hierarchical and centralized pattern of office location in Japan still remained the same even in 2018, 2019 and 2020, irrespective of the world-wide spread of Covid-19 pandemic.

# 観光サービスにおける労働生産性の向上に関する研究

## Research on Improvement of Labor Productivity in Tourism Services

研究代表者 吉岡 勉 (国際観光学部国際観光学科)

研究期間／2021年7月1日～2022年3月15日

|                 |                        |
|-----------------|------------------------|
| キーワード／①付加価値     | Value added            |
| ②収益管理           | Revenue management     |
| ③原価企画           | Target costing         |
| ④ホテル            | Hotels                 |
| ⑤ホスピタリティ・マネジメント | Hospitality management |

2021年度交付額／540,000円

研究発表／学会および口頭発表

- 「ホテルでの接客業務効率化に向けた AI 技術の活用」 計算力学研究センター・総合情報学部共催シンポジウム.
- 「宿泊業の労働生産性向上に対する原価企画の貢献に関する一考察」 日本管理会計学会 2021 年度年次全国大会.
- 「A Study of Labor Productivity Problems on the Hospitality Industry in Japan」 1<sup>st</sup> Joint Conference on Integrated Resort Research.

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

本研究は数年間を要するとの計画であり、文献収集および文献サーベイ、現状把握のためのインタビュー調査、アンケート調査とその結果の分析、分析結果に基づきさらにインタビュー調査を実施する。また、小職が所属する本学計算力学研究センターにおける共同研究を本研究に加えることで、これまでとは異なる視点での研究により、本研究をより充実させることにした。今年度については、昨年度までに実施した文献サーベイに基づき、また各種資料からの情報に基づき、インタビュー調査を実施した。また、その際にインタビュー企業から提供を受けたデータについて AI (人工知能) での分析を実施した。これらを整理しつつ、翌年度の学会で研究報告を行うとともに、論文を投稿する予定である。

### 2. 研究経過および成果の概要

日本における労働生産性の低さは、残念ながらよく知られている。OECD 加盟 37 カ国の時間当たり労働生産性を比較すると、2019 年の日本の労働生産性の数値 (労働時間 1 時間当たり 47.9US ドル) は、その経済規模から鑑みるに十分とは言えない。

また、OECD 主要先進 7 カ国の時間当たり労働生産性の順位の変遷を捉えると、わが国の労働生産性の順位は一時的に低下したのではなく、約 50 年に渡って一貫して相対的に低位にあり、1970

年代や 1980 年代の経済成長期においても、2000 年代の低成長期においてもその傾向は変わることはない。経済状況に関わらず労働生産性が低いということは、構造的な要因が存在していることを示唆している。したがって、その要因の解消に対して管理会計研究の視点からアプローチし、労働生産性向上に向けた何らかの示唆を見いだすことには大きな意義がある。

本研究では、研究対象としてサービス業、なかでも宿泊業に着目する。なぜならば、日本における宿泊業の労働生産性は、他の産業との比較において低いことが明らかになっているからである。

COVID-19 のパンデミックにより、宿泊業を含む観光産業は大打撃を受けていることは周知の事実である。しかし、現時点において時期は定かではないが、再び観光産業が活況を呈するようになることは想像に難くない。そこで、日本の宿泊業の労働生産性の問題は、解決されなければならない課題といえよう。

本研究は、宿泊業の労働生産性向上に対し、今年度の研究ではとくに原価企画による貢献を考察した。

本研究においては、製造業であろうとサービス業であろうと、原価企画活動を構成する要素として、次の 5 つが満たされるべき考える。

- ① 源流管理が重視される： 生産およびサービスの上流での基本設計、詳細設計の段階を重視して、生産準備、量産という生産のプロセスにつながる。
- ② 戦略性がある： 外部の競争環境や顧客のニーズを勘案して戦略的な経営計画の策定ができる。
- ③ 市場志向性がある： マーケットインのアプローチであり、市場の状況から予定販売価格を決定し、次いで目標利益との関係から許容原価が導かれ、一方、技術者（またはサービス提供者）の現状見積り（成行原価）を基礎に原価低減活動を行い、許容原価との摺り合わせから目標原価が導かれる。
- ④ 原価低減活動がある： 計画段階で原価管理を実施することで、それだけ経営構造を変革する余地が高く、そのプログラムは極めて戦略的である。つまり、戦略的コスト・マネジメントのプロセスに当たる。
- ⑤ 原価低減のためのツールが存在する： 製造業の場合では主として VE が用いられるが、サービス業における VE は製造業のそれに比べると観念的な内容に修正される。また、サービス業は多種多様であるから、原価低減手法は業態により VE 以外の手段もありうる。

本研究では複数のホテル（およびホテル企業）に対するインタビュー調査を実施したが、いずれのホテルにおいても、これら原価企画活動の構成要素が充足されていることを確認できた。すなわち、これらのホテルでは、「原価企画」というキーワードを用いているわけではないが、この原価企画活動が実施されているということである。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

今年度の本研究により、次の 2 つの仮説を導出できた。

仮説 1： 原価企画の視点によるチェックインの待ち時間、および、チェックイン業務の減少は、客室稼働率および ADR の向上をもたらし、それが付加価値の向上に貢献する。

仮説 2： 従業員研修等による人的資産への継続的な投資が、収益の増加と目標利益獲得の達成をもたらす原価の作り込みに寄与し、それが労働生産性の向上に貢献する。

今後の研究に向けた課題として、これら仮説を検証していくものとする。また、今年度はおもに

原価企画に焦点を当てた研究を進めてきたが、本研究においては原価企画と収益管理の両面への着眼が、労働生産性の向上に寄与すると考えている。そこで今後の課題として、これら両面を視野に入れつつ、労働生産性の向上に資する研究を進めていきたい。

## Summary

The low level of labor productivity in Japan is well known; the country has consistently ranked relatively low for about 50 years. Data of OECD shows that Japan's labor productivity in 2019 (USD 47.9 per hour of work) is inadequate and incongruous with the size of its economy.

The trend in Japan's labor productivity has not changed during the periods of high economic growth in the 1970s and 1980s, nor the low-growth period of the 2000s. That labor productivity is low regardless of economic growth suggests the existence of structural factors. Therefore, it is important to approach a resolution of these factors from the perspective of management accounting research and to find ways to improve labor productivity. In this study, I focus on the service industry, especially the lodging industry. This is because the labor productivity of the lodging industry in Japan is low compared to other industries.

The tourism industry, including lodging, has been hit hard by the COVID-19 pandemic. However, it is hoped that the industry will become active again, sooner rather than later, which underlines the importance of improving labor productivity in the lodging industry in Japan, the topic of this study.

In this study, I examined the contribution of target costing in particular to improving labor productivity in the lodging industry.

The following five components of target costing activities are essential in both manufacturing and service industries; (1) Emphasis on source control, (2) Strategic, (3) Market-oriented, (4) Cost reduction activities, (5) Tools for cost reduction.

In this study, I interviewed several hotels (and hotel companies) and confirmed that these components of target costing activities were fulfilled in all hotels. In other words, although these hotels do not use the keyword "target costing," they are implementing these target costing activities.

The following two hypotheticals were derived from this year's study.

Hypothesis 1. The reduction of check-in wait time and check-in work from the perspective of target costing will improve occupancy and ADR (average daily room rate), which will contribute to the improvement of value added.

Hypothesis 2. Continuous investment in human assets, such as employee training, contributes to the creation of costs that lead to increased revenues and the achievement of target profits, which in turn contributes to increased labor productivity.

These hypotheses will be tested as an issue for future research. In this study, however, I believe that focusing on both target costing and revenue management will contribute to improving labor productivity. Therefore, as a future issue, I would like to conduct research that contributes to the improvement of labor productivity while taking both of these aspects into

consideration.

Reference:

Tsutomu YOSHIOKA et.al., [2022], A consideration on the contribution of target costing on labor productivity increase in the lodging industry, *Journal of Tourism Studies*, vol. 21, pp.139-156.

## 日本語教育のための形式名詞由来の文末表現研究

### A Study of Sentence Ending Expressions derived from Formal Nouns for Japanese Language Education

研究代表者 陳 秀茵(国際教育センター)

研究期間／2021年7月1日～2022年3月15日

キーワード／①日本語教育 Japanese Education

②形式名詞 Formal nouns

③文末表現 Sentence Ending Expressions

④コーパス Corpus

⑤高度日本語人材 Advanced level Japanese human resources

2021年度交付額／ 650,000 円

研究成果（予定を含む）：

〔研究発表／学会および口頭発表〕

【1】「コロナ禍における日本語教育の新たな可能性」東洋大学人間科学総合研究所主催 2021年度公開研究会（招待あり）、2021年7月、共著

【2】「留学生就職支援における新しい展開と価値の創造－東洋大学におけるオンラインプログラムの事例から」SIIEJ2021 国際教育交流の展開と価値の創（招待あり）、2021年10月、共著  
〔学術論文〕

【3】「多角的な観点によるワケダ・ハズダ・コトニナルの比較研究」『東洋大学人間科学総合研究所紀要』（24）51-72、2021、単著

【4】「ハズダの意味用法と使用実態について」『国文論叢』（58）143-162、2021、単著

【5】「BCCWJにおける「わけだ」文の一考察－国会会議録の用例を中心に－」『グローバル化時代に求められる日本語教育・日本学研究論文集』2022年5月予定、単著

〔著書〕

【6】『日本語で考えたい科学の問い〔文化と社会篇〕』凡人社、2022年4月、共著

【7】『《書き込み式》表現するための語彙文法練習ノート【上】一語／コロケーション／慣用句／表現文型一』凡人社、2022年5月予定、共著

【8】『実践ビジネス日本語問題集〔聴解・聴読解〕』国際教育フォーラム、2022年6月予定、共著

【9】『日本語で考えたい科学の問い〔心と身体篇〕』凡人社、2022年9月予定、共著

【10】『《書き込み式》表現するための語彙文法練習ノート【下】一語／コロケーション／慣用句／表現文型一』凡人社、2022年9月予定、共著

研究経過および成果の概要

#### 1. 研究方法

本研究が採用している二つの手法について、詳細を以下に述べる。①コーパス調査：日本語母語話者と学習者の書き言葉・話し言葉コーパスを用いて、コーパス・ドライブン・アプローチで形式名詞由来の文末表現の使用実態を明らかにする。コーパスを用いて収集したデータを中

心に文法性判断テストを行い、日本語母語話者が多用する意味用法を導き出し、前接語、後接形式、文脈などを分析する。さらに対照中間言語分析（CIA 分析）手法によって（A）母語話者と学習者、（B）学習者同士間の使用実態を比較し分析を行い、日本語学習者の習得状況を解明する。②教科書調査：日本国内外で広く使われている、初級から中上級まで一貫したシラバスで作られた日本語教科書 25 種を対象とし、構成要素分析手法により日本語教科書における形式名詞由来の文末表現の実態と選別方法を解明する。

## 2. 研究経過および成果の概要

近年、「日本語教育のための日本語研究」「コーパスを用いた日本語研究」は認識されつつあるが、体系的・総合的に行われた研究は多くない。また、体系性が低い形式名詞由来の文末表現は、日本語らしい日本語を上手に駆使する段階に移行するための不可欠な鍵とされているが、日本語学においても日本語教育においてもその全体像を掴むことは難しい。本研究では、日本語教育における効果的な形式名詞由来の文末表現の指導法構築を目指し、コーパス調査、アンケート調査といった複数の研究手法と観点をを用いた多角的アプローチにより、日本語母語話者がどのように使っているか、日本語教科書においてどのように扱われているか、日本語教師が実際どのように指導しているか、日本語学習者がそれらの形式を習得する上で何が難しいかを明らかにし、「日本語教育のための文法記述」を試み、使用実態に基づいた指導案と改善案を示し、外国人材育成を支える日本語教育のための日本語研究の新たな可能性を示す。以下、研究成果を踏まえ、簡単に述べる。

日本語教育の現場では、日本語学習者から「日本語の教科書で勉強した例文と意味は日本人が話している日本語と違う」という声をしばしば耳にする。その解決策に目を向け、日本語教材開発に資する日本語母語話者の使用実態を反映した例文や文法説明のための基礎データの獲得を目指し、本研究では書き言葉と話し言葉コーパスを用いて、ワケダ、ハズダ、コトニナルといった形式名詞由来の文末表現における日本語母語話者の使用実態を解明した（研究成果【4】【5】）。具体的には、上級レベル学習者、特にニア・ネイティブレベルを目指す日本語学習者のための記述を目指し、「帰結用法を表す形式名詞由来の文末表現」という観点からワケダ・ハズダ・コトニナルを捉え直し、多角的な観点より考察と分析を行った。日本語教育において、ワケダ・ハズダ・コトニナルはいずれも初中級段階で導入されるが、日本語学習者にとって難しい文法項目と思われている。コーパス調査と教科書調査を用いて、「意味用法」「使用実態」「日本語教科書における扱い」という多角的な観点より、三者の相違について分析と考察を行った。その結果、1) 論理的に三者を比較することはできるが、2) 使用実態から考えると、ワケダとコトニナルの言い換え用法、ワケダとハズダの納得用法は使用率が非常に低いため、日本語教育で積極的に導入しなくてもいい。3) なお、上級学習者、ニア・ネイティブレベルを目指す学習者や日本語教師のための日本語文法書・日本語教師用参考書では、相違点と共通点を詳しく説明した上で、使用実態も紹介することが望ましい、と提案した。

さらに、上記の三者が他の形式名詞由来の文末表現との使い分けについて、日本語学習者が混乱しやすい傾向が見られ、理解レベルと産出レベルにおいても問題点が見られた（研究成果【1】【2】【3】）。そこで、日本語力の育成に結び付く日本語教育の役割と重要性を再確認し、「外国人材の日本企業への就職の拡大」目標に向けて、高度日本語人材の育成につながる日本語研究と日本語教育の可能性について提案した（研究成果【1】【2】）。以上の研究成果を、日本語教育関係者および日本語学習者のための日本語教材に取り入れて一般向けに公開する（研究成果【6】～【10】）。そう

することによって、日本語学習者のニーズと多様性に応じた日本語教育の発展へ貢献することが期待できる。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

今後、上記の研究成果を踏まえ、ほかの文末表現の使用実態調査、教科書調査を続けるほか、日本語学習者の習得状況と日本語教育現場における扱いも視野に入れたい。具体的には、JSL と JFL 環境における日本語学習者の習得状況を把握するためのアンケート調査や、日本国内外の日本語教育機関の教師における指導意識を把握するためのインタビュー調査などが考えられる。アンケート調査の結果とコーパス調査の結果を比較することによって、より客観的に学習者が習得する上で留意すべき点を提示し、また、教師の指導意識を踏まえ、日本語教育現場に役立つ理論・実践的な指導案を提示することが期待できると考えられる。

### Summary

This study considers the function and usage of formal nouns. Especially *wake da*, *hazu da*, and *koto ni naru* from multiple perspectives for advanced level Japanese learners. In Japanese language education, generally these three phrases are introduced at the beginner-intermediate stage, and subsequently they are difficult for most JSOL learners. Using the Balanced Corpus of Contemporary Written Japanese Corpus, Nagoya University Conversation Corpus, BTSJ Natural Conversation Corpus, and ten types Japanese textbooks for JSOL learners, the differences between these three grammatical forms is analyzed. As a result, it is possible to logically compare these three terms, but considering their actual usage, specifically the very low rate at which *wake da* is used as a paraphrase of *koto ni naru* or *wake da* is used as a paraphrase of *hazu da*, it does not seem necessary to actively introduce them in JSOL education contexts. In addition, in Japanese grammar and reference books for Japanese language teachers or advanced learners, the differences and commonalities are explained in detail, therefore the actual usage should be introduced only for those aspiring for a C2 Japanese proficiency level or higher.

単層グラフェンの量子伝導特性を有する  
乱層積層・超低欠陥多層グラフェンの創成  
Creation of highly crystalline turbostratic multilayer graphene with  
quantum conduction properties of monolayer graphene

研究代表者 根岸 良太(理工学部電気電子情報工学科)

研究期間/2021年7月1日~2022年3月15日

キーワード/①グラフェン

②酸化グラフェン

③多層グラフェン

④乱層積層

⑤電子物性

2021年度交付額/ 840,000 円

研究発表/学会および口頭発表

【学会発表】

- ・ 笠木啓太 他、“h-BN 基板上へのグラフェンの合成とキャリア伝導評価法の開発” 工業技術研究所 研究会 2022年2月25日
- ・ 田浦翔 他、“多層グラフェンナノギャップ素子の創成” 工業技術研究所 研究会 2022年2月25日
- ・ 根岸良太、西野貴幸、“表面増強ラマン散乱素子の自動作製システムの開発” 工業技術研究所 研究会 2022年2月25日
- ・ 根岸良太 (招待講演) “乱層構造を持つ多層グラフェンナノリボンの合成およびキャリア輸送現象” シリコン材料・デバイス研究会オンライン、2021年11月11~12日

【論文発表】

- ・ Y. Yao, R. Negishi(#: Corresponding author) et al., " Scanning probe analysis of twisted graphene grown on a graphene/silicon carbide templates" Nanotechnology Vol. 33 (2022) 155603. (査読付き論文)
- ・ R. Negishi (#), et al., "Crossover point of the field effect transistor and interconnect applications in turbostratic multilayer graphene nanoribbon channel" Scientific Reports Vol. 11 (2021) 10206. (査読付き論文)

【著書】

- ・ R. Negishi(#) and Y. Kobayashi "Synthesis and transport analysis of turbostratic multilayer graphene" Chapter 8 in "Quantum Hybrid Electronics and Materials" Springer Nature, to be published in 2022. (第8章 分筆)

## 研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

本研究では、固体テンプレート法により高結晶性の多層グラフェン材料を合成する新しいルートを開拓し、キャリア伝導測定や原子/電子構造評価など多角的物性測定との相関解析から、乱層積層・超低欠陥多層グラフェンにおける疑似単層性量子伝導の発現やその機構を解明する。本技術の開拓により、単層グラフェンの欠点である環境効果に対する脆弱性を解決し、量子エラー耐性の高い新規材料を創成する。本成果により、疑似単層グラフェン構造による2次元量子メモリーなど革新的量子デバイスへの応用・発展が期待される。この目標達成に向けて、以下の実験項目を実施した。

項目(1)：酸化グラフェンを固体テンプレートとした乱層積層・超低欠陥多層グラフェン材料の合成

項目(2)：機械剥離 h-BN (窒化ホウ素) フレーク基板を固体テンプレートとした乱層積層・超低欠陥多層グラフェン材料の合成

項目(3)：合成した乱層積層・超低欠陥多層グラフェン材料の物性評価

### 2. 研究経過および成果の概要

項目(1)：酸化グラフェン材料は安価に大量合成可能なため、スケーラブルなグラフェン材料として注目されている。本課題では酸化グラフェンを固体テンプレートとした加熱還元により、乱層積層した多層グラフェン材料の合成を試みた。ここで、赤外線加熱機構を利用して 1800°C までの加熱可能な超高温装置を開発した。本装置は、独自のガスラインを構築することで、炭素源ガス雰囲気での超高温還元処理やナノカーボンの結晶成長が可能である。装置の開発に必要な部品の購入費に予算を充当した。合成した多層グラフェンの結晶性をラマン分光法により解析した結果、ヒドラジンや不活性ガス雰囲気の加熱還元処理で得られる従来の還元型酸化グラフェンの結晶性を遥かに上回ることを見出した。これは、超高温であることに加えて、炭素源ガスの導入により、欠陥構造の効率的な修復が促進されたことに起因することを明らかにした。

項目(2)：項目1で利用する酸化グラフェンは薄膜化することで大面積形成が可能であるため、電子デバイスへの応用が注目されている。しかしながら、酸化グラフェンの合成は、酸化処理を必要とするため、酸素含有基に加えて、多くの欠陥構造を含有する。そのため、加熱還元後も多くの欠陥が残存することが、電子デバイス応用へのボトルネックとなる。本項目では、更に結晶性を高めるため、機械剥離した h-BN (窒化ホウ素) 基板をテンプレートとした結晶成長法を開拓する。機械剥離法により作製する h-BN は、無欠陥の高結晶性材料である。さらに、グラフェンと同じ六員環構造であるため、格子整合の観点から結晶性のよい多層グラフェンがファン・デル・ワールスエピタキシーにより成長することが予測される。項目(1)で開発した超高温加熱装置を利用して、h-BN 基板上へグラフェンが吸着することを見出した。今後は、吸着したグラフェンの走査型原子間力顕微鏡やラマン分光法による構造解析から、核形成頻度や結晶性、成長モードを明らかにし、その背景にあるメカニズムの解明を進める。

項目(3)：本項目では、項目(1)で合成した多層グラフェンの物性評価を進めた。キャリア伝導測定では、乱層積層・超低欠陥多層グラフェンを使った電界効果型トランジスタデバイスを作製し、多層グラフェンにおいて単層グラフェン物性の特長である線形分散の発現を検証した。デバイスの作製では、本学バイオナノセンターの  $\alpha$  棟にある電子線描画装置および、電子ビーム蒸着装置を活用した。機械剥離法で得られる h-BN のサイズは、十数  $\mu\text{m}$  と極めて微細である。本課題では、電

子線描画法によりあらかじめ作製したアライメント構造を利用することで、微細な h-BN フレーク構造へ複数の端子が接続することのできる微細加工工程を確立した。作製したグラフェン電界効果型トランジスタの相互コンダクタンス特性（ゲート電圧特性）評価から、単層グラフェンの線形分散を示唆するキャリア伝導を観察した。さらに、電子構造解析において、あいちシンクロトロン光センターのビームライン BL7U の角度分解光電子分光測定を行った結果、線形分散と思われる電子構造の観察に成功した。還元型酸化グラフェン材料からの線形分散電子構造の観察は、世界で初めての例である。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

本課題では、反応ガス雰囲気での超高温加熱装置を開発し、高結晶性の多層グラフェンの合成に成功した。今後は、更なる高結晶化を目指し、エタノールガス濃度や流量、キャリアガス・エッチングガスの分圧条件の最適化を進める。物性評価では、グラフェンデバイスの低温・強磁場下における詳細なキャリア伝導解析により、乱層積層した多層グラフェンにおける疑似単層性量子伝導の検証を進める計画である。

## Summary

In this study, I developed a new route to synthesize highly crystalline turbostratic multilayer graphene by the solid-state template method, and elucidate the mechanism of quasi-monolayer quantum conduction in turbostratic multilayer graphene. To achieve this goal, the following experimental items were carried out.

- (1) Synthesis of highly crystalline turbostratic multilayer graphene using graphene oxide as a solid template.
- (2) Synthesis of highly crystalline turbostratic multilayer graphene materials using mechanically exfoliated hexagonal Boron Nitride substrate as a solid template.
- (3) Analysis of physical properties of synthesized turbostratic multilayer graphene materials

In item (1), Using graphene oxide material as a starting material, which can be mass-synthesized inexpensively, I attempted to synthesize a turbostratic multilayer graphene by thermal annealing reduction using it as a solid template. Here, I developed an ultra-high temperature apparatus that can heat up to 1800°C using an infrared heating system. This apparatus enables us to treat the reduction and crystal growth of carbon materials under the carbon source gas environment by constructing a unique gas line. The structural analysis using Raman spectroscopy revealed that the crystallinity of the synthesized multilayer graphene far exceeds that of conventional reduced graphene oxide obtained by the conventional reduction methods using thermal annealing in hydrazine or inert gas environments. This indicates that the carbon source gas treatment under the ultra-high temperature efficiently promotes to repair the defect structures in the graphene oxide.

In item (2), crystal growth of graphene on a mechanically exfoliated hexagonal boron nitride (h-BN) substrate was explored. I achieved to grow the graphene layer on the h-BN substrates using the ultra-high temperature apparatus developed in Item 1.

In item (3), I established the fabrication process of a field effect transistor with the exfoliated graphene channel (G-FET) using the electron beam lithographic technique. From the carrier

transport analysis of the G-FET, I found that the transfer characteristic in the gate voltage dependence show a linear dispersion observed in the monolayer graphene. In the electrical band structure analysis using the angle resolved photoemission spectroscopy of BL7U at Aichi Synchrotron Radiation Center, I achieved to observe a linear-like dispersion of monolayer graphene from the reduced graphene oxide thin films synthesized in item (1). This is the first observation of the dispersion from the reduced graphene oxide materials.

洋上風力直流送電の電源・負荷および極に適用する  
仮想同期発電機制御の研究

A Study on Virtual Synchronous Generator Control  
Applied to Power Supply, Load and Poles of  
DC Transmission for Offshore Wind Power Generation

研究代表者 平瀬 祐子(理工学部 電気電子情報工学科)

研究期間/2021年7月1日~2022年3月15日

キーワード/① fault tolerance

② high-voltage direct current (HVDC) transmission

③ modular multilevel converter (MMC)

④ short circuit ratio (SCR)

⑤ virtual synchronous generator (VSG)

2021年度交付額/ 945千円

研究発表/学会および口頭発表

- ・ Yuko Hirase, Tomoya Takeda, and Kazuki Ohuchi, “Virtual synchronous generator-based pole control in high-voltage DC transmission systems”, Energy Reports, vol. 8, pp. 1073-1084, 2022 (CPESE2021にて Best Paper Award 受賞)
- ・ 大内和樹,武田知也,平瀬祐子,「高電圧直流送電システム用変換器制御の短絡容量比比較検討」, パワーエレクトロニクス学会論文誌,47 巻,2021

研究経過および成果の概要

## 1. 研究方法

本研究において、海洋の風力電源と、連系先の陸上負荷システムの双方を考慮した電力品質の検証を行う。さらに、高電圧直流(HVDC)送電用端子の極制御に、仮想同期発電機(VSG)制御技術を応用し、直流の正負極間不平衡電力や交流側無効電力を補償可能な、新しい交直変換器制御技術を検討する。

## 2. 研究経過および成果の概要

### < 2. 1 >シミュレーションによる技術検討

ターミナル 1(T1)を送電側,ターミナル 2(T2)を受電側とし,双方の交流(AC)系統(AC1 と AC2)の短絡比(SCR)を変化させた場合の T1, T2 の電力,周波数,AC 電圧についてシミュレーションで検証した。このとき,T1 側モジュラーマルチレベルコンバータ(MMC1)は,AC1 の電圧制御と直流(DC)電圧制御を行い,T2 側 MMC2 は電力制御を担うようにした。その際の MMC2 制御に,一般的な電力(PQ)制御を用いた場合と VSG 制御を用いた場合の比較を行った。

対象とする HVDC 構成図を図 1 に示す。システムは最も基本的な構成である対称単極回路とし,シミュレーション回路は,Manitoba 社より PSCAD/EMTDC にて公開<sup>1)</sup>されている HVDC

送電用シミュレーション回路と、MMC 極の膨大な数のハーフブリッジ(half-bridge: HB)回路を 1 個のテブナン等価回路に置き換えた CIGRE WB B4-57 Type-4 モデル(図 2)を使用した。図 3 は MMC1 における電圧制御を、図 4 は T2 における電力制御(PQ 制御と VSG 制御)を示す。図 3 と図 4 において、マイナー電流制御部の論理は共通であり、バルブ制御に入力される指令値 ( $V_{abc}$ )が、図 2 のテブナン等価回路における入力  $FP$  に相当する。

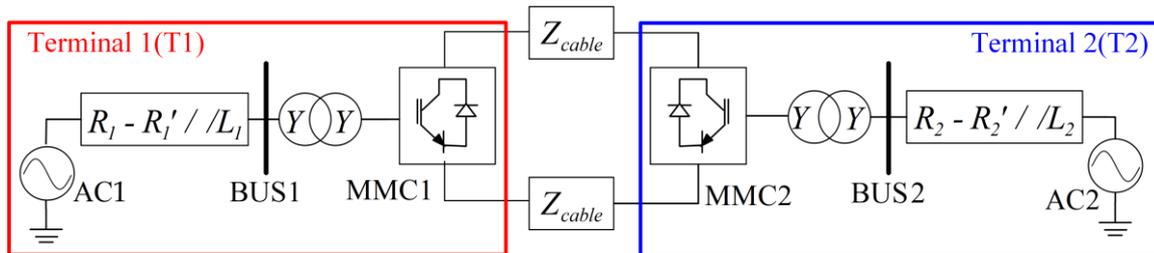


図 1. 対称単極 HVDC 構成図.

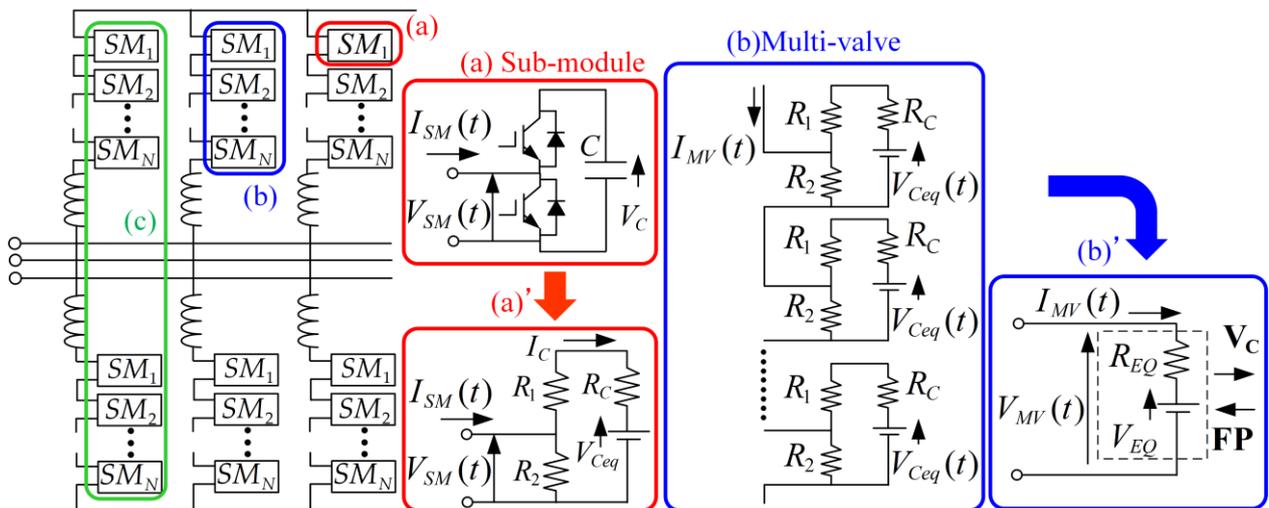


図 2. 各 MMC のテブナン等価回路 (CIGRE WB B4-57 Type-4 モデル).

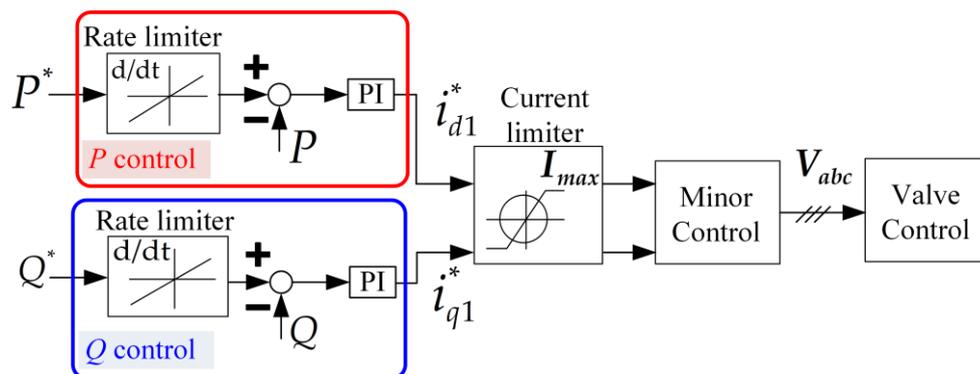


図 3. MMC1 の制御ブロック図 (電圧制御).

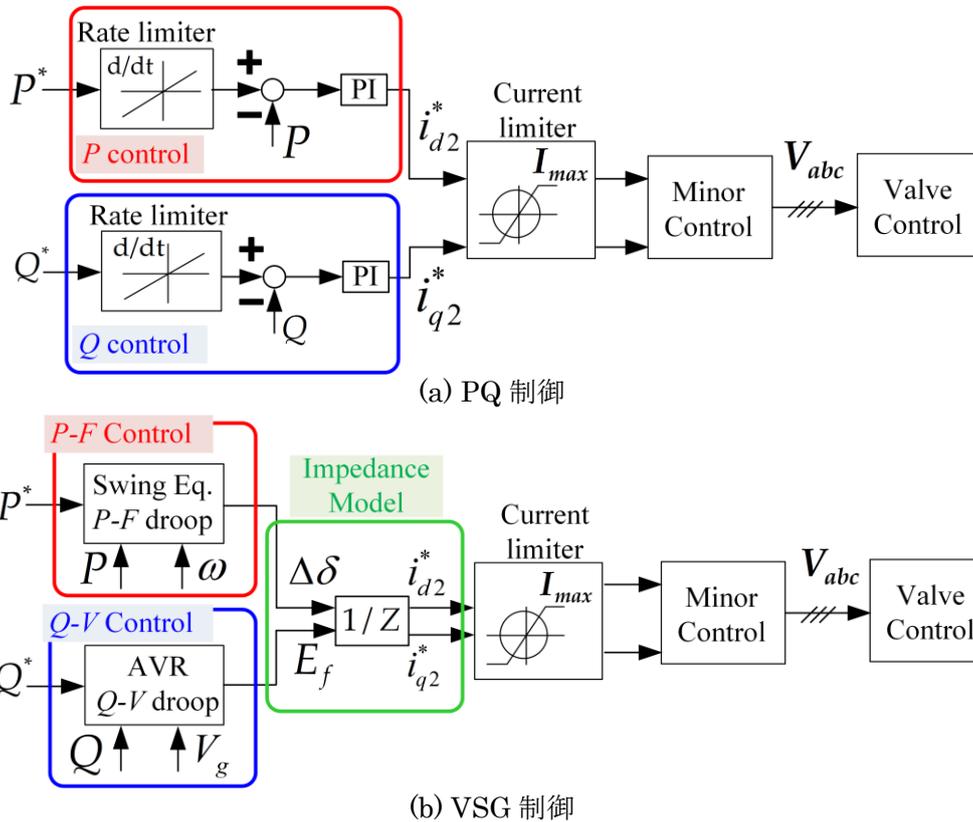


図 4. MMC2 の制御ブロック図 (PQ 制御(a)と VSG 制御(b)).

図 4 (b)における VSG 制御の特徴は、有効電力( $P$ ) - 周波数( $F$ )制御、無効電力( $Q$ ) - 電圧( $V$ )制御、およびマイナー電流制御部へ出力する電流指令値算出のためのインピーダンスモデルから構成されることである。 $P^*$ と $P$ は有効電力の指令値とフィードバック値、 $Q^*$ と $Q$ は無効電力の指令値とフィードバック値を表す。 $V_g$ と $\omega$ は、AC 電圧ベクトル $V_g = [v_d, v_q]^T$ の大きさと角速度であり、 $\omega$ はインバータ制御中の位相・周波数推定器 (PLL)で推定される。 $E_f$ と $\Delta\delta$ は VSG の内部誘起電圧ベクトル $E_f = [e_d, e_q]^T$ の大きさと内部相差角を意味する。インピーダンスモデルでは、 $E_f$ 、 $\Delta\delta$ 、 $V_g$ とソフトウェア上で設定する仮想インピーダンス $r$ と $x$ から算出式 (1)に従って、電流指令値 $I^* = [i_{d2}^*, i_{q2}^*]^T$ を算出する。

$$I^* = \begin{bmatrix} i_{d2}^* \\ i_{q2}^* \end{bmatrix} = \frac{1}{r^2 + x^2} \begin{bmatrix} r & x \\ -x & r \end{bmatrix} \left( \begin{bmatrix} e_d \\ e_q \end{bmatrix} - \begin{bmatrix} v_d \\ v_q \end{bmatrix} \right) \dots \dots \dots (1)$$

表 1 に図 1 中の回路定数を、表 2 に制御シーケンスを示す。

表 1 回路定数

| T1                          | T2                          |
|-----------------------------|-----------------------------|
| AC 1                        | AC 2                        |
| BUS1 定格電圧(線間) 230 kV        | BUS2 定格電圧(線間) 230 kV        |
| 定格周波数 60 Hz                 | 定格周波数 60 Hz                 |
| 変圧器                         | 変圧器                         |
| 変圧比 (1次/2次) 230 kV / 370 kV | 変圧比 (1次/2次) 230 kV / 370 kV |
| 定格容量 1000 MVA               | 定格容量 1000 MVA               |
| %インピーダンス 15%                | %インピーダンス 15%                |
| MMC1                        | MMC2                        |
| 定格容量 1000 MVA               | 定格容量 1000 MVA               |
| 定格出力電圧(線間) 370 kV           | 定格出力電圧(線間) 370 kV           |
| キャパシタンス 2800 $\mu$ F        | キャパシタンス 2800 $\mu$ F        |
| インダクタンス 50 mH               | インダクタンス 50 mH               |

|   |             |       |
|---|-------------|-------|
| 抵抗 1Ω                                   | サブモジュール数 76 | 抵抗 1Ω |
| DC 部                                    |             |       |
| 電圧 640 kV                               |             |       |
| 送電線距離 400 km                            |             |       |
| ケーブルインピーダンス 4.2 + j0.007 Ω (0.001 Hz 時) |             |       |

表 2 MMC の制御シーケンス

| 時刻 (s) | T1                   | PQ 制御                                  | T2 | VSG 制御                       |
|--------|----------------------|--|----|------------------------------|
| 0      |                      | シミュレーション開始                             |    |                              |
| 1.0    | AC 電圧, DC 電圧<br>制御開始 | 自立運転<br>制御開始                           |    | 位相推定回路稼働                     |
| 2.0    | ↓                    |  | ↓  | ↓                            |
| 3.0    | ↓                    | AC 系統連系<br>PQ 制御開始<br>(有効電力指令値 P*=0pu) |    | VSG 制御開始<br>(有効電力指令値 P*=0pu) |
| 4.0    | ↓                    |  | ↓  | ↓                            |
| 5.0    | ↓                    |  | ↓  | ↓                            |
| 6.0    | ↓                    |  | ↓  | ↓                            |
| 7.0    | ↓                    |  | ↓  | ↓                            |
| 8.0    | ↓                    |  | ↓  | ↓                            |
| 9.0    | ↓                    |  | ↓  | ↓                            |

AC1 の SCR を変化させた際には、PQ 制御と VSG 制御の 2 つの制御間での差異は殆ど見られなかったため、AC2 の SCR を変化させた試験結果を図 5 に示す。T2 側 AC 系統の SCR を Case1(赤), Case4(青), Case6(緑)の順に 10, 4.8, 1.9 と小さくし、この時 T1 側の SCR は 10 で固定した。左右 2 列ずつの結果はそれぞれ、MMC2 に PQ 制御を適用した場合(a)と VSG 制御を適用した場合(b)の結果で、上下 2 段ずつの結果はそれぞれ、T1 の結果と T2 の結果である。各ターミナル、各制御の 4 つの結果は、左上から時計回りに、周波数、有効電力、無効電力、AC 線間電圧実効値を表している。PQ 制御(a)と VSG 制御(b)を比較すると、AC 電圧および無効電力出力の挙動に大きな差が見られた。これは、VSG 制御が AC 電圧に応じた無効電力の自律的な制御機能を有しているためであり、MMC 極での系統貢献機能として活用できる可能性が示されたと考える。

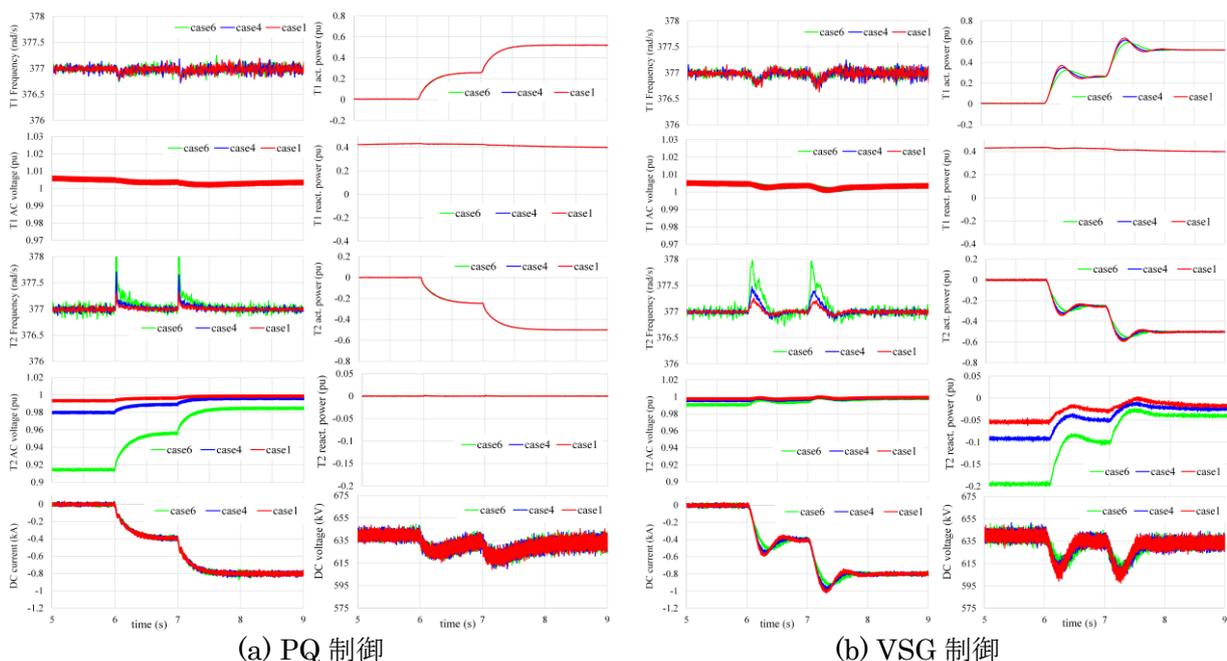


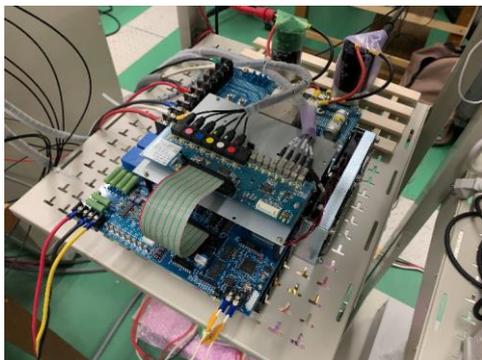
図 5. AC2 の SCR を変化させた場合の MMC 出力比較 (PQ 制御(a)と VSG 制御(b)).

## ＜2. 2＞実証試験装置の作製

HVDC システムの実証試験装置を構築することは容易ではないが、縮小モデルを構築し、それによって VSG 制御単独の動作検証、MMC 動作確認、他の安定化装置との干渉の確認などを行うことは必要である。そこで研究助成金を活用し、本年度は VSG 制御を搭載した系統連系インバータを構築したので、その写真を図 6 に示す。

系統連系インバータは Myway 社製インバータユニットを使用した。パワーブロックの上にインバータ基板が、さらにその上にインタフェース基板がスタックされている(図 6 (a))。制御装置(コントローラ)には複数の制御基板(AD 変換基板, FPGA 基板など)がスタックされており(図 6 (b)), これらの間の光ケーブルを介して、電圧・電流計測信号や、インバータ駆動信号(PWM 信号)の送受信を行う。また、制御装置と外部 PC との間の監視制御装置(図 6 (c))を介して、制御プログラムを書き換えたり、デジタル信号の計測を行ったりする。

現時点では VSG 制御を搭載した系統連系インバータの基本特性の確認を完了している。今後は、同期発電機(図 6 (d))との並列運転を行い、HVDC システムの縮小モデルとして活用することを検討する。



(a) インバータ+IF 基板(MWINV-9R122B)



(b) PE-Expert3



(c) 監視制御装置(WAVE II)



(d) 同期発電機 Honda

図 6. VSG 制御を搭載した系統連系インバータ試験装置.

## 3. 今後の研究における課題または問題点

本研究では AC 系統の強度に関するパラメータとして SCR を取り上げたが、インピーダンス比、慣性力などに起因する影響についても検討が必要である。また制御手法(PQ 制御と VSG 制御)の比較だけでなく、単極回路と双極回路など、システム構成の違いにおいても比較検討が必要である。

## Summary

The use of renewable energy to realize decarbonization is rapidly increasing, and considerable research is being performed to achieve highly efficient high-voltage direct current (HVDC) transmission for offshore wind power generation over long distances. However, in the case of onshore AC power transmission and distribution systems, with the mass introduction of distributed energy resources (DERs), voltage and frequency fluctuations often occur. It is thus necessary to implement the control function of smart inverters, which can facilitate the stabilization of the AC system, in the grid-connected inverters of DERs. Virtual synchronous generator (VSG) control is a smart inverter control strategy that can contribute to the stability of the AC system. In this study, conventional power control and VSG control were applied to the control strategy of modular multi-level converter-based poles of the HVDC transmission system, and the AC system fault tolerances of the entire system were examined.

The system behavior in cases in which VSG control and conventional power control strategies were applied to realize the MMC pole control of HVDC systems was examined. It was noted that a stable operation by using the VSG control could be realized. Even when a power failure occurred in the AC system, the inadequate load power could be supplemented without interruption under the rated capacity. However, owing to the time constant of the swing characteristics, the calculated reference values from the VSG control to the minor control could not be stopped immediately after the fault accident occurred, which led to current and voltage oscillations during the accident. A possible countermeasure to stop the reference calculation was recommended, and the simulation result demonstrated that such an approach could help enhance the operation. Notably, in such scenarios a scheme to resume the VSG control must be considered, and this aspect forms the scope of future work. Furthermore, future work can be aimed at examining whether the VSG control of MMC can help achieve stable operation under no-load or low-load conditions when using current feedback type frameworks. Researchers can also examine whether such systems can help achieve stability when connected to an AC system with a small SCR. In addition, the influence of the type of system (unipolar and bipolar HVDC systems) must be clarified.

