

## 平成 24 年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成 25 年 6 月 24 日

日本大学学長 殿

氏 名 大井 眞 二



所属・資格 法学部・教授

下記のとおり報告いたします。

1 研究課題 メディア秩序の変革期におけるジャーナリズムのパラダイム転換に関する研究		
2 研究組織		
氏 名	所属部科校・資格	役割分担
○研究代表者名 大井眞二	法学部／教授	研究総括、調査設計、文献研究、聞き取り調査
○研究分担者 伊藤 英一 小川 浩一 山本 賢二 仲川 秀樹 兼高 聖雄 福田 充 小林 義寛 佐幸 信介 宮脇 健	法学部／教授 法学部／教授 法学部／教授 文理学部／教授 芸術学部／教授 法学部／教授 法学部／教授 法学部／准教授 法学部／助手	調査設計、聞き取り調査 調査設計、文献研究 調査設計、文献研究 文献研究、データ分析、聞き取り調査 調査設計、データ分析、文献研究 調査設計、聞き取り調査、文献研究 調査設計、データ分析、聞き取り調査 調査設計、文献研究、データ分析 調査設計、文献研究、データ分析、聞き取り調査
3 本研究に関連して外部資金への申請状況、獲得状況		
<p>公募委託研究 (H. 23 年) 大井眞二 (研究代表) 「東日本大震災とマスメディアの役割」公益財団法人新聞通信調査会、採択</p> <p>科研費補助金 (H. 23 年) 宮脇 健 「リスクにおける政策過程の研究—新型インフルエンザを事例として—」(挑戦的萌芽研究)、採択</p> <p>科研費補助金 (H. 24 年) 大井眞二 (研究代表) 「メディア秩序の変革期におけるパブリック・コミュニケーションのパラダイム転換研究」(基盤研究 B) 不採択</p>		

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

部科校名：法学部

氏名：大井 眞二

## 4 研究目的

メディアによって作り出されたり、媒介されたりする現実(media-reality)が、現代社会ほどわれわれの生活を大きく規定している時代はない。われわれが生みの営みを続ける限り、リアルな現実はいわれわれにとって重要な意味をもつ。しかし、他方でわれわれの現実生活の有り様を批判的に振り返ってみれば、われわれが生活の対象としているのは、リアルな現実ばかりではなく、むしろ圧倒的にメディアに媒介される現実である事実に気づかされる。

今、そのメディアが、ラディカルな変革期のただ中にある。既存のメディア秩序が大きく揺らいでいる。こうした変革の只中であって、問い掛けをするならば、

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

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

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

## 5 研究概要

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

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

しかし、日本では、ジャーナリズム、ジャーナリストを対象にした数量的な調査それ自体が極めて乏しい状況にある。本研究は先の日大調査後の「持続と変化」を大きく発展させるものであるが、それ以前の先行研究は「新聞記者アンケート」（日本新聞協会研究所、1994年）、「民放テレビ報道担当者調査」（日本民間放送連盟、1996年）を数えるのみであり、極めて不十分な状況にある。また、そうした大規模調査に、インテンシブな面接調査、新聞・放送の言説・内容分析を加味した研究は、皆無に等しい。

既存の研究は、対象とするメディアを新聞や放送などに限定し、さらに研究対象は狭く、特定の問題に考究を絞る部分的、限定的研究が大勢を占める現状にある。その意味で、本研究は、日本のジャーナリズム研究、メディア研究の既存の状況を大きく改善する意義をもっている。

こうした状況を受けて、本年度は80以上の世界の国と地域が参加する国際的な比較ジャーナリズム調査プロジェクトである Worlds of Journalism Study (<http://worldsofjournalism.org>) に参加することとし、上記の問題意識と具体的な研究作業を拡張し、「2013年版日本のジャーナリスト調査」を実施し、世界のジャーナリズム文化の国際比較を行うこととした。

具体的には共通の質問票を使うことによって、世界におけるジャーナリズム文化の多様性を浮き彫りにすることができる国際比較のフレームをもっている。さらに2007年に実施した「日大調査」から5年を経過したことを踏まえて、この激動の5年間に日本のジャーナリズムは、どのような変化を遂げたのかを明らかにすることを調査目的に加え、広範な調査研究を実施した。本調査は、以下「2013年版日本のジャーナリスト調査」（2013年版日大調査）と称することとした。

部科校名：法 学 部

氏名：大 井 眞 二

## 6 研究結果 (4,000字以上記入してください。) ホームページ等での公開可

本調査研究は、上記研究目的に列挙した目的をもち、概要に記載のとおり、今年度は「2013年版日本のジャーナリスト調査」(2013年版日大調査)を実施した。なお本調査研究は現在進行中であり、以下は現時点(2013年6月24日)での、調査の趣旨、対象、時期、事項、方法、回収数、及び結果などについての報告である。

## 1. 調査の趣旨

本調査は、現在日本のジャーナリズムの現状を定点観測することを目的としている。

この調査は、2007年に日本大学にて実施された「2007年版日大調査」の継続調査であり、この激動の5年間に日本のジャーナリズムの何が変わったか、変わらなかったのか、いわば「変化と持続」を明らかにしようとする調査である。

本調査はまた、2012-14年に実施される「Worlds of Journalism Study」プロジェクト(<http://worldsofjournalism.org>)の一部でもあり、本プロジェクトに「日本チーム」として参加した。この研究プロジェクトは、世界の多様なジャーナリズム文化の現状を明らかにしようとする、国際的な比較調査研究であり、現在80の国・地域が参加を表明している。共通の質問票を使って各国・地域で行われる調査の結果はデータプールとして共有され、データの共同利用は、比較ジャーナリズム研究に大いなる資源を提供することになる。

## 2. 調査対象

日本新聞協会加盟の新聞社・通信社、日本民間放送連盟加盟の放送局に在籍し、日本在住の報道関係者。報道関係者とは取材報道に携わっている編集報道部門(論説委員を含む)を指す。ただし、取材編集において担当されている部門(内容)は問わない。

標本抽出法：対象となる新聞社・放送局(ラジオ・テレビ)は悉皆。

全217社(新聞社：85社、通信社：2社、放送局：130社)。

会社規模により層化し、段階的に票数を割り当てた。具体的な対象会社と配票数の内訳は紙幅のため省略する。個人抽出については、当該部署在籍者の性別・年齢・担当部門において、幅広い属性の方への配布を依頼した。

## 3. 調査時期

2013年1月・2月

## 4. 調査事項

- ・ ジャーナリズムの現状評価
- ・ ジャーナリズムの変化状況
- ・ 取材・報道活動における影響要因
- ・ 取材・報道活動におけるアプローチへの態度
- ・ 新メディアに対する評価
- ・ 自らのジャーナリズム活動に対する評価
- ・ フェイス項目(基本属性、所属先・担当内容など)

## 5. 調査方法

無記名による自記入式の郵送調査法

対象者本人を特定できるサンプリング名簿が入手不可能であるため、会社単位での発送を行い、職域配布後各個人からの返送という手続きで実施した。

【調査依頼から実施の手続き】

- ① 「日本新聞年鑑2013」「日本民間放送年鑑2013」を使用し、対象社名簿を作成した。
- ② 各社の代表番号等に電話をかけ、調査の趣旨説明と対象部署への説明書面郵送許可を依頼した。その際に対象部署名と宛先名を確認した。
- ③ 郵送許可がとれた部署に対し、調査趣意書(調査主体者朱印入り)と関連資料、調査票見本を郵送した。

部科校名：法学部

氏名：大井 眞二

## 研究結果（つづき）

- ④ 書面送付後、再度担当部署に電話をかけ、調査協力と調査票郵送許可を依頼した。  
 ⑤ 調査票郵送許可が取れた部署に対して、返信用封筒に調査票が入った状態の調査票セットを、複数まとめて一括で郵送した。  
 ⑤ 発送先部署において、調査対象者個人に調査票が配布された。  
 ⑦ 対象者が調査票に記入後、個別で返送を行った。

6. 調査回収数 747 票（発送 2200 票、回収率 33.9%）

## 7. 調査結果（一部）

調査事項は多岐にわたるので、以下フェイスの構成、若干の質問に関する回答などについて報告する。なお単純集計の結果に若干の分析を加えた報告をもとに、本年 10 月 25 日（金）にシンポジウムを開催する予定である。

フェイス（カッコ内の数字は被験者の実数）

- ① 性別 男性 79.7%(595) 女性 17.4%(130)  
 ② 年代 20代 10.0%(75)、30代 31.1%(232)、40代 33.6%(251)、50代 18.5%(138)、60代以上 1.1%(8)  
 ③ 最終学歴 高卒 0.9%(7)、短大・専門学校卒 0.9%(7)、大卒 88.4%(660)、大学院卒 6.0%(45)  
 ④ 専門教育の有無  
 ジャーナリズムに関する専門教育を受けたことがある 14.9%(111)  
 ジャーナリズムに関する専門教育を受けたことがない 81.5%(609)  
 ⑤ 現在の所属企業・団体  
 新聞社 51.1%(382)、TV局 46.7%(349)、通信社 2.1%(16)  
 ⑥ 兼務している仕事の有無 あり 13.9%(104) なし 78.4%(586)  
 ⑦ 本職以外の有給活動 あり 1.4%(19) なし 93.8%(701)  
 ⑧ 税込年収  
 400万未満 7.4%(55)  
 400万以上～600万未満 17.0%(127)  
 600万以上～800万未満 18.5%(138)  
 800万以上～1000万未満 16.7%(125)  
 1000万以上～1500万未満 16.9%(126)  
 1500万以上 6.4%(48)  
 ⑨ 勤続年数  
 ～5年 11.2%(84)、6～10年 15.8%(118)、11～15年 16.1%(120)、16～20年 15.3%(114)  
 21～25年 18.1%(135)、26～30年 9.9%(74)、31年以上 6.2%(46)  
 ⑩ 自主的参加の有無  
 ジャーナリズムに関する団体・活動に参加している 3.6%(27)  
 ジャーナリズムに関する団体・活動に参加していない 91.0%(680)

主要な質問項目に関する回答（カッコ内は回答被験者の実数）

- ① 問1 ジャーナリズムの機能果たしている程度  
 a. 議員・公務員・企業経営者等の活動の監視  
 果たしている 15.7%(117)、ある程度果たしている 67.5%(504)、あまり果たしていない 14.9%(111)  
 果たしていない 1.6%(12)  
 b. 国家政策に関する論点の提供  
 果たしている 17.4%(130)、ある程度果たしている 59.6%(445)、あまり果たしていない 20.1%(150)  
 果たしていない 2.5%(19)

注：

必要に応じて、このページをご使用ください。

研究結果 (つづき)

c. 社会問題に対する自らの主張

果たしている 12.6%(94)、ある程度果たしている 51.5%(385)、あまり果たしていない 32.4%(242)  
果たしていない 3.2%(24)

d. 興味をひくニュースの重点的な報道

果たしている 40.6%(303) ある程度果たしている 49.9%(373) あまり果たしていない 8.0%(60)  
果たしていない 0.8%(6)

e. 知的・文化的関心をひく記事の提供

果たしている 16.1%(120) ある程度果たしている 56.9%(425) あまり果たしていない 24.1%(180)  
果たしていない 2.3%(17)

f. 政府発表の真実性の調査

果たしている 4.0%(30) ある程度果たしている 31.5%(235) あまり果たしていない 53.3%(398)  
果たしていない 10.3%(77)

g. 未確認情報を掲載しない

果たしている 30.5%(228) ある程度果たしている 47.1%(352) あまり果たしていない 18.3%(137)  
果たしていない 3.5%(26)

h. 情報を読者に早く伝える

果たしている 44.7%(334) ある程度果たしている 47.3%(353) あまり果たしていない 6.4%(48)  
果たしていない 1.2%(9)

i. 娯楽と休息の提供

果たしている 17.7%(132) ある程度果たしている 52.2%(390) あまり果たしていない 26.5%(198)  
果たしていない 2.9%(22)

j. 複雑な問題に対する分析と解説

果たしている 9.2%(69) ある程度果たしている 52.9%(395) あまり果たしていない 34.3%(256)  
果たしていない 3.2%(24)

k. 社会的弱者の救済

果たしている 5.0%(37) ある程度果たしている 46.2%(345) あまり果たしていない 41.4%(309)  
果たしていない 7.0%(52)

② 問4 ジャーナリズムの変化増減度

a. 編集上の決定をするジャーナリストの自由

非常に増加した 1.3%(10) 多少増加した 13.0%(97) かわらない 56.0%(418)  
多少減少した 25.2%(188) 非常に減少した 2.8%(21)

b. ジャーナリストの平均労働時間

非常に増加した 23.3%(174) 多少増加した 34.0%(254) かわらない 30.8%(230)  
多少減少した 10.2%(76) 非常に減少した 0.5%(4)

c. 記事の調査に利用できる時間

非常に増加した 0.8%(6) 多少増加した 7.8%(58) かわらない 32.0%(239)  
多少減少した 43.1%(322) 非常に減少した 14.9%(111)

d. ジャーナリストの読者・視聴者との交流

非常に増加した 4.1%(31) 多少増加した 33.6%(251) かわらない 44.6%(333)  
多少増加した 15.1%(113) 非常に増加した 1.3%(10)

e. 専門技術的スキルの重要性

非常に増加した 22.8%(170) 多少増加した 39.6%(296) かわらない 26.0%(194)  
多少減少した 8.8%(66) 非常に減少した 1.7%(13)

f. サーチ・エンジンの利用

非常に増加した 48.1%(359) 多少増加した 36.4%(272) かわらない 13.1%(98)  
多少減少した 0.7%(5) 非常に減少した 0.3%(2)

研究結果 (つづき)

g. 大学の学位をもつ重要性

非常に増加した 0.8%(6) 多少増加した 6.0%(45) かわらない 71.6%(535)  
多少減少した 13.7%(102) 非常に減少した 6.7%(50)

h. ジャーナリズムや関連分野の学位をもつ重要性

非常に増加した 1.2%(9) 多少増加した 8.3%(62) かわらない 69.1%(516)  
多少減少した 13.0%(97) 非常に減少した 7.2%(54)

i. ジャーナリズムの信頼性

非常に増加した 5.4%(40) 多少増加した 9.5%(71) かわらない 28.0%(209)  
多少減少した 44.7%(334) 非常に減少した 11.2%(84)

j. 読者・視聴者のニュース制作への参加

非常に増加した 5.8%(43) 多少増加した 47.8%(357) かわらない 39.0%(291)  
多少減少した 5.2%(39) 非常に増加した 0.5%(4)

k. 読者・視聴者のフィードバック

非常に増加した 7.5%(56) 多少増加した 48.3%(361) かわらない 38.3%(286)  
多少減少した 4.0%(30) 非常に減少した 0.3%(2)

l. センセーショナルなニュースへの圧力

非常に増加した 7.1%(53) 多少増加した 27.0%(202) かわらない 57.0%(426)  
多少減少した 6.6%(49) 非常に減少した 0.8%(6)

m. 社会にとってのジャーナリズムの現実的意義

非常に増加した 5.5%(41) 多少減少した 21.8%(163) かわらない 45.2%(338)  
多少減少した 23.2%(173) 非常に減少した 2.4%(18)

③ 問9 「非常に重要な情報の入手や報道」に関する行為について

a. 秘密の情報を得るために金を支払う

常に正当化される 0.8%(6) 場合によっては正当化される 47.0%(351)  
いかなる場合でも正当化されない 51.4%(384)

b. 秘密の情報を政府や企業の許可なしに記事にする

常に正当化される 22.1%(165) 場合によっては正当化される 68.8%(514)  
いかなる場合でも正当化されない 8.2%(61)

c. 記事にしないことを約束しその約束を守らない

常に正当化される 0.8%(6) 場合によっては正当化される 31.7%(237)  
いかなる場合でも正当化されない 66.7%(498)

d. 記事を得るために消極的な情報提供者に圧力をかける

常に正当化される 1.3%(10) 場合によっては正当化される 38.6%(288)  
いかなる場合でも正当化されない 58.5%(437)

e. 手紙や写真のような私的な文書でも許可なく使用する

常に正当化される 0.1%(1) 場合によっては正当化される 38.2%(285)  
いかなる場合でも正当化されない 60.6%(453)

f. 他の誰かを装って取材する

常に正当化される 0.3%(2) 場合によっては正当化される 22.5%(168)  
いかなる場合でも正当化されない 76.6%(572)

g. 隠しカメラ・隠しマイクを使う

常に正当化される 0.9%(7) 場合によっては正当化される 9.5%(519)  
いかなる場合でも正当化されない 28.8%(215)

h. 内部情報を得るために企業に職をえる

常に正当化される 1.1%(8) 場合によっては正当化される 38.3%(286)  
いかなる場合でも正当化されない 59.2%(442)

研究結果 (つづき)

i. 俳優を使ってニュースを再現したりドラマ化したりする

常に正当化される 16.1%(120) 場合によっては正当化される 70.3%(525)

いかなる場合でも正当化されない 12.0%(90)

j. 情報源から金を受け取る

常に正当化される 0%(0) 場合によっては正当化される 4.6%(34)

いかなる場合でも正当化されない 94.8%(708)

k. 情報源からの引用を改変したりねつ造する

常に正当化される 0.1%(1) 場合によっては正当化される 2.7%(20)

いかなる場合でも正当化されない 96.7%(722)

l. 写真を改変する

常に正当化される 0.1%(1) 場合によっては正当化される 8.7%(65)

いかなる場合でも正当化されない 90.4%(675)

なお単純集計の結果に若干の分析を加えた報告をもとに、本年10月25日(金)にシンポジウムを開催する予定である。また、上記のシンポジウム及び本調査研究の成果の一部は、日本大学法学部新聞学研究所紀要『ジャーナリズム&メディア』第7号(2014年3月発刊予定)の特集企画として掲載する予定である。

課題番号	総 12-002
	総 11-002

## 平成24年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成25年5月6日

日本大学学長 殿

氏 名 齋藤 稔



所属・資格 文理学部物理生命システム科学科・教授

下記のとおり報告いたします。

1 研究課題 匂いセンサを用いた匂いセンシングシステム・ロボットの開発		
2 研究組織		
氏 名	所属部科校・資格	役割分担
○研究代表者名 齋藤 稔	文理学部物理生命システム科学科・教授	匂いセンサの開発、生物嗅覚系の生理実験、研究の統括
○研究分担者 関根好文	理工学部電子情報工学科・教授	嗅覚系ニューラルネットワークのハードウェアモデルの構築
内木場文男	理工学部精密機械工学科・教授	匂いセンシングシステム搭載マイクロロボットの開発
佐伯勝敏	理工学部電子情報工学科・教授	匂いセンサの開発、嗅覚系ニューラルネットワークのハードウェアモデルの構築
小松崎良将	理工学部物理学科・助教	生物嗅覚系の生理実験
齋藤 健	理工学部精密機械工学科・助教	嗅覚系ニューラルネットワークのハードウェアモデルの構築、匂いセンシングシステム搭載マイクロロボットの開発
3 本研究に関連して外部資金への申請状況、獲得状況		
<p>齋藤 稔：JST・A-STEP「医療・健康分野への応用を目指した匂いセンサの開発」（H24～H25）、平成24年申請、採択          科研費・基盤研究（C）「医療・健康分野への応用を目指した匂いセンシングシステムの開発」（H25～H27）、平成24年申請、不採択</p> <p>佐伯勝敏：双葉電子記念財団・自然科学研究「脳型情報処理システムのための連想記憶モデルの構築」（H24）、平成24年申請、不採択          科研費・基盤研究（C）「柔軟でロバストな高集積デバイスの開発」（H25～H27）、平成24年申請、採択</p> <p>内木場文男：科研費・基盤研究（C）「ニューラルネットワーク IC 搭載無索化 MEMS マイクロロボットの開発」（H25～H27）、平成24年申請、採択</p> <p>小松崎良将：科研費・若手研究（B）「海馬シナプスに対する急性ストレス作用の <i>in vivo</i> 研究」、平成24年申請、不採択</p>		

※「6 研究結果」について、ホームページ等での公開  否  いずれかを○で囲んでください。  
 否の場合は、理由書を添付して下さい。



部科校名：文理学部

氏名：斎藤 稔

## 4 研究目的

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

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

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

## 5 研究概要

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

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

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

部科校名：文理学部

氏名：斎藤 稔

## 6 研究結果 (4,000字以上記入してください。)

本研究は平成23年度より継続して行われたものである。

上記の通り、匂いセンサには様々な分野で多くの用途が期待されるが、本研究ではまず爆発物検知装置への応用を検討した。本匂いセンサの素子構成は、楕形電極上あるいは水晶振動子やSAW (Surface Acoustic Wave) デバイス上に感応膜を成膜し、匂い物質が吸着した際に生じる感応膜の電気特性変化や重量変化を測定するものである。いずれも小型で量産可能な素子である。感応膜の成膜は真空蒸着により行うが、基板温度・成膜速度・膜厚等の成膜条件を詳細に制御する装置を構築した。そして、フタロシアニンとトリエタノールアミンを感応膜とした場合の本匂いセンサの爆発物検知装置への応用の可能性を検討した。爆薬から蒸気として発生するトリニトロトルエン (TNT) (一般的な火薬) やヘキサソーゲン (RDX)・ペンスリット (PETN) (プラスチック爆弾の主成分) に対して本匂いセンサが十分な感度を有するかは確認できなかったが、成膜条件を最適化することにより、楕形電極上にフタロシアニン感応膜を成膜したタイプで、同じく爆薬から発生するNO<sub>x</sub>に対して極めて高感度 (ppb以下のオーダーから) 応答することが確認された。この結果より、以後、感応膜としては主にフタロシアニンを用いることとした。新規な検出方法としてはSAWデバイスの挿入損失変化を測定する方法を考案した。SAWデバイスとして共振周波数320.09 [MHz]、Q値 $1.24 \times 10^4$ のものをを用い、測定器制御ソフトLabVIEWにより測定器の分解能を活かしたことで $10^{-5}$  [dB]の分解能で挿入損失の変化量を測定することが可能になった。これによりNO<sub>x</sub>に対する高感度化が実現できた。以上の結果より本匂いセンサの爆発物検知装置への応用の可能性が確認された。SPR (Surface Plasmon Resonance) など他の素子構成や感応膜の光学的特性変化を測定するような他の検出方式により、NO<sub>x</sub>に対するさらなる高感度化、TNTやRDX・PETNを測定対象にできるかの検討も行ったが、実験には至らなかった。

また、LabVIEWを用いて本匂いセンサの匂い応答特性の測定を自動に行う測定系を構築し、各種匂い物質に対する応答特性を系統的に調べた。その結果、本匂いセンサがトリメチルアミンに高感度 (ppbオーダーから) 応答することを見出した。トリメチルアミンはVOC (工場等で発生する悪臭やシックハウス症候群を引き起こす原因とされている揮発性有機化合物 (Volatile Organic Compound)) の1つであり、塗料添加物、界面活性剤や樹脂硬化剤など幅広い分野に応用されている。大気汚染防止法により有機大気汚染物質に指定され、環境省により環境保全のための要調査項目に指定されている。また、悪臭の原因物質でもあることから、環境中からの除去法、検知法の確立が求められている。その臭気閾値は0.48 ppmであり、5~10 ppmで軽度のめまい症状が見られ、10~15 ppmでめまい症状は明確に現れて眼・鼻・喉に刺激を感じ、15 ppm以上では視覚障害や頭痛が見られる。一般にVOCは長期的な摂取による人体への悪影響が問題視されており、これを検出できる匂いセンサを開発することは重要である。また、二酸化硫黄 (SO<sub>2</sub>) に対しても高感度 (ppbオーダーから) 応答することを見出した。SO<sub>2</sub>は自然発生的には火山などから、人為的には化石燃料の燃焼により発生し、せき、喘息、気管支炎などの障害を引き起こす。濃度が0.1~1 ppmで匂いを感じ、5~10 ppmでせきや痰が発生し、20 ppmでは目に刺激を感じ、せきがひどくなる症状が現れる。一方、低濃度である0.2 ppmの濃度でも長時間吸い続けることで気管支に障害が発生するため、これを検出できる匂いセンサを開発することもやはり重要である。さらに、病気の罹患者から発生する匂い物質、例えばがん患者の呼気に含まれる揮発性有機化合物 (アルカン、芳香族化合物など)、糖尿病患者の呼気に含まれるアセトンに反応することも見出した。肝機能・腎機能障害患者の呼気に含まれるアミン系物質 (アンモニア、トリメチルアミンなど) にも上記の通り反応する。このことから、本匂いセンサを医療・健康分野に応用できる可能性も高いことが分かった。

次に、以上のような様々な匂い物質を検出する汎用的な匂いセンシング装置のプロトタイプを作製した。匂いセンサの素子構成としては楕形電極上にフタロシアニン感応膜を成膜したタイプとし、電極間隔を従来の50 μmから10 μmに変更した。これにより素子の電気抵抗が $10^8 \sim 10^9 \Omega$ から $10^6 \sim 10^7 \Omega$ に減少し、電気特性変化を測定する回路の設計が容易になり10 cm×10 cm×5 cm程度の装置を試作した。今後は、これに開放空間からの空気の採取部や目的成分の選択的透過膜を組み込むことにより高性能・高感度化を試みる (爆発物検知装置の実用化には、排ガス中のNO<sub>x</sub>分析用としてNO<sub>x</sub>採取装置が既に実用化されており、これを利用することも考えられる)。今後はまた、様々な匂い物質を識別する方法を考案することも必要である。

部科校名：文理学部

氏名：斎藤 稔

## 研究結果（つづき）

例えば、匂い物質に対する応答性の異なるいくつかのセンサを開発し、それらの応答性の違いから匂い物質を識別することが考えられる。本研究では、フタロシアニンとトリエタノールアミンを感応膜とした場合にそれらのセンサが匂い物質に対して異なった応答を示し、またフタロシアニンの中心金属を変えることにより匂い物質に対する応答特性が変化することを見出したが、さらに他の感応膜材料の探索も行う必要がある。

また、生物の嗅覚機構を模倣した匂い識別方法も考え得る。本研究では、実験動物、特に軟体動物の嗅覚系の生理実験を行い、匂い情報がどのように脳の神経細胞の活動パターンによって処理されるかを調べた。まず、軟体動物の嗅覚系における多数の神経活動を同時測定する膜電位イメージング法の実験系を構築した。そして、これを用いて実験動物ナメクジの嗅覚中枢神経節の構造・機能を調べた。その結果、ナメクジの嗅覚中枢神経節では匂い刺激前には神経活動がその先端部から基部に向かって伝播しているのに対し、触角への匂い刺激後には（特に忌避性の匂い物質に対して）神経節全体の多数の神経細胞が同調して活動することを見出した。また、このときの神経活動に対して非線形解析（Wavelet 解析）を行ったところ、広い周波数帯に分布していたエネルギーが、匂い刺激後にはいくつかの周波数帯に集中しエントロピーが減少していることが分かり、匂い情報が獲得されていることが示された。これらの結果から、ナメクジの嗅覚系では神経活動パターン（これはアトラクタとして定式化される）を用いて様々な匂いの識別を行っていることが示唆された。以上の結果に基づき、ナメクジの嗅覚系ニューラルネットワークのハードウェアモデルを構築することを試み、ナメクジの嗅覚系と同様な神経活動パターンおよびそれに対応したアトラクタが生成可能であることをシミュレーションにより明らかにした。そして、VDEC（VLSI Design Education Center）において1.2  $\mu\text{m}$  のデザインルールを用いた CMOS・IC チップ設計を行い、2.3 mm 角の IC チップ上に嗅覚系ニューラルネットワークの基本構成要素を実装した。

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

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

## 平成24年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成 25 年 5 月 27 日

日本大学学長 殿

氏 名 小川 直宏



所属・資格 経済学部・教授

下記のとおり報告いたします。

1 研究課題 国民移転勘定（NTA）に基づく少子化・高齢化研究－日本を中心として		
2 研究組織		
氏 名	所属部科枝・資格	役割分担
○研究代表者名 小川直宏	経済学部・教授	本研究を総括する
○研究分担者 小巻泰之	経済学部・教授	国民所得勘定と NTA のリンクに関する研究
宮里尚三	経済学部・准教授	NTA における年金を中心とする公的移転の研究
青木千賀子	国際関係学部・教授	NTA 研究におけるジェンダー導入とアジアの家族変遷
清水浩昭	文理学部・教授	世代内・世代間の私的移転に関する研究
大井田隆	医学部・教授	医療に関する公的・私的移転分析
3 本研究に関連して外部資金への申請状況，獲得状況		
H25 特別推進研究（H25～H29）申請，不採択		
H25 基盤研究（S）（H25～H29）申請，応募中		

※「6 研究結果」について，ホームページ等での公開（可）否）いずれかを○で囲んでください。  
否の場合は，理由書を添付して下さい。

部科校名：経済学部

氏名：小川直宏

## 4 研究目的

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

本研究で使われる理論的なフレームワークは国民移転勘定（NTA）システムと呼ばれるものである。従来行われてきた高齢化問題の分析アプローチでは、公的年金制度などの公的移転に関する研究はマクロデータを駆使して行われ、親子間の経済支援の問題や老親の在宅介護負担などの家族レベルの私的移転の問題についてはミクロデータを中心に分析が行われてきた。しかし NTA ではこれらの分析のギャップを埋め、公的・私的2つの移転問題に関する分析を統計的にミクロとマクロ同時に、しかも経済学的にもこれらの間の整合性を保ちながら分析する画期的な手法となっている。

しかも NTA ではすべての公的・私的移転に関する変数に年齢が組み込まれているので、年齢構造の変化による世代間移転のパターンの変化を分析することが可能となる。それにより、例えば子ども世代の教育費用のため親世代が家計から学校や塾などにいくら支払っているか（私的移転）と親世代が毎年支払う租税を通して国公立・私学の教育機関に公的補助金などの形でいくら支払っているか（公的移転）など各年齢における子どもの教育費が私的・公的移転でそれぞれ年間いくらであるかを実数値で示すことができる。これらの数値を時系列的に分析することにより、「教育費が少子化の理由であるのか」という問いに対して実証的に裏付けられた答えを出すことができる。

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

初年度の研究を通して、幾つかの新しい共同研究の萌芽も生まれてきている。国内では本研究メンバーが、2011年9月より独立行政法人経済産業研究所と一橋大学が共同で実施している『くらしと健康の調査（JSTAR）』の研究メンバーとして参加しており、NTA指標とJSTARから得られる各種データとの融合及び応用分析の可能性を模索し始めている。国際的には本研究メンバーが中心となって、国連、アジア開発銀行、世界銀行などの国際機関と共同でNTAをベースにした研究プロジェクトが既に開始され、一層進展させる方向で今後の可能性を模索している。

## 5 研究概要

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

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

第2年度では第1年度に推計されたNTA指標を使用しての政策志向のシミュレーション分析が基本的な目的となる。NTA指標は、人口高齢化や少子化、所得格差などの問題に効果的な政策提言資料を提供するが、政策提言資料としてよりその有効性が期待されているのはNTAを用いた将来推計である。

シミュレーション分析にはNTA指標の将来パターンを推計が必要となるが、それには様々な分析をベースにした一定のシナリオなどが必要となる。しかしNTAの将来推計を完成した形で行っている国はこれまでなく、本研究チームのメンバー間での研究会や国内外の専門家などとのコミュニケーションを通して、シミュレーションモデルの構築を進める。

特に、人口高齢化が社会にもたらす経済的な負担について、労働や資産再配分などの視点からのシミュレーション分析や教育を投資という立場から経済成長に対する貢献度をシミュレーションを駆使して研究する。

また、ジェンダーや時間配分の導入など、NTA自体の精度を更に高める研究にも取り組む予定である。

部科校名：経済学部

氏名：小川直宏

6 研究結果 (4,000字以上記入してください。)

