

2023 年度
井上円了記念研究助成研究報告書

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	染谷 果穂	理工学研究科	応用化学専攻	赤色評価指標によるアナモックス活性評価
2	北原 央士	理工学研究科	応用化学専攻	微量元素がアナモックスプロセスの N ₂ O 発生量へ及ぼす影響
3	上田 侑典	理工学研究科	応用化学専攻	塩濃度により最適反応温度が大きく変化する新規好塩性キシラン分解酵素の解析
4	酒田 萌々子	理工学研究科	生体医工学専攻	pH 摂動法を用いた上皮間葉転換の評価
5	小泉 慶明	理工学研究科	応用化学専攻	トリコセシ配糖体の生産と構造・性状解析、及び穀類での汚染調査
6	山田 拓武	理工学研究科	生体医工学専攻	希少がんに対する新規標的分子の同定と治療薬の開発研究
7	陳 凱杰	理工学研究科	建築・都市デザイン専攻	WET 手法を用いた単独・合併処理浄化槽処理水の生態影響評価
8	伊藤 悠晟	理工学研究科	生体医工学専攻	無線給電を用いたパッシブ型イオンセンサの開発
9	高橋 華奈	理工学研究科	応用化学専攻	大環状トリコセシ類の取得と抗体医薬への応用
10	山口 希代夏	理工学研究科	応用化学専攻	新規工コ食材を目指した食用糸状菌の培養と機能性成分の解析
11	荻原 廉	理工学研究科	応用化学専攻	カビ毒トリコセシの毒性発現機構の検証～新規な抗癌剤の創製を目指して～
12	増岡 知也	理工学研究科	生体医工学専攻	抗体薬物複合体と新規ポリメトキシフラボノイドの併用による抗腫瘍増強効果の検討
13	軽部 梨香子	生命科学研究科	生命科学専攻	遺伝子改変 B16 メラノーマ担癌モデルにおける腫瘍免疫とがん転移に対する AhR の関与
14	横山 茜	生命科学研究科	生命科学専攻	水素水飲用による免疫恒常性維持と疾患防御
15	藤瀬 なぎさ	生命科学研究科	生命科学専攻	シナプス構造可塑性に関わる脳内タンパク質の解明
16	上本 咲来	生命科学研究科	生命科学専攻	餌場における他の動物個体の匂いに対するエゾリス <i>Sciurus vulgaris orientis</i> の応答行動
17	助川 修太郎	生命科学研究科	生命科学専攻	雄性ホルモン投与により雌ティラピア脳内に生じた JAK-STAT 関連遺伝子発現増加の意味
18	平井 献士	生命科学研究科	生命科学専攻	アカパンカビの転写因子 COL-26 タンパク質量と多糖分解酵素の発現との相関
19	韓 陶磊	生命科学研究科	生命科学専攻	うつ病モデルマウスと微生物叢-脳-腸軸の相互関与
20	東條 菜々花	生命科学研究科	生命科学専攻	日本近海におけるアオウミガメの食性と採餌傾向の違いによる腸内微生物の比較
21	勝又 康介	生命科学研究科	生命科学専攻	新規疎水性プロリンリッチオリゴペプチドの in vivo 影響の解析
22	上野 友紀	生命科学研究科	生命科学専攻	円石藻の石灰化に関わる酸性多糖の解析
23	浅香 力哉	生命科学研究科	生命科学専攻	魚類における主要な心臓転写因子の比較解析
24	南園 航	ライフデザイン学研究科	ヒューマンライフ学専攻	後肢荷重低減ラットにおける大腿骨の骨量維持に有効な通電刺激条件の検討
25	八嶋 奈央	健康スポーツ科学研究科	健康スポーツ学専攻	非接触性通電刺激による新たな骨折治療法の開発

26	徐 思琴	ライフデザイン学 研究科	健康スポーツ学専 攻	卵巣摘出に伴うラット脛骨の骨構造の変化と貧血と関連性に関する研究 ー貧血による骨粗鬆症の早期発見ツールの提案に向けてー
27	丸山 恵理子	ライフデザイン学 研究科	ヒューマンライフ学 専攻	精神障害者家族の経験に関する研究

【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	金子 迪大	社会学研究科	社会心理学専攻	幸福メカニズムの検討:所属欲求と食欲の関係
2	下田 俊介	社会学研究科	社会心理学専攻	SNS 利用による妬みの生起とその低減要因の検討
3	根本 崇司	理工学部	応用化学科	温室効果ガスの抑制を目指した従属栄養脱窒プロセスの検討
4	堀口 元気	生命科学研究科	生命科学専攻	水中での光合成モデルの実証にむけた生化学実験によるモデル構成因子 の局在決定
5	片野坂 俊樹	情報連携学研究 科	情報連携学専攻	ゲーミフィケーションを組み込んだ STEAM 分野のオンライン学習プラッ トフォームの開発

【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	超巨大ブラックホール質量降着メカニズム解明への観測的アプローチ
2	教授	十重田 和由	経済学部	国際経済学科	MS Harley 3810 の分析とヨーロッパにおけるオルフェウスの受容 と変容
3	教授	川上 淳之	経済学部	経済学科	副業を認可する要因とそのパフォーマンスの分析
4	助教	入谷 聡子	経済学部	経済学科	エチオピアにおける農道拡張政策の農村生活に及ぼす中短期的影響
5	助教	王 娜	経済学部	国際経済学科	中国都市空間構造の変化が農民工の賃金に与える影響に関する実証 研究
6	教授	芦谷 典子	経済学部	総合政策学科	J-REIT への農地組み入れ開始が内包する金銭的影響の予測と評 価:定量的アプローチ
7	教授	大野 裕之	経済学部	国際経済学科	日本と東アジア3カ国の高齢化:老後の生活保障に関する国民意識の 分析
8	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における ESG 関連指標の適用可能性
9	准教授	奥乃 真弓	法学部	法律学科	株主利益最大化からの転換と ESG 投資における株主厚生
10	教授	室松 慶子	法学部	法律学科	ハイブリッドワーク時代のリーダー育成のためのマインドフルネスの研 究
11	教授	上田 真理	法学部	企業法学科	「ケア不在」の生活保障政策からの脱却の検証:日独比較研究
12	教授	片山 美由紀	社会学部	社会心理学科	価値観理論の社会実装とその有効性:価値観模索のサポートのあり方
13	教授	反町 篤行	理工学部	応用化学科	森林樹冠における大気中マイクロプラスチックの捕捉に関する基礎的 な研究

14	助教	皆川 和大	理工学部	機械工学科	燃料電池・水素エンジン小型ハイブリッドシステムの実現に向けた超小型レシプロエンジンにおける水素燃焼技術の確立
15	教授	小山 信也	理工学部	生体医工学科	アーベル多様体上の「チェビシェフの偏り」
16	教授	井坂 和一	理工学部	応用化学科	化学物質分解の鍵となる微量金属要因の解明
17	准教授	新藤 康弘	理工学部	機械工学科	生体内温度モニタリング機能を有する温熱治療システムの開発
18	教授	荒巻 俊也	国際学部	国際地域学科	開発途上国における廃棄物収集における住民意識や行動に影響を与える要因の分析
19	教授	岡村 敏之	国際学部	国際地域学科	途上国都市を念頭においた目標設定型モビリティプラン策定に向けての基礎的研究
20	准教授	安宅 真由美	国際観光学部	国際観光学科	国内航空会社比較による組織内コミュニケーションの実態調査
21	教授	吉岡 勉	国際観光学部	国際観光学科	宿泊業における生産性の向上に関する研究
22	教授	伊藤 政博	生命科学部	生命科学科	高濃度セシウムイオン耐性を獲得した大腸菌の新奇耐性機構の解明
23	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次世代型セルフケアシステムに関するフィージビリティスタディ
24	教授	道久 則之	生命科学部	応用生物科学科	化学物質による大腸菌の高度有機溶媒耐性化と有用物質生産への応用
25	教授	根建 拓	生命科学部	応用生物科学科	熱中症を模した骨格筋細胞モデルの創製と応用
26	教授	椎崎 一宏	生命科学部	応用生物科学科	AhR モジュレーターを用いたがん免疫療法の研究
27	教授	吉永 淳	生命科学部	応用生物科学科	頭髮等の炭素窒素安定同位体比に基づく現代日本人の食性解析のための基礎検討
28	准教授	細谷 孝博	食環境科学部	健康栄養学科	食材の調理加工による高機能ポリフェノールの探索
29	教授	渡邊 朗子	情報連携学部	情報連携学科	リモートワークにおける知的活動を支援する環境デザイン:脳血流測定法の適用
30	助教	軸丸 芳揮	情報連携学部	情報連携学科	図式力学的観点に基づく建築曲面設計手法の開発に向けた離散曲面論の展開
31	助教	麗 麗	福祉社会デザイン学部	子ども支援学科	中国農村寄宿制学校における農村留守児童の居場所づくりに関する研究
32	研究助手	岩澤 卓弥	ライフイノベーション研究所		新規ミエロイド系免疫抑制細胞を標的とした動脈硬化症を制御する機能分子の解明
33	准教授	関 蘇軍	学際・融合科学研究科	バイオ・ナノサイエンス融合専攻	直接酸化法による可視光応答型光触媒薄膜の作製とその光触媒活性に関する研究

【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	准教授	箕輪 允智	法学部	企業法学科	林 嶺那、深谷 健	Q 方法論による公務員の職種・国別仕事観の探索と実証研究へのアプローチ
2	准教授	榊原 圭子	社会学部	社会心理学科	本間 三恵子	中年期の働く女性のキャリア・ストレスと対処に関するインタビュー調査
3	准教授	姜 英淑	社会学部	国際社会学科	金明中	日韓における世代間・男女間の格差と対立の現状と格差拡大の決定要因に関する比較分析

4	准教授	竹下 和貴	生命科学部	応用生物科学科	横溝 裕行	河川環境ビッグデータと統計的因果推論の融合による銅の生態リスク評価手法の高度化
5	教授	後藤 顕一	食環境科学部	食環境科学科	伊藤 克治、野内 頼一、高橋 三男、金児 正史、米延 仁志	科学的探究力の育成を指向した高度スパイラルアップ型探究プログラムの開発と実践
6	教授	井上 広子	食環境科学部	健康栄養科学科	桑野 稔子、鈴木 裕一、辻ひろみ	学童期と青年期の味覚と咀嚼に着目した食・生活習慣、食態度、健康状態の多角的解析
7	教授	今 有礼	健康スポーツ科学部	健康スポーツ科学科	松生 香里	低酸素トレーニングが内臓脂肪蓄積およびインスリン感受性に及ぼす影響

【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	矢野 友啓	健康スポーツ科学部	栄養科学科	サンパウロ大学(ブラジル)	-	Maria Lucia Zaidan Dagli Francisco Javier Hernandez Blazquez	糖尿病合併症としてのヒト乳がん悪性化モデルとしてのイヌ乳腺腫瘍の可能性の検討

【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	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, 菊地 章太, 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	東洋学研究所	教授	相楽 勉	文学部	哲学科	中里 巧, 菊地 章太, 三重野 清顕, 大野 岳史, 播本 崇史, 大鹿 勝之	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—
3	アジア文化研究所	教授	後藤 武秀	法学部	法律学科	井上 貴也, 上田 知亮, 鷲田 任邦, カク 仁平, 三沢 伸生, 高橋 正樹, 梁凌詩 ナンシー, 佐々木 彩, 朱 大明	アジアインフラ投資銀行(AIIB)による投資とアジア諸国における政治、投資・企業法制的変容—SDGs、不平等をなくし、平和と公正の実現に向けて—
4	アジア文化研究所	教授	長津 一史	社会学部	国際社会学科	田所 聖志, ゴロウィナ・クセーニヤ, 山田 香織, ズルエタ ジョハンナ, 田川 夢乃, 中村 昇平, 中野 真備, 渡邊 暁子, 合地 幸子, 鈴木 佑記, 西川 慧	帰還移民の社会的再統合に関する比較研究—日本就労経験者を中心に
5	アジア文化研究所	教授	子島 進	国際学部	国際地域学科	高橋 典史, 村上 一基, 三沢 伸生, 高橋 圭, 荻 翔一, 佐藤 麻理絵, 岡井 宏文	公共社会学・人類学的視点からの在日ムスリムの多文化共生研究
6	工業技術研究所	教授	加藤 和則	健康スポーツ科学部	栄養科学科	安藤 直子	カビ毒トリコセシン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

赤色評価指標によるアナモックス活性評価
Evaluation of Anammox Activity by Red-Color-Index using
spectrophotometer

研究代表者 染谷 果穂（理工学研究科応用化学専攻）

指導教員 井坂 和一

I) 研究期間／2023年4月1日～2024年2月15日

II) キーワード／①排水 Wastewater
②窒素 Nitrogen
③活性 Activity
④色彩 Spectrophotometer
⑤細菌 Bacteria

III) 2023年度交付額／ 552,000円

IV) 研究発表／学会および口頭発表

①第60回日本水処理生物学会（山形大学・鶴岡）2023年11月17日（金）～19日（日）

染谷ら『色彩計を用いたアナモックス活性と菌数の評価』

②第58回日本水環境学会年会（九州大学・福岡）2024年3月6日（水）～8日（金）

染谷ら『アナモックス担体の活性と色彩変化』

V) 研究経過および成果の概要（日本語 2000字程度）

1. イントロダクション

現在、産業排水や下水等を起因とする水環境汚染が問題となっている。特に、窒素やリンなどの栄養塩の流出により、湖沼、内湾等の閉鎖性水域において、アオコの発生による景観の悪化や化学的酸素要求量(COD)の増加などが生じている。そのため、汚染源である窒素排水の適切な処理が求められている。

近年、アナモックス反応を利用した省エネ・省スペース型の排水処理システムの検討が急速に進められている。この反応を担うアナモックス細菌は増殖速度が遅く、立ち上げ（培養）に時間を要することが開発課題となっている。アナモックス細菌はアンモニアと亜硝酸を基質とするが、基質を過剰に供給すると、有害な亜硝酸が蓄積し失活する欠点がある。そのため、菌数の増加に見合った基質の供給方法の確立が求められている。一方、アナモックス細菌は単離培養ができず、菌数を迅速に計測する方法がない。

そこで申請者らは、アナモックス細菌が有するヘムタンパク特有の“赤褐色”に着目し、赤褐色の濃さからアナモックス細菌の量および基質の消費速度を予測する方法を考案した。反応槽内の赤褐色の濃さを定量化し、アナモックス細菌の濃度（菌体増殖）と窒素（基質）処理速度との関係について評価する手法を考案し、その有効性を評価した。

2. 研究方法

処理水法による立ち上げ運転を行った。まず、別のアナモックス反応槽から流出した処理水（ $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ ：20 mg L⁻¹程度）を、PVA担体を充填した連続試験装置に供給した。担体に赤みが帯びたら、処理水に加え、合成排水（ $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ：169 mg L⁻¹、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ ：210 mg L⁻¹）を供給した。その後、合成排水

のみを供給し、窒素濃度・流量により窒素負荷を増加させた。この時、担体の色彩変化と担体内のアナモックス菌数を定量 PCR 法で求めた。

次に、実際にアナモックス細菌がどのように増えていたかを調査を行った。ただ、アナモックス細菌は培養法で培養できないことが知られており、一般的なコロニーカウントも菌体が増えないため、計測が困難である。そこで、アナモックス細菌の遺伝子の量がどれだけ増えたかを示す定量 PCR 法で評価した。遺伝子を増幅させる PCR 条件としては 50°C を 2 分、94°C を 10 分行った後、94°C を 15 秒と 60°C を 1 分のセットを 40 サイクル行った。また、アナモックス細菌の特有の遺伝子を使うために AMX818F (5 ' - ATGGGCACTMRGTAGAGGGGTTT - 3 ') 、 AMX1066R (5 ' - AACGTCTCACGACACGAGCTG-3') の 2 つのプライマーを用いて行った。

色彩の評価方法としては、色彩計 CM-5 (コニカミノルタ) を用いて測定した。3 mm シャーレに担体を敷き詰め、2° 視野、照度 D65 条件で CIE L*a*b*色空間から数値化した。

3. 研究経過および成果の概要

窒素処理速度とアナモックス菌体量 (DNA コピー数) および担体の色彩変化を評価した。なお a* は赤色を数値化したものである。窒素処理性能の上昇により DNA コピー数および a* の増加傾向がみられた。特に C-NCR は 50 日目から急激に上昇する傾向が得られ、a* も C-NCR と同様の増加傾向が得られた。一方、DNA コピー数は 30 日目頃から増加する傾向が確認された。

DNA コピー数を指標とした場合、窒素処理速度と指数関数で近似することができた。ただし、窒素処理速度が $5 \text{ kg-N m}^{-3}\text{-carrier d}^{-1}$ 以下では近似ができず、適用範囲は限定された。

一方 a* を用いた場合は、a* と C-NCR は $0.5 \text{ kg-N m}^{-3}\text{-carrier d}^{-1}$ 以上であれば、 $y=0.7805x+0.6825$ ($R^2=0.9655$) の直線近似で表すことができた。a* の直線近似 (0 次) は、定量 PCR の指数近似 (1 次) よりも扱い易いだけでなく、瞬時にかつ簡易に結果が得られ、立上げ初期の低負荷時において a* の高い有用性が示された。

4. 今後の研究における課題または問題点

本研究では無機合成排水を用いたため、バックグラウンドが無い透明な排水を用いて試験を実施した。しかし、実排水は無色透明な液体ではなく、様々な着色成分が存在することが想定される。そのため、実際に赤色指標を用いて運転するためには、多様な排水を用いた検証が必要である。排水に着色成分があったとしても、アナモックス細菌の赤色の変化はあるため、補正は可能であると考えられる。

また、今回の研究ではアナモックス細菌が担体の周りに付着している担体を用いて反射光による試験を行ったが、様々な実機の制御に利用することを考慮すると、付着担体だけでなく、グラニュールや各種担体の評価が必要である。本試験では、アナモックス細菌がゲルに包まれた包括担体で試験を行ったが、細菌のタンパク由来である赤色評指標は、他の固定化法を用いたとしても、汎用可能であると考えられ、今後の検証が期待される。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

Currently, water pollution caused by industrial effluents and sewage has become a problem. In particular, runoff of nutrients such as nitrogen and phosphorus has caused deterioration of the landscape and an increase in chemical oxygen demand (COD) due to the occurrence of blue-green

algae in closed water bodies such as lakes and inland bays. Therefore, appropriate treatment of nitrogenous wastewater as a source of pollution is required.

In recent years, energy-saving and space-saving wastewater treatment systems using anammox reactions have been rapidly studied. The anammox bacteria responsible for this reaction have a slow growth rate and require time to start up (culture), which is a development issue. The anammox bacteria use ammonia and nitrite as substrates, but if the substrates are supplied in excess, harmful nitrite accumulates and inactivates the bacteria. Therefore, it is necessary to establish a method of supplying substrates that is appropriate for the increase in the number of bacteria. On the other hand, anammox bacteria cannot be cultured in isolation, and there is no method to rapidly measure the number of bacteria.

Therefore, we focused on the "reddish brown" color characteristic of heme proteins possessed by anammox bacteria, and devised a method to predict the amount of anammox bacteria and the consumption rate of substrates based on the intensity of the reddish brown color. By quantifying the intensity of the reddish-brown color in the reaction tank, the relationship between the concentration of anammox bacteria and the rate of nitrogen (substrate) processing was clarified.

Continuous tests were conducted using inorganic synthetic wastewater. Anammox bacteria were immobilized in comprehensive immobilization gel carriers. Color was evaluated using a colorimeter CM-5 (Konica Minolta); the color was quantified from the CIE L*a*b* color space in a 2° field of view, with the carrier spread over a 3 mm petri dish.

As a result, the relationship between a^* and substrate processing rate could be expressed by a linear approximation of $y=0.7805x-0.6825$ ($R^2=0.9655$) for a processing rate of $0.5 \text{ kg-N m}^{-3}\text{-carrier d}^{-1}$ or higher. a^* linear approximation (0th order) is not only easier to handle than the exponential approximation (1st order) of quantitative PCR, but also provides instantaneous and simple results.. These results indicate that the "Red-Color-Index," which represents the activity of anammox bacteria in red, is an effective method of maintaining and controlling the anammox process.

微量元素がアナモックスプロセスの N₂O 発生量へ及ぼす影響

Effect of trace elements on the N₂O emission from Anammox process.

研究代表者 北原 央士(理工学研究科 応用化学専攻 博士前期課程)

指導教員 井坂 和一(理工学研究科 応用化学専攻)

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年2月15日

II) キーワード/①排水 Wastewater
②処理 Treatment
③窒素 Nitrogen
④一酸化二窒素 N₂O
⑤微量元素 Trace Elements

III) 2023年度交付額/556,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

(2024年投稿予定)

- Journal of Water and Environment Technology
- Effect of Trace Elements on the anammox activity and N₂O Emission

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

省エネ・省スペース型の排水処理方法として、アナモックス反応を利用した排水処理システムが注目されている。一方、アナモックス菌の増殖には、複数の微量元素 (Trace Elements: TE) が必要であることが報告されているが、一部の産業排水中には、TE がほぼ含まれていないことがある。そのため、アナモックス活性が低下する可能性があり、対策として TE を薬剤として添加する方法が挙げられるが、どの元素がどの程度必要であるかを評価した報告例は極めて少ない。また、TE 濃度は環境影響・コストの観点から最低濃度が好ましい。これらのことから、必要な微量元素の種類と、その最低濃度の解明が求められている。また、アナモックスプロセスにおいて、温室効果ガスである一酸化窒素 (N₂O) の発生が報告されており、TE 濃度条件により発生量が増減する可能性がある。

そこで本研究では、合成排水を用いた連続試験系において、TE 条件が及ぼす①アナモックス活性と②N₂O 発生量への影響を評価した。さらに、TE 条件が及ぼす③微生物叢への影響についても調査した。

2. 研究方法

供試排水は(NH₄)₂SO₄, NaNO₂ を窒素源とした合成排水を用いた。調整にはすべて超純水を用い、TE として、Co(II), Mo(VI), B(III), Fe(II), Zn(II), Mn(II), Cu(II), Ni(II)を EDTA 錯体として添加した。各 TE 濃度のうち、単一および複数の元素を 0 μg L⁻¹ とした、制限試験を実施した。その後、制限をした元素を再度添加する再添加試験を行い、処理性能が回復した各 TE 濃度を最低濃度条件とした。供試担体はポリビニルアルコール系のビーズ担体にアナモックス菌を付着固定した付着担体およびアナモックス汚泥をポリエチレングリコール系のゲルに包括固定化し、3 mm 角の立方体に成型した担体を用い、各微量元素の制限影響を連続試験において評価した。各 TE 濃度については、誘導結合プラズマ質量分析 (ICP-MS) を用いて分析を行い、添加量の確認および外部からコンタミが無いことを適宜確認した。ま

た、 N_2O 濃度については、ガスクロマトグラフィー（電子捕捉型検出器）（GC-ECD）を用い、ガス態 N_2O はバッグ採取法、溶存態 N_2O はヘッドスペース法で分析した。で分析を行った。

3. 研究経過および成果の概要

連続系において $Co(II)$ による影響を調査した。 $Co(II)$ 添加濃度を $59 \mu g L^{-1}$ とした際、処理水中の平均 NH_4^+-N および $NO_2^- - N$ 濃度は $16.1 mg L^{-1}$ と $6.5 mg L^{-1}$ であった（14～16 日目）。 $Co(II)$ 添加濃度を $0 \mu g L^{-1}$ とすると、平均 NH_4^+-N および $NO_2^- - N$ 濃度は、 $38.2 mg L^{-1}$, $49.2 mg L^{-1}$ に上昇した（106～108 日目）。次に $Co(II)$ 添加を再開し、添加濃度を $5 \mu g L^{-1}$ とすると、活性の回復傾向を示したが、その後停滞した。さらに、添加濃度を $10 \mu g L^{-1}$ とすると、活性の回復傾向を示し、平均 NH_4^+-N および $NO_2^- - N$ 濃度は $15.8 mg L^{-1}$, $9.5 mg L^{-1}$ まで低下した。よって、 $Co(II)$ 制限はアナモックス活性に強く影響し、性能の回復が可能である最低濃度条件は $10 \mu g L^{-1}$ と判断した

次に、連続系において $Fe(II)$ による影響を調査した。連続系における担体当たりの窒素負荷（C-NLR）および窒素変換速度（C-NCR）、 N_2O 転換率の経日変化を評価した結果、 $Fe(II)$ 添加濃度が $1004 \mu g L^{-1}$ の条件では、平均 C-NCR は $26.3 kg m^{-3} \cdot carrier d^{-1}$ （28～34 日目）を示した。その後、 $Fe(II)$ 添加濃度を $0 \mu g L^{-1}$ とすると、活性の低下傾向を示し、C-NCR は $21.1 kg m^{-3} \cdot carrier d^{-1}$ （65 日目）を示した。また、 N_2O 転換率は制限試験前、平均 1.1%（28～34 日目）を示したが、添加濃度を $0 \mu g L^{-1}$ とすると、平均 3.0%（62～65 日目）まで上昇した。したがって、 $Fe(II)$ 制限はアナモックス活性、 N_2O 発生量に強く影響を及ぼすことが示された

合計 8 種類の微量元素について、アナモックス活性への影響を評価した結果、Fe, Zn, Co, Mo の 4 元素はアナモックス活性の維持に必須であり、その最低濃度条件はそれぞれ付着担体で 400, 5, 10, $5 \mu g L^{-1}$ 包括担体で 100, 20, 20, $5 \mu g L^{-1}$ であることを明らかにした。また、 N_2O 発生量への影響も評価し、Fe, Zn, Co, Mo の 4 元素が不足することにより N_2O 発生量が増加し、再度不足した微量元素の添加を行うことで N_2O 発生量が低下することが明らかとなった。

また、包括担体における生物叢を調査したところ、微量元素制限によるアナモックス菌叢に変化は示唆されなかった。さらに、反応比への影響を調査したところ、反応比の減少傾向や、活性との関係が示された。また、 N_2O 転換率と活性の関係を調査したところ、活性低下前に N_2O 転換率が上昇する傾向が確認された。

このことから、TE 添加量の削減が可能であり、排水処理コストの削減や処理水の放流による TE 汚染が低減されることや、微量元素条件による反応比の減少が示唆されたこと、反応比、 N_2O 転換率から活性低下の検知が可能であることが示唆されたことから、より省エネかつ低コストであり、安定したアナモックスプロセスの実用化に寄与できたと考えられる。

4. 今後の研究における課題または問題点

本試験では、8 種類の微量元素として、 $Co(II)$, $Mo(VI)$, $B(III)$, $Fe(II)$, $Zn(II)$, $Mn(II)$, $Cu(II)$, $Ni(II)$ を EDTA 錯体で添加して、それぞれ個々の元素の影響について調査を行った。個々の元素による影響については、明らかにすることができたが、2 元素以上の複数の元素が同時に制限された場合の影響については明らかになっていない。そのため、制限影響が確認された元素については、同時に 2 元素以上の制限について調査が必要である。

また、金属元素を安定化させるために EDTA 錯体として添加を行っている。金属の存在形態によっても影響が異なる可能性があり、酸溶液で添加するなどの対策が必要である。

最後に、窒素濃度との相関性を確認する必要がある。窒素濃度が上昇した時に、微量金属の要求量も増大する可能性がある。そのため、窒素濃度の異なる条件において、各微量元素の影響を詳細に調査す

る必要がある。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

Wastewater treatment systems using anammox reactions are attracting attention as an energy- and space-saving wastewater treatment method. Trace elements (TE) required for the cultivation of anammox bacteria have been presented by van de Graff et al.(1996), but some industrial wastewater may contain almost no TE. Therefore, anammox activity may be reduced, and a countermeasure is to add TE as a chemical, but there are very few reported cases evaluating which elements are needed. In addition, the lowest TE concentration is preferable from the viewpoint of environmental impact and cost.

These factors call for clarification of the types of trace elements required and their minimum concentrations. In addition, generation of nitric oxide (N₂O), a greenhouse gas, has been reported in the anammox process, and the amount generated may increase or decrease under TE concentration conditions.

Therefore, this study evaluated the effects of TE conditions on (1) anammox activity and (2) N₂O generation in a continuous test system using synthetic wastewater.

Synthetic wastewater containing (NH₄)₂SO₄ and NaNO₂ as nitrogen sources was used as the test wastewater. Ultrapure water was used for all synthetic wastewater, and Co(II), Mo(VI), B(III), Fe(II), Zn(II), Mn(II), Cu(II), and Ni(II) were added as EDTA complexes as TE. A limiting test was performed with 0 μg L⁻¹ for single and multiple elements at each TE concentration. The restricted elements were then re-added, and each TE concentration at which the treatment performance was restored was set as the minimum concentration condition. The test carriers used were poly(vinyl alcohol) bead carriers on which anammox bacteria were adhered and immobilized, and poly(ethylene glycol) gel-compacted anammox sludge, which was formed into 3 mm square cubes.

The effects of eight trace elements on anammox activity and N₂O production were evaluated, and it was found that four elements (Fe, Zn, Co, and Mo) were essential for maintaining anammox activity, and their minimum concentration conditions were 400, 5, 10, and 5 μg L⁻¹ for attached carriers and 100, 20, 20, and 5 μg L⁻¹ for inclusive carriers, respectively. L⁻¹ for adherent carriers and 100, 20, 20, and 5 μg L⁻¹ for inclusive carriers, respectively.

塩濃度により最適反応温度が大きく変化する

新規好塩性キシラン分解酵素の解析

Analysis of a novel halophilic xylan-degrading enzyme which optimal reaction temperature changes significantly depending on salt concentration

研究代表者 上田 侑典(理工学研究科応用化学専攻)

指導教員 峯岸 宏明

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年2月15日

II) キーワード/①好塩性古細菌 Haloarchaea

②好塩性 Halophilic

③キシラン Xylan

④キシラン分解酵素 Xylanase

⑤好熱性 Thermophilic

III) 2023年度交付額/630,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

- ・ 上田 侑典、嶋根 康弘、峯岸 宏明：P-9「新規好塩性キシラン分解酵素生産菌の探索と諸性質解析」、第24回極限環境生物学会年会、2023年8月28日~29日（北見工業大学）

V) 研究経過および成果の概要（日本語 2000字程度）

1. イントロダクション

好塩性古細菌が生産する好塩性酵素は、そのタンパク質表面は負電荷で覆われており、この負電荷にカチオンとそれに結合した水分子が多量に群がって水和殻を作り、高 NaCl 濃度下でのタンパク質の安定性と機能性を維持している。このような特徴から水分活性の低い高 NaCl 濃度環境下や、有機溶媒中でも酵素活性を維持することができると考えられている。これまでに好塩性アミラーゼや好塩性セルラーゼなど、好塩性古細菌が生産する多糖類分解酵素の研究が報告されている。

キシランは植物細胞の主要な構造多糖類で、自然界で 2 番目に豊富な多糖類であり、地球上のすべての再生可能な有機炭素の約 3 分の 1 を占めている。β-1,4 キシロシド結合した D-キシロースを主鎖にもち、アラビノースやグルクロン酸側鎖等の置換基によって修飾されている。キシラン分解酵素はキシロース分子のβ-1,4 キシロシド結合を加水分解する酵素の総称であり、一般にキシラン骨格をランダムに切断するエンド型のキシラナーゼと、キシラン、キシロオリゴ糖の非還元末端からキシロースモノマーを切断するエキソ型のキシロシダーゼがある。

好塩性古細菌からのキシラン分解酵素生産菌としての報告例は 2024 年 1 月までに *Halorhabdus utahensis* strain AX-2 のみであり、新規の耐/好塩性キシラン分解酵素生産菌を分離することは、今後のキシラン分解酵素の研究の発展につながると考えた。そこで、本研究では好塩性微生物が生産する酵素に着目し、好塩性キシラン分解酵素の探索と諸性質解析を目的とした。

2. 研究方法

市販塩サンプル 878 種類を分離源とし、キシラン (Xylan from Beech Wood) を基質として加え

た寒天培地を用いて、好塩性キシラン分解酵素生産菌の探索を行った。培養後、コンゴレッド染色を用いてハロー（キシラン分解斑）の有無を確認した。ハローの確認できた菌株をキシラン分解酵素生産菌の一次候補株として液体培養を行い、その培養上清を粗酵素液として活性測定を行い、最適反応条件を評価した。活性測定は、酵素分解により生じた還元糖の検出を DNS 法により行った。また、二次候補株は 16S rRNA 遺伝子塩基配列における系統解析を行い、既知種との同一性を確認した。最終候補株に関しては、その候補株が最も酵素を生産する培地組成の検討を行い、その培養上清を用いて、酵素精製の検討を行った。酵素精製ではヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーおよび、限界濾過フィルターを用いた分子ふるい効果を用いた精製法を用いた。

3. 研究経過および成果の概要

本研究では合計 11 株の好塩性キシラン分解酵素生産候補株を分離することに成功した。これらの候補株を No. 1~11 として、16S rRNA 遺伝子塩基配列における系統解析を行った。その結果、No. 10 株が *Halorubrum* 属、No. 1~9 と No. 11 株が *Halobacterium* 属に近縁であった。DNS 法による活性測定と 16S rRNA 遺伝子塩基配列における系統解析の結果から、*Halobacterium* 属と推定された No. 5 株を最終候補株として、この株を Xyl 719 株とした。

Xyl 719 株の粗酵素における最適反応条件の検討を行った結果、粗酵素の各種最適反応条件は図 1 に示す通り、NaCl 濃度 20%、pH 6.7、温度 65°C であった。さらに、酵素反応液の NaCl 濃度の上昇に伴って反応温度範囲と酵素活性が顕著に上昇するという特徴がみられた。

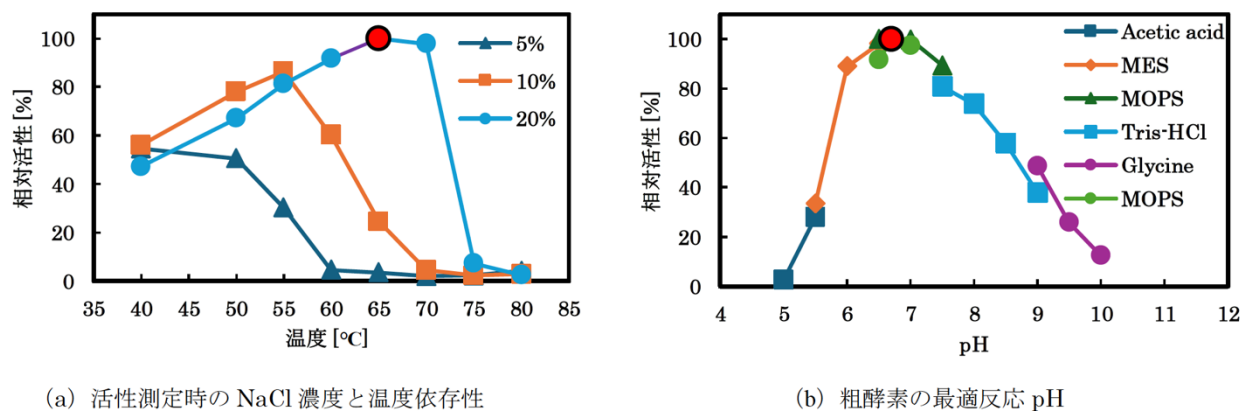


図 1. 粗酵素における最適反応条件の結果

(a) 温度を横軸に、最適反応条件を 100%としたときの各 NaCl 濃度条件下で温度を変化させて得られた相対活性を縦軸に表した。(b) pH を横軸に、活性の最大値を 100%としたときの各 pH での相対活性を縦軸に表した。

また、Xyl 719 株が生産するキシラン分解酵素の高生産培養条件の検討の結果、分離培地組成のクエン酸濃度を 3.0 g/L から 8.0 g/L に、酵母エキス濃度を 0.5 g/L から 0 g/L に変更した。この培地組成を用いて、生産した粗酵素液に関して各種クロマトグラフィーによる酵素精製を行った。ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーを用いた酵素精製を行い、活性が確認されたフラクションに対して 100 K のフィルターを用いて限外ろ過を行い、その精製度合いを SDS-PAGE により確認した。その結果、50 kDa 以下のタンパク質と、150 kDa 以上のタンパク質の大幅な除去に成功した。ヒドロキシアパタイトおよび限界ろ過フィルターを用いた酵素精製法は、本酵素を精製するうえ

で有効な手段であると考えられた。

4. 今後の研究における課題または問題点

好塩性酵素は、その活性及び構造の維持に高濃度の NaCl が必要となる。そのため、酵素の精製手段は限られており、使用できる精製方法の厳密な条件設定が重要となる。本研究では、ハイドロキシアパタイトクロマトグラフィーおよび限外ろ過を用いて精製を行ったが、目的酵素の完全精製には至らなかった。今後は、より詳細な精製条件の検討が必要となってくる。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

Xylan is a major structural polysaccharide in plant cells and the second most abundant polysaccharide in nature, accounting for about one-third of all renewable organic carbon on Earth. It has D-xylose with β -1,4 xyloside bonds in its main chain, and is modified with substituents such as arabinose and glucuronic acid side chains. Xylan degrading enzymes are a general term for enzymes that hydrolyze β -1,4 xyloside bonds in xylose molecules, and generally involve endo-type xylanases that randomly cleave xylan backbones, and xylanases that cut xylose monomers from the non-reducing ends of xylan and xylooligosaccharides. There is an exo form of xylosidase that cleaves. The protein surface of the halophilic enzyme produced by halophilic archaea is covered with negative charges, and a large amount of cations and water molecules bound to the negative charges cluster together to form a hydration shell, resulting in high NaCl. Maintains protein stability and functionality under certain concentrations. Because of these characteristics, it is thought that enzyme activity can be maintained in environments with low water activity and high NaCl concentrations, and even in organic solvents. In this study, we isolated to halophilic xylan-degrading enzymes and analyze their various properties.

Screening of halophilic xylan-degrading enzyme-producing microorganisms was conducted using 930 types of commercially available salt samples. The activity was measured using the DNS method. Hydroxyapatite chromatography and ultrafiltration filters were used for enzyme purification.

In this study, we successfully isolated a total of 11 halophilic xylanase-producing candidate strains. Using these candidate strains as No. 1 to 11, phylogenetic analysis was performed on the 16S rRNA gene base sequences. As a result, strain No. 10 was closely related to the genus *Halorubrum*, and strains No. 1 to 9 and No. 11 were closely related to the genus *Halobacterium*.

The optimum reaction conditions for the crude enzymes of the strain No. 5 (strain Xyl719) were NaCl concentration 20%, pH 6.7, and temperature 65°C. Enzyme purification was performed using hydroxyapatite chromatography, and fractions with confirmed activity were subjected to ultrafiltration using a 100 K filter, and the degree of purification was confirmed by SDS-PAGE. As a result, we succeeded in significantly removing proteins under 50 kDa and proteins over 150 kDa. Enzyme purification using hydroxyapatite and ultrafiltration filters was considered to be an effective means for purifying this enzyme.

pH 摂動法を用いた上皮間葉転換の評価

Evaluation of epithelial-mesenchymal transition by pH perturbation assay

研究代表者 酒田 萌々子 (理工学研究科 生体医工学専攻 博士前期課程)

指導教員 合田 達郎

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年2月15日

II) キーワード/①上皮間葉転換 Epithelial-Mesenchymal Transition

②バイオセンサ Biosensors

③アッセイ Assays

④密着結合 Tight Junction

⑤上皮細胞 Epithelial cell

III) 2023年度交付額/ 630,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

酒田萌々子, 合田達郎, 上皮細胞培養トランジスタによる pH 摂動法を用いた上皮間葉転換のラベルフリー検出, 第45回日本バイオマテリアル学会大会, 2023年11月7日, 神戸国際会議場

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

上皮間葉転換 (Epithelial-mesenchymal transition: EMT) は細胞形質転換であり、その過程で上皮細胞が極性や密着結合 (Tight junction: TJ) といった細胞間結合を失い、遊走能や浸潤能といった間葉細胞の特徴を獲得する。EMT は、がんの浸潤・転移メカニズムとして知られており、浸潤・転移の作用機序解明、がんの新しい治療法の開発につながることから盛んに研究がおこなわれている。EMT の評価方法の一つとして、その過程で喪失する TJ を標的とした経上皮電気抵抗法や透過試験といった計測手法が用いられている。既存手法の課題点として即時的かつ TJ の選択的な評価、高感度な検出が不可能な点があげられる。そこで本研究では、pH 摂動法を新規 EMT 評価手法として提案した。pH 摂動法はイオン感応性電界効果トランジスタ (Ion-sensitive field-effect transistor: ISFET) 上に培養した細胞に対し、弱酸や弱塩の外部刺激を瞬間的に暴露した際に生じる過渡的な pH 変化より、細胞膜や TJ のイオンバリア性を評価する手法である。高感度・即時検出・TJ の選択的な評価が可能であり、さらに半導体を用いることから小型化・低コスト化・高集積化が期待できる。これら利点を活かして EMT の作用機序解明といった基礎研究や EMT を標的とした治療薬物のスクリーニングなどの応用が考えられる。

2. 研究方法

イヌ腎臓尿細管上皮細胞を poly-L-lysine コーティングした電極またはシャーレ上に播種した。96時間培養し TJ を形成させた後、サイトカインであるトランスフォーミング増殖因子-β (Transforming growth factor : TGF-β) で48時間処理し EMT を誘導した。96時間の培養による TJ 形成を、pH 摂動法・透過試験・経上皮電気抵抗法・SEM 像による観察・免疫染色により確認

した。EMT 誘導による変化を、提案手法である pH 摂動法と既存 TJ 評価手法である透過試験・経上皮電気抵抗法・SEM 像による観察・免疫染色と、古典的な EMT 評価手法である RT-PCR・ウエスタンブロットから評価した。提案手法と既存法を比較することで提案手法の妥当性・有意性を検証した。

3. 研究経過および成果の概要

はじめに EMT で生じる TJ の破綻を捉えるために前提条件となる TJ の形成を確認した。結果より培養 96 時間による TJ 形成をすべての手法で確認した。96 時間培養後の細胞を TGF- β で処理し EMT を誘導し、各手法で計測した。提案手法の pH 摂動法では TGF- β 処理による pH 応答 (摂動) が変化した。摂動の大きさを ΔV として比較すると、コントロールに比べ有意に増加した (Fig 1, a, b)。これは、プロトンの電極 - 溶液間移動を妨げていた TJ が破綻することで、センサの応答が変化したためだと考えられる。有意な変化は 1, 10 ng/mL TGF- β の 24 時間処理 0.1, 1, 10 ng/mL TGF- β の 48 時間処理で確認できた。さらに既存 TJ 評価手法でも同様に評価をおこなった。透過試験ではコントロールに比べ 1, 10 ng/mL TGF- β の 24 時間処理と 1, 10 ng/mL TGF- β の 48 時間処理で有意な差を確認した。経上皮電気抵抗法では 1, 10 ng/mL TGF- β の 48 時間処理で有意な差を確認した。SEM 像による観察では 10 ng/mL TGF- β のみ細胞間に隙間がみられ、EMT 誘導による形態変化を確認した。免疫染色では 10 ng/mL TGF- β のみ TJ タンパク質の発現量減少がみられた。分子生物学的手法の RT-PCR とウエスタンブロットでも評価をおこなった。RT-PCR では EMT により発現が抑制される上皮遺伝子の発現量減少と発現が促進される間葉遺伝子の発現量増加がすべての TGF- β 濃度で確認された。ウエスタンブロットでは上皮タンパク質の発現量減少と、間葉タンパク質の発現増加が 1, 10 ng/mL TGF- β でみられた。これら手法は EMT 評価におけるゴールドスタンダードであるが、操作が煩雑で即時的な検出は不可能である。これら結果より、pH 摂動法で EMT を評価することができ、既存手法よりも低濃度、短時間の TGF- β 処理でも有意差がみられた。このことから提案手法が初期の EMT を計測でき、高感度・簡便・即時検出に強みを持つと結論づけられた。

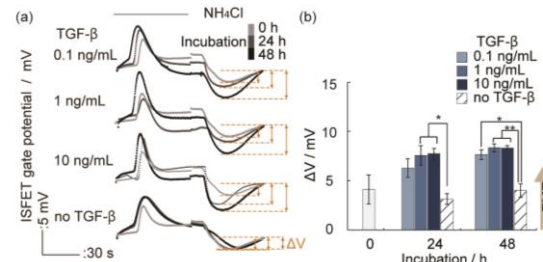


Fig.1 pH 摂動法による TJ 破綻の評価
(a) 摂動の変化, (b) ΔV の比較. Mean \pm SD (n = 4). *p < 0.05, ** p < 0.01.

4. 今後の研究における課題または問題点

本研究ではモデル実験としてイヌ腎臓尿管上皮細胞を用いたが、ヒトがん由来細胞でも同様に EMT を評価可能か検討する必要がある。また、pH 摂動法の課題と対策として ①実験者の手技が結果に影響を与えるため、電子制御による自動化をおこなう ②流路系を用いることで細胞の剥離が生じ長期測定が困難であるため、弱酸・弱塩による刺激ではなく有機電気トランジスタを用いたゲート電圧操作によるセンシングへ変更 ③3次元組織の評価・空間情報の把握が困難であるため、蛍光試薬による pH イメージをおこなう、などの改良点が考えられる。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

Epithelial-mesenchymal transition (EMT) is a cellular phenotype transformation where

epithelial cells lose their cell-to-cell adhesion and polarity, gaining migratory capabilities. EMT is a major cause of cancer metastasis frequently found in tumor tissues. Understanding cellular phenotypic changes during EMT in real-time, quantitative, and microscopic manner will help develop new therapies and drugs for curing cancer diseases. We performed an originally developed pH perturbation assay to monitor the loss of epithelial barrier functions during EMT in vitro. Model MDCK cells were cultured on a poly-L-lysine coated ion-sensitive field-effect transistor (ISFET) as a potentiometric pH sensor. A non-toxic weak acid or base such as ammonium chloride or sodium acetate in a buffer solution was instantaneously exposed to the cells using superfusion systems for chemically inducing the pH perturbations in the microenvironment. This solution exchange allows the selective monitoring of protons leaked through the biomembrane pores or cell-cell gaps, without the interference by gradual pH changes by cell homeostasis. The assay developed is highly sensitive as it measures the leakage of the smallest protons through the paracellular pathways for epithelial cells. We confirmed pronounced leakages of protons in 24-48 h following the induction of EMT by transforming growth factor beta (TGF- β). Our assay can detect the early phase of EMT that conventional assays such as scanning electron microscopy and transepithelial electrical resistance measurements cannot. Next, by analyzing gene/protein expression levels through RT-PCR and Western blotting, we aimed to clarify the biological meanings of the proton leakage signals, observing a decrease in epithelial gene/protein expression and an increase in mesenchymal gene/protein expression. These methods, while standard in EMT research, are complex and do not offer immediate detection. Our assay, however, can simply and efficiently detect early stages of EMT that are not identifiable with traditional assays.

This study utilized model MDCK cells from canine kidney tubular epithelium, but it is essential to explore whether similar EMT evaluations can be applied to human cancer-derived cells. Furthermore, challenges in the pH perturbation method include the influence of experimenter technique on outcomes, difficulties in long-term measurement due to cell detachment in flow systems, and the inability to assess 3D tissues or obtain spatial information, necessitating improvements.

トリコテセン配糖体の生産と構造・性状解析、及び穀類での汚染調査
Production and characterization of trichothecene glucoconjugates and
research on contamination in grains

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

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年2月15日

II) キーワード/①トリコテセン Trichothecenes
②トリコテセン配糖体 Trichothecene-glucoconjugates
③糖抱合 Glycosylation
④*Fusarium* 属菌 *Fusarium* spp.
⑤第二相反応 Phase II detoxification

III) 2023年度交付額/630,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

- 1) 柴田眞也、小泉慶明、長坂美咲、松井宏介、前田一行、中嶋佑一、安藤直子、木村真「*Fusarium graminearum* のトリコテセン C-4 位の配糖体化に関わる酵素遺伝子の同定と解析」、日本農芸化学会 中部・関西支部合同大会(中部支部:第196回例会・関西支部:527回講演会)、2023年9月30日~10月1日
- 2) 柴田眞也、小泉慶明、長坂美咲、松井宏介、前田一行、中嶋佑一、安藤直子、木村真「糸状菌の異物代謝に関わる酵素遺伝子の同定と解析」、第22回糸状菌分子コンファレンス、2023年11月21日~22日
- 3) 佐藤智哉、高橋珠理、篠崎康一郎、栗田一輝、井能沙也加、小泉慶明、木村真、安藤直子「*Myrothecium* 属菌の *Fusarium* 型トリコテセンに対する代謝活性の検証」、日本マイコトキシン学会 第90回学術講演会、2024年1月10日
- 4) 栗田一輝、荻原廉、加瀬正浩、篠崎康一郎、小泉慶明、木村真、安藤直子「Isotrichodermol と trichodermol の配糖体とその毒性評価」、日本マイコトキシン学会 第90回学術講演会、2024年1月10日
- 5) 篠崎康一郎、佐野広空、小泉慶明、安藤直子「*Fusarium* 属菌における C-4 位糖抱合活性の網羅的解析」、東洋大学工業技術研究所 研究発表会、2024年2月21日~3月8日

V) 研究経過および成果の概要(日本語2000字程度)

1. イントロダクション

トリコテセンとは、主に *Fusarium* 属菌等の糸状菌がイネやムギ等の重要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。さらに200種類以上の類縁体があるため、圃場での一括検出や防除が難しく、食の安全を脅かしている。

Fusarium 属菌自身は感染因子であるトリコテセンに対して C-3 位アセチル化をすることで弱毒化するという自らが生産する毒素に対する耐性機構を有している。一方で、感染される植物は C-3 位糖抱合によりトリコテセンを弱毒化させる防御機構を有している。しかし、このトリコテセン配糖体は検出法が煩雑で見過ごされやすいうえに、腸内環境で加水分解されるとトリコテセンが有利

し、毒性が回復すると考えられ、新たなリスクとして警戒されている。

さらに、本研究室において、*Fusarium* 属菌自身がトリコテセン C-4 位糖抱合を引き起こすというものを発見した。この *Fusarium* 属菌自身が引き起こす C-4 位糖抱合は、C-3 位アセチル化による弱毒化を補完する第二の弱毒化機構であることを見出した。加えて、*Fusarium* 属菌以外においても、様々な糖抱合反応が生じることが確認され、この分野の研究者が考えるよりはるかに多くのトリコテセン配糖体が存在していることが示唆された。

2. 研究方法

本研究では、包括的なトリコテセン配糖体の防除とリスク検証のために、以下の 3 ステップからなる研究を実施する。

A. 新規トリコテセン配糖体の生産と構造決定

様々な *Fusarium* 属菌の糖抱合活性を検証すると同時に、*F. graminearum* の自己耐性酵素遺伝子である *Tri101* を破壊した株を使用することで、様々な新規 C-4 位型トリコテセン配糖体の生産を試みる。また、非 *Fusarium* 属トリコテセン生産菌 (*Myrothecium* 属、*Spicellum* 属菌等) を用いることで、C-3 位型トリコテセン配糖体の生産も同時に行い、得られた配糖体を NMR 解析により構造決定する。加えて、同時並行で LC-MS/MS 解析を行い MS/MS データを取得し、本研究室のトリコテセンデータベースに追加する。

B. トリコテセン配糖体の性状解析 (毒性・安定性)

トリコテセン配糖体とそのアグリコンをヒト培養細胞 (HL-60) と本研究室にて作製されたトリコテセン高感受性酵母 (BY4742 *pdr5Δerg6Δrpb4Δ*) を用いて毒性評価を行う。また、pH や α -glucosidase、人工消化液等の様々な環境条件下における安定性の検証を行う。

C. 穀類におけるトリコテセン配糖体の汚染調査

トリコテセン汚染穀類 (研究用の市販試料や農業試験場の試料) を入手し、本研究室で確立しているトリコテセン配糖体の抽出法を用いて抽出を行う。その抽出物から、LC-MS/MS により配糖体の検出を試みる。

3. 研究経過および成果の概要

新規トリコテセン配糖体の生産では、*F. graminearum* MAFF 111233 Δ *Tri5* 株に nivalenol 系トリコテセンを添加した結果、新規トリコテセン配糖体を得ることができなかった。これは *F. graminearum* のトリコテセン生合成経路を辿り、*F. graminearum* MAFF 111233 株の最終生産物である 4,15-diacetylnivalenol や 4-acetylnivalenol に代謝されることが確認された。一方で、自己耐性酵素遺伝子である *Tri101* を破壊した *F. graminearum* MAFF 111233 Δ *Tri5* Δ *Tri101* 株に nivalenol 系トリコテセンを添加した結果、C-4 位に糖抱合が生じた nivalenol-4-*O*-glucoside と 15-acetylnivalenol-4-*O*-glucoside への代謝が LC-MS/MS 解析によって示唆された。これらの結果により、自己耐性を担う C-3 位アセチル化とそれを補完すると考えられる C-4 位糖抱合活性には関係性があることが示唆された。

様々な *Fusarium* 属菌を用いた糖抱合活性の検証では、自己耐性酵素遺伝子である *Tri101* の存在を加味し、C-3 位に修飾基を持たない trichodermol を添加した。その結果、検証した *Fusarium* 属菌 6 株 (*F. solani*、*F. oxysporum*、*F. circinatum*、*F. culmorum*、*F. proliferatum*、*F. poae*) 全てにおいて C-4 位糖抱合体である trichodermol-4-*O*-glucoside が LC-MS/MS 解析によって検出さ

れた。このことから多くの *Fusarium* 属菌が C-4 位糖抱合活性を有していることが確認された。加えて、これら *Fusarium* 属菌はトリコテセン生産・非生産に関わらず、C-4 位糖抱合活性を示したため、この C-4 位糖抱合活性はトリコテセン生産に関係なく生じることが示唆された。

非 *Fusarium* 属トリコテセン生産菌を用いた新規トリコテセン配糖体の探索では、*Myrothecium verrucaria* MAFF 840074 株に isotrichodermol と 4,15-diacetoxyscirpenol を添加した結果、各 C-3 位に糖抱合が生じた isotrichodermol-3-*O*-glucoside と 4,15-diacetoxyscirpenol-3-*O*-glucoside への代謝が LC-MS/MS 解析によって示唆された。こちらは C-4 位型ではなく C-3 位型であるため、トリコテセン生産菌の属種の違いによって糖抱合活性を示す置換基の場所に違いがあることが示唆された。

また、trichodermol-4-*O*-glucoside と isotrichodermol-3-*O*-glucoside の 2 つのトリコテセン配糖体について、そのアグリコンである trichodermol と isotrichodermol についてヒト培養細胞の HL-60 細胞を使用し毒性評価を行った。その結果、IC₅₀ は trichodermol-4-*O*-glucoside が 697 μM 以下、trichodermol が 6.00 μM、isotrichodermol-3-*O*-glucoside が 435 μM、isotrichodermol が 0.32 μM であり、トリコテセン配糖体の毒性はアグリコンと比べて非常に弱いことが分かった。そのため、腸内環境にて加水分解され、アグリコンが遊離した場合、かなりの毒性が復活することが判明した。

穀類におけるトリコテセン配糖体の汚染調査においては、試料を収集し、LC-MS/MS 解析を実施中である。

4. 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、トリコテセン生産菌を用いたトリコテセン配糖体への代謝は、極めて微量な場合が多く、構造決定に必要となる量を生産するのが困難である。そのため、トリコテセン配糖体の生産ツールとして、糖抱合を引き起こす遺伝子の同定し、異種発現による酵素の獲得が重要であると考えられる。さらに、使用するトリコテセン生産菌の違いによって糖抱合活性が C-3 位型と C-4 位型に分かれることが判明したため、これら糖抱合酵素の基質特異性や *in vitro* での基質特異性の検証を進めることで、毒性や安定性の評価等、様々な研究が実施できるようになると考えられる。また、穀類におけるトリコテセン配糖体の汚染調査においては、想定以上のトリコテセン配糖体の存在が示唆されたため、イネやムギ、トウモロコシを中心により多くの試料について順次実施する必要がある。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

Trichothecenes are a group of fungal toxins produced by filamentous fungi as secondary metabolites. In particular, *Fusarium* spp. infect important cereal crops such as rice, wheat, and corn, endangering food safety.

Fusarium sp. has a self-resistance mechanism that weakens trichothecenes by acetylating the C-3 position of the trichothecene. On the other hand, *Fusarium*-infected plants have a defense mechanism to weaken trichothecenes by C-3 glycosylation. However, this trichothecene glucoconjugates are difficult to detect by a conventional method. In addition, when glucoconjugates are ingested by humans, they can be hydrolyzed in the intestinal environment, leading to release of the aglycon and restoration of toxicity. Therefore, trichothecene

glucoconjugates are regarded as new and alarming risks in mycotoxin control.

Furthermore, in our laboratory, we discovered that *Fusarium* sp. causes glycosylation of trichothecenes at the C-4 position. In addition, we found that this reaction is a second weakening mechanism that complements the C-3 acetylation responsible for weakening.

The objective of this study was to provide comprehensive trichothecene glucoconjugates control and risk management. Specifically, various new trichothecene glycosides were produced and their structures were determined. In addition, toxicity and stability risk assessments and contamination surveys in grain should be conducted to lay the foundation for comprehensive management.

For the production of new trichothecene glucoconjugates, the addition of nivalenol type trichothecenes to *F. graminearum* MAFF 111233 $\Delta Tri5\Delta Tri101$ strain, in which the self-tolerant enzyme gene *Tri101* was disrupted, resulted in the formation of nivalenol-4-*O*-glucoside and 15-acetylnivalenol-4-*O*-glucoside. These results suggest that there is a relationship between C-3 glycosylation and C-4 glycosylation activity, which may complement the C-3 acetylation responsible for self-resistance.

Our study of the glycosylation at C-4 was observed in all six *Fusarium* species. This confirms that many *Fusarium* species possess C-4 glycosylase activity. In addition, these *Fusarium* species showed C-4 glycosylation activity regardless of production of trichothecene.

In search of new trichothecene glycosides, isotrichodermol and 4,15-diacetoxyscirpenol were fed to a non-*Fusarium* trichothecene-producing fungi, *Myrothecium verrucaria* MAFF 840074 strain. As a result, they were metabolized to isotrichodermol-3-*O*-glucoside and 4,15-diacetoxyscirpenol-3-*O*-glucoside, respectively, by glycosylation at the C-3 position.

The two trichothecene glucoconjugates, trichodermol-4-*O*-glucoside and isotrichodermol-3-*O*-glucoside, and their aglycons, trichodermol and isotrichodermol, were evaluated for toxicity in cultured human cells HL-60. The IC₅₀ values of trichodermol-4-*O*-glucoside, trichodermol, isotrichodermol-3-*O*-glucoside, and isotrichodermol were 697 μM , 6.00 μM , 435 μM , and 0.32 μM , respectively. It means that the toxicity of trichothecene glucoconjugates were found to be very weak compared to their aglycones.

希少がんに対する新規標的分子の同定と治療薬の開発研究

Research on identification of novel target molecules and development of therapeutic agents for rare cancers

研究代表者 山田 拓武(理工学研究科生体医工学専攻)

指導教員 加藤 和則

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年2月15日

II) キーワード/①希少がん	Rare cancer
②がん幹細胞マーカー	CD44v9
③鉄依存的細胞死	Ferroptosis
④植物由来機能性成分	Phytochemical
⑤シスチン・グルタミン酸トランスポーター	xCT

III) 2023年度交付額/ 480,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

山田拓武、岩澤卓弥、加藤和則「Resveratrol enhances sulfasalazine-induced ferroptosis of cancer cells」The International Society for Nutraceuticals and Functional Foods 2023年12月(Hawaii, Honolulu)

Takumu YAMADA, Takumi IWASAWA, Kazunori KATO. Resveratrol enhances the induction of ferroptosis of cancers by Sulfasalazine. *Anticancer Research*, 2024年予定

V) 研究経過および成果の概要(日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

希少がんとは既存の治療薬では効果が弱いため、新しい概念に基づく治療法・治療薬の開発が求められている難治性のがんのことである。我々の研究室ではこれまでの先行研究において、がんの発生抑制と密接に関与している野菜・果物に由来する機能性成分(Phytochemical)に着目して研究を行っており、様々な Phytochemical ががん細胞に対して効果があることを関連学会(薬学会、癌学会等)にて報告してきた。しかしながら悪性黒色腫細胞に対してはそれらの Phytochemical は効果が見込まれなかったため、新たな Phytochemical での検討が必要であった。そこで本研究では、がん細胞の糖代謝及びアミノ酸代謝に着目し、がん細胞で活性化している解糖系の阻害効果を有するブドウの果皮由来のレスベラトロール(Resveratrol: RSV)とがん細胞のアミノ酸の取り込みと排出に関与しているシスチン・グルタミン酸トランスポーター(xCT)の阻害剤であるスルファサラジン(Sulfasalazine: SSZ)を併用し、新しい概念に基づく治療方法を探索すべく、研究を行った。

2. 研究方法

本研究で用いている SSZ は、自己免疫疾患の抗炎症薬として使用されているが、免疫調節効果の他に、xCT を阻害することで発がん抑制効果やがん幹細胞の抗がん剤体制を抑える効果が報告されており、新規抗がん剤候補薬として注目されている。しかし、SSZ 単剤では容量が多くなり副作用が重くなることが問題として挙げられている。RSV は抗酸化能や抗老化効果を持つとされており、サプリメントとしても市販で販売されている。SSZ での細胞死は近年報告されているフェロトーシスと呼ばれる鉄依存的な細胞死であること可能性が示唆されているが、RSV を併用した際の細胞

死については検討されていなかった。フェロトーシスによる細胞死は、細胞内の鉄イオンのバランスが崩れることで起こるとされている。申請者はこれまでに、**RSV** と **SSZ** を併用することによる細胞死の誘導、相乗的な抗腫瘍効果の増強について学会(癌学会、薬学会)にて報告してきた。しかし、フェロトーシスによる細胞死だと断定するための判断材料が少なかったため、ミトコンドリア内 2 価鉄イオンの蓄積と、過酸化脂質の蓄積を確認した。また、それぞれの細胞死阻害剤(アポトーシス、ネクローシス、フェロトーシス)を添加した際に、フェロトーシス阻害剤以外の細胞死阻害剤で **RSV** と **SSZ** による細胞死が確認されれば、併用による細胞死がフェロトーシスによる細胞死だと断定できる。更に、論文化や臨床試験へと進める際に抗腫瘍効果が期待できる癌種であるかの判断材料が 2 つのマーカーしかないとの確かな判断が欠ける可能性がある。そこで、**CD44v9** と **xCT** 以外の細胞表面分子の関与について **FCM** にて解析した。

3. 研究経過および成果の概要

悪性黒色腫細胞株において、**RSV** と **SSZ** を併用することによるミトコンドリア内 2 価鉄イオンの蓄積と、過酸化脂質の蓄積を認めた。さらに、様々な細胞死経路阻害剤を添加した結果、フェロトーシス阻害剤でのみ細胞死が抑制されたため、**RSV** と **SSZ** による細胞死がフェロトーシスによるものだと示すことができた。さらに **SSZ** によるフェロトーシスによる細胞死を **RSV** が増強させていると断定できた。また、**xCT**、**CD44v9** を発現している細胞株(中皮腫細胞株の一部、ヒトグリア芽腫、ヒト大腸がん)にて効果の差はあるが併用効果が認められた。その他に、細胞表面分子のマーカーとして、近年免疫チェックポイント阻害剤として注目されている **PD-L1** 分子の発現によっても、併用効果が現れる細胞株と効果がみられない細胞株があることが判明した。しかし研究室の引越しに伴い実験のできない期間が長かったため、蛍光顕微鏡を用いた各分子の局在解析と担癌マウスを用いた検討は行うことができなかった。

現在はこれまでの成果を論文に纏めており、今年度中には投稿できるように鋭意執筆中である。

4. 今後の研究における課題または問題点

本研究では希少がんに着目して研究を行ってきた。しかし、希少がん細胞株は高額で手に入りづらかったり、遺伝子変異やタンパクの発現が他の癌種とは異なったりと困難が多い。また、本研究で **PD-L1** 分子も **RSV** と **SSZ** との併用療法に関与している可能性が示唆されたが、まだ数種類でしか確認が取れていないため、今後の検討課題となっている。さらに、担癌マウスを用いた *in vivo* での検討も行えていないため、臨床にて **RSV** と **SSZ** が低濃度で効果があるかについては明らかとなっていない。また、レスベラトロールはサプリメントとして販売されており、安全性については担保されているが、体内動態(どの程度の濃度が体内に分解されずに留まるのか、どのように作用しているのか、がん細胞への集積性など)についての詳細は明らかとなっていないのも課題点として挙げられる。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

Rare cancers are refractory cancers such as melanoma, glioma, osteosarcoma and mesothelioma, for which existing drugs are not effective, and for which the development of treatments and therapeutics based on new concepts is required. In our laboratory, we have

focused on functional components derived from fruits and vegetables (phytochemicals), which are related to the inhibition of cancer development, metastasis and drug resistance. However, these phytochemicals were not expected to be effective against malignant melanoma cells, it was necessary to investigate various combination of phytochemicals. In this study, we focused on the glucose metabolism and amino acid metabolism of cancer cells, and examined the effect of resveratrol (RSV) derived from grape skin, which inhibits the glycolytic system activated in cancer cells, and cystine-glutamate transporter (xCT), which is involved in the uptake and efflux of amino acids in cancer cells. Sulfasalazine (SSZ), an inhibitor of the cystine glutamate transporter (xCT), which is involved in the uptake and efflux of amino acids in cancer cells, were studied to explore a new concept of treatment.

SSZ originally used to suppress inflammation in autoimmune diseases has been reported to induce cell death against cancer cells, which is iron-dependent cell death called "Ferroptosis". The applicant has previously presented at conferences that SSZ in combination with RSV–has an anti-tumor enhancing effect. However, it had not been determined whether the cell death caused by the combination of RSV and SSZ would be due to ferroptosis. Therefore, we focused on the accumulation of iron ions and lipid peroxide in cancer cells. In addition, various cell death inhibitor was also examined for different types of cell death. The results showed that the accumulation of lipid peroxide and divalent iron ions in the cells was increased by the combination of RSV and SSZ. Furthermore, cell death was inhibited only by the ferroptosis inhibitor, indicating that the combination of RSV enhances SSZ-induced cell death.

In summary, RSV enhances SSZ-induced cell death via induction of a new type of cell death mechanism, ferroptosis. However, *in vivo* studies have not been performed yet, and this is an issue for future investigation.

WET 手法を用いた単独・合併処理浄化槽処理水の生態影響評価 Eco-Impact Assessment of Treated Water from Tandoku-syori and Gappei-syori Johkasou in WET (Whole Effluent Toxicity) Method

研究代表者 陳 凱杰 (理工学研究科建築・都市デザイン専攻)

指導教員 山崎 宏史

I) 研究期間 / 2023 年 4 月 1 日～2024 年 2 月 15 日

II) キーワード / ① 浄化槽 Johkasou
② WET 手法 Whole Effluent Toxicity Method
③ 生態影響評価 Eco-Impact Assessment
④ 排水管理 Sewage Management
⑤ マイクロコズム Microcosm

III) 2023 年度交付額 / 629,000 円

IV) 研究発表 / 学会および口頭発表

- 第 51 回関東支部技術研究発表会
2024 年 3 月 4 日発表
- 令和 6 年度全国大会 第 79 回年次学術講演会
2024 年 9 月発表予定
- 日本水処理生物学会第 60 回大会
2024 年 11 月発表予定

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000 字程度)

1. イントロダクション

アメリカ化学会には現在 2 億 5,700 万件以上の登録化学物質があるが、日本の排水基準ではわずか 28 種しか規定されておらず、規制対象外の化学物質やそれらの複合作用により、人や水生生物、水生生態系に影響を及ぼす可能性がある。これらの化学物質に対して、水生生物を用いた環境生態影響評価が有効であり、日本では WET (Whole Effluent Toxicity) 手法の導入が議論されている。

一方、日本の生活排水処理システムには中央集中型の下水道の他、個別分散型の浄化槽がある。この浄化槽は下水道と異なり、個別の家庭に設置されることから、対象が生活排水のみであること、水量や水質が安定しないこと、といった特徴を有する。そのため、これまで評価されていなかった浄化槽放流水に対して、環境生態影響評価を実施し、影響がある場合の有害影響原因物質の同定も検討してきた。

これまで、当方らは、特に藻類 (ムレミカヅキモ) を対象にした短期慢性毒性試験を行い、個体数の変化から毒性を評価してきた。しかし、単一藻類試験の上位に位置するメソコズム試験や水圏モデル生態系であるマイクロコズム WET 試験を導入し、生態系リスク評価を行う必要があると考えた。そのため、高度窒素リン除去型浄化槽を選定しマイクロコズム-WET 試験を実施し、浄化槽処理水の生態影響を総合的に評価する必要がある。

2. 研究方法

本研究では Gnotobiotic 型マイクロコズム (N-system) を用いた。本研究で用いた Gnotobiotic 型

マイクロコズムは全ての構成生物が既知であり、生産者として 2 種の緑藻類 *Chlorella sp.*、*Scenedesmus quadricauda*、1 種の糸状藻類 *Tolypothrix sp.*、捕食者として 1 種の原生動物繊毛虫類 *Cyclidium glaucoma*、2 種の後生動物輪虫類 *Lecane sp.*、*Philodina erythropthalma*、1 種の後生動物貧毛類 *Aeolosoma hemprichi*、分解者として 4 種の優占細菌類 *Bacillus cereus*、*Pseudomonas putida*、*Acinetobacter sp.*、*Coryneform bacteria* にて構成されている。

300ml 三角フラスコに TP 培地 (Taub+ペプトン培地) を 200ml 注ぎ、継代培養されているマイクロコズムの種 10ml を添加して水温 25°C、照度 2,400lx (明暗周期 12hrs) の条件下で 30 日間の静置培養を行った。マイクロコズム内の生物量が安定する培養開始 16 日目に合わせて、高度窒素リン除去型浄化槽の流入水および放流水を採取し、固形物を取り除くため直径 0.45 μ m のろ紙を用いて吸引ろ過し、マイクロコズムに対して 5、10、20、40、80%となるように TP 培地で希釈し添加した。添加の際には、マイクロコズム 5 分間遠心分離し、上澄みを採取して生物量を調整した。

評価項目は、顕微鏡観察によるプランクトン個体数 (構造パラメータ) と DO 計測 (機能パラメータ) とした。顕微鏡観察は培養開始から 0、2、4、7、14、16、18、20、23、30 日目に行った。DO は 16 日目の農薬添加後から 30 日目まで連続的に測定し、生産量 (P) と消費量 (R) より P/R 比を算出し、枝分かれ型分散分析にて評価した。マイクロコズム内の DO を蛍光式 DO 計により経時的に連続測定し、P、R および P/R 比の推移を求めた。培養終了後、機能パラメータについて枝分かれ型分散分析 (branched type ANOVA) にて影響解析した。

機能パラメータにおいて、b-ANOVA で影響なしと評価された最も高い濃度をマイクロコズム最大無影響濃度 (m-NOEC) とした。

3. 研究経過および成果の概要

調査対象となった浄化槽は家庭用の高度窒素リン除去型浄化槽 (5 人槽) であり、人員比は 0.6 であった。浄化槽の流入水、処理水 (消毒前)、放流水 (消毒後) の水質分析結果を表 1 に示した。放流水窒素濃度が 10mg/L を上回っていた。1.0mg/L 以上の T-P を確認した。放流水の BOD は 10mg/L を下回った、BOD の処理性能に満たしたと考えられる。良好に処理機能が発揮されていないと考えられた。

m-WET 試験の DO 経時変化および構造パラメータでの枝分かれ分散分析の結果を図 1 および表 2 に示した。機能パラメータの結果は割愛する。流入水に関しては、機能パラメータおよび構造パラメータの判定結果から、m-NOEC が $\leq 5\%$ であるとわかった。そのことから、未処理生活排水の流出が水生生物に致死影響を与えるほか、高濃度の窒素リンの流出が河川や湖沼におきまして、富栄養化を及ぼす可能性が考えられる。

放流水に関して、構造パラメータでは 10%、20%濃度区において対照区構成微生物個体数と近い結果が確認された。DO 濃度変化や P/R 比などで示している機能パラメータ上では 10%までに希釈することにより微生物に有害影響を及ぼさなくなった。そのことから放流水の m-NOEC が 10%であると確認された。高度窒素リン除去型浄化槽の処理過程により生活排水の水生生物への有害影響が削減されたと評価された。

項目(mg/L)	NH ₄ -N	NO ₂ -N	NO ₃ -N	PO ₄ -P	T-P	BOD
流入	2.4	1.9	3.4	N.D.	1.4	26
処理	3.4	0.84	7.1	N.D.	1.7	15
放流	2.3	0.6	8.7	0.7	1.6	5.2

表2 m-WET 試験結果

流入	群	影響なし	影響なし	影響なし
10%	交互作用	影響なし	影響なし	影響なし
	群	影響なし	影響なし	影響なし
20%	交互作用	影響なし	影響あり	影響あり
	群	影響なし	影響なし	影響なし
40%	交互作用	影響なし	影響あり	影響あり
	群	影響なし	影響なし	影響なし
80%	交互作用	影響なし	影響あり	影響あり
	群	影響なし	影響なし	影響なし
放流 10%	交互作用	影響なし	影響なし	影響なし
	群	影響なし	影響なし	影響なし
放流 20%	交互作用	影響なし	影響なし	影響あり
	群	影響なし	影響なし	影響なし
放流 40%	交互作用	影響なし	影響あり	影響あり
	群	影響なし	影響なし	影響なし
放流 80%	交互作用	影響あり	影響あり	影響あり
	群	影響なし	影響なし	影響なし

処理浄化槽放流水を対象としたマイクロゾム WET 試験を実施する必要性があると考えられる。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

Currently, there are over 257 million registered chemical substances in the American Chemical Society database, with tens of thousands believed to be in use in Japan. Some of these chemicals are potentially leaching into aquatic environments. However, Japan's wastewater standards specify only 28 substances, leaving many unregulated chemicals whose combined actions, even if individually non-toxic, may pose risks to humans, aquatic organisms, or ecosystems. For these chemicals, comprehensive toxicity assessments using environmental ecological impact evaluation methods involving aquatic organisms, such as the Whole Effluent Toxicity (WET) method, are considered effective. In Japan, discussions on the full-scale implementation of WET methods, particularly short-term chronic toxicity tests using aquatic organisms, have been ongoing since fiscal year 2009. impact assessments using the WET method targeting sewage treatment water. However, decentralized purification tanks, in contrast to sewage treatment water in central

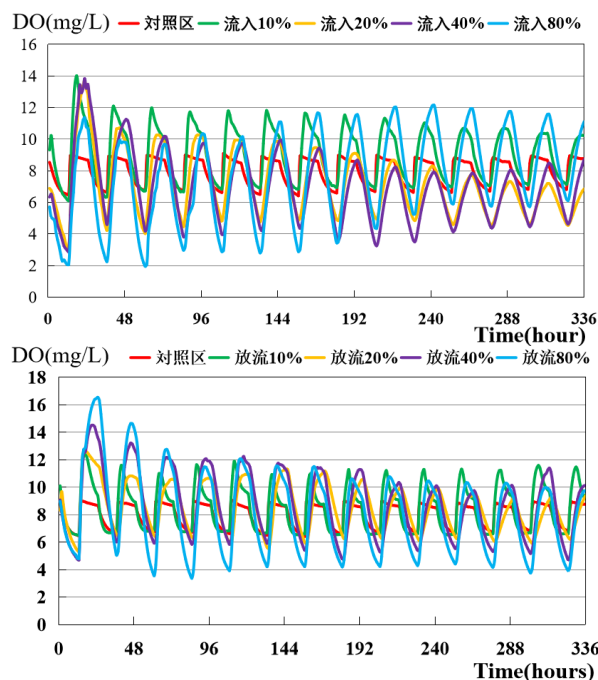


図1 DO濃度の経時変化流入水(上)放流水(下)

4. 今後の研究における課題または問題点

日本において高度窒素リン除去型の浄化槽だけではなく、法律で新設禁止されているし尿のみを処理する単独処理浄化槽は未だに半数程度残っている。それ以外に、リン除去機能が付かない構造例示型の合併処理浄化槽も存在する。リンが植物プランクトンの不可欠な栄養素の一種であり、高濃度の排出に伴う放流先の富栄養化により赤潮、アオコを発生する恐れがある。そのため、単独処理浄化槽放流水および構造例示型の合併

sewerage systems, exclusively process domestic wastewater. These facilities face challenges such as unstable water quantity and quality, leading to the potential retention of ammonia nitrogen, a toxic substance to aquatic organisms.

Our team has been conducting environmental ecological impact assessments using the WET method for treated wastewater from purification tanks, which has not been the focus of evaluations previously. Additionally, utilizing the WET method, we have evaluated the environmental ecological impact of purified wastewater from these tanks and have explored the identification of causative substances in the event of observed adverse effects.

In this manner, our team has been conducting short-term chronic toxicity tests targeting algae (specifically, *Raphidocelis subcapitata*) among aquatic organisms using the WET method for treated wastewater from purification tanks. The assessment involves evaluating toxicity based on changes in the population of algae.

To reflect the ecological interactions, predation relationships, and substance cycling mechanisms present in ecosystems, the authors propose conducting Microcosm WET (m-WET) tests using Microcosm, a water model ecosystem with predator-prey relationships and substance cycling mechanisms, which represents the ecosystem structure reflected in mesocosm tests, ranking above single organism tests.

The study selected an advanced nitrogen and phosphorus removal sewage treatment tank adhering to discharge standards of BOD10mg/L, T-N10mg/L, and T-P1mg/L. The m-WET test was conducted to assess the ecological impact of the treated wastewater. The results confirmed that the maximum no observed effect concentration (NOEC) for inflow water was 5%, while for outflow water, it was 10%. The sewage treatment process of the advanced nitrogen and phosphorus removal tank was evaluated positively for reducing harmful effects on aquatic life. However, it was noted that combined treatment tanks exist without phosphorus removal capabilities, posing a risk of eutrophication and the potential occurrence of red tide and algal blooms due to high phosphorus discharge.

無線給電を用いたパッシブ型イオンセンサの開発

Development of ion biosensors based on passive wireless power feeding

研究代表者 伊藤 悠晟(理工学研究科生体医工学専攻)

指導教員 合田 達郎

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年2月15日

II) キーワード/①バイオセンシング / Biosensing

②イオンセンサ / Ion Sensors

③無線給電 / Wireless power feeding

④RFID / Radio Frequency Identification

⑤ウェアラブルデバイス / Wearable device

III) 2023年度交付額/ 560,000 円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

伊藤悠晟,合田達郎,体液中イオンの計測に向けた近距離無線通信アンテナセンサの創製,第45回日本バイオマテリアル学会大会,2023.11.7,神戸国際会議場

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

IoT化が進むにつれてウェアラブルエレクトロニクス技術が向上し、その技術が様々な分野で広く活用されるようになった。ウェアラブルデバイスと無線通信を組み合わせることで、リアルタイムモニタリングといった新たな機能を提供することができ、医療分野においては場所を問わず、即時かつ簡便に健康状態を把握するといった応用が期待される。無線通信技術の中でも、Radio Frequency Identification (RFID) 規格はパッシブモードでの無線給電、高速・非接触でのデータ伝送などの特徴を持つ。RFIDは内蔵バッテリーを持たず、リーダーからの電磁波を受信することで、そのエネルギーを電力に変換し、アンテナコイルを動作させることからウェアラブル型やインプラント型のケーブル不要・電池不要なバイオセンシングへの応用が見込まれている。近年、様々な生体信号計測において、市販のウェアラブルセンサやインプラントセンサが進展を遂げているが、体液中のバイオマーカーを高感度、選択的に、かつ無線方式で検出する技術は実現していない。本研究では、ケーブルや電池を必要としない無線通信技術を用いたパッシブ型イオンセンサの開発を目指す。

2. 研究方法

自作無線アンテナコイルによるイオン濃度の無線測定

イオンセンサの構造は、測定対象物質を認識する感応部と、それを検出可能な信号に変換するトランスデューサからなる。本研究では、応答させるイオンとして Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- を対象にしておき、それぞれに対応するイオン選択性電極(ion-selective electrode: ISE)を自作した。無線測定システムを構築するにあたり、トランスデューサとして機能する自作アンテナコイルの製作と、その共振周波数特性を評価するためにネットワークアナライザ (KEYSIGHT E5063A) を用いた。アンテナコイルは、カッティングマシン(Silhouette CAMEO 4)を用いて導電性銅箔シート(株式会社タカチ

電機工業)を精密にカットし、2巻の無線アンテナコイルを作製した。作製したアンテナコイルには、可変容量ダイオード(Skyworks Solutions Inc.)を並列に接続した。これにより、ネルンスト応答によって生じた電位変化を、無線通信にて共振周波数変化として捉えることが可能になる。

各種イオンの電位測定

イオン濃度の測定における従来法として、電位測定法が広い分野で信頼性の高い手法として確立されている。電位測定は、溶液中の特定のイオンに選択的に反応する ISE を用いて、イオン活性に基づく電位差を測定することにより、対象イオンの濃度を推定できる。その精度と選択性により、環境モニタリング、生化学的分析、臨床診断など、多岐にわたり応用されている。この測定原理はネルンストの式に基づいており、電極の電位と溶液中のイオン濃度の間の定量的な関係を示す。

$$E = E^0 + \frac{0.0592}{n} \log[C] \quad (\text{単位: [V]})$$

ネルンストの式は室温 25 °C (298 K)の条件で上記のように表される。E は電極の電位、E⁰ は標準電極電位、n は反応に関与する電子の数、[C] はイオン濃度(mol/L)となる。この式により、電極の電位変化を通じて、溶液中の特定のイオン濃度を正確に求めることが可能となることから、本研究におけるイオンの無線測定の結果と比較し、その信頼性を確認した。

3. 研究経過および成果の概要

本研究では Na⁺、K⁺、Cl⁻ の無線測定と電位測定を行ったため、それらの結果について報告する。Na⁺ および K⁺ に対してはそれぞれ専用のイオン感応膜電極を、Cl⁻ には銀塩化銀電極を作製し ISE とした。参照電極に飽和 KCl 銀塩化銀参照電極(インターケミ株式会社)を用いることで、各種イオンの測定を行った。各種イオンの無線測定および電位測定の結果を下図に示した。測定液として Na⁺ および Cl⁻ の測定には、1M から 10⁻⁵ M までの範囲で 10 倍濃度毎に調製した NaCl 水溶液を使用した。同様に、K⁺ の測定のためには、KCl 水溶液を同じ濃度範囲で用意した。

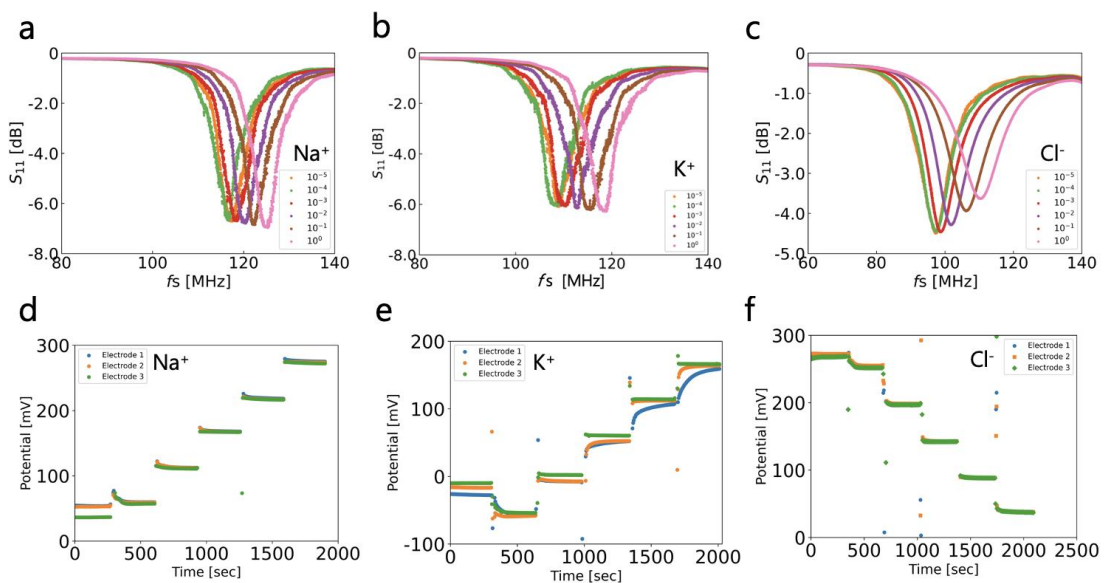


図. 各種イオンの無線測定と電位測定の結果 : (a) Na⁺無線測定での共振周波数シフト (b) K⁺無線測定での共振周波数シフト (c) Cl⁻無線測定での共振周波数シフト (d,e,f)各種イオンの電位測定の結果

全ての無線イオン測定で共振周波数のピークは 10^{-4} M の濃度より順に増加方向へシフトすることが分かった。無線測定システムでは、イオンの濃度差によって生じる電位変化が、コイル内に組み込まれた可変容量ダイオードの静電容量を変化させることから共振周波数のシフトが起こると考えられる。さらに従来法である電位測定においても同様に 10^{-4} M の濃度より段階的な電位変化を捉えた。このことから両手法は同程度のダイナミックレンジで測定できることが示された。また検出濃度範囲から電解質検査など生体内のイオン検出においても無線測定が実用的である可能性が示唆された。

4. 今後の研究における課題または問題点

これまでは目的のイオンを無線測定するために他のイオンによる干渉を最小限に抑えられる溶液を用いて測定を行ってきた。今後は、特定のイオンに対しての選択性を定量化するため、複数のイオンが存在する溶液中での選択性試験や生体への応用に向けた人工汗液を用いたイオン測定も計画している。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

With the advancement of IoT, wearable electronics technology has also improved and is now widely used in various fields. These technological advances provide new methods for real-time monitoring of health conditions, providing instant and convenient health management from any location. RFID (Radio Frequency Identification) is a passive mode, wirelessly power-feeding, high-speed, non-contact data communication technology that does not need an internal battery and converts energy into electrical power by receiving electromagnetic waves and converting an antenna. These advantages of this technology are expected to apply to wearable devices and implantable biosensing. Although wearable sensors and implantable sensors have made progress in various biological signal measurements in recent years, the technology to detect biomarkers in body fluids in a highly sensitive, selective, and wireless system has not been developed. In this study, we aimed to develop a passive ion sensor using a wireless power-feeding system that does not require cables or batteries.

In the experiment, ion concentrations were measured wirelessly using a self-made wireless antenna coil and an ion-selective electrode. The target ions measured were Na^+ , K^+ , and Cl^- . The originally developed wireless system incorporates a varactor diode in the circuit to capture the potential change caused by the Nernst response as a change in resonance frequency. This antenna coil is made from copper foil, and the resonant frequency of the antenna coil was evaluated with a network analyzer. Potentiometry boasts high reliability, accuracy, and selectivity in a variety of fields, including environmental monitoring and clinical diagnostics, and is a conventional measurement method based on the Nernst equation. This method enables accurate measurement of ion concentrations, and the validity of the wireless method was verified by comparing it with this method. Results of the experiment show that the peak resonance frequency shifts from 10^{-4} M for all wireless ion measurements. The results are similar to those of conventional potentiometry, indicating that both measurement methods have the same level of dynamic range. These results indicate that wireless measurements are practical for detecting ions in the body.

In the future, we will conduct selectivity experiments using solutions containing multiple ions to quantify the selectivity of the target ions, as well as ion measurements using artificial sweat solution for biological applications.

大環状トリコテセン類の取得と抗体医薬への応用

Acquisition of macrocyclic trichothecenes and their application to antibody therapeutics

研究代表者 高橋 華奈(理工学研究科応用化学専攻修士前期課程)

指導教員 安藤 直子

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年2月15日

II) キーワード/①抗体医薬 Antibody medicine

②ミサイル療法 missile therapy

③分子標的薬 Molecular target drug

④トリコテセン trichothecenes

⑤カビ毒 mycotoxin

III) 2023年度交付額/559,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

1. 荻原廉, 小泉慶明, 高橋華奈, 佐野広空, 安藤直子「トリコテセン類の作用機序解明に向けた毒性評価」日本マイコトキシン学会 第90回 学術講演会 東京農業大学世田谷キャンパス (2023年1月10日)
2. 高橋華奈, 小泉慶明, 荻原廉, 佐野広空, 岩澤卓弥, 加藤和則, 安藤直子「Verrucarin Aを用いた抗体医薬への応用利用」日本マイコトキシン学会 第90回 学術講演会 東京農業大学世田谷キャンパス (2023年1月10日)

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

トリコテセンとは、*Myrothecium* 属や *Fusarium* 属等の糸状菌が農作物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。これらの毒素は、トリコテセン骨格を有し、構造の違いにより A~D 型に分類することができる。毒性を比較した場合、D 型が最も毒性が強く、A 型、B 型と続く。トリコテセン類は、細胞分裂が盛んな細胞に対して強い毒性を示し、この性質を利用して抗癌剤への応用利用が期待されてきた。しかし、正常細胞に対しても強い毒性を示すというデメリットがあり、応用利用が見送られてきた。そこで、がん細胞表面に特異的に発現する抗原に対するモノクローナル抗体 (mAb) と薬剤を結合し、その表面抗原を発現するがん細胞のみを攻撃する技術であるミサイル療法に着目した。この手法を用いて、本研究室で生産・精製しているトリコテセン類縁体を用いた“抗体医薬の創薬”への可能性を検証することとした。

本研究では、近年社会問題となっているアスベストへの曝露を起因とする悪性胸膜中皮腫系の細胞株 (NCI-H2052・NCI-H28) をターゲットとし、最も毒性が強いとされている大環状を有する D 型トリコテセン Verrucarin A (VA) を主軸としてトリコテセン付加抗体の作製を試みた。トリコテセンと抗体を結合するために VA にリンカーを有機合成し、がん細胞特異抗原の EpCAM, EphA2 抗原に対する mAb と結合した。作製後、EpCAM, EphA2 抗原の高発現・低発現細胞株にそれぞれ添加し、その抗原特異的な毒性を検証した。

2. 研究方法

VA を用いたトリコテセン付加抗体の合成は 3 段階で行った。1 段階目で、VA にトリエチルアミンを用いて開環させた無水グルタル酸を反応させて、VA-hemiglutarate (VA-HG) を作製した。2 段階目で、N,N-ジシクロヘキシルカルボジイミドを触媒として、VA-HG に N-ヒドロキシコハク酸イミドを反応させ、N-succinimidoxycarbonyl-butyl-VA (VA-GOSu) を作製した。これをがん細胞特異抗原である EphA2, EpCAM に対する mAb と結合させ、それぞれ VA-mAb (抗 EphA2 抗体)、VA-mAb (抗 EpCAM 抗体) を合成した。

VA-HG・VA-GOSu の合成については、TLC や HPLC、LC-MS/MS 解析で確認し、合成時間の検証を行った。VA-mAb は、精製した後にタンパク定量 (BCA 法) を用いて濃度を確認した。その後、フローサイトメトリー (FACS) と WST assay を用いて、各細胞に対する抗原特異的な VA-mAb の毒性検証を行った。使用した細胞は、EphA2 抗原が高発現である悪性胸膜中皮腫系の NCI-H2052, NCI-H28 細胞、比較検証用として EpCAM 抗原が高発現のヒト表皮角化系 HaCaT 細胞である。

3. 研究経過および成果の概要

VA-mAb の作製において、第 1・2 段階の反応物である VA-HG と VA-GOSu の合成時間検証では、LC-MS/MS 解析等により、その合成が強く示唆される結果が得られた。加えて、合成時間検証より、VA-HG は 48 h、VA-GOSu は 1 h で最も収率が良いことが示された。

FACS を用いて作製した VA-mAb の各細胞への抗原特異的な結合を確認した。その結果、細胞表面抗原に対して特異な結合を確認することができた。ただし、抗体のみを添加した場合と比較すると蛍光強度は小さくなっており、VA が抗体の抗原結合部位に結合している可能性が考えられる。

WST assay より、各細胞に対する VA-mAb の抗原特異的な毒性の検証を行った。実験より、HaCaT 細胞は、悪性胸膜中皮腫細胞に比べ、VA に対する抵抗性は高いが、抗ヒト EpCAM 抗体を結合した VA-mAb では、逆により強い毒性を示した。HaCaT 細胞には EpCAM 抗原が発現しているため、VA-mAb に結合したことにより、より毒性が強くと考えられる。また、抗ヒト EphA2 抗体を結合した VA-mAb では、EphA2 抗原が最も高発現である NCI-H2052 細胞、次いで NCI-H28 細胞に毒性を示し、EphA2 抗原が低発現であった HaCaT 細胞に対しては比較的低毒性であった。よって、抗原の発現量が多いほど毒性が強くなる結果が得られた。以上のことから、抗原特異的に抗体が毒性を示すことができたと考えられる。以前の研究から、抗ヒト EpCAM 抗体、および抗ヒト EphA2 抗体は培養細胞に毒性を示さなかったため、毒性はこれらの抗体の毒性ではないと考えられる。今後の実験では、トリコテセン付加抗体の毒性を調べる際に、トリコテセンを付加していない抗体そのものの毒性も、同時に検証すべきと思われる。

4. 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、以下の 2 点が挙げられる。1 つ目は、VA-GOSu の合成時、最適合成時間である 1 h では VA-HG が全変換されていないため、試薬量の再検討が必要である。2 つ目は、1 抗体に搭載する薬物量や結合部位を制御し、細胞に対する薬物動態を高めていくことが挙げられる。また、制御が行えているかどうか確認し、トリコテセン付加抗体の実用化に向けて血中ではどのような反応を示すか検証していくことが必要である。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

Trichothecenes are a group of mycotoxins produced as secondary metabolites when filamentous fungi such as *Fusarium* and *Myrothecium* infect agricultural crops. These toxins have a trichothecene skeleton in common and can be classified into type A ~ D according to their chemical structures. Trichothecenes are highly toxic to actively dividing cells, and have been expected as anticancer drugs because of their potent cytotoxicities. However, it has been disadvantageous that they exhibit potent toxicity even to normal cells, thus, their application has been abandoned. Therefore, we focused on missile therapy, which is a novel technology, in which an anticancer drug is bound to a monoclonal antibody (mAb) which can bind to an antigen specifically expressed on the surface of cancer cells, thus, a drug-bound mAb attacks only cancer cells that express the surface antigen. In this study, we aimed to verify the possibility of "antibody drug delivery" carrying trichothecenes. Here, we attempted to produce a trichothecene-bound antibody using D-type trichothecene Verrucarin A (VA), which has a macrocyclic structure, and is known to be highly toxic.

