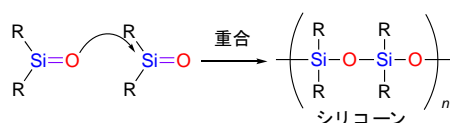


ベンゼン環を活用した分子設計によるケイ素不安定化学種の合成単離

理学研究科 氏名 小林 良
指導教員名 岩本 武明

ケイ素 (Si) は炭素 (C) と同じ結合様式の化合物を作るか？は 19 世紀にケイ素化合物に関する研究が始められた頃からのケイ素化学における大きな問いである。なかでもケイ素－酸素二重結合化合物 (Si=O 結合化合物) は、有機化合物において身近に普遍的に存在する炭素－酸素二重結合化合物 (C=O 結合化合物) であるケトンのケイ素版として、ケイ素化学の創成期より探求されてきた。しかし、安定な C=O 結合化合物とは異なり、より大きな分極を持つ Si=O 結合化合物は容易に重合してしまう不安定な化学種とみなされてきた (この重合体は有機ケイ素高分子シリコーンとして知られる 図 1a)。すなわち、100 年以上にわたって Si=O の合成と単離 (安定に取り出すこと) は難しい課題であった。21 世紀になり、Si=O 結合の特徴である分極を軽減し安定化する工夫 (電子的安定化) によって Si=O 結合を持つとされる化合物の合成と単離がなされた (図 1b)。しかし、電子的安定化を用いずに、本来の分極を維持した“純粋な Si=O 結合”を持つ化合物の合成と単離は達成されておらず、ケイ素化学において究極の合成目標の一つであった。

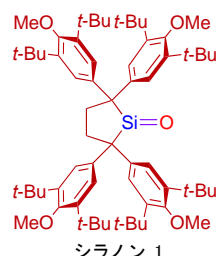
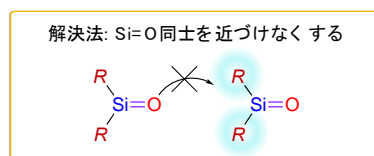
(a) 合成単離する上での問題点:
容易にシリコーンとなる



(b) 既存の手法: 分極を軽減する工夫による安定化
⇒ 本来の性質が損なわれる

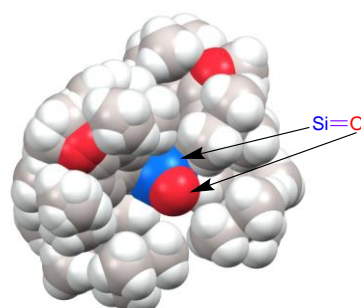


(c) 本研究: 立体的に囲むこと (立体保護) による純粋な Si=O の安定化



純粋な Si=O をもつ
シラノン 1
を合成、単離

(赤部分: 環状立体保護基 A)



シラノン 1 の分子構造

図 1. Si=O 化合物の単離の問題点と解決法 (a) 合成単離する上での問題点 (b) 既存の手法: Si=O の分極を軽減する工夫 (c) 本研究: 立体保護による純粋な Si=O 化合物の単離

本研究では、緻密にデザインした環状立体保護基 **A** を用いて反応性の高い Si=O 結合部分を立体的に取り囲むことで重合を防ぎ、本来の高度な分極を有した純粋な Si=O 結合化合物“シラノン **1**”（有機化合物ではケトンに相当する化合物）の合成と単離を世界で初めて達成した（図 1c 左）¹。この分子デザインは、ベンゼン環（炭素 6 つからなる正六角形の有機化合物）の連結および修飾により多様な三次元構造をもつ有機化合物が合成されていることから着想した。つまり有機化合物であるベンゼン環を無機化合物であるケイ素分子に組み込むことで、ケイ素周りの三次元構造を自在に設計、合成しケイ素不安定化学種の合成単離に最適な骨格を構築できると考え、環状立体保護基 **A** の設計に至った。**A** によって“純粋な Si=O 結合”を持つ化合物の単離に成功したことで、その分子構造や Si=O 結合固有の反応性などの Si=O 結合の性質も明らかにできた（図 1c 右）^{1,2}。また、同じ分子設計によって他の含ケイ素不安定化学種の合成にも成功し分子設計の汎用性も示した（図 2）。本発表では、ケイ素化学の歴史や炭素との比較から新規なケイ素化合物探求の意義や **1** をはじめとするケイ素不安定化学種の合成単離に達成に至った手法の詳細、および合成単離したことで明らかになったケイ素不安定化学種の構造や反応性について詳細を述べる。