地球規模で起こっている出生低下・長寿化による年齢構造変化は、現代で最も大きな社会的、経済的、政治的変容の1つである。この人口構造の変化は引退後の長期化による貯蓄の重要性の増大、介護を分担する兄弟・姉妹の数の減少による負担の増大、必要とされる地域サービスの変容、引退後の人々を支える働き手の減少による年金財政の悪化など、様々な影響を長期間にわたり国家、地域、家族そして個人に対して与えることになる。

本研究は、これらの問題に対処すべき分析ツールとして国際的に評価されている国民移転勘定 (NTA) を発展させ、個々人の行動についての基礎的理解を得ることを通し、様々な少子高齢化社会における社会・経済問題への対応を考察することを目指している。2011年4月から開始された本研究は、2年間の研究期間を想定して研究が行われた。

第1年度では、国民所得勘定から得られるデータ、『全国消費実態調査』(総務省統計局)のマイクロデータ、その他の政府刊行のデータをベースに国民移転勘定 (National Transfer Accounts、以下NTA) の2009年の値を計算した。1984年、1989年、1994年、1999年および2004年の5ラウンドについては日本大学人口研究所が既に2006年4月～2011年3月までに実施した文部科学省からの高度化推進事業の一環として完成させている。このNTA指標の計算には政府が実施する『全国消費実態調査』の個票データの使用が不可欠であり、さらに膨大な量の時系列およびクロスセクションの資料に基づく計算が必要になる。2011年度においては、2009年に実施された『全国消費実態調査』を統計局から本研究メンバーに対して1年間限定で使用可能となり、2009年のNTA指標の計算が本研究の第1年度の基幹的な活動を形成した。研究2年目以降では、(1)この推計された25年間(1984年～2009年)分のNTA指標を分析、さらに(2)NTA指標を使用してシミュレーションモデルの構築などの研究が行われた。

1984年から2009年のNTA指標の完成により、この25年間においてどのような世代間移転が行われてきたかの分析が進められ、この間で著しい変化が観察されている。例えば、本研究プロジェクトでは世代間移転を公的移転と私的移転に分けて分析しているが、公的移転では若年期の不足から余剰への転換年齢は25年間22歳のまま変わらなかったが、高齢期に余剰から不足に転換する年齢は1984年と1989年では60歳であったが、5年ごとに1歳のペースで上昇し、2009年では63歳になっている。この高齢期における変化は、年金受給開始年齢の引き上げ・定年年齢の緩やかな上昇を反映していると考えられる。これに対し、私的移転では若年期、高齢期ともに公的移転よりも大きく変化している。若年期の転換年齢は1984年の27歳から1999年の30歳へと連続的に上昇し、その後は2009年まで30歳で安定している。一方、高齢期の転換年齢は、1984年には64歳だったが、2009年に80歳と25年間で16歳も上昇している。成人した子供の稼得能力の低下で経済的な親離れが遅れていることに加えて、高齢の親は年金収入や長期的な資産の増大により、経済的に子供に頼る必要が減っていることが明らかになった。以上の結果から、人口学的には子供を0～14歳、高齢者を65歳以上と定義することの実質的な意味が希薄化しているといえる。これらの研究成果はアジア開発銀行との共同研究として、(書籍『Aging, Economic Growth and Old-age Security in Asia』Edward Elgar, 2012年)として発表されている。

公的・私的の移転を詳細に指標化したNTAは、それら変数を使用して多様な目的を持ったシミュレーションモデルの構築が可能である。本研究プロジェクトではわが国だけでなく、国際的な政策課題として注目されている2つの問題に対してシミュレーションモデルの構築を行っている。

一つ目は、米国東西センターのSang-Hyop Lee教授とシミュレーションモデルの開発を行っている。シミュレーションモデルは、年金受給開始年齢の引き上げにより、ライフサイクルでの貯蓄率の変動が経済に与える影響を推計するものである。このモデルの結果は、現在、実際に年金受給開始年齢の引き上げが行われているわが国において、大きな知見を与える研究といえる。また、このモデルに関しては、シミュレーションモデルのソフトウェアの開発も行っている。国際的な研究体制が整っているNTAでは、わが国でのシミュレーションモデルを完成、発展させることで、他の国と比較可能な研究ツールとなり、今後の新たな研究に繋がるものである。

部科校名：経済学部

氏名：小川直宏

## 研究結果（つづき）

さらに、ドイツ、マックスプラン研究所の Miguel Sanchez Romero 博士とともに、わが国における遺産額の推計を試みた。このモデルは世帯重複モデルを応用しており、遺産額のマクロ的経済インパクトの測定が可能になる。遺産額を詳細に推計するモデルは、各歳で推計された個人の経済活動が指標化された NTA 指標があればこそ構築が可能になった画期的なモデルである。この試算結果から、2020 年まではマクロ経済における遺産額がわが国の経済を発展させる傾向になっていることが分かった。しかし、このモデルを使った推計には、日本のように超長期（100 年以上の時系列データ）のデータを集計する必要があり、汎用的なソフトウェア開発までには至っていないが、今後も研究を続ける予定である。また、この研究成果は、2013 年 8 月に行われる国際人口学会で発表される予定となっている。

その他の研究成果としては、現在 41 ヶ国が参加している NTA 研究であるが、国連本部は NTA に関するマニュアル作成作業に 2011 年末から取り組んでおり、本プロジェクトメンバーもその作業に協力している。マニュアルは 2013 年には出版されることが予定され、NTA の分析手法としての有用性は今後一層、国際的な評価が高まることを示唆している。

このように国際的に評価が高く、多くの実績を残している NTA 研究であるが、研究規模の大きさから、当プロジェクトにおける 2 年間の研究期間だけでは分析対象を全てカバーすることが難しく、今後も NTA をベースとした研究を継続・発展させていく必要がある。また、本プロジェクトを通し、現状での NTA をベースとして使用する分析の限界も認識されるようになってきている。つまり、現行の NTA 分析の手法は定常性の仮定の下、平均的家計のライフサイクルとして考察されることも多いが、多様性を許容する枠組みを作ることには限界がある。そのため、この多様性を NTA の枠組みに追加するため、さらに発展した基礎研究基盤を構築する必要性が出てきている。そのようなことを可能とする一つの方法は、NTA と「くらしと健康の調査」（以下 JSTAR）を併用し、新しい研究フレームワークを作ることである。

JSTAR も、NTA と同様にこれまで国際的評価の高い調査として、アメリカの HRS (Health and Retirement Study) や、英国の ELSA (English Longitudinal Survey on Ageing), 現在大陸欧州 20 カ国をカバーする SHARE (Survey on Health, Ageing and Retirement in Europe) など比較可能な調査としてデザインされている。従って、NTA と JSTAR が融合できると、これまでにない分析ツールとして、日本だけでなく、他の国にも応用可能な、まさに世界的に最先端の研究になりうる潜在性を持っている。

このことを鑑み、本プロジェクトの研究を発展、補完させるという意味でも、この NTA と JSTAR を融合する研究プロジェクトを計画し、2013 年度文科省の科研費として申請した。この研究プロジェクトが政府の大きな研究の柱として認識されれば、本学プロジェクトも、その大きな役割を担ったこととなり、いわば本プロジェクト最大の成果となるかもしれない。

なお、このほかにも本研究プロジェクトから、派生している研究成果は、存続発展している。例えば、オーストリアの国際応用システム分析研究所 (IIASA: International Institute for Applied Systems Analysis) の Vegard Skirbekk 博士と年齢別の生産性を認知能力を基に計測する新しい研究や、カリフォルニア大学バークレー校の Alan Auerbach 教授や漢陽大学の Young Jun Chun 教授と共同で行っている NTA を利用した新しい世代会計についての書籍を発行するための研究が進んでいる。

さらに国内では、大阪大学の竹文雄教授や小原美紀教授と NTA 指標を応用した経済的な格差に関する共同研究が進んでいる。その他、総務省、内閣府、マスコミなどへの資料提供など様々なレベルでの NTA 研究が進んでいる。

2 年度目における代表的な研究成果に関しての具体的な実績は以下の通りである。

部科校名：経済学部

氏名：小川直宏

## 研究結果（つづき）

## 【研究発表】

Naohiro Ogawa, "Discussion: Professor Lee's paper and the NTA project", The 2012 BOJ-IMES Conference: Demographic Changes and Macroeconomic Performance, May 30, 2012.

小川直宏・松倉力也, 「国民移転勘定における2つの support ratios について」, 日本人口学会第64回大会, 2012年6月2日.

Naohiro Ogawa, "The End of the First Demographic Dividend and Labor Market Responses in China and Other East Asian Economies", International Symposium on China's Demographic Transition and Socio-economic Development, August 20, 2012.

Naohiro Ogawa and Rikiya Matsukura, "Low Fertility and the High Costs of Children and the Elderly in Selected East and Southeast Asian Countries: An NTA Approach", Asian Population Association Conference 2012, August 27, 2012.

Naohiro Ogawa, "Harnessing Asia's Demographic Dividend: Comments", The Second Annual IMF-SCID Conference on Emerging Asia, September 14, 2012.

Naohiro Ogawa and all the NTA-Asia Members, "Rapid Aging and Changing Intergenerational Transfers in Asia's NTA Countries", Asia Regional NTA Conference, September 22, 2012, Bangkok.

小川直宏, "Can Japan Survive the Coming Age Storm?", UNFPA 公開シンポジウム「21世紀の高齢化社会にどう挑むのか」, 2012年10月1日.

Naohiro Ogawa, "Population ageing in Asia", Round table Seminar on Global Population Ageing, October 2, 2012.

Naohiro Ogawa, "The Coming Age Storm: Are Japan and Germany in the Same Boat?", German-Japanese Symposium on Positive Aging, October 9, 2012.

Naohiro Ogawa, "Japan's Changing Demographics and Policy Responses", TPA's Annual National Symposium on Population Studies, November 22, 2012.

小巻泰之, 「90年代の財政政策のリアルタイム検証」, 地域経済活性化と無形資産の役割・ワークショップ, のと海洋ふれあいセンター, 2012年8月21日.

小巻泰之, 「政府統計のリビジョンスタディ Real Time データベースの整備の現状を通じて」, 研究集会「経済統計・政府統計の数理的基礎と応用2012」, 青森公立大学, 2012年9月28日.

青木千賀子, 「社会開発におけるソーシャル・キャピタルの活用－ネパールのマイクロファイナンスの活動事例から－」, 日本比較生活文化学会, 2012年11月10日, 日本大学.

## 【論文】

Naohiro Ogawa, Sang-Hyop Lee, Rikiya Matsukura, An-Chi Tung, and Mun Sim Lai, "Population aging, economic growth, and intergenerational transfers in Japan: how dire are the prospects?", *Ageing, Economic Growth, and Old-Age Security in Asia*, 2012, pp.231-276.

Naohiro Ogawa and Qiulin Chen, "End of the first demographic dividend and possible labor market response in China and other Asian countries", *China & World Economy*, Vol. 21, Issue 2, 2013, pp.78-96.

青木千賀子, 「ネパールの社会開発におけるマイクロファイナンスの活動とソーシャル・キャピタル」, 『国際関係研究』, 第33巻第1号, pp.35-43, 2012年.

清水浩昭, 「地域性からみた高齢者家族のゆくえ」, 『統計』, 第63巻第9号, pp.45-50, 2012年9月.

清水浩昭, 「高齢者家族と介護のゆくえ－別居制社会の事例分析－」, 『統計』, 第63巻第11号, pp.40-44, 2012年11月.



## 平成24年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成 25 年 4 月 22 日

日 本 大 学 学 長 殿

氏 名 豊 川 和 治



所属・資格 国際関係学部 ・ 教授

下記のとおり報告いたします。

1 研究課題 中国の経済発展と日本及び世界への影響に関する研究		
2 研究組織		
氏 名	所属部科校・資格	役割分担
○研究代表者名 豊川 和治	国際関係学部 教授	総括, 日中の情報サービス産業の比較研究・実地調査
○研究分担者 秋山 孝允	国際関係学部 研究所教授	中国の海外経済援助・直接投資とその影響の研究
岡本 博之	国際関係学部 教授	中国のエネルギー需給の展望と世界経済の研究
曾根 康雄	経済学部 教授	中国の金融システムの市場化に関する研究・聞き取り調査
陳 文奉	国際関係学部 准教授	中国のサービス産業の発展の構造分析研究・聞き取り調査
法専 充男	国際関係学部 教授	中国のマクロ経済分析ー物価動向の研究
村上 直樹	大学院総合科学研究科 教授	中国の人的資本の再配分のダイナミックスの研究・聞き取り調査
本研究に関連して外部資金への申請状況, 獲得状況		
平成26年度科学研究費助成事業 基盤研究(B) 分科: 経済学 細目: 経済政策に申請予定。		

※「6 研究結果」について, ホームページ等での公開 (可・否) いずれかを○で囲んでください。  
否の場合は, 理由書を添付して下さい。

部科校名：国際関係学部

氏名：豊川 和治

## 4 研究目的

目覚ましい経済発展を続け GDP で世界第 2 位となった中華人民共和国は、我が国にとって輸出・輸入とも最も貿易取引量の多い隣国である。従来、我が国をはじめとする、先進国は安価な労働力を期待し、製造拠点を中国などに移転する方針、いわゆる「世界の工場—中国」という枠組みの恩恵を受けていた。しかし、近年中国国内自体の旺盛な個人消費の増加、活発な設備投資水準の維持などに支えられ、二桁近い経済成長を継続するとともに、中国自体が世界でも有数の活発な市場を形成するようになった。それとともに、かつて労働力資源が容易に得られる状況は影をひそめ、賃金引き上げを中心とする各種労働争議の増加に直面している。

この研究では、この中国の経済発展のダイナミズムを、多面的・学際的な視点で捉えることにより、我が国や世界の経済、およびその発展の枠組みにどのような影響を与え得るか、解明することを目的とする。

多面的・学際的な視点とは、まずマクロ経済のアプローチより、中国経済はルイス転換点に到達したのかどうかを検証し、従来中国からの安価な製品の多量輸入により先進国の物価を引き下げる効果を果たしてきたが、この効果今後どのように変容し、物価にどのような影響を与えるか分析と調査により明らかにする。

中国国内の人的資本の地理的な、産業構造的な再配分が、地域間格差是正と調和のとれた経済発展に果たす役割を、理論的、実証的に解明する。

中国にとってサービス産業が、今後の発展の原動力となることが期待されている。本研究では、中国の金融、保険、情報通信など、現代世界と比較して発展の遅れているサービス業に焦点を当てて、分析・調査し、今後の発展のダイナミズムを明らかにする。

さらに、中国の海外援助、直接投資の資金の流れの分析、海外依存度を高めている石油や天然ガスなどのエネルギー需給の短期・中長期展望などを通して、中国の世界における新たな経済的ステータスの研究を通して解明し、貢献することを目的とする。

## 5 研究概要

本研究は、5 つの分野について各担当者が並行して調査・研究を推進するとともに、研究期間の後半に、中国の大学から専門家を日本に招き、得られた研究成果を発表し、討論するためのシンポジウムを開催した。

各分野の研究として：

## A. 中国の物価動向と日中経済の研究

中国経済はいわゆるルイス転換点に到達し、農村の余剰労働力は枯渇したのか。これらの解明のため、文献調査、Penn World Table(PWT)などよりデータを入手し計量分析を行った。

## B. 中国の人的資本の地理的な再配分、地域格差是正効果の研究

労働力の移動・帰郷を通じた人的資本の地理的配分が中国における地域間格差是正に果たす役割を明らかにしようとした。

## C. 中国のサービス産業の発展のダイナミズムに関する研究

本研究は改革開放後中国サービス産業の特徴を先進国と比較しながら明らかにするとともに、金融サービス業の市場化の進展、情報サービス産業の発展について、より詳細な調査研究を行った。

## D. 中国の対途上国関係と新しい開発パラダイムに関する研究

中国はアフリカなどの途上国への援助を飛躍的に伸ばしている。その結果、今までの先進国中心の開発援助が、大きく変わらざるを得ないであろう。この研究では、このような変化を分析した。

## E. 東アジアにおけるエネルギー協力体制に関する研究

中国を含め東アジアにおけるエネルギー需給を中長期的に展望し、今後の経済成長にどのような影響を与えるか、その結果日本も含めたグローバル経済にどのような影響を及ぼすかを研究した。

部科校名：国際関係学部

氏名：豊川 和治

## 6 研究結果 (4,000字以上記入してください。)

各分野の研究の進展と得られた結果のを概要を以下に示す：

## A. 中国の物価動向と日中経済の研究

この研究で明らかにしようとしたことは、仮に農村の余剰労働力が枯渇し、中国経済がいわゆるルイス転換点を越えたのであれば、中国のこれまでの発展方式、すなわち輸出・投資主導型の経済成長は持続可能でなくなるであろう。そのことにより、これまで中国で生産された安価な製品の大量輸入は日本をはじめとする先進国の物価を引き下げる役割を果たしてきた。しかし、今後このような物価引下げ効果は期待できなくなる。

この研究では、中国の諸外国と比べた相対的物価水準が1990年代から2000年代にかけてどのように変化してきているのかを、IMFの公式統計ベース、および“Penn World Table(PWT)”を用いて分析した。さらに、最近10年間程度の中国のアメリカ向け輸出物価の動きを分析した。

分析を行った結果明らかになったことは、

- ① 購買力平価が純粋な形でそのまま現実の世界に当てはまるわけではないが、近年世界各国の物価水準の収斂傾向が認められるようになってきている。
- ② IMFデータの分析から明らかになったことは、中国の相対的物価水準は理論値(回帰式上の値)を下回っている。しかし、その乖離幅は概して小さく、10%を超える年はない。この下方への乖離は2006、2007年をピークに縮小してきており、2009、2010年の乖離幅は無視できる程度である。PWTベースの分析でも、データの利用可能な2000年以降のすべての年において中国の相対的物価水準は理論値を下回っている。しかもその乖離幅は大きく、特に2004年以降は20%程度となっている。

中国の急速な経済発展(1人当たりGDPの急速な上昇)に伴い、相対的物価水準も高まりを見せている(2005年0.35→2010年0.5)。しかし、同じような発展段階にある国と比べると相対的物価水準は依然として有意に低いということが明らかになった。

ここからは90年代後半以降の日本のデフレに関して、出発時点においては諸外国と比べ極端に高い物価水準が、グローバル化の下で同じ発展段階にある諸外国並みの水準へと収斂していく過程として日本の90年代後半以降のデフレを理解することが可能となる。

一国の物価水準を決定する一つの要因は、非貿易財部門と貿易財部門との生産性格差であることから、政策的には、日本の国内物価水準を国際的なレベルに向けて収斂させるためには、海外との競争が遮断されている非貿易財部門の生産性を高めることによって、貿易財部門との生産性格差を縮小していくことが重要と考えられる。

また、アメリカの中国からの輸入物価は統計を取り始めた2003年末から低下を続け、07年2月までの間に2.8%低下した後、上昇に転じ、2008年8月までの1年半で6.8%上昇しているが、中国の輸出物価動向にさらなる高騰の兆しはみられない。分析結果をみれば、中国の物価動向に大きな潮目の変化が生じているようにはみられない。中国はいわばルイス転換期のただ中にあるとしても、未だその時期を終えたとの証拠は見当たらないという結果になった。

## B. 中国の人的資本の地理的な再配分、地域格差是正効果の研究

1978年にはじまる改革開放以来、鄧小平の「先富論」にもとづいて、まず東部沿海部が大きく発展した。「先富論」を先進地域の発展の恩恵を受けて、やがては後進地域も追いついて

部科枝名：国際関係学部

氏名：豊川 和治

## 研究結果（つづき）

くるはずだという意味に捉えるなら、それはやや当てがはずれたと言える。たしかに東部沿海地域は発展に先導されて経済全体が発展したとしても、地域間格差はむしろ拡大してしまったのである。

中国政府もこの問題の深刻さを認識し「西部大開発」「東北振興」といった大型地域開発プロジェクトを実施し一定の成果を挙げつつある。そうした流れの中で中部地域はすっかり取り残された感がある。

中部の状況は、一人当たりGDPあるいは家計の収入で見ると、中部は西部について経済が遅れている。産業構造は、相対的に第1次産業の比重が大きい、一人当たり耕地面積は決して広いとは言えない。また、固定資本や財政収入・支出で捉えると、西部よりも少ないという傾向が見られる。したがって、中部をいかに発展させるかが、今後の中国经济全体の均衡ある発展にとって重要であることがわかる。本研究の対象地域である河南省（いわゆる「中原」）は、その発展が中部地域全体発展の鍵を握るものと期待されているのである。

改革開放後いわゆる郷鎮企業の台頭により、農村部においても非農業が発展し、それに伴って農業・非農業間の産業間労働移動—農村戸籍のまま地元の工場等で働く非農業労働者（「農民工」）が生れたのである。さらに、都市部の工業発展を進めるために農村部からの安価な労働力を利用しようという狙いから、農村戸籍のまま遠く離れた都市部で生活し出稼ぎを行う「農民工」が大量に発生した。そうした現象は「民工潮」を呼ばれ、受け入れ地域（都市）および送り出し地域（農村）の社会・経済にさまざまな影響を及ぼしている。

近年では「農民工」の帰郷も見られるようになり、農村部の自治体でも地元出身者が都市部での就業で得た知識、技能あるいは企業家精神を携えて帰郷し、新たな企業を起すなど地元経済の発展に貢献することを期待している（「帰郷創業」と呼ばれる）。

この研究では、労働力の移動・帰郷を通じた人的資本の地理的配分が中国における地域間格差是正に果たす役割を明らかにしようとした。

研究の方法は、河南省で実施された2種類のアンケート調査の個票データを利用して、出稼ぎ農村労働者（「外出農民工」あるいは単に「農民工」）の帰郷行動を分析した。より具体的には、将来の帰郷を考えている農村労働者と帰郷の意思がない農村労働者とを比較し、個人特性あるいは地元の経済状況などを含むどのような要因がそうした意思決定の違いをもたらすのかを明らかにした。さらに、そうした帰郷の決定因が創業志向を持つ出稼ぎ農村労働者と創業志向を持たない出稼ぎ農村労働者との間で異なるか否かについても分析した。また、帰郷者によって設立された企業と（帰郷者ではない）地元民により設立された企業との間の生産性の比較も行った。

帰郷者による地元経済の発展への貢献に関わる2つの数量分析を試みた。1番目の分析として都市部での出稼ぎ収入の多寡と将来の帰郷意思との関係を検討した結果、都市部での収入が低い者ほど帰郷意思が強いという結果が得られた。こうした結果は帰郷者による地元経済への貢献に対して懐疑的な見方を支持しているように見える。しかし、本研究ではつづいて、将来、創業意思がある出稼ぎ農村労働者とそうした意思を持たない出稼ぎ農村労働者との間で、帰郷要因がどう異なるかについて分析を試み、上述のような帰郷者に対する懐疑論を支持する統計的傾向は、創業意思を持たない帰郷希望者により強く当てはまり、創業意思のある者には当てはまりが弱いという分析結果を得た。

2番目の分析として小麦製粉業という同じ産業に属する企業を標本として生産関数を推定した結果、帰郷創業になる企業は都市部での出稼ぎ経験のない者によって設立された企業に比較して生産性が高いという結果が得られた。出稼ぎ経験によって蓄積された広い意味での人的資本の効果であることを示唆している。

部科校名：国際関係学部

氏名：豊川 和治

## 研究結果（つづき）

## C. 中国のサービス産業の発展のダイナミズムに関する研究

中国の経済規模は世界第2位に上りつめたが、自然環境の悪化、エネルギーの不足、産業構造の歪み、地域間経済格差の拡大等さまざまな問題が表面化した。この一連の問題が発生した背景には工業の発展を中心とする中国経済の発展のパターンがある。世界工場として中国の優位性が次第に弱まっていく中、産業構造の調整、すなわちサービス産業の発展が最重要課題になっている。

本研究は改革開放後中国サービス産業の特徴を先進国と比較しながら明らかにするとともに、金融サービス業の市場化の進展、情報サービス産業の発展について、より詳細な調査研究を行った。

まず、中国のサービス産業の発展について世界、特に日本、アメリカ、インドと比較しながらその発展状況、地域や内部構造および貿易構造について分析した。

2000年と2010年における中国、インド、日本とアメリカ4カ国のGDPの成長に対して三次産業のそれぞれの寄与率に注目する。中国ではGDPの成長に対して最も貢献したのは第2次産業という工業部門であり、その寄与率が60%前後であった。サービス産業の寄与率は2000年の34.8%から2010年の38.9%に約4.1ポイント上昇したものの、4割に達していなかった。

アジア開発銀行の報告によれば、中進国のGDPや労働雇用に占めるサービス産業の割合が平均的に55%前後であったことを考えると、中国のサービス産業の発展規模は依然として小さいと言える。中国のサービス産業全体として、成長率が世界平均よりはるかに上まわり、労働雇用の吸収力も強まっているようにみられる一方、GDPに占める割合が低く、中進国のような発展段階にはまだ達していない。全体として中国のサービス産業は、構造調整においては各国に比べて遅れている。

2000年以降、日本のサービス産業の対中進出が加速化している。投資分野は主に生産性サービス部門、地域として主に東部沿海地域に集中している。その中で、中国経済の規模、市場の開放状況および中国のサービス産業の発展速度と言う3つの要因が日本のサービス産業の対中進出に決定的な影響を与えている。

現在、中国の経済発展は1つの大きな転換点に差し掛かっている。サービス産業の発展は中国経済が直面するさまざまな難問を解決するため、重要な役割を果たせると認識されている。中国政府も早い段階でサービス産業の発展の重要性を認識し、2010年の国家発展五カ年計画を始め国家レベルの経済政策に取り込み、サービス産業の発展を促進しようと努力している。今後、中国のサービス産業は規制緩和、対外開放の加速と投資の拡大が予測され、新たな発展段階を迎える。

中国の金融経済（マネー経済）面では、その経済規模に比べ対外的な開放度は著しく制限され、未だ国際金融市場との一体化は実現されていない。

この研究では、中国の金融面でのグローバル化に焦点を当て、資本取引の規制と実態を通して金融の対外開放の現状を考察し、グローバル化の前提となる国内金融システムの問題点を市場化という観点から評価し、グローバル化に向けた課題を探った。中国の国内金融システムの市場化には、以下のような課題が山積している。

- ・ 民営企業・中小企業向け金融の拡充
- ・ 直接金融（とくに債券市場）の拡充
- ・ 資本市場における情報公開・透明性の向上
- ・ 機関投資家の育成
- ・ 信用評価制度の確立

注：必要に応じて、このページをご使用ください。

部科校名：国際関係学部

氏名：豊川 和治

## 研究結果（つづき）

- ・ 金利の市場化
- ・ 預金保険制度の確立
- ・ 人材の養成

これらの改革は、それぞれの分野で地道に進めていくしかないが、いずれについてもカギとなるのは国有企業偏重の是正であろう。債券市場の拡大・活性化のためには、民間企業の起債を奨励する必要がある。国有企業が優遇される起債審査を改め、格付け制度の確立などが求められる。また、金利市場化の前提として、預金保険制度の確立が不可欠である。そのためには、国有商業銀行の抵抗を排除する必要がある。

一方で、仮に市場化改革が進展した場合の、「市場化」と「マクロ経済・金融市場の管理」との相克にも目を向けなければならない。2012 年秋に発足した中国共産党の新しい指導部は、① 国有企業の既得権益にメスを入れることができるか、② 市場を通じてマクロ経済・金融市場の安定を維持する仕組みを確立できるか、という 2 つの難題を同時に解決していく方策を見出さなければならない。もっとも、それは誰が指導者の地位についてとしても至難の業である。ここから導かれる当面の結論は、中国の金融面でのグローバル化には相当な時間を要することは間違いない、ということである。

中国の情報システム、機器、サービスを含む ICT 産業は 2000 年代に入り、年率 2 桁以上の急成長を続け、特にハードウェア部門の電子計算機製造、エレクトロニクス全般の電子部品・デバイス・コンポーネント・特殊機器・計測器および家電などの分野の重心が高い。

また、通信機器、PC の分野の世界市場で 1, 2 位のシェアを持つ巨大企業が出現した。これらの企業は必ずしも国営企業だけでなく、民営、協同所有を含む多様な形態をとっているが、その発展過程には中国政府の政策的支援が後押ししている事例がいくつか認められる。

中国 ICT 産業は、2006 年～2012 年を見ると、ソフトウェア・サービス部門の方がハードウェア部門より成長率が高い。しかし 2012 年現在、まだハードウェア部門の方がより大きな割合を占めている。このことより、中国 ICT 産業はゆっくりとソフトウェア・サービス主体の先進国型に変容しつつあると考えられる。

今後のさらなる成長の為に、研究投資が必要とされると考えられるが、現在どれだけの額の投資がなされているか詳細は不明である。しかし、個別の企業の事例、その分野で世界有数の企業に成長している企業においては、売上高の 10%程度の資金が研究開発に投じられている例も認められる。

これに対し、日本の ICT 産業は、1990 年代より市場規模は横ばいを続け、量的成長は認められない。しかしソフトウェア・サービス部門のハードウェア部門に対する比率は、1995 年の 0.44 から 2009 年には 1.05 と拮抗するまで増加し、先進国型の ICT 産業に次第に変容していることが認められる。売上高の 10%程度の研究への投資が、1990 年代から行われているが、この投資が日本の ICT 産業の量的拡大には、目に見える貢献をしていないことが分かる。

今後、中国の ICT 産業は、5 億人以上と言われている巨大な網民人口が後押しして、ソフトウェア・サービス主体の先進国型の ICT 産業への変容がますます進行してゆくと考えられる。しかしさらなる成長の為に、中国企業と日本を含めての諸外国企業との連携がさらに進む必要がある、そのためには IR 情報の透明性、企業統治の機能が強化され、健全に働くよう改めることが必要である。

部科校名：国際関係学部

氏名：豊川 和治

## 研究結果（つづき）

## D. 中国の対途上国関係と新しい開発パラダイムに関する研究

中国はアフリカなどの途上国への援助を飛躍的に伸ばしている。その結果、今までの先進国中心の開発援助が、大きく変わらざるを得ないであろう。

この研究では、中国の外交、開発援助政策、実績、傾向を検討する。次に中国の対途上国 FDI、貿易を分析する。最後にこれらの傾向が近年の世界の途上国開発、援助傾向へどのような影響を与えるのか評価した。

外交目的から見えてくるのは、中国がその政治的安定を保ち、経済発展を続けることを目指し、他の途上国と友好関係を強化しようという意図である。しかし OECD 諸国とは政治形態が異なることもあり、欧米の開発援助政策とは異なる手法を用いている。ひとつは開発援助を行うに当たって内政干渉を避け援助に条件を付けないことであり、これは WTO の下での多国間貿易交渉や地球温暖化問題に関しての国際会議などで明らかである。これらの多角的交渉においてインドやブラジルと協調し、グローバルな政治、経済的な枠組みのなかで途上国のリーダーを目指しているように見える。

中国の対外援助資金は、主に無償援助、無利子貸付、特惠貸付という 3 つのタイプに分けられている。特惠貸付の内容は、経済インフラの割合は 61% と大きく、それに続きエネルギー、工業、農業が続く。

中国の援助の地域的配分では、アフリカへの援助の割合が非常に大きく半分近くを占め、アジアを大きく上回る。アフリカに重点が置かれているのは、アフリカは国の数が多く、国連などでの投票では、一国一票なので効率的に国連での『仲間』を増やせ、又アフリカには石油、銅などの天然資源が豊富にあることも一因であろう。