A "linker" that serves as a bridge between trichothecene and antibodies was produced by two-step organic synthesis, with VA-hemiglutarate (VA-HG) as the first stage and N-succinimidoxycarbonyl-butyl-VA (VA-GOSu) as the second stage. In the third step, the lysine residue in a monoclonal antibody (anti-human EphA2 antibody or anti-human EpCAM antibody) was conjugated to the linker to produce VA-mAb. In the preparation of VA-mAb, the synthesis condition of VA-HG and VA-GOSu were carefully confirmed. The production of each compound was affirmed by LC-MS/MS analysis. The protein concentration of VA-mAb was measured using BCA method. Subsequently, flow cytometry (FACS) and WST assay were performed to verify binding ability of VA-mAb to its specific antigen and the VA-mAb induced toxicity in each cultured cell.

Antigen-specific binding of the VA-mAb to each cell was confirmed using FACS, although their binding was weaker than corresponding mAb itself. The antigen-specific toxicity of VA-mAb to each cell was verified in the WST assay. Our studies showed that VA-mAb (anti-EpCAM antibody) showed bigger toxicity toward HaCaT cell which express EpCAM, than NCI-H2052 cells and NCI-H28 cells which don't. On the contrary, VA-mAb (anti-EphA2 antibody) showed bigger toxicity toward NCI-H2052 cells and NCI-H28 cells which express EphA2, than HaCaT which don't. It means that we have succeeded in producing antigen specific mAb carrying VA.

新規エコ食材を目指した食用糸状菌の培養と機能性成分の解析
Cultivation of edible filamentous fungi and analysis of functional
components for new eco-friendly foods

研究代表者 山口 希代夏(理工学研究科応用化学専攻)

指導教員 安藤 直子

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年2月15日

II) キーワード/①カビ毒 Mycotoxin
②食用糸状菌 Edible filamentous fungus
③タンパク質 Protein
④食品廃材 Food wastes
⑤機能性成分 Functional ingredients

III) 2023年度交付額/557,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

1. 山口希代夏, 斎藤颯汰, 今朝丸歩生, 関口奈那, 木村真, 安藤直子「食用糸状菌 *Fusarium venenatum* の機能性評価における食品廃材培地と合成培地の比較」日本マイコトキシン学会 第90回 学術講演会 東京農業大学世田谷キャンパス (2023年1月10日)
2. 齊藤颯太, 馬淵啓太, 若尾蒼大, 山口希代夏, 菅崎昌高, 安藤直子「食用糸状菌 *Fusarium venenatum* の効率的な菌体増殖に向けた培地栄養源の検討」日本食品科学工学会 第70回記念大会 (2023年8月24日~26日 京都女子大学)
3. 若尾蒼大, 山口希代夏, 齊藤颯汰, 関口奈那, 今朝丸歩生, 木村真, 安藤直子「飲料廃材を用いた食用糸状菌 *Fusarium venenatum* の培養と菌糸の DPPH ラジカル消去活性の検証」日本マイコトキシン学会 第89回 学術講演会 金沢大学サテライトプラザ (石川県金沢市) (2023年8月18日)
4. 山口希代夏, 小泉慶明, 若尾蒼大, 今朝丸歩生, 木村真, 安藤直子「食用糸状菌 *Fusarium venenatum* のタンパク質生産における食品廃材培地と合成培地の比較」日本マイコトキシン学会 第89回 学術講演会 金沢大学サテライトプラザ (石川県金沢市) (2023年8月18日)

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

発展途上国での人口増加により生じる飢餓を解消するためには安価で生産の容易なタンパク質の獲得が重要視されている。そこで、食用糸状菌 *Fusarium venenatum* (*Fv*)は、高タンパク質含有であるため、代替肉として注目を集めている。実際にグルコースを糖源とした合成培地で生産されたものが製品化されているが、この菌体は培養条件によってはカビ毒トリコテセンの一種である4,15-diacetoxyscirpenol (DAS) を生産する。

本研究室では、新規エコ食材になり得るタンパク質を得るため、*Fv* を食品廃材培地で培養することで食品廃材の有効活用と安価にタンパク質を得る事を目標としてきた。それに伴い、本研究では、培地に米糠・小麦ふすまを利用することで DAS 生産の有無・取得菌糸重量・タンパク質量を比較検証した。また、タンパク質以外にプラス要素となる機能性成分について調査した。これにつ

いては、菌糸抽出液に含まれる抗酸化活性・抗糖化性について評価を行った。

2. 研究方法

(1)pH 測定及び DAS の検出

本研究で使用した各培地の組成を Table 1 に示す。本研究では 8 種類の培地を使用した。各培地に *Fv* ATCC 20334 株の孢子液 (1.0×10^5 個) を植菌し、25°C・30°C、7 日間、100rpm で振盪培養した。3、5、7 日目に培養液を分取し、pH 測定を行った。7 日目には TLC、HPLC、LC-MS/MS 解析で DAS を測定した。

Table 1. 使用培地

25°C・30°C	糖源 5%	窒素源 38.0 mM
食品廃材培地		無添加
食品廃材培地+A	糠・ふすま	(NH ₄) ₂ SO ₄ : A
食品廃材培地+Na		NaNO ₃ : Na
食品廃材培地+P		NH ₄ N ₂ PO ₄ : P

(2)菌糸重量測定及びタンパク質定量

各種培地で 7 日間培養した菌糸を吸引濾過を用いて回収し、24 h 凍結乾燥させて菌糸重量を測定した。その後、ケルダール法を用いて各取得菌糸に含まれるタンパク質量を算出した。

(3)DPPH 法を用いた菌糸抽出液に含まれる抗酸化活性評価

(2)で得た菌糸に加え、糠・ふすまそのものを 300 mg 秤取り、蒸留水 6 mL を加えて 72 h 抽出を行った。96 well プレートに抽出液を 20 μL、0.1 M Tris-HCl buffer (pH 7.4)を 80 μL、0.2 mM DPPH 溶液を 100 μL 添加し、室温で 30 分間インキュベート後、570 nm の吸光度を測定し、IC₅₀ を算出した。

(4)AGEs 産生抑制率による抗糖化性評価

(2)で得た菌糸に加え、糠・ふすまそのものを 300 mg 秤取り、蒸留水 6 mL を加えて 72 h 抽出を行った。2 mL チューブに抽出液を 100 μL、100 mg/mL BSA 溶液を 100 μL、200 mg/mL D-glucose 溶液 500 μL、0.2 M リン酸ナトリウム buffer (pH7.4)を 300 μL ずつ分注し、よく攪拌したものを 60°C のインキュベーターで 48 h 反応させた。これを 200 μL ずつ黒色 96 well プレートに添加し、励起 355 nm・蛍光 460 nm で測定し、IC₅₀ を算出した。

3. 研究経過および成果の概要

(1)pH 測定及び DAS の検出

pH 測定の結果より、25°C・30°C培養共に廃材(糠・ふすま)培地に共通して、A 添加培地・P 添加培地では下降、Na 添加培地では上昇が確認できた。一方で、窒素源無添加培地ではあまり変動が確認できなかった。TLC 解析より、糠培地では両検証温度で Day 3 において DAS 付近にスポットがみられたが、HPLC・LC-MS/MS 解析の結果、DAS は検出されなかった。また、ふすま培地では両検証温度、すべての経時において同様の解析の結果、DAS は検出されなかった。

(2)菌糸重量測定及びタンパク質定量

菌糸重量測定及びタンパク質定量の糠含有培地における結果を Fig. 1 に、ふすま含有培地における結果を Fig. 2 に示す。

これより、培養温度に関わらず、菌糸重量・タンパク質量に共通して、糠含有培地>ふすま含有培地の順に取得質量が大きかった。また、糠含有培地においては培養温度を上昇させることでタンパク割合の高い菌糸が取得できる可能性が示唆された。

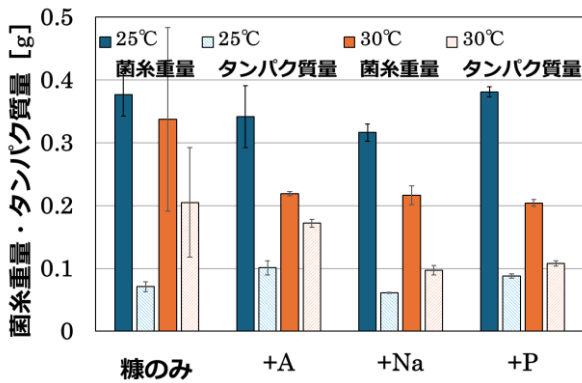


Fig. 1. 糖含有培地

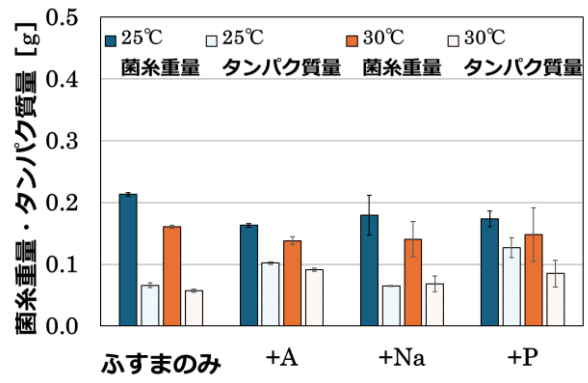


Fig. 2. ふすま含有培地

(3) DPPH 法を用いた菌糸抽出液に含まれる抗酸化活性評価

糠自体の抽出液のラジカル消去率は 90%程度であったのに対し、ふすま自体の抽出液のラジカル消去率は 25%程度であったことから、抗酸化活性成分の有無に大きな差がみられた。また、糠・ふすま培地から得られた菌糸の抽出液は共通して、抗酸化活性が見られた。その中でも、アンモニウム塩を添加した場合の培養菌糸では活性の低下がみられ、窒素源無添加の培養菌糸の抽出液で最も高活性を示した。これらより、*Fv* 由来の菌糸には抗酸化活性成分が含まれており、添加する窒素源によって差が出ることを示唆された。

(4) AGEs 産生抑制率による抗糖化性評価

糠・ふすま自体の抽出液において、原液の AGEs 産生抑制率はほとんど発現しなかったが、培養菌糸の抽出液においてはやや抗糖化性を示したことから、*Fv* 由来の菌糸には抗糖化性成分が含まれていることが示唆された。また、抗酸化活性評価のような窒素源の種類による規則的な傾向はみられなかったが、こちらも窒素源無添加の培養菌糸の抽出液で最も高活性を示した。

4. 今後の研究における課題または問題点

本研究では、培地に食品廃材を使用して培養し、得た菌糸についてタンパク質量や食品の健康増進機能性について調査したが、この菌糸が合成培地で培養した菌糸と比較して優位であるのかどうかについては確認する必要がある。また、機能性成分については、アンジオテンシン変換酵素阻害活性などについても検証を行い、この菌体が持つ機能性を明らかにする必要がある。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

In order to solve the problem of starvation and lack of protein sources caused by population growth in developing countries, alternative proteins have been expected. Therefore, *Fusarium venenatum* (*Fv*), edible filamentous fungus with high protein content, has attracted attention. However, this fungus has several disadvantages such as the production of 4,15-diacetoxyscirpenol (DAS), a mycotoxin type A trichothecene in certain cultural conditions, and high energy requirement for its cultivation. So far, glucose, which is also an important human nutrient, is the main carbon source for these fungi. It means that the utilization of this fungi for human food is not necessarily safe nor eco-friendly. Hence, in our laboratory, we have aimed to effectively utilize food waste as the culture medium for culturing *Fv* ATCC 20334 strain, in order to obtain proteins that can be used as new

eco-friendly foods.

In this experiment, rice bran and wheat bran were used as medium source to culture *Fv*. The cultural medium was harvested, and pH was measured in a time course manner, because pH decrease sometime trigger DAS production. We also extracted each medium with ethyl acetate to detect DAS by TLC, HPLC, and LC-MS/MS analysis. In addition, each mycelia was collected using suction filtration on the 7th day. Each sample was freeze-dried, weighed, and protein was quantified using the Kjeldahl method. Furthermore, in order to examine antioxidant activity and anti-glycation properties, each dried-up mycelia sample was extracted with water and used for DPPH assay and glycation assay using BSA and glucose. For comparison, rice and wheat bran were also used for analysis.

As a result, a pH decrease over time in the medium containing ammonium salts, and an increase in the medium supplemented with sodium nitrate, but no change over time was observed in the medium without a nitrogen source. Moreover, DAS was not detected in any medium on the 7th day. Hence, there was no relationship between pH fluctuation and DAS production in these medium.

Regarding the amount of hyphae and protein concentration, the mass obtained was larger in the order of bran-containing medium > bran-containing medium, regardless of the culture temperature. In addition, the mycelium with a high protein content tended to be obtained at 30°C in the medium containing rice bran.

Antioxidant activity was observed in the extract of rice bran itself, but no anti-glycation activity was observed, and neither activity was observed in the extract of wheat bran itself. However, these two types of activities were observed in the *Fv* mycelial extract. Regarding the types of cultured hyphae, the hyphae extract incubated in the medium without addition of nitrogen source had the highest activity in both antioxidant and anti-glycation activities.

カビ毒トリコテセンの毒性発現機構の検証

～新規な抗癌剤の創製を目指して～

Verification of the toxicity expression mechanism of mycotoxin trichothecenes ~Aiming to create new anticancer drugs~

研究代表者 荻原 廉(理工学研究科応用化学専攻博士前期課程2年)

指導教員 安藤 直子

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年2月15日

II) キーワード/①カビ毒 mycotoxin

②トリコテセン trichothecenes

③毒性 toxicity

④機構 mechanism

⑤抗がん剤 anticancer drugs

III) 2023年度交付額/558,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

1. 荻原廉, 小泉慶明, 高橋華奈, 佐野広空, 安藤直子「トリコテセン類の作用機序解明に向けた毒性評価」日本マイコトキシン学会 第90回 学術講演会 東京農業大学世田谷キャンパス (2023年1月10日)
2. 高橋華奈, 小泉慶明, 荻原廉, 佐野広空, 岩澤卓弥, 加藤和則, 安藤直子「Verrucarin Aを用いた抗体医薬への応用利用」日本マイコトキシン学会 第90回 学術講演会 東京農業大学世田谷キャンパス (2023年1月10日)
3. 栗田一輝, 荻原廉, 加瀬正浩, 篠崎康一郎, 小泉慶明, 木村真, 安藤直子「Isotrichodermol と trichodermol の配糖体とその毒性検証」日本マイコトキシン学会 第90回 学術講演会 東京農業大学世田谷キャンパス (2023年1月10日)
4. 小泉慶明, 荻原廉, 篠崎康一郎, 遠藤彩花, 木村真, 安藤直子「*Fusarium* 型トリコテセン生合成経路の第二環化反応における C-15 位アセチル化酵素の重要性」日本マイコトキシン学会 第89回 学術講演会 金沢大学サテライトプラザ (石川県金沢市) (2023年8月18日)

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

トリコテセン類は *Fusarium* 属菌などの糸状菌が生産し、ヒトや家畜が摂取すると重篤な中毒症状を引き起こすカビ毒の一群である。生合成経路の違いにより t-type と d-type に大別され、200種以上の類縁体が報告されている。また、構造の違いから A~D 型に分類でき、毒性の順は一部例外を除き D>A>B>C とされている。トリコテセン類は細胞分裂の盛んながん細胞などに対し強い毒性を示し、これらの毒性はリボソームを介したタンパク質の合成阻害や細胞死誘導などによるものと考えられる。これらの特徴を生かすことで、抗がん剤としての応用利用の可能性が注目されているが、トリコテセン類の細胞毒性についての構造活性相関や標的分子については不明点も多い。そこでトリコテセン類が有する細胞死誘導の機構解明に向け、複数のがん細胞に対する網羅的毒性評価を行い、細胞株の違いによ

トリコテセン類の毒性がどのように変動するか、また特異的に強い毒性を示す細胞株とトリコテセンの組み合わせがあるかを検証した。並行して、細胞死誘導に関与する遺伝子の解明のために RT-PCR を行った。これにより、複数あるとされている細胞死誘導機構のうち、主にどの機構が機能しているかを検証した。

2. 研究方法

本研究で使用する 30 種のトリコテセン類を生産後、精製した。毒性評価については、A375、A549、BxPC3、Caco-2、HaCaT、HL-60、NCI-H292、NCI-H2228、NCI-H838、PK-1、SUIT-2、TCC-PAN2 の計 12 種類のがん細胞株などを使用した。これらを、それぞれ事前に検証済みの最適播種濃度に濃度調整し、96 well plate に播種した。24 h 培養後に阻害剤として濃度調整した各サンプルを添加し、48 h 培養した。培養後、トリクロロ酢酸による細胞固定処理を行ってから sulforhodamine B 染色液により染色した。染色後に 562 nm の吸光度を測定し、半数増殖阻害濃度 (IC₅₀) を算出した。

RT-PCR について使用するトリコテセン類は、A 型、B 型、D 型の代表的なトリコテセンである T-2、DON、NIV、VA を選択した。また、細胞株は A375 細胞と HL-60 細胞を用いた。はじめに、セミコンフルエントまで培養した各細胞株に、毒性評価で算出した IC₅₀ を基準に最終濃度が 0.04 ~ 5 倍になるよう調整した各サンプルを添加し、培養した。24 h 培養後、細胞を回収して RNA を抽出し、RT-PCR にて細胞死誘導に関与している遺伝子の発現量を検証した。

3. 研究経過および成果の概要

各細胞株に対し 30 種のトリコテセン類を用いた網羅的毒性評価を行ったが、期待していたような特異的な毒性を示す組み合わせは確認できなかった。しかし、強毒性の D 型や A 型トリコテセン類は細胞株の違いによって毒性差が大きく、弱毒性である TDmol などのトリコテセン類は細胞株の違いによる毒性差は小さい結果となった。また、トリコテセンの種類によって、添加濃度の上昇につれ急激に毒性が出るタイプと緩やかに毒性が出るタイプに大別された。これらの結果から、トリコテセン類の構造の違いによって細胞死誘導している機構が異なることが示唆された。

RT-PCR を用いて細胞死に関与する遺伝子発現の増減を調べた。コントロールとなる GAPDH 遺伝子が一定であることから、mRNA の添加量は同量であると確認できた。その結果、DON 添加の場合、高濃度になるにつれて細胞死抑制遺伝子である Bcl-2 の発現量が増加していたが、NIV 添加の場合は DON に比べて増加せず一定に近かった。以上より、DON の毒性が NIV より低下したのは Bcl-2 の変動の違いが影響している可能性がある。また、2 種類の細胞株に対して同様の検証を行ったところ、発現量に変化する遺伝子が細胞株により異なっており、細胞株の違いにより誘導される細胞死誘導機構が異なっていることが示唆された。このことより、トリコテセン自身が複数の細胞死誘導機構を有しており、何らかの影響で誘導する機構が異なっていることが分かった。

4. 今後の研究における課題または問題点

今後は今回、RT-PCR にて発現量に変動の見られた遺伝子を real-time PCR を用いて詳細の検証を行う予定である。その後、PCR による RNA レベルでの検証だけでなく、western blotting にてタンパク質レベルでの検証も視野に入れ、研究を進める必要がある。また、今回検証した遺伝子以外にも細胞死に関する遺伝子は多く存在するので、他の遺伝子も同様の検証を進める必要がある。

問題点としては、本研究より細胞株の違いにより細胞誘導機構が切り替わることが示唆されたた

め、選択する細胞株が重要となる。他にも、細胞死誘導に関する遺伝子も多く存在している為、どういった意図で、何を優先して検証する遺伝子を選択するかが重要となる。本研究では多くの細胞株と、トリコテセン類を研究対象にしていたため当初の想定よりかなり多くの時間を要してしまった。今後はある程度、選択的に検証していく必要があると考える。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

Trichothecenes exhibit strong toxicity to actively dividing cancer cells, and this toxicity is thought to be due to inhibition of ribosome-mediated protein synthesis and induction of cell death. The possible application of these toxins as anticancer drugs have been paid attention to, however, there are still many unknowns regarding the structure-activity relationship between toxins and target molecules and cytotoxicity of trichothecenes. In order to elucidate the mechanism of apoptosis induced by trichothecenes, we conducted a comprehensive toxicity evaluation on multiple cancer cells and investigated how the trichothecenes-induced toxicities differ in cancer cell line. We verified whether there was an effective combination between the cell lines and trichothecenes. In parallel, RT-PCR was performed to elucidate genes involved in cell death induction. This allowed us to verify which mechanisms of cell death may work in cells exposed to trichothecenes.

Thirty kinds of trichothecenes used in this study were produced and purified in our laboratory. To evaluate toxicity of each trichothecene, a total of 12 types of cell lines were used: A375, A549, BxPC3, Caco-2, HaCaT, HL-60, NCI-H292, NCI-H2228, NCI-H838, PK-1, SUIT-2, and TCC-PAN2. cell lines, etc. were used. In RT-PCR, T-2 toxin, deoxynivalenol, nivalenol and verrucaric acid, which are representative trichothecenes of types A, B, and D, were selected. A375 cells and HL-60 cells were used in this study.

As a result of cytotoxicity evaluation of trichothecenes, highly toxic type D and A trichothecenes showed a large difference in toxicity depending on the cell lines, while for less toxic trichothecenes such as trichodermin, the difference in toxicity among cell lines was small. Furthermore, there were mainly two types of sigmoid dose-response curve of trichothecene-induced cytotoxicities; Sigmoid curves of some trichothecenes were very sharp, while those of others were rather gradual. These results suggested that the mechanism of trichothecene-induced apoptosis differs depending on their structures.

RT-PCR was performed on two cell lines exposed to for trichothecenes. Six genes related with apoptosis were examined, and the expression levels of each gene was different not only among trichothecenes but also cell lines. These results suggest that each trichothecene has multiple apoptotic mechanisms, and apoptotic response of each cell toward each trichothecene was also distinct.

In the future, we will perform real-time PCR to obtain more precise results about gene expression of these apoptosis-related genes in cultured cells exposed to each trichothecenes.

抗体薬物複合体と新規ポリメトキシフラボノイドの併用による
抗腫瘍増強効果の検討

Enhancement of anti-tumor effect of antibody-drug conjugate in
combination with novel Polymethoxyflavonoids

研究代表者 増岡 知也(理工学研究科生体医工学専攻博士前期課程)
指導教員 加藤 和則

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年2月15日

II) キーワード/①抗体薬物複合体	Antibody Drug Conjugate
②ポリメトキシフラボノイド	Polymethoxyflavonoid
③補助療法	Adjuvant chemotherapy
④ドラッグデリバリーシステム	Drug delivery system
⑤微小管阻害剤	Microtubule inhibitor

III) 2023年度交付額/464,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

- ・第82回日本癌学会学術総会(口頭発表)(2023.9.21~9.23 横浜)
- ・ノビレチン研究会第7回学術研究会(ポスター)(2023.11.25 東洋大学 赤羽台キャンパス)
- ・2023年度東洋大学理工学研究科生体医工学専攻修士論文発表会(2024.2.6 東洋大学 川越キャンパス)

V) 研究経過および成果の概要(日本語2000字程度)

1. イントロダクション

ポリメトキシフラボノイド(PMF)は、植物由来機能性成分の一つであり、抗炎症作用やがん細胞増殖抑制など様々な生理活性を有する。PMFの一つである Nobiletin (5,6,7,8,3',4'-Hexamethoxyflavone) は、先行研究において、微小管阻害剤との併用により抗腫瘍効果を増強することが確認された。また、微小管重合阻害剤 MMAE (Monomethyl auristatin E) との併用において、Nobiletin と同様に抗腫瘍増強効果を示す新規 PMF として、2',4'-DiMF (Dimethoxyflavone)、2',5'-DiMF が確認された。MMAE と同じく微小管重合阻害剤である DM1 (Maytansinoid DM1) は高い抗腫瘍効果を示し、抗体薬物複合体(ADC)に用いられている。そこで本研究では、がん細胞に多く発現する Ep-CAM に対する抗体(1B7 抗体)に微小管重合阻害剤 DM1 を結合させた ADC (1B7-DM1) を作成し、ADC による腫瘍特異的な抗腫瘍効果を Nobiletin 含む新規 PMF が増強しうるか、また増強効果の作用機序の解明を目的とした。

2. 研究方法

1) 作製した DM1 結合型 ADC の評価

フローサイトメトリーにて本研究で用いたヒト大腸がん由来細胞株である DLD-1 と、正常細胞としてヒト臍帯静脈内皮細胞株である HUVEC の Ep-CAM 発現量を解析した。作成した ADC を評価するために、蛍光顕微鏡にて 1B7 抗体の細胞内内化の観察、フローサイトメトリーにて 1B7-DM1 の標的抗原への反応性を検討した。また、DLD-1 と HUVEC の DM1 感受性、及び 1B7-DM1 の標的特異性を AlamarBlue 染色により細胞生存率を測定した。

2) DM1 結合型 ADC と PMF の併用による抗腫瘍増強効果の検討

DLD-1 と HUVEC を用いて、Nobiletin、2',4'-DiMF、2',5'-DiMF との併用による 1B7-DM1 の抗腫瘍増強効果を、細胞生存率の測定により検討した。

3) PMF 併用による DM1 結合型 ADC の抗腫瘍増強効果メカニズム解析

DM1 との併用においても同様の抗腫瘍増強効果が確認できるか検討を行った。微小管重合阻害剤の作用機序から、細胞周期・アポトーシス関連タンパク質の測定を行った。また、PMF による P-gp 阻害作用を検討するために、Verapamil (P-gp 阻害剤) を用いての比較検討を行った。

4) DM1 耐性株における Nobiletin 併用効果

DLD-1 細胞に DM1 を継続的に添加・培養し、DM1 耐性株を作成し、1B7-DM1 と Nobiletin の併用効果を SRB (Sulforhodamine B) Assay にて測定した。

3. 研究経過および成果の概要

1) 作製した DM1 結合型 ADC の評価

1B7 抗体とリソソームの細胞内局在の重なりから、1B7 抗体の細胞内への内在化を確認した。また、DM1 結合後においても 1B7 抗体は反応性を有していた。DLD-1 と HUVEC は DM1 感受性を示す一方で、1B7-DM1 では Ep-CAM 発現細胞である DLD-1 にのみ抗腫瘍効果を示し、1B7-DM1 は標的 특異的な抗腫瘍効果を有することが示された。

2) DM1 結合型 ADC と PMF の併用による抗腫瘍増強効果の検討

Nobiletin 併用による 1B7-DM1 の抗腫瘍増強効果の検討では、Nobiletin は 1B7-DM1 の標的細胞である DLD-1 にのみ抗腫瘍効果を増強し、非標的細胞である HUVEC には、細胞傷害性の増強は確認されなかった。また、新規 PMF である 2',4'-DiMF、2',5'-DiMF においても、1B7-DM1 の標的細胞への抗腫瘍効果を増強し、非標的細胞に対しての細胞傷害性の増強効果は確認されなかった。

3) PMF 併用による DM1 結合型 ADC の抗腫瘍増強効果メカニズム解析

MMAE と同様に DM1 は Nobiletin、2',4'-DiMF、2',5'-DiMF との併用により、その抗腫瘍効果が増強された。また、PMF の併用によりアポトーシスマーカーである Cleaved PARP の発現増加や M 期に必要とされる Cyclin B1 の低下、アポトーシス細胞である Sub G1 期細胞の増加が確認された。Rhodamine 123 細胞内蓄積量の検討では、Verapamil と同様に、Nobiletin は Rhodamine 123 の細胞内蓄積量を増加させ、DM1 または 1B7-DM1 との併用においても Verapamil と同様に Nobiletin は抗腫瘍効果を増強した。このことから、Nobiletin は P-gp 活性を阻害することで、1B7-DM1 の抗腫瘍効果を増強する可能性が示唆された。一方で 2',4'-DiMF、2',5'-DiMF による細胞内蓄積量は増加しなかったことから、新規 PMF は Nobiletin とは異なる作用増強メカニズムを有することが示唆された。

4) DM1 耐性株における Nobiletin 併用効果

親株と比べ DM1 耐性株では P-gp 発現量増加と DM1 感受性の低下が確認された。DM1 耐性株を用いた 1B7-DM1 と Nobiletin の併用効果の検討では、耐性株の著しい 1B7-DM1 感受性低下が確認された。しかし、Nobiletin を併用することにより、高い抗腫瘍増強効果が確認された。このことから、Nobiletin は DM1 耐性を獲得した腫瘍に対しても、P-gp 活性阻害等の増強効果により、DM1 結合型 ADC の治療効果を高める可能性が示唆された。

4. 今後の研究における課題または問題点

本研究では 2',4'-DiMF、2',5'-DiMF による増強作用点を解明するに至れなかった。Rhodamine

123 細胞内蓄積量は増加しなかったこと、アポトーシス誘導経路への作用が示唆されたことから、今後、ミトコンドリアの膜電位変化や電子伝達系に及ぼす影響などを検討する。また、Nobiletin の P-gp 活性阻害効果と、2',4'-DiMF、2',5'-DiMF の異なる増強作用メカニズムを解明していくためには、P-gp ノックアウト細胞を用いた検討が必要である。さらに、in vivo における PMF の薬物動態は未だ不明な点も多いことから、PMF と DM1 結合型 ADC の併用効果を担癌マウスなどの実験を実施し、実用化に向けての研究を行っていききたい。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

Polymethoxyflavonoid (PMF) is one of the plant-derived functional components and has various physiological activities such as anti-inflammatory activity and anti-tumor effect. In our previous study, nobiletin (5,6,7,8,3',4'-Hexamethoxyflavone), contained abundant in the peels of citrus fruits, was confirmed to enhance antitumor effects in combination with microtubule inhibitors. In combination with the microtubule polymerization inhibitor MMAE (Monomethyl auristatin E) and 2',4'-DiMF (Dimethoxyflavone) or 2',5'-DiMF were identified as novel PMFs that showed anti-tumor enhancing effects similar to nobiletin. In this study, we prepared an antibody-drug conjugate (1B7-DM1) in which the microtubule polymerization inhibitor DM1 (Maytansinoid DM1) was conjugated to an antibody 1B7 against Ep-CAM (Epithelial Cell Adhesion Molecule), which is highly expressed on cancer cells, and investigated the enhancement of the anti-tumor effect in combination with a novel PMF containing nobiletin. 1B7-DM1 specifically affected DLD-1, a cell line with high expression of Ep-CAM, and nobiletin, 2',4'-DiMF, and 2',5'-DiMF enhanced its anti-tumor effect. On the other hand, the anti-tumor effect of 1B7-DM1 on non-target HUVEC was not enhanced, indicating that nobiletin, 2',4'-DiMF, and 2',5'-DiMF enhanced the target-specific anti-tumor effect. The intracellular accumulation of rhodamine 123, a substrate of P-gp as well as DM1, was increased by nobiletin. It also enhanced the anti-tumor effect of 1B7-DM1 as well as Verapamil. These results suggest that nobiletin may enhance the anti-tumor effect of DM1-conjugated ADCs by inhibiting the extracellular efflux of DM1 delivered intracellularly by antibodies. On the other hand, the intracellular accumulation of rhodamine 123 by 2',4'-DiMF and 2',5'-DiMF was not increased, and increased expression of Cleaved PARP, decreased expression of Cyclin B1, and increased Sub G1 phase cells were confirmed. Therefore, it is possible that the anti-tumor effect of 1B7-DM1 was enhanced by an action mechanism different from nobiletin. Nobiletin also enhanced the anti-tumor effect of 1B7-DM1 against DM1 resistant cells, suggesting the possibility of enhancing the therapeutic effect of DM1-conjugated ADCs by inhibition of P-gp activity in DM1-resistant tumors. These results suggest that nobiletin, 2',4'-DiMF, and 2',5'-DiMF may enhance tumor-specific anti-tumor effects and improve therapeutic efficacy using DM1-conjugated ADCs and might reduce the dose of ADCs.

遺伝子改変 B16メラノーマ担癌モデルにおける
腫瘍免疫とがん転移に対する AhR の関与

Involvement of AhR in Tumor Immunity and Cancer Metastasis
in a Genetically Engineered B16 Melanoma Bearing Tumor
Model

研究代表者 軽部 梨香子(生命科学研究科生命科学専攻)
指導教員 椎崎 一宏

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年2月15日

II) キーワード/①AhR (Aryl hydrocarbon receptor)

②IDO (Indoleamine 2,3-dioxygenase)

③AhR-IDO-Kyn

④Cancer metastasis

⑤cancer immunity

III) 2023年度交付額/560000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

論文執筆

1. Rikako Karube; Mebae Koike; Togo Ikuta; Kazuhiro Shiizaki,
“Abortion in AhR knockout mice and feto-maternal
immunity”, Reproductive Biology

学会発表

1. 軽部 梨香子, 椎崎 一宏, “担癌モデルにおける腫瘍免疫とがん転移に
対する AhR の関与”, 日本変異原ゲノム学会変異機構研究会・第33回夏
の学校, オンライン開催, 2022年9月10日
2. Rikako Karube, Kazuhiro Shiizaki, “Involvement of the AhR-IDO-Kyn
axis in tumor immunity and cancer metastasis in a tumor-bearing
model”, 第82回 日本癌学会学術総会, 神奈川県横浜市, 2023年9月21
日-23日
3. 軽部 梨香子, 生田 統悟, 椎崎 一宏, “AhR ノックアウトマウスにお
ける流産と母体・胎児免疫”, 第46回 日本分子生物学会年会, 兵庫県神
戸市, 2023年11月27日-12月1日

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

がんは日本の死因のトップであり、予防や治療に注目が集まっている。がん免疫療法は、がん免疫逃避機構を阻害する革新的な治療法である一方で、一部の患者では治療効果が発揮されないことや、強い副作用がみられるといった問題もある。また、治療費が高価であることも課題の1つだ。そこで、本研究ではAryl hydrocarbon receptor (AhR) を標的としたがん免疫逃避機構の解明を行った。AhR は多くの種で保存されているリガンドで活性化型転写因子であり、生体異物センサーとみなされてきた。近年では、AhR KO マウスでは胎児免疫寛容が破綻し、産仔数が減少するといった、免疫系に關与する AhR の他の機能が明らかになった。がん微小環境における AhR およびその内因性リガンドである Kynurenine (Kyn) の産生には Indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1) が行っており、がん細胞が産生した Kyn は、未分化の T 細胞を非攻撃性の制御性 T 細胞 (Treg) へと分化させる。これら一連の機構によりがん細胞は免疫逃避を行うことで増殖・転移が促進されると推測されるが、腫瘍組織での AhR 発現と免疫細胞の相互作用については不明な点が多い。AhR はリガンド依存性転写因子であることから、化合物での制御が可能であり、腫瘍微小環境における免疫逃避機構を制御する可能性がある。

本研究の目的は、遺伝子改変 B16 メラノーマ細胞を用いた担癌実験を通して、宿主における AhR と腫瘍細胞での AhR、IDO1 遺伝子発現とがん免疫逃避機構への關与を評価した。

2. 研究方法

ゲノム編集 CRISPR/Cas9 system により、AhR ノックアウト (AhR-KO) 細胞株を作製した。トランスフェクション法により AhR 強制発現 (AhRex) 細胞株を作製した。In vitro 試験においては、代表的な AhR リガンドである FICZ 0.1 nM, 3-MC 1 μM, Kyn 100 μM を曝露し、Wound healing assay にて AhR の活性化と遊走能の關与を評価した。ヒト IFN-γ 応答領域 3 Kb を組み込んだベクターをトランスフェクション後、AhR リガンド、IFN-γ 単独曝露または共曝露した。ルシフェラーゼ活性を測定することにより IFN-γ 依存的な IDO1 発現の可視化を行った。

In vivo 試験では、C57BL/6N 野生型 (WT) 雄 6 週齢マウスへの担癌実験を行った。腫瘍形成群では、皮下注射により担癌を行い、腫瘍の増殖を確認した。肺転移群では尾静脈注射により転移モデルを確立し、転移巣数を計測した。担癌実験後の腫瘍組織および脾臓細胞における免疫關連因子 (FoxP3) を RT-qPCR によって定量した。

3. 研究経過および成果の概要

作製した遺伝子改変細胞を用いて遊走能の調査を行ったところ、通常培養状態では AhR を KO すると遊走能が低下し、AhR リガンドを曝露しても細胞遊走に変化がみられなかった。AhRex 細胞では通常培養状態において親株と比較して有意に遊走能が亢進

した。このことから、*in vitro* 試験を通して、AhR は細胞遊走能に関与していることが明らかとなった。

IFN- γ 依存的な IDO1 発現については、親株では IFN- γ 単独曝露または IFN- γ と Kyn を共曝露した場合でのみレポーター遺伝子誘導が確認された。AhR KO 細胞では AhR リガンド単独曝露での変化がみられず、IFN- γ 曝露によってレポーター遺伝子誘導が向上したが、親株と比較すると微かであった。AhR⁺細胞では AhR リガンド単独曝露でもレポーター遺伝子誘導の有意な増加が確認され、さらに IFN- γ と AhR リガンドの共曝露でより増強することが明らかとなった。このことから、AhR の強制発現は AhR-IDO-Kyn 軸のポジティブフィードバックを促進させることが示唆された。

皮下注射による腫瘍形成では、親株腫瘍と比較して AhR KO 細胞由来腫瘍では腫瘍増殖抑制傾向が、AhR⁺細胞由来腫瘍では腫瘍増殖傾向が確認された。尾静脈注射による肺転移試験では、親株担癌群と比較して AhR KO 群では転移巣数の有意な減少が、AhR⁺群では有意な増加が確認された。Treg マーカー遺伝子である FoxP3 発現に関しては、親株腫瘍と比較して AhR⁺腫瘍で有意に高かった。AhR を過剰発現させると腫瘍内での Trp から Kyn の異化が促進され、余剰になった Kyn が未分化の T 細胞に対してパラクラインで作用し、Treg の分化を促進させるという予想と一致している。肺転移群の脾臓においても、転移巣数が多い細胞種で Treg マーカーである FoxP3 遺伝子発現有意に高発現であることが確認されたことから、AhR の高発現は抗腫瘍免疫抑制作用があると示唆された。

以上のことから、腫瘍細胞における AhR の欠損はがん免疫逃避機構を破綻させる可能性が示唆された。

4. 今後の研究における課題または問題点

本研究では AhR 発現宿主を用いた腫瘍での AhR 発現の有無とがん免疫逃避機構について検討した。腫瘍組織における AhR の発現はがん免疫逃避機構を促進させ、腫瘍の増殖や転移に寄与することが明らかとなったが、AhR とがん免疫逃避機構のより詳細な解明については、宿主動物における AhR が発現していない場合の相互関係を調査する必要がある。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

Aryl hydrocarbon receptor (AhR) is a transcription factor activated by ligands such as dioxin and aromatic hydrocarbons. AhR has been known as a xenobiotic sensor, but recently it has been shown to be involved in immune tolerance. Kynurenine (Kyn), one of the candidates of endogenous AhR ligand, is involved in immune evasion of tumor, and its production is mediated by Indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1). Tumor cell-generated Kyn is thought to act as a ligand for

AhR, contributes to tumor growth and reduces the immune response to tumor cells via promoting Treg differentiation. It is speculated that these series of mechanisms promote cancer cell proliferation and metastasis by allowing cancer cells to escape from immunity. However, the interaction between AhR expression in tumor tissues and immune cells remains unclear. Since AhR is a ligand-dependent transcription factor, it is possible that AhR can be regulated by compounds and may control immune escape mechanisms in the tumor microenvironment. To evaluate AhR in the host and AhR and IDO1 gene expression in tumor cells and their involvement in cancer immune escape mechanisms, this study used genetically modified B16 melanoma cells in tumor-bearing experiments.

Wound-healing assay results showed that KO of AhR decreased migration ability, while AhR^{ex} cells showed enhanced migration ability. Thus, it is clear that AhR is involved in cell migration ability through *in vitro* studies.

In terms of IFN- γ -dependent IDO1 expression, AhR KO cells showed no change after exposure to AhR ligand alone, while IFN- γ exposure enhanced reporter gene induction, but only slightly compared to the parental strain. In AhR^{ex} cells, the reporter gene induction was significantly increased by exposure to the AhR ligand alone, and was further enhanced by co-exposure to IFN- γ and the AhR ligand. This suggests that forced expression of AhR promotes positive feedback on the AhR-IDO-Kyn axis.

tumor-bearing experiments, AhR KO tumors showed decreased tumor weight and number of metastases, while AhR^{ex} tumors showed increased number of metastases. AhR^{ex} tumors had higher expression of FoxP3 (Treg marker) gene. Overexpression of AhR promotes Trp to Kyn catabolism in tumors. This is consistent with the prediction that the excess Kyn acts in a paracrine manner on undifferentiated T cells to promote Treg differentiation.

These results suggest that AhR deficiency in tumor cells may disrupt cancer immune escape mechanisms.

水素水飲用による免疫恒常性維持と疾患防御

Effects of hydrogen-rich water on immune homeostasis and related diseases

研究代表者 横山 茜(生命科学研究科生命科学専攻)

指導教員 川口 英夫

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年2月15日

II) キーワード/①小腸パイエル板

②樹状細胞活性化

③食物アレルギー

④卵白アルブミン

⑤抗原輸送経路

III) 2023年度交付額/ 630千円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

- Akane Yokoyama et al. Hydrogen-rich water-induced suppression of antigen transport into Peyer's patches of the small intestine. IAGG-AOR2023, Yokohama, 2023.6.12-14
- 横山茜 他、「水素水による小腸パイエル板での食物アレルギー取り込み抑制はアナフィラキシー症状を軽減する」第12回日本分子状水素医学生物学会大会、東京、2023.8.28-29.
- 横山茜 他、「高濃度水素水による小腸パイエル板での食物アレルギー取り込み抑制とアナフィラキシー症状の緩和」第46回日本分子生物学会年会、神戸市、2023.12.6-8.

V) 研究経過および成果の概要

1. イントロダクション

高濃度水素水飲用によりパーキンソン病などの神経変性疾患や疲労、アレルギー反応などの症状が改善される。動物モデルでは、水素水飲用により肝臓などでヘムオキシゲナーゼ1などの抗炎症・抗酸化経路が誘導されるが、この時に供与される水素分子(H₂)がどの組織でどの細胞と分子に作用しているのか、詳細なメカニズムは不明である。水素水飲用後、小腸までは高濃度のH₂が到達する。小腸には腸管の主要免疫器官であるパイエル板があり、マイクロフォールド(M)細胞が積極的に外部抗原を取り込む。抗原は樹状細胞に受け渡され、下流にあるナイーブT細胞に抗原提示されて、炎症促進性に働くTh17細胞や炎症抑制性に働く制御性T細胞などに分化することで免疫恒常性が調節されている。先行研究では、1日に1回だけ水素水を飲用させたデキストラン硫酸ナトリウム誘発性大腸炎モデルマウスで、3日後には病態が改善された。この時、小腸パイエル板の制御性T細胞で発現するFoxp3遺伝子の発現低下が抑制されていた。また、研究代表者は、昨年度までの研究で小腸パイエル板で抗原提示される卵白アルブミン(OVA)の取り込みが水素水飲用により経時的かつ濃度依存的に抑制されることを見出した。そこで、本研究では水素水飲用が小腸パイエル板M細胞下流に存在する樹状細胞の活性化に及ぼす影響を解析した。さらに、抗原取り込みの抑制効果を確かめるため、水素水飲用による食物アレルギー抑制効果をアナフィラキシー症状を指標に検証した。

2. 研究方法

水素水による樹状細胞活性化抑制は、野生型マウスを用いて評価した。純水又は水素水 500 μL を経口投与し、1 又は 6 時間後に OVA 30 mg を経口投与した。さらに 3 時間後、小腸パイエル板を摘出して細胞を単離後、樹状細胞マーカーの CD11c 及び MHC-II、同活性化マーカーの CD40、CD80 及び CD86 を同時に免疫染色した。サンプルはフローサイトメトリー解析を用いて、樹状細胞中の活性化マーカー陽性細胞の割合を算出した。

食物アレルギーによるアナフィラキシー実験は、OVA 特異的 T 細胞をもつ DO11.10 マウスを用いて行った。DO11.10 マウスに純水又は水素水 500 μL を経口投与して、さらに 6 時間後に OVA を 30 mg 経口投与した。これを 2 日おきに計 6 回繰り返して OVA で感作させた。最終投与日の 2 日後に OVA 1 mg/mL を 0.1 mL、尾静脈注射してアナフィラキシー症状を誘発し、30 分後までの症状をスコア化（症状なし：0 点、擦る・引っ掻く等：1 点、目や口の周りの腫れ等：2 点、口の周りや尻尾のチアノーゼ等：3 点、刺激後に動かなくなる等：4 点、死亡：5 点）した。評価後に全採血し、遠心分離して上清の血漿を回収し、ELISA 法でヒスタミン濃度を測定した。また、脾臓及び腸間膜リンパ節を摘出して細胞を単離した。各細胞は OVA 添加により刺激後 2 日間培養し、細胞中のリンパ球活性化に関与する遺伝子発現量を RT-PCR で解析した。

3. 研究経過および成果の概要

水素水投与 1 時間後に OVA を投与したマウスでは、小腸パイエル板に存在する CD40 及び CD80、CD86 陽性樹状細胞の割合は純水投与と比べて半減していた。さらに水素水投与 6 時間後でも CD40 及び CD80 陽性樹状細胞の割合が純水投与と比べて減少していた。小腸パイエル板樹状細胞の OVA による活性化が水素水飲用により抑制されること示された。

食物アレルギーによるアナフィラキシー実験では、純水投与後に OVA 感作した群 (RO+OVA) では症状を示さないマウスが 10 匹中 0 匹で、全てアナフィラキシー症状が見られ、重篤な症状である口の周りや尻尾のチアノーゼが現れたマウスが 10 匹中 5 匹含まれた。これに対し、水素水投与後に OVA 感作させた群 (HW+OVA) では症状を示さないマウスが 11 匹中 4 匹、チアノーゼが現れたマウスは 11 匹中 1 匹のみであった。水素水飲用は、食物アレルギーによるアナフィラキシー症状の重症化を有意に抑制していた。血中ヒスタミン量は、OVA 感作していない群と比べて、RO+OVA で上昇し、HW+OVA では上昇が抑えられていた。腸間膜リンパ節の初代培養では、RO+OVA 由来の細胞への OVA 添加刺激によるリンパ球活性化関連遺伝子 Il4 、 Il10 及び Il12 の発現量の増加が、HW+OVA 由来の細胞では抑制されていた。水素水飲用による小腸パイエル板での抗原輸送抑制が、食物アレルギーのアナフィラキシー症状を緩和することを示すことができた。

4. 今後の研究における課題または問題点

本研究では、水素水飲用による樹状細胞への抗原提示抑制が、樹状細胞の活性化を抑制することを示した。腸内腔から樹状細胞に至る抗原輸送経路のどこを H_2 が抑制しているのか、さらに解析を進める必要がある。また、水素水飲用による小腸パイエル板での抗原提示を抑制することにより、食物アレルギーによるアナフィラキシー症状を抑制することを示したが、アレルギー疾患の指標の一つとして知られる血中の抗原特異的 IgE 量を測定したが検出限界以下であった。より高感度の検出法による解析が必要である。さらに、今回は飲用量の検討を行っていない。ヒトへの応用に向け、効果を示す最低限の飲用量を求める必要がある。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

Molecular hydrogen (H₂) functions as an antioxidative and anti-inflammatory agent. Ingestion of H₂-rich water (HW) is potentially useful for alleviating neurodegenerative diseases, fatigue and allergic response, and could thus improve the quality of life. However, its molecular mechanisms remain to be elucidated. We recently reported that HW ameliorates dextran sodium sulfate-induced colitis with a suppression of regulatory T cell-reduction in Peyer's patches (PP) of the small intestine in mice. Furthermore, I found that a single administration of HW is enough to suppress a foreign antigen-absorption in PP and -uptake in its dendritic cells (DC). Ovalbumin (OVA), a well-known food allergen, was used as a foreign antigen. Then, I confirmed here that an administration of HW suppresses activation of DC, and further examined whether the suppressive effect of HW on antigen presentation mitigates experimental food allergy.

One or 6 hours after administration of HW to mice with gastric gavage, OVA was applied. After 3-hour, cells isolated from PP in the ileum were immunolabelled for use in flow cytometry. Costimulatory molecules, CD40, CD80, and CD86, were upregulated by OVA in MHC class II and CD11c-positive DC. I found that the upregulation was significantly suppressed with HW. These results indicated that a single administration of HW is enough to suppress DC activation induced by a foreign antigen. Next, DO11.10 mice carrying highly OVA-reactive T-cell receptor were sensitized to OVA orally. We found that the administration of HW every time before OVA-gavage significantly suppressed anaphylactic reactions to intravenous allergen challenge. HW also suppressed increases in blood histamine levels and in expression level of genes related to activated mesenteric lymphocytes by allergen challenge.

The present study showed that a single administration of HW can quickly give rise to abrogate antigen presentation in PP of the intestine. HW may suppress transport and/or incorporation of non-self-antigen to DC via M-cell and contribute to maintain gut immune homeostasis. Its physiological significance in multiple antioxidative and anti-inflammatory effects of H₂ should be further investigated. In this experiment, suppressive effect of HW on antigen presentation was concentration-dependent. However, I administrated only one fixed volume (0.5 ml) of HW to each mouse. For practical application of HW to human health, we need to determine the minimum volume of HW to abrogate antigen presentation.

シナプス構造可塑性に関わる脳内タンパク質の役割の解明

Elucidation of the role of brain proteins involved in synaptic structural plasticity

研究代表者 藤瀬 なぎさ(生命科学研究科生命科学学専攻)

指導教員 児島 伸彦

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年2月15日

II) キーワード/① ドレブリン Drebrin

② BTP2

③ 化学的 LTP 刺激 chemical LTP stimulation

④ 初代培養ニューロン primary cultured neuron

⑤ 細胞イメージング解析 cell image analysis

III) 2023年度交付額/ 479,000 円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

- Analysis of hippocampal primary cultured neurons treated with drebrin inhibitor BTP2.
藤瀬なぎさ、鈴木龍太、山口琉之介、関野裕子、白尾智明、児島伸彦
第45回日本神経科学大会(宜野湾)(2022)
- Effect of BTP2 a drebrin inhibitor on drebrin efflux from dendritic spine during chemical LTP induction in primary cultured hippocampal neurons.
藤瀬なぎさ、鈴木龍太、山口琉之介、関野裕子、白尾智明、児島伸彦
第45回日本神経科学大会(仙台)(2023)
- ドレブリンのシナプス構造可塑性における役割
藤瀬なぎさ、児島伸彦
東洋大学川越・板倉・赤羽台キャンパス交流会(2023)

V) 研究経過および成果の概要(日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

脳内の神経細胞同士はシナプスという接触構造を介して複雑なネットワークを形成し情報の伝達を行っている。情報伝達の効率は、シナプス前部から放出される神経伝達物質質量やシナプス後部における受容体量、スパインの大きさや数によって変化する。この情報の伝達効率が変化することをシナプス可塑性といい学習や記憶の形成といった高次脳機能において重要なはたらきとなる。神経細胞同士の伝達効率が長期的に増強される現象を LTP (Long-term potentiation)、長期的に減弱される現象を LTD (Long-term depression) という。この2つの現象は受容体に依存することが報告されている。シナプス可塑性の長期変化ではシナプス後部の樹状突起スパインの拡大などの構造変化を伴うとされており、その変化はスパイン内のアクチン細胞骨格に制御されると考えられている。アクチン結合タンパク質であるドレブリンは、アクチン細胞骨格の動態に関与することが初代培養ニューロンを用いた研究で明らかになっている。先行研究により、ドレブリン-F アクチン複合体(DA-アクチン)は、興奮性シナプスの後部構造である樹状突起スパインに局在し、NMDA受容体の活性化により樹状突起シャフトへ一過性に流出することが示されている。この現象は、シ

ナプス可塑性における形態変化の調節において重要なステップであると考えられる。しかし、この現象の詳細なメカニズムについては分かっていない。また、当研究室ではマウスの脳室内にドレブリン A と F-アクチンの結合を特異的に阻害する BTP2 (CRAC チャンネル阻害剤) を投与したところ、学習障害が見られた。そこで本研究では、BTP2 を海馬初代培養ニューロンに投与しドレブリンのはたらきを阻害することでドレブリンの動態がどのように変化するか解析を行った。

2. 研究方法

BTP2 を投与した海馬初代培養ニューロンの解析：ポリ L リジンによるコーティングを行った 96 well plate にラット由来の凍結細胞である SKY Neuron (アルメッド株式会社) あるいは胎生 17.5 日目の C57BL/6N マウスより摘出した海馬の細胞をプレートに播種し、CO₂ インキュベーター内 (5%CO₂, 37°C) で 21 日間培養した。LTP 誘導実験では、培養 21 日以降に NMDAR アンタゴニストである AP5 (D-2-Amino-5-phosphonopentanoic acid) 50 μM を 2 日間曝露させた。培養ニューロンに 10 μM BTP2 を 30 分間曝露させた後に Culture Medium を 200 μM グリシンが含まれた Mg²⁺ free の Tyrode's Buffer に交換することで NMDA 受容体の活性化を誘導した。刺激後、0-20 分の地点で 4%ホルムアルデヒド溶液を用いて細胞を固定した。LTD 誘導実験では、培養 21 日目の培養ニューロンに 50 μM DHPG ((S)-3,5-Dihydroxyphenylglycine) を投与し 5 分間の刺激を行った後、培地を全量交換し細胞の形態変化について解析を行った。

3. 研究経過および成果の概要

海馬初代培養ニューロンにおける BTP2 の影響：各濃度 (0.003-30 μM) の BTP2 を培養ニューロンに 24 時間と 30 分間の曝露を行い細胞数と樹状突起の長さ、ドレブリンの集積数について解析を行った結果、低用量 (0.003- 3.0 μM)、短時間 (30 分間) において BTP2 曝露では細胞数やドレブリン集積数、樹状突起の長さに変化がなく細胞の形態に影響がないことが分かった。

LTP 刺激を行った培養ニューロンの形態変化：培養 21 日目の初代培養ニューロンに NMDAR のアンタゴニストである AP5 を 2 日間曝露し NMDA 受容体の活性を抑制させた。その後、10 μM BTP2 を 30 分間培養ニューロンに投与しドレブリンのはたらきを阻害させた。AP5 不含の Tyrode's buffer (Mg²⁺ free) に交換し NMDA 受容体の活性化を誘導した。その結果、コントロール群では、NMDA 受容体の活性化を誘導してからドレブリンの集積数が増加した。しかし BTP2 投与群では、LTP 誘導後ドレブリンの集積数に変化が見られなかった。このことから、ドレブリンと F-アクチンの結合を一過性に阻害すると樹状突起スパインにおけるドレブリンの集積が抑制されると考えられた。

LTD 刺激を行った培養ニューロンの形態変化：培養 21 日目の初代培養ニューロンに 10 μM BTP2 を曝露させた。その後 50 μM DHPG を投与し、LTD の誘導を行った。刺激前と刺激開始から 5-25 分後での形態変化について解析を行った。その結果、刺激開始 5 分後よりドレブリンの局在が通常見られるクラスター状ではなく細胞体の周縁や樹状突起に沿って線状となって局在している像が観察された。Developer Toolbox によって解析を行ったところコントロール群と BTP2 投与群の比較ではドレブリンの集積数に変化はなかった。

4. 今後の研究における課題または問題点

本研究では、培養ニューロンへ LTP 刺激が誘導されているのか確認するために細胞表面の GluA1 と NR1 の染色を行った。しかし、LTP 誘導後に GluA1 と NR1 シグナルの増加は見られなかった。先行研究では、LTP 誘導後にシナプス膜状の受容体数が増加し、シナプス伝達効率が増加することが考えられているが、本研究結果からは LTP 誘導が起きていると断言できなかった。そのため今

後の課題として、LTP 誘導の条件について再度検討することが必要である。また、LTD 誘導実験では、ドレブリンの局在変化が確認されたが、スパインの形態変化について観察を行っていないため確認を行うことが必要である。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

Synaptic plasticity is an important neuronal characteristic for learning and memory formation. The efficiency of synaptic transmission can be altered by increasing or decreasing the amount of transmitter release and the number of receptors at the postsynaptic site. However, much remains to be learned about the molecular mechanisms of synaptic plasticity. Synaptic plasticity involves dynamic changes in the actin cytoskeleton of dendritic spines, postsynaptic structures of excitatory synapses. An F-actin-binding protein drebrin is a key protein in synaptic plasticity and is associated with cognitive decline in patients of Alzheimer's disease, as well as older adults.

We recently found that the intraventricular injection of BTP2, a compound known as an inhibitor of drebrin-F-actin-binding, impaired learning in novel object recognition test and object location test. To better understand the molecular basis of the learning deficit by a transient inhibition of drebrin, we examined the effect of BTP2 on spine morphology of primary cultured hippocampal neurons after chemical long-term potentiation (cLTP) stimulation.

Dissociated neurons prepared from the hippocampi of E17.5 to E18.5 mouse embryos were seeded in a 96-well plate at the density of 15,000 cells/well. Cells were grown in B27-containing Neurobasal medium at 37°C, 5% CO₂ humidified incubator for 21 days in vitro. LTP induction experiments were performed after exposure of cultured neurons to 10 μM BTP2 for 30 min. BTP2-treated neurons were stimulated by replacing regular medium with the Mg²⁺-free Tyrode's solution containing strychnine, bicuculline, tetrodotoxin and 200 μM glycine. After the stimulation, neurons were fixed at incubation time of each 5, 10, 15 or 20 min and stained with anti-drebrin and anti-MAP2 antibodies and DAPI. Fluorescent images were obtained and analyzed by a fluorescent image analyzer.

We found that the number of drebrin clusters along with dendrites was transiently decreased after cLTP stimulation in the control group, as reported previously (Mizui et al. 2014). On the contrary, no change in the number of drebrin clusters was observed in the BTP2-treated group. This study revealed that chemical LTP stimulation of primary cultured neurons treated with BTP2 suppressed the increase in the number of drebrin accumulations upon stimulation. Therefore, the present study suggests that the failure of BTP2 administration to increase the number of drebrin accumulated may be the cause of the learning deficits in mice. An absence of transient efflux of drebrin-bound-F-actin from spines after cLTP stimulation may disrupt functional and structural synaptic plasticity underlying mechanism for learning. This study is important for a better understanding the function of drebrin in synaptic plasticity.

餌場における他の動物個体の匂いに対する
エゾリス *Sciurus vulgaris orientis* の応答行動

Behavioral response of Eurasian red squirrels to the odor of other animal
species at the feeding site

研究代表者 上本 咲来(生命科学研究科 生命科学専攻)

指導教員 伊藤 元裕

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年2月15日

II) キーワード/①匂い

②捕食リスク

③対捕食者応答

④トレードオフ

⑤エゾリス

III) 2023年度交付額/ 560,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

- 上本咲来 「餌場における他種の匂いに対するキタリスの応答行動」、日本動物行動学会 第42回大会(日本動物行動学会)、2023年11月、ポスター発表

V) 研究経過および成果の概要(日本語2000字程度)

1. イントロダクション

被食者は、嗅覚情報である匂いを頼りに、広範囲で捕食者の存在を察知することができる。実際に、キタリス *Sciurus vulgaris* は捕食者のマツテン *Martes martes* の匂いに対して回避行動をとることが示唆されている。しかし、キタリスが非捕食者や遭遇経験は無いが潜在的に捕食者となる種といったマツテン以外の被食リスクの異なる多種の匂いを嗅ぎ分けているのかということは明らかになっておらず、それらの異なる匂いに対してどのような行動調節をしているのか詳細は分かっていない。さらに、在来種のキタリスよりも外来種のトウブハイイロリス *Sciurus carolinensis*の方がマツテンによる捕食に対して脆弱であることが示唆されているが、未知の動物種の匂いに対する行動反応が形成される時間スケールは不明である。

本研究は、キタリスの亜種で、日本の北海道に生息するエゾリス *Sciurus vulgaris orientis* に 1) 在来捕食者のキタキツネ *Vulpes vulpes schrencki* の匂い、2) かつて北海道に亜種が生息していたが既に絶滅したエゾリスにとっての遭遇経験のない潜在的捕食者であるハイイロオオカミ *Canis lupus* の匂い、3) 非捕食者であり生態学的な競合がないエゾモモンガ *Pteromys volans orii* の匂いを提示し、その匂いが本種の餌場での滞在時間や採食行動、警戒行動に与える影響を比較検討した。また、本種の活動には季節性があり、春季は繁殖のためメスを巡る競争が起きてオス同士が潜在的に競合する。秋季には冬季に備えた採餌と貯食のため地上の活動が長くなることで、捕食者による捕食リスクが高まる。したがって、季節や性別といった要因も匂いに対する応答行動に影響を与える可能性がある。本研究では、捕食リスクや餌環境が異なる春季と秋季で上記の内容について時期比較と雌雄比較を行い、本種を取り巻く各種のリスクに応じて匂いに応答した行動調節を本種が行うのかについて明らかにした。

2. 研究方法

2021年9~10月と2022年の5~6月、2023年の5~6月、10月に亘り北海道帯広市にある帯広畜産大学の乙女の森と大学に隣接した実習林で調査を行った。2022年に、調査地でエゾリスの捕獲を行い、イヤータグと首輪を用いて個体識別を行った。その後、乙女の森と実習林に、餌と赤外線センサー付き自動撮影カメラ (Trophy Cam HD、Bushnell社) を各4箇所設置した。実験区では、匂いをつけない状態 (コントロール) とキタキツネの糞と水の混合液で匂い付けした状態、エゾモモンガの糞と水の混合液で匂い付けした状態、市販のオオカミ尿を用いて匂い付けをした状態で各2日間連続的に撮影した。異なる匂い付けを行う際は2日間実験休止期間を設けた。匂い付けは、重量比1:3~4の各種の糞と水の混合液を作製し、実験時にこれを入れたボトル容器を餌台の横に設置することで行った。得た映像データは本種の滞在時間とその間の採食時間、警戒行動の回数を算出し、GLMMで統計解析をした。

3. 研究経過および成果の概要

エゾリスは、全体的な傾向として、捕食者であるキタキツネの匂いを特異的に感知し、採食行動を減少させたり、警戒行動を増加させたりしており、採餌中に捕食されるリスクを軽減するとともに、捕食者の早期発見に努めていると考えられた。非捕食者のエゾモモンガの匂いがある場合は、滞在時間と採食時間、警戒回数の変化の度合いは明確ではなかった。また、ハイイロオオカミはエゾリスにとって遭遇経験は無いが捕食者になりうる存在だが、ハイイロオオカミの匂いがある場合はキタキツネの匂い付けの時とは異なり、捕食者を回避する行動が見られなかった。そのため、エゾリスはハイイロオオカミを捕食者として認識できていない可能性がある。適切な抗捕食者反応を獲得するためには、捕食者との遭遇による学習を必要とする場合があり、近縁の二ホンリス *Sciurus lis* の効率的な採餌技術が親からの学習によって得られていることや本種が精度の高い記憶能力を持つことから、本種の匂いに対する適切な応答行動の獲得には、個体の学習が影響している可能性がある。これらの結果から本種は、経験に基づき他種の捕食リスクを評価し行動を調節していると考えられた。

また、雌雄別に春季と秋季で比較をした結果、キタキツネの匂いに対する応答行動には、性差と季節性が認められた。春季のオスは明確な回避行動が見られなかったが、春季のメスと秋季のオスでは採食時間の減少や警戒回数の増加が見られた。春季のメスはエゾモモンガとハイイロオオカミの匂いに対しても警戒回数の増加・採食時間の減少が見られた。春季のオスにおいて匂いに応答した行動が明確に見られなかったが、秋季のオスにおいて匂いに応答した行動調節が見られた要因として、餌環境と本種のオスの活動の季節性が考えられる。春季のオスはメスを巡る競争でエネルギーを多く消費するが、春季の餌環境はチョウセンゴヨウの球果やクルミといった好適な餌が少なく、貯食や新芽などに依存している。一方で、秋季は好適な餌が豊富に存在している。このことから、春季は見つけた好適な餌に対する執着は高く、餌獲得を優先しており、秋季は見つけた餌に対する執着は低く、捕食者による捕食リスクに対してセンシティブに反応していることが考えられた。春季のメスに関しては、出産と育児を行うためにエネルギー消費を最小限に止めており、親の生存率と繁殖率の低下を防ぐために捕食リスクに対して敏感になり、他種の匂いに対して敏感に反応した行動調節が見られた可能性がある。以上のことから、本種の匂いに対する行動調節には、季節や性別といった要因も相補的に影響を及ぼしていることが考えられる。

4. 今後の研究における課題または問題点

本研究では個体識別したデータも不十分な箇所があるほか、幼獣を捕獲することができなかったため、幼獣自体の匂いに対する応答行動を検討することができなかった。したがって、

また、エゾリスは北海道において、容易に観察できる動物種であり、人間との距離が近いことからロードキルや人間の餌付けによる警戒心の低下といった問題が浮上している。そのため、研究では明らかになっていない忌避物質や都市と郊外での比較研究を行うことで、人間と動物が共生する社会を築くための貢献度の高い研究となることが期待される。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

Animals are able to detect the presence of predators in a wide range, relying on olfactory information, namely, odors. In fact, it has been suggested that Eurasian red squirrels use olfactory information as a basis for foraging and avoidance behavior, but the details of how they regulate their behavior in response to odors other than those of native predators are not known. In this study, we presented three odors to squirrels in the field along with their food: 1) the odor of a native predator, the fox; 2) the odor of a potential predator, the wolf, which was once a subspecies in Hokkaido but is now extinct and which the squirrels have never encountered; and 3) the odor of a nonpredator, the flying squirrel, with which there is no ecological competition. We examined the effects of each odor on the time spent in the feeding area, foraging behavior, and vigilance behavior of this species. Our results suggest that squirrels specifically detects the scent of predator foxes and adjusts its foraging behavior and increases its vigilance behavior, thereby reducing predation risk and detecting predators early. On the other hand, it was possible that squirrels do not perceive wolves as predators. For squirrels, both foxes and flying squirrel have experienced encounters, but with different predation risks. Since foraging and predator avoidance are trade-offs, and foraging opportunities are lost to the extent that anti-predator responses are made, it is possible that the squirrels are basically optimally regulating their behavior to show anti-predator responses to predators and not to show anti-predator responses to prey. Reason for the possible failure to recognize wolves as predators could be that the anti-predator response has been lost over generations and that learning from encounters has affected the reinforcement of the anti-predator response.

Comparisons between male and female squirrels in spring and fall showed that males differed in their behavioral regulation in response to scent in spring and fall. This may be due to the seasonality of the feeding environment and the activity of males of this species. In addition, males and females also showed different odor-responsive behavior regulation in spring. This may be due to the need of spring females to prevent a decrease in survival and reproductive rate, and females are more vigilant as an organismal system.

Overall, the results suggest that although factors such as sex and season need to be taken into account, squirrels are able to assess the predation risk of other species and adjust their behavior based on their experience.

雄性ホルモン投与により雌ティラピア脳内に生じた

JAK-STAT 関連遺伝子発現増加の意味

The possible roles of expression of JAK-STAT-associated genes in the brain
of female tilapia treated with androgens.

研究代表者 助川 修太郎 (生命科学研究科生命科学専攻)

指導教員 金子 律子

I) 研究期間 / 2023 年 4 月 1 日 ~ 2024 年 2 月 15 日

II) キーワード / ① JAK-STAT シグナル伝達経路 JAK-STAT signaling pathway

② 脳スライス培養 brain slice culture

③ 細胞増殖 proliferation

④ アポトーシス apoptosis

⑤ 雌モザンビークティラピア female mozambique tilapia

III) 2023 年度交付額 / 557,000 円

IV) 研究発表 / 学会および口頭発表

・ 11-KT 投与による雌モザンビークティラピア脳での JAK-STAT 系の発現変化とその機能探索

助川修太郎, 安次富萌, 金子(大谷)律子

日本動物学会 第 94 回山形大会 (2023 年 9 月 9 日)

・ 11-KT 投与による雌モザンビークティラピア脳での JAK-STAT 系の発現変化とその機能探索

助川修太郎, 安次富萌, 金子(大谷)律子

東洋大学川越・板倉・赤羽台キャンパス研究交流会 (2023 年 7 月 8 日)

・ 11-KT 投与による雌ティラピア終神経節付近の細胞増殖の亢進はスライス培養中でも再現できる
か

助川修太郎, 安次富萌, 金子(大谷)律子

2022 年度工業技術研究所研究発表会 (2023 年 2 月 24 日 ~ 3 月 6 日)

・ 雄性ホルモンにより雌ティラピア終神経節付近で起きた JAK-STAT 関連遺伝子の発現変化

助川修太郎, 金子(大谷)律子

東洋大学 3 キャンパス合同研究交流会 (2022 年 10 月 8 日)

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000 字程度)

1. イントロダクション

JAK-STAT シグナル伝達経路は細胞機能における中心的な役割を担う細胞内シグナル伝達経路の一つであり、多様な細胞プロセスに関与が知られているが、脳内での機能については未だ不明な点が多い。当研究室ではこれまでに、成熟雌モザンビークティラピアへ魚類特有の雄性ホルモン

(11-Ketotestosterone, 11-KT) を投与すると生殖行動が雄性化することを明らかにしており、ティラピアの脳の性転換メカニズムについて様々な研究を行っている。これまでに当研究室で明らかになった結果から、11-KT 投与により *in vivo* では雌モザンビークティラピア脳内で①雄の生殖行動調節に関与するとされ終神経節付近に局在する GnRH3 ニューロンの増加、②JAK-STAT 系の発現誘導 (トランスクリプトーム解析および RT-qPCR で解析)、③細胞増殖の亢進、④アポトーシスの誘起が示されている。①GnRH3 ニューロンの増加については先行研究により、IGF-1R-PI3K-AKT-mTOR 経路の関与が示され、JAK は関与していない可能性が示されている。そのため、未だ JAK-STAT 系の発現が何故 11-KT により脳内で増加したか、その機能的意味は不明である。

そこで、本研究では、まず 11-KT による雌脳内での JAK-STAT 関連遺伝子の発現変化が、スライス培養下 (*in vitro*) でもみられるか調べた。次に③細胞増殖亢進および④アポトーシス誘起への JAK-STAT 系の関与を調べることを目的として研究を進めた。方法としては、脳スライス培養を行い、JAK 阻害剤を用いた薬理学的手法により、JAK-STAT 系の関与について検討した。

2. 研究方法

・RT-qPCR 法を用いた脳スライス培養への 11-KT 添加による遺伝子発現変化を調べる実験

使用動物：成熟雌モザンビークティラピア (*Oreochromis mossambicus*)

成熟雌ティラピアから麻酔下で脳摘出後、厚さ 200 μ m の終神経節を含む切片を作製した。切片を右脳と左脳に切断し、それぞれ異なる添加を行った。Control 群、11-KT 群とし、11-KT は終濃度 10 nM で培養を行った。Control 群には実験群と同量の溶媒を培地に添加した。培地中で 25 $^{\circ}$ C、1, 2, 24 時間培養を行った。培養した脳スライスから RNA を抽出、cDNA への逆転写を行い、JAK-STAT 系関連遺伝子およびアポトーシス関連遺伝子について RT-qPCR を行った。

・脳スライス培養における 11-KT 添加による細胞増殖数の変化を調べる実験

RT-qPCR 実験と同様に脳スライスを作製した。Control 群、11-KT 群、JAK 阻害群、11-KT+JAK 阻害群とし、11-KT と JAK 阻害剤ともに終濃度 10 nM で培養を行った。Control 群と JAK 阻害群には実験群と同量の溶媒を培地に添加し、増殖細胞マーカーである EdU を最終濃度 20 μ M となるよう、すべての培地に添加した。その後、25 $^{\circ}$ C で 24 時間培養した。4% PFA 溶液 (in 0.1 M リン酸緩衝液) で固定後、キットのプロトコルに従って EdU を染色した。さらに終神経節の場所を決めるために、GnRH3 の免疫染色を行った。その後、核染色を行い、共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察し、終神経節付近の EdU 陽性細胞数または脳スライス全体の EdU 標識面積を計測した。

3. 研究経過および成果の概要

①脳スライス培養を用いて、11-KT 添加により雌脳内で JAK-STAT 系の発現誘導が起きるか

脳スライス 1 時間培養において Control 群と比較して 11-KT 添加群の *Stat1* mRNA 発現量が有意に増加したことが示された。このことから、*in vivo* と同様に脳スライス培養においても *Stat1* の発現に関しては、11-KT による発現誘導がみられた。

②11-KT 添加による雌脳内の細胞増殖数変化の解析

24 時間の脳スライス培養では Control 群と比較して 11-KT 添加群の EdU 陽性面積 (増殖細胞出現面積) が有意に増加していることが示された。このことから、*in vivo* と同様に脳スライス培養においても 11-KT による雌脳内の細胞増殖亢進が引き起こされることが明らかになった。

また、脳スライス培養法と JAK 阻害剤を用いた薬理学的実験で、11-KT 添加による細胞増殖亢進に JAK-STAT 系が関与するか確かめた結果、Control 群と比較して JAK 阻害剤添加群の増殖細胞出現面積に統計的有意差は認められなかった。また、11-KT 添加群と比較して 11-KT+JAK 阻害剤添加群の増殖細胞出現面積に統計的有意差は認められなかった。このことから、11-KT 添加による雌脳内の細胞増殖亢進には JAK-STAT 系は関与しない可能性が高いと考えられる。

③11-KT 投与による雌脳内のアポトーシス誘導を再現できるか

JAK-STAT 下流のアポトーシス関連遺伝子である *Bax* および *Bcl-2* において、脳スライス 1, 2, 24 時間培養のどれも Control 群と比較した 11-KT 添加群の mRNA 発現量に統計的有意差は認められなかった。11-KT 添加によるアポトーシス調節遺伝子の変化は、少なくとも *Bax*, *Bcl-2* の mRNA 発現量をみた脳スライス培養実験では変化が見られなかった。そのためアポトーシスに関しては、阻害剤を用いた薬理学的実験は行っていない。

4. 今後の研究における課題または問題点

以上の結果から、雌脳への 11-KT 添加時の細胞増殖亢進およびアポトーシスに JAK-STAT 系が関与する可能性は低いことが考えられる。しかし、11-KT によって遺伝子発現が増加する JAK-STAT 系の機能について探り当てることはできなかった。そのため今後さらに他の機能について探索・検討していく必要がある。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

Neuroplastic mechanisms in the fish brain that underlie sex reversal remain unknown. Tilapia show a sexual dimorphism with males having a greater number of GnRH3 neurons than females. Treatment with androgen such as 11-ketotestosterone (KT) increases the number of GnRH3 neurons in mature females to a level similar to that observed in mature males. In our previous study, we revealed that 11-KT, a non-aromatizable androgen, induced the cellular proliferation in the brain near the terminal nerve (TN) which is known to control male sexual behavior. In addition, 11-KT was shown to induce adult neurogenesis, generation of newly-proliferated GnRH3 neurons, and increased the expression of cell cycle-related genes in the brain region near the terminal nerve (TN). These findings suggest that tilapia could serve

as a good animal model to elucidate the effects of androgen on adult neurogenesis and the mechanisms for sex reversal in the fish brain.

In this study, I investigated whether the JAK-STAT signaling pathway is involved in the cellular proliferation and/or apoptosis occurring during the sex reversal of the brain induced by 11-KT. In this study, we used brain slice culture to elucidate the function of the JAK-STAT pathway.

At first, I examined whether the gene expression of molecules belonging to the JAK-STAT pathway is increased during brain slice culture. In the method, I cut organotypic brain slices (200 μm thickness) at TN level of the female brain and cultivated them in the medium containing with 11-KT (11-KT-treated group) or with solvent used to solve 11-KT (Control group). Then, after 1, 2, 24 hours culture, RT-qPCR analysis was performed to investigate the gene expression in slices. As a result, the gene expression of *Stat1* was increased in the 11-KT treatment group after 1 hour of incubation, compared to that in slices. The JAK-STAT pathway is thus likely to be upregulated in the brain slice culture. On the other hand, apoptosis-regulated genes involved in the JAK-STAT pathway showed no statistical change in the gene expression. Therefore, it is unlikely that the JAK-STAT pathway is involved in apoptotic process.

I next examined whether the JAK-STAT pathway plays a role in 11-KT-induced cellular proliferation at TN region. For studying this, the brain slices were treated with the cell marker EdU and incubated for 24 hours with or without 11-KT. It was shown that 11-KT increased EdU-positive cells in the slices, compared to control groups. Similar to the *in vivo* experiments, cellular proliferation was found to be enhanced by 11-KT in slice culture.

I then studied the effect of JAK inhibitor on 11-KT-induced proliferation by using brain slices. The brain slices were cultivated in the medium containing EdU and the followings; 11-KT & a JAK inhibitor or 11-KT & the solvent used to solve the JAK inhibitor. The JAK inhibitor didn't suppress the 11-KT-induced increase in the number of EdU-positive cells. Therefore, these results showed that the JAK-STAT pathway is likely not involved in the 11-KT-induced cellular proliferation. The further study is required to elucidate the role of JAK-STAT pathway in 11-KT treated brain.

アカパンカビの転写因子 COL-26 タンパク質量と

多糖分解酵素の発現との相関

The correlation between amount of COL-26 and amylase genes in *Neurospora crassa*.

研究代表者 平井 献士(生命科学研究科生命科学専攻)

指導教員 藤村 真

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年2月15日

II) キーワード/①アカパンカビ

②カーボンカタボライト抑制

③ソルボース耐性

④アミラーゼ発現

⑤転写因子 COL-26

III) 2023年度交付額/700千円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

- 2023年度 東洋大学審査学位論文「アカパンカビのソルボース耐性因子の同定とカーボンカタボライト抑制に関する研究」生命科学研究科生命科学専攻 博士後期課程 平井献士
- 日本農薬学会第49回大会「トマト葉かび病菌のSDHI耐性株の変異(T78I, N85K/S, H151R)の同定,

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

産業上重要である糸状菌の多糖分解酵素(アミラーゼやセルラーゼ)の発現はカーボンカタボライト抑制(CCR)による厳格な制御を受けている。グルコースによる抑制は、抑制型転写因子 CRE-1が最も重要であるとされてきた。これに対し、我々は、モデル糸状菌アカパンカビのソルボース耐性に着目し、その過程で、CCRには CRE-1とは独立して「グルコースセンサーSOR-4、F-box タンパク質 EXO-1、アミラーゼの活性化型転写因子 COL-26」のシグナル経路が存在する可能性を明らかにした。中間因子である F-box タンパク質 EXO-1は標的タンパク質の分解に関わると推定され、*exo-1*破壊株がアミラーゼを大量生産することから、COL-26は EXO-1による量的な制御を受けている可能性が考えられた。そこで、本研究では、COL-26タンパク質に FLAG-Tag を付与した菌株を作出し、COL-26量と遺伝子発現制御の関係について検証することを目的とした。

2. 研究方法

菌株はアカパンカビの野生株、*col-26*株、*exo-1*株及び *cre-1*株を使用した。COL-26への FLAG-Tag の付加は、COL-26のC末端側に 3xFLAG タグを付加したプラスミド pCOL-26-C-3xFLAG を構築した。このプラスミドを制限酵素 *SspI* で線状化し、*col-26*株と *exo-1*株にエレクトロポレーション法による遺伝子導入を行なった。その後、PCRによって遺伝子導入が行われていることを確認し、これを *col-26; col-26-FLAG*株および *exo-1; col-26-FLAG*株とした。COL-26量は、FLAG-tag 抗体を用いたウエスタンブロット解析によって定量を行なった。遺伝的交配によって、*col-26; exo-1*二重変異株を作出した。なお、遺伝子欠損の確認は PCR 法により確

認を行い、目的遺伝子領域がハイグロマイシン耐性遺伝子に置き換わっていることを確認した。アミラーゼ活性の測定には、キッコーマン社製の α アミラーゼ活性測定キットを使用し、各菌株の細胞外タンパク質を回収し、活性の測定を行なった。

3. 研究経過および成果の概要

アカパンカビの転写因子 COL-26 は、アミラーゼ遺伝子の発現誘導に必須であることから、CCR の主要転写因子 CRE-1 よりもむしろ重要であることを明らかにしている。また、タンパク質分解を担っている F-box タンパク質 *exo-1* 株がアミラーゼを高生産することから、作業仮設として、「EXO-1 が COL-26 を標的としてプロテアソーム分解を行っている」と考えた。これを検証していくために、まず、*col-26; exo-1* 二重変異株を作出してアミラーゼ活性を測定した。その結果、*exo-1* 株で認められていた高いアミラーゼ活性が *col-26* 欠損によって抑制されることが判った。このことから、*exo-1* 株のアミラーゼ高生産には COL-26 タンパク質の存在が必要であることがまず明らかになった。次に、細胞内の COL-26 量を Flag-Tag 抗体で定量化するために、プラスミド pCOL-26-C-3xFLAG を構築した。このプラスミドを *col-26* 株および、*exo-1* 株に導入し、*col-26; col-26-FLAG* 株および *exo-1; col-26-FLAG* 株を作出した。なお、*col-26; col-26-FLAG* 株は、*col-26* 株のもつソルボース耐性が機能的に相補されたことから、FLAG-Tag を連結させた COL-26-FLAG タンパク質は正常に機能していることが考えられた。この菌株を用いて、CCR の抑制（グルコース培地）および脱抑制（マルトース）時の COL-26 量をウェスタン解析によって測定した。その結果、マルトース培地では、60~90 分程度で COL-26 量が次第に減少、グルコース培地では、COL-26 量の増加することが明らかとなった。一方、*exo-1; col-26-FLAG* 株の COL-26 量は条件によらず安定的に存在しており、*exo-1* 欠損株では COL-26 が常に細胞内に存在していることが明らかになった。これらの結果から、CCR 条件で、COL-26 は量的な制御を受けており、F-box タンパク質 EXO-1 の標的に COL-26 分解を行っていることを明らかにした。

4. 今後の研究における課題または問題点

EXO-1 が COL-26 量の調節に寄与していることを生化学的に解析したのは、本研究が初めてであり、CCR における転写因子の調節メカニズムの解明に貢献できたと考えている。一方で、遺伝子発現が誘導されるマルトース培地条件で COL-26 量が減少する理由については、今後の課題として残されている。本研究の成果は、CCR の CRE-1 以外の転写因子制御に着目することでカビのアミラーゼやセルラーゼを高効率で生産できる可能性を示しており、バイオエタノール生産や醸造等の技術発展に貢献できる成果であると考えている。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

The gene expression of carbohydrate enzymes such as amylase and cellulase are strictly regulated by carbon catabolite repression (CCR). Several transcription factors such as COL-26 and CRE-1 were identified as regulators of carbohydrate enzymes in CCR. Among them, CRE-1 has been shown to act as central repressor in CCR system in fungi. Previous our studies on sorbose resistance in *Neurospora crassa* suggested that the SOR-4 (glucose sensor)-EXO-1 (F-box protein)-COL-26 (transcription factor) signaling control amylase genes in CRE-1-independent manner. Furthermore, I found that the COL-26 is essential amylase up regulation not only in *cre-1* mutants but also *exo-1* mutants. F-box proteins mediate ubiquitination of target protein resulting in protein degradation. *exo-1* mutant is known to lead to hyper production of amylase. To reveal the relationship between EXO-1 and COL-26 in

amylase production, I produced *col-26; exo-1* mutant, and I measured amylase activity in wild-type, *col-26*, *exo-1*, and *col-26; exo-1* mutants. High amylase activity was observed in the *exo-1* mutant, whereas, the amylase activity of the *col-26; exo-1* mutant was the same as the *col-26* mutant suggesting that COL-26 is essential for hyperproduction of amylase in the *exo-1* mutant. From these results, I hypothesized that EXO-1 binds COL-26 and leads to ubiquitin-dependent degradation. First, plasmid, pCOL-26-C-3xFLAG was constructed and introduced into *col-26* and *exo-1* mutants. The expression of amylase genes is significantly induced in maltose conditions. To investigate the relationship between COL-26 activity and gene expression, I constructed the COL-26-C-3xFLAG plasmid and introduced it in *col-26* and *exo-1* mutants. A high amount of COL-26 in *col-26; col-26-FLAG* was observed at glucose conditions. Although the expression of amylase genes was induced in maltose condition, the COL-26 level gradually decreased when mycelium was transferred to maltose medium at 60 and 90 minutes. It was indicated that COL-26 temporarily induces amylase gene expression. Interestingly, *exo-1; col-26-FLAG* mutant was observed high level of COL-26 when mycelium was incubated in glucose and maltose. These results indicated that F-box protein EXO-1 is contributing to COL-26 post-transcriptional regulation in carbon catabolite repression or de-repression.

In this study, I investigated the COL-26 level in gene-inducible conditions. I found that the over-expression of amylase in the *exo-1* mutant was dependent on COL-26 activity. Furthermore, I revealed that F-box protein EXO-1 is involved in COL-26 degradation in glucose repression. Our funding expects contributions for new insight into transcription factor regulation in CCR and the development of industrial applications such as bio-ethanol production and brewing.

うつ病モデルマウスと微生物叢-脳-腸軸の相互関与

Depression model mouse mutual involvement of microbiota-brain-gut axis

研究代表者 韓 陶磊(生命科学研究科生命科学専攻)

指導教員 児島 伸彦

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年2月15日

II) キーワード/①うつ病 Depression

②脳腸相関 Brain-gut correlation

③微生物-脳-腸軸 Microbiota-brain-gut axis

④MAPK 関連 MAPK pathway

⑤乳酸菌寄与 Lactobacillus contribution

III) 2023年度交付額/ 553,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

2022年度日本神経科学学会大会

2023年度日本神経科学学会大会

V) 研究経過および成果の概要(日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

うつ病は複雑な精神疾患であり、心理的・身体的ストレスが原因とされている。うつ病の病態の約40%は遺伝的要因に関連していると推定されており、遺伝子の変異はストレス脆弱性を高める可能性があると考えられる。複数の遺伝子の変異などの遺伝的要因は互いに影響し合い、発症のリスクとなる可能性があるが、うつ病の発症の根本的なメカニズムは未だ解明されていない。一方、脆弱性の決定には外的要因も重要であると考えられ、消化管内の微生物叢(=腸内細菌叢)がうつ病と関連していることを示す証拠が増えてきた。腸内細菌叢は、神経内分泌経路や神経免疫経路を介して脳機能に影響を与える可能性が示唆されているが、腸内細菌叢と脳機能との間の相互影響や因果関係についてはまだ完全に解明されていない。本研究では、マウスに慢性予測不能軽度ストレス(CUMS)を負荷することで、微生物叢-脳-腸軸の相互関係を調べた。これらの研究を通じてうつ病の脳内遺伝子発現変化と微生物-脳腸軸説に基づいた腸内細菌叢との関連を明らかにすることを本研究の目的とし、それらの潜在的な関連性を探った。

2. 研究方法

8週齢のC57BL/6N雄マウスに4週間に渡って45°傾斜ケージや拘束、終夜照明などを含めた11種類の軽度ストレスをランダムに1日3回負荷する慢性予測不能軽度ストレス(CUMS)によってうつ病モデルマウスを作製した。対照マウスは餌水が自由に摂取でき、4週間に渡って通常飼育した。個々の動物の抑うつおよび不安の程度を評価するために、オープンフィールドテストと強制水泳テストを含む6つの行動テストを実施した後、動物を頸椎脱臼によって安楽死させ盲腸内容物及び脳を採取した。盲腸内容物より腸内細菌のゲノムDNAを抽出し、メタ16S rRNA解析を委託した。また、大脳皮質組織よりRNAを単離してRNA-seqの委託分析を実施し、発現変動遺伝子をゲノムワイドに網羅的に探索した。選別された有意差が大きい候補遺伝子の発現変動部位と時期をRT-qPCRで個別に二次検証した。

腸内微生物叢が脳遺伝子変動への影響を調べるために、CUMS で大きく変動した二種の乳酸菌 *L.murinus*、*L.reuteri* をそれぞれ 1×10^9 CFU/日相当量を正常マウスに 3 週間に渡って投与し、脳遺伝子と腸内細菌叢を上記と同様に解析した。

3. 研究経過および成果の概要

行動テストの結果、CUMS マウスの自発行動量と平均移動速度は対照マウスと比べ有意に増加した。一方、中央滞在率が有意に減少した。このことから CUMS 曝露により不安様行動が亢進したと考えられた。更に、強制水泳テストでの無動が有意に増加したことから、抑うつ行動が亢進していると評価された。RNA-seq 解析の結果、CUMS マウスの大脳皮質では 480 遺伝子の発現が有意に変動していた。これらの変動遺伝子には、神経機能と興奮伝導、炎症制御と免疫システム、代謝調節に関連しているものが含まれていた(図 1)。パスウェイエンリッチメント解析の結果、炎症と神経新生に関連する MAPK シグナル伝達経路に関連する遺伝子の有意な発現低下が認められた。このことはヒトのうつ病患者における MAP キナーゼ経路の調節異常⁽¹⁾の知見と一致する。また、腸内細菌叢のメタ 16S 解析では、CUMS 群と対照群の間で細菌組成とその多様性に有意な差が認められた(図 2)。そのうち、CUMS 群では *L.murinus* が死滅し、*L.reuteri* が有意に増加した。この二種の乳酸菌を培養して健康なマウスに摂取し、脳機能と行動に影響を及ぼす役割を探った。単一の乳酸菌投与では、それぞれ期待した目的菌の増加効果は得られなかった。しかし興味深いことは、CUMS と同様に变化した細菌(*Helicobacter* など) が観察され、そのマウスらの大脳皮質において MAPK 関連遺伝子の低下も観察された。現時点では、变化した細菌が脳 MAPK シグナル経路に直接関係している証拠は定かではないが、乳酸菌の投与がマウスの行動パターンを変化させ(自発行動量の減少)、脳内で炎症関連遺伝子の発現に影響を与える(CD14 など LPS 受容体の増加)ことが確認された。*Helicobacter* の増加がうつ病の脆弱性を高める⁽²⁾ことが報告されているので、CUMS 負荷と乳酸菌の投与は、マウスの盲腸組織における *Helicobacter* 感受性に影響を与えた可能性があり、その脳腸相関に対する役割についてさらに研究を進める必要がある。

4. 今後の研究における課題または問題点

現在、*Lactobacillus murinus* と *Lactobacillus reuteri* のいずれかを健康なマウスに移植したところ、MAPK シグナル伝達経路の変動が見られた。今後の課題として、これらの細菌をうつ病マウスに投与して、腸内環境の違いで細菌の働きも違ってくるかどうかを検証する必要がある。また、単一の菌ではなく複数若しくは細菌叢全体をより効果的に移植する方法を開発する必要がある。さらに、迷走神経を含めその経路を明らかにすることで、うつ病発症と進行のメカニズム解明に貢献できると期待できる。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

Depression is a complex mental health disorder, and increasing evidence suggests that depressive and anxious behaviors are linked to changes in the composition of gut microbiota. However, the specific pathways and causal relationship between gut microbiome and brain function have not been fully elucidated. In this study, we investigated the interrelationships of the microbiota-brain-gut axis by exposing mice to chronic unpredictable mild stress (CUMS). After assessing depression-like and anxiety-like behaviors in individual animals through behavioral tests, such as open field test and forced swimming test, we comprehensively screened for changes in gene expression in the brain and the composition of intestinal bacteria by genome-wide RNA-seq analysis and meta 16s analysis,

respectively, to explore their potential connections.