## 深層学習による光学活性を持つ有機小分子の de novo 設計

# De novo design of optically active small organic molecules with using deep learning techniques

研究代表者 田代 基慶(理工学部応用化学学科)

研究期間/2021年7月1日~2022年3月15日

キーワード/①量子化学 Quantum Chemistry

②深層学習 Deep learning

③光学活性 Optical activity

④分子設計 Molecular design

2021年度交付額/ 2,000,000円

研究発表/学会および口頭発表

- ・ 平田将大,田代基慶,「モンテカルロ木探索と深層学習を用いた光学活性分子の生成」, 第15回分子科学討論会,2021年9月
- ・ 善治 柁平,田代基慶,「星間氷表面での分子形成」, 第15回分子科学討論会,2021年9月
- ・ 笹尾登,田代基慶,田中実,「軌道角運動量をもつガンマ線の新たな生成法」,日本物理学会第77回年次大会,2022年3月
- ・ Motomichi Tashiro, Noboru Sasao, Minoru Tanaka, "Generation of Twisted Gamma-Rays via Two-Photon Transition", arXiv preprint, <https://doi.org/10.48550/arXiv.2203.06988> 2022年3月

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

深層学習とは、多層人工ニューラルネットワークによる機械学習手法(パターンと推論によって課題を解決させるためのアルゴリズム)である。2012年に Hinton らは深層学習による手法が画像認識では従来の手法に比べ圧倒的な性能を持つことを示したが、以降、深層学習は画像認識・生成、自動翻訳、文章生成、自動運転を初めとした様々な技術に利用され、社会の様々な分野で応用が進められている。2010年代以降、深層学習は化学関連分野へも応用され、望ましい性質を持つ分子の構造や逆合成経路、反応生成物などの予測など、実験や工業生産に近い分野での応用も盛んに行われてきた。多くの深層学習を利用した分子生成では、従来の予め用意された「分子構成部品」を組み合わせるコンビナトリアルケミストリー的方法ではなく、原子レベルで一から分子を生成する de novo 分子設計が盛んに用いられている。

キラリティーを持つ分子は旋光性や円二色性(右・左円偏光に対する吸収度の差)などの光学活性を示すことが知られている。分子によっては円偏光発光(励起状態から脱励起する際の発光にお

ける右・左円偏光の発光強度の差) 起きる場合もある。円二色性については古くから研究が行われ、分子構造との関連など有用な知見が得られてきた。円偏光発光については主に遷移金属錯体などでの研究・応用が前世紀より行われてきたが、実験機器の進歩もあり、近年有機分子を対象とした研究が盛んに行われている(Sánchez-Carnerero et al., Chem. Eur. J. 21 13488 (2015) など)。

円偏光発光は分子光スイッチや、レーザー、生体イメージング、生体センサー、ディスプレイなど様々な用途への応用が進められているが、この際に重要となるのは分子の異方性因子( $g$  値/dissymmetry factor)及び量子収率である。異方性因子は発光がどの程度偏っているかを示す指標( $g = -2 \sim 2$  の値を取り、 $g = 0$  が無偏光)であり、量子収率は吸収した光で発光が起きる割合である。

この円偏光発光に関し、近年有機小分子が注目を集めている。有機小分子を利用する場合、比較的軽量であり有機溶媒可溶性が高いため加工し易い、遷移金属を用いないために環境的にも入手性にも優れる、といった利点が期待される。官能基等を操作することで吸収波長等の性質をコントロールし易いという利点も大きい。しかし、異方性因子と量子収率の双方で金属錯体を上回る有機小分子はほとんど存在しないのが現状である。特に異方性因子に関しては多くの場合  $|g| = 10^{-5} \sim 10^{-3}$  程度と金属錯体( $|g| = 1.3$  程度が存在)に比べて非常に小さい。このため、大きな異方性因子を持つ有機小分子の設計・合成が課題となってきた。

多くの場合、光学活性を持つ有機小分子の設計は研究者個々人の経験や直観に基づいて行われ、また過去の当該分野における研究の経緯を反映した分子が選択される傾向にある(上掲 Sánchez-Carnerero et al. など)。しかし、近年の化学分野への深層学習の応用を踏まえると、光学活性を持つ分子についても深層学習を利用した *de novo* 分子設計により従来にはない有用な分子が生成できる可能性がある。そこで、本研究では深層学習を用いた *de novo* 設計によって光学活性を持つ有機分子を効率的・精度良く生成する方法を見出すことを目的とする。これは報告者が直近で行った、モンテカルロ木探索(MCTS)と回帰的ニューラルネットワーク(RNN)を組み合わせた方法(ChemTS python ライブラリー: Yang et al., Sci. Technol. Adv. Mater. 18 972 (2017))による *de novo* 分子設計に関する研究を継承・発展させるものとなる。

## 2. 研究経過および成果の概要

本研究ではモンテカルロ木探索(MCTS)と回帰的ニューラルネットワーク(RNN)を組み合わせた方法によって小さな有機分子の生成を行っている。この生成手続きの改善を目指して主に2つの項目について検討を行った。

1. これまでの半経験的手法よりもより精度の高い量子化学手法を用いる分子の性質の評価
2. 分子の性質を誘導するための報酬関数の改善

上記 1. については、これまで ZINDO と呼ばれる半経験的手法によって分子の電子励起状態の性質を計算し光学活性の程度を評価してきたが、得られる結果の精度に問題があった。今回 sTDA と呼ばれる新しい手法を導入し、計算時間をそれほど犠牲にすることなくより精度の高い励起状態物性を評価できることを確認した。

上記 2. の報酬関数については、MCTS の結果としてできた分子の性質をこの関数で評価し、その結果を次ステップ以降の分子生成過程に反映させる上で利用される。通常は水との親和性や分子の合成し易さなど、化学式や 1-2 次元的な分子の配置から得られる記述子が関数で考慮されるが、本研究では 3 次元的な記述子をも盛り込むことで光学活性を持つ分子の生成の誘導を試みた。特に、今回は Chirality measure と呼ばれる分子キラリティーの程度を表す記述子を評価し、それを報酬

関数に組み込んで分子生成の様子を調査した。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

本研究の手法では、1万回～10万回程度の MCTS による分子生成試行を繰り返して望ましい性質を持つ分子の生成を誘導している。MCTS によって生み出される分子の性質を毎回量子化学計算を用いて評価しているため時間が掛かるのが難点である。したがって量子化学的手法を用いずに分子の性質、特に立体的な性質に関わる記述子を評価することが今後重要になると考えている。そのような工夫の1つが Chirality measure による分子キラリティー度合の報酬関数への組み込みであったが、現時点では分子の異方性因子へはそれほど大きく影響はしていないように見える。今後は他の立体形状に関わる記述子や分子軌道に関わる記述子等を報酬関数で考慮し、分子の光学活性との相関などを調べて行く予定である。

## Summary

Optically active small organic molecules are computationally designed using the Monte Carlo Tree Search (MCTS) combined with recurrent neural network. Each molecule generated is subjected to geometric optimization and excited state calculations, after which the excitation energy and asymmetry coefficient are calculated and the score function in the MCTS process is evaluated. This procedure allows for the generation of molecules that are not in the existing database. In this study, small organic molecules are generated by a combined Monte Carlo tree search (MCTS) and regressive neural network (RNN) method. Two main items were investigated to improve this generation procedure. 1. evaluation of molecular properties using quantum chemical methods that are more accurate than conventional semi-empirical methods. 2. improvement of the reward function to induce molecular properties. Regarding the first point above, the degree of optical activity has been evaluated by calculating the properties of the electronically excited states of molecules using a semi-empirical method called ZINDO, but the accuracy of the results obtained has been problematic. In this study, sTDA was confirmed that it is possible to evaluate excited-state properties more precisely without sacrificing much computation time. The reward function described in 2. above is used to evaluate the properties of the molecule resulting from MCTS and to reflect the results in the molecular formation process from the next step onward. Normally, the function considers descriptors derived from chemical formulas and 1-2 dimensional molecular arrangements, such as affinity to water and ease of synthesis, but in this study, we attempted to induce the formation of optically active molecules by incorporating 3D descriptors. In particular, we evaluated a descriptor for the degree of molecular chirality, called the chirality measure, and incorporated it into the reward function to investigate the formation of molecules. We found that chirality measure does not affect so strongly on optical activity of the generated molecules.

# イオン液体中における好塩性酵素の反応評価

## Reaction of haliphilic enzymes in ionic liquids

研究代表者 峯岸 宏明(理工学部応用化学科)

研究期間/2021年7月1日~2022年3月15日

キーワード/①好塩性古細菌 Haloarchaea

②好塩性酵素 Halophilic enzyme

③イオン液体 Ionic liquid

④キシラン Xylan

⑤キシラナーゼ Xylanase

2021年度交付額/900,000円

研究発表/学会および口頭発表

・峯岸 宏明 イオン液体中における好塩性酵素の反応評価, 極限環境生物学会 2022年度(第23回)年会, 2022年11月予定

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

本研究では、好塩性酵素と、反応媒体として液体で存在する「塩」であるイオン液体を用いて、その酵素反応における諸性質を解析し、好塩性酵素とイオン液体との関係を明確にすることを目的とした。市販中から新規のセルラーゼおよびヘミセルラーゼであるキシラン生産菌を単離し、粗酵素液の反応プロファイルを評価した。反応最適条件を用いて、イオン液体中における活性の有無を確認した。また同時に、分離株が生産する好塩性酵素の精製を試みた。

本研究ではセルラーゼおよびキシラン分解酵素生産菌のスクリーニングと培養に4種類の培地を用いた。培地組成は好塩性古細菌の培養に適した培地をもとに、基質としてカルボキシメチルセルロースまたはキシランを添加したものを使用した。分離培地において候補株を培養し、その培養上清を粗酵素液として、これらの反応プロファイルとして反応最適塩濃度、温度、pH および熱安定性、各種金属イオンに対する耐性評価を行った。また、これら最適反応条件を用いて、非プロトン性のイオン液体である酢酸 1-エチル-3-メチルイミダゾリウム存在下における粗酵素液の反応を評価した。また、精製酵素における反応評価を目指し、分離株が生産する好塩性酵素の精製を目指し、ハイドロキシアパタイトにおける吸着クロマトグラフィーおよび疎水性樹脂を用いた疎水性クロマトグラフィーを試みた。

### 2. 研究経過および成果の概要

世界各国の市販塩 878 種類を分離源として、2 種類の基質および 4 種類の培地を用いたスクリーニングを行った。その結果、活性の高い 10 株のキシラナーゼ生産菌の取得に成功した。一方、カルボキシメチルセルロースを用いたセルラーゼ生産菌においては、活性の高い株が得られなかった

た。11 株の候補株の 16S rRNA 遺伝子塩基配列により、これらは分離源は異なるが、全て *Halobacterium noricense* に近縁であることが推測された。これらを同一条件で培養し、その活性を評価した結果、フィリピン産天日塩「FIDEL IODIZED SALT」から分離された No.5 株が最も高い活性を示したので、本研究のターゲットとした。No.5 株の粗酵素液におけるキシラン分解活性を評価した結果、その最適反応条件は、NaCl 濃度 20%、pH 6.7、温度 65°C であった。さらに NaCl 濃度を上げるにつれて比活性と反応温度範囲、さらに最適反応条件での最大活性も上がる特徴があった (図 1)。

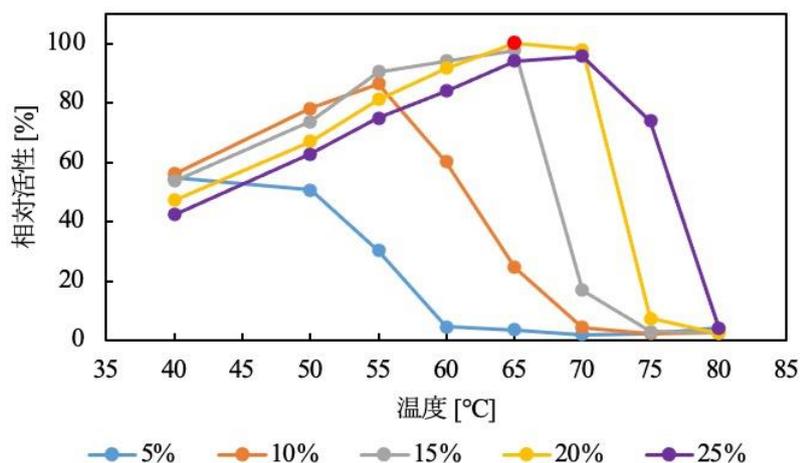


図 1. No.5 株が生産するキシランナーゼの NaCl 濃度と温度の変化における活性の違い

また、No.5 株の粗酵素液を非プロトン性のイオン液体である酢酸 1-エチル-3-メチルイミダゾリウム存在下で反応させた結果、酢酸 1-エチル-3-メチルイミダゾリウム濃度を上げるにつれ、その活性は低下した。粗酵素液では様々な要因が影響を及ぼすので、イオン液体のみでの評価を行うために酵素の完全精製および結晶化を目指すために、精製を試みた。精製は、No.5 株が生産するキシランナーゼおよび本研究室で分離されている新規好塩性古細菌 Sel6 株が生産するセルラーゼについて行った。ハイドロキシアパタイトにおける吸着クロマトグラフィーおよび疎水性樹脂を用いた疎水性クロマトグラフィーを試みた結果、培養上清と比較し、精製度は向上したが、完全精製には至らず、また収率も低かったため、現在は酵素の生産条件の検討を行っている。また、本研究ではイオン液体として、非プロトン性のイオン液体である酢酸 1-エチル-3-メチルイミダゾリウムのみでの検討であったため、他のイオン液体を用いて検討を行っている。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

本研究では、イオン液体としてリパーゼ等において酵素活性の報告がある酢酸 1-エチル-3-メチルイミダゾリウム塩を使用したが、No.5 株の粗酵素液ではその濃度を上げるにつれその活性は低下した。本研究の反応系は、水系とイオン液体のハイブリッド系であること、また粗酵素液にはキシランナーゼ以外にも様々な成分が存在するために、正確な評価ができなかった。また、好塩性酵素の活性維持のために、本反応系には 20% の NaCl が共存しており、評価の基準が複雑化してしまった。

イオン液体における反応を正しく、評価するためには酵素の精製及び結晶化が今後の課題となってくる。また、イオン液体もイミダゾリウム塩 1 種類のみでの評価であったため、イオン液体と好塩

性酵素の関係を解明するためには、他の基本骨格であるピロリジニウム塩、ピリジニウム塩、ピペリジニウム塩、アンモニウム塩、ホスホニウム塩についても反応評価を行う必要がある。今後はキシラナーゼだけでなく、他の好塩性酵素についても同様に評価し、イオン液体と好塩性酵素について網羅的に解析する予定である。

## Summary

An ionic liquid is a "salt" of a liquid composed only of ions, and in particular, a liquid compound is called an ionic liquid. Thus, being a salt, ionic liquids exhibit an inhibitory effect on enzymes activity. On the other hand, ionic liquids have shown their potential as a solvent media for many enzymatic reactions. Ionic liquids is observed that change in cation or anion alters the physiochemical properties of the ionic liquids, which in turn influence the enzymatic reactions by altering the structure, activity, and stability of the enzymes.

Halophilic enzymes are extremozymes produced by haloarchaea. They have similar characteristics to general enzymes but different properties, mainly structural. Among these properties is a high requirement of salt for biological functions. Enzymes of this group of archaea are functional under salt concentrations at which bacterial counterparts fail to be active. Such properties makes haloarchaeal enzymes suitable for salt-based applications and their use under dehydrating conditions. Therefore, it is considered that halophilic enzymes can maintain their activity even in ionic liquids. The purpose of this study was to clarify the relationship between halophilic enzymes and ionic liquids.

Eight hundred seventy eight salt samples, domestic and imported, were dissolved in 1 ml 5% sterile NaCl solution, and 100  $\mu$ l each was spread on agar plates including carboxymethyl cellulose or xylan. After incubation of agar plates at 37 °C for 2-4 weeks, ten colonies formed clearing zones when flooded with 0.1 % congo red. The cells were picked up and were purified by repeated streaking, and 16S rRNA gene sequences were determined according to the method of Minegishi et al. (2012). One strain selected for further study, an xylan-degrading archaeon *Halobacterium* sp. No.5 was isolated from a solar salt sample imported to Japan from the Philippines. The optimum reaction conditions for the crude enzyme from strain No. 5 were 20% NaCl, pH 6.7, and 65°C. The optimum temperature of this enzyme increased as the salt concentration increased. This crude enzyme retained approximately 60 % of the initial activity after incubation for 24 hour at 70°C.

Furthermore, 1-Ethyl-3-methylimidazolium Acetate was used to evaluate the effect of this enzyme on ionic liquids. As a result, the activity of this crude enzyme decreased in the hybrid system of ionic liquid and water. Currently, this enzyme is being purified to evaluate the reaction only in ionic liquids. The enzyme is also evaluating reactions with different types of ionic liquids.

磁性ナノ粒子の鎖状構造体を利用した選択的酵素反応促進法の開発

## Encouragement of specific enzyme reaction utilizing behavior of chain-like structures composed of ferromagnetic nanoparticles under external magnetic fields

研究代表者 鈴木 政史(バイオ・ナノエレクトロニクス研究センター)

研究期間/2021年7月1日~2022年3月15日

キーワード/①磁性ナノ粒子 Magnetic nanoparticle

②固定化酵素 Immobilized enzyme

③鎖状構造 Chain-like structure

④ハイパーサーミア Hyperthermia

⑤回転運動 Rotational motion

2021年度交付額/1,044,000円

研究発表/学会および口頭発表

- M. Suzuki, T. Mizuki, T. Maekawa, H. Morimoto, Chain-like structure composed of ferromagnetic nanoparticles cross-linked with enzyme molecules and their enzymatic reaction under external magnetic fields, The 18th International Symposium on Bioscience and Nanotechnology, Online, 2021年12月
- International Soft Matter Conference (ISMC2022), Poznan, Poland, 2022年9月(発表予定)

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

担体表面に固定化された酵素は再利用可能なため様々な分野で利用されている。特に化学結合で固定化された酵素は一般的な酵素が失活してしまうような温度や pH 等の環境下においても活性を示すことから、厳しい環境下で使用する必要のある工業への応用に適している。一方で固定化していない Free の酵素と比較して活性が低下するため、固定化酵素の活性を促進させる技術は有用となる。本研究では強磁性ナノ粒子が直流磁場中で形成する鎖状構造体の粒子間を架橋するように酵素分子を化学結合を利用して固定化する。この鎖状構造体が外部磁場中で示す挙動を利用して固定化酵素の活性を促進することを試みる。

実験ではまず酵素分子によって架橋された磁性ナノ粒子の鎖状構造体を作成した。平均粒径 100 nm の鉄のナノ粒子表面に配位結合を用いて 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) を固定化し、表面をカルボキシル基で修飾した。この粒子と N-Hydroxysuccinimide (NHS), 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide, hydrochloride (EDC) および好熱菌由来の酵素  $\alpha$ -amylase を混合したテストチューブを直流磁場中で 10 分間静置した。10 分後、グリシンを追加・混合した後に遠心分離でクラスターを沈め、上澄みを取除き、滅菌水で懸濁する wash 作業を行い、テストチューブ内に残った NHS, EDC,  $\alpha$ -amylase, グリシンを除去した。

次に作成した鎖状構造体内部で化学結合によって固定化された  $\alpha$ -amylase の外部磁場中における活性を測定し、外部磁場中で鎖状構造体が示す挙動が  $\alpha$ -amylase の活性に与える影響を評価した。作成した鎖状構造体と  $\alpha$ -amylase の基質溶液（デンプン水溶液）を混合したテストチューブを実験システムの円筒容器内部に設置した。円筒容器内部は恒温槽によって一定の温度に保たれた水を循環させ、円筒容器を取り囲むようにして高周波交流磁場を印加するためのコイルを設置した。さらに、円筒容器外部には回転磁場を印加するための 4 つのコイルを配置した。この実験システムを利用して (I) 回転磁場, (II) 高周波交流磁場, (III) 回転磁場と高周波交流磁場, の 3 種類の外部磁場を 10 分間印加しながら酵素反応を行った。10 分後、HCl を加えて反応を止めた溶液にヨウ素液を加え、ヨード反応を利用して 700 nm の波長の吸光度変化から  $\alpha$ -amylase の活性を評価した。

## 2. 研究経過および成果の概要

(I) 回転磁場中の鎖状構造体内部の  $\alpha$ -amylase の活性は無磁場のそれと比較して上昇することが確認された。これは印加した回転磁場に追従して鎖状構造体が回転運動を行い、鎖状構造体内部の  $\alpha$ -amylase と基質分子が衝突する頻度が増加することで反応が促進されたものと推測される。回転磁場中の  $\alpha$ -amylase の活性上昇量は回転磁場の周波数の増加に伴い上昇した。このことから鎖状構造体の回転速度の上昇に伴い、 $\alpha$ -amylase と基質分子との衝突頻度も増大したものと予測される。

(II) 高周波交流磁場中の鎖状構造体内部の  $\alpha$ -amylase の活性は無磁場のそれと比較して上昇することが確認された。これは交流磁場中の鉄ナノ粒子が磁気ヒステリシスに起因して発熱することで、粒子間を架橋するように固定化された  $\alpha$ -amylase を加熱・活性化したものと推測される。交流磁場中の  $\alpha$ -amylase の活性上昇量は交流磁場の振幅の増加に伴い上昇した。このことから磁場の振幅の増加に伴い粒子の発熱量が増加し、 $\alpha$ -amylase がより加熱されることで活性が増大したものと予測される。

(III) 回転磁場および高周波交流磁場を同時に印加した鎖状構造体内部の  $\alpha$ -amylase の活性は無磁場のそれと比較して上昇することが確認された。この活性上昇量は交流磁場のみを印加した場合と比較しても高いことから、交流磁場の印加によって発熱した粒子によって  $\alpha$ -amylase が加熱・活性化され、さらに回転磁場中の鎖状構造体の運動によって基質分子との衝突頻度が増加し、酵素反応が促進されたものと考えられる。

## 3. 今後の研究における課題または問題点

本実験結果から本手法を利用することで、化学結合によって固定化された酵素の反応を選択的に促進させることが可能であるものと考えられる。今後、実際に同じ反応溶液内に別の種類の酵素を分散させた状態で同様の実験を行い、外部磁場中の鎖状構造体の挙動が溶液中に分散した他の酵素の反応に影響を与えないことを確認する必要がある。また実際に回転磁場と高周波交流磁場を同時に印加した際の鎖状構造体がどのような運動をしているかを観察する必要がある。今後は溶液中における外部磁場中の鎖状構造体の運動をマイクロスコープで観察するための実験システムの改良を行う。

## Summary

Enzymes immobilized on a carrier via a covalent bond are generally enhanced their environmental stability compared to free enzymes, whereas their activity decreases. Therefore,

developing an activating method for a covalently-immobilized enzyme is significant for industrial processes where enzymes are used in a hard environment such as high temperature, high- or low- pH, etc. In this research, we develop the activating method of enzyme covalently-immobilized on ferromagnetic nanoparticles clusters utilizing their behavior under external magnetic fields. We created chain-like structures composed of ferromagnetic nanoparticles cross-linked with enzyme molecules and investigated their enzymatic reaction under external magnetic fields. We immobilized 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) molecules on the surface of iron nanoparticles, the average diameter of which was 100 nm, to modify their surface with carboxyl groups. We then mixed the particles with N-hydroxysuccinimide (NHS), 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide, hydrochloride (EDC) and  $\alpha$ -amylase extracted from *bacillus licheniformis* under a dc magnetic field. The particles formed chain-like structures along the field direction and their structures were fixed by cross-linking via  $\alpha$ -amylase molecules. We next investigated the enzymatic activity of  $\alpha$ -amylase in the chain-like structures under external magnetic fields and found that the enzymatic activity increased under a high-frequency ac magnetic field. When a high-frequency ac magnetic field was subjected to the chain-like structures, the iron particles in the structures generated heat caused by magnetic hysteresis and as a result,  $\alpha$ -amylase in the structures was heated up and activated. The activity increased with an increase in the field amplitude. We also found that the enzymatic reaction of  $\alpha$ -amylase was encouraged under a rotational magnetic field. When a rotational magnetic field was applied to the chain-like structures, the probability of the collision of  $\alpha$ -amylase molecules with substrate molecules increased caused by the rotational motion of the chain-like structures. The reaction efficiency increased with an increase in the field frequency. We also investigated the enzymatic activity of  $\alpha$ -amylase in the chain-like structures under rotational/ac combined magnetic field and found that the enzymatic activity further increased compared to the above two cases. When rotational and ac magnetic fields were simultaneously subjected to the chain-like structures, the collision of  $\alpha$ -amylase activated due to the heat generation of the particles with substrate molecules increased by the motion of the chain-like structures.

# メンタルヘルス不調のセルフケア・システムの構築に向けた検討

## Construction of self-care system for mental health

研究代表者 川口 英夫 (生命科学部 生命科学科)

研究期間/2021年7月1日~2022年3月15日

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

②コホート調査 Cohort study

③生活習慣 Lifestyle habit

④勤労者 Workers

⑤新型コロナウイルス禍 The pandemic of the novel coronavirus (COVID-19)

2021年度交付額/1,039,000円

研究発表/学会および口頭発表

・第50回可視化情報シンポジウム(2022年8月、工学院大学、新宿)で口頭発表予定

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

筆跡の時間情報を用いたメンタルヘルス不調のリスクを未病段階で把握することで、そのリスクを個人の『気づき』とすることが可能となる。しかしながら、この時、高リスクに該当した人のリスク低減方法を併せて提示しなければ、個人が『気づき』を有効活用できない。そこで、2016年度から4年間実施したコホート調査で、リスク低減要因を探索した。個人が実行できるものとして生活習慣に着目した結果、上記の要因として運動習慣と食習慣が抽出された。そこで、これらの要因に実効性があるか、運動習慣に着目した介入調査を実施して確認することを、本検討の目的とする。なお、食習慣はコントロールが困難なため今回の介入内容からは外すこととする。この対処法が有効であることが明らかとなれば、被験者の立場に寄り添った科学的根拠のある提案ができる。

具体的には、ボランティア大学生を対象に30人規模・1ヶ月間の介入調査を実施する。被験者は、デジタルペンを用いた内田クレペリン検査、精神健康度調査票のGHQ30、生活習慣を定量化する調査票のDIHAL.2を調査前後で受検する。被験者を対象群(20名)とコントロール群(20名)に分け、対象群はスマートウォッチを1ヶ月間装着する。対象群とコントロール群間で調査前後のメンタルヘルス不調のリスクと各質問票を比較し、スマートウォッチで記録した運動量や運動頻度等の運動習慣がメンタルヘルス不調のリスクや生活習慣を改善するか検討する。また、1ヶ月間のメンタルヘルス不調のリスク変化と生活習慣の関連性を統計的に解析し、メンタルヘルス不調のリスク低減方法を再確認するとともに、どのようなきっかけで行動変容が起こるか事例を検討する。

### 2. 研究経過および成果の概要

上記のような研究計画に基づき研究を実施する予定であったが、新型コロナウイルス禍のため、1ヶ月間に渡る運動を対象とした介入調査を実施することが不可能となった。そこで、急遽研究内容を変更し、勤労者のメンタルヘルス不調の経年変化と新型コロナウイルス禍による影響を検討した。この研究方法および結果とその検討について、以下に記す。

K社(製造業)の勤労者の方35名(男性27名、女性8名)を対象とし、デジタルペンを用いた内田クレペリン検査、精神健康調査票(GHQ30)、健康度・生活習慣診断検査(DIHAL.2)、幸福度調査票(JSHS)に回答いただいた。また、デジタルペンの筆跡情報から内田クレペリン検査の2画

の数字 4, 5, 7 の 1 ストローク目と 2 ストローク目の間隔時間 ( $t_1$ )、すべての数字の書き終わりから次の数字の書き始めの間隔時間 ( $t_2$ ) を取得し、これらの比をストローク間隔時間比 ( $t_2/t_1$ ) とした。

本研究では、3年間連続してすべての調査データが得られた 22 名 (22-65 歳、男性 15 名、女性 7 名) を解析対象とし、調査開始 1 年目 (2019 年) の  $t_2/t_1$  が 10 以上の方を高リスク群、10 未満の方を低リスク群として、メンタルヘルス不調リスクの経年変化を検討した。また、GHQ30 総合点が 7 点以上の方を高スコア群、6 点以下の方を低スコア群とし、2 群間の比較をした。統計解析は、 $t$  検定または Mann-Whitney の  $U$  検定を用いた。

表 1 に示した、筆跡情報を用いたメンタルヘルス不調リスクの 2 群間の経年変化では、2019 年にメンタルヘルス不調の高リスク群に該当した勤労者は 2 名だったが、2020 年および 2021 年では高リスク群に該当する勤労者はいなかった。また、表 2 に示した、GHQ30 総合点による 2 群間の因子別評価の比較では、2019 年に JSHS・健康度・健康度の各因子・生活習慣・休養・睡眠充足性の項目で有意差がみられたが、2020 年と 2021 年は JSHS のみ有意差がみられた。そこで、3 年間の各因子のスコアについて、同群での差分比較をしたところ、低スコア群 (2019-2021) の差分において、健康度および社会健康度に有意差 ( $p < 0.05$ ) がみられ、3 年間で徐々にスコアの低下がみられた。

上記の結果より、新型コロナウイルス感染症の流行により、休養を取る時間が増えたためメンタルヘルス不調のリスクが低減したと考える。一方、低スコア群は高スコア群に比べて以前よりも人との関わりや趣味などを行う機会が減少し、健康度の低下に繋がったことが推測される。そのため、感染症蔓延による生活環境の変化や行動自粛により 2 群間の差が小さくなった可能性があると考えられる。

表 1 メンタルヘルス不調リスクの経年変化

|                                   | 1年目(2019年) | 2年目(2020年) | 3年目(2021年) |
|-----------------------------------|------------|------------|------------|
| 低リスク群の人数<br>( $t_2/t_1 < 10$ )    | 20         | 22         | 22         |
| 高リスク群の人数<br>( $t_2/t_1 \geq 10$ ) | 2          | 0          | 0          |

表 2 低スコア群と高スコア群の群間差

| 2019      | 低スコア群 (n=7)    | 高スコア群 (n=15)   | 有意確率 ( $p$ ) |
|-----------|----------------|----------------|--------------|
| $t_2/t_1$ | 5.46 ± 1.55    | 6.53 ± 2.12    | 0.249        |
| JSHS      | 5.46 ± 0.91    | 4.12 ± 0.9     | 0.004        |
| 健康度       | 43.43 ± 4.08   | 33.93 ± 6.1    | 0.001        |
| 運動        | 26.29 ± 5.41   | 22.07 ± 6.91   | 0.171        |
| 食事        | 43.86 ± 3.13   | 40.87 ± 4.31   | 0.117        |
| 休養        | 47 ± 8.25      | 38.47 ± 8.86   | 0.044        |
| 生活習慣      | 117.14 ± 9.56  | 101.4 ± 15.67  | 0.024        |
| 身体健康度     | 15.14 ± 2.34   | 12.4 ± 2.92    | 0.042        |
| 精神健康度     | 15.14 ± 2.41   | 10.93 ± 3.08   | 0.005        |
| 社会健康度     | 13.14 ± 2.67   | 10.6 ± 2.47    | 0.040        |
| 睡眠充足性     | 13.29 ± 3.9    | 9.73 ± 2.82    | 0.024        |
| 2020      | 低スコア群 (n=7)    | 高スコア群 (n=15)   | 有意確率 ( $p$ ) |
| $t_2/t_1$ | 4.04 ± 0.65    | 4.67 ± 1.22    | 0.132        |
| JSHS      | 5.32 ± 0.59    | 4.07 ± 0.83    | 0.002        |
| 健康度       | 41.57 ± 6.24   | 35.47 ± 6.93   | 0.061        |
| 運動        | 25.57 ± 5.5    | 22.73 ± 6.1    | 0.308        |
| 食事        | 43.86 ± 5.87   | 40.8 ± 4.78    | 0.208        |
| 休養        | 46.14 ± 6.49   | 40.6 ± 9.52    | 0.237        |
| 生活習慣      | 115.57 ± 15.59 | 104.13 ± 16.46 | 0.139        |
| 2021      | 低スコア群 (n=7)    | 高スコア群 (n=15)   | 有意確率 ( $p$ ) |
| $t_2/t_1$ | 3.74 ± 0.62    | 4.18 ± 0.89    | 0.248        |
| JSHS      | 5.32 ± 0.73    | 4.42 ± 0.88    | 0.029        |
| 健康度       | 38 ± 3.7       | 34.73 ± 9.4    | 0.257        |
| 運動        | 24.71 ± 6.34   | 23.47 ± 5.73   | 0.650        |
| 食事        | 44.29 ± 9.2    | 41.4 ± 4.79    | 0.458        |
| 休養        | 45.43 ± 8.34   | 40.67 ± 10.3   | 0.299        |
| 生活習慣      | 114.43 ± 19.36 | 105.53 ± 15.11 | 0.253        |

データは mean ± SD で示した。  $p < 0.05$

### 3. 今後の研究における課題または問題点

今後の新型コロナウイルス禍の動向に依存するが、本来の目的である、運動を対象とした介入調査を実施したい。

### Summary

Due to the recent pandemic of the novel coronavirus (COVID-19), there is an ongoing dependence on remote work and remote lessons. As a result, many people have changed their lifestyle rhythms and life habits. We conducted a three-year cohort survey of workers from 2019 to examine the variation of workers' mental health problems and the effects of the pandemic over time. We examined on 35 workers (ages 20–63; 27 men, 8 women) working at Company K (manufacturing industry). The respondents were divided into two groups using the criteria of the DIHAL.2 lifestyle habits questionnaire: Group I comprised individuals who had positive results for both health and lifestyle habits, and Group II comprised all other respondents. The difference between these two groups was investigated. The results suggested that the mental health of workers might have improved due to the ease of taking rest. However, it was also suggested that the number of opportunities for working persons to interact with other persons and to engage in hobbies decreased and their health level might have declined as a result. This may have been caused by changes in work systems due to the COVID-19 pandemic.

# 富栄養化湖沼の湖底境界層におけるメタン酸化-脱窒プロセスの解明

## Investigation of the denitrifying methane-oxidation in the benthic boundary layer of an eutrophicated lake

研究代表者 李 沁潼(生命科学部応用生物科学科)

研究期間/2021年7月1日~2022年3月15日

キーワード/①メタン生成 Methane production

②メタン酸化 Methane oxidation

③富栄養化湖沼 Eutrophication

④境界層 Benthic boundary layer

⑤脱窒 Denitrification

2021年度交付額/ 1052千円

研究発表/学会および口頭発表

・李沁潼、小井田龍夢、富澤政輝、長谷澤嶺、堀部弘貴、天野雪菜、北村立実、大内孝雄、内海真生 「富栄養化湖沼の湖底境界層におけるメタン酸化-脱窒プロセスの解明」、口頭発表、日本水環境学会第56回年会、2022年3月

・ Qintong Li, Hiroki Horibe, Yukina Amano, Tatsuo Kitamura, Motoo Utsumi. Microbial communities involved in the methane cycle in the sediments of an eutrophicated lake. *Microbes and environments* 誌に投稿準備中 (2022年5月予定)

研究経過および成果の概要

メタンは強力な温室効果ガスの一つで1970年代の産業革命以降大気中の濃度は増加傾向にある。湖沼や湿地等の淡水環境の底質はメタンの重要な発生源であり、メタン全地球放出の約20%を担っている。メタンはメタン生成古細菌により湖沼底泥等の無酸素環境において生成される。その後、大半が底泥中および水中においてメタン酸化細菌による嫌気及び好気メタン酸化過程を経て、水中へ拡散し大気に放出されている。地球温暖化が進行している中、一次生産が高く有機物に富む富栄養化湖沼において、メタン循環の動態を化学的にモニタリングしながらそれに寄与する微生物の変動実態を解明することは、今後のメタン放出量の推移を把握するために重要である。本研究は、富栄養湖である霞ヶ浦の底泥を対象にメタン循環過程の季節特性を微生物学視点で解明することを目的に実施とした。

### 1. 研究方法

1.1 底泥試料採取: 2019年11月から2021年11月まで季節ごとに(計8回)霞ヶ浦の高浜・湖心・土浦の3地点を対象にコアサンプラーを用いて湖沼底泥の採取を行った。

1.2 溶存メタン濃度測定: 0-2 cm、2-4 cm、4-6 cm、6-10 cmの各深度の底泥2 mLを分取し100 mLバイアルビンに入れ、飽和食塩水10 mlとNaOH(終濃度0.1 M)を添加した後密栓した。振盪(60°C、30分)を行った後、気相のメタン濃度についてGC-FIDで測定し、溶存メタン濃度を算出した。

1.3 嫌気メタン酸化活性測定: 各深度の底泥5 mLを分取し100 mLバイアルビンに入れ、各調査日に同時に採取した底層湖水10 mlを添加後、3分間の窒素曝気(500 mL/min)を行い密栓し

た。その後現場水温で 5 日間遮光培養を行い培養期間中のメタン濃度の時系列変化を測定し、嫌気メタン酸化速度を算出した。

1.4 間隙水中環境因子の測定： 各深度の底泥試料を遠心分離して得た間隙水について、IC を用いて無機栄養塩類及び硫酸イオンを、TOC 計を用いて全有機炭素 (TOC) を測定した。

1.5 遺伝子解析： 各深度の底泥試料から DNA 抽出を行い、メタン循環に関与する微生物群 (メタン生成菌、嫌気性メタン酸化菌、好気性メタン酸化菌) を qPCR 法で定量した。また、深度ごと及び季節ごとの微生物叢を把握するために、2021 年度の各季節に採取した湖心底泥試料に対し、16S V4 領域をターゲットに次世代シーケンシングを行った (Illumina Miseq)。

## 2. 研究経過および成果の概要

2.1 底泥中のメタン濃度： 冬季のメタン濃度が最も低く、夏季から秋季にかけて増加傾向にあった。特に深い深度で蓄積される傾向が示された。三つの地点の値を比較すると、水深の最も低い土浦地点は 1 年中低濃度を維持していたことが分かった。Pearson 相関解析を行った結果、底泥中のメタン濃度はアンモニア、TN、TP、古細菌 16S 遺伝子、*mcrA* 遺伝子と正の相関を、硫酸イオン濃度と負の相関を示したことから、底泥中に貯留されているメタンは、メタン生成菌の活動以外に、嫌気環境でのアンモニア生成や硫酸還元等に関わる微生物活動に関与していることが示唆された。

2.2 底泥中の各種微生物の現存量： 底泥中の *mcrA* 遺伝子は、土浦地点を除き  $10^4$  程度検出されており、通年の現存量が安定していた。NC10 細菌は、全地点で低い範囲で変動していた (未検出～ $10^2$  程度) ことから、NC10 細菌による嫌気メタン酸化は、 $\text{NO}_3^- \cdot \text{NO}_2^-$  が枯渇している環境での寄与率が少ないと示唆された。底泥中の *pmoA* 遺伝子は、 $10^3$  程度から  $10^5$  程度までの範囲で検出されたことから、底泥の深層まで好氣的メタン酸化ポテンシャルを持つことが示唆された。

2.3 嫌気メタン酸化活性： 嫌気メタン酸化活性は、底泥表層 (0～4cm) において活性が高く、それ以降減少傾向にあった。底泥中の浅い深度では、硝酸態窒素や亜硝酸態窒素は、ほとんど存在せず、硫酸イオンが含まれていることから、硫酸イオンを利用した嫌気メタン酸化が優位に行われてい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

2021 年度の研究結果から、硫酸依存性の嫌気メタン酸化は霞ヶ浦において重要な嫌気メタンシンクであることが示唆されたことから、硫酸依存性の嫌気メタン酸化に関わる微生物の定量解析を今後続けて調査していく必要があると考えられる。また、次世代シーケンスのデータ解析データを踏まえ、メタン循環に関わる微生物を抽出し、季節及び深度の違いによる影響をさらに解析していく予定である。以上の内容をまとめて、「Microbial communities involved in the methane cycle in the sediments of an eutrophicated lake.」を題とし *Microbes and environments* 誌に投稿する予定である。

## Summary

Methane is a powerful greenhouse gas which warming effect is 25 times stronger than that of carbon dioxides. However, different from carbon dioxide, the major source of methane is from biological production from both natural and artificial environments. Among these environments, freshwater lakes and wetlands contribute significantly to the global methane production. Meanwhile, aerobic and anaerobic methane microorganisms existing in these

environments showed great capability to reduce the release of methane to atmosphere. However, knowledges on the distribution and ecological characteristics of these methanotrophs as well as methanogens are still limited. The objective of this research is to clarify the microbial activities involved in methane production as well as methane oxidation (both aerobic and anaerobic) in a eutrophic lake (Lake Kasumigaura). In this research, quantification of specific methanogens and methanotrophs, and estimation of seasonal changes in geochemical parameters including methane concentration and water quality have been conducted throughout the year. Moreover, next generation sequencing (Illumina Miseq) has been done to understand microbial communities in the sediment samples. As results, this 1-year research revealed that methane concentration varied with seasons and sampling locations in the Lake Kasumigaura. The fluctuation of methane concentration was positively correlated to the concentrations of ammonia, total nitrogen and total phosphorus, as well as the abundance of archaea 16S rRNA and *mcrA* genes. Incubation experiments conducted in anaerobic vials showed that anaerobic methane oxidation activity was higher in the surface sediments than in deeper sediments, which matches with the vertical distribution of sulfate and nitrate concentrations. This may indicate that the activity of anaerobic methane oxidation was affected by the concentration of available electron receptors in lake sediments.

# エビデンスに基づいた効果的な介護人材育成の仕組みの構築に関する研究

—実践現場における参入ルート・職場研修の満足度が介護人材の専門性認識に及ぼす影響—

## Establishment of an effective, evidence-based system for human resource development for care workers

研究代表者 任 セア(ライフデザイン学部生活支援学科)

研究期間/2021年7月1日～2022年3月15日

キーワード/①人材育成 human resource development

②専門性 Professional

③参入促進 Promotion of entry

④労働環境・処遇の改善 Improvement of workplace environment and working conditions

⑤資質の向上 Improvement of qualities

2021年度交付額/1,800,000円

研究発表/学会および口頭発表

(1)学会発表(口頭発表)

・「介護人材確保対策における現状と課題—量と質の好循環の観点から—」日本介護福祉学会第29回大会(於神戸女子大学・オンライン開催)2021年8月29日

(2)書籍(共著)発表

・『福祉政策研究入門政策評価と指標 第1巻—少子高齢化のなかの福祉政策』埋橋孝文編著 第1部「高齢者福祉の政策評価」の第3章「介護人材確保をめぐる政策の課題」の執筆(74-88頁)明石書店、2022年3月

(3)その他

介護福祉学会、社会福祉学会などに2022年投稿予定。

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

近年の介護人材確保に関する政策をみると、介護職の専門性の向上とともに「根拠ある介護」の実践の必要性が注目され、介護人材の量的確保だけでなく、質的確保も喫緊の課題として取り上げられている。しかしながら、介護人材の参入促進の段階から質的確保より量的確保を優先的に目指し、介護関連資格の取得者に加えて、若者、障害者、元気な高齢者、介護未経験者、他業界の者等の参入を積極的に受け入れており、多様な人材層を類型化した上で、機能分化を進めている。

実践現場において介護サービス提供の中核的な役割を担っている介護職の専門性を向上させることが求められる中、資質の有無にかかわらず、多様な人材を受け入れることによって、人材の質のみならず、提供する介護サービスの質も懸念されている。多様な人材層の意欲・能力に応じた役割・機能、必要な能力、教育、キャリアパスの在り方が求められている中、介護ニーズの多様化・高度化やマネジメント能力の必要性の高まりに対応した養成・教育プロセスの確立や役割の明確化

等の方策も求められている。その具体的な方策を提示するためには、まず、多様な人材の参入の実態を把握する必要がある。

以上のことから、本研究では、介護人材の「参入ルート」と、国の介護人材確保の3つのアプローチである「参入促進」「資質の向上」「労働環境・処遇の改善」に注目し、エビデンスに基づいた効果的な介護人材育成の仕組みの構築及び介護人材確保に対する総合的な政策対応策を提示することを目的とする。具体的には、介護職の専門性の向上と職場定着に向けて、介護職の専門性の認識と仕事の離職・継続意向に影響を及ぼす要因について明らかにする。研究方法としては、共分散構造分析を用いて因果関係を検証する予定である。

## 2. 研究経過および成果の概要

### 1) 調査の対象、方法及び期間

調査対象は、介護老人福祉施設（特別養護老人ホーム）に従事している介護職員である。具体的な選定方法は、次のとおりである。まず、公益社団法人全国老人福祉施設協議会（2022年2月1日時点）に登録されている介護老人福祉施設4,404カ所のうち、ホームページ有の施設3,194カ所を選定し、系統抽出法を用いて、開始番号を1、抽出間隔を3と設定し、1,000施設を間隔抽出した。

調査方法は、郵送法による自記式質問紙法の量的調査である。施設の施設長あてに調査依頼文、調査票と返信用封筒を郵送し、無作為に介護職2人（リーダー1名、一般職員1名）を抽出して、調査依頼文、調査票、返信用封筒を配布するよう依頼した。

調査期間は、2022年2月14日から2022年3月31日までである。

### 2) 集計結果

調査対象の1,000施設に従事している介護職2,000名に調査票を配布し、このうち160施設から回答（回収率：16.0%）が得られた。正確な回答人数や有効回答と、無回答や無効回答のデータは、現在集計中である。集計が遅れた理由は、調査票の回収期限が延長されたからである。2022年3月6日までに118通の調査票が回収されたが、2022年3月31日時点でさらに52通が追加で回収された。

### 3) 倫理的配慮

本研究における調査票は、東洋大学の研究等倫理審査申請のガイドラインに基づいて作成し、ライフデザイン学部研究等倫理委員会の承認を得た（承認番号：L2021-016S）。

### 4) 研究成果

量的調査に関しては、現時点でデータ集計及び分析を継続中であるが、これまでの研究成果は大きく分けると、次の3点である。1)「介護人材確保対策における現状と課題 ―量と質の好循環の観点から―」（日本介護福祉学会第29回大会、於神戸女子大学・オンライン開催、2021年8月29日）の学会発表を行い、本研究の問題意識を深めたこと、2) 1)を踏まえて、『福祉政策研究入門政策評価と指標 第1巻―少子高齢化のなかの福祉政策』埋橋孝文編著、第1部「高齢者福祉の政策評価」の第3章「介護人材確保をめぐる政策の課題」（74-88頁、明石書店、2022年3月）の書籍を執筆し、次の段階への研究課題を明らかにしたこと、3) 1)と2)を踏まえて、介護人材の「参入ルート」と、国の介護人材確保の3つのアプローチである「参入促進」「資質の向上」「労働環境・処遇の改善」に注目し、エビデンス

に基づいた効果的な介護人育成の仕組みの構築するための量的調査を実施したことである。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

これまでの介護人材の量・質的確保に関する研究では、多様な人材を確保したうえで、それを維持しつつ、多様なルートを経て参入する人材ごとの違いの解明による本人の能力や役割分担に応じたキャリアパスを構築する考えまでは至っていなかった。実践現場において多様な人材を含む介護職の専門性を向上させることが求められる中、介護ニーズの多様化・高度化やマネジメント能力の必要性の高まりに対応した養成・教育プロセスの確立や役割の明確化等の方策が求められている。

このことから、「参入促進」「資質の向上」「労働環境・処遇の改善」に注目し、介護人材の参入ルートと関連する属性・資格取得ルート等による違いを解明し、多様な人材に適応した効果的な人材育成プログラムを構築する必要があると考えられる。

介護人材確保をめぐる政策の課題の検討から得られた知見を踏まえて、多様な人材を確保したうえで、それを維持しつつ、多様なルートを経て参入する人材ごとの違いの解明による本人の能力や役割分担に応じたキャリアパスを構築し、それを一つのモデルとして提案したい。

## Summary

Recent policies on securing caregivers have focused on the need to practice "evidence-based care" as well as improving the professionals of care workers, and the urgent issue of not only securing caregivers quantitatively but also qualitatively has been taken up.