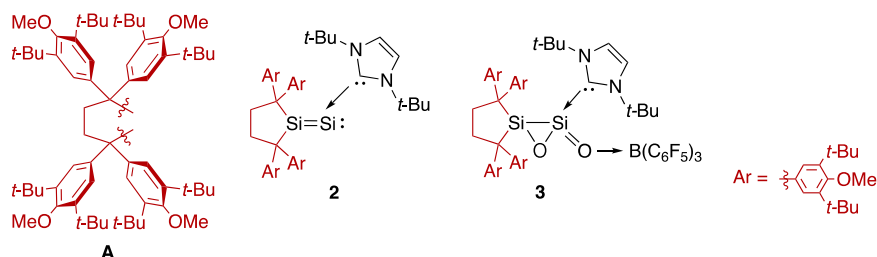


図 2. ベンゼン環を用いた環状立体保護基 **A** によって単離されたケイ素不安定化学種

- (1) R. Kobayashi, S. Ishida, T. Iwamoto, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, 58, 9425-9428.
 (2) R. Kobayashi, S. Ishida, T. Iwamoto, *Dalton Trans.*, *in press* (doi: 10.1039/D0DT04240D)

BRCA1 は Aurora A の中心体局在を制御して中心体の DNA 損傷応答に 寄与する

医学系研究科 氏名 齊 匯成
指導教員名 千葉 奈津子

Breast Cancer gene 1 (BRCA1) の生殖細胞系列変異は遺伝性乳がん・卵巣がん症候群の原因になる。BRCA1 は DNA 修復や中心体制御に関与する。中心体には、L 字型に配置した母中心小体と娘中心小体が存在し、1 回の細胞周期に 1 度だけ複製される。分裂後期から G1 期に母中心小体と娘中心小体が分離し (中心小体解離)、S 期の始めに 2 つの母中心小体の根本に、それぞれ新しい娘中心小体が形成されて、S 期に伸長して中心体が複製され、G2 期に分離し、M 期に 2 つの紡錘体極として機能する。

DNA 損傷後に中心体数が増加する現象 (DNA damage-induced centrosome amplification ; DDICA) が知られ、中心小体解離に関与する polo-like kinase 1 (PLK1) が重要な働きをすることが報告されている。また、BRCA1 の中心体局在は G2 期に減少するが、DNA 損傷後には亢進し、PLK1 の中心体局在を亢進して DDICA に関与することが報告された。しかし、DNA 損傷後の BRCA1 の G2 期以外の細胞周期毎の中心体局在の変化や、PLK1 をリン酸化して活性化させる Aurora A の DNA 損傷応答はまだ明らかになっていない。

そこで、本研究では、DNA 損傷後の BRCA1、Aurora A、PLK1 の中心体局在を細胞周期毎に解析し、DDICA の分子メカニズムを解明することを目的とした。

DNA 損傷を誘導するため、DNA 架橋剤であるシスプラチン (CDDP) で細胞を処理し、免疫蛍光染色で中心体の BRCA1、Aurora A、リン酸化 PLK1 の蛍光強度を細胞周期毎に計測した。その結果、CDDP 処理により、early S 期、late S 期、G2 期に BRCA1、early S 期、late S 期に Aurora A、late S 期にリン酸化 PLK1 の中心体での蛍光強度が上昇した。また、DNA 損傷後の BRCA1 の中心体局在の上昇には、BRCA1 の核外移行が重要で、それぞれ DNA 損傷のセンサー、エフェクターとされる ATM、CHK2 が関与することが明らかになった。さらに、DNA 損傷後の Aurora A、リン酸化 PLK1 の中心体局在の上昇、早期中心小体解離には BRCA1 が関与することも明らかになった。当研究室で同定した、BRCA1 結合分子である receptor for activated C kinase 1 (RACK1) が、BRCA1 と Aurora A との相互作用を促進して、DDICA に関与することも明らかになった。