RNA-seq analysis indicated that 480 genes were differentially expressed in the cerebral cortex of CUMS mice (P- Value < 0.05). Pathway enrichment analysis revealed significant down-regulation of the MAPK signaling pathway, which is associated with inflammation and neurogenesis, consistent with the dysregulation of MAP kinase pathway in human depression patients. In mouse cecal contents significant differences in bacterial composition and diversity were found between the CUMS and control groups. Among several bacterial species that altered in their abundance, we noted following two species of *Lactobacillus*; *Lactobacillus murinus* became extinct, while *Lactobacillus reuteri* was robustly increased in the CUMS group. We cultivated and fed these bacteria to healthy mice to explore their potential roles in affecting brain function and behavior. We hypothesized that these intestinal bacterial communities may influence depressive behavior by directly or indirectly modulating signaling pathways such as MAPK signaling pathway in brain cells. and we are analysed gene expression in the cerebral cortex of mice transplanted either *Lactobacillus murinus* and *reuteri*, Changes in the MAPK signaling pathway were observed.. These studies will demonstrate the interconnections between microbiota and host physiology, and understanding these mechanisms should provide us to gain insights for new diagnostic and therapeutic strategies for depression.

日本近海におけるアオウミガメの食性と
採餌傾向の違いによる腸内微生物の比較

Feeding habits of green sea turtles around Japan and the impact of gut
bacterial communities due to foraging tendency

研究代表者 東條 菜々花(生命科学研究科生命科学専攻)
指導教員 伊藤 元裕

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年2月15日

II) キーワード/①ウミガメ

②食性

③腸内細菌叢

④地域変異

⑤クラゲ

III) 2023年度交付額/560000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

該当なし

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

生物体内の腸内細菌叢は、宿主の免疫系を助け、複雑な炭水化物の消化を助ける働きがあり、宿主の生育や成長に貢献している。特に植物を多く摂取する生物は、腸管内に存在する微生物が植物の難分解性炭水化物を分解し、生成される短鎖脂肪酸を利用している。腸内細菌の構成は、宿主の成長段階や採餌する餌種の違いによって変化することが報告されており、採餌選択の違いが宿主の腸内細菌叢に大きな影響を及ぼし、宿主のエネルギー代謝に影響を与える可能性がある。

日本近海には、アカウミガメ *Caretta caretta*、アオウミガメ *Chelonia mydas*、タイマイ *Eretmochelys imbricata* の3種の産卵場所が存在し、北太平洋では主にアカウミガメとアオウミガメの生息が確認されている。アカウミガメとアオウミガメでは採餌する餌種が異なっており、アカウミガメは肉食性であり、アオウミガメは植食性のウミガメであるとされている。しかし、近年、安定同位体比分析による食性解析によって、アオウミガメは成長後もこれまでに考えられていたような海草や海藻のみを採餌する単純な植食性ではなく、生息する海域によってはクラゲなどの動物質の餌も利用していることが明らかになってきており、その餌の消化吸収メカニズムはこれまで考えられていたよりも複雑であると考えられる。

アオウミガメの海草や海藻の効率的な利用に特異的な腸内細菌叢が寄与している場合、海域ごとの食性の違いは、アオウミガメの腸内細菌叢に影響し、食性の違いにより腸内細菌叢が変化することが予想される。

そこで本研究では、ウミガメの餌種の違いによる腸内細菌叢の構成の違いを明らかにするために、安定同位体比分析による食性解析と16S rRNA解析による腸内細菌叢の同定を行った。本研究では、海洋環境の異なる三陸地域を回遊する個体と御蔵島村周辺を回遊する個体を対象に、採血および総排出孔からのサンプル採取により非侵襲的にサンプルリングした。これらのサンプルから得られたデータをもとに、地域ごとの利用餌種、腸内細菌の組成を調べ、採餌する餌種や環境の変化によって、消化の効率に大きく関わっていると考えられる腸

内細菌叢に特徴的な変化が現れるのか明らかにすることを目的とした。

2. 研究方法

調査は 2022 年・2023 年 6 月に東京都御蔵島村、2023 年 8 月に岩手県大船渡市から宮古市にかけての海域で混獲および捕獲された個体において実施した。加えて、2019 年から 2022 年において岩手県大船渡市から宮古市にかけての海域で混獲された個体、および、2017 年 2021 年において御蔵島および小笠原諸島周辺で捕獲された個体から採取されたサンプルの提供を受けて使用した。各個体は、体重および直甲長の測定を行った後、血液の採取を行った。加えて、2023 年には腸内細菌の採取を行った。腸内細菌の採取は、外部からの環境汚染を最低限にするために総排泄腔から滅菌スワブを挿入し、分析まで冷凍保存した。血液サンプルは遠心分離にかけ、血球と血漿に分けて前処理を行い、炭素窒素安定同位体比値を測定し食性解析を行った。腸内細菌サンプルは、アプリコンシーケンス解析により腸内細菌叢の同定を行った。

3. 研究経過および成果の概要

安定同位体比分析の結果、三陸地域のアオウミガメとアカウミガメの炭素窒素安定同位体比値は近い値を示し、潜在的な餌種の炭素窒素安定同位体比値から算出した餌種ごとの寄与率はクラゲが最も高い値を示した。御蔵島のアオウミガメにおいては三陸地域および小笠原の個体と比べ、低い窒素安定同位体比値を示し、栄養価の低い餌を採餌していることが明らかになった。寄与率の推定により、御蔵島のアオウミガメは海藻類を多く採餌していることが明らかになり、同じ亜成体期の三陸地域のアオウミガメと採餌傾向が異なることが推定された。小笠原の個体においては炭素窒素安定同位体比値が他海域よりもレンジが広く、産卵のために様々な海域から小笠原へ来遊していた。

アプリコンシーケンス解析の結果、三陸地域のアオウミガメおよびアカウミガメ、御蔵島のアオウミガメの腸内細菌叢は *Proteobacteria* 門が最も多く、次いで *Bacteroidetes* 門、*Firmicute* 門が多く存在していた。上位 3 種の菌種の存在割合を比較すると統計的に有意な差は見られなかった。*Firmicute* 門は、炭水化物代謝に関連した細菌種が存在しており、ウミガメの海藻類の消化に関わっているとされている。本研究の結果では、餌利用の違いによる腸内細菌叢に統計的に明確な差異は認められず、ウミガメ類は細菌叢を獲得した後、比較的長期にわたり、その腸内細菌叢を維持させると考えられた。また、三陸地域の個体は、アオウミガメ、アカウミガメ共に、クラゲを高い割合で採餌していると推定され、他生物の腸内細菌叢の研究結果からクラゲの採餌に関連していたとされた *Lactobacillales* 目の菌種がわずかではあるが複数の個体から確認された。加えて、魚の捕食に関連すると考えられる *Fusobacteria* 門についても複数の個体から検出された。これらの結果は、アカウミガメ及びアオウミガメのクラゲの捕食や、クラゲの餌である小型魚類から食物連鎖を通じて獲得したと考えられ、クラゲの採餌と腸内細菌叢のわずかな変化が確認された。

本研究では、食性の違いによる腸内細菌叢の明確な差異は見られなかった。ウミガメの三陸地域の利用は季節的な回遊によるものであることが示されており、短い期間での植物食傾向から雑食傾向へ切り替えのなかで腸内細菌叢は大きくは変化しないと考えられた。一方で、三陸地域の個体においてクラゲとその餌に関連する腸内細菌が確認されたことから、短期間においてもわずかであれば腸内細菌叢の変化が起こり、その餌の消化吸収に寄与している可能性も示唆された。

4. 今後の研究における課題または問題点

本研究では、腸内細菌の採取を各地域で 6~7 個体から行ったが、今後サンプル数を増やすことで餌の消化に関連する腸内細菌叢の変化をより詳細に明らかにしていく必要がある。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

The gut microbiota can aid in digestion of complex carbohydrates. Differences in prey choice can have a significant impact on the host gut microbiota and affect the energy metabolism of

the host. In this study, we conducted research the prey composition and gut microbiota of marine turtles migrating in the seas around Japan, by region, in order to clarify whether changes in forage species and environment cause characteristic changes in the gut microbiota, which is thought to play a major role in digestive efficiency. In the diet analysis, stable isotope ratio analysis of sea turtle plasma and blood cells was used to obtain diet information. For identification of gut microbiota, intestinal bacteria were collected by inserting sterile cotton swab from the cloaca and subjected to Amplicon sequencing analysis. The results of stable isotope ratio analysis revealed that feeding habits varied by region. Loggerhead and green turtles in the Sanriku region preyed heavily on jellyfish, and Mikura Island preyed heavily on large seaweeds. In Ogasawara Island, there is a large variation among individuals, suggesting that they migrating from various ocean area to egg laying. Sea turtles in the Sanriku region and sea turtles in Mikura Island that had different feeding habits, there was no significant change in the composition of the gut microflora, and there was no statistically significant difference in the bacterial species with a large percentage of presence. And every species had a *Firmicute*, which is thought to be involved in the digestion of seaweeds and seagrasses. These results suggest that sea turtles maintain their gut microbiota for a relatively long period of time after acquiring the bacterial flora. And in individuals from the Sanriku region, a small number of *Lactobacillalea* were identified that had to be related to foraging jellyfish based on studies of the gut microbiota of *Pampus argenteus*. In addition, the phylum Fusobacteria, which is thought to be associated with fish predation, was detected in several sea turtle in Sanriku region. It is considered that *Lactobacillalea* and Fusobacteria are have been acquired through the food chain from predation of jellyfish by sea turtles and from small fish that are jellyfish prey. These results suggest that even small changes in the gut microbiota can occur in a short period of time and contribute to food digestion and absorption.

新規疎水性プロリンリッチオリゴペプチドの in vivo 影響の解析

Analysis of in vivo effects of novel hydrophobic proline-rich oligopeptides

研究代表者 勝又 康介(生命科学研究科生命科学専攻)

指導教員 鳴海 一成

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年2月15日

II) キーワード/①機能性ペプチド

②ストレス耐性

③放射線抵抗性細菌

④極限環境微生物

⑤大腸菌

III) 2023年度交付額/ 560,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

・勝又康介、鳴海一成 “生物のストレス耐性向上に向けた HyPOP の機能解析” 第24回極限環境生物学会年会、口頭発表、2023年8月

・勝又康介、鳴海一成 “新規疎水性プロリンリッチオリゴペプチドの機能解析” 変異機構研究会第34回夏の学校、口頭発表、2023年9月

・勝又康介、鳴海一成 “大腸菌を用いた新規疎水性プロリンリッチオリゴペプチドの機能解析” 第46回日本分子生物学会年会、ポスター発表、2023年12月

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

生物のストレス耐性向上の研究は、生物資源の活用法の拡大を図るために重要である。PprI タンパク質は、*Deinococcus* 属細菌のみに存在し、DNA 修復に関わる遺伝子群の発現制御に関わることが知られている。*Deinococcus radiodurans* 由来の PprI をコードする遺伝子 *Dr_pprI* を発現させた大腸菌が、熱や過酸化水素など様々なストレスに対して耐性を示すことが報告されて以来、*Dr_pprI* の導入による様々な生物のストレス耐性向上に関する研究報告が相次いでいる。しかし、*Dr_pprI* 発現によるストレス耐性向上のメカニズムは未だに解明されていない。本研究において、過去の報告で得られた *Dr_pprI* 発現大腸菌のストレス耐性向上を再現し、そのメカニズムを解明する過程で、大腸菌のストレス耐性向上が *Dr_pprI* によるものではなく、新規疎水性プロリンリッチオリゴペプチド (hydrophobic proline-rich oligo-peptide; HyPOP) によるものである可能性を見出した。HyPOP と相同性のあるオリゴペプチドはないため、機能は全く不明である。大腸菌 JM109 株で HyPOP を発現させたところ、ストレス耐性は向上しなかった。そこで、生産物のプロテアーゼによる分解を軽減するため、大腸菌 BLR 株 (Lon プロテアーゼ、OmpT プロテアーゼ欠失) で HyPOP を発現させたところ、大腸菌の生育が遅くなる現象が確認された。本研究は、大腸菌における HyPOP が生育遅延以外にストレス耐性向上にも働くのか検証し、HyPOP の機能を明らかにすることを目的とした。

2. 研究方法

BL21 (DE3)株で HyPOP を発現させたところ、ストレス耐性が向上したことから、大腸菌 BLR (DE3)株においても同様にストレス耐性が向上するのか調査した。IPTG 添加の有無により発現を制御できる pET24a プラスミドの T7 プロモーターの下流に HyPOP 発現遺伝子をクローニングし、BLR (DE3)株に導入した。HyPOP 発現 BLR (DE3)株を LB 培地で 37°C、一昼夜振とう培養した。培養液 2 mL を遠心分離によって回収した菌体ペレットに、LB 培地 2 mL を加え、懸濁した。懸濁液を新しい LB 培地に 100 倍希釈で植菌し、37°C で振とう培養した。OD₆₀₀ が 1.4 に到達したところで、培養液 0.5 mL 分の菌体ペレットを、LB 培地 0.5 mL、3 M NaCl を含む LB 培地 0.5 mL、または 0.08% H₂O₂ を含む LB 培地 0.5 mL に懸濁し、塩ストレス 2 時間、過酸化水素ストレス 10 分、37°C でインキュベートした。このストレス処理後、0.9% NaCl で 10 倍段階希釈し、各希釈液 10 µL を LB agar にスポットした。IPTG 添加による発現誘導は、OD₆₀₀ が 0.7 に到達したところで、IPTG を終濃度 1 mM になるよう添加し、1 時間培養を続けた。培養後、無添加の時と同様にストレス処理を行い、LB agar にスポットした。

HyPOP 発現によるストレス耐性と HyPOP の発現量の関係について調査するため、RT-qPCR を行なった。HyPOP 発現 BLR (DE3)株を LB 培地で 37°C、一昼夜振とう培養した。培養液 2 mL 分の菌体ペレットに、LB 培地 2 mL を加え、懸濁した。懸濁液を新しい LB 培地に 100 倍希釈で植菌し、37°C で振とう培養した。OD₆₀₀ が 1.4 に到達したところで、培養液 2 mL を遠心分離し、菌体ペレットを回収した。IPTG 添加による発現誘導は、OD₆₀₀ が 0.7 に到達したところで、IPTG を終濃度 1 mM になるよう添加し、1 時間培養を続けた。培養後、無添加の時と同様に菌体ペレットを回収した。回収した菌体から FastRNA Pro Blue Kit (MP Biomedicals)を使用して RNA を抽出した。その後、逆転写酵素 SuperScript IV VILO Master Mix (Thermo Fisher Scientific)を用いて cDNA を合成し、qPCR により HyPOP の発現量をリアルタイム PCR システム (QuantStudio 1、Thermo Fisher Scientific) を用いて定量した。

3. 研究経過および成果の概要

HyPOP を発現させた BLR (DE3)株は、発現していない株に比べて、塩、過酸化水素によるストレス耐性が向上した。BL21 (DE3)株と同様にストレス耐性向上が確認された。BL21 (DE3)株は *recA* 遺伝子を保持しており、BLR (DE3)株は *recA* 遺伝子が欠損している。このことから、HyPOP 発現によるストレス耐性向上には、*recA* 遺伝子に関わる SOS 応答とは異なる機構が関与していることが明らかになった。

RT-qPCR により、HyPOP の発現量の定量化を試みたが、qPCR にて cDNA を合成していないネガティブコントロールでも PCR の増幅が確認され、HyPOP の正確な定量ができなかった。

4. 今後の研究における課題または問題点

本研究で HyPOP 発現によるストレス耐性向上は、*recA* 遺伝子に依存しないストレス耐性向上メカニズムであることが示唆された。今後、HyPOP 発現によって遺伝子発現がどのように変化したのか確認する必要がある。HyPOP 発現株のストレス処理前後の RNA-seq トランスクリプトーム解析を行う。また、HyPOP のストレス耐性向上の詳細な経路を明らかにするために、免疫電子顕微鏡法を用いて HyPOP の細胞内局在を調査する。また、HyPOP のアミノ酸配列のシャッフリングを行い、HyPOP の機能に必要なアミノ酸配列を決定する。RT-qPCR による HyPOP の定量ができ

なかった原因として、cDNA 合成前の DNA 除去処理が不十分であり、DNA のコンタミネーションが考えられたため、今後、DNase 処理の時間を長くすることで DNA を完全に処理し、RT-qPCR の実験条件の最適化を試みる。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

Deinococcus spp. are extremophilic microorganisms that exhibit exceptionally high radiation tolerance due to their unique DNA damage response mechanisms. The expression of *Dr_pprI* gene, which encodes *Deinococcus radiodurans* PprI, in *E. coli* has been reported to enhance various stress tolerances. In this study, while attempting to replicate the stress tolerance improvement observed in *Dr_pprI* expressing *E. coli* from previous reports and elucidate the underlying mechanism, we discovered that the enhanced stress tolerance in *E. coli* was not attributed to *Dr_pprI*. Instead, it was influenced by a novel hydrophobic proline-rich oligopeptide (named to as HyPOP), for which no homologous oligopeptide exists, and whose function remains completely unknown. Our study aimed to uncover the function of HyPOP using *E. coli*. We cloned the HyPOP gene into the pET24a vector with a T7 promoter and introduced it into the *E. coli* BL21 (DE3) strain. Additionally, we generated a control strain by transforming BL21 (DE3) with pET24a alone. These strains were cultured in LB liquid medium with shaking, and when the optical density at 600 nm (OD₆₀₀) reached 0.8, isopropyl β-D-1-thiogalactopyranoside (IPTG) was added at a final concentration of 1 mM to induce gene expression. The cultures were then subjected to stress treatments, and stress tolerance improvement was evaluated using a drop plate assay. The HyPOP-expressing strain exhibited greater resistance than the control strain when exposed to heat (62°C for 10 minutes) and ethanol (15% for 15 minutes). Furthermore, we assessed HyPOP expression in the *E. coli* BLR (DE3) strain, which lacks the *recA* gene. The HyPOP-expressing strain exhibited greater tolerance than the control strain when treated with hydrogen peroxide (0.08% for 10 minutes) and NaCl (3 M for 2 hours). These results suggest that HyPOP expression in *E. coli* enhances stress tolerance by inducing the expression of stress response genes, and the SOS response pathway does not appear to be involved in this tolerance.

円石藻の石灰化に関わる酸性多糖の解析

Analysis of acidic polysaccharides involved in calcification of coccolithophorid.

研究代表者 上野 友紀(生命科学研究科 生命科学専攻 博士前期課程)

指導教員 長坂 征治

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年2月15日

II) キーワード/①円石藻 coccolithophorid
②バイオミネラル biomineral
③ココリス coccolith
④酸性多糖 acidic polysaccharide
⑤構造解析 structural analysis

III) 2023年度交付額/560,000 円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

- ・日本農芸化学会 2023年度大会
- ・日本農芸化学会 2024年度大会(予定)

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

海洋性藻類の円石藻は、細胞表面がココリスと呼ばれる円盤状の鱗片で覆われている。ココリスは、楕円形の有機基盤の周縁部または全面に石灰化により形成された CaCO_3 の単結晶が連なって形成されている。このように生物が無機鉱物を形成する反応をバイオミネラリゼーションといい、この作用によって作られた鉱物はバイオミネラルと呼ばれている。バイオミネラルの代表的な例として二枚貝の貝殻、脊椎動物の歯や骨などが挙げられる。バイオミネラルは様々な生物で形成されており、多くの場合、酸性の有機物質が結晶形成を制御していると考えられている。円石藻 *Pleurochrysis carterae* の CaCO_3 結晶には3種類の酸性多糖(PS-1・PS-2・PS-3)が含まれていることが報告されており、これらの酸性多糖は CaCO_3 結晶の成長制御に関与していると考えられている。この酸性多糖の構造や機能については未解明な部分が多いが、近縁種の PS-2 については構造解析がなされており、ガラクトツロン酸と酒石酸・グリオキシル酸のユニットの繰り返し構造であると報告されている。また、PS02 の電気泳動では梯子状のバンドを形成されるため、異なるユニット数の分子が共存していると考えられてきたが詳細は不明である。本研究では、ココリス形成分子機構の解明を目的として、単離した酸性多糖 PS-2 を中心に糖鎖構造解析及び結晶形成制御作用の解析を行った。

2. 研究方法

〈培養・酸性多糖の抽出と単離〉本研究では円石藻 *Pleurochrysis carterae* を使用した。培養は5Lの人工海水培地を人工気象器内で温度 20°C、照度 100 $\mu\text{mol photon}/\text{sm}^2$ 、16 h/8 h の明暗サイクルで行った。培養後、100 mM EDTA (pH8.0)溶液で酸性多糖を溶出し、クロロホルム、ヘキサ

ンで溶媒抽出、エタノールで分別沈殿を行い、粗分画を得た。粗分画はイオン交換 HPLC で分離し、PS-1・PS-2・PS-3 の酸性多糖を分取した。PS-2 は溶出順に分画し、PS-2①～PS-2⑤の 5 つの画分を得た。イオン交換 HPLC で得られた各画分をさらに精製するため、ゲル濾過 HPLC に供与した。精製した糖サンプルは SDS-PAGE で分離を行い、Stains-All で染色して酸性多糖をバンドとしてサンプルの純度を確認してから各種解析に用いた。〈結晶形成活性〉PS-2①と PS-2④をそれぞれ 40 mM CaCl₂ 溶液に 500 μl 加えた後、13.3 mM NaHCO₃ 溶液を加え攪拌し、1 分毎に pH と吸光度を測定し、結晶成長の指標とした。〈糖の組成分析〉分画した PS-2 の官能基を調べるため、フーリエ交換赤外分光光度計(JASCO)を用いて IR スペクトルを測定した。〈糖鎖構造分析〉構成糖の組成は酸性多糖を完全に酸水解処理した後、ABEE で標識し、逆相 HPLC で分析した。部分構造の解析では PS-2①と PS-2④を PA 化標識、水酸基の完全メチル化、ABEE 標識の 3 種の方法で標識し、それぞれに部分酸水解を施し、MALDI-TOF/MS 分析(AXIMA Resonance、Shimadzu)、LC/Q-TOF-MS (SynaptG2、Waters) による構造解析を行った。

3. 研究経過および成果の概要

ゲル濾過 HPLC：PS-2 は保持時間 7 分から 9 分の間で PS-2⑤から PS-2①の順にピークが検出され、PS-1、PS-3 も溶出時間 7 分から 9 分にピークが見られた。標品で作成した検量線から得られた近似式 $[y=2E+09e-1.229x]$ に各糖の溶出時間を代入して分子量を算出したところ、おおよそ 4 万から 16 万程度であることが分かった。

酸性多糖の結晶形成活性：PS-2①の一番糖濃度の高い試験区(0.1 μg/ml)、PS-2④の全ての試験区で、超純水で行った対照試験区であるコントロールよりも pH の値は低くなり、結晶成長が促進されることが示唆された。また、PS-2①の低濃度試験区(0.01 μg/ml、0.001 μg/ml)ではコントロールと比較して pH が高い値に変化したことから結晶形成が抑制される結果となった。PS-2①の吸光度は pH と同様に高濃度だと結晶形成を促進、低濃度だと抑制する結果となったが、PS-2④の吸光度では低濃度試験区(0.001 μg/ml)が抑制されている結果となった。吸光度は結晶の形成量だけでなく形や大きさにも影響されることから、PS-2④の低濃度試験区は結晶形成が促進されていてもコントロールより値が下回ったと考えられ、形成された結晶の SEM 等での観察が今後の課題である。

IR スペクトル・構成糖分析：PS-2①～⑤の画分間で、ヒドロキシ基とカルボキシ基の比率が異なっていることが示唆され、糖鎖内部での官能基の比率が画分ごとに異なっているものと考えられる。ABEE 化標識を用いた構成糖の組成分析からは、グルクロン酸、ガラクトロン酸、未同定の物質(以下 α)の 3 つが PS-2 の主成分であることが分かった。PS-2①から⑤の順にかけてガラクトロン酸と α のピーク面積の値が減少し、グルクロン酸のピーク面積の値は増加していた。ABEE 化標識でのガラクトロン酸やグルクロン酸などのウロン酸の含まれる比率の変化は、IR スペクトルで得られた官能基の比率の変化と一致しており、PS-2 は単純なユニットの繰り返し構造のみで構成されているのではないことが示唆された。

部分構造解析：3 種のサンプルの調製、2 種の質量分析装置での分析から多数の質量電荷比(m/z)が検出された。報告されている PS-2 の構造を参照して、部分構造の推定を行った。ウロン酸を A、酒石酸・グリオキシル酸を B、酒石酸を b1、グリオキシル酸を b2 として検出されたピークとの比較解析を行った。PA 化標識では、PS-2①と PS-2④に共通して Ab1、AAAAB、PS-2④では b2AAAAB の断片を確認することができた。完全メチル化糖鎖の MALDI-TOF/MS 分析では、PS-2①には AABb1(ABAb1)、ABA、PS-2④には BAB、AAb1、AA、A の断片をそれぞれ確認できた。また、

PS-2①と PS-2④に共通して b2BAB、b2AA、b2BB、b2 の断片を確認した。b2BB のピーク強度を比較したところ、PS-2①では約 1100000 に対して PS-2④では約 700000 となり約 1.5 倍の差が生じていた。このことから、PS-2①の方が B の構造を多く有していることが示唆された。LC/Q-TOF-MS 分析では PS-2①と PS-2④に共通して A、b2A、AA、B、の断片を確認することができた。

以上の結果から、PS-2 はウロン酸が連続的に構成されるなかで、特異的またはランダムにウロン酸の 2 位と 3 位の間が切断、酸化され、B の構造ができるものと推測された。また、結晶成長制御の結果と合わせて、B の含有量が多い、すなわちカルボキシ基の増加によって炭酸カルシウム結晶形成を阻害されているのではないかと考えられる。

4. 今後の研究における課題または問題点

今後は、PS-2 全体の構造を同定し、ココリス形成に関与する酸性多糖の構造活性相関や結晶成長制御機構を進展させることが課題である。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

Coccolithophorids, marine microalgae, bear disk-shaped scales called coccoliths on the cell surface. Each coccolith organizes CaCO₃ crystals on an oval organic base plate. Previous studies have reported that CaCO₃ crystals of *Pleurochrysis carterae* contain three acidic polysaccharides (PS-1, PS-2, and PS-3), which may have roles in crystal growth control. However, their structure and function still need to be elucidated. PS-2 has been described having a repeating disaccharide structure with galacturonic acid and tartaric and glyoxylic acids. It is also thought to be composed of molecules of different lengths, since it forms ladder-like bands in electrophoresis. This study aims to clarify molecular mechanisms of coccolith formation by using isolated acidic polysaccharides to analyze their glycan structures and their effects on regulating crystal formation.

P. carterae was cultured in artificial seawater, and acidic polysaccharides were eluted using an EDTA solution. PS-1, PS-2, and PS-3 were isolated by solvent extraction using chloroform and hexane, fractional precipitation with ethanol, and HPLC (Ion-exchange, Gel filtration). Since PS-2 is composed of molecules of different lengths, it was fractionated into five size-based fractions (low molecule to numbering: PS-2①~⑤). Gel filtration HPLC results indicate that the molecular weight of acidic polysaccharides is between roughly 40,000 and 160,000.

Regarding crystal formation activity, PS-2① promoted crystal formation at high sugar concentrations and inhibited crystal formation at low concentrations, while PS-2④ promoted crystal formation regardless of sugar concentration.

Compositional analysis of PS-2①~⑤ by IR spectrum and ABEE suggested that the peak intensities attributed to the functional groups and the composition ratios of the sugars were different.

The results from substructural analyses showed that PS-2 comprises a series of uronic acids. It was also inferred that the structure of B is formed by specific or random cleavage and oxidation between the 2- and 3-positions of uronic acid. Combined with the results for crystal

formation activity, this suggests that the high B content, i.e., the increased carboxy groups, may inhibit the formation of calcium carbonate crystals.

魚類における主要な心臓転写因子の比較解析（和題）

Comparative analysis of main cardiac transcription factors in fish（英題）

研究代表者 浅香 力哉(東洋大学大学院生命科学研究科生命科学専攻)

指導教員 小柴 和子

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年2月15日

II) キーワード/①心臓発生メカニズム

②HAND

③フグ

④nkx2.5

⑤tbx5

III) 2023年度交付額/ 560000 円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

動物学会第76回関東支部大会

V) 研究経過および成果の概要（日本語 2000字程度）

1. イントロダクション

心臓発生には心臓転写因子群の正しい発現とほたらきが重要であり、そのひとつである *Hand* はマウスの実験において欠損することにより左右心室の形成異常を引き起こすことが報告されている。多くの動物は *Hand1* と *Hand2* のふたつを有するが、魚類であるゼブラフィッシュには *hand2* しか存在しないことが知られている。しかし魚類の中でも *hand2* しかもたないのはゼブラフィッシュ特有の事象であり、メダカやトゲウオなどの多くの魚類では哺乳類と同様に *hand1* と *hand2* の両方を有する。さらにフグは反対に *hand1* しかもたないことが報告された。また、フグの *hand1* はゼブラフィッシュ *hand2* とは異なり心筒に発現しないことや、機能阻害した場合でも正常な形状の心臓が形成された。このことからフグは *hand1* を必要としない特殊な心臓発生メカニズムを有することが考えられた。本研究ではフグの心臓発生メカニズムについて *hand1* 以外の主要心臓転写因子である *nkx2.5*、*tbx5* にも着目し、それらの発現様式や機能阻害の影響をゼブラフィッシュと比較することで、これまで知られてきた心臓発生メカニズムとの違いを調べることを目的として研究を行った。また、フグの *hand1* について機能阻害実験だけでは *hand1* の機能を完全に除去するには不十分であると考えて、機能欠損実験を行った。

2. 研究方法

心筒形成前の *segmentation stage* と心筒形成後である *high-pec stage* のフグに対し、*nkx2.5*、*nkx2.5-like*、*tbx5a*、*tbx5b* のプローブを用いた *in situ hybridization* を行うことで、発現様式を調べた。さらにクサフグの1細胞期の受精卵に対して、*nkx2.5*、*tbx5b* のアンチセンスモルフォリノオリゴをインジェクションすることで *nkx2.5* の機能を阻害した *nkx2.5MO* 胚と *tbx5b* の機能を阻害した *tbx5bMO* 胚を作出した。それぞれに対して心筋マーカーである *cmlc2* をプローブとした *in situ hybridization* を行い心臓の可視化をすることで心臓の形状への影響を調べた。また、トラフグの *hand1* の配列を参考にして *gRNA* を作製し、クサフグの1細胞期の受精卵に対して、*Cas9* 酵素とともにインジェクションすることで *hand1* のコード配列に変異が生じた *hand1* 機能欠損胚を作出し、心臓を可視化することで心臓の形状への影響を調べた。

3. 研究経過および成果の概要

フグの *nxk2.5* と *nxk2.5-like*、*tbx5a* はいずれも心臓前駆細胞を含む前方側板中胚葉に発現し、発生が進むと心筒における発現が確認できた。*tbx5b* については側板中胚葉全体に発現した後、心筒で発現することが確認された。ゼブラフィッシュの *nxk2.5*、*tbx5a*、*tbx5b* はいずれもフグと同様の発現様式を示すことが報告されており、フグとゼブラフィッシュの間でこれらの発現様式は類似していることが考えられた。機能阻害実験では *nxk2.5*MO 胚、*tbx5b*MO 胚のどちらについてもコントロールと比較して細長い心臓が形成された。ゼブラフィッシュにおいてもそれぞれを機能阻害することでルーピング異常が生じ、長細い形状の心臓が形成されることが報告されているため、発現様式と機能阻害実験のふたつの結果から、フグの心臓発生メカニズムにおいてもゼブラフィッシュと比べて *nxk2.5* と *tbx5* のはたらきに違いはないことが考えられた。

フグ *hand1* 機能欠損胚については T7 Endonuclease 1 assay を用いて変異導入の確認を行った後、抽出したゲノムをシーケンスにより解析することで変異について詳細に確認を行った。その結果ホモで変異が導入されていた個体についても野生型と比較して心臓の形状に異常が確認されなかったことから、フグ *hand1* 機能欠損胚においても正常な形状の心臓が形成されることが明らかになった。これらのことからフグの心臓発生メカニズムは *hand1* の機能が異なるが、それ以外の主要心臓転写因子についてはこれまで報告されてきた心臓発生メカニズムと変わらないことが予想された。

4. 今後の研究における課題または問題点

本研究によりフグ *hand1* は他の動物とは違う機能をもつことが考えられたが、今後はどのような点で異なるのかについて詳細に調べることを考えている。具体的にはマウスやゼブラフィッシュの *Hand* と比較しながら転写活性やパートナー因子について調べることで転写因子としての違いについて明らかにしていきたい。また、*hand1* の機能阻や機能欠損による影響についてもより詳細に調べる必要があると考えており、本研究では発生中に心臓を染色することによる、形状の確認を行ったが、今後は内部構造への影響や、異なる発生段階での影響についても調べていく必要があると考えている。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

The precise timing and location of key transcription factors in the heart are critical for cardiac development. Research using various model organisms has shown that the functions of key transcription factors in cardiac development are conserved from invertebrates to vertebrates. There are two types of *Hand*: *Hand1* and *Hand2*. *Hand1* contributes to the left ventricle, while *Hand2* contributes to the formation of the right ventricle. Most vertebrates have both *Hand1* and *Hand2*, but the zebrafish, a common model organism, has only *Hand2*. However, genomic analysis of fish has revealed that many fish species other than zebrafish have both *hand1* and *hand2*, indicating ongoing hand diversification among fish species. In contrast, the pufferfish possesses only *hand1*. In a previous study by our group, we compared the expression patterns and functions of zebrafish *hand2*, pufferfish *hand1*, medaka *hand1*, and *hand2* to investigate hand gene diversification among fish species. We analyzed the expression patterns and functions of zebrafish *hand2*, pufferfish *hand1*, medaka *hand1*, and *hand2*. As a result, we discovered that the zebrafish and medaka *hand* genes are consistently expressed from the cardiac projection region to after the formation of the heart tube. In contrast, the expression of pufferfish *hand1* decrease after the formation of the heart tube, yet heart formation advances normally even when

pufferfish *hand1* is functionally inhibited. These findings propose two potential mechanisms for pufferfish cardiac development: either *hand1* functions in isolation, or the cardiac development mechanism, inclusive of transcription factors beyond *hand*, is specialized. Nonetheless, we cannot dismiss the possibility that functional inhibition by morpholino oligos (MO) might lead to off-target recognition of sequences other than the target sequence, or that the knockdown efficiency might be insufficient. Hence, our study aimed to authenticate the pufferfish cardiac development mechanism through a more dependable analysis of pufferfish *hand1* using CRISPR/Cas9 knockout technology. Additionally, we examined the expression and function of major cardiac transcription factors, apart from *hand*, crucial for heart formation in vertebrates. Notably, the expression of *nkx2.5* and *tbx5*, considered pivotal cardiac transcription factors, persisted from the cardiac projection region to post-heart tube formation, contrasting *hand1* expression. Notably, these patterns closely resembled those observed in zebrafish. The heart shape abnormalities observed in both cases suggest that *nkx2.5* and *tbx5* play crucial roles in pufferfish heart development, similar to other vertebrates. Conversely, the absence of cardiac morphogenesis abnormalities in the pufferfish *hand1* knockout experiment, like the MO-induced functional inhibition experiment, indicates that *hand1* does not significantly contribute to pufferfish cardiac development. These findings imply a unique aspect of pufferfish cardiac development, where the essential role of key cardiac transcription factors remains conserved while *hand1* involvement differs from other vertebrates.

後肢加重低減ラットにおける大腿骨の骨量維持に有効な通電刺激条件の検討

Investigation of Current Stimulation Conditions Effective in Maintaining Bone Mass of the Femur in Rats with Reduced Hindlimb Loading

研究代表者 南園 航 (ライフデザイン学研究科ヒューマンライフ学専攻博士後期課程)
指導教員 大迫 正文

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年2月15日

II) キーワード/① VP通電刺激 VP stimulation

② 骨密度 bone density

③ 後肢懸垂 Hindlimb suspension

④ 破骨細胞 osteoclast

⑤ 荷重低減 Load Reduction

III) 2023年度交付額/560,000 円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

1) Minamizono W, Zeng X, Suito H, Yashima N, Ohsako M, Influences of electrical stimulation at different times on femoral bone loss in hindlimb-suspended rats, European College of Sport Science 27th Anniversary Congress, Sep.2022, paris

2) 南園 航、八嶋 奈央、徐 思琴、水藤 飛来、大迫 正文、異なる電流の非接触性通電刺激が加重低減下におけるラット大腿骨に及ぼす影響、日本骨代謝学会 41 回、2023 年 7 月、東京

3) 南園 航、水藤飛来、八嶋奈央、松永拓也、中井真悟、大迫正文、後肢加重低減ラットにおける大腿骨の構造に及ぼす高周波数の通電刺激の効果、第 32 回日本柔道整復接骨医学会、2023 年 12 月 3 日、愛知

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000 字程度)

1. イントロダクション

骨粗鬆症の患者数は、増加している (骨粗鬆症学会、2015)。骨粗鬆症の問題点は、骨密度の低下から、転倒や微細外力によって骨折が生じることが挙げられる。骨折をした場合、著しく QOL が低下することが報告されており、骨折を生じさせないためにも骨密度を高く維持することは、重要である。骨粗鬆症の治療としては、骨密度低下をいかに予防することが必要であり、骨粗鬆症の主たる治療法は、薬剤療法や運動療法の併用による方法が用いられている。しかし、薬剤には、長期服用による下顎骨の壊死、運動療法では、骨粗鬆症の患者は多くの人に関節疾患を有することから、運動療法は誰にでも実施が可能でないということが考えられる。そのような中、近年開発中の非接触性の通電装置ベクトルポテンシャル発生装置による通電効果は、骨密度を維持することが分かってきている。しかし、その至適な通電条件が明らかにされていない。現在、通電時間は 30 分/1 日、5 日/週、3 週間、電流は高い条件の方が骨密度を維持する効果を有することが分かっている。実用化に向けて装置の小型化が必要となってくるが、その小型化には通電刺激の周波数がかかわるとされる。そのため本研究では、異なる周波数 (2, 20, 200 および 650kHz) の通電刺激が、骨量維持に及ぼす影響について検討することを目的とする。

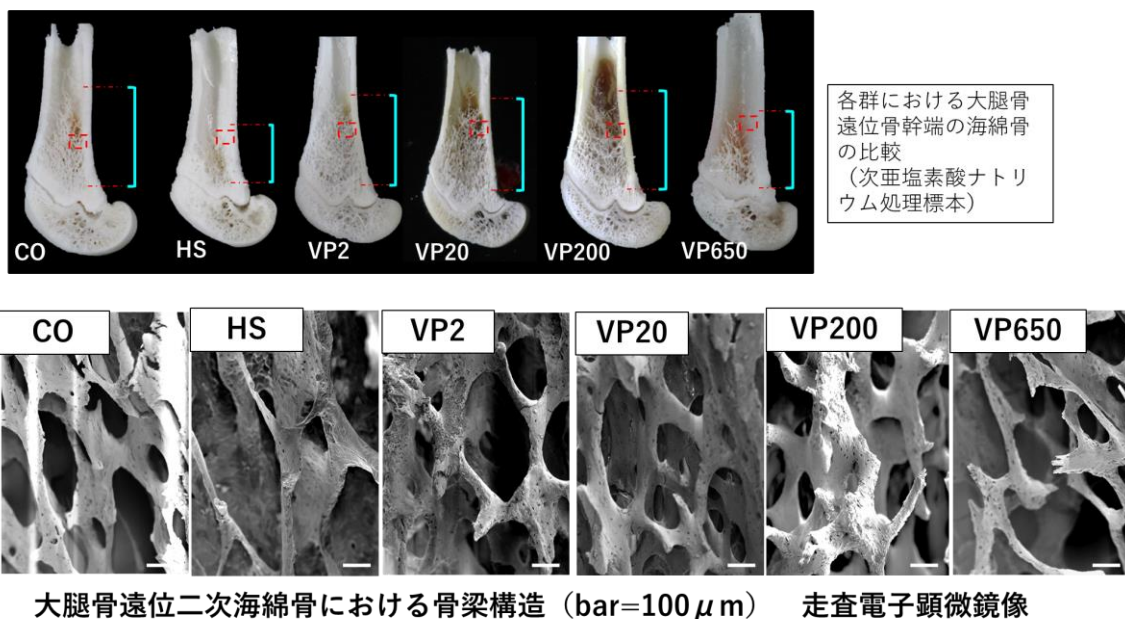
2. 研究方法

Wistar 系雄性ラットを材料とし、後肢懸垂群(HS)、後肢懸垂中の電流刺激群(VP)、ケージ内で通常飼育した対照群(CO)の3群に分類した。さらに、VPは周波数の違いによって2KHz(VP2)、20KHz(VP20)、200KHz(VP200)、650KHz(VP650)に分類した。VPには非接触性のVP通電刺激装置により、30分/日、5日/週、3週間通電した。刺激条件は直流、0.12mA、であった。実験期間終了後、動物は炭酸ガス吸入により安楽死させ、大腿骨を摘出した。種々の観察用標本を作製し、組織学および免疫組織学的に分析した。

3. 研究経過および成果の概要

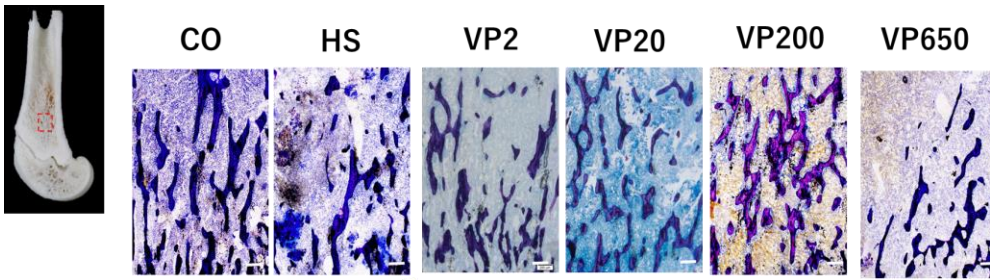
大腿骨遠位二次海綿骨の肉眼解剖標本を観察すると、COでは、太く、近遠心方向に骨梁が配向している。一方のHSでは、骨量が細く、近遠心方向に配向する骨梁が不均一であり、長さが短くなっていた。VPでは、VP200まで周波数が増加するごとに骨量構造が太く、近遠心方向に配向する骨梁構造は長く維持されている。しかし、VP650では、細い骨量構造を呈しており、近遠心方向に配向する骨梁構造は、短く、HSに類似した骨量構造を示していた。

肉眼解剖標本を走査電子顕微鏡にて拡大して大腿骨二次海綿骨を観察すると、COに比べてHSでは骨量構造が細く観察され、VPを照射すると周波数増加に伴い骨量構造が太く観察されたが、VP650では、HSに類似した骨量構造が観察された。(図1)

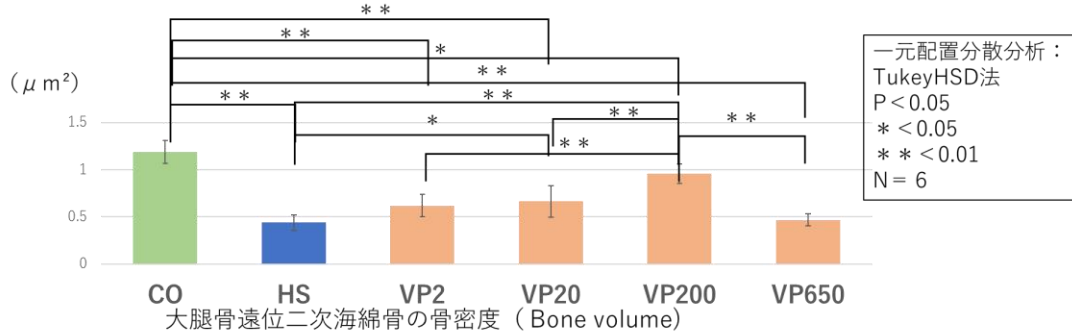


非脱灰樹脂研磨標本を光学顕微鏡にて拡大して観察すると、同様にCOで太い骨量構造を示し、HSで細い骨量構造を示した。一方のVPでは周波数が増加するごとに骨量構造が太くなり、VP200で最も骨量が太く観察された。しかし、VP650では骨量構造が細く、HSに類似した骨量構造を示した。

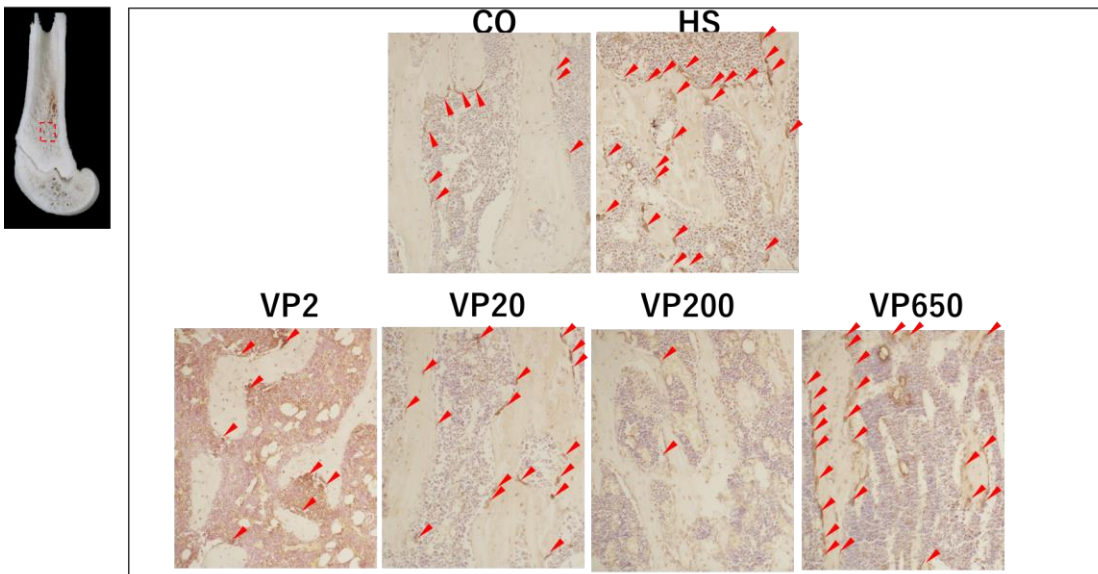
大腿骨の二次海綿骨を骨形態計測にて計測すると、COが最も骨密度が高く、HSで最も低い値を示した。VPでは周波数が増加するごとに骨量構造が増加し、VP200で最も高い骨量構造を示した。しかし、VP650はHSと同様な値を示した。(図2)



非脱灰樹脂研磨標にトルイジンプールー染色を施した大腿骨二次海綿骨 (bar=500 μ m)



大腿骨二次海綿骨にあるカテプシン k の免疫局在を観察すると HS で最も骨表面にカテプシン k 陽性部位が観察された。VP では、周波数が増加するごとに陽性部位が減少し、VP200 で最も陽性部位が減少して観察された。しかし、VP650 では、HS と類似した反応を示した。



大腿骨遠位二次海綿骨におけるカテプシンK陽性細胞の局在と密度 (bar=200 μ m)
対比染色:マイヤーヘマトキシリン染色
赤矢頭:カテプシン陽性部位

2、20 および 200kHz の VP の骨量は HS より有意に高く、その順に骨量が上昇したが、650kHz では逆に骨量の低下が認められた。このことから、骨量のピークは 200~650kHz の範囲内であることが推測された。

4. 今後の研究における課題または問題点

200kHz においても CO に比べれば骨量が有意に低値を示し、正常レベル近くまでも達していない。そのため、より有効な条件を導くためには、200~650kHz の範囲の VP 実験によって骨量のピークを示す条件を求めることが今後の課題として残された。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

The energizing effect of vector potential generators, which have been under development in recent years, has been shown to maintain bone density. However, the optimum energizing conditions have not been clarified. Current energization conditions are 30 minutes/day, 5 days/week, and 3 weeks, and higher current conditions have been found to be more effective in maintaining bone density. The device needs to be miniaturized for practical use, and the frequency of the energizing stimulus is involved in the miniaturization of the device. Therefore, the purpose of this study is to investigate the effects of current stimulation at different frequencies (2, 20, 200 and 650 kHz) on bone mass maintenance. Male Wistar rats were used as material and classified into three groups a hindlimb suspension group (HS), a current stimulation group during hindlimb suspension (VP), and a control group kept normally in a cage (CO). Furthermore, VP was classified according to frequency into 2KHz (VP2), 20KHz (VP20), 200KHz (VP200), and 650KHz (VP650). The VP was energized by a non-contact VP stimulator for 30 min/day, 5 days/week, for 3 weeks. The energizing stimulus condition was direct current, 0.12 mA. At the end of the experimental period, the animals were euthanized by carbon dioxide inhalation and the femurs were removed. Various observation specimens were prepared and analyzed histologically and immunohistologically. Bone mass of VP at 20 and 200 kHz was significantly higher than that of HS, and bone mass increased in the order of increasing frequency, while a decrease in bone mass was observed at 650 kHz, on the contrary. From this, it was inferred that the peak bone mass was in the range of 200-650 kHz. Even at 200 kHz, bone mass is significantly lower than CO and does not even reach near normal levels. Therefore, in order to derive more effective conditions, it remains as a future task to find conditions that show peak bone mass by VP experiments in the range of 200-650 kHz.

非接触性通電刺激による新たな骨折治療法の開発

Development of a new fracture therapy method using non-contact current stimulation

研究代表者 八嶋 奈央 (健康スポーツ科学研究科 健康スポーツ科学専攻)
指導教員 大迫 正文

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年2月15日

II) キーワード/① 骨修復
② 骨形成
③ 骨基質
④ コラーゲン
⑤ 石灰化

III) 2023年度交付額/630,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表
(学術論文)

1. Yashima N, et al., Electrical stimulation by vector potential improves bone mass and quality in rats and promotes bone repair. 2023 (Journal of Orthopaedic Research に投稿中)
(学会発表)
2. 八嶋奈央, 他: 非接触性通電刺激が下肢骨骨折モデルラットの骨癒合に及ぼす影響. 第41回日本骨代謝学会学術集会, 東京, 2023年7月.

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

超高齢社会を迎えている我が国において、健康寿命（平均寿命から寝たきりや認知症などによる要介護の期間を差引いた期間）の延伸は、重要な課題である。要介護に陥る主な要因の一つである転倒・骨折は、加齢に伴う骨粗鬆症と密接に関係している。骨粗鬆症が原因で引き起こされる骨折のことを脆弱性骨折と呼び、その代表的な疾患である大腿骨近位部骨折（脚の付け根の骨折）は、今後患者数が著しく増加していくことが確実視されている。脆弱性骨折は、短期間の内に次の骨折を連鎖的に繰り返す二次骨折に繋がる可能性があるため（Klotzbuecher et al. 2010）、要介護に至るリスクを高める要因の一つとして問題視されている。そのため、健康寿命を延ばすためには、骨折後に適切かつ効果的な治療を行い、二次骨折を予防することが重要となる。現在、骨折の治療法としては、ギブスを用いた患部固定に加え、低出力超音波パルスによる物理療法が主に用いられている（Lutz et al. 2007）。しかし、本治療時には、超音波振動を発生するアプリケータ（振動子）を患部に接触させる必要があるため、ギブスを破壊しなければならない。治療は、通常週に3~7回の高頻度で行われるため、治療の度にギブスの破壊と交換を繰り返さなければならず、患者にとっては大きな負担となっている。また、骨折の治癒過程の初期は、骨の修復が幼若で強度の極めて低い骨のみで行われるため、ギブス固定からの開放がたとえ短時間であったとしても、骨治癒の遅延を招く可能性がある。従って、ギブス固定をしたまま患部への物理的治療を行うことが可能になれ

ば、骨折の治療期間を短縮（治癒を促進）することができ、二次骨折の予防に繋がる可能性があると考えられる。現在開発中の段階にあるベクトルポテンシャル（Vector Potential：VP）発生装置は、装置内に電場を発生させることにより、非接触で患部に通電刺激を与えることが可能といった特徴を持つ。近年、申請者らは、後肢懸垂により骨量減少を誘発させたラットに、VP発生装置を用いて非接触で下肢に通電刺激を与えたところ、骨量の減少が抑制されたことを明らかにしてきた。この結果は、VP発生装置による非接触性の通電刺激が、骨折の治癒促進に繋がる可能性があることを示唆している。しかし、骨折治療に対してVP発生装置を用いた研究はなく、その効果に関してはこれまで全く明らかにされていない。従って本研究では、骨折に対するVP発生装置の治療効果を検討することを目的とする。

2. 研究方法

対象は、7週齢のWistar系雄性ラットとした。全てのラットは、実験開始前に、骨折をシミュレートして脛骨に外科的に骨損傷を作製する骨折モデルとした。骨折モデルは、無作為にVP発生装置を用いて通電刺激を施す群（VP群）、施さない群（CO群）に分類した。VP群には、イソフルラン吸引による麻酔下で通電刺激を行った。各群の実験期間は2週間とした。実験期間終了後、各群からは脛骨を摘出して各種組織学および生化学的に評価し、各群における骨損傷後の治癒の程度を比較検討した。

3. 研究経過および成果の概要

両群とも骨損傷部位に新生骨が形成されたが、骨量はCOよりVPの方が有意（ $P < 0.05$ ）に多かった。トルイジンブルー染色により、VPの骨基質ではCOよりも弱いメタクロマジーが示された。石灰化抑制に関与する無定形基質の一つであるBiglycanは、VPの骨基質で減少した。μCTを用いた骨塩量分析の結果、VPの新生骨の骨塩量はCOのそれよりも有意（ $P < 0.05$ ）に高かった。これらの結果は、VPの新生骨はCOのそれよりも石灰化していることを示唆している。ポリクローム染色により、VPの骨基質はCOのそれよりもコラーゲン線維が緻密であることが示唆された。両群の骨基質にはI型およびIII型コラーゲンが確認されたが、VPの骨基質ではCOと比較してIII型コラーゲンが減少し、I型コラーゲンが増加していた。このことは、VPの新生骨のコラーゲン組成がCOのそれよりも正常な骨組織に近いことを示唆している。骨形成マーカーであるオステオカルシンとTNAPは、COと比較してVPで有意に（ $P < 0.05$ ）陽性反応を示した。BglapとAlplの遺伝子発現レベルは、COと比較してVPで有意に（ $P < 0.05$ ）高かった。これらの結果は、骨芽細胞による骨形成がCOよりもVPで促進される可能性を示した。したがって、VP通電は骨芽細胞を活性化し、骨形成を促進することにより骨治癒を促進する可能性が示唆された。

4. 今後の研究における課題または問題点

以上の研究結果は、VP通電が骨芽細胞の骨形成機能に影響を及ぼす可能性を示唆している。そこで、今後の研究課題として、VP通電が骨芽細胞の骨形成機能に及ぼす影響を検討する。具体的には、VP通電を受けた骨芽細胞において、形態、細胞内小器官、Wnt/ β -カテニンシグナル、細胞内カルシウム濃度がどのように変化するか注目する。

VI) Summary（英語 400単語程度）

In Japan, where extending healthy life expectancy is an important issue, there is an urgent need to develop effective treatment methods that can shorten the duration of fracture treatment. Recently, a novel device called Vector Potential (VP) has been developed that

enables non-contact energization. This device is currently expected to have various effects on living organisms. Therefore, the reporter focused on the possibility of the VP generator, which enables non-contact energization, as a novel fracture treatment device. New bone was formed at the site of bone injury in both groups, but bone volume was significantly ($P < 0.05$) greater in VP than in CO. Toluidine blue staining showed weaker metachromasia in the bone matrix of VP than in CO. Biglycan, one of the amorphous substrates involved in calcification inhibition, was decreased in the bone matrix of VP. bone mineral content analysis using μ CT showed that the bone mineral content of newborn bone in VP was significantly ($P < 0.05$) higher than that in CO. These results suggest that the new bone of VP is more calcified than that of CO. Polychrome staining suggested that the bone matrix of VP had denser collagen fibers than that of CO. Type I and type III collagen were identified in the bone matrix of both groups, but type III collagen was decreased and type I collagen was increased in the VP bone matrix compared to CO. This suggests that the collagen composition of new bone in VP is more similar to normal bone tissue than that of CO. The osteogenic markers osteocalcin and TNAP showed significantly ($P < 0.05$) positive responses in VP compared to CO; gene expression levels of *Bglap* and *Alpl* were significantly ($P < 0.05$) higher in VP compared to CO. These results indicated that bone formation by osteoblasts may be enhanced in VP rather than CO. Therefore, it was suggested that VP energization may promote bone healing by activating osteoblasts and enhancing bone formation. The results of the above studies suggest that VP energization may affect the osteogenic function of osteoblasts. Therefore, as a future research topic, we will examine the effects of VP energization on the osteogenic function of osteoblasts. Specifically, we will focus on how morphology, intracellular organelles, Wnt/ β -catenin signaling, and intracellular calcium concentration are altered in osteoblasts exposed to VP.

卵巣摘出に伴うラット脛骨の骨構造の変化と貧血と関連性に関する研究
—貧血による骨粗鬆症の早期発見ツールの提案に向けて—
(和題)

Study on Anemia and Bone Structural Changes after Tibial Ovariectomy in Rats
-Toward the proposal of a tool for early detection of osteoporosis due to anemia-
(英題)

研究代表者 徐 思琴

(ライフデザイン学研究所 健康スポーツ学専攻 修士課程)

指導教員 大迫 正文

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年2月15日

II) キーワード/①卵巣摘出 Ovariectomy

②脛骨 Tibia

③脂肪細胞 Adipocyte

④骨粗鬆症 Osteoporosis

⑤貧血 Anaemia

III) 2023年度交付額/ 560,000 円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

- ・Scopus系国際雑誌に投稿予定
- ・第42回日本骨代謝学会(2024)に発表予定

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

超高齢社会に突入した日本では、要介護者数の増加が医療財政の圧迫する大きな社会問題となっている。要介護状態に至る要因としては、「転倒・骨折」がある(鈴川芽久美, 2009)。さらに、重篤な後遺障害を惹起する大腿骨近位部骨折は、転倒による骨折の約25%に相当し(Tinetti ME, 1989, Nevitt MC, 1989)、患者数は今後もますます上昇傾向を示すとされている。このような転倒により生じる骨折には、骨粗鬆症が密接に関係している。骨粗鬆症は閉経後の女性に多くみられ、女性ホルモンの減少や加齢に伴って、疾病リスクが高まる。転倒による骨折リスクを軽減し、要介護者数を減少させるためには、骨粗鬆症の早期発見および予防が重要な鍵となる。

一方、骨粗鬆症患者は貧血傾向を示すことが知られている(Baldanzi, 2011)。貧血とは、全身への酸素供給を担うヘモグロビン(Hb)の血中濃度が低下した状態のことである(Cappellini, M, 2015)。また、骨には全身への血液供給源としての造血機能があり、それは主に骨髄内の造血幹細胞(HSC)が担う。以前より加齢や疾患依存した骨髄の脂肪変性はHSCの減少と関連する(高崎, 1999)(Y Xu, 2009)。その減少は造血機能の低下に繋がり、血中Hb濃度の低下させる(WW Pang, 2011)。すなわち、骨髄の脂肪変性は、HSCの減少および血中Hb濃度の低下に関連し、貧血を誘発することが推定される。閉経後の骨粗鬆症状態を想定した卵巣摘出マウス(OVX)では、骨量の減少に加えて、骨髄の脂肪化を特徴とする(Chen et al, 2014)(Li, J. et al, 2024)。このことは、骨粗鬆症に伴う骨髄の脂肪化が貧血を誘発する可能性を示唆される。貧血が骨粗鬆症に伴って誘発されることが科学的に明らかとなれば、貧血が骨粗鬆症の発症を示す一つの指標となり、貧血の診断をもとに骨粗鬆症を早期に発見し予防することが可能になる可能性がある。しかし、骨粗鬆症が骨髄の脂肪化によると貧血を誘発するか否かについては明らかにされていない。本研究は卵巣摘出によって閉経後骨粗鬆症をシミュレートしたラットを用い、

その後肢骨の構造と貧血の可能性について、組織学的および生化学的手法をもとに明らかにすることを目的とした。

2. 研究方法

(予備実験)

予備実験では、卵巣摘出により、閉経後骨粗鬆症モデルラットを作製した(Nasibeh. et al, 2020)。6週齢のWistar系雌性ラット6頭を実験材料とした。ラットには三種混合麻酔薬を施し、深麻酔下において、腹部全体に消毒を施した。腹部の皮膚および皮下の軟部組織を切開後、綿棒を用いて露出した脂肪組織を掻き分け、卵巣を摘出した。最後に、縫合糸を用いて閉腹し、術部に抗生剤を散布した。ラットは、術後3週間後に脛骨および血液をサンプリングして、組織学的および生化学的に分析した。

(本実験)

本実験では閉経後骨粗鬆症モデルラットにおいて、骨粗鬆症に伴う貧血の可能性を組織学的および生化学的に検討した。6週齢のWistar系雌性ラット12頭を実験材料とした。それらを実験的に卵巣摘出群(OVX)、偽卵巣摘出群(Sham)に分類した。実験期間は3週間とした。実験期間終了後脛骨および血液を採取し、組織学的および生化学的に分析した。

3. 研究経過および成果の概要

(本実験結果および考察)

3週間の実験期間が終了後、2群は体重が増加していたのに対し、OVXでは有意に($p < 0.05$)体重が重かった。海綿骨の骨密度はOVXがShamよりも有意に($p < 0.05$)低かった。脂肪細胞数およびサイズはOVXとShamの間には有意な差が見られなかった(図1)。卵巣摘出後、ラットの血清17 β エストラジオールの結果は、OVXの血清17 β エストラジオールの濃度は、Shamに比べて低かった。脛骨の脱灰パラフィン切片に造血幹細胞および造血前駆細胞のマーカーであるCD34(Ryosuke. K. et al, 2014)の蛍光免疫染色を施して観察すると、ShamではCD34は赤い点状に染色され、骨髓腔全体に反応が見られたのに対し、OVXでは陽性反応が現れたが、Shamより弱かった(図2)。

以上の結果から、OVXにおける卵巣摘出してもエストロゲン分泌の有意な減少は認められなかった。しかし、わずかなエストロゲン減少であっても、OVXによる海綿骨の構造変化、すなわち骨密度の低下と関連していた。脂肪細胞の数およびサイズはOVXにより増加傾向を示した。このことは、エストロゲンのわずかな減少が骨髓の脂肪形成に影響を及ぼす可能性があり、CD34の陽性反応もOVXではShamよりも造血幹細胞に影響を及ぼす可能性が示唆された。

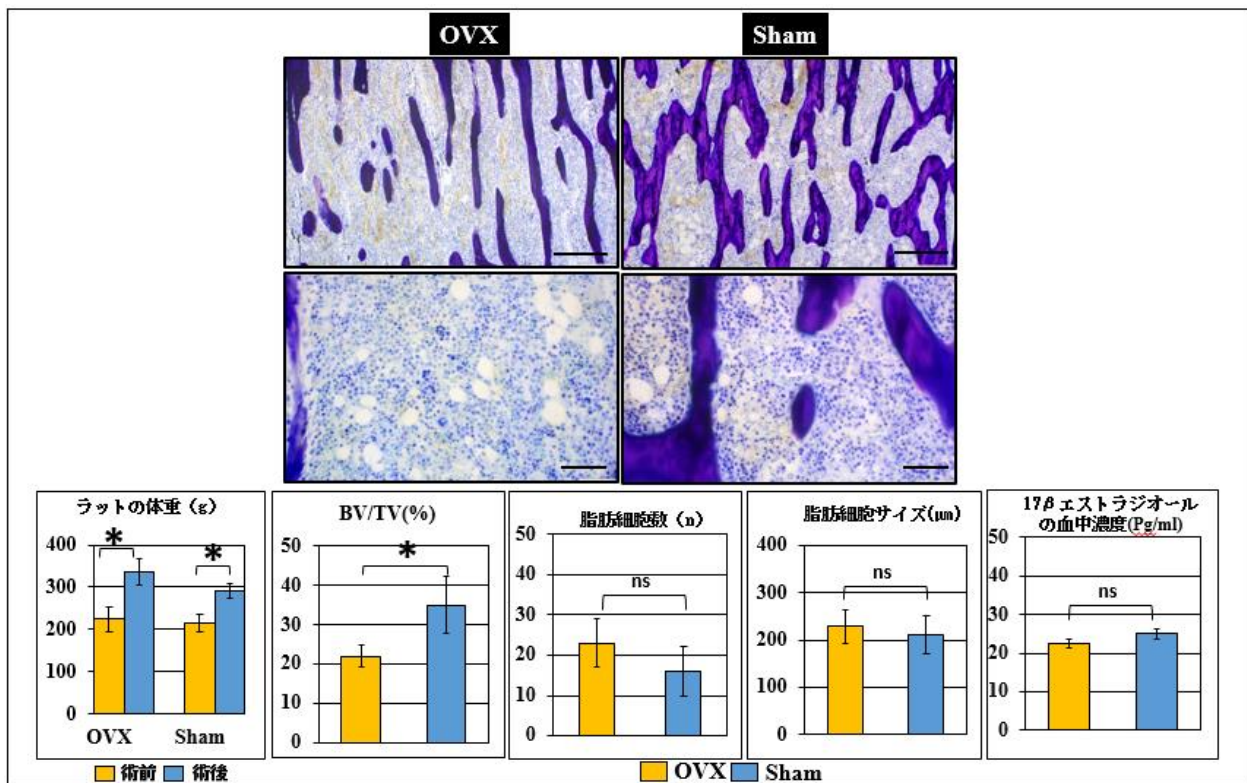


図 1. 各群における脛骨の海綿骨の構造変化
(非脱灰リゴラック樹脂包埋矢状研磨標本, Toluidineblue bar=100μm)

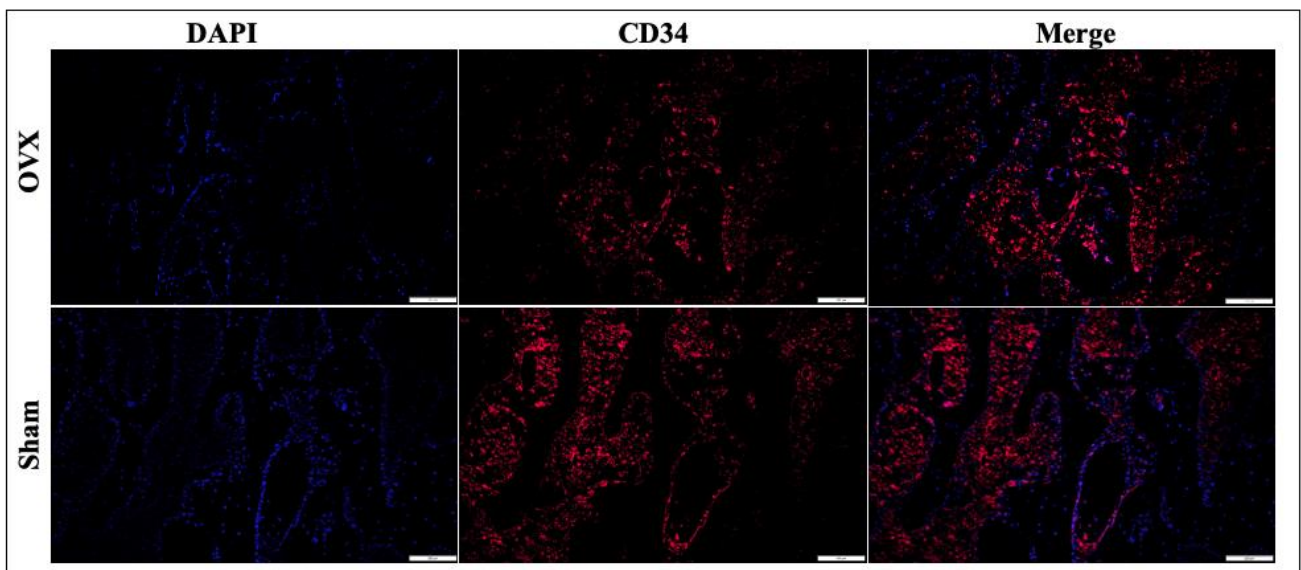


図 2. 各群における脛骨の海綿骨における CD34 の比較
(非脱灰リゴラック樹脂包埋矢状研磨標本, Toluidineblue bar=100μm)

4. 今後の研究における課題または問題点

本研究にはいくつかの限界があった。第一に、本研究はラットの骨を実験材料として用いたものである。ヒトとラットでは骨格の形成に様々な違いがあることから、本研究の結果をそのままヒトに当てはめて考えるのには留意が必要になる。実際に、卵巣摘出ラットでは骨髓腔の骨構造に変化が見られたが、

女性ホルモンの量に有意な低下が認められず、これはラットの週齢や実験期間が検討することも含めて今後明らかにすべき課題として残された。また、貧血は骨粗鬆症の早期発見ツールとして仮定が立てられ、脂肪細胞の関与が検討されていたが、貧血には他にも多様な因子が関与している。したがって、今後の研究では、骨粗鬆症と貧血に関与する多様な因子にも焦点を当てるべきである。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

The purpose of this study was to determine, based on histological and biochemical techniques, the structure of the hindlimb bone and the possibility of anemia in rats simulating postmenopausal osteoporosis by ovariectomy. Twelve 6-week-old female Wistar rats were used as experimental material. They were randomly classified into ovariectomized (OVX) and sham ovariectomized (Sham) groups. The experimental period was 3 weeks. At the end of the experimental period, tibia and blood samples were collected and analyzed histologically and biochemically; at the end of the 3-week experimental period, the two groups were significantly ($p < 0.05$) heavier in the OVX, whereas they had gained body weight. Bone density of trabecular bone was significantly ($p < 0.05$) lower in OVX than in Sham. There was no significant difference in adipocyte count and size between OVX and Sham. After ovariectomy, the results of serum 17β estradiol in rats showed that the concentration of serum 17β estradiol in OVX was lower than in Sham. When demineralized paraffin sections of the tibia were observed with fluorescent immunostaining for CD34, a marker of hematopoietic stem and progenitor cells, CD34 stained as red dots in Sham, and the entire bone marrow cavity was reactive, whereas a positive reaction appeared in OVX, but was weaker than in Sham. These results indicate that ovariectomy in OVX did not result in a significant decrease in estrogen secretion. However, even a slight decrease in estrogen was associated with OVX-induced structural changes in trabecular bone, i.e., decreased bone density. The number and size of adipocytes showed an increasing trend with OVX. This suggests that a slight decrease in estrogen may affect bone marrow adipogenesis and that positive CD34 responses may also affect HSCs more in OVX than in Sham. There were several limitations to this study. Ovariectomized rats showed changes in bone structure in the marrow cavity, but there was no significant decrease in the amount of female hormone, and this remains an issue to be clarified in the future, including consideration of the age of the rats in weeks and the duration of the experiment. In addition, anemia has been hypothesized as an early detection tool for osteoporosis, and the involvement of adipocytes has been investigated, but other diverse factors are involved in anemia. Therefore, future studies should also focus on the diverse factors involved in osteoporosis and anemia.

精神障害者家族の経験に関する研究

A Study of People with Mental Illness and Their Families' Experiences

研究代表者 丸山 恵理子(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 稲沢 公一

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年2月15日

II) キーワード/①精神障害

②セルフ・ヘルプ・グループ

③家族関係

III) 2023年度交付額/560,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

社会福祉学会関東部会への論文投稿(2024/3/31 予定)

V) 研究経過および成果の概要(日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

精神保健福祉領域においては、長らく支援の多くを家族が担ってきた。保護者制度などの政策上の要請や、精神疾患に対する差別や偏見が本人を含めた精神障害者家族(以下、本人家族とする)を孤立させ、外的支援資源を求めることを困難にさせてきた。現在においても精神障害者(以下、本人とする)の家族同居率は高く、家族関係が一定程度、本人および家族の回復に影響し得ると推察できる。このような本人家族に対して、癒しと学びの場として息づいてきたのが我が国のセルフ・ヘルプ・グループである。その活動の過程で、家族成員間の認識に影響を与えられ。

そこで、本研究は特に精神障害者本人からみた本人家族の関係に着目し、周囲からどのような影響を受け、認識の変化をもたらしたのか。また、その変化が他の家族成員にどのような影響を与えたのかを明らかにすることを目的とする。家族間での認識が変化した背景を考察することは、本人、家族、双方の支援の糸口にもつながるため、実践上の意義があると考え。

2. 研究方法

精神障害者本人へ自身が発病してから現在に至るまでの経験と特に家族に対する意識、今後の目標を聞き取る半構造化インタビューを実施した。インタビュー時間は104分から150分で、総平均時間は100分程度である。

研究の対象は、1時間半程度のインタビューが可能な状態である者として、精神障害当事者会2団体へ協力者を依頼し、10名の協力を得た。その内、定期的に当事者会に参加している精神障害者3名を分析の対象とした。

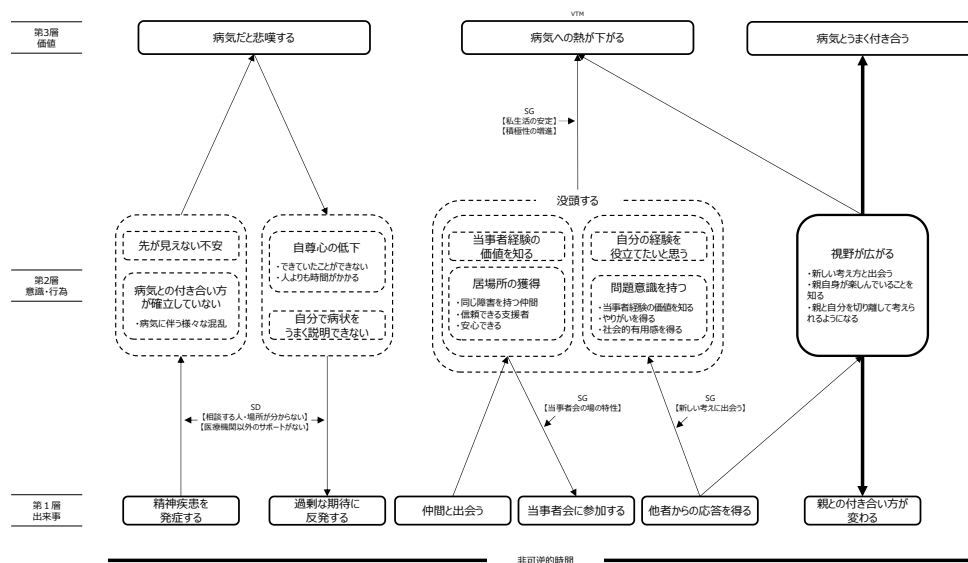
3. 研究経過および成果の概要

インタビュー調査は2023年5月より順次実施した。インタビュー内で使用する文言などについては、調査対象者ではない精神障害者本人にご協力をいただき、事前にプレ調査を行い、修正の上実施した。

分析は、複線経路等至性アプローチ(Trajectory Equifinality Approach: TEA)を用いた。精神疾患

発症から現在に至るまでの時間的経過において、これまでの精神障害者本人がどのような経験をしたのかをモデルとして描き、そこにはどのような変容があったのかを明らかにする方法として TEA が適切であるため、採用した。また、分析の妥当性・信頼性を担保するために質的研究に熟知した研究者から複数回のスーパービジョンを受け、実施した。

本調査では、当事者会という居場所ができ、新しい考えと出会い、視野が広がったことで、自分と親を切り離して考えられるようになったという語りを得た。このような体験が本人を当事者活動に熱中させ、精神疾患になったという悲嘆感情から遠ざけることが示唆された。また、自分が精神疾患になったことによって親へ罪悪感をいだいていたが、親が趣味に興じているなど、親自身の人生を謳歌している姿を知ったことで、罪悪感が軽減し、自身の人生に対する肯定的な姿勢を示していた。これらのインタビュー調査から、同じ経験をした仲間や支援者などが定期的に集まり、自らの経験を語る SHG は、信頼できる仲間を得、安心して経験を語ることのできる「場」として機能していた。また、経験を語ることから得た他者からの応答によって、自分では思いもしなかった新しい価値観に触れ、これまでの価値規範にゆらぎが生じる契機となっていた。このような中でも SHG で学び合うことによって、これまで抱えてきた精神疾患を取り巻く価値規範に転換が起こり、精神疾患や家族成員への認識の変化につながり、それを語ることで新たなゆらぎを獲得する。このようなゆらぐことができる力の醸成が、精神疾患に向き合う本人、家族としてのとしての成熟であり、同じ経験をした仲間の役に立ちたいという思いを駆り立て、当事者経験の価値を自覚し、経験を語る。これに他者から反応が返されることによって自尊感情の回復や社会問題としての意識が芽生え、SHG 活動へと熱中させることが示唆された。



4. 今後の研究における課題または問題点

今回は、3名を対象としたインタビュー調査から分析を行った。このため、得られた結果が他の当事者会に参加する精神障害者にも当てはまるものかという点について、課題が残った。本調査から得られた結果を一般化するために、質問紙による追加調査の必要がある。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

In general, people with mental illness and their families are said to be at odds. Therefore, this

study focused specifically on family relationships from the perspective of people with mental illness, examining how they are influenced by their environment and how they have changed their perceptions. And, clarify how the change in perception has affected other family members.

The study target was three people with mental illness who regularly attend SHGs. The following three questions were asked of people with mental illness. First, their experiences from the onset of their illness to the present. Second, their perceptions of the family. And finally, their future goals. These interviews were conducted several times. The Trajectory Equifinality Approach (TEA) was used to analyze the interview data.

This study revealed that the SHG is a "place" for people with mental illness to have trusted peers and to feel relieved to talk about their experiences. They interact with their peers and encounter new values through their participation in SHGs. As a result, they were experiencing a transformation of value, and then a transformation of value changed their perceptions of mental illness and family members.

In this study, the analysis was based on interviews with 3 people. Therefore, the question remained as to whether the results obtained would be applicable to people with mental illness participating in other SHGs. Further research is needed to generalize the findings of this study.

幸福メカニズムの検討：所属欲求と食欲の関係

Mechanism of well-being: Need to belong and appetite

研究代表者 金子 迪大(校友)

I) 研究期間／2023年4月1日～2024年2月15日

II) キーワード／①ウェルビーイング well-being

②幸せ happy

③所属欲求 need to belong

④孤独 lonely

⑤食欲 appetite

III) 2023年度交付額／ 630,000円

IV) 研究発表／学会および口頭発表

1. 金子迪大・上田祥行(2023). 対人葛藤が暴食に及ぼす影響 —特性所属欲求の調整効果に着目して—, 日本心理学会, 第87回大会, 神戸国際会議場・神戸国際展示場, 兵庫. 2D-004-PC. 2023.9.16.

2. 金子迪大 (2023). 二種類の好奇心とウェルビーイング, 第4回ポジティブ心理学研究会, 東京. 2023.12.10.

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

数千年の長きにわたり、人々は幸福を求めてきた。近代以前においては哲学者が、現代においては心理学者が幸福とは何か、どのようにすれば幸福になれるかを検討してきた。申請者はこれまで、幸福のダイナミズムに着目し、持続可能な幸福や(Kaneko, Ozaki, & Horike, 2018)、幸福の変動要因について快不快という幸福のシグナルに着目してきた(Kaneko, Goto, Ozaki, Kuraya, & Kutsuzawa, 2022)。しかし、幸福のメカニズムを理解するためにはシグナルそのものではなく、シグナルを発生させる要因に着目する必要がある。

本研究では、快不快の背後にある欲求について紐解くことで幸福のメカニズムに迫った。人類は進化のプロセスでいくつもの欲求を身に着けた。欲求とは、人類にとって必要な物が不足している時には不快信号を出して必要な物を獲得するように動機づけ、獲得に成功した時には快信号を出して獲得行動を持続させ、そして充足され切ると快信号を止めて探索行動などの別の行動を促すメカニズムである。このようなメカニズムとして、他者を求める所属欲求と食べ物を求める食欲などが存在する。所属欲求は、人類が群れで進化してきたために存在すると考えられており、食欲はエネルギー獲得のために存在すると考えられている。これらの欲求システムは快不快と密接にかかわっていることから、ウェルビーイングとの関係について検討した。

2. 研究方法

インターネット調査を用い、400人に対して調査を行った。この調査では、所属欲求として特性所属欲求尺度、食欲として暴食尺度を測定した。また、ウェルビーイングの指標として人生満足感と心理的ウェルビーイングを測定した。

3. 研究経過および成果の概要

現在分析が完了している範囲での成果概要を報告する。まず、所属欲求と食欲は正の相関を示した。このことは、両者の欲求は互いに関連している可能性を示唆するものである。

次に欲求とウェルビーイングの間の関係を分析した。所属欲求は人格的成長、積極的な他者関係と正の相関、人生における目的、自己受容、自律性とは負の相関をそれぞれ示し、人生満足感および環境制御力とは相関しなかった。一方、食欲は人生における目的、自己受容、自律性、環境制御力、積極的な他者関係と負の相関を示し、人生満足感と人格的成長とは相関しなかった。したがって、所属欲求および食欲は、快楽的なウェルビーイングとされる人生満足感との関係は観察されなかったものの、人間的善さを表すウェルビーイングとされる心理的ウェルビーイングの複数の要因との関連は観察された。

より詳細に結果を考察すると興味深いことが明らかとなる。所属欲求が高いことは積極的な他者関係を構築している原因となっている可能性があるとともに、人格的成長を促している可能性もある。これは、人格的に成長することで他者から受け入れられやすくなるからかもしれない。また、所属欲求が高いと人生における目的や自律性が低いのは他者のコントロールを受けてでも他者に受け入れられたいということを意味しているかもしれない、また自己受容が低いことは自分の長所や短所を受け入れるための基準が自己ではなく他者に存在してしまっているからかもしれない。

続いて食欲についてだが、本研究では食欲の測定に暴食傾向を用いた。この尺度は食べることを止められないという傾向を測定する尺度であるため病理的な側面を含み、ウェルビーイングと負の相関を示したのかもしれない。ただし、暴食傾向が人生満足感と相関せずに心理的ウェルビーイングの多くの下位尺度と相関したことは興味深い示唆を与える。つまり、人間らしく日々を送るための基本機能である各種要因とは暴食傾向が関連しているのであり、これは食欲という欲求が行動を制御しながら人々のウェルビーイングに影響を与えていることを示すものかもしれない。

4. 今後の研究における課題または問題点

本研究では欲求とウェルビーイングの関連を観察した。その結果、特に心理的ウェルビーイングとの関連が明らかになったが人生満足感との関連は観察されなかった。近年、心理的ウェルビーイングはユーダイモニックウェルビーイングと呼ばれ、人生満足感はヘドニックウェルビーイングと呼ばれるようになり、人としての善さと快楽的な善さという側面をそれぞれ強調している。しかし、より本質的な区別としては、ユーダイモニックウェルビーイングが日々生きる上で喜びをもたらすような善さを表しており人間の機能的側面に焦点を与えているのに対し、ヘドニックウェルビーイングはそのような機能が発現した結果に対して感情的、認知的に快不快を評価しているものであると考えられる。つまり、ユーダイモニックウェルビーイングの方が人類の生存戦略に有効な各種機能を担うという点で欲求と密接に関連し、ヘドニックウェルビーイングはあくまで事後的かつ全体的な評価に過ぎないということである。本研究からもこのことが示唆されたと言える。

これらの発見を受けて、今後の研究においては、より詳細に所属欲求や食欲と各種ウェルビーイングの関係を検討する必要がある。たとえば縦断調査や実験研究を用いることで因果メカニズムを推定することが挙げられる。また、所属欲求や食欲以外の欲求についても焦点を当てることで、ウェルビーイングと欲求の間のメカニズムを一層明らかに出来ることが期待される。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

This study explores the age-old quest for happiness, transitioning from philosophical inquiries in pre-modern times to psychological investigations in the contemporary era. The study at hand delves into the mechanisms of happiness by examining the underlying desires that prompt feelings of pleasure and discomfort, suggesting that understanding these desires is crucial for grasping the dynamics of happiness. It posits that human evolution has equipped us with various desires, such as the need for belonging and hunger, which are essential for survival and closely linked to our well-being.

Utilizing an internet survey conducted on 400 individuals, the research measures the need for belonging and appetite through specific scales and assesses these in relation to life satisfaction and psychological well-being. Preliminary findings indicate a positive correlation between the need for belonging and appetite, suggesting interconnectedness between these desires. The study further analyzes the relationship between these desires and aspects of well-being, uncovering that while no direct correlation with life satisfaction was observed, significant associations with multiple dimensions of psychological well-being were noted.

The need for belonging appeared to positively influence personal growth and the quality of relationships, potentially because fostering positive relationships and personal growth may make individuals more acceptable to others. However, a high need for belonging was negatively correlated with life purpose and autonomy, possibly indicating a willingness to be accepted by others even at the cost of personal control and self-acceptance. Conversely, appetite, particularly binge eating tendencies, showed a negative correlation with several aspects of psychological well-being, suggesting that while it does not directly correlate with life satisfaction, it impacts fundamental functions necessary for a fulfilling human existence.

The distinction between eudaimonic well-being (emphasizing human goodness and functional aspects of living) and hedonic well-being (focused on emotional and cognitive assessments of pleasure and discomfort) is highlighted, with the study's findings suggesting a closer association of desires with eudaimonic well-being. This insight prompts future research to further explore the relationship between various desires and aspects of well-being, potentially through longitudinal or experimental studies, to elucidate the causal mechanisms and expand the understanding beyond the needs for belonging and food to include other desires, thereby offering a deeper comprehension of the interplay between well-being and human desires.

