

研究題目	ソクラテス式質問の作用機序の解明 - 「腑に落ちる」という現象に着目して -
機関名	富山大学
研究代表者	学術研究部人文科学系・講師・重松 潤
分野	心理学・臨床心理学
キーワード	認知行動療法・腑に落ちる理解・ソクラテス式質問・自己効力感

## 1. 研究の背景と目的

代表的な心理療法のひとつに認知行動療法がある。認知行動療法は、本邦においても今後さらなる普及が期待されている。

認知行動療法では、クライアントの能動的な気づきを促すために、ソクラテス式質問を用いる。例えば、落ち込み気分さいなまれているクライアントに対して「落ちこんだ時、どのようなイメージが浮かびましたか？」といったような問いかけを行い、落ち込み気分に対する理解を深めることを促すことがある。このように、セラピストが何か答えを伝えるのではなく、ソクラテス式質問を用いてクライアント自身が考えるきっかけを作ることが重要である。

上述のようにソクラテス式質問は経験的に重要視されてきたが、どのような作用機序でソクラテス式質問の効果が発揮されるのかは未だ明確ではない。明確にされていない要因のひとつに、クライアントがどういった反応をしたら、ソクラテス式質問が機能しているといえるのかが不明であることが指摘されている (Clark et al., 2018)。この点を明らかにする一つの視点として、「腑に落ちる理解」という現象があげられる (重松他, 2019)。腑に落ちる理解 (以下、Total conviction) とは、情報に対する体験を伴った確信度の高い理解を指す。ソクラテス式質問がうまく機能すると、能動的な内省を促しされて、Total conviction が起こり、結果的に治療的な変化が起こっている仮定される。この仮説は実証的に検討されていない。その理由として①Total conviction に関する知見が積み重なっていない、②本邦において、ソクラテス式質問を行ったことを評価する指標が整備されていない、の2点が挙げられる。

そこで、本研究では、上記2点の解決を目指し、①実験的に Total conviction の影響する変数を検討し、②ソクラテス式質問の使用で増加すると考えられる自己効力感の指標の整備を行った。あわせて、ソクラテス式質問の評価指標の整備をすすめた。

## 2. 研究方法と成果

### ①Total conviction と感情制御方略の関連の検討 (Shigematsu et al., 2022)

本研究では、Total conviction に影響する要因として感情制御方略に着目した。

代表的な感情制御方略として、認知的再評価および表出抑制、気晴らしがある。認知的再評価は、状況についての考え方を変えることで、状況による感情への影響を変化させるよう意図した方略である。例えば、現在の困難を、驚異的な出来事でなく自身を成長させる挑戦であると再評価することである。表出抑制は、感情的な反応に焦点を当てた戦略であり、感情の行動的表現を抑制しようとする方略である。例えば、友人への怒りを表情に出さないようにしたり、不安な気

持ちを無視するようしたりすることを指す。気晴らしは、注意をネガティブな感情や思考からネガティブでない対象に移行する方略である (Gross, 2013; Webb, Miles, & Sheeran, 2012)。例えば、嫌な気分になったので運動をする、来月の旅行のことを考えてみる、といったものである。Total conviction とこれらの感情制御方略には関連があると考えられるため、腑に落ちる理解と、感情制御方略の使用傾向の関連を実験的に検証した。

## 方法

### 参加者

ドロップアウト 1 名を除いた最終的な参加者は、日本語を母語とする大学生および大学院生 42 名 (男性 11 名, 女性 30 名, その他 1 名, 平均年齢=21.6 歳, SD=2.29 歳)。参加者には謝金として 1000 円分のギフトカードを渡した。

### 手続き

参加者に実験開始直前に質問紙で感情制御方略の傾向に回答してもらった。その後、実験を開始した。

まず、参加者に 1 回目のコールドプレッシャー課題 (試行 1) に取り組んでもらった。次に、冷水に手を浸す有用性についての偽の新聞記事の情報を紙面で示しながら教示した。その後、冷水に手を浸すことの有用性を評定してもらった。そして、2 回目のコールドプレッシャー課題 (試行 2) に取り組んでもらった。試行 2 後、デブリーフィングを行った。続いて、カジュアルなトークを行いながら、デブリーフィングを行い、教示時の心境を振り返ってもらい、教示に対する Total conviction の程度を測定した。

## 結果と考察

Total Conviction が得られるほど、認知的再評価の効果が示されることが示唆された。また、感情制御方略の中でも表出抑制方略を使用する傾向が高いほど、いざ認知的再評価が促される文脈になると、Total Conviction が生じにくいことが示された。抑制的な方略を取りやすい個人は、苦痛に対するポジティブな意味づけがしづらかった可能性がある。表出抑制による短期的な感情制御の効果を示すエビデンスはあるため (Franz, Kleiman, & Nock, 2021)、一概に表出抑制が適応的な行動を妨げる可能性があるとは言えないが、Total Conviction の生起を妨げる可能性がある予備的なデータを提供したと考えられる。

本研究では、想定していた通り Total Conviction が行動変容を予測した。この結果は、再評価

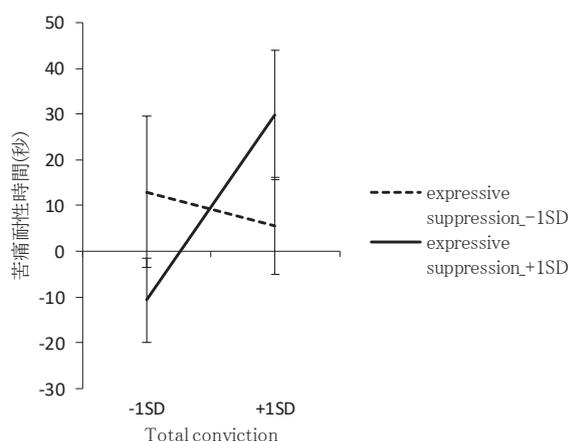


Figure 1.階層的重回帰分析:表出抑制(Expressive Suppression)の調整効果

Note. エラーバーは標準誤差

という認知的操作において Total Conviction が重要であることを示す証拠を提供している。

## ② 特性的自己効力感尺度の作成（重松他，2022）

認知行動療法でソクラテス式質問を使用した際に、クライアントの自己効力感が向上すると推察される。この点を確認することで、ソクラテス式質問のメカニズムを明らかにすることに近づくと考えられる。しかし、これまでの本邦で使用されてきた自己効力感の尺度には不十分な点があるため、まずは妥当性の高い自己効力感の尺度を作成する必要がある。本研究では、海外で一般的に使用されている特性的自己効力感尺度（NGSE：Chen et al., 2001）の日本語版（NGSE-J）を作成した。

### 方法

#### 参加者

日本在住の15歳以上の1600名であった。虚偽項目を用い、虚偽回答が検出された384名（24%）を分析から除外した。分析対象は1216名（うち男性694名，Mage=50.83歳，SD=14.18）であった。調査はオンライン調査システム（アイブリッジ）を用いた。

### 結果と考察

NGSE-Jのすべての項目で天井効果や床効果はなかった。I-T相関もすべての項目で中程度以上の正の相関が示された（ $r=.826-.887$ ）。確証的因子分析では、原版と同じ1因子構造で、基準を概ね満たした適合度が確認された（GFI=.889，AGFI=.800，

Table 1. NGSE-Jの確証的因子分析

項目	因子負荷量	共通性
6. 私は、どんな種類の課題でもうまくこなせる自信がある	.879	.772
5. 私は、多くの挑戦をうまく乗り越えられる	.870	.757
8. 私は、どんなに厳しいことだとしても、十分にパフォーマンスを発揮できる	.865	.748
2. 私は、困難なことに直面しても、必ず達成できる自信がある	.861	.741
7. 私は、他の人と比べて、ほとんどの課題をうまくこなせる	.839	.704
3. 私はたいてい、自分にとって重要な成果を得られると思う	.811	.658
1. 私は、自分に課した目標ならほとんど達成できると思う	.790	.625
4. 私は、一度やると決めたらどんな努力でも成し遂げられる	.786	.619

CFI=.944，RMSEA=.142：Table1）。信頼性係数は $\alpha=.950$ と高い内的整合性が示された。構成概念妥当性を検討するために、NGSE-Jと注射及び採血を受ける学童の自己効力感尺度の相関を確認したところ、低い正の相関が示された（ $r=.177$ ， $p=.00$ ）。また、再検査信頼性も十分に得られた（ICC(2,1)=0.76）。また、検出可能な最小の変化を示す smallest detectable change を算出したところ、8.09であった。

本研究で作成されたNGSE-Jは、概ね高い信頼性と妥当性を有する尺度であるといえる。本尺度は、従来の特性的自己効力感よりも項目数が少なく、利便性の高いものである。また、1因子でかつ、自尊感情との相関が過度に高いものでない点は、原版の特徴を再現しており、特性的自己効力感の概念的な独立性も、従来の特性的自己効力感の尺度よりも頑健であると考えられる。これは、今後NGSEに関する海外の知見との比較も可能な尺度が開発できたことを示す。

## 4. 今後の展望

本研究では、ソクラテス式質問の効果に関わる要因と考えられる「腑に落ちる理解」と「自己

効力感」について研究を進めた。具体的には、まだ知見の少ない腑に落ちる理解の効果について、Total Conviction が感情制御の方略の効果に影響を及ぼすことを実験的に示した。特に、Total Conviction が、認知行動療法の作用機序にも関わる感情制御方略である認知的再評価の効果に影響することが示唆された。また、抑制的な方略を取りやすい個人は、Total Conviction が得られづらい可能性があることも示唆された。また、ソクラテス式質問で向上すると想定される特性的自己効力感に着目し、現代に適した特性的自己効力感の尺度の開発を行った。

現在、これらの研究に並行して、ソクラテス式質問の評価指標の作成を進めた。尺度研究のガイドラインである COSMIN に則って原版の尺度の翻訳を行っている。今後の展望として、ソクラテス式質問を評価する指標を完成させたいうえで、Total conviction に影響する要因との関連や、今回作成した特性的自己効力感尺度を用いて、ソクラテス式質問と自己効力感の関連を検証する予定である。以上のような取り組みを進めて、ソクラテス式質問の作用機序を解明し、さらにはどのような質問の仕方がよりよいセラピーにつながるか検証していく予定である。

## 5. 参考文献

1. Chen, G., Gully, S. M., & Eden, D. (2001). Validation of a New General Self-Efficacy Scale. *Organizational Research Methods*, 4(1), 62–83.
2. Clark, D. A. (2013). Cognitive Restructuring. In Hofmann, S.G. (Ed.), *The Wiley Handbook of Cognitive Behavioral therapy*, John Wiley & Sons, Inc.
3. Franz, P. J., Kleiman, E. M., Nock, M. K. (2021). Reappraisal and suppression each moderate the association between stress and suicidal ideation: Preliminary evidence from a daily diary study. *Cogn. Ther. Res.* 45, 1120–1127. doi: 10.1007/s10608-021-10214-8.
4. Gross, J. J. (2013). Emotion regulation: Taking stock and moving forward. *Emotion*. 13, 359–365. doi: 10.1037/a0032135.
5. 重松 潤・波光涼風・神原広平・村上理子・尾形明子 (in press). 新版特性的自己効力感尺度日本語版 (NGSE-J) の作成と信頼性・妥当性の検討 日本心理学会第 86 回大会発表論文集
6. Shigematsu, J., & Kobayashi, R. (2022) Relationship Between Emotion Regulation Strategies and Total Conviction in Promoting Behavior Change. *Frontiers in Psychology*, 4938.
7. 重松 潤・尾形明子・伊藤義徳 (2020) . 認知行動療法において「腑に落ちる理解」が生じたときには治療者にどのように観察されるのか?——インタビュー調査による検討 認知行動療法研究, 46 (3) , 179-189.
8. Webb, T. L., Miles, E., Sheeran, P. (2012). Dealing with feeling: A meta-analysis of the effectiveness of strategies derived from the process model of emotion regulation. *Psychol. Bull.* 138, 775–808. doi: 10.1037/a0027600.

研究題目	富山県内の幼少児の「健康・育ち・学び」を育む健康教育プログラムの作成と啓発活動
機関名	富山大学
研究代表者	学術研究部教育学系・准教授・澤 聡美
分野	体育・身体教育学
キーワード	COVID-19, 幼児, 小学生, 架け橋期, 健康生活調査尺度, 生活習慣, メンタルヘルス, 運動プログラム, 健康教育

### 1. 研究の背景と目的

COVID-19 感染拡大を防止するため、学校では 2020 年 3 月から全国一斉休校が始まり、休校期間は最長で約 3 カ月に及んだ。さらに、人と人との接触を減らす措置は 2023 年 5 月まで約 3 年間続いた。このようなコロナ禍に伴う感染防止が長期化し、最近では子どものメンタルヘルスの低下が心配されている。感染防止が長期化する中、発達段階に応じた具体的な対策が急務である。本研究は、2022 年 3 月（コロナ第 6 波）に富山県内の幼児と児童を対象に実施した「健康・育ち・学び」に関する調査結果をもとに、その傾向と対策についての情報発信、健康教育のプログラム開発及び啓発活動を目的とした。

### 2. 研究方法

#### ①「健康・育ち・学びを支える力」調査結果の報告書の作成

2022 年 3 月（コロナ第 6 波）に富山県内の幼児と児童を対象に実施した「健康・育ち・学び」に関する調査結果を分析し、報告書を作成する。学校や行政・地域と連携し、調査結果を踏まえた健康教育プログラムを作成し、富山県内の教育機関に配信する。

#### ②子どもと保護者を対象にした健康教育の啓発活動

富山大学の学生と共に運動プログラムを作成し、運動教室及び子育て応援講座を実施する。

#### ③教育関係者を対象にした健康教育の啓発活動

富山県内外での講演会等において、調査結果をもとに健康教育の啓発活動を実施する。

#### ④「子ども・保護者・先生たちの元気アップセミナー」を開催する。

#### ⑤雑誌論文への投稿・掲載及び学会発表

### 3. 研究成果

#### ①「健康・育ち・学びを支える力」調査結果の報告書の作成

幼児 1,460 名、小学生 3,747 名、幼児施設及び小学校クラス担任 336 名のデータを分析し、報告書を作成した。報告書は富山県教育委員会を通じて県内の幼児施設、小学校に配信した。

# 健康子エック・元気アップ

富山大学「健康、育ち・学びを支える力に関する調査」報告

## 1 はじめに

コロナ禍で新しい生活様式となり、感染を防止しながらの生活が続いています。最近ではスクリーンタイムの増加、生活リズムの乱れ、体幹が弱い、落ち着かない等、子供の心身の健康を心配する声を聞く機会が増えています。そこで、**子供の健康や生活の状態を把握し、今後の教育活動に活かすことを目的に**、2022年3月に富山県教育委員会の協力を得て、幼児と児童を対象に健康、育ち・学びを支える力に関する調査を実施しました。先生方、保護者の皆様、調査にご協力いただき、ありがとうございます。

調査結果の主な特徴を紹介し、**子供の健康、育ち・学びを育むためのヒント**をお伝えします。



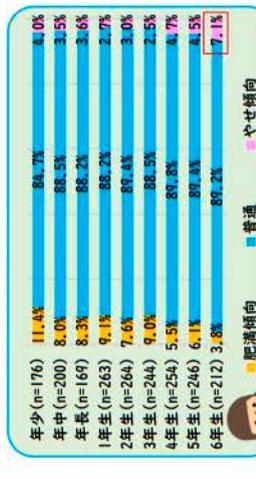
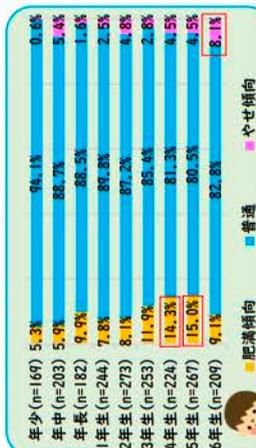
## 2 先生が感じている「子供の発達で気がかりなこと」

「クラスのお子さんが生活する中で気になることがありますか?」について、幼児施設と小学校の先生の回答336人のデータを分析しました。全体の8割以上の先生が「気になる」と回答していた項目は「姿勢の保持ができていない」「落ち着かない」「思いついたらしゃべる」でした。

さらに「気になることがとてもある」割合は**全体の30.4%**で、これに関連する要因は「**椅子に座る時に立膝をする」「すぐに怒り出す」「姿勢の保持ができていない」「肥満気味**」でした。先生の目線から子供の生活指導を考えた場合、「姿勢の保持」「気持のコントロール」「肥満予防」がポイントになることがわかりました。

## 3 子供の健康生活調査結果～コロナ禍での体格・視力と生活習慣～

### ① 男子の4年生と5年生に肥満傾向、男女共に6年生に痩身傾向



左の図は男子、右の図は女子の体格を学年別に示しています。体格は、幼児の肥満度判定(文献1)と学校保健統計調査方式による、性別・年齢別・身長別標準体重の判定方法(文献2)を用いました。その結果、**男子は4年と5年に肥満傾向の割合が高く、男女共に6年にやせ傾向の割合が高い**ことがわかりました。2020年度文部科学省の学校保健統計調査結果では、肥満及び痩身傾向がある子供の割合が上昇しており、特に小学5年生男子の肥満の増加幅が大きかったことが報告されています。日本小児内分沁学会では、**幼児期肥満の25%、学童期肥満の40%が成人肥満につながる**ことから、**早い時期からの対策が望ましい**といわれています。それでは、子供の健やかな成長には、生活の中で具体的にどのようなことに取り組んでいけばいいのでしょうか?次に体格と生活習慣との関連を分析しました。

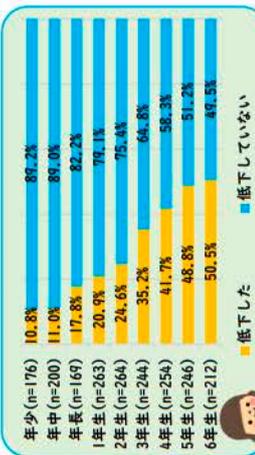
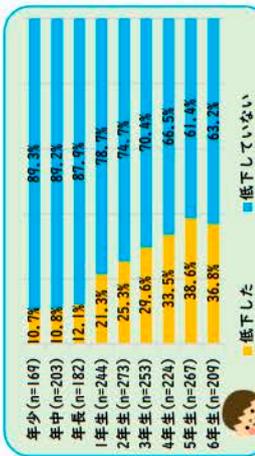
### ② 健やかな成長には、「よく噛んで食べる」、スクリーンタイムは平日3時間まで」



上の図は、小学生男子の分析結果です。今回の分析では、これまでの研究で体格と関連が報告されている生活習慣、①そしゃく、②平日のスクリーンタイム(テレビやインターネット等メディア機器使用時間の合計)、③朝食摂取、④園・学校外での運動、⑤平日の就寝時刻との関連を分析しました。

対象者を**幼児・小学生男子・小学生女子の3群に分け、体格と生活習慣との関連を分析**しました。**全ての群で「よく噛んで食べる」と「平日のスクリーンタイムが3時間未満」の子供に、標準児(普通)の割合が高い**ことが明らかになりました。

### ③ 1年前に比べ、視力が低下した子供は、学年が上がるにつれて増加



「昨年(2021年3月)と比較して、視力が悪くなっている」と診断を受けたり、悪くなっていると感じることがありますか」という質問に対し、「とてもある」「少しある」と回答した人を「低下した群」、「あまりない」「ない」と回答した人を「低下していない群」とし、学年と視力の関連を分析しました。その結果、**視力低下は男女共に学年が上がるにつれて増加する傾向が見られました**。



### ④ 視力低下の予防には運動が有効か?



今回の分析では、①平日のスクリーンタイム、②朝食摂取、③園・学校外での運動、④平日の就寝時刻との関連を分析しました。対象者を**幼児・小学生男子・小学生女子の3群に分け、視力と生活習慣との関連を分析した結果、全ての群で、運動する子供は運動しない子供に比べ、視力が「低下していない」割合が高い**ことがわかりました。幼児では、「平日のスクリーンタイムが3時間以上」と視力低下との関連が見られましたが、小学生は男女共に関連はありませんでした。

## 4 子供の健康と育ち・学びを支える力

### ① 調査の概要と特徴

「健康な生活」は、睡眠習慣、食習慣、運動習慣、心と体の健康、生活の周りに関する内容を調査し、幼児と小学生、それぞれに因子分析を行い、5つの因子を抽出しました。「育ち・学びを支える力」(非認知能力：社会情動的スキル)は、国立教育政策研究所幼児教育研究センターで作成された「好奇心」「自己主張」「粘り強さ」「自己調整」「協同性」の5つの因子を用いました(文献3)。これまでの研究で、「育ち・学びを支える力」は小学校以降の文字・数・思考といった認知的スキルに関連することが報告されています(文献4)。今回の分析では、「健康な生活」と「育ち・学びを支える力」との関連を分析しました。

**健康な生活**

「活発な運動」「前向きな生活態度」「心と体の健康」「睡眠習慣」「健康な食事」

**育ち・学びを支える力**

「好奇心」「自己主張」「粘り強さ」「自己調整」「協同性」

**文字・数・思考**

文字や数の読み書き、順序の理解等、小学校での学習につながる力

全ての項目に回答した幼児1,183人、小学生3,156人のデータを統計解析の対象としました。「健康な生活」と「育ち・学びを支える力」の関連を分析した結果、以下の特徴が明らかになりました。

### ② 幼児、小学生共に、「育ち・学びを支える力」の土台は、運動と前向きな生活態度



左の図は幼児、右の図は小学生の結果を示しています。幼児も児童も「健康な生活」の各因子は「育ち・学びを支える力」の各因子と関連していました(図に→で表示)。「比較的強い相関(相関係数.40~.70)が確認された因子は、「活発な運動」と「前向きな生活態度」でした(図に→で表示)。

「活発な運動」には、外遊びや親子での運動、走ることが好き等、学校(園)での運動に加えて、家庭における運動実践の内容が含まれています。また、「前向きな生活態度」には、日常生活や学校(園)での活動や学習に前向きに取り組んでいる様子、友達や家族との良好な関係性が含まれています。

調査結果から、**子供が日常生活において運動や活動を楽しむこと、周囲との良好な関わりが「育ち・学びを支える力」に関連していることが分かりました。**

【参考文献】

1. 3歳以上の幼児の肥満度判定区分の簡易ソフト Ver.1.0 : <https://www.niph.go.jp/soshiki/07shougai/hatsuku/> (アクセス日: 2022年6月1日)
2. 日本小児内分沁学会・日本成長学会成長研究委員会: [https://jspe.umin.jp/medical/chart\\_dl.html](https://jspe.umin.jp/medical/chart_dl.html) (アクセス日: 2022年6月1日)
3. 渡邊 恵子 (2017). 幼小接続期の育ち・学びと幼児教育の質に関する研究報告書 > p.82  
: [https://www.nier.go.jp/05\\_kenkyu\\_seika/pdf/seika/h28g/syacyu-5-1\\_a.pdf](https://www.nier.go.jp/05_kenkyu_seika/pdf/seika/h28g/syacyu-5-1_a.pdf) (アクセス日: 2022年6月22日)
4. ベネッセ教育総合研究所 (2019). 幼児期から小学4年生の家庭教育調査・縦断調査

## 5 調査結果をふまえて

2022年3月現在の岡山県を中心とした調査結果から、全国調査と同様に肥満・瘦身傾向や視力の低下が確認されました。また、先生方からは、子供の発達の違いが点として、姿勢の保持や気持ちのコントロールなどの課題も挙がっています。これらの課題には「よく噛んで食べる」「スクリーンタイム」「運動」が解決の鍵となりそうです。近年、小学校での学習の基盤として、幼児小接続期の育ち・学びについての研究が進められています。今回の調査から、「育ち・学びを支える力」(非認知能力：社会情動的スキル)を育てるために、「活発な運動」や、子供が楽しく感じられる活動を通して、「前向きな生活態度」になれる環境の重要性が明らかになりました。学校(園)や地域と家庭が連携し、「子供たちが安心して過ごせる居場所や、物事にチャレンジできるような環境づくり」が求められます。そこで、子供の健康、育ち・学びを育むためのヒントとして、日頃から子供との関わりを多く先生方に、8つの実践を紹介していただきます。学校(園)やご家庭で、活用していただきたいと思います。

## 6 子供の元氣アップを目指した、楽しい健康プログラムの提案

<p><b>体格</b> 家族で挑戦! カミカミチャレンジ</p> <p>富山大学教育学部附属特別支援学校 栄養教諭 伊藤志織先生</p>	<p><b>視力</b> メディアと上手なおつきあい ししっ子メディア体操</p> <p>高岡市立横田小学校 佐藤秀哉先生と令和3年度6年生</p>
<p><b>姿勢</b> 姿勢子エックの合言葉</p> <p>富山大学教育学部 (人間発達科学部) 澤研究室</p>	<p><b>姿勢呼吸</b> お座りじゃんけんと深呼吸</p> <p>砺波市教育委員会 生涯学習スポーツ課 川原 有美子先生</p>
<p><b>運動</b> タオルを使った遊び</p> <p>南砺市教育委員会 生涯学習スポーツ課 西田 誠先生</p>	<p><b>運動</b> ちびっこ運動あそび あそびを通して様々な運動を経験しよう!</p> <p>NPO 法人おやべスポーツクラブ 沼田 秀樹先生</p>
<p><b>睡眠</b> 子供の「気がかり」から子供の「元氣アップ」へ</p> <p>富山大学名誉教授 神川康子先生</p>	<p><b>居場所</b> 学びなおし 安んずる居場所をつながら楽しむ</p> <p>一般社団法人 Ponte とやま 理事長 水野 カオル先生</p>

研究代表 澤 聡美 (富山大学教育学部講師)、共同研究者 神川 康子 (富山大学名誉教授) 研究の倫理審査は富山大学臨床疫学研究等に関する倫理審査委員会において審査を受け承認を得ています (R2021151)。本研究は、JSPS 科研費 19K11573、JSPS 科研費 22K11633、令和4年度(第39回)公益財団法人富山第一銀行奨学財団の助成を受けて実施しました。連絡先 〒930-8555 富山大学教育学部(人間発達科学部)澤研究室  
Tel/Fax: 076-445-6320 Email: sawa@edu.u-toyama.ac.jp

## ②子どもと保護者を対象にした健康教育の啓発活動

富山大学の学生と共に運動プログラムを作成し、富山県内での運動教室を23回、10月にキッズワールド、12月にクリスマス運動教室及び子育て応援講座を各1回実施した。

### 【2022年10月開催 キッズワールドのプログラムの内容】

- ・クモの巣をくぐってミッションをクリアせよ！
- ・自分の陣地を増やせ！スプラトゥーン10.9！
- ・目指せ！ゴーストバスターズ！
- ・何が釣れるかわからない！目指せ釣り名人！
- ・スポーツいろいろ体験コーナー



### 【2022年12月開催 わくわくクリスマス運動教室の内容】

- ・あわてんぼうサンタの落とし物を集めよう！
- ・みつけて！まるめて！くつしたまいれ
- ・わくわく！的当てプレゼント大作戦！！
- ・あなたのサンタはどんな顔？サンタの福笑い



・子育て応援講座

「健康・育ち・学びを支える力」調査結果の報告及び、「子どもの育ちと居場所づくり」について一般社団法人 Ponte とやまの水野カオル先生にお話をいただいた。



### ③教育関係者を対象にした健康教育の啓発活動

富山県内外での講演会において、調査結果をもとに健康教育の啓発活動を実施した。研究代表者の澤は、富山県教育委員会及び市町村教育委員会の研修会などで10件、共同研究者の神川は、富山県教育委員会、静岡県、千葉県、石川県など県内外の講演において15件の啓発活動を実施した。

### ④「子ども・保護者・先生たちの元気アップセミナー」の開催

文部科学省「早寝早起き朝ごはん」運動の推進委員である鈴木みゆき先生を講師にお招きし、「子ども・保護者・先生たちの元気アップセミナー」を開催した。セミナーの企画・運営は、教員や行政職員を目指す大学生と共に実施し、健康教育を手歌遊びで伝える等、子どもたちが家庭及び学校等で楽しく実施・継続できそうなプログラムを作成・配信した（詳細は次項に示す）。

### ⑤雑誌論文への投稿・掲載及び学会発表

- ・澤聡美,神川康子,佐野朋子(2023)架け橋期の子供の健康・生活を捉える尺度の検討,日本幼少児健康教育学会誌,第8巻,第2号,71-80.