以上より、DNA 損傷後 BRCA1 が RACK1 と協調して、Aurora A の中心体局在を促進し、PLK1 を活性化し、早期中心小体解離が生じ、中心体数の増加が起きることが示唆され、BRCA1 は DNA 損傷シグナルを中心体に伝達する働きをすることを考えられた。今後さらに中心体の DNA 損傷応答のメカニズムを解明することで、その生物学的意義の解明とともに、発がん機構の解明やがん治療法の開発への貢献が期待される。

ニワトリの骨格筋成長ならびに筋細胞増殖に対する ミトコンドリア呼吸鎖超複合体の関与

農学研究科 氏名 袴田 祐基
指導教員名 喜久里 基

肉用鶏は、主要な動物性タンパク質源の一つである。今後予想される世界人口に伴う食糧不足問題を解決するために、肉用鶏の効率的な生産が求められている。また、主に先進国における健康志向の高まりから、低カロリー、高蛋白質である鶏肉が好まれるようになり、世界の鶏肉生産量は年々増加している。肉用鶏の効率良い生産を可能にするため、可食部位である骨格筋の増大メカニズムの理解が重要である。

細胞小器官であるミトコンドリアは、内膜に存在する呼吸鎖複合体と呼ばれるタンパク質でエネルギー（ATP）を産生するが、その過程で活性酸素種（ROS）も発生する。ATP は細胞の成長、筋タンパク質合成などに不可欠な物質である一方で、ROS は、細胞の成長の抑制、筋タンパク質分解促進を誘引する物質である。つまり、筋細胞ではミトコンドリアで産生される ATP と ROS が、その成長・増大において正と負の影響をおよぼすと考えられる。

本研究では、ミトコンドリアがニワトリの骨格筋成長におよぼす影響を解明することを目的とした。それに当たって、「呼吸鎖超複合体“スーパーコンプレックス（SCs）”」に着目した。SCs は、ミトコンドリア内膜の 5 つの呼吸鎖複合体（C-I、C-II、C-III、C-IV、C-V）の内、C-II、-V を除く複合体が結合したものである。SCs が形成されると複合体からの電子漏出が減少し、ATP 産生能の向上や ROS 産生の低下が生じることを報告されている。一方、骨格筋ミトコンドリアでは SCs 形成が ATP 産生および ROS 産生におよぼす影響は現時点で全く調べられておらず、さらに骨格筋成長における SCs 形成の関与についても調べられていない。そこで、本研究では成長速度や代謝特性の異なるニワトリ骨格筋を用いて、SCs 形成、ATP・ROS 産生および筋成長の関係性を調べた。

本研究では、まず、筋増大速度が異なる肉用鶏と卵用鶏の胸筋を用いて、単離ミトコンドリアの SCs 形成量（BN-PAGE）、ATP 産生時の酸素消費速度（ポーラログラフ法）および ROS 産生（Amplex[®] Red を用いたスーパーオキシド/H₂O₂ の蛍光強度測定）の関係性を調べた。その結果、SCs 形成量は肉用鶏において卵用鶏よりも低いことが示され、また、ピルビン酸/リンゴ酸添加時のミトコンドリア酸素消費速度ならびにピルビン酸/リンゴ酸/コハク酸添加時の ROS 産生率が肉用鶏で卵用鶏よりも低かった（いずれも $P < 0.05$ ）。これらの結果より、増大速度が速い肉用鶏の胸筋では、SCs 形成量、ATP 産生、ROS 産生が低いことが示された。

上述の試験より、ニワトリにおいてニワトリにおいて、筋量増大速度が速い骨格筋では、同速度が遅い骨格筋に比べ SCs 形成量、ATP 産生、ROS 産生がいずれも低いことが示された。続いて、この関係性における SCs 形成の関与を高度に明らかにするため、SCs 形成抑制が ATP 産生および ROS 産生におよぼす影響を調べた。SCs 形成抑制は、C-I、-III、-IV の結合の必要因子である cytochrome c oxidase subunit 7A2 like（COX7A2L）を siRNA でノックダウン（KD）し、筋細胞の成長指標として増殖期では 1 well あたりの DNA 量を、分化期では細胞タンパク質量をそれぞれ測定した。その結果、増殖期の細胞を用いた場合では KD 処理によって 1 well 当たりの DNA 量が非 KD 区（対照区）に比べ有意に増加した。一方、分化期の細胞では、KD 区と非 KD 区で細胞タ