中国からの FDI の目的は、①国外の資源の確保、②先進国企業の先端技術・市場の確保というものであったが、この数年中国での人件費の高騰もあり、途上国現地での生産・販売するという先進国型 FDI にもなってきた。しかし、途上国への FDI はナイジェリア、南アフリカのように資源確保のため、またパキスタンは地政学的な理由からと思える。

従来、先進国は OECD/DAC などを通して途上国への融資基準として政策、制度の改革などを盛り込んだ。しかし、中国の途上国支援には基本的には条件を付けない。この政策は中国自身の政治制度が欧米型の民主主義でないため、貸付に内政干渉にもなりうるコンディショナリティのようなものを付加したくないという理由もあるであろう。

先進国が進めてきた途上国の民主化促進政策は実績的にも理論的にも決して成功を収めたとは言いがたい。民主化が目的であったとしてもある程度の所得向上をまず達成しなければ多くの途上国で良好な結果を生み出さないと考えられる。

また、援助の基本分野と様式では、冷戦の終結、旧ソ連の崩壊とともに戦後の開発援助の大きな存在理由の一つがなくなった。この大きな世界情勢の変化の下、新しい世界の開発援助スローガンになったのが貧困削減である。これは先進国の国民の関心を開発援助に引き付ける策でもあった。具体的には保健医療、教育、ジェンダー問題が注目された。

この開発援助スキームにはいろいろな問題点がある。主な欠点は同じ目標をすべての途上国の開発目標とする、経済成長に関する目標がないことであろう。このスキームを OECD 諸国が採り初めて以来、世界の開発援助は社会関係インフラに重きを置かれると同時に経済成長、経済インフラへの援助は減少した。

これに対し、中国は鉄道、道路、発電所、資源開発などのプロジェクトを中心に援助を行ってきた。多くの、特にアフリカの途上国政府は自国の経済発展に関心があり、中国方式援助は歓迎された。このインフラ重視の開発戦略は、実は日本が重視してきた方針である。

部科校名：国際関係学部

氏名：豊川 和治

## 研究結果（つづき）

中国の途上国への FDI，貿易，援助を分析すると 20，30 年前の日本が面した問題と共通点がいくつかある。また日本の対欧米関係を考慮すると，日本がこれからの日本，中国，欧米，新興国を含む世界援助新しいパラダイムを構築するのに大きな役割があるように思われる。現在は領土問題で日中関係は決して良好とは言えないが，この問題に早急に片を付け，より重要なグローバルな問題解決を中国と協調して推し進めていくべきであると考えられる。

## E. 東アジアにおけるエネルギー協力体制に関する研究

日中韓のエネルギー需要量は，世界のおよそ 4 分の 1 を占め，世界の 5 大石油輸入国に入っている。この 3 カ国は，海外，特に中東の石油・ガスに対する依存度が高い。しかし大量の石油・ガス購買者としての力が弱く，アジアプレミアムという言葉がよく使われているように，西欧やアメリカに比べ，アジアでは高い価格で買わざるを得ない状況である。

この 3 カ国が輸入国として潜在的に大きな影響力を持っている。これから導き出される結論は，日中韓が FTA で経済的連携を結ぶと同時に，この 3 カ国が協力すれば，アジアプレミアムという高い原油・天然ガス価格の交渉力がある程度持てることが可能である。また安全保障面でも，例えば共同備蓄などで，今後さまざまな協力をしていけるのではないかと考えられる。

安全保障面で東アジアの最大の問題点はエネルギーを海外に依存していることである。また中国の石油の輸入量が非常に増えていることの解決策の一つが，ロシアとの連携である。ロシアは世界的に見て，天然ガスと石油の両者を合わせると，世界の生産量を持っている。今後，ロシアが極東のシベリア地区あるいはサハリン地区で，石油・天然ガスを増産したときに，日中韓が共同で購入することで，ロシアと仲良くし，エネルギー面でもお互いに協力できるのではないかと考えられる。

中国における一つの懸念材料は，自動車の保有台数の増加である。自動車の保有増大がもたらす大きな問題の一つは，ガソリン・軽油が主な燃料源であることによる，地球温暖化の元になる二酸化炭素排出量の増大である。中国の自動車保有台数は，2010 年の段階で 7800 万台，20 年後には 3 倍の 3.2 億台になると予想される。中国の人口が 12 億人とすると，約 4 人に 1 人が持つようになる。インドの自動車保有台数も非常に伸びるであろう。中国・インドの伸びが甚だしく，世界一および世界二位の自動車保有国になるということは，このままガソリン車に依存し，燃費があまり改善されなければ，地球温暖化問題の懸念材料になるかと思われる。

次に電力問題がある。現在，中国の発電量は 4.2 兆 kWh に達している。日本は 1 兆 kWh であるから，中国は現状で GDP では日本を若干上回るものの日本の 4 倍の電力消費量がある。

爆発的に伸びる電気の消費量をどうするかが，中国経済にとって大きな課題であると同時に，二酸化炭素の排出量の問題が存在する。

電力生産のポテンシャルを最大限に高めるには，北東アジア諸国は包括的で統合されたエネルギーインフラ，別の言い方をすれば，サプライチェーンを整備して安定性を高め，生産コストを低下させるようなインフラを構築する必要がある。これを，多国間でのエネルギー政策の国際調整と組み合わせれば，地域的な経済協力とエネルギー安全保障が強化される。

日中韓の石油輸入量は世界の石油貿易量の 26% に及び，液化天然ガス（LNG）では 52% と過半である。日中韓の 3 国はエネルギー分野では共通の問題と直面していることから中東やロシア等の産油国との共同交渉も含めて，様々なエネルギーの分野での協力体制が求められている。特に，省エネルギーやスマート・グリッドなどの先端分野での技術交流や社会インフラの意見交換，さらに石油や天然ガスの共同備蓄および融通など東アジアにおけるエネルギー安全保障に大きく貢献できると思われる。



部科校名：国際関係学部

氏名：豊川 和治

## 研究結果（つづき）

本研究の期間の後半 2013 年 1 月 25 日に、関連する分野の中国の研究者を本学に招き、研究成果の発表、討論のためのシンポジウムを開催した。招聘した研究者、所属、発表された論文は、以下に示すとおりである。

関 権 中国人民大学经济学院 教授：“中国の発展は「日本ハードル」を越えなければならない”

耿 明斎 河南大学经济学院 教授：“中国伝統農業地域の現代化移行経路”

孫 建国 河南大学经济学院 教授：“日中都市化発展比較と産業移転”

高 保中 河南大学经济学院 副教授：“日本経済長期低迷について 1 つ新しい解釈”

龍 志和 華南理工大学経済与貿易学院 教授：“深圳 ”山寨” ハイテク企業群の形成と発展”

梁 堅 華南理工大学経済与貿易学院 専任講師：“FDI, サプライチェーンおよび広州自動車産業の発展”

これらの中国専門家との討論により、各分野の研究で得られた中国の経済発展に対する視点、新たな知見に対して、中国側からの検証を行い、さらなる研究の発展の方向について有益な意見が得ることが出来たと考える。

## 平成24年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成25年4月22日

日本大学学長 殿

氏 名 佐藤 秀人



所属・資格 短期大学部・准教授

下記のとおり報告いたします。

1 研究課題 沿岸漂着プラスチックから発生する化学物質汚染の実態調査と再資源化技術に関する研究		
2 研究組織		
氏 名	所属部科校・資格	役割分担
○研究代表者名 佐藤 秀人	短期大学部／准教授	沿岸調査／回収システム開発／再資源化システム開発
○研究分担者 道祖土 勝彦	薬学部／准教授	沿岸調査／化学分析／再資源化システム開発
岡部 顕史	理工学部／准教授	沿岸調査／回収装置制作／再資源化装置制作
山本 和清	理工学部／専任講師	沿岸調査／因子分析／回収システム開発
山本 守和	芸術学部／准教授	沿岸調査／因子分析／データベース開発
合計5名		
3 本研究に関連して外部資金への申請状況、獲得状況		
本研究は平成24～25年度の2か年で計画しており、平成24年度の外部資金申請はありません。		

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

部科校名：短期大学部

氏名：佐藤秀人

## 4 研究目的

我が国の沿岸に漂着する海ごみは毎年 11~15 万トンに上っており、その約 70%がプラスチックである。これらの漂着プラスチックは、漂着現場では風や波などの機械的作用により 1mm 以下の細粒に破碎され、さらに波や風などの機械的作用と温度や紫外線などで分解し、スチレンモノマー、ノニフェノール、ビスフェノール A、フタル酸エステルなどの毒性が懸念されるプラスチック由来の化学物質を発生している。

プラスチック由来の化学物質による沿岸域汚染を除去・削減するためには、沿岸に漂着したプラスチックが化学物質を発生する前に回収することが有効であり、同時にそれを資源として再利用するための検討が必要であると考えられる。そこで、本研究では以下の 3 つの課題を研究目的として掲げ、上記問題の解決をはかる。

- 1) 沿岸に漂着する海ごみプラスチックの実態調査：海流の影響で大量の海ごみプラスチックが漂着している沖縄・八重山諸島、対馬、小笠原および日本海沿岸を中心としたフィールド調査を実施し、漂着量とプラスチックの組成、劣化状態などを明らかにする。さらに、GIS とデータベースを利用して漂着プラスチックの実態を解明し、その影響因子を分析する。
- 2) 沿岸域での発泡スチレンに由来する化学物質による汚染調査：沿岸漂着プラスチックのなかで最も漂着量の多い発泡スチレンにターゲットを絞り、スチレンから分解発生する化学物質による汚染状態を明らかにし、その発生メカニズム、拡散過程を検討する。
- 3) 沿岸漂着プラスチックの再資源化技術の開発のための基礎データの収集：日本および世界のプラスチックの再資源化技術を調査し、漂着プラスチックの効果的な回収方法と再資源化処理に必要な技術的手法を検討する。そして、漂着プラスチックの回収装置および再資源化装置（油化装置）を試作し、実用化に向けて必要な基礎データの収集を行う。

## 5 研究概要

本研究は平成 24 年度から 25 年度の 2 カ年で行うものとし、各年度の研究課題は以下とする。

[平成 24 年度]

- 1) フィールド調査および GC/MS 化学分析 (8 地区, 50 地点程度)
- 2) データベースと GIS を用いた汚染状況の検討 (システム開発を含む)
- 3) 沿岸漂着プラスチックの現地回収システムの検討
- 4) 再資源化装置開発のための資料収集とシステムの検討
- 5) WWW (World Wide Web) による研究内容の発信
- 6) 国内外での論文発表 (国内: 6 件, 国外: 2 件)

[平成 25 年度]

- 1) フィールド調査および GC/MS 化学分析 (8 地区, 50 地点程度)
- 2) データベースと GIS を用いた汚染状況の把握
- 3) 沿岸漂着プラスチックの現地回収装置の検討と試作
- 4) 再資源化装置の開発のための装置試作と基礎データ収集
- 5) WWW (World Wide Web) による研究内容の発信
- 6) 国内外での論文発表 (国内: 6 件, 国外: 2 件)
- 7) 学術雑誌への論文投稿 (日本海洋学会, 水環境学会, 日本環境科学会, ACS, ISOPE など)
- 8) シンポジウムの開催
- 9) 外部資金への応募 (環境省: 競争的研究資金 環境研究総合推進費, 文部科学省 (科学技術振興機構): 地球規模課題対応国際科学技術協力事業「地球規模の環境課題の解決に資する研究」など)

部科校名：短期大学部

氏名：佐藤秀人

6 研究結果 (4,000字以上記入してください。)

1. フィールド調査とGC/MS化学分析

図1に示す日本の本土沿岸および離島沿岸の68箇所(本土31箇所, 離島37箇所)のフィールド調査を実施し, 各地の海洋ごみの漂着状況を観測するとともに, 海浜砂および沿岸海水のサンプリングを実施した。H24年度の化学分析サンプル数は, 海浜砂312体, 沿岸海水75体であった。また, 東京大学大気海洋研究所と海洋開発研究機構が共同運営する, 研究航海プログラムに採択され, 西部太平洋での海洋水サンプリングを実施した。なお, この研究プログラムは, 全国からの公募によって参加者を選定するものであり, 沿岸で発生するプラスチック由来化学物質の外洋への拡散状態を検討することを目的として, 上記共同研究航海への応募を行っていたものである。

1) フィールド調査

① 太平洋中区(千葉県房総半島: H24.5.19~20, 船橋三番瀬: H24.5~H25.3まで毎月1回実施)

海岸漂着ゴミの状況を確認し, 分析資料サンプリング方法を含む現地調査方法を確認するために, 本研究プロジェクトの参画者全員(研究代表者・分担者・協力者および補助学生)が参加し, 千葉県館山市の平砂浦海岸および近郊の海岸において計8か所の現地調査とサンプリングを実施した。平砂浦海岸は, 車でのアクセス路がなく, 一般の利用者は少ない海岸である。南西から流れる黒潮と偏西風の影響を受け, 大きな流木, 海藻類などが多く漂着していた。また, プラスチックをはじめとする人工物も多く, 自動車のタイヤ, 金属缶, ガラス瓶, 漁具(ロープ, 浮き), ペットボトル, 洗剤容器, ゴム類, 発泡スチレン製品など多様なゴミが漂着していた。相浜海岸は, 一昨年まで海水浴場として利用していたが, 現在は閉鎖されている。過去の調査では定期的に清掃されており, 比較的きれいな海岸だったが, 現在では漂着するゴミも回収されずに多くのゴミが集積していた。流木, 海藻, 漁具(ロープ, 浮き), ペットボトル, 発泡スチレンなどが多かったが, 小さく破砕されたプラスチックが多かった。館山市北条海岸, 南房総市千倉海岸は, 海水浴場として利用されているが, ゴミ量は少なく, 満潮線上に細かな流木と海藻が散見される程度であった。

船橋三番瀬海浜公園は, 東日本大震災以降閉鎖されていたがH24より一般に公開された。海浜部は来場者が投機するとポリ袋, ペットボトル, 空き缶が多いが, 海浜端部には大量の流木とプラスチック(発泡スチレン製食品トレイ, ペットボトル, ロープなど)が大量に蓄積していた(写真1)。

② 日本海北区および太平洋北区調査(H24.7.10~13, H24.10.11~12)

新潟~山形~秋田~青森の日本海北地区の7箇所および, 岩手~宮城の太平洋北地区の4箇所の現地調査と分析資料サンプリングを実施した。日本海北区の鳥見海岸では, 専用車両による海岸漂着ゴミの回収作業をしていたが, ヒアリングによると, 装備されているコンベア式やバケット式回収装置は不具



図1 沿岸および離島のフィールド調査

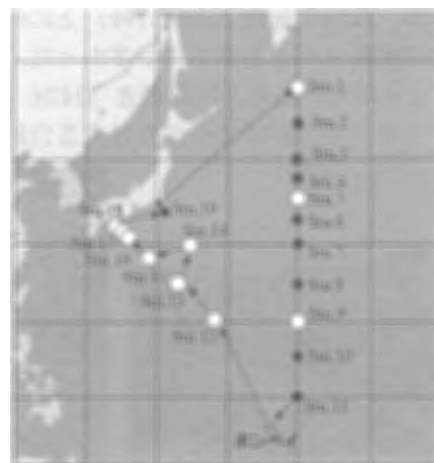


図2 西太平洋調査

部科校名：短期大学部

氏名：佐藤秀人

## 研究結果（つづき）

合が多く、結局、手作業によって作業しているとのことであった。能代海水浴場は、現在は閉鎖中であるが、大きな流木やタイヤ、ステンレス容器などが散乱している状態であった。

太平洋北区では震災の影響が残っており、海岸を震災がれきの集積場として使用している場所も多かった。大谷海岸（写真2）では戸建て住宅のものと思われる柱・梁材（木材）とともに、プラスチックバケツ、ウレタンチューブ、発泡スチレンコンテナ、漁具（網、浮き）などが集積されていた。櫃が沢海岸は、細長い湾奥部に位置しているが、流木、海藻、金属缶、ガラス、プラスチック製品とその破砕片などが大量に漂着し、腐敗臭もしていた。

## ③ 太平洋中区調査（H24.10.26～27）

太平洋中区では愛知県内4箇所の現地調査とサンプリングを実施した。三河湾内にある白谷海浜公園ではフロートや浮きなど多くのごみ漂着し、全長1m程のポリバケツも発見された。渥美半島先端にある恋路ヶ浜ではごみ量は少ないが、後浜奥のブッシュ付近に破砕した発泡スチロールが集積していた。

## ④ 日本海西区（H24.11.5～8）

島根～鳥取～福井の日本海西地区の11箇所の現地調査とサンプリングを実施した。島根県～鳥取県の海岸では、漂着物に印刷してある製品名などから韓国から漂着したと思われるものが多く、薬品ボトル（プラスチック、ガラス）もあった。ただし、比較的頻繁に清掃をしていると思われ、大きなものは少なく、細い流木とプラスチック破砕片が目立った。

## ⑤ 対馬地区（H24.8.7～11）

対馬地区の8箇所の現地調査とサンプリングを実施した。また、対馬市役所環境保全課を訪ね、島内での海ゴミの状況、回収作業および再資源化への取り組みなどについてヒアリングを行い、島内に設置されている発泡スチレン資源化プラントを視察した。対馬沿岸部の漂着ごみ量は、島の西側の方が多かった。プラスチック製品としては、フロート、ロープなどの漁具が多く、ポリエチレン製のタンクも目立った（写真3：対馬・小茂田）。対馬海流の日本海への入り口に位置することから、中国、韓国などのアジア圏からの漂着物が多かった。

## ⑥ 沖縄地区（H24.11.25～30）

沖縄本島8箇所、石垣島6箇所、西表島8箇所の計21箇所の現地調査とサンプリングを実施した。石垣・西表は、人口は少ないが、黒潮の流路上にあり、近海では漁業も盛んである。このためか、沿岸の漂着ごみは、食品トレイなどの一般のごみは少なく、ロープ、網、浮きなどの漁具とペットボトルが大半を占めていた。

## ⑦ 八丈島（H25.3.12～15）

伊豆諸島八丈島は、7箇所の現地調査とサンプリングを実施した。八丈島は、火山島であり、砂浜は少ないが、黒潮の流路（大蛇行時）上に位置する。沿岸の漂着ごみは比較的少ないが、網、ロープ、浮きなどの漁具とペットボトルが多かった。

## ⑨ 西部太平洋での海洋水汚染調査（H24.7.6～8.14）

東京大学大気海洋研究所が管理する白鳳丸KH-12-3次航海に参加し、西部太平洋19か所での表層水サ



写真1 千葉県・三番瀬海浜公園



写真2 宮城県・大谷海岸



写真3 対馬・小茂田海岸

部科校名：短期大学部

氏名：佐藤秀人

研究結果（つづき）

ンプリングならびに 10 か所での深層海水サンプリング（計 56 体）を実施した。水深 5000m 超の深層海水中のプラスチック由来化学物質の分析は、世界でも初めてのことであり、非常に貴重な分析資料を得ることができた。

2) GC/MS 分析

GC/MS 分析は、日本大学薬学部の分析センターで実施した。分析ターゲットは、発泡スチレンから分解発生する三量体までのスチレンオリゴマー（SO：スチレンモノマー，スチレンダイマー，スチレントリマーの総量）と、エポキシ樹脂・ポリカーボネイトから発生するビスフェノール A とした。海水サンプルは、減圧蒸留後に残差を溶媒に再溶解して分析試料とした。海浜砂は、減圧乾燥の後に溶媒抽出を実施して分析試料とした。

図 3~4 に、本土沿岸のスチレンオリゴマーの定量値の平均値を示す。ただし、このデータは本研究課題で得たデータにこれまで蓄積したデータを加えて平均化している。海浜砂サンプルでは、日本海北区、太平洋南区、瀬戸区、九州西区で 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$  以上の大きな値を示した。沿岸海水では、日本海北区、太平洋北区、太平洋南区で 10  $\mu\text{g}/\text{L}$  程度の値を示した。海浜砂と沿岸海水の平均値は、それぞれ約 300  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、4.5  $\mu\text{g}/\text{L}$  であった。

なお、これらの研究成果は、環境ホルモン学会第 15 回研究発表会（2 編：H24. 12. 18-19）、衛生薬学・環境トキコロジー（2 編：H24. 10. 24-25）、7th European Conference on Pesticides & Related Organic Micropollutants in the Environment（1 編：H24. 11. 7-10）、日本化学会第 93 春季年会（1 編：H25. 3. 22）での研究発表を行った。また、第 23 回沿岸域学会（2 編：H25. 7. 20-21）、The 23rd International Ocean and Polar Engineering Conference（1 編：H25. 6. 30-7. 5）で研究発表を行う予定である。

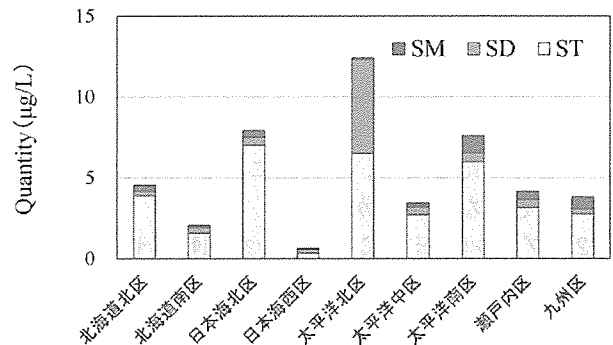
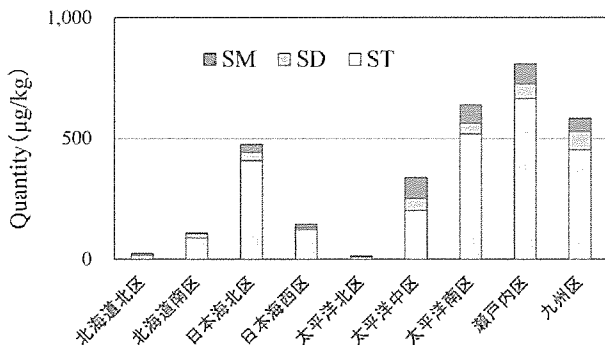


図 3 海浜砂中のスチレンオリゴマー量（平均値） 図 4 沿岸海水中のスチレンオリゴマー量（平均値）

2. データベースシステムおよびフィールド調査支援システムの開発

プラスチックを対象とした海洋汚染調査データベースの開発およびスマートフォンにより操作可能なフィールド調査支援システムの開発を行った。

データベースシステムでは、本研究課題での調査結果に加えて過去に実施したフィールド調査データも合わせてデータベース化を行った。フィールド調査支援システムは、フィールド調査の位置情報や気象・海象などの基本データ、漂着ごみの状況、写真などをスマートフォンによってサーバに送信・管理するもので、調査者以外の研究メンバーでもフィールド調査の状況を即座に確認することが可能となった。また、本システムでは、位置情報を Google Map 上にマッピングし、調査データと関連付けて表示することが可能なマッピングシステムの開発も合わせて行った。本システムによって、マップ上に表示される調査地点をクリックすることで、調査状況と分析結果（基礎情報、写真、GC/MS 分析結果）を表とグラフで瞬時に確認することができる（図 5、図 6）。

なお、本研究成果のうち、データベースシステムの概要は、第 75 回情報処理学会全国大会（1 編：

部科校名：短期大学部

氏名：佐藤秀人

## 研究結果（つづき）

H25.3.6-8)で研究発表を行った。また、スマートフォンを利用したフィールド調査支援システムとマッピングシステムについては、FIT2013 第12回情報科学技術フォーラム(H25.9.4-6)で研究発表を行う予定である。

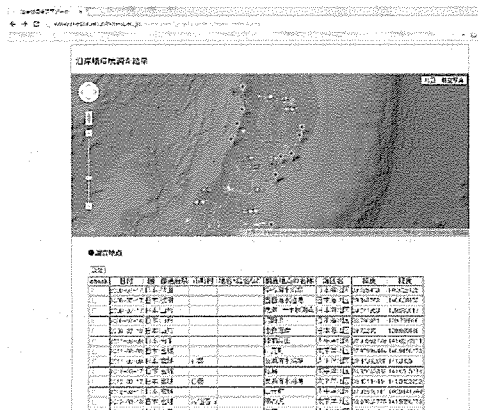


図5 データベースシステムの表示例

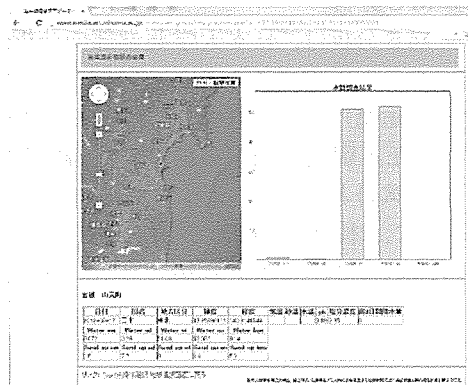


図6 フィールド調査支援システムの表示例

## 3. 沿岸漂着プラスチックの現地回収システムの検討

海岸漂着プラスチックには大きく嵩張るものと微細なものがある。大きなものは重機や人力で比較的容易に回収可能であるが微細なものは砂中に埋もれていることも多く人力による回収は困難である。そこで本研究では回収ターゲットを1 cm以下の微細なプラスチックとして、効果的な回収システムを検討する。本年度は以下に示す4通りの方法に関して検討した。

- 1) 吸引方式：エンジン付きブロアーを用いて回収装置を試作した(写真4)。三番瀬海浜公園で回収実験を行ったところ、砂表面にある乾燥した軽量なものは回収可能であるが、湿った砂では回収率が落ちること、などがわかった。
- 2) ブラシ回転方式：ブラシを回転させて微細プラスチックをかき上げて、空中に舞いあがったところを簡易掃除機で吸引する方法を試みた。珪砂とペレットを用いて実験を行ったところ、砂と一緒にまきあげてしまうこと、風の影響を受けやすいことなどがわかった。
- 3) 静電気吸着方式：微細プラスチックは線電気に反応しやすいため、帯電装置を用いて静電気を発生させて吸着したところをかきとるという方法を試みた。簡易帯電ガン(写真5:5万ボルトの静電気を発生可能)を用いて舞浜海浜公園にて実験を行ったところ、短時間であれば吸着状態を保てるが、水分や湿気の影響を受けやすいこと、風の影響を受けやすいことがわかった。



写真4 ブロアー型吸引装置

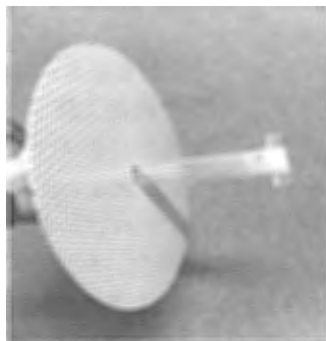
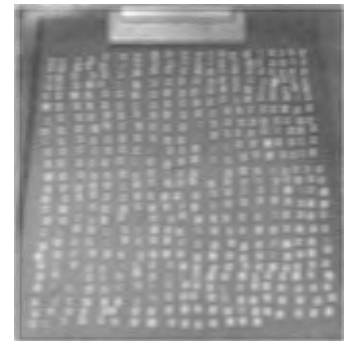


写真5 簡易帯電ガン

写真6 フlui方式で回収した  
レジンペレット

部科校名：短期大学部

氏名：佐藤秀人

## 研究結果（つづき）

4) フルイ方式：網径 1～4 mm のフルイを用いて砂と混入物を分け、次に混入物を水に投入して、浮遊物を回収する方法である。数か所の海浜で実験を行ったところ、砂と貝殻は分離され、木片とプラスチックは回収できること、砂の粒径に応じてフルイの網径を調整することで作業効率が向上することがわかった。

上記の成果は、自動車技術会関東支部学術研究講演会（1編：H25. 3. 18）において研究発表を行ない、ベストポスター賞を受賞した。

## 4. 再資源化装置開発のための資料収集とシステムの検討

我が国における一般的なプラスチックの処理サイクルは、年間生産量約 1160 万トンに対して、約 20% がマテリアルリサイクルあるいはケミカルリサイクルによって再資源化されている。しかしながら、海岸漂着ごみに対しては、ほとんどが単純焼却あるいは焼却時の熱のみを利用するサーマルリサイクルでの処理に留まっている。そこで、産業技術総合研究所と発泡スチレンの再資源化施設を実際に運用している対馬市役所に赴き、再資源化の現状と問題点をヒアリングした。また、全国の都道府県レベルでの沿岸漂着ごみに対する取り組みを調査した。

また、産業技術総合研究所が所有する廃プラスチックの再資源化装置（油化装置）を用いて、装置の基本性能について検討を行った。本装置は、発泡スチレンなどのプラスチックを粉砕して珪砂と一緒に投入して、熱分解により液化させるものである。本年度は、熱分解に要する反応時間と実験時間との関係を探るための基礎実験を行い、その成果を自動車技術会関東支部学術研究講演会（1編：H25. 3. 18）において発表した。

## 5. WWW (World Wide Web) による研究内容の発信

本研究プロジェクトを紹介するホームページ（HP）を作成し、H24. 10 に公開した。本ページは、本研究プロジェクトの意義、目標、経過報告などを日本および世界各国に発信し、沿岸環境問題に関する意識啓発を図るとともに、広く情報や意見を求めようとするものである。また、トップページからデータベースシステムならびにフィールド調査支援システムにアクセスすることができ（研究メンバーのみ）、研究プロジェクトメンバー間の情報共有および意見交換を行うことができる。

→ URL : <http://www.media.art.nihon-u.ac.jp/~umigomi/>

## 6. 発表論文（H24. 10～H25. 3）

本研究プロジェクトの成果として、下記の論文（口頭発表およびポスター発表、国内 12 編、海外 1 編）を発表した。

- 1) 西野晃充, 小泉公志郎, 佐藤秀人, 岡部顕史, 山本守和, 鄭 宣龍, 西村昌彦, 道祖土勝彦, 「漂流・漂着ポリスチレン由来の化学物質による西日本沿岸の汚染」, フォーラム 2012, 衛生薬学・環境トキシコロジー講演要旨集 pp. 307, 2012 年 10 月 24-25 日, 名古屋
- 2) 秋山翼, 佐藤秀人, 岡部顕史, 山本和清, 登川幸生, 宮崎渉, 鄭 宣龍, 道祖土勝彦, 「漂流・漂着プラスチックから発生する化学物質とその毒性」, フォーラム 2012, 衛生薬学・環境トキシコロジー講演要旨集 pp. 307, 2012 年 10 月 24-25 日, 名古屋
- 3) 道祖土勝彦, 小泉公志郎, 西野晃充, 山本和清, 山本守和, 奥川光治, 木暮一啓, 佐藤秀人, 「プラスチックから発生する化学物質による北太平洋域汚染の分析」, 環境ホルモン学会第 15 回研究発表会, PA-3, 2012 年 12 月 18-19 日, 東京
- 4) 小泉公志郎, 佐藤秀人, 岡部顕史, 登川幸生, 鄭 宣龍, 釜谷保志, 楠井隆史, 西村昌彦, 道祖土勝彦, 「日本沿岸に漂流・漂着するポリスチレンから発生するスチレンオリゴマー汚染実態」, 環境ホルモン学会第 15 回研究発表会, PA-4, 2012 年 12 月 18-19 日, 東京