However, from the stage of promoting the entry of long-term care workers, the government has prioritized securing quantity over quality, and in addition to those with long-term care-related qualifications, has actively welcomed the entry of young people, people with disabilities, healthy elderly people, people with no long-term care experience, people from other industries, and others. While there is a need to improve the professionals of care workers who play a central role in the provision of care services in the field of practice, the acceptance of diverse human resources, regardless of their qualifications, raises concerns not only about the quality of human resources but also about the quality of care services provided.

Previous studies on securing the quantity and quality of care workers have not come up with the idea of establishing career paths based on individual abilities and role assignments, while attracting and maintaining a diverse workforce and clarifying the differences between personnel coming in through various routes. With the need to improve the professionals of care workers, including diverse human resources, there is a need to establish training and education processes and clarify roles in response to the increasing diversity and sophistication of care needs and the growing need for management skills.

In light of this, it is necessary to focus on "promoting entry," "improving quality," and "improving the working environment and compensation," to elucidate the different entry routes, related attributes, and qualification acquisition routes for care workers, and to establish effective human resource development programs that can accommodate a diverse workforce. Based on the results of the study of policy issues surrounding the securing of long-term care

workers, we would like to propose a career path based on the abilities and role assignments of the individual by clarifying the differences among personnel entering through various routes, while securing and maintaining a diverse workforce, and to propose this as one model.

## 多摩障害者スポーツセンター開設と身体障害者スポーツ指導者養成

# Exmination of the establishment of the Tokyo Metropolitan Tama Sports Center for people with disabilities and the Training of Sports Leaders for Disabled

研究代表者 金子 元彦(ライフデザイン学部健康スポーツ学科)

研究期間／2021年7月1日～2022年3月15日

キーワード／①財団法人日本身体障害者スポーツ協会

②公認身体障害者スポーツ指導者制度

③技術委員会

④組織化

⑤指導課

2021年度交付額／210,000円

研究発表／学会および口頭発表

・金子元彦：財団法人日本身体障害者スポーツ協会における技術委員会設置とその後の動向に関する検討、『ライフデザイン学研究』第17号 pp37-49、2022年3月.

・金子元彦：「公認身体障害者スポーツ指導者制度の成立過程 - 東京都多摩身体障害者スポーツセンター開設とその前後の動向に着目して -」（仮）学内大学院紀要、またはライフデザイン学研究. (2022年度予定)

研究経過および成果の概要

### 1. 研究目的および方法

本研究では1984年から1990年における日本の身体障害者スポーツ指導者養成の歴史的変遷を明らかにすることを目的とした。特に東京都多摩身体障害者スポーツセンター（以下、「多摩身体障害者スポーツセンター」とする）開設と1985年「公認身体障害者スポーツ指導者制度」（当時）との関わりに着目して検討した。

1984年に多摩身体障害者スポーツセンターが開設され、その運営を日本の統括組織である財団法人日本身体障害者スポーツ協会（以下、「身体障害者スポーツ協会」とする）が受託したことから、身体障害者スポーツ協会（の職員）がはじめて指導現場を持つことになった。また、多摩身体障害者スポーツセンターが開設した翌年1985年には身体障害者スポーツ協会が「公認身体障害者スポーツ指導者制度」（当時。以下、「公認スポーツ指導者制度」とする）を制定した。多摩身体障害者スポーツセンター開設初期の指導員は、その後、現在の日本パラスポーツ協会の要職に就くなど障がい者スポーツの振興と発展に多大な貢献をしてきた。一方で、これら相互の関連についての検討は乏しい。

本研究では、東京都多摩障害者スポーツセンターによる『年報』、『開設5周年記念誌』および『開設15周年記念誌』、財団法人日本身体障害者スポーツ協会による『五十年史』、ならびに関係者の著述を主な史料とした。また、関係者への聞き取りや関係者から提供を受けたメモ等の未公刊資料も検討のための史料として扱った。

## 2. 研究経過および成果の概要

多摩身体障害者スポーツセンターが開設する前の1981年、身体障害者スポーツ協会内に技術委員会が設置された。設置の契機は、1980年開催のパラリンピックアーネム大会において中村裕が国際的な競技力の急上昇を目の当たりにしたことであった。

技術委員会は当初、藤原進一郎委員長を含む6名で編成されたが、1986年に部会の設置とともに16名の部員を得て人的にも機能的にも発展した。部会のひとつが指導部であり、ここは指導者養成に関わる検討や実務を担った。指導部の委員のひとりが多摩身体障害者スポーツセンター初代指導課長であった三村一郎であり、部員のひとりが多摩身体障害者スポーツセンター初代第一係長であった水原由明であった。

このように1986年の技術委員会内における部会設置と部員の増強の背景には1984年の多摩身体障害者スポーツセンター開設とその運営を日本身体障害者スポーツ協会が受託したことがあった。これら一連の動向がその後の身体障害者スポーツ指導者養成の推進力のひとつとなり、そこから身体障害者スポーツ指導者養成事業を担う中心的な人物が生まれていった。

次に多摩身体障害者スポーツセンターと1985年公認スポーツ指導者制度との関わりについてである。

公認スポーツ指導者制度が1985年に制定された背景には、1966年から1984年に至るまで身体障害者スポーツ協会と国立身体障害センター（当時の厚生省直轄）が養成してきた資格取得者に行政関係者が多くその者の配置転換によって有資格者が身体障害者スポーツや身体障害者福祉に携わらなくなるという空洞化が顕著になっていたこと、有資格者間の情報交換や連携が乏しいことによる当該領域発展に対する機能不全を生じていたこと、さらには1984年の全国障害者総合福祉センターが設置されたことによって身体障害者スポーツ指導者養成事業を担う組織や部署が複雑化したこと等複合的な要因があった。

こうした中、やや先を急ぐ形で公認スポーツ指導者制度制定の準備が進められた。制定のための原案作成の中心的に三村がおり、それを水原が支えた。後年、三村、水原ともに障がい者スポーツ関係組織の要職をつとめている。さらに、それを藤原が監修した。原案作成の際、三者が参照したのは財団法人日本体育協会（当時）の公認スポーツ指導者制度であった。原案作成の理念として、福祉やリハビリテーションの視点からの支援者を養成するというよりもスポーツ指導者を養成しようとしたこと、ただし、それは本務として身体障害者スポーツに関わる人だけを対象とするのではなく広くボランティアを養成しようとしたこと、そして、有資格者が身体障害者スポーツの振興の活力になるような仕組みづくりを行うこと（≒指導者協議会を設置し組織化を図ること）などがあった。

## 3. 今後の研究における課題または問題点

本研究では1984年多摩身体障害者スポーツセンター開設と1985年公認スポーツ指導者制度制定などの動向を軸に据えながら、日本における身体障害者スポーツ指導者養成について検討した。身体障害者スポーツ指導者養成を推し進めた契機として、多摩身体障害者スポーツセンターの開設、およびその運営を日本身体障害者スポーツ協会が受託した歴史的な事象が明らかになるとともに、それを土台として経験豊富な指導的立場の人材が輩出されていった過程を明らかにすることができた。一方、当該事象の歴史的な位置づけを明確化するためには、その前後の文脈からの的確に捉えていくことが不可欠である。その点から考えると、本研究の中心的対象時期以降の関連動向の実証が必要であり、直近での課題となる。

## Summary

This study aims to clarify the historical transition of the training of sports leaders for the physically disabled from 1984 to 1990 in Japan. Particular attention was paid to the establishment of the Tokyo Metropolitan Tama Sports Center for people with disabilities (T.S.C.D.) and the "Certified Sports Leader System for the Disabled" in 1985.

In 1984, the T.S.C.D. was established and its operation was entrusted to the Japanese Sports Association for the Disabled, the governing organization in Japan, which meant that the staff of the Japanese Sports Association for the Disabled had a coaching site for the first time. In 1985, the Japanese Sports Association for the Disabled also established the Certified Sports Instructor System for the Disabled.

The Technical Committee was established within the Japanese Sports Association for the Disabled in 1981, before the T.S.C.D. was opened in 1984. There were six founding members, including Shinichiro Fujiwara, the committee chairperson. In 1986, three subcommittees were established. One of the subcommittees was leadership department, which was responsible for discussions and practical matters related to the training of instructors. One of the committee members was Ichiro Mimura, who was the head of the coaching section at the T.S.C.D., and one of the committee members was Yoshiaki Mizuhara, who was the section chief at the T.S.C.D. The opening of the T.S.C.D. and its operation by the Japanese Sports Association for the Disabled was also a factor, one of the driving forces behind the training of sports leaders for the physically disabled.

There were multiple factors behind the establishment of the Certified Sports Instructor System in 1985. And Mimura was the central figure involved in the establishment of the system, and Mizuhara supported him. Fujiwara supervised that. In preparing the draft, they referred to the Certified Sports Instructor System established by the Japanese Sports Association at that time. The philosophy behind the creation of the system was to train sports leaders. However, consideration was also given to training volunteers as well as professionals. And they also aimed to create a system in which qualified instructors would become a vital force in the promotion of sports for the physically disabled.

# 日本占領期の駐留米軍によるスポーツ活動と日本スポーツ界への影響 海軍史料を中心に

## Sports Activities by U.S. Forces in Japan during the Allied Occupation and Their Impact on the Japanese Sports Community Focusing on Naval Historical Documents

研究代表者 熊澤 拓也(ライフデザイン学部健康スポーツ学科)

研究期間／2021年7月1日～2022年3月15日

キーワード／①連合国占領期 the Allied Occupation

②在日米軍 U.S. Forces in Japan

③スポーツ活動 Sports Activities

④日本スポーツ界 the Japanese Sports Community

⑤海軍史料 Naval Historical Documents

2021年度交付額／620,000円

研究発表／学会および口頭発表：なし

### 研究経過および成果の概要

#### 1. 研究方法

本研究の目的は、占領期の日本本土における駐留米軍のスポーツ活動の実態を明らかにし、その活動が日本スポーツ界に与えた影響を検証することで、占領期という時代や駐留米軍という主体の新たな一面を描き出し、その時代や主体の歴史的意義を再評価することである。

上記の目的を果たす方法として、本研究ではアメリカ国立公文書館（National Archives and Records Administration）の新館（メリーランド州カレッジパーク市）に所蔵されている、占領期に日本本土に駐留していたアメリカ陸軍と海軍の各基地・各部隊の年次・月例報告書などを収集・分析する予定であった。それらの報告書には、各基地・各部隊でどのようなスポーツがどれぐらいの規模・頻度で、いつ、どこで、何を目的に行われたかが書かれており、本研究の目的を果たす上で適した方法であると考えたからである。

申請者は本研究の開始前までに同様の調査を計4回、通算12週にわたって行ってきた。今回の史料調査では陸軍史料の調査を終え、海軍史料の調査を始めることができる予定であった。また、陸軍史料の調査を終えた後、これまでの研究成果と今回の研究成果を合わせ、「占領期の日本本土における駐留アメリカ陸軍のスポーツ活動」というテーマで論文にまとめる計画であった。

#### 2. 研究経過および成果の概要

当初の予定では、夏季休暇中に史料調査を行う予定であり、新型コロナウイルス感染症の影響によって夏季休暇中の史料調査が実施できなかった場合は、計画を4ヶ月後ろ倒しにして冬季休暇中に実施するか、6ヶ月後ろ倒しにして春期休暇中に実施する計画であった。しかし、オミクロン株の出現もあり、調査先も頻繁に閉館していたり、非常に厳しい入館人数の制限を設けて

いたりした事から、最後まで史料調査は実施できず、新たな史料の発掘は諦めざるを得なかった。

そこで当初の計画を変更し、これまで計 4 回、通算 12 週にわたって収集した史料の翻訳作業を主な活動内容とした。その際、業者に発注して一語一句厳密な翻訳を求めるといふより、まずは膨大な史料を大まかにでも数多く翻訳し、史料の大筋や、米軍のスポーツ活動の全体像を大枠だけでも把握するという意図から、学生アルバイトを雇用する事とした。具体的な作業内容としては、公文書館で撮影した史料の JPEG ファイルを PDF 化し、PDF ファイルに OCR 処理を施し、OCR 処理した文章を AI 翻訳ソフト DeepL に流し込んで翻訳した。

その結果、約 3,000 の JPEG ファイルが PDF 化され、OCR 処理され、そのうち約 1,000 のファイルの翻訳を終える事ができた。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

最大の問題点は、いまだに新型コロナウイルス感染症の世界的大流行がいつ収束するかが見通せず、史料調査を再開できる目途が立たない事である。また、史料を収集できたとしても、それらの翻訳作業には多くの人手と時間を要する。幸い、本研究と同様のテーマで今後 5 年間、科学研究費の助成を受けられる事になった為、継続して本研究に取り組んでいきたい。

## Summary

The purpose of this research is to clarify the sports activities of U.S. forces in Japan during the allied occupation and to examine the impact of these activities on the Japanese sports, in order to portray a new aspect of the Occupation period and the subject of U.S. forces in Japan, and to reevaluate the historical significance of that period and subject.

As a way of fulfilling the above objective, this study will examine the records of the U.S. Army and Navy in Japan during the allied occupation at the National Archives and Records Administration at College Park, Maryland, and will use these records as a basis for reassessing the historical significance of the U.S. military presence in Japan. The plan was to collect and analyze annual and monthly reports for each unit. These reports would describe the size, frequency, when, where, and for what purpose sports were conducted at each base and unit, and would be a suitable method for fulfilling the objectives of this research.

I conducted similar surveys four times prior to the start of this study, for a total of 12 weeks. The next survey would have allowed me to complete the survey of the Army archives and begin the survey of the Navy archives. After completing the survey of the Army archives, I planned to combine the results of the previous research with those of this research and compile them into a paper entitled "Sports Activities of the U.S. Army in Japan during the Allied Occupation".

The original plan was to conduct the archival survey during the summer vacation, and if the survey could not be conducted during the summer vacation due to the new coronavirus infection, the plan was pushed back four months to the winter vacation, or six months to the spring vacation. However, due to the emergence of the Omicron strain, frequent closings of the research sites, and very strict limits on the number of visitors, the survey could not be conducted until the end of the project, and I had no choice but to give up on excavating new archival materials.

Therefore, the original plan was changed and the main activity was to translate the archives

that had been collected over a total of 12 weeks on four occasions. Rather than ordering a contractor to translate the documents strictly word for word, I decided to hire a part-time student translator with the intention of translating a large number of documents, even roughly, to grasp at least the general outline of the documents and the overall picture of U.S. military sports activities. Specifically, JPEG files of historical documents taken at the archives were converted to PDF, OCR processing was applied to the PDF files, and the OCR-processed text was translated with the AI translation software DeepL.

As a result, about 3,000 JPEG files were converted to PDF and processed by OCR, and about 1,000 of them were translated.

The biggest problem is that the global pandemic of novel coronavirus infection is still not expected to be over anytime soon, and there is no prospect of resuming the archival research. Even if I was able to collect historical documents, the translation of these documents would require a great deal of manpower and time. Fortunately, I have been awarded a Grant-in-Aid for Scientific Research for the next five years on the same theme as this research, and I would like to continue working on this research.

第二言語コミュニケーションを抑制・促進する社会生態学的  
・心理的ネットワークの解明

The Socio-ecological and Psychological Network Inhibiting  
or Facilitating Second Language Communication

研究代表者 伊藤 健彦 (情報連携学部情報連携学科)

研究期間／2021年7月1日～2022年3月15日

キーワード／①第二言語 second language

②コミュニケーション communication

③関係流動性 relational mobility

④社会生態学 social ecology

⑤ネットワーク network

2021年度交付額／924,000円

研究発表／学会および口頭発表

- ・ Ito, T. (2021). Effects of General Trust as a Personality Trait on Willingness to Communicate in a Second Language. *Personality and Individual Differences*. 185.
- ・ Ito, T. (2021). The Influence of Psychological Network on the Willingness to Communicate in a Second Language. *PLOS ONE*.
- ・ Ito, T. (2021). The Influence of Socio-Ecological Networks on Willingness to Communicate in English for Japanese People. *Frontiers in Psychology*.
- ・ 伊藤健彦 (2021). 関係流動性が日本人の英語 Willingness to Communicate に与える影響 社会心理学研究, 37(1).
- ・ 伊藤健彦 (2021). 不利な集団間状況が自尊心に与える影響—日米の大学生を対象として— 教育心理学研究, 69(2).

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

本研究は、社会生態学的要因に基づいた、日本人の第二言語コミュニケーションに影響を与える心理ネットワークを検討するものである。社会生態学的要因として、特定の個人が周囲の対人関係や集団を選択できる自由度を示す関係流動性を取り上げる。先行研究では、関係流動性が高い環境にいる個人は英語コミュニケーションの積極性が高く、流動性が低い環境にいる個人は、英語コミュニケーションの積極性が低いことが分かっている。しかし、先行研究はこの関係流動性に応じた心理ネットワークを検討しておらず、特定の社会環境における心理的要因の中で中心となる要因が明らかではなかったため、日本人を対象とした社会調査によってこれを明らかにした。

具体的には、日本の中で流動性が高い県（東京など）と低い県（秋田など）の県庁所在地に住む日本人を対象として、オンライン社会調査を行った。平成 27 年国勢調査に基づき、現居住地による人

口総数（常住者）における現住地による人口（現住所）の割合を算出し、割合が低い県庁所在地を関係流動性が高い地域、割合が高い県庁所在地を流動性が低い地域に設定した。流動性が高い県の県庁所在地の人々1000人と低い県の県庁所在地の人々1000人（20代から30代の男女）が対象となった。調査項目は、関係流動性に関する項目と、英語コミュニケーションの積極性に関する項目、そして積極性に影響すると言われている英語コミュニケーションの自信・価値、そして他者に対する一般的信頼に関する項目であった。なお、統制要因として、調査参加者の個人年収と世帯年収を測定した。

## 2. 研究経過および成果の概要

調査の結果、まず、関係流動性が高い県の県庁所在地に住む人々は、低い県の県庁所在地に住む人々よりも、関係流動性が高いことが確認された。このことから、本研究で選んだ県の県庁所在地の違いは、社会環境である関係流動性の違いを生むことが確かめられた。

さらに、その所在地によって積極的に英語コミュニケーションをする態度に差が見られ、関係流動性が高い所在地に住む人々の方が低い所在地に住む人々よりも英語コミュニケーションを積極的に行う傾向が見られた。この結果から、地域のレベル、つまりマクロレベルで測定した関係流動性が日本人の英語コミュニケーションの積極性に影響していることが分かった。

次に、関係流動性の高い所在地と低い所在地の人々における心理ネットワークの差異を検討するため、多母集団同時心理ネットワーク分析を行った。その結果、関係流動性の高い所在地の人々は、英語コミュニケーションの態度に影響する心理ネットワークにおいて、他者に対する一般的信頼の中心性が最も高いことが確認されたが、低い所在地の人々には確認されなかった。この結果から、関係流動性の違いによる英語コミュニケーションの積極的態様の差異には、他者に対する一般的信頼が機能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

本研究では、社会生態学的要因である関係流動性によって日本人の英語コミュニケーションに影響を与える心理ネットワークに差異があることが分かり、この差異を生む要因の中で最も中心となる要因は他者に対する一般的信頼である可能性が示唆された。しかし、コミュニケーションに影響する要因の中でなぜ他者に対する一般的信頼が最も中心となる要因であったのかの原因は明らかではない。性格特性であるビッグファイブは、社交性などから構成される要因であるが、こうした要因がコミュニケーションの積極性に影響することは以前から指摘されている。今後は、こうした他の性格特性との関連の中で、なぜ他者に対する一般的信頼が心理ネットワークで重要な役割を担うのかを検討する必要がある。

また、本研究は、日本の中で関係流動性の高い県と低い県の県庁所在地の人々を対象としたことで国内における流動性の差異の影響のみを検討した。先行研究では、日本は関係流動性が低い一方、アメリカは高いことが指摘されている。今後は、日本国内のみならず、海外に住む人々を対象とした社会調査を行い、国レベルの心理ネットワークの差異を検討する必要がある。こうした研究を通して、特定の社会環境における心理ネットワークの中心となる要因を解明し、第二言語コミュニケーションの積極性への介入に示唆を与えていきたい。

## Summary

This study aimed to examine the psychological networks based on socio-ecological factors which influence second language communication in Japanese people. Relational mobility, which is defined as the degree of freedom to choose interpersonal relationships and groups in a specific environment, was examined in this study. Previous studies have shown that people in societies with high relational mobility have more positive attitudes towards English communication compared to those with low relational mobility. However, previous studies have not examined psychological networks nor revealed the central psychological factor based on relational mobility. The present study bridged this gap in literature through a social survey on 2000 Japanese people living in prefectural capitals with both high and low relational mobility.

The survey revealed a difference in attitudes towards English communication between areas of high and low relational mobility. Specifically, people in high relational mobility prefectures held more positive attitudes than those in prefectures with low relational mobility. This suggests that area (macro) level relational mobility could influence attitudes towards English communication. Furthermore, to examine psychological networks' difference between people living in high and low relational mobility areas, multigroup psychological network analysis was conducted. The findings showed that for people living in high relational mobility areas, the centrality of general trust in others was highest in their psychological network which influenced positive attitudes towards English communication; for people living in low relational mobility areas, it was unconfirmed. This suggests that general trust in others contributes to the difference in attitudes towards English communication between areas of high and low relational mobility.

This study did not show why the centrality of general trust in others was highest in psychological networks only for people living in high relational mobility areas. The Big Five personality traits, such as extraversion, could also influence attitudes towards English communication. In relation to the other personality traits, future research should examine why general trust in others has an important role in psychological networks. Relational mobility in America has been shown to be higher than in Japan. Future research should examine the differences of country-level psychological networks. Through these studies, we could discover the central factor in psychological networks in certain social environments and suggest effective interventions for attitudes towards English communication.

都市域縮退を実現するための  
非居住地域へのグリーンインフラ導入の実現可能性検討  
Feasibility Study on Introducing Green Infrastructure to  
Non-Residential Area Toward Urban Shrinkage

研究代表者 加知 範康 (情報連携学部 情報連携学科)

研究期間/2021年7月1日~2022年3月15日

キーワード/① グリーンインフラ Green Infrastructure

② 都市域縮退 Urban Shrinkage

③ 生活の質 Quality of Life (QoL)

④ 人口減少 Depopulation

⑤ 非居住地域 Non-Residential Area

2021年度交付額/1,780,000円

研究発表/学会および口頭発表

・第66回土木計画学研究発表会・秋大会 2022年12月予定

研究経過および成果の概要

## 1. 研究方法

都市域縮退策の実施によって発生する非居住地域へのグリーンインフラ導入の費用対効果の検討を目指して、(1) グリーンインフラに関する文献調査、(2) 地理情報システム (Geographical Information System : GIS) データベースの更新とシミュレーションモデル要素の整理、(3) 生活の質 (Quality of Life : QoL) に関するアンケート調査と基礎集計、を実施した。

## 2. 研究経過および成果の概要

### (1) 文献調査

2020年度に引き続き、グリーンインフラに関する文献を調査した。具体的には、2021年度の土木計画学論文集 D3 と都市計画論文集を調査した結果、都市縮退により発生する低・未利用地を活用した Ecord 策などを都市計画側からアプローチした研究は見つけれなかった。一方、立地適正計画と防災に関連した研究としては、次のようなものがあった。田村ら (2021) は、広島市を対象とした土砂災害リスク軽減のための将来都市構造シナリオを多面的に評価し、集約化の効果は一定程度みられることや、土砂災害警戒区域内で耐用年数を迎える住宅の建替更新を規制し、これらの立地を居住誘導区域に誘導することによる持続可能な都市構造の実現可能性を示している。相 (2021) は、「住環境得点」の高い地域へ居住誘導を図ることと、居住地の災害リスクを低減することが両立できるかを検証し、居住誘導とその地域の災害リスク低減を両立できる可能性を指摘している。櫻井ら (2021) は、立地適正化計画と防災対策との連携の必要性を背景として、人口が減少する4都市を対象に市街化区域から浸水想定区

域の全域や一部を除外した場合の人口密度等への影響を検証した結果、人口密度の維持と浸水被害リスク低減のバランスがとられた居住誘導区域の範囲を明らかにしている。

## (2) GIS データベースの更新とシミュレーションモデル要素の整理

2020 年度に構築した GIS データベースを更新するとともに、都市縮退に合わせたグリーンインフラ導入効果をトリプル・ボトム・ライン（環境、経済、社会）から評価するためのシミュレーションモデルの基礎部分（QoL 評価、インフラ維持コスト推計、環境負荷推計）を整理した。表 1 に国土数値情報（国土交通省）から入手可能な GIS データのうち、本研究に関連すると考えられるものを示す。2021 年度に新規に追加されたものを赤字で示している。

表 1 国土数値情報から入手可能な GIS データ

| 分類       | データ   |
|----------|---|
| 国土       | <p><u>水域</u>：海岸保全施設 (pt, ln, 2012)、湖沼及び貯水池 (pl, 2005)、流域 (100m grid, 2009)、ダム (put, 2005, 2014)、河川 (pt, ln, 2006-2009)</p> <p><u>地形</u>：標高・傾斜度 (250m grid, 2009)、低位地帯 (pl, 2015)</p> <p><u>土地利用</u>：土地利用詳細 (100m grid, 1976, 1987, 1991, 1997, 2006, 2009, 2014, 2016)、都市地域土地利用細分 (100m grid, 2009, 2014, 2016)、土地利用詳細（三大都市圏）(50m grid, 2016)、用途地域 (pl, 2011, 2019)、<b>立地適正化計画区域 (pl, 2020)</b></p> <p><u>地価</u>：地価公示 (pt, 1983-2021, <b>2022</b>)、都道府県地価調査 (pt, 1983-2020, <b>2021</b>)</p>  |
| 政策<br>区域 | <p><u>行政区域</u>：行政区域 (pl, 1920, 1950, 1955, 1960, 1965, 1970, 1975, 1980, 1985, 1995, 2000, 2006-2020, <b>2021</b>)、DID (pl, 1960, 1965, 1970, 1975, 1980, 1985, 1990, 1995, 2000, 2005, 2010, 2015)、小学校区 (pl, 2010, 2016)、中学校区 (pl, 2013, 2016)、医療圏 (pl, 2014, <b>2020</b>)</p> <p><u>災害・防災</u>：避難施設 (pt, 2012)、土砂災害危険箇所 (pt, ln, pl, 2010)、土砂災害警戒区域 (ln, pl, 2013, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019, <b>2020</b>)、<b>急傾斜地崩壊危険区域 (pl, pt, 2020)</b>、<b>地すべり防止区域 (pl, pt, 2020)</b>、洪水浸水想定区域 (pl, 2019, <b>2020</b>)、津波浸水想定 (pl, 2016-2018, <b>2020</b>)、<b>高潮浸水想定区域 (pl, 2020)</b>、<b>災害危険区域 (pl, pt, 2020)</b></p> |
| 地域       | <p><u>施設</u>：国・都道府県の機関 (pt, 2013)、市町村役場等及び公的集会施設 (pt, 2010)、市町村役場 (pt, 2014)、公共施設 (pt, 1990, 2006)、警察署 (pt, pl, 2012)、消防署 (pt, pl, 2012)、郵便局 (pt, 2013)、医療機関 (pt, 2010, 2014, <b>2020</b>)、福祉施設 (pt, 2011, 2015)、文化施設 (pt, 2013)、学校 (pt, 2013)、都市公園 (pt, 2011)、燃料給油所 (pt, 2016)、地場産業関連施設 (pt, 2012)、道の駅 (pt, 2018)</p>  |
| 交通       | <p><u>交通</u>：高速道路時系列 (pt, ln, 2011-2019, <b>2020</b>)、緊急輸送道路 (ln, 2013, 2015, <b>2020</b>)、バス停留所 (pt, 2010)、バスルート (ln, 2011)、鉄道 (ln, 2005-2008, 2011-2019, <b>2020</b>)、鉄道時系列 (pt, ln, 2012-2019, <b>2020</b>)</p> <p><u>パーソントリップ・交通変動量</u>：発生・集中量及び OD 量 (ln, pl, 東京都市圏：2008, 中京都市圏：2001, 2011、近畿圏：2000, 2010)、貨物旅客地域流動量 (ln, pl, 2001-2016, <b>2017, 2018</b>)</p>  |
| その他      | 500 メッシュ別将来推計人口 (500m grid, 2020, 2025, 2030, 2035, 2040, 2045, 2050)   |

注：() の記号は pt : point、ln : line、pl : polygon を示し、数字はデータの年

### (3) QoLに関するアンケート調査と基礎集計

当初の予定では、個人ではなく世帯を対象とした移転に関するアンケート調査とその結果に基づき世帯構成員個人のQoLとそれらで構成される世帯のQoLを定義し分析することを予定していた。しかし、当初予定していた Web アンケート調査では必要とする世帯構成員複数人から信頼性のある回答を得ることは難しいという理由から、2020年度に実施したQoLアンケート調査の追跡調査を実施した。アンケートは居住者の移転及びQoLに対する選好を分析するためのものであり、研究代表者がこれまでに実施してきたコンジョイント分析に対応した選択実験型のアンケートをベースとし、QoLの点からグリーンインフラ導入の効果を分析できるように設計した。対象地域は、追跡調査の対象地域は、2020年度の同研究助成を利用して実施した九州地方7県（福岡県、佐賀県、長崎県、熊本県、大分県、宮崎県、鹿児島県）と別途実施した関東1都4県（茨城県、埼玉県、千葉県、東京都、神奈川県）である。図1にアンケート回答者の居住地（県）、表2に調査項目の概要を示す。図1に北海道など、一部2020年度調査の対象地域と異なる地域があるのは、アンケート回答者が居住地を変更したためである。

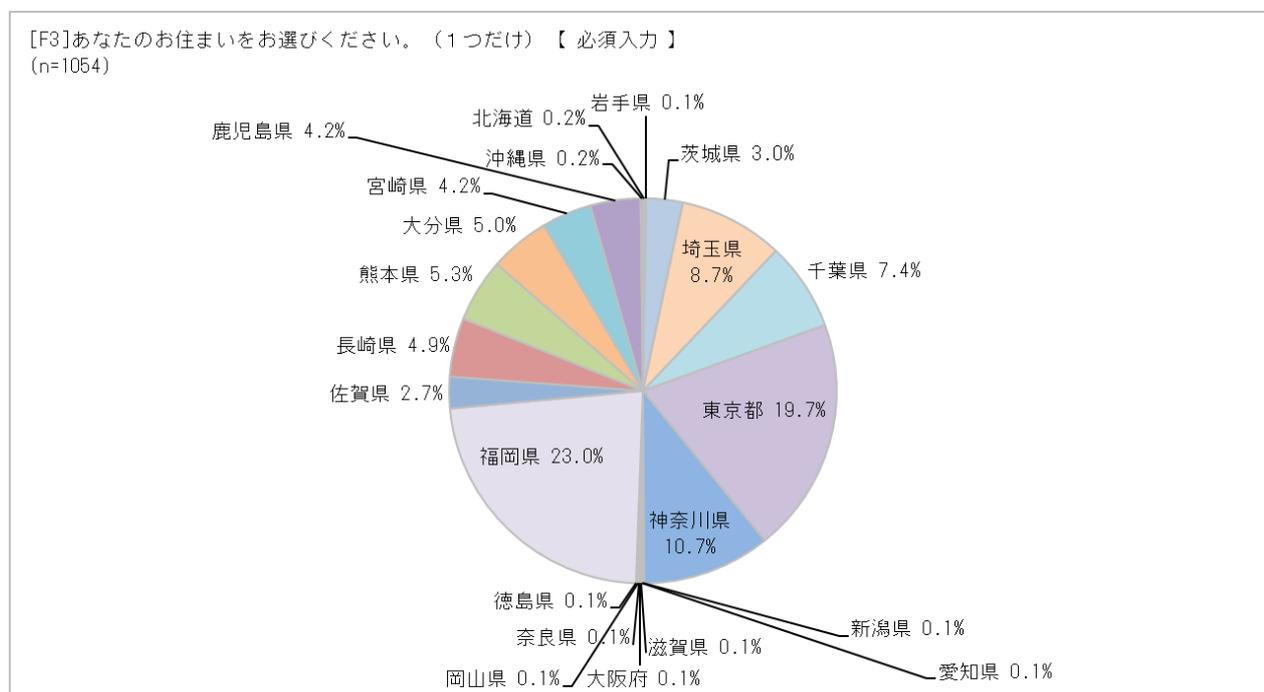


図1 アンケート回答者の居住地（県）

表2 アンケート調査の項目概要

| 項目   | 説明   |
|------|--|
| 設問数  | 15問  |
| 主な質問 | 1) 被験者の現在の生活環境   |
|      | 2) 生活環境の異なる2つの地域から住みたいと思う地域を選ぶ選択質問<br>※生活環境の項目：居住地の交通利便性、居住地の快適性、居住地の安全性 |
| 個人属性 | 年齢1歳刻み、県、既婚・未婚、子供の有無、学生分類、世帯年収、個人年収、郵便番号                                 |

アンケート結果の一例として、図2に自宅から最寄り施設まで所要時間と移動手段の割合を示す。これらより、通勤・通学では所要時間が30分以内の割合が約6割、その他の最寄り施設では30分以内の割合が約9割になっている。移動手段は33.2%~54.0%でクルマ（自分で運転）の割合が飲食店以外で最も高くなっている。その他の生活環境についても同様に現状を整理している。このような形式で現状の生活環境に質問するとともに、生活環境の異なる2つの地域から住みたいと思う地域を選ぶ質問を行っている。居住を選択する質問は、コンジョイント分析を適用して生活環境の各要素が居住地の選択に与える影響を分析するためのデータとして使用するとともに、月々に家賃を基準として生活環境の各要素の価値を貨幣単位で評価することができる。

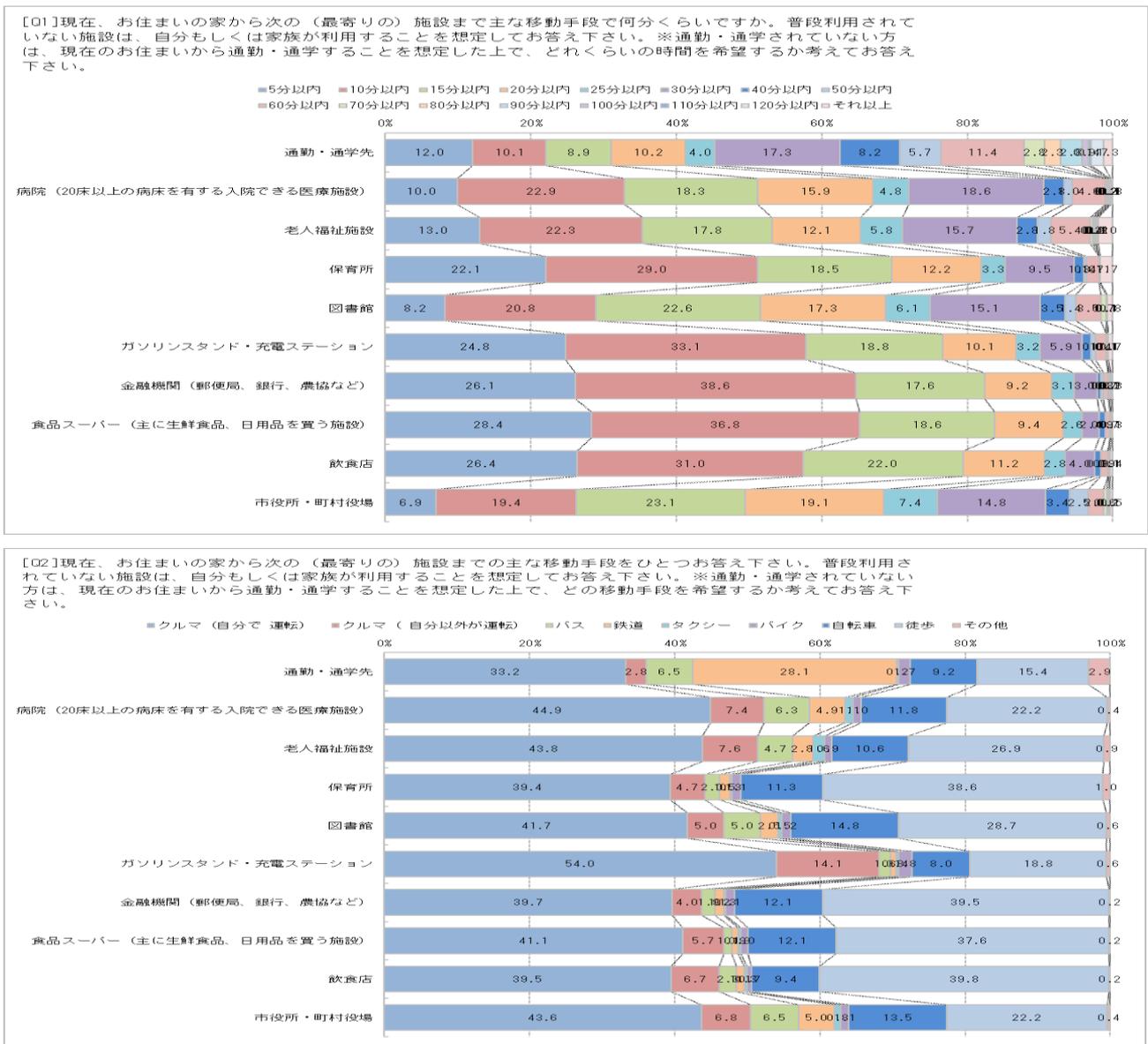


図2 自宅から最寄り施設まで所要時間と移動手段の割合

### 3. 今後の研究における課題または問題点

本研究では、グリーンインフラに関する文献調査、GIS データベースの更新、QoL に関するアンケートなどを実施した。今後は QoL に関するアンケート調査（追跡調査）により得られたパネルデータを利用して居住者の生活環境に対する価値観の安定性を検討するとともに、これらを実際の都市に適用してグリーンインフラの導入が居住者の生活環境に与える効果を分析していくことが課題である。

## Summary

The final goal of this study is to examine the cost-effectiveness of installing green infrastructure in non-residential areas generated by implementing urban area reduction measures. We conducted the following three studies: (1) Literature survey on green infrastructure, (2) Geographical Information System (GIS) database update and organization of simulation model components, and (3) Quality of Life (QoL) questionnaire survey and basic tabulation.

(1) Continuing from FY2020, we surveyed the literature on green infrastructure. Specifically, in FY2021, we surveyed the Journal of the Japan Society of Civil Engineers, Ser. D3 (Infrastructure Planning and Management) and the Journal of the City Planning Institute of Japan. As a result, we could not find any studies approaching EcoDRR measures utilizing low/underutilized land generated by urban shrinkage from the urban planning side. In studies related to location-optimization planning and disaster prevention, we surveyed studies on relocation from landslide hazard warning zones to residential guidance zones, residential guidance and disaster risk reduction, and coordination between location-optimization planning and disaster prevention measures.

(2) We updated the GIS database constructed in FY2020. In addition, we organized the fundamental part of the simulation model (QoL evaluation, infrastructure maintenance cost estimation, and environmental impact estimation) to evaluate the effect of green infrastructure introduction in terms of the triple bottom line (environment, economy, and society). The fundamental part consists of QoL evaluation, infrastructure maintenance cost estimation, and environmental impact estimation.

(3) We conducted a follow-up QoL survey in FY2020. We designed the questionnaire to analyze residents' preferences for relocation and QoL. Based on a choice-experiment type questionnaire corresponding to conjoint analysis, we designed to allow an analysis of the effects of green infrastructure implementation in terms of QoL. The target area includes seven prefectures in the Kyushu region, one metropolitan area, and four prefectures in the Kanto region.

In the future, we will use panel data obtained through a QoL questionnaire survey (follow-up survey) to examine the stability of residents' values toward their living environment. We will also apply these data to actual cities to analyze the effects of green infrastructure on the living environment of residents.