ンパク質量に有意な違いは認められなかった。これらの結果より、SCs 形成因子である COX7A2L の発現量操作は増殖期にあるニワトリ筋細胞の成長に大きな影響をおよぼすことが示された。次に、増殖期のニワトリ筋細胞を用いて COX7A2L-KD が、SCs 形成、ATP 産生（ATP バイオルミネッセンスアッセイキット）、ROS 産生（蛍光プローブ MitoSOXTM Red を用いた蛍光強度測定）におよぼす影響を解析した。また、ポジティブコントロールとして細胞増殖促進因子であり、SCs 形成誘導因子でもある成長促進因子 Insulin like-growth factor-1（IGF-1）を 5 µg/ml 添加した際に、上記項目への影響も調べた。その結果、SCs 中の C-I（NDUFA9 サブユニット）、C-III（UQCRC1 サブユニット）、C-IV（COX5A サブユニット）のタンパク質発現量は、KD を施した 2 区（KD 区、KD+IGF 区）において、非 KD の 2 区（対照区、IGF-1 区）に比べ有意に減少したが、IGF-1 単独添加による変化は認められなかった。細胞の DNA 量および WST アッセイ値は、対照区 ≤ IGF-1 区 ≒ KD 区 ≤ KD/IGF-1 区の順に大きく、増殖関連因子である cyclin D1 の遺伝子発現量は、KD 処理 2 区で非 KD の 2 区よりも有意に上昇した。このことより、KD の 2 区では増殖能が長く維持されていることが示唆された。ミトコンドリア ATP 産生量は KD 処理 2 区において非 KD の 2 区に比べ有意に減少し、ミトコンドリア ROS 産生量は対照区 ≥ IGF-1 区 ≒ KD 区 ≥ KD/IGF-1 区の順に低くなった。以上の結果より、増殖時のニワトリ筋細胞では、SCs 形成抑制によってミトコンドリア ATP 産生量および ROS 産生量が減少することが明らかになった。また、IGF-1 は同細胞の SCs 形成量に影響を与えなかったことから、SCs 形成量非依存的に細胞の増殖を促進することが示唆された。本研究では、SCs 形成抑制にともなうニワトリ筋細胞の増殖亢進メカニズムの解明を試みた。これまでの研究より、ROS 産生量の低下によって還元型/酸化型グルタチオン比（GSH/GSSG）が上昇すること、ならびに cyclin D1 の転写因子である nuclear factor kappa B（NF-κB）の DNA 結合量が GSH/GSSG 比の上昇によって増加することが報告されている。本試験では COX7A2L-KD および IGF-1 処理したニワトリ筋細胞を解析した結果、GSH/GSSG 比は KD 処理 2 区において非 KD の 2 区よりも高い値を示し、また、核内 NF-κB 量は対照区よりも KD 区、KD+IGF 区で高く、IGF 区で有意に低かった（いずれも $P < 0.05$ ）。以上の結果から、SCs 形成抑制による ROS 産生低下にともなう GSH 比の改善が核内 NF-κB 量および cyclin D1 発現を上昇させ、ニワトリ筋細胞の増殖を誘導した可能性が考えられた。

本研究では、ニワトリ骨格筋におけるミトコンドリアの SCs 形成量、ATP 産生、ROS 産生と筋成長の関係を調べた。その結果、筋増大速度が速い肉用鶏胸筋では SCs 形成量、ATP 産生、ROS 産生がいずれも低いこと、および SCs 形成抑制が増殖期の筋細胞の ATP 産生、ROS 産生を低下させると同時に細胞増殖を促進することを明らかにした。