部科校名：短期大学部

氏名：佐藤秀人

## 研究結果（つづき）

- 5) Keiji Amamiya, Akifumi Okabe, Morikazu Yamamoto, Sachio Togawa, Hideto Sato, Katsuhiko Saido, "Analysis of New Chemical Contamination Generated from Debris Polystyrene in Yaeyama Islands", 7th European Conference on Pesticides & Related Organic Micropollutants in the Environment, October 7-10, 2012, CD-ROM. Port, Portugal
- 6) 小泉公志郎, 佐藤秀人, 岡部顕史, 登川幸生, 道祖土勝彦, 「漂流・漂着ポリスチレンから発生するスチレンオリゴマーによる新たな化学汚染」, 日本化学会第93春季年会, 2012年3月22-25日, 滋賀
- 7) 山本守和, 登川幸生, 佐藤秀人, 道祖土勝彦, 岡部顕史, 山本和清, 小泉公志郎, 宮崎渉, 「海岸漂着プラスチックごみを対象とした海洋汚染調査データベースの開発」, 情報処理学会第75回全国大会, CD-ROM, 2012年3月6-8日, 仙台
- 8) 原嶋功芝, 小泉涼, 岡部顕史, 佐藤秀人, 道祖土勝彦, 「海ごみ回収装置に関する基礎研究」, 自動車技術会関東支部学術研究講演会, CD-ROM, 2012年3月8日, 神奈川
- 9) 山下達彦, 田中瑛大, 田中智大, 岡部顕史, 佐藤秀人, 道祖土勝彦, 「廃プラスチックの再資源化装置（油化装置）に関する基礎的研究, -珪砂を用いた反応時間および実験時間-」, 自動車技術会関東支部学術研究講演会, CD-ROM, 2012年3月8日, 神奈川
- 10) 佐藤秀人, 道祖土勝彦, 岡部顕史, 登川幸生, 山本守和, 山本和清, 小泉公志郎, 「沿岸漂着プラスチックから発生する化学物質汚染に関する研究, 1. 研究プロジェクトの概要および東日本大震災被災地区沿岸の汚染調査」, 平成24年度（第56回）日本大学理工学部学術講演会, CD-ROM, 2012年11月28日
- 11) 道祖土勝彦, 小泉公志郎, 岡部顕史, 佐藤秀人, 「沿岸漂着プラスチックから発生する化学物質汚染に関する研究, 2. 発生要因解明法の開発」, 平成24年度（第56回）日本大学理工学部学術講演会, CD-ROM, 2012年11月28日
- 12) 秋山翼, 登川幸生, 佐藤秀人, 山本和清, 宮崎渉, 荒木雄一, 大橋雅樹, 堀翔太郎, 「沿岸漂着プラスチックから発生する化学物質汚染に関する研究, 3. 海水浴場における海ごみの実態に関するアンケート調査について」, 平成24年度（第56回）日本大学理工学部学術講演会, CD-ROM, 2012年11月28日
- 13) 西野晃充, 道祖土勝彦, 登川幸生, 佐藤秀人, 小林尚史, 「沿岸漂着プラスチックから発生する化学物質汚染に関する研究, 4. 西部北太平洋での海洋調査」, 平成24年度（第56回）日本大学理工学部学術講演会, CD-ROM, 2012年11月28日

## 7. 公開セミナー（H24.8.31）

平成24年8月31日に、日本大学理工学部船橋校舎1441教室において、「海ごみ・プラスチック由来の海洋・沿岸環境汚染を考える」と題した公開セミナーを実施した。当日は、本研究プロジェクトのメンバーが研究の経過および成果を発表するとともに、韓国・全南大学 工学部 鄭宜龍 教授、(独)産業技術総合研究所 主任研究員 小寺洋一 氏の2名を講師に招き、それぞれ、「韓国沿岸での汚染調査結果とバイオレメディエーションの可能性」、「廃プラスチックの再資源化の現状と将来の展望」と題する講演を行った。本学内外から約50名の出席者があり、有意義な意見交換を行うことができた。

## 8. まとめ

平成24年度は、2年間の研究計画の1年目であったが、比較的順調に研究行程を遂行することができた。特に、学部異なる6名の研究者間での調整や情報交換を円滑に進めることができ、目標件数以上の論文を発表することができた。平成25年度は各研究課題をより一層充実させて本研究プロジェクトをまとめあげるとともに、外部資金の獲得に向けた準備も合わせて行っていく予定である。

## 平成24年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成 25 年 4 月 13 日

日 本 大 学 学 長 殿

氏 名 鷺見 浩一



所属・資格 生産工学部・准教授

下記のとおり報告いたします。

1 研究課題		
多重災害対策による安全・安心なまちづくりに関する研究		
2 研究組織		
氏 名	所属部科校・資格	役割分担
○研究代表者名 鷺見 浩一	生産工学部 /准教授	研究全体
○研究分担者 落合 実	生産工学部 /教授	津波実態調査, 避難対策の提案, 災害対策の在り方(表-1 参照)
福田 敦	理工学部 /教授	避難対策の提案, 災害対策の在り方(表-1 参照)
田中 將義	生産工学部 /教授	情報システムの開発, 災害対策の在り方(表-1 参照)
小田 晃	生産工学部 /教授	津波実態調査, 災害文化の定着, 災害対策の在り方(表-1 参照)
長谷川 正江	生物資源科学部 /教授	災害文化の定着, 災害対策の在り方(表-1 参照)
後藤 浩	理工学部 /准教授	津波実態調査, 情報システムの開発, 災害対策の在り方(表-1 参照)
加納 陽輔	生産工学部 /助教	津波実態調査, 情報システムの開発, 災害対策の在り方(表-1 参照)
朝香 智仁	生産工学部 /助教	津波実態調査, 災害対策の在り方(表-1 参照)
山口 晋 合計 10 名	生産工学部 /助手	津波実態調査, 災害対策の在り方(表-1 参照)
3 本研究に関連して外部資金への申請状況, 獲得状況		
科学研究費補助金		
・基盤研究(C): 災害教訓伝承による効果的な津波避難対策に関する研究, 研究代表者: 鷺見浩一, 不採択		
・基盤研究(B): 閉鎖性水域における放射性物質の負荷と魚類・水道水に及ぼす長期的影響の評価, 研究分担者: 鷺見浩一, 不採択		

※「6 研究結果」について, ホームページ等での公開 (可・否) いずれかを○で囲んでください。  
否の場合は, 理由書を添付して下さい。

部科校名：生産工学部

氏名：鷲見 浩一

#### 4 研究目的

本研究課題では巨大災害に対して人命被害を最小とし、より最適な復旧・復興を実行することを念頭に、以下に示す i)~iv)に的を絞って研究を遂行することにより、1)~2)を明らかにし、3)~8)について開発と提案、ならびにシステム構築を行う。

i) 東北地方太平洋沖地震における津波の実態調査 東北地方太平洋沖地震に伴う 1) 津波による被災メカニズムを、津波が造波可能な鉛直 2 次元造波水槽を使用した水理実験と多相流の直接数値解析手法による気液混相流の 3 次元数値シミュレーション、ならびに現地調査により明らかにする。そして、2) 巨大津波に対して機能を発揮した社会基盤施設の減災効果を検証する。

ii) 経験・体験が継承される災害文化の定着 地震・津波災害における被害を軽減するためには、正しい知識に基づいた住民自身による判断が必要な場合が存在する。また、近隣住民との相互援助も考慮した自助・共助による災害対応の重要性が増すと考えられる。しかし、災害教訓が伝承されず災害体験による信頼性の高い正確な情報・理解を住民が有さない場合に、災害時の避難行動に支障を生じ得る可能性がある。したがって、住民が過去の災害体験と向き合い、今後の災害に備える「向災」という新たな災害対策に基づいて、3) 地域全体として災害教訓伝承に対する取組みを推進することが重要となる。

iii) 要援護者の避難対策を含めた総合的な津波避難対策の提案 津波が来襲する場合には、平野部において浸水領域が海岸線から岸側 5km の広範囲に達する場合もあることから、要介護者や児童が時間的・精神的に余裕を持ちながら避難を可能とする対策を検討しなければならない。すなわち、4) 災害弱者が避難施設へ容易に避難できる手法の開発、5) 避難経路を表示した避難マップ、6) 沿岸域における多重の避難施設の整備計画、7) 住民が相互に援助しながら迅速な避難を可能とする地域住民の連携に基づく避難対策を構築する。

iv) 複数の震災が連続して発生する場合の中小都市の再生を視野に入れた防災の在り方 これまでは生活基盤地域を防護するために沿岸域に津波防波堤・防潮堤などのハード施設が施工され、ハード整備では防護が不可能な場合において避難体制のようなソフト整備で対応するという総合防災の基本があった。しかし、東日本大震災による津波災害を踏まえて、東海・東南海・南海地震が連動して発生した場合の地震・津波災害におけるまちづくりも含めた対策を再考する必要がある。ハードとソフト、ならびにまちづくりについての要素に、従来の「防災」と「減災」の機能と新たな「向災」機能を配備した 8) 幾重にもわたる万全の多重防災機能を整備した災害に強いまちづくりの構築が必要となる。

#### 5 研究概要

国、都道府県などの公からの災害支援が機能しない時間的・空間的な状況下において、住民が災害教訓伝承などの取組みにより過去の災害体験に向き合い、自助・共助による活動によって安全を確保する「向災」という新たな概念を導入して、幾重にも組合せたハード対策とソフト対策により、災害からの安全を維持する機能を持つ施設や体制を整備する必要がある。巨大災害発生時に人命被害を最小とする災害に強いまちづくりを可能にするためには、既存の津波防波堤・防潮堤などのハード対策の東日本大震災における減災への効果を検証し、その結果に基づいて、「効果的な災害対応・津波避難対策」と「経験・体験が継承される災害文化の定着」のソフト対策を考究し、ハードとソフトを総合的に考慮して「複数の震災が連続して発生する場合の中小都市の防災の在り方」を提案しなければならない。なお、本研究課題における地域とは、関東地方沿岸部の中小都市を指す。この中小都市におけるソフトとハードを幾重にも組合せた災害対策モデルを構築する。そこで、H24 年度は現地観測と実験、ならびに数値計算により、研究目的で述べた 1)~2)を解明し、3)を開発・提案することに主眼を置いて、研究を実施した。さらに、H25 年度は H24 年度の研究成果に基づいて 4)~7)を考究し、研究課題の成果として 1)~7)の統合的な考察により 8)を構築する。活動計画を表-1 に具体的な研究方法を i)~iv)に示す。

表-1 平成 24・25 年度の活動計画

検討課題	H24 年度	H25 年度	事項	主な担当者
i) 津波の実態調査	調査・実験・計算		1)~2)	全員
ii) 災害文化の定着	調査・分析・提案	調査・分析・提案	3)	鷲見・小田・長谷川
iii) 津波避難対策の提案		調査・分析・創出	4)~7)	鷲見・福田・落合
iv) 震災時の災害対策の在り方		調査・分析・創出	8)	全員

部科校名：生産工学部

氏名：鷺見 浩一

## 6 研究結果 (4,000字以上記入してください。)

平成24年度に実施・検討する事項は、1)～3)である。1)～3)の進捗状況を以下に示す。なお、全研究者10名による研究者会議をH24年6月に開催し、1)～3)の研究課題毎の会議・会合を1回/月程度開催している。

1) 津波による被災メカニズムについては、関東沿岸において津波被害が甚大であった千葉県旭市を対象に検討した。旭市下永井地区において計測した浸水跡をT.P.に基づいて潮位補正した痕跡高は、汀線を原点として $X=114,195,250\text{m}$ において、それぞれ約4.5,4.5,4.6mであった(図1参照)。計測した3地点の痕跡高の接線を岸方向に延長し、測位した地盤高との交点の標高を当該地区の津波の遡上高として、汀線から約350mの位置において約5.1mとなることが判明した。汀線から約350m陸域までの津波の到達地点は、ヒアリング調査の結果と一致した。同地区を防護する既存の海岸構造物は天端高約4.0mの海岸堤防のみである。堤防背後には家屋が存在しており、津波は堤防を越流し、市街地に流入することで、直接的な被害をもたらしたと推測できる。下永井地区における数値表層モデル(Digital Surface Model: DSM)を構築した。DSMに津波遡上高として前述の5.1mを与え、当該地区における津波の浸水域を図2に鳥瞰図として再現した。同図において浸水域を青色ハッチとして可視化し、汀線と天端高約4.0mの海岸堤防も図化した。津波は飯岡魚港と隣接する飯岡みなと公園のほぼ全域を浸水させている。海岸堤防を越流し市街地へ津波が進行し、甚大な被害を発生させたことが確認できる。海岸堤防には開口部にスロープが設置してあり、津波被害の拡大を助長したと推察できる。再現した浸水域は、図中のヒアリング調査1・2の地点における聞き取り結果と一致していた。また、海岸と市街地までの区間に、海岸堤防・護岸・砂丘・防風林などの複数の施設が整備してある地域と、海岸堤防のみが整備してある地域では、津波被害の状況に差が生じ、防御施設が複数設置してある背地域の被害は軽減される傾向にあった。

2) 巨大津波に対して機能を発揮した社会基盤施設の減災効果の検証については、MARS法による飯岡漁港の防波堤・海岸堤防など海岸構造物の有無の相違を計算条件として、気液混相流の3次元数値シミュレーションを実施する。数値シミュレーションの基礎となる地形データの作成は、図3に示すように電子海図による海底地形データと陸上域のDSMデータとの接続により完了した。今後、あおり風の発生をも考慮した数値シミュレーションを実施し、防波堤・堤防などの津波減衰機能に代表される減災効果を明らかにする。また、1)で示した現地調査による浸水高との比較によりMARS法による計算結果の妥当性も確認する。

3) 地域全体としての災害教訓伝承に対する取組みの推進では、旭市のような関東沿岸の中小都市を対象とする。なお、旭市建設課を主体とした災害伝承教育は実施されていない。図4に産官学民が連携を図りながら災害文化の定着を支援する災害教訓伝承モデルを示す。本モデルの実施は、既存のハードとソフトの対策を組合せた多重防災機能を持たせた災害に強い地区を構築にするにあたって、ソフト災害対策を担う。

本モデルは、事前準備段階と計画・実施段階から構成される。事前準備段階は①既往災害の歴史・体験談などの調査、②①の調査結果のまとめ、計画・実施段階は③地域災害伝承の計画、④住民の避難達成である。①と②では、対象地域において過去に発生した津波災害や現存する災害教訓・伝承を文献や災害経験者へのアンケートにより調査する。そして、調査結果を今後の伝承活動に活用できるように資料として整備する。一方、災害教訓伝承活動を実施する際に考慮すべき伝承手法についても整理する。③では、①と②で整備した伝承手法を、さらに精査し伝承計画を立案する。本モデルの独創的な点は③地域災害伝承の計画の段階にあり、図5に示すように学校・地区・職場の3体制にて伝承活動を展開することにより、対象地域の各年齢層の住民が活動へ参加可能となる。本モデルの実施により、住民が主体的・自主的に災害について向き合うソフト災害対策を配備し、効果的に災害経験・体験が継承されることで、巨大災害が発生した場合の沿岸中小都市における尊い人命とその資産の防護を支援することができる。また、住民が災害体験に向き合うことで、災害発生直後の国・都道府県などの公からの災害支援が機能しない時間的・空間的な状況下において、住民が自ら思考して自助・共助の活動を実施することで、安全の確保を円滑にすることができる。さらに、住民が自ら思考しての安全確保を確固とするために災害伝承とエンジニアリングデザイン教育(以下にED教育)の融合について検討した。対象地域に存在する教育機関において、図4中の③地域災害伝承の計画の学校教育災害伝承を企画するにあたっては、対象となる参加年齢が若年層に限定され、その割合は全体の約3割であり、防

部科校名：生産工学部

氏名：鷲見 浩一

## 研究結果（つづき）

災講演会のように広い年齢層を対象とできない。しかし、学校教育災害では、参加者が災害伝承パネル・団体防災訓練などの活動により、災害伝承活動に、参加者が自主的に取組むことが可能となる。すなわち、災害伝承教育とED教育の融合が可能となる。具体的には、図6に示す避難経路・施設に関わる情報を掲載した災害伝承パネルの作成などの課題に対して、参加者が当該地区における既往の災害体験・被害状況などを反映させた解決策を創出するために、デザインプロセスを体験できる教育環境を整備する。本モデルの活動により、各年齢層の住民が既往災害についての知識共有・避難訓練などの活動を行うことにより、正常性バイアスの増幅が制御できるものと考えられる。また、津波来襲時に親族・知人を失った心痛は筆舌に尽くし難い。したがって、被災者が災害に向き合う災害伝承モデルの導入にあたっては、住民への心理的な配慮を十分に検討する必要がある。

また、2011年の東北地方太平洋沖地震津波に際しては、ハードの限界を補うソフトの重要性が明白となり、津波に対して、安全性の向上に配慮したハードとソフトの連携的な整備が必要とされている。そこで、巨大津波来襲から2年が経過した市町村の防災対策の実態をアンケート調査により検討した。

研究の内容 千葉県内の54、茨城県沿岸の6の市町村を対象として、アンケートを実施した。本研究では、国交省・気象庁・消防庁・大学などが地方公共団体と住民を対象として行った既往の21の防災に関わるアンケートについて、設問項目の特性について調査し、アンケートを立案した。アンケートは質問紙形式として、2012年12月～2013年1月に調査した。また、アンケート分析の信頼性を向上させるために、対象とした市町村を図7に示す外房・内房・内陸・茨城県沿岸の4地域、図8に示す浸水地域と非浸水地域に分類し、市町村の防災対策・意識を地理条件と浸水条件により検討した。アンケートの回収率は、地理条件では外房が73%、内房が75%、内陸が44%、茨城県沿岸が83%であり、浸水条件では浸水地域が76%、非浸水地域75%であった。図9は、千葉県の外房・内房・内陸の各地域と茨城県沿岸域における巨大津波による人的被害と建物被害を示したものである。人的被害は各地域の死者数に $10^2$ を乗じたものであり、建物被害は建物の倒壊数を全壊戸数+半壊戸数 $\times 0.5$ と定義している。調査地域における人的被害は巨大津波の直接的な被害により、太平洋側に位置する外房と茨城県沿岸が、内房や内陸よりも多数であることが判る。建物被害は、住宅が比較的密集し液状化現象が顕著であった浦安市や習志野市を含有する内房が、外房よりも多くなっている。アンケートの主要な結果を以下に示す。

- ・ 既往アンケートの設問を調査した結果(図10)、設問の特性は1.津波発生時の対応とその体制、2.津波避難に関する知識の普及とその啓発の2つに大別でき、これを大項目とした。大項目を把握するための設問群を中項目として設け(表2)、45の設問を小項目とする3階層の設問区分を持つアンケートを立案した。

- ・ 中項目1-1,2:津波発生時の職員の参集基準の設定の有無は、地理条件や津波被害状況に起因していた。すなわち、海岸線を有する市町村では、被害状況が大きい地域ほど基準が規定されている傾向となる(図11)。市町村の自己評価による初動体制について「あまり機能しなかった」の回答割合は、被害が大きな地域ほど高いことが判る(図12)。

- ・ 中項目1-3:千葉県内にて甚大な被害が発生した外房では、避難誘導を「適切に行うことができなかった」との回答が内陸を除く他の地域よりも高く、約6割である(図13)。避難勧告・指示の発令基準・意志決定プロセスが規定されていない割合は、外房が県内の海岸線を有する他の地域と比較して約6割と高い(図14)。また、同間において、規定がなされている市町村は、浸水域が非浸水域よりも約1割低い。これより、震災から2年が経過し、地域間の避難対策に相違が生じ、十分な整備がなされていない場合もあることが判る。

- ・ 中項目2-1,2:津波に関する知識教育の実施率は、甚大な被害を受けた外房よりも内房が若干高い(図15)。同間において、浸水域の実施率は非浸水域より若干低い(図16)。また、住民参加の避難訓練の実施率も浸水域は非浸水域よりも約2割低い(図17)。防災教育の震災2年後の現状も地域間の対策に差違が存在している。

- 6)中項目2-3:避難訓練の体験を津波来襲時に「役立てることができた」とする回答は、内房・外房において2割以下であり(図18)、各年齢層の住民が主体的に取り組むことのできる避難訓練の整備が必要となる。

注：必要に応じて、このページをご使用ください。

部科校名：生産工学部

氏名：鷲見 浩一

研究結果（つづき）

一例として、学校教育において正常性バイアスの増幅を制御し、児童の避難を支援するためにデザイン教育と災害伝承とを融合させた教育を展開する。具体的には、児童が避難経路情報を掲載した災害伝承パネルなどの製作に自ら思考して取り組む。その思考過程に、情報収集・原因分析・解決策の創出・評価などのデザインプロセスを体験できる教育環境を整備する。

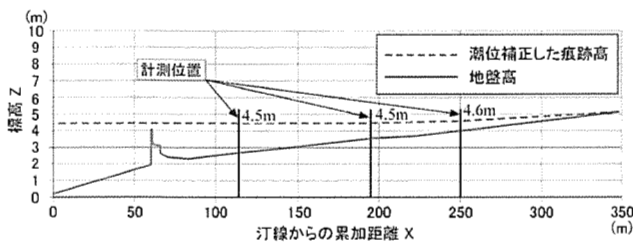


図1 津波の痕跡高

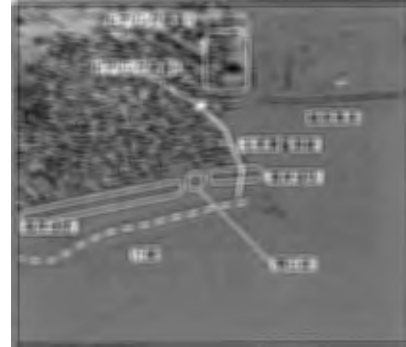


図2 下永井地区における浸水域の再現

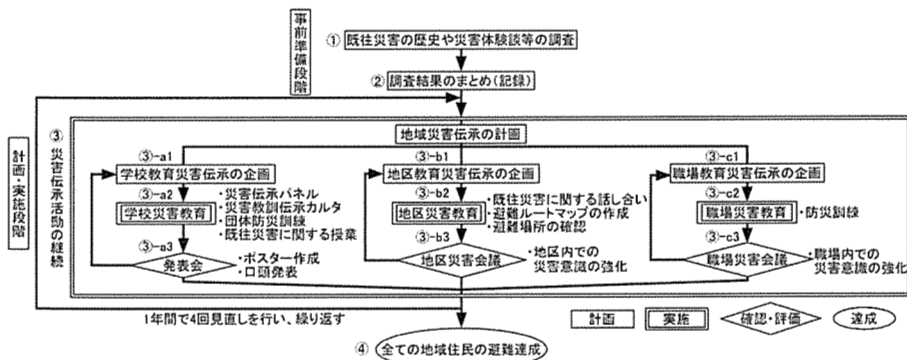


図3 災害教訓伝承モデル

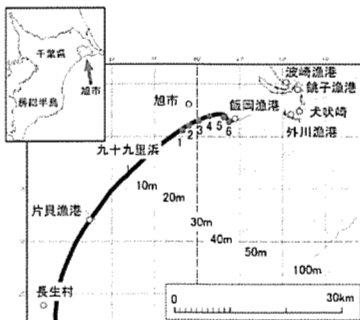


図4 地形データ

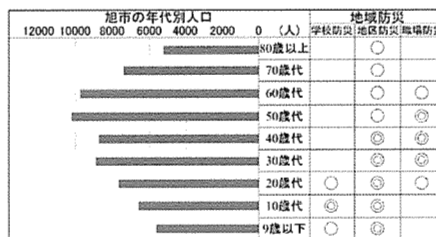


図5 年齢層と対応する伝承手法

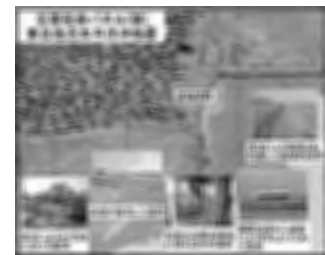


図6 災害伝承パネルの作成例

表2 アンケート設問項目の設定

大項目	中項目
1.津波発生時の対応とその体制	1-1初動体制
	1-2参集基準および状況
	1-3避難勧告・避難指示・発令状況
2.津波避難に関する知識の普及とその啓発	2-1防災意識の現状と防災教育
	2-2津波避難訓練の実施状況
	2-3津波避難対策の状況

注：必要に応じて、このページをご使用ください。

部科校名：生産工学部

氏名：鷲見 浩一

研究結果 (つづき)

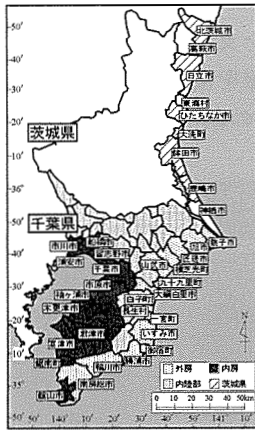


図7 地理分類

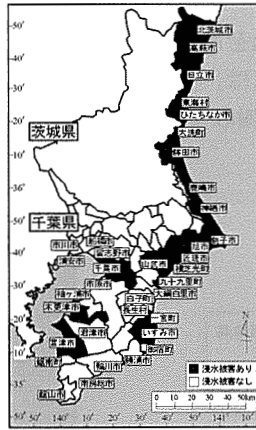


図8 浸水分類

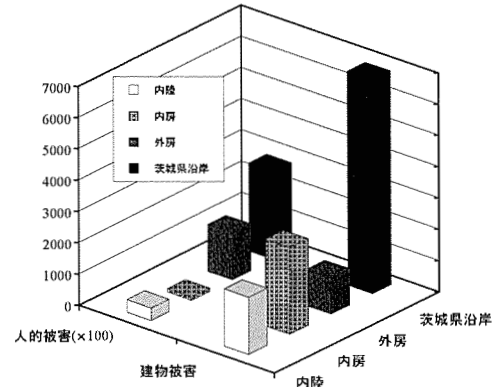


図9 地域別被害状況

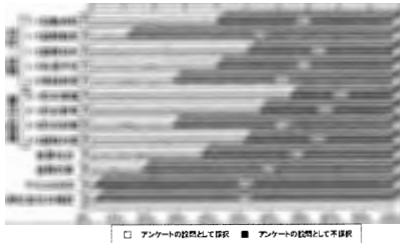


図10 既往アンケートの設問特性

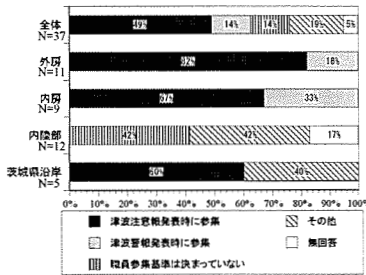


図11 職員参集基準の有無

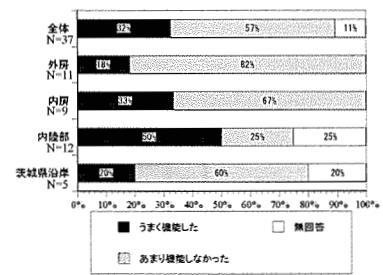


図12 初動体制の機能

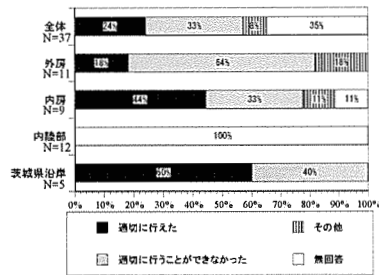


図13 避難誘導の適切さ

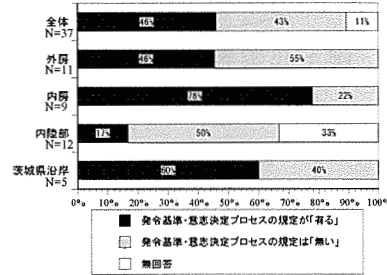


図14 避難勧告・指示の発令基準

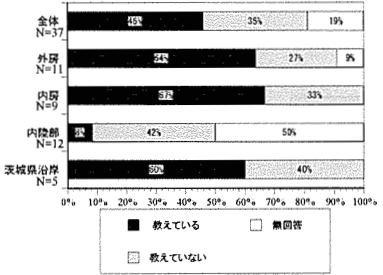


図15 津波の学校教育(地理)

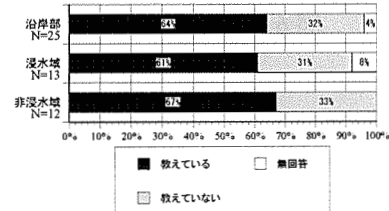


図16 津波の学校教育(浸水)

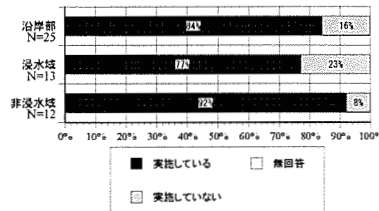


図17 住民参加の津波避難訓練

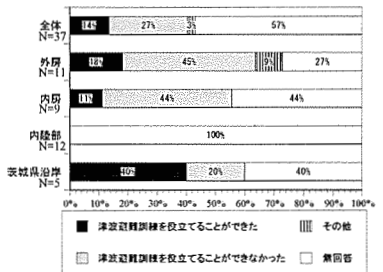


図18 避難訓練の役立ち割

注：必要に応じて、このページをご使用ください。

## 平成24年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成25年 5月 10日

日本大学学長 殿

氏 名 石原 務 

所属・資格 工学部・准教授

下記のとおり報告いたします。

1 研究課題 ナノテクDDSによる先端ナノ医療システムの構築		
2 研究組織		
氏 名	所属部科校・資格	役割分担
○研究代表者名 石原 務	工学部・准教授	研究統括、DDS 製剤調製、細胞試験
○研究分担者		
榎島 誠	医学部・教授	生化学評価、薬理試験
春木 満	工学部・教授	タンパク医薬調製
斎藤 義雄	工学部・准教授	核酸医薬合成
平野 展孝	工学部・准教授	リガンド分子探索/調製
3 本研究に関連して外部資金への申請状況、獲得状況		
<ul style="list-style-type: none"> <li>・科学技術振興機構研究成果展開事業 A-STEP (H25)、ナノインターフェロンDDS 医薬による新規肝炎治療法の確立、石原務、申請中</li> <li>・NEDO 研究開発費補助金 (H25-H26)、抗炎症・気管支拡張作用を持つ既承認薬の COPD 治療薬への開発、大谷培夫・石原務他、申請中</li> <li>・持田記念医学薬学振興財団研究助成 (H25)、肝ターゲティング能を有する二種混合ナノDDS 医薬による新規肝炎治療、石原務、申請中</li> <li>・公益財団法人福島県学術教育振興財団研究助成 (H25)、副作用を低減可能なインテリジェント型抗がん剤開発、石原務、申請中</li> <li>・科学研究費補助金基盤研究 (C) (一般) (H25-H27)、ビタミン D 受容体を介する腸管・肝臓の免疫と代謝の調節機構、榎島誠、採択</li> <li>・戦略的創造研究推進事業さきがけ (H24~H27)、セルロース/ヘミセルロース/リグニン分解酵素群の集積・近接化による協働作用の創出、平野展孝、採択</li> <li>・科学技術振興機構研究成果展開事業 (先端計測分析技術・機器開発プログラム) (H24~H28)、救急及び災害現場で用いるポータブル血液検査装置の開発、榎島誠他、採択</li> <li>・科学研究費補助金基盤研究 (C) (一般) (H23-H25)、3 本鎖 DNA を利用した新規コンビナトリアル合成レセプターライブラリーの開発、春木満、採択</li> </ul>		

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



部科校名：工学部

氏名：石原 務

## 4 研究目的

我が国で急激に進行する少子高齢化は、医療費の増大や労働力人口の減少を招き、将来的に国力低下が危惧される。特に、国民総医療費は約 37 兆円にもものぼり年々その額は増加しており、その財源確保は切迫した課題である。医療費の約 20%を占める医薬品は高付加価値な商品で、その開発は国により最重要産業の一つと位置付けられ、21 世紀の我が国の発展を左右することは疑いない。しかしながら、我が国の医薬品開発は、基礎技術のレベルが高いにも関わらず国際競争力に乏しい。また、臨床試験の厳格化など諸々の理由により新規医薬品の上市数は年々減少傾向にある。新薬が生み出されないこの現状は、医療技術の進歩の大きな妨げであり、ブレイクスルーとなる医薬品開発技術の構築が待たれる。