本研究は、我が国の義務教育開始前後の年長児と小学校1年生を対象に健康・生活を捉える尺度を検討した。併せて、今回新たに開発した尺度を用いて学年や性別差を検討した。全ての項目に回答した計924名（回答率81.2%）を分析の対象とし、因子分析を行った。因子構造は、『活発な運動』、『楽しい生活』、『心と体の健康』、『睡眠習慣』、『生活スキル』、『健康な食事』の6因子30項目で構成された。本研究で抽出された6因子は、「幼児期の終わりまでに育ててほしい姿」の「健康な心と体」に関する内容を含んでおり、この時期の子供の健康や生活の実態を捉える尺度として信頼性及び妥当性を有していた。全ての因子得点の合計である『健康総合』は、年長児と比較し1年生の得点が高かった。1年生と比較し年長児において『睡眠習慣』が悪く、『楽しい生活』は年長児に比べ1年生の得点が低かった。『楽しい生活』と『生活スキル』は、女子と比較し男子の得点が低かった。本尺度を用いることは、幼児期の教育と小学校教育の接続に役立つ可能性がある。

- ・澤聡美,萩原明人,神川康子,佐野朋子(2023) 新型コロナウイルス感染流行中の小学生のメンタルヘルスと生活習慣及びwell-beingとの関連性の検討,第33回日本疫学会学術総会一般演題オンデマンド発表

本研究ではコロナ禍の小学生のメンタルヘルスに着目し、生活習慣及びwell-beingとの関連性を検討した。メンタルヘルスは、「イライラする」、「昼眠い」、「食欲不振」の3項目、生活習慣は、「学年」、「性別」のほか、「就寝時刻」、「起床時刻」、「朝食の摂取」、「スクリーンタイム（以下ST）」、「外遊び」、「運動頻度」の8項目、well-beingは、「学校が楽しいか」、「仲の良い友達がいるか」、「困ったときに家族に相談できるか」、「自分のことが好きか」の4項目でそれぞれ評価した。全てに回答した3,510名を解析の対象とし、メンタルヘルスに関する3項目をそれぞれ従属変数とし、生活習慣8項目とwell-beingの4項目を独立変数とした多変量ロジスティック

ク回帰分析を行った。メンタルヘルスに関する3項目で「要因あり」の子供の割合は、「イライラする」(15.6%)、「昼眠い」(25.9%)、「食欲不振」(7.5%)であった。他の変数を調整した後も3つのメンタルヘルス項目に共通して関連する要因は、「朝食の欠食」、「ST3時間以上」、「学校が楽しくない」、「困ったときに家族に相談できない」であった。コロナ禍の小学生のメンタルヘルスには、朝食摂取等の生活習慣のほかに、家族や学校、友達とのつながりが関連していた。

## 子ども・保護者・先生たちの 元気アップセミナー(報告)

新型コロナウイルス感染症の影響が長期化する中で、運動不足、生活リズムの乱れなど、様々な視点から子どもたちの心身の健康が心配されてきました。富山大学澤研究室では調査結果を踏まえ、2023年2月26日にセミナーを実施し、理論と実践から子どもたち、そして、子どもを取り巻く大人の元気アップを目指しました。アーカイブ動画を作成しました。ご活用いただければ幸いです。

### 第1部：13：30～15：00 講演

1. 2022年幼児と児童の健康調査報告(富山大学講師 澤 聡美)

資料



映像



2. 特別講演 (國學院大学教授 鈴木 みゆき 先生)

「かしこく、元気に、きげんよく一幼保小接続と生活習慣一」

資料



映像



3. 元気アップメッセージ (富山大学名誉教授 神川 康子)

「子どもたちの健やかな育ちに私たちができること」

資料



映像



### 第2部：15：15～16：00 みんなで運動不足解消！

リズムでるるん♪「鈴木 みゆき先生の手遊び歌の紹介」

- |               |      |      |      |
|---------------|------|------|------|
| 1. はやおきマンたいそう | 1の映像 | 2の映像 | 3の映像 |
| 2. BABYピクス    |      |      |      |
| 3. ごりらのおすもう   |      |      |      |

各動画の最後に音源を入れました。録音してご活用ください。

本セミナーは、JSPS科研費 JP22K11633、第39回公益財団法人富山第一銀行奨学財団の助成(研究代表者：澤 聡美、共同研究者：神川 康子)を受けて実施しました。  
第2部学生協力者：伊藤 藍里、遠藤 夏菜、寺口 夢音、土居 正弥、観堂 七緒、佐々木 香苗、平林 真奈  
連絡先 〒930-8555 富山市五福3190 富山大学教育学部(人間発達科学部)澤研究室  
Tel/Fax：076-445-6320 Email：sawa@edu.u-toyama.ac.jp

\*2と3の音源は2024年3月まで使用可

#### **4. 今後の展望**

本研究を通して、コロナ禍の富山県の子どもの健康状態を把握し、学校や行政・地域と連携し、啓発活動を実施することができた。今後は論文化を進めるとともに、そこで得られた新しい知見を健康教育に活かし、啓発活動を継続していきたい。さらに、今回の研究で作成した健康生活調査尺度を用い、コロナ後の幼児と小学生を対象にしたアンケート調査を実施し、今後の研究に繋げていきたいと考えている。

研究題目	景観遺伝学的分析による哺乳類の歴史探索
機関名	富山大学
研究代表者	学術研究部理学系・准教授・山崎 裕治
分野	生物学・景観遺伝学・自然科学
キーワード	哺乳類, 生物多様性, 絶滅危惧種, 保全

## 1. 研究の背景と目的

富山県には、およそ 50 種類の哺乳類が生息している。しかし近年は、多くの哺乳類の個体数や生息地が減少しており、哺乳類の存続だけではなく、生態系全体の脆弱化が危惧されている。本研究では、私たちの身の回りに生息する哺乳類について、主にその象徴であるキツネに注目し、現在の生息環境および過去そして未来の状況を予測して、哺乳類を含む生態系の保全や持続性の確保に向けた提言を行うことを目的とした。このような目標の達成に対して、従来は、カメラトラップなどを用いた観察調査や、遺伝子を使った過去の推定、あるいは調査地における環境要因の評価が行われてきた。しかしこれらの方法では、調査可能地域や得られる生物情報が限定されてしまうことが課題となっていた。そのため最近では、対象生物の出現情報と対象地域の網羅的な景観情報を用いて、最大エントロピー原理を用いて対象生物の出現（生息）に適した場所を予測する MaxEnt モデルの活用が注目されている。

そこで本研究では、全ゲノム解析による網羅的な遺伝的特徴の把握に加えて、遺伝子分析と景観解析を融合した景観遺伝学的手法を採用し、富山県におけるキツネなどの哺乳類を網羅的に評価すること、さらに将来の生息状況を予測することを目的として、I. 目視および痕跡情報を用いた哺乳類の種同定、II. キツネのゲノム解析、III. キツネの景観分析、の研究を展開した。

本研究の遂行により、キツネなどの哺乳類の現状評価や保全に寄与することが期待される。それと同時に、本研究で確立した分析法は、他の生物、特に人間の身の回りで共存する多くの生物の実態解明や保全にも応用が可能である。

## 2. 研究方法

### I. 目視および痕跡情報を用いた哺乳類の種同定

富山県における哺乳類の生息状況と種同定方法の確立のために、富山県内各地において、現地調査を行い、哺乳類の目撃情報の記録および爪痕、食痕、そして糞などの痕跡情報を収集した。

目視および痕跡情報に基づく種同定は、先行研究<sup>1,2</sup>に基づき行った。ただし、形態情報に基づいて痕跡を種同定する場合は、その正確性が劣る場合があるため、遺伝子分析を併用した。

遺伝子分析において、現地調査において採取した糞を研究室に持ち帰り、核酸自動精製システム Maxwell RSC Instrument（プロメガ）において、Maxwell RSC PureFood GMO and

Authentication Kit を用いて DNA 抽出を行った。得られた DNA サンプルについて、先行研究<sup>3</sup>のプライマー (L2513/H2714) を用いて PCR 増幅を行い、精製した後にダイターミネーター反応を行い、ジェネティックアナライザ ABI3500 を用いて、ミトコンドリア DNA16S rRNA の部分領域の塩基配列 (約 250 ベースペア) を決定した。得られた配列について、NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) の BLAST サーチにおいて、該当種を探索した。

## II. キツネのゲノム解析

上記 I において、富山県内で収集されたキツネサンプルを用いて、個体レベルの遺伝的特徴を明らかにするために、マイクロサテライト DNA 分析を行った。上記 I で抽出した DNA サンプルについて、複数のマイクロサテライト遺伝子座<sup>4</sup>を対象として、蛍光標識プライマーを用いた多型的 PCR およびジェネティックアナライザ ABI3500 を用いたフラグメント解析を行った。得られた波形データに対して、GeneMapper を用いてピーク検出を行い、アリルを確認した。そして、複数遺伝子座のアリル組成に基づき、個体ごとの遺伝子型を決定した。

また、富山県内の 1 個体および他県の 4 個体のキツネの筋肉サンプルから抽出した高精度の DNA サンプルについて、全ゲノム解析委託を行った。得られたリードについて、fastp を用いてクオリティコントロールし、低品質の塩基などを除去した。その後、BWA-MEM2 を用い、リードをリファレンスゲノムへマッピングした。GATK4 (Broad Institute) を用い、重複リードをマークアップした後、バリエーション情報を gVCF フォーマットで抽出した。各個体の gVCF ファイルから Genomics Data Base を作成し、joint genotyping を実施して Multi-sample VCF を取得した。バリエーションを SNPs と Indels とに選別し、それぞれ異なる閾値で Hard-filtering を実施した。得られたバリエーションを事前情報として供し、Base Quality Score Recalibration を行った。その後、較正後のマッピングファイルを用い、バリエーション抽出から Hard-filtering までを再度実施した。得られた高品質なバリエーションデータをリファレンスゲノムに適用し、各個体の染色体レベルの全ゲノムアセンブリを構築した。また、常染色体上の SNPs のみを選抜し、ModelTest-NG および RAxML-NG を用いて全ゲノム系統樹を最尤推定した。

## III. キツネの景観分析

富山県におけるキツネの生息適地を明らかにするために景観分析を行った。

まず、上記 I および II において、キツネの生息が確認された地点および過去の文献情報に基づいて、富山県におけるキツネの出現地点を把握した。この際、狭い範囲内に出現場所が集中すると空間自己相関の影響が生じ、生息適地予測に影響することを考慮して、単一の 3 次メッシュ (1km 四方) 内に複数の出現地点がある場合、そのうちメッシュの中央に最も近い 1 つだけを選抜して解析に供した。

次に、キツネの生息に影響すると考えられる要因として、富山県全域の 3 次メッシュに記載されている環境情報 (地形、土地利用、気象、植生) について、国土交通省国土数値情報ダウンロードサイト (<https://nlftp.mlit.go.jp/ksj/>) からダウンロードした。解析には、降雪量、降雨量、

水田面積、建物面積、道路面積を用いた。これら要因の選抜にあたって、事前により多くの要因との相関関係を調べ、高い相関係数を示した要因は除外した。例えば、降雪量は、標高、傾斜角、日照時間と強い正の相関を示し、気温は強い負の相関を示した。そのため、降雪量を調べることで、強い相関関係を有する他の要因の状況を検討することも可能となる。また、国立環境研究所が提供する日本全国標準土地利用メッシュデータ ver1.2 の3次メッシュ情報のうち、植生に関する情報を抽出し、森下の群集の多様度を算出し、これを植生多様度として解析に供した。

これら情報をQGIS ver 3.10.4 (<https://www.qgis.org/ja/site/forusers/download.html>) を用いて整列させ、環境情報についてはラスタ形式に変換した。以上のキツネの出現場所情報と環境情報を用いて、MaxEntモデル<sup>5)</sup>に基づき生息場所の予測（出現確率の算出）を行った。さらに、MaxEntのProjection機能を用いて、過去の景観情報あるいは将来を想定した景観情報を入力した際におけるキツネの出現確率の変化を評価した。この際、上記国土交通省のダウンロードサイトから1976年度の情報を採用し、当該年度の生息状況を推定した。また、約100年前を想定して、建物面積を2割減少（現在比）、植生多様度を2割増加、降雪量を2割増加させた情報を用いて解析した。一方、将来の人為開発の増加および温暖化の進行を予測して、建物面積を1割あるいは2割増加、植生多様度と降雪量をそれぞれ1割あるいは2割減少させた情報を用いた解析も実施した。

### 3. 研究成果

#### I. 目視および痕跡情報を用いた哺乳類の種同定

目視および痕跡における形態情報に基づく哺乳類の種同定を行った。富山県中央部の呉羽丘陵（主に呉羽山と城山）における調査の結果、目視、爪痕、足跡、糞（外見）の情報に基づき、キツネ、ノウサギ、タヌキ、アナグマ、ニホンカモシカ、ハクビシン、そしてアライグマの生息を確認した。このうちアライグマは、呉羽丘陵では初めての確認となった。

富山県内各地から採取した哺乳類の糞を用いたDNA分析を行った結果、キツネ、タヌキ、ニホンカモシカ、テン、イタチ、そしてニホンザルのDNAを検出した。これら各種については、互いに塩基配列が明らかに異なることから、糞由来のDNAを用いて、これらの種の検出および同定を行う方法を確立することができた。

また、呉羽丘陵における調査において、同じ地点（数mの距離）において採取された糞のうち、一方がキツネ、もう一方がテンであることが示された。この結果は、両種が同一地点を生息範囲として活用していることを意味すると共に、糞由来DNAによる種判別の高い実用性を示し、保全のための基礎資料となる生態情報の収集に有効であることが示された。

#### II. キツネのゲノム解析

富山県内で収集されたキツネサンプルを用いて、個体レベルの遺伝的特徴を明らかにするために、マイクロサテライトDNA分析を行なった。個体ごとのアレル組成を比較した結果、14種

類の遺伝子型が検出され、本種は高い遺伝的多様性を保持していることが示唆された（図 1）。

また、同一地点や近隣地域において、複数の遺伝子型が検出された。このことは、本ゲノム解析が高い分析能を有していることを示唆している。その一方で、遺伝子型 G が、県内の広範囲で検出された。これらのことから、遺伝的特徴に基づく個体レベルの識別を行うためには、今後より詳細な分析が必要であると考えられる。

さらに、キツネの全ゲノム解析の結果、富山県の個体において 399,451,601 リード×150 ベース×2 = 119,835,480,300 ベース（約 120 ギガベース=1200 億塩基対）の配列情報を取得できた。各塩基座位にけるクオリティスコアは極めて高いことが示された（図 2, 3）。また、クオリティコントロール後においても約 70%にあたる約 84.2 ギガベースの配列情報を確保した。他県の 3 個体についても、同様のデータ量の配列を取得した。栃木県の 1 個体においては、グラム陰性細菌のメタゲノムが検出され、キツネの配列はほとんど得られなかった。原因として、このサンプルでは腐敗が進行していた可能性がある。

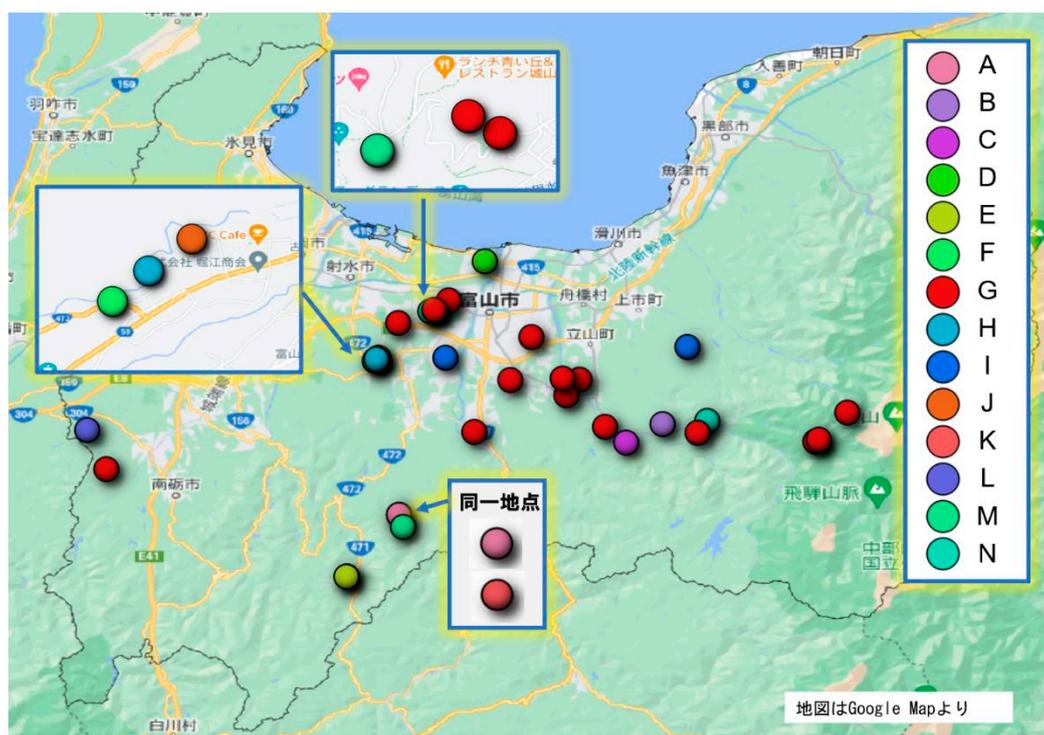


図 1. マイクロサテライト DNA 分析に基づく富山県におけるキツネの遺伝子型パターン。

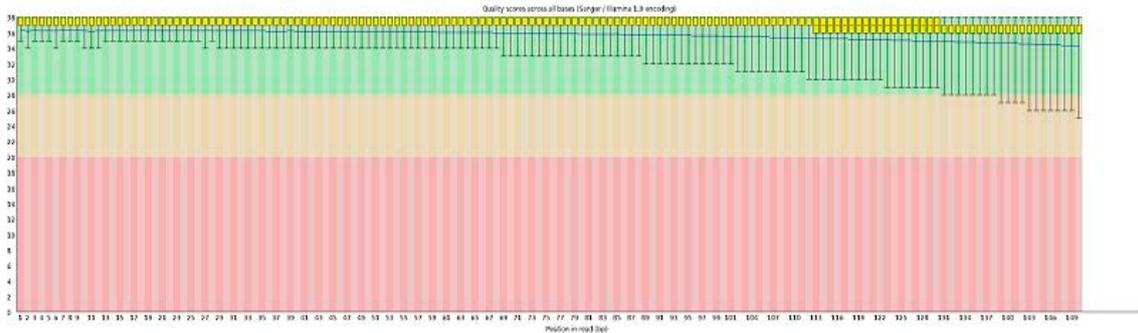


図2. キツネ全ゲノム解析結果における塩基座位（横軸：1～150 塩基目）のクオリティスコア。

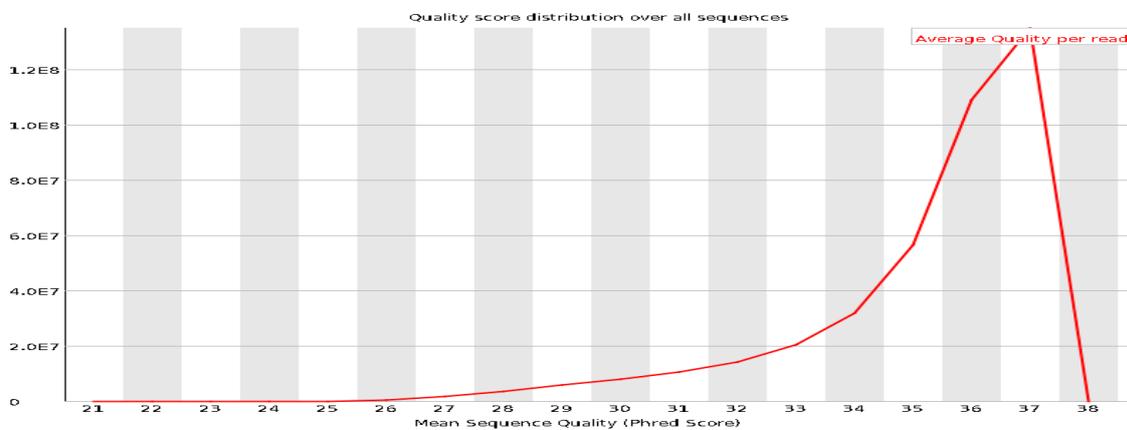


図3. キツネ全ゲノム解析結果における平均クオリティスコア（横軸）の頻度（縦軸）。

マッピングの結果、個体あたりの各染色体における被覆率は90%以上、常染色体の平均被覆深度は30から40倍程度、性染色体の被覆深度は約20倍程度であった。バリエント検出の結果、大陸の飼育個体のリファレンスゲノムに対し、4個体で約1300万座のSNPsを検出した。これらのSNPsおよびIndelsのデータをリファレンスに適用し、4個体分の全ゲノムアセンブリ（それぞれ約2.4ギガベース）を取得した。これまで、野生のキツネ（アカギツネ）の全ゲノムアセンブリは報告されていないため、世界初の成果と言える。今後、これらのバリエントやアセンブリを用いて詳細な解析を実施することで、キツネの過去の個体数の歴史的な変化や、地域間の遺伝的類縁関係など、キツネの進化過程の解明が期待される。

常染色体上のbiallelic SNPsのみを検出した結果、約1200万座の多型を取得した。それらのデータを用いて系統樹を推定した結果、日本のキツネは大陸のキツネとは大きく異なる遺伝的特徴を有することが明らかになった（図4）。また、日本のキツネの中における富山県の個体の系統的位置が明らかになった。

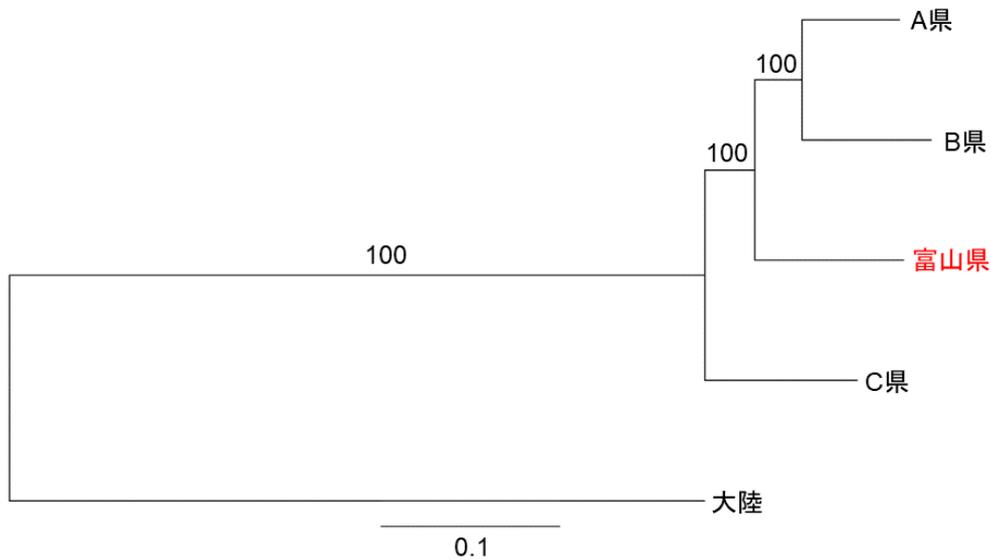


図 4. 全ゲノムデータに基づいて最尤推定したキツネの個体間系統樹。

### III. キツネの景観分析

MaxEnt を用いてキツネの生息適地を推定した結果、ROC (Receiver Operating Characteristics) 曲線の AUC (Area Under the Curve) 値は 0.800 を示した。この値が 0.750 を超える場合、高い予測の信頼性を有することを意味するため、本結果は十分に高い予測精度を持つモデルであると判断される。

MaxEnt モデルに基づく解析の結果、各メッシュにおけるキツネの出現確率が得られた (図 5)。その結果、県内の平野部から中山間地域までの広い範囲において、キツネの高い出現確率が示された。その一方で、高山帯における出現確率は低かった。

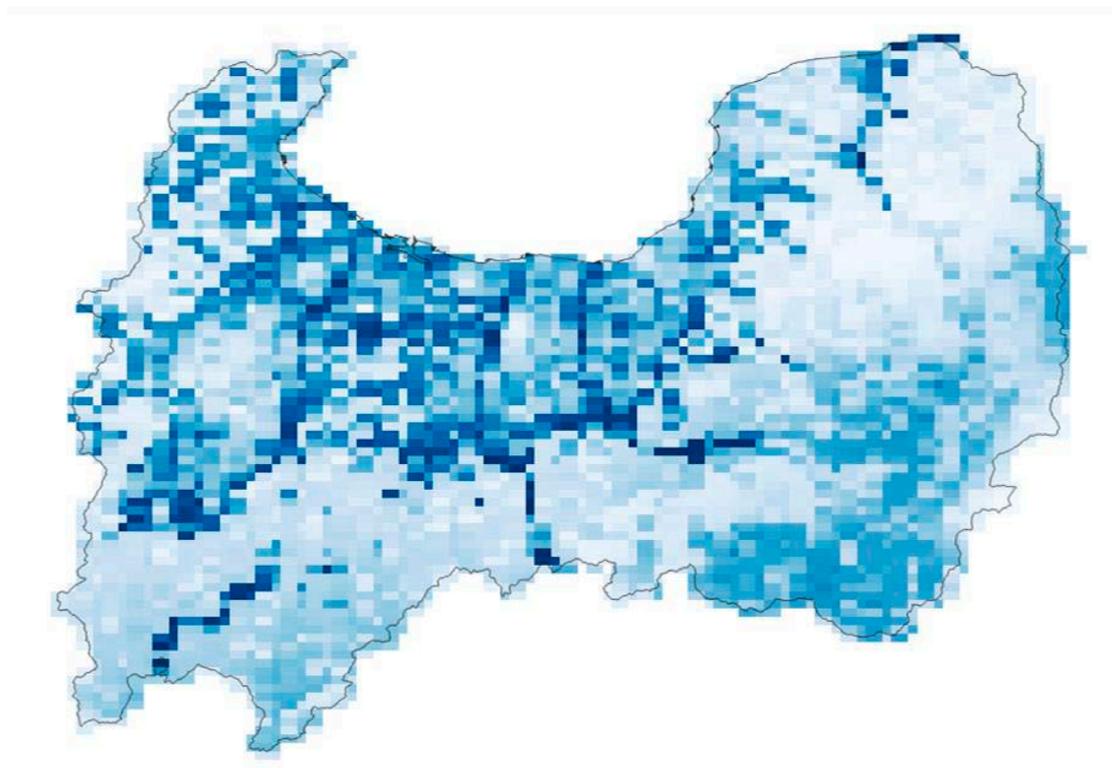


図 5. MaxEnt モデルにより予測されたキツネの出現確率。青が濃いほど、確率が高い。

出現に対する環境情報の寄与率は、建物面積において最も高く（47.2%）、次いで植生多様度が高い（30.4%）ことが示された（図 6）。これ以外の要因の寄与率は、積雪深（13.8%）、降水量（6.1%）、道路面積（1.3%）、そして水田面積（1.3%）の順であった。寄与率の高かった環境情報の反応曲線において、建物面積においてはその変数値が小さい時に出現確率は高く、値が大きくなるにしたがって、その確率は低下する傾向が示された（図 6）。また、植生多様度については、値が大きいくほど出現確率が増加した。