## 参考文献

- ・ 田村将太・田中貴宏：土砂災害警戒区域を考慮した市街地集約化の多面的効果に関する研究－広島市を対象としたシナリオ作成と評価－，土木学会論文集 D3（土木計画学），Vol.77，No.4，pp.375-388，2021
- ・ 相尚寿：「住環境得点」による居住誘導と災害リスクの低減の関係についての一考察－土砂災害・洪水浸水・密集市街地に着目して－，都市計画論文集，Vol.56，No.3，pp.587-594，2021
- ・ 櫻井祥之・小川宏樹：居住誘導区域の人口密度の維持と浸水被害リスク低減に関するケーススタディ，都市計画論文集，Vol.56，No.3，pp.952-959，2021

# オンライン会議における会議活性度の定量的モデル化

## Making a quantitative activeness model of the online meeting

研究代表者 神場 知成 (情報連携学部情報連携学科)

研究期間/2021年7月1日~2022年3月15日

キーワード/①オンライン会議 Online conference

②コミュニケーション Communication

③感情推定 Emotion estimation

④ヒューマンインタラクション Human interaction

⑤定量的モデル Quantitative model

2021年度交付額/ 700,000円

研究発表/学会および口頭発表

- ・神場知成「オンライン会議における感情推定と参加者へのフィードバック方法」、情報処理学会シンポジウム「インタラクション 2022」、6D-18、2022年3月

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

従来は限定された場面のコミュニケーション手段であったオンライン会議が、コロナ禍の影響も受けて主要な「働く場所」として定着した。そこでは定型的な報告だけではなく、雑談を含むコミュニケーション、長時間にわたるアイデアの交換など、さまざまな活動が行われるようになってきている。しかし、対面のミーティングと比較したときにオンライン会議でのコミュニケーションは、表情やボディランゲージなどさまざまな非言語情報が伝わりにくく、自分が話をするにあたって心理的な負担を感じるという人も増えてきた。本研究では、今後ますます広がると思われるオンライン会議の場を、より快適な場所にしていくための指針を定量的に定めることを目的とする。具体的には、オンライン会議の参加者の映像や音声情報から、会議に参加している人の表情、会話の雰囲気などを自動的に分析して参加者の快適度を定量化することを可能にする。さらに、同じ会議の中で参加者が実験的に装着した脳波測定デバイスで取得した「集中度」や「リラックス度」などとも比較することで、会議がどれだけ有効に活性化しているかを定量的に表すことを可能にする。

本研究期間においては、一般的なオンライン会議システムと組み合わせて利用可能な、参加者顔画像および音声データの取得ソフトウェアを開発し、そのデータをもとに深層学習を用いた表情分析、さらに脳波データ分析結果の推定などの実験を行った。

### 2. 研究経過および成果の概要

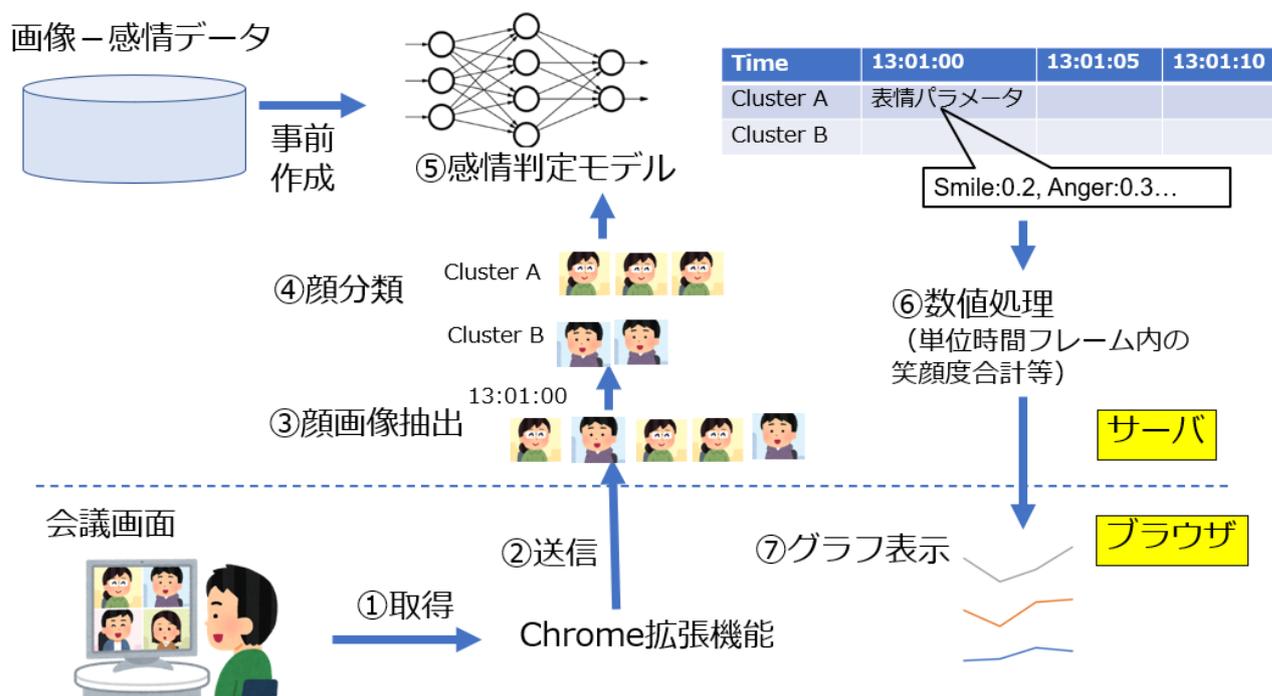
次の3つのステップで説明する。

- 1) オンライン会議システムから、参加者の顔画像を切り出して表情分析ツールに渡すシステムの開発 (7月)

- 2) 受け取った顔画像から、表情認識が可能な深層学習モデルを利用して 6 つの感情パラメータ(怒り、幸せ、悲しみ、驚き、恐れ、嫌悪)を出力、視覚化するモジュールの開発 (8~9月)
- 3) 取得した顔画像から、実験中に装着していた脳波測定デバイスデータから出力される集中度・リラックス度を推定する実験 (10~12月)、まとめと対外発表 (1~3月)

まず 1)では、一般的に用いられるオンライン会議システム (Zoom、Google Meet 等) と同時に PC 上で起動しておく、オンライン会議画面から一定時間ごとに自動的に顔画像を切り出し、独自に開発したサーバ側に送信する機能を持つブラウザ拡張機能 (Chrome 拡張) を開発した。オンライン会議には通常、複数の人が参加しているため、それらの人の顔画像はすべて送信される。

次に 2)では、サーバ側が受信した参加者の顔すべてを、X-means 法を用いて自動クラスタリングする。これにより、参加者ごとの顔画像集合に分割される。さらに、それぞれの顔画像から前述の 6 つの感情パラメータを抽出し、各画像のメタデータとしてクライアントである Web ブラウザに送信する。感情パラメータの抽出は、インターネット上に公開されているインド映画における俳優 100 人の顔画像 34512 枚と、それに対して人手で 6 つの感情表現が結びつけられている大規模データセット (<https://cvit.iiit.ac.in/projects/IMFDB/>) をもとに、深層学習の 1 つである CNN (Convolutional Neural Network) を用いて学習させたモデルを用いた。Web ブラウザ側では、参加者の顔画像に対する感情パラメータの値をサーバから受信すると、JavaScript プログラムがグラフ化して表示する。本システムの全体構成を下図に示す。



次に 3)では、会議中に簡易脳波測定デバイス (Mobile Mindwave 2) を用いて別途取得した参加者の脳波データから得られる集中度・リラックス度を、顔画像から推定する実験を行った。一般に顔画像はオンライン会議システムから簡単に取得できるが、脳波データは特別な装置を装着することでしか得られない。このため、会議中の顔画像から参加者の集中度・リラックス度などを推定することが可能になれば、会議の活性度をモデル化する上で非常に有効である。初期結果として、深

層学習技術を用いることで、両者の関係にある程度の精度で示すことができたが、実用性がある精度が出るかどうかは、今後、さらに多くのデータを用いた実験が必要である。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

会議活性度の定量的モデル化をするという目的に対し、オンライン会議における顔画像から参加者の感情推定や、集中度・リラックス度の推定がある程度可能であるということを示すことができた。さらに、音声データから感情推定を行う実験も準備中である。本年度の実験では、感情推定をするための学習用データとしてインド映画の公開データセットを用いたが、表情と感情との関係性には国民性も影響すると想定され、今後、日本人のデータセット作成と実験が必要と考えている。

また、会議活性度とこれらの感情推定の結果を結びつけるためには、さらに実際のオンライン会議におけるデータ収集と、それを用いた分析が必要である。ここでは、会議の活性度が高いというのは、参加者が不快に感じることなく活発な討議が行われることと考えている。このような基準で考えたときに、活性度が高い会議のデータだけでなく、活性度が低いとみなすことができるような会議のデータも収集する必要がある。今後、これらの実験を通じたデータの収集と、活性度を推定する手法の改善を行っていく予定である。

## Summary

Online meetings, which used to be a means of communication for limited situations, have become a major "working place" due to the influence of the Covid-19 disaster. In the meetings, a variety of activities are taking place, including not only routine reporting, but also communication including chatting and the exchange of ideas for a long time. However, compared to face-to-face meetings, online communication is less likely to convey various non-verbal information such as facial expressions and body language, and a lot of people feel psychologically burdened when they speak. The purpose of this research is to determine guidelines for making online meetings a more comfortable place. Specifically, we will quantify the comfort level of participants in online meetings by automatically analyzing their facial expressions and the atmosphere of the conversation based on video and audio information of the participants. Furthermore, by comparing the results with the "concentration" and "relaxation" levels obtained by EEG measurement devices experimentally worn by the participants in the same meeting, a model that quantitatively represents how active the meeting is will be made.

During this research period, we developed software for acquiring participants' facial images and voice data that can be used in conjunction with common online meeting systems, and conducted experiments such as facial expression analysis using deep learning based on the data, as well as estimation of the results of EEG data analysis.

The research was proceeded in the following three steps.

1) Development of a system to cut out facial images of participants from an online conference system and pass them to an expression analysis tool.

2) Development of a module to output and visualize six emotional parameters (anger, happiness, sadness, surprise, fear, and disgust) from the received face images using a deep

learning model capable of facial expression recognition.

3) Experiments to estimate the degree of concentration and relaxation based on the EEG measurement device data that was experimentally worn in parallel with the acquired face images, summary and presentation to the public.

As a result, we have shown that it is possible to some extent to estimate participants' emotions and the degree of concentration and relaxation from facial images in online meetings. In this year's experiment, the public dataset of Indian movies as the training data was used for emotion estimation, but the relationship between facial expressions and emotions will depend on national characteristics, and it will be necessary to create a dataset for Japanese people and conduct experiments in the future.

# 畳み込みニューラルネットワークによる力学モデルの獲得と 運動制御への応用

## Learning of dynamical models by convolutional neural networks and its application to motor control

研究代表者 佐野 崇 (情報連携学部情報連携学科)

研究期間/2021年7月1日~2022年3月15日

キーワード/① 畳み込みニューラルネットワーク Convolutional neural networks

② 教師なし学習 Unsupervised learning

③ 運動制御学習 Motor control learning

④ 確率的勾配法 Stochastic gradient descent

⑤ ベイジアンネットワーク Bayesian networks

2021年度交付額/1,260,000円

研究発表/学会および口頭発表

- Takashi Sano, "A noniterative solution to the inverse Ising problem using a convex upper bound on the partition function," J. Stat. Mech. (2022) 023406, 2022.
- Takashi Sano and Yuuji Ichisugi, "Stochastic Neural Variational Learning of Noisy-OR Bayesian Networks for Images," 2021 the 5th International Conference on Advances in Artificial Intelligence (ICAAI 2021), 2021.

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

畳み込みニューラルネットワークをはじめとした深層学習の方法は、画像認識やテキスト生成といった、様々な応用において大きな成果を上げている。本研究では、特に畳み込みニューラルネットワークに着目した研究を行った。畳み込みニューラルネットワークは、主に画像認識の分野で進展してきた技術である。一方で、畳み込みニューラルネットワークを時系列データに応用した場合、再起結合を持つニューラルネットワークとほぼ変わらない性能を示し、かつ安定して高速に学習が可能であることが近年明らかになりつつある。そこで本研究では、畳み込みニューラルネットワークを用いて、物理シミュレータ上のダイナミクスを学習させ、それを用いた運動制御を行うことを目指した研究を行った。

研究手法として、まずはデータの作成を行った。物理系の最も単純な場合として、1次元に拘束された質点が、単振動を行う状況を作成した。この物理系の状態の時間変化は、2次元のグラフに表すことができる。これを2次元の畳み込みニューラルネットワークを用いて教師なし学習を行うことで、ダイナミクスの学習が可能であるか評価を行った。

また、畳み込みニューラルネットワークを用いた新しい教師なし学習として、ベイジアンネット

ワークの教師なし学習を、畳み込みニューラルネットワークを用いて行う理論的研究を行った。さらに、シンプルな構造を持つボルツマンマシンについて、反復計算を行わずに教師なし学習を可能にする理論的研究を行った。

## 2. 研究経過および成果の概要

1次元の調和振動子を用いた実験では、様々な初期条件から状態の系列を作成し、6000枚のグラフを作成した。これを入力データとして、2次元の畳み込みニューラルネットワークの学習を行った。教師なし学習を行うために、畳み込みニューラルネットワークを2つ用意し、変分オートエンコーダ型の損失関数を最適化することで学習を行った。学習後、モデルは物理系の特徴を学習し、もっともらしいグラフが出力されると期待できる。

評価として、同じ物理系から作成した系列のうち、一部を欠落させたデータを入力とし、その後の質点の挙動が正しく予測できるかの評価を行った。その結果、十分学習が進めば、モデルは定性的に正しく軌道の予測ができることがわかった。このことは、畳み込みニューラルネットワークによる物理ダイナミクスの学習が可能であることを示しており、それを利用した運動制御の可能性を示唆している。

本研究では畳み込みニューラルネットワークによる教師なし学習が重要となる。そこで、これまでにない新しい学習手法として、noisy-OR ベイジアンネットワークを、畳み込みニューラルネットワークを利用して教師なし学習する方法を開発した。この方法では、ベイジアンネットワークの離散確率変数に対応するため、Neural Variational Inference and Learning (NVIL)という手法を応用した。新しく開発した手法では、手書き数字が扱えるほど大規模なネットワークの学習が可能であることがわかった。また、手書き数字の一部が基本的な表現として学習され、理解しやすい表現の獲得が可能であった。

よりシンプルなボルツマンマシンの学習法の開発では、今までになかった新しい公式を開発することができた。これまでは、Bethe 近似という近似法を用いた公式が提案されていたが、本研究では Tree-reweighted 近似という近似法を採用することで、性質の異なる公式を開発することができた。Bethe 近似と比較すると、我々の開発した公式は、特に引力の強い領域で精度の良い学習が可能であることがわかり、神経細胞の活動データから接続を予想するなどの応用が期待できる。

## 3. 今後の研究における課題または問題点

本研究では、畳み込みニューラルネットワークを用いたダイナミクスの学習の可能性を見出すことができたが、対象としている物理系はまだ単純であるため、より複雑な系での検証が必要である。また、運動制御へつなげるためには、系に加わる外力が、どのように系に変化を与えるかを知らなければならない。そのための物理系のセットアップと、データの準備方法が今後の課題である。さらに、今回は変分オートエンコーダ型の学習を行ったが、NVIL 型など、他の学習手法との比較評価も課題である。

## Summary

Aiming at fast and robust motor control learning, we researched convolutional neural networks and unsupervised learning. For motor control learning, we first examined the ability of convolutional neural networks to acquire dynamics of a physical system. We proposed an experiment where dynamics of a one-dimensional system is expressed as trajectories in two-dimensional figures. We created a variational auto-encoder model by using two two-dimensional convolutional neural networks as an encoder and a decoder. The model learned the figures as input data by a standard stochastic gradient method. To evaluate the model, we gave parts of trajectories and not the others to the model. The model could reconstruct the trajectories not only the given parts, but the hidden parts. This means the model can predict the future of the physical system and suggests the possibility of the use of convolutional networks to learn dynamics of physical systems.

The result is promising, but we need more experiments, because the physical system used in our study is too simple. Especially, since the system is one-dimensional, we can use the two-dimensional convolutional neural networks. For more realistic, two or three dimensional systems, we need to manage to train three- or four-dimensional convolutional neural networks, respectively, which are considered to be more hard to train. Furthermore, to use the model for motor control, the model should learn the reaction of the system against the external force. We need to find an efficient way to generate data for such training.

We also studied a new unsupervised learning method for the noisy-OR Bayesian networks. We employ neural variational inference and learning (NVIL), in which intractable posterior distribution is approximated by the output of a neural network. Both the noisy-OR Bayesian network and the posterior distribution neural network are optimized to maximize the variational lower bound of the true log-likelihood. To examine the effectiveness of the proposed method, we used the MNIST handwritten digit dataset for unsupervised learning of noisy-OR Bayesian networks. We confirmed that noisy-OR Bayesian networks with up to 128 latent variables can learn the given dataset using NVIL. Interestingly, the latent variables of the noisy-OR Bayesian networks learned fragments of digit images as their representation. These representations are easier to interpret than the representations acquired by sigmoid belief networks.

# 関数解析に基づく機械学習法の性能評価および理論的設計指針の構築

## Application of functional analysis to network analysis

研究代表者 本多 泰理 (情報連携学部情報連携学科)

研究期間/2021年7月1日~2022年3月15日

キーワード/①関数解析 Functional analysis

②ニューラルネットワーク Neural network

③機械学習 Machine learning

④偏微分方程式 Partial differential equation

⑤力学系 Dynamical system

2021年度交付額/ 945,000円

研究発表/学会および口頭発表

### 【査読付論文】

- ・Honda, H., Reservoir computing with an inertial form, SIAM Journal on Applied Dynamical Systems 20(2021), 1320-1347.

### 【口頭発表】

- ① Hirotada Honda, "On universal approximation property of a partial differential equation-based neural network", 応用数学会 年会(2021年9月7日, オンライン)
- ② Hirotada Honda, "On universal approximation property and Barnsley operator", 電子情報通信学会 ソサエティ大会 (2021年9月16日, オンライン) .
- ③ Hirotada Honda, "On partial differential equation-based neural network with additional parameters", 日本数学会 2021 秋季総合分科会(2021年9月17日, オンライン) .
- ④ Hirotada Honda, Pham Thu Thao, Tam Xiuyao, Cung Viet Duy, and Mamoru Miyazawa, "On the extension of reservoir computing with an inertial form", The 3rd Russia-Japan Workshop "Mathematical analysis of fracture phenomena for elastic structures and its applications" (ComFoS21), December 2021 (2021年12月19日, オンライン).
- ⑤ Hirotada Honda, "Application of mean field game to dimensionality reduction", 応用数学会 部会連合発表会(2021年3月8日, オンライン).
- ⑥ Hirotada Honda, " Proposal of the GAN with a convex learner", 電子情報通信学会 総合大会 (2022年3月18日, オンライン) .
- ⑦ Hirotada Honda, " Revisiting the stability of GAN", 日本数学会 2022年 年会(2022年3月31日, オンライン)

## 1. 研究方法

本研究では、前年度に引き続き、関数解析的観点から各種機械学習法について検討を進めたが、大きく以下3項目について検討を進めた。以下、それぞれ①②③として記載する。

- ① 時系列予測のための機械学習法である”reservoir computing”について、無限次元力学系の理論を応用し、より効率よく、かつ理論的に望ましい性質が満たされる手法を前年度に提案した。その性質とは、i)時間経過とともに所定の速度で過去の情報を忘却するはたらきを示す”echo state property”，ならびに、ii)異なる入力信号を識別するはたらきである”separation property”である。以下、当該対象に対する検討内容について詳述する。本検討では、力学系の理論を最大限活用すべく、中間層に相当する reservoir の時間挙動を、まずは inertial manifold を有する連続時間の力学系として設定した後、当該 inertial manifold 上に射影する。その結果、当該 inertial manifold 上の力学系としては echo state property, および緩和された形での separation property が満たされることを証明した。前記 reservoir が従う力学系を inertial manifold 上に射影して得られる常微分方程式系(inertial form)については一般には陽に表現することが困難であるため、その近似(approximated inertial manifold)を用いて取り込んだ。これにより、前記 inertial form が閉じた形の常微分方程式系として表現され、より簡易な形で reservoir computing を再定義することに成功した。

第二に、2021年度においては、上記手法をスカラー入力信号から多変数入力信号に対応可能なモデルに拡張した。これにより、一般的にN次元の時系列信号を入力し、スカラー目的変数の時系列を予測することが可能となった。

第三に、上記の手法で python を用いて実装を行い、数値実験を行った。本助成金を活用した業務委託、ならびに本学学生の協力を得て、網羅的に実験を行った。この結果、実データを用いた数値実験において望ましいパラメータや設定を得ることに成功した。これらの結果は、上記口頭発表④にて報告済みである。

- ② 多層ニューラルネットワークによる教師有り学習のプロセスを、連続的な偏微分方程式として近似し、解析的に扱う手法について、前年度に引き続き考察した。本研究については、前年度、グラフの連続極限の概念として近年活発に研究されている”graphon”の理論を用いて、ニューラルネットワークの連続極限を考えた。これにより、当該 graphon 上での非線形偏微分方程式の最適制御問題としてニューラルネットワークの動作を近似的に表現した。

2021年度は上記の手法について、普遍性定理(任意の連続関数を任意精度で近似可能であることを主張する、ニューラルネットワークにも具備される基本的性質)が成り立つことの証明に取り組んだ。結果として、肯定的な証明が得られたため、論文化し投稿、現在査読中である。

次に上記の手法を python を用いて実装し、数値実験を行った。こちらについても本助成金を活用した業務委託、ならびに本学学生の協力を得て、網羅的に実験を行った。しかしながら、

実装自体は成功したものの、その後の実験においては、計算時間および計算結果について望ましい結果を得ることができなかった。その反省の過程において、理論的制約を緩和できる手法を見出したため、今後考察を深め、論文化する予定である。

- ③ 上記に加え、生成系の機械学習法として近年活用されている敵対的生成ネットワーク(GAN)に関する理論検討、および次元削減へのゲーム理論的手法の応用に着手した。GANの検討においては、生成する出力の不安定性が以前より指摘されていることから、第一に **Iterated function system(IFS)**を用いた考察を行い、GANの古典的手法において出力される確率測度が安定となるべき条件を導いた(成果⑦)。その後関数解析および凸解析の手法を用い、**JS-divergence**を確率測度の空間上の凸汎関数と見なすことで、より効率よく、かつ安定して出力が得られる手法を提案した(成果⑥)。次元削減の検討に関しては、近年活発に議論されている **topology preservation**の手法を、サンプルどうしの非協力ゲームと見なし、そのNash均衡をもって次元削減の出力とする手法を考案した。プレイヤー数が多数の場合のゲーム理論に関しては、近年連続ゲームや平均場ゲームといった手法が活発に議論されているが、これらの知見も踏まえて、関数解析的な観点から、Nash均衡が存在するための条件の導出、ならびにNash均衡を導出するアルゴリズムを提案し、口頭発表を行った(成果⑤)。また論文化し現在投稿準備中である。

## 2. 研究経過および成果の概要

### ① 成果：査読付き学術論文1，口頭発表1.

成果の査読付き学術論文は、上記①の **reservoir computing**の検討に関して、前年度の研究成果として、入力信号がスカラー値の場合について、python上での実装、数値計算結果を含めて発表したものである。口頭発表(成果④)については今年度、本助成金を活用して多次元入力信号への拡張を行い実装、数値実験を行った結果を纏めたものである。

### ② 成果：口頭発表3.

前記多層ニューラルネットワークの偏微分方程式による近似手法について、多値分類タスクに適用する場合の理論的検討について前年度より査読中である。また今年度、普遍性定理について考察した結果についても、6月に投稿、現在査読中となっている。後者については日本数学会また応用数理学会、および電子情報通信学会において口頭発表を行った(成果①②③)。

### ③ 成果：口頭発表3.

前記生成系ネットワークであるGANの安定に関して理論的考察を行い、口頭発表を行った(成果⑥⑦)。これに加えて、非協力ゲームの理論を応用した次元削減手法に関する提案を口頭発表で行った(成果⑤)。ゲーム理論の機械学習への応用は近年国際会議等でも散見されることから、今後議論が活発化することを想定し、将来的な研究の準備として本検討に着手している。

## 3. 今後の研究における課題または問題点

- ① 今後、提案手法を自律的に長期先の予測を実現すること、またそれが有効に動作するための理論的条件の抽出が必要である。さらに、多次元出力への対応、転移学習への応用などが考えられる。

- ② 偏微分方程式によるニューラルネットワークについて、今回の数値実験の結果において明らかとなった課題の解決に取り組む必要がある。具体的には、解の存在のため課している制約を緩和すること、ならびにその場合における求解アルゴリズムの導出に取り組む。また本テーマについても、転移学習への応用が考えられる。
- ③ GAN に関する手法については、今年度の提案技術に対して最適輸送の理論を応用することにより、より収束性が高く収束レートに関する理論的評価が知られている手法を導入する予定である。次元削減手法に関しては、複数の手法を提案し、また非線形関数解析の手法を用いて Nash 均衡が理論的に導出できるアルゴリズムの提案を行っている。今後その実装、また Nash 均衡選択およびパレート最適解の導出手法についても検討を進めていく予定である。

総論として、2021 年度は前年度からの検討を引き継ぎ、複数の成果を創出し学術論文誌への投稿を行ったものの、いずれも査読期間中に年度を終える形となった。特に理論研究の査読期間は比較的長期間要するケースが多いため、今後は、査読期間が定まっている国際会議への投稿なども併せて検討したい。また 2021 年度においては、GAN や次元削減といった複数の新規研究テーマを創出し、口頭発表を行うことができた。これらについても今後研究として更に掘り下げ、機械学習の理論研究における議論の活性化に貢献していきたいと考えている。

## Summary

### I. Our approach

In this study, building on our research from last year, we explored the theory of machine learning from the perspective of functional analysis. The contributions of this work are summarized as follows.

i) We proposed an application of the theory of infinite-dimensional dynamical systems to reservoir computing, which enables us to attain echo state and separation properties. First, we formulated a reservoir as a temporally continuous dynamical system with an inertial manifold. Then, we considered the projection of this system onto the manifold. We proved that the resultant projected system satisfies both echo state and separation properties. This enabled us to successfully redefine reservoir computing in a simpler form representing the system of ordinary differential equations.

Second, in 2021, we extended our method developed last year into a new approach applicable to multi-dimensional input signals. This enables the use of multi-dimensional signal data as an input to predict a scalar-valued time series. Third, we implemented this method with the Python programming language, and conducted numerical experiments. As a result of this work, we successfully identified the preferred configuration and parameters of our model. We have also reported these results in a conference (list number (iv)).

(ii) We explored supervised learning methods by using a partial differential equation (PDE)-based

neural network, which we had proposed in the previous year. In this study, we considered the limits of neural networks by employing the concept of graphons. This enables us to approximately represent the operation of a neural network in the form of a nonlinear PDE-based optimal control problem.

In 2021, we studied the universal approximation theory, which is a primary feature of neural networks. We have summarized this result in a paper which has been submitted for publication and is currently under review.

Next, we implemented our method with the Python programming language, and conducted extensive numerical experiments by contracting the implementation to a certain company and with the aid of our students. Although we successfully implemented our proposed approach, the experimental results were not suitable in terms of computation time and numerical results. However, we found that this may be attributed to some extent to the strict restrictions on our model, which can be relaxed in future work.

(iii) Moreover, we have begun an investigation into some new topics, including a theoretical study of GAN models, as well as the application of non-cooperative games to dimensionality reduction.

In general, GANs have been observed to involve some instability. Therefore, we first studied GANs by applying the theory of iterated function systems (IFSs), with which we deduced conditions sufficient to stabilize the output probability measure of the classical Goodfellow's min-max GAN (output (vii)). Subsequently, we proposed a method which enables the effective acquisition of a stable output by using the theory of functional and convex analyses (output (vi)).

Regarding dimensionality reduction, we also worked on a method of topology preservation, which has recently become an active research topic. We formulated the procedure of dimensionality reduction as a non-cooperative game between the sample elements. Our method then assures the existence of Nash equilibria as the output of our model (output(v)).

## **II. Progress and overview of the outputs**

(i) Outputs : 1 peer-reviewed academic journal, and 1 oral presentation.

This paper, which was published as noted above, presents some of our work from the previous year on topic (i). It focuses on the case of scalar-valued input signals, together with the results of numerical experiments conducted using the Python programming language. Output (iv) reports the results of our research conducted in 2021, in which we considered an extension to multi-dimensional input signal data and conducted corresponding numerical experiments.

(ii) Outputs : 3 oral presentations.

We submitted a paper to a journal last year on our PDE-based neural network model for multi-class classification, and the work presently still under review.

Moreover, we submitted our new findings on the universal approximation property in June 2021, and this work is under review as well. Regarding the latter, we have presented our results at the annual conferences of the JMS, JSIAM, and IEICE (outputs (i)(ii)(iii)).

(iii) Outputs : 3 oral presentations.

We studied the stability of GAN models in theoretical terms, and have reported our results in conferences (outputs (vi) and (vii)). Moreover, we have proposed the application of non-cooperative game theory to dimensionality reduction (output (v)).

### **III. Future work and remaining issues**

(i) We intend to address prediction over longer time periods in future work. We will also extract prerequisites to attain this aim. We also plan to consider possible applications to multi-dimensional output and transfer learning.

(ii) We plan to resolve the issues raised by the abovementioned numerical experiments conducted in 2021. Concretely speaking, we intend to consider the relaxation of the restrictions imposed on our model in previous research to confirm the existence of a solution and explore the corresponding algorithm. Applications to transfer learning may also be considered.

(iii) Regarding GAN methods, we plan to employ the theory of optimal transport to develop a method to guarantee the theoretical evaluation of the convergence ratio. As for dimensionality reduction, we are currently developing an algorithm to find the Nash equilibria, which is guaranteed to converge by the theory of nonlinear functional analysis. In the future, we plan to address the implementation and the problems of the choice of Nash equilibria, as well as the search for Pareto-optimal solutions.

To summarize, we have continued our research from the previous year and produced some outputs in 2021, which have been submitted to several academic journals. However, these works are currently still under review. Given that review periods for manuscripts in theoretical research fields are relatively long, we may also submit some of our results to international conferences as well, as they typically have more definite and shorter periods for review.

We also begun to explore some new research topics in 2021, such as GANs and dimensionality reduction, and reported some findings along these lines in conferences. We would like to pursue a deeper investigation of these topics in the near future as well.

# 個人投資家の証券投資に関する行動・意思決定の総合的研究

## A comprehensive study of the behavior and decision-making of individual investors regarding securities investment

研究代表者 大野 裕之(経済学部国際経済学科)

研究分担者 林田 実(北九州市立大学経済学部)

研究期間/2021年6月25日~2022年3月30日

キーワード/①金融教育

②確定拠出年金

③機械学習

④Causal Forest

2021年度交付額/754,000 円

研究発表/学会および口頭発表

- ・東洋大学経済学部『経済論集』第48巻(2022年度中に発刊)への掲載(予定)
- ・日本応用経済学会2022年度秋季大会(開催場所未定)での口頭発表(予定)

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

日本証券業協会実施の『証券投資に関する全国調査』2018年版の個票データで、確定拠出年金の加入有無を目的変数に、金融教育の経験の有無を処置変数、リスク資産保有・非保有、リスク資産保有額、年齢、性別、NISAを利用しているか否か、不動産を持っているか否か、金融資産総額(個人)および税込世帯年収を説明変数とし、機械学習のCausal Forestの手法を適用した。

### 2. 研究経過および成果の概要

家計の証券投資が進んでいないのは何故か。それを探るべく、これまで様々な政策・制度変更焦点を当てた実証分析が行われてきている。その中でも、アンケート調査の個票データを用いた研究では、個人属性などを説明変数にとり、政策効果を表す目的変数への影響を、「質的変数に関する推定法」で追うことが多い。しかしながら、これらの手法は属性ごとの政策効果はターゲットにしておらず、仮にターゲットにしたとしても、技術的な限界がある。ところが昨今、汎用性を増している機械学習の手法を使えば、このような分析も可能になる。そのような機械学習の中でも最近、Athey and Imbens (2016)らによるCausal Treeという斬新な分析手法が、さまざまな研究で急速に使用されるようになってきている。そこで昨年度、これを用いた研究を行った(東洋大学経済論集第47巻第1号「機械学習による有価証券保有額、確定拠出型年金への加入の分析~性別を処置変数としたCausal Treeによる解析結果~」)ところであるが、本研究はさらにそれを進め、より高度なCausal Forestを用いて個人の貯蓄投資行動を分析することとした。

具体的には、貯蓄投資行動の中でも確定拠出年金にフォーカスを当て、それへの加入・非加入を目的変数に据える。そのようにするのは、以下の理由による。「人生百年時代」などと言われ、我々日本人は退職後に相当長い人生を送ることが想定されている時代に突入しながら、公的年金の将来見通しは暗い。それを補うため、2000年代初頭に税制優遇のある確定拠出年金の制度がスタートしたものの、これを利用している人はまだまだ少ない。「人生百年時代」に人々が安心して老後の生活を送ることができるためには、この確定拠出年金が普及することが鍵となる中、どのような政策がその普及に寄与するのか、また、人々のどのような属性や考え方がその寄与の程度に影響を与えているのかは、政策論的にたいへん興味深い。

昨年度の Causal Tree を用いた研究では、性別を処置変数に据えた。それは、性別は外生的に決まっているためである。確かにそれは正しいが、一方で、Causal Tree や Causal Forest を用いた研究のメリットは政策評価を行えることである。その点、政策によって決まるわけではない性別は、処置変数として適切であるか否かは疑問なしとしなかった。そこで今回は、昨今、その有効性が注目を集めている金融教育の経験の有無を処置変数にあてた。これは、外生的であるだけでなく、教育を施す側の意図が表れる政策変数でもあるので、処置変数としては申し分ないと言えよう。

もうひとつ、昨年度の研究からの異同としては、データを投資家を対象を絞った『個人投資家の証券投資に関する意識調査』（以下『意識調査』）ではなく、非投資家も含めた『証券投資に関する全国調査』（以下『全国調査』）を用いた点である。これを用いることで、両グループを含めたフルサンプルでの分析の他に、各グループでのサブサンプル分析を施すことにより、投資家と非投資家の違いも浮き彫りにできる。

ここで、Causal Forest について、簡単な解説をしておく。まず、Causal Tree については、前年度の井上円了記念研究助成でも述べたように、目的変数に対してトリートメント変数を設定し、その効果を回帰木作成によって求めようとするものである。その際の重要なポイントは回帰木においては、評価関数が単純な残差平方和であるのに対して、Causal Tree では、処置効果を最大にすると同時に予測値の分散は最小にするという評価関数を使っていることである。Causal Forest はこのようにして作成される多数の Causal Tree のアンサンブル学習と定義できる。一般に、回帰木においてもアンサンブル学習の方が予測能力が高いことが知られており、Causal Tree、Causal Forest による分析においても、後者を利用した分析が圧倒的である。ただし、Causal Forest による分析では、Causal Tree による分析の際に用いたようなリーフにいたる分岐の特徴の叙述をもって、データ解析とすることはできない。そこで、Athey and Wager (2019) にならって、解析を行った。

本研究で利用したデータでは、各県ごとの金融教育の経験の有無は異なっている。このことを考慮すると、①県を単位とした（クラスター）サンプリングを利用するか否か、②傾向スコア(propensity score)を利用するか否かを考えなければならない。そこで、本研究では、手始めに、②傾向スコアのみを用いた分析結果を以下に提示する。

前述したように、目的変数は確定拠出年金加入・非加入であり、処置変数は証券投資に関する教育を受けたか否かである。説明変数としては、リスク資産保有・非保有、リスク資産保有額、年齢、性別、NISA を利用しているか否か、不動産を持っているか否か、金融資産総額（個人）および世帯年収を投入した。フルサンプルによる結果は、金融教育の有無が確定拠出年金への加入に効果があること、その異質性は年齢（若い人ほど高い）、税込世帯年収（高い人ほ

ど高い) が示された。サブサンプルによる結果は、投資未経験者、経験者ともに金融教育の効果は認められるものの、前者では異質性が全く検出されなかった。一方、後者ではいくつかの説明変数に関して異質性が認められた。すなわち、年齢 (若いほうが効果が高い)、NISA 利用 (利用している人の方が高い) の他、性別 (女性の方が効果が高い)、不動産保有 (保有者の方が低い)、金融資産総額 (低いほうが高い) で弱いながら異質性が現れた。しかし、税込世帯年収では異質性は認められなかった。このことは、フルサンプルで検出された世帯税込年収に関する異質性は、「見せかけの相関」であった可能性を示唆している。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

『全国調査』は投資家と非投資家、両グループの回答が含まれているものの、投資家の数が1,300ほどと少なかった。また、説明変数として利用可能な質問が限られているというデメリットがある。その点、『意識調査』には投資家のデータが多数存在し、また今回用いた説明変数として用いた質問以外にも興味深い質問がいくつかある。例えば、金融知識、時間選好率、危険回避度などである。そこで、今後は『意識調査』を併用して、投資家・非投資家の比較を行うとともに、『意識調査』に限って、こうした興味深い説明変数を追加した分析を行ってはどうかと考えている。また、『全国調査』は3年に一度、『意識調査』は毎年実施されているので、それぞれで多年度にわたる分析を行い、経年的な変化をみるのも重要な拡張である。さらに、NISA や株式、公社債、投資信託など証券投資一般へと目的変数を変えるのも検討に値する。

## Summary

We applied the Causal Forest method of machine learning to individual data from the 2018 edition of the Japan Securities Dealers Association's "Nationwide Survey of Securities Investments," which collects responses from both securities investors and non-investors. To do so, we use the defined contribution (DC) pension plan membership as objective variable, financial education as the treatment variable, and the followings as explanatory variables: risky asset holdings, the value of risky assets, age, gender, the use of NISA, real estate holdings, the value of total financial assets, and household before-tax revenues. Taking advantage of the survey's characteristics, we conduct a full sample analysis as well as subsample analyses for the two groups of respondents, in order to see possible different behaviors/ways of thinking with respect to securing the post-retirement livelihood and preferential tax treatment, which DC pension plans are entitled to.

In the analysis of the full sample, including both securities investors and non-investors, it was found that the financial education increases the likelihood of the DC pension plan membership. It was also found that heterogeneity of that effect was detected with respect to age (the younger the respondent, the greater the effect) and household before-tax revenues (the higher the revenue, the greater the effect). In the case of the subsample analysis for non-investors, the overall effect was found that the financial education increases the likelihood of the DC pension plan membership, but no heterogeneity was detected for any of the explanatory variables. On the other hand, in the case of investors, the overall effect was found, as well as heterogeneity of the effect for age (the younger the

higher) and use of NISA (the effect is higher for the users). In addition, the evidence of heterogeneity, albeit weak, was also suggested for sex (the effect is higher for females), real estate holdings (the effect is lower for the holders), the value of real financial assets (the higher the value, the lower the effect) . However, puzzlingly, it was not detected for the household before-tax revenues. The comparison of the results for the full sample and two subsample analyses suggests that the heterogeneity of the financial education effect for household before-tax revenues detected in the full sample may be due to a kind of “spurious correlation.”

## 珠海デルタ地域における企業統治について

### A Study on Corporate Governance at Pearl River Delta Region

研究代表者 井上 貴也(法学部企業法学科)

研究分担者 後藤 武秀(法学部法律学科)

研究期間／2021年7月1日～2022年3月15日

キーワード／①グローバル化

②法継受

③会社法制度

④粵港澳大湾区

⑤企業統治

2021年度交付額／ 949,000円

研究発表／学会および口頭発表

#### 【論文】

①井上貴也「コロナ禍における株主総会開催について」東洋法学 65 巻 3 号 129-144 頁（東洋大学法学会、2022年3月）

②後藤武秀「台湾社会の紐帯としての民衆信仰」地域文化研究 21 号 61-73 頁（地域文化学会、2021年12月）

③後藤武秀「台湾における善と悪に関する社会教育」東洋法学 65 巻 3 号 27-43 頁（東洋大学法学会、2022年3月）

#### 【口頭報告】

④井上貴也「会社法とSDG'S」アジア文化研究所第16回年次集会（アジア文化研究所、2022年3月）

⑤後藤武秀「台湾の民衆信仰における善悪の観念—SDGsの提唱する公正の基準—」アジア文化研究所第16回年次集会（アジア文化研究所、2022年3月）

研究経過および成果の概要

#### 1. 研究方法

本研究は、珠江三角地帯の歴史的文化的背景が法制度にどのように影響しているかを探求することを目的とする。本研究で対象とする珠江三角地帯とは、香港、マカオ、中国華南地域を指す。この地域では、イギリス法の影響を受けた香港法、ポルトガル法の影響を受けたマカオ法、中国大陸の中国法が併存している。隣接した狭い地域でもあるのにかわらず、香港、マカオ、中国の経済体制はそれぞれ異なる。しかし、経済的繋がりには密接であり、特に、香港は証券市場としても世界有数の規模であり、世界の金融市場を形成している。また、この地域は製品の中国からの輸出、中国への輸入の際の貿易の窓口の役割を果たしてきており、極めて重要な地域である。

2013年に提唱された「一帯一路」構想では香港もこの構想への参画に前向きな姿勢を示した。中国は、改革開放の外貨獲得や外資導入といった当初の目的は達せられ、今度は、一部産業における過

剩設備解消、国内企業の海外進出、人民元国際化といった課題に政策の重心がシフトし、これら課題を解決するため「一帯一路」構想を打ち上げた。香港はこの構想では、単なる「ゲートウェイ」としてではなく「スーパーコネクター」としての役割を果たすことが期待された。

本研究の目的は、香港、マカオおよび中国での経済の牽引役である会社制度の運用等を明らかにすること、また、歴史的に異なる法制度の下でどのような工夫がなされているかを考察することである。アジア地域内研究対象地域において西欧の法文化とアジアの法文化がどのように融合するののかについて、法文化の結節点としての意義について考察を試みた。

## 2. 研究経過および成果の概要

2021年度は会社法制度を念頭に置き、香港法における英国法の法規整の影響について調査および研究を行った。

取締役の注意義務を例として紹介したい。

取締役の注意義務として香港では、取締役は役割を果たすため、仕事にケア、スキル、勤勉の義務を履行すべきであり、取締役が従来、名目上に任命されるものであるという経緯もあったため、取締役の義務については寛容なアプローチがとられた。しかし、現代の企業社会（corporate environment）は、会社の規模、ビジネス及び社会における役割、総投資金額が企業の誤った管理によって株主 債権者、従業員など関係者に経済的及、社会的損害を与えうる。取締役はそれらの障害を最小限に抑えるため、最良のコーポレートガバナンスを保障する義務がある。このように、様々なステークホルダの利害にも配慮を払う必要がでてきた。

イギリス 2006 年会社法において最も重要かつ議論的になる条項となる 172 条を創設した。イギリスにおいて、取締役の義務に関しては、成文にするか否か、約 1 世紀にわたって議論された。イギリス会社法は 172 条においてコーポレートガバナンスの改善に対して建設的な役割を有す得るものと評価された。しかし、この条文をめぐる、172 条は取締役会に従業員及び顧客に与える影響、また、環境と地域コミュニティへの影響を顧慮した上に決定を下すことを求めているため、実務では非現実的であると批判された。その理由としては、いわゆる「物言う株主」が 172 条を便乗し、取締役に法的な異議申し立てることを恐れたからである。取締役の意思決定が萎縮する可能性が危惧されたのである。

香港はイギリスの植民地であったため、伝統的にはイギリスの会社法が香港会社法の鏡であったことは歴史的事実である。しかし、香港は、主として金融センターとして発展を遂げたため、イギリス会社法を香港社会の状況にそのまま適用することは適切ではないとも考えられた。この点については、香港においても、企業に商品またはサービスを提供する従業員及び他の当事者、例えば債権者、供給業者、地域コミュニティなども含めることにより企業統治の観点からも有益であり、英国会社法 172 条のような取締役の義務を法典化することが主張された。結果、2014 年香港会社法が改正されたが、イギリス会社法 172 条と同様の規定盛り込むことは見送られた。

また、2021 年度は、香港企業の形態として非家族経営と家族経営に関する論文を分析し、(1) 家族支配型企業は非家族支配型企業より報酬委員会、指名委員会を持つことが少ない。(2) 香港における主要な上場した企業は家族支配型企業であり、長い歴史を持つことが理解できた。

## 3. 今後の研究における課題または問題点

今後の研究としては、香港、マカオ、中国会社法の改正論点を明らかにし、グローバル化の動向

と会社法改正の潮流を明らかにしたい。今後は、香港会社法においては企業経営の家族支配の形態と法的な枠組みについて研究を進め、いわゆる上場企業と閉鎖会社の企業統治を分析する。

## Summary

This research aims to examine the influences of historical and cultural background to the law system in Zhujiang Delta region (Pearl River Delta region). The Zhujiang Delta region in this research includes Hong Kong, Macao and Southern China area. Hong Kong law which is affected by British Law, Macao law which is affected by Portuguese Law and Chinese law coexist in this region. Although Hong Kong, Macao and Southern China are neighboring areas, they have different economic system. The economic relations between these areas are close; especially Hong Kong is one of the large global scale stock markets and has a developed international financial market. Also this region is an important region as it functions as a window of exporting Chinese goods and importing goods to China.

Since China had accomplished obtaining foreign currency and capital import which were the goals of the “reform and opening up” policy, China now is shifting the policy focus on internationalization of the Renminbi (RMB), international expansion for Chinese companies and solving production surplus in some industries. In order to attain these issues, China introduced the “Belt and Road Initiative” project in 2013. Hong Kong has showed a positive attitude towards joining the “Belt and Road Initiative”. In this “Belt and Road Initiative”, Hong Kong is not just a ‘Gateway’, but also expected to act as a ‘Super connector’.

The aims of this research is to clarify the operation of the social system that leading the economy of China, Macao and Hong Kong and to explore what kind of ingenuity was used under these historically different law systems. Besides, this research tries to analyze the meaning of legal culture node from how Western and Asian legal cultures integrated in the research targets within the research targets.

In the current year, this study focuses on the company law regime and has examined and researched the influence of British Law Reform on Hong Kong Law.

The following is an example about ‘Directors’ Duty of Care’

In Hong Kong, since there is a practice that directors are often figureheads appointed, a lenient approach is adopted towards the duty of directors. However, in the modern corporate environment, the size of the company, the size of business and the roles that companies in the society and the money invested in company significant economic and social harms to shareholders, creditors, employees and others could arise as a result of mismanagement of company. Directors have responsibility to ensure good corporate governance in companies to minimise such harms. In such,

it is necessary to concern the interests of different stakeholders.

In the UK Companies Act 2006, the most important and discussed Section 172 was set out. In UK, the codification of directors' duties has been discussed for about a Century. Section 172 was well evaluated for its success to improve corporate governance. However, it was criticized for the practical reality as it required concerns on the influence to local community and environment during decision making. The reason is section 172 left expose to opportunistic legal challenges from activist shareholders to challenge directors and may intimidate directors' decision making.

Since Hong Kong was the colony of UK, it is a fact that Hong Kong's corporate legal framework has traditionally mirrored that of the UK. However, Hong Kong was gradually developed mainly into a financial centre and UK Companies Act seemed no longer suitable for the situation of Hong Kong society. Towards this, even in Hong Kong, from the view of corporate governance, codification of directors' duty like the section 172 UK Companies Act is good for employees who provide services or goods to companies and other parties such as creditors, suppliers and even the local community. However, even there was a reform on the Hong Kong's Companies Ordinance in 2014; the idea of UK Companies Act 2006 section 172 being included in the ordinance was postponed.

Furthermore, in this year, this study has analyzed academic articles related to family-controlled firms and non-family firms and found out that, first, family-controlled firms have less remuneration committee and nomination committee than non-family firms; second, most of the listed companies in Hong Kong are family controlled firms and have long history.

From here onwards, this study is going to further examine the legal framework and the forms of family control among corporate management in Hong Kong.