工学と医学の連携深化による高 QoL 視覚再建へ

工学研究科 氏名 QIAN ZHENGYANG
指導教員名 田中 徹

近年、世界の先進諸国の多くで高齢化が大きな社会問題になっています。それに伴って加齢黄斑変性(AMD)や網膜色素変性症(RP)のような眼疾患により失明する患者数が増加しています。これらの疾患では網膜中の視細胞の一部が変性し、光信号を電気信号に変換できなくなって視力を失います。しかし、遺伝子や幹細胞などを用いる医学的治療方法はまだ確立されていません。一方、変性した視細胞以外の網膜細胞は正常に機能していることが報告されており、残存網膜細胞を最大限に利用して視覚を再建できれば患者には大きな福音となります。視覚再建のためには、変性した視細胞の光電変換機能と神経刺激機能を工学的に模擬する人工網膜の開発が1つの解決方法になります。これまでの人工網膜はカメラや刺激信号発生装置など多数の複雑な部品からできていて、使用者には大きな負担であり、QoL(Quality of Life)も低下します。本研究では工学と医学の連携を深化させ、高QoLの視覚を再建できる眼球内完全埋め込み型広視野角人工網膜を開発しています。

眼球内完全埋め込みために、半導体三次元積層技術を利用して必要な回路を1チップに積層することで、高開口率・高解像度・小型軽量を実現できます。三次元積層した人工網膜チップは、上層の視細胞チップにより外部の光信号を電気信号に変換し、TSV(Through Silicon Via)経由で下層の視覚情報処理・刺激電流生成チップに転送し、増幅やフィルタリングなどの信号処理を行い、光量に対応する刺激電流信号を生成します。その後、刺激電流信号を上層の視細胞チップに送って、刺激電極で残存する網膜細胞を電気刺激します。網膜細胞を安全に刺激するため、人間の網膜機能と同じように、光量に応じた周波数の両極性電流刺激信号を採用しました。同時に、網膜細胞へ有効な刺激を印加するため、刺激電荷が閾値以上の一定数値になるように、刺激電流振幅及び刺激パルス幅を調整可能にしました。

今回の三次元積層人工網膜チップは1000以上のピクセルを三次元に積層して光電信号と刺激電流信号をチップ間転送するため、必要なTSVは2000本以上になります。三次元積層人工網膜チップを試作し、1ピクセル分の光電変換信号をTSV経由で下層チップへ転送し、下層チップで生成した刺激電流をTSV経由で上層の刺激電極に転送することに成功しました。現在、1000以上の全ピクセル回路を評価中です。

本研究では、三次元積層人工網膜チップをフレキシブル基板に実装する構造を実現します。眼球内に埋め込みするので、生体適合性の高い基板が必要です。有機物フレキシブル基板は、柔軟性を持ち、生体細胞へのダメージが小さい特徴があり、生体内埋め込みデバイスには非常に良いパッケージング材料になります。三次元積層人工網膜チップを有機物フレキシブル基板に実装すると、処理回路面積の縮小、画素数の増大、多機能化、眼球内完全埋め込みを同時に達成でき、QoLの高い人工網膜を実現できます。これまでにフレキシブル基板へ実装した三次元積層テストチップを試作し、曲げ試験後にも電気信号の転送性能が劣化しないことを確認しています。これらの結果に基づいて、これから1年間に眼球内完全埋め込み型広視野角人工網膜の実現を目指します。

歯の喪失とメンタルヘルス：口腔の社会的な機能

歯学研究科 氏名 草間 太郎
指導教員名 小坂 健

【背景】抑うつは高齢者において主要な健康問題の一つであり、その疾病負担は世界的な高齢化とともに上昇している。抑うつは健康への影響はそれ自体にとどまらず、フレイルや認知症、死亡のリスクファクターでもある。過去の研究から、現在歯数が少ないことと抑うつが関連することが示されているが、そのメカニズムは明らかにされていない。メンタルヘルスには Social Capital や Social Relationships といった人との社会的な関わりが影響するが、口腔は『話す・笑う・食べる』といったコミュニケーションに重要な役割を果たしており、口腔の社会的な側面もまたメンタルヘルスを含む全身的な健康に影響する重要な要素であると考えられる。本研究では、因果媒介分析を用いて、構造的な口腔機能である現在歯数と抑うつ発症との関連において、社会的な口腔機能である『話す・笑う・食べる』の悪化がそのメカニズムをどの程度説明するのかを明らかにすることを目的とした。