SNS 利用による妬みの生起とその低減要因の検討

A study of the negative effects of envy on social networking sites (SNSs)

研究代表者 下田 俊介(人間科学総合研究所)

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年2月15日

II) キーワード/① SNSs Social Networking Sites

② 妬み envy

③ 自己高揚 self-enhancement

④ ウェル・ビーイング well-being

⑤ ソーシャル・サポート social support

III) 2023年度交付額/630,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

日本心理学会第88回(予定)

日本社会心理学会第65回(予定)

V) 研究経過および成果の概要

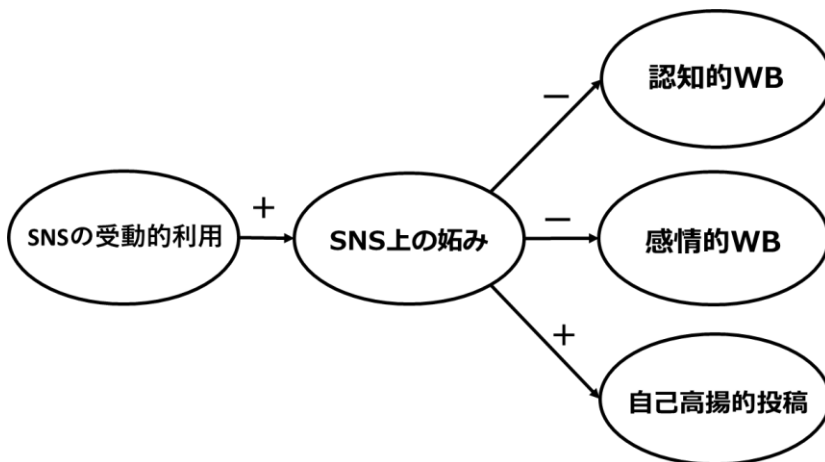
1. イントロダクション

近年のSNSに関する研究では、SNSの受動的利用(他者の投稿や情報の閲覧での利用)が個人の自己評価の低下や妬みを生じさせ、その結果、well-beingの低下や抑うつ症状の増加などのネガティブな影響が生じることが指摘されている(Krause, 2021; Verduyn et al., 2020)。これは、SNSでは自分よりも優れた他者との比較(上方比較)が生じやすいことが関連している。例えば、「より見栄えの良い自撮り写真を選んで投稿する」など、SNSで情報を投稿する側は、自身のより良い面を容易に他者に誇示することができる。このことから、SNS上では現実の対人場面と比べ、より優れた他者の情報を目にする機会が多くなる。それゆえ、自己評価の低下や妬みが生じやすくなり、その結果、ウェル・ビーイングの低下などのネガティブな結果につながり得る(Krause, 2021; Verduyn et al., 2020)。

例えば、Krasnova et al. (2015)では、SNSの受動的利用が多いほど、SNS上で妬みを感じる頻度が多く、それが「主観的well-being」(e.g., 人生満足感)を低め、さらに、「SNSでの自己高揚的投稿」(e.g., 自分の良い面のみを他者に誇示する投稿)を増加させることが示されている。これらの結果から、妬みによって生じた自己高揚的な投稿がさらに他のSNS利用者の妬みを生じさせるといった負の連鎖を引き起こしている可能性も指摘されている(Verduyn, 2020)。現在のSNSの急進的な普及を考慮すると、SNS利用によるネガティブな影響について検討を進めることは喫緊の課題であると考えられる。

そこで本研究では、(1)先行研究(Krasnova et al., 2015)をもとにSNSの受動的利用によって生じる妬みがネガティブな影響(主観的well-beingの低下など)を及ぼしているかどうかを確認した(図1参照)。その後、(2)SNS上の妬みやネガティブな影響を低減する要因として、社会・対人的資源(ソーシャルサポート)の認知に焦点をあてて検討した。社会的・対人的資源は、心理的脅威に対するバッファーとなることが示されている(e.g., Howell et al., 2014)。それゆえ、ソーシャル・サポートの認知が高い人ほど、SNS上での妬みの生起やそれによるネガティブな影響は低いと予測した。

図 1. 研究 1 で検討した仮説モデル (Krasnova et al., 2015 をもとに作成)



注：WBは well-being を示す。

2. 研究方法

研究 1 では、事前調査で Facebook の閲覧・投稿頻度が月 1 回以上と回答した 30 歳代を対象に web 調査を実施した。調査項目は、Krasnova et al. (2015) と同様に、「SNS の受動的利用」(Facebook の受動的利用の程度に関する 4 項目・7 件法)、「SNS 上での妬み」(Facebook 利用時に生じる妬みの頻度に関する 6 項目・7 件法)、「感情的 well-being」(Facebook 閲覧時のネガティブ感情状態に関する 5 項目・7 件法)、「認知的 well-being」(人生満足感に関する 3 項目・7 件法)、「自己高揚的投稿」(Facebook で自己高揚的な投稿を行う傾向に関する 3 項目・7 件法)、統制変数に関する項目(「Facebook の能動的利用」、「Facebook の友達の数」、など)、DQS (Directed Questions Scale: Maniaci & Rogge., 2014) であった(統制変数のいくつかは事前調査で測定した)。

研究 2 では、事前調査で Facebook の閲覧・投稿頻度が月 1 回以上と回答した 20~30 歳代を対象に web 調査を実施した(研究 1 の調査対象者以外の人を調査対象)。調査項目は、日本語版ソーシャル・サポート尺度(岩佐他, 2007)、および、研究 1 と同じ調査項目に回答を求めた。

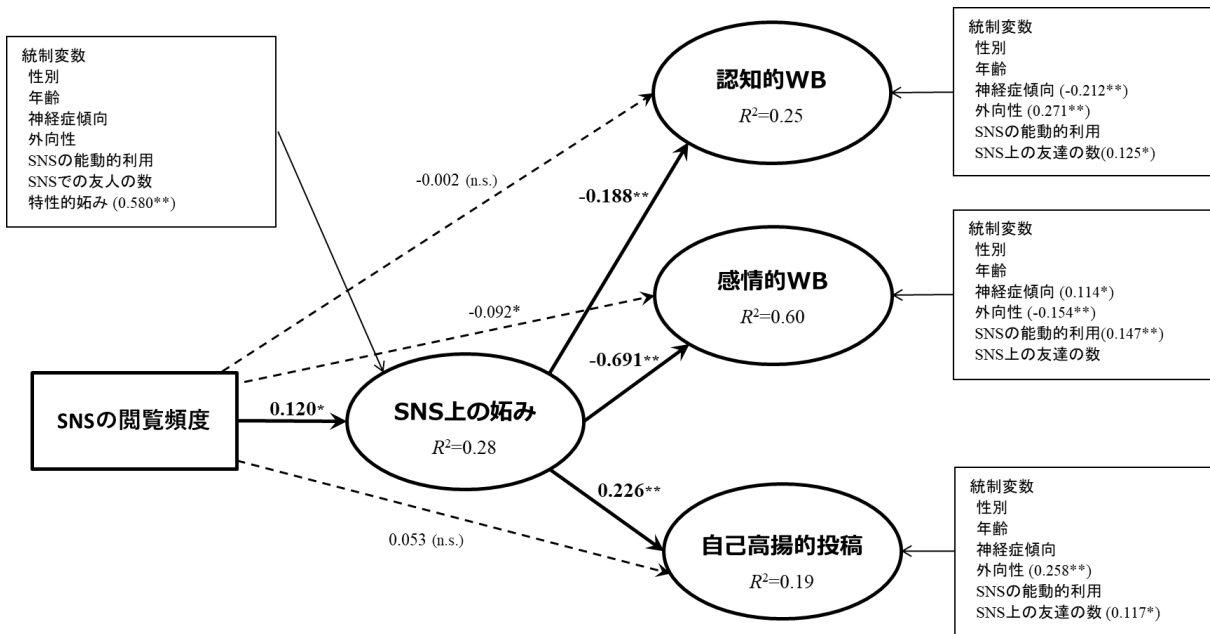
研究 3、4 では、SNS として Instagram に焦点をあて、研究 1、2 と同様の検討を行った(以降、紙幅の都合上、研究 3、4 の結果の記述については割愛する)。

3. 研究経過および成果の概要

本研究では、先行研究に基づき、PLS-SEM (Partial Least Squares Structural Equation Modeling) による分析を行った。研究 1 では、「SNS の受動的利用」から「SNS 上の妬み」へのパスが有意とはならなかった。そこで、「SNS の受動的利用」の変数を「SNS の閲覧頻度」(普段の Facebook の閲覧頻度)に変更して、再度モデルを検討した。その結果、SNS の閲覧頻度の高さは、SNS 上の妬みの生起を媒介して、(認知的・感情的) well-being の低さ、SNS での自己高揚的投稿の多さと関連することが示された(図 2)。研究 2 では、ソーシャル・サポートの認知の個人差による調整効果を検討した。その結果、有意な調整効果は示されなかった。

以上の結果から、本研究では、SNS の受動的利用(閲覧)によって生じる妬みがネガティブな影響を及ぼしている可能性が示唆された。一方で、それら SNS の受動的利用による妬みが及ぼすネガティブな影響は、ソーシャル・サポートの認知によって低減されるという結果は示されなかった。

図 2. SNS の受動的利用による妬みが well-being や自己高揚的投稿に及ぼす影響 (研究 1 の結果)



注: * $p < .05$, ** $p < .01$. $n=258$ (平均年齢 35.61 歳、標準偏差 2.82)。WB は well-being を示す。破線は、媒介分析における直接効果のパスを示す。

4. 今後の研究における課題または問題点

本研究では、SNS の受動的利用による妬みが及ぼすネガティブな影響を及ぼす可能性が示された。しかし、それらネガティブな影響を低減する要因として、ソーシャル・サポートの認知が機能することを示す証拠は得られなかった。この点については今後改めて検討する必要がある。

また、本研究では横断的調査による検討であったため、得られた結果の因果関係は明確ではない。それゆえ、縦断的調査や実験的手法による検討も必要である。

さらに、本研究では SNS として Facebook と Instagram の利用のみに焦点をあてて検討した (紙幅の都合上、本稿では Instagram に関する記載は割愛した)。今後は、他のプラットフォームの種類 (X や TikTok など) やその特徴の違いによる影響についても検討する必要がある。

VI) Summary

Recent research on social networking sites (SNSs) suggests that passive usage (e.g. scrolling through news feeds or looking at other users' profiles) can lower self-esteem, induce envy, and lead to negative outcomes like decreased subjective well-being and increased depressive symptoms (Krause, 2021; Verduyn et al., 2020). This is related to the fact that SNSs are prone to comparisons with others who are better off (upward comparison); those who post information on SNSs can easily showcase their better aspects to others. In other words, there are more opportunities to see better information about others on SNSs than in real life. Hence, passive usage can lead to negative outcomes such as lower self-esteem and envy, which in turn can lead to lower subjective well-being (Krause, 2021; Verduyn et al., 2020).

Given the current rapid proliferation of SNSs, it is considered urgent to examine interventions to

reduce the negative effects of SNS usage. Therefore, in this study, we examined whether envy caused by the passive usage of SNS has negative effects (e.g., reduced subjective well-being) based on previous research (Krasnova et al., 2015). We then examined whether perceived social and interpersonal resources (social support) reduced the negative effects of passive usage.

In Study 1, we conducted an online survey of 30-year-olds who use Facebook at least once a month in browsing and posting. Survey items were based on previous research (Krasnova et al., 2015). In Study 2, we conducted an Internet survey of 20- to 30-year-olds (who did not participate in Study 1) who use Facebook at least once a month in browsing and posting. The survey items included the same items as in Study 1, along with the Multidimensional Scale of Perceived Social Support (Iwasa et al., 2007; Zimet et al., 1988).

Data analysis was conducted using Partial Least Squares Structural Equation Modeling (PLS-SEM). As a result, Study 1 demonstrated that passive usage (frequency of browsing) influenced a decrease in cognitive and emotional well-being and an increase in self-enhancement on an SNS, mediated by envy on SNSs. These results were similar to the pattern of results in previous studies. However, Study 2 did not provide evidence that perceived social support moderated the negative effects of passive usage.

In summary, this study provided evidence of the negative effects of envy caused by passive usage. However, no evidence was provided that perceived social support reduced those negative effects. Future studies should examine other factors that may reduce those negative effects.

温室効果ガスの抑制を目指した従属栄養脱窒プロセスの検討
Development of the heterotrophic denitrification process
for greenhouse gas control

研究代表者 根本崇司（校友(理工学研究科応用化学専攻)）

指導教員 井坂 和一

I) 研究期間／2023年4月1日～2024年2月15日

II) キーワード／①排水 Wastewater
②処理 Treatment
③硝酸 Nitrite
④細菌 Bacteria
⑤脱窒 Denitrification

III) 2023年度交付額 / 690,000円

IV) 研究発表／学会および口頭発表

- ・日本水処理生物学会 第59回山形大会（2023年9月13日）
水素供与体源の変化が脱窒活性と N₂O 発生量へ及ぼす影響
- ・第58回日本水環境学会年会（2024年3月7日）
有機物源の切り替えが脱窒活性と N₂O 発生量へ及ぼす影響

V) 研究経過および成果の概要（日本語 2000字程度）

1. イントロダクション

湖沼や湾などの閉鎖性流域に窒素等の汚濁物質が流入することで、アオコや赤潮といった環境被害が発生し、社会問題となっている。この問題を解決するため窒素排水の高度処理が必要となり、生物学的硝化脱窒法が広く用いられている。脱窒プロセスでは硝酸・亜硝酸を窒素ガスに変換するために、有機物を添加する必要がある。有機物源としてメタノール（MeOH）が広く用いられるが、MeOHの添加は薬剤の添加コストとなる他に、可燃性が高く毒性のある物質であるため、MeOHの管理に多大なコストがかかる。一方で、半導体工場からは半導体の洗浄液としてイソプロピルアルコール（IPA）を含む有機系廃液が間欠的に排出されている。このIPA廃液を、脱窒プロセスで用いるMeOHの代替物質として用いることで、薬剤添加コストの削減が見込まれる。しかし、メタノールを用いる脱窒菌は限定されるため、有機物源に切り替えにより脱窒活性が低下する可能性がある。また、脱窒プロセスから温室効果ガスである亜酸化窒素（N₂O）の排出が確認されており、有機物源切り替え時におけるN₂O発生も併せて評価する必要がある。

そこで本研究では、MeOHを用いた脱窒プロセスにおいて、IPA廃液の併用を目的とし、MeOHからIPAへ段階的に切り替える方法を検討した。担体法を用いた連続試験で検証を行い、脱窒活性とN₂O発生量について評価した。

2. 研究方法

供試排水は窒素濃度が100 mg-N L⁻¹となるよう硝酸ナトリウムを添加し、有機物源としてMeOHを

添加した。有機物源切り替え試験では、MeOH を用いて立ち上げ試験を行った後、有機物源を MeOH から IPA に一段階（0%→100%）で切り替える試験を行った。段階切り替え試験では、MeOH を用いて立ち上げ試験を行った後、有機物源を MeOH から IPA に四段階（0%→5%→35%→70%→100%）で切り替える試験を行った。連続試験には 1.44 L の反応槽に、担体を 144 mL（10%）充填した。また槽内水温は 30°C、pH は pH コントローラーを用い、0.2 M の HCl を滴下することで pH7.6 の一定条件とした。

3. 研究経過および成果の概要

連続試験系において MeOH から IPA へ有機物源を一段階で切り替えた場合、脱窒活性が一時的に 86.7%低下した。一方、N₂O 転換率は平均 0.012%であり、影響は確認されなかった。IPA に切り替えた直後に脱窒活性が確認されたことや、48 時間後に脱窒活性が完全に回復したことから、MeOH と IPA の両方を分解できる脱窒菌の存在が示唆された。また、処理水質を維持するためには、IPA へ突然切り替えず、段階的に切り替える必要性が示された。

有機物源を MeOH から IPA へ四段階（0%→5%→35%→70%→100%）で切り替えた試験を行うと、各切り替え期間において安定して高い脱窒活性を得ることが出来た。また、N₂O 転換率は平均 0.012%であり、N₂O 発生量についても悪化することは無かった。また、各切り替え機関において IPA の分解が確認されたため、IPA を用いた脱窒活性を確認した。

MeOH から IPA へ切り替えた連続試験系から脱窒菌の単離を行い、単離株 N1 株が獲得できた。これらの菌株をシーケンサーで解析し、BLASTN で同定を行ったところ、*Hyphomicrobium* であることが判明した。また、N1 株で MeOH と IPA の分解試験を行ったところ、MeOH と IPA の分解が確認された。そのため、N1 株は MeOH と IPA の両方を分解できる通性 C1 微生物であることが明らかになった。したがって、MeOH と IPA を分解する通性 C1 微生物により、連続試験系において段階的に有機物源を切り替えることで、脱窒菌の代謝を徐々に切り替えるため、処理水質の大幅な悪化を防止できると推察される。

これらの結果から、MeOH を用いた脱窒プロセスで IPA を有機物源として併用する場合、段階的に切り替えることで高い脱窒活性の維持と N₂O 転換率の影響を抑える事が出来た。そのため、脱窒プロセスの有機物源として IPA 廃液の併用が可能であることが示された。

4. 今後の研究における課題または問題点

本試験では、メタノールを利用している脱窒プロセスにおいて、有機物源をイソプロピルアルコールやグリセリンに切り替えが可能であることを明らかにした。有機物源としては、様々な物質が想定され、例えば発酵廃水などからは酢酸、酪酸、プロピオン酸などの有機酸が排出される。今後の研究では、これらの有機物源に切り替えた場合の影響について、幅広く評価する必要がある。

また、メタノール（C1 化合物）を利用している代謝経路から、他の有機物源を用いた代謝に切り替える機構については、十分に解明されておらず、今後の研究が期待される。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

The inflow of pollutants such as nitrogen into closed watersheds such as lakes and bays causes environmental damage such as blue-green algae and red tides, which have become social problems. Advanced treatment of nitrogen effluent is needed to solve this problem, and

biological nitrification and denitrification methods are widely used. In the denitrification process, organic matter must be added to convert nitric acid and nitrous acid into nitrogen gas. Methanol (MeOH) is widely used as a source of organic matter, but the addition of MeOH is not only a cost of adding chemicals, but also a significant cost for MeOH management because it is a highly flammable and toxic substance. On the other hand, organic wastewater containing isopropyl alcohol (IPA) is intermittently discharged from semiconductor factories as a cleaning solution for semiconductors. Using this IPA effluent as a substitute for MeOH used in the denitrification process is expected to reduce the cost of adding chemicals. However, since denitrifying bacteria that use methanol are limited, switching to an organic source may reduce denitrification activity. In addition, nitrous oxide (N₂O), a greenhouse gas, has been confirmed to be emitted from the denitrification process, so it is necessary to evaluate N₂O generation during the switch to organic sources as well.

Therefore, in this study, we investigated a method for stepwise switching from MeOH to IPA in the denitrification process using MeOH, aiming to use IPA effluent in combination with MeOH. The method was verified in a series of tests using the carrier method, and the denitrification activity and N₂O generation were evaluated.

As a result, when the organic source was switched from MeOH to IPA in one step in the continuous test system, the denitrification activity temporarily decreased by 86.7%. On the other hand, N₂O conversion averaged 0.012%, and no effect was observed. When the organic source was switched from MeOH to IPA in four steps (0%, 5%, 35%, 70%, and 100%), high and stable denitrification activity was obtained during each switching period. The average N₂O conversion was 0.012%, and the amount of N₂O generated did not deteriorate.

These results indicate that when IPA is used as an organic source in the denitrification process using MeOH, the high denitrification activity could be maintained and the effect on the N₂O conversion rate could be suppressed by switching in a stepwise manner. Therefore, it was shown that IPA effluent can be used as an organic source in the denitrification process.

水中での光合成モデルの実証にむけた生化学実験による
モデル構成因子の局在決定

Determining localization of factors constructing the model of underwater
photosynthesis by biochemical techniques

研究代表者 堀口 元気 (校友)

I) 研究期間／2023年4月1日～2024年2月15日

II) キーワード／①ミズフジ *Hygrophila difformis*

②光合成 Photosynthesis

③炭酸脱水酵素 Carbonic anhydrase

④水中 Underwater

⑤免疫電子顕微鏡 Immunoelectron microscopy

III) 2023年度交付額／ 630,000円

IV) 研究発表／学会および口頭発表

- ・堀口元気、溝上祐介、廣津直樹、野口航、水陸両生植物 *Hygrophila difformis* における葉の機能と構造の変化による水中への馴化、第65回日本植物生理学会年会、神戸、2024年3月予定 (口頭発表)

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

水中ではガスの拡散抵抗が陸上の一万倍となることから、呼吸や光合成の基質となる O_2 や CO_2 の取り込みが低下する。また、水中では CO_2 の一部が重炭酸イオン (HCO_3^-) となるため、光合成は著しく制限される。水中での生育が可能な水生植物のおよそ50%は、 HCO_3^- を光合成に利用可能であるとされており、その HCO_3^- を利用した光合成において CO_2 と HCO_3^- の相互変換を触媒する炭酸脱水酵素 (carbonic anhydrase, CA) が重要な役割をもつと考えられている。 HCO_3^- を利用した光合成は、細胞外の CA によって HCO_3^- を CO_2 に変換して CO_2 として葉内に取り込む方法と、輸送体によって HCO_3^- を取り込んだあとに葉内の CA によって CO_2 へと変換する方法の二種類に大別される。しかしながら、これらの HCO_3^- 利用モデルとその CA の役割は作用部位の異なる CA 阻害剤などを用いた阻害剤実験をもとに考案されたものである。近年ではアミノ酸配列から CA の局在予測なども行われているが、実際に CA の局在を確かめた報告はない。

研究代表者は、これまでの水陸両生植物 *Hygrophila difformis* を用いた研究から水没後に遺伝子発現量が増加する CA 遺伝子を同定した。本研究では、それらの水没応答性 CA の局在を明らかにすることによって、より正確な HCO_3^- を利用した光合成のモデルを構築することを目的とした。

2. 研究方法

H. difformis の水没応答性 CA 遺伝子 (*Hdα-CA1* と *Hdβ-CA1*) とそれぞれの同属遺伝子の推定

アミノ酸配列をもとに抗原ペプチドを設計および合成し、ウサギへと投与した。免疫期間は最初に投与した日から 49 日間とし、その間に 28、35、42 日目にも抗原ペプチドを投与した。得られた全採血抗血清を抗 H α -CA1 および抗 H β -CA1 ポリクローナル抗体として実験に用いた。

次に得られた抗体の反応性の確認と抗体反応の条件検討を行うため、*H. difformis* の陸上葉 (TL)、水没処理陸上葉 (STL)、および水中葉 (SL) から抽出したタンパク質を用いたポリアクリルアミドゲル電気泳動とウエスタンブロット解析を行った。

さらに透過型電子顕微鏡 (TEM) を用いた免疫 TEM 観察によって *H. difformis* の TL と STL における H α -CA1 および H β -CA1 の局在決定を試みた。

3. 研究経過および成果の概要

計画当初は大腸菌発現系を用いて取得した組み換えタンパク質を抗原として用いる予定であった。しかしながら、CA は配列が類似した同属遺伝子が複数存在していることから、より特異性を高めるためにペプチド抗体を作製することとした。ウサギへの免疫によって得られた血清は ELISA 法によって抗原ペプチドに対して十分な抗体価を持つことが確認されたことから、抗 H α -CA1 および抗 H β -CA1 ポリクローナル抗体として機能すると判断した。

これまでの研究から、*Hda-CA1* 遺伝子は陸上葉では発現が抑制されており、水没によって発現が誘導されることから TL では検出されずに STL や SL でのみ検出されることが予想された。しかし、スタンダードな条件でウエスタンブロット解析を行ったところ、STL や SL だけでなく TL においても H α -CA1 と考えられる分子量の位置にシグナルが検出された。総タンパク質量でノーマライズした発現量を比較すると、SL が最も発現量が大きく、STL、TL の順で小さくなった。また、H β -CA1 のウエスタンブロット解析では、H α -CA1 よりも非特異的なバンドが少なくより特異性が高い抗体であることが確認された。総タンパク質量で定量した発現量を比較すると、SL は TL と STL よりも発現量が高かった一方で、TL と STL は同程度であった。

最後に抗 H α -CA1 および抗 H β -CA1 ポリクローナル抗体を用いて TL と STL における H α -CA1 と H β -CA1 の局在決定を試みた。固定および包埋した TL および STL の準超薄切片を光学顕微鏡下で観察したところ、顕著な構造の崩れは観察されなかった。超薄切片を作製して免疫 TEM 観察においては特に STL のサンプル部位がグリッド上での保持が悪くごく一部しか観察できなかった。比較的観察可能部位が大きかった TL において、H α -CA1 は葉緑体内で金粒子が多く観察されたものの、細胞内だけでなく細胞間隙にも観察された。一方、H β -CA1 は H α -CA1 ほど葉緑体内には局在してはならず、葉肉細胞内全体で金粒子が観察された。

4. 今後の研究における課題または問題点

本研究課題によって作製したポリクローナル抗体は、ウエスタンブロット解析や免疫 TEM 解析に用いることができることが確認できた。一方、どちらの抗体においてもウエスタンブロット解析において非特異的なバンドが検出され、免疫 TEM 観察においても非特異的な局在が観察されたことから、今回実施した条件は最適な条件ではないと考えられる。CA はそれぞれの分子種で配列の保存性が高く、ポリクローナル抗体では判別が難しいものでもある。特に H α -CA1 は TL において発現が遺伝子発現と同様に抑制されているのかどうかは本研究課題において革新的な問いである。そのため、引き続きウエスタンブロット解析、免疫 TEM 観察における諸条件の検討を行って最適な条件を決定し、改めてデータを取得する。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

In submerged conditions, gas diffusion resistance increases 10^4 times compared to that in terrestrial conditions. In addition, CO_2 availability also decreases by changing in dissolved inorganic carbon (DIC) forms from CO_2 to HCO_3^- or CO_3^{2-} . Those results limit photosynthesis under submerged conditions. In previous studies, approximately 50% of aquatic plants including amphibious plant species can use HCO_3^- for underwater photosynthesis. Carbonic anhydrase (CA) catalyzes interconversion between CO_2 and HCO_3^- . CA is considered to play an important role in HCO_3^- utilization. For example, external CA converts HCO_3^- to CO_2 , then converted CO_2 is taken up into the leaves by passive diffusion. In addition, internal CA functions to generate CO_2 from HCO_3^- transported by HCO_3^- transporter and regulate DIC flux to the CO_2 assimilation site in chloroplasts. Although many previous studies suggest a crucial role of CA in HCO_3^- utilization, the localizations of CA in aquatic plants have never been confirmed. In this study, we aimed to determine the localization of putative external CA, Hd α -CA1, and internal CA, Hd β -CA1, by immuno-gold labeling. At first, we designed antigen peptides of Hd α -CA1 and Hd β -CA1 from putative Hd α -CA and Hd β -CA family amino acid sequences. The rabbit anti-Hd α -CA1 and Hd β -CA1 antiserums were obtained by immunization to rabbits. To confirm the reactivity and specificity of the antiserums to native proteins, we analyzed the whole crude extracts from the terrestrial, submerged terrestrial, and submerged leaves (TL, STL, and SL) by Western blots. We detected the immunoreactive signals using anti-Hd α -CA1 and Hd β -CA1 antiserums. The relative amounts of Hd α -CA1 normalized to the total proteins were increased by 1.7- and 2.7-fold in the SL and STL compared to the TL. The relative amount of Hd β -CA1 in the SL was higher than that in the TL, whereas that in the STL was at the same level as that in the TL. However, at the same time, nonspecific signals were detected by both antiserums. Then, we attempted to determine the localization of Hd α -CA1 and Hd β -CA1 in the TL and STL by immuno-gold labeling analysis. In the TL, Hd α -CA1 signals were observed in whole mesophyll cells, especially chloroplasts. Similarly, Hd β -CA1 signals were observed in whole mesophyll cells. On the other hand, we could not observe the localization of Hd β -CA1 in the STL, because cross-sections of the STL could not be kept on the grids. Further considerations of the conditions are required to determine the amounts and localizations of Hd α -CA1 and Hd β -CA1.

ゲーミフィケーションを組み込んだ

STEAM 分野のオンライン学習プラットフォームの開発

Development of a Gamified Online Learning Platform for STEAM Education

研究代表者 片野坂 俊樹 (校友)

I) 研究期間／2023年4月1日～2024年2月15日

II) キーワード／①STEAM STEAM

②ゲーミフィケーション Gamification

③情報教育 Informatics education

④オンライン教育 Online education

⑤情報リテラシー Digital literacy

III) 2023年度交付額／560,000円

IV) 研究発表／学会および口頭発表

- **片野坂 俊樹**, M. F. F. Khan and 坂村 健, “PhyGame: 高校生向けのゲーミフィケーションを活用したウェブベースの物理学の学習プラットフォーム,” *教育とコンピュータ*, pp. 1-12, 2024. (採録).

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

近年の急速な技術開発に伴い、地球規模でSTEAM (科学、技術、工学、芸術、数学) 分野の教育が重要視されている。これらの学問領域は学習者自身による試行錯誤が何よりも重要である。しかし、昨今の新型コロナウイルス感染症の蔓延下では、人が密集する実習や演習などの活動が実施しづらくなっている問題が発生している。この状況を打開する一つの方法にオンラインでの教育が提案されている。しかし、過去の研究からこの方法にもモチベーションの維持が難しい課題が報告されている。このような背景から、本研究では大きく2つの内容を研究した。

1つ目は高校生向けの物理学のオンライン学習システム「PhyGame」の開発である。PhyGameはインタラクティブなシミュレーションを組み込んだユーザーを中心に据えた学習補助ツールである。ユーザーには、学習者だけではなく実際の教育現場で教鞭を取る教育者も含めている。学習を補助する要素には、学習過程をリアルタイムで追跡できるように特定のユーザーや問題などに絞り分析できるようにしたり、ゲーミフィケーションを適用させることで学習者が楽しみながら学べる環境を整備したりした。ゲーミフィケーションを適用させることで、オンライン教育のモチベーションの維持が難しい問題を解決し、学習者が継続的に学ぶように仕向けた。

2つ目は中高生を対象にしたカードゲーム形式の教材「SNS Master」の設計である。デジタルネイティブと呼ばれている世代の子どもたちは、適切な教育を受ける前からインターネットを利用しはじめている。それによりさまざまな問題を引き起こしてしまっている背景がある。例えば、SNSに身勝手な内容を投稿してしまったり、目立ちたい感情や自尊心を満たしたい気持ちを優先させて問題行動を取ったりする。一時の軽率な行動がその後の人生を棒に振ってしまう問題が既に発生してしまっている。このような問題を起こさないように事前に学習できる教材を開発する必要がある。

2. 研究方法

本研究では2つの内容に焦点を当てて研究した。

1つ目はPhyGameの開発と調整である。PhyGameに関する論文を執筆する過程でいくつかの点を改善した。具体的には、ユーザーが誤解をしないように文言を修正し、モード名などのキーワードを初めて見るユーザーでも内容を把握できるように変更した。また、サーバーの設定を見直し、より適切な設計になるように変更した。他にもいくつかのユーザーインターフェースを変更することで、すべてのユーザーがより利用しやすいシステムへと改善させた。

2つ目はアナログ版のSNS Masterの開発と評価である。SNS Masterのデジタル版を開発する前に、まずは厳密に仕様を設計する必要がある。そのために最初にアナログ版のSNS Masterを開発した。具体的にはルールやカードデザインを設計して、それを元に実際に試すことでプレーの感覚を確かめた。このプロセスを数回繰り返したのちに、一般のユーザーである学園祭の来場者に評価協力をお願いした。

3. 研究経過および成果の概要

PhyGameに関する研究成果として、1本の論文を投稿し、採録が決定している。当該論文ではPhyGameに関する総合的な記述が含まれており、日本語の論文として情報処理学会の論文誌から2024年中に出版される予定である。また、SNS Masterに関する研究成果として、2024年の4月頃に少なくとも1本の論文を投稿する予定である。カードゲーム教材SNS masterは設計から数回の試作を経て、本学の学園祭で評価した。学園祭では幅広い年齢の26名の来場者から多様な意見を収集した。初期評価としては十分な意見を収集できたこともあり、今後はこの評価結果などを元にして改善を続けていく予定である。

4. 今後の研究における課題または問題点

今後の課題として教材のデジタル化と対象ユーザーによる評価の2つが挙げられる。

1つ目に、教材のデジタル化である。現在はアナログ版のSNS Masterを開発中で、主にルール設計を見直している段階である。この段階を完了すると、デジタル化に向けて次のステップに進む。今後は、提供するプラットフォームに対応した使用技術を選定し、データベースやインフラなどを整備し、プログラムを実装する。

2つ目に、対象ユーザーによる評価である。本研究では、研究の過程で本学の学園祭の来場者26名に検証協力をお願いした。開発初期に幅広い年齢のユーザーに多様な意見を伺えたことで重要な知見を得られた。しかし、今後は開発した教材の効果を明確に評価するために、具体的な対象ユーザーに評価してもらうことが重要である。本研究では高校生を対象に評価したいと考えているため、実地で検証する段取りをつける必要がある。

なお、現時点では発生する可能性が高い早急に解決すべき重大な問題は見つかっていない。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

In recent years due to rapid technological developments, STEAM (Science, Technology, Engineering, Arts and Mathematics) education has become important on a global scale. In STEM education, learning by doing is of utmost importance. Many previous studies related to online education have reported it is difficult to maintain motivation in online education. Against this background, we mainly studied two things. The approach taken in our study addresses the need to develop an educational environment that can attract students in an increasingly digital age.

First, the development of PhyGame, an online system to learn physics for high school students. It is a user-centered learning support system that incorporates interactive simulations. Users include both educators and learners. We have maintained the system so that it can continue to be used efficiently and effectively by all users. For example, as a learning support element, learners can track their progress in real time and analyze their learning record. It also applies the concept of gamification to have fun while learning. This can potentially mitigate the problem of difficulty in maintaining motivation in online education. PhyGame was evaluated by 44 students of Toyo University Keihoku High School, and very positive feedback was obtained. A paper based on PhyGame has been accepted by the Transactions on Computers and Education by the Information Processing Society of Japan.

Second, we designed SNS Master, a card game based educational material for junior and high school students to learn digital literacy. Many of today's digital natives are at risk in the digital world as they do not know how to manage their online conducts. For such young people, we are designing an educational game that will help them learn how to manage their online behaviors. The initial version of SNS Master has been developed as a collaboration card game using PDCA cycle and evaluated by 26 visitors in a university festival. This evaluation has allowed us to gather some opinions from users of all ages, from young to old, and we will continue to make improvements based on the results of these evaluations. The experience with SNS Master is planned to be reported in an IEEE conference paper. Simultaneously, we are developing a digital version of SNS Master which will be tested by teenagers, our main target users.

糖尿病合併症としてのヒト乳がん悪性化モデルとしてのイヌ乳腺腫瘍の可能性の検討

A possibility of canine mammary tumor as a malignant transformation model of human breast cancer complicated with diabetes

研究代表者 矢野 友啓 (健康スポーツ科学部栄養科学科)

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年2月15日

II) キーワード/① 糖尿病 diabetes

② 合併症 complicated

③ イヌ乳腺腫瘍 canine mammary tumor

④ 炎症シグナル signal pathway related to inflammation

⑤ 悪性化 malignant transformation

III) 2023年度交付額/1,599,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

Yano T et al., Contribution of S100A4/RAGE signal pathway to malignant transformation in breast cancer cells under high glucose condition. in preparation.

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

近年では、糖尿病が基礎病態にある患者が、乳がん罹患するリスクや悪性化(死亡するリスク)が有意に増加し、高血糖値等のような糖尿病条件によって乳がんが悪性化することが分子レベルで明らかになりつつある。具体的には、高血糖値を示す糖尿病条件では終末糖化産物受容体 (RAGE) ががん細胞表面に多量に発現し、この受容体のリガンドの1つであるカルシウム結合タンパク質 s100 ファミリーに属する s100A4 ががん細胞に高発現し、がん細胞からの s100A の分泌が増え、オートクライン様式により s100A4/RAGE シグナル経路が活性化され、最終的に乳がんの悪性化に関与するエストロゲン受容体 (ESR) が多量に分泌されるようになり、これが抗がん剤耐性などにつながることを報告されている。

一方で、現在ではイヌにおいても糖尿病とがんは身近な病気となっていることが知られており、ヒトと同様に糖尿病とがんを併発することもあり得ると考えられる。しかしながら、イヌにおける糖尿病、がんの研究はヒトに比べてあまり進んでおらず、ヒトと同じように糖尿病条件(高血糖値等)ががんの悪性化に関与するかは不明であった。よって、本研究ではイヌにおいても糖尿病条件によってがんが悪性化するのかどうかを、ヒトの高血糖値条件下での悪性化に関与している s100A4/RAGE シグナルに焦点を絞り、イヌ乳腺腫瘍細胞を用いて検討し、糖尿病病態下でのヒト乳がん細胞の悪性化と同様の機序で悪性化が起きているかを検証する。

2. 研究方法

細胞株として、イヌ乳腺腫瘍細胞株 (CMT2) を使用した。また、細胞の培養は RPMI 1640 培地を基礎とした Fetal Bovine Serum (FBS)、ペニシリン・ストレプトマイシンを加えた培養液を用い、5%CO₂・37°Cの条件で行った。また、非糖尿病条件培養液として RPMI1640 培地を基礎としたグルコース (100mg/dl) を含む培養液、通常の糖尿病条件を再現したグルコース(200mg/dl) を含む培養液および重度糖尿病条件を再現したグルコース(400mg/dl)を含む培養液を用意し、以下の検討を行った。

(1) 糖尿病条件下における RAGE・s100A4・NF-κβのタンパク量の検討

細胞を各糖尿病条件培養液で 72 時間培養した後、RAGE・s100A4・NF-κβタンパク量を immunoblot 法で解析した。

(2) 糖尿病条件下における炎症性サイトカインの発現レベルの検討

細胞を各糖尿病条件培養液で 72 時間培養した後、炎症性サイトカイン (IL-1β, IL-8) の発現量を q RT-PCR 法で解析した。

(3) 糖尿病条件下における RAGE 阻害による炎症性サイトカイン発現に対する効果

細胞を非糖尿病条件及び重度糖尿病条件で 24 時間処理した後、RAGE 阻害剤(FPS-ZM1)を添加し、さらに 48 時間経過後に炎症性サイトカイン(IL-1β, IL-8) の発現量を q RT-PCR 法で解析し、MTT 法で生存活性を測定した。

3. 研究経過および成果の概要

(1) の検討結果から、イヌ乳腺腫瘍細胞が糖尿病条件下による培養によって RAGE・s100A4 のタンパク量が増加傾向を示すと同時に、炎症性サイトカイン誘導に関与する主な転写因子である NF-κβの活性化(リン酸化)が認められた。また、(2) の検討結果より、(1) の NF-κβの活性化と関連して、その標的遺伝子である IL-1β, IL-8 の mRNA レベルが増加傾向を示した。さらに、(3) の検討結果より、糖尿病条件下のイヌ乳腺腫瘍細胞において、RAGE 阻害剤で s100A4/RAGE シグナルをシャットダウンすることで、IL-1β, IL-8 の mRNA 発現が顕著に抑制されると同時に、細胞生存活性も抑制傾向が認められた。

以上の結果より、イヌの乳腺腫瘍細胞において、糖尿病条件によって s100A4 及び RAGE の発現が増加し、その増加により s100A4/RAGE シグナル系が活性化され、炎症性サイトカインの分泌が増加し、乳腺腫瘍の増殖が活性化されていることが推測された。また逆に、s100A4/RAGE シグナル不活性化により、炎症性サイトカインの発現抑制とそれに関連した細胞生存活性の低下が引き起こされることが示された。したがって、改めて糖尿病病態下の乳がん悪性化モデルとして、イヌの乳腺腫瘍の可能性が示され、その共通の悪性化の原因の 1 つとして s100A4/RAGE シグナル系の活性化が考えられた。

4. 今後の研究における課題または問題点

本研究の結果から、ヒト糖尿病病態下の乳がん悪性化モデルとしてのイヌ乳腺腫瘍の可能性が示され、その 1 つの悪性化要因として、s100A4/RAGE シグナルの活性化、特に炎症性サイトカインによる増殖刺激が関与していることが確認された。今後、イヌ乳腺腫瘍において、s100A4/RAGE シグナルの標的とした糖尿病病態下での悪性化抑制の手法が開発できれば、その手法がヒトの糖尿病病態下での乳がん悪性化抑制の方法論の開発につながると推測される。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

In recent years, it has been shown that patients with underlying diabetes have a significantly increased risk of developing breast cancer and malignant progression (risk of death), and that diabetic conditions such as high blood sugar levels can cause breast cancer to become malignant. Furthermore, the activation of s100A4/the receptor for advanced glycation end-products (RAGE) signal pathway is known to be involved as one of the factors contributing to its malignancy. On the other hand, although it is believed that there is a relationship between mammary gland tumors and diabetes in dogs, this remains unclear at present. Therefore, in this study, we investigated whether mammary gland tumors become malignant under diabetic conditions in dogs by focusing on the s100A4/RAGE signal, which is involved in the malignancy of human breast cancer under high blood sugar conditions. We will examine whether malignant transformation occurs through a mechanism similar to that of human breast cancer cells under diabetic conditions. As a result, when canine mammary gland tumor cells were cultured under diabetic conditions, the amount of s100A4/RAGE protein tended to increase, and at the same time, the activation of NF- κ B, a main transcription factor involved in the induction of inflammatory cytokines. Also, it was speculated that this increase in inflammatory cytokines leads to an increase in their secretion and ultimately contributes to the malignancy of canine mammary gland tumors. On the other hand, the inhibition of s100A4/RAGE signal by a RAGE inhibitor caused suppression of inflammatory cytokine expression and associated decrease in cell survival activity. From the above results, it is clear that, similar to human breast cancer, canine mammary gland tumors undergo malignant transformation under diabetic conditions through s100A4/RAGE activation, and that the suppression of this signal system under the diabetic conditions causes the inhibition of malignant transformation of mammary gland tumors. Therefore, it is speculated that developing a method for inhibiting S100A4/RAGE signals under diabetic conditions in canine mammary gland tumors will lead to the establishment of an effective method for regulating breast cancer malignancy under diabetic conditions in the future.

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)
菊地 章太 (ライフサイエンス学部健康スポーツ学科)
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)

I) 研究期間/2023年4月1日～2024年2月15日

II) 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

III) 2023年度交付額/1,800,000円

IV) 研究発表/口頭発表

伊吹敦

- ・「早期禅宗与知识人—以知识人的禅理解为中心」(国際シンポジウム「汉传佛教的文化观念与生活—僧人与文人」、2023年8月11日、シンガポール、蓮山雙林禅寺、対面開催)
- ・「再び『金剛經解義』の成立を論ず」(印度学仏教学会第73回学術大会、2023年9月3日、龍谷大学、オンライン開催)
- ・「初期禅宗史解明のための国際協力の必要性」(国際シンポジウム「中・日・韓 国際仏教学術大会—東アジアにおける仏教交流の歴史と未来」、2023年10月28日、中国福建省福州、鼓山湧泉寺・福建海峽仏教文化交流センター、対面開催)

原田香織

- ・「Relationship between Noh and Buddhism」(Symposium “Buddhist Cultural Heritage project” February 26th to 28th, 2024, University of California Santa Barbara, face-to-face)

佐藤厚

- ・「高麗仏教における澄観の受容」(「第2回東国大・中国人民大・中央民族大・竜谷大 四大学共同学術大会：現代韓国華嚴の源流を求めて：澄観と東アジア仏教」、2023年5月12日、韓国、ソウル、東国大学校、対面開催)
- ・「原坦山の東京大学仏教学講義」(「第31回日本近代仏教史研究会研究大会」、2023年5月27日、東北大学、対面開催)
- ・「三浦節夫と東洋大学のアイデンティティ：井上円了の教育理念をめぐって」(「三浦節夫先生追悼シンポジウム「井上円了研究の過去・現在・未来」」、2023年7月8日、東洋大学、対面開催)

- ・「韓国海印寺所蔵「起信抄」断簡の紹介—『釈摩訶衍論』を用いた『起信論義記』解釈」（「日本印度学仏教学会第74回学術大会」、2023年9月2日、龍谷大学、オンライン開催）
- ・「韓国における国際仏教学学術会議—金知見博士主催の大会と3か国学術会議の比較—」（国際シンポジウム「中・日・韓 国際仏教学学術大会—東アジアにおける仏教交流の歴史と未来」、2023年10月29日、中国福建省福州、鼓山湧泉寺・福建海峽仏教文化交流センター、対面開催）
- ・「井上円了、人生最悪の日々：新聞『日本』紙上における井上円了批判」（「国際井上円了学会第12回学術大会」、2023年12月2日、東洋大学、対面開催）

水谷香奈

- ・「伝基撰『阿弥陀経通賛疏』の思想的特色について」（東洋大学東洋学研究所研究発表例会、2023年9月9日、東洋大学、オンライン開催）

研究発表／出版物

伊吹敦

- ・「再び『金剛経解義』の成立を論ず」（単著、『印度学佛教学研究』72(1)、2023年12月、211-271頁、査読有）
- ・「初期禪宗史解明のための国際協力の必要性」（単著、『東アジア仏教学術論集』12、2024年2月、1-22頁、査読無）
- ・「都市佛教と山林佛教の交錯としての初期禪宗史—小乗戒と菩薩戒、經典學習と禪觀修行、國家と宗教—」（単著、『東アジア仏教学術論集』12、2024年2月、263-308頁、査読無）
- ・「五代・宋初における天台教籍の中国への還流について」及び「菅野博史氏のコメントに対する回答」（張風雷著、単訳、『東アジア仏教学術論集』12、2024年2月、169-195頁、199-202頁）
- ・「李承南氏の発表論文に対するコメント」（韓劍英著、単訳、『東アジア仏教学術論集』12、2024年2月、229-233頁）
- ・「荷澤宗による「東土六祖」の碑文の創成」（単著、『東洋学研究』61、2024年2月、203-237頁、査読無）
- ・「三たび『曹溪大師傳』の成立を論ず」（単著、『東洋思想文化』11、2024年3月、頁数未定、査読無）

原田香織

- ・「謡曲『采女』試論」（単著、『東洋学研究』61、2024年2月、1-16頁、査読無）
- ・「作品研究『熊野』—熊野権現のうつります」（単著、『文学論藻』98、2024年3月、頁数未定、査読無）

菊地章太

- ・『妖怪学とは何か 井上円了精選』（編著、講談社学術文庫、2023年6月、全266頁）
- ・『東アジアの信仰と東西交渉』（単著、研文出版、2024年1月、全224頁）
- ・「祇園精舎無常院 — 伝承の系譜と伝播の軌跡」（単著、田中文雄編『冥府考—死者の世界』、ノンブル社、2023年6月、107-124頁）
- ・「こんちりさんの救い（下）—『胡無知理佐无の略』翻刻」（単著、『東洋学研究』61、2024年2月、27-44頁、査読無）
- ・「ひですの変移 — 近世末期の天草宗門心得違」（単著、東洋大学東洋学研究所プロジェクト2021

～2023 年度研究報告集『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』
2024 年 2 月、37-50 頁、査読無)

佐藤厚

- ・「朝鮮における『天地八陽神呪経』の位相：朝鮮時代から現代まで」(単著、『東方宗教』141、51-72 頁、2023 年 6 月、査読有)
- ・「安澄が引用した『釈摩訶衍論』：日本における初期の『釈論』流通の一問題」(単著、『マテシス・ユニヴェルサリス』25(1)、47-63 頁、2023 年 9 月、査読無)
- ・「原坦山の東京大学仏教学講義」(単著、『駒澤大学仏教学部論集』54、171-191 頁、2023 年 10 月、査読無)
- ・「翻刻『高嶺君遺稿』「印度哲学」：原坦山の東京大学仏教学講義を探る糸口」(単著、『中央学術研究所紀要』52、99-117 頁、2023 年 11 月、査読無)
- ・「松山元基『驅魔比丘 初篇』における井上円了批判」(単著、『専修人文論集』113、43-64 頁、2023 年 11 月、査読有)
- ・「韓国における国際仏教学学術会議—金知見博士主催の大会と 3 か国学術会議の比較—」(単著、『東アジア仏教学術論集』12、123-134 頁、2024 年 2 月、査読無)

水谷香奈

- ・「The Thought of Hiratsuka Raichō : Considering a Kinship of Buddhahood and Motherhood」
(Single authored, Translated by Williams, Joseph C., *Studies in East Asian Buddhism* 11, 2023, pp.267-305)
- ・「智顛の『四教義』と諦観の『天台四教儀』の比較研究」及び「韓劍英先生のコメントに対する回答」(李承南 (이승남) 著、単訳、『東アジア仏教学術論集』12、2024 年 2 月、203-228 頁、234-235 頁)

V) 研究経過および成果の概要

1. イントロダクション

本プロジェクトは、もともと東洋大学が中国の人民大学、韓国の金剛大学校と結んだ学術交流協定において取り結ばれた、国際シンポジウム「日・中・韓 国際仏教学術大会」を開催するとともに、その成果を三箇国で自国語に訳して出版するという規約を実現するためのものであった。しかし、折り悪く、新型コロナのパンデミックのために三箇年計画の一年目に開催する予定であった第 10 回の国際シンポジウムは二年間順延され、その間、やむなく、独自企画によって国際シンポジウムを開催すると共に、その成果を世に問うための雑誌、『東アジア仏教学術論集』もその独自企画のシンポジウムの特集号として刊行したが、本年度はようやく、コロナも収まり、以前と同じように対面で国際シンポジウムを開催できることとなった。従って、本年度の研究活動は、久々に、このシンポジウムの共催と『東アジア仏教学術論集』の刊行を中心とするものとなった。

2. 研究方法

本研究は、東洋大学、人民大学、金剛大学校の三箇国で結ばれた学術交流協定によって、毎年共催することになった国際シンポジウム、「日・中・韓 国際仏教学術大会」の運営主体とその成果の公表を東洋学研究所が引き受けることで、東洋学研究所の研究の高度化と、学問分野における東洋大

学の国際的な地位の向上を目指そうとするものである。

このシンポジウムでは、毎回、個別のテーマが決められ、日本、中国、韓国の研究者が、それに沿った研究を行うことで、各研究者は研究の新たな地平を開くことが期待できる。また、三箇国の研究者がシンポジウムを通して意見交換を行うことで、知識や研究方法を共有することができ、研究をいっそう深めることができる。

また、このシンポジウムでの発表論文は、日・中・韓の三箇国で自国語に翻訳した上で刊行することが義務づけられており、三箇国における三大学の学術界における地位の向上が期待できる。

3. 研究経過および成果の概要

本年度の国際シンポジウムは、中国人民大学が主担当であったから、その提案に従って、2023年10月28日・29日の両日、「東アジア仏教の交流の歴史と未来」をテーマに、福建省福州市・鼓山湧泉寺・福建海峡仏教文化交流センターで開催されることとなった。そこで年度初めに、研究プロジェクトの成員に対して、このテーマに沿った研究テーマを募り、結果として研究代表者の伊吹敦と研究分担者の佐藤厚研究員の二名が、それぞれ「初期禅宗史解明のための国際協力の必要性」、「韓国における国際仏教学術会議—金知見博士主催の大会と3か国学術会議の比較—」という題目で発表を行うことになった。更に、第一回から参加している創価大学の菅野博史教授にも発表を打診し、快諾を得た。こうして日本側からは三人がシンポジウムに参加することになった。

出席する三人は事前に論文を完成させて、中国人民大学と金剛大学校とに送り、中国語と韓国語に翻訳してもらい、中国人、韓国人のコメンテーターに読んでもらってコメントを事前にもらい、その回答の準備を行った。また、中国側の発表者四人、韓国側の発表者二人の原稿を事前に送ってもらい、日本語に訳して人民大、金剛大に送付すると共に、日本側の参加者三人に配付し、中国語論文のコメンテーターを担当することになっていた菅野教授にはコメントの準備をお願いした。

このような準備を行ったうえで、10月27日、伊吹、佐藤研究員の二人は同じ飛行機で成田から福州に向かい、ほぼ時間通りに到着し、その後、車で福建海峡仏教文化交流センター内の宿泊施設に送ってもらった（菅野教授は別行動で北京からの移動であった）。28日に伊吹と菅野教授が発表とコメントへの回答を行い、29日に佐藤研究員が発表とコメントへの回答を行った。翌29日には、伊吹と佐藤研究員が同じ飛行機で福州から成田に移動、その後、帰宅した。

帰国後は、三箇国の発表者の論文、コメンテーターのコメントの日本語原文、あるいは日本語訳の整理に取りかかり、更に、発表者によるコメントへの回答を送ってもらい、中国語と韓国語のものは日本語に翻訳したうえで、原稿整理に取りかかり、整理が終わり次第、刊行の見積もり等の作業を経て入稿し、校正作業の後、2月6日に納品し、直ちに東洋大学図書館に対して、研究機関や研究者に送付し、また、東洋大学学術情報リポジトリへの掲載の依頼を行った。

4. 今後の研究における課題または問題点

このプロジェクトで行ってきた、国際シンポジウム、「日・中・韓 国際仏教学術大会」の開催、ならびにその研究成果の自国語での公表は、いずれも前例のない取り組みとして評価されてきたが、今、振り返ってみると、そこに大きな限界があったことは認めざるを得ない。すなわち、三大学の学術交流協定に基づくものであるために、三箇国の三大学の研究者の研究発表が中心で、三箇国の中他の大学の研究者の発表はかなり限定的であった。また、もっと言えば、発表者、コメンテーター等は、基本的には三箇国の人に限られたが、東アジア仏教の研究者は、欧米にも多く、彼らの

研究成果を十分に取り込むことができなかったという点も大きな問題である。

将来的には、あらゆる国のあらゆる言語を用いる研究者が自由に発表ができ、また、相互に交流できるような環境を整備する必要があると思われるが、それは一大学のプロジェクトの枠組みを超える試みでなければ実現不可能であろう。少なくとも、現段階における試みとしては、本プロジェクトは十分に意味を持つものであったと考えている。

VI) 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.

The original plan was as above. But, during the global spread of the new coronavirus, the “10th Japan-China-Korea International Academic Conference on East Asian Buddhism” originally scheduled for the 2022 academic year was postponed indefinitely, and we had to drastically change our research plan for two years. But, because of the end of the coronavirus, this academic year, going back to the original plan, we were able to carry out the research focusing on holding the international conference.

The “Japan-China-Korea International Academic Conference on East Asian Buddhism” has been held 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” and, this year’s research theme was “History and Future of East Asian Buddhist Interactions”. Taking this theme into account, we decided to send two research staff (namely, IBUKI Atsushi and SATO Atsushi) to the conference as presenters. We also asked Professor KANNO Hiroshi of Soka University to make a presentation.

The conference was held on October 28th and 29th at the Fujian Strait Buddhist Cultural Exchange Center, Gushan Yongquan Temple in Fuzhou, Fujian Province, China. Together with four Chinese researchers and two Korean researchers, we presented our research and exchanged opinions, and the conference was a great success.

The contents of the symposium were published in the *Studies in East Asian Buddhism*, No. 12, which was published in February, and will soon be uploaded to the Toyo University Repository for Academic Resources.

This is the final academic year of the project, and upon the completion of the project, the holding of this international conference and the publication of *Studies in East Asian Buddhism* will be completed.

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(健康スポーツ科学部健康スポーツ科学科)

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)

I) 研究期間／2023年4月1日～2024年2月15日.

II) 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

III) 2023年度交付額／ 946,000円

IV) 研究発表／学会および口頭発表

学会および口頭発表

相楽勉「晩年の西田幾多郎にとっての宗教問題」、研究所プロジェクト研究発表会、東洋大学東洋学研究所・研究所プロジェクト、オンライン開催、2024年2月24日

菊地章太「ひですの変移 - 近世末期の天草宗門心得違」、研究所プロジェクト研究発表会、東洋大学東洋学研究所・研究所プロジェクト、オンライン開催、2023年10月28日

大野岳史「キリシタン文献における「大切」概念についての一考察」研究所プロジェクト研究発表会、東洋大学東洋学研究所・研究所プロジェクト、オンライン開催、2023年10月28日

播本崇史「西周の『学』的自覚」、蘭学・洋学三津同盟締結記念 近世・幕末維新时期「海洋国家」と「異国」研究会 公開研究発表会、2023年9月2日、主催：近世・幕末維新时期「海洋国家」と「異国」研究会、後援：津和野町、島根県立大学

大鹿勝之「村岡典嗣の国体思想 — 「国体思想の淵源とその発展」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・研究所プロジェクト、オンライン開催、2024年2月24日

論文等著作物

相楽勉「西田幾多郎にとっての宗教と論理」、『白山哲学』第 58 号、東洋大学文学部哲学研究室、2024 年 3 月刊行予定

中里巧「キェルケゴールの「ヤコブの手紙」解釈とその思想」、『新キェルケゴール研究』第 21 号、キェルケゴール協会、1-13 頁、2023 年 5 月

中里巧「霊性の未来 —S. キェルケゴール・R. シュタイナー・潜伏キリシタン」、『東洋学研究』第 61 号、東洋大学東洋学研究所、1-14 頁、2024 年 3 月

三重野清顕「トマス・アクィナスによるカテゴリーの導出」、『白山哲学』第 58 号、東洋大学文学部哲学研究室、2024 年 3 月刊行予定

菊池章太『東アジアの信仰と東西交渉』 研文出版、総 224 頁、2024 年 1 月

菊池章太「こんちりさんの救い（下）—『胡無知理佐无の略』翻刻—」、『東洋学研究』第 61 号、東洋大学東洋学研究所、27-44 頁、2024 年 3 月

大野岳史「真実ノ教」における愛徳について」、『東洋学研究』第 61 号、東洋大学東洋学研究所、15-25 頁、2024 年 3 月

大鹿勝之「村岡典嗣の国体思想 —「国体思想の淵源とその発展」—」、『東洋学研究』第 61 号、東洋大学東洋学研究所、73-90 頁、2024 年 3 月

V) 研究経過および成果の概要

1. イントロダクション

本研究は西洋思想を包摂し、展開させていく独自の仕方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考え、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独自性を考究する。

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

2. 研究方法

2023 年度は、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、および本研究に関連したテーマでシンポジウムを開催し討議を行う。そして、3 年間の研究成果をまとめた研究報告書を刊行する。

3. 研究経過および成果の概要

2023 年度の各研究者の研究経過および成果は以下の通りである。

相樂勉

日本における哲学受容の中で際立った位置を占める西田幾多郎の晩年の宗教論を、彼が論理と呼ぶものとの関係において捉えなおし、そこに西洋哲学の独特の受容過程を見いだそうとした。西田の宗教の論理的探究は西洋哲学の批判的受容であるだけでなく、西洋文化の根底にあるキリスト教的なものとの対決であるとも考えられる。たとえばライブニッツの予定調和の神はドミナントの神すなわち人間を支配する神に過ぎないという批判の一方で、カラマーゾフの大審問官章における沈黙のイエスを宗教の核心として挙げている。この面への着目がキリシタン時代以降今日までの日本における西洋思想受容を評価し直すてがかりとなると思われるに至った。

中里巧

キリシタン思想と現代思想との関連について、研究を行った。キリシタン思想と現代思想との関連でキーになるのは、常識的には受け入れにくいと思われるが、R. シュタイナーと M. エンデであると思われる。R. シュタイナーの思想は、彼自ら精神科学ないしは霊学と呼んでいるように、あらゆる事象について複層的な霊性から説明するものであり、存在論的にも認識論的にも、霊性を土台とするものである。M. エンデは、人間精神の深層に「永遠に幼きもの」*das Ewig-Kindliche*を見出しており、この「永遠に幼きもの」の発動によって、人間は本来の人間性を維持していくと考えている。

三重野清顕

和辻哲郎『人間の学としての倫理学』の第一章における西洋哲学史的な記述について検討を行い、このような西洋哲学との対決が和辻倫理学の理論的根幹にどのように取り入れられているかを明らかにすることを試みた。とりわけ、ヘーゲルの人倫の哲学についての検討は、イエナ時代のヘーゲルの社会思想も射程に収めている点でヘーゲル研究史上も先駆的なものであるが、さまざまな点において和辻の倫理学との親和性が高いことが明らかになったこともあり、さらなる研究の必要があると考える。

菊地章太

慶長年間（1596～1615）成立のキリシタン文献『こんちりさんのりやく』の解説を継続しておこない、長崎大浦天主堂所蔵写本をもとにしたプティジャン版『胡無知理佐无の略』を翻刻した。これによって近世におけるキリスト教受容の可能性と限界を考究するための文献的基礎の一部を構築することができた。さらに、文化年間（1804～1818）に天草下島で起きた「天草宗門心得違」と呼ばれるキリシタン発覚事件の発端とその後の経過を明らかにするため、文献資料の解説と現地における聞き取り調査をもとに考察を試みた。

大野岳史

ペドロ・ゴメス『講義要綱』の日本語本で愛徳がどのように説明されているのかを確認した。ペドロ・ゴメス『講義要綱』第三部で愛徳 (*caritas*) について語られる。ゴメスはトマス・アクィナス『神学大全』に倣って諸徳について論述している。ゴメスは愛徳を主題とした箇所ではトマスから愛徳の定義に関わる事柄ばかりを抜き出し、多くのことを省略した結果、トマスがあらかじめ示していた徳の体系における愛徳の役割を明らかにしないままとなっている。また、愛徳 (*caritas*) がどのように訳されているのかを概観することで、愛徳概念が正しく受容されていたのかを考察した。

播本崇史

西周の著作である「靈魂一元論」と「生性割記」の訳注作成を進めた。また、9月2日に「蘭学・

洋学三津同盟締結記念事業」に関わる催しが、島根県津和野町において開かれ、公開研究発表会において、「西周の『学』的自覚」という題目で、研究発表を行った。森鷗外の『西周伝』以来、西周の学問に関する評価には、一定した見解が見られるが、鷗外から見た西周像を範とせず、西周の稿本研究の成果を活用し、西周自身の言辞に徹底して基づきつつ、西周の「学」的自覚を明らかにした。

大鹿勝之

日本精神に関して、河野省三『日本精神の研究』（大岡山書店、1934年）、鹿子木員信『日本精神の哲学』（文川堂、1942年）などの著作、国民精神文化研究所より刊行された『国民精神文化研究所々報』、『国民精神文化』所収の論文を調べた。また、村岡典嗣の国体思想について、村岡の講義ノートが編集されて収められている『国民性の研究』（創文社、1962年）より、「国体思想の淵源とその発展」という題目のもとに示された議論を中心に検討し、村岡典嗣の国体思想の特徴として、太古の時代に見られる国体思想が先天的形式として捉えられていること、また、村岡のいう、凶は最後に吉に帰する最善観的世界観は、神代史のみならず、村岡の日本の歴史観を特色づけるものであることを取り上げた。

研究成果については、研究発表会を2023年10月28日（大野・菊地の発表）と2024年2月24日（大鹿・相楽の発表）にオンラインで開催したほか、2023年12月9日には、「明治期における宗教と哲学受容」と題するシンポジウムにおいて、ベルナット・マルティ・オロバル氏（早稲田大学経済学部准教授）による「明治仏教の公認教運動と19世紀フランスの宗教制度 一藤島了穂の『政教新論』（1899）を中心に一」と題する講演、ライナ・シュルツァ氏（東洋大学情報連携学部情報連携学科学准教授、東洋学研究所研究員）による「カントについてのフェノロサの授業」と題する講演が行われ、講演後の、研究代表者の相楽研究員と講演者とのディスカッションや質疑応答において、活発な討議がなされた。

そして、3年間の研究成果をまとめた研究報告書（目次・奥付含めて本文92頁）を刊行した。本書には、各研究者の報告や論文が掲載されている。

4. 今後の研究における課題または問題点

研究目的に掲げた、明治期の西洋思想受容と日本思想の展開と、キリシタン時代の受容と展開との比較考察について十全な総合的把握に至ったとは言えないが、異なる研究分野の研究者相互の知見交換によって各研究者が新たな観点を獲得し新たな研究段階に進めたことは疑いない。今後、さらに本研究の成果を踏まえ比較日本思想学とも呼びうるこの研究分野の確立に向けて研究協同を進めていきたい。

VI) 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 Gómez'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 ideas in Japan

MIENO Kiyooki:

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 Gómez'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 of 2023, we held the presentation meeting twice a year as follows.

28th October 2023

ONO Takeshi, "A Consideration of the Concept *Taisetsu* (Japanese Translation of *caritas*) in the Literature of Christian Mission"

KIKUCHI Noritaka, "Transformation of Hides [fides]: Amakusa *Shumon Kokoroe-Chigai* (Villager's Faith Recognized not as Christian but Different Religion by Shogunate) in the Late Modern Period"

24th February 2024

OSHIKA Katsuyuki, "MURAOKA Tsunetsugu's Thought of *Kokutai* (National Character): On His Lecture Notes "The Origin and Development of the Thought of *Kokutai*"

SAGARA Tsutomu, "The Problem of Religion for the Late NISHIDA Kitaro."

And we held a symposium titled "The Reception of Religion and Philosophy in the Meiji Period, Bernat MARTI OROVAL (associate professor of the faculty political science and economics, Waseda University), and Rainer Schulzer (associate professor of faculty of information networking for innovation and design, Toyo University) gave the lecture.

9th December 2023

Bernat MARTI OROVAL, "The Movement for Establishing Buddhism as a Recognized Religion and the 19th Century French Concordat System: Fujishima Ryōon's *New Treatise on Church and State* (1899) "

Rainer Schulzer, "Fenollosa's Teaching of Kant"

Finally, we published research report including each members' reports and articles (total 92 pages).

Keywords: Western thoughts, Japanese thoughts, the period of Kirishitan, Meiji period and after, Christianity

アジアインフラ投資銀行(AIIB)による投資とアジア諸国における政治、投資・企業法制の変容—SDGs、不平等をなくし、平和と公正の実現に向けて—

The political changes and legal changes in investment and company related to Asian Infrastructure Investment Bank(AIIB) in Asian countries : towards achieving peace and justice, reducing inequality and SDGs

研究代表者 後藤 武秀 (法学部法律学科)

研究分担者 井上 貴也 (法学部法律学科)

研究分担者 上田 知亮 (法学部法律学科)

研究分担者 鷺田 任邦 (法学部法律学科)

研究分担者 カク 仁平 (経済学部国際経済学会)

研究分担者 三沢 伸生 (社会学部社会文化システム学科)

研究分担者 高橋 正樹 (武蔵野大学法学部)

研究分担者 朱 大明 (東京大学法学部)

研究分担者 梁凌詩ナンシー (日本体育大学スポーツ文化学部)

研究分担者 佐々木 彩 (苫小牧高専)

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年2月15日

II) キーワード/① AIIB

② アジアインフラ投資銀行 Asian Infrastructure Investment Bank

③ 一帯一路 one belt and one road

④ 発展途上国 developing countries

⑤ 中国経済 Chinese economics

III) 2023年度交付額/ 1,800,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

2回にわたって、海外の研究者を招聘し、シンポジウムを開催した。

第1回シンポジウム 10月21日(土曜日)共通テーマ「米中対立下における中国企業の海外投資」

～「一帯一路」構想及びAIIBとの関連を中心に～

杜 進 (拓殖大学名誉教授・アジア文化研究所客員研究員) 「10年目の一帯一路構想：回顧と展望」、

吉田 敦 (東洋大学経済学部教授「中国とアフリカ諸国間の経済連携強化の現状と課題」、郝 雲宏 (中

国浙江工商大学・東洋大学短期海外招聘教授) 「中国企業の対外投資の影響要因と課題：対外M&Aを

中心に」、地域文化学会との共同シンポジウムの部、趙晟桓(圓光大学校教授)「金芝河の開闢思想」

第2回シンポジウム 11月11日(土曜日)共通テーマ「中国会社法・経済法国際化の動向」

季立剛(復旦大学法学院教授)「中国会社法改正における歴史性と世界性」、葛偉軍「中国会社法改正における資本制度の改革」、コメント・井上貴也(研究員)「日本法研究の立場から」朱大明(東京大学法学部教授、客員研究員)「比較法研究の立場から」

研究代表者、分担者の個別報告は以下の通りである。

後藤武秀「華人社会の伝統的な共存の思想とそれを成り立たせる諸制度」地域文化学会第 262 回月例研究会 2023 年 4 月 22 日、於東洋大学

後藤武秀「泡沫経済後の経済状況と公司法修訂趨勢」遼寧大学日本研究所、日本研究論壇報告会、於遼寧工会大厦会議室(招待報告)

三沢伸生 Nobuo MISAWA “Japanese strategy with Malta in the interwar period” Malta-Japan Seminar ‘Linking Japan and Malta through Research’ 2023 年 11 月 シンポジウム・ワークショップパネル(指名) Malta Islands & Small States Institute - L-Università ta’ Malta

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000 字程度)

1. イントロダクション

2014 年から中国の習近平政権によって提唱されだした一帯一路構想は、東アジアからヨーロッパに至る交通網を整備し、経済の活性化を図ろうとする政策である。それは、発展途上にある中央アジア、東南アジア、南アジア、アフリカの諸国にインフラ整備の機会を提供し、それぞれの国の経済発展に寄与することも目的の 1 つとしている。その政策を実現していくために、中国の主導によって設立されたのがアジアインフラ投資銀行(AIIB)である。本研究は、AIIB による途上国へのインフラ建設を目的とする融資がどのような形で行われているのか、また、債務の罍をもたらしていないかどうか、といった点について検証していこうとするものである。

2. 研究方法

本研究では、第 1 に、AIIB による融資がどのような国に対して、またどのような事業に対して行われたのかを明らかにする。そのために、AIIB による融資の実態を統計資料を用いて整理し、世界の研究者が利用可能な資料集を作成する。第 2 に、AIIB による融資を受けた国々が、経済発展の方向を辿っているかどうか、すなわち、AIIB がそれらの国々の経済発展に寄与したかどうかを、対象国の経済統計を用いて解明する。第 3 に、AIIB を通じて行われた融資の対象事業に参加している企業が中国系企業かそれとも他の先進国の企業かを明らかにし、現地における雇用など、現地への貢献の実態を明らかにする。これらの方法による研究は、資料収集のための現地調査を必要とするので、COVID-19 の影響を考慮しながら、研究者を派遣して調査を行なう。以上の方法により、AIIB による融資が現地に貢献しているか、それとも債務の罍を生み出しているかを検証する。

3. 研究経過および成果の概要

本年度は、研究の初年度ということもあり、前年度の 3 月末から共同研究者間の問題意識の共有のために、研究所内において共同研究会を開催した。これにより、各自の役割分担の調整を行い、海外調査の可能性についても検討した。また、本学大学院経済学研究科所属、本研究所の院生研究員である高キンを雇用することが確認された。本年度の研究は、上記「研究方法」第 3 の方法、すなわち AIIB による融資対象事業の状況を検討し、現地において調査を進めることを主課題とした。しかし、COVID-19 の影響により自由な調査が依然として困難な状態が続いたので、海外調査につ

いては当初の予定通りに進めることができなかったのが残念であった。とりわけ、中国における調査がビザ取得の制限などから困難を極めた。

AIIB による融資対象事業及び融資を受けた国の状況についての資料集の作成については、カク仁平共同研究者の指導の下に、梁凌詩ナンシーと高キンが資料収集と整理に当たり、カク仁平、梁凌詩ナンシー、高キン編著『アジアインフラ投資銀行 (AIIB) 融資国に関する基礎的資料』(東洋大学アジア文化研究所、2023 年 12 月 20 日刊、ISBN978-4-904279-34-2) を発行した。本資料集には、研究報告 1 編、AIIB の融資を受けた国に関する基礎資料として、人口動態、経済指標などを掲載した。資料の淵源を国連ないし世界銀行のデータに求めることが多かったため、資料集は英文で作成した。

第 2 の方法については、AIIB の基礎資料集が完成してからの作業となることから、本年度は実施することができなかった。2023 年 12 月に基礎資料をデータ集として刊行することができたので、次年度以降の課題としたい。

第 3 の方法については、COVID-19 の影響を受け、中国での調査が当初の予定通りに進まなかった。そうした中でも遼寧大学日本研究所からの招待を受けて、後藤武秀が 12 月に遼寧大学日本研究所を訪問、研究報告を行った。また、国際シンポジウムを 2 回開催し、中国からの研究者を招聘することができ、共同研究の進展を見た。現地調査の一環として、タイなどに共同研究者を派遣し、現在進んでいる AIIB 融資案件の調査を短期間ではあったが実施することができた。

4. 今後の研究における課題または問題点

本年度の研究はおおむね順調に進展した。特に、本研究の基礎資料集の第 2 弾とも言うべき『アジアインフラ投資銀行 (AIIB) 融資国に関する基礎的資料』を 2023 年 12 月という比較的早い時期に刊行でき、また資料を英文で整理することができたので、海外の研究機関などに送付し、次年度以降の共同研究に役立てたい。当初の計画通りに進めることができなかったのが、海外における AIIB 融資案件の調査である。これは、COVID-19 の影響によるもので、致し方ないところであった。タイなどについて基礎的な調査の一部を実施することができた点は特筆しておかねばならない。また、海外の研究者を招聘して 2 度にわたり国際シンポジウムを開催することができた。とりわけ、中国からの研究者を招聘することができたので、その所属先である復旦大学などとの共同研究がこれから進展していくことが期待される。次年度は最終年度でもあることから、中国の復旦大学、遼寧大学などの研究機関において研究報告を行う予定である。

とはいえ、中国国内で調査を行うには、特殊なビザが要求されており、研究報告のような招聘ビザとは異なることから、十分な調査が行えるかどうか、現段階(2024 年 3 月 6 日段階)では疑問なしとはしない。それゆえ、次年度の研究のうち、海外調査については中国国内における調査の代替措置として、入国可能かつ調査可能な国の調査のための準備を今の段階から進めたいと思う。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

The “Belt and Road Initiative” which is promoted by China’s Jinping Xi government from 2014 is a policy seeking to facilitate transport network and activate the economy between Eastern Asia and Europe. This policy provides an opportunity for developing countries in Central Asia, Southeastern Asia, Southern Asia, and Africa to develop infrastructures. Besides, one of the purposes of this policy is to promote the economic development among these

countries. In order to attain the policy, China-led Asian Infrastructure Investment Bank (AIIB) is established. This research aims to examine the structure of financing which AIIB targets on the infrastructure development in developing countries and to explore debt traps that have emerged or not. For the sake of investigating these issues, one of the objects in this year is to collect and categorize basic information about AIIB. As a result, The List of Financing from Asian Infrastructure Investment Bank (AIIB) is published. This book includes 2 academic papers related to the overseas development of Chinese economies and a list categorizing the finances provided by AIIB. The list is in English. After analyzing the list of financing by AIIB, it is clear that AIIB does not just promoting the infrastructure development in developing countries which is the original purpose of international financial institution, it also has financed the purchase of vaccines related to the COVID-19. This implies the purpose of AIIB is expanding.

Related to the AIIB financing projects, promoting employment in the borrowers, the developing countries and promoting economic development are the main purposes. In the World Bank financing projects, although there is no duty to promote local employment, it has demands on securing local workforce and improving locals' technical skills for the sake of promoting economic development. However, at the stage before AIIB's finance is executed, the overseas activities by the Chinese economies are not necessary to bond with the local development. In other words, the heretofore strategy of development in mainland China is being introduced in the development region without changes. As a result, the developments are not matching the current conditions of the development countries; for example, in the conducted development plan, resort facilities and residential area are planned in the same area, high-end residential facilities are planned to build, etc. This issue is being pointed out through the case study on Cambodia done by Nancy Ling Sze Leung, a postdoctoral researcher working in this research project.

帰還移民の社会的再統合に関する比較研究

—日本就労経験者を中心に—（和題）

A Comparative Study on Social Re-integration of Returned Immigrants: Focusing on Former Migrant Workers in Japan（英題）

研究代表者 長津 一史(社会学部国際社会学科)

研究分担者：田所聖志（東洋大学社会学部・教授）

ズルエタ ジョハンナ（東洋大学社会学部・教授）

ゴロウィナ・クセーニヤ（東洋大学社会学部・准教授）

山田香織（東洋大学社会学部・講師）

中村昇平（東洋大学社会学部・助教）

田川夢乃（東洋大学社会学部・助教）

中野真備（東洋大学アジア文化研究所・特別助手）

鈴木佑記（アジア文化研究所・客員研究員）

西川慧（アジア文化研究所・客員研究員）

合地幸子（アジア文化研究所・客員研究員）

渡邊暁子（アジア文化研究所・客員研究員）

I) 研究期間／2023年4月1日～2024年2月15日

II) キーワード／①移民労働者

②技能実習生

③再統合

④アジア

⑤水産業・漁業

III) 2023年度交付額／ 1,800,000円

IV) 研究発表／学会および口頭発表

著書・論文

長津一史 2024. 「海のフロンティアと越境移動—マカッサンがオーストラリアに向かうまで」『移動と境界—越境者からみるオーストラリア』飯笹佐代子・鎌田真弓（編著）69-85 ページ. 昭和堂.

長津一史 2024. 「マカッサン・アボリジニ交流史をめぐる表象と実践」『移動と境界—越境者からみるオーストラリア』飯笹佐代子・鎌田真弓（編著）86-89 ページ. 昭和堂.

長津一史 2023. 「サバに住む人々—定期市タムと民族間の共生」『マレーシアを知るための58章』鳥居高（編著）121-126 ページ. 明石書店.

Golovina, Ksenia. 2023. Soil Within Us: An Autopedology of Migrant Family History and Mourning through the Medium of Soil. *Ethnographic Edge* 6(2) 63-81.

Golovina, Ksenia. 2023. “The House with the Red Roof:” A Migrant-Owned Apartment in Japan and the Surrounding Relations of a “Society with Houses.” *Housing, Theory and Society*.

合地幸子 2023. 「コロナ禍における生活様式の変化（第1報）—茨城県・漁業技能実習生」『アジア文化研究所研究年報』 57: 104-116.

西川慧 2023. 「供犠の価値は計り得るか？—インドネシア西スマトラ州における家畜の商品的価値と供犠」『文化人類学』 88(1): 115-133.

【口頭発表】

Nagatsu, Kazufumi 2024 (Jan.). “Kesenuma-Indonesia Relations after 2011: Focusing on Discourses on the Migrant Workers.” *International Symposium “Religious and Theological Responses to Environmental Disaster in Asian History,”* organized by Resona Foundation for Asia and Oceania and Waseda Institute for Advanced Studies. Waseda Campus, Waseda University.

長津一史（東洋大学社会学部）「気仙沼とインドネシア」南山大学アジア・太平洋研究センター主催セミナー「比較のなかの移住労働—インドネシア人とベトナム人の経験から」南山大学名古屋キャンパス，2023年10月23日.

Nagatsu, Kazufumi 2023. “Introduction: Commodity, People and Frontier: An Alternative Approach to Southeast Asian History in Japan,” at Session 3 “Commodity, People and Frontier: An Alternative Approach to Southeast Asian History in Japan”(organized by Nagatsu, Kazufumi) 2023年度東南アジア学会研究集会・NIHU-MAPS シンポジウム Southeast Asia as Critical Crossroads: Dialogues with Anthony Reid, 東洋大学白山キャンパス，2023年7月23日.

Golovina, Ksenia. 2023. “Migrants’ Art and Craft in Japan: Negotiating One’s Place-to-be Through the Making of Home.” Home/Making: Intersections of Craft and Home Symposium. 2023年5月13日, Concordia University, Montreal, Canada, presented online.

Golovina, Ksenia. 2023. “Creative Practices by Russian-speaking Migrant Artists in Japan: Negotiating Gender, Belonging, and Self-fulfillment.” Migration Conference 2023 (Special Session: Reframing the Dynamics of Transformations in Diverse Spaces Within Uneven Migration Regimes). 2023年8月25日, Hamburg University, Hamburg, Germany.

キム・ヴィクトリヤ／ムヒナ・ヴァルヴァラ／ゴロウィナ・クセーニヤ「日本における移民の社会統合の課題—旧ソ連諸国からの在日ロシア語圏男性移住者を事例として」移民政策学会 2023年度冬季大会、龍谷大学深草キャンパス、2023年12月16日.

西川慧・奥島美夏. 2023. 「趣旨説明」<シンポジウム>「変わりゆく日本への移住労働—技能実習・特定技能の事例から」インドネシア研究懇話会、12月17日、立命館大学衣笠セミナーハウス.

西川慧 2023. 「インドネシア人移住労働者と考える地域のゆくえ—宮城県石巻市における沿岸漁業の事例から」<シンポジウム>「変わりゆく日本への移住労働—技能実習・特定技能の事例から」インドネシア研究懇話会、12月17日、立命館大学衣笠セミナーハウス.

合地幸子 2023. 「『グレーズーン』でやって来た—特定技能の取得を求めて」<シンポジウム>「変わりゆく日本への移住労働—技能実習・特定技能の事例から」インドネシア研究懇話会、12月17日、立命館大学衣笠セミナーハウス（西園寺記念館）.

合地 幸子（東洋大学アジア文化研究所）「漁業・技能実習生」南山大学アジア・太平洋研究センター主催セミナー「比較のなかの移住労働—インドネシア人とベトナム人の経験から」南山大学名古屋キャンパス，2023年10月23日.

V) 研究経過および成果の概要（日本語 2000字程度）

1. イントロダクション

2022年6月、日本に住む外国人の人口は約296万に達した。在留資格別では永住者について、技能実習生が第2位である。2018年に新設された特定技能をあわせるとその人数は約42万人、全体の約4分の1を占める。国連SDGsは10番目の課題として「国内および国家間の格差を是正する」ことを掲げる。アジア諸国の移民労働者は、母国の社会経済発展に大きく貢献すると同時に、新たな中間層を形成するまでになっている。移民労働者は、上記SDGsの課題の解決を探るうえでキーアクターになりうる。

2. 研究方法

以上の背景をふまえ本研究では、日本で技能実習生や漁船員、エンターテイナ、個人事業主等として就労した経験を有する移民労働者を対象として、インドネシア・フィリピン・ミャンマー等の東南アジアに極東ロシアを加えたアジア地域における移民労働者の就労形態、帰還後の社会経済的再統合を比較考察し、そのパターンの異同を明らかにすることを目的とする。具体的には、上記地域の移民労働者を対象に、1) 日本就労の経緯、2) 日本就労・生活の状況、3) 帰国後の社会経済面での再統合のあり方の三点を、ライフヒストリーや質問票調査により分析・比較考察していく。なお、ロシアおよびミャンマーに関しては現地調査が現在不可能であるため、日本国内での聞き取りによりデータを収集する。ベトナムの移民労働者については、直接の研究対象とはしないが、有識者に参考のための情報提供を依頼する。また、比較のため欧州ドイツにおける移民労働者の就労経験にも目を向ける。

3. 研究経過および成果の概要

研究期間のうち昨年度までの2年間は、新型コロナウイルス感染状況や関係国の治安状況により海外調査ができなかった。こうした経緯をふまえ、本研究では国内の移民労働者に対する聞き取りを継続するかたちで調査を進めることにした。本年度は、宮城県気仙沼市（インドネシア人およびフィリピン人コミュニティ）、兵庫県姫路市（ロシア人コミュニティ）、ドイツ・ベルリン（ベトナム人コミュニティ）、富山県富山市（パキスタン人およびロシア人コミュニティ）において調査を実施した。

これまでの成果をふまえて2023年10月23日、南山大学八事キャンパスにて、南山大学アジア・太平洋研究センター主催セミナー「比較のなかの移住労働—インドネシア人とベトナム人の経験から」を同大学間瀬朋子准教授（本学アジア文化研究所客員研究員）と共同企画し、研究代表者および分担者の合地が報告をおこなった。同セミナーにはベトナム人技能実習生に詳しい巢内尚子氏（東京学芸大学教育学部・非常勤講師）を招聘し、「妊娠をめぐる困難とサバルタン・エイジェンシー—ベトナム人女性移住労働者の事例から」のタイトルで講演をしていただいた。分担者のゴロウィナは、12月16日、移民政策学会研究大会（龍谷大学）で、「日本における移民の社会統合の課題—旧ソ連諸国からの在日ロシア語圏男性移住者を事例として」のタイトルで報告をおこなった。分担者の西川と合地は、12月17日、インドネシア研究懇話会研究大会（立命館大学）で、シンポジウム「変わりゆく日本への移住労働—技能実習・特定技能の事例から」に参加、それぞれ「インドネシア人移住労働者と考える地域のゆくえ—宮城県石巻市における沿岸漁業の事例から」、「『グレーゾーン』でやって来た—特定技能の取得を求めて」のタイトルで報告をおこなった。代表者は、2024年1月に早稲田大学で開催された国際シンポジウム“*Religious and Theological Responses to Environmental Disaster in Asian History*”に参加、“*Kesenuma-Indonesia Relations after 2011: Focusing*

on Discourses on the Migrant Workers.” のタイトルで報告をおこなった。

4. 今後の研究における課題または問題点

2023年度は、日本の外国人技能実習制度の大きな転換期となった。政府は、技能実習制度を廃止し新制度「育成就労制度」を実施する方針を固めた。新制度では、その目的を国際貢献から外国人材の確保と育成に変更し、また1年程度の就労後に転籍を認める方向が検討されている。本研究の主要調査地である宮城県等の技能実習生・特定技能生の雇用者、監理団体は、こうした状況を知っている。今後、実施されるであろう制度変更を見据えて、雇用者や受入監理団体は、移民労働者の雇用形態やその内容をどのように変えていくのか。また、雇用される側である移民労働者は、そうした変化にどのように対応していくのか。次年度の調査では、こうした点に注意を払うことが必要になるだろう。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

This research project aims to make comparative studies on and examine the meanings of the working experiences of migrant workers in Japan, socioeconomic re-integration after their return, and their career restructuring in the country of origin. It pays particular attention to the Southeast Asians who have worked as technical intern trainees. Still, it also covers Russian migrant workers to enlarge our perspectives on the experiences of ex-migrant workers in Japan. The subjects of the project are ex-migrant workers in Indonesia, the Philippines, Myanmar, and Russia. The three research questions are as follows: (1) through what channels and institutions do the migrant workers seek employment in their own country, (2) how do they understand their experiences and everyday lives in Japan, and (3) how do they utilize their overseas work experiences to reorganize their socioeconomic careers in their home country after returning home? The project plans to conduct fieldwork on these questions through life history interviews and questionnaire surveys in Japan and their countries of origin.

During the two years of the project period up to the last fiscal year, we could not conduct overseas surveys due to the COVID-19 coronavirus infection and the security situation in the countries concerned. Given these circumstances, we decided to continue our research by interviewing migrant workers in Japan. This year, we carried out fieldwork in Kesennuma City, Miyagi Prefecture (Indonesian and Filipino communities), Himeji City, Hyogo Prefecture (Russian community), Berlin, Germany (Vietnamese community), and Toyama City, Toyama Prefecture (Pakistani and Russian communities). The project leader also conducted fieldwork on the ex-migrant workers in South Sulawesi, Indonesia. He also surveyed the oral and written narratives concerning the historical relations between Kesennuma and Indonesia, constituting a background of the port city receiving Indonesian migrant workers in the 2000s.

Based on the research, we participated in a seminar, “Labor Migration in Comparison: Cases of Indonesian and Vietnamese Workers,” organized by the Center for Asia-Pacific Studies on 23 October at Nanzan University. The project leader presented a paper titled “Kesennuma and Indonesia,” while a project member, Dr. Sachiko Gochi, presented a paper titled “Fisheries and Technical Intern Trainee. The project leader also made a presentation titled

“Kesennuma-Indonesia Relations after 2011: Focusing on Discourses on the Migrant Workers” on 27 January at the International Symposium “Religious and Theological Responses to Environmental Disaster in Asian History,” organized by the Waseda Institute for Advanced Studies, Waseda University.

公共社会学・人類学的視点からの在日ムスリムの多文化共生研究

Public Sociology and Anthropology of Muslims in Japan

研究代表者 子島 進 (国際学部国際地域学科)
研究分担者 三沢 伸生 (社会学部国際社会科)
高橋 典史 (社会学部国際社会学科)
村上 一基 (社会学部国際社会学科)
高橋 圭 (文学部史学科)
荻 翔一 (大谷大学真宗総合研究所)
佐藤 麻理絵 (筑波大学人文社会系)
岡井 宏文 (京都産業大学現代社会学部)

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年2月15日

II) キーワード/①在日ムスリム

②多文化共生

③コミュニティ形成

④地域貢献

⑤アクション・リサーチ

III) 2023年度交付額/1,800,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

子島進「在日ムスリムにおけるイスラーム教育」地域社会学会第48回大会、2023年5月14日。

子島進「日本のムスリム・コミュニティ—アメリカとイギリスのコミュニティとの比較から」アジア文化研究所第18回年次集会、2024年1月20日。

Nejima, Susumu “Masjid Otsuka: Trust Building with Japanese People through Volunteer Activities”
第3回イスラーム信頼学国際会議、2024年3月2日。

Takahashi, Norihito, "Increase in Migrants and Diversification of Burial in Contemporary Japan"

International Society for the Sociology of Religion 37th Conference, 2023年7月7日。

三沢伸生「トルコにおける「ウルムル・イスラーム (İslam)」の検討」非アラブにおける
穏健イスラームの研究研究会、2024年2月4日。

高橋典史「都心部団地におけるコミュニティの衰退と多文化共生の課題 (1) —東京都北区内団地
における高齢化の進展と外国籍住民の増加—」第96回日本社会学会大会、2023年10月8日。

後藤絵美・高橋圭「イスラームのいま—写真に見るその多様な姿」東京外国語大学連続市民講座「世
界を学ぶ、世界を生きる」第4回、2023年6月17日。

荻翔一「在日二世のキリスト者の信仰生活と民族教会に対する意識」日本宗教学会第82回学術大
会、2023年9月10日。

岡井宏文「老いと死を引き受ける—日本のムスリムの高齢化と死に関するマスの取り組み調査
から」笹川平和財団オンラインワークショップ、2024年2月28日。

佐藤麻理絵「越境する人道支援—難民自身によるレジリエンス構築の模索—」第19回DDPIセミナ

一、2023年6月15日。

V) 研究経過および成果の概要（日本語 2000 字程度）

1. イントロダクション

本研究の目的は、在日ムスリムの社会的活動を通して、その多様性を明らかにすることである。ムスリム人口が増加するにつれ、彼らの礼拝場所であるモスクも 180 を超えるにいたった。日本で生まれ育つ二世代の宗教教育も広がりを見せており、在日ムスリムの研究もより重要性を増している。コミュニティのリーダー格であるムスリムと連携し、彼らの直面する問題について一緒に考えながら、調査を進めるところに本プロジェクトの特徴がある。

2. 研究方法

具体的な方法論としては、彼らのコミュニティ形成に関わる活動（モスク、幼稚園・学校、墓地の維持運営）と地域貢献活動（被災地ボランティア等）に本プロジェクトメンバーが部分的に参加しつつ、地域の人々の「巻き込み」を図るというものである。在日ムスリムから調査への理解を得つつ、また、ともに現代日本の課題解決に従事しながら、研究成果を発表している。

3. 研究経過および成果の概要

2023 年度の主たる活動については、次の 6 点を挙げることができる。

1) 5月19日夕、スカイホールにて、トルコ・シリア地震の被災者支援のイベントを開催した。シリアンハンズ（在日シリア人が中心のボランティア団体）との共催で行い、学内外から 100 名が参加した（東洋大から 40 名、学外より 60 名）。現地で活動するモルハム・チーム（シリア人の NGO）からの報告をオンラインで聞き、収益の 16 万円を同団体に寄付した。

2) 11月18、26日、白山キャンパスにて IISO（大塚モスクの運営する小学校）運動会を開催した。国際学部や社会学部の学生もボランティアとして参加し開催し、IISO の教員・生徒・保護者計 300 名と交流を深めた。

3) 12月3日：東洋大学白山キャンパスにおいて第3回ワークショップを開催した。今回は、日系ブラジル人やネパール人といった、ムスリムよりも先にインターナショナルスクールの運営を始めた事例をとりあげ、在日ムスリムのインターナショナルスクールの今後を具体的に考えた。在日ムスリムのリーダーには日本語を話す人も多いが、自由に意見を発表してもらうために、またその後の情報の共有についても考慮して、ワークショップの使用言語を英語とした（第2回ワークショップの成果は、本年度末に英文で刊行した）。

4) 子島が11月上旬、ロンドンに出張し、イギリスの南アジア系ムスリム・コミュニティについての調査を行い、在日ムスリムのコミュニティとの共通点や相違点を考察した（2023年度第18回アジア文化研究所年次集会にて発表）。

5) 子島が12月下旬にイスラマバードへ出張し、パキスタンの宗教教育施設の調査を行った。これにより、宗教指導者であるイマームの供給先と移民コミュニティとのネットワーキングについて考察を深めた。

6) 2024年2月にオンラインで、3月には現地を訪問し、子島と岡井が、北陸のモスクによる能登地震への支援状況の聞き取りを行った。

4. 今後の研究における課題または問題点

最終年度の課題としては、これまでの成果を報告書にまとめることである在日ムスリム・コミュニティによる防災や被災地支援、ならびに宗教教育の展開について、それぞれブックレットの形で刊行を検討している（出版社からの刊行を打診中）。今後も、さらに多くのムスリムへのインタビュー調査を進めていく予定である。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

“Public Sociology and Anthropology of Muslims in Japan” is organized in order to study about Muslim community in Japan. Since the end of the 1980s, many Muslims began to work in Japan. Currently more than 230,000 Muslims live in this country. They have been working together in order to create Islamic infrastructure such as mosque, halal food, Quranic class, Islamic school, and graveyard. In this research project, members are doing research on various aspects of Muslim life, while working with Muslims in order to solve their problems.

Major activities in the year of 2023 are as follows.

- 1) On 10 December, “What is Islamic Education? The Second Workshop on International Islamic school in Japan” was held in Hakusan Campus, Toyo University. In this workshop, Muslim educators presented their values and activities with case studies from three Islamic schools in Japan (Tokyo, Kanagawa, and Hokkaido). In fact, teachers and students are from various countries such as Bangladesh, Egypt, India, Indonesia, Japan, Malaysia, Pakistan, Sri Lanka, Syria, Turkey, and UK, they study in a multi-lingual environment. Studying Quran and basic Arabic language give them an Islamic identity.
- 2) Project members visited Tokyo Camii in Yoyogiuehara in order to participate in the Quranic recitation contest on 30 December. This is the 20th anniversary of the contest, and there were more than 200 contestants gathering from all over Japan. From interview, we were able to trace how it was developed from a small event at Otsuka Mosque to a large-scale event at Tokyo Camii.
- 3) In October, project members (Nejima, N. Takahashi, and Murakami) took part in the sports day co-organized by Toyo University and international Islamia School Otsuka. Toyo University students also took part in the event. It was a very good opportunity to promote inter-cultural relationship with Muslims in Japan.
- 4) In August, Nejima and Kei Takahashi visited San Francisco and Barkley in order to study about American Muslim migrant community in the Bay Area. 5) Sato visited Jordan in order to study about international support organized by Muslim in Japan.
- 5) In August, Sato visited Jordan in order to study about “international cooperation” of Muslims in Japan.

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(健康スポーツ科学部栄養科学科)

研究分担者 安藤 直子(理工学部応用化学科)

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年2月15日

II) 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

⑤ 癌細胞表面抗原

III) 2023年度交付額/ 1,798,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

1. 高橋華奈, 小泉慶明, 荻原廉, 佐野広空, 岩澤卓弥, 加藤和則, 安藤直子「Verrucarin Aを用いた抗体医薬への応用利用」日本マイコトキシン学会 第90回 学術講演会 東京農業大学世田谷キャンパス (2023年1月10日)
2. 増岡知也, 岩澤卓弥, 米澤貴之, 渡辺章夫, 禹濟泰, 加藤和則「Enhancement of anti-tumor effect of antibody-drug conjugate in combination with nobiletin and other PMFs」第82回 日本癌学会学術集会 パシフィコ横浜 (2023年9月22日、口頭発表)
3. 梅津七輝, 岩澤卓弥, 米澤貴之, 渡辺章夫, 禹濟泰, 加藤和則「がんカヘキシア関連サイトカインを抑制するポリメトキシフラボノイドの探索と筋委縮抑制効果の検討」第21回 日本機能性食品医用学会 琉球大学 (2023年12月10日、口頭発表)
4. 大木香穂, 岩澤卓弥, 加藤和則「ヘスペレチンによる単球由来樹状細胞の抗ウイルス性シグナルの増強作用」第21回日本機能性食品医用学会総会 琉球大学 (2023年12月10日、口頭発表)
5. T Furukawa, H Kimura, M Sasaki, T Yamada, T Iwasawa, Y Yagi, K Kato, H Yasui. Novel [¹¹¹In]In-BnDTPA-EphA2-230-1 antibody for SPECT imaging tracer targeting of EphA2. ACS Omega. 8, 7030-7035, 2023.