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

本研究では、革新的な疾病治療システムを構築することを最終目標とし、医工連携プロジェクトとしてナノテクノロジーを駆使した画期的な DDS 医薬開発に挑む。汎用性が高い基本的な DDS 技術の開発をおこなうことで、容易に (少ないエネルギーとコストで) 多くの新しい医薬品を一気に創出できる可能性 (医薬品開発におけるジャックポット) がある。このような基幹技術開発は、医療イノベーションの一翼として今後のナノメディスンの潮流を決定する大きな転機となりうると考えられる。

## 5 研究概要

本研究は、医工連携プロジェクトとして画期的な DDS 医薬開発に挑戦する。我々はこれまでに独自手法により DDS 用のナノ粒子デバイスの開発に成功している。上市済みあるいは臨床開発中の他の DDS デバイス (例えばリポソームや高分子ミセルなど) は単一の機能しか有していないが、開発したナノ粒子は複数の機能 (ターゲティングと薬理効果の持続) を有した初めての多機能型ナノ粒子デバイスである。このナノ粒子の特徴の一つは、その表面性状を任意に制御できることである。ポリエチレングリコールのような生体適合性高分子を配置すれば、体内滞留性を向上でき EPR 効果による受動的ターゲティングが達成できる。あるいは、リガンドとなる分子を配置すれば、受容体を有する組織/細胞に能動的にターゲティング可能になる。加えて、さらなる特徴として薬物包埋技術があげられる。金属イオンを利用する独自技法により、従来包埋が困難であった親水性薬物でも効率よく粒子内に包埋できる。また、粒子コアに生分解性高分子を用いることで、その加水分解に伴い薬物の徐放出 (薬理効果の持続) が誘導できる。実際に、薬物としてステロイドやプロスタノイドを封入したナノ粒子は、疾病モデル動物を用いた複数の異なる薬理試験において既存薬より有意に高い薬理効果を示すことが証明されている。

このナノ粒子デバイスをベースにした基幹技術を確立することで、多くの疾病を網羅したナノ治療システムを構築できると考えられる。本研究では、ナノテクノロジーを駆使しナノ粒子を改変し、より汎用性/機能性が高く、より効果的な治療が可能な医療デバイス候補を創出した。具体的には以下の四つの疾患を対象とした DDS 医薬の開発を遂行した。

- ① C型慢性肝炎治療：ウイルス感染し炎症が生じた肝臓に抗ウイルス薬を能動的にターゲティング可能な DDS 医薬を開発し、C型慢性肝炎の新たな治療法を確立する。
- ② ぶどう膜炎治療：ぶどう膜炎を生じた眼球部に免疫抑制剤を受動的にターゲティング可能な DDS 医薬を開発し、ぶどう膜炎治療の新たな治療法を確立する。
- ③ 癌治療：トランスフェリンをリガンド分子として利用することで、抗癌剤を腫瘍組織に能動的にターゲティング可能な DDS 医薬を開発し癌治療を目指す。
- ④ 遺伝子治療：siRNA を薬物として用いる新たな疾患治療法を確立する。肝疾患に対し効果的な遺伝子治療が可能な薬物担体を開発する。

部科校名：工学部

氏名：石原 務

## 6 研究結果 (4,000 字以上記入してください。)

これまで開発してきたDDS用ナノ粒子デバイスの基幹技術を応用することで、種々の疾病へのナノ治療システムを確立することを目指す。平成24年度、我々は主として四つのアプローチ法からその実現に向け研究を鋭意遂行してきた。

## ①C型慢性肝炎治療用DDS医薬

第一に、標的組織つまり疾患部位へ能動的にターゲティングを達成できるDDSデバイスの開発をおこなった。治療を目指す対象疾患としてはC型慢性肝炎を選択した。C型肝炎ウイルス感染者は200万人にもおよび慢性肝炎・肝硬変を経て肝臓がんに行進し年間3万人もの死者を数える。しかし、現在の肝炎治療法での著効率は50%に過ぎず、さらに治療期間が長く副作用も強く患者への負担が大きい。平成23年度には厚労省が「肝炎研究10ヵ年戦略」を取りまとめしており、これらの肝疾患を克服することの重要性・緊急性が窺い知れる。現在の治療法としては、インターフェロンにポリエチレングリコール(PEG)を化学修飾したPEG-インターフェロンと抗ウイルス剤であるリバビリンの併用療法が主流である。しかし、リバビリンは溶血性貧血を引き起こすなど、副作用が課題となっている。そこで、本研究では、基幹技術に基づき、副作用を軽減させ薬理効果を高めた非侵襲的な新規のリバビリン製剤を開発した。

平成23年度には、リバビリンを封入したポリ乳酸ナノ粒子の調製法の確立をおこない、アラビノガラクトン(AG)を表面に配置したナノ粒子を開発した。AGは肝実質細胞のアシアロ糖タンパク質レセプターのリガンド分子であるため、このナノ粒子はウイルス感染した肝実質細胞に特異的にリバビリンを運搬できると考えられる。一方で、AGと同様、多糖であるプルラン(Pu)は分子量に依存して肝臓へ集積することが知られている。よって、はじめに、AGとPuのどちらがターゲティングのためのリガンド分子として適しているかを評価した。様々なメーカーから市販されているPuとAGを蛍光剤であるフルオレセインでラベルし、肝実質細胞の細胞株であるHepG2細胞への取り込みを評価した。その結果、東京化成製のPuが細胞に最も多く取り込まれることがわかった。そこで、このPuあるいはAGとポリリジンとのコンジュゲートを合成した。合成した各コンジュゲートの重量平均分子量はPu-ポリリジンが173000、AG-ポリリジンが18000であった。このコンジュゲートを用い調製したナノ粒子のゼータ電位を測定したところ、多糖を使用していないナノ粒子は-49.8mVであったのに対し、Puナノ粒子は-10.1mV、AGナノ粒子は-17.9mVであった。よって、ナノ粒子表面をPuやAGが被覆していることがわかった。また、疑似生体環境下でこれらナノ粒子からのリバビリン放出挙動を解析したところ、リバビリンは初期バーストすることなく約4週間にわたりナノ粒子から徐放出された。よって、ポリ乳酸内にリバビリンを封じ込めることで長期間にわたりその薬理効果を持続できると考えられる。

次に、ナノ粒子とHepG2細胞との相互作用を検討するため、蛍光物質でラベルしたナノ粒子を作製した。ローダミンBイソチオシアネートをポリ乳酸末端に導入したアミノ基に結合させ、ポリ乳酸-ローダミンを得た。このポリマーを用い調製したナノ粒子とHepG2細胞とをインキュベートし蛍光観察したところ、予想に反しAG被覆ナノ粒子よりPu被覆ナノ粒子の方が取り込みが少なかった。よって、PuはAGよりもポリマーとしては細胞に取り込まれやすいが、ナノ粒子ではPuよりもAGで被覆した方が取り込まれやすくなることが明らかになった。以上より、以後の試験ではAGで被覆したナノ粒子を製剤候補とした。

このナノ粒子を用い動物の体内動態解析をおこなった。マウスを用いリバビリンの肝臓集積性を評価したところ、リバビリン水溶液を投与した場合に比べ、ナノ粒子では顕著に集積性が増大し全投与量の少なくとも50%程度を肝臓に集積できることがわかった。さらに、リバビリン水溶液では投与1日後には肝臓で検出できなかったのに対し、ナノ粒子では投与7日後においても全投与量の25%程度が残存していたことから、肝臓内でナノ粒子から薬物が徐放出されていることが示唆された。また、蛍光ラベルナノ粒子の投与2時間後に肝臓の凍結切片を蛍光観察したところ、ナノ粒子が主として肝実質細胞へ集積していることがわかった。

さらに、このナノ粒子の薬理効果を検討した。ヒト肝実質細胞を移植したキメラマウス(PXBマウス、PhoenixBio社)にヒトC型肝炎ウイルス1bを感染させることで、C型肝炎モデル動物とした。PEG-インターフェロンとリバビリン封入ナノ粒子、あるいはPEG-インターフェロンとリバビリンを投与し、血清中のウイルスRNA量からウイルス量を定量した。その結果、インターフェロンと20分の1の量のリバビリンを含有したナノ粒子を投与した場合でも抗ウイルス効果が確認できた。しかしながら、今回の投与量では、インターフェロン単独投与でも強い抗ウイルス効果が認められ、リバビリン併用による相乗/相加効果が確認できず、明確なナノ粒子の有効性が判断できなかった。また、ナノ粒子を投与したマウスで体重減少は観察されずナノ粒子の毒性は認められなかった。以上より、このナノ粒子は、肝臓へのターゲティング能と薬物徐放機能を兼ね備えていることがわかった。しかしながら、疾患モデル動物での試験からは、顕著な薬理効果が現時点では確認されておらず、投与量・投与間隔などの条件を再設定することにより更に検討を進めていく必要がある。

部科校名：工学部

氏名：石原 務

## 研究結果（つづき）

## ②ぶどう膜炎治療用DDS医薬

第二には、疾患部位へ受動的にターゲティングを達成できるDDSデバイスの開発をおこなった。治療を目指す対象疾患としてぶどう膜炎を選択した。ぶどう膜炎は眼のぶどう膜に炎症が起きる疾患であり、霧視や羞明感などの症状があらわれることが多い。その治療には、ステロイドなどの点眼薬が使われるが、眼の奥の炎症が強い場合にはステロイドや免疫抑制薬の全身投与が行われている。実際に免疫抑制剤であるネオオーラル<sup>®</sup>[薬物名シクロスポリンA(CsA)]は、経口投与により非感染性ぶどう膜炎の治療に臨床利用されている。しかしながら、このような全身投与では、副作用や局所での有効濃度維持に課題が残る。そこで、本研究では、薬物の炎症組織へのターゲティングおよびそこでの薬物徐放による有効濃度の長期持続を達成するため、新たなDDS製剤の開発を試みた。

ポリ乳酸のコアの中にCsAを封入し、かつPEGで表面を覆ったナノ粒子の調製を行った。調製したナノ粒子の粒子径は100~130nm、CsA封入率は2~8%であった。疑似生体環境下での粒子からのCsA放出試験を行ったところ、DL体のポリ乳酸から調製したナノ粒子ではほとんどのCsAが2日ほどで放出されてしまった。一方、L体のポリ乳酸のナノ粒子ではおよそ25日間に渡り0次放出されたことから、このナノ粒子は生体内でもCsAを徐放出し薬効を持続できることが示唆された。次に、蛍光色素(Cy7)をラベルしたナノ粒子を調製し、これをin vivoイメージングに供した。末端にアミノ基を導入したポリ乳酸にCy7-NHSを添加することでポリ乳酸-Cy7を合成した。このポリマーを用い調製したCy7ラベルナノ粒子をラットに投与したところ、正常ラットに比べぶどう膜炎モデルラットにおいて眼球部へのナノ粒子の顕著な集積がみとめられた。さらに、ナノ粒子の薬理効果を炎症スコアから評価したところ、既存薬であるCsAを投与した場合よりも明らかに強い炎症抑制効果が確認できた。

## ③癌治療用DDS医薬

第三には、対象疾患として癌に着目し、疾患部位である腫瘍組織に能動的に抗癌剤をターゲティングできるDDSデバイスの開発をおこなった。これまでの抗癌剤による化学療法の最大の課題は、いかに副作用を最小限に抑えるかであった。病巣を認識してそこに薬物を集積させる能動的ターゲティング療法は、その解決策の一つとして期待される。癌細胞は正常細胞に比べ、トランスフェリン(TF)受容体が多く発現していることが知られており、リガンドとしてTFを用いることで能動的ターゲティングが可能になると考えられる。既に、リポソームやシクロデキストリン表面にTFを修飾したキャリアが開発中であるが、これらのキャリアは薬物の放出速度を制御できない。そこで本研究では、抗癌剤をポリ乳酸のコアに包み込み、その表面をTFで修飾することで、薬物徐放とターゲティングの二つの機能を兼ね備えた新規のキャリアの開発を試みた。ナノ粒子は、末端にカルボキシル基を配したPEG-ポリ乳酸ブロックポリマーとポリ乳酸を用い溶媒拡散法により調製した(CA-NP)。TFはブロックポリマーのカルボキシル基に縮合反応により結合させ、限外ろ過精製することでTF修飾ナノ粒子(TF-NP)を得た。ゼータ電位測定したところ、CA-NPでは-12.4mV、TF-NPでは-2.8mVであったことから表面へのTFの結合が示唆された。トリニトロベンゼンスルホン酸を用いTFの定量を行ったところ、ナノ粒子1mgあたり159 $\mu$ gのTFが結合していると算出された。細胞実験から、CA-NPよりTF-NPが癌細胞株であるHepG2細胞やHela細胞により多く取り込まれていることが確認できたことから、このナノ粒子は生体内で癌へのアクティブターゲティングが達成できることが期待される。

## ④遺伝子治療用DDS医薬

第四には、遺伝子治療を目指したDDSデバイスの開発をおこなった。siRNAなどの核酸分子は次世代医薬品としての利用が期待されている。しかし、siRNAは生体膜透過性に乏しくまた生体内で速やかに分解されるため、薬物として用いるには何らかのキャリアが必要になると考えられている。そこで本研究ではin vivoで肝臓特異的にsiRNAを運搬可能なキャリアの開発を行った。キャリアとしては、リガンド分子として機能する多糖のAGとsiRNAとイオン複合体を形成可能なポリカチオン(ポリリジン)からなるコンジュゲートを用いた。コンジュゲートとsiRNAの複合体形成を電気泳動により評価したところ、コンジュゲートのポリリジンセグメントとsiRNAがイオン相互作用により結合し複合体を形成したことがわかった。この複合体の粒子径を動的光散乱により測定したところ約50nmと測定された。蛍光ラベルしたsiRNAとコンジュゲートの複合体をHepG2細胞とインキュベートしたところ、siRNAが細胞に顕著に取り込まれることが明らかになった。

以上のように、本研究では基幹技術を発展させ主として四つのアプローチからDDSデバイスの開発をおこなってきた。これらのそれぞれのDDS医薬は将来的に新規医薬品としての上市が期待される。また、同様にこの基幹技術を応用することで様々な疾患に対する新規医薬品を一気に創出できると考えられる。

注：必要に応じて、このページをご使用ください。

課題番号	総 12-011 継続 総 11-019
------	----------------------------

平成 24 年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成 25 年 4 月 1 日

日 本 大 学 学 長 殿

氏 名 中山壽之



所属・資格 医学部・専任講師

下記のとおり報告いたします。

1 研究課題 画像解析による肝細胞癌形態分類システムの樹立		
2 研究組織		
氏 名	所属部科校・資格	役割分担
○研究代表者名 中山壽之	医学部・専任講師	総括、データ解析
○研究分担者 高山忠利	医学部・教授	統計解析
伊藤彰義	理工学部・教授	画像解析
大久保貴生	医学部・講師(専任扱い)	データベース構築
檜垣時夫	医学部・助教	臨床データ集積
合計 5 名		
3 本研究に関連して外部資金への申請状況, 獲得状況		
平成 25 年度科学研究費補助金に関連研究として「3D 画像解析による外科手術教育定量的評価法の開発」(基盤研究 C、研究代表者: 中山壽之)が採用された。今後、本学術研究の成果物完成後に科学研究費に申請する計画である。		

※「6 研究結果」について、ホームページ等での公開 (☑・否) いずれかを○で囲んでください。  
否の場合は、理由書を添付して下さい。

部科校名：医学部	氏名：中山壽之
----------	---------

4 研究目的

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

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

〈目的〉 本研究では術前 HCC の画像データから、新規に画像解析システムを開発し、従来にない形態分類法を構築することである。研究の第一段階は独自の画像解析システムを開発し、生の画像データから腫瘍の形態特性を数値化することである。第二段階は統計学的手法を用いて、各画像の数量化データをパターン化分類する。第三段階は新たな肉眼形態分類と患者予後との相関関係を評価することである。第四段階は立体画像構築による 3D 解析を行うことである。

5 研究概要

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

1)画像データ集積

肝切除術を施行された HCC 患者の術前 CT 画像から HCC 輪郭像を作成する。画像トレーシングシステムを用いて腫瘍最大径の部位で輪郭を抽出する。

2)画像情報の数値化システム構築

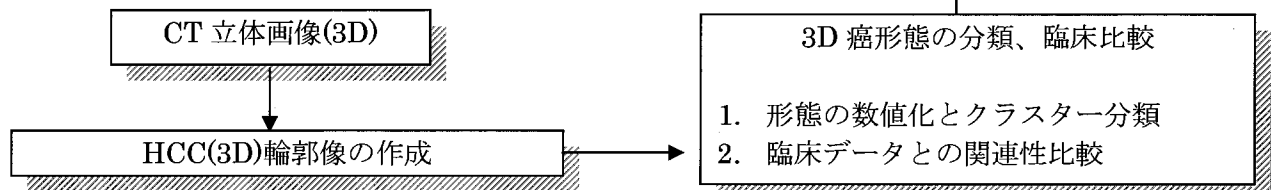
癌の直径、周径、辺縁の形態(凹みの大きさ、角度、個数)などを定量的に測定できるよう数値化する新規システムを開発する。

3)分類システム構築、臨床データとの比較

数値化された画像データを用いて臨床応用する。

4)3D 画像による癌形態の評価

CT 平面画像から腫瘍の 3D 画像を構築し形態分類する。



部科校名：医学部

氏名：中山壽之

## 6 研究結果 (4,000字以上記入してください。)

## &lt;患者選択&gt;

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

## &lt;画像選択&gt;

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

## &lt;病理学的解析&gt;

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

## &lt;統計学的検討&gt;

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

## &lt;腫瘍輪郭の抽出&gt;

本研究ではトレースされた腫瘍輪郭像のみに注目し内部構造は検討されなかった。腫瘍輪郭の凸凹を数値化するに当たってくぼみ領域を抽出する方法を開発した。研究初年度は腫瘍輪郭像を機械的にすべて自動化して抽出可能か検討した。一般的に肝癌は線維性被膜を有しており造影CT晚期相において被膜成分が高吸収像を示し腫瘍内部は造影剤の排出に伴う低吸収像を示す。また非腫瘍部は肝硬変または慢性肝炎による線維化をともなっており腫瘍被膜部と比較して低吸収像をします。これらのコントラストの違いに注目して腫瘍輪郭像の抽出に必要な因子を求めた。しかし、上記画像選択でも述べたように典型的肝癌の診断は放射線科医師による肉眼的判断が必要であり現状では癌部のみを機械的に抽出することは困難であると結論付けた。次に腫瘍輪郭像の一部を診断医が指定することにより輪郭像を抽出する方法を検討した。腫瘍被膜の一部を指定することで連続した高吸収像を自動的に追跡し輪郭像を把握できるのではないかと考えられた。しかし、典型的肝癌は時に門脈、肝静脈などの主要脈管に近接して発育しこれらの脈管は高吸収像を呈することから確実に腫瘍輪郭のみ抽出することは困難であった。最後に、腫瘍輪郭像はマニュアルトレースすることで画像のデジタル化が可能かを評価した。既に肝癌の部位は放射線位により判定されており、この腫瘍について輪郭像のトレースが公正にできるかを複数の検者によりトレースを行い評価した。その結果、トレースそのものは均一に施行され、解析に使用できると判断された。

部科校名：医学部

氏名：中山壽之

## 研究結果（つづき）

## ＜腫瘍形態の数値化＞

トレースされた腫瘍輪郭像を数値化するにあたり、新規に画像解析アルゴリズムを検証した。1つは「くぼみ領域の有無を検出するアルゴリズム」である。ある図形内の任意の2つの画素を結ぶ線分が、その図形の内部の画素のみを通過するとき、この図形はくぼみが無く、凸と呼ばれる。この凸凹性を調査するアルゴリズムを用いてくぼみ領域を検出した。次に「くぼみ領域を埋めるアルゴリズム」である。図形内の任意の2つの画素を結び、その画素を塗りつぶし行くとくぼみ領域を含む図形内の領域が全て塗りつぶされる。最終的にこの2つのアルゴリズムから「くぼみ領域を埋めるアルゴリズム」－「くぼみ領域を検出するアルゴリズム」でくぼみ領域を抽出した。続いて、どのような項目が腫瘍形態を的確に表しているかを検証した。腫瘍輪郭像から腫瘍径、面積、周囲長、くぼみ領域の個数、面積、くぼみの深さ、底辺、くぼみの周囲長、先鋭度など複数の項目を測定した。これらの値から様々な組み合わせの回帰式を構成し、最も分離度が良いものを採用した。

## ＜腫瘍評価因子の意義＞

「腫瘍周囲長に対するくぼみ周囲長の割合」：癌の周囲長に対してくぼみ周囲長の値が大きい症例で増加する因子。従来報告では腫瘍径が増加するに従い脈管侵襲や肝内転移が多く発生することが知られている。腫瘍とくぼみ領域の大きさを定量測定し病理因子と比較することにより予後判定につながる事が予測される。「腫瘍面積に対するくぼみ面積の割合」：癌の面積に対しくぼみ面積の割合が大きい症例では増加する因子。従来報告では単結節周囲増殖型に置いて脈管侵襲や肝内転移が多く発生することが知られており、周囲に増殖した腫瘍がくぼみ面積と関連している可能性が示唆される。本因子により従来の肉眼分類を術前に類推できる可能性がある。「くぼみ深さのくぼみ底辺に対する比率にくぼみ面積を乗じたもの」：尖っているくぼみを多く持ち、癌の面積に対するくぼみ面積の割合が大きい症例で増加する因子。従来報告に無い評価方法であり現在意義を確認中である。

## ＜客観性の検証＞

トレース画像の客観性を検証するため複数検者によりトレースを行った。それぞれの検者から得られた画像データについて相関関係を求め、非常に密接な関連性が認められた。従って本研究により得られたデータは、仮に第三者が実施しても同様の結果が得られる普遍性を持つ可能性が高いと考えられた。

## ＜評価因子の絞り込みと臨床応用＞

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

さらに最終決定された因子を用いて形態分類を行い、臨床病理学的特徴との比較検討を行う必要がある。客観的に評価された輪郭像数値化データを、クラスター分類法を用いて公平に形態分類を行う予定である。現在、最終的分類には至っていないが、テストサンプルを用いて分類した結果3～5形態に分類できることが分かった。現在、普遍的な分類作成を目指している。従来の肉眼分類は切除標本の断面を病理医が視認法で確認し判定されていたが、主観的な成分が含まれる危険性が残っている。われわれの分類法が完成することにより客観的で公平な分類が行われるものと考えられている。

## ＜臨床データとの相関＞

CTデータを解析した患者について臨床データを調査した。血液生化学検査、病理学的因子、生存、再発、再発様式を評価し、画像解析データと合わせて多変量解析を実施中である。累積生存および無再発生存に寄与する因子を評価中である。

部科校名：医学部

氏名：中山壽之

## 研究結果（つづき）

## ＜腫瘍の形態分類と患者予後予測との関連性＞

Kanai らは 1987 年に 3cm 以下の HCC を対象に肉眼分類を提唱し、それは病理学的門脈腫瘍栓 (macroscopic portal vein tumor thrombus: vp) と密接な関連性があることを報告した。また、Wakai らは術前 CT で描出された 112 人の HCC 形態を調査し、肉眼的に lobular type, non-lobular type に分類し前者の生存が良好であることを報告した。このように腫瘍の形態は、時に患者の予後を規定する因子となるため、われわれの分類法が患者予後といかなる関連性があるかを因子分析する必要がある。平成 24 年度内において最終的な分類は未決定であるが、上記テストサンプルによる分類では、「腫瘍面積に対するくぼみ面積の割合」および「くぼみ深さのくぼみ底辺に対する比率にくぼみ面積を乗じたもの」が小さいほど脈管侵襲が少なく予後良好である傾向が認められた。術前の画像データから客観的に予後を判定できる可能性があるため、最終成果物において検証する予定である。

## ＜3 次元 CT 画像解析＞

継続研究の課題として近年、急速に発達している 3D 画像への対応が挙げられる。HCC は類球形を呈しており、膨張性に発育するという生物学的特徴を有している。今回の研究では腫瘍の最大径における CT 画像 (2D) のみを評価対象としたが、腫瘍の全スライス进行评估することにより一層の臨床病理学的特徴が得られる可能性がある。テストケースとして 3D 構築された画像を用いて、2D と同様の検証を行った。その結果、時間を要するが立体画像を解析することは可能であり、表面を構成する画素を定量化できることが判明した。平成 24 年度研究では構築ソフトの見直しを行い、数 10 分で立体画像が完成できるように目標を設定した。汎用性を考慮しスーパーコンピュータではなくワークステーションを用いた。画像解析には楕円法、近似値法など数値の代表的な部分のみを測定する方法を採用した。これにより、計測時間の短縮、データ容量の縮小化ができると思われ、症例の追加、測定方法の改善を繰り返し行った。平成 25 年 3 月現在、すべての症例において無条件に 3D 画像が構築できるわけではないが、腫瘍径 3cm 以上で (小型より大型の方が認識しやすかった)、比較的平滑な腫瘍面を持ち、周辺に主要脈管がない症例において数 10 分で目的を達成することができた。現在、2D トレースと同様にすべての画像をオートで抽出するか、もしくは部分的にマニュアル操作を残しながらセミオートで 3D 画像を構成するかの検証を行っている。最終成果物として 3D 立体画像を用いて腫瘍形態分類と臨床データとの相関を発表できるよう鋭意準備中である。万一、すべての結果を本研究助成金の提出成果物として発表が困難な場合は腫瘍条件を制限し解析可能な症例の身について成果報告する予定である。

## ＜切除標本の客観的形態分類＞

前述の Kanai 分類は病理医の肉眼的分類であり、主観性を伴うが、CT 画像処理の方法を用いて客観的に分類できる方法を開発中である。切除標本を観察する場合に腫瘍最大割面で肉眼的に評価するが、この標本写真を解析に用いた。当科ではすべての肝癌症例を写真撮影している。この写真が CT 画像と異なる点は、1) 資料がカラー画像であること、2) 切除標本はブルーバックを背景に撮影されており、肝表面から突出する標本ではブルーとの境界を検出する方法の開発が必要なこと、3) 腫瘍と脈管との鑑別が困難なこと、などの問題が考えられた。平成 25 年度研究において、色・コントラスト解析により腫瘍辺縁と非腫瘍部との自動分離に成功した。現在、各症例について解析を進めている。

## ＜3D 画像分類、切除標本形態分類の臨床応用＞

それぞれの分類と臨床データとの関連性を比較し最終成果物において発表する見込みである。3D 構築された画像を丁寧に観察すると腫瘍最大径付近ではなく、周辺に置いて辺縁に不整な形態を示すものが存在した。これらの画像と予後との関連性を検証する必要がある。従来 of 切除病理分類では腫瘍最大径でのみ評価が行われていた。現在、腫瘍最大径のみで評価するのが良いか、周辺領域を加味するかの検討を行っている。

注：必要に応じて、このページをご使用ください。



## 平成24年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成 25 年 5 月 9 日

日 本 大 学 学 長 殿

氏 名 羅 智 靖



所属・資格 医学部・教授

下記のとおり報告いたします。

1 研究課題 IgE を介した新たなマスト細胞活性化機構の解明		
2 研究組織		
氏 名	所属部科校・資格	役割分担
○研究代表者名 羅智靖	医学部／教授	研究統括
○研究分担者 徳橋泰明	医学部／教授	関節リウマチ患者からの滑膜採取
高橋恭子	生物資源科学部／専任講師	可溶性ヒト FcεRIα鎖および HRF の調製
布村聡	医学部／助教	マウスマスト細胞およびペプチド実験
下川敏文	医学部／助教	IgE+に関する実験
合計 5 名		
3 本研究に関連して外部資金への申請状況、獲得状況		
平成25年度 科学研究費 基盤研究(A) 不採択		

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

部科校名：医学部

氏名：羅智靖

## 4 研究目的

マスト細胞は殆ど全身の臓器、組織に分布するが、特に外界に接する皮膚や、気道、消化管などの免疫応答の盛んな粘膜組織の血管周囲に多数定着している。この位置取りは、細菌やウイルスなどの病原体や外来の異物に直接曝されることを意味し、感染時にはこれらの病原体を排除する自然免疫に携わる一方で、IgE や IgG と抗原の免疫複合体は、FcR を介してマスト細胞を活性化し、種々の炎症性メディエーターを放出させ、マスト細胞はアレルギー炎症を始めとする局所の炎症のコンダクターとして機能する。これに加えてマスト細胞の活性化によって細胞外へ放出された顆粒が TNF- $\alpha$  を含んだ状態で二次リンパ組織へ速やかに到達することにより、免疫系全体が賦活化されることが近年明らかにされた。即ち、マスト細胞は単に即時相の反応を起動するのみではなく、遅発相における免疫応答の修飾に関与し、炎症の慢性化、増悪において中心的な役割を果たすことが類推される。本研究では、免疫応答の盛んな粘膜組織に定着し、広く感染・炎症・免疫・アレルギーに、さらに組織の修復においてコンダクターとして機能するマスト細胞に焦点を絞り、マスト細胞の過剰な活性化の制御を原理とした新たなアレルギー治療法の開発を目指している。Fc 受容体のシグナル分子の活性化制御の仕組みを標的として、可溶性ヒト Fc $\epsilon$ RI $\alpha$ 鎖 (soluble $\alpha$ )、新規ヒトマスト細胞活性化阻害ペプチドである、チロシンリン酸化した Fc $\epsilon$ RI $\beta$ 鎖 ITAM などを含むマスト細胞の過剰活性化の制御法を、分子、細胞、個体レベルで検証し、より有効な治療法の探索を行なう。これらの成果は、臨床試験に結びつく新たなアレルギー疾患治療薬の開発のみならず、近年マスト細胞の関与が明らかになりつつある自己免疫疾患などの治療への応用も期待される。

## 5 研究概要

## I. 炎症増悪因子としての IgE の新しい役割についての解析

## IgE+によるヒトマスト細胞活性化についての解析

IgE は画一的な分子ではなく、そのクローン毎に異なる性質を持つ。例えば Histamine releasing factor (HRF) は、IgE 依存的に好塩基球の活性化を誘発するが、アレルギー患者由来の IgE は高頻度で誘発性を示し (IgE+)、健常者由来の IgE はほとんど誘発性を示さない (IgE-)。しかしながらマスト細胞に対する HRF の作用と IgE の関連はほとんど明らかにされていない。そこで、ヒトマスト細胞を用いて、HRF がマスト細胞の活性化を誘導するかどうかを検討した。

## II. IgE 依存性マスト細胞活性化シグナルの制御分子の解析

これまでに Fc $\epsilon$ RI $\beta$ 鎖が IgE 依存性刺激の強度に応じて、Fc $\epsilon$ RI $\gamma$ 鎖を介したマスト細胞活性化を正と負の双方向性に調節する分子であることを明らかにしてきたが、Fc $\epsilon$ RI $\beta$ 鎖が Fc $\epsilon$ RI $\gamma$ 鎖を介さずに、脂質メディエーターの産生を惹起する機能を持つことが分かってきた。初年度は、Fc $\epsilon$ RI $\beta$ 鎖二重欠損マウスの BMMC に変異型の遺伝子 ( $\beta$ 鎖 ITAM YYY 型;  $\gamma$ 鎖 ITAM FF 型)、( $\beta$ 鎖 ITAM FFF 型;  $\gamma$ 鎖 ITAM FF 型)を導入したマスト細胞を調製し、Fc $\epsilon$ RI $\beta$ 鎖依存性の脂質メディエーター産生における  $\beta$ 鎖 ITAM の機能を明らかにし、Fc $\epsilon$ RI $\beta$ 鎖 ITAM 依存性のシグナル伝達活性化機構 (ERK1/2 活性化経路など)についての解析を行った。