【方法】本研究は日本老年学的評価研究の 2010 年及び 2013 年調査のデータを用いた 3 年間の追跡による縦断研究であった。対象者は要介護状態にない 65 歳以上の地域在住高齢者であり、ベースライン時点ですでに抑うつのは解析対象から除外した。目的変数として 2013 年時点での抑うつ発症の有無（Geriatric Depression Scale-15 score が 5 以上）、説明変数としてベースライン時点での現在歯数（20 本以上/19 本以上）媒介変数として 3 種類の口腔機能の低下（話す・笑う・食べる）をそれぞれ用いた。また、共変数として関連する交絡因子を用いた。交絡因子を含めて、ロジスティック回帰モデルを適用した因果媒介分析を行い、Natural indirect effect (NIE)、Natural direct effect (NDE) および Total effect (TE) のオッズ比 (OR) および 95%信頼区間 (95%CI) をそれぞれ算出した。また、それぞれの媒介変数による Proportion mediated (PM) も算出した。

【結果】分析対象者 8,875 人の平均年齢は 72.7 歳 (1SD=5.5)、男性は 48.0%であった。3 年間のフォローアップ期間中に抑うつを発症した者は 11.5%であり、現在歯数が 19 本以下の者では 13.1%、20 本以上の者では 9.2%であった。現在歯数が 19 本以下であることの抑うつ発症への TE は OR=1.30 (95%CI=1.12- 1.51) であり、発話が困難であること (NIE OR=1.03, 95%CI=1.00- 1.06; PM=12.4%)、笑うことをためらうこと (NIE OR=1.04, 95%CI=1.01- 1.07; PM=16.9%)、食べるのが困難なこと (NIE OR=1.05, 95%CI=1.02- 1.09, PM=21.9%) はそれぞれ統計学的に有意にその関連を媒介していた。

【結論】本研究結果から『話す・笑う・食べる』といった社会活動に関連する口腔機能の悪化が歯の喪失と抑うつ発症との関連を有意に媒介していた。口腔機能の悪化と全身の悪化との関連を考えるうえで、口腔の社会的な役割についても十分に考慮する必要があると考えられる。

エントロピー観点からみた山岳・火山地形の発達理論

理学研究科 氏名 金子 尚人
指導教員名 長濱 裕幸

火山の形を粒状体の集まりとしてみなせば(Reissner, 1924; Terada, 1929)、粒状体の変形破壊の時の角度は、土質力学における支持力の式に関係している。これら約 90 年前の古い知見をもとに、数値標高モデル(DEM)を用いて、富士山のような火山地形の縦断面図が、指数関数を持つ理由を非平衡熱力学から考察した。

Rowe (1962) は理論的に、粒状体の力の釣り合いと変位の適合条件から次式を定義した

$$K \equiv -\frac{\sigma_1 \dot{\epsilon}_1}{2\sigma_3 \dot{\epsilon}_3} = \tan^2 \left(\frac{\pi}{4} + \frac{\varphi}{2} \right) = \frac{1 + \sin \varphi}{1 - \sin \varphi}, \quad (1)$$

ここで、 K : 粒状体のエネルギー比、 σ_i : 応力、 ϵ_i : 歪、 φ : 内部摩擦角(安定した傾斜を表す安息角として解釈できる)。1 式から非平衡熱力学に基づいて新関・佐武(1981)は、粒状体力学における応力-ダイラタンシー関係を表す Rowe(1962)のエネルギー最小原理を導いている。

さらに、塑性変形によって体積歪が一定のとき、支持力の式が次のように与えられる

$$y = \frac{1 + \sin \varphi}{1 - \sin \varphi} e^{-\pi \tan \varphi}, \quad (2)$$

ここで、 $y = (L - D)/(H - D)$ は標高に関する関数で、 L, D, H はそれぞれ、基準線からの高さについて、山頂の標高 H 、裾野の最も低い標高 D 、山頂の次に高い標高 L で定義される。2 式について、Reissner (1924) に基づく Terada (1929) は複数の火山の形態が則ると主張した。上記から、粒状体の集合体である火山地形に対して熱力学的世界観が提示される。