# 開発途上国における廃棄物発電の導入可能性評価指標の

## 開発に関する実証的研究

|       |       |                     |
|-------|-------|---------------------|
| 研究代表者 | 北脇 秀敏 | (東洋大学 国際学部)         |
| 研究分担者 | 眞子 岳  | (東北大学 国際文化研究科)      |
|       | 福士 謙介 | (東京大学 未来ビジョン研究センター) |
|       | 松藤 康司 | (東洋大学 国際共生社会研究センター) |
|       | 村上 淑子 | (東洋大学 国際共生社会研究センター) |

研究期間／2021年7月1日～2022年3月15日

キーワード／①廃棄物発電

②サーマルリサイクル

③Waste to Energy

④途上国への導入

⑤バングラデシュ

2021年度交付額／1,800,000円

研究発表／学会および口頭発表

- Development of a model for the evaluation of compost supply-demand dynamics: theory and case study in an area of Rabat region, Morocco, Mohamed Hamza Cherke, Hidetoshi Kitawaki, Journal of Material Cycles and Waste Management 2022年1月
- アジア地域等の環境再生保全のための衛生分野における適正技術の整備の方向性, 北脇秀敏, 日本水環境学会シンポジウム 2021年9月14日
- Development of a Compost Demand Fluctuation Analytical Method and Its Application to an area in Morocco, Cherki Mohamed Hamza, Kitawaki Hidetoshi, The 32nd Annual Conference of JSMCWM/3RINCs Autumn 2021 2021年10月25日
- Waste-to-Energy Feasibility Assessment in the Purview of Governance Potential: Points to be Considered in Dhaka City, Md. Shoriful, Alam Mondal, Hidetoshi Kitawaki, The 32nd Annual Conference of JSMCWM/3RINCs Autumn 2021 2021年10月25日
- Development of a model for the evaluation of compost supply-demand dynamics: theory and case study in an area of Rabat region, Morocco, Mohamed Hamza Cherki, Hidetoshi Kitawaki, Journal of Material Cycles and Waste Management, online, 03 February 2022

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

本研究は、どのような条件が整えば開発途上国において廃棄物発電が経済的に妥当な条件で環境改善に貢献できるかを明らかにすることを目的とする。研究では、都市スケールでの廃棄物の発生量とごみ質の変化と処理方式の変化が温室効果ガス発生量と廃棄物発電量に与える影響を検討し、売電や補助金、公民連携等が経済的妥当性にどう影響するかを明らかにするモデルを構築する。研究ではマレーシア、

ミャンマー、バングラデシュ等のアジア諸国において重要業績評価指標のデータを収集し、予想される投入財源(Cost)と環境改善程度(Benefit)との関係を定量化するケーススタディを行う。研究は大学と日本側実務者、ミャンマー在住の研究者(眞子)および技術者との緊密な協力の下に行い、研究成果を現地にフィードバックすることにより廃棄物発電を用いた環境改善における評価指標の社会実装を目指して研究をスタートさせた。

## 2. 研究経過および成果の概要

昨年度に引き続き、今年度も新型コロナウイルス感染症のため、海外での調査は行えなかった。そのため現地在住の技術者とTV会議を行うことなどにより情報収集と研究打合せを行った。具体的には、バングラデシュ在住のMondal氏(大学院博士後期課程、廃棄物コンサルタント)が現地での廃棄物の発熱量データの収集を行い、毎週のTV会議によりデータの加工や統計的処理等の打合せを行った。その成果は廃棄物資源循環学会の研究発表会(2021年10月25日)において発表している。なおマレーシアは自ら現地調査を行うことによりデータ収集を行うことを予定していたが、こちらはコロナ禍のため進捗していない。またミャンマーにおける研究では、同国に赴任していた共同研究者で、今年度の研究開始当時ミャンマーからコロナ禍で一時帰国中の眞子氏がコロナ禍終了後に現地入りして研究を継続する予定であったが、現地で起きたクーデターのため、所属先の現地NGOの活動が難しくなったため国内で転職し(現:東北大学勤務)、研究は進捗していない。ただ関連する研究として同じ廃棄物処理分野において、モロッコのコンポスト需要の研究に関する研究を進め、査読論文の掲載を行った。

## 3. 今後の研究における課題または問題点

本研究は、海外における調査が大きな情報源となっているため、海外渡航ができなかった2020年度に引き続き2021年度も苦戦を強いられた。しかしコロナ禍の状況が改善し、途上国との往来が可能になればマレーシア及びミャンマーのデータ収集を行えるようになり、研究が進展することが予想できる。また本研究を発展させる研究として「脱炭素・パンデミック時代における途上国の廃棄物焼却/発電の妥当性評価モデルの構築」を基盤研究(B)に応募したが、惜しくも採択には至らなかった。今後も本研究を発展させるために、現地の情勢の回復とともに積極的に情報収集と研究の推進に努めたい。

## Summary

This study aims to develop indicators which describe feasibility of power generation from incineration plants in developing countries. With such indicators, economical feasibility of WtE (waste to energy) can be calculated. For instance, incinerators with power generation, which is considered as too expensive in in developing countries, can be an economically feasible alternative when certain conditions are met. Hypothesis is that the change in solid waste quality and economical development makes this alternative economically feasible in the future. Large cities in Bangladesh, Malaysia and Myanmar were chosen as case study cities. As the first step, basic data on solid waste quality were scheduled to be collected. However, in FY 2021, study could be carried out only in Bangladesh, where resource person was available, whereas it was difficult to collect data in Myanmar and Malaysia because of COVID-19 pandemic. In Bangladesh, data on the chronological change of solid waste quality was collected and analyzed. The results were compiled into a paper "Waste-to-Energy Feasibility Assessment in the Purview of Governance Potential:

Points to be Considered in Dhaka City, Md. Shoriful, Alam Mondal, Hidetoshi Kitawaki, The 32nd Annual Conference of JSMCWM/3RINCs Autumn 2021” held on October 25<sup>th</sup>, 2021. In Malaysia, originally field study was scheduled, however, due to the pandemic, field survey was cancelled. In Myanmar, according to the same reason and coup, resource person had to evacuate to Japan, which prevented the progress of the study. In addition to WtE topic, similar research topics on solid waste management were implemented in FY 2021 because of the reduction of research work on WtE. For example, compost demand analysis in Morocco. The results of these research topics were compiled into papers, which were listed above in this document. The research team has submitted a new proposal to JSPS on WtE research topic, which unfortunately was approved. The authors nevertheless wish to continue such endeavor to enhance WtE in developing countries. The authors are planning to continue to prepare a new proposal which includes the development of economical model which includes indicators to describe economic feasibility of WtE in developing countries. The model can calculate feasibility of incineration plants considering capital cost, operation and maintenance costs, sales of generated power etc. The feasibility changes with time course because solid waste quality changes year by year. Considering chronological change of lower heating value of combustible waste, the model can forecast future feasibility of WtE in large cities of developing countries. The study team is planning to develop the model and carry out case studies in Asian large cities.

## 運動昇圧応答の差異が心臓循環器系に及ぼす効果とリスクの検証

### Effect of individual different arterial blood pressure response to exercise on cerebral blood flow regulation

研究代表者 小河 繁彦(理工学部生体医工学科)

研究分担者 岩本 えりか(札幌医科大学 学科)

研究分担者 James Fisher (オークランド大学<NZ> 医学部)

研究期間/2021年7月1日~2022年3月15日

キーワード/①運動昇圧応答

②血管内皮機能

③認知機能

④脳循環

⑤自律神経活動

2021年度交付額/ 2000000円

研究発表/学会および口頭発表

2021-2022 発表論文

2022:

1. **Shigehiko Ogoh**, Shotaro Saito, Hironori Watanabe, Keisho Katayama. Cerebral blood velocity and arterial pressure at the onset of exercise: potential influence of the cardiopulmonary baroreflex. *Clinical Autonomic Research* 2022 (In Press).
2. Takuro Washio, Hironori Watanabe, Kazuya Suzuki, Shotaro Saito, **Shigehiko Ogoh**. Site-specific different dynamic cerebral autoregulation and cerebrovascular response to carbon dioxide in posterior cerebral circulation during isometric exercise in healthy young men. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical* 2022 (In Press).
3. Hironori Watanabe, Shotaro Saito, Takuro Washio, Damian Miles Bailey, **Shigehiko Ogoh**. Acute gravitational stress selectively impairs dynamic cerebrovascular reactivity in the anterior circulation independent of changes to the central respiratory chemoreflex. *Frontiers in Physiology* 2022 (In Press).
4. Tomoko Imai, Tsubasa Tomoto, Shigehiko Ogoh, Jun Sugawara. The influence of intermittent apnea on aortic hemodynamics in healthy young men. *Journal of Men's Health* 2022 (In Press).
5. Hironori Watanabe, Takuro Washio, Shotaro Saito, **Shigehiko Ogoh**. Effect of breath-hold on the responses of arterial blood pressure and cerebral blood velocity to isometric exercise. *European Journal of Applied Physiology* 2022 Jan;122(1):157-168.

2021:

6. Yuya Higaki, Yosuke Yamato, Shumpei Fujie, Kenichiro Inoue, Mio Shimomura, Shosaku Kato, Naoki Horii, **Shigehiko Ogoh**, Motoyuki Iemitsu. Acute effects of the different relaxation periods during passive intermittent static stretching on arterial stiffness. *PLoS One* 2021 Nov 15;16(11):e0259444.
7. Hironori Watanabe, Takuro Washio, Shotaro Saito, **Shigehiko Ogoh**. Effect of breath-hold on the responses of arterial blood pressure and cerebral blood velocity to isometric exercise. *European Journal of Applied Physiology* 2022 Jan;122(1):157-168.
8. **Shigehiko Ogoh**, Takuro Washio, Benjamin S Stacey, Hayato Tsukamoto, Angelo Iannetelli, Thomas S Owens, Thomas A Calverley, Lewis Fall, Christopher J Marley, Shotaro Saito, Hironori Watanabe, Takeshi Hashimoto, Soichi Ando, Tadayoshi Miyamoto, Damian M Bailey. Integrated respiratory chemoreflex-mediated regulation of cerebral blood flow in hypoxia:

- Implications for oxygen delivery and acute mountain sickness. *Experimental Physiology* 2021 Sep;106(9):1922-1938.
9. **Shigehiko Ogoh**, Kohei Sato, Steven Abreu, Pierre Denise, and Hervé Normand. Effect of jump exercise training on long-term head-down bed rest-induced cerebral blood flow responses in arteries and veins. *Experimental Physiology* Jul;106(7):1549-1558.
  10. Shotaro Saito, Takuro Washio, Hironori Watanabe, Soichi Ando, **Shigehiko Ogoh**. Effect of intermittent isometric handgrip exercise protocol with short exercise duration on cognitive performance. *The Journal of Physiological Sciences* 2021 Apr 6; 71(1): 12.
  11. **Shigehiko Ogoh** and Damian M. Bailey. Last Word on Viewpoint: Differential impact of shear rate in the cerebral and systemic circulation; implications for endothelial function. *Journal of Applied Physiology* 2021 Apr 1; 130(4):1161-1162.
  12. Takuro Washio, Kazuya Suzuki, Shotaro Saito, Hironori Watanabe, Soichi Ando, R Matthew Brothers, **Shigehiko Ogoh**. Effects of acute interval handgrip exercise on cognitive performance. *Physiol Behav*. 2021 Jan 23; 232: 113327.
  13. Takashi Tarumi, Takayuki Yamabe, Marina Fukuie, David C Zhu, Rong Zhang, **Shigehiko Ogoh**, Jun Sugawara. Brain blood and cerebrospinal fluid flow dynamics during rhythmic handgrip exercise in young healthy men and women. *J Physiol*. 2021 Mar;599(6):1799-1813.
  14. **Shigehiko Ogoh**, Takuro Washio, Kazuya Suzuki, Motoyuki Iemitsu, Takeshi Hashimoto, Erika Iwamoto, Damian M Bailey. Greater increase in internal carotid artery shear rate during aerobic interval compared to continuous exercise in healthy adult men. *Physiol Rep*. 2021 Jan; 9(2): e14705.
  15. Takanobu Okamoto, Ryota Kobayashi, Yuto Hashimoto, Naoki Kikuchi, **Shigehiko Ogoh**. Is individual day-to-day variation of arterial stiffness associated with variation of maximal aerobic performance? *BMC Sports Sci Med Rehabil*. 2021 Jan 9;13(1):4
  16. Hayato Tsukamoto, Aya Ishibashi, Christopher J Marley, Yasushi Shinohara, Soichi Ando, Damian M Bailey, Takeshi Hashimoto, **Shigehiko Ogoh**. Plasma brain-derived neurotrophic factor and dynamic cerebral autoregulation in acute response to glycemic control following breakfast in young men. *American journal of physiology-Regul Integr Comp Physiol*. 2021 Jan 1; 320(1):R69-R79.
  17. Yosuke Yamato, Yuya Higaki, Shumpei Fujie, Natsuki Hasegawa, Naoki Horii, Hiroki Aoyama, Yoshihiro Yamashina, **Shigehiko Ogoh**, Motoyuki Iemitsu. Acute effect of passive one-legged intermittent static stretching on regional blood flow in young men. *European Journal of Applied Physiology* 2021 Jan; 121(1):331-337.

## 2021-2022 学会発表

### 2022:

1. Shigehiko Ogoh<sup>1</sup>, Hironori Watanabe, Shotaro Saito, and Erika Iwamoto. Determining the effect of orthostatic stress on cerebrovascular CO<sub>2</sub> reactivity: does the methodological approach matter? 第99回 日本生理学会. 3. 16-18. 東北大学.
2. 小河繁彦, 大上安奈, 渡邊裕宣, 齋藤祥太郎, 小河菜々, 大須賀まき, 長谷川哲矢. サッカー選手の試合中におけるエネルギー代謝の経時的変化. 第19回日本フットボール学会. 3. 12-13. 立教大学.
3. 小河菜々, 大上安奈, 渡邊裕宣, 齋藤祥太郎, 大須賀まき, 長谷川哲矢, 小河繁彦. ユース女子サッカー選手の夏期全国大会における脱水及び関連生理パラメータの経時的変化について. 第19回日本フットボール学会. 3. 12-13. 立教大学.

### 2021:

4. Stefanie L Ruediger, Jodie L Koep, Faith K Pizzey, **Shigehiko Ogoh**, Jeff S Coombes, Tom G Bailey. Sex differences in cerebrovascular function during hypercapnia and isometric handgrip exercise. APS New Trends in Sex and Gender Medicine Conference. 10.19-22.2021 (Web).
5. 片山敬章, 齋藤満, 清水香, 塩澤華奈, 水野沙洗, 石田浩司, **小河繁彦**. 自転車運動に対する血管運動神経活動の変化: 高齢者と若年者の比較. 第76回日本体力医学会. 2021. 9. 17-19 (Web).
6. 渡邊裕宣, 齋藤祥太郎, 鷺尾拓郎, **小河繁彦**. 精神的疲労は前頭前野-運動野の機能的結合性を低下させる? 第76回日本体力医学会. 2021. 9. 17-19 (Web).
7. 小河繁彦, 鷺尾拓郎, 塚本隼人, 安藤創一, 橋本健志, Damian M. Bailey. 低酸素暴露が脳および体循環の血管内皮機能に及ぼす影響. 第76回日本体力医学会. 2021. 9. 17-19 (Web).

8. 齋藤祥太郎, 鷺尾拓郎, 渡邊裕宣, 片山敬章, 小河繁彦. 運動開始時の心拍出量の増大が脳循環動態に及ぼす影響. 第76回日本体力医学会. 2021. 9. 17-19 (Web).
9. 小河繁彦. 低酸素への適応について; 呼吸機能と脳循環調節機能の連関. シンポジウム「海女に学ぶ環境・運動生理学: 基礎から臨床まで」第76回日本体力医学会. 2021. 9. 17-19 (Web).
10. Takanobu Okamoto, Yuto Hashimoto, Motoyuki Iemitsu, Shigehiko Ogoh. Effects of acute static stretching exercise-induced decrease in arterial stiffness on maximal aerobic performance. ACSM's 2021 Annual Meeting. 6.1-5.2021 (Web).
11. Shigehiko Ogoh: Questions regarding identification of cerebral blood flow regulation. 10th international meeting of the Cerebral Autoregulation Research Network. 4.22-24.2021 (London, UK, Web).
12. Stefanie L Ruediger, Jodie L Koep, Faith K Pizzey, Shigehiko Ogoh, Phil Ainslie, Jeff S Coombes, Tom G Bailey. Acute effects of static handgrip exercise on cerebral artery flow mediated dilation. Future Physiology 2021 Conference (Web). 4.19-22.2021.
13. Shigehiko Ogoh: Effect of aging and exercise on cerebrovascular and cardiovascular functions. 98th Physiological Society of Japan Annual Meeting 3.28-30.2021 (Nagoya, Japan, Web).

## 研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

運動の昇圧応答との差異が、脳血管動態、脳循環調節機能、認知機能に及ぼす影響を明らかにするために以下の実験を行った。実験計画では、高齢者についても測定し、大きなサンプル数から解析が必要であったが、半年との短い期間であったので若年者、計 13 名のデータのみを取得となり、この結果から関連分野に貢献できる学術的知見についてまとめた。この研究結果から運動による認知機能改善効果に脳血管内皮機能が関連しないとの結果がえられた。本結果は、英学術雑誌に投稿予定である。一方、当初の目的である運動昇圧応答の差異が心臓循環系に及ぼす影響については、さらに被検者数を増やしていく必要があり、さらに実験を進めていく必要がある。

## 被験者

喫煙習慣のない右利きの健常若齢者 13 名（男性 10 名、女性 3 名、年齢  $21 \pm 1$  歳、身長  $167 \pm 7$  cm、体重  $62 \pm 12$  kg）を対象に実験を行った。被験者には、あらかじめ実験内容および実験より起こり得る危険性について十分に説明した上で参加の同意を得た。また、本研究課題はヘルシンキ宣言に基づき、東洋大学の倫理審査『人を対象とする医学系研究倫理審査』の承認を得て実施した（承認番号: TU2021-028）。被験者は、指定された実験日時の 24 時間前からの激しい運動・飲酒・多量のカフェイン摂取および、実験当日の飲水以外の飲食を制限した。実験は、9:00~12:00 または、13:00~16:00 の時間帯に実施した。

## 測定項目

**心拍数 (HR)**: 胸部にディスポーザブル電極（ブルーセンサー, 日本光電社製）を貼付し、胸部双極誘導により導出した心電図（bedside monitor BSM-3400, 日本光電社製）から算出した。

**動脈血圧 (ABP)**: 右手中指に圧脈波センサーを装着して、四尖脈波連続血圧法（Finometer, Finapres Medical Systems 社製）により一拍毎の連続血圧の測定を行った。

**分時換気量 ( $V_E$ )・呼吸回数 (RR)・呼気終末  $CO_2$  分圧 ( $P_{ET} CO_2$ )**: 呼気ガス採取用の専用マスクを着用し（心肺運動負荷試験用マスク, ミナト医科学社製）、呼吸代謝装置（エアロモニタ AC-310s, ミナト医科学社製）により測定した。

**上腕動脈 (BA)・内頸動脈 (ICA) の血管径および平均血流速度**: 13MHz のリニアプローブを備えた超音波ドップラー（Vivid i, GE Medical Systems 社製）を使用し、左側 BA および右側 ICA の血管径および平均血流速度を測定した。B (Brightness) モードを使用して BA および ICA の血管径のデータを取得し、同時にパルスドップラーモードにて BA および ICA の平均血流速度のデータを取得した。プローブ

のポジションは一定に保ち、超音波入射角度が 60 度になるように測定を行った。これらの測定は、BA は肘前窩から 3cm~5cm 遠位の位置で、ICA は頸動脈分岐点から 1cm~1.5cm 遠位の位置でそれぞれ行った。また、本測定は、十分な技量を有する同一測定者で行った。

**認知機能 (Go/No-Go 課題) :** 認知機能は、実行機能評価に使用されている Go/No-Go 課題を用いて測定した。本課題は、被験者の視線上に設置されたコンピュータ画面の中央に準備刺激 (緑色の正方形) が 1 秒間提示され、その後、標的刺激 (赤色または青色の正方形) または、非標的刺激 (黄色またはピンク色の正方形) が表示された。被験者は、標的刺激が表示された場合、マウスの左ボタンを右手の示指で可能な限り素早く押し、非標的刺激が表示された場合には、応答しないように指示された。本課題の実施試行回数は 60 回 (標的刺激 30 回、非標的刺激 30 回) とした。認知機能は、標的刺激に対する正答時の平均反応時間および課題全体の正答率から評価した。課題中の姿勢は座位とした。なお、学習効果の影響を最小限にするために、被験者は、実験日とは別日に実験室に来室し、本課題の練習を十分に行った上で実験に参加した。

**末梢血管内皮機能検査 (p FMD) :** 測定姿勢は仰臥位とした。2 分間の安静時で BA の血管径および血流速度を測定後、カフを用いて +250 mmHg の圧力で前腕を 5 分間駆血した。カフ圧の開放 30 秒前から測定を再開し、駆血解放 3 分後まで測定を行った。p FMD は、安静時からカフ圧の開放 3 分間までの上腕動脈の最大血管拡張率より評価した ( $p \text{ FMD} (\%) = (\text{駆血開放後の最大血管径} - \text{安静時平均血管径}) / \text{安静時平均血管径} \times 100$ )。

**脳血管内皮機能検査 (c FMD) :** 測定姿勢は仰臥位とした。2 分間の安静時で ICA の血管径および血流速度を測定の後、30 秒間のみ高炭酸ガス吸入させ、その後 3 分間で再度測定を行った。高炭酸ガス吸入は、高濃度 CO<sub>2</sub> ガス (100%) と空気の混合ガスを用いて P<sub>ET</sub> CO<sub>2</sub> が安静時の値から +9 mmHg 増加する様に付加した。また、高炭酸ガス吸入の際に P<sub>ET</sub> CO<sub>2</sub> を 5 秒以内に目標値まで増加させるため、メトロノームを用いて被験者の呼吸回数を 20 回に統制した。c FMD は、安静時から高炭酸ガス負荷終了 3 分後までの右側 ICA の最大血管拡張率より評価した ( $c \text{ FMD} (\%) = (\text{CO}_2 \text{ 負荷終了 3 分後までの最大血管径} - \text{安静時平均血管径}) / \text{安静時平均血管径} \times 100$ )。

## 実験手順

本実験実施日前より 1 週間以内に、被験者の等尺性把握運動の運動強度設定のため、最大随意収縮 (MVC) による筋力値測定を行った。MVC は、1 分間の休息を挟み 3 回実施し、その最大値を代表値として採用した。本研究において、被験者は、運動前 (Pre) の認知機能・p FMD・c FMD の測定を順に行った後、視覚フィードバックを用いた左手によるインターバル把握運動プロトコル (25%MVC 等尺性把握運動 2 分 + 休息 1 分 × 4 セット) を実行した。運動終了 5 分後 (Post 5)、運動終了 60 分後 (Post 60) に認知機能および、p FMD・c FMD の測定を再度実施した。なお、実験室の室温は 24°C に統一した。本研究における運動プロトコルは、認知機能が充進した我々の先行研究に準じた。

## データ分析

HR、ABP、V<sub>E</sub>、RR、P<sub>ET</sub> CO<sub>2</sub> のデータは、1kHz でサンプリングし、アナログ-デジタル変換器 (Power Lab 16 s; ADInstruments 社製) を用いて実験室のパーソナルコンピュータに保存し、オフラインで解析を行った。ABP 波形から平均血圧 (MAP) を算出した。これら各測定項目は、インターバル把握運動プロトコル時では、各セットの把握運動中および休息中の最後の 1 分間、脳血管内皮機能検査時では安静時 (2 分間) および高炭酸ガス負荷時 (30 秒間) の平均値を代表値とした。ICA の血管径および血流速度は、測定時の動画をキャプチャボックス (The Epiphan Capture Tool, Epiphan Systems 社製) を用いて、実験室のパーソナルコンピュータにビデオファイルとして保存した。そして、超音波画像解析プログラム (version 2.0.1, S-13037, 竹井機器工業社製) を用いて 30Hz で解析した後、1 秒毎に平均し、その後、2 段階フィルタリングプロセス (中央値フィルターおよび Savitzky-Golay 平滑化フィルター) を使用してフィルター処理を行った。ICA シェアレートは、血管粘性定数、血管径、平均血流速度を用いて、算出した (シェアレート =  $4 \times \text{平均血流速度} / \text{動脈血管径}$ )。ICA の脳血流量は、動脈血管径、平均血流速

度を用いて算出した [ICA 脳血流量 = 円周率 × (血管径/2) <sup>2</sup> × 平均血流速度]。ICA コンダクタンスは、ICA 脳血流量を MAP で除すことで算定した。インターバル把握運動プロトコル中の ICA の測定データは、各セットの把握運動中および休息中の最後の 1 分間の平均値を用いた。

BA の血管径および血流速度は、ICA と同様の方法で、1 秒毎の平均値の算出とフィルタリング処理を行った。また、BA シェアレイトにおいても、ICA シェアレイトと同様の計算式を用いて算出した。末梢・脳血管内皮機能検査中の、BA の安静時血管径および安静時シェアレイトは安静時 2 分間の平均値を採用し、ICA の安静時血管径および安静時シェアレイトは安静時 2 分間の中央値を採用した。また、BA および ICA の最大血管径および最大シェアレイトは、カフ解放後、または高炭酸ガス負荷刺激後 3 分間での最大値を採用した。シェアレイト曲線下面積は、上腕動脈のカフ解放後、または高炭酸ガス負荷刺激開始から、最大血管拡張を引き起こるまでの面積として定量化し、台形規則を使用し計算した。(シェアレイト曲線下面積 =  $\sum [1/2 (x_i + 1 - x_i) + (y_{i+1} - y_i) + (x_{i+1} - x_i) (y_i - z)]$ ; x = 時間、y = 上腕動脈のカフ解放後、または高炭酸ガス負荷刺激開始からのシェアレイト、z = 安静時のシェアレイト)。p FMD および c FMD は、安静時血管径および最大血管径を用いて、それぞれ算出した [FMD = (最大血管径 - 安静時血管径) / 安静時血管径 × 100]。Normalized p FMD および normalized c FMD は、p FMD および c FMD をシェアレイト曲線下面積で除すことで評価した (normalized FMD = FMD / シェアレイト曲線下面積 × 10000)。

## 統計解析

結果は、全て平均値 ± 標準偏差にて表記した。統計処理には、統計解析ソフトウェア (IBM SPSS Statistics Ver. 27, International Business Machines 社製) を用いた。運動中の体循環・呼吸・脳循環動態および運動前後の Go/No-Go 課題の反応時間・正答率、p FMD、c FMD の結果は、繰り返しのある一元配置分散分析を用いて評価した。加えて、脳血管内皮機能検査中の呼吸・循環動態は、繰り返しのある二元配置分散分析を用いて、評価した [Time (Pre・Post 5・Post 60) × CO<sub>2</sub> (安静時・CO<sub>2</sub> 負荷)]。分散分析において、Mauchly の球面性検定により等分散性を確認した後、F 値が有意であった場合に、Bonferroni 法による事後検定を行った。また、運動による認知機能の改善効果と脳血管内皮機能または末梢血管内皮機能との関連性は、ピアソンの相関係数を用いて評価した。有意水準は 5% 未満とした。

## 2. 研究経過および成果の概要

研究計画では、若年者及び高齢者各 10 名の測定予定であったが、半年との短い期間であったので高齢者の被験者のリクルートができなかった。そこで本年度は、若年者、計 13 名の測定のみを行い、この結果から関連分野に貢献できる学術的知見についてまとめた。この研究結果から運動による認知機能改善効果に脳血管内皮機能が関連しないとの結果がえられた。本結果は、英学術雑誌に投稿予定である。

主な結果は、

### インターバル把握運動プロトコル時の循環・呼吸動態および脳循環動態

HR および MAP は、各セットの運動中に増加し ( $P < 0.050$  および  $P < 0.007$ )、インターバルにおける休息時には安静時と同程度の値まで低下した (all,  $P = 1.000$ )。一方で、V<sub>E</sub> および P<sub>ET</sub>CO<sub>2</sub> は、運動プロトコルを通して変化しなかった ( $P = 1.000$  および  $P < 0.459$ )。

各セットの運動中、安静時と比較して ICA 血管径は拡張した ( $P < 0.037$ )。しかし、ICA 脳血流量は 1 セット目の運動中でのみ増加したが ( $P = 0.015$ )、ICA の平均血流速度およびコンダクタンス、シェアレイトは運動プロトコルによる変化は観察されなかった ( $P = 0.054$  および  $P = 0.070$ ,  $P = 0.313$ )。

## 認知機能検査

Go/No-Go 課題の反応時間は、インターバル把握運動により Post 5 で短縮したが (Pre vs. Post 5,  $401.3 \pm 38.2$  ms vs.  $380.2 \pm 32.1$  ms,  $P = 0.009$ )、Post 60 では Pre と比較して差はなかった (Pre vs. Post 60,  $401.3 \pm 38.2$  ms vs.  $390.9 \pm 36.0$  ms,  $P = 0.543$ )。一方で、Go/No-Go 課題の正答率は、インターバル把握運動による変化は観察されなかった ( $P = 0.121$ )。

### 末梢血管内皮機能検査

BA の安静時血管径および安静時シェアレイトまた、カフ解放後の BA の最大血管径および最大シェアレイト、シェアレイト曲線下面積、最大血管拡張応答を示すまでの時間は、運動前後で変化しなかった ( $P > 0.057$ )。p FMD はインターバル把握運動プロトコルによって変化しなかった ( $P = 0.432$ )。p FMD をシェアレイト曲線下面積で正規化した Normalized p FMD においても、同様であった ( $P = 0.629$ )。

### 脳血管内皮機能検査

脳血管内皮機能検査中の 30 秒間の CO<sub>2</sub> 負荷刺激は、運動前後の検査で同程度であった ( $P=0.715$ ; 表 3)。実際、各脳血管内皮機能検査中の安静時から CO<sub>2</sub> 負荷時までの P<sub>ET</sub>CO<sub>2</sub> の変化量に差異は観察されなかった (Pre vs. Post 5 vs. Post 60,  $+9.8 \pm 1.4$  mmHg vs.  $+9.6 \pm 0.9$  mmHg vs.  $+9.5 \pm 0.8$  mmHg,  $P = 0.761$ )。ICA の安静時血管径および安静時シェアレイトまた、CO<sub>2</sub> 負荷後の ICA の最大血管径および最大シェアレイト、シェアレイト曲線下面積、最大血管拡張応答を示すまでの時間は、運動前後で変化しなかった ( $P > 0.175$ )。

p FMD と同様に、c FMD もインターバル把握運動プロトコルによって変化しなかった ( $P = 0.440$ )。c FMD をシェアレイト曲線下面積で正規化した Normalized c FMD においても、同様であった ( $P = 0.920$ )。

### 認知機能と末梢・脳血管内皮機能との関連性

運動前から運動後における相対的な Go/No-Go 課題の反応時間の変化と Normalized p FMD または、Normalized c FMD の変化との間には有意な関係性は認められなかった ( $P = 0.382$  および  $P = 0.095$ )。

### まとめ

本研究において、一過性のインターバル把握運動プロトコルにより認知機能は亢進する一方、脳血管内皮機能は変化せず、また個人のこれら 2 つのパラメーターの変化に統計的関連性が認められなかった。これらの結果から、一過性の運動による認知機能の亢進は、脳血管内皮機能に関連しない可能性が示唆された。これらの結果は、まとめて英学術雑誌に投稿予定である。また関連研究も行っており、こちらは以下の学術論文として発表している。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

今後は、当初の計画どおりに運動昇圧応答の個人的差異と脳循環調節機能や認知機能に及ぼす影響について検討していく。その為には、高齢者等のサンプル数を増やして、運動昇圧応答のばらつきを大きくする必要がある。また、脳血流と血圧との関連性、Selfish Brain 仮説 (自律神経活動で重要な脳幹部位の低灌流が動脈圧増加を引き起こすこと、広義には脳機能 (適切な脳血流) 維持のため、脳の生理応答シグナル (血流又は代謝) が血圧調節を行うとする) における運動昇圧応答の意義を明らかにしたい。その為には、1 年単位でなく、複数年の単位で研究に取り組んでいく必要がある。

### Summary

One of the important physiological responses during exercise is an increase in arterial blood pressure (exercise pressor reflex) via the autonomic nervous system. This physiological

response is indispensable for properly supplying blood flow to vital organs such as exercising muscles. Furthermore, it has a role as a circulatory stimulus during exercise, such as the shear rate on the blood vessel wall and contributing to the improvement of arteriosclerosis by enhancing vascular endothelial function and consequently contributes to reducing the risk of developing cardiovascular disease. In contrast, there is concern that the pressor response increases circulatory stress such as vascular wall pressure in the circulatory system, and as a result, increases the risk of developing cardiovascular disease. In fact, it is known that the exercise pressor reflex increases in elderly people and hypertensive patients, and it is a limiting factor in exercise therapy such as avoiding high-intensity exercise accompanied by an excessive increase in blood pressure. Under this background, we clarify how individual differences in exercise pressor reflex affect the positive and negative effects of exercise in the cerebral circulatory system as well as the cardiovascular system. Unfortunately, we examined only thirteen subjects in the present study because of COVID-19, and consequently, we could not identify the effect of individual differences in exercise pressor reflex on the cardiovascular system during exercise. For this investigation, thus, we investigated the cerebral circulatory mechanism, especially cerebral endothelial function, during a transient exercise with exercise pressor reflex, interval handgrip exercise protocol, which has been demonstrated to enhance cognitive function to identify an effect of cerebral regulatory function on cognitive function during exercise. We hypothesized that cerebrovascular endothelial function contributes to the enhancement of cognitive function due to transient exercise. The main findings of the present study are that the transient interval handgrip exercise protocol enhanced cognitive function, while cerebrovascular endothelial function does not change, and thus we could not find a statistical association between changes in these two parameters in individuals. These results suggest that the enhancement of cognitive function due to transient exercise may not be related to cerebrovascular endothelial function. We believe that this finding provides important insights in establishing effective exercise therapies for improving cognitive function. However, we need further investigations (more subjects) to identify the effect of individual differences in exercise pressor reflex on cerebral and cardiovascular responses during exercise.

# 特殊菌を利用した 1,4-ジオキサン処理における必須微量元素と最低濃度条件の解明

## Evaluation of limitation concentration and effect of trace elements on the biological 1,4-dioxane removal process using bacterial pure culture.

研究代表者 井坂 和一(理工学部応用化学科)

研究期間/2021年7月1日~2022年3月15日

キーワード/①1,4-ジオキサン 1,4-dioxane  
②生分解 biodegradation  
③排水処理 wastewater treatment  
④微量元素 trace elements  
⑤主要元素 main elements

2021年度交付額/2,000,000円

研究発表/学会および口頭発表

論文発表

① Effect of nitrogen, phosphorus, and sulfur on the start-up of a biological 1,4-dioxane removal process using *Pseudonocardia* sp. D17. *Biochemical Engineering Journal* 176 2021年12月

学会発表(口頭発表)

②1,4-ジオキサン分解系における細菌群と分解活性の解明、第57回日本水処理生物学会 2021年10月(オンライン)

③1,4-ジオキサンを分解する混合細菌系における分解活性と生物叢の解明、第56回日本水環境学会年会 2022年03月(オンライン)

④1,4-ジオキサン分解菌の探索と微生物叢の調査、第56回日本水環境学会年会 2022年03月(オンライン)

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

健全な水環境保全のため、有害な化学物質による環境汚染を防止する必要がある。1,4-ジオキサンは世界癌研究機関(IARC)で2Bにランクされ、人への発ガン性が疑われる化学物質である。この1,4-ジオキサンによる環境汚染は、世界各国の調査で確認されており、米国における飲料水源の調査では、4864地点のうち21%で1,4-ジオキサンが検出されている(Adamson et al., 2017)。1,4-ジオキサンは水にも油にも溶けやすい性質であることから、塗料や化粧品など様々な製品に含まれている。そのため、1,4-ジオキサンを含む化学物質を取り扱う化学工場から、1,4-ジオキサンを含む排水が排出される可能性がある。従って、各化学工場において、1,4-ジオキサンを含む排水を、適切に処理する技術開発が必要である。

一方、1,4-ジオキサンは難分解性の化学物質であることが知られている。化審法に基づく生分解

性試験では、分解率 0%であり通常の生物処理では分解が困難であることが示されている。著者らは、1,4-ジオキサンを資化できる特殊菌の利用について検討を行っており、*Afiplia* sp. D1 株や、*Pseudonocardia* sp. D17 株を用いた排水処理法について、その可能性を見出している。

これら特殊菌を用いた処理技術を実用化するには、排水中に含まれる微量元素 (Fe, Cu, Zn, Co, Mn, Ni, Mo, Se, B) および主要元素 (N, P, S) の濃度影響について調査する必要がある。しかしながら、それら元素の必要性、最低濃度条件に関する知見は無い。特に、主要元素の影響は菌体増殖に直接寄与する重要な要因であると考えられ、微量元素濃度条件より先に検討する必要があると考えられる。

そこで本研究では、1,4-ジオキサン分解菌である *Pseudonocardia* sp. D17 株を用いた排水処理系において、主要元素濃度がおよぼす影響について調査を行うこととした。

## 2. 研究経過および成果の概要

本研究では、*Pseudonocardia* sp. D17 株による 1,4-ジオキサン処理システムの立上げ時における N, P, S 濃度条件について検討した。供試排水として、1,4-ジオキサンを炭素源とする合成排水を用いた。1,4-ジオキサン濃度は  $20 \text{ mg L}^{-1}$  の一定条件とし、P 制限試験では  $N=5 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $S=22.5 \text{ mg L}^{-1}$  の条件で、P 濃度を 1.0, 0.4,  $0.1 \text{ mg L}^{-1}$  とした。N 制限試験では  $P=0.4 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $S=22.5 \text{ mg L}^{-1}$  の条件で、N 濃度を 5.0, 2.0,  $1.0 \text{ mg L}^{-1}$  とした。S 制限試験では  $P=0.4 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $N=5 \text{ mg L}^{-1}$  の条件で、S 濃度を 22.5, 1.0,  $0.1 \text{ mg L}^{-1}$  とし、9 つの条件で制限試験を行った。供試担体として、*Pseudonocardia* sp. D17 株の培養液をポリエチレングリコール (PEG) 系のゲルで包括固定化し、球状に成型したものを用いた。実験装置としては、反応容積 1.44 L のアクリルリアクターを用い、リアクター内に供試担体を 15% 充填した。反応槽はウォータージャケットを用いて水温を  $25^{\circ}\text{C}$  で維持した。槽内 pH は pH コントローラーを用い水酸化ナトリウム水溶液で 7.2 に調整した。1,4-ジオキサンの分析方法としては、ヘッドスペース GC/MS 法により定量した。

1,4-ジオキサン処理性能に及ぼす主要元素の影響を評価した。P 制限の影響については、1.0,  $0.4 \text{ mg-P L}^{-1}$  の条件では、それぞれ運転開始から 26, 21 日目に排水基準値 ( $0.5 \text{ mg L}^{-1}$ ) を満足する処理水質を得た。一方、 $0.1 \text{ mg-P L}^{-1}$  では、30 日目の処理水 1,4-ジオキサン濃度は  $1.2 \text{ mg L}^{-1}$  であり、基準値を達成できなかった。これらの結果から P 添加濃度は  $0.4 \text{ mg L}^{-1}$  が適正であると判断した。また、P 制限試験と同様に、N および S 濃度制限試験を行った。その結果、 $2.0 \text{ mg-N L}^{-1}$ ,  $0.1 \text{ mg-S L}^{-1}$  が適正であることが明らかになった。さらに、各試験で得た結果を踏まえ P, N, S の最適濃度条件で立上げ試験を実施した結果、運転開始 20 日目に処理水の 1,4-ジオキサン濃度が  $0.33 \text{ mg L}^{-1}$  となり、排水基準値を満足し、その後安定した処理性能が確認された。

これらの結果から、1,4-ジオキサン処理 (流入 1,4-ジオキサン濃度  $20 \text{ mg L}^{-1}$ ) における主要元素濃度条件は  $P=0.4 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $N=2.0 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $S=0.1 \text{ mg L}^{-1}$  が適正であることが示された。

## 3. 今後の研究における課題または問題点

本研究では、1,4-ジオキサン分解菌である *Pseudonocardia* sp. D17 株を PEG ゲルに包括固定化し、利用することで 1,4-ジオキサン排水を安定的に処理できることを確認している。さらに、主要元素である N, P および S 濃度をそれぞれ制限する試験系の確立に成功し、安定した処理性能を得るための各元素の濃度条件を明らかにした。今後、各微量元素 (Fe, Cu, Zn, Co, Mn, Ni, Mo, Se, B) に対する制限影響を評価する必要があるが、今回実施した主要元素制限の知見をもとに、十分に実

施可能であると考えられる。課題として、微量元素制限試験では数  $\mu\text{g L}^{-1}$  という低濃度での連続試験が必要であり、今回実施した主要元素試験レベル (数  $\text{mg L}^{-1}$ ) より、厳格な試験系の管理が必要である。合成排水の調製に利用する水を全て超純水を用いることや、クリーンブースを設置するなど実験環境を整えることで対応できると考えられる。今後、これらの設備環境の整備を進めていく予定である。

## Summary

1,4-Dioxane is a toxic chemical substrate and major pollutant of water environments. International Agency for Research on Cancer (IARC) classified it as a group 2B carcinogen, possibly carcinogenic to humans. Pollution by 1,4-dioxane has been frequently found in various water bodies due to its persistence in aquatic environments. Environmental pollution by 1,4-dioxane is a remarkable situation and has been detected in many water environments. In the United States, almost 30 million people receive drinking water with 1,4-dioxane levels above the health-based reference concentration of  $0.35 \mu\text{g L}^{-1}$ . 1,4-Dioxane is utilized in chemical industries and contained in lacquers, paints, and pesticides as a stabilizer or solvent. The effluent from such kinds of factory including 1,4-dioxane and discharged to surface water via wastewater treatment plants (WWTPs). Thus, treatment of 1,4-dioxane from industrial effluents in WWTPs is very important to reduce the risk of surface water and groundwater contamination.

In 2012, the effluent 1,4-dioxane standard for WWTP which limits its discharge in effluent to  $0.5 \text{ mg L}^{-1}$  was applied in Japan. The advanced oxidation process (AOP) is one of the effective treatment way to decompose 1,4-dioxane in the wastewater. However, large amounts of chemicals such as hydrogen peroxide and energy for the ozone generator and ultraviolet lamps are required, entailing high operating costs. On the other hand, biological treatment process is cost effective way to remove 1,4-dioxane from wastewater. However, 1,4-dioxane is persistent against biodegradation in general. Although 1,4-dioxane cannot be degraded by activated sludge, some kind of microorganisms having high degradability of 1,4-dioxane. Recently, it has been reported that some species of bacterial culture such as *Afipia* sp. D1., *Mycobacterium* sp., *Pseudonocardia* sp., *Xanthobacter* sp, and *Rhodococcus* sp. can degrade 1,4-dioxane. Therefore, development of biological wastewater treatment systems using these bacterial is attracting attention as a practical use.

In our previous works, the authors developed biological wastewater treatment systems using pure cultures of 1,4-dioxane-degrading bacteria, *Afipia* sp. D1, and *Pseudonocardia* sp. D17, which were entrapped in gel carriers.

In the present study, we focused on the start-up time of the bioreactor, which is required sufficient amount of main elements for growth, and evaluated the effect of the concentration of main elements on the 1,4-removal performance. Although these treatment experiments were performed using model wastewater containing excess amounts of essential nutrients (e.g., more than  $50 \text{ mg L}^{-1}$  of nitrogen and  $45 \text{ mg L}^{-1}$  of phosphorus), some types of actual 1,4-dioxane-containing wastewater may contain insufficient amounts of the essential nutrients for bacterial growth and metabolisms. In this report, we evaluated the effect of the concentration of nitrogen, phosphorus, and sulfur on the 1,4-dioxane removal performance of a biological wastewater treatment system using gel-entrapped *Pseudonocardia* sp. D17, especially focusing on the start-up period.

Polyethylene glycol (PEG) gel was used for immobilization of *Pseudonocardia* sp. D17. Cylindrical-type bioreactors were used for all continuous feeding tests using different conditions of influent. The volume of the bioreactor was 1440 mL and 216 mL of gel carriers was placed inside the bioreactor (packing ratio, 15%).

Consequently, it was experimentally shown that the feed of the essential nutrients at the ratio of 1,4-dioxane: N: P: S equal to 20: 2.0: 0.4: 0.1 enabled the quick start-up. These quantitative data are useful parameters for properly controlling the concentrations of essential nutrients to achieve good and stable treatment performance by the bioreactor, possibly leading to cost reduction.

## 希少糖-グラフェンハイブリッド材料の開発とがん検査・治療への応用

### Development of rare sugar-graphene hybrid materials and their application to cancer screening and treatment

研究代表者 水木 徹 (バイオ・ナノエレクトロニクス研究センター)

研究分担者 Mohamed Sheikh Mohamed (バイオ・ナノエレクトロニクス研究センター)

中島 義賢 (大阪大学ナノサイエンスデザイン教育研究センター)

研究期間/2021年7月1日~2022年3月15日

キーワード/①bio-nano hybrid material

②rare-sugar

③graphene

④cancer treatment

⑤inspection device

2021年度交付額/ 1,205,000 円

研究発表/学会および口頭発表

・齋藤里花子、モハメッド シェイク モハメッド、中島 義賢、前川 透、水木 徹、  
Synthesis and Cytotoxicity of Rare-Sugar Lipid Components、第40回日本糖質学会  
年会、P108 (2021年10月、鹿児島)

研究経過および成果の概要

本研究では新規ナノ材料である希少糖付与還元型酸化グラフェン(希少糖付与 rGO とする)を開発した。また、希少糖付与 rGO のがん治療や医療用検査デバイスへの応用の可能性を探るべく、物性や細胞に及ぼす影響を解析した。

#### 1. 研究方法

##### 大容量合成した希少糖付与 rGO の合成および精製

酸化グラフェン分散液に希少糖およびアンモニアを加え、大容量合成システム(ケミストプラザ)内で1時間熱処理することで酸化グラフェン(以降 GO とする)の還元とともに一部側鎖を希少糖に置換することで、1ステップの反応で機能性還元型酸化グラフェンを大量に合成した。

遠心分離機で回収したサンプルを超純水で洗浄し、各実験に用いた。なお、本研究では13種類の希少糖(D-allose, D-psicose, L-psicose, D-fucose, L-fucose, D-sorbose, L-sorbose, L-rhamnose, L-gulose, D-tagatose, L-tagatose, D-lyxose, L-lyxose)およびD-グルコースの計14種類の単糖を用いて希少糖付与 rGO を合成し研究に用いた。

##### 作製した材料の物性解析

希少糖付与 rGO の表面物性解析は XPS、XRD、UV-VIS spectroscopy、FT-IR、Raman spectroscopy、NMR、TGA、LC-MS (ion trap)、MALDI-TOF/MS、SQUID、VSM、TEM など本学およびバイオ・ナノエレクトロニクス研究センターに既存の装置を用いた。

##### 作製した材料の生体適合性の解析

培養細胞、血球、細菌、生体高分子を用いて生体適合性を解析した。特に作製した材料存在下での安定性や相互作用に着目し解析した。GO、rGO、および希少糖付与 rGO の生体適合性を比較することで解析を進めた。

#### 作製した材料が生体へ及ぼす機能または影響の解析

各種細胞や生体高分子に及ぼす機能および影響を解析した。特に希少糖由来の機能を有するか注目し解析した。血球がん細胞、バクテリア、羊赤血球を用い、Hemolysis 試験、アラマーブルー試験や生育曲線の分析などで解析を行った。

#### がん治療や医療用検査デバイスへの応用の可能性の検討

取得したデータを元に共同研究者の Mohamed Sheikh Mohamed 博士および中島義賢博士と会議を重ね、今後の応用の向けた議論を行った。

## 2. 研究経過および成果の概要

#### 大容量合成した希少糖付与 rGO の合成および精製

以前の研究にて小容量での合成条件の検討は十分済ませてあったため、大容量化学合成システムを用いた合成も特に大きな変更や問題は発生せずに希少糖付与 rGO の大量合成に成功した。一方で精製はカラムの冷却システムを導入できなかったため、遠心分離機と超純水を組み合わせた洗浄で済ませて研究を進めた。

#### 作製した材料の物性解析

大容量での合成に成功したため繰り返しの解析が可能となった。多少のズレは発生したものの小容量で合成したサンプルと同様の結果が得られた。

#### 作製した材料の生体適合性の解析／作製した材料が生体へ及ぼす機能または影響の解析

血球がん細胞、バクテリア、羊赤血球を用い、Hemolysis 試験、アラマーブルー試験、生育曲線の解析などで解析を行い、基本的には小スケールで合成したサンプルと同様の結果が得られた。

まず Hemolysis 試験において、処理をしていない GO は赤血球に対し強い溶血活性を示す一方、表面に希少糖が付与された希少糖付与 rGO では溶血活性の低下が確認された。因みに赤血球遊離液に希少糖やグルコースのみを添加することでも血球は壊れにくくなることを確認している。つまり GO への当の付与により、その一部の機能を付与できた可能性が示された。

がん細胞に対する影響の解析では、これまでグルコースで作成した希少糖付与 rGO が高い生体適合性を示すことは知られているが、本研究で側鎖となる糖の違いにより細胞に対する毒性が大きく異なることを示した。付与される当の種類により、がん細胞の生育を阻害するもの、影響を及ぼさないもの、さらには生育を促進するものと機能が大きく異なったのは非常に興味深い。

これまでの研究で、希少糖付与 rGO を培養液に添加することで大腸菌（グラム陰性バクテリア）の生育を阻害するが、一方でグラム陽性バクテリアである枯草菌の生育には全く影響を及ぼさない等の興味深い現象も確認できている。本実験で使用している GO のみを培養液に添加してもこのような現象は起きないことから、希少糖が rGO 表面に付与することによる機能であると考えている。本研究で得られた知見と合わせ、付与された単糖と合成した産物の機能の関係を考察していく。

#### がん治療や医療用検査デバイスへの応用の可能性の検討

共同研究者と密に連絡を取り合い、本研究で得られた成果を元にどの様に応用していくのかについて議論した。がん治療への応用については Drug Delivery System の開発・構築で多くの成果を上げている Mohamed Sheikh Mohamed 博士を中心に議論した。本研究で取得したデータは今後 NIR photothermal therapy を用いたがん治療へ応用する際重要な情報となりえること、他のがん細胞

や正常細胞への影響の解析も必要であることを確認した。医療用なのでバイスへの応用については電気化学や半導体デバイス作成に詳しい中島義賢博士を中心に議論し、モールドイング法を用いたデバイス作成の検討など、取り入れるべき具体的な技術を検討できた。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

本研究で取得したデータは複数回のデータ取得後に解析を行っているため信頼性は高いものの、解析毎にデータの乱れが生じた。これは今回の合成では精製の代わりに超純水での洗浄を行ったためであると思われ、今後しっかりと精製を行う必要があるものと考ええる。一方大容量の精製のためには FPLC 用のカラムを冷却するためのチャンバーが必要であり、今後購入を検討していく。

## Summary

We attempted to develop new materials that can be applied to cancer treatment and nano-inspection device using a rare sugar that, is known as useful sugar, have many unique functions such as antioxidant action, inhibition of cancer cell growth, and function of control sugar level in the blood for application in biological field (molecular biology, medicine, pharmacy and so on). Rare sugars are defined as monosaccharides and their derivatives being rarely in nature by International Society of Rare Sugars. D-psicose, D-allose and D-tagatose are representative of rare sugars.