III. Fc $\epsilon$ RI $\beta$ 鎖 ITAM ペプチドを用いたマウスおよびサルマスト細胞に対する効果の解析

チロシンリン酸化した Fc $\epsilon$ RI $\beta$ 鎖 ITAM ペプチドを dominant negative としてヒトのマスト細胞内に導入すると、マスト細胞活性化増強因子としての  $\beta$ 鎖の機能が阻害された結果、IgE 依存性の脱顆粒、PGD2 産生が抑制されることを見出している。このペプチドの臨床応用を図るため、マウスおよびサルマスト細胞に対するペプチドの効果を検討した。

部科校名：医学部

氏名：羅智靖

## 6 研究結果 (4,000 字以上記入してください。)

IgE+によるヒトマスト細胞活性化についての解析

Histamine releasing factor (HRF)によるヒトの好塩基球の活性化は細胞に IgE が結合していることが必要であるが、ヒト IgE には多様性があり、HRF によって好塩基球を活性化させる IgE を IgE+とよび、活性化させない IgE を IgE-とよぶ。IgE+は約 50%のアトピー疾患患者が持っている。本研究では、肺組織から分離・培養したヒトマスト細胞を用いて、IgE+と HRF によるマスト細胞の活性化について、まず脱顆粒(ヒスタミン遊離)を指標にして検討を行なった。

方法および解析方法①

インフォームドコンセントによる同意の下、採取した肺組織から分離したマスト細胞を実験に使用した。ヒトマスト細胞の純度は、Flow cytometry による FcεRI と c-kit の細胞膜表面の発現量の解析により、純度の高いものであることを確認している。調製したヒト培養肺マスト細胞に、ヒトの IgE+のクローンである HE-1(5 μg/mL)と HRF (100 μg/mL)、あるいは IgE-のクローンである SK0007(5 μg/mL)と HRF (100 μg/mL)との同時刺激を行ない、30 分間刺激後、上清および細胞内のヒスタミン量を EIA 法で測定した。また Positive control として、抗 FcεRIα鎖抗体 CRA1 (1 μg/mL)を使用した。

結果

HRF は IgE のタイプが IgE+、IgE-に関わらず、ヒトマスト細胞からのヒスタミン遊離を惹起しなかった。抗 FcεRIα鎖抗体によるヒスタミン遊離は、遊離の程度が低いものであったが、明らかな遊離量であったために、HRF に対する不応答性は、マスト細胞の脱顆粒能の低下に起因するものではないと考えられた。これらの結果から、IgE+と HRF による刺激は、少なくとも肺組織から分離・調製したヒトマスト細胞においては、好塩基球などですでに報告されているような著明なヒスタミンの遊離を引き起こすものではなく、好塩基球とマスト細胞での HRF に対する応答性には大きな違いがある可能性が示唆された。

II. IgE 依存性マスト細胞活性化シグナルの制御分子の解析

これまでの研究の結果から、脱顆粒やサイトカインの産生と異なり、FcεRIβ鎖が FcεRIγ鎖を介さずに、脂質メディエーター(LTC4)の産生を惹起する機能を持つ可能性が示唆されるデータが得られてきたため、このβ鎖によるマスト細胞活性化機構の詳細な解析を行なった。

方法および解析方法①

レトロウイルスによる遺伝子導入により、FcεRIγ鎖欠損マウスから調製した骨髄細胞に野生型および変異型のγ鎖遺伝子(γ鎖 ITAM YY 型;γ鎖 ITAM FF 型)を導入し、導入した骨髄細胞を IL-3 存在下で数週間培養することでマスト細胞を調製した。それぞれのマスト細胞をマウス抗 TNP-IgE (0.1 μg/ml)で 16 時間感作したのち、洗浄した。その後、細胞を TNP-BSA あるいはバクテリア由来の IgE 結合タンパク質である PpL によって刺激し、細胞内のシグナル伝達経路をウエスタンブロット法により、また細胞内カルシウム動態をカルシウム指示薬(Fluo3-AM)により解析した。

結果

γ鎖 ITAM が FF 型のマスト細胞では、FcεRI 架橋によって誘導される Syk, PLCγ1, Gab2 などの近位のシグナル伝達分子のリン酸化が顕著に低下していた。しかしながら、興味深いことに ERK1/2 のリン酸化については、明らかな減弱は認められるものの、YY 型と比較して、およそ 50%程度のリン酸化反応は FF 型のマスト細胞においても FcεRI 架橋により誘導されてきており、この 50%の ERK1/2 のリン酸化は FcεRIγ鎖 ITAM に非依存性の機構により惹起されていると考えられた。

部科校名：医学部

氏名：羅智靖

## 研究結果（つづき）

一方、FF型およびYY型の細胞表面上のFcεRI発現量に有意な差は認められなかった。γ鎖ITAM FF型のマスト細胞において、近位のシグナル伝達分子のリン酸化も完全には消失しないこと、②ERK1/2のリン酸化は、十分に認められることから、これらのFF型のマスト細胞で認められるシグナル伝達分子の活性化レベルが、LTC4の産生にとって重要なファクターである細胞内のカルシウムイオン濃度の上昇を惹起しうるものであるのかを検討した。その結果、FF型マスト細胞においても、YY型と比べて、変動のレベルは小さいものの、明らかな細胞内カルシウムイオン濃度の上昇を認めることができた。

そこで次に、ERK1/2リン酸化と細胞内カルシウムイオン濃度上昇の、FF型マスト細胞のLTC4産生における重要性について詳細な検討を行なった。

## 方法および解析方法②

方法①と同様に、YY型とFF型のFcεRIγ鎖ITAM変異マスト細胞を調製し、IgEを感作した後に、MEK1/2阻害剤であるU0126(5 μM)存在下でTNP-BSAあるいはPpLによるFcεRI刺激を行なった。カルシウムの関与については、細胞外のカルシウムイオンをEDTAでキレートした状態でFcεRI刺激を行なった。FcεRI刺激を行なってから30分後に上清を回収し、EIA kitを用いてLTC4産生量を定量した。

## 結果

U0126非存在下および細胞外カルシウムが十分に存在する条件下では、FF型のLTC4産生量はYY型の25-30%程度であり、U0126存在下で10-15%程度、細胞外カルシウムをキレートした条件下では、1%程度にまでさらに低下した。これらの結果から、FF型マスト細胞において、認められたERK1/2リン酸化と細胞内カルシウムイオンの上昇は、FF型マスト細胞のFcεRIγ鎖ITAM非依存性のLTC4産生において重要な役割を果たしていることが明らかとなった。そこで、FcεRIγ鎖ITAM非依存性のLTC4産生と、ERK1/2のリン酸化、細胞内カルシウムイオンの動態変化における、FcεRIβ鎖ITAMの機能解析を行なった。

## 方法および解析方法③

FcεRIβ鎖欠損マウスとFcεRIγ鎖欠損マウスを掛け合わせて、FcεRIβγ鎖の二重欠損マウスを作出した。この二重欠損マウスの骨髄細胞に変異型の遺伝子(β鎖ITAM YYY型;γ鎖ITAM FF型)、(β鎖ITAM FFF型;γ鎖ITAM FF型)を導入した後に、IL-3およびSCF存在下でマスト細胞へと分化させた。FcεRIは、二つのFcεRIサブユニットが導入されないと発現しないため、調製したマスト細胞から、さらにFcεRIを発現しているマスト細胞のみを分取し、解析に使用した。解析方法①と同じ条件下でIgEを感作した後に、TNP-BSAあるいはPpLによるFcεRI刺激を行なった。

## 結果

YYY/FF型とFFF/FF型との比較により、YYY/FF型で産生されていたLTC4は、β鎖ITAMをFFF型に置換されたことにより、ほとんど産生が認められなくなった。この結果と一致して、ERK1/2のリン酸化、細胞内カルシウムイオンの上昇も、FFF/FF型では完全に消失していた。一方、FFF/FF型においても、FcεRIの発現レベルや抗原刺激によるFcεRIのエンドサイトーシスなどの機能については低下を認めなかった。以上の結果から、β鎖ITAMがγ鎖ITAM非依存性のマスト細胞活性化シグナルを伝達していることが、初めて明らかとなった。今後は、β鎖ITAMによるγ鎖ITAM非依存性のマスト細胞活性化シグナルの制御機構の解析を中心に進めていく予定である。

部科校名：医学部

氏名：羅智靖

## 研究結果 (つづき)

III. FcεRIβ鎖 ITAM ペプチドを用いたマウスおよびサルマスト細胞に対する効果の解析

マウスなどの実験動物に対する効果を検証する前に、マウスのマスト細胞に対するFcεRIβ鎖ITAMペプチドの効果について検討を行なった。

方法および解析手法①

Wild type のマウス骨髄由来培養マスト細胞(Lyn+/+ BMMC)および Lyn の欠損マウス由来 BMMC(Lyn-/-)をマウス抗 TNP-IgE (0.1 μg/ml)で 16 時間感作したのち、洗浄した。次にマウス FcεRIβ鎖の ITAM のチロシン残基をリン酸化させたペプチド(YpYpYp)あるいはコントロールのペプチド(YYY) 5 μM とマスト細胞を 15 分 37°C でインキュベートし、TNP-BSA(0.1 - 3 ng/ml)あるいは calcium ionophore A23187 (10<sup>-6</sup> M)を添加しさらに 30 分 37°C でインキュベートした。これらのマスト細胞上清中に遊離されたβ-hexosaminase (β-hex) を測定した。

## 結果

マウスFcεRIβ鎖のITAMのチロシン残基をリン酸化させたペプチド(YpYpYp; AAVLLPVLLAAP-KVPDDRLY(p)EELNVY(p)SPIY(p)SELEDKG)とITAMのコントロールペプチド(YYY; AAVLLPVLLAAP-KVPDDRLY(p)EELNVY(p)SPIY(p)SELEDKG)を作成し、B6マウスの骨髄から分化させた培養マスト細胞(BMMC)のFcεRIの架橋後の脱顆粒に対する2つのマウスペプチドの影響を調べたところ、β鎖のITAMのチロシン残基をリン酸化させたペプチド(Y(p)Y(p)Y(p))でも脱顆粒に対し抑制効果がみられなかった。またLynの欠損マウス由来BMMCでもFcεRIの架橋後の脱顆粒が抑制されないことから、このペプチドは、B6マウスのマスト細胞の系では有効でないことが示唆され、単純にマウスを用いたアレルギー性疾患モデルでの解析は、容易ではないことが判明した。

Y(p) ; phospho-Y

これらの解析結果から、よりヒトに近い種の動物やマスト細胞を用いる必要性が示唆された。非ヒト霊長類であるコモンマーモセットのβ鎖のITAM motif のシークエンスはヒトと同じであることから、マーモセットのマスト細胞に対するヒト FcεRIβ鎖 ITAM ペプチドの効果を解析した。

方法および解析手法②

コモンマーモセットの骨髄細胞から CD34 陽性細胞を分取し、マウスの SCF (10 ng/ml) 存在下で10-12週間培養させて分化を誘導したマスト細胞を実験に使用した。マスト細胞への分化は、トルイジンブルー/サフラニン O 染色、Flow cytometry による IgE 受容体および c-Kit の発現により確認を行なった。マーモセットマスト細胞をヒト IgE (0.1 μg/ml)で 16 時間感作したのち、洗浄した。次にヒト FcεRIβ鎖の ITAM のチロシン残基をリン酸化させたペプチド(YpYpYp)あるいはコントロールのペプチド(YYY) 5 μM とマスト細胞を 15 分 37°C でインキュベートし、ヤギ抗ヒト IgE 抗体(1 もしくは 10 μg/ml)あるいは calcium ionophore A23187 (10<sup>-6</sup> M)を添加し、さらに 30 分 37°C でインキュベートした。これらのマスト細胞上清中に遊離されたヒスタミン量を測定した。

## 結果

マーモセットマスト細胞は、1 および 10 μg/ml の抗ヒト IgE 抗体による FcεRI 架橋により、顕著なヒスタミン遊離能を示した。YpYpYp ペプチドは 1 μg/ml の抗ヒト IgE 抗体によるヒスタミン遊離をほぼ完璧に抑制したが、10 μg/ml の抗ヒト IgE 抗体によるヒスタミン遊離に対しては、抑制効果を認めなかった。以上の結果から、FcεRIβ鎖 ITAM ペプチドの in vivo での効果を検討し、研究を進展させるための実験動物としてマーモセットが有用である可能性が示唆された。

部科校名：医学部

氏名：羅智靖

## 研究結果（つづき）

## IV. 今後の研究に向けての展望と課題

今回の研究により、肺組織由来のヒトのマスト細胞では、ヒトの好塩基球と異なり、IgE+を介した HRF によるマスト細胞の活性化がほとんど認められず、もしくは極めて活性化能が低い可能性が示唆された。ヒトのマスト細胞は多様性を示し、組織から分離した場合、組織が肺などの粘膜組織や、皮膚や滑膜などの結合組織であるかによって、刺激に対する反応性や、遺伝子発現のプロファイルなどの性質が異なることや、末梢血中の前駆細胞と臍帯血に存在する幹細胞から分化・誘導させたマスト細胞間でも様々な性質が異なっていることが知られている。本研究プロジェクトの期間内では、肺組織由来のマスト細胞の応答しか解析することができなかったため、今後は皮膚、滑膜や末梢血中の前駆細胞など起源の異なるマスト細胞を用いて、HRF に対する IgE+を介した反応性を解析する必要があると考えられる。IgE 依存性マスト細胞活性化シグナルの制御分子の解析結果からは、FcεRIβ鎖がγ鎖を介したシグナル伝達の調節分子として機能しているだけでなく、γ鎖とは非依存性のシグナル伝達経路を持ち、特に LTC4 の産生に寄与していることが明らかとなった。この結果は、ヒトβ鎖 ITAM ペプチドのマスト細胞活性化抑制作用が、β鎖に会合する様々なシグナル伝達分子を競合的に阻害することで、①γ鎖シグナルの増強、②β鎖独自のシグナルの双方を減弱させている点にあることを示唆するものであり、β鎖 ITAM ペプチドの有用性をさらに高めるものであった。しかしながら、もっとも普遍的に用いられている実験動物であるマウスのβ鎖の ITAM ペプチドは、マウスのマスト細胞に対して、ヒトのマスト細胞で認められたような阻害効果を示さなかった。本研究により、マウスに替わり、非ヒト霊長類であるコモンマーモセットが、in vivo での ITAM ペプチドのアレルギー反応に対する阻害実験を検討するための実験動物として有用である可能性が示唆された。マーモセットは、繁殖能がマウスに比べて低いために、霊長類ではない実験動物としてイヌの使用も視野にいれており、イヌについてもイヌマストサイトマセルラインの細胞などを駆使して in vitro での効果を検証し、in vivo 実験が適応可能な実験動物の種類を拡大していく予定である。

## 平成24年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成 25年 4月 4日

日 本 大 学 学 長 殿

氏 名 本田 雅規



所属・資格 歯学部・准教授

下記のとおり報告いたします。

1 研究課題 歯髄細胞から樹立した誘導多能性幹細胞のエピジェネティック記憶の解析と歯の再生		
2 研究組織		
氏 名	所属部科校・資格	役割分担
○研究代表者名 本 田 雅 規	歯 学 部 / 准 教 授	研究統括・歯の再生
○研究分担者 前野 正夫 清水 典佳 白川 哲夫 磯川桂太郎 花澤 重正 森友忠昭 加野 浩一郎 鳥海 拓	歯学部／教授 歯学部／教授 歯学部／教授 歯学部／教授 生物資源科学部／教授 生物資源科学部／准教授 生物資源科学部／教授 歯学部／助手	幹細胞の分化誘導 ヒト組織の採取・培養 ヒト組織の採取・培養 微細形態解析 iPS 細胞の作製 造血細胞から iPS の作製 幹細胞の未分化性の解析 iPS 細胞の作製と歯の再生
3 本研究に関連して外部資金への申請状況、獲得状況		
申請なし。		

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

部科校名：歯学部

氏名：本田 雅規

## 4 研究目的

我々の最終目標は、成体から入手可能なヒト成体細胞から臨床に応用できる再生歯(歯胚)を作製し、新しい歯の代替法となる技術を確立することである。その基盤研究として、この研究課題では iPS 細胞を作製するための細胞源として歯髓組織が有効であることと、エピジェネティック記憶が存在することで、歯の再生には歯髓細胞が iPS 細胞の細胞源として、他の細胞より有効であることを明らかにすることである。

具体的な内容を以下に示す。

1) 歯髓組織内の部位による iPS 細胞の作製効率を検討し、最適な部位を明らかにする。

ヒトの歯には乳歯と永久歯があり、乳歯は永久歯に交換されることから、最も侵襲の少ない間葉系幹細胞の採取部位として考えられる。したがって、第一の研究として、乳歯歯髓と永久歯歯髓細胞の樹立効率と歯髓組織内の部位による樹立効率を比較し、最も樹立効率の高い細胞源を探索する。

2) iPS 細胞の樹立効率に関わるマイクロ RNA の網羅的解析

製品化された miRNA マイクロアレイを用いて網羅的な解析をおこなうことで、歯髓の部位による iPS 細胞の樹立効率に関わる miRNA をマイクロアレイ解析で明らかにする。

3) 樹立した iPS 細胞のエピジェネティック記憶の存在を明らかにする。

歯髓細胞から樹立した iPS 細胞をエナメル上皮細胞と共培養することで、象牙芽細胞に分化誘導させる。対照群として、造血幹細胞、ヒト線維芽細胞およびヒト歯根膜細胞から樹立した iPS 細胞を用いる。これらの細胞間の象牙質細胞への分化誘導における比較実験から歯髓細胞から作製した iPS 細胞が象牙芽細胞への高い分化能を持つことを明らかにし、エピジェネティック記憶の存在を示す。

## 5 研究概要

1. iPS 細胞樹立のための細胞源の獲得

矯正治療にて不必要となった乳歯および永久歯からヒト歯髓、歯根膜および歯肉組織を採取する。乳歯と永久歯は、歯冠部と歯根部に分離する。次に組織を細片し組織片培養法にて、細胞を増殖させる

2. 歯髓細胞における未分化維持機構に関与している遺伝子発現の解析

それぞれの細胞の未分化性を比較するために、未分化マーカーとして知られている Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc, Lin28, Nanog, Rex1, UFT1 の発現をリアルタイム PCR で比較解析する。これらの未分化因子の発現と iPS 細胞の樹立効率の結果との関連性を検討する。現在、乳歯歯髓細胞は 3 試料と永久歯歯髓細胞は 7 試料は採取済みであり、歯髓バンクからも細胞が入手可能となっている(利益相反は無い)。対照群として皮膚線維芽細胞や造血細胞から iPS 細胞を樹立して、その樹立効率を比較検討する。

3. ヒト多能性幹細胞(iPS 細胞)の樹立・継代・維持

研究協力者(高山)らが確立した手法に従い、iPS 細胞誘導用 VSV-G ウイルス酸性 293GPC 細胞株を用いて iPS 細胞誘導因子発現ベクター-MXS-OCT4, MXS-SOX2, MXS-SOX2, MXS-CMYC の濃縮液を各細胞に添加して、iPS 細胞を樹立させる。培養 20 日前後で iPS 細胞のコロニーが観察されるので、iPS 細胞の樹立効率を比較検討する(ALP 染色)。コロニーが十分大きくなったら 1:3 で継代する。

4. 樹立効率を決定するマイクロ RNA の同定

miRNA 解析用の Agilent Technologies 社のマイクロアレイは 60mer 前後のオリゴヌクレオチドプローブで完成型の miRNA を検出できる。そこで、有意差が見られた歯髓細胞から totalRNA を抽出しマイクロアレイ解析後、データベース解析において同定する。解析後はリアルタイム PCR にて確認する。



部科校名：歯学部

氏名：本田 雅規

## 6 研究結果 (4,000字以上記入してください。)

## 1. ヒト乳歯から分取した歯冠部歯髄と歯根部歯髄から間葉系細胞の採取

日本大学歯学部附属歯科病院にて、矯正治療のために抜去が必要となった7歳男児の上顎左側乳中切歯を抜歯(歯の状態は歯根吸収は認めない)後、歯髄組織を採取し、歯冠部と歯根部で分離した。歯冠部歯髄及び歯根部歯髄の両組織片(直径1mm)を直径35mmディッシュに静置し、組織が浮かないように、15%FBSおよび1%のペニシリンストレプトマイシン添加のMEM- $\alpha$  (wako)0.5mlを添加した。培養3~5日後に、静置した各組織から細胞を外生した。それらの細胞群を歯冠部歯髄由来間葉系細胞と歯根部歯髄由来間葉系細胞とし、継代・培養後、バンバンカー液(日本ジェネティクス)中に移し、 $-80^{\circ}\text{C}$ のフリーザー内にて凍結保管した。

## 2. ヒト乳歯の歯冠部歯髄由来間葉系細胞および歯根部歯髄由来間葉系細胞からのiPS細胞の樹立効率の検討

## 1) iPS細胞樹立用細胞群の調整

iPS細胞の樹立を試みるために、1.で獲得したヒト乳歯から採取した歯冠部および歯根部歯髄由来間葉系細胞を利用した。また対照群として、東京大学医科学研究所がCell Applicationより購入した新生児皮膚線維芽細胞(HDFn)を利用した。それぞれの細胞を15%FBSおよび1%のペニシリンストレプトマイシン添加のMEM- $\alpha$ 培地(wako)で培養・増殖し、iPS細胞の樹立には各歯髄由来間葉細胞において継代数4-5回、HDFnは継代数9-10回の細胞群を用いた。

## 2) iPS細胞の樹立

iPS細胞の樹立方法は高山らの方法に従った。(Takayama et al. J. Exp. Med. Vol.207 No.13 2817-2030, 2010)。1)で調整した各細胞群を $2.0 \times 10^5$ 個播種した(Day0)。翌日と翌々日(day1と2)の連続2日間、レトロウイルスベクターで導入されたiPS細胞誘導因子であるOct3/4, Sox2, KLF4, c-Mycの4因子またはc-Mycを除いた3因子を各細胞群に感染させた。Day7において、100-mmディッシュに播種したフィーダー細胞(Mouse Embryonic Fibroblast;MEF)上に、iPS細胞誘導因子を導入した各種細胞群を $5 \times 10^4$ 個播種した。その翌日(day8)に、培地をヒトES/iPS細胞用培地(DMEM/F12, 20%KNOCKOUT Serum Replacement, NON-ESSENTIAL AMINO ACID SOLUTION, 2-MerCAPTOETHANOL, 5ng/ml basic FGF, 2mM L-グルタミン, 100U ペニシリン, 0.1mg/ml ストレプトマイシン)に交換し、その後、培地を2日に1度交換することで、培養を継続した。

4因子(Oct3/4, Sox2, KLF4, c-Myc)を導入した細胞群において、Day30にアルカリホスファターゼ(ALP)染色(Vector Laboratories)を行ない、陽性を示したiPS細胞様コロニーを顕微鏡下で観察し、そのコロニー数を数えた。形態学的にiPS細胞様であること、およびALP染色が陽性であることの二つの条件を示すコロニーをiPS細胞のコロニーと定義し、そのコロニー数により樹立効率を計算した。

3因子(Oct3/4, Sox2, KLF4)を導入した細胞群においては、Day35に4因子と同様な評価方法を用いて、樹立効率を計算した。

細胞の種類	4因子での樹立効率 (%)	3因子での樹立効率 (%)
歯冠部歯髄間葉系細胞	0.0007	0.0034
歯根部歯髄間葉系細胞	0.0013	0.0167
皮膚線維芽細胞	0.0007	0

歯根部歯髄由来間葉系細胞は歯冠部歯髄由来間葉系細胞より4因子の導入において2.0倍、3因子の導入において約5倍樹立効率が高くなる結果となった。

部科校名：歯学部

氏名：本田 雅規

## 研究結果 (つづき)

## 3. ヒト乳歯の歯冠部歯髓由来間葉系細胞および歯根部歯髓由来間葉系細胞のウイルス導入効率の比較

歯冠部歯髓由来間葉系細胞および歯根部歯髓由来間葉系細胞における iPS 細胞の樹立効率の違いが明らかとなったので、次に、前記両細胞のウイルスの導入効率に違いがないことを確認した。

6 ウェルプレートの 1 ウェルにつき、ヒト乳歯の歯冠部および歯根部歯髓由来間葉系細胞群を  $1.0 \times 10^5$  個播種後、15%FBS および 1% のペニシリンストレプトマイシン添加の MEM- $\alpha$  培地(wako)にて培養した。播種翌日、GFP で標識した pMY ベクター(タイター： $2 \times 10^7$  IU/ml) を M.O.I (Multiplicity Of Infection) 1 にて感染後、最終濃度 10ug/ml の Protamine を添加した。ウイルス感染より 2 日後にフローサイトメーター(BD 社 Aria)にて、GFP 陽性細胞を検出し、導入効率を解析した。平均 GFP 陽性細胞の割合を測定したところ、歯冠部歯髓由来間葉系細胞は 38.75%、歯根部歯髓由来間葉系細胞は 37.28% となった。t 検定による統計学的解析の結果、両細胞のウイルス導入効率に有意差は認めなかった(n=4)。

この結果から、iPS 細胞の樹立効率の違いは、細胞の特性の違いによるものであることが示された。

## 4. ヒト乳歯歯冠部歯髓由来間葉系細胞および歯根部歯髓由来間葉系細胞から樹立した iPS 細胞の同定

2. と同じ歯冠部歯髓由来間葉系細胞と歯根部歯髓由来間葉系細胞に iPS 細胞誘導因子の 4 因子を導入して、形成された iPS 細胞様コロニーを ES 細胞関連遺伝子の発現解析と抗体を用いた免疫細胞化学的な解析を行い、樹立した iPS 細胞様コロニーが iPS 細胞であることを確認する。この実験では、遺伝子導入後 23 日目に iPS 細胞様コロニーを回収し、電離放射線処理した MEF 上にて、継代・培養して、それらのコロニーを維持し、解析に用いた。

## 1) ALP 染色による iPS 細胞コロニーの確認

歯冠部および歯根部歯髓由来間葉系細胞から樹立され、11 もしくは 12 継代した各 iPS 細胞 3 クローンずつにおいて、ALP 染色(Vector Laboratories)を施行した。すべてのクローンは ALP 陽性であることが示された。

## 2) 遺伝子発現の解析

継代数 7 回目の iPS 細胞様コロニー形成細胞の遺伝子発現解析を行った。実験には、歯冠部歯髓由来間葉系細胞および歯根部歯髓由来間葉系細胞から樹立された iPS 細胞のクローンをそれぞれ 3 つの細胞群を選択した。

はじめに、フィーダー細胞と iPS 細胞様コロニー形成細胞との分離を行なう目的で、Alexa647-抗 SSEA4 抗体(BD 560796)を付与後、フローサイトメーター(BD 社, Aria)にて、抗体陽性細胞群を分取した。次に、分取した細胞群を TRIZOL Regent (Life Technologies)を用いて Total RNA を抽出し、Rever Tra Ace qPCR RT Kit (TOYOBO)で cDNA に変換し、Takara Ex Taq Hot Start Version (Takara)を使用して RT-PCR 解析を行った。GAPDH(22 サイクル)を内部標準として用いた。歯冠部および歯根部歯髓由来間葉系細胞から樹立された iPS 細胞様コロニー形成細胞は、未分化細胞に特異的な Rex1, Nanog, Oct3/4, Sox2 (24-27 サイクル)を発現した。外来性の 4 因子(Tg-Oct3/4, Tg-Sox2, Tg-c-Myc, Tg-KLF4)は day7 には発現していたが、iPS 細胞様コロニー形成細胞には発現が抑制されたり、減少していた(21 サイクル)。

## 3) 免疫細胞化学的な解析

歯冠部歯髓由来間葉系細胞および歯根部歯髓由来間葉系細胞から樹立された iPS 細胞様コロニーのクローンをそれぞれ 3 つずつ (11 もしくは 12 継代目)を選択した。ES 細胞に特異的に発現して

いる表面抗原マーカーである SSEA4, TRA-1-60, TRA-1-81 について、免疫細胞化学にて観察した。6 ウェルプレートに電離放射線処理した MEF を播種後、それぞれ3クローンの iPS 細胞様コロニーを5日間培養した。培養後の細胞を4%パラホルムアルデヒドで15分間固定し、0.1%Triton-Xを含むPBSで透過処理後、4%正常ヤギ血清を含むPBSで30分間ブロッキングした。次に、ES cell characterization kit (Chemicon, SCR001) を用い、ブロッキング液で50倍希釈した一次抗体を1時間作用させ、PBSで500倍希釈した二次抗体を1時間作用させた。なお、使用した二次抗体は以下のとおりである；Alexa-488-標識抗-マウス IgG (Invitrogen A11029), Alexa-594-標識抗-マウス IgG (Invitrogen A11032)。

歯冠部および歯根部歯髄由来間葉系細胞から樹立された iPS 細胞様細胞コロニーは、SSEA4, TRA-1-60, TRA-1-81 を発現していることが確認された。

#### 4) 核型解析

誘導された iPS 細胞様コロニー形成細胞の染色体異常の有無を調べるため、G-band による核型解析を行なった。

歯冠および歯根部歯髄由来間葉系細胞から樹立された20継代目の iPS 細胞様コロニー形成細胞を培養し、日本遺伝子研究所（仙台）に解析を依頼した。

結果はどちらも46, XY[20]で、染色体に異常は認められなかった。

以上1)-4)の結果より、乳歯歯冠部歯髄由来間葉系細胞および乳歯歯根部歯髄由来間葉系細胞から樹立した細胞は、いずれも iPS 細胞であることが確認された。

### 5. ヒト乳歯歯冠部および歯根部歯髄間葉系細胞からの樹立した iPS 細胞の多能性解析

ヒト乳歯歯冠部および歯根部歯髄間葉系細胞からの樹立した iPS 細胞の分化多能性を確認するために奇形腫形成能を検討した。

#### 1) 奇形腫の形成実験

実験動物は7-8週齢のNOD/SCIDマウス(♂)を使用した。歯冠部および歯根部歯髄由来間葉系細胞から樹立した iPS 細胞を回収し、iPS 培地で細胞塊の浮遊液を遠心した。ペレットを10 $\mu$ MのY-27632を添加したcold PBS液にて懸濁し、0.5-1.0 $\times 10^6$  cells/20 $\mu$ lになるように細胞の懸濁液を調整した。そして、ハミルトンマイクロシリンジにて、マウスの片側の精巣の被膜下に細胞を注入した。細胞注入10-12週後に4%パラホルムアルデヒド液で灌流固定をし、試料を摘出し浸漬・固定した。組織学的解析法の通法にしたがい、脱水、透徹、浸漬しパラフィン包埋し、試料は4 $\mu$ mで薄切してヘマトキシリンおよびエオジン染色した。

#### 2) 組織学的な解析

歯冠部歯髄由来 iPS 細胞を移植した試料の染色結果は、代表的なものとして消化管様構造、脂肪細胞様の形態、色素上皮細胞様の形態を示した。また、歯根部歯髄由来 iPS 細胞を移植した試料の染色結果は、代表的なものとして消化管様構造、軟骨、神経管様構造を示した。

以上より、歯冠部歯髄由来間葉系細胞および歯根部歯髄由来間葉系細胞から樹立された iPS 細胞は、内胚葉、中胚葉、外胚葉の細胞に分化し、特有の組織形成能を示したことから、分化多能性を持つことが明らかとなった。