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

Fusarium 属、*Myrothecium* 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。トリコテセン類は構造の違いから A~D 型、生合成経路の違いから t-type と d-type に分類される。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、多彩な活性を有し、抗癌剤としての潜在性を期待

されてきた。ただこれまでは、トリコテセン類の多くが細胞毒性が強すぎて、抗癌剤としての応用利用が難しかった。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。そこで、本研究では、防除の対象でしかなかったカビ毒トリコテセン類を ADCs に応用利用することを目指してきた。これまでの本研究では、有機合成したトリコテセン結合抗体が、細胞表面抗原が発現していない細胞株に対しても毒性を示してしまい、抗原特異的な毒性を示すことができなかった。

2. 研究方法

本研究では、30 種類のトリコテセンを生産、精製し、研究に使用した。そのうち、24 種類の t-type トリコテセンとその中間体は、*Fusarium* 属菌の野生株や遺伝子組換え株を各種トリコテセン生産条件で培養し、生産させた。6 種類の d-type トリコテセンは *Spicellum roseum*、*Trichothecium roseum*、*Trichoderma brevicompactum*、*Myrothecium roseum* の野生株を培養して生産させた。酢酸エチル、またはアセトニトリルにて抽出を行い、抽出物を順相、あるいは逆相の分取クロマトグラフィーにより精製を行った。

癌細胞表面抗原に対するモノクローナル抗体の生産については、ハイブリドーマ細胞 1B7 株、230-1 株、7A12 株を培養し、それぞれ抗ヒト EpCAM 抗体、抗ヒト EphA2 抗体、抗ヒト B7H3 抗体を生産した。その後、硫安沈殿とプロテイン G カラムのによる精製を行った。

対象とする癌細胞として、NCI-H292 細胞をはじめとする 21 種の付着細胞と 1 種類の浮遊細胞（HL-60 細胞）を用いた。さらに癌化に至っていないヒト表皮角化細胞の HaCaT 細胞を用いた。これらの細胞株のすべてを FACS にアプライし、EpCAM 抗原、EphA2 抗原、B7H3 抗原の発現を検証した。また、毒性評価は、Sulforhodamine B (SRB)法と water-soluble tetrazolium (WST)法により実施した。

トリコテセン結合抗体については、これまで行ってきた A 型トリコテセンの T-2 toxin, HT-2 toxin, 4,15-diacetoxyscirpenol (4,15-DAS)を抗体に結合させた場合には、抗原特異的な毒性を見出すことができなかったため、今回は、より毒性の高い D 型トリコテセンの verrucaric acid (VA)とより水溶性の高い B 型トリコテセンの deoxynivalenol (DON)を用いた。これらのトリコテセンをリジン残基を標的とし、アミド結合による付加を試みた。また、以前成功しなかった A 型トリコテセンについては、システイン残基をターゲットに-SH 基への結合を目指した。

抗原の発現に差があった癌細胞株を組み合わせ、抗原特異的な毒性の検証を行った。各種培養細胞に対し、各濃度に調整した各種トリコテセン単体とトリコテセン結合抗体を添加した。WST assay により、細胞毒性の検証を行い、各濃度の阻害剤の阻害率を計算した。

3. 研究経過および成果の概要

本研究で使用する 30 種のトリコテセンは、本研究に十分量を生産、精製することができた。これらのトリコテセンを計 23 種類の細胞株に添加し、SRB assay によってその毒性を検証した。IC₅₀ 近辺の濃度を細かく調整し、より正確な IC₅₀ の検証を試みた。その結果、トリコテセン類の毒性は、細胞株によって大きな差がなく、毒性の順は D 型>A 型>B 型の順になる傾向にあった。また、強毒性の D 型トリコテセンの VA や A 型トリコテセンの T-2 toxin などは、細胞株間で差が出やすく、弱毒性の B 型

トリコテセンは細胞間ではほぼ同程度の IC₅₀ を示すことがわかった。

FACS による各抗原の発現については、3 つの細胞については、いずれも発現しているものが多かったが、それでも、ある程度の差が見られたため、その組み合わせを用いて、抗原特異的な毒性の検証を行うこととした。ただし、T-2 toxin, HT-2 toxin, DAS, DON のような小型のトリコテセンの場合は、トリコテセンを結合しても、抗原に対する結合は余り弱くならなかったが、VA のように大型のトリコテセンを結合させると、抗原への結合は低下することも示された。

本研究で検証できた細胞株では、それぞれのモノクローナル抗体そのものでは、毒性は見られなかった。DON 結合抗ヒト EpCAM 抗体 (DON-EpCAM 抗体)、T-2-EpCAM 抗体を SH-10-TC 細胞 (EpCAM negative) と SUIT-2 細胞 (EpCAM positive) に添加し、その IC₅₀ 比 (トリコテセン結合抗体/トリコテセン単体) を比較した (この際、抗体 1 分子に 10 分子のトリコテセンが結合すると仮定し、計算を行った)。その結果、EpCAM 抗原を発現していない SH-10-TC 細胞では、DON で 6.0 倍、T-2 toxin で 790 倍となり、高発現の SUIT-2 細胞では、DON で 2.4 倍、T-2 toxin で 180 倍と、SH-10-TC 細胞に比べて低くなった。そのため、抗原特異的な差が見られたと考えた。

また、VA については、VA-EphA2 抗体と VA-EpCAM 抗体を用いて、EphA3 抗体を発現している NCI-H2052 細胞と NCI-H28 細胞、EpCAM 抗体を高発現している HaCaT 細胞に対する細胞毒性を検証した。その結果、EphA2 抗原を高発現している NCI-H2052 細胞と NCI-H28 細胞では 10 µg/ml の VA-EphA2 抗体でそれぞれ 90% と 75% の毒性が見られたが、HaCaT 細胞では 30% 以下の毒性しか見られなかった。逆に VA-EphA2 抗体は、EphA2 を高発現している HaCaT 細胞では、10 µg/ml の VA 結合抗体で 60% 以上の毒性が見られ、抗原を発現していない 2 つの細胞では、10% 以下の毒性しか見られず、明らかな抗原特異性が示された。

4. 今後の研究における課題または問題点

昨年度の研究では、抗原が高発現していない細胞でも高発現している細胞と同様の毒性が生じてしまい、抗原特異的な毒性が生じなかったことが大きな課題となった。もう一つの予期せぬ困難は、研究室の細胞株の多くがマイコプラズマにより感染され、その駆除と新たに培養した細胞に感染がないかをたえずモニターしなければならなかった点である。今年度は、この二つの課題に多くのエネルギーを割くことになったが、マイコプラズマ汚染については一応コントロールができるようになった。また、細胞株の特性を徹底して検証することにより、抗原特異的にトリコテセン結合抗体による癌細胞の増殖阻害を起こすことができるようになった。しかし、まだその抗原特異的な毒性は、抗原発現細胞と非発現細胞の間に決定的な差があるとは言えない。この点についてはさらなる研究が必要と考えられる。今後はさらに、三次元細胞培養モデルを使用したトリコテセン付加抗体の試みを行っていく予定である。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

Filamentous fungi such as *Fusarium* infect important crops, fruits, and mushrooms, and produce a group of mycotoxins called trichothecene. Trichothecenes are classified into types A to D, or t-type/d-type, based on chemical structures or biosynthesis, respectively. Many trichothecenes are toxic to highly dividing cells and have various biological activities such as inhibition of protein / DNA synthesis and induction of apoptosis and autophagy. Therefore, several kinds of trichothecenes were examined as anticancer drug candidates. However, they were not only toxic to

cancer cells but also to normal cells, thus, the application trials of these trichothecenes were forced to be suspended. Nowadays, technology of antibody drug conjugates (ADCs), in which anticancer agents are bound to monoclonal antibodies against antigens that are specifically expressed only on cancer cells, has remarkably progressed. Therefore, we aimed to use trichothecenes for ADCs.

In this study, we prepared 30 kinds of trichothecenes, of which 24 kinds were t-type, and 6 kinds were d-type. Monoclonal antibodies against human EphA2, EpCAM, and B7H3 antigens were produced by incubating hybridomas, 230-1, 1B7, and 7A12 cells, respectively. Each monoclonal antibody was purified using protein G column. We used 23 kinds of cancer cell lines including SH-10-TC, SUIT-2, NCI-H2052, and NCI-H28 and one kind of transformant cell, HaCaT. Each trichothecene (deoxynivalenol [DON], T-2 toxin, and verrucaric acid [VA]) was bound to lysine-residue of each monoclonal antibody by organic synthesis. Cytotoxic evaluation was performed using Sulforhodamine B (SRB) method and water-soluble tetrazolium (WST) method.

The cytotoxic assay showed that the pattern of trichothecenes-induced toxicities showed little variation among the cell lines, with the trend of toxicity being in the order of D-type > A-type > B-type. More toxic trichothecenes such as VA and T-2 toxin tended to show wider range of IC₅₀ among the cell lines, while less toxic trichothecenes showed similar IC₅₀.

According to FACS analysis, many cell lines excepting HL-60 showed high expression of all three antigens examined, but some did not express both EphA2 and EpCAM. In case of small size of trichothecenes such as T-2 toxin, HT-2 toxin, diacetoxyscirpenol and DON, there was no less binding affinity in trichothecene-bound monoclonal antibody than antibody itself. On the other hand, in the case that VA, a larger macrocyclic molecule, was bound to monoclonal antibody, VA-bound antibody has less affinity toward its antigen than the antibody itself.

In this study, trichothecene-bound anti-EpCAM antibody tended to more toxic to the cell lines expressing EpCAM antigen, such as SUIT-2 and HaCaT cells. On the other hand, trichothecene-bound anti-EphA2 antibody tended more toxic to those expressing EphA2 antigen, such as NCI-H2052 and NCI-H28 cells. It means that antigen-specific toxicity was induced by these trichothecene-bound antibodies. Next, we will aim to perform the similar experiment using three-dimensional cell culture model, which can mimic human organs better.

超巨大ブラックホール質量降着メカニズム解明への観測的アプローチ

Approaching mass accretion mechanisms on super massive black hole through interferometric observations (英題)

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)

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年3月15日

II) キーワード/① Active galactic nucleus (AGN)

② Super massive black hole

③ Molecular gas

④ Maser

⑤ Interferometry

III) 2023年度交付額/857,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

1) “Ultra-wide band Polarimetry using VERA (VLBI Exploration of Radio Astrometry) in Japan”, Asia Pacific Regional IAU meeting 2023, 萩原喜昭他、口頭講演、8月7-11日、ビックパレットふくしま、郡山市

2) “Recent updates on the ultra-wide band polarimetry using VERA”, 14th East Asian VLBI Workshop、萩原喜昭他、口頭講演、11月27-30日、上海、中国

3) “High-resolution Imaging of Sub-millimeter Water Masers in the nuclear region of Circinus Galaxy with ALMA”, 萩原喜昭 日本天文学会春季年会 2024年3月13-15日、東京大学本郷キャンパス

4) プレスリリース(2023/9/28) Cui, Y., ... Hagiwara, Y. (38番目/78名中), et al. “Processing jet nozzle connecting to a spinning black hole in M87”, Nature, 621, 711-715 (<https://www.toyo.ac.jp/news/20230928-00623.html>)

V) 研究経過および成果の概要

1. イントロダクション

活動的な銀河の中心には活動銀河核 (AGN: Active Galactic Nuclei) と呼ばれる太陽の10兆倍以上の明るさで輝く天体があり、その明るさの源は中心にある巨大ブラックホールへ落ち込む物質から解放される重力エネルギーであると消去法的に理解されている。AGNの中心には、質量が太陽の100万倍以上の超巨大ブラックホール (SMBH) があり、SMBHの巨大な質量は、周囲から落ち込むモノ (ガス) の流れ (質量降着) によりその質量を増し、成長しているとされる。しかし、降着がどのように、また SMBH からどれくらいの距離で発生しているのかは皆目分かっていないのが現状である。

現状の観測的研究からは、(これまで観測された) いずれの銀河系近傍の AGN を擁する銀河でも、SMBHの中心から数パーセク (約10光年) より外側では、降着は概ね生じていないということが分かっている。一方で高密度分子ガスにより、AGNの中心でSMBHを取り囲むように分布するトーラス・円盤構造とその運動が観測されており、それらの力学構造が質量降着に果たす役割の解明も待たれている。

2. 研究方法

我々は AGN 内で生じているはずの質量降着を観測的に捉えることを目標にした。SMBH に落ち込むガスは、SMBH の中心の位置から1パーセク (pc) 以内、トーラス・円盤構造よりさらに内側の領域で生じるという作業仮説をたて、それに必要な空間分解能を備える電波干渉計の ALMA (アルマ) 望遠鏡で取得されたデータを利用した。ALMA は国際的にオープンな望遠鏡であり、観測提案が認められれば誰でも利用できる装置である。また膨大な量のアーカイブデータもあり、データベースにアクセスすることで、過去の観測データを利用した研究も可能である。

トラス・円盤より内側においてガスの運動をできるだけ詳細に識別するために、銀河系近傍のコンパス座にある Circinus 銀河(約 4.2 メガパーセクの距離)をターゲット天体を選んだ。ALMA 望遠鏡ではその高い空間分解能(解像度)を活かし、CO, HCN など熱的に励起された分子輝線や非熱的放射のメーザー輝線(メーザー(maser)：可視光で見えるレーザーのマイクロ波版)を観測することにより、その速度場を詳細に測定して内側へのガスの移動や質量などを計算することができる。

ALMA が達成する空間分解能約 0.02 秒角程度(0.42pc 程度に相当)という、現時点ではほぼ最高分解能で観測したアーカイブデータを利用して解析を進め、研究を進めた。一方、ALMA への新たな観測提案を、やや改善した解像度で提案したが認められなかったため、本課題では主にアーカイブデータを利用して Circinus 銀河の AGN 中心部付近から放射される水蒸気ガスメーザーの運動を調べて、銀河のより内側の SMBH へのガスの移動を実証することを試みた。

3. 研究経過および成果の概要

1) これまで実施した Circinus 銀河の 0.3" の空間分解能による観測の解析により、22 GHz 帯 H₂O メーザーでイメージングされた回転ガス円盤とほぼ同じ方向に、321GHz の H₂O メーザーで弱い速度勾配が同定されている(およそ 9 km s⁻¹ pc⁻¹) (Hagiwara et al. 2021)。

この速度勾配は空間的には分解されているとは言えず、物理量としてあまり意味のあるものではない。今回利用したアーカイブデータは、321GHz 帯で 0.02" の解像度(約 0.42pc, 約 1.4 光年の距離に相当)で電波撮像されたデータであり、現時点で ALMA でサブミリ波メーザーを観測可能なほぼ最高解像度のデータである。

図 1 には、321 GHz H₂O メーザースポットから成る電波イメージを示した。銀河円盤の傾きの方向を参考に、位置-速度図を作成して、メーザーの速度場を詳細に測定することを試みた。図 1 からわかることは、銀河の系統速度に対して赤方偏移している速度成分の分布(位置-速度図の下半分の領域)は、中心の SMBH の重力に束縛されてケプラー回転運動(回転速度 V が軌道半径 r の平方根に反比例するような運動： $V \propto 1/\sqrt{r}$)をするガス円盤の存在を仮定した場合と矛盾しないことがわかる。一方、青方偏移している速度成分の分布(位置-速度図の上半分の領域)は、ケプラー回転モデルでは説明できない。この結果から、H₂O メーザーでトレースされたガスの一部は、ブラックホール中心から約 0.42pc の位置でケプラー回転運動を捉えた可能性があるが、ケプラー回転では説明できないメーザーの速度成分がある。後者の青方偏移した速度成分は強度変動が激しく、中心核付近から噴き出すアウトフロー起源ではないかという定性的な解釈をしているが、検証が必要である。

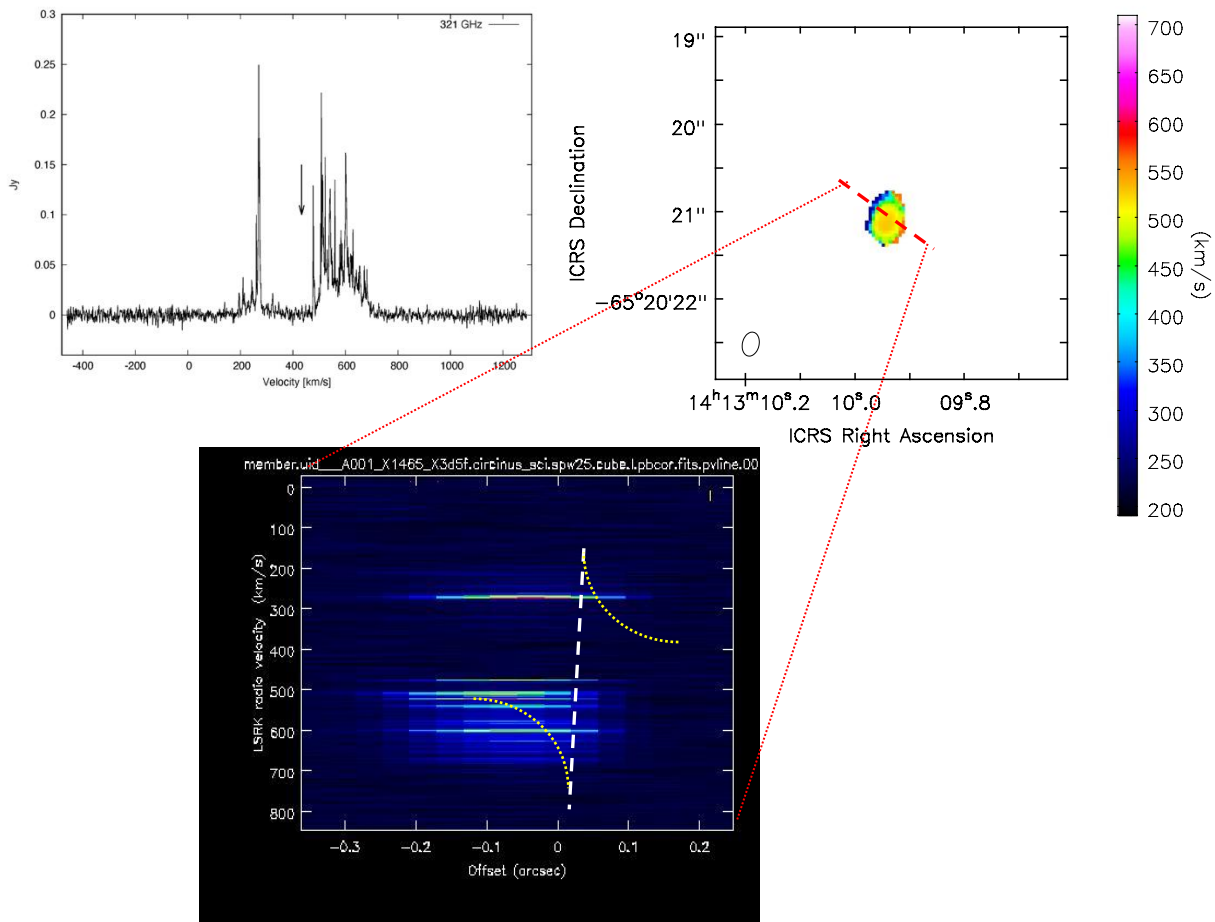


図1 Circinus 銀河の中心部領域から放射される H₂O メーザー輝線 (321.226 GHz) のスペクトル (左上)、速度場 (velocity field) 図 (右上)、および位置-速度図 (position-velocity map: PV map) (下段) (Hagiwara 2024) を配置した。メーザースペクトル (左上) の下向き矢印は、銀河の系統速度 ($V_{\text{LSR}} = 433 \text{ km s}^{-1}$) をあらはす。速度場図では、およそ $V=300\text{--}650 \text{ km s}^{-1}$ の範囲の速度場が中心領域に集中しているように見える (速度スケールは、カラーバーで表示)。点線の方法に沿い、PV map (縦軸は速度 V 、横軸は中心位置 (SMBH の位置) からの距離 r を角距離 (arcsecond) で表示) 作成した。PV map 中の点線 (黄色) は、中心にある SMBH の重力に束縛されてケプラー回転運動をするガス円盤の存在を仮定した場合のおおよその回転曲線 ($V \propto r^{-0.5}$) を示す。

2) おとめ座銀河団の巨大楕円銀河 M87 のジェットの歳差運動を測定

おとめ座銀河団の楕円銀河メシエ 87 (M87) には、中心から光速に近い速さで噴出するジェット (超高温のプラズマ流) の存在が知られ、中心の SMBH 付近から噴出すると考えられている。20 年以上に渡り蓄積された米国の VLBA や東アジア VLBI ネットワーク観測網 (East Asia VLBI Network: EAVN) による観測データを調べた結果、波長 7-13mm の電波で観測されるジェットの示す周期的な変動は、SMBH の自転運動で引き起こされたジェットの歳差運動 (precession) によるものであると結論した。天文学・物理学史上初めて、AGN の中心にある SMBH が自転 (スピン) している証拠を突き止めたことになる (Cui et al. 2023)。SMBH へ降着したガスが、外向きにジェットとしてエネルギーを放出している証拠でもあり、AGN 中心でガスの降着が生じていることをより支持する結果であるともいえよう。本研究では、日本の VERA 望遠鏡が含まれる EAVN の性能改善に協力し、参加して成果を上げることができた (Hagiwara et al. 2022)。

4. 今後の研究における課題または問題点

本研究課題を進めている最中、国立天文台の研究者を中心とするグループが、Circinus 銀河の中心から 6 光年程度以内の領域にて、高密度ガスにより「降着流」を捉えたという報告が 2023 年の 11 月に発表された (Izumi et al. 2023)。そこでは中心付近のガスの「重力不安定性」のた

め円盤上のガスの回転運動が弱まる結果、中心の巨大ブラックホールの重力にガスが引かれて落ちていくのを突き止めたという結論になっている。彼らの研究成果によれば、本課題で目標としている「質量降着メカニズム」の一端が解明されたともいえる。今後の課題として、本課題や上記研究で調べた空間スケールより小さいスケールでの質量降着現象を、2桁以上、空間分解能に優れる VLBI とメーザー輝線を利用して調べていくことに意義があると考えます。

参考文献 Cui et al. 2023, *Nature*, 621, 711; Hagiwara 2024, 東洋大学紀要 自然科学篇, 68, 89; Hagiwara et al. 2021, *The Astrophysical Journal*, 923, 251; Hagiwara et al. 2022, *Galaxy*, 10, 114; Izumi et al. 2023, *Science*, 382, 6670

VI) Summary

At the center of active galaxies lie objects known as Active Galactic Nuclei (AGN), shining with brightness exceeding the sun by over 10 trillion times. The source of the huge brightness is thought to be a gravitational energy released from matter falling (mass accretion) onto a super massive black hole (SMBH) residing at the center of AGN. Our primary aim is to detect an evidence for the mass accretion feeding SMBH, driving what is known as a jet—an outflowing plasma emitting immense luminosity.

Observational studies thus far suggest that the accretion in galaxies harboring AGN generally does not occur beyond several parsecs (about a few tens of light-years) from the center of galaxies. However, the dynamics of dense molecular gas, forming torus or disk-like structures around AGN centers, await clear interpretation regarding their role in the mass accretion process.

Our study aimed to detect evidence of mass accretion feeding SMBHs, hypothesizing that dense molecular gases fall onto SMBHs within about 1 parsec from the AGN center, even closer than the torus/disk structure surrounding SMBHs. Utilizing data from the Atacama Large Millimeter/submillimeter Array (ALMA) telescope in Chile, offering highest spatial resolution at sub-millimeter wavelengths, we addressed to resolve the inner sub-parsec structure of AGN in the Circinus Galaxy. To identify gas motion as detailed as possible within the inner regions of AGN, we conducted the archived data analysis of 321.226 GHz water maser line in the $10_{29}-9_{36}$ transition towards the center of the galaxy at 0.02 arcsecond angular resolution (equivalent to ~ 0.42 parsec), enabling detailed measurements of velocity fields of the maser to calculate gas motion and mass within the inner disk edge.

Our data analysis revealed distinct velocity gradients traced by the maser spot distribution, explicable by Keplerian rotation bound by the strong gravity due to the central SMBH. Additionally, we observed Doppler-shifted velocity components with significant time variability of the flux density, suggesting molecular outflows potentially originating at near the center of the Circinus Galaxy, which should be examined with further observations.

Furthermore, a study of the well-known giant elliptical galaxy M87 provided the first evidence of black hole spin and elucidated the launching mechanism of the spectacular radio jet, further supporting the presence of mass accretion onto AGN centers. Through collaboration and contributions to enhancing the performance of the East Asia Very Long Baseline Interferometer (VLBI) Network, including VERA (VLBI Exploration of Radio Astrometry) telescope in Japan, we achieved such significant results.

MS Harley 3810 の分析とヨーロッパにおけるオルフェウスの受容と変容
(和題)

The Reception and Modification of *Orpheus* in Europe: An Analysis of MS
Harley 3810 (英題)

研究代表者 十重田 和由 (経済学部国際経済学科)

I) 研究期間/2023年6月30日~2024年3月15日

II) キーワード/①『オルフェオ卿』 *Sir Orfeo*
② MS Harley 3810 MS Harley 3810
③ オルフェウス *Orpheus*
④ 中英語 Middle English
⑤ 中英語ロマンス Middle English Romance

III) 2023年度交付額/1,025,000 円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

‘*The Reception and Modification of Orpheus in Europe: An Analysis of MS Harley 3810*’ 『東洋大学人間科学総合研究所紀要』(2025年3月予定)

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

本研究の目的は、『オルフェオ卿』(以下 *Sir Orfeo*) 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ことである。本年のプロジェクトでは The British Library が所蔵する MS Harley 3810 に収容されている *Sir Orfeo* に焦点をあて、そこに所蔵されている *Sir Orfeo* のバージョンの形成および背景について調査を行った。同時にギリシャ神話の *Orpheus* から中英語ロマンス *Sir Orfeo* への変容について探った。

2. 研究方法

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 *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 Harley 3810 の形成および、*Sir Orfeo* の形成について洞察を試みる。The British Library にて MS Harley 3810 の写本の分析を行うと同時にそのデジタルデータを入手し、より詳細な分析を行った。当該写本に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を試みた。研究手法は以下のとおりである。

- 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。*Sir Orfeo* に関する最新の研究論文についての調査を行う。
- The British Library が所蔵する MS Harley 3810 の分析を行う。

d. 上記 1, 2 の作業によって明らかになった事象を、MS Harley 3810 に収容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。

3. 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 Harley 3810 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 Harley 3810 のデジタルデータを The British Library にて入手し、そこに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。過年度の研究で行った、*Sir Orfeo* の底本とされている MS Advocates 19.2.1 そして MS Ashmole 61 に関する調査結果との比較を行った。それにより、MS Harley 3810 に収容されている *Sir Orfeo* の持つ独自性を明らかにすることができた。

4. 今後の研究における課題または問題点

中英語 *Sir Orfeo* はギリシャ神話の *Orpheus* 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 *Orpheus* から *Sir Orfeo* への系譜は明らかになっていない。本研究により、その原点が明らかでない *Sir Orfeo* の、作品としての成立に光を当てることが期待される。本プロジェクトは *Sir Orfeo* 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最終章となる。

2021 年度、2022 年度のプロジェクトに加えて 2023 年度の研究により *Sir Orfeo* の 3 写本を分析することができた。2023 年度のプロジェクトでは The British Library が所蔵する MS Harley 3810 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った。それにより、ギリシャ神話 *Orpheus* から中英語 *Sir Orfeo* へかけての受容と変容について探ることも期待された。この両者の作品を繋げるリンクについては残念ながら現時点では明らかにすることができていない。将来的には中世フランス語の作品の調査を行うことにより、ギリシャ版 *Orpheus* と中英語 *Sir Orfeo* の繋がりについて明らかにすることが期待される。

継続研究として、ギリシャ神話 *Orpheus* と中英語 *Sir Orfeo* をつなぐ文献について中世フランス語の作品について調査する必要性が存在する。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

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 Harley 3810 housed in the British Library. MS Harley 3810 is one of the existing three manuscripts that contain *Sir Orfeo* that is preceded by the version in MS Advocates 19.2.1, which is believed to be the base text of Middle English *Sir Orfeo*. The analysis of MS Harley 3810 was hoped to yield information that would help find the foundation and the making of *Sir Orfeo*, which is still unclear.

The research comprised of three steps: 1. analysis of foregoing research on *Sir Orfeo*, 2. analysis of *Sir Orfeo* with reference to the digital data of MS Harley 3810, and 3. analysis of MS Harley 3810 for a clue to connecting the Greek mythology *Orpheus* to Middle English *Sir Orfeo*.

Through the analysis of MS Harley 3810, more evidence of the making of Middle English *Sir Orfeo* has been collected. However, the link between the Greek mythology *Orpheus* and Middle English *Sir Orfeo* is has not been established yet. Further research on Medieval French Romance works is hoped to elucidate the link between *Orpheus* and *Sir Orfeo*.

副業を認可する要因とそのパフォーマンスの分析（和題）

Does an Approval of Multiple Job Holdings Affect Firm-Level Productivity?（英題）

研究代表者 川上 淳之（経済学部経済学科）

I) 研究期間／2023年6月30日～2024年3月15日

II) キーワード／①副業

②働き方改革

③新型コロナウイルス

④生産性

III) 2023年度交付額／800,000円

IV) 研究発表／学会および口頭発表

2024年度中に研究報告を行う予定。

V) 研究経過および成果の概要（日本語 2000字程度）

1. イントロダクション

働き方改革および新型コロナの流行期において副業を認可した企業において企業レベルの生産性に影響が生じるかを、東洋経済「CSR調査」および「Nikkei-NEEDS Financial Quest」から入手した財務データを用いて分析を行った。分析の結果、新型コロナ流行期前に副業認可を行っている企業においては、生産性が上昇している傾向がみられた。また、企業内にキャリアアップ支援制度を導入している企業でその効果がみられたことから、人材育成に重点をおいている企業で、副業認可の効果が得られると解釈される。

2. 研究方法

副業認可が企業生産性に与える影響を分析するにあたり、副業認可の状況は東洋経済「CSR調査」から取得を行い、企業生産性の推計には「Nikkei-NEEDS Financial Quest」から得られる財務情報を用いる。なお、これらのデータは「働き方改革実行計画」が示された2017年から2022年までの上場企業を対象とするものである。生産性の推定には、Olley and Pakes (1996)によって開発され、Levinsohn and Petrin (2003)によって改良された内生性・セレクションバイアスを考慮した生産性指標を採用する。これら2つの情報を接合したデータベースから、副業を認可している企業とそうでない企業と比較を行った場合に、副業認可企業の方が生産性は高い傾向が確認される。

この差異は、生産性が高い企業において先進的な人事施策である副業認可が行われていることを示唆している可能性があるため、因果推論の手法として近年注目されているパネルデータを用いた

多時点で処置が行われる場合の Difference-in-differences (Callaway and Sant'Anna, 2020) を用いて、その効果の検証を行う。この分析においては、各自点に行われた処置の前後でアウトカム（本研究においては、企業レベルの生産性）がどのように変動したかを時系列変化で観測をすることができる。

3. 研究経過および成果の概要

現在、上記の分析手法を用いて生産性に関する推定結果を得ている。その結果からは、副業認可による生産性への影響は、新型コロナウイルスの流行前において確認され、コロナ流行期以降に副業を認可する企業においては、その効果をみることはできなかった。この分析結果の解釈として、コロナ禍前における副業認可は、「働き方改革」で提言されている副業を通じたイノベーション促進を目的としていることに対して、コロナ禍以降の副業は本業が制限される環境下において、従業員の収入確保のための副業認可が相対的に多かったことによるものであると解釈することができる。

その傾向を確認するために、「CSR 調査」から得られる他の人事施策の情報であるキャリアアップ支援制度などの人材育成を促進する制度を採用している企業と、これらの制度を採用していない企業で分けて分析を行ったところ、人材育成に重点をおいていると考えられる企業において、副業認可が生産性に与える影響を観察することができた。

4. 今後の研究における課題または問題点

分析における Robustness Check として、新型コロナウイルスの影響を大きく受けた産業における副業認可の影響および、他の人事施策（裁量労働、短時間正社員、フレキシブルな有給休暇など）の影響を、追加的に分析を行う予定である。また、2024 年の論文執筆においては、助成金で購入した 2023 年の「CSR 調査」と 2023 年の財務データを追加し、より長期的な副業認可の影響を検証したい。今後の研究課題として、生産性以外の本業企業の労働環境の変化への影響（労働時間・残業時間・年間給与・従業員数）も分析が残される。本研究の論文執筆以降も、「働き方改革」において推し進められた副業認可施策の効果検証を行うことを計画している。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

Using human resource management practice data from "Toyo Keizai CSR Survey" and financial data from the "Nikkei-NEEDS Financial Quest", we analyzed whether firm-level productivity was affected in firms that approved multiple job holdings during the period of work style reform and the Covid-19 epidemic. The results showed that productivity tended to increase in firms that had approved holding multiple jobs prior to the Covid-19 pandemic. In addition, the effect was observed in firms that had introduced a career development support system within the firm, which can be interpreted as meaning that firms that place emphasis on human resource development can benefit from the approval of multiple job holdings.

Currently, we are using the above analysis method to obtain productivity estimates. The results show that the effect of approval of multiple job holdings on productivity was observed before the outbreak of the new coronavirus, but not for firms that approved multiple job

holdings after the coronavirus outbreak. This result can be interpreted as follows: the approval of side jobs before the coronavirus outbreak was intended to promote innovation through second jobs, as proposed in the "reform of work styles," while the number of approved side jobs after the coronavirus outbreak was relatively high to secure income for employees in an environment where their main job was restricted. This can be interpreted as being due to the fact that the number of employees who were approved for side jobs to secure income in an environment where their main job was restricted.

To confirm this trend, we conducted a separate analysis of firms that have adopted systems to promote human resource development, such as career development support systems, which is information on other personnel policies obtained from the "CSR Survey," and firms that have not adopted these systems, in firms that are considered to place a high priority on human resource development. We were able to observe the impact of the second job authorization on productivity in firms that were considered to be focused on human resource development.

Based on the above analysis, we plan to conduct an additional analysis as a robustness check of the impact of multiple job holdings approval and the impact of other HR policies (discretionary work, short-time regular employees, flexible paid leave, etc.) in industries that have been significantly affected by the new coronavirus. In writing the 2024 paper, we would also like to add the 2023 CSR Survey purchased with grant funds and the 2023 financial data to examine the longer-term impact of multiple job holding approval. As a future research topic, the impact on changes in the work environment of mainline firms other than productivity (working hours, overtime hours, annual salaries, and number of employees) also remains to be analyzed. After writing the paper for this study, we plan to continue examining the effects of measures to authorize side hustles promoted as part of the "reform of work styles."

エチオピアにおける農道拡張政策の農村生活に及ぼす短期的影響（和題）
Short-term Impact of Rural Road Expansion Policy on Rural Livelihoods in
Ethiopia（英題）

研究代表者 入谷 聡子(経済学部経済学科)

I) 研究期間/2023年6月30日~2024年3月15日

II) キーワード/①農村道路網

②技術採用

③市場統合

④開発途上国

III) 2023年度交付額/ 946,000 円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

学会発表

入谷聡子 「エチオピアにおける農道整備の変遷と農村生活」日本アフリカ学会第60回学術大会、幕張国際研修センター、2023年5月13日

V) 研究経過および成果の概要（日本語 2000字程度）

1. イントロダクション

アフリカ農村に接続されている道路(本書では農道と呼ぶこととする)は、住民が自ら敷設をし、通行量の変化に応じて徐々に拡張を加えていく場合が多い。そのため、道路規格や通行性について、政府も全容を把握していない場合が多く、農道の政策評価を行った研究はデータの未整備から十分にされてこなかった。

一方、高速道路や鉄道などの交通インフラの政策評価を行った既存研究では、新しく都市部に接続された農村では、おおむね消費や農業生産に正の影響を与えることが示されている。また貧困率が減少し、天災に見舞われた際の脆弱性の低下がみられている。一般的に交通インフラの建設には多額の費用がかかることから、多くの場合、投資へのリターンが高いと思われるすでに経済的に発展している地域への整備が優先され、ランダムに建設・整備されるような状況はまれである。道路も同様に経済的・政治的に優先される地域に行われる傾向があり、地域の地理的属性や社会経済的属性が交絡因子となり、道路と消費や農業生産といった変数に疑似相関が生じる可能性が高い。このような問題に対処した研究が、昨今様々な形で出てきているが、道路整備の消費や所得への正の効果について、いまだ一貫した結果は出ていない。例えば Asher & Novostad (2020)の研究では、インドの Pradhan Mantri Gram Sadak Yojana (PMGSY)という農道整備プログラムが、まず人口を閾値と使って、まず 1000人以上の村を対象として実施されたことを利用して、回帰不連続デザイン(RDD)分析を行った。その結果、農道の貧困削減効果に関しては、農業から賃金労働への労働者の移動が起こるだけで、農道整備だけでは消費・資産には有意な効果はみられなかった。しかしエチオピア農村を対象として、農道整備の前後のデータを用いた DID 推計では、農道の整備が消費や農業・非農業所得の形成に正の影響を及ぼしているとみられる。

このような先行研究の結果の差異について、筆者は農道に関して、道路が増え、農村間の接続が容易になることと(道路密度が増える)、市場などへの目的地のアクセスが向上すること(目的地までの所要時間の改善)は異なる経済的影響を持つと考える。確かに辺鄙な地域において、農村間の接続が容易になることで、地域的な天災の負の影響をリスクシェアリングしやすくなるなど、良い効果は生まれるかもしれない。しかし、農業所得の恒常的な向上をもたらすには、都市部からの農作物の買付需要を増やさなければならず、市場へのアクセスの向上が不可欠である。よって本稿では、農作物の供給に関して、道路を増やすことの効果(道路までの所要時間の改善)、と道路の通行性(市場ま

での所要時間の改善)が増加することの効果に分けて、農道の通行性改善の穀物収量への効果を推計したい。

2. 研究方法

エチオピアではすべての農村を全天候型道路への接続することを目指した、URRAP(2010～)というプログラムが実施され、低予算で労働集約的な工法で作られた全天候型の農道の整備が進められている。このプログラムは全農村への接続を目指しており、投入財や農作物を運搬する程度の通行に耐えられる強度の砂利道の敷設を中心としている。URRAP 開始前後の道路の通行性については、車両が乗り入れ可能な全道路に関し、道路の規格(アスファルト、砂利、土など)や管理主体が収められたデータがあり、このデータを用い、道路が単純に増えて、農村間や農村内での交通が改善することによる効果と農村から道路への通行性が改善する効果に分けて、農道整備が穀物の収量に及ぼす影響を比較した。

具体的には道路のネットワークデータの上に、傾斜や植生・水源等のラスターデータを重ね、250m×250m ピクセルが最小単位の地表面データ(ラスター)を作成し、道路種類ごとの速度(アスファルト、砂利、cobble, earth など)から、250m を移動する所要時間(分)を計算した。続いて、村の中心地から市場または道路までの累積所要時間が一番近いルートを特定し、その所要時間を計算した。そして本データで作成した、村から全天候型道路まで、また市場までの所要時間を、農村世帯を対象にした世帯パネルデータ(Ethiopian Rural Household Survey 2011, 2013, 2015)と合わせ、穀物収量への道路整備の効果を推計した。

3. 研究経過および成果の概要

差の差分分析やプロペンシティスコアマッチングを行う予定としているが、まず前段階として、データセットを構築後、穀物の収量を目的変数とした固定効果推計を行った。その結果、道路整備が進み、市場への所要時間が減少すると、穀物全体やメイズの収量が増加していた。しかし、穀物によりその程度が大きく異なり、テフ・大麦・小麦への効果は小さく、非有意であった。一方、道路への所要時間の減少は、小麦の収量を有意に正に増やすが、その他の穀物に対しては有意な効果はなかった。穀物の収量に限った場合、市場への所要時間が減少した場合のほうが、道路への所要時間の減少した場合より効果が大きかった。

4. 今後の研究における課題または問題点

農道整備が農作物の収量に正の影響を持つ経路として、肥料や高収量種子に関する情報の伝播が進んでいることや、都市部からの買い付け需要に呼応した供給の増加などが考えられる。穀物収量以外の農業内所得・農業外所得・近代農法の採用などの変数を目的変数として入れた推計を行い、背後にある経路を明らかにしたい。また農作物の価格の内生性への対処として、差の差分分析やプロペンシティスコアマッチングを行う予定である。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

Roads connecting rural Africa are often constructed by residents themselves, gradually expanding in response to changes in traffic volume. Consequently, rural road standards and accessibility are widely unknown to researchers, leading to insufficient research on policy evaluation for rural roads. Typically, due to the substantial costs associated with constructing transportation infrastructure, development in economically advanced regions where investment returns are perceived as high is prioritized. Road development tends to prioritize economically and politically favored regions, where geographical and socio-economic attributes

become confounding factors, potentially leading to spurious correlations between roads and variables such as consumption and agricultural production. Although studies addressing such issues have emerged in various forms recently, consistent results regarding the positive effects of road construction on consumption and income have yet to be established.

In Ethiopia, the Universal Rural Road Access Program (URRAP) implemented since 2010 aims to connect all villages to all-weather roads. This program focuses on constructing all-weather gravel roads capable of withstanding the transportation of inputs and crops. Data on road passability before and after the initiation of URRAP are available for all roads accessible to vehicles. Using this data, the study compares the effects of rural road construction on grain yields by differentiating between the effects of increasing roads and improving connectivity to local markets.

While planning to conduct difference-in-differences analysis and propensity score matching, the study initially performed fixed-effects estimation with grain yield as the dependent variable. The results showed that as road construction progressed and travel time to markets decreased, overall grain and maize yields increased. However, the effects varied significantly across different types of grains, with minimal or insignificant effects observed for teff, barley, and wheat. Conversely, decreasing travel time to roads significantly increased wheat yields but had no significant effects on other grains. When considering grain yield alone, reducing travel time to markets had a larger effect than reducing travel time to roads.

As pathways through which rural road construction positively affects grain yields, dissemination of information on fertilizers and high-yield seeds and increased supply in response to demand from urban areas are conceivable. The study intends to include variables such as agricultural and non-agricultural incomes and adoption of modern agricultural inputs as dependent variables and conduct estimations to elucidate underlying pathways. Additionally, to address endogeneity problem, the study plans to conduct difference-in-differences analysis and propensity score matching.

中国都市空間構造の変化が農民工の賃金に与える影響に関する実証研究

An Empirical Study on the Impact of Changes in Urban Spatial Structure in China on the Wages of Migrant Workers

研究代表者 王 娜(経済学部国際経済学科)

I) 研究期間/2023年6月30日~2024年3月15日

II) キーワード/①都市空間構造 Urban Spatial Structure

②農民工 Migrant Workers

③賃金 Wage

④産業集積 Industrial Agglomeration

⑤人的資本 Human Capital

III) 2023年度交付額/580,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

・「Has China Fallen into the Middle-Income Trap? Comparison with Asian Countries」『経済論集』49(2)、2024年3月

・「『中所得国の罫』再考—アジア諸国の比較をめぐって—」『アジア文化研究所研究年報』第58号、2024年2月

・中国経済経営学会 2024年度全国大会発表、2024年11月予定

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

近年、中国における都市化の持続的な推進に伴い、人口と経済活動が大都市圏および中心都市へ集積していく傾向があり、労働者の賃金に対する都市レベルなどの地域特性の影響を考慮するようになった。本研究の目的は、中国都市空間構造の変化が農民工の賃金に与える影響を明らかにすることにある。これまでの研究では、都市構造もしくは都市空間構造と労働者の賃金に関するものが多かった。空間経済学では、集積・分散によって経済活動の地理的分布が決定されるため、都市内部の集積効果だけでなく、都市間の分散効果によってもたらされる都市空間構造の変化を捉える必要がある。また、中国の都市・農村の二重構造の下で、都市労働者のみならず、農民工（農村からの出稼ぎ労働者）の地域間移動も考慮する必要がある。そこで、本研究は、都市の人口と経済活動の空間的分布に焦点を当て、農民工の地域間移動を考慮する空間応用一般均衡モデルに基づき、賃金決定要因の仮説を立てたうえで、中国の都市マイクロデータなどを用いた計量モデルを構築し、集積・分散によってもたらされる都市空間構造の変化が農民工の賃金にどのような影響を与えるのかを解明する。

2. 研究方法

本研究では、中国における都市空間構造の変化が農民工の賃金に与える影響について解明するために、都市空間構造の変化の測定と計量モデルの構築に重点を置く。都市の人口と経済活動の空間的分布に焦点を当て、農民工の地域間移動を考慮する空間応用一般均衡モデルに基づき、賃金決定要因の仮説

を立てる。そのうえで、都市空間都市密度による「集積力」と都市間の距離による「分散力」の両方で都市空間構造の変化を測る。このように、集積・分散によってもたらされる都市空間構造の変化を捉えながら、中国の都市マイクロデータに基づき、ダイナミック・パネルデータモデルや媒介効果モデルなどの統計的実証分析により、都市空間構造の変化が農民工の賃金にどのような影響を与えるのかを明らかにする。

3. 研究経過および成果の概要

(1) 研究経過

昨年度では、研究資料の収集・整理とデータベースの整備を行った。中国の都市マイクロデータや農民工の就業実態を調査する個票データなどをマッチングして、実証研究に用いられる、都市空間構造の変化が農民工の賃金との結びつきを示すデータベースの構築と初歩的な分析の実施を中心に進めてきた。また、データベースを整備したうえで、都市空間構造の変化を測定した。都市システム指標や都市スプロール指数など従来の計測方法を活用しながら、人口密度や就業密度などの都市密度指標を用いて、都市内部の集積効果によってもたらされる都市空間構造の変化を測定した。それと同時に、緯度・経度距離や鉄道距離などの都市間距離指標を加えて、都市間の分散効果によってもたらされる都市空間構造の変化も測定した。

今年度では、仮説に基づく計量モデルの構築を重点に置きたい。農民工の地域間移動を考慮し、農民工の効用最大化を取り入れた空間応用一般均衡モデルに基づき、均衡賃金はどのような要因によって影響されるかについて、いくつかの仮説を立てる。仮説のもとで関連変数を取り上げて、計量モデルを構築する。都市空間構造の変化が農民工の賃金に与える影響を実証的に解明することによって、インプリケーションを導く。

(2) 成果の概要

昨年度の研究活動では、データベースの構築と初歩的な分析の実施を中心に行った。また、アジア諸国の経済成長、それに伴う「中所得国の罠」といった課題、グローバル経済の中でアジアの果たす役割を解明してきた。具体的には、アジア諸国の経済成長およびアジア諸国の比較をめぐる「中所得国の罠」について解明した。『『中所得国の罠』再考—アジア諸国の比較をめぐる—』と「Has China Fallen into the Middle-Income Trap? Comparison with Asian Countries」という論文が、それぞれ『アジア文化研究所研究年報』と『経済論集』で刊行されるようになった。

4. 今後の研究における課題または問題点

本研究では、中国で都市規模の急速な拡大に伴って、労働者の賃金に対する都市レベル等の地域特性の影響を考慮するようになった。その中で、集積経済の役割として、都市・地域における人的資本と産業集積が労働者の賃金に影響を及ぼすことが検討されてきた。人口や産業が集積レベルの高い地域に集中する傾向があり、次第にその地域の集積レベルを高度化させることに繋がっていくため、人口と産業の空間的分布に影響し合い、地域における人的資本と産業集積の間には交互作用が存在する可能性がある。しかし、このような両者の間に存在しうる交互作用が賃金にどのような影響を与えるかを、解明するまでに至っていない。

今後は、人口と産業の空間的分布に着目し、中国都市レベルのマイクロデータを用いて、人的資本と産業集積の交互作用のメカニズムを解明したうえで、両者の交互作用効果が地域間賃金格差にどのような影響を与えるかを実証的に解明したい。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

In recent years, with the continuous promotion of urbanization in China, there has been a tendency for population and economic activity to concentrate in metropolitan areas and central cities, and we consider the influence of regional characteristics such as city level on worker wages. The purpose of this study is to clarify the impact of changes in the spatial structure of Chinese cities on the wages of peasant workers. In the previous study, there were many urban structures or urban space structure and labor wages. In spatial economics, the geographical distribution of economic activities is determined by agglomeration and dispersion, so it is necessary to capture not only the agglomeration effect within a city, but also the changes in urban spatial structure brought about by the dispersion effect between cities. Furthermore, under the dual structure of urban and rural areas in China, not only urban workers should be considered, but also the inter-regional mobility of migrant workers. Therefore, this study focuses on the spatial distribution of urban population and economic activities. Based on the general equilibrium model of spatial application considering the inter-regional movement of migrant workers, and on the basis of establishing the hypothesis of wage determining factors, a econometric model using micro data from Chinese cities is constructed to elucidate the impact of urban spatial structure changes caused by agglomeration and dispersion on migrant worker wages.

In order to clarify the impact of changes in urban spatial structure on the wages of migrant workers in China, this study focuses on establishing measurement and econometric models for changes in urban spatial structure. Focusing on the spatial distribution of urban population and economic activities, a hypothesis on wage determinants is established based on the spatial application of the general equilibrium model considering the cross regional mobility of migrant workers. On this basis, the changes in urban spatial structure are measured by the "cohesion" of urban density and the "dispersion" of distance between cities. In this way, while capturing the changes in urban spatial structure caused by agglomeration and dispersion, based on China's urban micro data, statistical empirical analysis is conducted through dynamic panel data models and media effect models to reveal the impact of urban spatial structure changes on the wages of migrant workers.

In the study activity of last year, the construction of database and elementary analysis were carried out mainly. Moreover, the economic growth of Asian countries, and the problems such as the "trap of middle-income countries", and the role of Asia in the global economy have been clarified.

J-REIT への農地組み入れ開始が内包する金銭的影響の予測と評価：定量的アプローチ（和題）

Research on Japanese Farmland Management and Securitization（英題）

研究代表者 芦谷 典子（経済学部総合政策学科）

研究分担者 なし

I) 研究期間／2023年6月30日～2024年3月15日

II) キーワード／①不動産証券化

②J-REIT

③都市計画

④農地

⑤農業政策

III) 2023年度交付額／ 592千円

IV) 研究発表／学会および口頭発表

Noriko Ashiya (2023) 'Japan-Specific Viewpoints for Bridging City Planning and the Industry of Agriculture'
MAGKS Joint Discussion Paper Series in Economics 23-2023, 1-27, 2023年10月

<https://www.uni-marburg.de/en/fb02/research-groups/economics/macroeconomics/research/magks-joint-discussion-papers-in-economics/papers/2023/23-2023-ashiya.pdf>

Noriko Ashiya (2023) 'Japan-Specific Viewpoints for Bridging City Planning and the Agriculture Industry'
International Workshop Philipps-Universität Marburg, Université de Strasbourg, and Toyo University, 18-19
September 2023, 2023年9月

V) 研究経過および成果の概要（日本語 2000字程度）

1. イントロダクション

この研究は、土地建物（一般的な不動産）のマネジメント手法を、農地（特殊な不動産）に適用することを通じて、30年来の停滞にあえぐ日本の農地農業の活性化を図りたいという問題意識のもとに遂行されてきた。平成のバブル崩壊後の不動産市場の低迷が2001年の東証REIT市場開始により活性化へ転じたことは広く知られており、農地も同様のプロセスで活性化できないかという思いが契機となっている。ただ、農地と一般の土地は似て非なるものであり、所轄庁が異なることはもちろんのこと、その権利関係や活用法を制限あるいは緩和する法も制度も異なっている。そのため実地調査として農業の現場に向かうも、一筋縄にはいかない、あるいは農地を証券化するという発想そのものが真つ向から否定されかねないという難しさが研究のうえに在り続けていた。難しさの背景には日本の農業に積み重なった歴史があり、経済の原理あるいは利潤に根差した指標のみを追うことでは農地農業は到底活性化しないというのがまずは研究のプロセスに立ちはだかっていたということを記したい。

2. 研究方法

このような困難さを受けて、研究は、まず、農地農業の現状を分析可能な形式で整理することからの着手とされた。定量的に農地農業の活性化にアプローチするために、紙ベースの農地農業のデータを電子化し、さらに分析可能な形式に変換した。並行して、農地農業の現場について、行政側の認識を調査し、農業の現場に出向くという実際面の研究を進行した。国際的な観点から研究成果と論理を確認するために、経済学部の国際ワークショップ（参加はドイツ・マールブルク大学、フ

ランス・ストラスブール大学と東洋大学)の機会を活用した。J-REIT への農地の組み入れあるいは農地の証券化といった側面は、不動産ポートフォリオのマネジメントに関連する研究として、計量的手法による分析を継続中である。

3. 研究経過および成果の概要

研究経過および成果として、1に記した問題意識のもとで、現在の日本の法制度のもとでも実現可能な農地農業の活性化策とその推進のために求められる考え方を論文にまとめた。数的根拠となるデータは神奈川県各市町村に絞り込んだ。論文題目は‘Japan-Specific Viewpoints for Bridging City Planning and the Industry of Agriculture’、著者は研究代表者 Noriko Ashiya の単著論文として、マールブルク大学所管の MAGKS Joint Discussion Paper Series in Economics の 23-2023 号にウェブ出版された。日本の農地を不動産ポートフォリオに組み入れるには現在の3倍の農地生産性が必要であるが、この3倍の比率(研代表者算出)が日本とオランダの農業生産性の違いにちょうど等しいことに着想を得た内容として構成されている。日本版フード・バレーの有力候補としての三浦市の考察には、経営学の古典的な論文であるマイケル・E・ポーター教授の主著のひとつである「国の競争優位」(原文タイトルは The Competitive Advantage of Nations、雑誌ハーバード・ビジネス・レビューの1990年3月4月号に収録)の考え方を援用した。

研究成果としての結論は、都市サイドと農政サイドのコラボレーションが必要という日本独自の視点である。独自とは、日本の農業関連法制と都市関連法制の歴史を踏まえた結果の到達という意味を含むもので、そもそも都市サイドと農政サイドは、農地を守るか開発するかについて、同じ姿勢を取ってはいないという現実根拠を意味している。例えば、農政サイドの論文には、農業振興法がつけられた経緯を「農地の領土宣言」と捉える研究論文(堀口健治、2002)がある一方で、近年の都市サイドの論文には、「つくらない都市計画」と題して、敢えてその場所に建設しないという選択肢を推奨しようという考え方も提示されている(横張真、2022)。ただ、選択の結果、どのような波及効果があるかというところまで織り込むならば、都市サイドと農政サイドが共にベネフィットを得られる可能性があり得る。首都との位置関係がオランダ・ワーヘニンゲン市と酷似する日本の三浦市がフードバレーとして飛躍するためには、ワーヘニンゲン市に備わる交通インフラが必要との結論に到達したが、三浦市については、三浦市の‘背骨’となる道路として、三浦縦貫道路と西海岸線の約6割しか開通していない現状がある。遅々として進まない道路建設は、三浦市がワーヘニンゲン市に劣後する要因になっているとみることもできるうえに、農政サイドを意識した都市インフラの整備や、都市インフラを農業サイドの課題と捉えて実施するコラボレーションが期待されるという結論を支持する現状でもある。

論文においては、都市経済学および一般的なマクロ経済学の議論に引用される認知された実証分析の結果と古典的な経済理論の考え方も参照し、日本における用途地域の設定あるいはゾーニングの特徴を考察して、相克する農地の保全と開発の選択問題についても考察した。

4. 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、研究から得た理論の実装を可能にするための仕組みづくりと論理の更なる補強にある。農地そのものを誰が担うか、どのように担うかという点について、資金の出し手の多様化や金融資本市場との繋がりを見据えた農地の証券化の実現や、農地を証券化して上場するという農地版 J-REIT の実現につなげるための基礎資料の補強が求められる。研究代表者は現時点において、本研究で整備したデータを活用したファイナンス系統の日本の農地研究を、2024年の European Real Estate Society において報告することを計画しており、国際的な視点を含めたこの研究の成果の補強と発展を目指している。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

This study extends the general focus on property management into the area of agriculture, particularly farmland, to find reasonable solutions for some unfavorable issues within the current Japanese agriculture. My hypothesis is that securitization, which currently is not seen as a valid solution for Japanese farmland activation, can work for Japanese agriculture, if it can be applied to farmland management. Therefore, the study has been executed with its focus placed on Japan's past experience regarding general real estate securitization, whose publicly traded version (J-REIT) was introduced in 2001 with two listings on the Tokyo Stock Exchange, and has been evaluated as a key driver to revive the Japanese real estate market after the big bubble burst in the early 1990s.

Specifically, the research has started with data collections and arrangements regarding costs for farmland management, which we can be accessed openly, but which cannot be applied in a systematic fashion. Parallel research has started examining Japan-specific regulations for general real estate utilization and for city planning, as the same plot of land always experiences conflict between preservation and development. Both regulations and data interact with each other, which provides the crucial background of this study.

The findings are summarized in the discussion paper released by MAGKS Joint Discussion Papers in Economics, coordinated by Philipps University Marburg School of Business and Economics based on the oral presentation at the international Workshop of Philipps-Universität Marburg, Université de Strasbourg, and Toyo University in September 2023. The title of this paper is "Japan-Specific Viewpoints for Bridging City Planning and the Industry of Agriculture" by Noriko Ashiya. The paper provides new insight for Japanese land use policies and regulations, which provides positive assertions for the collaboration between city planning and the agriculture industry, which has long been separated, looking in different directions.

The extension of this research is scheduled to be presented at the annual meeting of the European Real Estate Society in June 2024, with an additional supplement on financial analysis.

(和題) 日本と東アジア 3 カ国の高齢化：
老後の生活保障に関する国民意識の分析

(英題) Aging in Japan and Three East Asian Countries:

An Analysis of Public Attitudes toward Security in Old Age

研究代表者 大野 裕之(経済学部国際経済学科)

I) 研究期間/2023年6月30日~2024年3月15日

II) キーワード/①少子化・高齢化

②東アジア

③国民意識

④実証分析

III) 2023年度交付額/590,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

日本応用経済学会 2024年度秋季大会(11月頃、開催地未定)にて発表予定

V) 研究経過および成果の概要(日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

世界的にもまた歴史的にも類を見ない、日本、韓国、中国、台湾の東アジア4カ国の急速な少子化・高齢化は、国民の老後の生活保障を如何に提供するかという問題を惹起する。そのための制度・政策は、人々の意識に根差したものでなくてはならない。そうした意識を、アンケート調査の回答を解析することで明らかにする。

2. 研究方法

東アジア社会調査(East Asia Social Survey: 以下 EASS) プロジェクトの2016年 Family Survey (以下 Survey と称する) の個票データを、計量経済学的手法で解析する。EASS の調査は毎年行われているが、家族に関する調査 Family Survey は2006年以来10年ぶりである。今回の研究では、2つの先行研究—Hayo and Ono (2010, *Journal of Socioeconomics*) と Hayo and Ono (2011, *Journal of the Japanese and International Economics*)—が、その着想のきっかけとなった。これらの共著者であるマールブル大学・Hayo 教授は日本国内の大学に所属してないため、科研費申請の研究分担者にはなれない。そのため、今回の研究は形式的には単独研究であったが、上述の通り、ベースが上記2先行研究であるため、実質的に同教授との共同研究として行った。そして、これらを念頭に、Survey 中の、①老後の生活保障は誰の責任かを問う質問と、②既婚男女が自身の親に経済的支援をすべきか否かを問う質問の2つの質問をターゲットにすることとした。

①は3つの質問から構成されている。「1 長男、その家族」「2 息子なら誰でも、その家族」・・・「6 子の責任ではない」「77 その他」と具体的に責任者を選ばせる v201 と、個人・家族の責任か政府の責任かを問う v201nb_jp および v201nb_cntw である。上記の2先行研究とより整合的な質問

は v201nb_jp および v201nb_cntw であるが、残念ながらこれには韓国のデータが存在しない。一方、v201 は 4 カ国すべてで行われている。そこで、v201_jp および v201_cntw の分析と合せて、v201 における選択肢 6 と 77 からなる二値のダミー変数を目的変数に据えた分析も行うこととした。また、②の質問 (v179, v180) も分析対象に加えることとしたことも、韓国のデータが存在するという理由からである。v201_jp および v201_cntw、そして②の v179, v180 は、5 段階の順序をもった選択肢を選ばせる質問であるため順序ロジットモデルを、v201 の分析では目的変数が二値であることからロジットモデルを、それぞれ推定することとした。

3. 研究経過および成果の概要

研究開始後しばらくは準備期間として、各国の公的年金制度の文献を調査した。その後、10 月に Hayo 教授が別件で来日した際に打ち合わせを数回行い、目的変数および説明変数として採用できる質問の洗い出しを行った。その結果、上記 1 で言及した v201nb_jp、v201nb_cntw、v201、v179、v180 が目的変数の候補として挙げられた。説明変数には、性別、年齢、所得、学歴といった、同種の研究の「定番」的な質問の他、健康状態、家族そろっての食事の回数、配偶者の学歴・所得・健康状態、家事従事の頻度など、本 Survey ならではの質問など総計 60 を超える候補を選定した。その後、Hayo 教授の帰国後は別個に、これらの質問を実際の変数として使える形に変換する一次処理を行い、それが一通り終わったところで、渡独して対面で推定作業に入った。

対面の推定作業では、まず、v201nb_jp および v201nb_cntw の順序プロビットの推定に取りかかった。この過程で、国別の違いもさることながら、各国とも男女間で推定結果が相当程度異なるとの示唆を得たため、国別と同時に 3 国それぞれで性別での推定も行った。尚、配偶者に関する質問への回答が有意な係数推定値を得る場合が多かったため、分析対象を既婚者に限った。以下、結果の概要を示す。

日本では、男女ともに教育が影響を持つが、影響の方向が男女で違う。女性の場合、高卒、大卒以上は義務教育だけの人に比してともに政府の責任と考える傾向があるのに対し、男性の場合、個人/家族の責任だと考える傾向が強い。女性は他に主観的社会階層が影響を持ち、それが高いと考える人ほど、個人/家族の責任だと考える傾向が強い。一方、男性の場合、年齢が逆 U 字型を描き、ある年齢までは政府の、それ以降は個人/家族の責任と考える傾向がある。また、男性の場合は配偶者が高卒、大卒以上であることは、ともに政府の責任と考える傾向を助長する。他に、フルタイムの労働者であることは政府の、子どもの数が多い人ほど、また所得の高い人ほど、個人/家族の責任と考える傾向があることも示された。

台湾では、男女ともに年齢が影響を持つ。どちらも、日本人男性と同じように逆 U 字型を描く。女性では他に、パートタイム雇用であること、退職していることが、弱いながら個人/家族の責任と考える傾向を助長する証左が見られた。男性では、妻が大卒以上であると、また、子どもの数が多いほど、個人/家族の責任であると考えられる傾向がみられた。

中国では、男女ともに年齢が影響するが、日本人男性や台湾人男女と異なり、単調に、年齢が高いほど個人/家族の責任と考える傾向がある。また、男女ともに無宗教の人、都市居住者はそうでない人に比して、個人/家族の責任と考える。女性は他に、同居家族内に老人がいる人は政府の責任と考える傾向がある。男性は、配偶者が高卒以上である人は個人/家族の、最も交流のある子と同居している人は政府の責任と考える傾向がある。

3 カ国を性別で横断的に見てみると、女性では 3 国共通の要因はない。男性はいずれも年齢と配偶者の教育が影響を与えているが、影響の様相は異なる。日本と台湾では逆 U 字型であるが、中国

は単調に個人/家族の責任と考える傾向が加齢とともに強まる。配偶者の教育は、日本・中国と台湾で方向が逆であり、日本・中国では配偶者の教育水準が高いと個人/家族の、台湾では逆に政府の責任と考える傾向が強まる。

次いで、v201の分析に取りかかった。先述の通り、この質問を扱う理由は韓国のデータが存在することであった。しかしながら、韓国のデータを上の分析(v201nb_jp および v201nb_cntw)をベースに、尤もらしい説明変数を選んで推定を行ったが、推定が収束せず、意味ある結果が得られないことが分かった。他の3国では推定が収束するものの、韓国でしないのであれば、敢えてv201を分析の俎上に乗せる意味はないと判断し、最終的にv201の分析は取りやめることにした。また、v179とv180を対象とする②の分析でも、想定外のことが起こった。v201nb_jp および v201nb_cntwでより政府の責任を志向する人ほど、既婚男女は親に経済的支援をすべきだと考えるという、反直感の傾向が明らかになった。そこで、v179とv180とv201nb_jp および v201nb_cntwをfactor analysisにかけたところ、これらはかなり異種の意識の表明であることが示唆された。そのため、1本の論文で両者を扱うと、論旨の一貫性が失われることになる。そこで、このことを考慮して、v179とv180の分析も取りやめることとした。

4. 今後の研究における課題または問題点

現在、推定を終えた段階であり、今後、結果の背景としてどういう要因が考えられるかにつき、制度や社会慣習などを踏まえて適切な解釈を加える必要がある。また、韓国を分析対象とできなかったことは問題であり、現在未公表の国別データの公表を待って、分析対象に加える必要がある。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

Econometric methods are to analyze individual data from the East Asia Social Survey (EASS) project's 2016 Family Survey (hereafter referred to as the Survey). Since this study was motivated by two previous studies - Hayo and Ono (2010, *Journal of Socioeconomics*) and Hayo and Ono (2011, *Journal of the Japanese and International Economics*), we decided to target two questions in the Survey: (1) the question asking whose responsibility it is to ensure the livelihood in old age, and (2) the question asking whether married men and women should provide financial support to their own parents. (1) consisted of three questions. More consistent with the above two previous studies are questions v201nb_jp and v201nb_cntw, but unfortunately no similar Korean data exist. On the other hand, v201, as well as v179 and v180, are asked in all four countries. Therefore, in addition v201nb_jp and v201nb_cntw, we decided to analyze these as well.

We began by analyzing v201nb_jp and v201nb_cntw. While estimating models, we found that the results differed considerably by gender in each country, as well as by country. Looking across the three countries by gender, there are no factors common to all three countries for women. For men, age and spousal education are influential in all three countries, but the direction of the influence differs. In Japan and Taiwan the pattern is inverted U-shaped, while in China the tendency is monotonically an individual/family responsibility as age increases. The direction of spousal education is reversed in Japan/China and Taiwan. In Japan/China, a higher level of spousal education increases the tendency towards the responsibility of the individual/family, while in Taiwan, conversely, the tendency is towards the responsibility of the government. Refer to the full paper to be published for the complete and more

retailed results.

Next, we set out to analyze v201. As noted earlier, the reason for dealing with this question was the existence of Korean data. However, we found that the estimation did not converge and that meaningful results could not be obtained with the Korean data. In the analysis of v179 and v180, a counterintuitive trend was revealed: the more government responsibility-oriented people in v201nb_jp and v201nb_cntw thought that married men and women should provide financial support to their parents. Factor analyses suggested that these are realization of quite different attitudes. Therefore, treating the analyses of v201nb_jp/v201nb_cntw and v179/180 in one paper would result in a loss of coherence in the argument. Therefore, we decided to postpone the analysis of v201 and v179/v180 for future studies.

以上

インセンティブ報酬における ESG 関連指標の適用可能性

A Study of Applicability of ESG Indicators in incentive Compensation

研究代表者 金子 友裕 (経営学部会計ファイナンス学科)

I) 研究期間 / 2023 年 6 月 30 日 ~ 2024 年 3 月 15 日

II) キーワード / ① インセンティブ報酬

② 役員給与

③ 不相当に高額な部分の金額

④ 業績連動給与

⑤ ESG 指標

III) 2023 年度交付額 / 700,000 円

IV) 研究発表 / 学会および口頭発表

(学会報告)

金子友裕「インセンティブ報酬に対する法人税法の取扱いの検討」日本税法学会関東部会、2023 年 4 月 14 日口頭報告。

(論文)

金子友裕「インセンティブ報酬に対する法人税法の取扱いの検討」『税法学』590 号、53-74 頁、2023 年 11 月 30 日掲載。

金子友裕「役員給与課税における実質基準適用に関する検討」『租税訴訟』17 号 (応募中)。

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000 字程度)

1. イントロダクション

ESG (環境 (Environment) ・ 社会 (Social) ・ ガバナンス (Governance)) に関する取組みは、コーポレートガバナンス・コードでも考慮されているものであり、世界的に重要な課題となっている。しかし、実務的には、我が国固有の規制 (例えば、会社法や法人税法) の影響も考慮せざるを得ない中で、法人税法では ESG の指標が業績連動給与として認められないという状況にある。本研究では、法人税法における役員給与の取扱いに関する検討を行った。このような研究を通じて、ESG を指標とした役員報酬に対する我が国の規制における問題点を指摘し、法人税法における役員給与として認めるべき範囲を明らかにする。

2. 研究方法

本研究では、本研究助成採択からの時間的な制約等があり、実態調査までは含めていない。この点は、本研究の残された課題となる。本研究では、主に法解釈論的検討を通じて、法人税法における役員給与課税を検討し、役員給与課税における損金不算入の根拠を明らかにした上で、業績連動給与における ESG 指標の取扱いに関する問題点を検討している。具体的な研究手法としては、文献研究の手法等により総論的検討を行い、裁判例の批判的検討により個別的な問題点の検討を行うこととしている。

3. 研究経過および成果の概要

本研究の成果の概要は次のとおりである。

インセンティブ報酬の近年の議論の整理として、コーポレートガバナンス・コード等に関する近年の改正の概要を整理した。そして、役員給与における利益処分の問題点として、役員賞与の利益処分の考え方を吟味し、過大役員給与に対する検討を行っている。ここでは、現行の会社法からは利益処分として過大役員給与を規制するのは妥当ではなく、代替課税の考え方も租税回避にならないという観点から合理性はあるが法人税法の機能や効果を考えると役員給与を任意とすることは正当化できないと指摘している。

そして、インセンティブ報酬に対する法人税法の取扱いを整理し、インセンティブ報酬に対する法人税法の取扱いに関する問題点の検討を行っている。ここでは、インセンティブ報酬の代表的なスキームを取り上げ、近年の税制改正の中で取扱いがどのように変化したかを整理している。そして、業績連動給与では ESG 指標を反映した場合、法人税法における課税所得計算において役員給与を損金算入できない取扱いとなっており、これによりコーポレートガバナンス・コードでアクセラを踏みつつ、法人税法ではブレーキを踏むような取扱いとなっていることを指摘している。このような中で、ESG 指標を採用する企業が増加している傾向にあり（デロイトトーマツ・三井住友信託銀行『役員給与サーベイ（2022年版）』20頁参照）、企業における ESG 指標のニーズは増加していくことが予想される。一方で、理論的には、「グリーンウォッシュ」の問題や ESG 指標のコンセンサスが十分ではないという実態もあり、今後の ESG 指標等に関する開示の状況等を注視しつつ ESG 指標の適用可能性を検討していく必要があるとしている。

なお、近年の裁判例については、業績連動給与ではないが役員給与課税の検討を深める素材として東京地裁令和5年3月23日判決（TAINS：Z888-2484）を取り上げ、役員給与課税における不相当に高額な部分の司法判断に関する追加的な検討を行った。この事件は、類似業種の役員給与の最高額の平均額を基礎とする点、この最高額の平均額に売上高、改訂営業利益及び個人換算所得を用いて加重して算定している点、等に特徴がある事件である。この裁判例を取り上げた論文では、役員給与課税における不相当に高額な部分の具体的算定方法において、加重というアレンジを行っていることは倍半基準を用いた相当額算定のための工夫であろうが、多様な事情や状況が存在する法人の役員給与課税に対する手法として、安定した運用が行われていないこと示唆する可能性があることを指摘している。

4. 今後の研究における課題または問題点

本研究では、業績連動給与に ESG 指標が採用されておらず、コーポレートガバナンス・コードで ESG 指標への考慮が示されていることとの乖離があり、この問題に関する検討を税法的視点から検討を行っている。法人税法における役員給与課税の考え方を詳細に検討し直したことに本研究の価値があるものと思われるが、3. で示したように実際の企業における影響等の詳細な実態調査までは行えなかったことが残された課題である。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

The regulations of incentive compensation include Corporation Law, Corporation Tax Law and accounting standards (regulated by financial instruments and exchange law) in Japan. These regulations affect mutually, but the modified Corporate Governance Code (especially, the

Corporate Governance Code in 2018) was starting point of changing regulations of incentive compensation.

The Corporate Governance Code in 2021 describe “With the aim of increasing corporate value over the mid- to long-term, it is becoming increasingly important to positively and proactively address factors related to sustainability (including environmental, social and governance factors), not only as a risk, but also as earning opportunities”. It means that the Corporate Governance Code enhances ESG in sustainability.

But Performance-related remuneration in Corporation Law does not include ESG Indicator. There are issues that are handled differently. Companies adopting ESG Indicators are on the rise. On the other hand, there is a "greenwash" issue and there is not enough consensus on ESG Indicators. Therefore, it is necessary to examine the applicability of ESG Indicators while monitoring the status of disclosure on ESG.

And I examined the treatment of remuneration for officers in Corporate Tax Law. Because the treatment of remuneration for officers (Exclusion of Remuneration for Officers from Deductible Expenses in Article 34) can affect incentive compensation. In this study, I have reviewed a recent court case. Judgment of Tokyo District Court, March 23, 2023, held that there is the amount of remuneration paid for its officers that is specified by Cabinet Order as an amount which is unreasonably high. This case has features about the calculation is based on the average of the highest remuneration for officers in similar industries, and this average of the highest remuneration for officers is weighted using sales, revised operating income, and individual equivalent income. I point out that this may suggest that the operation is not stable.

株主利益最大化からの転換と ESG 投資における株主厚生

Transition from Shareholder Profit Maximisation to Shareholder Welfare in ESG Investment" (英題)

研究代表者 奥乃 真弓(法学部法律学科)

I) 研究期間/2023年6月30日~2024年3月15日

II) キーワード/

- ① 株主厚生最大化 maximisation of shareholder welfare
- ② サステナビリティ Sustainability
- ③ ベネフィット・コーポレーション Benefit Corporation
- ④ AI (人工知能) Artificial Intelligence
- ⑤ LLC (リミテッド・ライアビリティ・カンパニー) Limited Liability Company

III) 2023年度交付額/1,162,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

- ① 【論文 (単著)】「メルクマールとしての Benefit Corporation : 株主厚生の観点から」国際商事法務 51 巻 8 号 1087-1092, 2023 年 8 月
- ② 【論文 (単著)】「アメリカの Series LLC における Liability Shield の一考察」東洋法学 67 巻 2 号 137-154 頁, 2023 年 12 月
- ③ 【論文 (単著)】「会社のブランディングとしての B Corp 認証—株主厚生の観点から—」国際取引法学会 9 号 155-170 頁, 2024 年 3 月
- ④ 【論文 (共著)】 Mayumi J. Okuno and Hiroshi G. Okuno, Risk Management for Artificial Intelligence by Limited Liability Companies, In Proceedings of ISBM 2023, 13-26, Springer Lecture Notes in Networking and Systems (LNNS), Vol. 833, 2024 年 3 月.
- ⑤ 【学会発表】「2 つのベネフィット・コーポレーション—法制度の観点から考える日本への示唆—」産業法研究会 2023 年 5 月 20 日 (オンライン)
- ⑥ 【国際会議発表】 Mayumi J. Okuno and Hiroshi G. Okuno. Risk Management for Artificial Intelligence by Limited Liability Companies, World Conference on Information Systems for Business Management (ISBM 2023), Bangkok, Thailand, 07-08 Sept. 2023 (Online).
- ⑦ 【講演】「信頼される AI (trusted AI) に関する信認関係の継続的な構築における法的課題の研究」 (公) 日立財団 倉田奨励金研究報告会 2024 年 3 月 4 日

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000 字程度)

1. イントロダクション

日本の株式会社は営利法人であり、その原則は株主利益最大化である。また、取締役

や執行役の善管注意義務、忠実義務とは、この原則を図ることである。一方、2015年9月の国連サミットの「持続可能な開発目標」(SDGs)の採択、2019年8月のBusiness Roundtableのステークホルダー重視の声明、翌年のダボス会議(世界経済フォーラム年次総会)における経済界からの持続可能な価値に対する要請等の国際的な潮流のもと、環境問題への取組みをはじめとするサステナビリティは会社の今後の方針を設計していく上で不可避である。営利法人である株式会社が、株主の利益のみならず気候変動等の社会的な価値である公的な利益の追求、すなわち株主厚生最大化を法的に目指す方法はあるのか。また、限られたパイの中で、いかに社会的な価値と企業価値のバランスをとるのかを検討する必要がある。

2. 研究方法

書籍、ジャーナル論文などの先行研究をはじめとする文献調査、資料収集、また、国内外の研究会への参加や報告を通じて情報収集を行った。文献調査および情報収集においては、比較法の観点から横断的に研究を行った。

3. 研究経過および成果の概要

国際的なサステナビリティの潮流の中、日本においても「コーポレートガバナンス・コード(2021年6月11日公表)」や「投資家と企業の対話ガイドライン」、また、「日本版スチュワードシップ・コード(2020年3月24日)」において、サステナビリティをめぐる課題への取組みが言及されている。こうした国際的な潮流の中、日本政府は、「経済財政運営と改革の基本方針2022」において、公的役割を担う新たな法人形態(Benefit Corporation: 以下「BC」という。)の導入を検討している。日本に先駆け、2010年に、株主利益最大化原則のもと、営利法人である企業が合法的に公共の利益を追求できる有限責任の事業体である法制度としてのBCを導入した米国から示唆を得るべく、まずは、米国の法制度としてのBCについて調査を行った。

米国の法制度としてのBCには2つの主要な潮流、すなわち、非営利団体のB LabによるModel Benefit Corporation LegislationとDelaware Public Benefit Corporation Statuteがあること、BCという法人形態を採用することで、株主利益最大化原則のもと、社会的課題の解決に取り組む取締役の意思決定が法的に保護され、ESG投資志向の機関投資家からも支持が得られる可能性があるという利点を見出した。一方、すべての企業にサステナビリティへの取組みが国際的に求められる中、BCという法人形態のみが法的に社会的な価値の実現の可能性を得ることに疑問を抱き、日本に立法化を通してBenefit Corporationの制度を導入することには、現時点では疑問が残ることを指摘した。(IV)の①)

米国のBCには法制度としてのBCに加えて、B Labによる、認証制度としてのBC(以下、当該認証のことを「B Corp認証」という。)がある。B Corp認証は社会的・環境的パフォーマンス、説明責任、透明性において高い基準を満たす企業に与えられる。認証の取得は5つのインパクトエリアより評価されるので、その取得が容易ではなく、さ

らに、3年ごとに更新（再認証）が実施されることから、B Corp 認証を取得した会社の「見えざる価値」は可視化され、社会問題や環境問題に取り組む公益重視型の会社として社会的な信頼を得ることが期待される。認証を得た会社および認証を放棄した会社の事例の分析・検討を行い、B Corp 認証取得の意義は、対外的な信用、従業員の働く意欲向上に加え、国際的な認証であることからグローバルなビジネス展開の有効性、そして、最も重要な点は、B Corp の社会志向の精神を確立し、環境や社会問題に取り組むブランドを構築することにあることを論じた。また、社会志向の企業精神、各社のブランディングから共創（co-creation）が生まれ、やがてムーブメントとして広く社会に浸透する点に、公共の利益の実現を躊躇させる課題に対する日本への示唆を得た。（(IV) の③、⑤）

次に、株主厚生最大化の観点を、すでに日々の生活の中に浸透し急速に進展する人工知能（AI）によるサービス事業（以下、「AI サービス事業」という。）に展開させ、喫緊の課題である信頼される AI の確立と AI サービス事業のリスク管理について調査を行い、分析・検討した。AI サービス事業の社会実装には、ユーザーや顧客に信頼感を与えると同時に、AI サービス事業の研究開発者や事業提供者が過度に委縮しないような枠組みを確立する必要がある。会社法の視座から、AI サービス事業を運営する事業体として、合同会社の利用を提案するとともに、米国のシリーズ LLC から示唆を得、合同会社のリスクに対する垂直型・水平型のリスクの遮断について論じた。（(IV) の②、④、⑥、⑦）

4. 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、1) 株主厚生最大化における株主利益と公的な利益のバランスをいかにとるか、2) B Corp 認証の取得は決して容易ではないこと、3) path dependency（経路依存）の観点から日本社会での企業のブランディングの在り方を考える必要性という点が挙げられる。また、AI サービス事業については、法域（jurisdiction）間の違いへの対応という課題がある。さらに、国際的な展開あるいは米国では州際的な展開では、法域間の違いによる手続きの複雑さやコストを軽減するため、適切な法域での事業運営が不可欠である。

VI) Summary（英語 400 単語程度）

Amidst the international trend towards sustainability, Japan has also addressed its commitment to sustainability challenges, exemplified by the introduction of the “Corporate Governance Code, June 11, 2021” and the “Guidelines for Investor and Company Engagement, First Revision: June 11, 2021”. Furthermore, in the “Basic Policy on Economic and Fiscal Management and Reform 2022”, the Japanese government is considering the introduction of a new legal entity, the Benefit Corporation (BC), to undertake public roles. Reflecting on the global developments, the United States introduced the BC legislation in 2010, allowing for-profit corporations to pursue public interests by maximising shareholder value while

maintaining limited liability.

Drawing inspiration from the U.S. BC system, my research analysed and examined its implications and proposed insights for implementation. Furthermore, leveraging this concept, my research expanded its focus to the rapidly evolving field of Artificial Intelligence (AI) services, aligning with maximising shareholder welfare. Through investigating and analysing the establishment of trusted AI and risk management in AI service operations, the social implementation of AI services necessitates instilling trust in users and customers while ensuring that AI service providers and developers are not unduly constrained.

The utilisation of Godo-Gaisha from a corporate law perspective was proposed as the operating entity for AI service operations. Through the insights drawn from U.S. Series LLCs, the vertical and horizontal risk insulation mechanisms from the risk mitigation strategies were discussed.

In conclusion, the initiatives of my research in sustainability and corporate governance, including the potential introduction of the Certificate of Benefit Corporation and the utilisation of Godo-Gaisha for AI services, discuss addressing societal challenges while maximising shareholder value. By drawing lessons from international models and tailoring them to local contexts, my research suggests that Japan could foster a business environment conducive to innovation, trust, and responsible corporate behavior.

ハイブリッドワーク時代のリーダー育成のためのマインドフルネスの研究
Research on mindfulness for developing leaders
in the era of hybrid work

研究代表者 室松 慶子(法学部法律学科)

I) 研究期間/2023年6月30日~2024年3月15日

II) キーワード/①ハイブリッドワーク Hybrid work
②エグゼクティブコーチング Executive coaching
③マインドフルネス Mindfulness
④ストレス Stress
⑤心理的安全性 Psychological safety

III) 2023年度交付額/838,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

・ Muromatsu, Keiko. Executive Coaching in the Era of Hybrid Work: Focusing on Leaders' Self-Care and Mindfulness. *Asian Journal of Research in Business and Management*. 2024年6月予定.

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

新型コロナウイルス感染症の世界的な流行により、オフィス勤務とリモート勤務が混在するハイブリッドワークが緊急対策的に促進されリーダーのストレスが増大した。部下が空間的・時間的に散在することによりチーム運営が複雑になったのが一因である。慢性的なストレスは心身の状態を悪化させ、燃え尽き症候群を引き起こす可能性がある。WHO(世界保健機構)は、燃え尽き症候群を職業現象として国際疾病分類に登録した。ハイブリッドワークは今後勤務形態の本流となるとみられ、これに対応し持続可能な組織を築くリーダーの育成が不可欠である。

本研究はハイブリッドワーク時代のリーダーが必要とする力を養う戦略としてマインドフルネスに着目した。脳には思考や行動により構造や機能が変わる神経可塑性があり、マインドフルネスは脳に変化を起こすことが証明されている。流行の一方で、課題も指摘されている。本研究は、リーダー育成の人材戦略として、その活用法を探るためにマインドフルネスに焦点を当てた。

2. 研究方法

理論・実践を含む文献研究と学会や研修会への出席を通して最新の理論や実践状況を探究した。医学、心理学、経営学、脳科学、仏教学等の幅広い分野にわたるため学際的研究となった。現代社会における問題点や課題、リーダーに必要なとされる能力の探究と共にリーダー育成へ応用する基盤となるマインドフルネスの本質を学際的視点から考察し、実践と理論の適合を検討した。

3. 研究経過および成果の概要

本研究は、リーダーに必要な能力を探究する過程で、ストレス管理の重要性に着目した。慢性的

なストレスは、燃え尽き症候群につながり、仕事に対する否定的な態度、無気力、パフォーマンス低下、欠勤、離職や、頭痛、不眠症、うつ症状、冠動脈疾患、免疫力の低下を引き起こす。マネージャーの半数以上が燃え尽き症候群を感じているという報告がある。

WHO は、燃え尽き症候群は職場での慢性的なストレスがうまく管理されていないことに起因するとし、職業上の状況での現象であることを強調している。しかし、組織による対策は、ウェルネス制度の拡充と、治療が必要になった場合にのみ専門家をつける事後対応である。本研究は、これでは不十分と考え、予防が重要というスタンスをとった。そして個人ができる方策と、組織ができる方策の双方を考察することにした。

マインドフルネスは、ビジネス界、認知療法分野、行動医学分野における瞑想を主に研究した。ビジネス界では Google によるマインドフルネスをベースとした感情的知性 (EI) のカリキュラム SIY (Search Inside Yourself) である。瞑想によって脳が変化を起こすことが証明され、多くの神経画像研究の確固たる科学的基盤が社員を惹きつけた。

うつ病の再発を防ぐことを目的として開発された MBCT (Mindfulness-Based Cognitive Therapy) を研究し、学会主催の講座を受講しプログラムを経験した。1 クラス 12 名で 8 週間実施され、毎日 1 時間の自宅練習がある。ボディスキャン瞑想、座位瞑想、3 分間呼吸空間法、他数種類の瞑想法が用意されている。

SIY も MBCT も共に MBSR (Mindfulness-Based Stress Reduction) をベースとしている。MBSR はマサチューセッツ大学メディカルセンターで慢性疼痛の対処法として仏教をルーツに開発された 8 週間の行動医学分野のクラス制のプログラムである。参加者は、心臓病、がん、肺疾患、高血圧、頭痛、慢性痛、睡眠障害、パニック発作等の病状が緩和されたばかりでなく、不安、憂鬱、怒りは減少し、以前は制御不能に見えたストレスの多い状況でさえも制御できる自信を獲得したという。数種の瞑想法が用意され、授業外に 毎日 45 ~ 60 分間瞑想する必要がある。

研究代表者のこれまでの研究では、マインドフルネスの弱点を補うためコーチングを活用することが提案された。それに加えストレスは個人により異なるため、1 対 1 のコーチングの活用が理想的であると本研究は結論した。

本研究は、ハイブリッドワーク時代のリーダーは、慢性的なストレスを予防することが重要であるというスタンスを取り、個人ができる方策としてのマインドフルネスを、組織が支援できる方策としてのコーチングに組み入れることを提案した。まずリーダーが実践することで、チームの模範となれば、チーム全体に好影響を与える波及効果があり、心理的安全性のある組織文化を醸成し、持続可能な組織を構築することが期待される。

4. 今後の研究における課題または問題点

MBSR と MBCT は、1 セッションが 2 時間~2 時間半であり、期間は 8 週間に亘る。コーチングの 1 セッションにマインドフルネスを組み込むには工夫が必要となる。MBSR 開発者が、クリニック外での瞑想者には 15 分間の瞑想を勧めていることや、5 分または 10 分でも効果があることを強調していることから、時間の工夫はできると考えられる。また、MBSR と MBCT では、マインドフルネス実践のバリエーションが数多くある。MBCT と SIY のベースである MBSR は禅の影響を受けているため、禅の考え方や手法を探求することも役立つと思われる。これらを参考に、本研究における理論的成果を、今後コーチングにどのように組み込むかという実践への方策の考察が今後の課題であると考えられる。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

Leaders' stress has increased in hybrid work environments because team management has become more complex, with team members being dispersed both spatially and temporally. Hybrid work is expected to become the mainstream work style in the future, and it is essential to develop leaders who can respond to this trend with stress and build sustainable organizations. This study focused on mindfulness to explore how to utilize it as a strategy to develop the skills necessary for leaders in the hybrid era.

This study was conducted by exploring the latest theory and practice through literature research, by participating in academic conferences and training sessions, and by examining the compatibility of theory and practice. This research is interdisciplinary, covering a wide range of fields including medicine, psychology, management, brain science, and Buddhist studies.

This study focused on mindfulness and the importance of stress management. Chronic stress can lead to burnout, which brings negative attitudes toward work, lethargy, absenteeism, and turnover, as well as headaches, insomnia, coronary artery disease, and a weakened immune system. This research took the position that prevention of chronic stress is important.

This study investigated mindfulness in the business world, cognitive therapy, and behavioral medicine fields. Specifically, Google's SIY (Search Inside Yourself, a mindfulness-based emotional intelligence (EI) curriculum), MBCT (Mindfulness-based cognitive therapy, developed to prevent depression relapse), and MBSR (Mindfulness-based stress reduction, developed as chronic pain treatment). MBSR has its roots in Buddhism and offers several different meditation techniques.

Our previous research suggested the use of coaching to compensate for the weaknesses of mindfulness. In addition, this study concluded that one-on-one coaching is ideal because stress differs from person to person.

This study takes the position that it is important for leaders in the hybrid era to prevent chronic stress, and proposes incorporating mindfulness into coaching as a countermeasure that can be taken by individuals and supported by organizations. When leaders practice mindfulness and serve as role models for their teams, they are expected to have a ripple effect that positively impacts the entire team, fostering a psychologically safe organizational culture, and building a sustainable organization.

Incorporating mindfulness into a coaching session requires some ingenuity. MBSR and MBCT offer many variations in mindfulness practice. Since MBSR is influenced by Zen, exploring Zen ideas and methods may be helpful. Our future research will be to consider how to incorporate the theoretical results of this study into practice in coaching.