This study, we investigated synthesis and cytotoxicity of rare sugar functionalized graphene oxide (RSfGO). We have synthesized RSfGOs by reduction of graphene oxide with a rare sugar by high volume chemical synthesis system (chemistplaza) and analyzed their surface states by Raman spectroscopy, x-ray photoelectron spectroscopy (XPS), Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), and ultraviolet-visible absorption spectroscopy (UV-vis). G/D ratio of Raman spectrum graph and transition of absorbance spectrum of UV-vis suggested reduction of GO, therefore, we have successfully synthesized RSfGOs that are created by reduction and modification of GO using rare sugars. We measured biocompatibility and cytotoxicity of RSfGOs by drawing growth curve, alamar blue test and hemolysis activity test with red blood cell (from sheep blood), bacteria (*Escherichia coli* JM 109 and *Bacillus subtilis* JCM1465) and human multiple myeloma cell (IM-9 cells). It have been shown that RSfGO inhibited growth of *E. coli* and IM-9 cell, whereas RSfGO showed high biocompatibility to red blood cell. Even more very interesting, it was demonstrated that RSfGO has a completely different effect against cell growth due to the difference in the rare sugars as side chains.

Based on the acquired data, we held meetings with collaborators Dr. Mohamed Sheikh Mohamed, who has a lot of knowledge and experiences on DDS-related research, and Dr. Yoshinori Nakajima, who has a lot of knowledge and experiences on electrochemical devices development, to discuss future applications on cancer treatment and development of nano-inspection devices.

The results obtained from the research conducted using this grant are indispensable data for the future development of this research, and were very meaningful.

## 実効性のある STEM 教育プロトタイプの構築

### Building an effective STEM education prototype

研究代表者 後藤 顕一(食環境科学部フードサイエンス学科)

研究分担者:伊藤克治(福岡教育大学)

高橋三男(大妻女子大学)

野内頼一(国立教育政策研究所)

生尾 光(東京学芸大学)

研究期間/2021年7月1日~2022年3月15日

キーワード/①STEM教育

②持続可能な発展 (sustainable development : SD)

③相互評価

④問題解決

⑤工学デザイン

2021年度交付額/ 1,800,000 円

研究発表/学会および口頭発表

#### 【査読付き論文】

- ①「中学校理科における考察の意識に関する一考察—相互評価活動を用いた学習活動を通して—」, 山内慎也, 郡司賀透, 飯田寛志, 後藤顕一, 理科教育学研究, 2022, 62, 3, p. 643-653
- ②Tomomi Samejima, Kenichi Goto, Yorikazu Nouchi, Hiroshi Iida, Sachiko Tosa, “The Significance of Inquiry-based Learning of IB programme from the Perspective of Active Learning”, International Conference New Perspectives in Science Education 11th Edition, Proceedings, 2022, 3, p. 406-411
- ③Kenichi Goto, Mika Tsuyukubo, Yorikazu Nouchi, Atsushi Fujihira, Tomomi Samejima, Shizuo Mastubara, Shosuke Teratani  
“Research on Learning to Improve Skills of Scientific Inquiry and to Cultivate Scientific Wisdom”  
International Conference New Perspectives in Science Education 11th Edition, Proceedings, 2022, 3, p. 376-380
- ④Hiroshi Iida, Shinya Yamauchi, Noriaki Kumada, Kenichi Goto  
“A Study on the Effectiveness of Comment Writing Instruction in Peer Evaluation Activities”  
International Conference New Perspectives in Science Education 11th Edition, Proceedings, 2022, 3, p. 238-243
- ⑤Shinya Yamauchi, Hiroshi Iida, Kenichi Goto  
“ The Effect of Learning to Incorporate Instruction on Formulation of Consideration/Description Under Peer Evaluation Activity on Scientific Expression ”  
International Conference New Perspectives in Science Education 11th Edition, Proceedings,

2022, 3, p. 233-237

⑥Atsushi Fujihira, Yorikazu Nouchi, Mika Tsuyukubo, Kenichi Goto

“The Need to Bring up Social-Emotional Competence in Learning Instruction ”

International Conference New Perspectives in Science Education 11th Edition, Proceedings,

2022, 3, p.210-214

【学会発表】

理科教育学会 課題研究

- ①後藤顕一, 「新学習指導要領の評価に向けて相互評価はどのような活用ができるだろうか」——  
—学校全体の取組から理科での取組まで——
- ②山内慎也, 飯田寛志, 熊田憲朗, 「中学校理科における考察の意識に関する一考察, 相互評価  
活動を用いた学習活動を通して」
- ③吉田朋子, 「地域の高校における相互評価を活用した学習評価と授業改善の一例」
- ④北川輝洋, 新学習指導要領の評価に向けて—「主体的に取り組む態度」の評価と相互評価の取  
組み— 研究経過および成果の概要
- ⑤生田依子, 真井克子, 「SSH「探究科学」における2年間の生徒の変容」
- ⑥伊藤克治, 「遠隔授業における化学実験レポートのピアレビューの実践」
- ⑦何佳敏 後藤顕一, 「理科の目標と生物のカリキュラムの日程比較」

科学教育学会 課題研究

- ⑧後藤顕一, 今井泉, 寺田光宏, 「高校化学での「変化—エネルギー」における概念理解と獲得  
に向けた一考察」 A Study on Understanding and Acquisition of Concepts in “Change-Energy”  
in High School Chemistry

## 1. 研究方法

我が国の中等教育科学教育では、STEAM (Science, Technology, Engineering and Mathematics and Art) 教育を推進する方向性が示されており、本研究では、STEAMの基礎であるSTEMに焦点を絞った。STEM教育は、分野を超えた知識と方法を駆使して複雑な現実世界の問題を解決することを目指すとされており、その問題の最たるものは持続可能な発展 (sustainable development : SD) である。世界の潮流に呼応して、本邦のSTEM教育研究もなされてきたが、具体的かつ効果的な教材、指導法、評価法などの開発、検証研究はなお未開拓であり、喫緊の課題である。これまでにわれわれのグループで推進してきた科学技術に関連したSD教材の開発、実践、検証の研究成果を基に、学習者の資質・能力の向上を目指した実効性のあるSTEM教育プロトタイプの構築を目指した。また、国内外の研究動向を考慮し、カリキュラム・マネジメント・サイクルにより実践と検証を重ね、さらなる改善を行い、国際協働研究を展開させた。

### 1) ステップ1: 「課題を特定する (工学)」についての具体的な取組

コア・アイデアの工学デザインの内容は問題解決である。問題と課題の関係を、「問題は、現状と目標に差が発生しているという事実のことであり、課題というのは、その差を埋めるためのアクションである。」とする通説に従い、問題解決は課題達成により成就されるとわれわれは考える。その際、問題の中身を明らかにして具体的な解決策を示す課題を導出すること、「課題を特定する」が問題解決の決め手となる。

2) ステップ2:「研究を計画して実行する」,「データを分析して解釈する」,「数学, 数量的思考を用いる」の具体的な取組

実験等での測定データを1枚のシートに入力することで, 即時に結果が確認可能であり, 実験データの妥当性を判断可能な見える化できる。これを「実験デザインテンプレート」(Experimental Design Template, EDT)と命名した(後藤ら, 2020)。EDTは, 実験のフローチャートでのデータ処理と解釈を俯瞰できる表計算テンプレートとなるよう作成するので, 研究全体の理解を深め, デジタル化の初歩を学ぶ機会になる。

## 2. 研究経過および成果の概要

6月 下旬 研究会の開催, 定例化し, 月に1度ずつ, 勉強会情報交換会を開催, 資質・能力の育成に適した教材の開発や改善を進め, 実効性のあるSTEM教育プロトタイプを提案

7月 実証的研究, 評価研究を展開する。具体的には, STEM教育研究の一つとして, 酵素製剤の有無による米の炊飯時の糖度変化を測定し, EDTの効果などを検証した。

8月 実証的研究, 評価研究の深化を目指す。科学教育学会への参加(Web開催)

9月 夏の全国理科教育学会への参加(Web開催), 研究成果を学会の「課題研究」にて発表。関係発表者8名。

10月 記述などの質的データについて, 質的アプローチと量的アプローチ, 双方を用い, 総合的に評価できる方法論を確立する。

10月末までに機器備品の納品(厳守)

11月 実践的検討を重ね, さらなる教材の改善, 評価研究を充実させるとともに評価方法の検証を行う。

研究会での報告とともに実践の検証とまとめを行う。

12月 国際協働研究メンバーを主体とする国際ワークショップ(韓国予定)を開催予定

計画が遂行できるかは, コロナ状況を見て判断した。結局これについては, 実行することができず, 当初予定通り, 予算の組み換えを行った。

1月 学会誌への掲載を目指す。2010年来の国際協働研究メンバーを主体とする国際ワークショップ(韓国予定)を開催し, レビューを受け, 改善を検討する。

2月 成果を報告書などにまとめるとともに, 来年度の計画を協議した。

月に1回韓国教育大学孔先生とマレーシア, フィリピンをつないで日本の教育関係メンバーとZOOM会議を開催し, 検討を深めた。

3月 International Conference NEW PERSPECTIVES in SCIENCE EDUCATION 3月17日, 18日開催(後藤, 野内, 鮫島, 藤平, 真井, 生田, 飯田, 山内) 成果の報告

## 3. 今後の研究における課題または問題点

さらに研究を推進する計画である。

今後は, 問題解決における科学的思考力と科学知との関係を具体的事例を基に解明する。

実証的な研究を推進する。

研究成果の具体物は, 別添掲載する。

冷戦初期日本共産党と中国共産党による在日中国人留学生団体への指導体制  
に関する実証的研究

Empirical Research on the Systems of Control over Japan-Based Chinese  
Student Groups by the Japanese and Chinese Communist Parties in the  
Early Cold War Era

研究代表者 荒川 雪(社会学部メディアコミュニケーション学科)

研究分担者 徐輝(温州大学准教授)

研究期間／2021年4月1日～2022年2月15日

キーワード／①中国留日同学総会 the Chinese Students Association in Japan

②日本共産党 Japanese Communist Party

③中国共産党 Chinese Communist Party

④冷戦 the Cold War

⑤中国外交史 History of Chinese Diplomacy

2021年度交付額／ 1800000円

研究発表／学会および口頭発表

論文・著書：

荒川雪「在日中国人メディアが記録した留日学生をめぐる国府と人民政府の争奪——中国留日同学総会機関紙『中国留日学生報』(1950-1957年)を手がかりに——」『人文学研究所報』No. 67、2022年3月掲載予定。

荒川雪「中国建国初期在外大使館・領事館建設に関する一考察(1949-1965)——駐在外交官の選抜・教育・派遣・任期制度と領事業務方法の制定過程を中心に」『アジア文化研究所研究年報』第56号、2022年2月掲載予定。

荒川雪「中国留日同学総会の財務状況の考察——機関紙『中国留日学生報』の広告を中心に」孫安石・大里浩秋編『中国人留学生と近代日本』東方書店、2022年3月刊行予定。

王雪萍(荒川雪)「中国留日同学総会与《中国留日学生報》: 1947 - 1949」徐志民・大里浩秋・孫安石編『団体与日常——近代中国留日学生生活史』社会科学文献出版社、2022年出版予定。

荒川雪「戦後中国人留日学生団体と日本共産党・中国共産党——中国留日同学総会執行部と日共中国人支部の関係を中心に——」陳来幸編『冷戦アジアと華僑華人』風響社、2023年3月刊行予定。

徐輝「移民的二元参照框架下的海外青田華僑回流模式研究」『八桂僑聯』2022年掲載予定。

荒川雪・徐輝「1950年代從日本回国的中国留学生、華僑的行動分析——以居住在浙江省的留学生、華僑為中心」2022年度投稿予定。

## 口頭発表

荒川雪「中国留日同学総会の財務状況の考察——機関紙『中国留日学生報』の広告を中心に」神奈川大学人文学研究所・日中関係史共同研究第86回研究会（オンライン報告）、2021年7月30日。

荒川雪「建国初期（1949-1952）中国外交部人事制度浅析——以駐外使事外交官・工作人員人事制度的制定過程為中心」、第六回国際関係史工作坊、中国首都師範大学・上海大学共催（日本側代表としてオンライン報告）、2021年9月25日。

山影統「建国前中国共産党的外事工作——以在外事組織中王炳南的工作為中心——」、第六回国際関係史工作坊、中国首都師範大学・上海大学共催（日本側代表としてオンライン報告）、2021年9月25日。

徐輝「疫情与海外華僑華人：以温州和温籍華僑華人為例」第五屆「海外華人与中国僑郷文化」學術研討会、2021年10月17日。

## 学会分科会の開催

日本国際政治学会 2021年度大会 10月29日

A-2 東アジア分科会 責任者 荒川 雪（東洋大学）

テーマ 中国外交部档案へのアクセス困難下での中国外交史研究の現状と国際共同研究の可能性

【英語および日本語で実施】（ペーパーは日本語または中国語（日本語訳付き））

司会 荒川 雪（東洋大学）

報告 蔣 華傑（上海大学）

“Overcoming the Obstacles: Current Status and Future of Diplomatic Historical Research in the PRC”

蕭 道中（輔仁大学）

“Overview of Taiwanese Diplomatic History Research Materials and the Possibility of Using Taiwanese Historical Materials in Researching Chinese Diplomatic History”

杉浦 康之（防衛省防衛研究所）

「現代中国外交史研究における日本側資料利用の可能性——日中国交正常化以前を中心に」

討論 加茂 具樹（慶應義塾大学）

張 雲（新潟大学）

## 研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

本研究は、冷戦初期（1945～1957年）における中国共産党（以下：中共）と日本共産党（以下：日共）が、日本に滞在中の中国人留学生（以下：留日学生）と関係を構築し、留日学生の統一団体である中華民国留日同学総会（1949年中国留日同学総会に改称、以下：同学総会）を通じて、彼らをいかに中共および中華人民共和国（以下：中国）建国後の中国の在日宣伝、対日工作ならびに日共の国内における活動に協力させたかを明らかにすることを目的とした。

中共と日共による中国人留日学生への指導の実態については、資料の制約から、これまで殆ど解明されてこなかった。しかし、日共黨員として同学総会の指導に関わり、中国の職員でもあった郭承敏氏の回想録『ある台湾人の数奇な生涯』が2014年8月に日本の出版社から出版されたことで状況が一変した。多くの元同学総会関係者が回想録を書き、インタビュー調査に応じるようになった。そのため、本研究は、現在利用可能な一次史資料の収集・整理とインタビュー調査を組み合わせ進めたが、この方法は上記の研究目的を追求、達成するうえで不可欠といえる。中国の協定校との共同研究として、中国では、(1) 中国外交部外交档案館所蔵の外交档案(中国人帰国留学生、華僑関連档案)、(2) 中国華僑歴史博物館所蔵の同学総会機関紙『中国留日学生報』、(3) 帰国留日学生が寄稿した『世界知識』などの新聞・雑誌記事、(4) 帰国した留日学生をはじめとする関係者の回顧録の収集・整理、そして、(5) 帰国した留日学生、華僑へのインタビュー調査を通じた文書に示されなかった歴史的事実の解明、に取り組んだ。日本では、(6) 東京大学文書館に保存されている東京大学および一高の中国人留学生関連史資料、(7) GHQ 関連史料、(8) 東洋文庫に保存されている中華民国駐日代表団神阪僑務処関連史料、(9) 『華僑報』などの華僑団体の機関紙などの史資料の収集と分析、を行った。

## 2. 研究経過および成果の概要

### 史資料調査およびデータベース化：

2021年4月～6月 第一次史資料収集、整理とデータベース化(これまで収集した『中国留日学生報』、『華僑報』、中華民国駐日代表団神阪僑務処、中国外交部档案、GHQ 関連資料のデータベース化の実施、不足資料の追加調査、収集)

2021年7月～10月 第二次史資料収集、整理とデータベース化(日中双方の研究協力者の協力を得て、『世界知識』誌の記事リストの作成と関連記事のダウンロード、元中国人留日学生、帰国華僑の回想録の収集および内容整理)

2021年11月～12月 第三次史資料の収集、整理とデータベース化(東京大学および一高の中国人留日学生関連資料(日本在住+帰国者)の関連資料の収集とデータベース化)

### インタビュー調査：

2021年4月～5月 第一次浙江省調査(温州市でのインタビュー調査)

2021年7月～8月 第二次浙江省調査(杭州市での史資料調査およびインタビュー調査)

2021年11月 第三次浙江省調査(温州市でのインタビュー調査)

### 調査結果の分析および調査成果の概要：

本研究は、これまで史資料の制約で解明されてこなかった冷戦初期における在日中国人留学生の統一団体である同学総会と日共、中共の関係解明を目指した。上記の研究過程の中で関連史資料の収集、インタビュー調査、同学総会の機関紙『中国留日学生報』、日共・中共関係者の回想録、中華民国外交部档案、中華人民共和国外交部档案に対する分析を試みた。一連の調査から得られた結論の概要は、以下の通りである。

まず、同学総会が1948年後半の時点で日共の指導を受けるようになり、1952年に中国政府華僑事務委員会の指導も受けるようになったという事実が判明した。

1950年以降、中華民国政府の工作活動によって一部の同学総会の会員が一時離脱するケースが相次いだことから、同学総会は在日華僑団体との関係を強化するなどの対策を講じた。『中国留日学生報』の記事分析から、同学総会と在日華僑団体や日本の中国関連団体との関係の変化も明らかに

なった。

さらに、1950年から1957年までの『中国留日学生報』では、1947年から1949年までの中華人民共和国建国前より中国関連記事を掲載する割合が20%ポイント以上も減少した。これは、中共の指示を受け、同学総会の活動を指導し、同紙の編集を主に担当し、日共黨員でもあった中心メンバーたちが中国に帰国し、日中両国の言語と政治情勢に精通した幹部が日本にいなくなったためと考えられる。

1950年代後半に入ると、日共や中共が『中国留日学生報』の編集および同学総会の指導を適切に行える状況ではなくなった。結果、同学総会は1957年の夏、その活動を事実上停止した。

そして、中華人民共和国建国後、特に1953年以降、台湾出身者を含む同学総会の会員の大半は中国大陸に帰国した。帰国した元留日学生の多くは、帰国直後あるいは日中国交正常化後に中国政府の各分野の日本関連業務に従事した。一方、日本に残った同学総会の元会員の多くも大学あるいは高校卒業後、華僑総会や日中友好協会といった中国関連団体の活動に携わり、中国政府の対日工作に協力し、日中関係の改善と発展に貢献した事実も判明した。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

本研究の主な目的である同学総会と日共、中共の関係は概ね明らかになった。研究成果は2021年度と2022年度に公刊論文、研究発表を通じて公表できる見通しである。なお、1950年から1951年までの指導体制については、十分に調査できなかつた部分もあるため、今後の課題としたい。

加えて、本研究は予定していた中国および日本でのインタビュー調査は、新型コロナウイルスの感染拡大に伴う出張制限や調査対象者の意向により、一部しかできなかつた。中国での調査は、研究分担者の徐輝氏の居住地である浙江省以外の地域での調査が実施できていない。さらに、研究代表者の中国への渡航、研究分担者の来日は見送りとなり、共同で行う予定の史資料調査と聞き取り調査を実施できなかつた。新型コロナウイルスの流行が沈静化した後、今年度見送った日中双方の調査を実施し、この部分を含めた研究成果の発表、公刊を目指したい。

### Summary

This research is aimed at shining light relationship between the Chinese Students Association in Japan (CSAJ), a unified organization of Chinese students across Japan, and respective Japanese Communist Party (JCP) and the Chinese Communist Party (CCP), in the early Cold War. Until now, the relationships between these groups has not been entirely clear, due to restricted access to historical materials.

The above research draws from collections of related historical materials and interview surveys. Analyzed materials include contents from the institutional newspaper of CSAJ “Chinese Students’ Press in Japan”, memoirs of the members of JCP, CCP, CSAJ, as well as materials Ministry of Foreign Affairs Archive of the Republic of China (ROC) and the People’s Republic of China (PRC). The following is a summary of the conclusions drawn from the above.

First, it became clear that CSAJ began to receive guidance from the JCP in the latter half of 1948. In 1952, it also began receiving guidance from the Committee of Overseas Chinese Affairs of the People’s Republic of China (PRC).

From 1950, some members of CSAJ had withdrawn, due to their work activities in the

Government of the ROC. The CSAJ thus took measures in response to strengthen relations with overseas Chinese groups in Japan. An analysis of the articles in the “Chinese Students’ Press in Japan” also recorded changes in the relationship between CSAJ and non-student groups, such as overseas Chinese groups in Japan and Chinese-related groups in Japan.

Furthermore, in the articles from the “Chinese Students’ Press in Japan” from 1950 to 1957, the percentage of articles related to China decreased by more than 20% compared to 1947 to 1949, i.e. before the founding of the PRC. This may be due to core members in charge of editing the newspaper during the previous period, who were also members of the JCP, having returned to China. This left the CSAJ without members who could understand both Japan and China’s language and political situation.

As the early Cold War progressed in the latter half of the 1950s, the JCP and CCP were no longer able to properly edit the “Chinese Students’ Press in Japan” and give guidance to CSAJ. As a result, CSAJ virtually stopped its activities by the summer of 1957.

After the founding of the PRC, and especially after 1953, most of the members of CSAJ, including those from Taiwan, returned to mainland China. Many of the former Chinese overseas students in Japan who returned to the PRC either immediately or eventually engaged in Japan-related work in various fields of the Chinese government immediately after returning to China. Their activities particularly increased after 1972, when Japan and the PRC normalized diplomatic relations. At the same time, many of the former members of CSAJ who remained in Japan also participated in the activities of Chinese-related organizations, such as the Overseas Chinese General Assembly and the Japan-China Friendship Association after graduating from university or high school. These members often cooperated with the PRC government's work with Japan, and worked to improve Japan-China relations.

# スリランカにおけるイネ収量および亜鉛吸収効率向上のための遺伝構造解析

## Genetic Analysis of Sri Lankan Rice to Improve Grain Yield and Zn Biofortification

研究代表者 廣津 直樹 (生命科学部生命科学科)

研究分担者 長坂 征治 (生命科学部生命科学科)

研究期間/2021年4月1日~2022年2月15日

キーワード/①イネ Rice  
②遺伝資源 Bioresource  
③スリランカ Sri Lanka  
④亜鉛 Zinc  
⑤遺伝構造 Genetic Structure

2021年度交付額/ 2,000,000円

研究発表/学会および口頭発表

なし

研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

本研究では、スリランカのイネ遺伝資源のうち代表的な系統としてスリランカ国立基礎研究所で選定された192系統の遺伝子型情報を次世代シーケンスにより取得し、収量性および亜鉛吸収効率に関わるゲノムワイド関連解析を行う。これにより、スリランカ独自の遺伝資源から収量性および亜鉛吸収効率が優れた遺伝資源の選抜とこれらを制御する遺伝的要因を特定することを目的とする。

構想段階では、192系統のイネ種子からDNAを抽出し、次世代シーケンサーによるGRAS-Di技術により0.5 Gb約50,000箇所の一塩基多型情報を取得し、ゲノムワイド関連解析に用いるための192系統の遺伝子型情報を抽出することを予定していた。また、192系統の収量性データをスリランカで、イネ種子における亜鉛含量およびフィチン酸含量は東洋大学でそれぞれ取得することを予定していた。これらの解析から、収量性を損なわずに亜鉛吸収効率が高いイネ系統を選抜するとともに、その形質に関連する一塩基多型の特定を行うことを目的としていた。しかしながら、新型コロナウイルス感染拡大状況が日本とスリランカで異なり、両国の渡航制限が同時に緩和されることがなかった。そのため、スリランカ国立基礎研究所と協議した上で研究計画を変更した。

### 2. 研究経過および成果の概要

前年度の課題で、渡航せずに日本国内で取得可能なスリランカ原産のイネ96系統を、スリランカ国立基礎研究所と共同で選定した。この96系統から、次世代シーケンスにより各系統で約500 Mbp、96系統で計約56 Gbpの配列情報を取得している。本年度も渡航制限により新たなスリランカイネ遺伝資源の取得は不可能であったことから、この96系統を材料として用いることとした。

変更後の研究では、2種類の方法でスリランカのイネ遺伝資源の遺伝構造解析を行なった。一つは、次世代シーケンス解析で得られている56 Gbpの配列情報から、遺伝構造解析に用いる57,872個の一塩基多型を抽出した。さらに一塩基多型を元に、96系統の遺伝構造をSTRUCTURE ver.2.3.4により解

析した。対数尤度に基づく基準である LnPD の二階差分の基準である  $\Delta K$  の最大値から、このスリランカイネ遺伝資源の集団は 2 つのクラスターに大別されることを明らかにした。このうち、既知のイネ品種分布状況から、この 2 つのクラスターは *Indica* と *Aus* であると考えられた。

次に二つ目の解析として、既知の遺伝子のアレル分布を解析した。穂数、粒数、粒重、出穂期、アミロース含量など収量や品質に関わる農業形質を制御する遺伝子はいくつか同定されている。今回は、その中で 19 個の遺伝子の遺伝子型を PCR 法で調べた。96 系統について 19 遺伝子の遺伝子型を調べたところ、遺伝子によってアレルの組成が異なることが明らかとなった。*GW2*、*SRS3*、*TGW6*、*WX1* では、単一のアレルのみしか検出されなかった一方、それ以外の遺伝子では 2 つのアレルが検出された。また、*qSS7* では 3 種類のアレルが確認された。遺伝子型を基準に 96 系統のクラスター解析を行なったところ、2 つのクラスターに大別されることが明らかとなった。このクラスター内の品種と STRUCTURE 解析でクラスタリングした個体の分布はおおむね合致したことから、2 つのクラスターは *Indica* と *Aus* であることが確認された。

*Indica* と *Aus* で農業上有用なアレルの頻度を比較した。*Indica* では *GS5* や *DEP1* の有用なアレル頻度をもつ系統が多く含まれていたが、*Aus* ではそのアレル頻度は少なかった。一方 *qSW5* と *GW8* の有用なアレルの頻度は *Aus* で高く *Indica* では低かった。これらの遺伝子は、スリランカイネ遺伝資源を特徴づける遺伝子であると考えられた。また、今後、スリランカのイネ収量を増加させるためには、農業上有用なアレル頻度が低い遺伝子に着目して改良していくことが効果的であると考えられる。すなわち、*Indica* の改良には *qSW5* や *GW8* の有用なアレルを導入し、*Aus* の改良には *GS5* や *DEP1* の有用なアレルを導入する育種を行うことで、さらなる収量の増加が見込まれると期待される。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

今年度の課題では、次善の策として 96 系統の遺伝構造を詳細に解析した。スリランカイネの遺伝構造を明らかにすることができ、さらに収量増加のための遺伝的改良の方針まで示すことができ一定の成果を得た。一方で、96 系統では集団の個体数が決して十分とは言えず、さらに系統数を増やすことが必要である。日本とスリランカ双方で渡航制限が解除された際には、さらに遺伝資源を取得し、同様の方法で遺伝構造を明らかにしていく必要がある。また、今回の遺伝子型解析では、農業形質のうち収量を制御する遺伝子の遺伝子型解析を行なった。本課題のもう一つの目的である亜鉛吸収効率の改善のためには、亜鉛の体内輸送に関わる遺伝子や亜鉛の吸収を阻害するフィチン酸の生合成に関わる遺伝子などの遺伝子型も調査する必要がある。

## Summary

The world's population is expected to increase by 2.3 billion between 2009 and 2050, requiring significant increases in global food production to fulfil future food demand. Rice (*Oryza sativa* L.) is one of the world's most important crops, providing nutrition for approximately one-half of the global population and is the most important crop in Asia. Zn deficiency causes impaired growth, increased susceptibility to infections and increased mortality and affects around one-third of the world's population. Populations in developing countries like as Sri Lanka are at a high risk of malnutrition by food shortage and Zn deficiency.

This study aims to improve the grain yield and biofortification success rate of Zn in Sri Lankan rice. In this project, we planned to analyze the genetic structure of Sri Lankan rice by Next

Generation Sequencing (NGS) technology and to perform the Genome Wide Association study related traits evaluated in Sri Lanka. However, due to COVID-19 emergency, we could not visit rice field at Sri Lanka, and therefore, we could not complete planned study. In this year, we changed the plant and analyzed the genetic structure of 96 selected Sri Lankan rice which available in Japanese gene bank. First, we analyze genetic structure by STRUCTURE ver 2.3.4 using genotype obtained by NGS, and found this population was consisted of two clusters; *Indica* and *Aus*. Second, we analyzed the genotype of already known genes regulating agronomical traits such as panicle number, grain number, grain size and heading date. According the composition of genotypes of analyzed genes, this population was categorized by two clusters and these were corresponded with the cluster revealed by STRUCTURE analysis. *Indica* and *Aus* group had distinct allele frequencies in the genes such as *GS5*, *DEP1*, *qSW5* and *GW8*, these genes characterize the genetic difference of two major group in Sri Lanka. *Indica* had fewer frequencies of desirable allele in *qSW5* and *GW8*, these genes might be a candidate target to improve grain yield of Sri Lankan *Indica* rice. *Aus* had fewer frequencies of desirable allele in *GS5* and *DEP1*, these genes might be a candidate target to improve grain yield of Sri Lankan *Indica* rice further.

To complete this study, we need to increase the number of rice populations more and add more genes regulating Zn contents in grain. We need to continue the communications with Sri Lankan collaborators including materials and human exchanges, then the collaborative relationship between two countries will be strengthen up.

ヒトメラノーマ予防を目指したイヌメラノーマモデルを用いた検討  
Investigation of canine melanoma as a model to establish preventive strategy in human  
melanoma

研究代表者 矢野 友啓 (食環境科学部食環境科学科)  
共同研究者 Maria Lucia Zaidan Dagli (サンパウロ大学)

研究期間 / 2021年4月1日～2022年2月15日

キーワード / ①イヌメラノーマ canine melanoma

②ヒトメラノーマモデル model for human melanoma

③がん予防 cancer prevention

④強制分化 forced differentiation

⑤レスベラトロール resveratrol

2020年度交付額 / 1,980,000円

研究発表 / 学会および口頭発表

Sato A, da Fonseca IIM, Nagamine MK, de Toledo GF, Olio R, Hernandez-Blazquez FJ, **Yano T**, Yeh ES, **Dagli MLZ**. Effects of Alpha-Connexin Carboxyl-Terminal Peptide (aCT1) and Bowman-Birk Protease Inhibitor (BBI) on Canine Oral Mucosal Melanoma (OMM) Cells. *Front Vet Sci.* 2021 Jun 10;8:670451.

Fukuoka N, **Yano T**. Mechanism analysis of malignant suppression of canine melanoma by Bowman birk protease inhibitor (BBI), Sydney Cancer Conference 2021, 2021.9.10, on line

研究経過および成果の概要

1. 研究方法

**研究背景:** メラノーマはメラノサイト由来の悪性腫瘍である。メラノサイト由来の悪性腫瘍は犬に非常に多いことが知られており、その70%がメラノーマであると報告されている。最も多く確認される発生場所は、全体の62%を占める口腔内である。手術による治療後の口腔内メラノーマの生存期間中央値はステージⅠで約17～18ヶ月、ステージⅡで5～6ヶ月、ステージⅢで3ヶ月となっており、非常に予後が不良である。現在、メラノーマの主な治療法である外科治療、放射線治療及び化学療法があるが、完治に至る有効な治療法は無い。実際に、イヌメラノーマ細胞における治療前検討でも抗がん剤耐性が確認されている。従って、抗がん剤の代替成分として安全且つ有効な予防候補成分を利用した新規予防法の構築が必要となる。また、イヌメラノーマは近年増加傾向にあるヒトメラノーマとの遺伝子発現パターン等の類似性から、ヒトメラノーマの良いモデルになるとされている。ヒトメラノーマは希少がんであり、なかなか症例数がそろわず、大規模な抗がん剤の介入試験ができない状態にある。しかし、イヌメラノーマの症例数は多く、イヌメラノーマでの介入研究で有効性と安全性が確認された新規抗メラノーマ成分は、大規模なヒト介入試験を行わずに臨床応用が可能であると考えられ、イヌメラノーマで有効性が確認された新規成分は、そのままヒトメラノーマの臨床治療に使える可能性がある。

メラノーマはその悪性度の高さに表現型のスイッチングが深く関与していると考えられている。一つは増殖性表現型である。初代メラノサイトに似た表現型を示しメラニンの生成能力を有する集団として存在する。この集団に属する細胞は分化状態にある。増殖率が高く、侵襲性が低いことも特徴として挙げられる。二つ目は侵襲性表現型である。神経幹細胞に似た表現型を示し、神経細胞に脱分化する傾向がある。未分化な状態にあると考えられており、メラニンの生成能力を有している。上記に示した二つの表現型を絶えず切り替えることでメラノーマは治療に対する抵抗性を獲得していると言えるだろう。メラノーマの悪性度低下に着目し、現在考えられている新たな考え方が、強制分化による悪性度低下である。転移性の高さや侵襲性の高さも踏まえ、悪性度の高い侵襲性表現型から強制的に増殖性表現型へのスイッチングを引き起こすことで、治療の効果の増強が見込めるのではないかと考えられている。

天然ポリフェノールであるレスベラトロールは細胞に対する分化誘導効が期待され、実際、この化合物はイヌ幹様細胞に対する分化誘導作用が報告されている。したがって、レスベラトロールによるイヌメラノーマ細胞の分化誘導が、イヌメラノーマ細胞の抗がん剤耐性の軽減に貢献し、最終的にめらぼーまの治療効果改善に役立つと推測される。本研究ではこの可能性の検証を行うことを目的とした。

**細胞培養及び薬剤処理方法：**イヌメラノーマ細胞株 (TLM-1) を用い、10%ウシ胎児血清 (FBS) と 0.5%ペニシリン/ストレプトマイシン溶液を含む Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (4.5g/l Glucose) 培地を基本として、humidified air、5%CO<sub>2</sub>、37° Cで培養した。細胞の分化誘導成分としてレスベラトロール単独ないしは既存の抗がん剤 (シスプラチン、シクロフォスファミド及びベムラフェニブ) を最大 72 時間処理した。

**細胞への薬剤の影響評価：**レスベラトロールによるがん細胞の分化誘導作用はメラノーマの分化マーカーである MITF (microphthalmia-associated transcription factor) mRNA レベル(qRT-PCRにより測定)とメラノサイト様の形態変化 (CV 染色で評価) の 2 つの指標で評価した。各薬剤による殺細胞効果の評価は、WST-8 法で評価した。

**レスベラトロールの分化誘導作用に関与するシグナル系の解析：**レスベラトロールの分化誘導作用に関係する MAPK 伝達系を推定するため、各 MAPK 分子阻害剤 (ERK 阻害剤 : U0126, JNK 阻害剤 : SP600125, p38 阻害剤 : SB203580) を 48 時間処理し、レスベラトロール 48 時間処理した細胞の形態変化と MITFmRNA レベルと比較検討することにより、評価した。

## 2. 研究経過および成果の概要

**レスベラトロールによるイヌメラノーマ細胞の分化誘導：**メラノーマにおける表現型のうち、増殖性表現型ではメラノサイトに近い形態を示すことが報告されている。本研究ではレスベラトロール (50 μM)48 時間処理により、最もメラノサイト様の細胞に形態変化を引き起こし、明らかな細胞形態の変化が確認できた。メラノーマ細胞集団の中で、高分化型を示す集団で高い MITFmRNA レベルも、同様のレスベラトロール処理により有意に増加した。したがって、このレスベラトロール処理により、イヌメラノーマ細胞に分化誘導が引き起こされたことが推測された。

**レスベラトロールによるイヌメラノーマ細胞の分化誘導に関与するシグナル分子：**メラノーマの分化に MAPK シグナル経路が関与しているとの報告がいくつかある。MAPK シグナル経路 (ERK, JNK, p38) のうち、どのシグナル分子がレスベラトロールによって引き起こされる TLM-1 の分化に関与しているのかを確認するために MAPK シグナル経路の阻害剤を用いて検討を行った。その結果、JNK 阻害剤 (SP600125) 処理群のみが、レスベラトロール処理群と同様に形態変化を示すと同時に、メラノーマの高分化マーカーである MITFmRNA レベルが有意に上昇した。この結果は、

JNK がレスベラトロールによるイヌメラノーマ細胞の分化誘導に関与するシグナル分子であることを示している。

**レスベラトロールによるイヌメラノーマ抗がん剤感受性増強効果:** イヌのがん治療に主に用いられているシスプラチン、シクロフォスファミド、ヒトメラノーマの治療に用いられているベムラフェニブを用いてレスベラトロールとの併用による感受性の変化について検討を行った。その結果、全ての抗がん剤に対する感受性が、レスベラトロール処理により有意に上昇した。すなわち、レスベラトロール処理により、メラノーマ細胞が高分化型（増殖性表現型）へとシフトし、悪性度の低下が引き起こされたことが原因として考えられる。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

今後の課題は、今回 *in vitro* で認められたレスベラトロールの作用が、*in vivo* にも外挿でき、この作用が臨床応用可能であるか確認することにある。このレスベラトロール分化誘導作用がイヌメラノーマの臨床で有効であった場合、将来的にヒトへの応用が可能になる。

### Summary

**Background and aim:** Canine melanoma is a representative malignant tumor in frequently observed dog and is considered as an adequate model for human melanoma. Since human melanoma is a representative rare malignant tumor in human, it is difficult to perform clinical investigation against human melanoma, using a lot of human melanoma patients. As an alternative clinical investigation, it is reasonable to utilize canine melanoma, because the melanoma is frequently observed in dogs. In this study, we investigated if we tried to establish a new treatment approach against melanoma based on resveratrol-dependent inducing differentiation on canine melanoma cells.

**Methods:** We used one commercially available canine melanoma (TLM-1) cells. The cells were treated with resveratrol or the agent plus anti-cancer agents (cisplatin, cyclophosphamide and vemurafenib) for adequate period, and subsequently, cell viability was estimated by WST-8 method. In order to estimate resveratrol-mediated differentiation on TLM-1 cells, morphological change and MITF mRNA level (a representative marker of differentiation in melanoma cells) were determined, using CV stain and qRT-PCR methods, respectively. Furthermore, to pick up which signal molecule in MAPKs could relate to MITF up-regulation in resveratrol-treated TLM-1 cells, we investigated the effects of each inhibitor against MAPK subtypes on the MITF mRNA level.

**Results:** we observed that resveratrol (50  $\mu$ M) treatment for 48 hr in TLM-1 cells exactly induced morphological change to melanocyte-like shape as well as the increase of MITF mRNA level without any side effect on the cells, indicating that this treatment condition could induce differentiation in TLM-1 cells. Also, of MAPKs inhibitors, only JNK inhibitor (SP600125) could cause the morphological change to melanocyte-like shape and the induction of MITF expression. This observation indicated that JNK actually contributed to the differentiation of TLM-1 cells caused by resveratrol. Finally, we confirmed that resveratrol-mediated differentiation of TLM-1 cells could lead to enhancement of sensitivity on three anti-cancer drugs in the cells.

**Conclusion:** The differentiation of canine melanoma cells by resveratrol depends on the inactivation

of JNK signaling, and the differentiation can enhance the sensitivity of each anti-cancer drug to canine melanoma cells. Thus, the combination of resveratrol and anti-cancer drug can be effective to treat canine melanoma.