## 平成24年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成 25年 4月 15日

日本大学学長 殿

氏 名 篠田 雅路



所属・資格 歯学部・准教授

下記のとおり報告いたします。

1 研究課題 口腔内痛発症の分子機構解明および治療を目指した研究拠点形成		
2 研究組織		
氏 名	所属部科校・資格	役割分担
○研究代表者名 篠田雅路	歯学部/准教授	研究の計画と総括 モデルの作成と免疫組織標本作成
○研究分担者 小林真之 野間 昇 阿部 修 小見山道 合計5名	歯学部/准教授 歯学部/准教授 医学部/教授 松戸歯学部/准教授	延髄神経細胞のパッチクランプ解析 基礎研究結果に基づく治療法の開発 fMRI を用いた口腔患者の脳機能解析 口腔痛患者の疼痛評価
3 本研究に関連して外部資金への申請状況，獲得状況		
篠田 雅路	基盤研究 (C)	採択
小林 真之	基盤研究 (C)	採択
小見山 道	基盤研究 (C)	採択
阿部 修	基盤研究 (C)	採択
阿部 修	新学術領域研究	採択
(研究協力者)		
本田 訓也	若手研究 (B)	採択

※「6 研究結果」について、ホームページ等での公開 (☑・否) いずれかを○で囲んでください。  
否の場合は、理由書を添付して下さい。

部科校名：歯学部

氏名：篠田雅路

## 4 研究目的

高齢化が進む現代社会において、QOLを高く保ち高齢者が健康な生活を送るためには、口腔機能が損なわれることなく正常に保たれ、口腔から栄養を摂取することが非常に重要な要因の一つであると考えられる。口腔からの栄養摂取が身体の栄養の維持だけでなく、全身の健康維持にとって栄養維持以外の重要な要素であることは間違いのない事実である。そして、口腔からの食物摂取を維持するためには、口腔機能を正常に保ち、口腔内環境を健康な状態にする必要がある。

しかし、口腔内環境を著しく悪化させる要因の一つである口腔内の疼痛異常に関してはほとんど研究がなされておらず、その神経機構に関してはほとんどわかっていない。そのため、舌痛症や舌神経損傷後の神経因性疼痛をはじめとする様々な口腔内疼痛異常に対する原因療法を開発することが困難である。そこで本研究では口腔内疼痛異常の神経機構を解明するため、まず、口腔内に疼痛異常を引き起こすと考えられる以下の口腔痛モデルを作製する。1. 舌神経損傷モデル、2. 起炎物質を投与した口腔内炎症モデル、3. TNBSを口腔粘膜に塗布した非炎症性の痛覚過敏モデルである。上記、3種類のモデルを作製し、口腔内に痛覚過敏およびアロデニアを発症しているかどうかを明らかにする。さらに、これらのモデル動物を用い、三叉神経節細胞における活動性および細胞内物質の変化、神経節内のグリア細胞の活性変化を解析する。また、三叉神経脊髄路核に存在する神経細胞の活動性変化およびグリア細胞の動態を解明する。さらにヒトにおける中枢神経系の変調を探索するため、口腔内に侵害刺激を与えた場合の脳波の変化およびfMRIを用いた脳内の神経活動の変化を綿密に解析する。得られた基礎研究データを基に、臨床研究として末梢神経系に対し、局所麻酔薬の投与あるいは各種刺激等を用いて神経の活動を低下させ、臨床応用が可能な口腔痛軽減方法を探る。

## 5 研究概要

## 1. 口腔内痛モデルラットの作成および疼痛関連行動の解析

口腔内炎症モデル:CFA、口腔粘膜切開、カプサイシンまたはカラゲニンを口腔粘膜に注射する。

非炎症性の痛覚過敏モデル: TNBSを口腔粘膜に3日間(1回/日)塗布する。

口腔癌モデル:扁平上皮癌細胞を舌に移植する。

歯牙移動モデル:歯牙に歯科矯正用ワイヤーにて機械的負荷をかける。

各モデルに対し機械および熱刺激を与え、逃避反射閾値を計測する。

## 2. 各モデルの三叉神経節細胞における物質動態の変化および活動性変化の解析

深麻酔下で各モデル動物の三叉神経節を取り出し、侵害受容器に発現する受容体の動態について免疫組織学的手法および電気生理学的手法を用いて検索する。

あらかじめ口腔粘膜に0.3% fluoro goldを投与し、各口腔痛モデルにおける痛覚過敏発症後の三叉神経節を摘出し、免疫組織学的手法を用いて痛み関連受容体陽性細胞数の変化を解析する。さらに発現量の変化をWestern blot法にて定量する。

## 3. 歯髄神経への電気刺激による大脳皮質ニューロン記録

深麻酔下にて歯髄を露出し、歯髄神経への電気刺激による大脳皮質ニューロン活動を電位感受性色素を用いて、記録した。

## 4. 口腔内疼痛異常を有する患者の評価法の確立

被験者に対する触覚閾値とピンプリック刺激痛閾値の計測は、口腔内の有痛部位と対照部位にて、20種類の太さの異なるSemmes-Weinstein知覚テスターを用いて行う。まず触覚閾値の計測を行う。被験者には、計測中は閉眼で被検部位に刺激を感じたら手を上げるよう指示する。計測は4.31番のフィラメントから開始し、stair-case法にて行う<sup>2)</sup>。さらに計測が終了後、Visual Analog Scaleにて感じた疼痛の強度を記録する。さらに口腔内異常疼痛発症における中枢神経系の変調を解析するため、実際に口腔内疼痛異常を有する患者に対し、口腔粘膜への機械刺激および温度刺激に対する反応性の変化について詳細に解析を行う。

部科校名：歯学部

氏名：篠田雅路

## 6 研究結果 (4,000字以上記入してください。)

**舌炎モデル**

舌炎により発症する痛覚過敏に対する三叉神経脊髄路核尾側亜核 (Vc) および上部頸髄 (C1-C2) における代謝型グルタミン酸受容体 5 (mGluR5) の役割を検討した。ラット舌に CFA を皮下投与し、舌炎モデルを作成した。CFA 投与後 2 週間、浅麻酔下にて舌に侵害熱または機械刺激を与え逃避反射閾値を計測した。CFA 投与後 8 日目、Vc および C1-C2 におけるリン酸化 extracellular signal-regulated kinase (pERK) 陽性細胞数を解析した。さらに、pERK 阻害薬 (PD98059) または mGluR5 選択的拮抗薬 (MPEP) の持続的髄腔内投与による逃避反射閾値および pERK 発現の変化を解析した。また、無処置ラットへの mGluR5 選択的作動薬 (CHPG) の持続的髄腔内投与による逃避反射閾値の変化を計測した。その結果、舌炎により、舌に熱および機械痛覚過敏が発症し、Vc および C1-C2 において pERK 陽性細胞数が増加した。さらに、PD98059 や MPEP の持続的髄腔内投与により、逃避反射閾値の低下および pERK 陽性細胞数の増加が抑制された。また、無処置ラットへの CHPG の持続的髄腔内投与により舌に機械痛覚過敏が発症した。以上から、舌の炎症により発症する熱および機械痛覚過敏は、Vc および C1-C2 における mGluR5 の活性化を介した ERK のリン酸化が関与することが示唆された。

**歯髄炎モデル**

歯髄炎モデルラットを作製し、隣在歯の歯髄刺激により興奮する三叉神経節 (TG) 細胞をリン酸化 extracellular signal-regulated protein kinase (pERK) を指標に検索し、歯髄炎によって隣在歯に引き起こされる異所性疼痛発症における末梢機構の一端を解明することを目的とした。実験には、SD 系雄性ラット (8~9w) を sodium pentobarbital (50 mg / kg, i.p.) で麻酔した後、右側上顎第一大臼歯歯髄 (M1) をカーバイトバーにて露髄した。その後、M1 に逆行性神経トレーサーである Fluoro Gold (FG) と complete Freund's adjuvant (CFA) に浸漬したデンタルペーパーポイントを刺入し、ガラスアイオノマーセメントにて仮封を行い、歯髄炎モデルラットを作製した。3 日後、同側上顎第二大臼歯歯髄 (M2) を露髄し、10 mM カプサイシンに浸漬したデンタルペーパーポイントを刺入した。刺入 5 分後、ラットを 4% パラホルムアルデヒド溶液にて灌流固定し、TG における pERK 陽性細胞の発現様式を免疫組織化学的に検索した。三叉神経節 II 枝領域において、CFA 群では、神経節細胞のうち約 12% が pERK 陽性を示した。これに対し、veh 群では約 6% が pERK 陽性を示した。M1 の FG 陽性 TG 細胞のうち M2 のカプサイシン刺激によって、CFA 群では約 38%、veh 群では約 20% が pERK 陽性を示した。カプサイシン刺激を行わない control 群では約 4% であった。以上の結果から、以下のメカニズムが示唆された。1) 歯髄炎を引き起こした歯髄を支配する TG 細胞が隣在歯をも同時に支配しており、隣在歯における侵害情報伝達が亢進される。2) 炎症を引き起こした歯髄を支配する TG 細胞が、隣接した他の歯髄を支配する TG 細胞になんらかの情報伝達を行い、興奮性の変化を引き起こす。

**非炎症性の痛覚過敏モデル**

舌痛症は、舌に炎症や腫瘍などの器質的な変化が認められないにもかかわらず痛覚異常を生じる疾患である。本研究では 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) 舌投与により舌痛症モデルマウスを作製し、同モデルに生じる舌熱痛覚過敏に対する Artemin の役割について検討した。C57/BL6 雄性マウス (7w) の舌背に TNBS (10 mg/ml, 1h) を投与すると、投与後 1 日目より舌背に熱痛覚過敏が生じた。TNBS 舌背投与後 5 日目、舌に組織学的変化は認められなかったが、舌背粘膜において Artemin 発現量が増加し、抗 Artemin 中和抗体および TRPV1 アンタゴニスト (SB366791) の投与により舌背の熱痛覚過敏が抑制された。また三叉神経節における舌投射 Artemin 受容体 (GFR $\alpha$ 3) 陽性かつ TRPV1 陽性神経細胞数が増加した。さらに Artemin 舌投与後 5 日目に舌背に熱痛覚過敏が生じ、SB366791 の舌投与により舌背の熱痛覚過敏が抑制された。以上の結果から、TNBS 舌背投与により生じる舌背の熱痛覚過敏は、舌背粘膜で増加する Artemin による舌投射ニューロンにおける TRPV1 の増加が関与していることが示唆された。

部科校名：歯学部

氏名：篠田雅路

**研究結果 (つづき)****口腔粘膜切開モデル**

SD系雄性ラットの頬粘膜または口髭部皮膚を切開した。切開後14日目まで、浅麻酔下にて頬粘膜または口髭部皮膚に熱あるいは機械刺激を与え、逃避反射閾値を測定した。切開後3日目、Transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1)アンタゴニスト(SB366791)またはTRPV2アンタゴニスト(Tranilast)を切開部へ皮下投与し、熱あるいは機械刺激に対する逃避反射閾値を経時的に解析した。さらに、あらかじめ逆行性トレーサーを頬粘膜または口髭部皮膚に皮下注射し、切開後1、3日目に灌流固定した。三叉神経節(TG)を摘出し、頬粘膜または口髭部皮膚へ投射するTRPV1またはTRPV2陽性細胞の発現を免疫組織学的に検索した。頬粘膜または口髭部皮膚切開後、機械および熱刺激に対する逃避反射閾値は低下した。切開3日目、頬粘膜または口髭部皮膚へのTranilast局所投与により熱および機械刺激に対する逃避反射閾値の低下が抑制された。しかしながら、頬粘膜または口髭部皮膚へのSB366791の局所投与による熱刺激に対する逃避反射閾値の低下は抑制されたが、頬粘膜への機械刺激に対する逃避反射閾値の低下は抑制されなかった。TGにおける頬粘膜または口髭部皮膚へ投射するTRPV1またはTRPV2陽性細胞数が増加した。以上の結果から、TRPV1が口腔内外の組織損傷後の機械的刺激に対する疼痛感受性の違いに関与していることが示唆された。

**扁平上皮癌モデル**

扁平上皮癌細胞を舌に移植することにより、舌に機械痛覚過敏が発症することを見出し、舌癌による舌痛モデルを確立した。現在、TGおよびVc-C1/C2における物質動態と活動性変化の解析、シナプス伝達に関与する物質の同定および機能解析およびグリア細胞と神経細胞との機能連絡のメカニズム解析が現在進行中である。

**歯髄神経刺激による大脳皮質ニューロン活動**

深麻酔下にて歯髄を露出し、歯髄神経への電気刺激による大脳皮質ニューロン活動を電位感受性色素を用いて、記録した。大脳皮質S1およびS2領域において、部位特異的にニューロン活動が記録できた。また、上顎歯と下顎歯刺激による活動部位間には大きな差が見られなかったことから、この活動部位の類似性が歯痛錯誤に関与していることが示唆された。

**舌痛症患者の心理的評価**

舌痛症患者を対象に不安検査を行うと、健常者と比較し有意に日常的に不安を感じていることがわかった。そして舌痛症患者に対してCognitive behavioral treatmentを行うことにより日常的な不安を軽減できるだけでなく、舌痛も改善できることを見出した。この結果は、舌痛症の発症に中枢神経が関与することを示唆するものである。この研究の概要はJournal of Oral Scienceに掲載された。

また、舌痛症患者の病悩期間の解析結果から、病悩期間が長いほど鬱および身体化の傾向が強いことを見出した。この結果は、舌痛症患者は中枢神経に可塑的変化を起こしていることを強く示唆するものである。この研究の概要もJournal of Oral Scienceに掲載された。

課題番号	総 12-019
------	----------

平成24年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成 25 年 3 月 30 日

日 本 大 学 学 長 殿

氏 名 金田 隆



所属・資格 松戸歯学部・教授

下記のとおり報告いたします。

1 研究課題 LEBRA パラメトリック X 線を用いた位相コントラスト・イメージングの先端研究		
2 研究組織		
氏 名	所属部科校・資格	役割分担
○研究代表者名 金田 隆	松戸歯学部／教授	企画, X線イメージング, 総括
○研究分担者 早川 建	理工学部／教授	小型加速器の開発研究
田中 俊成	量子科学研究所／教授	加速器の高性能化と評価
早川 恭史	理工学部／准教授	パラメトリック X 線の開発研究
岩田 展幸	理工学部／専任講師	X 線電子材料開発
宮崎 淳	生産工学部／助教	X 線物性研究
寒河江 登志朗 合計 7名	松戸歯学部／教授	生体物質の X 線分析的研究
3 本研究に関連して外部資金への申請状況, 獲得状況		
<ul style="list-style-type: none"> <li>平成 24 年度獲得 科学研究費：基盤研究 (C) (一般) (H24~H27) 研究代表：金田 隆 「パラメトリック X 線の画像診断に関する基盤研究」</li> </ul>		

※「6 研究結果」について, ホームページ等での公開 (可) 否) いずれかを○で囲んでください。  
否の場合は, 理由書を添付して下さい。



部科校名：松戸歯学部

氏名：金田 隆

## 4 研究目的

本研究では、この LEBRA-PXR を用いた位相コントラスト・イメージングの更なる進展を目指した先端的開発研究を行おうとするものである。そのために、世界の最先端である LEBRA-PXR の X 線的特性を十分に把握し理解して、その利用法を探ることが重要であると考え。PXR に関しては、日本大学 LEBRA-PXR は他所に先駆けて応用実験にも成功している。最近、X 線レーザーのように位相の揃ったコヒーレント X 線を用いた実験が注目を浴びるようになってきているが、コヒーレント X 線を発生できる研究拠点は少ない。このような特徴・特性・優越性を有する LEBRA-PXR ではあるが、実際に長時間にわたる応用実験に用いるには更に幾つか解決すべき問題を残しており、また、LEBRA-PXR の新規性ゆえに、確証実験も同時に行う必要がある。本研究は PXR の特性を生かした位相コントラスト・イメージングの可能性をさらに探求することを目的とする。そのために、以下に示す2つの方向性をもって研究の展開を行う。

## 1. 大型放射光施設で開発されたイメージング手法の導入・アレンジ（確証実験）

位相コントラストイメージング：位相の揃った X 線を使うことにより、従来の白色 X 線を使った単純 X 線透過吸収像（レントゲン像）とは異なるイメージを得ることが可能となった。位相コントラストは物質の X 線吸収係数の差を見ているのではなく、X 線屈折率の差を見ているため、位相差光学顕微鏡で細胞を無染色で観察するのと似て、軟組織などの観察に適したものである。

## 2. LEBRA-PXR のオリジナルな応用（新規イノベーション実験）

LEBRA-PXR の示す数々の特性の中で、以下の点についてピックアップし、それらの特性が有効に活かされるであろう応用可能な領域を例示する。これら LEBRA-PXR の特徴となる X 線の性質は、他の研究施設あるいは市販されている機器においても可能ではあるが、実際に精度・輝度などの実験要件を備えた施設・機器は少なく、超大型放射光施設でのみ可能な実験である。

## 1) 可変波長：2) 単色光源：3) 指向性：4) コヒーレント性

## 5 研究概要

次のような点について確証実験を行う。

- 1) 位相コントロール： PXR 発生装置内の PXR 発生用 Si 結晶（高真空中で電子線を浴び寿命が短いため消耗品として購入予定）と発生した PXR の位相制御用の Si 結晶（やはり寿命が短いため消耗品として購入予定）を用いて、理論値・期待値と実測値の差異を検証する。（田中俊成、早川建、早川恭史、佐藤勇の研究グループ）
- 2) 位相コントラストイメージング： 高性能 X 線 CCD カメラ（現有機器）、イメージングプレート（現有機器）、X 線フィルム（消耗品として現像薬品とガラス器具を購入予定）などの X 線検出系をもちいて、電子材料から培養細胞、インプラントおよび歯科材料、生体物質、化石骨まで多様な対象物を撮影し、従来型レントゲンとの比較を行う。コヒーレンス性の確証実験でもある。（金田隆、寒河江登志朗、早川恭史の研究グループ）
- 3) X 線吸収と吸収端： X 線波長の変化に伴う元素固有の X 線吸収曲線による組成分析と X 線吸収端微細構造（XAFS）について LEBRA-PXR では他所と違って 1 枚で撮影できる優越性がある。この特徴について確証実験を行う。また、逆に従来理論的に導かれていた X 線吸収曲線を実測する。使用する機器はすべて現有（早川恭史、早川建、田中俊成、岩田展幸、宮崎 淳の研究グループ）
- 4) X 線の生物学的効果： 細胞や組織が X 線によるダメージを受けることは知られているが、X 線波長依存性については研究例がすくなく、この関係が明らかになると、X 線検診、乳がんのマンモグラフィ、X 線によるガン細胞治療などに新たな道が拓かれる。使用する機器は全て現有。（金田 隆、寒河江登志朗の研究グループ）

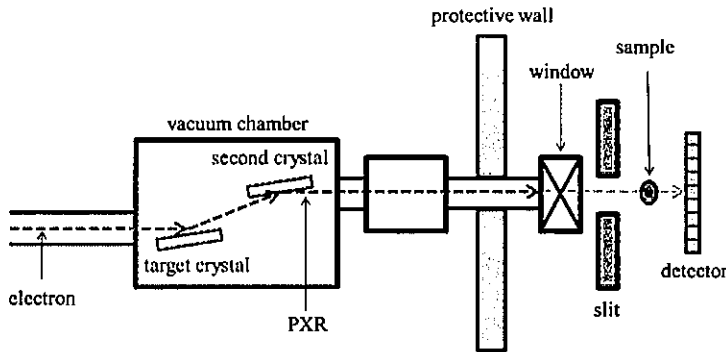
部科校名：松戸歯学部

氏名：金田 隆

6 研究結果 (4,000字以上記入してください。)

1) PXRによる位相コントロールについて

位相コントロールはSi結晶を下図のように第1相, 第2相と2つ用いることにより安定したパラメトリックX線(PXR)による位相コントロールを発生させることに成功した。ここから安定したPXRを獲得し, 画像検討の応用が可能となった。しかしながら更なる安定したPXR確保に向け, ダイヤモンド結晶等の応用も検討中である。

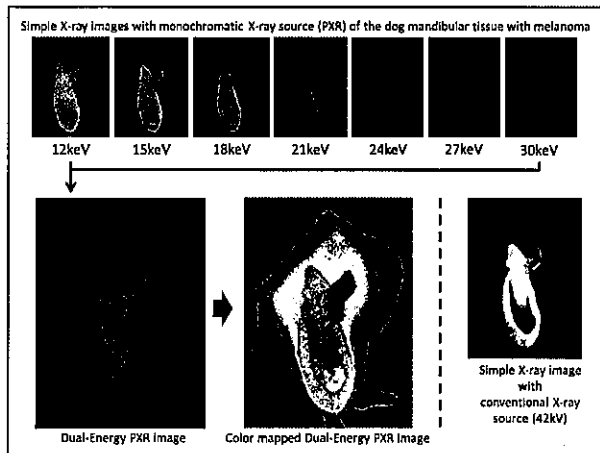


Double-crystal system of LEBRA-PXR generator.

Schematic view of generation of PXR. Electrons were introduced to the inclined target crystal (the lower left part of the figure). The wavelength of PXR was determined by the inclination angle of the target crystal. The outcome PXR from the target crystal was reflected by the second crystal mirror (reflector), and the PXR was aligned to the fixed direction all the time.

2) PXRによる位相コントラストイメージングについて

切除されたイヌ顎骨の悪性腫瘍(骨肉腫)を用いた。同切除標本を(12keV, 15keV, 18keV, 21keV, 24keV, 27keV, 30keV)の波長のLEBRA-PXRを線源に用いて撮影を行った(下図)。検出装置にはYCR21(株式会社吉田製作所)を用い, 従来の単純エックス線撮影で得られた画像(43kV, 125mA, 40msec)を対照に用いた。撮影後, 病理組織像を作製し, 腫瘍領域を確認し, 各画像との比較を行った図も示す(下図)。エックス線の吸収率を画像化する従来のエックス線診断と異なり, 位相コントラスト・イメージングによる位相の揃ったX線を使うことにより, 従来の白色X線を使った単純X線透過吸収像とは異なる腫瘍イメージを得ることが可能となった。位相コントラストは物質のX線吸収係数の差を見ているのではなく, X線屈折率の差を見ているため, 軽元素領域で吸収コントラストの約1000倍の感度を有することにより, 位相差光学顕微鏡で細胞を無染色で観察するのと同じで, 特に軟組織などの観察に適していた。今回のように軟組織主体の悪性腫瘍への新規分子イメージングの可能性とその画像診断への有用性が示唆された。



部科校名：松戸歯学部

氏名：金田 隆

研究結果 (つづき)



H.E. マクロ像  
悪性黒色腫の浸潤 (矢印)

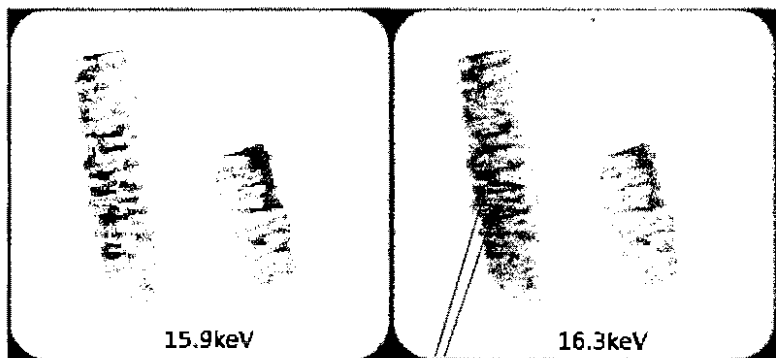
X線の透過率(吸収)ほど波長依存性が強くないため、軽元素領域で吸収コントラストの約1000倍の感度を有するため、生体軟組織の画像化が可能と示唆された。

3) PXRによるX線吸収と吸収端について

吸収端を利用した元素イメージングを恐竜の卵で施行し、Srの存在が確認された(下図)。同データはエネルギー可変可能な単色X線線であるPXRのみ可能な元素イメージングであることが立証もされた。

吸収端を利用した元素イメージング

恐竜の卵の化石 エネルギー可変単色X線のメリット



Sr (K吸収端:16.1keV)が存在

LEBRA

4) PXRによる生物学的効果

PXRの生物学的効果は培養組織にPXRを短時間照射し、その後の反応を観察した。同検討は波長の変更も行いながら、PXRを照射し、従来のエックス線照射との違いをさらに検討中である。

課題番号	総 12-021
------	----------

平成24年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成25年 4月12日

日本大学学長 殿

氏 名 草間 國子



所属・資格 薬学部・教授

下記のとおり報告いたします。

1 研究課題 血管・神経の老化・機能低下を抑制する治療薬に関する研究		
2 研究組織		
氏 名	所属部科校・資格	役割分担
○研究代表者名 草間 國子	薬学部・教授	統括 神経保護薬の作用機序の解析
○研究分担者 高松 智	薬学部・准教授	EPC 細胞の酸化ストレス評価
松崎 桂一	薬学部・准教授	植物活性画分の成分研究
益子 崇	薬学部・准教授	イオンチャネル動作抑制物質の評価
矢久保修嗣	医学部・准教授	漢方処方の評価
廣瀬 大	薬学部・助教	化合物（材料生物）供給
上田ゆき子	医学部・助手	サイトカインの測定
3 本研究に関連して外部資金への申請状況、獲得状況		
草間國子 文部科学省科学研究費補助金挑戦的萌芽研究 平成25-26年度 運動神経疾患モデルにおける神経血管ワイヤリングの解明と実験的治療 5000千円		
益子崇 文部科学省科学研究費補助金基盤研究(C) 平成25-27年度 中大の動脈閉塞モデルマウスに対するビッグアニド誘導体の脳保護効果 平成25年4月～平成28年3月 5000千円		
益子崇 知材活用促進ハイウェイ「大学特許価値向上支援」ビッグアニド誘導体による新規脳機能保護薬の開発および技術移転の促進 平成25年7月～平成26年3月 2999千円		

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

部科校名：薬学部

氏名：草間 國子

## 4 研究目的

長寿社会を迎えた我が国において、加齢に伴って生じる神経障害と心血管障害は悪性新生物と共に主要な健康問題であり、血管と神経の機能を健全に維持することは、健康長寿社会の観点からとりわけ望まれる。本研究は総合大学院/医学部/薬学部で行ってきた血管保護作用物質に関する研究と、薬学部で行ってきた神経変性抑制物質に関する研究を生理活性化合物で結びつけ、血管-グリア細胞-神経細胞の健全な相互関係を維持する仕組みの解明と新規薬物シード創製を目的としている。

血管と神経は密接な関連性を有している。両系は発生の段階から相互作用しており、神経活動に伴い局所の血流の増加が生じる事や、高い透過選択性を有する脳血管関門の存在は中枢神経系の機能にとり重要である。一方、血管の老化、特に動脈硬化は、喫煙、ハイカロリーの食事、ストレスといった生活習慣やライフスタイルと深く関連しながら、加齢と共に徐々に進行し、これに伴って高血圧症、心血管障害・脳卒中・認知症の発病へとつながってゆく。血管をいかに守るかが鍵となる。血管内皮前駆細胞(EPC)は、血管傷害の生理的修復機構として骨髄中の造血幹細胞から発生し全身を循環している細胞である。EPCは血管傷害部位、あるいは血管発生部位において、内皮細胞に分化する能力を有する。冠動脈疾患や下肢虚血疾患に自己EPCを体外で増殖して虚血部位に移植するという血管再生療法に既に応用されている。しかしEPCは老化や糖尿病、高血圧、喫煙などの酸化ストレスにより減少し分化能力も低下する。EPC細胞を保護することが上記の目的にかなうわけで、薬物としてはアンギオテンシンII受容体拮抗薬(ARB)、 $\beta$ 遮断薬( $\beta$ B)、硬質コルチコイド受容体遮断薬、スタチン剤等が有効であるが、さらに天然物や漢方薬の中からEPC保護物質を探ることは意義深い。一方、神経障害に及ぼす血管傷害の影響については未だ不明の点が多いが、近年グリア、血管内皮、神経細胞がユニットとして相互にかかわり合って神経変性疾患の発症につながるということがわかってきた。薬学部での基礎研究に基づいて、神経障害と関係が深いグルタミン酸受容体チャンネルのスクリーニング系、並びに運動神経脱落と血管傷害を伴う運動疾患ニューロラチリズム(NL)モデルを用いて神経保護作用物質を見出し、新たな創薬シーズを見出すことをめざす。

## 5 研究概要

- (1) 神経保護作用物質の探索：培養神経細胞を用い、NL原因神経毒 $\beta$ -ODAPで刺激した後の細胞死(酸化条件下の細胞死ならびに活性酸素種の生成)を定量することで探索を行う。薬学部学術フロンティア「天然物ライブラリー」プロジェクトで、既に約30種類の真菌培養液に活性を見いだしている。また、神経細胞への毒性軽減効果が多数報告されているサフラン(*Crocus sativus* L)抽出エキスにも活性を確認している。これら活性フラクションについては、菌の培養、抽出、有効物質の単離精製、構造決定を行う。
- (2) 神経細胞内カルシウム上昇を起こすチャンネルを阻害する物質の探索：各種受容体チャンネルクローンをアフリカツメガエル卵母細胞に発現させ、ボルテージクランプ法でチャンネル活性を評価し、活性を阻害する化合物を探索する。既にNMDA-Rにおいてチャンネル阻害活性低分子を探索した実績がある。NMDA-Rチャンネル阻害物質はco-agonistのポリアミンを模倣した化合物であり、同じくポリカチオンであるグアニジル化合物を中心に検索する他、TRPM2および7チャンネルについても本系での発現と活性阻害剤の探求を目指す。
- (3) 血管保護剤のNLへの効果の検証：EPC保護物質として同定されたARB、 $\beta$ B、柴胡加竜骨牡蛎湯などは、経口投与で生体の酸化ストレスを抑制、かつ、EPCを保護する実績を持つ。NLにおいて、酸化ストレスはその発症背景として重要なものである。これらの薬物を母ラット/新生仔に投与(経口、飲水、皮下)し、 $\beta$ -ODAPによるNLをどの程度防げるかを検証する。これらの物質に、*in vivo* NLモデルにおける出血抑制作用があるかは神経・血管の相互作用の上からも興味深い。
- (4) ヒトにおける柴胡加竜骨牡蛎湯が与えるサイトカイン変動：柴胡加竜骨牡蛎湯は不眠や神経症(交感神経亢進)が古来の対象疾患であるが、抗動脈硬化作用もあると推定されている。現時点では、柴胡加竜骨牡蛎湯のEPC保護効果は抗酸化ストレス作用で説明されているが、ARBや $\beta$ Bとは異なる性質を示している。柴胡加竜骨牡蛎湯が自然発症高血圧ラット(SHR)の血中IL-6濃度を有為により低下させたことから、EPC保護作用に関するサイトカインの役割は興味深い。そこで当初計画では、喫煙による血管内皮障害やサイトカインによる炎症過程をヒトで測定し、そのEPC保護作用と生体内サイトカインの変動を計測し、作用メカニズムを解明する予定であったが、ヒトにおけるサイトカイン測定実験に対しては実施障壁が高く、その実行を見合わせた。それに代わり、柴胡加竜骨牡蛎湯の投与により発現が変動する遺伝子を腎臓、肝臓、大動脈弓において検討した。その結果、変動した遺伝子は炎症関連のものが多く、柴胡加竜骨牡蛎湯によるEPC保護作用が炎症と関連する可能性が確認できた。以下、本計画については「柴胡加竜骨牡蛎湯投与により発現が変動する遺伝子の同定」に内容を変更し報告させていただく。

部科校名：薬学部

氏名：草間 國子

6 研究結果 (4,000字以上記入してください。)