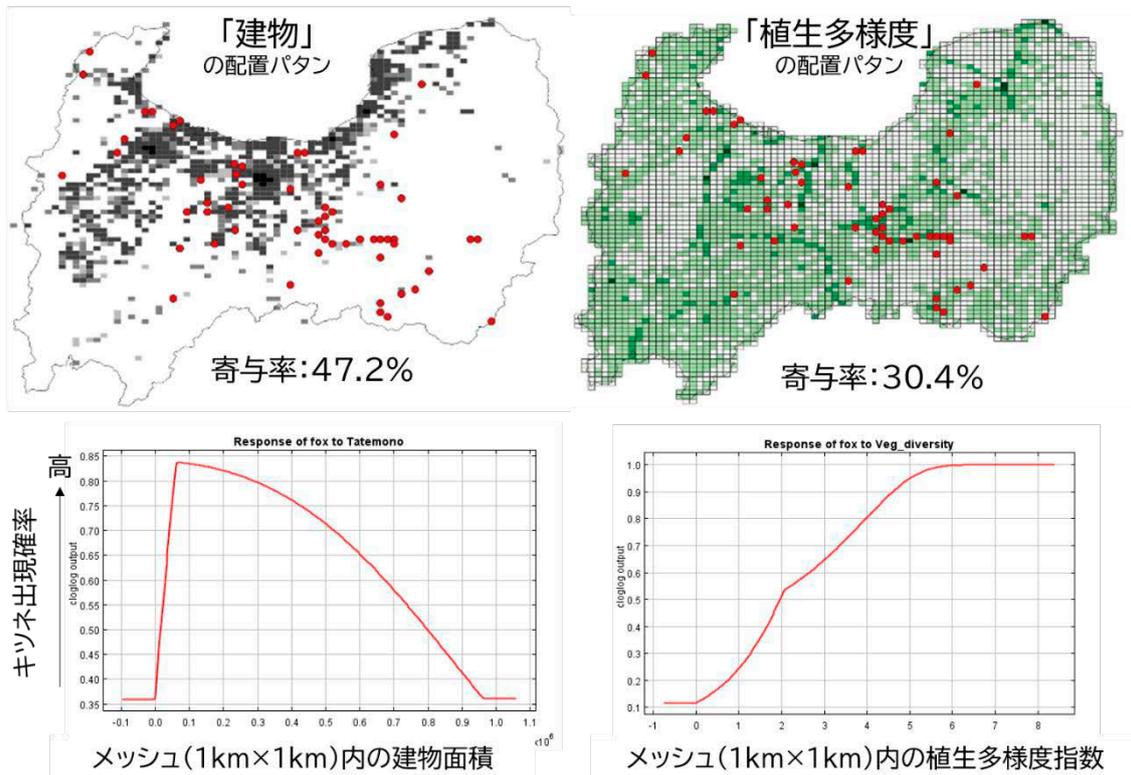


図 6. 寄与率の高かった環境情報の分布状態（上）と MaxEnt モデルによる出現確率に対する反応曲線（下）。分布状態では、いずれも色が濃いほど存在確率が高い。

これらの結果、富山県におけるキツネの出現確率が高い、すなわち生息に適した場所は、建物が少なく、植生が多様な場所であることが明らかになった。建物の少なさにおいては、キツネが市街地にも希に出現する一方で、多くは中山間地を利用していることを意味する。また、植生の多様度は、単に植物の本数や面積ではなく、様々な植物が存在する状態（植物の多様性が高い状態）を指す。キツネは主に肉食性であるため、植物の多様さそのものよりも、高い植生多様度の地点において、キツネの餌となる昆虫や小型哺乳類が豊富であることと関連すると考えられる。

さらに、MaxEnt の Projection 機能を用いて、過去と将来の生息適地の変動を予測した。現在におけるキツネの出現確率が 0.5 以上の地点（メッシュ）数を 100 とした時の相対値で表すと、過去の推定値は 1920 年代が 161 であり、1976 年は 96 であった（図 7）。1920 年代は今よりも植生が多様であったため、餌資源や生息場所が豊富で、キツネの生息に適していたと考えられる。これに対して 1976 年は、現在の数値と比べて低下していたが、誤差の範囲内と解釈できる一方で、高度成長期における土地利用の影響を受けて、現在と比べて、キツネにとって住みにくい時代だった可能性も否めない。

一方、将来の土地利用や温暖化を想定した場合、その影響が今より 1 割増加した場合の出現適地は 70 であり、2 割増加だと 49 であった（図 6）。いずれも生息適地の低下が示されたことから、将来において、キツネの生息が危惧される状況が予測される。

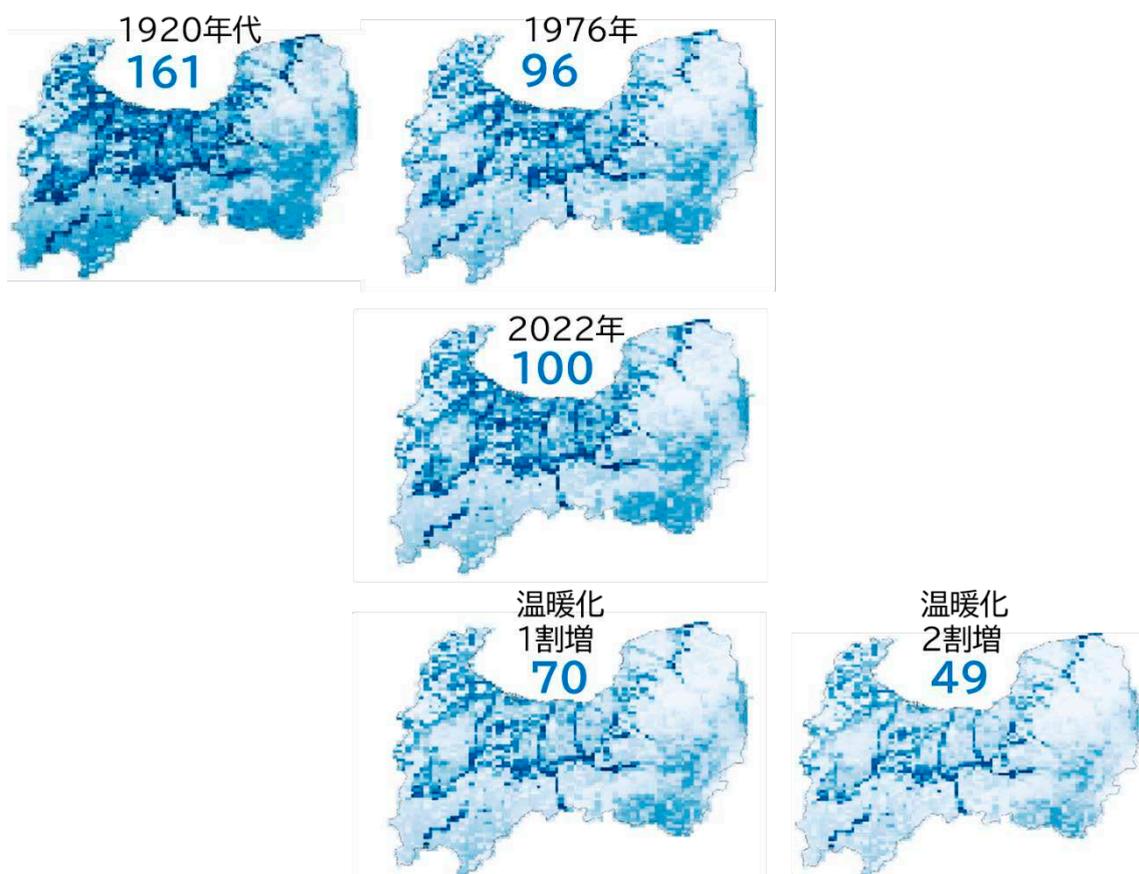


図 7. MaxEnt の Projection 機能を用いたキツネにおける生息適地の変動予測。数値は、2022 年におけるキツネの出現確率が 0.5 以上の地点を 100 とした時の相対値を示す。環境条件の変動内容は、本文参照。

#### 4. 今後の展望

本研究において、キツネにおける遺伝子分析に基づく個体レベルの特徴、ゲノム情報、そして生息に適した環境情報の検出に成功した。これら情報は、減少傾向にあるキツネの保全をする上で活用することができ、個体レベルの管理および環境復元に貢献することが期待される。

また、本研究で確立した遺伝子分析および景観分析を、他の生物に対して活用することで、生物多様性や生態系全体の保全に寄与することが可能となる。例えば昨今、国際的な目標であり、日本では環境省が中心となって取り組んでいる「30 by 30 目標（2030 年までに国土の 30%以上を保全する目標）」の達成に向けた自然共生サイトの認定が進められている。これには、行政だけでなく、企業・金融機関の参加も増えており、その認定のための基礎資料となる生物多様性情報の収集に対して、本成果が貢献することが期待される。例えば、研究者らのグループでは、自然共生サイト認定に向けて、本成果を応用した生物多様性評価指標の策定方法を開発中である。

以上のことから、本研究の成果は、生物多様性や生態系、およびそこから得られる恩恵を持続的に享受する SDGs の達成にも資するもの考えられる。そして人間生活の豊かさの向上、すなわち human well-being の実現にも寄与することが期待される。

## 5. 参考文献

1. 關義和・江成広斗・小寺祐二・辻大和 (2015) 野生動物管理のためのフィールド調査法. 436 頁. 京都大学学術出版会, 京都.
2. 伊藤隼・佐藤真・山崎裕治 (2022) 痕跡調査とカメラトラップ調査に基づく富山県における特定外来生物アライグマ (*Procyon lotor*) の生息状況. 哺乳類科学 62: 247-255.
3. Kitano T, Umetsu K, Tian W, Osawa M (2007) Two universal primer sets for species identification among vertebrates. International Journal of Legal Medicine 121: 423-427.
4. Tada T, Seki Y, Kameyama Y, Kikkawa Y, Wada K (2016) Characterization and application of newly developed polymorphic microsatellite markers in the Ezo red fox (*Vulpes vulpes schrencki*). Genetics and Molecular Research 15: gmr15049104.
5. Phillips SJ, Anderson RP, Schapire RE (2006) Maximum entropy modeling of species geographic distributions. Ecological Modeling 190:231-259.

研究題目	ラマン分光法を用いた加齢卵子の質低下の原因解明
機関名	富山大学
研究代表者	学術研究部工学系・特命助教・小池 誠一
分野	細胞生物学
キーワード	ラマン分光法、卵子

## 1. 研究の背景と目的

加齢とともに妊娠成功率が下がるため、妊娠を望む女性の高齢化が進む我が国では、不妊症に苦しむカップルが増え続けている。これまでの研究から、加齢による妊娠率低下には、卵子の“質”の低下が関係することが分かっている。しかし、この“質”が科学的に何を意味するのかわかりにくく、これまで明らかになっていない。そこで申請者は、不妊症を解決するためにはまず“質”の実態を明らかにしなければならないと考え研究を開始した。質の実体解明が遅れている原因として、加齢卵子を得るためには時間と費用がかかることから、生化学的実験などのための十分な試料を得ることが難しいことが挙げられる。逆に言えば、少数のサンプルから網羅的データが得られれば、卵子の変容メカニズムを解明できるのではないかと考えた。

そこで、申請者は少数のサンプルから網羅的情報を抽出する手法として、ラマン分光法による分析を取り入れた。ラマン散乱光は光が物質と作用し入射光から振動数がシフトした光のことである。そのシフトは物質に含まれる分子結合の固有振動数のため、細胞ヘレーザーを照射した時に得られるスペクトルから、細胞の分子組成やそれらの状態を推測できる。例えば、分子生物学手法では扱うことが難しい分子（脂質やリン酸など）の細胞内挙動の可視化や、分子状態（シトクロム C の酸化還元状態など）を知ることでもできる（文献1）。また、個々の卵子にレーザー照射するだけで、非侵襲的に細胞を構成する分子の網羅的情報を得られるため、少数のサンプルがあるだけで膨大なデータを得ることができる。これまでのオミクス解析では、プロテオームではタンパク質の発現データ、トランスクリプトームでは mRNA の発現データといったように一つの生体物質のみを扱うのに対して、ラマンスペクトルでは細胞を構成する全ての分子からの情報が反映されていることから、究極のオミクスデータである。そのため、ラマンスペクトルを解析することで、これまでの研究手法では明らかにできなかった新たな卵子の加齢の分子メカニズムを明らかにできると考えた。

本研究の成果によって、卵子の“質”の本質が理解できれば、それを元に卵子を再活性化させる方法を確認することによって、加齢卵子を若返らせ、妊娠率の向上に寄与できる可能性がある。現在、日本で 50 万組以上いる不妊に苦しむカップルが持つ不妊治療のために費やしている経済的負担、精神的不安、頻繁に必要な通院や診察のための時間を軽減させることができる。またこれによって子供の数が増えれば、社会問題となっている少子化問題の解決に貢献できる。また本研究で得られた技術や知見を、卵子以外の細胞にも適応することができれば、老化関連疾患の理解と予防・治療に応用できる可能性がある。

## 2. 研究方法

### 実験マウス

研究に用いる卵子を採取するため、各週齢の ICR マウスを三協ラボサービスから購入もしくは富山大学動物実験施設から譲り受けることで用意した。特に高齢マウスは高価であるため、動物施設の業務で使われていて、高齢のため廃棄される予定のものを譲り受けることで、実験に使う動物の数を減らすように努めた。

### 卵子の採取

1 日目に PMSG(血清性性腺刺激ホルモン)を 8 U 腹腔内注射。3 日目に hCG (胎盤性性腺刺激ホルモン)を 8 U 腹腔内注射することで過排卵を誘導した。過排卵処理を施した雌マウスを hCG 投与 15~17 時間後に安楽死させ、子宮、卵管、卵巢および脂肪の一部を取り出し、濾紙上で卵管のみを切り取り、血液や脂肪を除去した。卵管を、受精用ディッシュ内の流動パラフィン中に沈め、解剖針で膨大部の卵管壁を引き裂き、放出した卵子塊を取り出した。卵丘細胞を取り除くために、最終濃度 0.1% になるようにヒアルロニダーゼを添加し、CO<sub>2</sub> インキュベーター内 (37° C、5% CO<sub>2</sub>、95% air) で 30 分培養した。その後、薬剤を適時添加して培養を続けた。

### ラマン計測

Ti-E 顕微鏡 (Nikon) に RPM-532 レーザー (Airix) を設置し、x63 接眼レンズをあを通して卵子にレーザー照射した。ラマン散乱光は、ダイクロイックビームスプリッター (LPD02-532RU-25x36x1.1, Semrock) とロングパスフィルター (LP03-532RE-25, Semrock) によって分離した。散乱光はマルチモードファイバー (コア径 50 μm) を介して検出し、CCD (iVac, ANDOR TECHNOLOGIES) を備えた分光器 (SP2150, Teledyne Princeton Instruments) に接続した。各試料のラマンスペクトルは、露光時間 60 秒、2 回

積算で取得した。卵子は石英ガラスボトムディッシュの上に作った TBS (Tris-Buffered saline) のドロップに卵子を一つずつ入れてステージにセットした。1 個の卵子に対して、任意の 5 点もしくは 9 点を選び計測を行なった。

### 実験方法

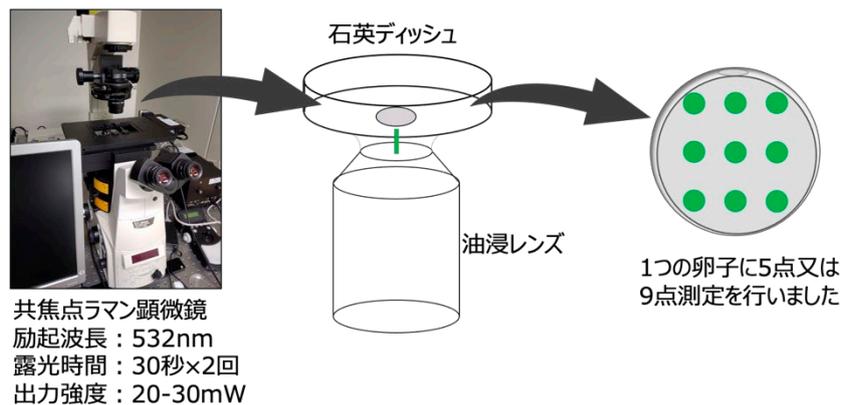


図 1. 卵子のラマン計測方法

### 卵子内 ATP 量の測定

ATP Assay kit Luminescence (Dojindo) を用いて計測した。卵子 15 個を入れた 96 ウェルプレートを用いて、説明書通りに実験を行なった。

### 3. 研究成果

加齢卵子での機能異常を明らかにするために、若齢（6週齢）、加齢マウス（1年齢）それぞれから採取した卵子の正常発生率を調べた。胚盤胞までは大きな変化が見られなかったが、受精卵を代理母マウスに戻した時の、加齢卵子からの産仔数が少なかった（図1）。このことから、実際に加齢によって卵子の“質”が低下し、出産率が低下することがわかった。

そこで、その“質”が何に由来しているのかを明らかにするために、ラマン顕微鏡を用いた計測を行なった。6週齢マウスから得られた卵子に比べて、1年2ヶ月齢、1年7ヶ月齢へと加齢するにつれて、いくつかのピークに有意な差が見られることがわかった。ラマン分光法によって得られるそれぞれのラマンシフトのピークが何の分子もしくは分子状態に帰属するかは先行研究で明らかにされている。そこで加齢によって変化しているピークの帰属を、その帰属表と照らし合わせると、加齢によってシトクロム C（ミトコンドリアの機能変化）、脂質に由来するシグナルが増大していることが分かった（図2）。

そこで次に、ラマン分光法を用いた解析から得られた、加齢卵子でシトクロム C に帰属するラマンスペクトルが増強している原因について検討した。ウェスタンブロットによってシトクロム C タンパク質の発現量を調べたが若齢卵子と加齢卵子で大きな変化は見られなかった。次に他グループが、「還元型」シトクロム C は「酸化型」シトクロム C に比べて高いラマンシグナルを示すことを報告している（文献2）ことから、加齢卵子では「還元型」シトクロム C が増加しているのではないかと考えた。そこで、シトクロム C の酸化を担う呼吸鎖複合体 IV の特異的阻害剤 (KCN) を若齢卵子に投与したところ、加齢卵子と同様のラマンスペクトル変化を示したことから、加齢卵子では、呼吸鎖複合体 IV の機能が低下し、「還元型」シトクロム C が異常に増加していることが示唆された。

ここで興味深いこととして、ミトコンドリア呼吸鎖の機能阻害によって、脂質分子由来のスペクトルも加齢卵子同様に増加していた。この結果から、加齢卵子で見られた脂質分子由来のスペクトル増加はミトコンドリア機能低下と深い関わりがあることが判明した。

これと並行して、加齢卵子でミトコンドリア呼吸鎖の機能が本当に低下しているの

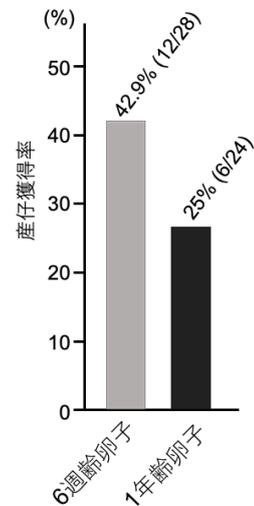


図2. 卵子の加齢によって産仔数が減少する

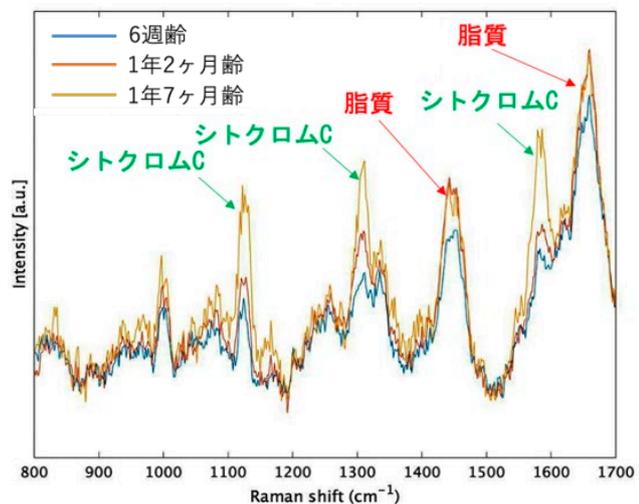


図3. 加齢するに従いシトクロム C (緑) や脂質 (赤) シグナルが強くなっている。

かを調べた。まず加齢卵子では若齢卵子に比べて有意に卵子内の ATP 量が減少していることがわかった。更にミトコンドリアの膜電位も加齢卵子で低下していることが明らかにすることができた。これらの結果から、加齢に伴って卵子では、ミトコンドリア呼吸鎖の機能が低下していることがわかった。

#### **4. 今後の展望**

今後も、継続して加齢卵子で起こっている変化を、ラマン分光法を用いて明らかにしていく。すでにミトコンドリア呼吸鎖の機能が、加齢によって変化していることを明らかにした。すでに多くのグループが加齢によってミトコンドリアの機能が低下していることは報告しており（文献3）、加齢にはミトコンドリア機能が大きく関わっていることが分かっている。しかし、ミトコンドリアに存在するどの分子が加齢に直接関わっているのかはわかっていない。実際、ミトコンドリア呼吸鎖は複合体 I~V からなるとともに、それぞれの複合体は多くのタンパク質から構成されており非常に複雑である。そこで、ラマン分光法を駆使することで、加齢によってどのミトコンドリア呼吸鎖複合体のどのタンパク質にどのような変化が起こっているのか？その加齢の根源を分子レベルで明らかにしていく。もしその分子が同定できれば、申請者がこれまでに開発してきたリポソームを用いて必要なタンパク質を目的のオルガネラまで送り届ける手法（文献4）を用いて、その機能を再活性化し、卵子を若返らせることができるのではないかと考えている。

#### **5. 参考文献**

1. Asaoka, Kiyomatsu, Miura, et al., *J. Biomed. Opt.* (2022) 11, 115002
2. Okada, Smith, Palonpon, et al., *P.N.A.S.* (2011) 109, 28-32
3. Lima, Li, Mottis, and Auwerx, *Nat. Aging* (2022) 2, 199-213
4. Koike and Jahn, *Biochem. J.* (2022) 479, 273-288

研究題目	二酸化炭素からエタノールへの新規合成技術の開発
機関名	富山大学
研究代表者	学術研究部工学系・准教授・楊 国輝
分野	触媒プロセス工学
キーワード	二酸化炭素、水素化、カルボニル化、エタノール

### 1. 研究の背景と目的

日本は2050年までに二酸化炭素(CO<sub>2</sub>)の排出を全体としてゼロにするという目標を掲げ、カーボンニュートラル社会の実現を宣言した。この目標の達成には、化学品や医薬品産業においても重要な課題である医薬品の原料多様化が存在している。化学品と医薬品の多様な原料供給とCO<sub>2</sub>の資源化は、持続可能な未来を見据えた日本の戦略的な取り組みとなっている。化学品や医薬品産業は、人々の生活に欠かせない存在である。しかし、従来の製造には化石燃料由来の原料が多く使用されてきた。これにより、環境への負荷や資源の枯渇といった課題が浮き彫りになってきた。そのため、持続可能な社会を築くためには、化学品や医薬品の原料の多様化とCO<sub>2</sub>の有効活用が重要なテーマとなっている。

この研究は二酸化炭素(CO<sub>2</sub>)をC1化学的な原料として、基礎医薬品と化学品であるエタノールの新規合成ルートを実現するために、その触媒および反応ステップの探索を目的とする。申請者らは新規カプセル触媒でジメチルエーテル(Dimethyl ether: DME)と合成ガスからエタノールまでのタンデム反応を一段で遂行できた[1]。先行研究に基づいて、図1に示すような数段階のタンデムステップを計画し、二酸化炭素からエタノールを選択的に合成できる新たなルートと触媒を新規に開発する。計画する金属担持触媒(CuやFe系など金属、及びAl<sub>2</sub>O<sub>3</sub>やゼオライトなどの酸性担体)の上で①、②、③反応ステップを動かせ、メタノールを経由し、最終に適切なモル比を持つDMEとCOの混合ガスを合成する。次に、ゼオライト触媒を経由して、④のカルボニル化反応によりCOをDMEに挿し、生成した酢酸メチル(Methyl acetate: MA)が⑤のステップで水素化され、最終に高選択率でエタノールの合成を実現する[2, 3]。従来のCO<sub>2</sub>からのエタノール合成と異なり、この新たな「二酸化炭素からの新規エタノール合成」ルートを確立し、将来の工業化生産を目指す。従来の二酸化炭素を原料とするエタノールの合成は高いコストの触媒、又は電気化学反応を用いて、低選択性と低効率な問題が大体に伴い、実用化のハードルは非常に高い。本研究は斬新なCO<sub>2</sub> to

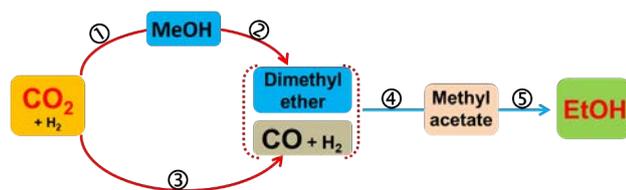


図1、CO<sub>2</sub>からエタノールへの新規合成ルート：  
①水素化反応、②脱水反応、③逆水性ガスシフト反応、④カルボニル化反応、⑤水素化反応

EtOH というタンデムなルートを開拓し、厳密な触媒化学に規定されたエタノールの生産ルートを CO<sub>2</sub> から実施し、大量に CO<sub>2</sub> を化学転換できる新規ルートの開発を目指す。これに合わせて、触媒設計、性能評価、触媒構造解析と反応メカニズム解明を行った。