「ケア不在」の生活保障政策からの脱却の検証：日独比較研究

Verification of the Breakaway from Livelihood Security Policies "without guaranteeing Care ": A Comparative Study of Japan and Germany

研究代表者 上田 真理(法学部企業法学科)

I) 研究期間／2023年6月30日～2024年3月15日

II) キーワード／①ケアを保障する国家 (State guarantees of care)

②希望表明権・選択権 (Right to wish and choose)

③個別のかつ当事者中心基準 (individualized and party-centered criteria)

④連邦社会裁判所判決 (Federal Social Court Decision)

⑤社会生活への平等な参加 (Equal participation in social life)

III) 2023年度交付額／847,000 円

IV) 研究発表／学会および口頭発表

・「ケアの希望表明権・選択権」武井寛他編『ケアという地平』(2024年3月、日本評論社)

・『東洋法学』68巻1号(2024年8月刊行予定)掲載予定

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

本研究では、児童・保護者(児福6条)、障害者、要介護者が、生活上のニーズを充たすために他者に求める行為を、ケアと総称し、これには家事、教育・保育、看護、介護、見守り・監督と多様な行為が含まれる。本研究では、「ケアを保障する国家」へ転換するには、個人の基本的権利を支援・強化する必要があることを確認している。

社会的に不可欠なケアは、従来、労働市場での稼得行為とは異なり、適切に捉えられてこなかったため、ケア不在の労働者を主に権利義務を担う法主体と位置付けてきた。そこで、本研究は、ケアも稼得労働も担う成人を法主体として捉えることが1つめの目的になる。さらに、客体として扱われがちなケアを必要とする者の権利を、「個別のかつ当事者中心」の基本的権利のアプローチを目指した。例えば、ケアを求める児童・保護者が自宅に近い保育所を利用したい、又は障害者が自宅での生活に適した補助具を利用したい、とケア提供に関する本人の考えや希望を表明する権利の享有主体であることに着目した(児福1条、障害総合支援1条)。子の監護及び教育権・責任を有する親(児福2条2項)(以下、親という)が子の福祉をよりよく実現するものであり(親の権利は子の福祉に制約される)、また障害は職業生活・社会生活を営むのに不利な状況であり、本人が個別事情に応じ必要とする内容を尊重する必要がある、そのため、平等な社会参加をする自由を実現することが要請されている。

2. 研究方法

個別事情に応じた当事者中心の視角について連邦社会裁判所判決の蓄積があるため、ドイツ法との比較による研究方法をとった。というのも、希望表明・選択権 (Wunsch- und Wahlrecht [独]、Right to wish and choose [英]) が社会法典に定められ、それを具体化する基準が確立しているからである。

3. 研究経過および成果の概要

本研究の課題は、養育及び監護 (以下、これらを育児ともいう) といった次世代のケア、及び社会的障壁 (障害基 2 条 2 号) の除去を目指す、障害者のケアの内容を本人の希望表明・選択権に基づき解明することであった。

第 1 の次世代のケアに関しては、日本でもドイツ法と同様に、国家には親の教育権を尊重し、支援することが要請され、第一次的責任を負う保護者 (児福 2 条 2 項) の判断権は保育行政機関の判断よりも優先されなければならない。ドイツ社会法典 8 編 (児童・青少年福祉) を参考に、親は、子の養育及び教育を自己の考え方に基づき行う権利を有することを (基本法 6 条 2 項 1 文、民法 1626 条、そして社会法典 8 編 1 条)、保育請求権として実体化している。子の福祉のための親の養育は、親の教育権の行使であるだけでなく、社会の利益になる。それゆえ、家庭生活を保護し、支援することは国家に要請されていることが確認できた。また、労働者は、稼得労働もケアも担うことを選択し、自己の責任に基づき生活を営む権利を有することは、ドイツ法と同様に日本法でも、養育・教育が必要な状態を捉え、労働と次世代ケアの両立の援助及び支援が不可欠になることが強調されなければならない (憲法 14 条、22 条、24 条 2 項と 25 条)。なかでも、子の養育・教育を担う権限 (監護権) をもつ者が自己の考えに基づき、独立した、自己責任に基づき教育方法の決定をし、実践する。子を自ら家庭で育児をするのか否か、そしてそうでない場合には、いつから、だれに、養育してもらうのかの決定権をもち、責任を負っているといえる。国家は、社会的・人的、並びに経済的な領域においてそれを尊重する義務を負う (これを子の福祉が制約する。)

第 2 の課題は、支援・サポートによる平等な機会を保障することであり、社会生活に参加するうえで障壁がある場合に、能力の発揮及び活動の可能性が、そうではない状況の人と比べて排除されやすい。それを克服することが社会保障制度に要請されることである。重要なのは、障害者が不利益な状況か否か、そしてケアの必要性の範囲を判断する際の比較の対象及び基準である。障害のある人が、そうではない人と比較して、身体的又は精神的な状況により日常生活において不利益が生じる事態を捉えるものである。連邦社会裁判所は、すでにこの基準を「個別的就当事者中心」基準として確立し、社会的統合の目的を達成するための社会保障の権利を展開してきたことを確認した。

4. 今後の研究における課題または問題点

本研究は、次世代のケア及び障害者のケアを対象にし、遂行するなかで、重大な課題は、日本も「ケアを保障しない国家」から、「ケアを保障する国家」へ転換する必要がある、これを具体的に制度化することにあると確信した。そのためには、社会生活及び職業生活、家庭生活を平等に選択する自由を可能にする、基本的権利・人権の促進が必要である。社会保障だけでその課題を達成することはできない。労働政策、移民政策、家族政策、住居のインフラ整備、そして教育の機会の保

障など、対象が多岐にわたる。また、障害者の権利アプローチは生活を多面的に、日常の買い物から、教育、職業生活の営み、そして休暇・旅行などの付き添い・介助が展開している。本研究では、介護を要する人々は社会参加に障害がある人であるが、介護を、個人の独立した生活を可能にする「個別のかつ当事者中心」の考え方から権利として再構築することには着手できなかった。今後の課題にしたい。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

In this study, care is collectively defined as the acts that children, guardians (Article 6 of the Child Welfare Law), persons with disabilities, and persons requiring nursing care seek from others to fulfill their daily needs, which include housework, education and childcare, nursing, caregiving, and watching over and supervising, as well as diverse other acts.

Socially indispensable care has traditionally been regarded differently from earned acts in the labor market and has not been properly understood, thus positioning care-absent workers as legal entities primarily responsible for rights and obligations. Therefore, the first objective of this study is to consider adults who are responsible for both care and earned labor as legal subjects. Furthermore, we aimed to take an "individualized and party-centered" fundamental rights approach to the rights of those in need of care, who are often treated as objects.

Because of the accumulation of decisions of the Federal Social Court regarding the party-centered perspective according to individual circumstances, the research method was based on a comparison with German law. Through this research, we confirmed that the rights stipulated in the Social Code, such as the individual's right to express wishes and make choices (Wunsch- und Wahlrecht; Right to wish and choose), have been concretely developed in individual laws as well.

In the course of conducting this study, which targets the care of the next generation and the care of persons with disabilities, we became convinced that a critical issue is the need to transform Japan from a "nation that does not guarantee care" to a "nation that guarantees care," and to institutionalize this in a concrete manner. To this end, it is necessary to promote fundamental rights and human rights that allow people the freedom to make equal choices in social, occupational, and family life. Social security alone cannot accomplish this task. It covers labor policy, immigration policy, family policy, housing infrastructure, and the guarantee of educational opportunities. In addition, the rights approach of persons with disabilities is multifaceted in terms of their lives, developing from daily shopping, education, and vocational activities, as well as accompanying and assisting them on vacations and trips. In this study, we could not begin to reconstruct caregiving as a right from an "individualized and party-centered" perspective that enables individuals to live independently, although people in need of care are those with disabilities in terms of social participation. We would like to make this a task for the future.

価値観理論の社会実装とその有効性：価値観模索のサポートのあり方

Social Implementation of Value Theory and Its Effectiveness: Supporting Value Seeking

研究代表者 片山 美由紀（社会学部社会心理学科）

I) 研究期間／2023年6月30日～2024年3月15日

II) キーワード／①価値観理論 Value theory
②価値観模索 Value seeking
③サポート Support
④介入 Intervention
⑤セグメンテーション Segmentation

III) 2023年度交付額／ 1,200,000 円

IV) 研究発表／学会および口頭発表

- ・ Difficulties in Understanding Opposing Values and the Schwartz Value Circumplex Model, Japanese Society and Culture, 2024 予定
- ・ “あなた” “きみ” の使い分けによる対人距離の意識化とスキル形成：日本社会において見過ごされたトレーニング機会, 人間科学総合研究所紀要 2024 予定

V) 研究経過および成果の概要（日本語 2000 字程度）

1. イントロダクション

価値観への介入研究では従来、介入対象のセグメンテーションを十分におこなってこなかった。本研究の目的は、一人ひとりの価値観模索の障壁となる要素を明らかにし、価値観模索のサポートに有効なプロトコルを形成するために有効なセグメンテーションを検討することである。

価値観の過剰が「対自己的」なネガティブな帰結をもたらし、さらには「対他者的」にネガティブな帰結をもたらすことを片山（2023）は質的研究により明らかにした。この研究成果はシュワルツの価値観円環モデルに基づき実施されており、価値観の 360 度円環上のどの価値観も例外なくネガティブな帰結をもたらすとの知見が重要な点である。従来研究のように、すべての人々に対して自己超越的価値観（Self-Transcendence）のみを目指すべき目標と設定する介入研究の視座には不十分な点がある。

シュワルツの価値観モデルは元来、世界各国のデータに基づき価値観の多様性を一般化して描き出したものであるが、描き出されたそれぞれの価値観は、対人関係のなかで、あるいは社会のなかで表現され実現されるものである。そのようないわば「現場」で人々が価値観模索をおこなうに際しては、セグメントごとの迷いや障壁の存在が考えられ、またそれゆえに個別性を加味した価値観模索へのサポートが必要と考えられる。

2. 研究方法

質的研究（インタビュー調査、資料分析）と量的研究（アンケート調査）を組み合わせる混合研究法を用いた（介入デザイン型混合研究法および探索順次デザイン型研究法）。質的研究は日本お

よびイタリアおよびアメリカを対象とした。量的研究は日本およびアメリカを対象とした（日本調査は日本語、アメリカ調査は英語、イタリア調査はイタリア語を使用した）。これらと並行して研究レビューをおこなった。

3. 研究経過および成果の概要

日米で実施したオンライン調査では、自身と異なる価値観を持つ他者を理解することの難しさが示された。この結果は、シュワルツ価値観円環モデルにおいて対極的位置、つまり互いに距離のある個人は価値観を共有できないだけでなく、他者の価値観理解に困難があることを示している。これは、社会における継続的な対立状況の存在を裏付けるものであるがシュワルツ自身によるレビューでも研究の存在が報告されていない領域である（Sagiv & Schwartz, 2022）。価値観研究領域が次の新たな段階にある現在、従来検討されてこなかった新たな研究分野の確立の必要性を指摘した。

イタリアで実施した価値観に関するインタビューでは、"Amicizia" で表現されるイタリア特有の友人関係の重要性について、多くのイタリア人が熱意と喜びを表現していた。うち数名は、"Amicizia" に敏感であることが人々の向社会的行動にプラスの影響を与えると提言した。しかし"Amicizia" について説明する際、他者への責任を強調する人々がいる一方、楽しみを強調する人々もいた。"Amicizia" は2つのタイプに区分されるべきであり、前者のみが相手の状態に深く心を寄せることを通じて、他人をも含む広がりのある向社会性を高める可能性が示唆される。この知見は、ローマにおけるイタリア人の日常的な行動観察によっても支持された。この視点を拡張させたさらなる調査が必要である。

さらにこの研究では、対人スキルを発達させる機会として、それぞれの言語体系が継続的な影響を与えていることを示した。イタリア語を含む多くの言語では、"Tu"（きみ）や"Lei"（あなた）のように、インフォーマル・モードと敬語モードの両方が使われる。そしてインタビューでは、イタリア人が日常的に敬語モードとインフォーマル・モードを切り替える際の、戸惑い、失敗、驚きなどを経験している実例が数多く報告された。これらは対人距離の意識化そしてコントロールの学習機会ともなることが考えられる。他国とは異なり、日本人のコミュニケーション・モードは敬語モードが基本となる。友人どうしであっても成人後に知り合った関係では丁寧なコミュニケーション・モードが選択されることが少なくない。対象的な例をアメリカでみれば、ビジネスで接触する場合、早い段階から友好的なコミュニケーション・モードが意図的に選択される。日本語の会話では心理的な対人距離を意識化し決定する機会が少ないとすればそのようなセグメントのための価値観介入の方策が新たに必要であることが示された。

4. 今後の研究における課題または問題点

社会心理学の領域では近年、実証データの再現性が根本的な問題として繰り返し指摘されてきたが、その背景にある根本的な問題点は、世界の国と地域、社会そして個々の人間集団、個々の人間個人が織りなす現象にかかわる変数の膨大さにも拘らず、研究者が変数を選別しそれらを用いて「理学」的に一般法則定立せんとする学問領域の志向性／嗜好性にある。社会および人間一般に関する一般理論を打ち立てるとの方針ではなく、むしろ本来はまず定義域を明確に定め、宣言したうえで、どの範囲とセグメントにおいて通用する理論化を明言する必要がある。本研究における混合法研究の成果は、介入セグメンテーションを用いた新たな研究分野の確立と理論構築に貢献するで

あろう。

VI) Summary

Value intervention studies have not sufficiently segmented their targets. This study aimed to examine effective segmentation for interventions in people's value-seeking. Mixed research methods were employed, combining qualitative (interviews and document analysis) and quantitative (questionnaires) research. Qualitative research was conducted in Japan, Italy, and the United States in the main language of each. Quantitative research was conducted in Japan and the United States.

Online surveys conducted in Japan and the United States have highlighted the enigma of understanding people whose values differ from one's own. This finding reveals that individuals positioned at a distance from each other in the Schwartz value circumplex model not only have diverging values but also struggle to comprehend the values of others. This confirms the existence of a continuous conflict in society, necessitating the establishment of a new research field that has hitherto remained unexplored.

During the interviews conducted in Italy, many Italian participants expressed their joy and enthusiasm when describing the importance of the relationship between friends, encapsulated in the Italian word "Amicizia." Several interviewees suggested that being more attuned to "Amicizia" could positively impact people's prosocial behavior. However, some interviewees emphasized the sense of responsibility for others when describing "Amicizia," while others emphasized enjoyment. Segmenting "Amicizia" into two types, with only the former leading to prosocial behavior, is supported by daily behavioral observations of Italian people in Rome. This hypothesis, however, warrants further investigation.

Additionally, this study demonstrated the ongoing impact of each language system as an opportunity to develop interpersonal skills. Many languages, including Italian, use both parenthetical and honorific modes, such as "Tu" (KIMI) and "Lei" (ANATA). However, the interviews revealed numerous instances of confusion, failure, and surprise among Italians when switching between honorific and informal modes on a daily basis. In contrast to other countries, the communication mode of Japanese people is generally honorific. Even among friends, Japanese adults sometimes choose honorific forms to communicate with each other. Conversely, in the United States, a friendly mode is deliberately employed from an early stage when making business contacts. These findings suggest that specific methods are used to reduce interpersonal distance in Japan, indicating that the Japanese language system offers fewer chances to practice psychological interpersonal distancing skills.

The results of the mixed methods research in this study contribute to establishing a new field of research and theory building through the segmentation of intervention targets.

森林樹冠における大気中マイクロプラスチックの捕捉に関する基礎的な研究

Basic research on the capture of atmospheric microplastics in forest canopies

研究代表者 反町 篤行(理工学部応用化学科)

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年3月15日

II) キーワード/①マイクロプラスチック

②PM_{2.5}

③森林

④緩和渦集積法

⑤サイクロン

III) 2023年度交付額/2,000,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

- 1) 増田裕季, 加藤拓真, 佐々木寛大, 松田和秀, 市川有二郎, 村田浩太郎, 反町篤行, 緩和渦集積法を用いたガス・粒子粒状物質の乾性沈着フラックス測定. 2023年度東洋大学工業技術研究所研究発表会, 埼玉県川越市(オンライン)(2024.2.21-3.8). (ポスター発表)
- 2) 佐々木寛大, 増田裕季, 加藤拓真, 川浦綾夏, 反町篤行, 林床における緩和渦集積法を用いたアンモニア放出測定. 第65回大気環境学会年会, 神奈川県横浜市(2024.9.11-9.13). (ポスター発表)(予定)
- 3) 増田裕季, 加藤拓真, 佐々木寛大, 松田和秀, 市川有二郎, 村田浩太郎, 反町篤行, 緩和渦集積法を用いた草木におけるガス・粒子粒状物質の乾性沈着フラックス測定. 第65回大気環境学会年会, 神奈川県横浜市(2024.9.11-9.13). (口頭発表)(予定)
- 4) 清水瑛介, 貞弘悠希, 増田裕介, 大河内博, 反町篤行, 葉に捕捉されたマイクロプラスチックの基礎的な検討. 第65回大気環境学会年会, 神奈川県横浜市(2024.9.11-9.13). (ポスター発表)(予定)

V) 研究経過および成果の概要(日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

近年、持続可能な開発目標(SDGs)において海洋に流出し、海洋生態系の破壊が懸念されている海洋プラスチックが取り上げられている。一方、大気中濃度に関する観測は非常に少なく(大河内ら, 大気環境学会誌, 2022)、大気を介したマイクロプラスチック(MPs)による地球規模汚染の実態解明と健康影響評価は喫緊の課題である。最近、日本の陸域の代表的な地表面である森林の葉への大気中MPs(AMPs)の補足に関する観測例が世界で初めて報告された(Sunaga et al., Environmental Chemistry Letters, 2023)が、微気象学的な測定手法を用いた森林樹冠へのAMPs沈着量の測定例はない。また、AMPs濃度は測定場所に依りて濃度の変動がかなり大きく、低濃度で存在している場合があり(Revell et al. Nature, 2021)、沈着量の測定法を検討する上でAMPsを用いた評価は難しい。そこで本研究では、森林におけるAMPsの沈着・補足に関する測定手法の確立を目指し、大気中濃度が比較的高いエアロゾル粒子成分である硫酸イオンをAMPsのトレーサーとして森林樹冠へのAMPs沈着量の測定法に関して基礎的な検討を行うことを目的とした。硫酸

イオンは比較的濃度が高く、エアロゾル粒子の捕集中の揮発によるアーティファクトがない化学的な性質である。

2. 研究方法

観測は、東京農工大学 FM 津久井（神奈川県相模原市）の放牧地において 2023 年 9 月 24 日～29 日（5 日間）にかけて実施された。観測時間は約 1 日毎であった。

森林樹冠への沈着量の測定法として微気象学的な測定手法である緩和渦集積（REA）法を用いた（図 1）。REA 法は、鉛直風速が上下方向の時に分けて目的物質を捕集し、フラックスを算出する方法である。乾性沈着フラックス F は、鉛直風速 w と目的物質濃度 C により式(1)で算出される。

$$F = \beta \sigma_w ([C^+] - [C^-]) \quad (1)$$

ここで、 $[C^+]$ と $[C^-]$ はそれぞれ鉛直風速が上下方向時の目的物質の平均濃度、 σ_w は w の標準偏差である。 β は超音波風速計で測定した顕熱フラックス $F_h = [w' T']$ （鉛直風速と気温の共分散）と鉛直風速が上下方向時の音仮温度の 10 分間の平均値（ $[T^+]$ と $[T^-]$ ）を用いて式(2)で算出される。

$$\beta = F_h / \sigma_w ([T^+] - [T^-]) \quad (2)$$

$[T^+]$ 、 $[T^-]$ はそれぞれ鉛直風速が上下方向時の音仮温度の 10 分間の平均値である。式(1)と目的物質濃度 C （ $[C^+]$ と $[C^-]$ の平均値）より沈着速度 V_d を式(3)より算出した。フラックスの値はマイナスを沈着とするが、沈着速度はプラスを沈着とするためマイナスを乗ずる。

$$V_d = -F/C \quad (3)$$

REA 法測定システムにおけるエアロゾル粒子の捕集は、 $PM_{2.5}$ サイクロンフィルターパックにより行われた。 $PM_{2.5}$ サイクロンフィルターパックは、エアロゾル粒子を $PM_{2.5}$ サイクロンにより $PM_{2.5}$ に分級し石英繊維フィルターにより捕集する方法である（吸引流量：16.7 L min^{-1} ）。

REA 法測定システムにおいて用いた $PM_{2.5}$ サイクロンフィルターパックでは、吸引大気は $PM_{2.5}$ サイクロン通過後に 2 ラインへ分配器を通過し、粒子捕集後は電磁弁を通過する。分配器への粒子の損失および各部分での吸引大気の漏れを確認するために、REA 法測定システムと同仕様の $PM_{2.5}$ サイクロンフィルターパックを用いたエアロゾル粒子を連続捕集する方法（参照法）による並行測定を実施した。

捕集したフィルターは超純水 10 mL で 20 分間超音波抽出し、陰イオンクロマトグラフィーにて硫酸イオン濃度を定量した。

3. 研究経過および成果の概要



図 1. $PM_{2.5}$ サイクロンフィルターパックを用いた REA 法および参照法測定システム。

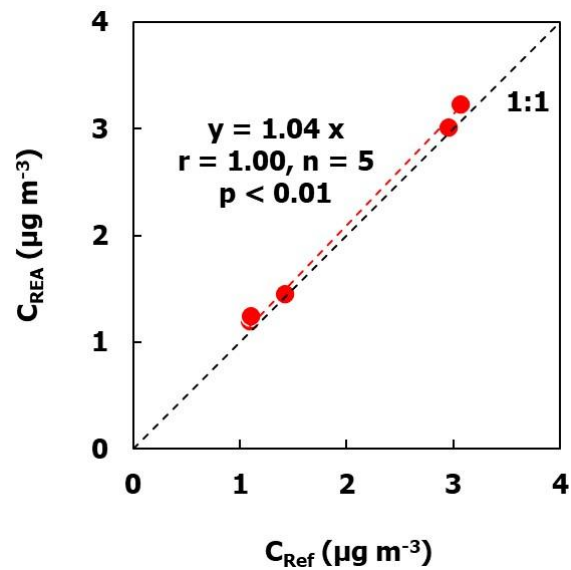


図 2. REA 法と参照法とのエアロゾル粒子中の硫酸イオンの比較。

REA 法により得られた硫酸イオン濃度 (C_{REA}) と参照法より得られた硫酸イオン濃度 (C_{Ref}) の比較を行った結果を図 2 に示す。REA 法と参照法により測定された硫酸イオン濃度の比はほぼ 1:1 を示した。そのため、REA 法測定システムにおける $PM_{2.5}$ サイクロンフィルターパックの分配部分の粒子の損失および各部分での吸引大気の漏れに対して問題はなかったことが確認された。

式(3)より算出された沈着速度 V_d (平均値 \pm 標準偏差) は、 $0.29 \pm 0.17 \text{ cm s}^{-1}$ ($n = 5$) であった。この V_d 値は、本研究と同じ手法である $PM_{2.5}$ サイクロンフィルターパックを用いた草地において測定された $PM_{2.5}$ 中の硫酸イオンの文献値 ($0.42 \pm 5.94 \text{ cm s}^{-1}$, $n = 46$) と同様な結果であった (Myles et al., Environmental Research Letters, 2007)。そのため、本研究の $PM_{2.5}$ サイクロンフィルターパックを用いた REA 法測定システムの妥当性を確認した。

4. 今後の研究における課題または問題点

本研究で開発した REA 法測定システムを森林樹冠への AMPs 沈着・補足に関する観測に導入するために、①森林への AMPs 沈着量測定、②葉への AMPs 捕捉量測定、③AMPs の分析法の検討を進めている。

2.1 森林への AMPs 沈着量測定

森林において AMPs 沈着量を測定するため、川越キャンパス (こもれびの森) において 2023 年 12 月 20~23 日 (4 日間) および 2024 年 1 月 9~11 日 (3 日間) にかけて観測を行った (図 3、4)。

2.2 葉への AMPs 捕捉量測定

葉試料を川越キャンパスの森林 (こもれびの森) において 2024 年 2 月に採取した。落葉の採取に際して、人が立ち入った場所では不純物として人由来の MPs が混入している可能性があるため、人が立ち入っていない場所において採取するように注意した。

2.3 AMPs の分析法の検討

REA 法測定システムによるフィルター試料および落葉試料中の MPs は顕微フーリエ変換赤外分光光度計を用いた減衰全反射法 ($\mu\text{FTIR} \cdot \text{ATR}$ 法) で分析する。ここで、 $\mu\text{FTIR} \cdot \text{ATR}$ 法による MPs 分析では MPs 以外の植物などの有機物が妨害物質として作用する。そこで、MPs 試料の前処理では、物質抽出 (水溶性物質除去)、有機物除去 (有機物分解)、密度分離 (鉱物粒子除去) の工程が必要である (図 5)。有機物除去の工程における有機物分解では過酸化水素が用いられている。ここで、森林では採取した試料に植物由来の有機物が多く含まれている可能性があるため、落葉試料では硫化鉄 7 水和物を触媒として添加した過酸化水素 (フェントン反応) により行う予定である。また、AMPs は葉への吸着が強いためアルカリ水溶液を用いる必要があるため (Sunaga et al., Environmental



図 3. 川越キャンパス (こもれびの森) における測定地点。



図 4. 川越キャンパス (こもれびの森) の林床における $PM_{2.5}$ サイクロンフィルターパックを用いた REA 法測定システム。

Chemistry Letters, 2023)、AMPs の抽出条件などを検討する。

本研究における MPs 試料の分析では、バイオナノエレクトロニクス研究センターの μ FTIR を使用する予定であるが、本研究期間中に故障であったため使用することができなかった。しかし、 μ FTIR の修理・点検が 2024 年 3 月に終了したため、今後 μ FTIR・ATR 法による MPs の分析を進める予定である。

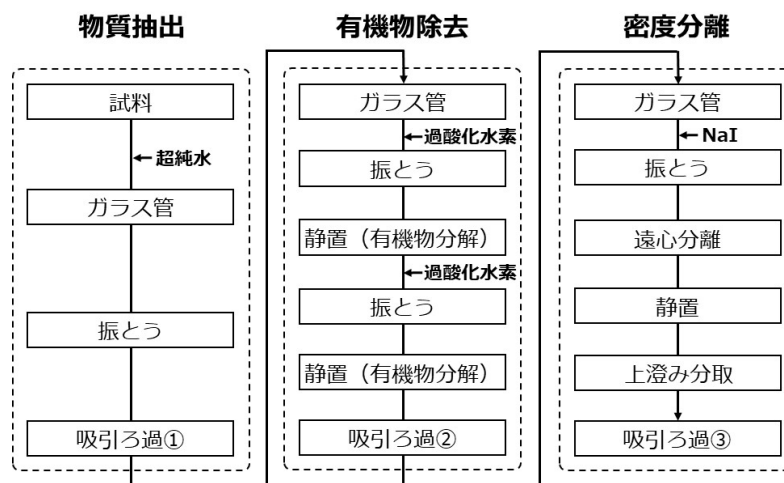


図 5. MPs 試料の前処理手順.

VI) Summary (英語 400 単語程度)

In recent years, the Sustainable Development Goals (SDGs) have focused on marine plastics, which are a concern for the destruction of marine ecosystems. On the other hand, the actual status of microplastics (MPs) transmitted through the atmosphere and health impact assessment are unclear. Until now, there has been no example of measuring the amount of AMPs deposited on the canopy of a forest, which is a typical land surface in Japan. The concentration of AMPs varies considerably depending on the measurement location, and may exist at low concentrations (Revell et al. 2021), making it difficult to evaluate using AMPs when considering methods for measuring the amount of deposition. Therefore, in this study, we aimed to establish a measurement method for the deposition and supplementation of AMPs in forests, and conducted a basic study on a method for measuring the amount of AMPs deposited in the forest canopy using sulfate ions in aerosol particles as a tracer of AMPs. The chemical nature of sulfate ions is such that there are no artifacts due to volatilization during collection of aerosol particles.

Observations were conducted on pastureland from September 24th to 29th, 2023 (5 days). The observation time was approximately every day. In this study, we used the relaxed eddy accumulation (REA) method, which is a micrometeorological measurement method. The REA method is a method that collects the target substance separately when the vertical wind speed is in the vertical direction and calculates the flux. Aerosol particles were collected in the REA measurement system using a PM_{2.5} cyclone filter pack (PM_{2.5}S-FP). In the PM_{2.5}S-FP used in the REA method measurement system, the sucked air passes through a PM_{2.5} cyclone and then a two-line distributor, where particles in the sucked air are collected. In order to check the problem of particle loss to the distributor and leakage of the suction atmosphere at each part, the aerosol particles were collected by a method of continuous collection of using PM_{2.5}S-FP (the reference method) in order to compare with the REA method.

As a result of comparing the sulfate ion concentrations obtained by the REA method and

the reference method, the concentration ratio was approximately 1:1. Therefore, it was confirmed that there were no problems with PM_{2.5}S-FP in the REA method measurement system. The deposition velocity (V_d) calculated in this study was $0.29 \pm 0.17 \text{ cm s}^{-1}$ ($n = 5$). This V_d value was similar to the literature value of sulfate ions ($0.42 \pm 5.94 \text{ cm s}^{-1}$, $n = 46$) measured in grassland using the same method as in this study (Myles et al., 2007). Therefore, we confirmed the validity of the REA measurement system used in this study.

燃料電池・水素エンジン小型ハイブリッドシステムの実現に向けた
超小型レシプロエンジンにおける水素燃焼技術の確立

Development of Hydrogen Combustion Technique in a Micro
Reciprocating Engine to Realize a Small Hybrid Propulsion System using
Fuel Cells and Hydrogen Combustion Engines

研究代表者 皆川 和大(理工学部機械工学科)

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年3月15日

II) キーワード/①水素 Hydrogen
②超小型エンジン Micro Engine
③燃焼 Combustion
④過早着火 Pre-ignition
⑤無人機 UAV

III) 2023年度交付額/ 1,480,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

- (1) 皆川和大, 櫻井毅司, ”水素による超小型レシプロエンジンの試運転”, 日本機械学会 2023年度年次大会, 東京 (2023), J081-04.
- (2) 皆川和大, 櫻井毅司, ”UAV用超小型水素レシプロエンジンにおけるストール要因の検討”, 第63回航空原動機・宇宙推進講演会, 札幌 (2024), 2A01.

V) 研究経過および成果の概要

1. イントロダクション

ドローンに代表される UAV では、「バッテリー+モーター」による動力システムが主流であるが、重量出力密度の点では内燃機関の方が断然優れている。特にこの性能が求められる民間旅客機においては、水素を燃料とする水素ジェットエンジンや「水素ガスタービン（発電）+モーター」のハイブリッドシステムが将来的に必要なと見られており、水素を燃焼させる水素エンジンに関する技術開発も、今後ますます重要になるものと考えられる。このような背景を踏まえ、研究代表者は UAV 用の動力源を想定した「燃料電池・超小型水素レシプロエンジンハイブリッドシステム」を提案している。この実現のためには、超小型レシプロエンジンにおける水素燃焼技術の確立がまず必要となる。

2. 研究方法

本研究では、4ストロークガソリンエンジンであり、かつ実験室の設備等を勘案し極力小型のエンジンであることを条件に、(株) 斎藤製作所の FG-11 を選定し使用した。エンジンの写真および

諸元を図 1 に示す。



Manufacturer	SAITO SEISAKUSHO CO., LTD.
Model	FG-11
Bore	φ27.0 mm
Stroke	19.0 mm
Displacement	10.9 cm ³
Speed Range	Apporx. 2000-9500 rpm
Ignitor	Spark plug

図 1 エンジン外観および諸元

(1) 自己着火温度の見積り

水素を火花点火式レシプロエンジンの燃料として使用する場合，圧縮過程での温度上昇に伴う自己着火が起こらないようにする必要がある．そこで，水素／空気混合気の自己着火温度を，化学反応計算プログラム CHEMKIN 内の SENKIN を用いて見積もった．

(2) 実験装置

図 2 に本研究で製作した実験装置の概略を示す．本装置は，エンジン本体，プロペラ（APC 製，13×7），スターターモーター，水素供給系，潤滑油タンクおよび計測系からなっている．水素は，高压容器から供給され，予混合室に流入し空気と混合する．予混合室とキャブレター入口は配管で接続し，エンジンの回転によって予混合気が自然吸気される．なお，吸気系の抵抗により，スロットル開度は 50[%]相当になっている．

水素，空気，潤滑油および比較のために行ったガソリンの各流量のほか，回転数およびエンジン外壁，吸排気バルブ，排気ガスの各温度を K 熱電対および赤外線サーモグラフィカメラで計測した．シリンダー内圧力は，燃焼圧センサーにより計測した．点火時期は，ホールセンサーの取付け位置を変えることによって変化させた．

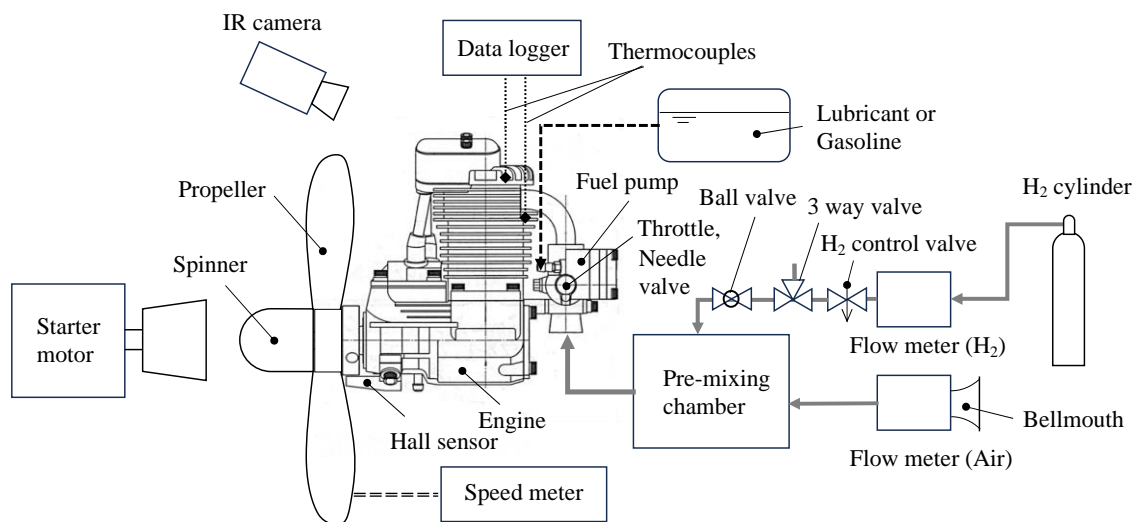


図 2 超小型水素レシプロエンジン実験装置

3. 研究経過および成果の概要

(1) 自己着火温度

図3に、水素/空気混合気の自己着火温度の計算結果を示す。当量比 $\phi=1$ 、初期圧力20[atm]の条件での自己着火温度は534[°C]であり、仮に断熱的に圧縮されたとしても、本エンジンの場合には、圧力が約18[atm]、圧縮後温度は約390[°C]であるため、圧縮過程において自己着火温度まで達しないことがわかった。

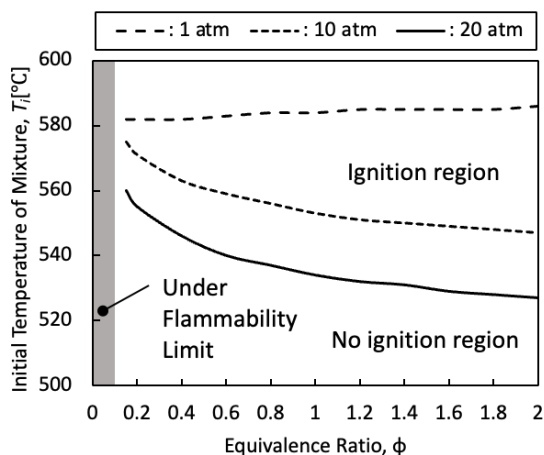


図3 水素/空気混合気の自己着火温度

(2) 水素によるエンジン作動実験

①始動方法の確立

エンジンの始動は、まず所定の流量になるように予め水素の流量調整弁を設定しておき、スターターモーターでエンジンを回転すると同時にスパークプラグを点火させ、水素供給ラインのボール弁を開けて水素を供給する。この方法により予混合気が速やかに着火して、容易に始動できることがわかった。

②潤滑油供給方法の確立

このタイプのエンジンでは、燃料に少量の潤滑油を混合した混合燃料を使用することで、エンジン内部の潤滑機能を確保しているが、水素で作動させる場合にはその方法がとれない。試行錯誤の結果、通常はガソリンを供給する燃料ポンプに潤滑油を供給することにより、エンジン内の潤滑を図れることがわかった。潤滑油流量はニードルバルブで調整が可能である。潤滑油は、防錆潤滑剤とタービンオイルとを比較した結果、より引火点が高いタービンオイルの方が適していることがわかった。

③自立運転の達成

②により潤滑油の連続的な供給が可能になったことで、水素による連続運転が可能になった。ただし、水素/空気の混合比が低い条件(最大水素流量2.5[SLM]、当量比 $\phi=0.2$ 、空気過剰率 $\lambda=5$)に限られた。より高い混合比にした場合には、始動はするもののエンジン回転数が徐々に低下し、やがて停止してしまうことがわかった。

④エンジン停止要因の究明

高い混合比でエンジンが停止してしまう原因を明らかにするために、表1に示すようにFTAによる要因分析を行い、各要因について詳しく調べた。

その結果、図4に示すように、停止してしまう水素流量3.0[SLM]の条件における停止直前のシリンダー内圧力が、上死点(TDC)より前に急激に高くなっていることから、過早着火が生じたと考えられる。すなわち、水素/空気混合比が高くなるとその反応速度が大きくなる。この状態で過早着火が生じるとエンジンの圧縮仕事が大きくなり出力が低下する。これによりエンジンの回転数が低下し、吸い込み空気流量は減少するが水素は一定流量で供給しているため、さらに混合比が高くなるといった悪循環に陥ったことが原因と考えられる。

⑤安定作動範囲の拡大

過早着火が生じないように、点火タイミングを遅くして運転したところ、図5に示すようにより大きな水素流量まで安定して作動させることが可能になった(ガソリンによるオリジナルの点火時期が図中の 0°)。最終的に得られた最大出力は、 $\phi=0.5$ 、 $\lambda=2$ 、回転数約7500[rpm]において、約

260[W]となった。燃焼効率を1と仮定した場合の熱効率は、約0.22となった。

表1 エンジン停止要因の分析

Undesirable Event	1st. Element	2nd. Element	3rd. Element	4th. Element
Engine stall at higher hydrogen flow rate	Decrease in output	Less compression	Decrease in charging efficiency	Decrease in intake valve lift
				Decrease in exhaust valve lift
			Tighter movement of valves	
		Leaking through a piston ring	Rapid expansion of the cylinder	
	Miss fire	Out of flammable limit	Decrease or increase in flow rates	
		Insufficient spark energy		
	Increase in compression work	Pre-ignition	Inappropriate ignition timing	
Increase in losses	Friction loss	Insufficient lubrication		
	Cooling loss	Higher engine wall temperature		
	Exhaust loss	Higher exhaust gas temperature		
	Pumping loss	Increase in flow resistance in intake or exhaust manifold		
	Unburned loss	Decrease in reaction rate etc.		

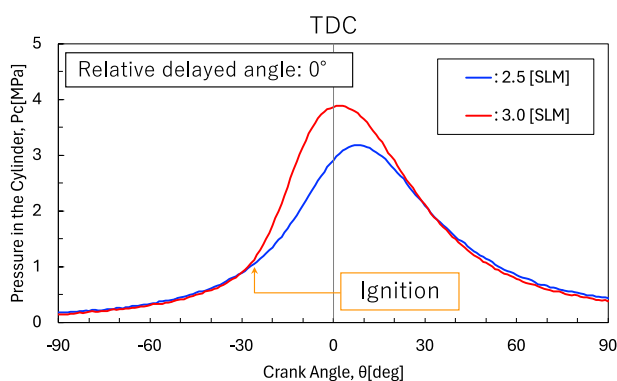


図4 停止直前のシリンダー内圧力の変化

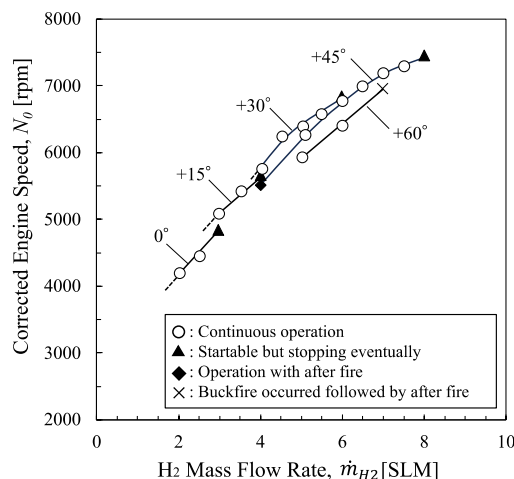


図5 点火時期の違いによるエンジン作動特性の変化

4. 今後の研究における課題または問題点

実際に UAV を飛行させることを考えると出力がまだ足りないため、出力の向上が今後の課題である。また、今年度は実施できなかった未燃水素の計測や、最終的に想定している燃料電池とのハイブリッドシステムでは水素を予熱してエンジンに供給することから、この影響についても今後調べる必要がある。

VI) Summary

Realization of reliable hydrogen combustion aero engines would be necessary to future aircrafts, and it also enables UAVs (Unmanned Aerial Vehicles) to choose various types of power sources. Some studies to run a micro reciprocating engine with hydrogen fuel were conducted. FG-11 4-stroke gasoline engine for radio-controlled model airplanes which have a displacement of 10.9 [cm³] was used.

Spontaneous ignition temperatures of hydrogen-air mixture were calculated with SENKIN code. The temperatures were lower than that of the mixture after compression

adiabatically. It showed spontaneous ignition will not occur during its compression process for this engine.

An experimental apparatus with the engine was build. Hydrogen and air were premixed in a chamber before entering the engine. Mass flow rates of hydrogen, air, lubricant, and gasoline were measured. The temperatures on the cylinder walls, the intake/exhaust valves and exhaust gas temperatures were measured with K-type thermocouples or an infrared camera. Pressure in the cylinder and engine rotating speed were also measured.

The engine showed excellent startability. Hydrogen-air premixture immediately ignited after supplying hydrogen fuel. Lubricant was supplied from a fuel pump which supplied gasoline originally. This method was effective to distribute the lubricant within the engine. Turbine oil was better than anti-rust lubricant. When the equivalence ratio of the premixture was under 0.2, the continuous operation was achieved.

However, the engine speed gradually decreased, and it eventually stopped in higher hydrogen flow rates. Possible factors causing the engine stalls were defined using FTA method. The temperature distributions on the engine surface and its tips of the valves were measured during operation with hydrogen or gasoline. No significant difference between these temperature distributions was identified.

The pressure in the cylinder rapidly increased before the TDC right before the stopping. It was considered that pre-ignition during the compression process occurred. This could cause the engine stalls. That is, as the hydrogen/air mixture ratio increases, the reaction rate increases. If pre-ignition occurs in this condition, the compression work of the engine will increase and the output will decrease. This results in decreasing the engine speed and the intake air flow rate, but since hydrogen is supplied at a constant flow rate, the mixture ratio becomes even higher. It is assumed that the engine stalled by falling into like this vicious cycle.

When the ignition timing was delayed to prevent the pre-ignition, the engine has succussed in its continuous operations in higher hydrogen flow rates. The performances obtained were the output power 260[W] and the thermal efficiency 0.22 at the equivalence ratio 0.5 and the engine speed 7500[rpm].

アーベル多様体上の「チェビシェフの偏り」

Chebyshev's bias for abelian manifolds

研究代表者 小山 信也(理工学部生体医工学科)

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年3月15日

II) キーワード/①素数

②チェビシェフの偏り Chebyshev's bias

③ゼータ関数 Zeta functions

④深リーマン予想 Deep Riemann Hypothesis

⑤リーマン予想 Riemann Hypothesis

III) 2023年度交付額/ 1400000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

論文

- I. Kaneko and S. Koyama "A new aspect of Chebyshev's bias for elliptic curves over function fields" Proceedings of the American Mathematical Society 151(12) 5059-5068 2023年9月
- 小山信也「素数の偏りと深リーマン予想 (前編)」現代数学2月号. 2024年1月
- 小山信也「素数の偏りと深リーマン予想 (後編)」現代数学2月号. 2024年2月

書籍等出版物

- 小山信也「素数って偏ってるの？」技術評論社. 2023年10月

学会発表

- 小山信也・田中花菜「代数曲線上のチェビシェフの偏り」日本数学会・秋季総合分科会. 2023年9月

口頭発表 (国際会議)

- Shin-ya Koyama "Chebyshev's bias for algebraic curves" Zeta functions in Okinawa 2023年10月

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

私は、19世紀の数学者チェビシェフが指摘した素数の分布の偏りに関する未解決問題「チェビシェフの偏り」に対し、2021年に初の定式化に成功し、深リーマン予想の仮定下でその存在を証明した。翌2022年、その成果を「ラマヌジャン関数の符号の偏り」に拡張し、さらにそれを「楕円曲線上の係数の符号の偏り」に一般化した(黒川信重氏、金子生弥氏との共同研究)。本研究では、それらの成果のさらなる拡張を目指し、楕円曲線をより一般のアーベル多様体に拡張することを目標とした。

2. 研究方法

一般のアーベル多様体に対し、コホモロジーの H^1 パートに注目すれば、代数曲線の場合と同様に「チェビシェフの偏り」を定式化できる。その方法によってまず代数曲線を、すでに証明されている楕円曲線の場合から順次拡張していくことにより、研究課題へのアプローチを試みた。2022年度に奥村喜晶氏が「素数次フェルマー曲線」に対して「チェビシェフの偏り」の存在を深リーマン予想の仮定下で証明した。この方法を一般化することで、素数次以外のフェルマー曲線に対する現象を観察する方針で研究に着手した。

3. 研究経過および成果の概要

研究成果は大きく3つに分けられる。第一は、本研究で主目的としていたアーベル多様体のうち、「代数曲線上のチェビシェフの偏り」に関する進展である。一般の代数曲線に対し、2次モーメント L 関数の1における零点の位数を用い、「重み付き個数関数の差」を表現する公式を証明した。これによって、2次モーメント L 関数が1において零点あるいは極を持つ場合、それらに応じて「チェビシェフの偏り」の存在を深リーマン予想の仮定下で証明することができ、偏りを持つ素数の類を確定できる。この成果は、田中花菜氏との共同研究として2023年9月に日本数学会・秋季総合分科会において口頭発表を行った。2次モーメント L 関数が実際に零点と極のどちらを持つかは、一般にはいろいろな場合がある。

第二の成果は、その特定を「有理数体上の4次フェルマー曲線」に対して行い、深リーマン予想の仮定下で「チェビシェフの偏りの存在を証明したことである。これは、奥村喜晶氏との共同研究であり、昨年度に奥村氏によって証明された「素数次フェルマー曲線」の場合の結果の拡張である。4次フェルマー曲線の場合、ヤコビ多様体が3個の楕円曲線の積となるため、ゼータ関数もそれらの積で表され、§1で述べた金子生弥氏との共同研究による楕円曲線上の偏りに関する結果を用いることができる。それによって、4次フェルマー曲線上においても、楕円曲線のとおり同様の現象が証明でき、チェビシェフの偏りの存在が深リーマン予想の仮定下で示された。この成果は、奥村喜晶氏との共著論文として原稿を執筆中である。

第三の成果は、イギリス・ワーウィック大学の Arshay Sheth 氏とのオンラインによる共同研究によるものである。Sheth 氏は大学院生であるが、学位論文の制作中に私の研究に興味を持ち、連絡を取って来てくれた人である。本研究計画立案時には面識が無かったが、2023年度中にオンラインによる共同研究を追加で実行した。この成果は、深リーマン予想の仮定下でなく、リーマン予想のみを仮定した場合の結果の精査である。その場合、重み付き個数関数の差は、 $\log \log x$ の定数倍になるとは限らないが、有界な関数倍になることが示される。これをもって「チェビシェフの偏り」の新定義とすることも可能であり、本研究課題に新たな可能性と側面を提示することができる。ただし、 $\log \log x$ の漸近挙動は、すべての x にわたるわけではなく、対数測度が有限の例外集合を除いてわたる。これは、私が2016年に証明した方法 (Koyama's refinement と呼ばれる) を用いた手法であり、Sheth 氏の着想による。この成果は、現在も進行中である。以上、海外の研究者との連携も含め、本研究課題に対する成果を得ることができた。

4. 今後の研究における課題または問題点

ヤコビ多様体が既知の楕円曲線などの積で表されるという4次フェルマー曲線の特徴は、クライン曲線でも見られることがわかっており、本研究の方法を適用できると考えられる。今後は、そうした方法も踏まえながら、深リーマン予想の仮定下でチェビシェフの偏りの存在を示せるアーベル多様体の枠を広げていきたい。また、標数正の場合には深リーマン予想が証明されていることから、

仮定なしでの証明が可能となる。そうしたケースにも成果を広げ、チェビシエフの偏りの存在を示していきたいと考えている。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

In 2021, I succeeded in formulating the unsolved problem "Chebyshev's bias" regarding the bias in the distribution of prime numbers, which was pointed out by the 19th century mathematician Chebyshev and confirmed its existence under the assumption of the Deep Riemann Hypothesis. The following year, in 2022, the results were extended to "bias in the sign of the Ramanujan τ function" and then generalized to "bias in the sign of the coefficients on the elliptic curve" (in collaboration with Nobushige Kurokawa and Ikuya Kaneko). In this study, we aim to further extend these results and extend elliptic curves to more general Abelian varieties.

For general Abelian varieties, if we focus on the H1 part of the cohomology, we can formulate "Chebyshev's bias" in the same way as for algebraic curves. Using this method, we attempted to approach the research problem by first extending algebraic curves sequentially starting from the already proven case of elliptic curves. In 2022, Yoshiaki Okumura proved the existence of "Chebyshev bias" for "prime-degree Fermat curves" under the assumption of the Deep Riemann Hypothesis. By generalizing this method, we began our research with the goal of observing phenomena for Fermat curves of non-prime degree.

The research results can be broadly divided into three categories. The first is progress regarding the "Chebyshev bias on algebraic curves" among abelian varieties, which was the main objective of this research. For general algebraic curves, we proved a formula that expresses the "difference of weighted counting functions" using the order of the zero at 1 of the second-moment L function. As a result, if the second-moment L function has a zero or a pole at 1, it is possible to prove the existence of "Chebyshev's bias" under the assumption of the Deep Riemann Hypothesis, and to find the class of prime numbers towards which a bias exists. This result was presented orally at the Autumn General Subcommittee of the Mathematical Society of Japan in September 2023 as joint research with Hana Tanaka. In general, there are various cases as to whether a second-moment L function actually has a zero or a pole.

The second result was to identify it for the "fourth-degree Fermat curve over the field of rational numbers" and to prove the existence of "Chebyshev's bias" under the assumption of the Deep Riemann Hypothesis. This is joint research with Yoshiaki Okumura and is an extension of the results for the case of "prime-degree Fermat curves" proven by Okumura last year. We showed the existence of Chebyshev's bias under the assumption of the Deep Riemann Hypothesis. I am currently writing a manuscript based on this result as a co-authored paper with Okumura.

The third research is online collaborative research with Arshay Sheth of the University of Warwick, UK. Mr. Sheth became interested in my research and contacted me. We carried out additional online joint research in 2023. This is a close examination of the results when only the Riemann Hypothesis is assumed, rather than the Deep Riemann Hypothesis. This project is still in progress.

化学物質分解の鍵となる微量元素要因の解明

Effect of Trace Elements on the Biological Chemical-Degradation

研究代表者 井坂 和一（理工学部応用化学学科）

I) 研究期間／2023年6月30日～2024年3月15日

II) 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銅 Copper

III) 2023年度交付額／1,400,000円

IV) 研究発表／学会および口頭発表

○東海林俊尋、井坂和一ほか『異なる担体法を用いた1,4-ジオキサン処理におけるリン制限の影響』第60回日本水処理生物学会（2023年11月/山形大学）

○萩原大祐、井坂和一ほか『連続試験系におけるFe(II)、Cu(II)が1,4-ジオキサン処理性能へ及ぼす影響』第60回日本水処理生物学会（2023年11月/山形大学）

○萩原大祐、井坂和一ほか『連続試験系におけるCo(II)、Ni(II)が1,4-ジオキサン処理性能へ及ぼす影響』第58回日本水環境学会年会（2024年3月/九州大学）

V) 研究経過および成果の概要（日本語2000字程度）

1. イントロダクション

1,4-ジオキサンは、ヒトへの発癌性が疑われる難分解性の化学物質であり、一般的な排水処理技術では分解・除去が困難である。近年、1,4-ジオキサンを分解可能な微生物の存在とその単離に成功した報告例により¹⁾、分解菌の排水処理技術への活用が期待されている。一般的に、生物学的排水処理プロセスでは排水中の金属元素の種類および濃度によって、活性化および阻害影響が報告されており²⁾、分解菌を用いた1,4-ジオキサン排水処理プロセスの開発においても詳細な検討が必要である。本研究では、1,4-ジオキサン分解菌（*Pseudonocardia* sp. D17株）を固定化した担体を用い、連続試験系においてFe(II)、Cu(II)およびCo(II)添加が1,4-ジオキサン処理性能へ及ぼす影響を調査した。さらに、これらの元素が担体内における*Pseudonocardia* sp. D17株の増殖および分解活性へ及ぼす影響を調査した。分解活性については、動力学的解析により定量的な評価を行い、得られた知見を報告する。

1) Sei et al., (2013), Isolation and characterization of bacterial strains that have high ability to degrade 1,4-dioxane as a sole carbon and energy source. *Biodegradation*, 24, 665-674

2) Inoue et al., (2020), Stimulatory and inhibitory effects of metals on 1,4-dioxane degradation by four different 1,4-dioxane-degrading bacteria. *Chemosphere*, 238, 124606

2. 研究方法

①供試排水：1,4-ジオキサンを単一の炭素源とし、 20 mg L^{-1} に調製した合成排水を用いた。連続試験装置を用意し、Fe(II)、Cu(II)およびCo(II)の添加濃度を調整した。

②供試担体：*Pseudonocardia* sp.D17 株の培養液をポリエチレングリコール (PEG) 系のゲル内部に包括固定化した。担体はアルギン酸を用いた球形に成型し、直径 5 mm 程度の球状に成型したものを用いた。PEG のモノマー濃度は 15% とした。

③実験装置：実験装置を図 1 に示す。連続試験には、反応容積 1.44 L の円筒形アクリル製リアクターを用いた。槽内に供試担体を 15% (体積) となるよう充填し、曝気により担体を流動させた。槽内の温度は恒温槽を用いて 25°C に維持した。槽内の pH は pH コントローラーを用いて $\text{pH}7.6$ となるよう調整した。

④分析方法：1,4-ジオキサンの分析方法として、低濃度条件では HS-GC/MS (HS8697-GC8660/MS5977B, Agilent) を用いた。高濃度サンプルについては、GC-FID (GC-4000 Plus, GL Sciences) により分析した。微量金属元素の分析方法としては、ICP-MS (iCAP Q, Thermo Fisher) により分析した

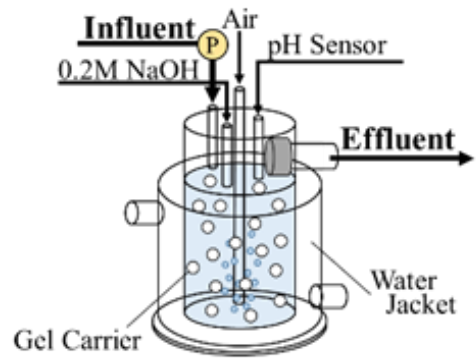


図 1 連続試験装置

3. 研究経過および成果の概要

①Fe(II)試験：Fe(II)が処理性能へ及ぼす影響を調査した (図 2)。Fe(II)添加濃度が $100.4 \sim 1004 \mu\text{g L}^{-1}$ の条件であれば、いずれの系においても処理水中の 1,4-ジオキサン濃度は排水基準値 (0.5 mg L^{-1}) 以下まで処理が可能であった。一方、Fe(II)添加濃度 $0 \mu\text{g L}^{-1}$ 系では、処理性能は不安定であり、安定して排水基準値以下を維持することはできなかった。

試験開始と終了時に担体内の生菌数を測定した結果、Fe(II)の添加濃度を増加させると、生菌数が増加する傾向を確認した。更に各系において回分試験を行い、最大処理速度 (V_{max}) を求めた結果、Fe(II)添加濃度 $1004 \mu\text{g L}^{-1}$ 系の V_{max} は $0.30 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ となり、他の添加条件に比べて 2 倍以上の高い値を示した。よって、Fe(II)の添加は、担体内の生菌数を増加させ、1,4-ジオキサンの処理性能を向上させる傾向が得られた。

②Cu(II)試験：Cu(II)が処理性能へ及ぼす影響を調査した。Cu(II)添加濃度が $0 \sim 64 \mu\text{g L}^{-1}$ の条件であれば、いずれの系においても処理水中の 1,4-ジオキサン濃度は排水基準値以下まで処理が可能であった。一方で、低濃度領域では処理性能に差が見られ、Cu(II)添加濃度 $6.4, 64 \mu\text{g L}^{-1}$ 系は、Cu(II)添加濃度 $0 \mu\text{g L}^{-1}$ 系に比べて、よ

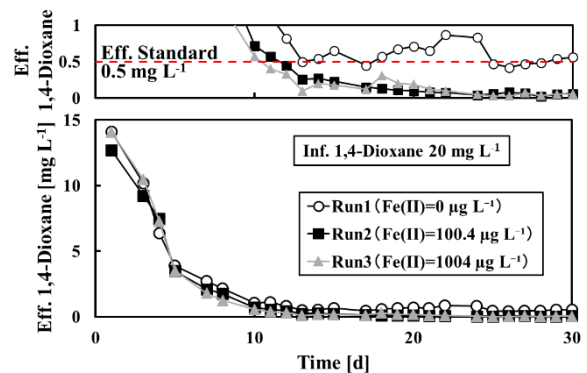


図 2 Fe(II)添加による処理性能の比較

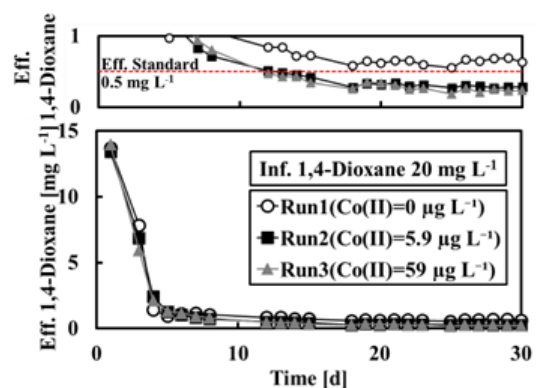


図 3 Co(II)添加による処理性能の比較

り低濃度まで処理が可能であった。

③Co(II)試験：連続試験系において、Co(II)が1,4-ジオキサン処理性能へ及ぼす影響を調査した(図3)。Co(II)を添加しないRun1では、試験開始直後から処理水中の1,4-ジオキサン濃度の減少が見られたが、30日目までに排水基準値(0.5 mg L⁻¹)以下を達成することができなかった。一方で、Co(II)を添加したRun2, 3は、処理水中の1,4-ジオキサン濃度は排水基準値以下まで処理が可能であり、Co(II)添加の有無によって、特に低濃度領域において、処理性能の差が確認された。

各系において、動力学解析を行い、最大処理速度(V_{max})を求めた。Co(II)を添加しないRun1のV_{max}は0.11 kg m⁻³ d⁻¹であり、Co(II)を添加したRun2, 3は、それぞれ0.17および0.16 kg m⁻³ d⁻¹となり、無添加のRun1と比べて高い処理速度を示した。更に、連続試験系開始と終了時における担体内の生菌数を測定した結果、Co(II)を添加しないRun1では、担体内の分解菌の増殖が抑制される傾向が確認された。よって、Co(II)添加は、担体内における分解菌の生菌数を増加させ、1,4-ジオキサン処理性能を向上させる傾向が示された。

4. 今後の研究における課題または問題点

本試験では、各元素の影響を評価するためオーダーレベルでの濃度評価を実施している。微量元素の添加による分解活性の向上は確認できたが、コストや環境負荷を考えるとその添加量は最小限であることが好ましい。今後、今回得られた結果を基に、さらに細かい濃度条件での評価を行い、適正な濃度条件の検討が必要である。また、1,4-ジオキサン濃度の増加に伴い、必要とされる微量元素濃度も変化する可能性がある。今後、1,4-ジオキサン濃度を変動させた系において、必要とされる各微量元素濃度を解明する必要がある。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

1,4-Dioxane is a persistent chemical substance suspected of being carcinogenic to humans, and is difficult to degrade and remove by conventional wastewater treatment method. The existence of microorganisms capable of degrading 1,4-dioxane and the successful isolation of microorganisms have raised expectations for the use of degrading bacteria in wastewater treatment method. In general, biological wastewater treatment processes have been reported to have activating and inhibitory effects depending on the type and concentration of metal elements in wastewater. In this study, the effects of Fe(II), Cu(II), and Co(II) addition on 1,4-dioxane treatment performance were investigated in a continuous test system using a carrier on which 1,4-dioxane-degrading bacteria (*Pseudonocardia* sp. strain D17) were immobilized.

A cylindrical acrylic reactor with a reaction volume of 1.44 L was used for the continuous test. The tank was filled with 15% (by volume) of the test carriers. The temperature in the reactor was maintained at 25 °C using a water bath. The pH in the reactor was adjusted to pH 7.6 using a pH controller.

The effect of Fe(II) on treatment performance was investigated. In all systems, the concentration of 1,4-dioxane in the treated water was below the effluent standard (0.5 mg L⁻¹) at Fe(II) addition concentrations of 100.4~1004 µg L⁻¹. On the other hand, in the 0 µg L⁻¹ Fe(II) system, the treatment performance was unstable and could not stably maintain the

concentration below the effluent standard value.

The effect of Cu(II) on treatment performance was also investigated, and the concentration of 1,4-dioxane in the treated water could be treated to below the effluent standard in both systems at Cu(II) addition concentrations of 0 to 64 $\mu\text{g L}^{-1}$. On the other hand, the performance of the systems with Cu(II) addition concentrations of 6.4 and 64 $\mu\text{g L}^{-1}$ were able to treat to lower concentrations than the system with Cu(II) addition concentration of 0 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Finally, the effect of Co(II) on 1,4-dioxane treatment performance was investigated in the continuous test system: In Run 1 without Co(II), the concentration of 1,4-dioxane in the treated water decreased immediately after the start of the test, but could not achieve the effluent standard value (0.5 mg L^{-1}) or less by day 30. On the other hand, the concentration of Co(II) On the other hand, in Runs 2 and 3, where Co(II) was added, the concentration of 1,4-dioxane in the treated water could be treated to below the effluent standard value, and the difference in treatment performance was confirmed, especially in the low concentration range, depending on whether Co(II) was added or not.

生体内温度モニタリング機能を有する温熱治療システムの開発

Development of a hyperthermia treatment system with in vivo temperature monitoring function

研究代表者 新藤 康弘(理工学部機械工学科)

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年3月15日

II) キーワード/①非侵襲 non-invasive

②温度モニタリング temperature monitoring

③超音波画像 ultrasound images

④ハイパーサーミア hyperthermia treatment

⑤空洞共振器 resonant cavity applicator

III) 2023年度交付額/1,400,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

- ・栗原汰一、新藤康弘「バーチャル技術を用いた温熱治療システムの開発」第51回可視化情報シンポジウム、2023
- ・田尾多駿人、新藤康弘、「マイクロ波治療機器周辺の漏洩電磁界可視化技術の開発」第51回可視化情報シンポジウム、2023
- ・田尾多駿人、新藤康弘「両脚の同時加温を目的とした円筒型空洞共振器加温システムの温度分布解析」日本ハイパーサーミア学会第40回大会、2023
- ・桜井雅弘、新藤康弘「種々の共振モードを用いた大型空洞共振器の加温特性解析」日本ハイパーサーミア学会第40回大会、2023

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

癌は、熱感受性が強く、 $43\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 程度で、一定時間加温されると死滅することが確認されている。この臨床的事実に基づき、様々な部位組織に対する癌の温熱療法（ハイパーサーミア）が化学療法などと併用され、浅部癌に対しては治療成果が向上している。しかしながら、深部癌に対しては、加温に使用する電磁波の性質から、加温エネルギーが深部まで到達しにくいために、アプリケーション周辺の組織が異常加温（低温火傷）されてしまう等の例が多く報告されており、未だに効果的な治療法および加温装置は開発されていない。このような状況において、安全性の確保のためには術中の生体内温度分布モニタリングが必須であるが、癌温熱治療分野においては電磁波を熱源とする加温治療システムが多いため、加温をしながらのリアルタイム温度分布モニタリング技術は確立されていない。

このような背景のもと、これまで我々の研究グループは、これらを克服するための新たな技術の開発に取り組んできた。具体的には、深部の加温ターゲットを非接触状態で加温可能な「空洞共振器加温システム」を開発し、その加温特性について加温実験とコンピュータシミュレーションの両面から検討を行ってきた。さらに、本研究を温熱リハビリテーションシステムへ発展応用した研究では、変形性膝関節症を対象として大学病院とともに共同研究を行い、深部加温の可能性について確認している。また、温度分布モニタリングシステム研究では、加温前後の患部の超音波画像から、画像内の領

域における、体内温度分布を非侵襲的に温度計測できる可能性を実験的に示してきた。本研究では、これら二つの非侵襲状態での加温治療・温度分布モニタリング技術をそれぞれ組み合わせることで、精度が高く安全性も高い非侵襲加温治療システムの開発を目指している。

2. 研究方法

本研究では、これまでに設計試作してきた様々な空洞共振器アプリータ形状に対して、超音波画像による温度分布評価を行い、その温度計測精度や加温への影響、同時使用した際の電磁波干渉などに関して、筋肉等価寒天ファントムを用いた加温実験と FDTD 解析手法によるコンピュータシミュレーションの両面から検討を行う。また、研究をさらに発展させ、変形性膝関節症のための両脚同時加温アプリータの設計・試作を行い、その新型アプリータを用いた深部加温性能の評価についても実験とコンピュータシミュレーションの両面から検討を行った。

3. 研究経過および成果の概要

まず、従来の小型円筒型空洞共振器を用いた加温実験を行った。加温実験では人体の筋肉組織の電氣的パラメータと等価となるように調整した特殊な筋肉等価寒天ファントムを試作し、それを被加温体として用いた。加温実験を実施し、加温直後に寒天ファントム中央断面を撮像した赤外線サーモカメラによる温度分布結果と、超音波画像による温度分布計測結果とを比較検討した結果、温度誤差を 1°C 以内で計測できていることを確認した。また、加温中にも電磁波による計測妨害などは発生せず、精度が高い状態でモニタリングできることを確認した。

また、血管、神経、骨格や臓器に至るまでを再現した高精細人体解剖学的モデルを用いた FDTD 解析手法による、電磁波-温度分布連成解析を実施した。術中の共振器からの漏洩電磁波分布、加温後の生体内温度分布解析結果から、本アプリータを用いた場合、周辺への漏洩電磁界範囲は極めて狭くかつ、加温後には実験と同様に被加温体深部のみを集中的に加温できることを数値的に明らかとした。これらの実験、解析結果より本加温方式と温度計測システムの有用性を確認することができた。また、新規に開発した両脚同時加温用空洞共振器に関しても、寒天ファントムを用いた基礎検討を行い、一つのアプリータで同時に二つの誘電体を深部加温できることを実験的に確認した。研究成果に関しては上記の日本ハイパーサーミア学会および可視化情報シンポジウムにて口頭発表を行い、発表を行った学生が優秀発表賞を獲得することができた。

4. 今後の研究における課題または問題点

現在のところ、超音波画像による温度モニタリングシステムに関しては、その都度、静止した超音波画像を取得し、連続的に変換を行うことで温度モニタリングの実現を試みている。しかし、将来的には収束超音波治療 (HIFU) などの瞬間的な温度上昇も計測したいと考えているため、超音波画像の動画でのリアルタイムレンダリング機能が必要不可欠である。これを実現することによって、真の意味でリアルタイム温度モニタリングが可能となり、さらには体内の温度分布を 3 次元的に把握することが可能となる。今後さらに研究を進め、様々な分野へ発展応用可能な、非侵襲温度計測・深部加温システムの実現を目指す。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

It has been confirmed that cancers are thermosensitive and die when heated to $43\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ for a certain period of time. Based on this clinical fact, hyperthermia has been used in combination with chemotherapy and other therapies to treat cancer in various tissues, with improved results for shallow cancers. However, for deep cancer, the nature of the electromagnetic waves used for heating makes it difficult for the heating energy to reach deep into the tissues, and many cases of abnormal heating (low-temperature burns) of tissues around the applicator have been reported. Under these circumstances, intraoperative in vivo temperature distribution monitoring is essential to ensure safety. However, since many heating treatment systems in the field of cancer thermotherapy use electromagnetic waves as a heat source, real-time temperature distribution monitoring technology while heating has not been established.

Against this background, our research group has been working to develop a new technology to overcome these problems. Specifically, we have developed a "cavity resonator heating system" that can heat deep heating targets in a non-contact state, and have investigated its heating characteristics through both heating experiments and computer simulations. In the study of temperature distribution monitoring systems, we have experimentally demonstrated the possibility of noninvasively measuring the temperature distribution in the body in the region of the image from ultrasound images of the affected area before and after heating. In this study, we aim to develop a highly accurate and safe noninvasive heating therapy system by combining these two noninvasive technologies for heating therapy and temperature distribution monitoring, respectively.

In this study, we evaluate the temperature distribution by ultrasonic imaging for various cavity applicator shapes that we have designed and fabricated, and investigate their temperature measurement accuracy, influence on heating, and electromagnetic interference when used simultaneously, both from heating experiments using a muscle-equivalent agar phantom and computer simulations using FDTD analysis method. We will examine the accuracy of temperature measurement and its effect on heating, as well as electromagnetic interference when used simultaneously, both from the perspective of heating experiments using muscle-equivalent agar phantoms and computer simulations using FDTD analysis methods. In addition, to further develop the research, we designed and fabricated a prototype of a simultaneous heating applicator for both legs for knee osteoarthritis, and evaluated the deep heating performance using the new applicator from both experimental and computer simulation perspectives.

The research results show that the temperature monitoring system developed in this study is useful in the field of hyperthermia treatment or thermal rehabilitation.

開発途上国における廃棄物収集における
住民意識や行動に影響を与える要因の分析

Analysis of Factors Influencing Residents' Attitudes and Behaviors in
Waste Collection in Developing Countries

研究代表者 荒巻 俊也(国際学部国際地域学科)

I) 研究期間/2023年6月30日~2024年3月15日

II) キーワード/① 家庭ごみ Household waste
② 分別収集 Separated collection
③ コンポスト Compost
④ 住民意識 Residents' awareness
⑤ 分別意向 Attitude for separation

III) 2023年度交付額/ 950,000 円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

- ・ Fernando Chamila Jeewanee, Toshiya Aramaki (共著) Analysis of Households' participation for source separation towards a quality compost production, under the organic farming policy in Sri Lanka, The 3R International Scientific Conference on Material Cycles and Waste Management 2024, 2024年3月

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

本研究は、開発途上国において家庭からの廃棄物の分別に対する住民の意識や行動とそれに影響を与える要因を分析することを目的とする。対象地域として、農業における有機肥料政策が導入されたものの有機肥料の供給が足りない状況にあり、有機物が多い家庭からの廃棄物を分別回収し、コンポスト化を進めていくことが期待されているスリランカを対象とする。

研究代表者はこれまでに博士後期課程の学生と共同で、農業従事者、廃棄物実務者へのインタビュー及びヒアリング調査を行い、家庭廃棄物を原料とするコンポストに対する評価や受け入れ可能性、収集処理の可能性などについて検討を行ってきたが、本研究では地域住民に対して有機性廃棄物の分別収集やコンポスト化についての意識や行動について、インタビュー調査およびオンラインアンケート調査を実施し、分別収集に対する意識や行動に影響を与える要因を分析することを目的とする。

2. 研究方法

廃棄物の排出状況や分別状況、分別収集への協力意向、課題やインセンティブとなるものなどについて、2つの方法で質問紙調査を実施した。一つ目はコロombo近郊の西部地区の住民へのインタビュー形式での調査であり、自治体による廃棄物収集が実施されている地区(収集地区)および実施されていない地区(未収集地区)からそれぞれ150世帯をランダムに訪問し、インタビューに回

答をしていただいた。この調査は 2023 年 8 月に実施した。

2 つ目はスリランカ全土を対象として、調査会社のモニターを利用したオンライン調査を 2024 年 2 月に実施し、年齢 2 階層（20 代～30 代、40 代～50 代）、性別 2 階層で、各セル約 130、合計 532 の回答を回収した。

3. 研究経過および成果の概要

まずインタビュー調査の結果を紹介する。収集処理の状況については、収集地区では金属やガラス、プラスチックボトルなどは自前で分別したり、インフォーマルな回収業者に引き渡しているケースが多いが、生ごみは半数以上の家庭は混合ごみとして自治体収集に排出していた。一方で、4 割近くは、別に集めている状況が窺えた。未収集地区ではほとんどのごみは庭で燃やしているケースが多く、生ごみについては家畜のえさや庭に埋めるなどが行われていた。

生ごみの分別については、収集地区では住民の責任で排出源で分別をすべきという意見が多い一方で、未収集地区では自治体の責任で収集後に分別してほしいという意見が多かった。また、収集地区では分別収集にかかる手間が課題であるという認識が多く、自治体が分別収集への協力を要請した場合でも協力意思をしめたのは 3 分の 2 程度であった。現在の収集サービスへの不満もあることも、協力意向が未収集地区と比べて低くなった原因と考えられた。未収集地区ではそもそも現在収集サービスがないことから、分別するかどうかを問わず自治体による収集サービスへの期待が大きく、自治体が必要なサービスを提供するのであればほとんどの方が分別に協力したいという意向を示した。

オンラインアンケート調査の結果では、収集地区から 361、未収集地区から 171 の回答が得られた。収集地区において生ごみをたい肥化しているケースは 18%であったが、未収集地区では 46%と半数近くの家庭において堆肥として利用されていた。一方で分別収集への協力意思は収集地区で 93%、未収集地区で 88%となった。

オンラインアンケート調査の結果は今後詳細に分析する予定であるが、廃棄物の収集地区と未収集地区において住民の意識に違いがあることがわかった。

4. 今後の研究における課題または問題点

今後、2 つの調査の結果を比較分析を行っていくが、オンライン調査は調査会社にオンラインモニターとして登録している方を対象としており、実際に家庭を訪問して行ったインタビュー調査とその母集団が厳密な意味で同一ではないことに注意しながら、比較分析をしていく必要がある。

さらには、これまで実施した農業従事者、廃棄物行政担当者への調査結果も踏まえて、家庭廃棄物由来のコンポストの利用拡大に向けた方策を検討していく必要がある。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

The purpose of this study is to analyze residents' awareness and behavior toward source separation of household waste and the factors that influence them in developing countries. The target area is Sri Lanka, where the supply of organic fertilizers is insufficient despite the introduction of an organic fertilizer policy in agriculture, and where it is expected to promote the separate collection and composting of waste from households with high organic content. In this study, interviews and online questionnaire surveys for local residents

regarding their attitudes and behaviors toward the separate collection and composting of organic waste were conducted, and the factors that influence their attitudes and behaviors toward separate collection were analyzed.

A questionnaire survey was conducted in two ways to determine the status of waste generation and sorting, willingness to cooperate with separate waste collection, and challenges and incentives to do so. The first was an interview-based survey of residents in the western district near the capital city. 150 households were randomly visited from each of the districts where municipal waste collection was implemented (collection districts) and those where it was not (non-collection districts), and asked to complete an interview. This survey was conducted in August 2023. The second was an online survey conducted throughout Sri Lanka in February 2024 using monitors from a survey company, and collected a total of 532 responses.

In the interview survey, many respondents in the collection districts said that residents should be responsible for separating food waste at the source of emission, while many respondents in the uncollected districts said that the local government should be responsible for separating them after collection. In addition, many in the collection areas recognized the time and effort required for sorted collection as an issue, and only about two-thirds of the respondents expressed their willingness to cooperate even when the municipality requested their cooperation in separated collection. In the non-collection districts, there is currently no collection service, so the expectation for collection service by the municipality is high, regardless of whether they separate garbage or not, and most of the respondents expressed their willingness to cooperate in sorting if the municipality provides the necessary service. The results of the online survey showed that 93% of the respondents in the collection areas and 88% in the non-collection areas were willing to cooperate with the separate collection.

The results of the online survey will be analyzed in detail in the future, but it was found that there were differences in the attitudes of residents in the waste collection and non-collection districts.

途上国都市を念頭においた目標設定型モビリティプラン策定に向けての 基礎的研究

Urban mobility planning for developing cities based on long-term vision and strategy.

研究代表者 岡村 敏之(国際学部国際地域学科)

I) 研究期間／2023年6月30日～2024年3月15日

II) キーワード／①Urban transport

②Public transportation

③Mobility plan

④Strategic planning

III) 2023年度交付額／840000円

IV) 研究発表／学会および口頭発表

Factors Affecting Behavioral Intention toward Public Transport Focusing on Walking Environment and Preference: A case of Phnom Penh City, Toshiyuki OKAMURA,

The 15th International Conference of the Eastern Asia Society for Transportation Studies 2023 (EASTS 2023) 2023年09月

V) 研究経過および成果の概要（日本語 2000字程度）

1. イントロダクション

途上国都市での交通整備に関する様々な計画は私的交通モードの利用の抑制の視点が弱く、公共交通の整備や自動車利用抑制策（駐車政策を含む）、徒歩や自転車のための道路空間整備がパッケージとして行われることも少ない。途上国の開発目標が、「需要追従型開発」から「環境制約も踏まえた持続性のある成長モデルを提示すること」へとシフトしているとすれば、途上国でも私的交通モードの抑制をより意識した、目標設定型のモード横断型の「交通計画＝モビリティプラン」をより指向すべき時機である。本研究では、途上国の文脈での「望ましい都市像と移動像の関係」を記述するために必要な都市交通計画上の検討事項を整理し、私的交通モードの利用の抑制の観点から、移動の現状や移動意識・意向の把握、移動の将来像（あるべき目標）設定と各種交通施策の評価に資する調査・分析手法を確立することを最終的に目指す。

そのための基礎的研究として、私的交通モードの利用抑制を目的とした交通計画・施策、とくに公共交通施策の整理を、いくつかの途上国都市を対象に行う。

2. 研究方法

私的交通モードの抑制と、目標設定型のモード横断型の交通計画を指向すべき途上国都市として、本研究の対象を、1人あたりGNIが約5000米ドルから1万米ドル程度（世界銀行の分類での「上位中所得国」の水準）であり、自家用車保有率が比較的高く（人口1000人あたり乗用車台数が200台前後またはそれ以上）、都市圏人口が数百万人規模である都市と設定する。

上位中所得国では、多くの世帯が自家用車の購入が可能な所得水準であり、同時に、都市鉄道な

どの大量輸送公共交通機関の整備が資金的にも可能で、さらにそれらをアフォーダブルな運賃水準でサービス提供することが可能である。また、自動車普及率がこの水準となった都市では、自動車中心のライフスタイルや都市構造への変化が生じ、公共交通への投資が過少である場合には、自動車に依存した都市への変容が急速に進行しうる。それらの変化は、とくに大都市においてその弊害がより深刻な形で顕在化する。

本研究の研究期間内では、上記に該当する都市として、クアラルンプール都市圏（マレーシア）とイスタンブール都市圏（トルコ）を対象として、現地での公共交通の整備状況および運用、利用の状況を調査し、あわせて徒歩や自転車のための道路空間整備についても状況の調査を行った。

3. 研究経過および成果の概要

(1) クアラルンプール都市圏

2023年現在の都市鉄道ネットワークとしては、LRT3路線、MRT2路線、モノレール1路線、空港線1路線、国鉄郊外線（KTM Commuter）3路線があり、加えてBRTが1路線となっている。1990年代から2000年代前半で、KTM Commuterの一部路線、モノレール、LRT/MRT3路線、空港線が開業し都市鉄道ネットワークが形成された。これらのいくつかの路線は、BOT方式などの民間資金を活用して整備されたが、アジア通貨危機等による運営企業の破綻等があり、現在では、それらの路線も含め、マレーシア国鉄、または国営企業により運営されている。2000年代前半以降は、都市鉄道ネットワークの拡大は限定的だったが、2016年以降、複数のMRT/LRT路線が開業し、現在のクアラルンプール都市圏の鉄道ネットワーク延長は約500kmとなっている。バスのネットワークは、とくに郊外部では路線密度が低く、運行頻度も高くない。

クアラルンプール都市圏では、人口1000人あたり乗用車台数は300台近くとかなり多い。都心部でもショッピングモール等への自動車アクセスが極めて多く、さらに郊外部では自動車利用を前提とした土地利用が進んでいる。道路整備水準もかなり高い。公共交通の運賃は、政策的に割安に設定されているが、その一方でマレーシアではガソリン価格も政策的に低く抑えられている。また、主にGrabによるRide hailingサービスが極めて普及しておりリーズナブルな価格で利用できる。公共交通は廉価に提供されているものの、自動車保有率の高さとガソリン価格の低廉さ、自動車依存型の土地利用と生活利用とも相まって、バスの分担率は低い。

郊外部のLRT/MRTおよびBRTのほぼすべての路線を踏査し、沿線および駅周辺の土地利用を把握した。多くの都市鉄道路線は、道路整備が行われ市街地化が進行したのちに開業しており、鉄道整備と連携した土地利用は進んでいない。また徒歩や自転車を考慮した道路整備や、道路ネットワークとはなっていない。一方で、BRT沿線ではやや高密な開発が進行中で、沿線への大学の立地、都市鉄道駅でのBRTとの結節機能の強化がなされている状況を把握できた。

(2) イスタンブール都市圏

2024年現在の都市鉄道ネットワークとしては、Metro11線、Tram（LRT）6線、ケーブルカー4線、国鉄運営の郊外鉄道（マルマライ）があり、それに加えて高速道路上のBRT（メトロバス）がある。都市鉄道の多くはメトロイスタンブール社の運行（Metro11号線とマルマライはトルコ国鉄運行）、バスはIETT（イスタンブール交通局）および民間事業者が運行している。加えて、ミニバス（ドルムシュ）、フェリーがある。イスタンブールも、この10年前後で都市鉄道ネットワークはかなり充実した。メトロとトラムのネットワークは300kmを超える。

イスタンブール都市圏では、人口1000人あたり乗用車台数は約200台（2022年）と、こちらもかなり多い。郊外部は高速道路が整備され、自動車中心の土地利用が進む。旧市街およびその周辺

では、道路が狭隘である上にかなり交通が錯綜している。都市圏全体での交通渋滞はかなり深刻である。公共交通の運賃は、メトロとトラムでは路線ごとの均一運賃となっている。運賃体系としては路線間での統合はされておらず、複数路線間での乗り換え利便性が低い駅が多い。ほぼすべての公共交通はイスタンブールカードが利用できる。

特徴的な都市公共交通として、BRT（メトロバス）と架線レストラム（トラム5号線）について記す。BRTであるメトロバスは、ボスポラス海峡をはさんで、市街のアジア側とヨーロッパ側とを結ぶ重要な公共交通であり、環状高速道路の中央部分の専用道（ボスポラス海峡橋区間を除く）を使用して、連節バスが数十秒間隔で運行している。輸送力、運行速度ともにかかなり高い。トラム5号線（T5）は、旧市街中心部のエミノニュから金角湾沿いに北上する路線で、架線がなく地上から給電するシステムを採用しており、金角湾沿いの緑地の景観の保全に貢献している。路線沿いには遊歩道等も整備され、ゆとりある都市空間の創出に寄与している。

旧市街は道路が狭隘で車両と人で交通が交錯している。それでも、歩行者中心の道路空間整備が行われている。グランバザールの東側からアクサライまでのトラムとの併用軌道となっているOrdu通りの約1kmの区間が、自動車の通行を制限した“トランジットモール”への転換のための工事が実施されている。交通量が多い通りを大きく転換するものであり注目すべき事業と言える。

4. 今後の研究における課題または問題点

本研究の研究期間においては、自動車依存型の途上国都市圏を対象に、主に公共交通計画およびその運用を含めた実態を把握した。今後は、各都市での交通計画および政策の体系の調査、および自動車利用抑制のための政策の体系調査を並行して行う。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

1) Introduction

Urban transportation plans in many developing cities require a strong focus on restraining private transport. There needs to be more initiatives combining the development of public transportation, measures to curb car usage (including parking policies) and improving road space for pedestrians and cyclists. As developing countries shift their development goals towards presenting sustainable growth models that consider environmental constraints, it is crucial to orient towards goal setting, multimodal transportation planning, with a greater awareness of reducing private modes of transport. This study focuses on transportation plans and policies to restrain private modes of transport, particularly developing and encouraging public transportation, in several developing country cities.

2) Research Methodology:

This study specifically targets developing country cities with a Gross National Income (GNI) per capita ranging from approximately 5000 to 10,000 USD (classified as 'upper-middle-income countries' by the World Bank), relatively high rates of car ownership (around 200 or more cars per 1000 people), and metropolitan populations in the millions. During the study period, two specific cities, the Kuala Lumpur metropolitan area (Malaysia) and the Istanbul metropolitan area (Turkey), were selected for on-site investigations into the status, operation, and usage of public transportation, along with assessing the situation regarding road space improvements for pedestrians and cyclists.

3) Output and future issues

As of 2023, Kuala Lumpur's urban rail network includes three LRT lines, two MRT lines, one monorail line, one airport line, and three KTM Commuter lines, with one BRT line. Development started in the 1990s and early 2000s, utilizing private funding like BOT schemes, but some lines faced challenges leading to government operations. The expansion was limited until the mid-2000s, but since 2016, multiple MRT/LRT lines have opened, extending the network to around 500km. Despite affordable public transport fares, high car ownership, low gasoline prices, and car-centric land use contribute to low bus ridership. Surveying suburban LRT/MRT and BRT lines revealed limited integration of railway development with land use planning. While many rail lines open after urbanization, infrastructure for pedestrians and cycling still needs to be improved. Conversely, The BRT corridor has denser development, emphasizing integrating universities and strengthening connections with urban railway stations.

In Istanbul, car ownership is high, with around 200 cars per 1000 people as of 2022. Suburban areas use cars extensively due to well-developed highways, while the old city and surrounding areas suffer from narrow roads and severe traffic congestion. The urban rail network includes 11 metro lines, six tram lines, four cable car lines, and a suburban rail line operated by Turkey's national railway. Public transport fares for metro and tram are independent and flat per line, lacking integration for transfers between multiple lines. However, Istanbul has introduced a common IC fare card system. The city features a unique public transport system with the Metrobus (BRT) connecting the Asian and European sides of the city via a dedicated lane and the tram line 5 (T5), contributing to preserving green spaces along the Golden Horn.

This study primarily focuses on understanding the realities of public transport planning and operations in car-dependent urban areas of developing countries. Future endeavors will entail investigating transportation planning, policy frameworks in various cities, and initiatives to curb car usage.

国内航空会社比較による組織内コミュニケーションの実態調査

Survey of Communication in Organizations in Airlines Companies

研究代表者 安宅真由美(国際観光学部国際観光学科)

I) 研究期間/2023年6月30日~2024年3月15日

II) キーワード/①組織内コミュニケーション Communication in Organization

②組織内コミュニケーションの硬直化 Rigidity of communication within organizations

③アサーション Assertion

④企業規模 Company size

⑤クルー・リソース・マネジメント Crew Resource Management

III) 2023年度交付額/798,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

航空・観光研究学会 2023年度論文集(2024年3月) 組織内アサーティブ・コミュニケーションと企業規模との関連~航空会社へのインタビュー調査から~

ビジネスクリエーター学会 台南大会ポスター発表(2024年4月20日予定)

SDGS & Communication in Organization-Focus on ASSERTION

International Council on Hotel, Restaurant, and Institutional Education 口頭発表(2024年5月予定) *Communication in High Reliability Organization*

V) 研究経過および成果の概要(日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

近年、日本企業の競争力低下、組織不祥事や組織事故の多発による企業価値低下などが問題となっている。原因の一つとして組織内のコミュニケーションの硬直化が挙げられる。実務界では組織内コミュニケーションの活性化の方策の一つとして、アサーティブ・コミュニケーション(アサーション)に注目し導入している企業もある。しかしアサーションが組織内コミュニケーションを活性化させることの理論的な解明はまだ進んでいない。この解明を進めることは日本企業の経営を健全で持続可能なものにするためにも重要な課題であると考えられる。

アサーションは「言いたいことや言うべきことを関係性も考慮しながらその場に相応しく率直に発言すること」と定義されている。本研究の関心は、心理療法の一つとして始まり心理学分野にて対人関係改善目的で発達してきたアサーションが、職場環境に適用されようとするときの実態解明にある。具体的には、職場でアサーションの発揮を促進・抑制する要因や、アサーションが従業員の心理に及ぼす影響と組織への効果などである。これらの解明のため、これまで、アサーション教育が導入されている組織である航空会社を対象にインタビュー調査を実施してきた。航空会社の多くは、事故防止の目的で、アサーション概念を基盤にしたマネジメント方式を導入している。この方式は、クルー・リソース・マネジメント(CRM)と呼ばれ、航空業界の特性を考慮して開発されたものである。これまでの調査からアサーション教育により組織内コミュニケーションが一定程度活性化されることが明らかになり、また副次的効果として次の2点が示唆されている。従業員の仕事に対するモチベーションが向上する可能性、およびサービス手順の改善提案や新規プロジェクトの検討などの事故防止以外の側面でも効果を発揮する可能性である。

この過程で、アサーション教育の頻度や企業理念の浸透度合い、企業規模や地域特性などさまざまな要因についても検討する必要性を感じた。そこで本研究では企業規模と従業員のアサーションの実態の関連を明らかにすることを目的とした。

2. 研究方法

航空会社従業員に対し組織内アサーションの実態について、半構造化インタビューを実施した。実施にあたり事前に組織内アサーションを「組織内公式コミュニケーションにおける、下位職から上位職への、質問する、意見を求める、間違いについて話す、助けを求める、提案する、問題や過ちや懸念について話し合う、足りないところを補強するなどのコミュニケーション」として説明し、その発揮の具体例と心理的な障壁の有無、相手が受け入れやすくするための工夫などを自由に話して欲しい旨を伝えた上で調査を実施した。また、安全教育を担当する部署に教育内容についても聞き取り調査を実施した。調査結果は、証言者が所属する企業の従業員数で大中小の3つに分類し、次の3つの視点で検討した。①アサーションに対する障壁とそれに対する心理、②アサーション後の心理、③アサーション促進に対する組織の取り組みの3点である。

3. 研究経過および成果の概要

調査から大中規模企業に比較して小規模企業のアサーションの実態には特徴があることがわかった。上記の3視点における特徴は次のとおりである。①アサーションに対する障壁は、大中規模企業に比較して明らかに低い、②アサーション後の心理は、「自尊感情や達成感、仕事に対する意欲」の向上に言及する大中規模企業に対し、「当然のことと感じている、または特に何も感じていない」傾向、③アサーション促進に対する組織の取り組みとしては、大中規模企業のマネジメントが訓練に力を入れキャンペーンを実施したり中間管理職に配下のアサーションを促すよう指示したりしてアサーションを定着させるためにあの手この手で関与しているのに対し、小規模企業ではマネジメントによる大々的な働きかけは特になく、それにもかかわらず自然とアサーションができていること、である。加えて、小規模企業では自社の組織内アサーションの特徴について企業規模との関連でのコメントが多くあったことも特徴的であった。

小規模企業では、それぞれの業務が企業経営にどの程度影響するかがわかりやすく、各従業員にかかる業務上の責任が明確になる。また、大規模企業と異なり小規模企業ではその所属する部署を代表して行動する機会に触れる従業員が多い。これらの企業規模による特徴が組織内アサーションにも大きく影響していると考察した。

4. 今後の研究における課題または問題点

調査数を増やし一層精緻な検証結果を出すこと、質的調査を客観視できるような検証方法で再検討すること、その結果を量的調査で補強することなどが課題であると認識している。

また、今回の調査で得られた証言からは大規模企業において5年前よりのアサーションへの障壁が低減している傾向も見られた。その理由として、徐々に文化が変わってきてアサーションしやすくなっていること、安全に関わらず経営状態や組織改善の必要性に関する教育に力が入れていることなどを挙げる証言者もいた。今後はアサーション浸透と組織開発の関連を視野に入れ、アサーション教育の頻度や企業理念の浸透度合いなどの要因の検討も必要であると考えられる。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

One of the reasons for the decline in competitiveness of Japanese companies and the decrease in corporate value due to frequent organizational scandals and accidents is the rigidity of communication within organizations. Some companies have introduced assertive communication (Assertion) as one of the measures to revitalize communication within the organization. Theoretical clarification of the fact that Assertion activates communication within an organization is an important issue for making corporate management sound and sustainable.

Assertion is defined as "to say what one wants to say or what should be said in a frank manner appropriate to the situation while taking into account the relationship". The interest of this study is to clarify the reality of Assertion when it is applied to the work environment. So far, an interview survey has been conducted with an airline company, an organization where Assertion education has been introduced. The process of research to date has found it necessary to examine a variety of factors as well. These include the frequency of Assertion Training, the degree of penetration of corporate philosophy, company size, and regional characteristics. Therefore, the purpose of this study was to clarify the relationship between company size and the actual state of Assertion by employees.