Terada(1929)に基づき国内の常時観測火山(特に、標高 1,000m 以上)を合わせた 12 火山(羊蹄山、北海道駒ヶ岳、樽前山、那須岳、榛名山、赤城山、箱根山、富士山、伯耆大山、桜島、阿蘇山、霧島山)に対して DEM 解析を行った。Terada の手法(山頂からの距離 $x \leq 40$ (km)、16 方位、互いの火山の影響は最小化する)に則り、地形解析ソフトウェア・カシミール 3D を使用して国土地理院の 1/25000 地形図から 10m メッシュで、火山地形の平均縦断面図を作成した。結果として、平均縦断面図の接線から得た安息角 φ は、Terada(1929)と比較して小さい値を示した。火山地形の系の散逸構造によって、平衡状態である 2 式の曲線より下の値を取るためと考えられる。

次に火山地形の起伏をみたとき、各起伏(山頂から n 個目)の標高値(H_{\max})と直後 $n+1$ の起伏の比は a で表され、12 火山の a は $(2/3) \sim a < 1$ を示した。ゆえに

$$H_{(\max, n)} = H e^{b(n-1)} = H e^{bx}, \quad (3)$$

ここで、 b は火山地形の進化を表すパラメータ($= a-1$: 常に負の値をとる)。

つまり、 b は 1 式と 2 式の φ で決定され、山頂から遠ざかるにつれて負の指数関数的に標高が下がることがエントロピー生成(新関・佐武, 1981)の観点から明らかにされた。これは Leopold and Walter (1962)が指摘した、山の標高はエントロピー最大状態を示す(MEP)ことと整合している。

参考文献

- [1] Reissner H (1924) Zum Erddruckproblem. In: Proceedings of the 1 st International Congress Applied Mechanics, Delft, 295–311.
- [2] Terada T (1929) On the form of volcanoes. Bull Earthq Res Inst Univ Tokyo 7(2): 207–221.
- [3] 新関 茂, 佐武 正雄 (1981) Rowe のエネルギー比最小の原理の誘導と考察, 土木学会第36回年次学術講演会講演概要集, III, 5–6.
- [4] Rowe PW (1962) The stress-dilatancy relation for static equilibrium of an assembly of particles in contact. Proc. R. Soc. A 269(1339): 500–527.
- [5] Leopold LB, Walter BL (1962) The concept of entropy in landscape evolution. In: Geological Survey Professional Paper, A1–20.