## 2. 研究方法

研究を実施するために、以下の三の研究内容を行った。

### (a) メタノール自体を助触媒とする新規低温メタノール合成

共沈法によって MgO 含有量を変えた Cu/ZnO/MgO 系触媒を調製し、CO<sub>2</sub> を含む合成ガスからの低温メタノール合成におけるメタノール自体助触媒を通じた反応活性を評価した。沈殿過程での Mg<sup>2+</sup>の影響については、触媒前駆体の形成と組成について詳細に検討した。焼成および還元された触媒の構造特性に及ぼす MgO 含有量の影響も、複数の分析方法によって研究された。反応活性との関連性を明らかにするために、メタノール合成の TOF (turnover frequency) と STY (space time yield) と Cu 結晶粒径、CuO 表面積、弱塩基および中程度塩基部位の量との相関を解明した。さらに、低反応温度で高いメタノールの STY を実現するための高効率メタノール合成プロセスを開発した。

### (b) スパッタリング法による高性能カルボニル化反応用ゼオライト触媒の開発

粉末の H-MOR (東ソー : Si/Al = 9 (モル比)) を 20~40 mesh に整粒した H-MOR (東ソー) の 2 つの担体を用意し、マッフル炉で高温焼成を行った (前処理)。前処理終了後、すぐにサンプル管に保存した。ターゲットとして Cu 板を取り付けたバレルスパッタリング装置に保存した担体を入れ、装置内の圧力が  $9.9 \times 10^{-4}$  Pa まで下がってから、高純度 Ar (99.9999%) を装置内が約 6.5 Pa になるまで導入し、RF 値 300W、時間の 20 分でスパッタリングを行った。また、スパッタリング時間を 10, 20, 30, 40 min に変更し、スパッタリングを行った後、触媒を回収し、EDX 分析を行うことで、Cu 担持量を測定した。カルボニル化反応において、調製したゼオライト触媒の性能を評価した。

### (c) 効率的なエタノール合成を実現するためのナノフィラメント型ゼオライト触媒開発

直径制御されたナノフィラメント状の MOR ゼオライトの新規合成法を提案した。この種の MOR ゼオライトの合成プロセスは非常に簡単で、高価または複雑なテンプレートを使用しないである。合成された MOR 単結晶の形態は楕円体、ナノシート、ナノピラー、ナノロッド、ナノフィラメントが含まれる。この新規合成法では、アミノ酸またはポリオキシエチレンオレイルエーテルを添加剤として、結晶体の過剰成長を特定の方向に制御することで、結晶体の成長を抑制する。さらに、一段階のエタノール合成ルートにおいて、DME カルボニル化反応と水素化反応を組み合わせ、ナノフィラメント型 MOR 触媒の性能を評価した。

## 3. 研究成果

研究の結果について、以下の三の項目で記述している。

### (a) メタノール自体を助触媒とする新規低温メタノール合成

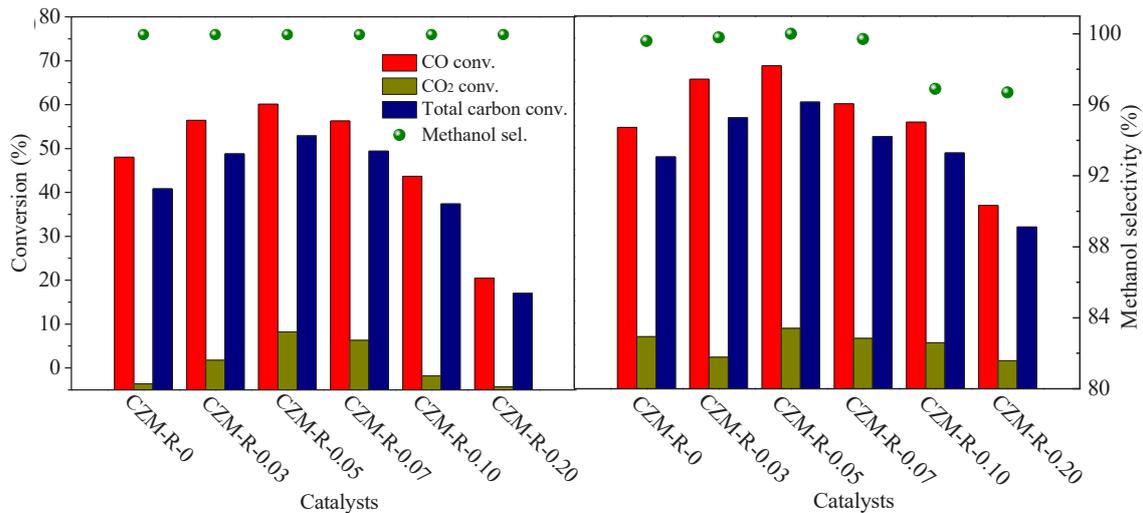


図2 メタノール自体助触媒なしのCu/ZnO/MgO触媒と0.003 mL/minのメタノール自体助触媒を使用した場合の、CO、CO<sub>2</sub>、および総炭素の転化率（左）、および（右）。反応条件：触媒重量=0.5 g、反応温度=200℃、反応圧力=7.0 MPa、H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>/CO/Ar=60.30/4.86/29.80/5.04、GHSV=1800 mL g<sub>cat</sub><sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>。

図2はメタノール自体助触媒なしのCu/ZnO/MgO触媒（左）と0.003 mL/minのメタノール自体助触媒を使用した場合（右）の触媒活性を示している。メタノール自体助触媒が存在しない場合、CZM-R-0触媒のCO、CO<sub>2</sub>、および総炭素の転化率はそれぞれ48.0%、-3.6%、40.8%であった。CO<sub>2</sub>の転化率が負値であることから、供給ガス中の微量のCOが水蒸気ガスシフト(WGS: water-gas-shift)反応によってCO<sub>2</sub>に変換されたことが示される。MgOの含有量を0から0.05に増加させることにより、COとCO<sub>2</sub>の転化率がそれぞれ48.0%から60.1%、-3.6%から8.2%に向上し、総炭素の転化率も40.8%から52.9%に増加した。これらの結果は、微量のMgOの添加が低温メタノール合成の触媒性能向上に有益であることを明らかに示している。しかし、MgOの含有量が0.05を超えると、特にCZM-R-0.10とCZM-R-0.20の方ではCO、CO<sub>2</sub>、および総炭素の転化率が低下し、CZM-R-0触媒と比較して総炭素の転化率ははるかに低いことが示された。過剰なMgOの添加はCu/ZnO触媒の触媒活性向上には好ましくないことを示している。0.003 mL/minのメタノール自体助触媒を導入すると、すべての触媒のCO、CO<sub>2</sub>、および総炭素の転化率が著しく増加し、添加されたメタノールが自体助触媒として低温メタノール合成反応を促進していることが示された。すべての触媒の中で、CZM-R-0.05が最も高いCO(68.7%)、CO<sub>2</sub>(8.8%)、および総炭素の転化率(60.4%)を示した。

#### (b) スパッタリング法による高性能カルボニル化反応用ゼオライト触媒の開発

スパッタリング法により調製した触媒(HMS-P@Cu, HMS-G@Cu)が高いSTYを示した。スパッタリング法では、金属を直接でゼオライト担体に担持することが可能であるため、伝統的焼成プロセスが要らないである。そのため、焼成分のシンタリングを抑制でき、高いSTYを示したと考えられる。また、スパッタリング法で調製した触媒を比較すると、HMS-G@Cuの方が高いSTYを示

した。そこで、整粒したゼオライトにより多くの Cu を担持させることで、更なる性能向上を試みた。Cu の担持量を増加させることで、H-MOR の結晶度が若干低下したが、大きな差異は見られなかった。Cu 担持量を増加させた HMS-G@Cu 触媒の反応結果を図 3 に示す。Cu 担持量を増加させることで、MA の STY 増加が見込めたが、0.65wt%以上 Cu を担持すると、STY の値がほとんど変化しないことがわかった。また、1.01wt%と 1.20wt%の触媒を比較すると、1.20wt%の触媒の方が若干ではあるが STY が低いという結果が得られた。この理由は、スパッタリングの原理が関わっていると考えている。スパッタリング法は金属粒子をゼオライトに担持することができる触媒調製法である。そのため、高い STY を示したと考えているが、スパッタ時間を延長することで、ゼオライト上に Cu が堆積していくことが考えられる。そのため、Cu 粒子がゼオライト全体を被覆してしまい、チャンネルが塞がれてしまう可能性が考えられる。

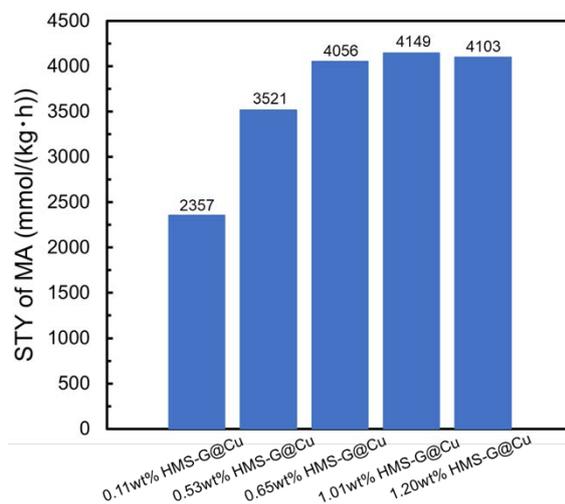


図 3 異なる Cu を担持した HMS-G@Cu 触媒の性能評価結果

#### (c) 効率的なエタノール合成を実現するためのナノフィラメント型ゼオライト触媒開発

一段法でのエタノール (EtOH) 合成は、ダブルレイヤー型ゼオライト-金属触媒システムで行われた。この合理的に設計された触媒システム (図 4a) では、DME、CO、および H<sub>2</sub> の反応物はまず MOR ゼオライト触媒層を通過し、DME と CO がカルボニル化反応を経て酢酸メチル (MA : methyl acetate) を生成する。次に生成された MA と H<sub>2</sub> は、続く金属触媒層でさらに水素化し、エタノールが最終的に得られる。一段法でエタノールを合成するため、通常の ES-MOR 触媒と CZ/SiO<sub>2</sub> 触媒との仕組みと比較し、新しいナノフィラメント型ゼオライトである NF-MOR と CZ/SiO<sub>2</sub> 触媒の組み合わせを評価した。図 4b に示されるように、ES-MOR&CZ/SiO<sub>2</sub> 触媒の組み合わせと比較して、NF-MOR&CZ/SiO<sub>2</sub> 触媒の組み合わせは DME 変換率 (85% vs 40%) および EtOH 選択性 (50% vs 42%) がより高く、また 30 時間の反応時間で優れた触媒安定性を示した。これらの結果から、自己組織化されたナノフィラメント型 MOR 触媒が大きな結晶サイズを持つ従来の MOR 触媒よりも優れた触媒性能を持つことが示唆された。

図 4d では、MOR 触媒と金属触媒の相乗効果が調査された。また、CZ/SiO<sub>2</sub> 触媒の優れた触媒性能を強調するために、従来の CZ (Cu/ZnO) 触媒が参照として使用された。図 4d に示されるように、CZ/SiO<sub>2</sub> 触媒の CZ 含有量は CZ 触媒の 1/10 程度であるにも関わらず、MOR&CZ/SiO<sub>2</sub> の仕組みは MOR&CZ の方よりも高い EtOH の STY を示した。これは、CZ/SiO<sub>2</sub> 触媒のより優れた水素化能力が MA の変換を促進し、結果としてゼオライト触媒上の DME の変換をさらに促進したためである。ゼオライト触媒においては、CZ/SiO<sub>2</sub> または CZ との協力に関係なく、一段法エタノール合成における触媒の性能は NF-MOR > NS-MOR > ES-MOR の順になる。ナノフィラメント型ゼオライト触媒

の NF-MOR は優れたカルボニル化又はエタノール合成性能を示した。

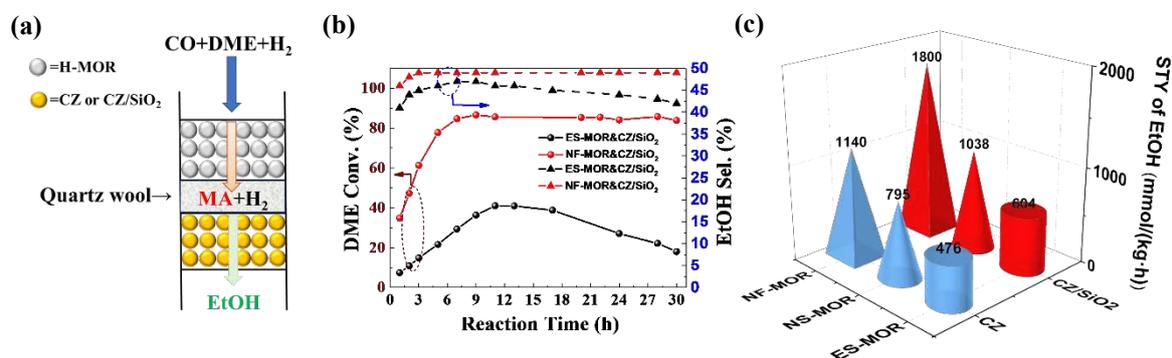


図 4 (a) ダブルレイヤー型ゼオライト-金属触媒システム。(b)NF-MOR&CZ/SiO<sub>2</sub> の組み合わせと NF-MOR&CZ/SiO<sub>2</sub> の組み合わせの一段法エタノール合成反応における触媒の安定性を比較する。(c) 異なる触媒の組み合わせによる一段法エタノール合成反応における活性。反応条件: ゼオライト触媒および金属触媒各 0.5 g、1.5 MPa、220 °C、DME/CO/H<sub>2</sub>/Ar = 4.1/32.8/60/3.1 (体積%)、流速 = 20 mL/min。

#### 4. 今後の展望

この研究の成果は持続可能な社会への貢献につながる。二酸化炭素 (CO<sub>2</sub>) の資源化により、CO<sub>2</sub> の排出量を削減し、環境への負荷を軽減することが期待される。化学品や医薬品の原料の多様化と CO<sub>2</sub> の有効活用により、持続可能な製造方法を開発し、温室効果ガスの削減や資源の循環利用を実現することが今後の展望となっている。今後には研究開発と産業との連携を強化し、新たな技術を実用化して持続可能性への貢献と低炭素社会の実現に向けた努力を継続する。

#### 5. 参考文献

- [1] "Space-Confined Self-Regulation Mechanism from a Capsule Catalyst to Realize an Ethanol Direct Synthesis Strategy", Peng Lu, Qingjun Chen, Guohui Yang\*, Li Tan, Xiaobo Feng, Jie Yao, Yoshiharu Yoneyama, Noritatsu Tsubaki, *ACS Catalysis*, 10, pp: 1366-1374, 2020, doi: 10.1021/acscatal.9b02891
- [2] "Self-Assembled Nano-Filamentous Zeolite Catalyst to Realize Efficient One-Step Ethanol Synthesis", Jie Yao, Xiaobo Feng, Jiaqi Fan, Shoya Komiyama, Yasuharu Kugue, Xiaoyu Guo, Yingluo He, Guohui Yang\*, Noritatsu Tsubaki, *Chemistry – A European Journal*, 28, pp: 1-7, 2022, doi: 10.1002/chem.202201783
- [3] "Ammonia pools in zeolites for direct fabrication of catalytic centers", Jie Yao, Yingluo He, Yan Zeng, Xiaobo Feng, Jiaqi Fan, Shoya Komiyama, Xiaojing Yong, Wei Zhang, Tiejian Zhao, Zhongshan Guo, Xiaobo Peng, Guohui Yang\*, Noritatsu Tsubaki, *Nature Communications*, 13, pp: 935-945, 2022, doi: 10.1038/s41467-022-28606-z



研究題目	市販の水中ドローンと可搬型 GPS 魚群探知機を用いた海底地質・地形調査法の開発
機関名	富山大学
研究代表者	学術研究部都市デザイン学系・教授・佐野 晋一
分野	地質学・古生物学
キーワード	水中ドローン, GPS 魚群探知機, 海底地形図, 海洋調査, 富山湾

### 1. 研究の背景と目的

水中ドローンとは遠隔操作型移動機 (Remotely Operated Vehicles, ROV) の一種で、一般にドローン本体とコントローラーが光ケーブルで繋がっており、操縦者は、船上で、ドローンに搭載されたカメラの映像を確認しながら、遠隔操作する (南, 2020)。水中ドローンを用いた調査は、人間が容易には到達することができない水深 40 m 以深での調査を可能とする、また、投下式海中カメラとは異なり、ドローンを操作することで、海中を自由に移動することができる、さらに、リアルタイムで海中映像を観察しながら、深度・温度・方位等のデータを記録できる、といった特徴を持つ。近年、水中ドローンの比較的安価な機種が市販され始め、地球科学、あるいは生物学等の分野における、学術研究への活用が大いに期待される状況にある。

佐野ほか (2022) は、富山湾において水中ドローンを用いた調査を試み、水中ドローン調査が、底生生物自身とそれらが形成する生痕の形成過程、さらには海底地形や露頭観察にも有用であることを指摘した。しかし、実際に、市販の水中ドローンを用いた調査を実施するにあたっては、陸上における調査とは異なり、1) 海底におけるドローンの位置を把握する手段がない (水中では GPS が利用できず、かつ、ドローン本体は、海中での能動的な移動以外に、潮流で流される)、2) 海底調査に利用できる、大縮尺の海底地形図が存在しない (市販の海底地形図には粗い地形情報のみしか描かれていないことが多い。例えば、等深線が直線的に描かれ、微地形が反映されていないことがある。) といった大きな課題があることが認識された。これらの課題に対して、産業レベルでは、高性能な深度計測を行うマルチビーム測深機を用いた海底地形図の作成、あるいはドローン本体から発信した音響信号を船付近に設置した受信機で受けることでドローンの位置の把握を行う、USBL (Ultra Short Base Line) 水中測位システムの活用などで解決できるが (例えば、古殿ほか, 2019)、現状では、市販の水中ドローンでは、これらの設備 (オプション) は用意されないか、もしくは、ドローン本体に対して著しく高額であるため、誰もが手軽に利用できるとはいえない。

佐野ほか (2022) で報告した調査の際に、「魚群探知機 (以下、魚探) にドローンが映る」という情報を得て、「水中ドローンの位置の特定」に魚探を活用できる可能性に気づいた。また、湖において、GPS 魚探を用いて大縮尺の湖底地形図を作成した研究例 (例えば、山崎ほか, 2013: Yamasaki et al., 2017) があり、海域においても同様に、「大縮尺の海底地形図を作成」できる

可能性がある。このように、GPS 魚探を用いることで、海底調査に必要となる、調査地点の把握、すなわち、海底地形図上への水中ドローンの位置のプロットが実現可能になるものと考えられる。

本研究では、水中ドローンによる海底調査に、市販の GPS 魚群探知機を活用することにより、「課題 A) 大縮尺の海底地形図の作成」と「課題 B) 水中ドローンの位置の特定」を解決することで、誰もが、比較的 low コストで海底調査を実施できる道を拓き、今後の海底地質・地形や生物の生態研究の発展の一助としたい。

## 2. 研究方法

### 2-1. 実験・調査場所

富山湾の、庄川河口から新湊沖にかけての 2 地点で現地実験・調査を行った (図 1)。ドローンの位置特定の容易さを考え、漁礁が存在する水深 10-20 m の地点 1 と、本研究で使用した水中ドローン機材の限界深度である、水深 100 m に到達可能な地点 2 を実験・調査場所に設定した。

### 2-2. 使用機材

水中ドローンは CHASING 社 M2 を使用した (図 2 A)。このドローンは奥行 38 cm × 幅 26.7 cm × 高さ 16.5 cm、重量 4.5 kg と、コンパクトで持ち運びが容易である。また、本機は最大深度 100 m まで稼働可能で、8 基のスラスターにより、水中方向への自由な移動、さらには鉛直方向と水平方向に 360° の回転が可能で、海底表面を真上から観察することもできる。付属カメラの映像は 4K 解像度で、映像のほか、日時・深度・温度・方位・ドローンの機体の傾きのデータが SD カードに記録される。オプションのレーザースケイラーを搭載し、対象物のサイズの計測に利用した。これは、間隔が 10 cm の 2 本のレーザを照射することで、観察・映像記録時のスケールとして利用するものである。さらに、GoPro (HERO9 Black) を搭載し、ドローン付属カメラによる近距離での観察以外に、より広範囲での映像の記録を行った。

本研究では、魚探で取得したデータをパソコンに移行して処理をする必要があることと、レジャーボートなどでの利用する場合を想定し、可搬型の GPS 魚探を採用した。魚探は、複数機種を検討の結果、最終的には Lowrance 社 Hook Reveal-5 を浅場振動子 (83/200/455/800 kHz) との組み合わせで使用した (図 2 B)。GPS 機能を用いて、船の位置を記録可能である。この機種は約 1 秒間隔の測深を行うため、船速が一定であれば、ほとんど等間隔で、海底地形図を作成するのに必要なデータを取得することができる。さらに、この魚探にはチャープソナー機能が搭載されており、海底地形図作成のための測深には Med. Chirp (水深 40 m 未満) と 高周波チャープ (水深 40 m 以深) を使用した。

### 2-3. GPS 魚群探知機の学術調査への活用

魚探は、船底から海底に向かって、一定の時間間隔で 1 本の超音波 (音響ビーム) を発信し、

魚や海底での反射を逐次記録し、超音波を発信してからの時間差を用いて対象物との距離を算出し、魚影や地形縦断面を画面に映し出す装置である（山崎ほか，2013）。超音波は船底を頂点とした円錐状の範囲に届くため、船から海底に向けて開いた円錐形を、ある深度で切った円内の範囲の反射が1点に映し出される。近年、漁業やレジャーに利用される魚探の測深機能が飛躍的に向上したことにより、浅海域から水深数百 m に及ぶ漸深海底まで、比較的簡単に地形調査を行えるようになりつつある。魚探には、GPS 機能を搭載するものがあり、水底地形図作成に必要となる、緯度・経度・深度データを得ることができる。ただし、シングルビームの探査であるため、GIS ソフトあるいは三次元グラフ作成ソフト等を用いて、測深点の間を空間補間することにより、水底地形の形状を把握する必要がある。

魚探の画面に水中ドローンが捉えられれば、魚探の超音波の探査範囲内に水中ドローンが存在することになる。魚探の音響ビームは、使用する機器によって、周波数ごとに異なる指向角を持つ。水中ドローンがある深度の海底にいた場合、この深度での探査範囲は、 $\text{深度} \times \tan(\text{指向角}/2)$  で求められた値を半径にした範囲円となる。例えば、水深 20 m で 50 kHz の超音波を用いた（指向角 50°）の場合、探査範囲円の半径は  $20 \text{ m} \times \tan(25^\circ) = 9.3 \text{ m}$  である。船の位置は GPS 魚探の GPS 機能で把握できるため、魚探でドローンを捉えることにより、ドローンが存在する位置範囲をある程度限定することが可能となる。魚探で使用する周波数が高いほど、また深度が小さいほど、ドローンの位置を高精度で把握することができる。

### 3. 実験・調査結果

#### 3-1. 魚群探知機のデータによる海底地形図作成

海底地形図作成は、1) 事前準備、2) 現地調査、3) データ処理、4) データの可視化の4過程からなる（Yamasaki et al., 2017）。以下に、本研究で実施した事例に基づいて詳しく説明する。

##### 3-1-1. 事前準備

無料公開され、一般に入手できる海図である「みんなの海図」（マリーンネットワークス（株））を最大に拡大した画面をキャプチャし、ジオリファレンスにより、オープンソフトウェアである QGIS（3.22.11）に表示し、その等深線に沿う方向に進む、並行航路を設定した（図 3A）。航路の間隔は、使用する周波数の指向角と深度によって変更する必要があるため、水深 40 m 未満では Med. Chirp を使用したため、15-20 m に、水深 40 m 以深、100 m 以浅の海域では高周波チャープを使用したため、海底地形図上の等深線から読み取った深度の約 3 分の 1 に設定した。

##### 3-1-2. 現地調査

魚探のデータは、事前準備であらかじめ設定した並行航路に従って、船速 5 km/h を基準に走査を行い、取得した（図 3B）。魚探で得られたデータ（魚探ソナー映像、緯度、経度、深度データなど）は、約 1 秒ごとに、距離にすると約 1.2 m 間隔で、魚探に搭載した SD カード内に記録された。

### 3-1-3. データ処理

現地調査で SD カードに記録したデータを、まず ReefMaster Software 社製ソナーデータ処理ソフト ReefMaster v. 2.0 で読み込み、振動子を沈めた深度や潮位等による水深の補正を行う (図 3C)。次に、本ソフト上で録画した魚探画面を参照することにより、測深データに含まれるノイズや船舶の揺動に起因する異常値、すなわち、周辺の地形の状況とは大きく外れた測深値を修正・補正する (山崎ほか, 2013)。さらに、魚探で記録したデータ (実際には ReefMaster で補正したデータ) から、緯度・経度・補正後の深度・時刻を抽出して、CSV ファイルに変換し、QGIS (3.22.11) に移行する。

### 3-1-4. データの可視化

魚探で取得できるのは、断続的な、船直下の水深データのみであり、このままでは地形図としては利用できない。そこで、GIS ソフト上で空間補間を行い、海底地形図を作成する。空間補間は、オープンソフトウェアである QGIS (3.22.11) および SAGA GIS (7.8.2) を用いて行う。ReefMaster で作成した CSV ファイルを読み込んだ後、shp ファイルに変換し、空間補間を行う。SAGA GIS では複数の空間補間法を選択することが可能だが、今回はクリギング法 (Ordinary Kriging, Point 推定, Attribute : Depth (m), Predefined Functions : linear(no nugget)) を採用した。補間により作成されたラスタデータをファイル形式 GeoTIFF (.tif) で保存し、これを QGIS にドラッグアンドドロップした後、等深線を抽出することで海底地形図を作成する。この手法により作成された海底地形図は、一般に入手できる海底地形図 (例えば「みんなの海図」とは異なり、2500 分の 1 や 1250 分の 1 程度の大縮尺にしても、魚探で確認された微地形が描画されており、海底調査に利用可能な海底地形図を作成できたと考えられる。

## 3-2. 魚群探知機の映像上での水中ドローンの確認

ドローンを海中に投入し、水深約 5 m まで降下させたところ、魚探の画面にドローンが捕捉できた (図 4A)。魚探の画面ではドローンと魚の像の区別がつきにくいこともあるが、意図的に浮上や潜航をさせたドローンを画面上で認識することによって識別可能である (図 4B, C)。

## 3-3. ドローンの観察位置の特定方法

本実験・調査では、次のような方法で、水中ドローンの観察位置を特定することができた。まず、魚探でドローンの着底を確認した際に、船の位置 (GPS データ) を把握し、作成した海底地形図上にプロットする (図 5A, B)。着底確認時の船の位置と、魚探使用周波数の探査範囲からドローンが存在する範囲が予想できる。この範囲内でドローンの深度 (ドローンと魚探の両方で認識可能) と海底地形図の深度が一致する場所を探し、ドローンの映像と海底地形図で示された地形の比較もあわせて行うことで、ドローンの位置の特定が可能となる。ドローンが着底場所

から移動する際には、ドローンを移動させた方位・深度・地形を操作画面で確認し、海底地形図と比較することで、ドローンの移動経路の把握が可能となる。このほか、ケーブルの伸長距離も、ドローンの観察位置の範囲を限定する上で役立つことがある。本研究では、魚探の画面上で、水深 75 m の海底におけるドローンの着底を確認し、約 20 m 移動した後に、水深 81.7 m でエビスダイの巣穴の密集部を特定することができた (図 5C, D)。

#### 4. 今後の展望

本研究において、可搬型 GPS 魚探を併用することで、市販の水中ドローンによる海底地質・地形調査の実施に向けて、「課題 A) 大縮尺の海底地形図の作成」と「課題 B) 水中ドローンの位置の特定」を解決する方法を開発することができた。具体的には、魚探による水深値の変化に基づいて認識された微地形を描画した、海底調査に十分使用可能な、大縮尺の海底地形図を作成する手法を確立することができた。さらに、魚探でドローンの着底位置を把握することで、ドローンの観察位置を絞り込み、海底地形図上にプロットすることが可能となった。このことは、誰もが、手軽に、水中ドローンを用いた調査を実施できる環境整備に向けて、重要な一歩を進めることができたと考える。今回の調査は水深 100 m までの海底を対象としており、使用した機器の整備には 50 万円弱の費用がかかっているが、今後、水中ドローンの開発や普及が進めば、より深い海底を、より低価格で調査が実施できるようになり、必要経費はさらに下がるものと予想される。

現時点では、まだ富山湾のごく一部でしか水中ドローンによる調査を実施できていないにもかかわらず、潜航調査の度に、ヤドカリの密集部やエビスダイの巣穴、堆積構造 (例えば、リップルマーク) とそれを切って形成された生痕など、興味深い事象を発見・観察することができている。本研究をきっかけに、多くの方々が水中ドローンを用いた海底調査を実施し、新たな発見やモデルの検証を行うことで、海への挑戦・知的探究の機運が高まることを期待する。

本研究には、2022 年度の富山第一銀行奨学財団「研究活動に対する助成」(代表者:佐野晋一)を使用した。本報告書の内容は、富山大学都市デザイン学部地球システム科学科の清水啓人 (令和 5 年 3 月卒業) の卒業研究によるところが大きい。富山大学学術研究部都市デザイン学系の立石 良准教授のほか、海野 奏氏をはじめとする、地史・古生物学研究室の方々には野外調査実施や GIS ソフト使用にあたり、多大な御協力をいただいた。ユウアクアライブには魚群探知機に水中ドローンが映るという、本研究のきっかけとなる重要な情報をいただいた。以上の方々に心より感謝申し上げます。

#### 5. 参考文献

古殿太郎・高倉創太郎・西林健一郎・大野敦生・峯岸宣遠 (2019) : 音用機器を用いた水中可視化技術の水産分野への応用. 水産工学, Vol. 55, No. 3, pp. 223-229.  
佐野晋一・海野奏・立石 良・牧村祐樹・望月ちほ・伊藤綾花・丸山湧己・橋本勇一・布施悠

汰 (2022) : 水中ドローンによる水深 200 m での現生生痕その場観察の試み. 化石, No. 111, pp. 1-2.