Semi-structured interviews were conducted with airline employees regarding the reality of intra-organizational Assertions. The survey results were classified into three categories (large, medium, and small) based on the number of employees at the companies, and were examined from the following three perspectives. (1) barriers to Assertion and the psychology toward it, (2) psychology after Assertion, and (3) organizational efforts to promote Assertion.

The survey results showed that the reality of Assertions in the Small is unique. (1) Barriers to Assertion are clearly lower than those in Large and Medium, (2) Psychology after Assertion tends to be "taken for granted or nothing in particular," in contrast to Large and Medium, which mention an increase in "self-esteem, sense of accomplishment, and motivation to work," and (3) In terms of organizational efforts to promote Assertion, Large and Medium are struggling to make Assertion take root, while the management of Small does not particularly encourage it. Nonetheless, employees are spontaneously asserting. In addition, many of the testimonials from Small commented on the characteristics of assertions in their own organizations in relation to the size of the firm.

The characteristics of company size have a significant impact on intra-organizational Assertions.

The following issues need to be addressed: increasing the number of surveys to produce more precise validation results, reexamining qualitative surveys in a way that makes them objective, and reinforcing the results with quantitative surveys.

宿泊業における生産性の向上に関する研究

A Study on Improving Productivity in the Lodging Industry

研究代表者 吉岡 勉 (国際観光学部国際観光学科)

I) 研究期間／2023年6月30日～2024年3月15日

II) キーワード／①収益管理 Revenue management
②原価企画 Target costing
③ホテル Hotels
④サウナ Saunas
⑤ホスピタリティ経営 Hospitality management

III) 2023年度交付額／690,000円

IV) 研究発表／学会および口頭発表

- 「ホテル客室部門における労働生産性向上策と「混雑コスト」の関係についての一考察」, 経営行動研究学会第123回研究部会, 2023年4月.
- 「時間生産性向上へのAI技術活用: 宿泊特化型ホテルの事例による検討」, 日本組織会計学会2023年度年次大会, 2023年7月.
- 「生産性向上のためのサステナブル・プロフィット・マネジメントについての一考察」, 日本原価計算研究学会全国大会, 2023年9月.
- 「サウナによるウェルビーイング」(統一論題「ウェルビーイング実現のための余暇ツーリズム」), 余暇ツーリズム学会2023年度全国大会, 2023年10月.
- "Addressing the Labor Shortage Problem in the Japanese Hotel Industry: Management Control Systems as a package", 32nd Asian-Pacific Conference on International Accounting Issues, Oct/2023.
- "A Study on the Potential of Sauna Tourism: From UX Research on Sauna Business Management", The 3rd GLOSITH: Global Congress of Special Interest Tourism & Hospitality, Nov/2023.
- "A Study on the Sauna Tourism: From UX Research on Sauna Business", 4th International Conference on Tourism Management and Hospitality, Mar/2024.

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

日本における労働生産性の低さは、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(COVID-19パンデミック前)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意義がある。

2. 研究方法

本研究では、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した。さらに、UX リサーチ（ユーザー・エクスペリエンス・リサーチ）の手法を取り入れ、研究者が自ら研究対象における体験から得られる知見を用いるものとした。なお、知見が研究者のみの主観となることを排除するため、同様の体験をしている方々へのアンケート調査とインタビュー調査を行った。現時点においては、これらを整理しつつ、学会で研究報告を行うとともに、論文の執筆を進めている。

3. 研究経過および成果の概要

インタビュー調査等により、アフターコロナ期と呼ばれる現時点において、これまでとは大きく異なる問題が宿泊業に起きていることが明らかになった。それは業務量の急増と、人員不足である。乱暴な表現を承知のうえでいうならば、いわゆる机上の空論によると、生産性を向上することでこれらの問題に対処できるということになる。しかし実態はそう簡単ではない。

というのも、急増した業務量の構成は、いわゆる人海戦術をもってのみ対応し得るものだからである。この点の詳述はいずれ論文に執筆する予定であるが、従来の通常業務に対する純増となった業務であり、そのための労働力を確保することもままならないとの現状である。

さらに、これは本研究が対象とする宿泊業に限ったことではないが、人員不足が深刻である。宿泊業ではこの問題においてよく「輸血と止血」という表現が用いられている。「輸血」は人員を増加させることを、止血は人員の減少を抑えることを意味する比喻表現である。宿泊業では、労働者の収入がそれほど多くなく、深夜勤務や中抜け勤務があり心身ともに重労働といわれている同業に就こうとする人が減り（輸血困難）、さらに他業種へ転職する人が増えている（止血困難）との同業の実態は、人員不足の解決策が見いだせない状態といえる。

その現状において前述の人的作業の増大が追い打ちとなっており、もはや生産性の向上を考えてはいられない、目の前にある業務を何とか進めていくことで精いっぱいとの話を多く耳にした。

本研究ではこの問題への打開策を見出すため、近年わが国で流行しているサウナ業に着目した。流行が追い風となっただけでなく、この事業に参入する企業が増え、当該施設が急増し、それら施設に就業する人も増加しているからである。新規就業者についていえば、勤務条件や処遇が極端に良いというわけでもないにもかかわらず、である。さらに、利用者のなかには、単に通いやすい施設を利用するだけでなく、遠方へ旅行してまでサウナ施設を利用する人も少なくない。この現象は、宿泊業における生産性向上に向けた打開策のヒントをもたらさうものと推察される。

4. 今後の研究における課題または問題点

生産性向上という問題は、宿泊業のみにとどまらず、わが国において様々な業種で解決されなければならない。そのための糸口として、本研究の協力者との議論から「サステナブル・プロフィット・マネジメント」との研究課題を見出すことができた。今後はこの「サステナブル・プロフィット・マネジメント」との観点に基づいて、宿泊業の生産性向上について研究を進めていきたい。

この「サステナブル・プロフィット・マネジメント」研究については、日本管理会計学会よりス

タディーグループの設置が承認され、他大学の研究者との共同研究が 2023 年秋にスタートした。小職はこのスタディーグループにおいて研究代表者を務めるとともに、宿泊業の生産性向上を担当する。今年度の本研究で得られた知見をフル活用していく予定である。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

The low level of labor productivity in Japan is well documented: when compared to the hourly labor productivity of 37 OECD member countries, Japan's labor productivity figure (US\$47.9 per hour worked) in 2019, before the COVID-19 pandemic, is not sufficient given the size of its economy.

The interviews and other research conducted in this study revealed that the lodging industry is facing a very different set of problems in the current post-Covid19 period. These are a rapid increase in the workload and a shortage of labors. At the risk of sounding rough, the so-called theoretical theory suggests that these problems can be addressed by improving productivity. The reality, however, is not so simple.

This is because the composition of the rapidly increasing workload can only be handled by so-called "human power" tactics. Although we plan to write an article on this point in detail in due course, the current situation is such that it has become a net increase over conventional work that it is not even possible to secure the labor force for this work.

Furthermore, and this is not limited to the lodging industry, which is the subject of this study, there is a serious labor-shortage. In the lodging industry, the expression "blood transfusion and hemostasis" is often used to describe this problem. The term "blood transfusion" is a figurative expression meaning to increase the number of workers, and "hemostasis" means to stop the decrease in the number of workers. In the lodging industry, the number of people who are willing to work in this industry, which is said to be physically and mentally hard work because workers do not earn much and have to work late at night or work through the night (difficult to transfuse blood), and the number of people who are changing jobs to other industries (difficult to stop bleeding), is increasing.

In the current situation, the aforementioned increase in human workload has been driven home, and we have heard from many people that they can no longer afford to think about improving productivity, and that they are occupied with just trying to get on with the work at hand.

In order to find a solution to this problem, this study focuses on the sauna business, which has become popular in Japan in recent years. Perhaps because of this trend, more and more companies are entering the sauna business, the number of sauna facilities is rapidly increasing, and the number of people working in these facilities is also increasing. This is despite the fact that the working conditions and treatment of new employees are not extremely good. Furthermore, many users not only use facilities that are easy to get to, but also travel to distant places to use sauna facilities. This phenomenon may provide a clue to how to improve productivity in the lodging industry.

高濃度セシウムイオン耐性を獲得した大腸菌の新奇耐性機構の解明

Elucidation of a novel resistance mechanism in *Escherichia coli* that has acquired high-concentration cesium ion resistance

研究代表者 伊藤 政博(生命科学部生物資源科学科)

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年3月15日

II) キーワード/①セシウムイオン

②Cs⁺/H⁺アンチポーター

③バイオレメディエーション

④大腸菌

⑤高濃度 Cs⁺耐性機構

III) 2023年度交付額/1,526,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

・小嶋 大喜、田中 俊輔、伊藤 政博、大腸菌の Cs 耐性株 ZX-1 株の Cs 耐性機構の解析、日本農芸化学会関東支部 2023 年度大会、2023 年 8 月 25 日、明治大学生田キャンパス (優秀ポスター賞受賞)

・小嶋 大喜、黒崎綾音、伊藤政博、リボソーム安定性によるセシウム耐性：大腸菌 ZX-1 株のケーススタディ、日本農芸化学会 2024 年度大会、2024 年 3 月 25 日、東京農業大学

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000 字程度)

1. イントロダクション

先行研究から高濃度セシウム (Cs) ⁺耐性菌 *Microbacterium* sp. TS-1 (TS-1 株) の Cs⁺耐性機構として Cs⁺を細胞外に排出する Cs⁺/H⁺アンチポーター (CshA) が同定された⁽¹⁾。その後、エラープローン PCR による基質親和性が向上した変異型 CshA の取得が試みられた。その結果、通常の大腸菌では生育できない 400 mM の CsCl を含む培地で生育が可能な大腸菌 ZX-1 株が取得された。しかし、*TS_cshA* 遺伝子が導入された ZX-1 株由来のプラスミドで親株である Mach1TM 株を形質転換しても Cs⁺耐性の表現型は獲得できなかった。そのため、ZX-1 株の染色体ゲノム上に変異が起こり、CshA の機能を底上げしているか、それ以外の新規 Cs⁺耐性を獲得した可能性が示唆された。本研究の目的は、高濃度 Cs⁺耐性大腸菌である ZX-1 株の Cs⁺耐性機構を明らかにすることである。

2. 研究方法

①TS-1 由来 pBAD_CshA プラスミド DNA と ZX-1 株由来 pBAD_CshA プラスミド DNA の比較解析

Mach1TM/pBAD_CshA 株と ZX-1/pBAD_CshA 株を Luria-Bertani (LB) 培地で培養し、プラスミド DNA を調製した。プラスミド DNA は、Eurofins Genomics 社の Oxford Nanopore Technology (ONT) によるロングリードシーケンスからプラスミド DNA の配列とアノテーションを決定した。

② 形質転換大腸菌の Cs⁺耐性試験

Cs⁺耐性試験には Mach1TM/pBAD24 株、Mach1TM/pBAD_CshA 株、ZX-1/pBAD_CshA 株、ΔZX-1/pBR322ΔAp 株、ΔZX-1/pBAD_CshA 株を用いた。各大腸菌は 0 mM~1000 mM の CsCl を含む LB 培地で 37°C、200 rpm の条件で培養した 18 時間後の濁度を測定した。

③ Cs⁺/H⁺アンチポート活性測定

各大腸菌をフレンチプレス機で細胞破碎し、未破碎の細胞を除去後、超遠心分離で反転膜小胞を取得した。

各大腸菌から調製した反転膜小胞は、pH 指示薬と蛍光光度計を用いて蛍光消光法による Cs⁺/H⁺アンチポート活性測定を行った。添加した Cs⁺濃度とアンチポート活性 (%) の逆数をプロットしたラインウェーバー・バークプロットから CshA の見かけの K_m 値を求めた。

④ Cs⁺存在下で培養した形質転換大腸菌の細胞内 Cs⁺濃度と K⁺濃度の測定

各菌株は 0 mM、200 mM 及び 700 mM の Cs⁺濃度条件で培養した。回収した菌体は、スクロース溶液で洗浄後、懸濁液 100 μ L を分取し Lowry 法でタンパク質濃度を定量した。残りは 5%(w/v)トリクロロ酢酸と、100°Cの熱で細胞を破碎した。上清は蛍光光度計で K⁺濃度と Cs⁺濃度を測定した。

⑤ 次世代シーケンサーを用いたゲノム解析

ZX-1/pBAD_CshA 株と Mach1TM 株を培養し、染色体 DNA を抽出した。次世代シーケンサーを用いて全ゲノム配列を決定した。

3. 研究経過および成果の概要

TS-1 株由来の pBAD_CshA と ZX-1 株由来の pBAD_CshA の両プラスミドの塩基配列は 100%相同で変異は同定されなかった。また、 Δ ZX-1/pBR322 Δ Ap 株は、Cs⁺耐性を示したが、Cs⁺/H⁺アンチポート活性は無かった。このことから、ZX-1 株が Cs⁺耐性を獲得した原因は、宿主ゲノム側にあることが示唆された。

Cs⁺/H⁺アンチポート活性の測定結果によると、pH 8.5 における K_m 値は、ZX-1/pBAD_CshA 株で 28.7 mM、 Δ ZX-1/pBAD_CshA 株で 43.8 mM であった。これに対して、TS-1 株由来の CshA の K_m 値は約 370 mM だった⁽¹⁾。この結果から、ZX-1/pBAD_CshA 株の基質親和性は 12.9 倍、 Δ ZX-1/pBAD_CshA 株は 8.4 倍に向上したことが示された。この基質親和性の向上の原因として、細胞膜のリン脂質の組成、特にカルジオオリピンの組成が変化したことによるカルジオオリピンが濃縮されたマイクロドメインの形成が関与する可能性が推察された。

Δ ZX-1/pBR322 Δ Ap 株の Cs⁺耐性機構のメカニズムを探るために、Cs⁺存在下における細胞内 Cs⁺濃度と K⁺濃度の測定を行った結果、 Δ ZX-1/pBR322 Δ Ap 株も細胞内 Cs⁺濃度を外環境より低く維持していることが示唆された。そのため、膜タンパク質の発現抑制や、カチオン輸送系の変異等により、Cs⁺の取込み量が低く抑えられている可能性が推察された。また、ZX-1/pBAD_CshA 株と Δ ZX-1/pBR322 Δ Ap 株は、細胞内 K⁺濃度が極端に低下しても生育が可能であることが示唆された。以前より、K⁺がリボソームの安定化に寄与していることや Cs⁺がリボソームを不安定化させることが報告されており⁽²⁾、リボソーム関連遺伝子に変異が入ったことが示唆された。

最後に Mach1TM 株と ZX-1/pBAD_CshA 株の全ゲノム配列から SNP 解析を行った結果、非同義置換変異タンパク質として、リボソームタンパク質 bS6 修飾酵素 RimK とファージ溶解制御タンパク質 LysB、鞭毛基底体ロッドタンパク質 FlgG が同定された。トランスポーター関連の遺伝子に変異はなく、どのタンパク質の変異も ZX-1 株の Cs⁺耐性への詳しい関連は不明である。しかし、リボソームタンパク質修飾酵素の変異は、Cs⁺存在下でリボソームの安定性を高めるための変異として有力候補であると考えられる。

4. 今後の研究における課題または問題点

研究をまとめると、ZX-1 のゲノム解析により 3 つの変異が特定され、そのうちの 1 つはリボソーム遺伝子に関連している。これまでの研究では、リボソームの堅牢性が Cs⁺ 耐性に影響を与えることが示されていた。今回の変異は、タンパク質の発現を変化させ、膜脂質の組成を変化させることによって、見かけの K_m 値を低下させる可能性もある。今後の研究では、これらの変異遺伝子を親 Mach1TM に導入することで Cs⁺耐性が強化されるかどうかを判明する。さらに膜脂質組成の変化についても検討する。Cs⁺ 耐性に関連する遺

伝子を特定することで、大腸菌や他の生物における Cs⁺ 耐性のメカニズムが解明される可能性がある。また、Cs⁺ 耐性機構を使用した応用研究にも結び付く。例えば、TS_CshA を発現する反転膜小胞を利用すれば、汚染水から放射性 Cs⁺を効率的に回収する技術の開発につながる可能性がある。

【参考文献】 (1) Koretsune T *et al.* (2022) *Front. Microbiol.* 13:841821.

(2) Ishida Y *et al.* (2023) *Front. Microbiol.* 14:1201121.

VI) Summary (英語 400 単語程度)

This research aims to elucidate the physiological mechanisms behind the accidental acquisition of high-concentration cesium ions (Cs⁺) tolerance of *Escherichia coli* and apply this understanding to develop bioremediation technologies. Bacterial Cs⁺ resistance has attracted attention, but its physiological mechanism remains largely unknown and poorly understood. In a prior study, we identified the Cs⁺/H⁺ antiporter TS_CshA in *Microbacterium* sp. TS-1, resistant to high Cs⁺ concentrations, exhibits a low Cs⁺ affinity with a K_m value of 370 mM at pH 8.5. To enhance bioremediation efficacy, we conducted random mutagenesis of *TS_cshA* using Error-Prone PCR, aiming for higher-affinity mutants. The mutations were inserted downstream of the P_{BAD} promoter in the pBAD24 vector, creating a mutant library. This was then transformed into *E. coli*-competent cells. As a result, we obtained a Cs⁺-resistant strain, ZX-1, capable of thriving in 400 mM CsCl—a concentration too high for ordinary *E. coli*. Unlike the parent strain Mach1™, which struggled in 300 mM CsCl, ZX-1 showed robust growth even in 700 mM CsCl. After 700 mM CsCl treatment, the 70S ribosome of Mach1™ collapsed, whereas ZX-1 and its derivative ΔZX-1/pBR322ΔAp remained stable. This means that the ribosomes of ZX-1 are more stable to high Cs⁺. The inverted membrane vesicles from strain ZX-1 showed an apparent K_m value of 28.7 mM (pH 8.5) for Cs⁺/H⁺ antiport activity, indicating an approximately 12.9-fold increase in Cs⁺ affinity. Remarkably, the entire plasmid isolated from ZX-1, including the *TS_cshA* region, was mutation-free. Subsequent whole-genome analysis of ZX-1 identified multiple SNPs on the chromosome that differed from those in the parent strain. No mutations in transporter-related genes were identified in ZX-1. However, three mutations emerged as significant: genes encoding the ribosomal bS6 modification enzyme RimK, the phage lysis regulatory protein LysB, and the flagellar base component protein FlgG. These mutations are hypothesized to affect post-translational modifications, influencing the K_m value of TS_CshA and accessory protein expression. This study unveils a novel Cs⁺ resistance mechanism in ZX-1, enhancing our understanding of Cs⁺ resistance and paving the way for developing technology to recover radioactive Cs⁺ from water using TS_CshA-expressing inverted membrane vesicles.

メンタルヘルス不調の次世代型セルフケアシステムに関する フィージビリティスタディ

Feasibility study of a next-generation self-care system for the risk of mental health disorders

研究代表者 川口 英夫 (生命科学部 生命科学科)

- I) 研究期間／2023年4月1日～2024年3月15日
- II) キーワード／① メンタルヘルス不調 The risk of mental health
② セルフケアシステム Self-care system
③ ストレス負荷 Stress load
④ 精神健康度 Mental health level
⑤ ストレスコーピング Stress coping
- III) 2023年度交付額／1,624,000円
- IV) 研究発表／学会および口頭発表
- ・2023年9月15日 計測自動制御学会ライフエンジニアリング部門シンポジウム2023 (東洋大学・川越キャンパス) で発表済み
 - ・2024年3月16日 第13回内田クレペリン精神検査研究会 (大阪・東大阪) で発表済み

V) 研究経過および成果の概要

1. イントロダクション

2023年度は2022年度の研究成果を発展させて、スマートフォン上で内田クレペリン検査ができるアプリケーションを用いたセルフケアシステム(心の健康度アプリ)を、共同研究先であるK社での社会人調査に適用することを試みた。しかしながら、先方企業の都合で今年度は日程の調整が付き、残念ながら実行できなかった。そこで、別の共同研究先であるI病院と協力して対象を高校生に変更し、バスケットボール部員について、ストレス負荷前後のメンタルヘルス状況の変化を調査した。

思春期に当たる高校生は第二次性徴に始まる大きな身体的発達が進む一方で、心の成長はやや遅れる傾向がある。そのため、社会や学校・仲間集団・家族からのストレスを受け、心の病気になりやすい時期でもある。また、高校女子バスケットボール部の部員たちは常に活発な身体活動をしているため精神的健康の維持には有利だが、競争から受けたストレスがメンタルヘルスに影響があるという報告がある。そこで本研究では、全国大会常連校の高校女子バスケットボール部員を対象として、毎年7月末から開催される全国大会前後の調査(6月、9月)の結果を比較し、部員のメンタルヘルス状況の変化を解析した。

2. 研究方法

2002年から2023年までのG高校女子バスケットボール部員262名を対象に、内田クレペリン検査に参加していただいた(延べデータ数1,307件)。この内田クレペリン検査の作業量と誤答率を算出したところ、通常発生しない誤答率が10%を超えるデータが多く見られた。そこで、誤答率が9.2%

(Mean+2σ) を超える場合は、「やる気がない」または「足し算が苦手」と考えて外れ値として除外し、解析を進めた。

2015 年から 2023 年までの部員 103 名を対象に、下記の質問票に回答いただいたデータを一元配置分散分析で解析した。①POMS（気分プロフィール検査：緊張・抑鬱・敵意・活気・疲労・混乱の 6 尺度）、②SCI（ストレスコーピング検査：解決志向・情動志向・計画性・対決・社会支援模索・責任受容・自己制御・逃避・隔離・肯定価値の 10 尺度）、である。

3. 研究経過および成果の概要

図 1 に内田クレペリン検査の誤答率のヒストグラムを示す。青色の部分は誤答率が 9.2 %以下のデータ、赤色の部分は 9.2 %を超える外れ値に該当するデータを示す。後者のデータ数は 25 件であった（全体の 1.9 %）。また、全国大会前後の作業量の相関（図 2 参照）および誤答率の相関（図 3 参照）は、それぞれ作業量： $r=0.97$ 、誤答率： $r=0.74$ であった。

図 4 に SCI（ストレスコーピング検査）の対決型尺度について、大会成績による変化の相違を示す。対決型とは、ストレスに対して対峙し克服しようとする傾向である。その結果、大会成績が良いほど大会前後のスコアの差が大きいことが分かった。

図 4 に POMS（気分プロフィール検査）の緊張尺度について、大会前後のレギュラー選手・非レギュラー選手・マネージャの相違を示す。分散分析の結果、非レギュラー選手のみ緊張尺度スコアに変化が見られなかった。

以上の結果から、部員がチーム状態や自分達の実力を自覚し大会前に自信を持っている場合は、ストレスに対して対決する姿勢が強くなると考える。また、非レギュラー選手は、試合に対する無関心から緊張が低く、大会前後の変化がなかったと考える。

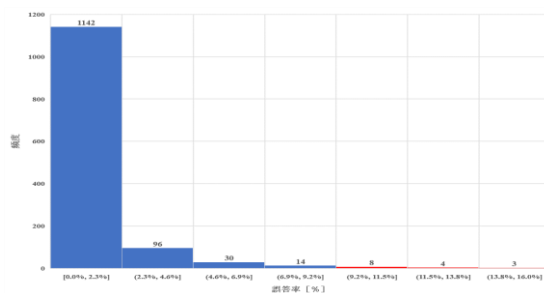


図 1 誤答率の分布

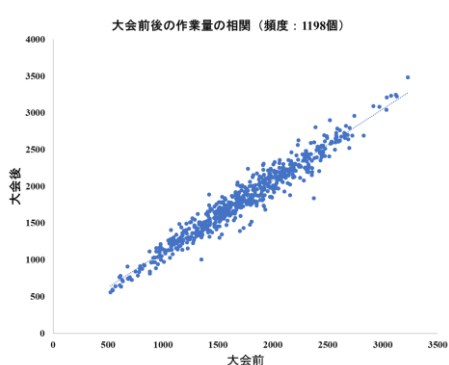


図 2 大会前後の作業量変化

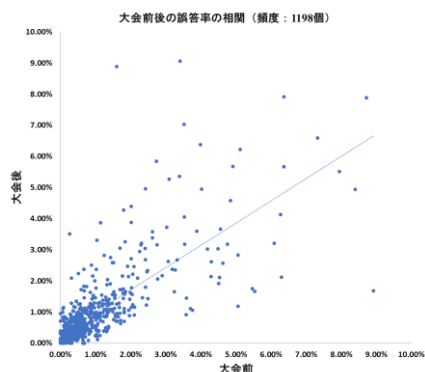


図 3 大会前後の誤答率変化

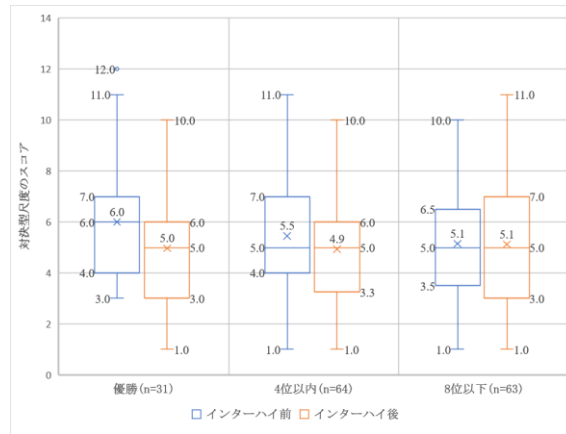


図4 大会成績によるストレスコーピング（対決型尺度）の変化の相違

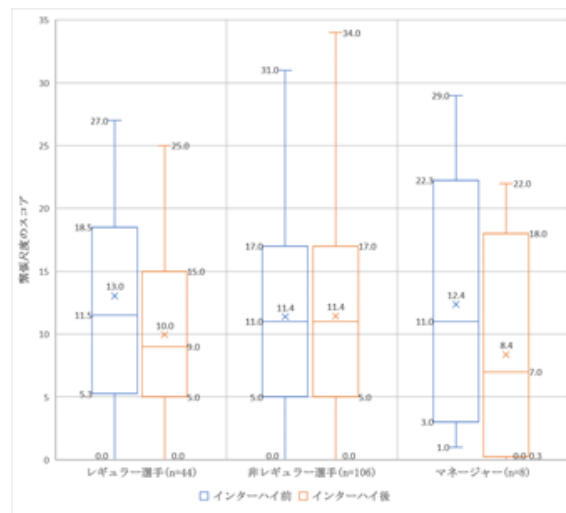


図5 選手属性による精神健康度（緊張尺度）の変化の相違

4. 今後の研究における課題または問題点

本研究の結果から、運動選手において、負荷ストレスに対するストレスコーピング状況は、チームの『自信の有無』に左右されるという興味深い結果が明らかとなった。そこで、この運動選手たちのメンタルヘルス状況の経時変化をコホート調査により解析する。また、本来の目的である、スマートフォン上で内田クレペリン検査ができるアプリケーションを用いたセルフケアシステム（心の健康度アプリ）を、共同研究先であるN社と協力して社会人等を対象とした調査を実施したい。

VI) Summary

In FY2023, we expanded on the research results from FY2022 and attempted to apply a self-care system using an application that allows the Uchida-Kraepelin test on a smartphone to a survey of working adults at Company K, a joint research partner. However, due to circumstances with the partner company, we were unable to adjust the schedule this year, and we were unable to carry out the project. Therefore, in cooperation with I Hospital, another joint research partner, we changed the target population to high school students and investigated changes in mental health status before and after stress. In this study, we compared the results of surveys (June and September) before and after the national tournament, which is held from the end of July every year, on G High School girls' basketball club members, a school that regularly competes in national tournaments, and analyzed changes in the members' mental health status.

A total of 262 members of the basketball team participated in the Uchida-Kraepelin test from 2002 to 2023 (total number of data: 1,307). When we calculated the workload and incorrect answer rate for this Uchida-Kraepelin test, we found that there were many cases where the incorrect answer rate exceeded 10%, which does not normally occur. Therefore, if the error rate exceeded 9.2% (Mean + 2 σ), we considered them to be 'unmotivated' or 'not good at addition' and excluded them as outliers, and proceeded with the analysis. Furthermore, data from 103 club members from 2015 to 2023 who answered two questionnaires (POMS: Profile of Mood States, SCI: Lazarus Type Stress Coping Inventory) was analyzed using one-way analysis of variance.

First, there were 25 data items that corresponded to outliers based on the incorrect answer rate of the Uchida-Kraepelin test (1.9% of the total). In addition, the correlation between workload and incorrect answer rate before and after the national competition was $r = 0.97$ for workload and $r = 0.74$ for incorrect answer rate, respectively. Next, we analyzed the differences in changes in the SCI's confrontational scale depending on tournament performance. The confrontational type is the tendency to confront stress and try to overcome it. The results showed that the better the tournament performance, the larger the difference in scores before and after the tournament. Furthermore, we analyzed the differences in the POMS tension scale between regular players, non-regular players, and managers before and after the tournament. As a result of the analysis of variance, only non-regular players showed no change in their tension scale scores.

From the above results, we believe that if club members are aware of the team's condition and their own abilities and are confident before the tournament, they will be more willing to confront stress. In addition, non-regular players are considered to be less nervous due to their lack of interest in the match, and that there was no change before and after the tournament.

化学物質による大腸菌の高度有機溶媒耐性化と有用物質生産への応用（和題）
Improvement of organic solvent tolerance in *Escherichia coli* by chemicals
and its application to production of useful substances（英題）

研究代表者 道久 則之（生命科学部応用生物科学科）

研究分担者 なし

I) 研究期間／2023年4月1日～2024年3月15日

II) キーワード／①大腸菌 *Escherichia coli*

②有機溶媒耐性 Organic solvent-tolerance

③化学物質 Chemicals

④有用物質生産 Production of useful substances

⑤有機溶媒 Organic solvent

III) 2023年度交付額／ 1,390,000 円

IV) 研究発表／学会および口頭発表

1) 道久 則之（2023）有機溶媒耐性微生物の有機溶媒耐性メカニズム、「極限環境微生物の先端科学と社会実装最前線（監修者 伊藤 政博、鳴海 一成、道久 則之）」、ISBN: 978-4-86043-848-7、pp. 171-184、株式会社エヌ・ティー・エス。

2) Noriyuki Doukyu: Improvement of organic solvent-tolerance of *Escherichia coli*. Shandong University and Toyo University Joint Workshop on Extremophiles, Qingdao, China, November 4, 2023. (Invited)

V) 研究経過および成果の概要（日本語 2000 字程度）

1. イントロダクション

循環型社会形成のため、化石資源由来の有用物質を微生物細胞に生産させる技術の開発が望まれている。合成生物学や代謝工学等の進展により、微生物による様々な有用物質生産が可能となっている。このうち、バイオ燃料については、これまでに、可食性のバイオマスから生産される第1世代バイオ燃料や非可食性のバイオマスから生産される第2世代バイオ燃料が開発されてきた。しかし、既存インフラ設備をそのまま活用する場合、ガソリン等の化石燃料に混合して利用するが、従来型である第1世代と第2世代)のバイオ燃料はその混合比率に制限がある。そこで、既存のインフラ設備とより親和性の高いバイオ燃料が求められているが、バイオ燃料や化学製品等（有機溶媒や有機溶媒様化合物）は細胞毒性を示すものが多く、毒性産物の蓄積が生産性の低い要因となっている。そこで、バイオ燃料や化学製品等の生産効率化のため、微生物の有機溶媒耐性機構が注目されている。申請者は、これまでに、大腸菌の有機溶媒耐性に関する研究を行い、高度な有機溶媒耐性を付与する遺伝子変異の特定に成功し、様々な有機溶媒耐性化機構を見出している。また、有機溶媒耐性の向上した大腸菌による高効率な物質生産についても報告してきた。本研究では、化学物質により大腸菌の有機溶媒耐性を向上し、有用物質生産へ応用することを目的とした。

2. 研究方法

1) 大腸菌の有機溶媒耐性度評価

大腸菌を LBGMg 液体培地で 30°C、一晩培養した後、生理食塩水で希釈系列（10⁰、10⁻¹、10⁻²、10⁻³、10⁻⁴、10⁻⁵、10⁻⁶ 希釈）を作製した。その後、様々な化学物質を添加した LBGMg 寒天培地に希釈液を 5 µl ずつスポットし、有機溶媒（*n*-Hexane:Cyclohexane (9:1, v/v) など）を重層し、室温で一晩培養した。

2) レポータージーンアッセイ

溶媒排出ポンプをコードする *acrA* や *tolC* などのプロモーター領域を β-ガラクトシターゼ遺伝子の upstream に挿入したプラスミドを大腸菌 BW25113 株に導入した菌株を用いて、β-ガラクトシターゼアッセイによりそれぞれの遺伝子の発現量を調べ Miller Unit を算出した。

3) 1-オクタノール生産株の構築

大腸菌において、*Anaerococcus tetradius* 由来チオエステラーゼ (TesA)、*Mycobacterium marinum* 由来カルボン酸レダクターゼ (Car)、*Bacillus subtilis* 由来ホスホパンテライニル転移酵素 (Sfp)、大腸菌由来アルデヒドレクターゼ (Ahr) を高発現化すると、グルコースから 1-オクタノールを効率よく生産できることが報告されている (Akhtar et al., *Metab Eng Commun*, 2:1 (2014))。遺伝子発現用のベクターとして Merck Millipore 社の pETDuet-1 と pCDFDuet-1 を用いて、pETDuet-1 に、*sfp* と *car* を導入し、pCDFDuet-1 に *tes* と *ahr* を導入し、それぞれ、pET(*sfp+car*) と pCDF(*tes+ahr*) と呼ぶこととした。

3. 研究経過および成果の概要

1) 大腸菌の有機溶媒耐性を向上させる化学物質の探索

これまでに、メナキノン合成中間体である DHNA やバニリンなどの有機化合物によって大腸菌の有機溶媒耐性が顕著に向上することを見出し報告している (Ikehata and Doukyu, *J Biosci Bioeng*, 133:347-352 (2022), Doukyu et al., *Biosci Biotechnol Biochem*, 86:1128-1135 (2022))。この他に、同様な代謝産物やその構造類似体を含む種々の芳香族化合物 (約 40 種) による耐性化効果を検討し、効果の高かった有機化合物について、レポータージーンアッセイにより、溶媒排出ポンプをコードする *acrA* や *tolC* の発現を調べた。この結果、溶媒排出ポンプの顕著な発現は認められず、新規な機構による有機溶媒耐性化が示唆された。

2) 化学物質による大腸菌の有機溶媒耐性化と有用物質生産の効率化

ディーゼル燃料の代替として期待されている 1-オクタノールの生産効率化を検討するため、1-オクタノール生産株を構築した。培養液から、クロロホルムを用いて 1-オクタノールを抽出し、ガスクロマトグラフィー-質量分析計 (GC-MS) により、1-オクタノールを検出し、構築した菌株が 1-オクタノール生産能を有することを確認した。1-オクタノール生産株を用いて有機溶媒耐性化に有効な有機化合物を培地に添加して、1-オクタノール生産を調べた。この結果、用いた有機化合物を添加した場合、1-オクタノールの生産量が低下してしまった。

4. 今後の研究における課題または問題点

上記のように、有機溶媒耐性化に有効な有機化合物を培地に添加すると 1-オクタノールの生産量が低下してしまったため、今後、有機化合物の種類や添加濃度をさらに検討する必要がある。別の検討から、有機溶媒耐性変異株を用いた場合に 1-オクタノール生産効率が向上する傾向が認められたため、有機溶媒耐性変異株を利用する検討も行う必要がある。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

In order to create a recycling-oriented society, it is desirable to develop technologies that allow microbial cells to produce useful substances derived from fossil resources. Advances in synthetic biology and metabolic engineering have made it possible for microorganisms to produce a variety of useful substances. Although biofuels that are more compatible with existing infrastructure facilities are in demand, many biofuels and chemical products (organic solvents and organic solvent-like compounds) exhibit cytotoxicity, and the accumulation of toxic products is a factor in low productivity. Therefore, the organic solvent tolerance mechanism of microorganisms is attracting attention in order to improve the production efficiency of biofuels and chemical products. The applicant has conducted research on organic solvent tolerance in *Escherichia coli*, succeeded in identifying genetic mutations that confer advanced organic solvent tolerance, and discovered various organic solvent tolerance mechanisms. We have also reported on highly efficient production of substances by *E. coli* with improved organic solvent tolerance. In addition, we have found and reported that organic compounds such as DHNA and vanillin, which are intermediates in menaquinone synthesis, markedly enhance the organic solvent tolerance of *E. coli* (Ikehata and Doukyu, *J Biosci Bioeng*, 133:347-352 (2022), Doukyu et al., *Biosci Biotechnol Biochem*, 86:1128-1135 (2022)). In this study, we aimed to improve the organic solvent tolerance of *E. coli* by chemical substances and apply it to the production of useful substances. We examined the effect of various aromatic compounds (about 40 kinds), including various metabolites and their structural analogues, on the tolerance of the organic compounds, and examined the expression of *acrA* and *tolC*, which encode solvent efflux pumps, by reporter gene assay. The results showed no significant expression of solvent efflux pumps, suggesting a novel mechanism of organic solvent tolerance. To investigate the efficiency of 1-octanol production, which is expected to replace diesel fuel, a 1-octanol producing strain was constructed. 1-octanol was extracted from the culture medium using chloroform, and 1-octanol was detected by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) to confirm that the constructed strain had 1-octanol production capacity. 1-octanol production was examined by adding organic compounds effective for organic solvent tolerance to the culture medium. The results showed that 1-octanol production decreased when the organic compounds used were added. Further study of the type and concentration of organic compounds is needed in the future.

熱中症を模した骨格筋細胞モデルの創製と応用（和題）

Development of skeletal muscle cell model that mimics heat stroke（英題）

研究代表者 根建 拓(生命科学部応用生物科学科)

I) 研究期間／2023年4月1日～2024年3月15日

II) キーワード／①熱中症

②骨格筋

③マイオカイン

III) 2023年度交付額／1,750,000円

IV) 研究発表／学会および口頭発表

(1) 工藤優華、水関祐歩、村田圭吾、根建拓「暑熱順化における骨格筋マイオカインの動態変化」
2024年度日本農芸化学会、3月26日（東京）

(2) 矢澤望実、水関 祐歩、石内 友里、平岩 絵梨花、篠崎 綾香、村田 圭吾、根建 拓「栄養、
熱及びその複合刺激による骨格筋マイオカインの動態変化」2024年度日本農芸化学会、3月
26日（東京）

V) 研究経過および成果の概要（日本語 2000字程度）

1. イントロダクション

地球温暖化などに伴って国内の年平均気温は上昇傾向にあり、それともなると年間の熱中症死亡者数は高水準で推移している。熱中症は、40℃を超える急激な体温上昇に伴う中枢神経系の機能不全を特徴とした症状であるが、その発症および進行メカニズムについては未だ不明な点が多い。生体内器官の中でも特に高い温度感受性を持つ骨格筋は、近年、分泌器官としての役割が注目されている。暑熱刺激が高い温度感受性を持つ骨格筋で感知され、分泌器官としての機能を通して全身のホメオスタシス制御が行われること、さらにその破綻が熱中症の発症および進行に重要であることが明らかとなれば、熱中症の発症および進行メカニズムの解明や予防および治療方法の開発につながる可能性は高い。そこで本研究計画では、熱中症を模した骨格筋モデルを確立、温度感知から骨格筋生理変化に至るプロセスを解明するとともに、骨格筋分泌因子（マイオカイン）分泌プロファイルを解析、全身への波及メカニズムを明らかにすることを目的とした。本研究は、運動および熱に応答した骨格筋生理変化に関する基礎的知見を提供すると同時に、社会問題化している熱中症の理解および予防改善方法の開発など応用研究に直結するものである。

2. 研究方法

マウス（C57BL/6N, 8週齢）に急性暑熱（45℃, 1時間）を与え、前脛骨筋、長趾伸筋、大腿四頭筋、ヒラメ筋の total RNA を抽出し、遺伝子発現解析を行った。また、慢性暑熱（45℃, 30分/day）を2週間与え、最後の慢性暑熱から24時間の回復時間を与えた後に解剖し、同様に各骨格筋より total RNA を抽出、遺伝子発現解析を行った。また、細胞レベルの研究はマウス骨格筋細胞株 C2C12 を用い、様々な栄養条件のもと、短期暑熱（42℃/3h）後に回復時間（37℃/21h）を設定し、total RNA を回収して遺伝子発現解析に供した。

3. 研究経過および成果の概要

(1) 熱中症モデルマウスの作成および解析

まず、研究方法に記載した条件での急性暑熱刺激後、マウス骨格筋の遺伝子発現解析を行ったところ、*Hspa1a* 遺伝子発現は全ての筋肉において有意に増加しており、その他の遺伝子発現解析結果および暑熱負荷後の体重変化や骨格筋重量変化を併せ、これを熱中症モデルマウスであるエビデンスが集積した。また、慢性暑熱刺激（非労作性熱中症モデル）が急性暑熱応答に与える影響について調べるため、2週間の暑熱順化を行ったマウスに急性暑熱を与えたところ、慢性暑熱刺激は急性暑熱による熱ショック応答を抑制する可能性が見出された。さらに、急性暑熱刺激によって発現抑制されるマイオカイン *CCL5* について慢性暑熱刺激の影響を解析した結果、*CCL5* 遺伝子の発現量は急性暑熱によって有意に減少したが、慢性暑熱刺激を行うことで、この減少がさらに促進される傾向が見られることが分かった。

(2) *in vitro* 熱中症骨格筋細胞の作成および解析

次に、マウス骨格筋細胞 *C2C12* に対して慢性暑熱刺激を添加したところ、マイオカイン *CCL5* の持続的発現減少が観察された。また、種々の栄養条件あるいは運動負荷条件のもと、暑熱刺激を負荷し、暑熱依存的な骨格筋生理応答および栄養をはじめとする外部刺激の影響を精査したところ、マイオカインの遺伝子発現量は、栄養・運動条件以上に暑熱刺激による大きな影響を受けていることが明らかとなった。すなわち、今後の研究が必要な段階ではあるが、運動と暑熱刺激の効果的な相互作用を見出すことはできず、労作性熱中症においては急激な骨格筋温度上昇の影響が大きいものと考えられた。

4. 今後の研究における課題または問題点

本研究によって、動物個体レベルおよび細胞レベルでの非労作性熱中症モデルの確立に成功した。一方、骨格筋細胞への電気パルス刺激による顕著な影響は見られず、労作性熱中症は、運動と急性暑熱の相互作用による急激な体温上昇の影響ではないかと考えられる。一方、今回の研究で使用した骨格筋細胞の分化および発達段階が低下していたため運動効果が観察されなかった可能性もあるので今後の検証が必要であると考えられる。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

The average temperature in Japan is rising due to global warming and other factors, while the number of heat stroke fatalities remains high. Heat stroke, characterized by dysfunction of the central nervous system due to a rapid rise in body temperature above 40°C, still lacks a fully understood mechanism of onset and progression. Skeletal muscle, with its high temperature sensitivity, has garnered attention for its potential role as a secretory organ. Understanding how skeletal muscle senses heat stimuli, regulates systemic homeostasis, and contributes to the onset and progression of heat stroke could significantly aid in the development of prevention and treatment methods.

This study aimed to establish a skeletal muscle model of heat stroke, elucidating the process from temperature sensing to physiological changes, analyzing the secretion profile of skeletal muscle factors (myokines), and clarifying the spillover mechanism to the entire body. Mice were bred under various heat conditions, revealing heat-responsive physiological and gene expression changes, indicating the feasibility of creating a model for non-exertional heat

stroke, particularly through chronic heat stimulation. In this model, the suppression of the heat shock response and evident changes in myokine kinetics were observed. Further cellular studies suggested that elevated skeletal muscle temperature, rather than external factors like nutrition and exercise, significantly influenced myokine secretion. Overall, this study successfully established a model for non-exertional (classical) heat stroke at both animal and cellular levels. Conversely, experiments with electrical pulse stimulation on skeletal muscle cells showed no significant effects, implying that acute heat might be a more effective model for exertional heat stroke. However, further investigations are warranted to fully comprehend the mechanisms.

In conclusion, this research underscores the importance of skeletal muscle in heat stroke pathophysiology and presents valuable insights into its role as a secretory organ during heat stress. Establishing models for both non-exertional and exertional heat stroke lays the groundwork for future studies aimed at developing effective prevention and treatment strategies for this potentially life-threatening condition, especially in the face of rising global temperatures.

AhR モジュレーターを用いたがん免疫療法の研究（和題）

Research on cancer immunotherapy using AhR modulator（英題）

研究代表者 椎崎 一宏(生命科学部応用生物科学科)

I) 研究期間／2023年4月1日～2024年3月15日

II) キーワード／①AhR

②担癌モデル

③レポーターアッセイ

④がん免疫療法

⑤免疫寛容

III) 2023年度交付額／784,000円

IV) 研究発表／学会および口頭発表

<論文発表>

Rikako Karube, Mebae Koike, Togo Ikuta, Kazuhiro Shiizaki, Abortion in AhR knockout mice and fetomaternal immunity. *Reproductive Biology* 2024 (*Revised*)

Genes and

Mebae Koike, Rikako Karube, Showa Komatsu, Saki Kanamaru, Minami Shiozawa, and Kazuhiro Shiizaki, Bromacil attenuates Benzo[a]pyrene cytotoxicity and mutagenesis through the AhR and Nrf2 pathways. *Genes and Environment* 2024 (*Submitted*)

<学会発表>

第46回日本分子生物学会年会（2023年12月兵庫） ” Abortion in AhR knockout mice and maternal-fetal immunity”

Rikako Karube, Mebae Koike, Togo Ikuta, Kazuhiro Shiizaki

日本環境変異原ゲノム学会第52回大会（2023年11月福岡） ” Effects of the Common Herbicide Bromacil on AhR and Drug Metabolizing Enzymes”

小池 芽生 , 金丸 咲葵 , 塩澤 みなみ , 小松 升和 , 軽部 梨香子 , 川西 優喜 , 原島 小夜子 , 八木 孝司 , 椎崎 一宏

第二回 環境化学物質3学会合同大会（2023年6月徳島） 「除草剤ブロマシルによるAhR活性化および薬物代謝酵素の誘導」

小池芽生, 軽部梨香子, 小松升和, 金丸咲葵, 塩澤みなみ, 原島小夜子, 川西優喜, 八木孝司, 椎崎一宏

変異機構研究会 第34回夏の学校「汎用除草剤プロマシルによる AhR 活性化および薬物代謝酵素の誘導」

小池芽生、軽部梨香子、小松升和、金丸咲葵、塩澤みなみ、原島小夜子、川西優喜、八木孝司、椎崎一宏(2023年9月東京都八王子市大学セミナーハウス)

変異機構研究会 第34回夏の学校「担癌モデルにおける腫瘍免疫と癌転移への AhR-IDO-Kyn 軸の関与」
軽部梨香子、椎崎一宏(2023年9月東京都八王子市大学セミナーハウス)

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000 字程度)

1. イントロダクション

<研究目的>

がん免疫療法はがん免疫逃避機構を阻害する画期的な治療法であるが、コスト面からは抗体薬以外の化合物による治療薬の開発が望まれる。また、がん免疫療法は全ての含意効果があるわけではなく、補助剤によって効果を高める試みがなされている。近年、外来毒物センサーと考えられていたアリアル炭化水素受容体 (AhR) は免疫抑制や免疫寛容を制御する転写因子であることが分かってきた。AhR はインドールジオキシゲナーゼ (IDO) の誘導を介して免疫抑制因子であるキヌレニンを産生させる。AhR 欠損動物では盲腸に慢性的な炎症が起こり腫瘍が発生する一方、妊娠中期から胎仔の死亡が見られる。これらのことから AhR が腸内細菌や妊娠中の胎仔に対する免疫寛容を担っていることが予想される。また、腫瘍組織においては AhR の発現が悪性要因と考えられており、がん免疫逃避機構の一部を担っていると考えられる。AhR はリガンド依存性転写因子であり化合物での制御が可能であることから、AhR 機能を阻害することでがん免疫逃避機構を抑制できる可能性があることから、AhR のがん免疫に関する役割を明らかにするとともに、AhR の活性を抑制するアンタゴニストの探索を行った。

2. 研究方法

本研究ではアンタゴニストを始めとした AhR モジュレーターを用いた新たながん免疫療法が現実的に可能かを検証した。遺伝子改変動物および遺伝子改変がん細胞を用いた担がん実験により Kyn-AhR-IDO フィードバックループによるがん免疫逃避機構の存在を実証するため、悪性メラノーマ細胞 B16F10 細胞より AhR 欠損細胞、AhR 過剰発現細胞株を作成し担癌実験を行った。また、AhR 欠損マウスで見られる流産における胎盤での AhR の役割を解明するため、妊娠日齢ごとの胎盤での各種免疫関連遺伝子発現を定量した。AhR アンタゴニストの探索に関しては、酵母レポーターアッセイおよびヒト細胞を用いたレポーターアッセイによって各種環境化学物質を中心にスクリーニングを行った。

3. 研究経過および成果の概要

CRISPR/Cas9 による遺伝子編集を行い B16F10 細胞から AhR 欠損株を作成した。また、AhR 発現プラスミドの導入により AhR 強制発現株を樹立した。これらの細胞について、細胞増殖アッセイ、Wound/Healing アッセイ、レポーターアッセイによる AhR 応答配列依存的な転写活性化能を調べたところ、細胞増殖能には各細胞間で有意な変化は認められなかったが、細胞遊走能は AhR の発現および転写活性化能に依存していた。マウス担癌モデルでは腫瘍の発達は AhR 欠損細胞では低下した。肺転移は AhR 欠損細胞では転移巣の有意な低下が見られた。胎仔—母体免疫寛容へ

の役割に関しては、AhR 欠損母マウスの胎盤では IL-1 や IFN- γ の上昇が見られ、何らかの炎症が起こっていることが示唆された。一方、免疫寛容をつかさどる Treg 細胞のマーカーである FoxP3 の低下や、免疫抑制物質である Kynurenine の合成酵素である IDO 1 の発現低下が認められた。これらの結果はがんの悪化に関して AhR が免疫逃避機構によって関与していること、一方で妊娠マウスにおいては胎盤における胎仔免疫寛容に寄与し、炎症を抑制していることが明らかとなった。これら AhR の負の正の側面に対して AhR の機能を調節する化学物質として Bromacil を同定した。Bromacil は酵母レポーターアッセイにて AhR リガンド様作用を示し、ヒト細胞に対してはアンタゴニスト効果を示すことが分かった。Bromacil は既知の AhR モジュレーターとの構造とは異なるウラシル化合物であることから、本物質をリードコンパウンドにした力価の高い AhR アンタゴニストの開発の可能性が示唆された。

4. 今後の研究における課題または問題点

担癌実験についてはがん免疫逃避機構におけるがん細胞側の AhR の発現の有無によるがんの悪性化について検討したが、今回の試験では宿主動物に野生型マウスしか用いることができなかった。がん免疫逃避においては宿主側の免疫細胞の AhR が重要であることから、AhR 欠損マウスへの担癌実験を行い、免疫細胞での AhR の発現によるがんの発達を検討する必要がある。また、妊娠中胎仔母体免疫寛容については、胎盤は胎仔および母体両方の細胞からなる組織であるため、今回得られた各種免疫細胞マーカーが胎仔由来なのか母体由来なのかを組織免疫化学的な解析で明らかにする必要がある。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

Cancer immunotherapy is a novel approach to treat cancer by inhibiting its immune escape mechanism. However, due to cost constraints, alternative therapeutic agents are desirable. Recently, the aryl hydrocarbon receptor (AhR) regulates immunosuppression and immunotolerance. Thus, we sought to elucidate the role of AhR in cancer immunity and to identify antagonists that could inhibit AhR activity. In this study, we examined whether novel cancer immunotherapies using antagonists or other AhR modulators are practically feasible. Cell lines that either lacked or overexpressed the AhR protein were created from B16F10 malignant melanoma cells. Genetically modified animals and cancer cells were used in experiments to evaluate the role of AhR in cancer development. Additionally, we investigated the cause of placental abortion in AhR-deficient mice by studying the expression of immune-related genes in the placenta during each trimester of pregnancy. To identify AhR antagonists, we screened various environmental chemicals using yeast reporter and human cell-based assays. The screening process was focused on the identification of AhR antagonists in environmental chemicals using yeast reporter and human cell-based assays.

An AhR-deficient cell line was generated from B16F10 cells using CRISPR/Cas9 gene editing. An AhR overexpression line was also established. Tests showed that AhR expression did not significantly affect cell proliferation, but it did affect cell migration ability. In the mouse tumor-bearing carcinoma model, tumor growth was reduced in AhR-deficient cells, and lung metastasis was significantly reduced as well. AhR-deficient cells cause inflammation in the placenta of AhR-deficient mice, as indicated by elevated levels of IL-1 and IFN- γ . However, AhR contributes to placental immune tolerance and suppresses inflammation in pregnant mice. It is involved in cancer progression through an immune escape mechanism. Bromacil has

been identified as a chemical that can affect the function of AhR in response to both negative and positive aspects of AhR. It has been found to show AhR ligand-like activity in yeast reporter assays and antagonist effects on human cells. This suggests the possibility of using Bromacil as a lead compound for developing high-potency AhR antagonists. Regarding the experiments on carcinogenesis, we examined the malignant development of cancer by studying the expression of AhR on the cancer cell side in the cancer-immune escape mechanism. However, only wild-type mice could be used as host animals in this study. To examine cancer development by the expression of AhR in immune cells, it is necessary to conduct carcinoma-carrying experiments on AhR-deficient mice since AhR in host-side immune cells is vital in cancer immune escape. Moreover, during pregnancy, it is necessary to clarify whether the various immune cell markers obtained in this study are of fetal or maternal origin by immunohistochemical analysis. This is because the placenta is a tissue composed of both fetal and maternal cells and it plays a crucial role in fetus-maternal immune tolerance.

頭髪等の炭素窒素安定同位体比に基づく現代日本人の食性解析のための基礎 検討

Basic Study on the Dietary Analysis of Contemporary Japanese Based on Carbon and Nitrogen Stable Isotopic Ratios of Hair Sample

研究代表者 吉永淳（生命科学部応用生物科学科）

- I) 研究期間／2023年6月6日～2024年3月15日
- II) キーワード／①炭素窒素安定同位体比 Carbon and nitrogen stable isotope ratio
②食性解析 Dietary analysis
③陰膳 Duplicate diet
④魚介類 Seafood
⑤アルセノベタイン Arsenobetaine
- III) 2023年度交付額／665,000円
- IV) 研究発表／学会および口頭発表
・ Isotopes in Environmental and Health Studies 誌に投稿中

V) 研究経過および成果の概要

1. イントロダクション

生体試料の炭素窒素安定同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$) は、考古学や人類学の分野で古代人の食性解析に使用されてきた。近年、 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ を用いて調べた現代人の食性と健康事象との関連に関心が高まってきた。とくに魚などの摂食が健康に良い効果をもたらすことが明らかになったために、人々の魚介類摂取状況を、魚介類の指標である $\delta^{15}\text{N}$ で調べることに関心が高まっている。こうした研究は、魚介類の多い食事の $\delta^{15}\text{N}$ が高いことが前提となっているが、これまでそれを検証する調査は行われてこなかった。そこで本研究では、陰膳を分析対象とし、それらの $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ や、魚介類存在量の指標として有望なヒ素化合物であるアルセノベタイン (AB) 含有量について測定・解析を行って、 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ が食事の魚介類の指標として適切かどうかの検討を行った。

2. 研究方法

2017～18年に別研究で収集した陰膳150試料を研究対象とした。試料提供者は男性65名女性85名で、年齢は19～83歳であった。凍結乾燥した陰膳試料をクロロホルム／メタノール／アセトンで脱脂し、元素分析－同位体比測定質量分析により $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ を測定した（昭光サイエンス社で外注測定）。一方、脱脂前の陰膳試料を0.07M塩酸抽出し、抽出液中AB濃度を液体クロマトグラフ－ICP質量分析法で定量した（別研究）。陰膳試料提供者の性別・年齢および陰膳メニューと、 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 、AB濃度との関連を統計解析した。

3. 研究経過および成果の概要

すでに別研究費を用いて $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ を測定済であった一部試料と合わせ、本研究で150試料すべての $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ を測定し終えた。その平均値はそれぞれ -24.3 ± 1.1 ‰、 3.58 ± 0.93 ‰であった。ABは

一部のキノコなどのごく一部の例外を除き、海産魚介類のみに存在することが知られているヒ素化合物である。陰膳の AB 濃度はすでに別研究で測定済みで、150 試料の中央値は 35.9 ng As/g であった。同位体比、AB 濃度とも、試料提供者の性別とは関連がなかった。陰膳メニューの解析から、メニューに魚介類の記載のあった対象者となかった対象者の陰膳の $\delta^{15}\text{N}$ 、AB 濃度は、記載のあった対象者の陰膳で有意に高い値となった。さらに陰膳の $\delta^{15}\text{N}$ と AB 濃度の間には有意な正の相関関係が見られた (スピアマンの $\rho=0.384$, $p<0.001$)。これらのことは、従来から認識されていたように、 $\delta^{15}\text{N}$ は魚介類摂取のマーカーとして適切であることを確認するものである。メニューに魚介類のあった対象者の割合は、試料提供者の年齢によって 4 群 (20 歳以下、21–40 歳、41–60 歳、61 歳以上) に分けると、それぞれ 46、63、68、91% と高年齢群ほど多かった。これは一日当たりの魚介類摂取量は年齢が高いものほど多くなることを示した国民健康栄養調査の結果と合致している。4 年齢群の陰膳試料の $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ には有意な変動は見られなかったが、AB 濃度は 61 歳以上の群が有意に高値となった。すなわち、高齢者の食事には魚介類が多く含まれており、AB 濃度はそれと合致するように高齢群で有意に高濃度となったが、 $\delta^{15}\text{N}$ にはそういう傾向は見られなかった。このことと、 $\delta^{15}\text{N}$ と AB 濃度との間の、有意ではあるが予想よりも低い相関係数 ($\rho=0.384$) は、 $\delta^{15}\text{N}$ が食事中の魚介類存在量のマーカーとしてはやや弱いものであることを示している可能性がある。これまでは $\delta^{15}\text{N}$ は魚介類の非常に良いマーカーであると考えられてきたが、それは魚介類の $\delta^{15}\text{N}$ が高い、という事実に基づいてのみの考えであった。しかし、食事全体を考えたときに、例えば高齢者の魚介類一日摂取量は多くなるのと反比例して肉類の摂取量が減少することが分かっている (国民健康栄養調査結果)。肉類の $\delta^{15}\text{N}$ も高いために、魚介類の摂取量増による $\delta^{15}\text{N}$ の高値化が、肉類摂取減によって抑制されると考えられる。すなわち、食物全体の同位体比は、各食物カテゴリーのバランスによって影響を受けるので、魚介類の $\delta^{15}\text{N}$ が高いから魚介類の多い食事の $\delta^{15}\text{N}$ も高い、という単純な考えは適切でない場合がある。頭髮等の同位体比に基づく食性解析の際に、この点に注意を払う必要があることを、本研究は示唆している。

4. 今後の研究における課題または問題点

本研究は $\delta^{15}\text{N}$ が必ずしも魚介類摂取の sensitive なマーカーではない可能性を指摘したもので、これまで行われてきた頭髮や骨の $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ に基づく食性解析の適切性に一石を投じる結果が得られたと考える。しかしながら、本研究では、陰膳メニューでの魚介類の記載の有無のみを魚介類存在量の定性的な情報として行った解析である点がやや問題となる点であり、今後は食物中の魚介類存在量に関する定量的な情報を得たうえで、 $\delta^{15}\text{N}$ と魚介類存在量の関連を改めて解析する必要があり、これが今後の課題となる。また、食物中の AB 濃度が魚介類存在量の定量的マーカーであることは理論的には正しいものの、これまで検証されてきたわけではないので、食事中 AB 濃度の魚介類存在量マーカーとしての適切性も検証すべき課題である。

VI) Summary

Carbon and nitrogen stable isotope ratios of excavated bone have been used for the dietary reconstruction of ancient population/individual. The isotope ratios have recently been used for dietary analysis of contemporary population/individual by using hair or blood components and relate them to

health status. Particular attention has been paid to nitrogen isotope ratio as a marker of seafood consumption because health benefit of seafood is evident. The present study intended to confirm the validity of nitrogen isotope ratios as a marker of seafood abundance in diet. Nitrogen and carbon analysis of duplicate diet samples collected in Japan during 2017-2018 were measured to correlate abundance of seafood in diet. One hundred and fifty subjects (65 males and 85 females; mean age: 45 yrs) donated duplicate diet sample for a study on inorganic arsenic intake, and they were used for the present study. Nitrogen and carbon stable isotope ratios ($\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$) of the duplicate diet were measured by element analyzer-isotope ratio mass spectrometry at a commercial laboratory (Shoko Science Ltd., Japan). Mean and standard deviation of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ of the 150 duplicate diets were -24.3 ± 1.1 ‰ and 3.58 ± 0.93 ‰, respectively. Arsenobetaine (AB) content of the diet samples was also measured as a marker of seafood abundance in the diet by liquid chromatography ICP mass spectrometry. Content of AB varied to a considerable extent (<6.5 to 1470 ng As/g dry weight) and median content was 35.9 ng As/g dry weight. A significant age-related variation was found for AB content (higher in diet of elder subjects) probably due to greater seafood abundance in elderlies' diet; however, this age-related variation was not evident in dietary $\delta^{15}\text{N}$. There was a significantly positive but moderate correlation between $\delta^{15}\text{N}$ and AB content of diet (Spearman's ρ : 0.384, $p < 0.001$). The present study indicated that $\delta^{15}\text{N}$ is a moderately sensitive marker of seafood abundance in diet, and suggested that $\delta^{15}\text{N}$ of biological sample must be used with caution for assessing seafood consumption of individuals.

食材の調理加工による高機能ポリフェノールの探索

A search for high-functionality polyphenols produced during cooking and processing of food ingredients

研究代表者 細谷 孝博(食環境科学部健康栄養学科)

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年3月15日

II) キーワード/①調理加工

②高機能ポリフェノール

③成分変化

④抗酸化作用

⑤NMR・LC/MS

III) 2023年度交付額/1,400,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

- ・学会発表：鶴岡由紀、細谷孝博「豆苗の再栽培環境における抗酸化作用」日本農芸化学会2024年度大会（東京）2024年3月25日（口頭発表）
- ・論文発表：Yuki Tsuruoka, Takahiro Hosoya. Antioxidant activity of pea seedling by the growing environment during recultivation（投稿準備中（2024年4月予定）：投稿先予定 Journal of Food Science）

V) 研究経過および成果の概要

1. イントロダクション

普段我々が口ににする食品は、調理加工されたものが多いが、食品成分は、加熱、加圧、発酵、酸化などの過酷な環境下に置かれるため、食品由来の成分は、分解または他成分と結合し、新たな成分が生成する可能性が高い。また、植物由来の食材は、栽培環境により成分変化を起こし、味や機能性が変化することが知られている。これまでの食品由来の機能性の研究は、食材に含まれる成分を対象とした研究がほとんどだが、本研究では、調理加工および栽培で変化した成分に着目し、新たなタイプの高機能性成分、とりわけポリフェノール類を探索することとした。本研究では、調理加工食品の一例として、さまざまなスパイスを原材料とするカレーに着目し、調理済みカレーに含まれる抗酸化成分を探索した（研究①）。カレーの原材料であるスパイスには、さまざまな成分が含まれているため、カレーの調理では、こうした成分を含む多成分系となり、また加熱により成分の変化が起こることが予想される。また食材の成分変化という観点から、豆苗（*Pisum sativum*）の再栽培における抗酸化作用および抗酸化成分についても並行して研究を進めた（研究②）。近年の健康志向により、高い栄養価および機能性、かつ安価な野菜スプラウトが注目されている。豆苗は、可食部を切断した後、根と種子を水につけておくと新たな豆苗が育つが、その再栽培の環境により抗酸化作用が異なることを見出したため、その抗酸化成分の定性および定量を行った。

2. 研究方法

<研究①>カレーの抗酸化作用および抗酸化成分の探索

本研究では、スパイスの配合が異なるスパイスカレー4種（バターチキンカレー、ポークカレー、

キーマカレー、サグカレー)、市販のルーで調理したカレー3種(チキンカレー、ポークカレー、バーモンドカレー)、レトルトカレー1種(牛すじカレー)の計8種類について、メタノールにより成分を抽出した。そのメタノール抽出物について、DPPHラジカル法を用いて抗酸化作用を評価した。高い抗酸化作用を示したバターチキンカレーに含まれる抗酸化成分を明らかにするため、抗酸化作用を指標とした抗酸化成分の分離を行った。各種溶媒(ヘキサン、酢酸エチル、アセトン、メタノール)により成分を順次抽出し、抗酸化作用を示した酢酸エチル抽出物について、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを用いて成分を分離し、再度抗酸化作用を評価した。さらに、抗酸化作用を示した画分について、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを用いて成分を分離した。最終的に抗酸化作用の特に高かった画分について、LC/MS(Acquity/SynaptG2, Waters)およびNMR(AL-300, JEOL)を用いて成分の構造解析を行った。また、バターチキンカレーを煮込み、各煮込み時間における抗酸化作用も評価した。

<研究②>豆苗の再栽培における抗酸化作用および抗酸化成分の探索

購入した豆苗の可食部を切り取り、再栽培する際の環境について、日中に日光が当たる室内(環境A)、日光が当たらない室内(環境B)、遮光した室内(環境C)で栽培した。それぞれの可食部をメタノールで抽出し、その抽出物について抗酸化作用を評価した。豆苗に含まれる抗酸化成分を明らかにするために、研究①と同様に、抗酸化作用を指標とした抗酸化成分の分離、精製を行い、得られた成分について、LC/MSにより、化学構造を推定した。また、単離した抗酸化成分について、環境A~Cの豆苗に含まれる含有量について、LC/MSを用いて定量分析を行った。

3. 研究経過および成果の概要

<研究①>カレーの抗酸化作用および抗酸化成分の探索

今回用いたカレー8種について、バターチキンカレーに強い抗酸化作用を示した。このバターチキンカレーに含まれる主な抗酸化成分は、クルクミン類(クルクミン、デメトキシクルクミン、ビスデメトキシクルクミン)であることが明らかとなった。これら成分は、ターメリックに含まれるポリフェノール類であり、カレー食材の主な抗酸化成分であることが分かった。また、バターチキンカレーを煮込むことで、抗酸化作用が煮込み時間と共に高くなることも分かった。

<研究②>豆苗の再栽培における抗酸化作用および抗酸化成分の探索

豆苗の再栽培における環境の違いにより、環境Aの豆苗は、緑が濃く、茎が太いが背丈が短く、環境Bは、購入状態に類似し、環境Cは、緑が薄く、茎が細いが背丈が長くなった。抗酸化作用は、環境A>B>Cとなった。豆苗に含まれる抗酸化成分は、ケルセチンの7位にグルコース、3位にソホロースが結合した配糖体、およびソホロースの6'位に、*p*-クマル酸が結合した構造だった。これら抗酸化成分の含有量について、再栽培の環境A~Cで栽培した可食部で定量分析を行ったところ、*p*-クマル酸が結合した成分が、環境Aでは、環境Bよりも約6倍増加することが分かった。また、構造活性相関的知見より、フラボノールのB環に水産基が1つ結合したケンフェロール類もそれぞれ単離したが、抗酸化作用の強いケルセチン類の増加率がケンフェロール類のそれよりも大きくなっていった。

4. 今後の研究における課題または問題点

研究①では、カレーの主な抗酸化成分を明らかにすることができたが、その他の抗酸化成分の単離までには至らなかった。そのため、これら抗酸化成分の単離、構造決定を試み、ある程度の成分が分かった時点で、LC/MSもしくはNMRによる主成分分析を行い、種類や煮込みによる成分の違いを明らかにする予定である。その中で、調理または煮込むことにより新たに生成す

る成分が存在した場合、その構造を明らかにする予定である。また、研究②では、豆苗の再栽培の環境の違いによる抗酸化作用、およびそれに寄与する主な抗酸化成分を明らかにした。今後は、これら環境の違いによる栄養素として一般成分の分析や、実際に調理を行うことで、これら機能性成分が保たれるかを確認していく予定である。

同じ食材でも、調理加工や栽培方法による違いで、機能性に違いが出ることを見出し、本研究では、それらに含まれる抗酸化成分を明らかにした。せっかく食べるのであれば、機能性の高い食品を摂取することが望まれるため、今後は、高い機能性を保つ調理加工方法や栽培方法について検討していきたい、日頃摂取する食材が、われわれの健康に貢献することが望まれる。

VI) Summary

The preparation and processing of commonly consumed foods expose the ingredients to various environmental conditions, such as heating, pressurization, fermentation, and oxidation. These processes can lead to the decomposition or combination of food-derived molecules resulting in the formation of new compounds. Additionally, plant-derived ingredients may undergo changes influenced by their cultivation environment, leading to variations in tastes and functionality. While most previous studies on food-derived functionalities have focused on components initially contained in food ingredients, this study focused on components yielded by cooking, processing, and cultivation to identify novel highly functional ingredients, especially polyphenols.

In Study 1, we searched for antioxidant components in curries made with various spices and containing cooked and processed foods. The antioxidant activities differed greatly among different berry types combined with different spices, with chicken berry butter exhibiting the highest antioxidant activity. The major antioxidant components were isolated and purified using antioxidant activity as an indicator and they were found to be curcumins. These polyphenols are primarily found in turmeric. In this study, we did not isolate any components newly produced during cooking.

In Study 2, we investigated the antioxidant activities and components of recultivated bean seedlings (*Pisum sativum*). Isolation and purification of antioxidant components (as in study 1) using antioxidant activity as an indicator revealed quercetin glycosides, quercetin-3-*O*-sophoroside-7-*O*-glucoside, and quercetin-3-*O*-(6''-*p*-coumaroyl-sophoroside)-7-*O*-glucoside. These components were also found to vary in content in seedlings from different environments owing to re-cultivation. Exposure to sunlight increased their content.

We discovered that identical food items can exhibit varied functional attributes based on the cooking technique and cultivation practices. Our research focused on elucidating the antioxidant constituents present in various processed foods. As the consumption of foods with enhanced functionality is preferable, our ongoing investigations identify cooking and cultivation approaches that effectively preserve high functionality. This endeavor seeks to optimize the potential of everyday foods to positively impact our health.

リモートワークにおける知的活動を支援する環境デザイン
：脳血流測定法の適用

Environmental design supporting intellectual activities during
remote work: Application of cerebral blood flow measurement method

研究代表者 渡邊 朗子 (情報連携学部 情報連携学科)

- I) 研究期間／2023年4月1日～2024年3月15日
- II) キーワード／①情報処理活動 Information processing activities
②音環境 Sound environment
③脳血流 Cerebral blood flow
④フェイクウィンドウ (疑似窓) Fake window
⑤知的生産性 Intellectual productivity
- III) 2023年度交付額／500,000円
- IV) 研究発表／学会および口頭発表
2024年度日本オフィス学会論文誌にて論文発表 (査読付き) 予定

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

本研究は、特に環境を構成する色彩、植栽情報および音環境に着目し、個人のリモートワークにおいて、どのような環境デザインが個人の知的活動を活性化させるのか、その具体的な環境の要因を明らかにすることを目的とする。

2. 研究方法

アンケートやヒヤリング調査に加え脳活動を計測する脳活動計測手法を用いることで、人の脳活動の実態をより詳細に考察・分析し、リモートワークにおいて人の知的活動を活性化させる色彩、植栽情報および音環境における環境の要素を具体的に明らかにし、実空間の環境設計への活用を目指す。

3. 研究経過および成果の概要

本研究では、1) 成人を対象に個人の知的活動 (情報処理) を支援する環境 (色彩と植栽情報) と 2) 成人を対象に個人の知的活動 (情報処理) を支援する環境 (音環境) の2つの実験を行った。どちらの実験も特に知的生産性の向上が期待される情報処理作業に着目して、実験協力者へのアンケート調査による評価と脳血流測定を行い、その結果をもとに分析・考察し、個人のリモートワークにおける知的活動を支援する環境デザインの要素について明らかにした。各実験では、成人を対象とした実験協力者 30名に、ウェアラブル光トポグラフィを装着して、1) では色彩と植栽情報の異なる作業環境 (計4パターン) で、2) では異なる音環境 (計4パターン) で、リモートワークによる定型的な情報処理作業を行ってもらい、脳血流計測とアンケート調査を行った。

1) では、「植栽」、「緑」、「ジャングルの風景」「なし」の4つの環境で実験を行った結果、「なし」

の環境は脳血流変化量においては、他の3つの環境よりも劣る結果になった。これにより、空間にフェイクウィンドウ（画像による疑似窓）を映し出すことで脳活動が活発になる傾向が伺えた。課題正答率においては、「植栽」、「ジャングルの風景」は「なし」の環境よりも高かったが、「緑」と比較すると差は微小な結果となった。脳血流変化量と課題正答率で、「植栽」と「ジャングルの風景」で高い結果になった。このことから、「植栽」と「ジャングルの風景」の画像情報のある環境は、知的活動を活性化させる傾向があることがわかった。印象評価アンケート調査結果からは、課題正答率が高かった「ジャングルの風景」と「植栽」の環境は、緑の環境と比較すると、「緑が豊かであり、潤いがある」と感じる傾向が伺えた。「植栽」と「ジャングルの風景」の環境を比較すると、「集中した」「心地よい」「快適な」「はかどる」の項目では、「植栽」が高くなっており、「力強い」「動的な」「やる気が出る」の項目では、「ジャングルの風景」が高い結果となった。このことから、「植栽」の環境は「ジャングルの風景」の環境よりも快適に作業をすることができる可能性があることが示唆された。

2) では、「ボーカルありの音環境」「ボーカル無しの音環境」「ボーカル無しの音楽のテンポを変えた音環境」「音なしの環境」の4つの音環境で実験を行った。その結果、「ボーカルありの音環境」の正答率がほかの3環境と比べて、明らかに劣位な結果であることがわかった。このことから、音楽の言語情報が情報処理作業に妨害効果を及ぼしている傾向が明らかになった。脳の活動においては、「音なしの環境」の状態と比べ、「音環境ありの環境」が活性化はしているとは言えない結果になった。しかし、テンポを速めたところ違いが明らかになったため、テンポやジャンルを変えることで脳活動を活性化させる可能性があることが示唆された。作業空間に関する印象評価アンケートの結果からは、「心地よい」「弛緩した」の2つの項目では、言語情報のない比較的テンポがゆっくりな音環境がふさわしい傾向が見られた。しかし、作業に対しての姿勢という観点で見ると、「はかどった」「やる気が出る」の2つの項目から、言語情報のない比較的テンポの速い音環境がふさわしいことが示唆された。

4. 今後の研究における課題または問題点

1) の研究では、知的活動を活性化させる環境として植栽や色彩に着目し研究を行い、知的活動における画像によるフェイクウィンドウの有効性がある程度導き出された。今後は植栽だけでなく様々な風景の画像や、色彩を使用して、どのような環境が知的活動を活性化させるのか、明らかにしていきたい。

2) の研究では、情報処理活動中の音楽聴取に関して、音楽の有無とテンポの違いに着目し実験を行った。実験では音楽のジャンルでは「ジャズ」に分類される比較的落ち着いた雰囲気音楽を使用した。しかし、音楽のジャンルが違ふとまた違ふ結果になる可能性もあり、今後は、音楽のジャンルの違いによる影響にも着目して、研究を行っていきたい。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

This research focused on 1) an environment that supports individual intellectual activities (information processing) for adults with fake window (colors and planting information) and 2) an environment that supports individual intellectual activities (information processing) for adults with/without sounds. Therefore, this research conducted two experiments. Both experiments focused on information processing tasks, which are expected to improve intellectual productivity, and included evaluations through questionnaire surveys of 30 experiment participants and measurements of cerebral blood flow.

In 1), the experiment was conducted in four environments: “planted”, “green”, “jungle landscape”, and “none” . As a result, the "none" environment was inferior to the other three environments in terms of the amount of change in cerebral blood flow.

The results showed that brain activity tends to increase when a fake window (a pseudo-image window) is projected into a space. In terms of changes in cerebral blood flow and correct response rates, the results for “Planting” and “Jungle Landscape” were high. It was found that there is a tendency to activate intellectual activities with the fake window environment using images of “planting” and “Jungle Landscape” . The results of the impression evaluation survey showed that the environments of “jungle landscape” and “planting”, which had a high rate of correct answers, tended to be perceived as “richer and more moist” than green environments.

Comparing the environments of “Plants” and “Jungle Landscape” , “Plants” ranked higher in terms of “Concentrated” , “Comfortable” , and “Facilitating” . On the other hand, in the categories of “powerful” , “dynamic” and “motivating” , “Jungle Landscape” received high results. From this, it is thought that the environment of “planting” may be more comfortable to work in than the environment of “jungle landscape” .

In 2), the experiment was conducted in four sound environments: “sound environment with vocals”, “sound environment without vocals”, “sound environment without vocals with a different tempo of music”, and “environment without sound”. The results showed that the correct answer rate for the “sound environment with vocals” was clearly lower than the other three environments. These results revealed that the linguistic information in music tends to have an interfering effect on information processing tasks. In cerebral blood flow measurements, the results showed that the “environment with sound environment” was not more active than the “environment with no sound” condition. However, when the tempo was sped up, a difference became apparent, suggesting that changing the tempo of music may activate brain activity.

図式力学的観点に基づく建築曲面設計手法の開発に向けた離散曲面論の展開

Development of discrete surface theory for the architectural surface design based on the graphic statics

研究代表者 軸丸 芳揮 (情報連携学部 情報連携学科)

I) 研究期間 / 2023年4月1日～2024年3月15日

II) キーワード / ①離散微分幾何学 Discrete differential geometry

②建築曲面設計 Architectural surface design

③膜構造 Membrane structures

④トラス構造 Truss structures

⑤図式力学 Graphic statics

III) 2023年度交付額 / 455,000円

IV) 研究発表 / 学会および口頭発表

[1] 曲面の幾何学における最近の展開 / 2023年度日本建築学会大会 構造部門 (シェル・空間構造) PD, ハイブリッド開催, 2023年6月.

[2] Discrete isothermic surfaces in architectural surface design, The 4th Taiwan-Japan Joint Conference on Differential Geometry, 国立台湾大学, 2023年11月.

[3] 構造設計に動機づけられた可積分離散正則関数における変分原理の構築, 日本応用数理学会 第20回 研究部会連合発表会 2024年3月.

[4] (発表論文) K. Hayashi, Y. Jikumaru, Y. Yokosuka, et. al, Parametric generation of optimal structures through discrete exponential functions: unveiling connections between structural optimality and discrete isothermicity, *Struct. Multidisc. Optim.* **67**,41(2024). <https://doi.org/10.1007/s00158-024-03767-1>

[5] (発表予定, 仮題) Y. Yokosuka, Y. Jikumaru, et al., Structural form-finding based on discrete differential geometry in equilibrium of pure shear and pure compression, in preparation.

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

本研究課題では、建築構造設計における「力学的特性・施工性・美的性」などが共存する新しい建築デザインのための形状生成手法の展開を目指した。特に離散的な膜曲面あるいはトラス構造に焦点を当て、「図式力学」と呼ばれる考え方を基本として、構造設計と数学、特に離散微分幾何学と呼ばれる分野との連携を図った。

所定の荷重条件に対し、構造物に使用される材料の力学性能を十分に活かすためには、力の分布および形状の幾何学 (シェル理論・膜理論) に立脚した議論を要し、これらは数学と密接に関わる長い歴史をもつ。ところが現代の我が国では、計算機の台頭によって失われた知見となっている。したがって本研究における思想は、構造設計と数学の連携を現代的な形式で蘇らせ、互いの分野における研究の深化を目指したものである。

2. 研究方法

Maxwell (1864) により提唱された「図式力学」の考えに基づくと、ある構造物を「形状図式」とみなすとき、その構造に作用する力の流れを示す「釣り合い図式」が得られる。これにより構造物に作用する力やモーメントを図形的（幾何学的）な情報によって理解することができる。

このような「形状図式と釣り合い図式」を「離散曲面の変換理論」とみなすというアプローチに基づき、近年数学において活発に研究が進められている「離散微分幾何学」の概念や手法を適用する。以上により、構造物に望まれる力学的特性を幾何学的条件に「パッケージ」することで、「幾何学的不変性が力学的不変性と解釈される」ことを通じて、形状生成手法へアプローチしようとするのが本研究における基本的な戦略である。

3. 研究経過および成果の概要

以上の戦略を具体的に実践するためのモデルとして、構造分野で古典的に知られる Michell-Prager 型のトラス構造 (Michell, 1904, Prager, 1978) に関する成果が得られた。より詳細には下記の通りである：

- a) Michell-Prager 型トラス構造は外力に対し引張材と圧縮材が混合した形で現れるが、この構造の釣り合い条件は、トラスそのものではなく、トラス構造を対角線にもつ仮想的な四辺形メッシュを導入することが有効であることが明らかとなった。
- b) 上記の仮想的な四辺形メッシュは、釣り合い状態では「離散等温曲率線網 (discrete isothermic net)」と呼ばれる、離散微分幾何でよく知られている対象として解釈できることが示された。ここに現れた釣り合い条件と幾何学的条件との対応は、数学ではすでに Schief (2014) において発見されていた事実であったが、トラス構造の文脈で Schief の結果を位置づけた研究は他にみられない。
- c) この視点によって、古典的に知られるあらゆる離散等温曲率線網から、同様の性質をもつトラスを生成できることが明らかとなった。
- d) 現段階では限定的状況に限るが、釣り合いを満たす形状をより明示的に（解析的に）与えられる手法となっている。すなわち、外力及び反力を境界条件とする釣り合い図式を生成し、図式力学によって形状生成を行うという手法である。これは、離散微分幾何の知見が必要であり、通常行われている境界条件に対して最適化を行う形状生成手法とは全く異なるアプローチを与える。
- e) さらに離散等温曲率線網が「Moebius 変換の下で不変性」であることから、力学特性が Moebius 変換で保存され、一つの釣り合い形状から多様な形状を提案することが可能となっている。
- f) また古典的に知られる離散等温曲率線網の例を、以上の文脈で再解釈することで「離散対数型美的曲線 (J. Inoguchi, Y. Jikumaru, et al., 2023)」からなるトラス構造が得られた。これらは「力学特性・施工性・美的性」の連携が見られる研究成果となっている。

以上の内容は建築の構造設計分野、および数学の離散微分幾何の分野との連携を実現した成果の一端であり、上述の内容は[1], [2]において口頭発表を行い、[4]において公表されている。

4. 今後の研究における課題または問題点

上述の c), d)において、具体例の生成は（数学の問題としても）非常に複雑であり、また境界条件に対して支配方程式が敏感であるという特性が「限定的状況に限る」と報告した理由である。さら

に本研究で得られた知見を，別の荷重条件を満たす場合のトラス，グリッドシェル，あるいは（離散）膜構造へ広げ，力学特性と施工性を担保する幅広い構造設計手法への展開を目論んでいる。

ただし以上の課題・問題点は，解決に時間を要することが予想されるため，本研究に関連する（比較的短期間で解決が見込まれる）下記のような内容について引き続き共同研究を進めている：

- ・釣り合い条件と構造設計における知見を組み合わせ，少なくとも数学的には，Michell-Prager 型トラス構造の変分原理による統制が可能であることを示した。これは構造設計に見出される数学という成果であり「数学を応用する」だけではない分野間連携の事例を与える。以上の変分原理については，応用数学会にて発表を行った（口頭発表 [3]）。

また圧縮力が作用する場合の形状生成への応用についても研究を進めており，以下のような知見が明らかになりつつある：

- ・サークルパッキングを利用した釣り合い図式および形状図式の統制，および S-isothermic 網 (Bobenko-Hoffmann-Springborn, 2006) のトラス構造への活用。

- ・変分原理には，CAD 分野で著名な Pinkall-Pothier (1993) らによる \cotan 公式の活用。

以上の内容は，数値解析事例について課題が残っているが，現在論文 [5] にまとめており，2024 年度内の公表を予定している。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

The aim of this study is to focus on discrete shell membrane or truss structures, and to propose a desirable shape generation method to maximize material properties for a given load, based on the method called “graphic statics”. Based on the idea proposed by Maxwell (1864), for a structure in equilibrium, we have the “form diagram” and “force diagram”. Our strategy is to regard such objects as “transformation of discrete surfaces” and apply the method in discrete differential geometry. In this study, we investigated the relation between Michell-Prager type structures and discrete isothermic nets as a “nice” example, we have the following results:

- (a) A Michell-Prager type structure, which is a structure consisting of a tensile and compressive members for a given load, can be regarded as a net obtained by the diagonals of a discrete isothermic net (a special class of quadrilateral meshes).
- (b) In general, the mechanical properties of discrete isothermic nets are already investigated by Schief (2014), however, it was the first achievement to place the result of Schief in the context of truss structures.
- (c) The Moebius invariance of discrete isothermic nets can be applied to generate various shapes with the same mechanical properties.
- (d) A truss structure obtained from a classical example gives a truss consisting of discrete log-aesthetic curves (J. Inoguchi, Y. Jikumaru, et al., 2023), which coexists mechanical properties, constructability and “aestheticity” and gives an example of how mathematics and structural mechanics work together.

The above-stated results are shown in the paper [4].

We aim to extend our geometric shape generation methods to other types of trusses, grid-shells or (discrete) shell membrane structures with “nice” mechanical properties and constructability.

However, since solving problems in a general setting takes time, we are continuing our joint research on the following issues (which may be solved in a relatively short time):

- A variational principle for the Michell-Prager type structures, which is an achievement of mathematics found in structural design, and provides an example of interdisciplinary collaboration that goes beyond applying mathematics. The results were presented at JSIAM 2023 [3].

In addition, we are also studying its application to shape generation in the case of compressive forces, and the following findings are revealed:

- Controlling method of the form and force diagrams in graphic statics using the theory of circle packings and S-isothermic nets (Bobenko-Hoffmann-Springborn, 2006).

- A variational principle can be related to the cotangent formula (Pinkall-Polthier, 1993), which occupy a prominent position in CAD.

The above-stated results are currently being compiled into a paper [5], which is scheduled for publication by the end of FY2024, although there are still issues to be addressed regarding the numerical analysis cases.

中国農村寄宿制学校における農村留守児童の居場所づくりに関する研究

Research on creating a place for rural absentee children in rural boarding schools in China

研究代表者 麗麗(福祉社会デザイン学部子ども支援学科)

I) 研究期間／2023年4月1日～2024年2月15日

II) キーワード／①農村留守児童

②農村寄宿制学校

③子どもの権利

④居場所

III) 2023年度交付額／ 1,026,000円

IV) 研究発表／学会および口頭発表

・未発表。2024年度の日本社会福祉学会、関東部会にて発表の予定

・子どもの権利研究会などに論文投稿の予定

V) 研究経過および成果の概要（日本語 2000字程度）

1. イントロダクション

近年、中国では流動人口により、子どもがおかれている状況も大きく変化し、流動人口の子どもの人口が約1.38億人となっており、農村留守児童は4177万人であった。¹ 中国国内における農村留守児童を対象とした研究では、農村留守児童問題とその家庭に焦点を当てた物品配布などの経済的救済施策や教育分野に関する研究が多くなされているが、農村留守児童の立場から考えた家庭が抱える課題の解決に向けた研究がなされていない。また、そのことの解決に向けた子ども支援の方法や保護者などへの子育て支援に関する社会福祉制度や支援の取り組みに関する研究はほとんど行われていない。近年、中国の子ども支援の実践検討に際しても、子どもの権利の視点が重視されるようになってきた。そのため、本研究の目的は、農村留守児童自身の参加による学校や家庭での暮らしや支援の実態を明らかにしたうえで、支援のあり方について研究を進めることである。

2. 研究方法

本研究では、日本と中国国内の文献資料と新聞データベースなどを活用して、情報収集を行い、子どもの居場所、子どもの意見表明・参加に関する概念の枠組みを整理し、その重要性を検討した。また、日本における子どもの権利条約の具体化と子どもの居場所支援を行なっている自治体や地域の取り組みの視察と中国の民族地域の農村留守児童に関わる行政や学校などの現地視察によって情報収集を行い、子どもが参加・意見表明できる機会を提供の環境整備について検討した。

3. 研究経過および成果の概要

本研究は、日本における子どもの権利条約の具体化を実践している現場を視察し、子どもらしく過ごせる子どもの居場所について検討する中で、子どもの集団生活である学童クラブにおける子どもの意見表明や子ども主体の保育をどのように支えるかといった場合、子どもの「声」に耳を傾ける大人がいること、信頼できる大人が子どもの「声」を反映させた形が子どもに求められている。こ

¹ 新公民計画「2020年中国児童人口状況 事実とデータ」より

のようなことが中国における農村寄宿制学校に暮らすすべての子どもたちにも必要だと考えられるし、とくに、農村留守児童への支援にもっとも必要ではないかと考えられる。しかし、中国国内における民族教育政策の変動によって、農村寄宿制学校への調査が難航となったため、教育政策の変動が視察対象地域や農村地域の子どもたちの暮らしへの影響について、現地視察で明らかになった。また、民族地域における農村留守児童の現状に関する情報収集の結果として、次の通りである。まず、少子高齢化と都市化が進むなか、両親と同居できない子どもは全国の子ども人口の 36.4% であり、流動児童、農村留守児童、城鎮留守児童の人数が年々増加している。また、民族教育政策の大きな変更がその地域の子どもたちの学校生活が「移行期」であるため、農村留守児童にとっての居場所である農村寄宿制学校にも不安を感じる場所となったことがわかった。さらに、現在、中国国内では「家庭教育を重視する」をスローガンとしている学校教育の現場、子どもを援助する現場の状況と課題について、学校が指す「家庭教育」とは何か、家庭教育を誰が実施するか、なぜ家庭教育を重視する必要性に関して、学校と家庭が担う役割に変化が起き、学校でやっていたことを家族と一緒にやるとの決まりが家庭にとっては重大な負担となっている。子どもが子どもらしく暮らせるために、子どもの意見表明・参加を学校と保護者や家族に反映させ、子どもにとって学校と家庭はどのような居場所であるかについて検討する必要がある。とくに、農村地域における母親が抱えている課題について、歴史的な概観から教育は「家庭から学校」に発展したが、農村留守児童問題の解決は「学校と家庭」の連携の重要性を現場の大人に確認する必要がある。

4. 今後の研究における課題または問題点

本研究では、上記のようなことを踏まえて、現在農村地域の暮らす親が身近にいない、出稼ぎのみならず、学校の寄宿舎に暮らす農村の子どもたちに対する家庭教育をどのように進め方とその評価について検討すべきところ、農村留守児童の支援は教育の枠組みを超えて、心理的指導のみならず、現在の援助仕組みでは子どもに寄り添うことに限界を感じる学校現場では、農村留守児童の居場所づくりを再度検討する必要がある、調査地域の農村寄宿制学校としっかり検討することが課題である。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

In recent years, the situation of children in China has changed dramatically due to the influence of the liquid population, with a population of approximately 138 million children in the liquid population and 41.77 million rural unattended children. In studies on rural unattended children in China, there have been many studies on economic relief measures such as the distribution of goods and the education sector focusing on the problem of rural unattended children and their families, but there have been no studies aimed at solving the problems faced by families from the standpoint of rural unattended children. In addition, little research has been conducted on child support methods for resolving this, or on social welfare systems and support initiatives for parenting support for parents and others. In recent years, the perspective of children's rights has also been emphasised when examining the practice of child support in China. Therefore, the purpose of this study is to clarify the actual situation of life and support at school and at home with the participation of the rural absentee children themselves, and then to conduct research on the nature of support.