# 西洋思想の受容と日本思想の展開

—キリシタン時代と明治期以後—

## The Reception of Western Thoughts and the Development of Japanese Thoughts:

## The Period of Early Christian Mission and Meiji Period and After in Japan

研究代表者 相楽 勉(文学部哲学科)

研究分担者 中里 巧(文学部哲学科)

三重野清顕(文学部哲学科)

菊地章太(ライフデザイン学部健康スポーツ学科)

大野岳史(東洋学研究所客員研究員)

播本崇史(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)

研究期間／2021年4月1日～2022年2月15日

キーワード／①西洋思想

②日本思想

③キリシタン時代

④明治期以降

⑤キリスト教

2021年度交付額／ 695,000 円

研究発表／学会および口頭発表

相楽勉「西田幾多郎にとっての宗教」、研究所プロジェクト研究発表会、東洋大学東洋学研究所、オンライン開催、2022年2月26日

中里巧「キェルケゴールのヤコブ書解釈とその思想」、2021年度キェルケゴール協会第21回学術大会、東洋大学白山校舎、オンライン開催、2021年7月4日

中里巧「現代キリスト教の神秘体験事例—主にマリア＝シンマの場合—」、日本宗教学会第80回大会、関西大学千里山キャンパス、オンライン開催、2021年9月8日

中里巧「現代キリスト教の神秘体験事例と日本のスピリチュアリズム」、研究所プロジェクト研究発表会、東洋大学東洋学研究所、オンライン開催、2021年11月20日

三重野清顕「哲学史研究はどのようなものであるべきか——ヘーゲルの哲学史論から学ぶもの」、日本ヘーゲル学会第32回大会ヘーゲル生誕250年記念シンポジウム「ヘーゲルと哲学史」、オンライン開催、2021年6月12日

三重野清顕：提題「過去の音楽に取り組むということ」（主題別討議「音楽と倫理」）日本倫理学会第72回大会、オンライン開催、2021年10月2日

菊地章太「こんちりさんのりやく — 解読の方法について」、研究所プロジェクト研究発表会、東洋大学東洋学研究所、オンライン開催、2021年11月20日

大野岳史「「真実ノ教」における汎神論批判—世界とその根源はどのように区別されるのか—」、研究所プロジェクト研究発表会、東洋大学東洋学研究所、オンライン開催、2021年11月20日  
播本崇史「西周と儒学」、島根県立大学総合政策学会 2021年度第2回研究会、2022年2月24日  
播本崇史「西周研究における新視軸に関する一考察」、研究所プロジェクト研究発表会、東洋大学東洋学研究所、オンライン開催、2022年2月26日

大鹿勝之「日本精神に関する議論 —紀平正美と村岡典嗣—」、研究所プロジェクト研究発表会、東洋大学東洋学研究所、オンライン開催、2022年2月26日

#### 論文等著作物

相楽勉『日本における哲学受容の階梯—実在・自然・行為—』、東洋大学国際哲学研究センター『国際哲学研究・別冊16号』、2022年3月、総135頁

中里巧「人間の自由意志と神の絶対性」、『白山哲学』第56号、東洋大学文学部哲学研究室、2022年3月刊行予定

中里巧「キリスト教の呪術性と日本のスピリチュアリズム—現代キリスト教の神秘体験と日本の心霊現象—」、『東洋学研究』第59号、東洋大学東洋学研究所紀要、2022年3月刊行予定

三重野清顕「ヘーゲルの承認論—つながりのある社会の実現へと向けて」、『認め合い、支え合う福祉社会の近未来』、中央法規、2022年3月刊行予定

三重野清顕「イエナ期フィヒテの理論哲学における構想力—その基本構造の解明の試み」、『白山哲学』56号、東洋大学文学部哲学研究室、2022年3月刊行予定

三重野清顕「哲学にとって未来とは何か—徴候の解釈学の可能性をめぐって」、『知の創発と現実性の出現—22世紀の世界哲学に向けて』、2022年3月刊行予定

三重野清顕（共訳）『哲学の25年—体系的な再構成』、エッカート・フェルスター著、三重野清顕・佐々木雄大・池松辰男・岡崎秀二郎・岩田健佑訳、法政大学出版局、2021年9月、総654頁

菊地章太「シャヴァンヌの中国宗教史研究と『六度集経』フランス語訳注」、六度集経研究会編『全訳 六度集経 — 仏の前世物語』、法藏館、依頼執筆、397-400頁、2021年6月

菊地章太「聖母マリアのカンティエーガ(4) — ひとりの王の苦悩の生涯」、『ライフデザイン学研究』17号、東洋大学ライフデザイン学部、51-82頁、2022年3月

菊地章太「善知鳥伝承考(下) — 追尋、そして放擲』、『東洋学研究』59号、東洋大学東洋学研究所、2022年3月刊行予定

大野岳史「「真実ノ教」における原因論 —ペドロ・ゴメスと十六世紀のスコラ学—」、『東洋学研究』59号、東洋大学東洋学研究所、査読有、2022年3月刊行予定

大鹿勝之「ヒュームの道徳論における感情と理性 —一般的観点と正義—」、『東洋大学大学院紀要』第57集、東洋大学大学院、2022年3月刊行予定

大鹿勝之 「村岡典嗣の日本精神論 —国体についての議論—」、『東洋学研究』第59号、東洋学研究所、2022年3月刊行予定

#### 研究経過および成果の概要

本研究は西洋思想を包摂し、展開させていく動きはキリシタン時代の西洋思想受容にもみられるのではないかという観点から、明治期の西洋思想受容と日本思想の展開を、キリシタン時代の受容と展開と比較考察することにより、他文化を包摂していく日本思想のあり方を考究する。

研究組織は以下の通りである。

|       |       |                        |
|-------|-------|------------------------|
| 研究代表者 |       | 役割分担                   |
| 相楽 勉  | 研究員   | 研究総括、明治期以降の西洋哲学受容と日本哲学 |
| 研究分担者 |       | 役割分担                   |
| 中里 巧  | 研究員   | キリシタン思想の日本精神史における展開    |
| 菊池章太  | 研究員   | 室町時代のキリスト教受容とその後の変容    |
| 三重野清顕 | 研究員   | 日本精神史と西洋哲学             |
| 大野岳史  | 客員研究員 | ペドロ・ゴメス『講義要綱』などの哲学教育   |
| 播本崇史  | 客員研究員 | 西周と西洋哲学                |
| 大鹿勝之  | 客員研究員 | 西洋哲学と日本精神              |

## 1. 研究方法

各研究者が役割分担課題に基づき研究を行い、研究成果について、研究発表会で比較考察を行うほか、および研究者を招いた公開講演会を開催し、研究交流を行う。

## 2. 研究経過および成果の概要

各研究者の研究経過および成果は以下の通りである。

### 相楽勉

明治期末に公刊された西田幾多郎の『善の研究』（1911年）を西周に始まる日本における哲学受容の流れの帰着点として評価することを試みた。科学知に基づく合理的な社会観世界観を求め一方、仏教や儒教といった既存の宗教が担ってきた個人の人生観問題への対応を課題とする明治期哲学の流れの最後に『善の研究』をおいてみると純粹経験という立場の意味、宗教問題を帰着点とするその構成の意味も明らかになった。

### 中里巧

2021年度は、長崎県生月島の調査を行い、キリスト教受容期の人々のキリスト教理解を考察する予定だったが、コロナ禍の影響により、文献研究を行った。研究成果は、『東洋学研究』第59号に「キリスト教の呪術性と日本のスピリチュアリズム—現代キリスト教の神秘体験と日本の心霊現象—」と題する論文を投稿した。

### 三重野清顕

西洋哲学の近代日本への移入プロセスに関するケーススタディとして、和辻哲郎によって第二次世界大戦の戦前から戦後にかけて執筆された体系的倫理学書である『倫理学』（1937～1949年）をとりあげ、そこでの西洋哲学の受容について調査を進めている。2021年度は『倫理学』の執筆にいたるまでの過程をなす文献を調査しているところであり、主に1934年に出版された『人間の学としての倫理学』と、その原型をなす論文「倫理学——人間の学としての倫理学の意義及び方法」（1931年、和辻哲郎『初稿倫理学』荻部直編、筑摩書房、2017年所収）における西洋哲学の影響とその扱い方について比較研究を行っている。

### 菊池章太

キリシタン文献『こんちりさんのりやく』について文献学的考察をおこなった。懺悔による救済を説いた『こんちりさんのりやく』を解読するにあたり、カトリックの教理に対する認識だけでなく、同時代の日本の通俗文芸にも目を向けていく意義についても考えた。そのための基礎作業とし

て、プティジャン版『こんちりさんのりやく』の本文を翻刻しつつ、1603年に長崎で刊行された『日葡辞書』のポルトガル語原典をもとにした解説を試みている。

大野岳史

今年度はペドロ・ゴメス『講義要綱』第三部「真実ノ教」の第三論考第十三章から第十九章までをもとに、16世紀の西洋で主流であったアリストテレス・トマス主義の影響が、当時のキリシタンの教育にどのように見出されるのかを明らかにすることを目的とし、研究を進めた。そのために、上記の箇所を精読するとともに、トマス・アクィナスやスアレスといったアリストテレス・トマス主義にかかわる文献やその研究を参照することで、両者の比較を行った。

播本崇史

最初期の西周研究を調査対象とし、その成果を渉猟することで、従来の西周思想理解の足跡を追った。それによれば、早い段階から、西周による稿本に基づく研究はなされていたものの、その調査範囲はかなり限定されており、西周の著作に関しては、見落とされていた領域があったであろうことが窺われた。

大鹿勝之

村岡典嗣の「日本精神論」について、日本精神の議論を考察した。村岡は、皇室中心の家族的國家という性格が、有史以来成長を遂げて今日に至り、世界の國家中日本の顕著な特性として存在する事実は明白とされると述べ、その淵源の問題について、古事記、日本書紀の神代伝説を取り上げるが、皇室中心の家族的國家という性格が歴史的に見て日本の顕著な特性として存在する事実は明白であるとはいえないことを考察した。

研究成果については、上記の研究発表／学会および口頭発表に見られるように、2021年11月20日の研究発表会では、大野岳史、菊池章太、中里巧が発表し、2022年2月26日の研究発表会においては、大鹿勝之、播本崇史、相楽勉が発表した。また、ライナ・シュルツァ氏（東洋大学東洋学研究所研究員、本学情報連携学部情報連携学科准教授）を講演者に招いて公開講演会を開催し、「井上円了における良心概念の変遷 ―思想的と比較倫理的考察―」と題する講演が行われた。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

2021年度はコロナ禍の影響により、実地調査を行うことができなかったが、2022年度は行えることを期待したい。

## Summary

The Reception of Western Thoughts and the Development of Japanese Thoughts:

The Period of Early Christian Mission and Meiji Period and After in Japan

In the end of Edo period and Meiji period, Japanese receptions of western thoughts are based on the background of Japanese thoughts, for example, Confucian thoughts, Buddhism. On the other hand, Pedro Gomez's *Compendium Catholicae Veritatis* is translated into Japanese 1595 as the text of Jesuit college in Japan. This work is consisted of the theories of heavenly bodies, the theories of soul, and the doctrines of Christianity. As to the theories of soul, they are based on Thomas Aquinas' interpretation of Aristotelian theory of soul. Therefore,

Japanese learned Western philosophy in 16th century, though its influences are not well known.

We aim at the comprehensive inquiry into the receptions of western thoughts in Japan by the comparative study of the receptions of the period of Kirishitan (the period of early Christian mission, 16-17th centuries) and of Meiji era and after.

Research members and their research fields are as follows.

SAGARA Tsutomu (Research Representative) : the reception of Western philosophy in Japan and Japanese philosophy.

NAKAZATO Satoshi: Japanese Christian thoughts in the history of thoughts in Japan.

MIENO Kiyoaki: the relationship of history of ideas in Japan to Western philosophy.

KIKUCHI Noritaka: the receptions of Christianity in Muromachi period and their modification afterwards.

ONO Takeshi: the education of Philosophy by Pedro Gomez's *Compendium Catholicae veritatis* and others.

HARIMOTO Takafumi: NISHI Amane and Western Philosophy.

OSHIKA Katsuyuki: Western philosophy and Japanese spirits.

As to the research result, we held the presentation meeting twice a year as follows.

20th November 2021

ONO Takeshi, "The Criticism of Pantheism in the Theory of Causation in *Compendium Catholicae veritatis*: How Are the World and Its Origin Are Distinguished?"

KIKUCHI Noritaka, "*Konchirisan no Riyaku* (a Merit of Contrition): The Methods of Explicating the text."

NAKAZATO Satoshi, "The Instances of Mysterious Experiences in Modern Christianity and Japanese Spiritualism."

26th February 2022

OSHIKA Katsuyuki, "The Arguments of Japanese Spirits: KIHIRA Tadayoshi and MURAOKA Tsunetsugu."

HARIMOTO Takafumi, "The New Perspectives of the Research on NISHI Amane."

SAGARA Tsutomu, "The Religion for NISHIDA Kitaro."

And we held the open lecture inviting Rainer Schulzer, associate professor of the faculty of information science and art, Toyo University, as the lecturer.

5th February 2022

Rainer Schulzer, "The Modification of the concepts of conscience on INOUE Enryo: A Consideration from the Points of View of History of Thoughts and Comparative Ethics."

Keywords: Western thoughts, Japanese thoughts, the period of Kirishitan, Meiji period and after, Christianity.

# 外国人研究者との連携による東アジア仏教の歴史と思想の解明

Elucidating the History and Thought of East Asian Buddhism  
through Collaboration with Foreign Researchers

研究代表者 伊吹 敦 (文学部東洋思想文化学科)  
研究分担者 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)  
水谷 香奈 (東洋学研究所客員研究員)

研究期間/2021年4月1日～2022年3月31日

キーワード/①仏教史 History of Buddhism  
②仏教思想 Buddhist Thought  
③東アジア East Asia  
④国際研究交流 International Research Exchange

2021年度交付額/2,000,000円

研究発表/口頭発表

伊吹敦

- ・「近代中国における佛教學的知見の流入と佛教認識の變化」(2021年10月31日、国際禅研究プロジェクト・東洋大学東洋学研究所共催国際シンポジウム「近代化は仏教をどう変えたのか、東洋大学、オンライン開催)
- ・「禅芸術とは何か—久松真一の「禅芸術」論とそれへの反響を糸口にして」(2021年10月9日、国際禅研究プロジェクト主催国際シンポジウム「禅文化の諸相とその特質」、東洋大学、オンライン開催)
- ・「敦煌本『壇經』から『曹溪大師傳』へ—八世紀後半の長安における荷澤宗の思想的變遷」(2021年9月5日、印度学仏教学会第72回学術大会、大谷大学、オンライン開催)
- ・「李舟撰『能大師傳』の内容とその歴史的意義」(2021年5月29日、国際禅研究プロジェクト定例研究発表会、東洋大学、オンライン開催)

原田香織

- ・「世阿弥の禅的趣向に関する一考察—『拾玉得花』における世阿弥晩年の傾向」(2021年10月9日、国際禅研究プロジェクト主催国際シンポジウム「禅文化の諸相とその特質」、東洋大学、オンライン開催)
- ・「能の文学性 - 謡曲詞章の文学性に関する研究」(2022年3月24-26日、国際研究学会「ポズナン&クラクフ日本学専攻科設立三十五周年記念学会」、オンライン開催)
- ・「W.B.イェイツ『鷹の井戸』から能『鷹姫』へのアダプテーション」(2022年3月19日、「グローバルな言語文化としての能を考える—「鷹姫」をめぐるアダプテーションと総合芸術としての演出」、「鷹姫」研修会実行委員会、銚仙会青山研修所)

佐藤厚

- ・「韓国普光寺所蔵「所詮章」断簡—高麗時代の『華嚴五教章』テキストをめぐる問題」(2021年12月4日、東アジア仏教研究会、オンライン開催)
- ・「『宗鏡録』所引「観師十種道場観」について—新羅華嚴文献の可能性」(2021年10月16日、東洋大学東洋学研究所 第2回研究発表例会、オンライン開催)
- ・「韓国社会における仏教」(2021年10月2日、武蔵野大学仏教文化研究所 連続公開講座「世界の国々と仏教」、武蔵野大学)
- ・「井上円了の思想世界」(2021年9月17日、中野区・東洋大学連携事業 哲学堂講座「一から学ぶ哲学堂」、中野区歴史民俗資料館)
- ・「10—11世紀、高麗の仏教思想—中国との交流を中心に」(2021年7月3日、中國社会文化学会、オンライン開催)

#### 水谷香奈

- ・「村上専精『仏教統一論』に見る中国仏教史観」(2021年10月31日、国際禅研究プロジェクト・東洋大学東洋学研究所共催国際シンポジウム「近代化は仏教をどう変えたのか、東洋大学、オンライン開催)
- ・「自力聖道門における本願と救済—法相宗における聞法の解釈」(2021年9月6日、印度学仏教学会第72回学術大会、大谷大学、オンライン開催)
- ・「自力聖道門における本願観」(2021年7月24日、東洋大学東洋学研究所 第1回研究発表例会、オンライン開催)

#### 研究発表／出版物

##### 伊吹敦

- ・『中国禅思想史』(単著、禅文化研究所、928頁、2021年6月)
- ・「『内證佛法相承血脈譜』の編輯過程について—初期禅宗文献が最澄に与えた影響」(単著、『東洋思想文化』9、2022年3月、頁数未定)
- ・「『付法簡子』と『西國佛祖代代相承傳法記』の史的意義」(単著、『東洋学研究』59、2022年3月、頁数未定)
- ・「「禅芸術」とは何か?—久松真一の「禅芸術」論とそれに対する批判を糸口として」(単著、『国際禅研究』9、2022年2月、pp.379-417)
- ・「近代中国における佛教學的知見の流入と佛教認識の變化—「十宗」「大乘非佛說論」「起信論偽撰說」を中心に」(単著、『東アジア仏教学術論集』10、2022年2月、pp.171-224)
- ・「敦煌本『壇經』から『曹溪大師傳』へ—八世紀後半の長安における荷澤宗の思想的變遷」(単著、『印度学仏教学研究』70-1、2021年12月、pp.312-305)
- ・「『六祖壇經』の成立に関する新見解—敦煌本『壇經』に見る三階教の影響とその意味」(単著、『国際禅研究』7、2021年8月、pp.5-44)
- ・「李舟撰『能大師傳』の内容とその歴史的意義」(単著、『国際禅研究』7、2021年8月、pp.151-182)
- ・「巨視的に見た中世禅の位相」(単著、榎本涉・亀山隆彦・米田真理子編『中世禅の知』臨川書店、2021年7月、pp.174-181)

##### 原田香織

- ・「作品研究『巻絹』一和歌陀羅尼から熊野権現の胎蔵界曼荼羅」(単著、『文学論藻』96、2022年3月、pp.51-68)
- ・「世阿弥の禪的趣向に関する一考察—『拾玉得花』における世阿弥晩年の傾向」(単著、『国際禅研究』9、2022年2月、pp.335-359)
- ・「能楽における禅の研究」(単著、『国際禅研究』8、2022年1月、pp.253-272)

佐藤厚

- ・「1910年代、曹洞宗大学に学んだ4人の朝鮮留学生」(単著、『駒澤大学仏教学部研究紀要』80、2022年3月、頁数未定)
- ・「Ilsung popkye to」(『EAST ASIAN BUDDHIST LITERATURE』2、2021年6月、pp.141-192)
- ・「均如」(単著、イ・スミほか『テーマ韓国仏教9』、東国大学校出版文化院、2021年4月、pp.39-80)

水谷香奈

- ・「自力聖道門における本願観」(単著、『印度学仏教学研究』70-2、2022年3月、頁数未定)
- ・「村上専精『仏教統一論 第二篇 原理論』に見る中国仏教観」(単著、『東アジア仏教学術論集』10、2022年2月、pp.155-169)

## 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、一年目と二・三年目とでは大いに内容を異にする。即ち、一年目が、これまで9年間にわたって中国人民大学・韓国金剛大学校との共催の形で行ってきた、東アジア仏教に関する国際シンポジウムの開催を中心とするものであるのに対して、二・三年目は、十年間にわたって開催してきた、このシンポジウムでの経験を生かして、独自に国際シンポジウムを企画運営して、その成果を世に問おうとするものである。

一年目の日・中・韓三大学の国際シンポジウム、「日・中・韓 国際仏教学術大会」は、三大学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することになったもので、こ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交流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、開催校の提案に基づいて決められた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。更に、これを東洋学研究所が中心になって行うことで、研究所自体の研究活動の国際化と活性化を目指している。

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とそれに対するコメントを三箇国語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(日本側は『東アジア仏教学術論集』と称する雑誌を刊行)を三箇国で自国語によって公表するというものである。

このシンポジウムは、これまで学会において非常に高い評価を得ており、今後も継続することが望まれるが、当初から十年間の計画で始まったこと、関係者の高齢化、韓国の金剛大学校の体制の変化等があって、継続は不可能と判断した。ただ、この経験を今後も生かすために、二年目・三年

目については、本プロジェクトの独自企画の形で国際シンポジウムを開催し、また、その成果を掲載する雑誌として『東アジア仏教学術論集』の刊行を継続することにした。

## 2. 研究経過および成果の概要

上記のように、一年目は、これまでの継続の形で国際シンポジウム、「日・中・韓 国際仏教学術大会」の第10回記念大会を中国の人民大学で「東アジア仏教の未来」を統一テーマとして開催して、この10年に及ぶプロジェクトを終える予定であったが、新型コロナウイルスの蔓延とそれに伴う出入国制限のために開催することができなかった。リモートでの開催であれば問題なかったが、中国側が最後であるからどうしても対面で実施したいと主張したために、開催は次年度以降に繰り延べとなった。

いずれにしろ、本年度は開催できなくなったため、急遽、当初の予定の一年目と二年目を入れ替えて、本年度に独自企画として、2021年10月30日（土曜日）と31日（日曜日）の二日間にわたって、台湾仏教の専門家である玄奘大学の侯坤宏先生を講演者としてお招きして、「近代化は仏教をどう変えたか」をテーマとする国際シンポジウムを開催した（科研費による「国際禅研究プロジェクトとの共催で、Webexを用いたリモートで実施）。突然の企てであったにも拘わらず、発表者として、研究代表者の伊吹と、研究分担者の水谷香奈先生のほか、青山学院大学の陳継東先生、武蔵野大学の碧海寿広先生、愛知大学の坂井田夕起子先生、日本文化大学の川邊雄大先生、東北大学大学院の呉佩遙先生、東洋大学井上円了センターの長谷川琢磨先生等、近代仏教を専門とする多くの先生方の参加を得ることができた。また、当日は100人近い参加者を得て、大変な盛況であった。また、その成果を『東アジア仏教学術論集』第10号として刊行することができた。本雑誌は、来年度の初めにも全国の研究者や研究機関に送付する予定であり、それに併せて、東洋大学学術情報リポジトリにその内容を掲載する予定である。

このように当初の計画とは異なり、一年目と二年目で実行する内容が逆になってしまったが、順序の変更により、大きな支障とはならなかった。国際シンポジウムの開催が対面でなくリモートとなったため、海外の研究者をお呼びする旅費等が必要なくなり、研究費の節約となったため、使い切ることができなかった。また、国際シンポジウムでの研究発表のための調査費として、関西への調査旅行、台湾への調査旅行を予定していたが、これもコロナのために果たせなかった。この点も研究費を余らせた原因である。しかし、調査旅行ができない中で、上の研究発表欄に記したように、既存の図書等を用いて行った研究では大きな成果が見られた。文献研究に集中せざるを得ない環境がそうさせたとも言える。

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、「近代化は仏教をどう変えたか」をテーマとする国際シンポジウムを開催し、その内容を纏めた『東アジア仏教学術論集』第10号の刊行があり、それ以外の成果として、各研究代表者・分担者の口頭発表、ならびに論文等刊行物による発表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

上記のように、結局のところ、本研究プロジェクトの柱の一つである「日・中・韓 国際仏教学術大会」の第10回記念大会は実現できていない。できれば来年度の開催を目指したいが、日程等が確定していない中であるから、発表者の人選や開催準備等についても大きな制約がある。できれば、リモートでの開催も視野に入れて予定を確定してもらいたい。これは開催校である人民大学

の専権事項であるため、こちらで勝手に決めることはできない。

そこで、来年度も独自のテーマを設定して独自に国際シンポジウムを開催することを視野に入れつつ、研究を行わなければならない、様々な困難が続きまとう。また、その場合、リモートでの開催も考えねばならないが、リモート開催は経費節減に繋がるという利点もあるが、休憩時間における直接的な研究交流ができないなどの大きな問題を抱えており、必ずしも望ましいものではない。コロナの状況を見つつ、判断する必要がある。

一方、調査旅行については、そこに行かなければ閲覧できない文献等を調査するものであるから、実施しないとそもそも研究が全く成り立たない。コロナ次第ではあるが、来年度は、是非とも実施したいと考えているが、もしそれが不可能であれば、その経費を図書等の購入に充てて予備調査を充実させ、調査自体は再来年度に回すしかないと考えている。

## Summary

The purpose of this research project is to promote the internationalization of the Institute of Oriental Studies of Toyo University and to upgrade our research abilities by holding international symposiums and to enhance the reputation of Toyo University and the Institute of Oriental Studies as a research center by publishing the contents of the symposium as *Studies in East Asian Buddhism* (Renamed from *Proceedings of the International Conference on East Asian Buddhism*) and uploading it to the internet.

However, the method of holding these international symposiums is completely different among the first year and the second and subsequent years. In the first year, the "International Conference on East Asian Buddhism" which has been 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" should be continued, but in the second and subsequent years, we will organize international symposiums with our own project based on the methodology acquired through this.

The original plan was as above. But, in the midst of the global spread of the new coronavirus, the "International Conference on East Asian Buddhism" scheduled for the first year was postponed until the next year, and we had to drastically change our research plan. So, we decided to switch the first and second years of the research plan. In other words, we decided to hold an international symposium in the first year as our own project, and to hold the "International Conference on East Asian Buddhism" in the second and subsequent years.

It was under these circumstances that we organized an international symposium "How Modernity Has Changed Buddhism." At this symposium, Prof. HOU Kunhong (Xuanzang Univ., Taiwan) gave the keynote speech, and IBUKI Atsushi the principal investigator of this research project, and MIZUTANI Kana, a research associate, attended and gave a presentation. In addition to those mentioned above, we had presentations by specialists in modern Chinese Buddhism and Modern Japanese Buddhism, including CHEN Jidong (Aoyama Gakuin University), HEKIKAI Hisahiro (Musashino University), SAKAIDA Yukiko (Aichi University), KAWABE Yudai (Nippon Bunka University), WU Peiyao (Tohoku University Graduate School), and HASEGAWA Takuma (Toyo

University Inoue Enryo Center). Although the event was held remotely using Webex, it attracted a large audience and was very well received. The contents of the symposium were published in the *Studies in East Asian Buddhism*, No. 10, which was published in February, and will soon be uploaded to the Toyo University Repository for Academic Resources.

We would very much like to hold the "International Conference on East Asian Buddhism" next year, but depending on the new coronavirus situation, it may be carried over to the year after next. In that case, we plan to hold an international symposium of our own plan, as we did this year.

カビ毒トリコテセン類の癌細胞増殖阻害活性の検証と抗体医薬への応用の試み

## Inhibitory effects of trichothecenes against cancer cells and their application toward antibody drug conjugate-based therapeutic approaches

研究代表者 加藤 和則(理工学部生体医工学科)

研究分担者 安藤 直子(理工学部応用化学科)

研究期間/2021年4月1日~2022年2月15日

キーワード/① トリコテセン

② T-2 toxin

③ 抗体医薬

④ Antibody Drug Conjugate; ADC

2021年度交付額/ 1,992千円

研究発表/学会および口頭発表

1. K.Okita, K.Imai, K.Kato, *et al.* Altered binding avidities and improved growth inhibitory effects of novel anti-HER3 mAb against human cancers in the presence of HER1- or HER2-targeted drugs. *Biochem Biophys Res Commun.* 2021; 576: 59-65.
2. Kazunori Kato. A novel screening method to establish tumor-targeting antibodies reliable for drug delivery system, *Annual Convention 2021, The Korean Society of Applied Pharmacology.* (invited presentation) 2021, Seoul, South Korea (on-line).
3. 小泉慶明他「各種癌細胞株におけるトリコテセンの増殖阻害活性検証」日本マイコトキシン学会第87回学術講演会(2022/01, on-line)
4. 楠本和史他「トリコテセンを用いた抗体医薬作製の試み」第15回バイオ関連化学シンポジウム(2021/09, on-line)

研究経過および成果の概要

*Fusarium* 属等の糸状菌は穀類・果実・きのこ等に感染し、トリコテセン類と呼ばれるカビ毒の一群を生産する。トリコテセン類はその構造から A~D 型に分類されるが、細胞分裂の激しい細胞に対し強い毒性を示し、タンパク質/DNA の合成阻害、apoptosis や autophagy の誘導等、多彩な活性を有する。そこで、これまで T-2 toxin、diacetoxyscirpenol (DAS)、verrucarin A(VA)等のトリコテセンが、抗癌剤候補として検証されてきたが、正常細胞への毒性が強く、応用利用が見送られてきた。しかし近年、抗体医薬等、癌細胞を特異的に攻撃する技術が飛躍的に進歩し、抗癌剤の低分子と、癌細胞特異的に発現する抗原に対するモノクローナル抗体を結合し、標的となる癌細胞にのみ抗癌剤を作用させる技術 (Antibody-Drug-Conjugates: ADCs) が進んできた。

### 1. 研究方法

本研究では ADCs を使い、トリコテセンを癌細胞特異的に攻撃するスキームを作るため、以下のプロセスで行った。

- ① 各種トリコテセンの生産と精製：抗体に結合させるトリコテセンとして、主として 20 種類のトリコテセンを選び、その生産を行った。T-2 toxin は *Fusarium sporotrichioides* を GYEP 培地で回転培養し、生産させた。HT-2 toxin は C-4 位脱アセチル化酵素を用いて T-2 toxin を脱アセチル化させた。DAS は *F. venenatum*、VA は *Myrothecium verrucaria*、trichothecin (TCN) は *Trichothecium roseum* をそれぞれ適合培地で培養することで生産させた。その他、*F. graminearum* の遺伝子破壊株を用い、複数の生合成中間体を生産した。生産されたトリコテセンは、培養液ごと酢酸エチルで抽出を行い、Purif-Rp2 を用いた順相系分取クロマトグラフィー、HPLC を用いた逆相系分取クロマトグラフィーにより、分取精製した。さらに、HPLC により、その濃度を測定した。
- ② トリコテセン単体の毒性評価：各種トリコテセンは各種癌細胞の阻害剤として使用した。癌細胞は、PK-1 (ヒト膵臓癌細胞)、MSTO-211H (ヒト悪性中皮腫細胞)、MCF-7 (ヒト乳癌細胞)、A375 (ヒト悪性黒色腫細胞)、HL-60 (ヒト前骨髄性白血病細胞) を使用した。毒性評価は CCK-8 を用いた WST assay によって行った。
- ③ 癌細胞表面抗原に特異的なモノクローナル抗体の作製と精製：癌細胞表面抗原に特異的なモノクローナル抗体を生産するハイブリドーマである 230-1 細胞 (抗ヒト EphA2 抗体生産株) と 1B7 細胞 (抗ヒト EpCAM 抗体生産株) を大量培養した。その上清中の抗体を硫酸沈殿し、Protein G カラムにより精製、セントリプレップ-30 で濃縮後、BCA 法でタンパク質定量を行った。
- ④ 有機合成による抗体とトリコテセンの結合とその毒性評価：①で得られた T-2 toxin を抗体にアミド結合させるため、有機合成により、リンカー付き T-2 toxin を生産し、抗ヒト EpCAM 抗体に結合させた。その毒性を MC-7 細胞を用いて検証した。

## 2. 研究経過および成果の概要

現在、20 種類のトリコテセンについて、毒性評価に足る量を生産・精製した。そのうちの 10 種類について、②の 5 種類の癌細胞株にアプライし、その毒性を検証した。10 種類のトリコテセンは、A 型トリコテセンの T-2 toxin、HT-2 toxin、DAS、B 型トリコテセンの nivalenol、TCN、D 型トリコテセンの VA、その他、反応中間体の isotrichodermin (ITD)、isotrichodermol (ITDmol)、7-hydroxyisotrichodermin (7-HIT)、8-HIT である。その他 10 種類については現在、検証中である。

これらのトリコテセンを 5 種類の細胞株へ添加したところ、それぞれ阻害活性と IC<sub>50</sub> には違いが見られたものの、毒性の強さの順については似た傾向を示した。最も毒性の強い D 型トリコテセンの VA であり、それに A 型トリコテセンの T-2 toxin、HT-2 toxin、DAS が続く傾向にあった。毒性が最も弱い部類に属したのは、7-HIT と 8-HIT であり、それは C-3 位のアセチル基によるものと考えられた。

5 種類の細胞は、発現している癌細胞表面抗原には違いがあり、EphA2 を高発現するのは、PK-1 細胞と A375 細胞、EpCAM を高発現するのは MSTO-211H 細胞と MCF-7 細胞であり、HL-60 はどちらも発現していない。それぞれの抗原を発現していない細胞株はネガティブコントロールとして扱えると考えられる。

抗体生産用のハイブリドーマ 230-1 細胞と 1B7 細胞だが、230-1 細胞がアポトーシスを起こしやすく注意が必要だったが、モノクローナル抗体は両細胞から十分に得ることができた。T-2 toxin については、その後アミド結合用のリンカーを結合させ、3-[4-(N-succinimidoxycarbonyl)-butyryl] T-2 toxin を生産した。LC-MS/MS の結果より、このリンカー付き T-2 toxin の生産は成功したと考えられる。さらに、このリンカー付き T-2 toxin を抗ヒト EpCAM モノクローナル抗体に結合した。

T-2 toxin 結合抗体と抗体そのものの毒性を比較したところ、前者にのみ毒性を確認できた。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

現在まで、順調に研究は進んでいるが、検証するトリコテセンの種類と細胞数が非常に多いため、全ての結果をそろえるにはまだ少し時間が必要である。トリコテセンと癌細胞の組み合わせを網羅した後は、ターゲットを絞り、より効率の良い組み合わせを選んで研究を進めていく必要があると考えられる。また、トリコテセン結合抗体の毒性については、さらに抗原を発現していない細胞株との比較が必要であり、現在、検証を行っている。

### Summary

Filamentous fungi such as *Fusarium* infect important crops, fruits and mushrooms, and produce a group of mycotoxins called trichothecene. Based on their chemical structures, trichothecenes are classified into types A to D. Many trichothecenes are highly toxic to highly dividing cells and have various biological activities such as inhibition of protein / DNA synthesis and induction of apoptosis and autophagy. Therefore, trichothecenes such as T-2 toxin, diacetoxyscirpenol (DAS), verrucaric acid (VA) were examined as anticancer drug candidates. However, their toxicities are not specific to cancer cells and highly toxic to normal cells, thus, the application trials of these trichothecenes were forced to be suspended. However, nowadays, technology of antibody drug conjugates (ADCs) has remarkably progressed. In ADCs, small molecules of anticancer agents are bound to monoclonal antibodies against antigens that are specifically expressed only on cancer cells, hence, ADCs express toxicity only to cancer cells with specific cell surface antigen.

In this study, we currently prepared 20 types of trichothecenes and ten of them were applied to the five types of cancer cell lines (PK-1, MSTO-211H, MCF-7, A375, HL60). These ten trichothecenes are: three A-type trichothecenes (T-2 toxin, HT-2 toxin, DAS), two B-type trichothecenes (nivalenol, trichothecin), one D-type trichothecene (VA), and four intermediates (isotrichodermin (ITD) and isotrichodermol (ITDmol)), 7-hydroxyisotrichodermin (7-HIT), 8-HIT). When each trichothecene was added to 5 types of cell lines, their inhibitory effects and IC<sub>50</sub> values of each trichothecene against each cell lines varied, however, the order of toxicities of each trichothecene seemed to be similar in all cancer cells. In all cell lines, VA (type D) was most toxic, followed by type A trichothecenes, T-2 toxin, HT-2 toxin, and DAS. The least toxic ones were 7-HIT and 8-HIT.

Hybridoma 230-1 cells and 1B7 cells successfully produced enough anti-human EphA2 and EpCAM monoclonal antibody, respectively. The five cancer cell lines differ in the expressed cancer cell surface antigens. PK-1 cells and A375 cells express EphA2, while MSTO-211H and MCF-7 cells do EpCAM. HL-60 cell express neither of them. Cell lines that do not express each antigen can be used as negative controls.

In the end, a linker for amide binding was added to T-2 toxin to produce 3-[4-(N-succinimidoxycarbonyl)-butyryl] T-2 toxin. From the results of LC-MS / MS, the production of T-2 toxin with this linker was considered successful. Furthermore, we bound this T-2 toxin with the linker to the anti-human EpCAM monoclonal antibody. When the toxicity of the T-2 toxin-bound

antibody and the antibody itself were compared in MCF-7 cells, the toxicity was confirmed only in the former.

# 東洋大学に所蔵される中国語諸史資料のデータベース構築と活用開発

Construction and development of the database about the Collection of various Chinese source materials preserved at Toyo University

研究代表者 千葉正史（アジア文化研究所研究員、文学部史学科教授）

研究分担者 [アジア文化研究所研究員]

三沢伸生（社会学部・社会文化システム学科・教授）

[アジア文化研究所客員研究員]

大室智人（東洋大学文学部・非常勤講師）

研究期間／2021年4月1日～2022年2月15日

キーワード／①中国語 Chinese

②史資料 Source

③文書 Document

④データベース Database

⑤アーカイブ Archive

2021年度交付額／ 2,000,000 円

研究発表／学会および口頭発表

[単行本]

- ・千葉正史（監修）・小林英輝（編）『東洋大学所蔵の中国語諸史資料データベース構築の試み／构建东洋大学所存中国历史资料数据库的尝试／Attempt to Construct the Database for the Documentations in Chinese Language at Toyo University』東洋大学アジア文化研究所, 2022年.
- ・島田元太郎・阿部野利恭(著)；千葉正史（校訂）『北鮮北満並ニ露領ウスリー地方調査意見／Field Research in North Korea, North Manchuria and Russian Usuri』東洋大学アジア文化研究所, 2022年.
- ・野間信幸（監）・三沢伸生（編）『日本万国博覧会までの軌跡Ⅱ：日本の諸博覧会において東アジアがいかに表象されてきたか』東洋大学アジア文化研究所, 2021年.

[論文]

- ・千葉正史「要覧 交通運輸」『中国年鑑 2021』一般社団法人中国研究所、2021年
- ・千葉正史「清末憲政編查館作成の籌備未尽事宜清單について一足本の紹介と訳註一」『東洋大学文学部紀要』第75集史学科篇第47号, 2022年.

- ・ 三沢伸生 「戦前日本の中東表象」『『中東・イスラーム世界への30の扉』(西尾哲夫・東長靖:編) ミネルヴァ書房, 2021年, 25-34頁
- ・ 三沢伸生 「日本におけるトルコ関係文献の推移(3): オスマン帝国/トルコ共和国に関わる旅行記・紀行文の研究」『東洋大学アジア文化研究所 研究年報』56号, 2022年, 111-131頁.

#### [口頭発表]

- ・ 三沢伸生 「エルトゥールル号事件と日本=トルコ関係」早稲田大学オープンカレッジ(オンライン) 2021年10月26日.
- ・ 三沢伸生 (総括) 「国際シンポジウム 近現代の東アジアにおける相互の文化表象ー日本の中国文化表象と中国の日本文化表象ー」東洋大学アジア文化研究所(オンライン)、2022年2月6日.

## 研究経過および成果の概要

### 1. 研究方法

研究プロジェクト全実施期間を通して、現在、アジア文化研究所内において研究所所蔵の史資料データベース化のために組織されている「汎用性データベース開発・構築研究会」(同研究会の中心は研究代表者・研究分担者および国内外の共同研究者(共同研究者は過去の共同研究の成果にもとづき本研究所の客員研究員を中心とし、一部は新規の研究者を含む)を、継承して、図書館との連絡・協議を図りつつ、すでにデータベース化されている本研究所の中国語史資料のデータベースと、本プロジェクトによって新規に進める本学図書館所蔵の中国語史資料のデータベース化事業を連動して、その有効的活用システムを構築する。

上記研究会において2016-18年度、中国語・ハングル・ミャンマー語・トルコ語といったアジア諸言語史資料のデータベース化が進められてきたが、前述のように本学図書館所蔵のアジア諸言語史資料のうち、特に質・量的に特徴があり、広く学界において活用が期待される中国語史資料に特化して、より規模の大きいデータベース構築とその活用方法を図っていく。具体的な役割分担としては、研究代表者である千葉が近現代期の史資料、研究分担者である大室が中世・前近代期の史資料について研究会の中で主導してデータベースの具体的作業にあたる。その際には、本研究所に所属する、中国を専門とする研究員(後藤武秀・研究所所長、斎藤里美、有澤晶子、野間信幸、郝仁平、続三義、王亜新、王雪萍、劉永鵬ら)、客員研究員(飯塚勝重、石川重雄、植野弘子、高橋継男・元所長、横川伸・元所長、竹内洋介ら)、院生研究員(小林栄輝、程楽ら)および海外とりわけ本研究所と長きにわたる学術提携関係にある中国の華中科技大の客員研究員(王秋華、王浄華ら)らを研究協力者として上記研究会(対面/非対面オンライン方式)で作業を進める。

さらに日本とイスラーム世界の関係史研究を専門とする三沢は、本研究所において多く所蔵される、特筆すべきすべきコレクションとなっている回族・回教・伊斯蘭などイスラーム関係中国語史資料について、修得している中東地域の言語と専門知識を活かして、研究員の三沢伸生、客員研究員の安藤潤一郎を研究協力者として分析にあたる(ちなみに東洋大学でイスラームを研究対象の専門とする専任教員は子島と三沢の両名のみである)。学祖・井上円了もイスラームに興味を抱いていたこともあり、珍しく本学にはこの種のコレクションが存在し、従前まで中国研究において顧みられてこなかった同コレクションの整理・分析・データベース化は本プロジェクトの今一つの特徴

になるものと期待される。

上記の研究会・下位の作業部会における具体的な研究計画・方法としては、第一に国立情報学研究所（NII）によって整理公開されている CiNii および本学図書館の OPAC に依拠しながら、本研究所で今まで構築されたデータベースのシステムに基づき、本学図書館に所蔵される中国語史資料をデータベース化していき、本研究所のホームページ上での情報提供の準備を進める。また分析・整理途上に貴重な文献と認定されたものについては、保存のためのスキャナを用いたデジタル化を行い、著作権を考慮したうえでの将来的なデジタル・アーカイブの準備を進める。本プロジェクトの主眼はデータベース構築・活用であり、現在注目されるデジタル・アーカイブの構築については、解決すべき問題がまだ残されているのであくまで将来的な公開準備にとどめる。

## 2. 研究経過および成果の概要

最終年度である 2021 年度においても、中間年度の 2020 年度と同じく、世界規模のコロナ禍の影響を、国内外の多くの学術研究プロジェクトと同じく、深刻な打撃を被り続け、本来ならば計画の総括をすべきところであったが、昨年来の研究の遅延状況のなかで、必ずしも満足のいく形で計画を終えざるを得なかったことは忸怩たるものが残る。

計画立案時から、アジア文化研究所と長年の学術研究交流のある中国人研究協力者の招聘、こちらからの中国および台湾への出張は 2020 年度同様に 2021 年度においても実現することは出来なかった。このコロナ禍により、オンライン形式による研究会実現方式が普遍化してきた。本研究においても 2021 年度に何度か非公開形式でオンライン研究会を行ったが、残念ながら中国においてはその状況は万全でなかったという点（とりわけ本研究所と良好な学術協力体制にある華中科技大学がコロナ発生源と目される武漢に位置し、様々な制限が残存した）と、漢籍現物資料をデジタル化して共有しても、紙質や印字状況を復元することは不可能であり、デジタル化資料を共有しながらの研究会は他分野と違って必ずしも順調に運営することが出来なかった。また漢籍のデータベースには漢籍現物との照合が不可欠であるが、昨年度同様にコロナ禍による東洋大学図書館の長期閉鎖とりわけ多くの古い漢籍が保管される板倉保存書庫の閉鎖によって長期間作業を中断せざるを得なくなった。加えて学生バイトの雇用制限により、在宅テレワーク勤務も導入したもののデータベースの入力作業が大いに遅れてしまった。

このように本プロジェクトの主眼であるデータベース構築作業は停滞せざるを得なくなり、当初計画の完全実施を断念し、国内外に大きな関心を集めるであろう、漢籍を厳選して、データベースの祖型を築き上げ、以後は本研究所の通常研究業務のなかで継続・拡張していくこととした。その成果を初年度・中間年度と同じく、アジア文化研究所の研究叢書たる ACRI Research Paper Series の 1 冊として上梓した。すなわち、研究代表者の千葉正史の監修のもとにおいて、院生研究員である小林栄輝が編纂した『東洋大学所蔵の中国語諸史資料データベース構築の試み／构建东洋大学所存中国历史资料数据库的尝试／Attempt to Construct the Database for the Documentations in Chinese Language at Toyo University』である。同時に本書において取り纏めたデータベースは、（URL <https://www.toyo.ac.jp/research/labo-center/acri/activities/kanseki/>）で国内外を問わず自由に閲覧できる形で公開している。

また初年度の分担者である子島進研究員（国際学部国際地域学科・教授）を引き継いだ三沢伸生研究員（社会学部社会文化システム学科・教授）が中心に進めている中国語諸史資料に含まれる回教・回族・伊斯蘭（イスラーム）関係につき、アジア文化研究所において約 100 点あまりの書籍（多

くが、新疆・雲南関係のもの)が、研究協力者の安藤潤一郎・客員研究員(専門:近代の中国イスラーム)の協力を得ながら、上記の漢籍データベースと並んで、進めており、漢籍データベースに続いて研究所のホームページ上に公開する予定である。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

初年度の成果報告により指摘を受けた、中国研究者を招聘し、こちらも中国・台湾に短期出張して調査・研究することが不可能になったほか、上記のように図書館の長期閉鎖の影響を受けて、データベース構築作業は著しい遅延状況にあり、前述のように必ずしも当初計画どおりのデータベース構築には至らなかったものの、その基本形を完成させて、今後のさらなる充実化を図ることを可能とする基礎を築き上げたことは成果である。

計画は終了するが、今後の研究所の日常的研究活動の中で、このデータベース構築作業を継続していくこと、さらに完全払底はまだ時間を要すであろうが、コロナ禍の影響縮小により、中国と台湾の研究者との直接交流が復活した際には、漢籍現物をもとにデータベース内容の検証とさらなる充実化を図ることを課題として、本研究を総括するものである。

## Summary

### [1. Method]

Our research project is organized with the aim for the development and construction of the special database of the various Chinese source materials collections belonged to TOYO University, which have been collected by the Library of TOYO University and 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 special database of the various Chinese source materials (books, magazines, newspapers, documents, photographs and so on). Furthermore we would like to pay attention on the minority in the China, such as the Chinese Muslims and Tatars in China.

### [2. Development Process of the Project & Abstract of the Research Results]

In the third i.e. the last year (2021-2022), due to the world-wide pandemic COVID-19, like the second year, we could not carry on our project for the most part, as planned. Because TOYO University was obliged to close all libraries (HAKUSAN Campus, but also ITAKURA Storage) and restrict to employ the assistants at university. It was not permitted to promote out database plan, but to hold the online meetings among the members. In this very bad circumstance, we carried out the following (but limited) developments. (1) We continued to make the data-base of the Chinese source material collections at TOYO University under the limited circumstance of the COVID-19. Two postgraduate students (one Japanese and one Chinese) worked at ACRI. (2) But we obliged to change the plan and reduce the size of the

data-base about the whole collection but the selected and important collection. (3) We published the book about above mentioned the data-base about the selected collection as one of the booklet among the ACRI Research Paper Series under the title: Attempt to Construct the Database for the Documentations in Chinese Language at Toyo University, and also opened to the public as the basic date-base on our WEB site (URL: [https:// www.toyo.ac.jp/research/labo-center/acri/activities/kanseki/](https://www.toyo.ac.jp/research/labo-center/acri/activities/kanseki/)) . (4) In addition, among our Chinese source materials, we found some important materials about Chinese Muslims especially Uyghurs in China.

### **[3.Future Tasks for the Research Project]**

Due to the COVID-19, we are very sorry to make the data base about whole collection of TOYO University. But we constructed the basic data-base of the Chinese source materials at TOYO University. Now we must continue to satisfy our date-base after this program. And after the disaster of the COVID-19 was resolved, we would like to collaborate with the Chinese colleagues to develop our data-base. We are ready to continue to develop our data-base after this program (2019-2022).