南 政樹 (2020) : 水中ドローンシステムの現状と課題. 計測と制御, Vol. 59, No. 7, pp. 492-496.

山崎新太郎・原口 強・伊藤陽司 (2013) : レジャー用魚群探知機を利用した水底地形調査. 応用地質, Vol. 54, No. 5, pp. 204-208.

Yamasaki, Shintaro, Tomonori Tabusa, Shunsuke Iwasaki and Masahiro Hiramatsu (2017) : Acoustic water bottom investigation with a remotely operated watercraft survey system. Progress in Earth and Planetary Science, Vol. 4, Article number 25.

(図)

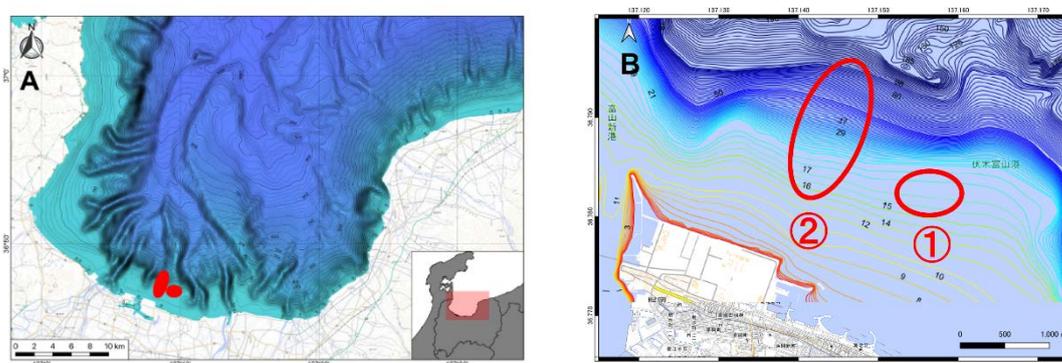


図 1. 調査範囲. (A) 富山湾の海底地形図 (海底地形デジタルデータ「M7011 Ver. 2.2 佐渡」 日本水路協会); (B) 地理院地図上に「みんなの海図」を QGIS でジオリファレンスして作成. ①, ②は調査場所.

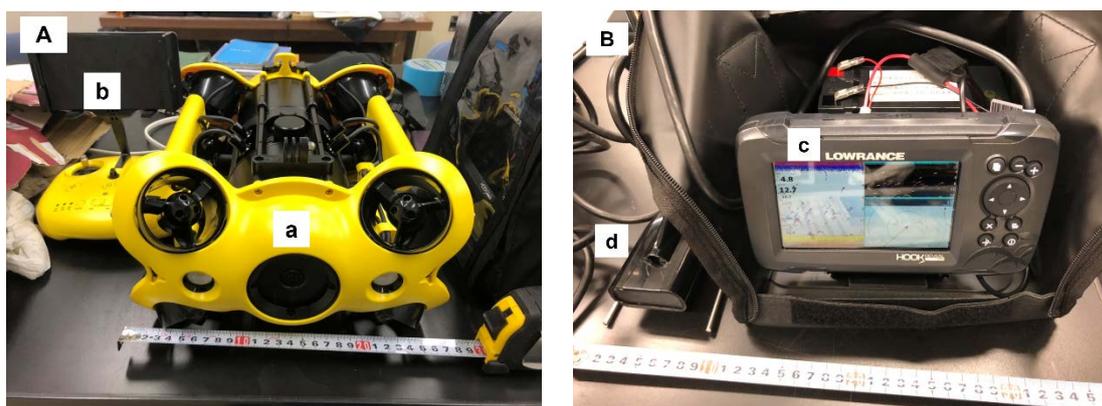


図 2. 使用した機材の外観. (A) 水中ドローン (CHASING 社 CHASING M2) (a) とコントローラー(b); (B) 魚探 Lowrance 社 Hook Reveal-5 (c) と浅場振動子 (83/200/455/800 kHz) (d)

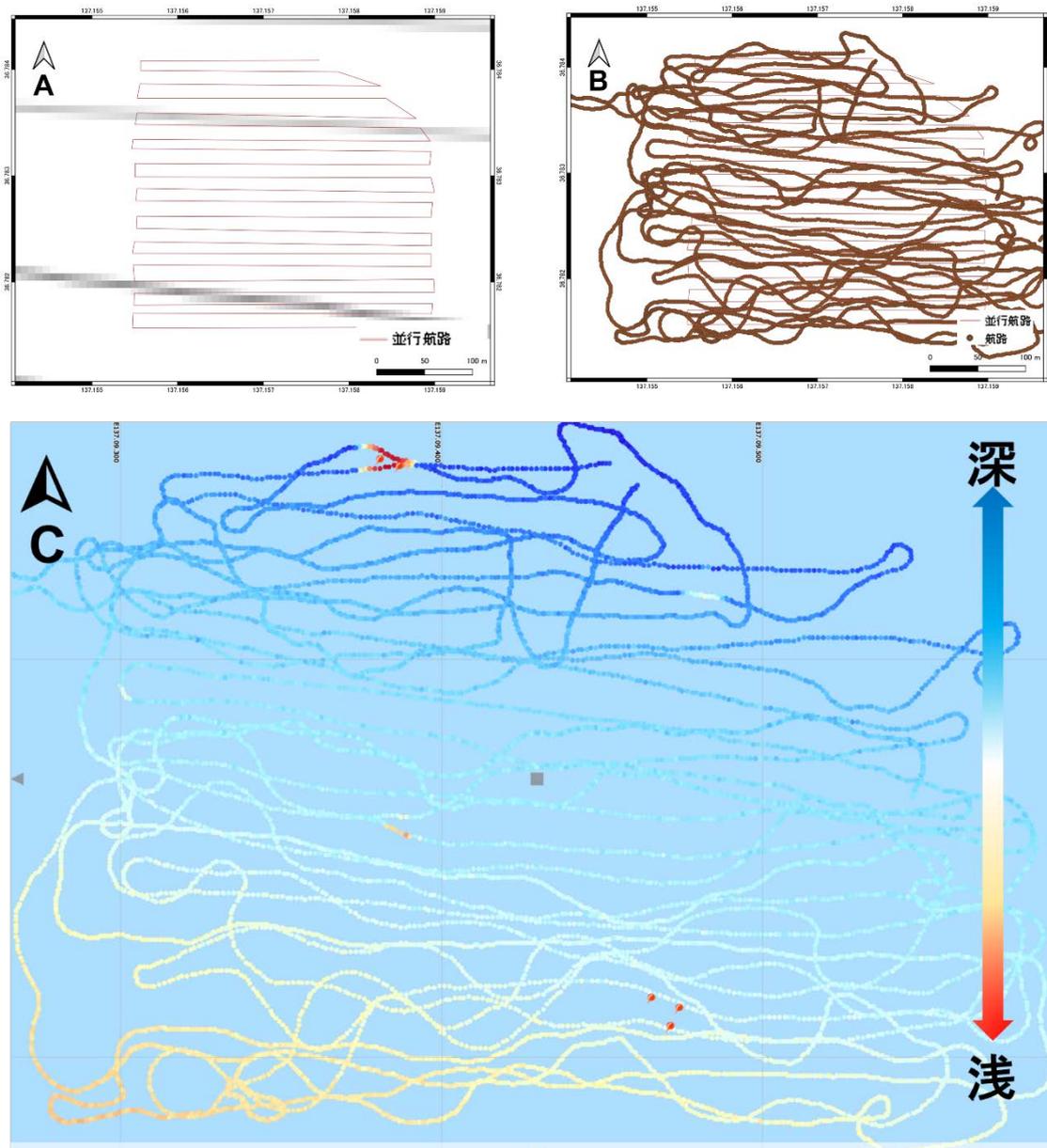


図3. 目標航路と実際の航路. (A) 水深15-20m, 航路間隔20mの目標(並行)航路. 「みんなの海図」をQGISでジオリファレンスし(灰色線の等深線), その等深線に沿った, 航路間隔20mの目標航路を作成; (B) 並行航路をなぞるように走査した実際の航路. 各点データは東西約1.2m, 南北約20m間隔で緯度・経度・深度を記録する; (C) ReefMasterの画面で表示した航路. 最深値20.81m 最浅値14.57m)

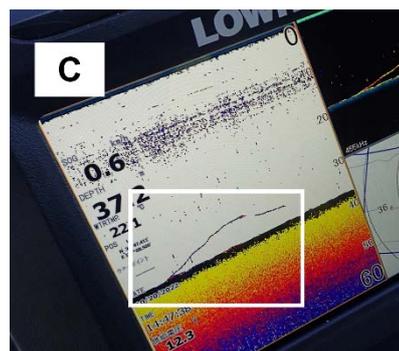
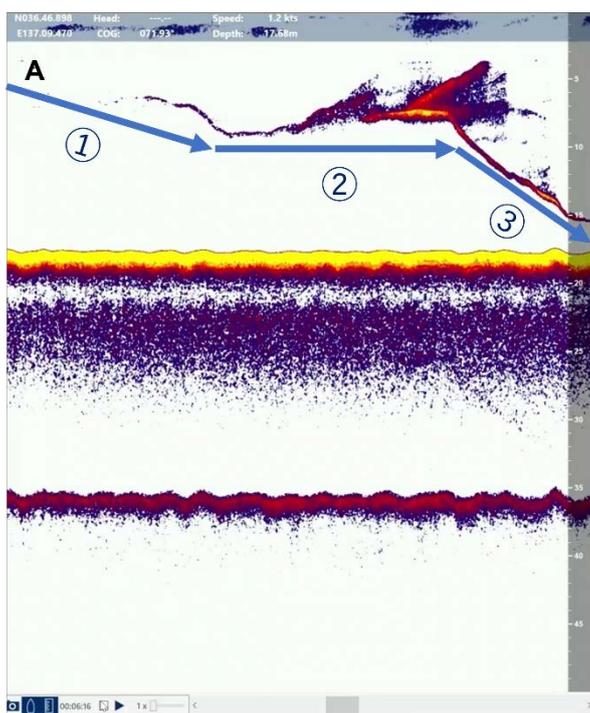


図 4. 魚探でドローンを捕捉した際の表示. (A) ReefMaster 上での魚探に映るドローン. 画面右端が最新の海中情報のため, ドローンが潜航 (①) 後, 同じ水深に留まり (②), 再度潜航した様子 (③) を捉えた; (B) 船上の魚探画面で潜航していくドローンを捕捉した; (C) 船上の魚探画面で海底から浮上後, 潜航するドローンを捉えた様子. 潜航中に魚探の探査範囲から外れた.

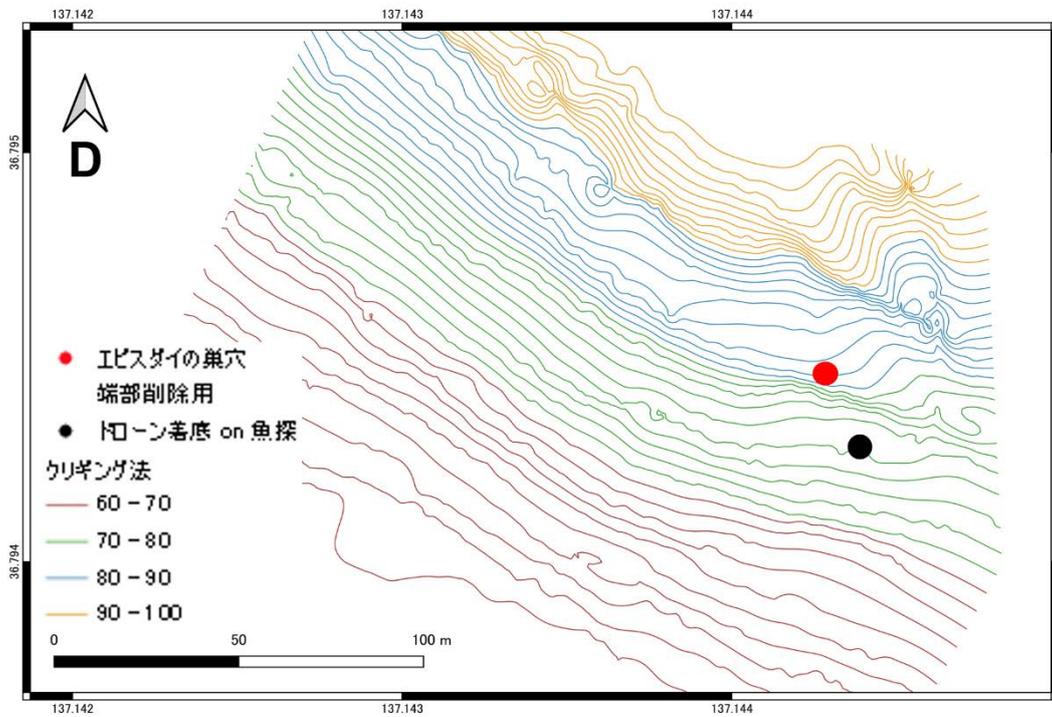
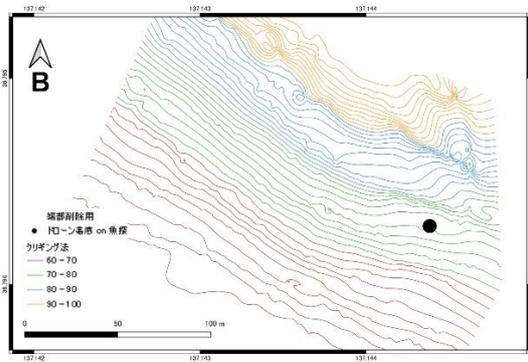
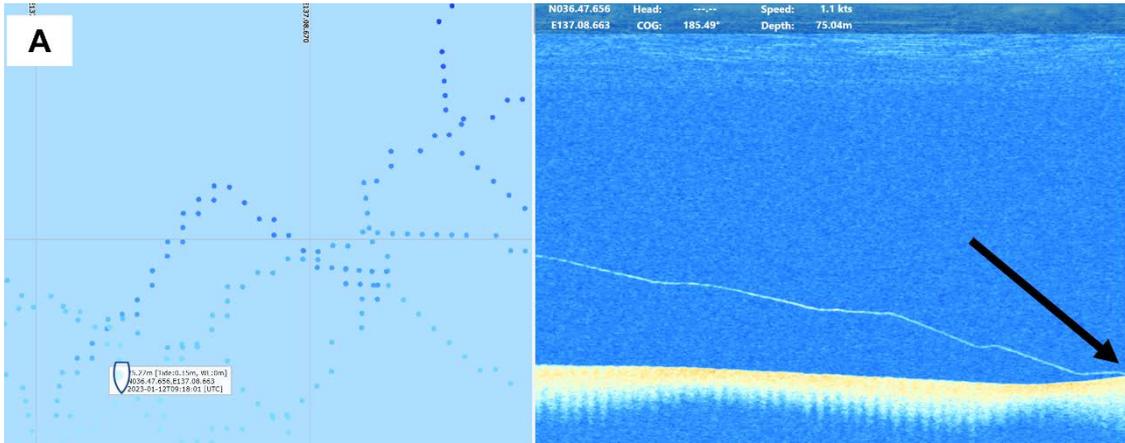


図 5. ドローンの観察位置を特定する行程. (A) 魚探上でドローンが着底した水深と位置 (黒矢印). 航路から座標を確認する; (B) 作成した海底地形図に魚探上でのドローンの着底位置 (船の座標) をプロットした図; (C) ドローンの操作画面. ①: 方位, ②: 深度, ③: 温度, ④: レーザースケイラーの照射した光; (D) ドローンの観察位置を特定し, プロットした図. ドローン着底後から観察位置まで進めた方位・深度・地形を海底地形図と比較し, 作成した海底地形図上でドローンの位置を特定した.

研究題目	ホタルイカルシフェリンを用いた尿中アルブミン定量法の確立
機関名	富山大学
研究代表者	学術研究部医学系・助教・石本 哲也
分野	医薬系
キーワード	糖尿病腎症、ホタルイカ、ルシフェリン、尿アルブミン

## 1. 研究の背景と目的

ホタルイカは富山湾を代表する海産物であり、その青白い発光によって国の特別天然記念物にも指定されている。ホタルイカや他の発光生物の体内では、タンパク質であるルシフェラーゼとその基質であるルシフェリンが反応することによって、光を生み出すことが知られている。ルシフェラーゼとルシフェリンは発光生物ごとに構造が異なっており、ホタルイカの場合、ルシフェリンはその構造が同定されているが、ルシフェラーゼはいまだに同定単離に至っていない。こうした中、申請者はホタルイカルシフェリンが、本来の反応相手であるルシフェラーゼとは異なる血中蛋白質であるアルブミンと反応して発光を呈することを偶然発見した。本課題ではこの反応を用いて、糖尿病患者の尿中アルブミンの濃度を計測する技術に応用できるか調査し、反応条件の最適化を試みた。

糖尿病腎症は高頻度に見られる糖尿病の合併症であり、初期の段階では無症状なため患者は進行に気づきにくい。糖尿病腎症の進行を検知できる指標の一つとして尿中のアルブミン濃度の上昇が挙げられる。アルブミンは血中に存在する蛋白質であるが、初期の腎症の尿中には微量のアルブミンが漏出していることが知られており、その微量アルブミン尿を計測し、適切な治療を行うことが進行を防ぐうえで重要である。つまり尿中の微量なアルブミンを計測する技術は糖尿病腎症の進行を防ぐうえで必要不可欠である。

現在、微量アルブミンを計測する方法として、抗アルブミン抗体を用いた免疫比濁法が広く用いられる。この方法は簡便で高感度である一方、別の動物個体で作られた抗アルブミン抗体は特異性や反応強度が異なる点、アルブミンの濃度が高いと値が不正確になるという点（プロゾーン現象, *Ann. Clin. Biochem.* 1999; 36: 704-721）が短所としてあげられる。ホタルイカルシフェリンを用いて、この短所を克服したアルブミン測定法が確立できれば、糖尿病腎症の早期発見に役立つかもしれない。

## 2. 研究方法

事前研究でホタルイカルシフェリンがアルブミンと反応して発光を呈することが明らかになっている。ホタルイカルシフェリン存在下では、非常に広い濃度範囲で、アルブミン濃度と発光

量が比例関係を示すことが特徴である（図 1）。この反応を尿中アルブミン濃度計測に応用するにあたって、いくつかの課題が生じた。それは①ホタルイカルシフェリンとアルブミンの最適な反応条件を探る、という点と②尿中アルブミンを計測するにあたって、尿サンプルの最適な処理方法を見つけるという点である。

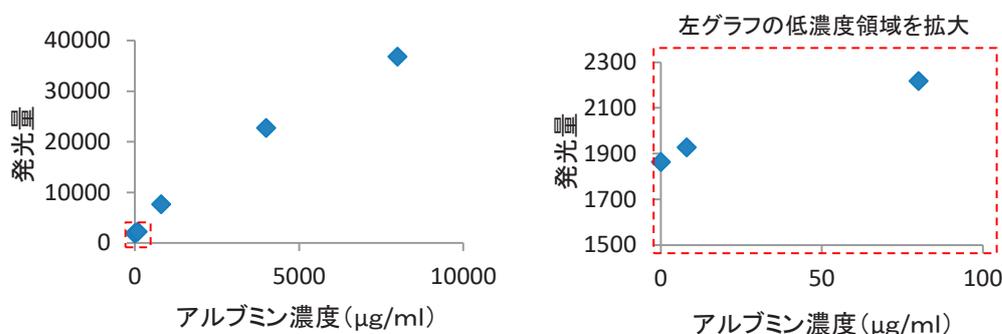


図1 アルブミン濃度と発光量の関係。右のグラフは左のグラフの点線で囲まれた低濃度領域を拡大したものである。広い範囲で両者の比例関係が成立し、相関係数は0.995と高い。

①の問題に関しては、ホタルイカルシフェリン-アルブミンの反応に酸素が必要であるか調べた。具体的には、最適な pH の探索、過酸化水素を反応液に加える場合、加えない場合で発光強度がどう変化するかを観察した。過酸化水素依存的な発光であれば、ホタルイカルシフェリン-ルシフェラーゼの反応と同様に酸素が必要であるといえる。

またアルブミンの熱変性、プロテアーゼによる消化が発光現象にどのような影響を与えるか実験を行った。もし熱変性やプロテアーゼ処理によって全く発光しなくなれば酵素反応である可能性が高い。同時にこれらの実験は、患者尿中のアルブミン定量を行う際の反応液の組成を最適化するためにも重要なデータとなる。

②に関して、尿サンプルを直接ルシフェリンと混合すると、ホタルイカルシフェリン-アルブミン発光が尿中夾雑物によって阻害されるということが、実験を進めるうちに判明してきたので、ホタルイカルシフェリン-アルブミン反応の前に尿中蛋白質を精製することを試みた。本研究では、硫酸アンモニウム、ポリエチレングリコール、アセトンなどを用いた精製法を試し、従来法を用いた尿アルブミン計測の結果と最も相関が高い精製法を選定した。

研究を遂行するにあたり、工学部豊岡尚樹教授、岡田卓哉助教にホタルイカルシフェリンの化学合成を依頼した。また糖尿病患者の尿に関しては、医学部第一内科の戸邊一之教授、藤坂志帆准教授、八木邦公准教授（当時）に分与していただいた。この研究は富山大学臨床研究倫理審査委員会の承認を受けて遂行した。

### 3. 研究成果

まず、アルブミンとホタルイカルシフェリンの最適な反応 pH を探索した。各 pH での発光の

量をプレートリーダーにて計測した結果、pH10が最も高い発光強度を示した。全体としてpHが高くなれば発光が高くなる傾向が見られた(図2A)。つぎに、ホタルイカルシフェリン-アルブミンの反応に酸素が必要か調べた。ルシフェリンのみでアルブミンの入っていない水溶液は、過酸化水素水を入れても入れなくても発光をほとんど呈さないが(図2B)、ルシフェリンとアルブミンの水溶液においては、過酸化水素を加えることで有意に発光量が上昇した(図2B)。一般にルシフェリンの発光は酸化反応と考えられているので、過酸化水素による発光量上昇は、妥当な結果といえる。しかし過酸化水素がない状態でも発光を呈することも観測されたので、酸素がない状態、あるいは非常に少ない状態でもルシフェリンとアルブミンが存在すればある程度の

図2

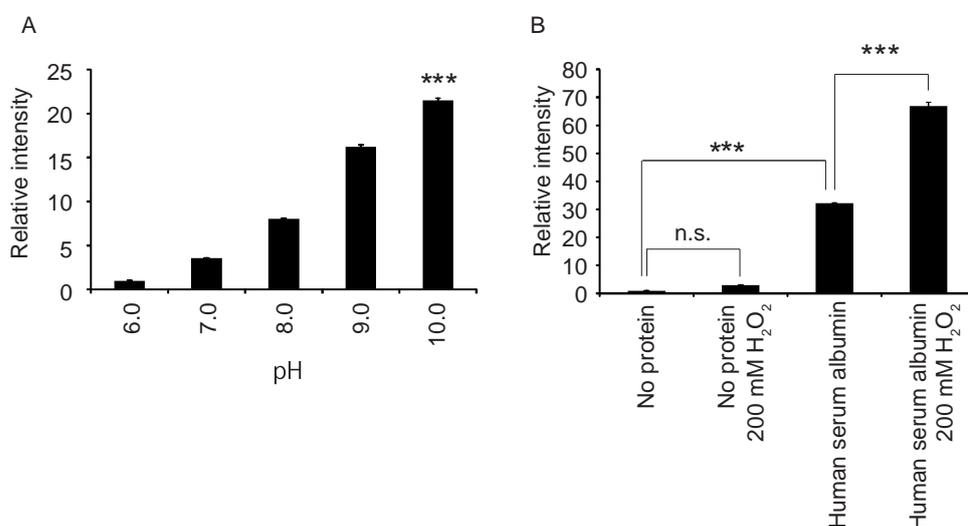


図2 (A)横軸はpHを示し、縦軸は相対的な発光量を示す。(B)横軸は反応液中のアルブミンの有無、過酸化水素の有無を示し、縦軸は発光量を示す。

光が発せられるのかもしれない。今回の実験では、ルシフェリン-アルブミン発光の断片的な情報しか得られていないので、継続的な解析が必要であろう。

次に、ホタルイカルシフェリン-アルブミン反応液を熱処理した場合、もしくはタンパク質分解酵素で処理した場合、発光量はどう変化するか解析した。ホタルイカルシフェリン-アルブミン反応液を熱処理した場合、熱処理した時間に応じて発光量が低下し、30分後には発光なくなった(図3A)。また同じ反応液を抗原抗体反応を用いたアルブミン検出法である免疫比濁法(Immunoturbidimetry)で計測した場合には、熱処理によるシグナル低下は見られなかった(図3B)。このことはアルブミンが変性するとホタルイカルシフェリン-アルブミン反応は起きなくなるということを示す。