新規ミエロイド系免疫抑制細胞を標的とした

動脈硬化症を制御する機能分子の解明

Functional molecules that regulate atherosclerosis by targeting novel myeloid immunosuppressor cells

研究代表者 岩澤 卓弥(ライフイノベーション研究所)

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年3月15日

II) キーワード/①ミエロイド系免疫抑制細胞 Myeloid-derived suppressor cells (MDSCs)

②アテローム性動脈硬化症 Atherosclerosis

③がん微小環境 Tumor microenvironment

④炎症 Inflammation

⑤分子抗原群 Cluster of differentiation

III) 2023年度交付額/1,120,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

ミエロイド系免疫抑制細胞(MDSCs)は、初期の骨髄前駆細胞と未熟な骨髄細胞から構成される不均一な細胞集団を形成し、様々な炎症性疾患において炎症誘発性免疫細胞を強力に抑制する。これまで申請者は、ピロリ菌感染から発症する胃がんの進行度に特異的な MDSC のサブポピュレーションを同定しており、同様な局所慢性炎症から引き起こるアテローム性動脈硬化症においても炎症部位の特徴に関与した MDSC が存在すると考えている。本研究では、動脈硬化の発症及び治療時に血中に増加する MDSC の新規サブポピュレーションを探索し、発症および治療に関与する機能分子を明らかにすることでアテローム性動脈硬化症の早期発見及び新規治療法確立に応用が期待される。

2. 研究方法

本研究戦略として、アテローム性動脈硬化症は、臨床現場において初期ステージの検体や進行度ごとに検体採取をすることが困難であるため、MDSCs にヒトと共通の機能分子を発現することが知られており、MDSC を定義するマーカー(CD11b, Ly6C, Ly6G)がヒトよりも明らかになっているマウス動物モデルを用いる。

① C57BL/6 マウスに高脂肪食を与える動脈硬化発症動物モデルの末梢血・骨髄・脾臓・動脈硬化巣からセルソーターを用いて MDSC を 4 週間隔で回収し、RNA を抽出して次世代シーケンサーを用いて RNA-Seq により新規サブポピュレーションの候補分子を絞り込む。

② RNA-Seq の結果から得られた候補機能分子を FACS で検出する抗体の組み合わせと測定系を確立する。

③ 動脈硬化発症動物モデルで FACS 測定系の評価を行う。

- ④ FACS 測定系からより多く変動する新規サブポピュレーションの MDSC をセルソーターで回収し、免疫抑制能、遊走能、脂質代謝能を評価する。
- ⑤ 高脂血症治療薬(スタチン)、植物由来機能成分等を投与した際の変動を評価する。

3. 研究経過および成果の概要

MDSC は非常に繊細な細胞であるため、ソーティング条件のバリデーションを行い、RNA 抽出から RNA-Seq の測定系を樹立した(①)。マウスの全血・骨髄より、CD11b・Ly6C・Ly6G を用いた FACS での測定系を樹立して、機能分子として MDSC 上に発現する各種ケモカインレセプターや CD36、CD84 の評価を実施した(②)。また、LAG-3(CD223)を発現する新たな MDSC のサブセットを発見したため、第 82 回日本癌学会学術総会にて成果発表を実施した。マウスはアテローム性動脈硬化症を発症しにくいいため、動脈硬化発症動物モデルとして最適な飼料の作製と摂食予備実験を実施した(①)。予備実験では、オリエンタル酵母工業の F2WTD 飼料のコレステロール含有量を 0.15%から 1.5%へ変更し、0.5%のコール酸を添加して固形化した改変飼料を用いることで、通常食 CE2(日本クレア)のマウスに対して 1 ヶ月で 10%も体重増加を誘導することができた。動脈硬化症の発症タイミングを検討中である。

4. 今後の研究における課題または問題点

動物実験施設の稼働が半年近く遅れてしまったため、当初予定していた本研究の根幹となるタイムコースごとの RNA-Seq を実施できなかったため、次年度に本研究の発展研究である科研費研究にて実施を予定している。また、野生型のマウスはアテローム性動脈硬化症を発症しづらく、動脈硬化巣も小さいため、MDSC の変動はわずかである。そこで、よりアテローム性動脈硬化症を誘導しやすい LDLr KO マウスなど遺伝子改変マウスを用いる必要がある。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

MDSCs form a heterogeneous cell population composed of early myeloid progenitor cells and immature bone marrow cells that potently suppress inflammation-induced immune cells in a variety of inflammatory diseases. The the research representative has previously identified a subpopulation of MDSCs that are specific to the progression of gastric cancer that develops from H. pylori infection and has speculated that MDSCs involved in the characteristics of inflammatory sites may also exist in atherosclerosis caused by similar local chronic inflammation. In this study, we will search for novel subpopulations of MDSCs that increase in blood at the onset of atherosclerosis and during treatment, and by identifying functional molecules involved in the onset and treatment of atherosclerosis, we expect to apply our findings to the early detection and establishment of new treatment methods for atherosclerosis. Since MDSCs are very sensitive cells, we validated the sorting conditions and established an RNA-Seq measurement system from RNA extraction. From mouse whole blood and bone marrow, we established a FACS measurement system using CD11b, Ly6C, and Ly6G, and evaluated various chemokine receptors, CD36, and CD84 expressed on MDSCs as functional molecules. Since mice are less likely to develop atherosclerosis, we conducted a preliminary feeding experiment and created an optimal diet as an animal model for the development of

atherosclerosis. In preliminary experiments, the cholesterol content of the F2WTD diet was changed from 0.15% to 1.5%, and a modified diet in which 0.5% cholic acid was added to solidify the diet was used to induce a 10% body weight gain in one month for mice on the normal diet CE2. The timing of the onset of atherosclerosis is under investigation. If we can identify new subpopulations of MDSCs that increase in blood during the onset and treatment of atherosclerosis and identify functional molecules involved in the onset and treatment, we can not only use them as biomarkers in diagnosis, but also establish a screening system for drug discovery that targets these newly identified molecules. If we can identify novel subpopulations of MDSCs and identify functional molecules involved in the pathogenesis and treatment of MDSCs, we can not only use them as biomarkers for diagnosis, but also establish a screening system for drug discovery targeting these newly identified molecules and develop research that will form the basis of unmet medical needs in the development of drugs and supplements for atherosclerosis.

直接酸化法による可視光応答型光触媒薄膜の作製 とその光触媒活性に関する研究

Fabrication of visible-light-responsive photocatalytic thin films by direct oxidation and their photocatalytic activity

研究代表者 関 蘇軍(学際・融合科学研究科)

I) 研究期間/2023年6月30日~2023年7月31日

II) キーワード/①直接酸化 direct oxidation
②炭化チタン TiC
③ヘテロ構造 heterostructure
④可視光応答 visible-light-responsive
⑤光触媒活性 photocatalytic activity

III) 2023年度交付額/938,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

1. 国際会議予定: Sujun Guan, Creation of core-shell TiC-TiO₂ nanoparticles for visible-NIR-driven photocatalysis, Catalysis and Chemical Engineering, February 26-28, 2024 | Boston, MA
2. 投稿予定: Sujun Guan, et al., "Fabrication and characterization of core-shell TiC-TiO₂ nanoparticles and their visible-NIR-driven photocatalyst activity"

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

「新型コロナウイルス」により意識が変わったニューノーマルの世界では、公衆衛生への懸念は今後数年間も高いままとなる。光触媒反応によるウイルス粒子への損傷、ウイルスタンパク質の分解が確認され、これらの反応を通じて、ウイルスが光触媒反応によって不活化されることが始めて明らかとなった [1]。よって、ウイルス不活化に有効な技術を開発し適格に検証することが強く求められている。

酸化チタンは、代表的な光触媒として化学的に安定、優れた生体適合性を示し、次世代の抗ウイルスに向けた有望な材料と考えられている [2]。不純物をドーピングした酸化チタンは可視光応答化を実現するためによく使用されている。従来の物理蒸着法や化学蒸着法によりドーピングした光触媒の作製では、プロセスが煩雑であり、または大型装置が必要である。したがって、ウイルス不活化効果を有する可視光応答型酸化チタン光触媒の安価な製造が不可欠であるため、本研究では、還元せず直接酸化法による可視光応答型光触媒の作製し、特に簡便・安価・大量生産可能な可視光応答型酸化チタン光触媒の作製とその抗ウイルス効果することが課題となっている。

2. 研究方法

可視光応答型酸化チタン光触媒薄膜の簡便・安価・大量生産することに挑

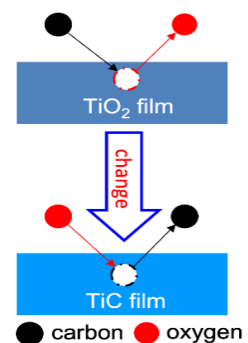


Fig. 1 Reverse thinking of carbon-doped TiO₂.

戦するため、本研究のポイントとしてリバース思考で炭化チタンや窒化チタンの簡便な直接酸化を提案し（図1）、炭化チタン薄膜が炭素粉末中に埋め込み加熱することは炭化チタンの酸化制御が可能である。炭化チタンの酸化程度を制御することで、生成した酸化チタン結晶中の酸素と炭素の比率をコントロールし、酸化チタン@炭化チタンのヘテロ構造を作製できる。こうした構造の電荷移動効果により光触媒活性を強化できると期待される。

上記趣旨を踏まえ、研究期間内で具体的な計画を次のように設定する。

- ✦ 炭素粉末包埋熱処理法を用いて、生成する酸化チタン結晶中の酸素と炭素の比率を制御し、可視光領域に応答可能な酸化チタン光触媒薄膜を作製する。
- ✦ 酸化チタン@炭化チタンのヘテロ構造とその酸化チタンの厚さを制御して、電荷移動効果強化を発現させる。

3. 研究経過および成果の概要

申請者は、炭素粉末包埋熱処理法による還元処理した光触媒薄膜の可視光応答効果を実証した[3-5]。それらの研究結果に基づいて、簡便・安価・大量生産可能な還元せず炭化チタンへの直接酸化法を提案し、可視光応答型酸化チタン@炭化チタンヘテロ構造光触媒を作製する。さらに、可視光応答効果と欠陥状態のメカニズム、炭化チタン表層の酸化程度と電荷移動効果を解明し、酸化チタン@炭化チタンヘテロ構造光触媒を簡便・安価・大量生産可能プロセスで確立したい。

(1) 7月上旬：可視光応答型酸化チタン@炭化チタン光触媒を作製した。これは本研究の基盤となす重要な段階である。まず、炭化チタンの炭素粉末包埋熱処理条件（炭素粉末、熱処理温度）を制御し、いくつかのサンプルを作成した。

(2) 7月中旬：作成したサンプルを調査した。生成した化合物あるいは酸化チタン結晶を確認するため、東洋大学のバイオ・ナノエレクトロニクス研究センター2階である多目的X線回折装置で測定した。同時に、作成したサンプルの粒径とその分布を確認するため、バイオ・ナノエレクトロニクス研究センター1階である走査型電子顕微鏡で観察した。

(3) 7月下旬：酸化チタン@炭化チタンのヘテロ構造とその光触媒活性化の強化を確認した。まず、酸化チタン@炭化チタンのヘテロ構造を確認するため、早稲田大学の各務記念材料技術研究所で紫外可視分光光度計を測定した。また、井上記念研究助成金により購入した光電比色計を用いて光触媒活性化（可視光照射によるメチレンブルーの分解）を測定した。（国際発表予定、論文を準備中）

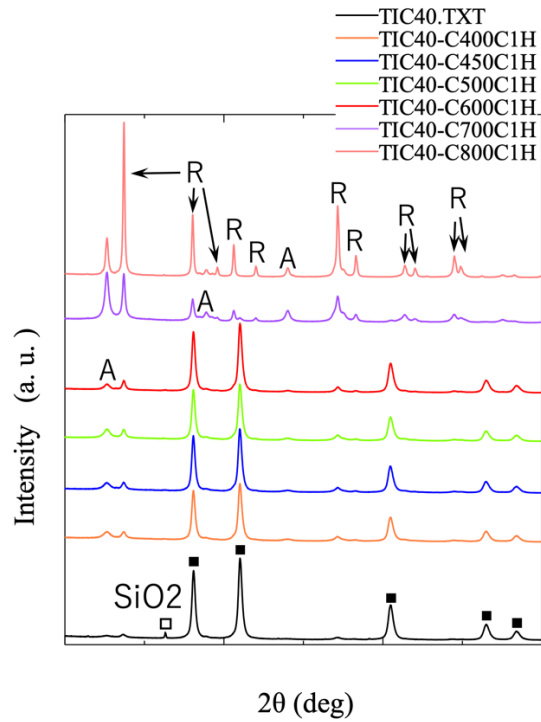


Fig. 2 XRD patterns of the samples.

図2から見ると、400度以上で熱処理すると、酸化チタンの生成したことがわかった。温度上げると、アナターゼからルチルへ変更する。700度以上になると、炭化チタンがほとんど消えてしまい、ルチルがメインになっている。ですので、700度以下で熱処理すると、酸化チタン@炭化チタンヘテロ構造をできていると考えられる。

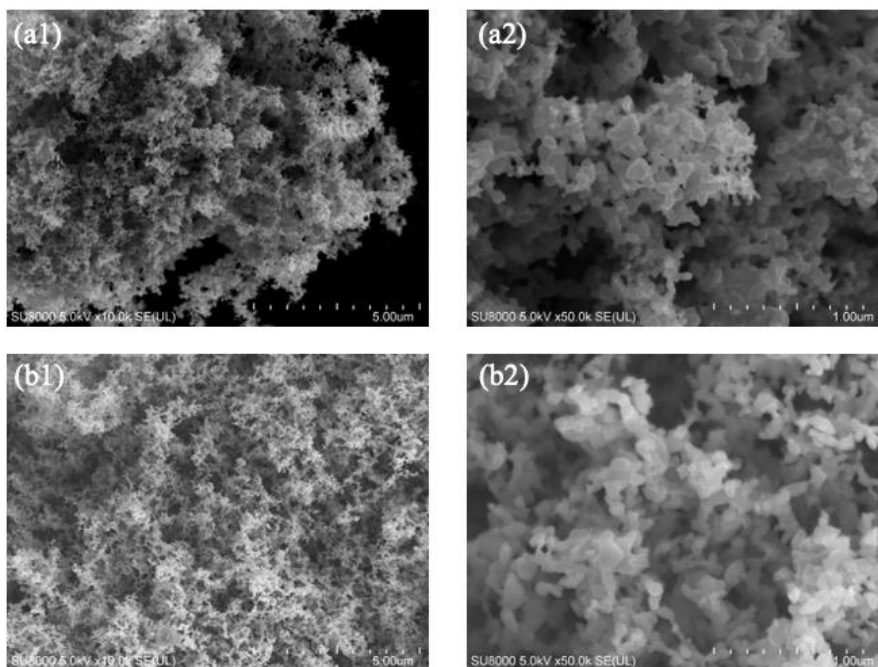


Fig. 3 SEM patterns of the samples. (a) TiC, (b) TiC-cHT400°C1h.

図3から見ると、作成したサンプルの粒径とその分布などにはあまり変化がない。今後には透過電子顕微鏡で観察を検討する。

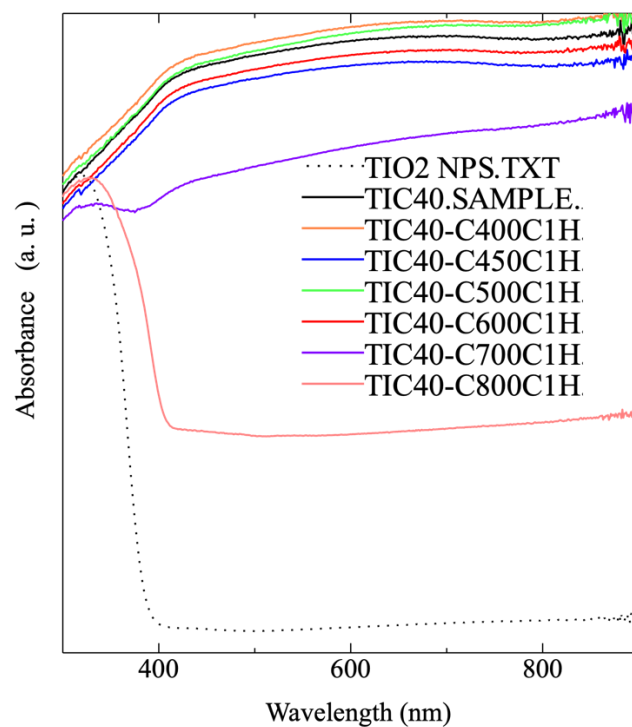


Fig. 4 UV-vis absorption spectra of the samples.

図4から見ると、作成したサンプルの光吸収により、700度以下場合、酸化チタン@炭化チタンヘテロ構造をできていると考えられる。

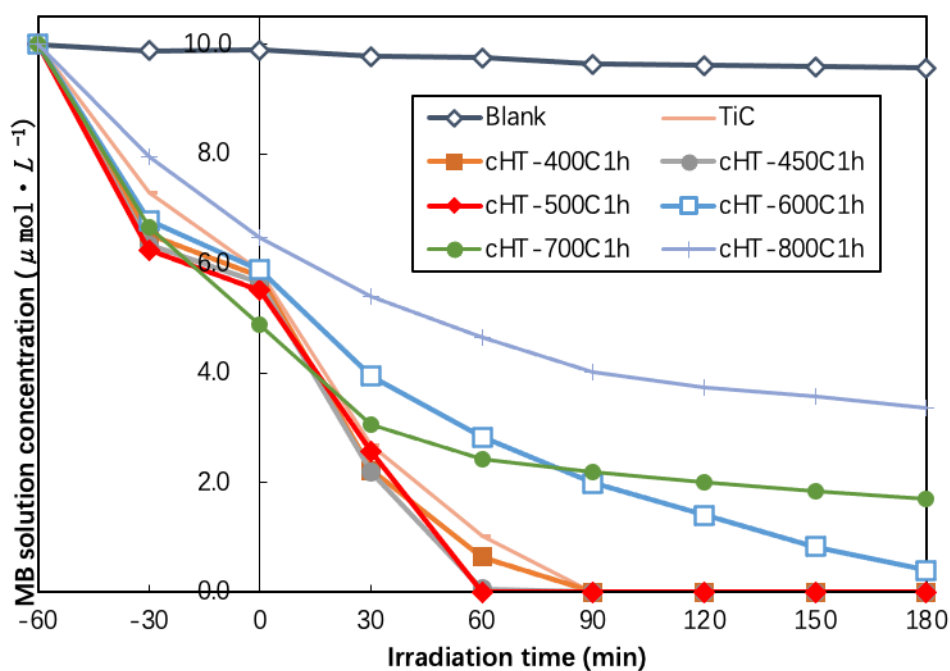


Fig. 5 Photocatalytic activity of the samples towards MB solution under visible light.

図5から見ると、メチレンブルーの濃度を急速に下げている。しかし、炭化チタンのみ場合でも、濃度を急速に下げているので、炭化チタンの吸収が強いことを示唆する。600度になると、濃度を緩やかな減少し、これは吸収と分解効果だと考えられる。

ですので、今回の熱処理時間には1時間だけ、炭化チタン表層の酸化が足りないと考え、光触媒の分解効果により炭化チタンの吸収影響がかなり大きくて、炭化チタン表層の酸化程度などを続けて調べる必要がある。

4. 今後の研究における課題または問題点

このたび、勝手ながら七月三十一日をもって退職により、研究時間が不足なので、下記の通り今後の研究における課題がある。

- a) 炭素粉末包埋熱処理条件について、炭素粉末のサイズとその添加量、まだ熱処理温度あるいは熱処理雰囲気にも検討必要である。
- b) 測定について、作成したサンプルの粒径とその分布に対して走査型電子顕微鏡での観察が足りないので、透過電子顕微鏡で観察が必要である。
- c) 炭化チタン表層の酸化程度と電荷移動効果を解明するため、全ての作成したサンプルには、X線光電子分光装置で測定必要である。
- d) 光触媒活性化については、可視光照射によるメチレンブルーとローダミン b など染料の分解実験も必要である。
- e) 炭化チタン表層の酸化程度だけではなく、まだ窒化チタンなどにも研究必要がある。

[1] Inactivation of various variant types of SARS-CoV-2 by indoor-light-sensitive TiO₂-based photocatalyst, R. Nakano, A. Yamaguchi, K. Sunada, et al., *Sci. Rep.*, 12, 5804 (2022).

[2] Mini review of TiO₂-based multifunctional nanocomposites for near-infrared light-responsive phototherapy, M. Wang, Z. Hou, A. Kheraif et al., *Advanced Healthcare Materials*, 7, 1800351 (2018).

[3] Fabrication of oxygen-deficient TiO₂ coatings with nano-fiber morphology for visible-light photocatalysis, Sujun Guan, Liang Hao, Yun Lu*, Hiroyuki Yoshida, Fusheng Pan, Hiroshi Asanuma, *Materials Science in Semiconductor Processing*, 41, 358-363 (2016).

[4] Enhanced photocatalytic activity of photocatalyst coatings by heat treatment in carbon atmosphere, S. Guan, L. Hao, H. Yoshida et al., *Materials Letters*, 167, 43-46 (2016).

[5] Significantly enhanced photocatalytic activity of TiO₂/TiC coatings under visible light, Sujun Guan*, Liang Hao, Yaqiang Yang, Hiroyuki Yoshida, Xinwei Zhao, Yun Lu*, *Journal of Solid State Electrochemistry*, 25, 603-609 (2021).

VI) Summary (英語 400 単語程度)

The applicant demonstrated the visible light response effect of the photocatalyst thin film reduced by the carbon powder embedding heat treatment method [3-5]. Based on these research results, we propose a simple, inexpensive, and mass-producible method for direct oxidation to titanium carbide without reduction and fabricate visible-light-responsive titanium oxide @ titanium carbide heterostructure photocatalysts. Furthermore, we would like to elucidate the mechanism of the visible light response effect and defect state, the degree of oxidation of the titanium carbide surface layer and the charge transfer effect and establish a titanium oxide @ titanium carbide heterostructure photocatalyst with a simple, inexpensive,

and mass-producible process.

(1) Early July: Visible light responsive titanium oxide @ titanium carbide photocatalyst was fabricated. This is an important step that forms the basis of this research. First, the carbon powder embedding heat treatment conditions (carbon powder, heat treatment temperature) of titanium carbide were controlled to prepare several samples.

(2) Mid-July: Investigated the prepared samples. In order to confirm the produced compounds or titanium oxide crystals, measurements were taken with a multi-purpose X-ray diffractometer on the second floor of the Bio-Nanoelectronics Research Center at Toyo University. At the same time, in order to confirm the particle size and distribution of the prepared sample, it was observed with a scanning electron microscope on the first floor of the Bio-Nanoelectronics Research Center.

(3) Late July: The heterostructure of titanium oxide @ titanium carbide and its enhanced photocatalytic activation were confirmed. First, in order to confirm the heterostructure of titanium oxide and titanium carbide, measurements were performed with an ultraviolet-visible spectrophotometer at the Kagami Memorial Institute of Materials Technology, Waseda University. Photocatalyst activation (decomposition of methylene blue by visible light irradiation) was also measured using a photoelectric colorimeter purchased with the Inoue Memorial Research Grant. (Scheduled for international presentation, paper in preparation)

From the XRD and UV-vis results, the TiO₂/TiC heterojunction successfully form, when the temperature is lower 700°C for 1 h. However, in the case of titanium carbide alone, the concentration of methylene blue still rapidly decreased, which hints that TiC behaves a strong absorption. At 600 degrees, the concentration gradually decreased, which is considered to an absorption and decomposition effect. Therefore, the oxidation of the surface layer of TiC is considered to an insufficient for only 1 hour during the heat treatment, and the absorption effect of TiC due to the decomposition effect of the photocatalyst is quite large. It is necessary to continue to investigate the degree of oxidation of the surface layer of titanium carbide.

Q 方法論による公務員の職種・国別仕事観の探索と実証研究へのアプローチ

研究代表者 箕輪 允智(法学部企業法学科)

研究分担者 林 嶺那(法政大学法学部政治学科)

研究分担者 深谷 健(津田塾大学学部総合政策学科)

I) 研究期間/2023年6月30日~2024年3月15日

II) キーワード/①Q 方法論

②地方公務員

③国際比較

④国家公務員

⑤主観性

III) 2023年度交付額/ 1,400,000 円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

(口頭発表)

Masatoshi, Minowa (2023) Elucidating the work perspectives of local government officials using the Q methodology. EGPA Conference Zagreb 2023 study group III, Session 1: Street-level bureaucrats and HRM in local government.

Masatoshi, Minowa, Karl, O'connor (2023) Ethics: the potential difference between Service Motivation versus Public Service Motivation. International Society for the Scientific Study of Subjectivity (ISSSS) 39th Annual Q Conference in Belfast.

Masatoshi, Minowa, Reona Hayashi, Takeshi Fukaya, Shigeo Nakajima, Shizuka Kajiwara (2023) Public officials' perspectives on their work: with comparisons to the private sector employee. International Society for the Scientific Study of Subjectivity (ISSSS) 39th Annual Q Conference in Belfast.

Masatoshi, Minowa (2023) Public Service Practitioners' Work Perspectives in Post-NPM; An Exploratory; Comparative Study on the Holistic Subjectivity of Street-level Bureaucrats in City-level; Outsourced Public Service Practitioners; Private Sector Frontline Workers Using;Q Methodology. The 2023 AAPA Annual Conference.

Masatoshi Minowa (2024) Work perspectives of local government officials in metropolis cities: from a survey of local government officials in London and Tokyo using the Q methodology.74th PSA Annual International Conference 2024 in Glasgow.

その他、2024年EGPAで発表申し込み済み

(論文)

箕輪允智(2023)「都市公務員の仕事観: Q方法論による主観性の探索的分析」『自治総研』(537),1-28.

箕輪允智(2023)「都道府県職員の仕事に関する考え方: Q方法論による主観性の解明と都市公務員との比較考察から」『自治総研』(540),1-34.

箕輪允智(2023)「行政学者・政治学者の主観的公共倫理観: Q方法論を用いた公共倫理観パイロット調査より」『東洋法学』67(2),1-62

その他、国際学術誌に3本投稿

(図書)

大森彌編(2024)『自治体の係長マネジメント:上司・部下関係を実証分析で読み解く』勁草書房

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

本研究は、日本学術振興会、科学研究費助成事業、基盤研究(C)「Q方法論を用いた公務員の仕事観の総合的解明(20K01485)」の発展的研究という位置づけで、公務員の職種・国別仕事観の探索と実証研究に向けた検討を行うものであった。そのため、これまでの研究で取得していたデータを国際的な場で発表しつつ、さらに、英語翻訳したQ方法論で用いる一連の記述(これをQセットあるいはQコンコースと呼ぶ)と同じ調査項目を用い、日本以外の国での調査や、日本の公務員もこれまで取得できていなかった種類のデータを取得し、さらには実証研究につなげるための検討を行うことが目的であった。

2. 研究方法

基本的に人間の主観的性を項目毎ではなく、人間総体の世界観として分析することのできる心理学由来の手法であるQ方法論を用いている。Q方法論においては、事前に把握したい主観的価値認識に関する一連の記述を作成する。本研究はOrganizational Culture Profileの議論で用いられた記述を活用し、日本の公務員あるいは、民間企業の従業員でも仕事に関する価値認識を表出することができるQセットを研究開始前に作成していた。このQ方法論は事前に調査設計者がQセットの記述の数に応じて、-5から+5に優先順位を付けることができる配置表を作成した。これは、最も優先度の低い値と高い値(今回の場合は-5と+5)に配置できる数が最も少なく、中立である0に配置できる数が最も多くなる準正規分布の形に設定するのがこの方法論で一般的に用いられている。調査参加者は調査設計者の指示に倣い、事前に示された記述を自身の価値認識に基づいて配置してもらう。それぞれの記述には番号が付けられており、調査参加者の価値観に基づく優先順位により配置したデータは一定の分量が集まることで分析可能な数量データとなる。これにより、人間の価値認識が統計的処理を施すことができるようになるのである。本研究ではそのデータを因子分析し、幾つかのファクターを示すことで、調査参加者の主観的考え方を幾つかの類型として示すことができるようになるのである。

このような方法論のもとで、研究開始前に、都道府県の職員内部管理部門職員・カスタマーサービスやイベント関係に携わる職員、市レベルの職員内部管理部門職員・カスタマーサービスやイベント関係に携わる職員、民間企業の管理部門職員、営業部門職員、介護士・介護実施者に対して行ったQ方法論調査のデータも事前に有していた。さらに、ロンドンの基礎的自治体であるバラ職員のデータ、また、政治学者・行政学者の倫理観に関する異なるQセットを用いたデータを本研究の資金を利用して入手した。

本研究の研究機関においては、事前に有していたデータを学会発表や論文の成果としてアウトプットしていった。幸い、研究代表者はこの研究機関の大部分を海外特別研究員として授業や学内行政が免除されていたことから、以下のように多数の学会発表や論文として成果を示すことができた。

3. 研究経過および成果の概要

本研究助成を利用できたことで、European Group of Public Administration(EGPA)、International Society for the Scientific Study of Subjectivity (ISSSS)、Asian Association of Public Administration(AAPA)、Political Studies Association(PSA)、というヨーロッパ、アジア、英国、グローバルな計4つの国際学会で5つの発表を行うことができた。それも、同じ内容では無く、それぞれ異なる研究対象で分析・比較の仕方等も異なる方法の研究発表を行うことができている。

さらにそれらの研究成果をもとに、既に3つ国際学術誌への投稿を行っている。うち2つは不採択であったが現在、査読者からのコメントを基に修正し、改めて国際学術誌に投稿予定である。もう一つは現在査読中であり、掲載の可能性もある。また、PSA で発表した、特別区職員とロンドンバラ職員の仕事観の比較研究においては国際学術誌への投稿準備中である。口頭発表だけでなく、国際学術誌でも、当初はデスクリジェクトが多かったものの、数度の経験を踏まえてエディターから複数名の匿名査読のプロセスに入ることも増えてきており、近い将来に SCOUPUS 登録雑誌への掲載も期待される。

4. 今後の研究における課題または問題点

研究対象の拡大という面で課題がある。調査会社や協力可能な公務員関係団体等に問い合わせを行いつつ、調査対象者の拡大に努めたい。それによりさらに深い検討が可能になる。また、本研究のこれまでの手法で導き出せるのは仮説的なものであり、実証性にはさらなる別の量的調査が必要になる。本研究でもある程度その手法に関しては調査を行っているところではあるが、その場合はサンプルデータを大きくする必要がある。そのような十分なサンプルデータをとることができるのか、場合によっては調査会社等に協力を得ることが必要になり、その際には費用面が研究の発展の阻害要因になってしまい、改めて十分な資金が必要になる。

加えて、これまでの研究では「仕事観」を中心に調査をしてきたが、公務に携わる者の「倫理観」という視点も現在改めて問われている点として政治学・行政学において重要視されている。そのため、どのような項目によって「公共倫理観」を把握することができるのか、という点も改めて生じてきた課題の一つである。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

This research aimed to explore the work views of public servants by occupation and country and to conduct a review of empirical research. Q methodology, a psychology-derived technique, was employed to analyze subjective human traits as holistic worldviews.

Prior to the research, Q methodology survey data were collected from various public servants, including prefectural and municipal government employees in internal management departments and those engaged in customer service and event-related work, as well as private company employees in management departments, sales departments, and caregiving roles. Additionally, data from London borough employees and political scientists were obtained using research funds.

During the research period, five presentations were made at four international conferences: the European Group of Public Administration (EGPA), the International Society

for the Scientific Study of Subjectivity (ISSSS), the Asian Association of Public Administration (AAPA), and the Political Studies Association (PSA), covering Europe, Asia, the United Kingdom, and globally. Each presentation focused on different research subjects, analysis methods, and comparison approaches, providing diverse perspectives on the topic.

Three submissions to international academic journals have been made based on the research results. Two were rejected but are being revised for resubmission, while the third is currently under review. The comparative study of special ward employees in Japan and London borough employees is also being prepared for submission. Despite initial desk rejections, the experience of multiple submissions has led to an increase in papers entering the peer review process, with publication in a SCOPUS-registered journal expected in the near future. This progress demonstrates the value and potential impact of the research.

Future research challenges include expanding the pool of survey participants and obtaining sufficient sample data for empirical verification, which may require additional funding. Furthermore, determining the items that can capture "public service ethics" has emerged as another challenge, as the perspective of "ethics" among public servants has recently been recognized as an important issue in political science and public administration. Addressing these challenges will be crucial for advancing the understanding of work views among public servants and their implications for public service delivery.

中年期の働く女性のキャリア・ストレスと対処に関するインタビュー調査

Interview research on career stress of middle-aged working women.

研究代表者 榎原圭子(社会学部社会心理学科)

研究分担者 本間三恵子(埼玉県立大学健康開発学科)

I) 研究期間/2023年6月30日~2024年3月15日

II) キーワード/①中年期女性

②キャリア・ストレス

③介護

④両立葛藤

⑤対処資源

III) 2023年度交付額/279,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

- 本研究の結果については、2024年度の産業組織・心理学会およびキャリアデザイン学会にて発表予定
- なお、インタビュー調査で得られた語りは、研究代表者が執筆中の著作「働く人のメンタリングーキャリアとウェルビーイングを支える発達支援的関係」に引用している。

V) 研究経過および成果の概要(日本語2000字程度)

1. イントロダクション

1986年の男女雇用均等法時代に就職した第一次均等法世代は現在50代の中年期にあり、数年の間に約100万人が定年退職を迎える。この世代の女性は定年退職後の働き方やキャリアの模索だけでなく、高齢の親の介護や子供の養育もしくは子離れ、自分自身の健康問題など、仕事以外の生活上の様々なストレスに直面し、仕事と生活の両立葛藤を経験する。これらは若年期の女性の経験する両立葛藤とは異なるものである。働く中年期の女性を対象とした先行研究では、親の介護や、配偶者との関係など、特定のストレスに焦点が当てられているが、彼女らの経験するストレスの全体像をとらえたものは少ない。そこで本研究ではこれを明らかにするとともに、それらへの対処について明らかにすることを目的とした。

2. 研究方法

50代の首都圏で働く女性5名と定年退職した女性2名にインタビュー調査を行った。対象者は全員大学もしくは大学院を卒業していた。インタビュー実施は2023年12月~2024年3月であった。研究代表者の機縁により、首都圏の企業に勤務する/していた女性に1~1.5時間のインタビューを対面にて行った。

3. 研究経過および成果の概要

対象者7名のインタビュー概要を以下に示す。

Aさん(57才)：出版社勤務で部長職。転職経験あり。既婚、社会人および大学生の子供2人を持つ。夫が地方出身で、高齢の母親の介護のため、近い将来地元に戻ることを考えている。Aさんも夫の地元へのIターン就職を考えている。しかしAさんは一人っ子であるため、近い将来、自分の親のケアを担う可能性があり、東京に残って仕事をする可能性もあり、今後の働き方に悩んでいた。経済的な面から65歳までは仕事をする意向であった。Bさん(57才)：公立小学校教員。既婚、社会人および大学生の子供を2人持つ。親は健在で、近距離に居住。妹が親と同居しており、実家のことは妹に任せている。業務の多忙や人間関係でのストレスがあるが、親の介護やケアに関するストレスはない。小学校教員の不足という状況もあることから、定年後はパートタイム教員としての勤務を考えている。Cさん(58才)：金融機関勤務。独身。54歳で役職定年となり関連会社に出向した。出向により給与が減少し、業務内にやりがいは感じられていない。自宅から勤務地までの通勤に片道2時間かかる。高齢の母親と同居しており、週末は母親のケアに時間を取られ、自分の時間がない。これらの理由から、母親とともに実家(地方)に戻ることを考えている。それにより通勤時間の減少、知り合いの多い地域に住むことによる母親のQOL向上、Cさんも自分の時間が持て、生活が充実することを期待している。Dさん(57才)：化学メーカー勤務で部長職。既婚、大学生の子供1人(一人暮らし)。両親は遠方にある実家近くの介護施設に入居しており、今は介護で時間が取られることはない。大変な仕事をやりつくした感があり、1-2年の間に早期退職したいとのことであった。定年後の経済的な見通しも立っており、今後は自分の好きなことをやっていく意向。Eさん(57才)：既婚。個人事業者として学生の就職支援に関わっている。仕事上のストレスはあまりないが、最近では高齢の母親(別居)のケアに時間を取られている。実家の整理や母親の今後を考えるために、数年前よりも仕事量を減らしている。今後も細く長く仕事をしてきたい。Fさん(70才)：金融機関を早期退職し、数度の転職を経て、現在も週2回企業勤務をしている。早期退職した時期は高齢の母親の介護を主に担っており、それに時間を取られていたが、一昨年母親が他界され、今は好きなことをして過ごしている。自分自身の健康と人との関わりを絶やさないようにすることが現在の課題と語っていた。Gさん(75才)：定年退職後、自分の会社を作り、元の勤務先から業務委託を受ける形で73才まで働いた。今は仕事をしていない。高齢の母親は介護施設に入居しており、月2回程度訪問。今は自分の趣味や友人との関わりを楽しんでいる。

4. 今後の研究における課題または問題点

本研究により、介護が働き方に大きな影響を与えていることが明らかになった。今回は女性のみを対象としたが、仕事と介護の両立に悩む男性も増加していることから、今後、男性も対象とし、中年期における介護と仕事の両立問題をテーマに研究を進めたい。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

The first Equal Employment Opportunity Law generation, who entered the workforce in 1986, are currently in their mid-50s, and 1 million will retire shortly. After retirement, this generation of women will have to find next careers, take care of their aging parents, and dealing with their own health issues. Some studies of midlife working women have focused on specific stressors including parental caregiving and

spousal relationships, but few have examined their overall stressors. This study aimed to understand what kind of stressors these women face and how they deal with them. Five working women in their 50s and two retired women who had worked in Tokyo metropolitan area were interviewed. They all had university or higher degrees. Participants were recruited through the researcher's networks. Interviews were conducted from December 2023 to March 2024. Duration of each interview was 1.0- 1.5 hours.

Five of the seven were in their late 50s, four of whom intended to work full or part-time after retirement at age 60, and one intended to retire early; two of the five needed to care for elderly parents, which affected their work such as reducing workload or changing work locations. Of the other three, one wondered if she would go with her spouse, who was considering returning to her parent's home to care for his parents, or if she would continue to work in Tokyo, considering the future care of her own parents. The remaining two had time to take care of themselves: one had a parent residing in a nursing home, and another had still young and healthy parents. Of the two retirees, one had parents who had already passed away. The other had a old mother residing in a nursing home. Therefore, they can spend their time for themselves. Their challenges were maintaining their health and keeping in touch with others, including friends.

This interview revealed that elderly care significantly impacted the participants' working lives and careers. Participants of this study were limited to women. It is necessary to conduct interviews with men since the number of men who take care of their parents is increasing.

日韓における世代間・男女間の格差と対立の現状と

格差拡大の決定要因に関する比較分析

「A comparative analysis of the intergenerational and gender disparities, tensions, and primary contributing factors of increased disparities」

研究代表者 姜 英淑(社会学部国際社会学科)

研究分担者 金 明中(ニッセイ基礎研究所・アジア大学都市創造学部都市創造学科)

I) 研究期間／2023年6月30日～2024年3月15日

II) キーワード／①格差問題 Intergenerational and Gender disparities

②日韓の男女格差 Gender disparities in Japan and Korea

③日韓における世代間格差 Generational Disparities in Japan and Korea

④新型コロナ COVID-19 Pandemic

⑤格差拡大の決定要因 Primary Contributing Factors of Increased disparities

III) 2023年度交付額／140,000円

IV) 研究発表／学会および口頭発表

・第147回社会政策学会 書評分解会にて

金成 垣(東京大学)『韓国福祉国家の挑戦』(明石書店)に関して、

金 明中(ニッセイ基礎研究所/アジア大学)が評者として発表を行う。(2023年10月8日)

・ニッセイ基礎研究所 (<https://www.nli-research.co.jp/?site=nli>) に以下の研究成果を3月6日に①を投稿、そして②を投稿予定。

①「日本における格差とその原因を考察する」

②「韓国における格差とその原因を考察する」(仮)

V) 研究経過および成果の概要 (日本語 2000字程度)

1. イントロダクション

本研究は日本と韓国における世代間格差と男・女間の格差問題を取り上げ、格差問題の要因を人口構成や男女の賃金、雇用形態などから検討し、今後の格差問題の縮小につながる対策を提案することを目的とする。

2. 研究方法

研究は文献を中心にして、政策比較・制度比較・現状比較に焦点を当てて行う。

3. 研究経過および成果の概要

1997年のアジア経済危機以降、韓国社会では貧困と所得格差が社会的問題として浮上し、最近は、新型コロナによるパンデミックが格差拡大の新しい要因になっている。

韓国の再分配所得ジニ係数や所得ジニ係数は上昇しているなか、政府からの年金給付、手当、助成金等の給付は増えてきている。しかし、大企業従事者と中小企業従事者、正規労働者と非正規労働

者、資産を持っている者と資産を持っていない者等の間で所得格差が広がった。

また、若者の雇用状況が改善されていないことも貧困と所得格差を深刻化させる要因になっている。その上、新型コロナウイルスの発生以降、若者の就職環境は以前より厳しくなり、多くの企業で新卒採用の規模の縮小や新規採用を一時中断する企業まで現れたからである。

韓国社会では世代間やジェンダー間の対立も深刻化している。世代間対立の背景として考えられるのは経済的要因である。現在、韓国社会の中心とも言える 386 世代は、当時の韓国経済が絶好調であったことから所得形成が今の世代より容易であった。しかし、若年層の労働市場は、新型コロナウイルスの感染拡大でさらに難しくなり、世代内でも格差、特に不公平な格差が発生することにつながった。

これらの世代間格差とともに、男女間の対立も深刻化しているのが現状である。

今後、新しい韓国政府が貧困と所得格差の問題を解消するためにはどのような対策が必要だろうか。まず、高齢者対策から考えてみると、今後、年金が給付面において成熟すると、高齢者の経済的状況は現在よりは良くなるとおもわれるが、大きな改善を期待することは難しい。なぜならば韓国政府が年金の持続可能性を高めるために所得代替率を引き下げる政策を実施しているからである。

公的年金制度が導入された 1988 年に 70%であった所得代替率は、1997 年のアジア経済危機の影響で 60%まで下がり、2008 年には再び 50%に下方調整された。さらに韓国政府は 2009 年から毎年 0.5%ずつ所得代替率を引き下げ、2028 年には所得代替率が 40%になるように調整した。

次は働き方の多様化に対する対策である。非正規労働者の増加が急速に進むなかで、韓国政府は、『期間制および短時間労働者保護等に関する法律（以下「期間制・短時間労働者法」）』、『改正派遣労働者の保護等に関する法律（以下、「派遣法」）』、『改正労働委員会法』などのいわゆる「非正規職保護法」を施行することで非正規職の正規職化をすすめ、非正規労働者の増加による労働市場の二極化や雇用の不安定性を緩和しようとして試みている。法律が 2007 年 7 月から施行されることにより、非正規労働者が同一事業所で 2 年を超過して勤務すると、無期契約労働者として見なされることになった。

また、「非正規職保護法」の施行により雇用期間が無期に転換された者の中でも、処遇水準が改善されず、給料や福利厚生面において正規職との格差が広がっている者も少なくなかった。それは、韓国社会における格差の拡大につながっている。

最後に若者に対する対策として、韓国では高卒者の約 7 割が大学に進学することにより、大卒者の労働供給と企業の労働需要の間にミスマッチが発生している。従って、今後このようなミスマッチを解消するためには、大学の数を減らす代わりに、日本のような専門学校を増やす必要がある。つまり、現在の若者の就職難を解決するためには雇用政策よりも教育システムの構造的な改革が優先されるべきである。また、若者が中小企業を就職先として選択できるように、中小企業の賃金水準や労働環境を改善するための支援を拡大することも重要である。技術力や競争力のある中小企業を積極的に育成し、若者が選択できる選択肢を増やすべきである。

日本の場合も非正規労働者やギグワーカーが増えており、男女間の賃金格差は他の先進国より大きい。また、貧困と格差も社会的問題として浮上している。日本韓国は同じ社会問題を抱えていると言えるだろう。今後、日韓政府と専門家等が交流の場を広げ、貧困と格差等の社会問題と一緒に対応することを望むところである。

4. 今後の研究における課題または問題点

本研究における今後の課題点は、本研究の当初計画であった関連機関や関連機関の担当者を対象にしたインタビュー計画を立てていたがインタビューができなかった点と、日本と韓国との比較が十分に至らなかった点である。研究の大半が韓国の格差問題を取り上げていて、日本との比較が浅い。

インタビューができなかった理由は、今回の研究においては、まず文献を通して格差の諸問題を十分に把握することを優先にした方がいいと判断したためである。今回の研究を反映して、今後の研究において、インタビューの実施や比較研究として発展させていく。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

The purpose of this study is to propose measures to mitigate intergenerational and gender disparities by examining key factors such as demographic profile, gender wage gap, and different employment types in Japan and Korea.

Korea and Japan commonly share social issues surrounding gender and intergenerational disparities. Upon the recent COVID-19, the pandemic has become a new factor increasing disparities as well.

In Korea, contributing factors to the issues of disparities include wage gap between groups such as employees of large and small to mid-sized companies, full time employees and temporary employees, and asset holders and non-asset holders. Additionally, tensions between generations and genders are intensifying with some underlying economic factors. The labor market has become more challenging for the younger generation due to the recent COVID-19 pandemic, resulting in an increase in generational disparities and creating more noticeable inequalities.

In Japan, the gender wage gap is more profound than in other developed nations due to the increased number of temporary and gig workers. Gender wage gap is evident, and the reality is that women's wages increase at a slower pace than those of men. The reasons for the gender wage gap in Japan can be explained by intergenerational differences, differences in employment types, and disparities in the level of education. It can also occur due to statistical discrimination.

Japan and Korea are making efforts to resolve these issues through government-led guidelines and laws. Alongside with these efforts, Japanese and Korean governments should collaborate with experts to jointly address social issues such as poverty and disparities.

河川環境ビッグデータと統計的因果推論の融合による銅の生態リスク評価手法の高度化

Improvement of ecological risk assessment methods for copper by integrating river survey big data and statistical causal inference

研究代表者 竹下 和貴(生命科学部応用生物科学科)

研究分担者 横溝 裕行(国立環境研究所)

I) 研究期間/2023年4月1日~2024年3月15日

II) キーワード/①重金属 Trace metal

②生態リスク Ecological risk

③河川生態系 River ecosystem

④ベイズ統計 Bayesian statistics

⑤因果推論 Causal inference

III) 2023年度交付額/1,140,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

- ・竹下和貴. 野外での調査観察データから化学物質の因果的な影響を推定する. 第2回環境化学物質3学会合同大会.徳島. SS3-4. 2023年6月.
- ・富山公晴, 横溝裕行, 永野竜聖, 竹下和貴. 足尾銅山における銅による長期的な水質汚染が底生動物群集に及ぼす影響評価. 第2回環境化学物質3学会合同大会.徳島. P-116. 2023年5月.

V) 研究経過および成果の概要(日本語2000字程度)

1. イントロダクション

重金属類は、その多くが人間の生活に不可欠な物質である一方で、水生生物に対して強い毒性を示すという報告がある。そのため、それらの生態リスクを評価して、水質環境基準値の設定など、適切な管理施策を講じることが必要である。ここ20年ほどの間に、多種の水質汚染物質の生態リスク評価を目的とした河川調査が数多く実施された。それらの研究では、調査地内における汚染物質の影響の有無だけでなく、その汚染物質に対して感受性が高い生物指標の開発や、生物の状態に顕著な影響を及ぼさないであろう濃度(安全濃度)の推定といった、生態リスクの評価手法そのものにつながるような研究も度々行われてきた。しかし、これまでの研究の多くが、小規模(狭域)の調査データや相関関係の分析に留まっている。重金属を含む化学物質の管理は国策として実施されるものであり、また管理施策の有効性は「その物質の濃度を○○mg/Lに低減した時、メダカの個体数が約××%回復する」というような、因果関係的な観点を基に評価されるべきである。

本研究では、地理情報システムソフトウェアを用いて国内の水環境に関する広域データベースの情報を統合して構築されたビッグデータセットに統計的因果推論の手法を適用し、さらに自身が実施する野外調査とのフィードバックループによって、河川生態系に対するリスクが懸念される金属の一つである銅について、幅広い感受性を取り揃えた生物指標セットを開発することを目的とする。

2. 研究方法

地理情報システムソフトウェアを用いて、河川環境データベース(水生昆虫類、甲殻類、端脚類などの個体数データ)、水環境総合情報サイト(公共用水域の水質データ)、水文水質データベース(流量や流速などの、河川の水文観測データ)、自然環境保全基礎調査(河川周辺の土地利用状況に関するデータ)、以上4つの広域データベースの情報を空間結合し、広域河川環境データセットを構築する。広域河川環境データセットの生成メカニズムを表現した因果ダイアグラム(有向非巡回グラフ)を作成した上で、バックドア基準に基づいた重回帰分析によって、各重金属類が底生無脊椎動物の各分類群の個体数に与える因果効果の大きさ(濃度-個体数曲線の傾き)を網羅的に推定する。次に、推定した傾き(感受性)の大きさに基づいて、感受性が高い生物種(すなわち濃度-個体数曲線の傾きが大きい種)、中程度の種、低い種をリスト化し、さらに、各分類群の5%影響濃度(リファレンスサイトの個体数から5%減少するときの濃度、5% effect concentration; EC5)からSSDを推定する。その際、自身が栃木県の渡良瀬川上流域および群馬県内の都市河川で実施する野外調査とのフィードバックループにより、未観測交絡因子の影響を最小化する。

3. 研究経過および成果の概要

最初に、河川環境データベースの生物データおよび水環境総合情報サイトの公共用水域水質データについて、2017年度分データまでの整理を行った。そして、2006-2009年度分データについては、底生動物データ約40項目(総種数、総個体数、各綱別個体数など)と水質約30項目(要監視項目および生活環境項目)の空間結合を行った。

また、野外調査については、まず渡良瀬川上流域の足尾銅山周辺において、2023年5、8、11および2月の計1回、河川調査(河川水の採取、底生動物の採集など)を実施した。河川水は、ICP-MSを用いた重金属類の溶存態濃度のほか、生物化学的酸素要求量(BOD)などを計測した。その結果、ヒラタカゲロウ科の昆虫の個体数は銅濃度の変化に対して敏感に反応する一方で、コカゲロウ科やヘビトンボ科の昆虫の個体数は銅濃度の変化との間に一貫したパターンを示さない傾向にあることが明らかとなった。同様に、板倉キャンパス周辺の都市河川において、BOD値の連続調査を実施した。BODの調査は、河川水質に対する曜日効果の有無を検討するために実施したもので、曜日効果は明確なものが認められなかった一方、計測時間帯の違いによる水質値の差異が認められた。

4. 今後の研究における課題または問題点

河川環境ビッグデータを用いた統計的因果推論の実施に向けた作業を順調に進めることができた一方で、以下の課題があること分かった。まず、生物データや水質データにはかなりの割合でゼロデータ(欠損値含む)が存在することである。この点については、今後はGIS環境多媒体モデルの導入によるデータの補完を検討していく。また、野外調査データの結果から、今後のビッグデータ解析においては水質を計測した時間帯の違いを考慮した統計モデルを構築する必要があることが示唆された。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

Many field-surveys have been conducted for many decades to obtain empirical information about the negative effects of copper contamination on the biological integrity of river ecosystems and to establish proper biological indicators. However, as field surveys need a large

amount of effort and, field survey sites of each project tend to be limited to a small number of basins. Thus, the average size of the effect of intervention in copper concentrations on aquatic organisms across Japanese rivers have rarely been evaluated. In the present study, we first attempted to develop a dataset of benthic invertebrate communities and environmental variables by using the following four nationwide-scale databases: the River Environmental Database, the database of water quality measurements for public water bodies, the Water Information System, and the Natural Environmental Survey (provided by the Ministry of Land, Infrastructure, Transport and Tourism or the Ministry of Environment). Using the developed dataset, we attempted to evaluate the associations of abundance of each taxon of benthic invertebrate communities with copper concentrations by constructing a multiple regression model based on a causal diagram for benthic invertebrates and environmental factors, and on “the backdoor criterion,” that enabled us to determine the set of covariates required to obtain an unbiased estimate of the targeted intervention effect from regression coefficients. Then, based on the estimated regression coefficients (i.e., sensitivity), species with high, moderate, and low sensitivity for copper contamination are listed, and species sensitivity distribution is further estimated from the 5% effect concentration for each taxon. In addition, to improve the reliability of statistical causal inference, river surveys were conducted in the area around the Ashio Copper Mine in the upper reaches of the Watarase River and in urban rivers around the Itakura Campus. The results indicate that the abundance of Heptagenioidea is sensitive to changes in copper concentrations, while the abundances of Baetidae and Corydalidae tend not to show a consistent pattern with changes in copper concentrations. We were able to make good progress in our work to perform statistical causal inference using river survey big data; however, the following issues were found. First, a significant proportion of biological data and water quality data contain zero data (including missing values). In this regard, we will consider implementing the estimates from a GIS environmental multi-media model in the future. In addition, the results of the field survey suggest the need to construct a statistical model considering the differences in the time of day for measuring water quality in future big data analysis.

科学的探究力の育成を指向した高度スパイラルアップ型

探究プログラムの開発と実践

Development and practice of an advanced spiral-up inquiry program aimed at fostering scientific inquiry skills.

研究代表者 後藤 顕一(東洋大学 食環境科学部)

研究分担者 伊藤 克治(福岡教育大学 教育学部)

研究分担者 野内 頼一(日本大学 文理学部)

研究分担者 高橋 三男(大妻女子大学 家政学部)

研究分担者 金児 正史(帝京平成大学 人文社会学部)

研究分担者 米延 仁志(鳴門教育大学 学校教育研究科)

I) 研究期間／2023年4月1日～2024年3月15日

II) キーワード／①探究のプロセス

②学校教育

③実装化

④科学的探究力

III) 2023年度交付額／140万円

IV) 研究発表／学会および口頭発表

後藤顕一, 星野純一郎, 亀澤信一. 年間を通して一つのテーマをチームで探究する経験が生む効果とは. 日本理科教育学会 理科の教育. 2023. 72. 10. 650-651

後藤顕一. 日本の化学(科学)リテラシーの現状と課題. 日本化学会 化学と教育. 2023. 71. 9. 360-363

Shinya Yamauchi, Hiroshi Iida, Kenichi Goto, Yorikazu Nouchi. The Influence of Learning to Incorporate Instruction on Formulation of Consideration Description Under Peer Evaluation Activity on Awareness of Consideration. International Conference New Perspectives in Science Education 12th Edition, Proceedings. 2023. 12. 119-122

Yoshida Tomoko, Ajime, Kenichi Goto, Mika Tsuyukubo, Yorikazu Nouchi, Atsushi Fujihira. Science experiments with learners of different ages. International Conference New Perspectives in Science Education 12th Edition, Proceedings. 2023. 12. 232-235

Reiko Kamimura, Hikaru Toriyabe, Kenichi Goto. Guidance on finding problems systematically based on questions, research questions and hypotheses. International Conference New Perspectives in Science Education 12th Edition. 2023

Jiamin He, Kenichi Goto. Directions for inquiry-based teaching in China's new education era. International Conference New Perspectives in Science Education 12th Edition, Proceedings. 2023. 12. 17-20

Kenichi Goto, Mika Tsuyukubo, Yorikazu Nouchi, Atsushi Fujihira, Katsuji Ito, Hiroshi Iida, Tomoko Yoshida, Masafumi Kaneko. Curriculum Development Based on "Period of Integrated Studies "to Cultivate" STEAM Educational Skills" and Construction of a Hybrid Validation System. International Conference New Perspectives in Science Education 11th Edition, Proceedings. 2023. 12. 199-202

Mika Tsuyukubo, Masako Sato, Kenichi Goto, Hiroshi Iida. A study on changes in the consciousness of teachers who participated in taste education training. International Conference New Perspectives in Science Education 12th Edition, Proceedings. 2023. 12. 237-251

V) 研究経過および成果の概要（日本語 2000 字程度）

1. イントロダクション

探究の各段階での達成や分析・検証において、効率性と効果を促進する DX を取り入れることで、どのような成果と課題が得られるのか。

本研究で開発した探究のプロセスを学校現場へ実装化して検証・改善し、期待するスパイラルアップを実現すれば、科学的探究力の質的向上に繋がるのではないか。

2. 研究方法

この研究は、探究の達成に必要な要素（図化、数式化、ことば化、基本の型）の機能と、プログラミング的思考とエビデンススペースの思考の発揮方法を分析・評価する。また、「プラスチック」に関する教材を試作し、SDGs の目標 12「つくる責任、つかう責任」を基本的な問題認識として探究を進める。さらに、教材と指導法の改良を進め、DX 化を促進するための要素を抽出し、それぞれの探究プロセスの段階で DX 化を推進する。中・高等学校理科及び大学の基礎化学を対象とした探究を取り入れた SD 教材と指導法を開発・改訂し、定量を可能にするセンサの開発や具体的な教材の開発を行う。最後に、テキストマイニングや AI を駆使し、DX 化を導入して研究を評価し、改善を行う。得られた成果や課題は公表し、我が国の科学教育に変革と革新をもたらし、学校現場への波及とこれからの教育課程編成に貢献する計画である。

3. 研究経過および成果の概要

(1) 探究の要素とプログラミング的思考:

図化、数式化、ことば化、基本の型などの要素が探究にどのように機能するかを分析した。

プログラミング的思考はどの段階で発揮されるかを検討し、エビデンススペースの思考がどのように示されるかを評価した。また、生徒自らが探究を達成できることを科学的探究力の向上と捉えて相互評価の取組をさらに推進した。

(2) 教材の試作:プラスチック教材を例に

SDGs の目標 12（「つくる責任、つかう責任」）を基本的な問題認識とし、上位の課題は「プラスチックの環境の負荷を減らす」と捉え、下位の課題として「汎用プラスチックの密度の測定」を明確にし、その結果を利用する「結晶化度の評価」を設定した。中位課題として「汎用プラスチックとはどのようなものか」をレポートにまとめる。最後に上位課題に対応する「無溶媒合成＜日本企業の貢献＞」を解説する。

(3) 教材における題材の開発:

さらなる中・高等学校理科および大学の基礎化学を対象とした探究を取り入れた SD 教材と指導法を開発・改訂した。基本的な測定項目（長さ、容積、重さ、温度）について、標準器と比較する

キャリアレーションを体験させ、デジタル化のためブラックボックス化されている測定原理を明らかにした。

(4) 定量を可能にするセンサの開発：

具体的な教材として、調理科学の視点からコメの老化や酵素の働き、環境科学の視点からメダカの生育条件や自己循環型ビオトープの教材を開発する、

研究の方法の検証：

4. 今後の研究における課題または問題点

デザイン研究の手法にテキストマイニングやAIを活用し、DX化を導入する。また、さらなる研究を評価し、改善を行う計画である。成果や課題は学会や雑誌で公表し、科学教育に変革と革新をもたらし、学校現場への波及を図り、教育課程編成に貢献する計画である。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

In an era of unpredictability, the importance of developing scientific inquiry skills through a multifaceted approach and aligned with the inquiry process is emphasized. The enrichment of learning for this purpose may be advanced by the introduction of digital transformation (DX) in education, which has gained attention in recent years. This study aims to develop a spiral-up inquiry program that fosters high-level scientific inquiry skills through the introduction of educational DX and to implement it in school settings. Towards this goal, the study will develop teaching materials and learning methods on 'sustainable development' aimed at acquiring evidence-based thinking, and explore the use of computational thinking, which is at the core of educational reform. Additionally, the study will clarify how the elements of thinking methods, such as 'diagrams,' 'formulas,' 'words,' and 'basic patterns,' are related to each stage of inquiry from the perspective of learners' scientific concept formation. Furthermore, the study will promote DX to expedite and enhance efficient research verification.

学童期と青年期の味覚と咀嚼に着目した

食・生活習慣、食態度、健康状態の多角的解析

Analysis of diet and lifestyle habits, eating attitudes, and health conditions focusing on taste and chewing in school children and adolescents

研究代表者 井上 広子(食環境科学部・健康栄養学科)

研究分担者 桑野 稔子(静岡県立大学・食品栄養科学部)

鈴木裕一(仙台青葉短期大学・言語聴覚学科)

辻ひろみ(食環境科学部・健康栄養学科)

I) 研究期間／2023年4月1日～2024年3月15日

II) キーワード／①咀嚼 Chewing

②食事 Diet

③健康 Health

④食習慣 Dietary habit

⑤食態度 Eating attitude

III) 2023年度交付額／1,330,000円

IV) 研究発表／学会および口頭発表

「学童期の子どもの咀嚼習慣と食・生活習慣との関連」

2024年9月日本栄養改善学会学術総会にて口頭発表予定

V) 研究経過および成果の概要（日本語 2000字程度）

1. イントロダクション

咀嚼は、抗肥満や抗ストレス、脳の活性化、記憶力・集中力の向上、抗う蝕等、多岐にわたる効果が報告されている。しかし、現代人の咀嚼数は減少傾向にあり、ライフスタイルの多様化、食事内容の欧米化、食事時間の短縮、ファストフードや加工食品摂取の増大、噛み応えのない食事の増大等により、食事を噛まない・噛めない子どもも増加している。

また、噛まない食事の摂取増大により、唾液分泌量の低下や食材の素材の味が分からないといった味覚や齲歯の増大にもつながることが問題となっている。咀嚼数の減少を食い止めるためには、「咀嚼」の有用性と正しい咀嚼習慣をしっかりと教育することが重要であると考えられる。特に学童期の食生活においては、保護者に委ねられていることが多いことから、保護者に対する咀嚼の重要性を認知させる教育も求められる。

そこで本研究では、精度の高い咀嚼計を用いた児童の客観的な咀嚼数測定と食習慣・生活習慣と

の関連について多角的に調査を行い、咀嚼回数が児童の食事バランスに及ぼす影響や咀嚼回数低値群の児童の食習慣や生活習慣の特徴を明らかにし、学童期における栄養教育の基礎的資料・エビデンスに資することを目的に研究を遂行した。

2. 研究方法

対象者は、本学における人を対象とする医学系研究倫理審査委員会の承認後、詳細な研究の説明を実施し、同意を得た G 県 O 市内の小学 6 年生の児童 ($n=71$) とその保護者 ($n=68$) を対象とした。児童に対する調査項目は、シャープ株式会社のバイトスキャンを用いた咀嚼回数調査、SDQ (Strength and Difficulties Questionnaire : 子どもの強さと困難さアンケート)、食と健康に関する質問票、簡易型自記式食事歴法質問票 (BDHQ15y) である。保護者には、食と健康に関する質問票を実施した。咀嚼調査は、2023 年 9 月に実施し、食と健康に関する質問票 (児童・保護者) と BDHQ15y については留置法にて実施した。

統計解析は、IBM 社製 SPSS ver.28 を用いて実施し、有意確率 5 %未満で有意差ありと判定した。解析は、児童の咀嚼回数を 25%ile 未満と 25%ile 以上の 2 群 (高値群・低値群) に分け、食と健康に関する質問票や食事形態、食習慣と生活習慣等との関連性について多角的に解析を行った。

3. 研究経過および成果の概要

咀嚼回数低値群は、高値群と比較し、緑黄色野菜、その他の野菜、魚介類摂取量が少ない傾向にあり、嗜好飲料類摂取量は有意に多かった。また、咀嚼回数低値群は高値群と比較し、食事に対して楽しさや喜びを感じる児童の割合が有意に少なく、栄養成分表示を知らない児童や、季節の食べ物を気にしない等、食に対する興味関心が高値群に比較し、有意に低いことが明らかとなった。

さらに咀嚼回数低値群は、高値群と比較し、テレビ・ゲームの使用時間が有意に長く、咀嚼低値群は高値群に比較し、生活習慣に乱れが生じている児童が多いことが明らかとなった。

本研究結果より、児童の咀嚼回数は食品群別摂取量や栄養素摂取量と関連があり、咀嚼回数とバランスの取れた良好な食習慣との間に深い関連があることが明らかとなった。また児童の咀嚼回数は、食への興味・関心や生活習慣、精神的健康度とも関連があった。

以上のことより、児童の咀嚼回数は、食習慣や生活習慣を反映するパラメーターに資する可能性があることが示唆された。本研究結果は、学童期の頃より咀嚼の重要性を教育する必要性を示す重要なエビデンスであると考えられる。今後、学校現場での児童に対する咀嚼教育、栄養教育の推進と家庭での食事においても咀嚼数増大と咀嚼習慣の早期形成の重要性の認識向上に向けて、保護者にも適切な栄養教育を促す必要性が推察された。

4. 今後の研究における課題または問題点

本研究では、限界点として母集団が一地域に限定していること、母集団が 71 名とやや少ないことからさらに母集団を増やして調査をする必要がある。また本研究では、研究の説明を的確に受け取ることができる等の理由より、対象者を小学 6 年生にのみ限定した。今後、低学年等の別の学年でも同様の結果が得ることができるか検討も必要である。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

Chewing has been reported to have a wide range of effects, including anti-obesity,

anti-stress, brain activation, improved memory and concentration, and anti-caries. However, the amount of chewing done by modern people is on the decline, due to diversification of lifestyles, Westernization of diets, shorter meal times, increased intake of fast food and processed foods, and an increase in the number of meals that are not chewy. In addition, the increased intake of food without chewing has led to problems such as a decrease in saliva secretion, an inability to taste the ingredients, and an increase in dental caries. Therefore, in this study, we conducted a multifaceted investigation into the relationship between children's objective number of chews using a bitescan (mastication meter) and their eating habits and lifestyle habits.

Subjects were 6th grade elementary school children in City O, Prefecture G, who provided consent after receiving approval from Toyo University's Human Subjects Medical Research Ethics Review Committee (n=71) and their guardians (n=68). The survey items for children were number of chews, SDQ (Strength and Difficulties Questionnaire), a questionnaire on food and health, and a simple self-administered dietary history questionnaire (BDHQ15y). Parents were given a food and health questionnaire to complete. The analysis divided children's number of chews into two groups (high-value group and low-value group): less than 25%ile and 25%ile or more, and examined the relationship between questionnaires on food and health, meal form, eating habits and lifestyle habits, etc.

Compared to the high-value group, the low-value group tended to consume less green and yellow vegetables, other vegetables, and seafood, and the intake of preferred beverages was significantly higher. Furthermore, it is clear that the low-value group spends significantly longer on TV and games compared to the high-value group, and more children in the low-value group have disordered lifestyles than the high-value group.

The results of this study suggested that children's chewing frequency may contribute to parameters that reflect their dietary and lifestyle habits. The results of this study are considered to be important evidence showing the need to educate children about the importance of chewing from school age.

低酸素トレーニングが内臓脂肪蓄積およびインスリン感受性に及ぼす影響

Effects of hypoxic training on visceral fat and insulin sensitivity

研究代表者 今 有礼(健康スポーツ科学部健康スポーツ科学科)

研究分担者 松生 香里(川崎医療福祉大学医療技術学部健康体育学科)

I) 研究期間/2023年6月30日~2024年3月15日

II) キーワード/①低酸素環境 Hypoxic environment

②運動 Exercise

③トレーニング Training

④肥満 Obesity

⑤エネルギー代謝 Energy metabolism

III) 2023年度交付額/2,000,000円

IV) 研究発表/学会および口頭発表

・第78回日本体力医学会大会(2024年9月、佐賀)にて発表予定

V) 研究経過および成果の概要(日本語2000字程度)

1. イントロダクション

低酸素環境を利用した運動トレーニング(低酸素トレーニング)は、運動能力を向上させる効果的なトレーニング法として広く認識されている。なかでも、睡眠時を含めた生活・滞在を高地や人工の低酸素環境で行い、トレーニングを平地の常酸素環境で行う Living High-Training Low (LHTL) は、運動能力の向上により有効であるため、多くのスポーツ選手に利用されてきた。一方、近年では、低酸素刺激はスポーツ選手の運動能力の向上だけでなく、一般の人々の健康の維持・増進にも応用できる可能性が報告されて注目を集めている。先行研究において、低酸素環境への暴露が脂肪分解を促進し、体脂肪の蓄積を抑制することが報告されている。また最近、研究代表者らは、生活習慣病と強く関連している内臓脂肪が低酸素環境での滞在によって減少し、インスリン抵抗性(インスリン感受性の低下)が改善することを明らかにしている。これらの結果は、低酸素刺激が糖尿病などの生活習慣病の危険因子である肥満(内臓脂肪の過剰な蓄積)やインスリン抵抗性の改善に役立つ可能性を示唆している。運動トレーニング、特にランニングなどの有酸素トレーニングが内臓脂肪の減少やインスリン抵抗性の改善に効果的であることは周知の事実である。従って、低酸素環境での滞在と有酸素トレーニングを組み合わせた LHTL は、それぞれを単独で行う場合よりも内臓脂肪やインスリン感受性の改善により有効である可能性がある。そこで本研究では、LHTL が内臓脂肪とインスリン感受性に及ぼす影響について検討することを目的とした。

2. 研究方法

LHTL が内臓脂肪とインスリン感受性に及ぼす影響について検討するために、本研究ではまず、一過性の LHTL が脂質代謝やインスリン抵抗性改善に関与する因子に及ぼす影響について検討した。雄性 C57BL/6JmsSlc マウス(6週齢)32匹を対象とし、常酸素暴露(N)群、低酸素暴露(H)群、常酸素暴露後に一過性運動実施(NE)群、低酸素暴露後に一過性運動実施(HE)群に

分類した。H 群と HE 群は、動物実験室内にアニマルチャンバーを設置し、低酸素コントローラーを用いて酸素濃度を 13%に管理したチャンバー内に 24 時間滞在させた。N 群と NE 群は、動物実験室内（常酸素環境）に同時間滞在させた。NE 群と HE 群は、両環境での滞在後に常酸素環境でトレッドミルを用いた一過性の有酸素運動を 10~20m/min の速度で 60 分間実施した。実験終了後に血液、内臓脂肪、骨格筋を採取し、糖脂質代謝やインスリン感受性に関わる因子（グルコース、遊離脂肪酸、fibroblast growth factor (FGF21)、glucose transporter 4 (GLUT4)、hormone sensitive lipase (HSL)、adipose triglycerol lipase (ATGL)) を測定した。

次に本研究では、4 週間の LHTL 実験を実施し、LHTL が内臓脂肪蓄積およびインスリン抵抗性に及ぼす影響について検討した。C57BL/6JmsSlc-ob/ob マウス（6 週齢）7 匹を対象とし、常酸素環境滞在（LL）群、低酸素環境滞在（LH）群、常酸素環境滞在とトレーニング実施（LLTL）群、低酸素環境滞在とトレーニング実施（LHTL）群に分類した。LH 群と LHTL 群は、酸素濃度を 13%に管理したチャンバー内に 4 週間滞在させた（トレーニングは常酸素環境で実施）。LL 群と LLTL 群は、4 週間常酸素環境に滞在させた。LLTL 群と LHTL 群は、トレッドミルを用いた有酸素トレーニング（速度 12~16 m/min）を週 5 日の頻度で 4 週間実施した。4 週間のトレーニング実験終了後に血液および内臓脂肪を採取し、内臓脂肪重量（体重あたり）およびインスリン抵抗性（HOMA-IR）を測定した。

3. 研究経過および成果の概要

血漿グルコース濃度は、低酸素暴露および運動により有意に低下し、低酸素と運動の併用による相加効果が認められた。また、血漿 FGF21 濃度も低酸素暴露および運動により有意に増加し、低酸素と運動による相加効果が認められた。一方、血漿遊離脂肪酸濃度、筋内 GLUT4 mRNA 発現、脂肪内 HSL および ATGL mRNA 発現に関しては、運動や低酸素による影響は認められなかった。4 週間のトレーニング実験後の内臓脂肪重量は、LL 群と比較し、LH 群、LLTL 群、LHTL 群で低い傾向を示した。また、トレーニング群においては LLTL 群と比較し LHTL 群で低い傾向を示した。一方、HOMA-IR に関しては、常酸素群と比較し低酸素群で高い傾向を示した。

4. 今後の研究における課題または問題点

本研究により、糖脂質代謝の亢進やインスリン感受性の改善に関わるサイトカインである FGF21 が、低酸素と運動の併用でより増加することが明らかとなった。また、サンプル数が不足しているものの、通常（常酸素）のトレーニングよりも LHTL で内臓脂肪の蓄積が抑制される傾向が見られた。今後は、トレーニング実験のサンプル数を増やし、LHTL の効果について詳細に検討していく必要があると考えられる。

VI) Summary (英語 400 単語程度)

The purpose of this study was to examine the effects of Living high training low (LHTL) on visceral fat and insulin sensitivity. Male C57BL/6JmsSlc mice aged 6-week were randomly divided into the normoxic exposure (N), hypoxic exposure (H), exercise after normoxic exposure (NE), and exercise hypoxic exposure (HE) groups. For the H and HE groups, an animal chamber was set up in the animal laboratory, and the animals were allowed to stay in the chamber for 24 hours in which the oxygen concentration was controlled at 13% using a hypoxia

controller. The N and NE groups were allowed to stay in the animal laboratory (normal oxygen environment) for the same amount of time. After staying in both environments, the NE and HE groups performed transient aerobic exercise on a treadmill in a normoxic environment at a speed of 20 m/min for 60 minutes. After the experiment, blood, visceral fat, and skeletal muscle were collected, and factors related to glycolipid metabolism and insulin sensitivity (glucose, free fatty acids, fibroblast growth factor (FGF21), glucose transporter 4 (GLUT4), hormone) were collected. sensitive lipase (HSL), adipose triglycerol lipase (ATGL)). Next, in this study, we conducted a 4-week LHTL experiment to examine the effects of LHTL on visceral fat accumulation and insulin resistance. Male C57BL/6JmsSlc-ob/ob mice aged 6-week were randomly divided into the living low (LL), the living high (LH), the living low-training low (LLTL), and the loving low-training high (LHTL) groups. The LH and LHTL groups were kept in a chamber with a controlled oxygen concentration of 13% for 4 weeks (normoxic environment only during training). The LL and LLTL groups were kept in a normoxic environment for 4 weeks. The LLTL and LHTL groups performed aerobic exercise training on a treadmill (speed: 12-16 m/min) 5 days a week for 4 weeks. After the 4-week training experiment, blood and visceral fat (epididymal fat) were collected, and visceral fat weight/body weight and insulin sensitivity (HOMA-IR) were measured. Plasma glucose concentrations were significantly decreased by hypoxia exposure and exercise, with an additive effect of hypoxia and exercise. In addition, plasma FGF21 concentration was significantly increased by hypoxia exposure and exercise, indicating an additive effect of hypoxia and exercise. On the other hand, no differences between the groups were observed in plasma free fatty acid concentration, GLUT4 mRNA expression in skeletal muscle, and adipose HSL and ATGL mRNA expressions. Visceral fat weight after a 4-week training experiment tended to be lower in the LH, LLTL, and LHTL groups compared to the LL group. In addition, visceral fat weight in the training groups tended to be lower in the LHTL group than in the LLTL group. In contrast, HOMA-IR tended to be higher in the hypoxic groups than in the normoxic groups. In the future, it will be necessary to increase the number of samples in training experiments and examine the effects of LHTL in detail.

2023年度 井上円了記念研究助成 事業報告(執行実績一覧)

※原則として院生・校友採択者の身分・所属は応募時の情報

【個人研究】

【院生】

#	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					
101	院生	染谷 果穂	理工学研究科	応用化学専攻	赤色評価指標によるアナモックス活性評価	552,000	551,754	246	99.96%
102	院生	北原 央士	理工学研究科	応用化学専攻	微量元素がアナモックスプロセスのN ₂ O発生量へ及ぼす影響	556,000	555,659	341	99.94%
103	院生	上田 慎典	理工学研究科	応用化学専攻	塩濃度により最適反応温度が大きく変化する新規好塩性キシラン分解酵素の解析	630,000	629,948	52	99.99%
104	院生	酒田 萌々子	理工学研究科	生体医学専攻	pH摂動法を用いた上皮間葉転換の評価	630,000	626,284	3,716	99.41%
105	院生	小泉 慶明	理工学研究科	応用化学専攻	トリコセシ配糖体の生産と構造・性状解析、及び穀類での汚染調査	630,000	630,000	0	100.00%
106	院生	山田 拓武	理工学研究科	生体医学専攻	希少がんに対する新規標的分子の同定と治療薬の開発研究	480,000	441,375	38,625	91.95%
107	院生	陳 凱杰	理工学研究科	建築・都市デザイン専攻	WET手法を用いた単独・合併処理浄化槽処理水の生態影響評価	629,000	628,830	170	99.97%
108	院生	伊原 悠晟	理工学研究科	生体医学専攻	無線給電を用いたパッシブ型イオンセンサの開発	560,000	560,000	0	100.00%
109	院生	高橋 華奈	理工学研究科	応用化学専攻	大環状トリコセシ類の取得と抗体医薬への応用	559,000	559,000	0	100.00%
110	院生	山口 希代夏	理工学研究科	応用化学専攻	新規工コ食材を旨とした食用糸状菌の培養と機能性成分の解析	557,000	557,000	0	100.00%
111	院生	萩原 廉	理工学研究科	応用化学専攻	カビ毒トリコセシの毒性発現機構の検証～新規な抗毒素剤の創製を目指して～	558,000	558,000	0	100.00%
112	院生	増岡 知也	理工学研究科	生体医学専攻	抗体薬物複合体と新規ポリトキシフラボノイドの併用による抗腫瘍増強効果の検討	464,000	402,363	61,637	86.72%
113	院生	軽部 梨香子	生命科学研究所	生命科学専攻	遺伝子改変B16メラノーマ担癌モデルにおける腫瘍免疫とがん転移に対するAhRの関与	560,000	560,000	0	100.00%
114	院生	横山 茜	生命科学研究所	生命科学専攻	水素水飲用による免疫恒常性維持と疾患防御	630,000	630,000	0	100.00%
115	院生	藤瀬 なぎさ	生命科学研究所	生命科学専攻	シナプス構造可塑性に関わる脳内タンパク質の解明	479,000	466,589	12,411	97.41%
116	院生	上本 咲来	生命科学研究所	生命科学専攻	餌場における他の動物個体の匂いに対する <i>Sciurus vulgaris orientis</i> の応答行動	560,000	461,899	98,101	82.48%
117	院生	助川 修太郎	生命科学研究所	生命科学専攻	雄性ホルモン投与により雌ティラピア脳内に生じたJAK-STAT関連遺伝子発現増加の意味	557,000	555,342	1,658	99.70%
118	院生	平井 献士	生命科学研究所	生命科学専攻	アカバシカビの転写因子COL-26タンパク質量と多糖分解酵素の発現との相関	700,000	682,653	17,347	97.52%
119	院生	韓 陶嘉	生命科学研究所	生命科学専攻	うつ病モデルマウスと微生物叢-脳-腸軸の相互関与	553,000	488,642	64,358	88.36%
120	院生	東條 菜々花	生命科学研究所	生命科学専攻	日本近海におけるアオウミガメの食性と採餌傾向の違いによる腸内微生物の比較	560,000	560,000	0	100.00%
121	院生	勝又 康介	生命科学研究所	生命科学専攻	新規疎水性プロリンリッチオリゴペプチドの <i>in vivo</i> 影響の解析	560,000	560,000	0	100.00%
122	院生	上野 友紀	生命科学研究所	生命科学専攻	円石藻の石灰化に関わる酸性多糖の解析	560,000	560,000	0	100.00%
123	院生	浅香 力哉	生命科学研究所	生命科学専攻	魚類における主要な心臓転写因子の比較解析	560,000	215,451	344,549	38.47%
124	院生	南園 航	ライフデザイン学研究所	ヒューマンライフ学専攻	後肢荷重低減ラットにおける大腿骨の骨量維持に有効な通電刺激条件の検討	560,000	560,000	0	100.00%
125	院生	八嶋 奈央	健康スポーツ科学研究所	健康スポーツ学専攻	非接触性通電刺激による新たな骨折治療法の開発	630,000	628,802	1,198	99.81%
126	院生	徐 思琴	ライフデザイン学研究所	健康スポーツ学専攻	卵巣摘出に伴うラット腰骨の骨構造の変化と貧血と関連性に関する研究-貧血による骨粗鬆症の早期発見ツールの提案に向けて-	560,000	560,000	0	100.00%
127	欠番(辞退)	-	-	-	-	0		0	0.00%
128	院生	丸山 恵理子	ライフデザイン学研究所	ヒューマンライフ学専攻	精神障害者家族の経験に関する研究	560,000	560,000	0	100.00%
研究の助成(個人)・大学院学生 全27件						15,394,000	14,749,591	644,409	95.81%

【校友等】

#	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					
201	校友	金子 迪大	社会学研究科	社会心理学専攻	幸福メカニズムの検討:所属欲求と食欲の関係	630,000	629,999	1	100.00%
202	校友	下田 俊介	社会学研究科	社会心理学専攻	SNS利用による妬みの生起とその低減要因の検討	630,000	629,884	116	99.98%
203	校友	根本 崇司	理工学部	応用化学科	温室効果ガスの抑制を目指した従属栄養脱窒プロセスの検討	690,000	689,524	476	99.93%
204	校友	堀口 元気	生命科学研究科	生命科学専攻	水中での光合成モデルの実証にむけた生化学実験によるモデル構成因子の局在決定	630,000	630,000	0	100.00%
205	校友	片野坂 俊樹	情報連携学研究科	情報連携学専攻	ゲーミフィケーションを組み込んだSTEAM分野のオンライン学習プラットフォームの開発	560,000	560,000	0	100.00%
研究の助成(個人)・校友 全5件						3,140,000	3,139,407	593	99.98%

【共同研究】

【海外協定校との共同研究】

#	身分	研究代表者			海外協定校(国/大学名等)	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						
301	教授	矢野 友啓	健康スポーツ科学部	栄養科学科	サンパウロ大学(ブラジル)	糖尿病合併症としてのヒト乳がん悪性化モデルとしてのイスラエル産腫瘍の可能性の検討	1,599,000	1,429,481	169,519	89.40%
海外協定校との共同研究 全1件						1,599,000	1,429,481	169,519	89.40%	

【新規・研究所プロジェクト】

#	研究所	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						
2023年度応募なし							0			
研究所プロジェクト(新規) 0件							0			

【継続・研究所プロジェクト】

#	研究所名	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						
501	東洋学研究所	伊吹 敬	文学部	東洋思想文化学科	原田 香織, 菊地 章太, 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	1,800,000	1,753,544	46,456	97.42%
502	東洋学研究所	相楽 勉	文学部	哲学科	中里 巧, 菊地 章太, 三重野 清顕, 大野 岳史, 榎本 崇史, 大庭 勝之	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―	946,000	943,999	2,001	99.79%
503	アジア文化研究所	後藤 武秀	法学部	法律学科	井上 貴也, 上田 知亮, 藤田 任那, カク 仁平, 三沢 伸生, 高橋 正樹, 梁凌詩, ナンシー, 佐々木 彩, 朱 大明	アジアインフラ投資銀行(AIIB)による投資とアジア諸国における政治、投資・企業法制の変容―SDGs、不平等をなくし、平和と公正の実現に向けて―	1,800,000	1,799,910	90	100.00%
504	アジア文化研究所	長津 一史	社会学部	国際社会学科	田所 聖志, コロワイナ・クセーニヤ, 山田 香織, ブルエタ ジョハンナ, 田川 夢乃, 中村 昇平, 中野 真備, 渡邊 暁子, 合地 幸子, 鈴木 佑記, 西川 暁	帰還移民の社会的再統合に関する比較研究―日本就労経験者を中心に	1,800,000	1,799,995	5	100.00%
505	アジア文化研究所	子島 進	国際学部	国際地域学科	高橋 典史, 村上 一基, 三沢 伸生, 高橋 圭, 荻 翔一, 佐藤 麻理絵, 岡井 宏文	公共社会学・人類学的視点からの在日ムスリムの多文化共生研究	1,800,000	1,800,000	0	100.00%
506	工業技術研究所	加藤 和則	健康スポーツ科学部	栄養科学科	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	1,798,000	1,782,946	15,054	99.16%
研究所プロジェクト(継続) 全6件							9,944,000	9,880,394	63,606	99.36%

【刊行の助成】

(単位: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					
2023年度応募なし					0	0	0	0
刊行の助成 0件					0	0	0	0

【専任教員個人研究】

(単位:円) (単位:円) (単位:円) (単位:%)

	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					
701	萩原 喜昭	文学部	国際文化コミュニケーション学科	超巨大ブラックホール質量降着メカニズム解明への観測的アプローチ	857,000	790,153	66,847	92.20%
702	十重田 和由	経済学部	国際経済学科	MS Harley 3810の分析とヨーロッパにおけるオルフェウスの受容と変容	1,025,000	1,025,000	0	100.00%
703	川上 淳之	経済学部	経済学科	副業を認可する要因とそのパフォーマンスの分析	800,000	798,755	1,245	99.84%
704	入谷 聡子	経済学部	経済学科	エチオピアにおける農道拡張政策の農村生活に及ぼす中短期的影響	946,000	821,733	124,267	86.86%
705	王 娜	経済学部	国際経済学科	中国都市空間構造の変化が農民工の賃金に与える影響に関する実証研究	580,000	579,153	847	99.85%
706	芦谷 典子	経済学部	総合政策学科	J-REITへの農地組み入れ開始が内包する金銭的影響の予測と評価: 定量的アプローチ	592,000	591,998	2	100.00%
707	大野 裕之	経済学部	国際経済学科	日本と東アジア3カ国の高齢化: 老後の生活保障に関する国民意識の分析	590,000	590,000	0	100.00%
708	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におけるESG関連指標の適用可能性	700,000	700,000	0	100.00%
709	奥乃 真弓	法学部	法律学科	株主利益最大化からの転換とESG投資における株主厚生	1,162,000	1,162,000	0	100.00%
710	室松 慶子	法学部	法律学科	ハイブリッドワーク時代のリーダー育成のためのマインドフルネスの研究	838,000	838,000	0	100.00%
711	上田 真理	法学部	企業法学科	「ケア不在」の生活保障政策からの脱却の検証: 日独比較研究	847,000	847,000	0	100.00%
712	片山 美由紀	社会学部	社会心理学科	価値観理論の社会実装とその有効性: 価値観模索のサポートのあり方	1,200,000	1,196,933	3,067	99.74%
713	反町 篤行	理工学部	応用化学科	森林樹冠における大気中マイクロプラスチックの捕捉に関する基礎的な研究	2,000,000	2,000,000	0	100.00%
714	皆川 和夫	理工学部	機械工学科	燃料電池・水素エンジン小型ハイブリッドシステムの実現に向けた超小型レシプロエンジンにおける水素燃焼技術の確立	1,480,000	1,479,989	11	100.00%
715	小山 信也	理工学部	生体医工学科	アーベル多様体上の「チェビシェフの偏り」	1,400,000	1,399,701	299	99.98%
716	井坂 和一	理工学部	応用化学科	化学物質分解の鍵となる微量金属要因の解明	1,400,000	1,399,565	435	99.97%
717	新藤 康弘	理工学部	機械工学科	生体内温度モニタリング機能を有する温熱治療システムの開発	1,400,000	1,399,904	96	99.99%
718	荒巻 俊也	国際学部	国際地域学科	開発途上国における廃棄物収集における住民意識や行動に影響を与える要因の分析	950,000	724,060	225,940	76.22%
719	岡村 敏之	国際学部	国際地域学科	途上国都市を念頭にいた目標設定型モビリティプラン策定に向けての基礎的研究	840,000	840,000	0	100.00%
720	安宅 真由美	国際観光学部	国際観光学科	国内航空会社比較による組織内コミュニケーションの実態調査	798,000	798,000	0	100.00%
721	吉岡 勉	国際観光学部	国際観光学科	宿泊業における生産性の向上に関する研究	690,000	690,000	0	100.00%
722	伊藤 政博	生命科学部	生命科学科	高濃度セシウムイオン耐性を獲得した大腸菌の新奇耐性機構の解明	1,526,000	1,526,000	0	100.00%
723	川口 英夫	生命科学部	生命科学科	メンタルヘルス不調の次世代型セルフケアシステムに関するフィジビリティスタディ	1,624,000	1,623,686	314	99.98%
724	道久 則之	生命科学部	応用生物科学科	化学物質による大腸菌の高度有機溶媒耐性化と有用物質生産への応用	1,390,000	1,390,000	0	100.00%
725	根建 拓	生命科学部	応用生物科学科	熱中症を模した骨格筋細胞モデルの創製と応用	1,750,000	1,655,191	94,809	94.58%
726	権崎 一宏	生命科学部	応用生物科学科	AhRモジュレーターを用いたがん免疫療法の研究	784,000	784,000	0	100.00%
727	吉永 淳	生命科学部	応用生物科学科	頭髪等の炭素窒素安定同位体比に基づく現代日本人の食性解析のための基礎検討	665,000	654,252	10,748	98.38%
728	細谷 孝博	食環境科学部	健康栄養学科	食材の調理加工による高機能ポリフェノールの探索	1,400,000	1,399,981	19	100.00%
729	渡邊 朗子	情報連携学部	情報連携学科	リモートワークにおける知的活動を支援する環境デザイン: 脳血流測定法の適用	500,000	461,418	38,582	92.28%
730	軸丸 芳輝	情報連携学部	情報連携学科	図式力学的観点に基づく建築曲面設計手法の開発に向けた離散曲面論の展開	455,000	96,363	358,637	21.18%
731	麗 麗	福祉社会デザイン学部	子ども支援学科	中国農村寄宿制学校における農村留守児童の居場所づくりに関する研究	1,026,000	1,026,000	0	100.00%
732	岩澤 卓弥	ライフイノベーション研究所		新規ミエロイド系免疫抑制細胞を標的とした動脈硬化症を制御する機能分子の解明	1,120,000	1,119,999	1	100.00%
733	関 蘇軍	学際・融合科学研究科	バイオ・ナノサイエンス融合専攻	直接酸化法による可視光応答型光触媒薄膜の作製とその光触媒活性に関する研究	938,000	439,158	498,842	46.82%
教員(個人研究) 合計33件					34,273,000	32,847,992	1,425,008	95.84%

【共同研究】

【教員】

	研究代表者			研究分担者	研究課題名	(単位:円)	(単位:円)	(単位:円)	(単位:%)
	氏名	学部/研究科	学科/専攻			採択額	執行額	未執行額	執行率
801	箕輪 允智	法学部	企業法学科	林 嶺那、深谷 健	Q方法論による公務員の職種・国別仕事観の探索と実証研究へのアプローチ	1,400,000	1,400,000	0	100.00%
802	榊原 圭子	社会学部	社会心理学科	本間 三恵子	中年期の働く女性のキャリア・ストレスと対処に関するインタビュー調査	279,000	279,000	0	100.00%
803	姜 英淑	社会学部	国際社会学科	金明中	日韓における世代間・男女間の格差と対立の現状と格差拡大の決定要因に関する比較分析	140,000	140,000	0	100.00%
804	竹下 和貴	生命科学部	応用生物科学科	横溝 裕行	河川環境ビッグデータと統計的因果推論の融合による鱒の生態リスク評価手法の高度化	1,140,000	1,140,000	0	100.00%
805	後藤 顕一	食環境科学部	食環境科学科	伊藤 克治、野内 翔一、高橋 三男、金尾 正史、米延 仁志	科学的探究力の育成を指向した高度スパイラルアップ型探究プログラムの開発と実践	1,400,000	1,400,000	0	100.00%
806	井上 広子	食環境科学部	健康栄養学科	桑野 裕子、鈴木 裕一、辻 ひろみ	学童期と青年期の味覚と咀嚼に着目した食・生活習慣、食態度、健康状態の多角的解析	1,330,000	1,330,000	0	100.00%
807	今 有礼	健康スポーツ科学部	健康スポーツ科学科	松生 香里	低酸素トレーニングが内臓脂肪蓄積およびインスリン感受性に及ぼす影響	2,000,000	2,000,000	0	100.00%
教員(共同研究) 合計7件						7,689,000	7,689,000	0	100.00%

【東洋大学出版会による刊行の助成】

身分	氏名	学部	学科	出版書名	(単位:円)
2023年度応募なし					0
出版会による刊行の助成 0件					0

(単位:%)

	措置額	執行額	未執行額	執行率
個人研究65件、共同研究(海外協定校との共同研究・研究所プロジェクト)14件、刊行の助成0件、出版会0件 至79件	72,039,000	69,735,865	2,303,135	96.80%

【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:円)	(単位:円)	(単位:円)	(単位:%)
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	7,961,000	2,809,895	5,151,105	35.30%
事業費合計	80,000,000			