# 新規球状ナノ炭素材料「マリモカーボン」の合成と用途探索

—エネルギー・環境・生体分野への応用を目指して—

## The controllable growth of a novel spherical Marimo-like carbon -For the application of energy, environment, and biocompatible devices-

研究代表者 蒲生西谷 美香(理工学部応用化学科)

研究分担者 相沢 宏明(理工学部応用化学科)

井坂 和一(理工学部応用化学科)

物部秀二(理工学部機械工学科)

(吉野隆(理工学部機械工学科))

吉本智巳(理工学部電気電子情報工学科)

村野昭人(理工学部都市環境デザイン学科)

稲本将史(SAITEC)

伴雅人(日本工業大学)

中川清晴(関西大学)

江口美佳(茨城大学)

研究期間／2021年4月1日～2022年2月15日

キーワード／①繊維状ナノ炭素 Carbon nanofilament

②触媒 Catalyst

③化学気相合成 Chemical Vapor Deposition (CVD)

④燃料電池 Polymer Electrolyte Fuel Cell (PEFC)

⑤水素センサ Hydrogen gas sensor

2021年度交付額／ 1,800,000円

研究発表／学会および口頭発表

・ K. Saito, M. Shiraishi, R. Saito, N. Kuroda, H. Shiroishi, K. Nakagawa, T. Ando, M. Nishitani-Gamo,

“Chemical Modification of the Carbon Nanofilament Surfaces with using a Nitric Acid”,

INTERFINISH2020, September 7-9, 2021, Nagoya, Japan. (コロナ禍により1年延期開催)

・ M. Shiraishi, M. Inamoto, K. Nakagawa, T. Ando, M. Nishitani-Gamo,

“Thin-film Preparation of the Rotating Ring-disk Electrode for Oxygen Reduction Measurements of the Pt/Marimo-like Carbon Catalyst”,

INTERFINISH2020, September 7-9, 2021, Nagoya, Japan. (コロナ禍により1年延期開催)

・ K. Tominaga, H. Aizawa, K. Aoki, H. Shiroishi, T. Ando, and M. Nishitani-Gamo,

“Thermal Oxidation of the Pd Thin-film Sputtered on Carbon Fiber Paper for Room Temperature Hydrogen Gas Sensor”,

INTERFINISH2020, September 7-9, 2021, Nagoya, Japan. (コロナ禍により1年延期開催)

・ Y. Kishi, M. Shiraishi, K. Saito, K. Utsuki, K. Nakagawa, T. Ando, M. Nishitani-Gamo,

”The Effect of the Diamond Support Oxidation States on the Co-Cu Bimetal-catalyzed Growth of the

Marimo-like Carbons”,

INTERFINISH2020, September 7-9, 2021, Nagoya, Japan. (コロナ禍により 1 年延期開催)

以上国際学会発表 4 件

・ 富永晃多, 相沢宏明, 青木耕輔, 城石英伸, 安藤 寿浩, 蒲生西谷 美香

“スパッタリング法による Pd 担持カーボンペーパー複合材料の調製と評価”

(一社) 表面技術協会第 144 回講演大会 (2021 年 9 月 16 日～17 日)、講演番号: 16C-29

・ 岸雄大, 白石美佳, 斉藤郁, 宇津木晃大, 中川清晴, 安藤寿浩, 蒲生西谷美香

“酸化ダイヤモンド担持 Co-Cu 触媒を用いたマリモカーボンの合成と評価”

(一社) 表面技術協会第 144 回講演大会 (2021 年 9 月 16 日～17 日)、講演番号: 17C-06

・ 宇津木晃大, 岸雄大, 青木耕輔, 中川清晴, 安藤寿浩, 蒲生西谷美香

“可動床流通式合成装置を用いたマリモカーボンの合成”

(一社) 表面技術協会第 144 回講演大会 (2021 年 9 月 16 日～17 日)、講演番号: 17C-07

・ 斉藤郁, 白石美佳, 黒田菜摘, 齋藤凜, 城石英伸, 中川清晴, 安藤寿浩, 蒲生西谷美香

“酸化マリモカーボンの表面化学吸着状態”

(一社) 表面技術協会第 144 回講演大会 (2021 年 9 月 16 日～17 日)、講演番号: 17C-08

・ 黒田菜摘, 白石美佳, 斉藤郁, 齋藤凜, 城石英伸, 中川清晴, 安藤寿浩, 蒲生西谷美香

“回転翼を用いた攪拌法によるマリモカーボン液相酸化処理”

(一社) 表面技術協会第 144 回講演大会 (2021 年 9 月 16 日～17 日)、講演番号: 17C-09

・ 齋藤凜, 白石美佳, 斉藤郁, 城石英伸, 中川清晴, 安藤寿浩, 蒲生西谷美香

“過酸化水素を用いた液相酸化によるマリモカーボンの表面修飾”

(一社) 表面技術協会第 144 回講演大会 (2021 年 9 月 16 日～17 日)、講演番号: 17C-10

・ 今野龍刀, 城石英伸, 白石美佳, 蒲生西谷美香

“電析法によって調製した Ru/TiO<sub>2</sub> 触媒を用いた低温常圧下における電気化学的窒素還元”

(一社) 日本太陽エネルギー学会研究発表会 (2021 年 11 月 11 日～12 日)、講演番号: 62

・ 青木耕輔, 富永晃多, 相沢宏明, 安藤 寿浩, 蒲生西谷 美香

“含浸法による Pd 担持カーボンペーパー複合材料の調製と評価”

(一社) 表面技術協会第 145 回講演大会 (2022 年 3 月 8 日～9 日)、講演番号: P-55

・ 岸雄大, 青木耕輔, 宇津木晃大, 中川清晴, 安藤寿浩, 蒲生西谷美香

“可動床流通式合成装置を用いたマリモカーボンの合成と評価”

(一社) 表面技術協会第 145 回講演大会 (2022 年 3 月 8 日～9 日)、講演番号: 09A-4

・ 宇津木晃大, 富永晃多, 斉藤郁, 青木耕輔, 岸雄大, 齋藤凜, 安藤寿浩, 蒲生西谷美香

“化学的気相合成法による繊維状ナノ炭素/カーボンペーパー複合材料の合成と評価”

(一社) 表面技術協会第 145 回講演大会 (2022 年 3 月 8 日～9 日)、講演番号: 09A-5

・ 林出帆, 城石英伸, 白石美佳, 蒲生西谷美香

“還元型酸化グラフェンをベースとした非白金系酸素還元触媒のスプレードラム法と加圧熱処理による高活性化”

(公社) 電気化学会第 89 回大会 (2022 年 3 月 15 日～17 日)、講演番号: 1Q-16

・ 鷹取樹, 今野龍刀, 白石美佳, 城石英伸, 蒲生西谷美香

“Cu コア Ru シェル/TiO<sub>2</sub>/CP 触媒を用いた低温常圧下における選択的窒素還元触媒の開発”

(公社) 電気化学会第 89 回大会 (2022 年 3 月 15 日～17 日)、講演番号: 1Q-18

・比留間湧介、水野梨花、今野龍刀、城石英伸、白石美佳、蒲生西谷美香

“シラン処理した  $\text{TiO}_2/\text{CP}$  への Ru ナノ粒子の電析とその特性”

(公社) 電気化学会第 89 回大会 (2022 年 3 月 15 日～17 日)、講演番号: 1Q-19

・今野龍刀、城石英伸、白石美佳、蒲生西谷美香

“電析法によって作製した  $\text{Ru}/\text{TiO}_2/\text{CP}$  電極を用いた低温常圧下におけるアンモニア電解合成”

(一社) 電子情報通信学会有機エレクトロニクス研究会 (2022 年 3 月 26 日) 講演番号: (2)

以上国内学会発表 14 件

合計 18 件

研究発表／論文発表

M. Shiraishi, K. Nakagawa, T. Ando, M. Nishitani-Gamo,

"The effect of copper on the multiple carbon nanofilaments growths by the methane decomposition over the oxidized diamond-supported nickel-copper bimetallic catalyst", SN Applied Sciences 4 126 (2022).

(下記 URL よりオープンアクセス)

<https://rdcu.be/cKpnY>

研究経過および成果の概要

#### 1. 研究方法

2021 年度は以下の項目について検討を行った。

①昨年度に引き続き、マリモカーボンのミクロおよびマクロ構造を制御可能な触媒として、Co-Cu 触媒を用いた合成に取り組んだ。Co と Cu は、周期表上で Ni の両側に位置する元素である。この二元系触媒によって、Ni と同様の触媒活性が得られるのか、否かという興味に加えて、Ni への Cu 添加によるマリモカーボン微細構造への影響が大きいことから、Cu を含む二元系触媒として Co-Cu 触媒に関してもマリモカーボン合成への影響を調べた。Co への Cu 添加量 1%前後に、マリモカーボン生成量に影響が大きいことを把握しているため、この 1%を制御するための触媒調製法を工夫し、1%以下のレベルで制御した触媒を調製して合成を行った。

②マリモカーボン合成に対する鉄族触媒への Cu 添加効果について調べるため、新たに酸化ダイヤモンド担持 Fe-Cu 二元系触媒を調製し、マリモカーボン合成を試みた。反応ガスは、メタン、およびエチレンガスと水素の混合ガスを用いた。

③Ni-Cu 触媒を用いてメタンとの接触反応により合成したマリモカーボンは、グラフェンが積層してなるコイン積層構造を持っていることから、マリモカーボンを構成する繊維状ナノ炭素表面のグラフェンエッジ数は、Ni 触媒を用いた場合のカップ積層構造よりも多い。昨年に引き続き、この微細構造の違いが、Pt を担持した場合の担持状態に及ぼす影響を調べ、電気化学的酸素還元能測定を行った。

④マリモカーボンのグラフェンエッジをルイス塩基的に化学修飾することを引き続き検討した。酸は、硝酸、過酸化水素に加えて、次亜塩素酸を用い、酸の濃度、処理温度 (室温から 80°C 程度) および処理時間が酸化状態に及ぼす影響を調べた。③の Ni-Cu 触媒を用いて合成したマリモカーボンについても、液相酸化処理を行い、マリモカーボンの微細構造の違いと化学吸着構造の関係を調べた。溶液酸化は、マイルドな酸化方法として採用している。空気中の加熱処理では、マリモカーボンの酸化状態をコント

ロールすることは困難で燃焼してしまう。表面化学吸着種の存在については、酸素含有官能基の存在だけでなく、構造についても X 線光電子分光法により調べた。加えて、吸着構造と量について中和反応を用いて調べ、XPS スペクトルとの対応から、吸着構造と酸化処理条件との関係を明らかにした。

⑤昨年度、日工大・伴先生と検討した、マリモカーボンと足場材料との複合化条件が細胞（マウス）培養に及ぼす影響（増殖・毒性など）を調べる予備実験に端を発し、マリモカーボンの抗菌・抗ウイルス作用の検討を調査することになった。伴先生は、様々な炭素系材料を対象に、調査検討中である。一方で、マリモカーボンに加えて、カーボンペーパーに CNFs を合成して複合化した材料（CNFs/CFP）についても、この検討に加えるため、当方にて合成実験を進めた（→⑦）。

⑥マリモカーボン合成量のスケールアップをはかり、さらにマリモカーボン粒径の微細化を目指した回転機構付気相合成装置を用いて、合成実験を進めた。反応ガス流量、温度、リアクター回転数がマリモカーボンの生成に及ぼす影響を調べた。

⑦カーボンペーパー（CFP）の厚みが約 2 倍のものを基板として、面内および厚み方向に均一な CNFs/CFP の合成条件確立を目指して、合成に必要なニッケル触媒の担持法を検討し、併せて再現性の向上を試みた。CFP の利用を考えた取り組みとして、Pd との複合化実験を行い、水素センサとしての優位性を確認することができた。

## 2. 研究経過および成果の概要

マリモカーボンの微細構造制御に関する検討は、酸化ダイヤモンド担持 Co-Cu 二元系触媒および Fe-Cu 二元系触媒を用いた合成に取り組んだ。前者の場合、Cu をわずか 1% 添加することで、Co のみの場合と比べて約 4 倍のマリモカーボン生成量が得られることを見出し、この現象は、ダイヤモンド担体の酸化温度の違いが大きく影響していることを確認している。さらにこのとき、マリモカーボンを構成する CNFs の直径分布が異なること、TEM 観察から、触媒微粒子のぬれ性が異なる様子が観察された。ダイヤモンド担体の酸化処理温度がより高い 450°C の場合は、ダイヤモンド表面の酸素化学吸着構造はラクトン構造が主となり、より電気陰性になると考えられる。加えて、酸化による表面のエッチングが進めば、原子層レベルでの粗さも大きくなる可能性がある。このようにダイヤモンド表面の物理化学的状態の違いが、Co<sub>9</sub>-Cu<sub>1</sub> 触媒微粒子の担持状態に影響を及ぼし、CNFs 直径分布に違いをもたらしたと考えられる。得られたマリモカーボンを構成する繊維状ナノ炭素は、直線状というよりは、らせん状構造に近く、透過型電子顕微鏡で微細構造を調べたところ、カップ積層構造であった。Ni 触媒を用いた場合と異なり、触媒 1 モルあたりの生成量が少ないが、直径分布は 40 nm 程度で Ni の場合と比べて細かい特徴がある。このグラフェンエッジを酸化することで、生成量は少なめであっても、ルイス塩基的表面の特徴を利用できる可能性がある。Fe-Cu 二元系触媒を用いたマリモカーボン合成においては、既報文献と同様に、メタンのみ、エチレンのみでは合成不可能で、エチレンと水素の混合ガスを用いることで CNFs 成長を確認できた。反応温度 550°C では、Fe:Cu=7:3 の比率で調製した触媒を用いた場合に、最も生成量が多くなった。CNFs のモルフォロジーは、ねじれたもの、直線状のものが混在していた。今後、繰り返し合成実験による再現性の確認、反応温度が形態に及ぼす影響等、詳細を調べる。

Ni-Cu 二元系触媒で合成したマリモカーボンに Pt を担持し、イオノマーと複合化したスラリーを用いて電気化学的酸素還元能を調べたところ、Ni 触媒で合成したマリモカーボンの場合と比較して、同じ Pt 担持量でより高い電圧で反応が生じることが確認された。TEM 観察から Pt 粒径分布はどちらのマリモカーボンに担持した場合も同様であったため、イオノマーとの複合化状態に差が

生じた可能性があり、現在原因を調査中である。市販の PEFC 用 Pt 触媒は、微粒子状炭素担体に Pt を 20~50 wt%程度担持したのものもある。Ni-Cu マリモカーボンを担体とした場合は、Pt 量が 10 wt%程度で十分な酸素還元能の発現を見出している。Pt の有効活用に資する担体になりうると考えられる。

マリモカーボンの液相酸化に関する取り組みでは、用いる酸の種類、マリモカーボンの微細構造の違いによって、酸性官能基の種類と量に特徴が表れる結果を得ている。マリモカーボンを構成する CNFs を作るグラフェンの構造が異なり、その結果グラフェンエッジ間の距離が異なる場合に、酸性官能基の吸着量にも影響があらわれた。このことから、酸化は、グラフェンの面内ではなく、グラフェンエッジで生じていることが示唆された。中和滴定を用いた酸性官能基の分別定量は、酸化条件と酸化状態を考察するにあたって中心となるデータであり、実験の再現性も向上しつつある。今後、酸化時間と吸着構造の関係を明らかにし、吸着構造の制御とルイス塩基性の評価を試みる。

カーボンペーパーを基板として、それを構成する炭素繊維一本一本に、均一に CNFs を合成し、CNFs/CFP 複合材料を合成する試みは、特に CNFs 合成のための Ni 触媒の担持方法を検討することにより、合成実験の再現性向上を図ることができた。CFP の厚みを二倍にした実験では、厚み中心部の CNFs 成長に関して、引き続き検討が必要であるが、ひとまず三次元的に CNFs を合成することができた。今後、センサやフィルター等、考えている用途に対応した実験も進めていく。CFP を用いた水素センサ開発では、CFP と Pd との複合化について、気相法、液相法の両面から検討を進めている。気相法はスパッタリング法により Pd を担持し、その酸化状態、すなわち Pd と酸化物との混在状態とその存在状態が水素との反応を左右することを明らかにした。液相法では、Pd 微粒子を担持する方法について、多面的に検討した結果、核発生とその粒成長を考慮したプロセスが重要であることを確認できた。

マリモカーボンの量産機プロトタイプを用いた合成実験について、装置が本格稼働し、合成パラメータと生成物の関係が少しずつ明らかになってきた。期待していたマリモカーボン粒子径の微細化については、反応容器の回転が、サブミリレベルの粗粒の減少に効果を発揮することを確認できた。本実験に関しては、技術発表として、(一社)表面技術協会の春秋講演大会にて定期的に報告し、用途探索、試料提供のきっかけを得るための活動を引き続き行う。

### 3. 今後の研究における課題または問題点

懸案であった古い走査型電子顕微鏡を共有設備として更新することができ、毎日の実験に欠かせないツールが安定して利用できる環境が得られたことで、最も大きな問題点は解決した。合成した材料の電気化学的測定に関して、埼玉県産業技術センターと引き続き協働していくため、現在取り交わしている共同研究契約を継続して締結したいと考えている。マリモカーボンの用途探索については、地道な学会広報活動を継続し、物性面での利用についても実験を進めて情報発信を行う。コロナ禍の状況による今後の活動への制約については未知数であるが、引き続き研究に参画する研究者および学生の健康と安全を第一に取り組む。

## Summary

A novel spherical carbon, we named as the “Marimo-like carbon”, consists carbon nanofilaments which are grown from a catalyst particles supported on the diamond powder surfaces. We have investigated a catalytic growth of the Marimo-like carbon to realize a

structure-controllable growth process for the respective applications such as a support material for the catalyst particles of PEFC, an electrolyte material for the Li-ion battery, a water-treatment agent, a cell scaffold material, a hydrogen-sensor, and so on. In this fiscal year, we studied the following topics in our theme.

The effect of Cu addition to the Co and Fe catalyst on the fine structure of the CNFs consisted of the Marimo-like carbon. We found that a small amount of Cu addition, 1 % molar ratio to the Co catalyst gave four times Marimo-like carbon growth, and the effect was strongly observed in the case of using 450 C oxidized diamond powder as a support material. The diameter distribution of CNFs grown with Ni catalysts supported on the 450 C oxidized diamond powder was larger than that of obtained with 400 C oxidized ones. We have revealed that the shape of Ni catalyst on the oxidized diamond surface was influenced by the oxidation temperature, and the difference in the shape would affect to the CNFs diameter distribution.

We used the glassy-carbon electrode covered with the Marimo-like carbon-ionomer composite slurry for the oxygen reduction reaction measurement. As the Marimo-like carbon grown with Ni-Cu/O-dia. catalyst was used for the Pt support, we obtained a higher ORR voltage compared to the case of using Marimo-like carbon grown with Ni/O-dia. catalyst. The reason of the difference is going to investigate to understand the origin of the higher ORR reactivity.

The liquid-phase oxidation conditions of the Marimo-like carbon was studied and revealed the relation between the conditions and the oxidation states in the case of using nitric acid. We also used another acids such as hydrogen peroxide and hypochlorous to oxidize the CNFs surfaces. The effect of kinds of acid, treatment temperature, and time on the oxidation states of the graphene edges of Marimo-like carbon is under investigation. As we used nitric acid for the treatment, a difference in the fine structure of the CNF consisted of Marimo-like carbon resulted in the difference in the amount of carboxyl group and hydroxyl (phenolic) group.

We have established to prepare a new method for supporting the Ni catalysts on the CFP surfaces for growing CNFs on CFP, and to grow an almost uniform CNFs/CFP both in the plane and the thickness as with using a thicker CFP. We have tried to make a composite of Pd and CFP for a hydrogen sensor. We revealed experimentally that the sensing ability was controlled by tuning the appropriate Pd oxidation states.

The semi-large-scale chemical vapor deposition system equipped with a rotation reactor was settled up, and the effect of growth parameters such as a space velocity of reaction gas, a reaction temperature, and a rotation speed on the grown material was under investigation. We found that the reactor rotation resulted in the reduction of sub-millimeter Marimo-like carbon growth.

2021年度 井上円了記念研究助成事業報告(執行実績一覧)

※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】

| No.         | 身分 | 研究代表者  |                 |                 | 指導教員名  | 研究課題名   | (単位:円)     | (単位:円)     | (単位:円)  | (単位:%)  |
|-------------|----|--------|-----------------|-----------------|--------|---|------------|------------|---------|---------|
|             |    | 氏名     | 学部/研究科/センター     | 学科/専攻           |        |   | 採択額        | 執行額        | 未執行額    | 執行率     |
| 1           | 院生 | 保科 俊   | 社会学研究科          | 社会学専攻           | 海野 敏   | 明治期～平成期の怪異妖怪流言都市伝説を扱う人々を追う～社会心理メカニズムをふまえて～                    | 416,000    | 416,000    | 0       | 100.00% |
| 2           | 院生 | 蘇 雨青   | 社会学研究科          | 社会心理学専攻         | 桐生 正幸  | 保護者は子どもに対する危険箇所の把握はできるのかー保護者のリスク評価に関連する環境要因と心理的要因からの検討ー       | 630,000    | 624,704    | 5,296   | 99.16%  |
| 3           | 院生 | 伊藤 龍信  | 社会学研究科          | 社会心理学専攻         | 大島 尚   | 新型コロナウイルスの感染者はなぜ、誰に批判されるのか？(同性間競争が感染者に与える進化心理学的影響)            | 560,000    | 560,000    | 0       | 100.00% |
| 4           | 院生 | 齋藤 祥太郎 | 理工学研究科          | 生体工学専攻          | 小川 繁彦  | 把握運動の運動プロトコルの違いが認知機能に及ぼす影響                                    | 560,000    | 526,069    | 33,931  | 93.94%  |
| 5           | 院生 | 坂本 悠生  | 理工学研究科          | 応用化学専攻          | 井坂 和一  | 脱窒プロセスにおける有機系廃液の再利用条件の検討                                      | 552,000    | 551,993    | 7       | 100.00% |
| 6           | 院生 | 小泉 慶明  | 理工学研究科          | 応用化学専攻          | 安藤 直子  | A型トリコセンを用いた抗体医薬作製の試み<br>～より副作用の少ない抗癌剤開発を目指して～                 | 560,000    | 559,922    | 78      | 99.99%  |
| 7           | 院生 | 松尾 元輝  | 理工学研究科          | 応用化学専攻          | 安藤 直子  | Fusarium系カビ毒nivalenolの検出に向けた異菌糸状菌酵素の利用                        | 556,000    | 555,924    | 76      | 99.99%  |
| 8           | 院生 | 小宮山 寿紗 | 理工学研究科          | 応用化学専攻          | 峯岸 宏明  | 紫外線抵抗性好塩性古細菌の諸性質解析  | 560,000    | 559,955    | 45      | 99.99%  |
| 9           | 院生 | 曾 雷情   | ライフデザイン学<br>研究科 | ヒューマンライフ学<br>専攻 | 大迫 正文  | 後肢加重低減に伴うラット腰骨関節軟骨の過度な石灰化に対する運動および通電刺激の抑制効果                   | 700,000    | 699,677    | 323     | 99.95%  |
| 10          | 院生 | 水藤 飛来  | ライフデザイン学<br>研究科 | 健康スポーツ学専<br>攻   | 大迫 正文  | 骨折後の回復促進を図る新たな通電刺激法の開発  | 700,000    | 700,000    | 0       | 100.00% |
| 11          | 院生 | 南園 航   | ライフデザイン学<br>研究科 | 健康スポーツ学専<br>攻   | 大迫 正文  | 後肢懸垂ラットにおける骨量維持のための異なる通電刺激法の効果の比較                             | 630,000    | 623,843    | 6,157   | 99.02%  |
| 12          | 院生 | 岡崎 夏鈴  | 生命科学研究科         | 生命科学専攻          | 梅原 三貴久 | 植物の不定芽形成制御因子の探索   | 630,000    | 630,000    | 0       | 100.00% |
| 13          | 院生 | 金子 凌   | 生命科学研究科         | 生命科学専攻          | 金子 律子  | 11-KT以外のホルモンでGnRH3の発現に影響を及ぼすホルモンはあるか？また、影響する際のメカニズムはどのようなものか？ | 555,000    | 548,052    | 6,948   | 98.75%  |
| 14          | 院生 | 比嘉 彩香  | 生命科学研究科         | 生命科学専攻          | 金子 律子  | Collapsin Response Mediator Protein4(CRMP4)が樹状突起形成に及ぼす影響      | 557,000    | 549,538    | 7,462   | 98.66%  |
| 15          | 院生 | 塩崎 野佳  | 生命科学研究科         | 生命科学専攻          | 金子 律子  | 自閉症モデルマウスを用いて自閉症に性差を引き起こすメカニズムに関する仮説を検証する                     | 559,000    | 491,260    | 67,740  | 87.88%  |
| 16          | 院生 | 堀口 元気  | 生命科学研究科         | 生命科学専攻          | 廣津 直樹  | 水陸両生植物の光合成水中順応における誘導経路と順応メカニズムの解明                             | 630,000    | 630,000    | 0       | 100.00% |
| 17          | 院生 | 鈴木 晶貴  | 生命科学研究科         | 生命科学専攻          | 三浦 健   | ポイセンベリー成分ががん細胞に及ぼす増殖抑制効果の解析                                   | 609,000    | 496,634    | 112,366 | 81.55%  |
| 18          | 院生 | 飯山 桃子  | 生命科学研究科         | 生命科学専攻          | 三浦 健   | 既知菌株種による新規硝化脱窒槽の構築および微生物叢の解析                                  | 552,000    | 551,983    | 17      | 100.00% |
| 19          | 院生 | 山下 陽平  | 生命科学研究科         | 生命科学専攻          | 児島 伸彦  | シナス部後部のHUBタンパク質Homerのパートナー分子の加齢変化                             | 560,000    | 528,677    | 31,323  | 94.41%  |
| 20          | 院生 | 佐藤 飛翔  | 生命科学研究科         | 生命科学専攻          | 根建 拓   | 神経細胞における酸化ストレス依存的なEVs糖鎖修飾メカニズムの解明                             | 630,000    | 623,131    | 6,869   | 98.91%  |
| 21          | 院生 | 下田 歩夢  | 生命科学研究科         | 生命科学専攻          | 根建 拓   | 神経細胞におけるプログラヌリンの発現制御とその生理的意義                                  | 700,000    | 695,191    | 4,809   | 99.31%  |
| 22          | 院生 | 小澤 莉莉  | 生命科学研究科         | 生命科学専攻          | 椎崎 一宏  | 津軽海峡において繁殖するウツウ <i>Cerorhinca monocerata</i> の採餌海域選択と餌利用      | 560,000    | 560,000    | 0       | 100.00% |
| 23          | 院生 | 浅香 昌弘  | 生命科学研究科         | 生命科学専攻          | 川口 英夫  | セルフエフィカシーがモチベーションと脳活動に与える影響                                   | 560,000    | 559,998    | 2       | 100.00% |
| 24          | 院生 | 田上 陸   | 生命科学研究科         | 生命科学専攻          | 小柴 和子  | 都市部に順応したタイワンリスの基礎生態と分布拡大メカニズムの解明                              | 700,000    | 700,000    | 0       | 100.00% |
| 25          | 院生 | 関 大河   | 食環境科学研究科        | 食環境科学専攻         | 矢野 友啓  | NK細胞による前立腺がん幹細胞を標的とした次世代予防法の可能性                               | 630,000    | 629,978    | 22      | 100.00% |
| 26          | 院生 | 高濱 柚黄  | 食環境科学研究科        | 食環境科学専攻         | 矢野 友啓  | 大腸がん幹細胞を標的としたエビジェネティクス制御を介する新規予防法の検討                          | 700,000    | 699,260    | 740     | 99.89%  |
| 27          | 院生 | 福岡 那葉  | 食環境科学研究科        | 食環境科学専攻         | 矢野 友啓  | 食品機能性素材を用いた悪性黒色腫新規療法構築に向けた検討                                  | 700,000    | 700,000    | 0       | 100.00% |
| 28          | 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  | 栄養素摂取が一過性有酸素運動後の血漿ホモステイン上昇抑制に及ぼす影響                            | 630,000    | 618,062    | 11,938  | 98.11%  |
| 29          | 院生 | 二宮 佑輔  | 食環境科学研究科        | 食環境科学専攻         | 矢野 友啓  | δ-トコトリエノール摂取によるヒト血中LDLコレステロール低下の検討                            | 630,000    | 334,483    | 295,517 | 53.09%  |
| 30          | 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  | 弾性ストッキングの着用に伴う静脈血管伸展性増大が下肢運動時の下腿部静脈還流量および一回拍出量に及ぼす影響          | 630,000    | 619,926    | 10,074  | 98.40%  |
| 大学院学生 合計30件 |    |        |                 |                 |        |   | 18,146,000 | 17,544,260 | 601,740 | 96.88%  |

【校友】

| No.     | 身分 | 研究代表者  |             |                | 指導教員名  | 研究課題名                               | (単位:千円)   | (単位:円)    | (単位:円)  | (単位:%)  |
|---------|----|--------|-------------|----------------|--------|-------------------------------------|-----------|-----------|---------|---------|
|         |    | 氏名     | 学部/研究科/センター | 学科/専攻          |        |                                     | 採択額       | 執行額       | 未執行額    | 執行率     |
| 1       | 校友 | 寅野 遼   | 文学研究科       | 哲学専攻           | 三重野 清顕 | 井上円了と日本における神学政治問題                   | 675,000   | 673,965   | 1,035   | 99.85%  |
| 2       | 校友 | 藤井 明   | 文学研究科       | インド哲学仏教学<br>専攻 | 山口 しのぶ | インド密教における入門儀礼と成就法の記述を通じた異宗教間交渉の比較研究 | 689,000   | 679,426   | 9,574   | 98.61%  |
| 3       | 校友 | 小川 祐喜子 | 社会学研究科      | 社会学専攻          | 宇都宮 京子 | 劣化する若者支援——現場支援者の語り手がかりに——           | 450,000   | 450,000   | 0       | 100.00% |
| 4       | 校友 | 渡辺 芳   | 社会学研究科      | 社会学専攻          | 細井 洋子  | 野宿者のもつ困難課題に関する研究                    | 496,000   | 145,494   | 350,506 | 29.33%  |
| 5       | 校友 | 金子 迪大  | 社会学研究科      | 社会心理学専攻        | 堀毛 一也  | 資源間の補償的関係の検討                        | 630,000   | 603,206   | 26,794  | 95.75%  |
| 6       | 校友 | 塚田 耕太郎 | 生命科学部       | 生命科学科          | 一石 昭彦  | アカバカビにおけるDNA鎖間架橋修復機構とSLMxホモログの解析    | 560,000   | 559,818   | 182     | 99.97%  |
| 校友 合計6件 |    |        |             |                |        |                                     | 3,500,000 | 3,111,909 | 388,091 | 88.91%  |

## 【教員】

(単位:千円) (単位:円) (単位:円) (単位:%)

|          | 資格   | 研究代表者  |                      |                 | 研究課題名   | 採択額        | 執行額        | 未執行額      | 執行率     |
|----------|------|--------|----------------------|-----------------|---|------------|------------|-----------|---------|
|          |      | 氏名     | 学部/研究科               | 学科/専攻           |   |            |            |           |         |
| 1        | 教授   | 萩原 喜昭  | 文学部                  | 国際文化コミュニケーション学科 | 巨大ブラックホールへのエネルギー供給メカニズムの観測的解明   | 495,000    | 487,798    | 7,202     | 98.55%  |
| 2        | 教授   | 十重田 和由 | 経済学部                 | 国際経済学科          | MS Advocates 19.2.1が示唆するSir Orfeoの成立過程                                      | 980,000    | 906,782    | 73,218    | 92.53%  |
| 3        | 教授   | 金子 友裕  | 経営学部                 | 会計ファイナンス学科      | インセンティブ報酬の意義と諸規制の影響   | 700,000    | 700,000    | 0         | 100.00% |
| 4        | 教授   | 片山 美由紀 | 社会学部                 | 社会心理学科          | 有和行动としての言語とその教育 —体系的価値観モデルを手掛かりとして—   | 85,000     | 75,350     | 9,650     | 88.65%  |
| 5        | 教授   | 北村 英哉  | 社会学部                 | 社会心理学科          | 道徳基盤と伝統的価値観が組織内の主張的発言に及ぼす影響についての社会心理学的研究                                    | 750,000    | 750,000    | 0         | 100.00% |
| 6        | 教授   | 松田 英子  | 社会学部                 | 社会心理学科          | 悪夢と合併疾患にみられる認知機能障害に関する臨床発達心理学研究   | 756,000    | 380,712    | 375,288   | 50.36%  |
| 7        | 教授   | 田所 聖志  | 社会学部                 | 国際社会学科          | 住民の視点から見たバブアニューギニアの天然ガス開発による急激な社会変動と自然災害                                    | 360,000    | 360,000    | 0         | 100.00% |
| 8        | 教授   | 波佐間 造博 | 社会学部                 | 国際社会学科          | 現代アフリカにおけるノマドの創造的復興の民族誌   | 1,000,000  | 967,592    | 32,408    | 96.76%  |
| 9        | 教授   | 藤本 典嗣  | 国際学部                 | 国際地域学科          | コロナパンデミック下における東アジア諸国の中枢管理機能立地分析   | 630,000    | 391,351    | 238,649   | 62.12%  |
| 10       | 教授   | 吉岡 勉   | 国際観光学部               | 国際観光学科          | 観光サービスにおける労働生産性の向上に関する研究  | 540,000    | 528,453    | 11,547    | 97.86%  |
| 11       | 講師   | 陳 秀茵   | 国際教育センター             |                 | 日本語教育のための形式名詞由来の文末表現研究 —変化を表すコトナナル・コトニスル・ヨウニナル・ヨウニスルを中心に—                   | 650,000    | 649,481    | 519       | 99.92%  |
| 12       | 准教授  | 根岸 良太  | 理工学部                 | 電気電子情報工学科       | 乱層積層した多層グラフェンの合成とその物性解明   | 840,000    | 840,000    | 0         | 100.00% |
| 13       | 准教授  | 平瀬 祐子  | 理工学部                 | 電気電子情報工学科       | 洋上風力直流送電の電源・負荷および極に適用する仮想同期発電機制御の研究   | 945,000    | 945,000    | 0         | 100.00% |
| 14       | 教授   | 田代 基慶  | 理工学部                 | 応用化学科           | 深層学習による光学活性を持つ有機小分子のde novo設計   | 2,000,000  | 1,985,500  | 14,500    | 99.28%  |
| 15       | 准教授  | 峯岸 宏明  | 理工学部                 | 応用化学科           | イオン液体中における好塩性酵素の反応評価  | 900,000    | 900,000    | 0         | 100.00% |
| 16       | 研究助手 | 鈴木 政史  | バイオ・ナノエレクトロニクス研究センター |                 | 磁性ナノ粒子の鎖状構造体を利用した選択的酵素反応促進法の開発  | 1,044,000  | 1,044,000  | 0         | 100.00% |
| 17       | 教授   | 川口 英夫  | 生命科学部                | 生命科学科           | メンタルヘルス不調のセルフケア・システムの構築に向けた検討   | 1,039,000  | 1,038,970  | 30        | 100.00% |
| 18       | 助教   | 李 沁達   | 生命科学部                | 応用生物科学科         | 富栄養化湖沼の湖底境界層におけるメタン酸化-脱窒プロセスの解明   | 1,052,000  | 1,052,000  | 0         | 100.00% |
| 19       | 助教   | 任 セア   | ライフデザイン学部            | 生活支援学科          | エビデンスに基づいた効果的な介護人材育成の仕組みの構築に関する研究 —実践現場における参入ルート・職場研修の満足度が介護人材の専門性認識に及ぼす影響— | 1,800,000  | 816,369    | 983,631   | 45.35%  |
| 20       | 准教授  | 金子 元彦  | ライフデザイン学部            | 健康スポーツ学科        | 多摩障害者スポーツセンター開設と身体障害者スポーツ指導者養成  | 210,000    | 210,000    | 0         | 100.00% |
| 21       | 講師   | 熊澤 拓也  | ライフデザイン学部            | 健康スポーツ学科        | 日本占領期の駐留米軍によるスポーツ活動と日本スポーツ界への影響:海軍史料を中心に                                    | 620,000    | 571,803    | 48,197    | 92.23%  |
| 22       | 助教   | 伊藤 健彦  | 情報連携学部               | 情報連携学科          | 第二言語コミュニケーションを抑制・促進する社会生態学的・心理的ネットワークの解明                                    | 924,000    | 921,677    | 2,323     | 99.75%  |
| 23       | 准教授  | 加知 範康  | 情報連携学部               | 情報連携学科          | 都市域縮退を実現するための非居住地域へのグリーンインフラ導入の実現可能性検討                                      | 1,780,000  | 1,609,200  | 170,800   | 90.40%  |
| 24       | 教授   | 神場 知成  | 情報連携学部               | 情報連携学科          | オンライン会議における会議活性化の定量的モデル化  | 700,000    | 699,985    | 15        | 100.00% |
| 25       | 講師   | 佐野 崇   | 情報連携学部               | 情報連携学科          | 畳み込みニューラルネットワークによる力学モデルの獲得と運動制御への応用   | 1,260,000  | 1,230,015  | 29,985    | 97.62%  |
| 26       | 准教授  | 本多 泰理  | 情報連携学部               | 情報連携学科          | 関数解析に基づく機械学習法の性能評価および理論的設計指針の構築   | 945,000    | 944,824    | 176       | 99.98%  |
| 教員 合計26件 |      |        |                      |                 |   | 23,005,000 | 21,006,862 | 1,998,138 | 91.31%  |

## 【共同研究】

## 【教員】

(単位:千円) (単位:円) (単位:円) (単位:%)

|         | 資格   | 研究代表者 |                      |        | 研究分担者                        | 研究課題名   | 採択額        | 執行額       | 未執行額   | 執行率     |
|---------|------|-------|----------------------|--------|------------------------------|---|------------|-----------|--------|---------|
|         |      | 氏名    | 学部/研究科               | 学科/専攻  |                              |   |            |           |        |         |
| 1       | 教授   | 大野 裕之 | 経済学部                 | 国際経済学科 | 林田 実                         | 個人投資家の証券投資に関する行動・意思決定の総合的研究～機械学習・Causal Treeの手法を用いて | 754,000    | 754,000   | 0      | 100.00% |
| 2       | 教授   | 井上 貴也 | 法学部                  | 企業法学科  | 後藤 武秀                        | 珠江デルタ地域における企業統治について                                 | 949,000    | 949,000   | 0      | 100.00% |
| 3       | 教授   | 北盛 秀敏 | 国際学部                 | 国際地域学科 | 眞子 岳・福士 謙介・松藤 康司・村上 淑子       | 開発途上国における廃棄物発電の導入可能性評価モデルの開発に関する実証的研究               | 1,800,000  | 1,750,014 | 49,986 | 97.22%  |
| 4       | 教授   | 小河 繁彦 | 理工学部                 | 生体医工学科 | 岩本えりか                        | 運動昇圧応答の個人差が脳循環調節機能に及ぼす影響の検証                         | 2,000,000  | 1,965,366 | 34,634 | 98.27%  |
| 5       | 准教授  | 井坂 和一 | 理工学部                 | 応用化学科  | 池 道彦・見島 伊織                   | 特殊菌を利用した1,4-ジオキサン処理における必須微量元素と最低濃度条件の解明             | 2,000,000  | 2,000,000 | 0      | 100.00% |
| 6       | 研究助手 | 水木 徹  | バイオ・ナノエレクトロニクス研究センター |        | Mohamed Sheikh Mohamed・中島 義賢 | 希少糖-グラフェンハイブリッド材料の開発と機能解析                           | 1,205,000  | 1,204,865 | 135    | 99.99%  |
| 7       | 教授   | 後藤 顕一 | 食環境科学部               | 食環境科学科 | 伊藤 克治・高橋 三男・野内 頼一・生尾 光       | 実効性のあるSTEM教育プロトタイプ構築                                | 1,800,000  | 1,758,353 | 41,647 | 97.69%  |
| 教員 合計7件 |      |       |                      |        |                              | 10,508,000  | 10,381,598 | 126,402   | 98.80% |         |

## 【海外協定校との共同研究】

(単位:千円) (単位:円) (単位:円) (単位:%)

|         | 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   | 研究課題名                                       | 採択額       | 執行額       | 未執行額    | 執行率     |
|---------|----|-------|-------------|-----------------|---------------------|---------------|---|---|-----------|-----------|---------|---------|
|         |    | 氏名    | 学部/研究科/センター | 学科/専攻           |                     |               |   |   |           |           |         |         |
| 1       | 教授 | 荒川 雪  | 社会学部        | メディアコミュニケーション学科 | 温州大学(中国)            |               | 徐輝  | 冷戦初期日本共産党と中国共産党による在日中国人留学生団体への指導体制に関する実証的研究 | 1,800,000 | 1,800,000 | 0       | 100.00% |
| 2       | 教授 | 廣津 直樹 | 生命科学部       | 生命科学科           | スリランカ国立基礎研究所(スリランカ) | 長坂 征治         | Saman Seneweera<br>Siri Wijesundara<br>Ishara Perera            | スリランカにおけるイネ収量および垂船吸収効率向上のための遺伝構造解析          | 2,000,000 | 2,000,000 | 0       | 100.00% |
| 3       | 教授 | 矢野 友啓 | 食環境科学部      | 食環境科学科          | サンパウロ大学(ブラジル)       |               | Maria Lucia Zaidan Dagli<br>Francisco Javier Hernandez Blazquez | ヒトメラノーマ予防を目指したイヌメラノーマモデルを用いた検討              | 1,980,000 | 1,980,000 | 0       | 100.00% |
| 教員 合計3件 |    |       |             |                 |                     |               |   | 5,780,000                                   | 5,780,000 | 0         | 100.00% |         |

## 【新規・研究所プロジェクト】

(単位:千円) (単位:円) (単位:円) (単位:%)

|         | 研究所     | 身分 | 研究代表者 |             |          | 研究分担者                         | 研究課題名                              | 採択額       | 執行額       | 未執行額    | 執行率     |
|---------|---------|----|-------|-------------|----------|-------------------------------|------------------------------------|-----------|-----------|---------|---------|
|         |         |    | 氏名    | 学部/研究科/センター | 学科/専攻    |                               |                                    |           |           |         |         |
| 1       | 東洋学研究所  | 教授 | 相楽 勉  | 文学部         | 哲学科      | 中里巧・大野岳史・菊地章太・福本崇史・大鹿謙之・三重野清顕 | 西洋思想の受容と日本思想の展開—キリシタン時代と明治期以後—     | 695,000   | 695,000   | 0       | 100.00% |
| 2       | 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・高橋典史<br>佐藤厚・水谷香奈         | 外国人研究者との連携による東アジア仏教の歴史と思想の解明       | 2,000,000 | 1,413,825 | 586,175 | 70.69%  |
| 3       | 工業技術研究所 | 教授 | 加藤 和則 | 理工学部        | 生体医工学科   | 安藤 直子                         | カビ毒トリコセン類の癌細胞増殖阻害活性の検証と抗体医薬への応用の試み | 1,992,000 | 1,991,749 | 251     | 99.99%  |
| 教員 合計3件 |         |    |       |             |          |                               |                                    | 4,687,000 | 4,100,574 | 586,426 | 87.49%  |

## 【継続・研究所プロジェクト】

(単位:千円) (単位:円) (単位:円) (単位:%)

|         | 研究所名     | 身分 | 研究代表者     |             |       | 研究分担者   | 研究課題名   | 採択額       | 執行額       | 未執行額   | 執行率    |
|---------|----------|----|-----------|-------------|-------|---|---|-----------|-----------|--------|--------|
|         |          |    | 氏名        | 学部/研究科/センター | 学科/専攻 |   |   |           |           |        |        |
| 1       | アジア文化研究所 | 教授 | 千葉 正史     | 文学部         | 史学科   | 三沢伸生・大室智人                                       | 東洋大学に所蔵される中国語諸史資料のデータベース構築と活用開発                     | 2,000,000 | 1,999,319 | 681    | 99.97% |
| 2       | 工業技術研究所  | 教授 | 蒲生(西谷) 美香 | 理工学部        | 応用化学科 | 相沢宏明・井坂和一・物部秀二・吉野隆・吉本智巳・村野昭人・福本将史・伴雅人・江口美佳・中川清晴 | 新規球状ナノ炭素材料「マリモカーボン」の合成と用途探索—エネルギー・環境・生体分野への応用を目指して— | 1,800,000 | 1,754,269 | 45,731 | 97.46% |
| 教員 合計2件 |          |    |           |             |       |   |   | 3,800,000 | 3,753,588 | 46,412 | 98.78% |

個人研究、共同研究(専任教員・海外協定校・研究所プロジェクト)合計77件

69,426,000 65,678,791 3,747,209 94.60%

## 【刊行の助成】

(単位:千円) (単位:円) (単位:円) (単位:%)

|               | 身分 | 研究代表者  |             |             | 研究課題名  | 採択額       | 執行額       | 未執行額 | 執行率     |
|---------------|----|--------|-------------|-------------|--|-----------|-----------|------|---------|
|               |    | 氏名     | 学部/研究科/センター | 学科/専攻       |  |           |           |      |         |
| 1             | 校友 | 伊藤 陽平  | 文学研究科       | 史学専攻        | 日清・日露戦争後経営と議会政治—官民調和構想の相克—                     | 1,000,000 | 1,000,000 | 0    | 100.00% |
| 2             | 校友 | 金子 はな  | 文学研究科       | 国文学専攻       | 松尾芭蕉の達成と門人—性然・支考の再評価に向けて—                      | 900,000   | 900,000   | 0    | 100.00% |
| 3             | 教授 | 文 貞實   | 社会学部        | 社会学科        | ライフワークの社会空間—1990~2000年代の女性野宿者・在日朝鮮人・不安定労働者     | 680,000   | 680,000   | 0    | 100.00% |
| 4             | 教授 | 南野 奈津子 | ライフデザイン学部   | 生活支援学科      | 女性移住者の生活困難と多文化ソーシャルワーク—母国と日本を往還するライフストーリーをたどる— | 900,000   | 900,000   | 0    | 100.00% |
| 5             | 校友 | 伊 一喜   | 福祉社会デザイン研究科 | ヒューマンデザイン専攻 | 「介護者の会」による援助特性—介護者支援の社会化をめぐる—                  | 900,000   | 900,000   | 0    | 100.00% |
| 教員2件・校友3件 計5件 |    |        |             |             |  | 4,380,000 | 4,380,000 | 0    | 100.00% |

刊行の助成 合計5件

4,380,000 4,380,000 0 100.00%

(単位:千円) (単位:円) (単位:円) (単位:%)

個人研究、共同研究(海外協定校との共同研究・研究所プロジェクト)刊行助成 計82件

73,806,000 70,058,791 3,747,209 94.92%

## 【井上円了記念研究助成 研究助成・刊行助成 審査・運営費】

(単位:千円) (単位:円) (単位:円) (単位:%)

| 内容                            |  | 措置額       | 執行額       | 未執行額       | 執行率    |
|-------------------------------|--|-----------|-----------|------------|--------|
| 井上円了記念研究助成(研究助成・刊行助成)審査・運営経費等 |  | 5,845,000 | 1,531,840 | -1,525,995 | 26.21% |

## 【東洋大学出版会による刊行の助成】

(単位:千円) (単位:円) (単位:円) (単位:%)

|    | 身分 | 著者             |    |    | 共同執筆者 | 出版書名 | 措置額        | 執行額        | 未執行額      | 執行率    |
|----|----|----------------|----|----|-------|------|------------|------------|-----------|--------|
|    |    | 氏名             | 学部 | 学科 |       |      |            |            |           |        |
| 1  |    | 東洋大学出版会審査・運営経費 |    |    |       |      | 349,000    | 318,800    | -318,451  | 91.35% |
| 合計 |    |                |    |    |       |      | 80,000,000 | 71,909,431 | 8,090,569 | 89.89% |