さらにホタルイカルシフェリン-アルブミン反応液を、低濃度のタンパク質分解酵素であるトリプシン処理することで緩やかに蛋白質を切断すると、ルシフェリン-アルブミン反応

の発光量、免疫比濁法のシグナルともに低下した（図 3CD）。この結果は予想通りであり、切断されたアルブミンは発光能がなくなることを示す。まとめるとホタルイカルシフェリン-アルブミン発光は非変性のアルブミンをより特異的に認識する反応であるといえる。

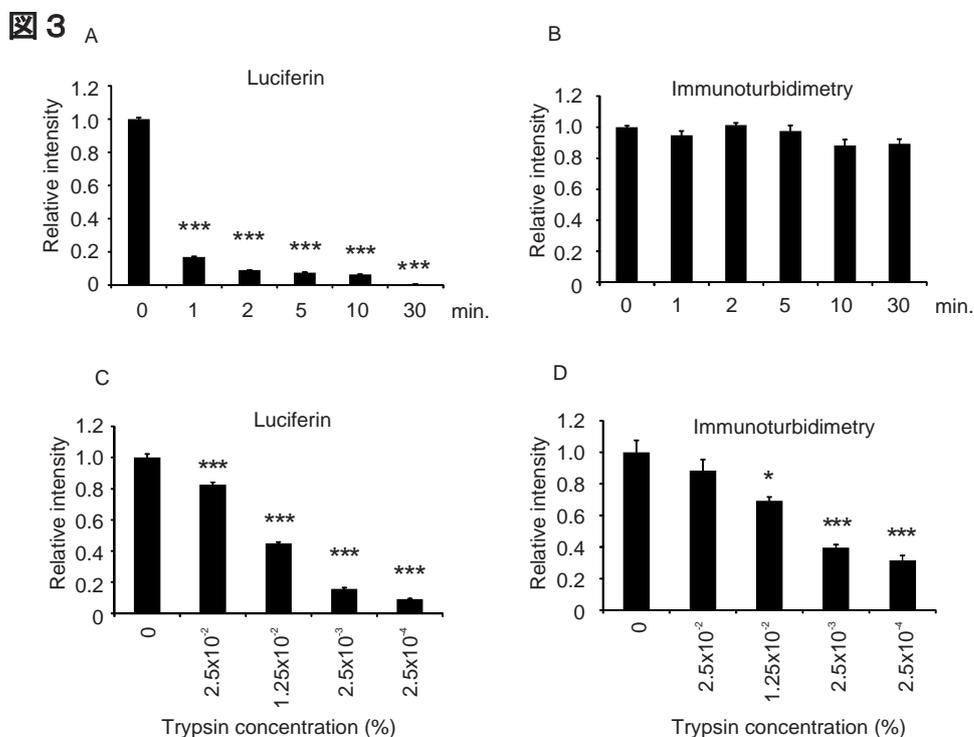


図3 (A) ホタルイカルシフェリン-アルブミン発光と (B) 免疫比濁法によるアルブミン計測において、横軸で示した時間だけ加熱するとシグナルが相対的にどれだけ減少するかを示す。(C) ホタルイカルシフェリン-アルブミン発光と (D) 免疫比濁法によるアルブミン計測において横軸で示す濃度の蛋白質分解酵素（トリプシン）を加えた場合に、シグナルがどれだけ減るかを示す。

次に、糖尿病患者の尿中のアルブミン濃度計測を試みた。ホタルイカルシフェリンと患者尿を混合し、発光を計測すると弱い発光が認められた。あらかじめアルブミン濃度の分かったスタンダードを用いて検量線を作製し、各尿サンプルのアルブミン濃度を決定した。次に、同じ尿サンプルを従来法である免疫比濁法で計測した結果と比較した。図 4 A 中の横軸は免疫比濁法によって計算された尿アルブミン濃度であり、縦軸が患者尿とルシフェリンを直接混ぜた場合の発光強度から計算されたアルブミン濃度である。各ドットが各患者尿を表す。この散布図において、両者が同じ値を示すとドットが直線状になり、相関係数  $R$  が 1 に近づく。図 4 A の相関係数は 0.4552 となり、高い相関は示さなかった。また、尿と直接ルシフェリンを混合した場合は全体的に値が低くなった。

患者尿を直接アルブミンに混合する方法では、従来法と同じ程度のアルブミン定量ができない理由として、尿中の夾雑物質がルシフェリン-アルブミン反応を阻害することが考えられた。このことから、患者尿を硫酸アンモニウム（図 4 B）、ポリエチレングリコール（図 4 C）、アセトン（図 4 D）と反応させることで、アルブミンなどの蛋白質を沈殿させ、夾雑物を除去しルシ

フェリンと反応させた。それぞれの反応での発光量を用いて免疫比濁法での結果との相関を計算すると、図4Dのアセトンで尿蛋白を沈殿させた場合が、相関係数0.888となり最も優秀であった。

図4

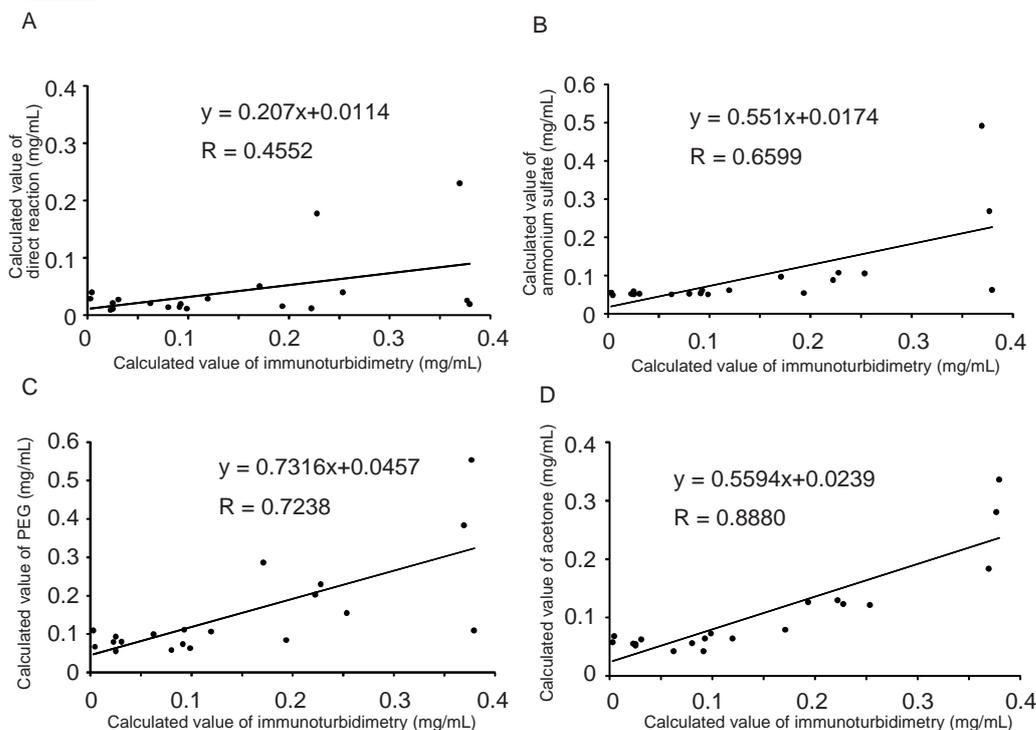


図4 尿中アルブミン(20検体)を免疫比濁法で計測した値(ABCDの横軸)と、尿中アルブミンを(A)直接(B)硫酸アンモニウムで沈殿後(C)ポリエチレングリコール沈殿後(D)アセトン沈殿後にホタルイカルシフェリンと反応させることで定量した値(各縦軸)の相関を表す。

これらの結果から、患者尿中のアルブミン濃度を計測する方法として、ホタルイカルシフェリン-アルブミン発光が有効であると結論できる。今回確立したホタルイカルシフェリン-アルブミン発光による尿中アルブミン濃度計測法は、ルシフェリンという安定した化合物を使ったものであるため、誰が行っても安定した値を出せると期待できる。また、抗体を用いた定量法でしばしばみられる、抗原が高濃度の場合に定量値が逆に低下してくるプロゾーン現象も、原理的に起きないと考えられる。ホタルイカを医療計測に用いるという報告は世界初であり、富山ならではの研究成果と言える。

#### 4. 今後の展望

現状尿中アルブミンの濃度を計測する方法として、免疫比濁法が一般的である。免疫比濁法は尿と抗アルブミン抗体を混ぜることによる凝集反応を分光光度計を用いて計測する方法である。

尿中のアルブミン濃度が高ければ凝集は多くなり、吸光度は上昇する。この方法の長所は感度が高く簡便であることであり、短所は高濃度のアルブミンでは不正確になる可能性がある点である。

我々が開発したホタルイカルシフェリン-アルブミン発光による尿中アルブミン計測法はルシフェリンという安定した化合物を使用する反応なので、作製した個体によって抗体の特異性がことなる免疫比濁法に比べ、いつでも安定した値が出ると期待できる。また、ホタルイカルシフェリンの構造を改変することで、さらに感度よくアルブミンを計測できる可能性もある。これには化学合成ができる共同研究者が必要となる。短所としては、本法で用いられる発光計測装置が、免疫比濁法で用いられる分光光度計に比べて普及していない点、免疫比濁法に比べて手順が多い点があげられる。今後尿中蛋白質の沈殿操作を簡便に短時間でを行う方法を探索すべきであろう。

ホタルイカルシフェリンがなぜアルブミンと反応するのは全く分かっていない。この反応が生理的な意味があるのか明らかにするために、ホタルイカのアルブミンがホタルイカルシフェリンと反応するか興味を持たれる。もしホタルイカアルブミンがホタルイカルシフェリンと反応し発光するなら、それは何か生物学的な意義がある可能性もある。

## **5. 参考文献**

1. A New Method for Albuminuria Measurement Using a Specific Reaction between Albumin and the Luciferin of the Firefly Squid *Watasenia scintillans*.

Ishimoto T, Okada T, Fujisaka S, Yagi K, Tobe K, Toyooka N, Mori H.

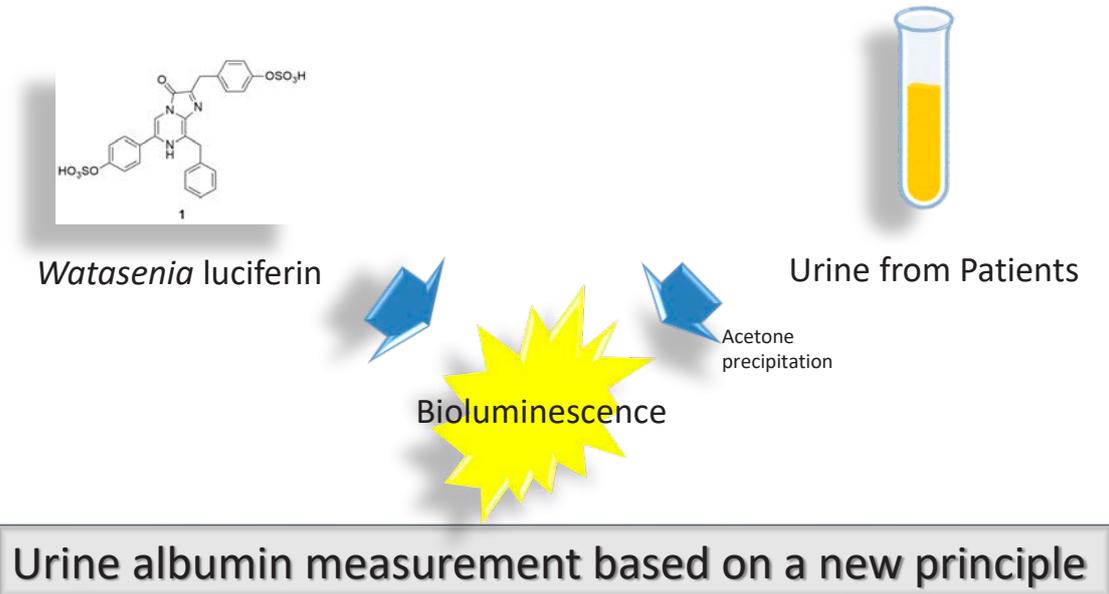
Int J Mol Sci. 2022 Jul 28;23(15):8342.

2. Control of actin polymerization via reactive oxygen species generation using light or radiation.

Ishimoto T, Mori H.

Front Cell Dev Biol. 2022 Sep 23;10:1014008.

# Graphic abstract



研究成果の模式図



研究題目	幼少期ストレス経験による不安・うつ の発症メカニズム
機関名	富山大学
研究代表者	学術研究部医学系・助教・中村 友也
分野	神経科学
キーワード	幼少期ストレス, 不安, うつ, パルブアルブミン

## 1. 研究の背景と目的

外側手綱核 (lateral habenula: LHb) は、間脳背側に位置し、ストレスや嫌悪刺激などの情報を基底核や辺縁系から受け、腹側被蓋野 (Ventral tegmental area: VTA) や背側縫線核 (Dorsal raphe nucleus: DRN) などの中脳のモノアミン系神経回路を調節することにより、報酬と嫌悪の情報処理、認知機能と情動を制御していることが知られている。ヒトのうつ患者では、LHb の過活動が報告されている (Morris et al., 1999, Neuroimaging)。さらにげっ歯類の不安・うつ動物モデルにおいても LHb の過活動がみられ、GABA 作動薬を局所投与して LHb を抑制すると同症状が改善する (Winter et al., 2011, Behav Brain Res)。これらの所見は LHb の過活動が「不安とうつ」の発症に関与することを示唆する。

申請者らの研究で、生後 10-20 日の幼少期にストレスを受けたマウスは、成長後の LHb において、Parvalbumin (PV) 陽性神経細胞が少なく、ストレス神経細胞反応性が高く、不安・うつ様行動を呈することが明らかになった (Nakamura et al., 2021, Journal of Psychiatry and Neuroscience)。PV 陽性神経細胞が行動の変化に関与していることが示唆されるが、神経回路における役割はわかっておらず、発症メカニズムは不明である。本研究では、in-situ hybridization chain reaction (in-situ HCR) と免疫染色により、LHb の PV 陽性細胞における、興奮性のグルタミン酸作動性神経細胞マーカーの *vglut1*, *vglut2*, *vglut3* と抑制性の GABA 作動性神経マーカーの *gad1*, *gad2*, *vgat* の発現を明らかにし、神経回路における役割を明らかにする。

## 2. 研究方法

野生型雌雄 C57BL/6J マウス (B6/J) は、株式会社日本エスエルシー (日本、浜松市) から購入した。全てのマウスは温度調節された部屋 (23±1℃) で、12:12 時間の明暗サイクル (05:00 に点灯、17:00 に消灯) で飼育された。実験は、60~70 日齢のマウスで行った。すべての実験プロトコルは、富山大学動物実験倫理委員会 (ライセンス番号: A2019MED-34 および A2022MED-2) の承認を受け、実験動物の飼育と使用に関するガイドラインおよび米国国立衛生研究所の実験動物の飼育と使用のためのガイドに従って行った。

マウス LHb における PV 陽性神経細胞について、高い感度と特異性で mRNA を検出できる in-

situ HCR 法 (Choi et al., 2018) (probe sets; *gad1*, *gad2*, *vgat*, *vglut1*, *vglut2*, *vglut3*; Molecular Instruments, Inc., California, USA) と免疫染色 (anti-Parvalbumin antibody #P3088, 1:10000 dilution; Sigma-Aldrich, St Louis, ML, USA) を組み合わせ、神経伝達物質作動性を同定した。

### 3. 研究成果

#### A. LHb の PV 陽性神経細胞における GABA 作動性神経マーカーの低い発現率

LHb の PV 陽性神経細胞は外側手綱核の内側部と外側部の両方に分布しており (Fig. 1A1), *gad2* は低い発現率だった ( $2.93 \pm 0.57\%$ , Fig. 1A1-4). *gad1* ( $1.42 \pm 0.33\%$ , Fig. 1A5)と *vgat* ( $1.14 \pm 0.22\%$ , Fig. 1A6) は、更に低い発現率だった。

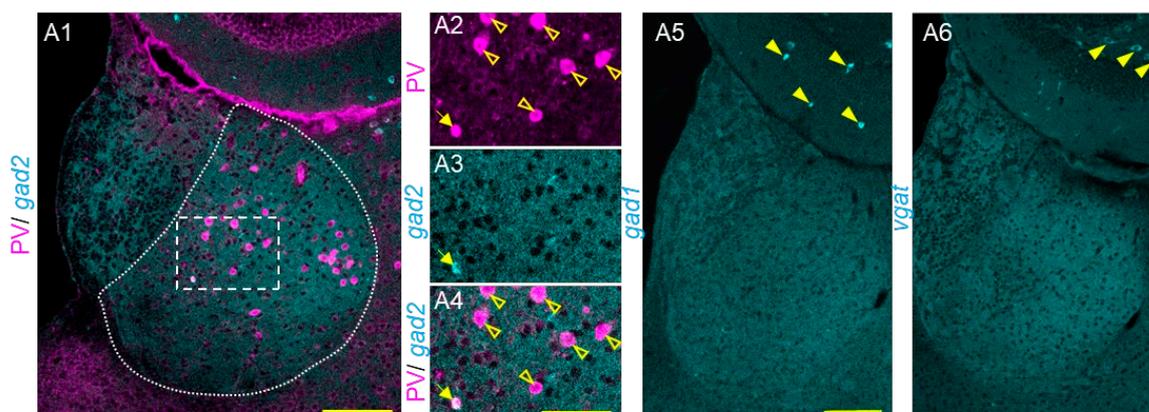


Figure 1. LHb の PV 陽性神経細胞における GABA 作動性神経マーカーの発現. LHb の PV の免疫染色 (マゼンタ) と *gad2* の mRNA in-situ HCR (シアン) の低倍率画像 (A1), PV 高倍率画像 (A2), *gad2* 高倍率画像 (A3), 重ね合わせ (A4). *gad1* (A5) と *vgat* (A6) の mRNA in-situ HCR の低倍率画像.

PV 陽性神経細胞の *gad2* 発現率は、脳領域間で有意に異なっていた ( $F_{3,16} = 94.78, p < 0.0001$ , one-way ANOVA). LHb における発現率 ( $2.93 \pm 0.57\%$ ) は海馬における発現率 ( $52.36 \pm 4.60\%$ ,  $p < 0.0001$ ) より有意に低かった (Tukey-HSD 検定). しかし、帯状皮質 ( $5.24 \pm 1.19\%$ ,  $p = 0.9064$ ) および扁桃核 ( $7.55 \pm 0.84\%$ ,  $p = 0.5502$ ) (Tukey-HSD test) における発現率と有意差はなかった (Figure 2A). さらに、PV 陽性神経細胞の *gad1* の発現率は、脳領域間で有意に異なっていた ( $F_{3,16} = 3229.71, p < 0.0001$ , one-way ANOVA). LHb における発現率 ( $1.42 \pm 0.33\%$ ) は、他の領域 (帯状皮質 ( $27.43 \pm 1.35\%$ ,  $p < 0.0001$ ), 海馬 ( $99.24 \pm 0.47\%$ ,  $p < 0.0001$ ), 扁桃核 ( $93.76 \pm 0.88\%$ ,  $p < 0.0001$ ) における発現率に比べて著しく低いことがわかった (data not shown) (Tukey-HSD test). LHb では、PV 陽性神経細胞の GABA 作動性神経マーカーの発現率が、他の領域と比較して低かった。

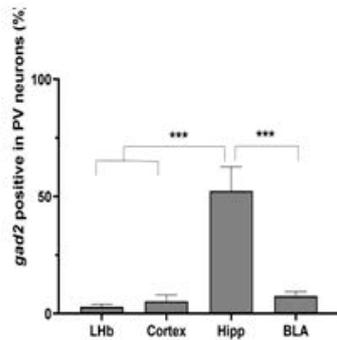


Figure 2. LHb の PV 陽性神経細胞における *gad2* の発現. 各脳領域における PV 陽性神経細胞の *gad2* の発現率. LHb, 外側手綱核. Cortex, 帯状皮質. Hipp, 海馬. BLA, 基底外側扁桃核.

### B. LHb の PV 陽性神経細胞におけるグルタミン酸作動性神経マーカーの高い発現率

LHb において, グルタミン酸作動性マーカーの発現を調べた (Figure 3A). PV 陽性神経細胞では *vglut1* の発現はほとんど認められず (Figure 3A2-4), 多くは *vglut2* を発現していた (Figure 3A5-7).

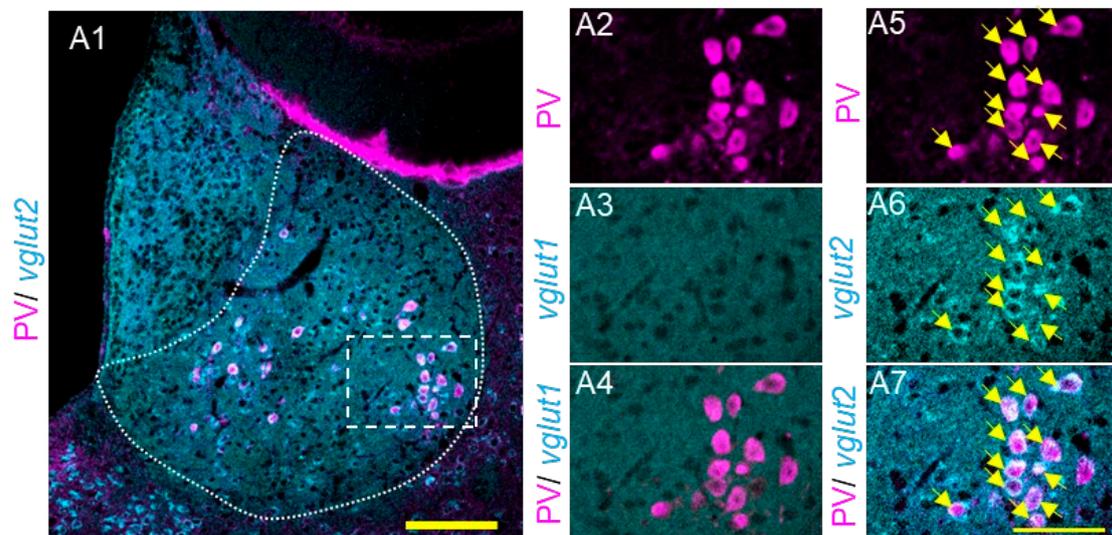


Figure 3. LHb の PV 陽性神経細胞における *vglut2* の発現. LHb の PV の免疫染色 (マゼンタ) と *vglut2* の mRNA in-situ HCR (シアン) の低倍率画像 (A1), PV 高倍率画像 (A2), *vglut1* 高倍率画像 (A3), 重ね合わせ (A4). PV 高倍率画像 (A5), *vglut2* 高倍率画像 (A6), 重ね合わせ (A7).

PV 陽性神経細胞の *vglut1* 発現率は, 脳領域間で有意に異なっていた ( $F_{3,16} = 272.64, p < 0.0001$ , one-way ANOVA, Figure 4A). LHb における発現率 ( $0.10 \pm 0.064\%$ ) は, 他の領域 (帯状皮質 ( $71.57 \pm 3.59\%, p < 0.0001$ ), 海馬 ( $16.64 \pm 0.47\%, p < 0.0001$ ), 扁桃核 ( $38.61 \pm 0.94\%$ ),

$p < 0.0001$ ) における発現率と比べて著しく低いことがわかった (Tukey-HSD 検定). LHb では, PV 陽性神経細胞の *vglut2* 発現率 ( $76.08 \pm 1.20\%$ ) は, 帯状皮質における割合 ( $0.016 \pm 0.016\%$ ,  $p < 0.0001$ , Welch's t-test) よりも著しく高かった (Figure 4B). 扁桃体, 海馬には PV 陽性神経細胞に *vglut2* の発現は見られなかった. LHb では, PV 陽性神経細胞の高い割合でグルタミン酸作動性マーカー、特に *vglut2* が発現していた。

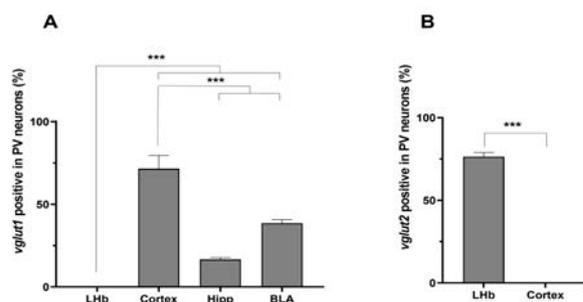


Figure 4. LHb の PV 陽性神経細胞におけるグルタミン酸作動性神経細胞マーカーの発現. PV 陽性神経細胞の *vglut1* 発現率 (A). PV 陽性神経細胞の *vglut2* 発現率 (B). LHb, 外側手綱核. Cortex, 帯状皮質. Hipp, 海馬. BLA, 基底外側扁桃体.

#### 4. 今後の展望

以上から, LHb の PV 陽性ニューロンの多くはグルタミン酸作動性神経細胞であることが明らかになり, 興奮性の神経細胞であると考えられる. 今まで, PV 陽生神経細胞は GABA 作動性の抑制性神経細胞であるという定説があったが, それを覆す結果が得られた. 今後は, 興奮性の神経細胞として, LHb 回路内外で, どのような役割があるのか, 行動に対してどのような機能があるのかを検討する必要がある. また, PV 陽性神経細胞の GABA 作動性マーカーとグルタミン酸作動性マーカーの発現は, 脳領域によって異なっており, 脳領域ごとに興奮と抑制の役割が異なると考えられた. 他の脳領域との機能比較も検討したい.

#### 5. 参考文献

1. Nakamura T, Kurosaki K, Kanemoto M, Sasahara M, Ichijo H. Early-life experiences altered the maturation of the lateral habenula in mouse models, resulting in behavioural disorders in adulthood. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*, 2021;46(4):E480-E489.
2. Morris JS, Smith KA, Cowen PJ, et al. Covariation of activity in habenula and dorsal raphe nuclei following tryptophan depletion. *Neuroimage* 1999;10:163-72.
3. Winter C, Vollmayr B, Djodari-Irani A, et al. Pharmacological inhibition of the lateral habenula improves depressive-like behavior in an animal model of treatment resistant depression. *Behav Brain Res*

2011;216:463-5.

4 . Choi, HM, Schwarzkopf M, Fornace ME, Acharya A, Artavanis G, Stegmaier, J. et al.. Third-generation in situ hybridization chain reaction: multiplexed, quantitative, sensitive, versatile, robust. *Development*, 2018;145(12);dev165753.