神経保護薬の探求

アルツハイマー病、ハンチントン病、パーキンソン病や脳虚血などのさまざまな神経変性疾患における症状の増悪にカルシウム透過性イオンチャンネルが強く関与することが知られている。これらの神経変性疾患で共通にみられるグルタミン酸毒性とアシドーシスは、グルタミン酸受容体や酸感受性イオンチャンネルを異常に活性化することで細胞内カルシウム濃度が過剰に上昇し、神経細胞死を誘発する。そこで、これらのイオンチャンネル活性を抑制する化合物の探索研究を行った。グルタミン酸受容体 (NMDR、AMPA) や酸感受性イオンチャンネル (ASIC) の cRNA を鋳型として、T3 または T7 ポリメラーゼを用いて capped RNA を合成し、アフリカツメガエルの卵母細胞に注入し、1~3 日間、19°C で培養した。NMDAR、AMPA と ASIC 活性に対するさまざまな化合物の影響を二電極膜電位固定法にて測定した。いくつかのアミロライド誘導体やピグアニド誘導体は NMDAR 活性を抑制することを明らかにしていることから、同じイオンチャンネル内蔵型グルタミン酸受容体である AMPAR 活性に対するアミロライド誘導体とピグアニド誘導体の影響について検討した。6 種類のアミロライド誘導体 (DMA、HMA、EIPA、MIA、Phenamyl 及び Benzamil) 及び 18 種類のピグアニド誘導体を測定した結果、すべてのアミロライド誘導体 (30µM) は AMPAR 活性に対して全く影響を示さなかった。一方、ピグアニド誘導体のうち、30µM MS-493 及び MS-483 は、AMPA のサブタイプである GluR1 に対して 21±5% 及び 31±2%、GluR1/GluR2 に対して 37±2% 及び 39±2% それぞれ阻害した。両化合物は AMPAR 以外に NMDAR や ASIC 活性を顕著に抑制し、これらの阻害作用は、ピグアニドに付加したアルキル基の数に依存することが示された。また、30 µM MS-493 は、ラット海馬初代培養細胞を用い、酸素/グルコース枯渇によって誘発される神経細胞死に対して顕著な神経細胞保護効果を示した。

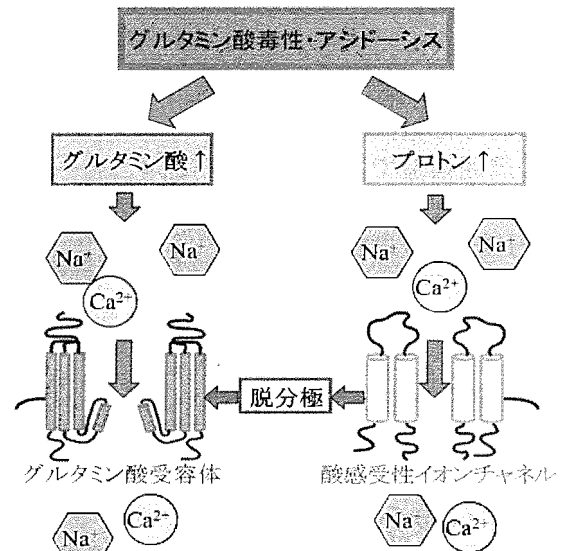


Fig.1 グルタミン酸毒性及びアシドーシスによるカルシウム透過性イオンチャンネルの異常な活性

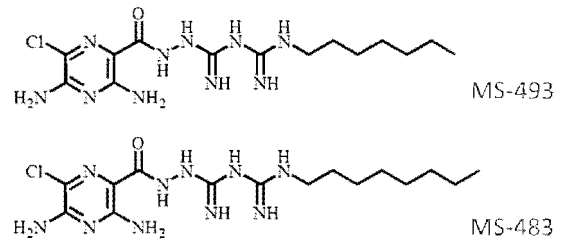


Fig.2 ピグアニド誘導体のMS-493及びMS-483

運動疾患モデルラットにおける神経傷害機構と運動麻痺発症の抑制

運動疾患ニューロラチリズム (NL) の原因物質 β-ODAP (神経毒) を生後 0 日のラットに連続皮下投与すると、投与開始 3 日目に後肢運動麻痺が生じ始める。このとき脊髄下部 (腰髄・仙髄) で一過的な実質内出血が見られたことから、運動神経傷害において血管系の破綻が深く関与するものと考えられた。そこで、後肢運動麻痺の発症初期の脊髄を用いて組織学的検討を行うと共に、神経傷害機構の一端として、出血や低酸素時に関連する因子のうちヘムオキシゲナーゼ - 1 (HO-1) の関与について検討することで新たな運動神経傷害機構の解明を目指した。

【結果】① SMI-32 抗体 (運動神経マーカー) を用いて免疫組織化学染色を行った結果、コントロールと比較して後肢運動麻痺ラット腰髄組織における顕著な運動神経脱落と神経突起の減少が見られた。またコントロール腰髄において、抗 VEGFR-1 抗体 (血管内皮細胞マーカー) で陽性を示す血管内皮細胞は、後肢運動麻痺ラット腰髄ではほとんど見られなかった。

部科校名：薬学部

氏名：草間 國子

研究結果 (つづき)

②また、同時期の後肢運動麻痺ラット腰髄を用いてアポトーシスの有無を TUNEL 法により検討した結果、血管またはその周囲構造でアポトーシス陽性像が認められた。③さらに HO-1 (誘導型酵素) は mRNA およびタンパク質レベルで、病変部位特異的にコントロールと比較して 10 倍以上の発現増加が認められた。このとき HO-2 (構成型酵素) の発現に変動は見られなかった (Fig.3)。

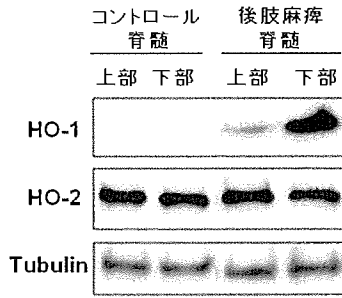


Fig. 3 ラット脊髄におけるHO-1およびHO-2のタンパク質発現

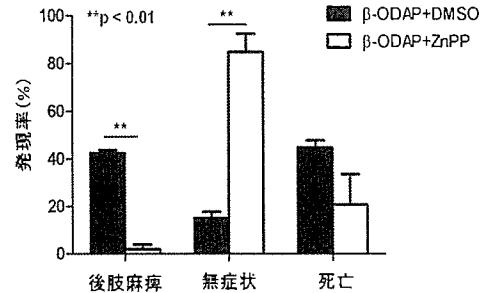


Fig. 4 ZnPP 投与による後肢麻痺発症の抑制

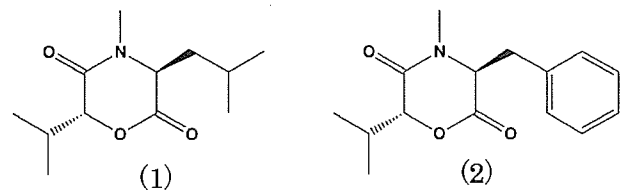
④そこで HO-1 阻害剤である亜鉛プロトポルフィリンIX (ZnPP) を用いて *in vivo* における検討を行った。方法は、生後 0 日のラットにβ-ODAP を皮下投与し、生後 1 日目と 2 日目は ZnPP を腹腔内投与した 1 時間後にβ-ODAP を投与した。生後 3 日目に後肢運動麻痺の有無を調べた結果、β-ODAP 投与による後肢運動麻痺発現率は 42.4 ± 1.3% であるのに対して ZnPP 前投与により 1.9 ± 1.9% まで抑えられた (Fig.4)。

現在は、本実験系用いて EPC 保護作用を示す柴胡加竜骨牡蛎湯による本モデル系での神経保護効果の有無について検討している。

神経保護作用を有する生薬成分の探索

ニューロラチリズムや ALS などの神経変性疾患は、NO、O<sub>2</sub><sup>·</sup>、OH<sup>·</sup> を含む活性酸素種が神経細胞に障害をもたらすことが原因の一つとして考えられている。抗酸化作用があるとされているレイシ (*Ganoderma lucidum*) について細胞内の活性酸素種の濃度を測定することでその抗酸化能評価を行った。エタノール抽出物を、HP-20 カラムコムクロマトグラフィーにて 40%MeOH、70%MeOH 溶出したフラクション (GL009, GL010) に運動神経株化細胞 NSC34 の保護活性が認められた。今後、分画を進め活性成分を明らかにする予定である。

カロリー制限 (CR) による NAD 依存性ヒストン脱アセチル化酵素 Sir2 の活性化・過剰発現は酵母や線虫の寿命延長に関与している。一方、哺乳動物では Sir2 ホモログである SIRT1 に CR による脳での発現レベルの増加、またポリグルタミン病の線虫モデルでは Sir2 の過剰発現に伴い神経細胞死の抑制が報告されていることから、SIRT1 の活性化は神経細胞を保護する可能性を示唆する。そこで、神経細胞保護を目的に SIRT1 を活性化する生薬成分の探索を行なった。ナス科のイヌホオズキを基原とするリュウキ (*solanum nigrum*)、クロウメモドキ科サネブトナツメを基原とするサンソウニン (*Zizyphus jujuba var. spinosa*) のメタノール抽出エキスに SIRT1 活性化が認められ、その活性本体を探索中である。



解熱、抗痙攣作用があるとされる白僵蚕 (カイコガ *Bombyx mori* の幼虫が白僵病菌 *Botrytis bassiana* により硬直死したもの) の成分研究を行い、特異的成分として diketomorpholine の 4-methyl-6-(1-methylethyl)-3-(2-methylpropyl)-2,5-diketomorpholine (1) および bassiatin (2) を単離した。これらについては運動神経の機能低下抑制活性が認められなかった。

部科校名：薬学部

氏名：草間 國子

## 研究結果 (つづき)

## ヒトでの血管保護薬の探究

## ① 抗酸化食品および食生活週刊が修復細胞である EPC の機能への健常人での評価

タウリン摂取とマグネシウム摂取が EPC コロニー形成能、酸化ストレス、血管内皮機能、血清の不飽和脂肪酸に及ぼす効果を臨床試験により評価した。【方法】 20-30 歳の健常男子(コントロール 42 名、タウリン投与群 40 名、マグネシウム群 38 名)を対象とし、2 週のベースライン研究と 2 週の栄養介入研究の 2 段階臨床試験を行った。ベースライン研究後、無作為割付により試験食群と対照群とに分け、試験食群にはタウリンを 3000 mg/日経口投与、もしくはマグネシウム 340 mg/日経口投与した。対象群として乳糖のプラセボを二重盲検にて投与した。試験食介入前

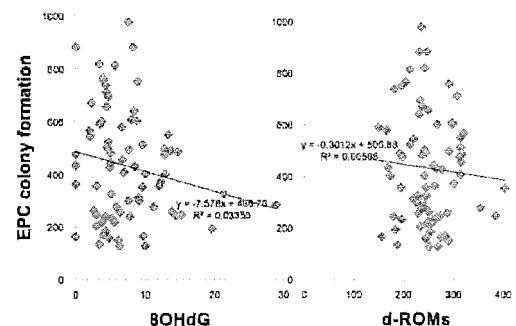
	プラセボ群	タウリン群	マグネシウム群
被験者数	42	40	38
性別	男性 42 女性 0	男性 40 女性 0	男性 38 女性 0
年齢	22.8 ± 2.7	22.8 ± 2.9	22.7 ± 2.8
BMI	21.7 ± 2.4	22.3 ± 1.9	21.7 ± 2.1
収縮期血圧	118.4 ± 7.5	118.9 ± 8.1	117.0 ± 6.6
拡張期血圧	73.5 ± 6.4	73.6 ± 5.7	74.9 ± 6.5
喫煙者	21% (9名 7.3本/day)	25% (10名 8.0本/day)	18% (7名 4.8本/day)

と後の 2 回、採血、24 時間蓄尿を行なった。EPC コロニーアッセイを行い、酸化ストレスは血中 TBARS、尿中 8OHdG、FRAS4 (BAP test, d-ROMs test) で評価した。さらに HOMA-R でインスリン抵抗性を評価し、Endo-PAT による内皮機能測定を行った。また血清脂肪酸分析を行った。

【結果】全員の基礎 EPC コロニー形成能と酸化ストレスマーカーである尿中 8-OHdG との間に負の相関を認めた。タウリン群においては、介入後 EPC コロニー形成能は有意に増加し、抗酸化力を示す BAP test では増加の傾向が認められ、末梢血中 TBARS は有意に低下した。

マグネシウム介入群においては、EPC コロニー形成能に増加の傾向が認められた。血清の脂肪酸解析ではまた、タウリン群では飽和脂肪酸のミリスチン酸、パルミトレイン酸、1 価不飽和脂肪酸のオレイン酸、多価不飽和脂肪酸のリノレン酸、エイコセン酸、エイコサジエン酸、ドコサテラエン酸、アラキドン酸が有意に増加したが、マグネシウム群では脂肪酸の変化は認められなかった。

今回の結果から、健常人において、EPC コロニー形成能は酸化ストレス状態で減弱し、抗酸化食品であるタウリンやマグネシウム摂取で増加することが認められ、抗酸化食生活が、EPC の活性化、寿命延長を介して心血管病の予防に働くと考えられた。またタウリン摂取では血清の脂肪酸の増加があったが、マグネシウム摂取では変化無く、異なるメカニズムで抗酸化、EPC 機能の増加をもたらしていると考えられた。今後、タウリンやマグネシウムを多く含む食生活習慣を、血管内皮前駆細胞機能を高める保存的再生医療として抗老化医療として、推奨に社会に還元する。



## ② 柴胡加竜骨牡蛎湯投与により発現が変動する遺伝子の同定

柴胡加竜骨牡蛎湯による遺伝子変動を腎臓、肝臓、大動脈弓において検討した。

柴胡加竜骨牡蛎湯を投与した SHR と比較対照の未処置 SHR の遺伝子変動について DNA チップを用いて調べたところ、腎臓において Clusterin ならびに Osteopontin 遺伝子の発現が柴胡加竜骨牡蛎湯投与群で低下していた。Trem11, START-related lip transfer domain, SOCS3, SOCS4, Lipocalin2 についても発現の抑制が見られた。変動が大きかった遺伝子の多くが炎症関連遺伝子であった。特に Clusterin ならびに Osteopontin は腎臓における炎症のマーカー遺伝子として知られており、柴胡加竜骨牡蛎湯と炎症の関連が確認された。現在、各遺伝子について定量性がある RT-PCR を実施中である。なおこれらの組織においては、IL-6 の発現量は変動が無かった。IL-6 は JAK/STAT 系を經由して、SOCS の発現を促す信号伝達分子であることから、IL-6 の低下が招くであろう STAT のリン酸化量の変化を評価する予定である。

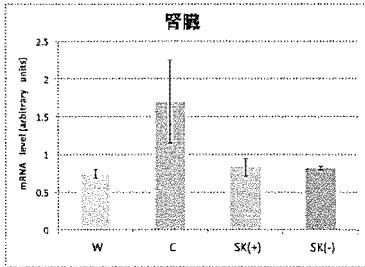


部科校名：薬学部

氏名：草間 國子

## 研究結果 (つづき)

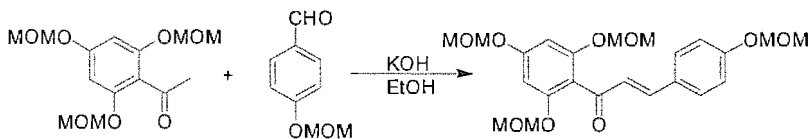
腎臓での Clusterin の発現量の比較 (左図) :



W : 正常血圧ラット, C : コントロール SHR, SK(+) : 柴胡加竜骨牡蠣湯投与により血管内皮前駆細胞(EPC)コロニー形成能が増加した SHR, SK(-) : 柴胡加竜骨牡蠣湯を投与されたが EPC コロニーに顕著な上昇が無かった SHR. Clusterin の発現は、正常血圧ラット (W) に比較すると、SHR(C)では亢進しているが、柴胡加竜骨牡蠣湯投与 SHR 群では正常ラットなみに低下した。柴胡加竜骨牡蠣湯の投与が炎症を緩和すること、しかしそれだけでは機能的 EPC 数の増加には十分ではないことが示唆される。

## ③ 抗炎症リード化合物 Aromadendrin の合成

白桃花より前駆脂肪細胞の分化を促進し、アディポネクチンの分泌を促す活性を持つ (2*S*,3*S*)-(-)-aromadendrin を単離した。この物質には血管などの臓器の抗炎症効果が期待されることから、本化合物の立体化学と生物活性について検討を行うべく合成を試みた。すなわち、2,4,6-trihydroxyacetophenone Monohydrate および 4-hydroxybenzaldehyde を出発物質に用い、aromadendrin の (2*R*,3*R*)-(+)-体と (2*S*,3*S*)-(-)-体の混合物を合成した。これをキラルカラムにより 2 種の鏡像体に単離した。今後、生物活性を評価し医薬品となりうるようなリード化合物の創生を目指す。



課題番号	総 12-022
------	----------

平成24年度 学術研究助成金〔総合研究〕実績報告書

平成25年 4月 1日

日本大学学長 殿

氏 名 鈴木孝



所属・資格 薬学部・教授

下記のとおり報告いたします。

1 研究課題 神経芽腫に対する細胞内シグナル伝達機構を標的とした新規治療薬の開発と臨床応用		
2 研究組織		
氏 名	所属部科校・資格	役割分担
○研究代表者名 鈴木孝	薬学部教授	計画の立案と研究の統括、 化合物の生理活性の検索とその臨床応用
○研究分担者 本橋重康	薬学部教授	特定の分子を標的とした化合物の合成
内山武人	薬学部准教授	天然物からの有効成分抽出と化合物の構造決定
鳥山正晴	薬学部准教授	特定の分子を標的とした化合物の合成
浅見覚	薬学部准教授	化合物の生理活性の検索
三浦基文	薬学部助教	特定の分子を標的とした化合物の合成
3 本研究に関連して外部資金への申請状況、獲得状況		
平成25年度 私立大学戦略的研究基盤形成支援事業（分担研究）（申請中） 鈴木孝、内山武人		
平成25年度 科学研究費助成事業 基盤研究（C）平成25年～平成27年（採択） 内山武人		

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

部科校名： 薬学部

氏名： 鈴木 孝

## 4 研究目的

小児悪性腫瘍による死亡は、「不慮の事故」に続いてその原因の第2位を占めている。また、集学的治療（化学療法、放射線療法、外科療法、造血幹細胞移植療法など）が進んだとはいえ、特に進行（advanced）神経芽腫（NB）はその予後が極めて不良である（advanced NB (Stage 4) の5年生存率は約30%）。さらに、advanced NB の治療に特化した新規治療薬の開発も進んでいない。そこで、この腫瘍の持つ細胞内シグナル伝達機構の異常（分化誘導シグナル、アポトーシス誘導シグナル、細胞周期など）に着目して、その異常の原因となるタンパク質（分子）を見つけ出して標的とし、そのタンパク質が関与する細胞内シグナル伝達機構の異常を修復したり、異常発現しているタンパク質の機能を制御する化合物の検索を目的にして、その化合物のシーズを天然物（植物や動物が産生するプロポリスなど）に求めて、これらの物から成分を抽出して構造決定をし、さらにこれらの化合物の基本構造を基にしてより効果的な化合物を合成して、予後不良な advanced NB に対して新規治療薬の開発を目指していく。また、これらの効果のあった新規化合物については日本大学産官学知財センター（NUBIC）を通じて特許申請をし、早期に NB の治療薬として臨床応用していくことを目的とする。

## 5 研究概要

## (1) 分化誘導効果について

NB は、神経成長因子（NGF (nerve growth factor)）が結合するチロシンキナーゼ受容体（TrkA (NGF 高親和性受容体)）以降のシグナル伝達機構に異常をきたしている。そこで、このチロシンキナーゼ受容体のチロシンのリン酸化を分解する酵素（tyrosine phosphatase ; PTPase）を特異的に阻害して、チロシンキナーゼ受容体の自己リン酸化を保持することによって、シグナル伝達機構の修復が可能である。この修復効果があるとされるビタミン K (VK) 誘導體について、特にこの誘導體のメナジオン骨格に-COOH を持つものは NB に対して分化誘導効果が強い。今回はこの化合物にさらに水溶性を増した-COONa を合成して、その分化誘導能をシグナル伝達機構の上からどの過程に作用して効果を示すのか検索を行った。

## (2) アポトーシス誘導・細胞周期停止効果について

天然物より抽出して構造決定した *Aapinia officinarum* (リョウキョウ) 由来成分の2つのジアリルヘプタノイドには、NB 細胞に対してアポトーシス誘導効果と細胞周期停止効果があることがわかった (NUBIC に特許申請)。また、*Angelica keiskei* (アシタバ) 由来成分のキサントアングロール、イソババカルコンにはアポトーシス誘導効果があり、*Azadirachta indica A. Juss.* (ニーム) より得られた2つのリモノイドには、特に悪性度が高いとされる悪性黒色腫細胞や白血病細胞に NB の治療薬として用いられているシスプラチン (CDDP) より低濃度で、アポトーシス誘導による細胞傷害活性があることもわかった (NUBIC に特許申請)。さらに、*Momordica charantia* (ニガウリ) より抽出・構造決定した kuguaglycoside C、*Hiptis incana* (ブラジル産植物) より抽出・構造決定した化合物を用いて、NB 細胞に対する作用を検索して細胞内シグナル伝達経路の上からそのメカニズム解析を行って、その効果化合物については NUBIC を通じて特許申請をする。

## (3) Hedgehog (Hh) シグナル伝達経路について

Hh シグナルは、MYCN (NB の予後に関与)、cyclin D1 (細胞周期に関与) などの転写調節に関連する遺伝子の発現に関わっていて、この転写調節は細胞の増殖や分化に関与するといわれている。従って、NB におけるこの Hh シグナル伝達機構の異常の解明を行うのと同時に、このシグナル伝達機構の異常を修復する化合物について検索を進めていく。

部科校名： 薬学部

氏名： 鈴木 孝

## 6 研究結果 (4,000 字以上記入してください。)

## (1) 分化誘導効果について

VK3-COOH により極性を持たせた (水溶性を増した) VK3-COONa を合成して、その分化誘導効果についてタンパク質レベルでその検索を行った。VK3-COOH は NGF と同時に作用させたところ、分化誘導シグナルの下流にある cAMP response element binding protein (CREB) や growth associated protein 43 (GAP43) のタンパク質発現が増加した。すなわち、VK3-COOH は TrkA シグナル伝達経路を改善し、NB 細胞を分化誘導していると考えられた。また、CREB の活性化体である p-CREB が 24 時間一定に増加していることから TrkA シグナル伝達を一定期間持続し、持続的な分化誘導効果を示していることがわかった。一方、VK3-COONa は NB 細胞に対して、CREB や GAP43 タンパク質の増加を示さなかった。しかし、NGF との同時投与で NB 細胞に対して形態学的に分化誘導効果を示すことから、VK3-COONa の分野誘導効果は TrkA シグナル伝達経路の下流で CREB や GAP43 を介しての経路ではなく、他の異なる経路を介して分化誘導シグナルが伝わるということがわかった。現在、このシグナル伝達経路について検索を行っている。

## (2) アポトーシス誘導・細胞周期停止効果について

広く天然物から、分化誘導、アポトーシス誘導、細胞周期停止作用がある NB に有効的な化合物が得られている。さらにより効果的な化合物を創薬して早期に臨床応用していくために研究を進めた。*Momordica charantia* (ニガウリ) より抽出・構造決定した kuguaglycoside C を用いて NB 細胞に対する効果を検索したところ、caspase 非依存的な経路でアポトーシス誘導に導くことがわかった。また、*Hiptis incana* (ブラジル産植物) より抽出し、構造決定した 5 つの phenolitic diterpene が得られた。これらの化合物について、NB 細胞を用いて検索を行ったところ、caspase3、9、Cdc 2、cyclin B の各タンパク質が誘導され、アポトーシス誘導や細胞周期に対して G2/M arrest (停止) に導くことを見出した。現在、kuguaglycoside C について caspase 非依存的アポトーシス誘導経路の詳しいタンパク質解析を行っている。

## (3) Hedgehog (Hh) シグナル伝達経路について

Hh シグナル伝達経路については、この経路が NB の発生起源である神経堤幹細胞の発生に重要な役割を担っていると考えられていることから、Hh 経路の異常が NB の細胞増殖や分化誘導に関わっている可能性がある。そこでこの経路の異常を検索して正常化する治療薬の開発を行った。このためには、NB における Hh シグナル経路の構成要素である Sonic Hedgehog (Shh)、Hh リガンドの受容体である PTCH1、PTCH1 によって制御を受けている 7 回膜貫通型タンパク質 Smoothed (SMO)、SMO の下流で機能する標的転写因子 Glioma-associated oncogene (GLI) ファミリー (GLI1、GLI2、GLI3) のタンパク質発現を Western blot 解析によって検索する必要がある。また、GLI ファミリー (GLI1、GLI2、GLI3) は核内への移行により、Hh 標的遺伝子 (*PTCH1*、*GLI1*、*MYCN*、*cyclin D1* など) の転写活性が亢進する。この Hh シグナル伝達経路は細胞の増殖と分化を制御しているため、経路を構成する遺伝子異常が生じると悪性腫瘍などが発生してくるといわれており、特に基底細胞癌や髄芽腫 (悪性の脳腫瘍) においては、Hh シグナルを構成する遺伝子における高頻度の異常が報告されている。そこで、mRNA 発現については RT-PCR を用いて、タンパク質発現については Western blot 解析を用いて検索する。さらに、Hh 阻害薬として報告されているシクロパミン、GDC-0449 を NB 細胞培養株に作用して、そのアポトーシス誘導効果を flow cytometry を用いて探索し、投与前後の *PTCH1*、*SMO*、*GLI1*、*MYCN*、*cyclin D1* の mRNA 及びタンパク質発現を比較する。これによって、Hh シグナル伝達系の異常が検索され、シクロパミン、GDC-0449 の作用機序を知ることによって、この経路を正常化する新規薬物の開発に繋げることができる。今回は、SMO タンパク質と結合して Hh シグナル経路を抑制するシクロパミンや GANT61、GLI タンパク質の機能阻害薬である Jervine などを用いて神経芽腫細胞培養株 (IMR-32、NB39、SK-N-SH) に対する細胞傷害活性の検索を行なった。現在、強い細胞傷害活性のあったものに対して、Hh シグナル経路の標的タンパク質について検索を進めた。これによって、シクロパミンについてはアポトーシス誘導効果が確認されたため、このシクロパミンのアポトーシス誘導効果における標的タンパク質の解析、さらに GANT61 や Jervine についても NB における効果について検索を進めている。

部科校名： 薬学部

氏名： 鈴木 孝

## 研究結果 (つづき)

\*以下の研究成果についてホームページに公開している。

## &lt;学術論文&gt;

- 1) Jie Zhang, Yan Huang, Takashi Kikuchi, Harukuni Tokuda, Nobutaka Suzuki, Kei-ichi Inafuku, Motofumi Miura, Shigeyasu Motohashi, Takashi Suzuki, and Toshihiro Akihisa: Curcubitane Triterpenoids from the Leaves of *Momordica charantia*, and Their Cancer Chemopreventive Effects and Cytotoxicities. *Chemistry & Biodiversity*, 9, 428-440, 2012.
- 2) Toru Kitano, Hiroyuki Yoda, Keiichi Tabata, Motofumi Miura, Masaharu Toriyama, Shigeyasu Motohashi, and Takashi Suzuki: Vitamin K3 Analogs Induce Selective Tumor Cytotoxicity in Neuroblastoma. *Biol. Pharma. Bull.*, 35(4), 617-623, 2012.
- 3) Keiichi Tabata, Myongjun Kim, Mitsuko Makino, Mitsuru Satoh, Yoshio Satoh and Takashi Suzuki: Phenolic Diterpenes and G2/M Arrest of Neuroblastoma Cells. *Anticancer Research*, 32, 4781-4790, 2012.
- 4) Keiichi Tabata, Aoi Hamano, Toshihiro Akihisa, and Takashi Suzuki: Kuguaglycoside C, a constituent of *Momordica charantia*, induces caspase-independent cell death of neuroblastoma cells. *Cancer Science*, 103-12, 2153-2158, 2012.

## &lt;研究会・学会報告&gt;

- 1) 北野徹 (日本大板橋病院薬剤部)、田畑恵市、養田裕行 (日本大薬)、鈴木孝 (日本大薬・医)、神経芽腫細胞に対するビタミン K3 誘導体における選択的腫瘍細胞効果の検討、第 71 回日本癌学会学術総会 (札幌)、9.19.~9.21.2012.
- 2) 田畑恵市、竹田泰二、内山武人 (日本大薬)、鈴木孝 (日本大薬・医)、神経芽腫細胞に対するモッコウ由来セスキテルペンラクトンのアポトーシス誘導及び遊走能抑制効果、第 71 回日本癌学会学術総会 (札幌)、9.19.~9. 21. 2012.
- 3) Takashi Suzuki (guest speaker), New Therapeutic Approach for Neuroblastoma in Pediatric Solid Tumors by Using Natural Product. The 4<sup>th</sup> International Conference on Natural Products for Health and Beauty (NATPRO 4). Thailand (Chiang Mai), 11. 28.~11. 30. 2012.
- 4) Keiichi Tabata, Aoi Hamano, Toshihiro Akihisa, and Takashi Suzuki, Kuguaglycoside C of *Momordica charantia*, induces caspase-independent cell death in neuroblastoma cells. The 4<sup>th</sup> International Conference on Natural Products for Health and Beauty (NATPRO 4). Thailand (Chiang Mai), 11. 28.~11. 30. 2012.
- 5) 田畑恵市、濱野葵 (日本大薬)、秋久俊博 (日本大理工)、鈴木孝 (日本大薬・医)、ニガウリ由来 kuguaglycoside C の necroptotic cytotoxicity、第 8 回 JNBSG 研究会 (慶応大)、1.26.2013.
- 6) 田畑恵市、島田佳奈、内山武人 (日本大薬)、鈴木孝 (日本大薬・医)、神経芽腫に対する ent-kaurene 誘導体の細胞傷害活性、薬学部研究基盤形成プロジェクトポスター発表会 (日本大学薬学部)、2.27.2013.
- 7) 福田正悟、田畑恵市 (日本大薬)、鈴木孝 (日本大薬・医)、神経芽腫に対する ferrearin 誘導体の抗腫瘍効果に対する研究、日本薬学会第 133 年会 (横浜)、3.27.~3.30.2013.
- 8) 田畑恵市 (日本大薬)、中山敏光 (日本大板橋病院薬)、浅見覚、内山武人、三浦基文、鳥山正晴、本橋重康 (日本大薬)、秋久俊博 (日本大理工)、鈴木孝 (日本大薬・医)、天然物由来化合物に基づく新規神経芽腫治療のシーズ探索、日本薬学会第 133 年会 (横浜)、3.27.~3.30.2013.
- 9) 浅見覚、青山剛一、池田理恵子 (日本大薬)、川久保孝 (東京慈恵会医大病院薬)、長能光仙 (アイロム製薬)、鳥山正晴、小野真一 (日本大薬)、石田制利 (アップテカヘルソサエティグループ)、吉田善一 (日本大板橋病院薬)、本橋重康 (日本大薬)、鈴木孝 (日本大薬・医)、白血病細胞培養株に対する vitamin K 誘導体のアポトーシス誘導効果について、日本薬学会第 133 年会 (横浜)、3.27.~3.30.2013.
- 10) 青山剛一、浅見覚、池田理恵子、鳥山正晴、小野真一 (日本大薬)、鈴木孝 (日本大薬・医)、本橋重康 (日本大薬)、Tyrosine kinase 活性を有する VK3 誘導体の合成、日本薬学会第 133 年会 (横浜)、3.27. ~3.30.2013.