研究題目	脳病変部特異的な薬物送達を可能にする バイオリポソームの開発
機関名	富山大学
研究代表者	学術研究部薬学・和漢系・助教・泉尾 直孝
分野	医薬系
キーワード	薬物脳内送達・ナノキャリア・神経変性

### 1. 研究の背景と目的

中枢神経系への薬物送達は、血液-脳実質間の物質・細胞の移行を制限する血液脳関門 (BBB) が障壁となり非常に困難である。また、中枢神経系に対する薬物の殆どは、標的外の脳領域への薬理作用により情動性・神経性の副作用が発現することが問題となっており、脳内の病変部特異的な薬物送達法の開発が強く望まれる。標的組織への薬物送達の方法として、ナノサイズの脂質二重膜小胞 (ナノ脂質キャリア) であるリポソームへの封入が研究されてきた。リポソームは人工脂質のフィルトレーション (Extrusion 法) により調整される。リポソーム自体は大量合成が可能であり臨床実装されているが、高難度の組織への送達には、標的化シグナルをリポソーム膜に有機合成的に付与する必要があるが、大量合成には不向きである。また生理的なナノ脂質キャリアであるエクソソームは、細胞からの遊離量が僅かであり臨床応用は現状困難である。報告者は、以前より、生きた細胞の膜成分から調整したリポソーム (= 「バイオリポソーム」) の開発に取り組んできた。バイオリポソームは、培養細胞の懸濁液をフィルトレーションし、断片化した膜の自発的再構築により形成される小胞として回収する (Cell extrusion 法) (図 1)。バイオリポソームの調整はリポソームと同等に簡便であり、同スケールの培養細胞から得られるエクソソームに対し、その 100 倍の粒子数を獲得することができる (参考文献 1)。また、親細胞の選択・修飾によりバイオリポソームの組織標的化が可能である。バイオリポソームは、工業的な大規模生産が可能な組織標的化ナノキャリアとして期待される。本研究では、バイオリポソームの技術を活用し脳病変部に特異的な薬物送達法の作出を試みる。

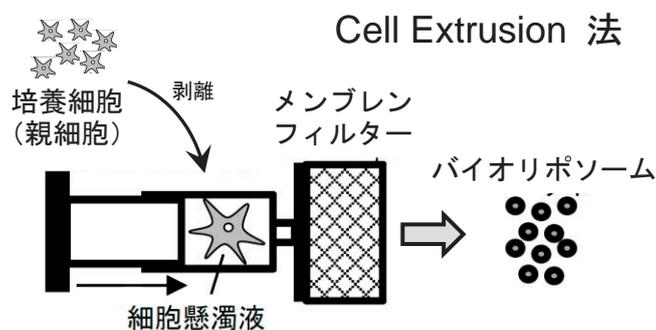


図 1 バイオリポソームの調整法

## 2. 研究方法

研究および実施した実験の方法については、「3. 研究成果」において併せて記載する。

## 3. 研究成果

従来法では、親細胞を 10  $\mu\text{m}$ , 5  $\mu\text{m}$ , 1  $\mu\text{m}$  の 3 段階のメンブレンフィルターを用いて Extrusion することでバイオリポソームを回収する。この方法は、1  $\mu\text{m}$  のメンブレンフィルターを通した時点で得られる小胞のサイズが不均一である。またミトコンドリアを含む様々な親細胞由来の夾雑物を内包する。このような製剤学的・生物学的な不安定性を克服するため、バイオリポソームの調整法の改良を試みた。親細胞（神経芽細胞腫 Neuro2A）の 10  $\mu\text{m}$  による Extrusion の後、密度勾配超遠心法により 6 つの画分（低密度 F1 → 高密度 F6）に分け、内容物についてオルガネラマーカによるウェスタンブロッティングを実施したところ、F1・F2 画分には細胞膜成分が回収され、一方 F3・F4 画分にはミトコンドリア成分が濃縮されることが明らかとなった（図 2）。そこで、F1・F2 画分を回収し、1  $\mu\text{m}$  および 0.4  $\mu\text{m}$  の Extrusion を実施したところ、200-400 nm のサイズに限定的な小胞プロファイルを示した（図 3）。以上より、改良法により製剤学的・生物学的な安定性を高めたバイオリポソームを得ることができた。

バイオリポソームの克服すべき課題として、水溶性化合物の封入効率の低さが挙げられる。現状、Extrusion の過程における断片化した膜の自発的再構築において水溶性化合物は取り込まれるが、総溶液量に対する脂質成分の空間充填率により規定されるため、このような受動的様式では封入効率を高めることは難しい。そこで報告者は、プラスミド DNA を細胞内に取り込ませる手法として確立されている電気穿孔法に着目した。GFP 親細胞である Neuro2A 細胞に最適化されたパルスプロトコルによる電気穿孔法により、蛍光タンパク質 GFP のバイオリポソーム内への明瞭な取り込みが認められた（図 4）。

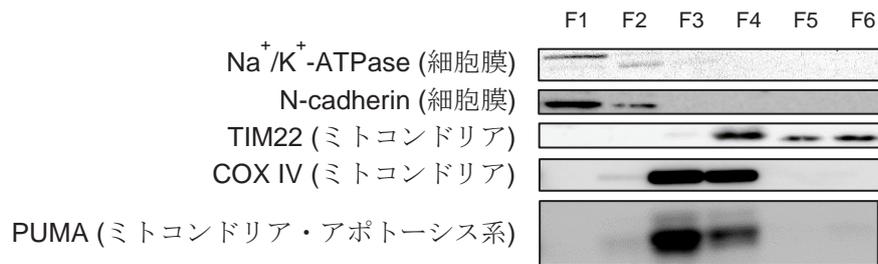


図 2 密度勾配遠心後の各画分におけるオルガネラマーカ

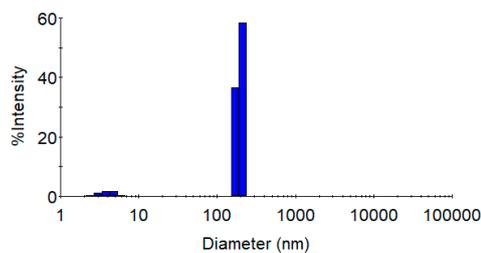


図 3 改良法によるバイオリポソームのサイズ分布

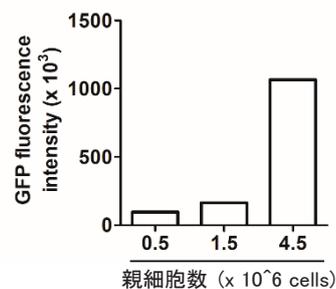


図 4 電気穿孔法による GFP の取り込み

#### **4. 今後の展望**

今回の検討では、バイオリポソームの調整法に関連した基礎的な研究を中心に実施した。現在、親細胞の神経芽細胞腫 Neuro2A に、脳血管内皮細胞株 b.End3 および骨髄由来細胞株 H-1D のミックスとする脳病変部への集積性の向上に取り組んでいる。これまで、Cell extrusion 法によるナノ脂質粒子を用いた薬物送達には既に数報の報告があるが、標的化が容易なガン細胞をターゲットとしている。今後、様々な工夫を凝らし、難易度の高い脳内送達、特に脳病変部への送達を実現することで、中枢性副作用の少ない脳疾患の薬物治療の開発に貢献することが期待される。

#### **5. 参考文献**

1. Nasiri Kenari A, Kastaniegaard K, Greening DW, Shambrook M, Stensballe A, Cheng L, Hill AF. Proteomic and Post-Translational Modification Profiling of Exosome-Mimetic Nanovesicles Compared to Exosomes. *Proteomics* 2019; 19(8): e1800161.



研究題目	嗅覚系を介したパブロフ型条件反射を基盤とする2型糖尿病とうつの防止法の開発
機関名	富山大学
研究代表者	学術研究部薬学・和漢系・教授・恒枝 宏史
分野	医薬系
キーワード	嗅覚、脂質代謝、脳、糖尿病、うつ

## 1. 研究の背景と目的

科学技術が大いに進歩した現代社会では、多くの人々がその恩恵を享受し、便利でスピーディーな生活を送ることができる時代となった。しかし、近代以降、生活習慣の変化が極端に速かったため、身体や精神面での適応が不完全であり、ヒトの健康に甚大な影響を与え続けている。特に、移動手段の発達や飽食環境の急拡大が運動不足や糖・脂質の過剰摂取を招き、肥満や2型糖尿病の発症増加を招いている。また、スローライフとは対極のゆとりの少ない生活習慣が過度のストレスを生み、うつ病などの精神疾患の発症を助長している。しかも、2型糖尿病とうつ病は相互に発症リスクを増加させることが知られている<sup>1)</sup>。代謝機能と精神機能の両者を高め、糖尿病とうつの悪循環を防止する手法の開発が求められている。

人類の歴史を振り返ると、稲作などの農耕が始まる以前は、狩猟中心の生活であり、食物摂取の機会が不安定であったため常に飢餓の危機に曝されてきた。狩猟で得た獲物の肉と油を食する生活では栄養素の主体が炭水化物よりも脂質やアミノ酸に偏る。このような進化的背景を持つ人類は、飽食には脆弱であるが、飢餓には比較的高い適応力を有し、遊離脂肪酸やケトン体といった脂質（油）を生体のエネルギー源とする飢餓適応機能は高度に発達した。従来の糖尿病治療法の開発研究では、脆弱な糖代謝機能が肥満などの影響で低下した際、その低下を補うことに重点が置かれてきた。しかし、強靱な飢餓適応機能である脂質代謝をさらに促進することで、飽食時代の代表的疾患である糖尿病やうつ病に有益な影響がもたらされるかは不明である。

あらゆる動物に共通する重要な飢餓対応策は、食物を探索すること、また、そのために必要な生体エネルギーを供給し続けることである。食物の発見には五感の機能が活躍する。特に、食物の匂いは重要な手がかりであり、空腹時には嗅覚感度が上昇する。生体エネルギー供給の観点では、絶食後しばらくは肝臓でグリコーゲンを分解して糖を供給するが、やがて枯渇すると、その後は脂肪組織に蓄えられていた中性脂肪を分解して遊離脂肪酸、すなわち脂質をエネルギー基質として放出する。このように、長期の空腹時や飢餓時には、嗅覚と脂質代謝が活発になる。空腹時に感覚機能を介して食物の存在を認識すると条件反射として唾液や消化液が分泌するなど、生体機能に変化する。本機構は発見者の名前にちなんで「パブロフの条件反射」と呼ばれる<sup>2)</sup>。しかし、嗅覚と脂質代謝が機能的に関係するかは不明であった。

そこで本研究では、飢餓適応機構として嗅覚と脂質代謝が連係する可能性をマウスを用いて検証し、さらにその連係機構が糖尿病やうつの発症を防止する可能性を追究した。

## 2. 研究方法

マウスを用いた嗅覚刺激実験を実施するため、匂い放出用遮光チューブを設置した密閉ケージにマウスを入れた。遮光チューブには複数の穴が開けられており、外側からは中身を見ることができない。そのため、チューブの中に餌を入れると、マウスは餌の匂いだけを感じることになる（図1）。実際に、1ケージに4本の匂い放出用遮光チューブを設置して、各チューブに異なる餌を入れると、絶食中のマウスは摂食経験のある餌の匂いを放出するチューブのみに接近して、餌の在り処を探索し続けた。したがって、本装置は正確に匂いの知覚情報をマウスに伝達できることがわかった。

そこで本装置を用いて、マウスを嗅覚刺激し、脂質代謝や糖代謝が変化するかを以下の方法で解析した。実験動物としては、一般的に野生型あるいは正常マウスとして汎用される雄性 C57BL/6J マウス、脳の報酬効果あるいは動機付けに関わるドパミン D2 受容体やオレキシンを欠損したマウス、遺伝性肥満・2型糖尿病 db/db マウス、食餌性肥満（高脂肪食負荷）マウスを使用した。また、脳の嗅球部位摘出による嗅球機能消失マウスや、嗅覚記憶の想起を担う梨状皮質に抑制性人工受容体を発現させたマウスも使用した。嗅覚刺激には、摂食経験のある餌の匂いや、食物以外の匂い物質（ムスコンなど）を使用した。代謝機能の解析では、絶食条件下で嗅覚刺激し、食前、食後、糖・脂質・インスリン負荷後の血液成分を生化学的に解析した。また全身のエネルギー代謝を小動物用代謝測定システムで解析した。さらに、各臓器の遺伝子・タンパク発現量の変化を RT-PCR 法やウェスタンブロット法で解析した。精神機能の解析では、急性うつ評価法として一般的に汎用される行動試験を実施した。なお、本研究は富山大学動物実験委員会および遺伝子組み換え生物等使用実験安全管理委員会の審査を経て富山大学学長の承認後に実施した。

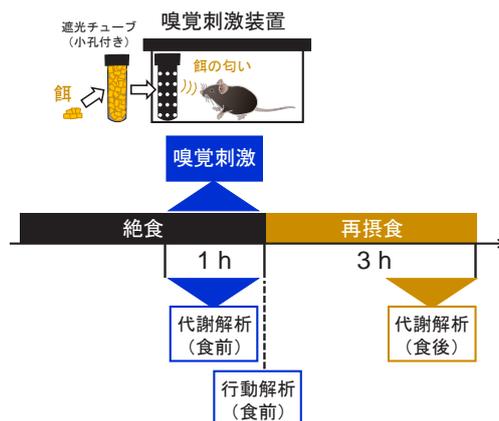


図1. 空腹マウスに対する食物の匂い刺激法

## 3. 研究成果

嗅覚と代謝が関連するかを解明するため、絶食マウスを餌の匂いで刺激して、血液成分を解析した。その結果、血糖値は変動しなかった一方で、脂質である遊離脂肪酸の血中濃度が匂い刺激

中、持続的に増加した。絶食条件下で餌の匂いを1時間嗅がせた後に、その餌を摂食させると、全身で利用するエネルギー源が糖から脂質にシフトすることが、呼吸商の低下となって表れた。このように、空腹時に食べ物の匂いを嗅ぐことで、食前では利用可能な脂質が増加し、食後では脂質の利用が促進される生体変化を認めた<sup>3)</sup>。

嗅覚と脂質代謝が関連するメカニズムを解明するため、まず、嗅覚系を介した食前の血中遊離脂肪酸の増加機序を解析した。その結果、嗅球の機能を消失したマウスや、薬理遺伝学的に梨状皮質の機能を低下させたマウスでは、嗅覚刺激による遊離脂肪酸の動員は消失した。各種受容体拮抗薬を用いた薬理的解析を実施した結果、視床下部プロオピオメラノコルチン(POMC)神経系や交感神経系の抑制でも嗅覚刺激による遊離脂肪酸の動員は消失した。遊離脂肪酸が分泌される白色脂肪組織の生化学的解析では、嗅覚刺激に伴う脂質分解経路の活性化指標の増加を認めた。したがって、食前において餌の匂いは鼻粘膜を介して嗅球-梨状皮質-視床下部 POMC 神経-交感神経系を活性化し、白色脂肪組織からの遊離脂肪酸の分泌を誘発することを明らかにした<sup>3)</sup> (図 2)。なお、マウスが先天的に嗜好性を示す匂い物質であるムスコンによっても同様の脂質動員が誘発され、本機構を標的とした薬物介入が可能であることが示唆された。

一方、餌の匂い刺激による食後の脂質利用に関しては、オレキシンやドパミン D2 受容体の欠損は影響しなかったが、遺伝性肥満 db/db マウスで効果が消失した。db/db マウスは視床下部のホルモン(レプチンとグレリン)感受性が変容したマウスであることから、嗅覚刺激によるこれらのホルモンの感受性を薬理的手法で解析したところ、グレリン感受性の増加と、レプチン感受性の低下を認めた。グレリンの反応性増加と対応のある視床下部アグーチ関連ペプチド(AgRP)の遺伝子発現量も増加した。絶食マウスを餌の匂いで刺激した後にオリーブ油を経口投与すると、血中への脂質の吸収量が増加し、その変化は交感神経系阻害薬存在下で増強された。したがって、空腹時に餌の匂いを嗅いだマウスでは食後において、視床下部 AgRP 神経の活性化-交感神経系の抑制-消化管の脂質吸収の増加を介して全身の脂質利用が増加することを明らかにした<sup>3)</sup> (図 2)。

高脂肪食の長期間の摂取は肥満や2型糖尿病の原因となる。空腹時の食べ物の匂い刺激で脂質代謝を促進することにより糖尿病の発症が防止できるかを明らかにするため、高脂肪食を摂取したマウスを定期的に絶食し、餌の匂い刺激を与えてから再摂食を開始させた。その結果、本処置によりインスリン感受性が増加し、血糖上昇が防止された。嗅覚と脂質代謝の連係は代謝異常を防ぐために重要な役割を果たすことが示された<sup>3)</sup> (図 2)。

さらに、嗅覚と精神機能の関連を明らかにするため、通常食または高脂肪食を摂取させたマウスに対し、絶食下で餌の匂いを嗅がせてから行動試験を実施した。その結果、嗅覚刺激した群では、対照群に比べ、うつ指標が減少した。このように、空腹時の食物の匂いは抗うつ効果を示すことが示唆された(図 2)。

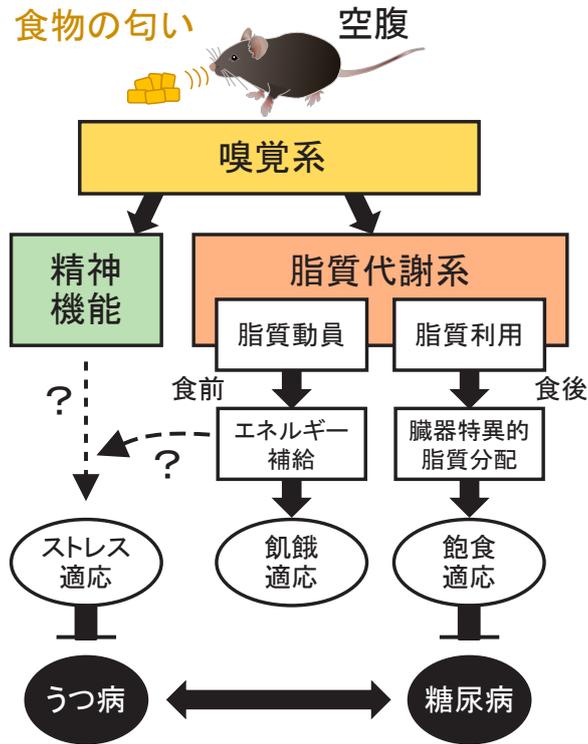


図2. 空腹時における嗅覚系を介したパブロフ型条件反射による脂質利用の促進とうつの防止効果（仮説）

#### 4. 今後の展望

本研究ではマウスを用いた実験で、絶食状態において食物の匂いを感知すると、脂質代謝が向上して糖尿病の発症防止に寄与すること、またストレスによるうつも防止される可能性を見出した。嗅覚刺激による代謝機能と精神機能の改善が連動的に誘導されるのか、あるいは独立に誘導されるのかは今後の課題として残された。しかし、空腹時において嗅覚刺激した後、両作用が同時に誘発されたことから、代謝機能と精神機能には何らかの関連があると考えられる。食物に関わる知覚情報が空腹時に生体機能を変化させるという点では、本研究で見出した嗅覚刺激の効果はパブロフの条件反射の新機能と見なすことができる。パブロフ型条件反射としてはこれまで、空腹時に食物の存在を感知すると唾液やインスリンが分泌されるなど、数分程度の短期的な生体反応のみが注目されていた<sup>2)</sup>。一方、嗅覚系を介した代謝・精神機能の調節はより長い時間維持された。したがって、嗅覚系を起点とするパブロフ型条件反射の機構は代謝機能異常や精神機能異常を改善するための新規の標的である可能性が考えられる。近年の疫学調査では、嗅覚障害が2型糖尿病の発症率と関連することが示されている<sup>4)</sup>。また、嗅覚障害はうつ病の発症にも関連することが知られている<sup>5)</sup>。今後、ヒトにおいて嗅覚系を起点としたパブロフ型条件反射の意義を明らかにすることを通して、代謝疾患や精神疾患の予防・治療に寄与する嗅覚療法が見出されることが期待される。

## 5. 参考文献

1. Mezuk B, Eaton WW, Albrecht S, Golden SH. Depression and type 2 diabetes over the lifespan: a meta-analysis. *Diabetes Care*. 2008;31:2383-2390.
2. Langhans W, Watts AG, Spector AC. The elusive cephalic phase insulin response: triggers, mechanisms, and functions. *Physiol Rev*. 2023;103:1423-1485.
3. Tsuneki H, Sugiyama M, Ito T, Sato K, Matsuda H, Onishi K, Yubune K, Matsuoka Y, Nagai S, Yamagishi T, Maeda T, Honda K, Okekawa A, Watanabe S, Yaku K, Okuzaki D, Otsubo R, Nomoto M, Inokuchi K, Nakagawa T, Wada T, Yasui T, Sasaoka T. Food odor perception promotes systemic lipid utilization. *Nat Metab*. 2022;4:1514-1531.
4. Rasmussen VF, Vestergaard ET, Hejlesen O, Andersson CUN, Cichosz SL. Prevalence of taste and smell impairment in adults with diabetes: A cross-sectional analysis of data from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). *Prim Care Diabetes*. 2018;12:453-459.
5. Canbeyli R. Sensory stimulation via the visual, auditory, olfactory and gustatory systems can modulate mood and depression. *Eur J Neurosci*. 2022;55:244-263.



研究題目	伝統的町家セルフリノベーションの教科書開発 —高岡市吉久における学生シェアハウスづくりを通して—
機関名	富山大学
研究代表者	学術研究部芸術文化学系・講師・藪谷 祐介
分野	建築計画、コミュニティデザイン
キーワード	町家, リノベーション, ワークショップ

## 1. 研究の背景と目的

近年、地方都市において空き家の増加が社会的課題となっており、その適切な管理や有効活用に向けた様々な取り組みが全国各地で取り組まれている<sup>1)</sup>。富山県においても同様の課題を有し、特に県内に多く残存する伝統的町家は「文化財未満の文化的価値のあるもの」と捉えることができ、現行の文化財保護行政ではカバーしきれないこれらの対象を草の根的に保全することで地域性を有する建築文化や景観を継承し、独自性を有する地域づくりにつながると考えられる。空き家となった伝統的町家を草の根的に保全する方法として、新たな用途に合ったかたちや現代の生活水準にあった性能に更新するリノベーションが挙げられる。特に、使用者が主体的に空間のありようや改変の仕方について考え、自らの手によって改修するセルフリノベーションは、コストを削減しながら、個別事情に合わせた空間の実現が可能である。さらには、必要に応じて随時、継続的に空間づくりを進めることができるため、持続可能な手法であると言える。しかしながら、セルフリノベーションには専門的知識が必要であり、特に、富山県において伝統的町家を活用する上では断熱性能の向上等に関する知識が必要不可欠であるため、そのことが知識・技術未熟者の実践における障壁となり得る。今後、セルフリノベーションによる活用をより多く促すためには、コストを最小限に抑えながら、必要な居住性能を獲得するためのセルフリノベーションの手法開発と、それを知識・技術未熟者にわかりやすく伝えるツール開発が必要である。

そこで本研究では、本研究者が公民学連携でまちづくりに取り組んでいる高岡市吉久において、伝統的町家を学生シェアハウスとして活用するための必要最低限のリノベーションを実践する。それを通して、最小限セルフリノベーションの実践知を体系的に整理し、伝統的町家をセルフリノベーションすることによる可能性と課題を考察する。さらに、その成果をもとに初学者でも実践可能なセルフリノベーションの教科書を作成し、富山県内を中心に広く発信することを目的とする。

関連する既往研究として、大学生のセルフリノベーションにおける学習効果を学習機会ごとに丹念に論じた研究<sup>2)</sup>や、セルフリノベーションについての一般の実践者の意識を調査した研究<sup>3)</sup>、セルフリノベーションの事業スキームや学生による実態と課題の把握を試みた研究<sup>4)</sup>がある。本研究は、学生等の知識・技術未熟者がコストをかけずに伝統的町家を居住可能な性能に向上させるために、できるだけ最小限の範囲でセルフリノベーションを実践する方法論を検討



### 3. 研究成果

#### 3-1 リノベーション | 伝統的町家を学生シェアハウスにするための設計とワークショップによる施工

##### (1) 内窓・網戸ワークショップ (2022年7月20日, 21日実施)

木材を加工して、内窓と網戸を作るワークショップを実施した。1日目は、キッチンの内窓と網戸の制作を行った。参加者は学生が2名であった。大工職人から工具の使い方や制作手順などを指導してもらいながら作業を進めた(写真1)。作業は事前準備として木材の墨付け・切り出しを行った。当日は①網戸部材面取り, ②網戸枠組み立て, ③網戸枠設置(仮), ④網戸組み立て, ⑤網戸塗装,



写真1 内窓・網戸ワークショップの様子

⑥網戸組み立て, ⑦網張り, ⑧網戸組み立て(挟み), ⑨網戸取り付け, ⑩内窓部材面取り, ⑪内窓組み立て, ⑫中空ポリカーボネートカット, ⑬中空ポリカーボネート取り付け, ⑭内窓取り付けの順に行った。2日目は2階居室の内窓と網戸の制作と設置を行った。参加者は学生が3名, 地域住民が1名であった。2日目は大工職人の指導がなかったが, 参加した地域住民が元家具職人であったため, 網戸の貼り方や工具の使い方についてアドバイスがあった。作業は事前準備として木材の墨付け・切り出しを行った。当日は①キッチン網戸調節, ②2階内窓組み立て, ③2階網戸塗装, ④網戸組み立て, ⑤中空ポリカーボネートカット, ⑥網張り, ⑦中空ポリカーボネート取り付け, ⑧2階内窓枠組み立て, ⑨2階内窓取り付け, ⑩2階網戸枠取り付け, ⑪2階網戸取り付けの順に行った。

##### (2) 床断熱ワークショップ (2022年11月21日実施)

木材や断熱材を加工し, 床断熱を目的としたワークショップを実施した(写真2)。対象はキッチンである。参加者は学生3名で, 本研究者も参加した。前回のワークショップと同じ参加者も見られた。当日は①墨付け, ②根太設置, ③断熱材カット・設置, ④合板の捨て張りの順に行った。後日, 学生たちのみで仕上げのラワン合板を張り, 塗装, 乾燥まで行った。



写真2 床断熱ワークショップの様子

(3) 左官ワークショップ (2023年3月5日実施)

床断熱を行った一部の下地合板にモルタルを塗る左官のワークショップを実施した。対象は前回のワークショップと同じキッチンのある部屋である。参加者は学生2名で、本研究者も参加した。当日は左官職人から塗り方のコツや注意点などを指導してもらいながら作業を進めた(写真3)。作業は事前準備として養生・シーラー塗装を行なった。当日は①塗料練り、②カチオンワン練り、③カチオンワン塗り付け、④乾燥、⑤モルタル塗り付け、⑥乾燥、⑦押さえの順に行なった。



写真3 左官ワークショップの様子

ワークショップ後はセルフリノベーションを実施したキッチンが居住空間となり、冬でも過ごせることができた。

### 3-2 調査分析 | セルフリノベーションの実践知の体系化に向けた観察・ヒアリング・アンケート調査

(1) 内窓・網戸ワークショップ

内窓・網戸ワークショップの基本情報を整理した(表2)。使用材料は19種類、費用は約11万円であった。必要工具は17種類で、参加者すべての作業時間を合算すると、延べ2500分であった。

表2 内窓・網戸ワークショップの基本情報

使用材料	単価	数量	費用	必要工具	作業時間
杉角材(4000×80×20mm)	3410	4	13640	筆記用具/メジャー/ カンナ/毛引き/カッター/スポンジ/手袋/ ドライバ/ドリル ビット/タッカー/掃除用具/定規(短・長)/差し金/スライド丸鋸のみ	2500分
杉角材(4000×40×40mm)	3234	5	16170		
杉角材(4000×20×40mm)	1848	11	20328		
杉角材(4000×25×20mm)	2200	2	4400		
杉角材(4000×20×20mm)	1100	6	6600		
網戸用ネット (2500×14500mm)	1529	1	1529		
ステンレス厚口蝶番(76×49×1.5mm)	659	6	3954		
ステンレスフラッシュ蝶番(64×37.5mm)2枚入	768	2	1536		
ビス(M4.5×90mm/200本)	1529	1	1529		
ビス(M3.8×51mm/1000本)	1749	1	1749		
ビス(M3.8×32mm/1800本)	2189	1	2189		
タッカー	1969	2	3938		
タッカー用ステーブル (10mm/15000本)	1529	1	1529		
水性木部保護塗料(オーク色/0.7L)	1749	1	1749		
ポリカーボネート中空ボード(1820×910×6mm)	5049	4	20196		
カラビナ(10mm)	1529	2	3058		
ステンレス製アイボルト(25×42mm)	900	2	1800		
バラコード(5mm×30000mm)	1700	1	1700		
マグネットキャッチ(50mm/吸着力:35N)	1529	1	1529		
		合計	109123		

また、内窓・網戸ワークショップ様子を観察調査し、大工職人へのヒアリング調査を行った(表3、表4)。1日目は

作業が14工程あった。指導内容としては「削る角に対してカンナを45度傾けて刃を入れるとよい」など、道具の使い方や組み立て、設置の際に精度を高めるコツのレクチャーが多くみられた。また、「ビスは曲がった道ができるとそこに引っ張られてしまうので注意」など、作業の注意点に関するレクチャーもみられた。2日目の作業は11工程であった。参加した地域住民が元家具職人であったため、「毛引を使って蝶番の彫り込み分の印をつける」など、専門的な道具の使用について指導を受けることができた。

ヒアリング調査では、「真っ直ぐビスを入れるため初心者は特に下穴を開けた方がいい」など、ワークショップの際に指導した点以外に作業の要点が挙げられた。安全に配慮する点では「カッ

ターを使う時は後ろに人がいないか確認する」など、自分はもちろん、周りの人への安全にも配慮する点が挙げられた。指導が難しかった点・課題では、「言葉で伝えるのが難しかった」など、言語化や難易度・参加者の技量が不明確な点、ワークショップの適正人数、事前の打ち合わせやスケジュール管理などが挙げられた。

(2) 床断熱ワークショップ

床断熱ワークショップの基本情報を整理した(表5)。使用材料は10種類、費用は約21万円であった。必要工具は16種類で、参加者すべての作業時間を合算すると、延べ2420分であった。

また、床断熱ワークショップの様子を観察調査し、大工職人へのヒアリング調査を行った(表6)。作業は7工程あった。指導内容としては「カッターの刃を入れているときに、カッターを傾けると刃が折れるため危険」など、注意する点や、作業手順や精度を高めるコツに関するレクチャーが多くみられた。

ヒアリング調査では、「基準線をどこに設定するかがかなり大事」など、床断熱ワークショップの際に指導した点以外に作業の要点が挙げられた。安全に配慮する点では「薄い板の場合、たわみやすいため、丸鋸がぶれやすく、キックバックする危険性が高くなる」などが挙げられた。指導が難しかった点・課題では、「その場その場で臨機応変に対応するため、基準の取り方の説

表3 内窓・網戸ワークショップ1日目の観察調査とヒアリング調査

手順	観察調査		ヒアリング調査			
	作業内容	指導内容	指導内容・要点	安全に配慮する点	指導が難しかった点・課題	その他気づいた点
1	網戸部材面取り	・削る角に対してカンナを45度傾けて刃を入れるとよい。 ・木の上方(末)から下方(元)にやると仕上がりが綺麗。 ・カンナは刃を上にして置く。 ・回数を揃えると均一な仕上がりになる。	今回は1回しか面取りしなかったが、木材によっては2回する場合もある。 ・カンナは45度(再掲)	・指が刃に引っかかるないように注意する。	・全部難しかった。 ・想定より作業が遅まなかった。	
2	網戸枠組み立て	・面取りした分隙間ができるため面落ちで仕上げるとよい。(今回は面合わせ) ・上からしっかり押さえてビス打ちする。 ・ビスは曲がった道ができるとその引強られてしまうので注意。 ・ビスは木材に1ミリ程度陥没させる→木材同士が引っ張り合う。 ・100mm底で寸法を採る。	・真っ直ぐビスを入れるため初心者は特に下穴を開けた方がいい。 ・ビスに対して適切な大きさのビットを使用する。 ・ボリカのカットは何回も分けて切断する。 ・木枠は1~2mm小さくカットする。	・ビットとビスの噛みつきが悪いときや、ビスに対して斜めにビットが入っているときは滑りやすくなるため注意する。 ・丸鋸は安全カバーをしっかりつけて使用する。 ・キックバックに注意する。刃を途中で止めた場合は少し下げたから切り始める。 ・カッターを使う時は後ろに人がいないか確認する。	・設計段階では難しい度合いがわからない。やってみないとわからない。 ・事前の打ち合わせで調整する必要がある。 ・難しい度合いの設定は技量に合わせる。 ・ボリカの付け方 ・窓と枠は窓が枠より4~5mm内側に入れるようにする。	
3	網戸枠設置(仮)	・鉛筆などで印をつけてから、先に半分程ビスを打ち込んでおく ・対角を測ることで直角を出す。	・クリアランスを大きくした方が削ったりする作業に時間がかかりすぎない。			
4	網戸組み立て				・線番がかからない問題 ・木取りの寸法が重要。 ・インセットの難易度: ★×3.5(上枠だけつけて、建具はアウトセットの場合は★×3) ・指導者1人に対して、作業者2人が適正人数、多くても3~4人。 ・人が増えると事前の段取りで調整が必要。 ・イレギュラーは必ず出てくるため日程に余裕をもつ。	
5	網戸塗装					
6	網戸組み立て	・「ビスダボ」は8mmドリルビットで50mm程度穴をあけてビスの頭を接着剤でとりつける。 ・測るときはなるべく基準を一カ所にする。				
7	網張り					
8	網戸組み立て(狭む)					
9	網戸取り付け(蝶番が合わず断念)					・フラッシュ蝶番は弱く、軽い建具が出ていると蝶番をつけにくい
10	内窓部材面取り					
11	内窓組み立て					
12	中空ボリカカット					
13	中空ボリカ取り付け					
14	内窓取り付け					

表4 内窓・網戸ワークショップ2日目の観察調査

手順	観察調査		ヒアリング調査			
	作業内容	指導内容	指導内容・要点	安全に配慮する点	指導が難しかった点・課題	その他気づいた点
1	キッチン網戸調節	窓の端を斜めに				
2	2階内窓組み立て	毛引を使って蝶番の彫り込み分の印をつける				
3	2階網戸塗装					
4	2階網戸組み立て					
5	中空ボリカカット					
6	網張り					
7	中空ボリカ取り付け					
8	2階内窓枠取り付け					
9	2階内窓取り付け					
10	2階網戸枠取り付け					
11	2階網戸取り付け					

明が難しかった」などが挙げられた。

### (3) 左官ワークショップ

左官ワークショップの基本情報を整理した(表7)。使用材料は9種類、費用は約3万円であった。必要工具は12種類で、参加者すべての作業時間を合算すると、延べ1050分であった。また、左官ワークショップ様子を観察調査し、左官職人へのヒアリング調査を行った(表8)。作業は7工程あった。指導内容としては「塗材を広げるときはコテを立てて、均すときはコテを寝かせる」など、塗り方のコツに関するレクチャーが多くみられた。

ヒアリング調査では、「厚みの異なるコテの使い分けが一番大事なポイント」など、左官ワークショップの際に指導した点以外に作業の要点が挙げられた。指導が難しかった点・課題では、「感覚的なことを言語化するのが難しい」などが挙げられた。

### 3-3 学生アンケート調査

すべてのワークショップ終了後、居住学生に対してアンケート調査を行った(表9)。学びになった点では、「職人さんに教えてもらった

表5 床断熱ワークショップの基本情報

使用材料	単価	数量	費用	必要工具	作業時間
床根太用木材(2000×45×60mm)	715	52	37180	筆記用具/メジャー/	2420分
構造用合板(910×1820×12mm)	3080	14	43120	カンナ/スライド丸鋸	
ラワン合板(910×1820×5.5mm)	2046	14	28644	/丸鋸/サンダー/カッター/ドライバ/ド	
ネオマフォーム(910×1820×60mm)	4797	11	52767	リルビット(長・小)/	
発泡ウレタンブレード(340mm)	1529	1	1529	ローラーセット(ロー	
ビス(M4.5×90mm/200本)	1529	1	1529	ラー、バケツ)/掃除	
ビス(M3.8×51mm/1000本)	1749	1	1749	用具/定規(短・長)/墨	
血木ねじ(M2.7×25mm/200本)	1749	1	1749	蓋/ビニールシート/	
養生テープ(W:50mm/L:2500mm)	570	1	570	布巾	
オスモカラーフロアクリアー(2.5L)	43890	1	43890		
		合計	212727		

表6 床断熱ワークショップの観察調査とヒアリング調査

手順	観察調査		ヒアリング調査			
	作業内容	指導内容	指導内容・要点	安全に配慮する点	指導が難しかった点・課題	その他気づいた点
1	墨付け	・壁から2寸バックで基準線をとり、455mmピッチで墨付けする(リノベでは壁がゆがんでいる場合があるため、調整できるように)。 ・糸はびんと張る。 ・1尺5寸ピッチで測ると良い。	・基準線をどこに設定するかがかなり大事。真壁の場合は、構造に依っている柱の芯から寸法をとる。	・糸巻を自動で巻くタイプの墨巻は、巻き上げの時に針に注意する。	・その場で墨巻状態に対応するため、基準の取り方の説明が難しかった。	・人数が多すぎると、クオリティを担保できなくなる。今回は2-3人で丁度良い。 ・言葉で説明するのが難しい。
2	根太設置	・隙間に3mm程度の隙間を作ると床なり防止になる。	・本来なら根太は1本通し。 ・既存の床材と根太の間に隙間ができないように、ビスを最後まで打ち込む。	・支点次第で丸鋸が反発する可能性がある。		
3	断熱材カット&設置	・大きさは現場合わせ。 ・カッターの刃を入れていくときに、カッターを傾けると刃が折れるため危険。 ・断面は少し斜めにすると、大きすぎることには無くなるし、入れやすくなる。 ・隙間にウレタンフォームを入れて塞ぐ。	・根太と断熱材を交互に入れていくと測らずにできる。ただし、小さい部屋のみの場合、小さい部屋だと部材数がそれほど多くなく、生じる誤差が少ないから。	・カッターで切るときに上定規を抑える手を切っただけで済ませよう。 ・あらかじめ救急箱を用意しておくが良い。	・人数が多すぎると、クオリティを担保できなくなる。今回は2-3人で丁度良い。 ・言葉で説明するのが難しい。	
4	合板の捨て張り	(1)割付の基準線(志)をとる。 (2)基準線から壁までの大きさを測る(調節幅5mm)。 (3)丸鋸で切る。 (4)四隅からビス打ち、位置を決る。残りのビスを打ち(床なしないうちに、1mmくらい隙間を開けて並べる)。		・支点次第で丸鋸が反発する可能性がある。(再掲) ・合板の下にものがあると切ってしまうため、刃は板から3mmほど出る程度に調整する。	・刃物とかの道具を使うとき、危険が伴うため、どこまでやってもらうかの判断が難しい。 ・女の子とか力が無い人は物理的に難しい。 ・予定通り終わらなかった。学生がどれくらいできるか未知数。学生主体でやるとなかなか難しい。事前に工程を簡素化したり、参加者と共有しておく必要がある。	
5	ラワン張り	合板の捨て張りと同じ(調節幅1mm)。ただし、現場合わせで微調整しながらカットする。	・隙間はプロは1mm以下にする。 ・DIYならあえて「逃げ」をつくって、巾木やコーキングで埋める方法も良い。	薄い板の場合、たわみやすいので、丸鋸がぶれやすく、キックバックする危険性が高くなる。	・難易度：★×4.5(巾木を使う場合は★×4)	
6	ラワン塗装	・濃くなるので乾きづらくなるため、薄く延ばして塗る。 (1)サンダーをかける。 (2)掃き掃除をする。 (3)水拭きする。	・着色すると元の色の差が少なくなる(極端に赤かったり白かったり)。 ・2回塗りを推奨。サンダーをかけてから塗ると平坦になる。	・ウエスで拭き取ったあと、発火する塗料もあるため注意が必要。 ・油性の塗料の場合は特に換気を行うように注意する。		
7	乾燥	・風通しを良くする。扇風機でも良い。				

表7 左官ワークショップの基本情報

使用材料	単価	数量	費用	必要工具	作業時間
養生テープ(W:50mm/L:2500mm)	570	1	570		1050分
マスキングテープ(W:30mm/L:1800mm)	118	4	472	定規(短)/かくはん機/ひしゃく/バケツ×2/	
マスキングテープ付き	197	1	197	ブラシ/霧吹き機/コ	
ファイバーテープ(W:50mm/L:153m)	5918	1	5918	テ(0.5mm,大,中)/コテ	
シーラー(古壁用強力アクストップ剤4kg)	6419	1	6419	(0.3mm,中,小)/ビニ	
シーラー(NSハイフレックス4kg)	5500	1	5500	ールシート/足場用断熱	
下地材(NSカチオンワン4kg)	8800	1	8800	材/カッター/掃除用	
仕上げ材(NSフロアハード4kg)	4400	1	4400	具	
水	0	1	0		
		合計	32276		

り、繰り返し作業する中で自分に気づいたりして、色々な道具の使い方や施工方法のコツを知ることができた」など道具の使い方や精度を出すコツが挙げられた。分からなかった点では、「断熱性能がどれほど向上したのか数値的に分からなかった」など、温熱環境がどの程度向上したのかが分からないという記述がみられた。一方で、居住した感想や断熱性能への効果では、「網戸を取り付けたことで虫を気にすることなく窓を開けることができ、非常に快適に過ごすことができた」というようになった」や「冬季に内窓を開けてみたところ足元に冷気が流れ込んで来たことや、他の部屋と比べて暖房器具の効きが良いことから、体感ではあるが内窓によって断熱性能は向上していると感じた」とあるように、温熱環境の向上を体感していることが確認できた。

表8 左官ワークショップの観察調査とヒアリング調査

手順	観察調査		ヒアリング調査			
	作業内容	指導内容	指導内容・要点	安全に配慮する点	指導が難しかった点・課題	その他気づいた点
1	準備・かくはん	準備・かくはん	レベル★★☆☆☆ (外部だと水勾配をつけなければならないため、レベル★★★★★)			
2	カチオンワゴン塗り	・先に水を容器に入れて、そこに粉を加えて混ぜ合わせる。(等西流) ・シュークリームに入っている生クリームよりも少し柔らかいくらいの硬さがベスト。(塗る厚みが増すほど硬くなる)	・カチオンワゴンに含まれるボンドは下地とモルタルをつなぎ合わせるためのもの。(＝にかむ) ・NSフロアボードに含まれるボンドは強度を高めるためのもの。(＝海苔海苔)			
3	カチオンワゴン塗りつけ	・まずは端から塗っていく。 ・塗る厚みは下地が透けなくらい。(1-2mm) ・塗料を広げるときはコテを立てて、均すときはコテを寝かせる。 ・端を塗るときは、コテの角を使って塗料を削って、それを角に塗り付ける。 ・薄くなっているところが穴になってしまう。穴が開いた場合はそこに塗料を運んで均す。 ・腕ではなく、体で腕を運ぶように意識すると平らに塗りやすい。 ・右利きの場合、右から左に塗るのは塗りやすいが平らにしにくい。逆に、左から右に塗る方が手首の可動域が制限されて平らに塗りやすい。				
4	待ち時間(昼食)	表面の水気が飛んで、マットな質感になればOK。	・コーキングする場合、完成シリコンを使うと良い。 ・モルタルで汚れた本物はクリーニング剤で染み抜きすることができる。			
5	モルタル塗りつけ	・コテは弧を描くように抜くとコテの跡が残りにくい。 ・小さいコテで平らにして、大きいコテで塗りムラをなくす。	厚みがある場合は一度に塗らず、2回に分けて塗り重ねる方が塗りムラができていく、きれいに仕上げやすい。			
6	待ち時間	・4と同様。 ・今回は厚みが薄いためすぐに抑えを行うが、厚みがある場合は一度マットになってから、もう一度表面を均す。				
7	おさえ	おさえ	・厚みの異なるコテの使い分けが一番大事なポイント。 ・コテの長さが24mmを越えると少し塗りにくくなる。 ・ボンド系の塗料を塗る場合は、ステンレス製のコテが塗りやすい。		感覚的なことを言語化するのが難しい。	WSでは楽しさを大切にしている。制度的なものを上げるためには言語化が課題。

3-4 成果まとめ | リノベーションのノウハウを広く共有するための教科書作成

観察調査・ヒアリング調査をもとに実践知を整理し、その結果を用いて「セルフリノベーションの教科書」を作成し、Web ページで公開した(図2)。作業全体の手順の流れ、作業名称、手順ごとの流れ、安全上の注意点、作業のポイントなどについてまとめた。

## 4. 考察

### 4-1 伝統的町家をセルフリノベーションの可能性

キッチンのある部屋の内窓と床断熱の施工を行ったことで、そこが冬の作業スペースになったことから、生活空間を最小限に抑えて、暮らすことができる可能性が示唆された。

内窓と網戸を葺戸的な機構にしたことや、窓際の床断熱した一部分を土間的な仕上げにすることで、外部空間との関係性を創出することができた。また、地域住民がワークショップに参加したり、シェア

ハウスの前面道路を通る人から、セルフリノベーションした網戸について声をかけられたりしたことから、地域とのつながりを創出できる可能性が示唆された。

内窓・網戸ワークショップの2日目には元家具職人である地域住民からのアドバイスなどはあったものの、知識・技術未熟者である学生たちで新たに網戸と内窓を製作することができたことから、職人に指導してもらったことで、自分達だけでも行えることができるため、セルフリノベーションは持続可能な活動である。さらに指導を受けた学生から、他の参加者や地域住民に知識や技術を伝達することにより、活動を拡大することができるという展開性を持つことが示唆される。

表9 居住学生へのアンケート調査

学びになった点	<ul style="list-style-type: none"> <li>●設計から材料の発注、施工という工程を身をもって体験できてよかった。</li> <li>●調べてわかること、実際にやってみないと分からないことがあるため、職人などの知識・技術熟練者との事前の打ち合わせが重要だとわかった。</li> <li>●職人さんに教えてもらったり、繰り返し作業の中で自分なりに気づいたりして、色々な道具の使い方や施工方法のコツを知ることができた。</li> <li>●断熱環境の向上における必要最低限の改修を一通り経験することができたため、これから他の部屋でも応用できると感じた。また、他参加者に教えたりする中でより経験が定着すると考えられる。</li> <li>●設計課題では分らなかった施工精度を上げるためのポイントを知ることができた。</li> <li>●実際にWSをするために必要な段取りの経験を積むことができた。</li> <li>●セルフリノベに直接関係することだけではなく職人さんの考え方に触れたり、建物に関する知識を得ることができたため、有意義なWSだった。人数が多いとそういう濃い経験はできないかもしれないと思った。</li> <li>●施工精度を上げるためには実測の精度も非常に重要だということが分かった。</li> </ul>
分らなかった点	<ul style="list-style-type: none"> <li>●断熱性能がどれほど向上したのか数値的に分らなかった。</li> <li>●本当にコストを抑えているのか分らなかった。</li> <li>●設計や材料発注の工程や作業時間のスケジュール管理が難しかった。</li> <li>●組み立てや左官はある程度道具を使うことができればそれほど難しくはなかったが、網戸・内窓や床面の合板を取り付ける際の調整が難しかった。クオリティや精度を求められる作業は難易度が高くなることを痛感した。特に、既存建物がゆがんでいることの多いリノベーションでは難易度が高くなるのだと感じた。</li> </ul>
居住しての感想	<ul style="list-style-type: none"> <li>●リノベーションした空間や住居そのものに愛着が湧いた。</li> <li>●網戸を取り付けたことで虫を気にすることなく窓を開けることができ、非常に快適に過ごすことができるようになった。</li> <li>●町家にとって貴重な窓辺に魅力的な居場所を生み出すことができ、陰影によるコントラストのある町家のもつ空間的な魅力を高めることができたと感じている。</li> <li>●接道面に魅力的な窓辺が生まれたことで、その窓辺に引き付けられ、より地域との繋がりを感ずることができている。</li> <li>●外観は特に夜景が魅力的で、明りの少ない通りに対して温かい明りの灯る窓が浮かぶ風景を提供することができていると思う。</li> <li>●窓を開け放って外観の撮影をしていた時に、通りかかった地域住民の方が関心をもってくれたので、断熱環境の向上だけではなく魅力的な空間を生み出すことで、活動が地域に展開する可能性を高めることができると感じた。</li> </ul>
断熱性能への効果	<ul style="list-style-type: none"> <li>●冬季に内窓を開けてみたところ足元に冷気が流れ込んで来たことや、他の部屋と比べて暖房器具の効きが良いことから、体感ではあるが内窓によって断熱性能は向上していると感じた。</li> <li>●施工精度を高めることが難しく、隙間が生じているため多少は隙間風が入ってくる。隙間テープでふさぎ改善されると思うが、意匠性が損なわれる点が課題。</li> </ul>

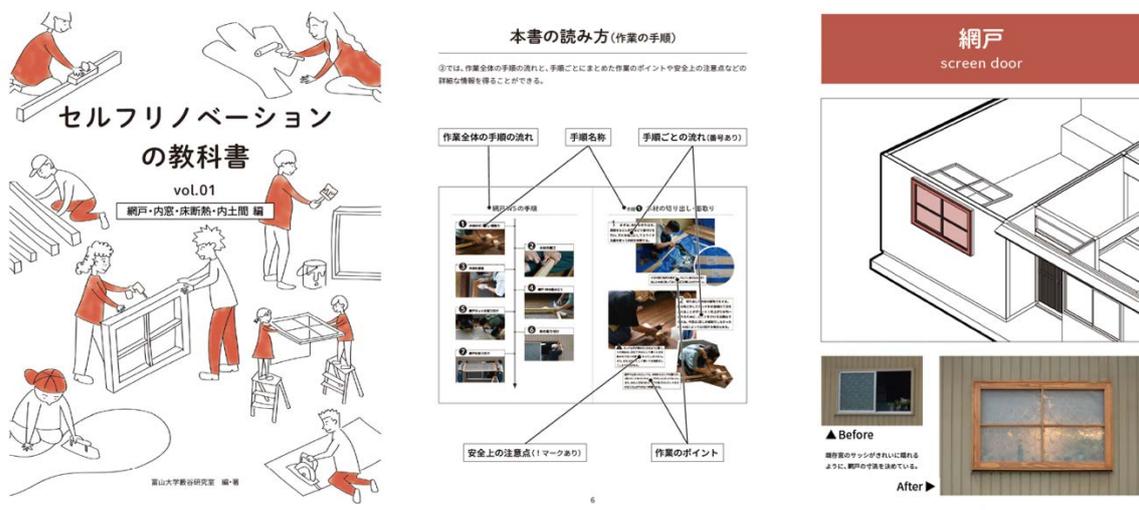


図2 セルフリノベーションの教科書 (<https://researchmap.jp/yabutani>)

学生アンケート調査の結果から、空間への愛着形成や魅力的な内部空間や街並みの形成に寄与できる可能性が考えられる。

#### 4-2 伝統的町家をセルフリノベーションする課題

本研究では建築を大学で学ぶ学生がセルフリノベーションの主体であったため、ワークショップの準備や設計、当日の作業が円滑に進んでいた部分は考慮する必要がある。さらに、教科書のみで一般の人が行えるのかどうかは課題であり、教科書とワークショップを組み合わせた方法でセルフリノベーションを行うことが望ましいと考える。また、本研究では、数値的な費用対効果を算出することができなかった。今後は様々なパターンの内窓や床断熱の施工方法とそれに係るコストを検討し、温熱環境の変化を数値的に図ることが課題である。

### 5. まとめと今後の展望

本研究では、伝統的町家を学生シェアハウスとして活用するための必要最低限のリノベーションを計3回のワークショップ形式で開催し、観察調査・ヒアリング調査・アンケート調査から、その知識を体系的に整理した結果、①生活空間を最小限に抑えて暮らすことができること、②セルフリノベーションを通して地域とのつながりを創出できること、③知識・技術未熟者である学生たちが職人に指導をしてもらうことで知識・技術を獲得し持続的にセルフリノベーションを実施できること、④空間への愛着形成や魅力的な内部空間や街並みの形成に寄与できること、以上4つの可能性が示唆された。

一方、①本研究では建築を大学で学ぶ学生がセルフリノベーションの主体であったため、ワークショップの準備や設計、当日の作業が円滑に進んでいた部分は考慮する必要がある点、②教科書のみで一般の人が行えるのかどうかは課題であり、教科書とワークショップを組み合わせた方法でセルフリノベーションを行うことが望ましい点、③数値的な費用対効果を算出することができなかったことから、今後は様々なパターンの内窓や床断熱の施工方法とそれに係るコストを検討し、温熱環境の変化を数値的に測る必要がある点、以上3点が課題として挙げられた。

本研究はセルフリノベーションの教科書開発に向けた第一弾であり、本申請課題終了後もさらなる実践を重ねることで実践知を体系化し、富山発の伝統的町家のセルフリノベーションの教科書開発を目指す。富山県内に多く残存する伝統的町家の有効活用を実践する層の拡張につなげ、富山らしい建築文化や景観を継承していきたい。

#### 参考文献

- 1) 長聡子：セルフリノベーションによる空き家再生事業の実態と課題-新潟県柏崎市の学生シェアハウスを事例に-,日本建築学会技術報告集,23 巻 55 号,pp.1009-1014,2017
- 2) 江口克成,他：まちなか空き家改修プロジェクトにおける学習機会に関する研究,日本建築学会技術報告集 19(41),pp.351-356, 2013

- 
- 3) 西野雄一郎,他：住み手からみたセルフ・リノベーションの特性と有効性-賃貸共同住宅におけるセルフ・リノベーションの評価その1,81 巻,720 号,pp.259-269,2016