シルセスキオキサン高分子ナノシートをテンプレートとした 多孔質 SiO₂ 超薄膜に関する研究

三ツ石研究科 氏名 石崎 裕也
指導教員名 三ツ石 方也

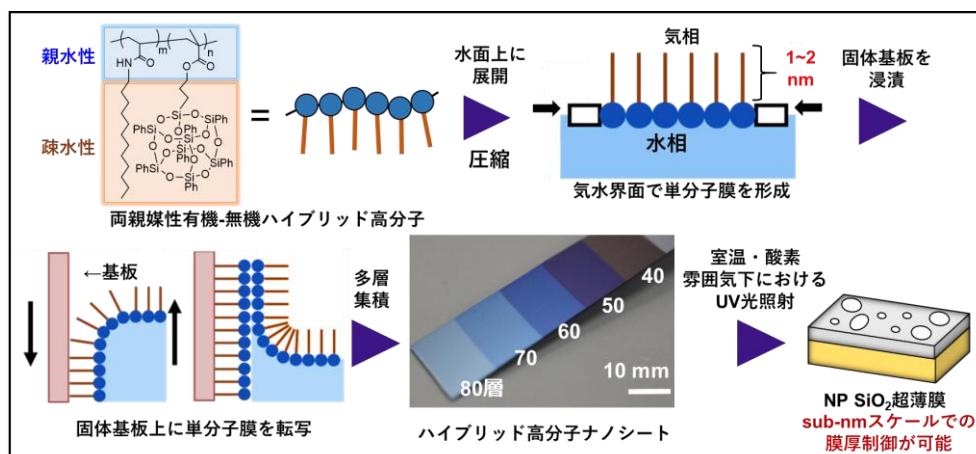
1. 緒言

ナノ多孔質(NP)薄膜材料は分子やイオンの選択分離、電気化学(バイオ)センサ、マイクロ流体デバイスなどへの応用が期待されることから近年注目を集めている。一般的に、多孔質薄膜材料の細孔サイズや細孔サイズ分布は分子やイオンの選択性に、膜厚や多孔度は透過性や処理量に大きな影響を与えることが知られている。さらに選択する分子やイオンのサイズが似ている場合には表面特性(表面濡れ性や表面電荷、分子認識など)を同時に制御する必要がある。従って、これら NP 薄膜材料の三次元ナノ構造(細孔サイズ、多孔度、膜厚)および表面特性を nm または分子スケールで制御する必要がある。本研究では一つの分子内に有機部位と無機部位を有する有機-無機ハイブリッド高分子をテンプレートとすることで三次元ナノ構造および表面特性が nm スケールで制御可能な NP SiO₂ 超薄膜の構築を検討した。

2. 結果と考察

(1) 有機-無機ハイブリッド高分子ナノシートをテンプレートとした NP SiO₂ 超薄膜の作製^[1]

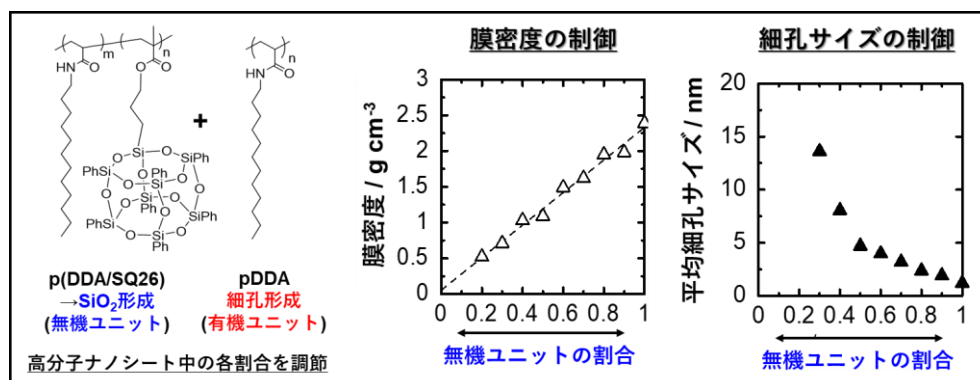
有機-無機ハイブリッド高分子ナノシートをテンプレートとすることで NP SiO₂ 超薄膜の作製を試みた。その結果、製膜手法の一つである Langmuir-Blodgett (LB)法を用いることで膜厚を nm スケール(2.3 nm layer⁻¹)で制御可能な有機-無機ハイブリッド高分子ナノシートの作製に成功した。さらに、得られた高分子ナノシートを室温・酸素雰囲気下といった非常に温和な条件下において UV 光を照射することにより(光酸化法)、sub-nm スケール(0.4 nm layer⁻¹)で膜厚制御可能な NP SiO₂ 超薄膜の作製に成功した。以上のことから、本研究内容は高温・高真空を用いない新たな NP 無機酸化物薄膜の作製手法として期待される。



(2) NP SiO₂ 超薄膜の三次元ナノ構造制御^[2]

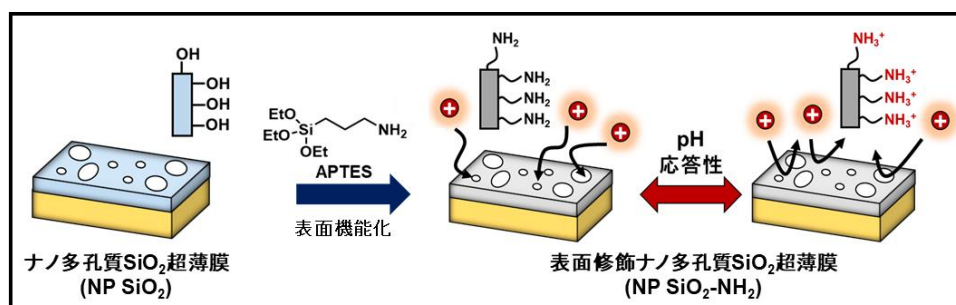
有機-無機ハイブリッド高分子ナノシート光酸化により得られる NP SiO₂ 超薄膜の三次元ナノ構造

制御を試みた。その結果、高分子ナノシート中の有機部位と無機部位の組成を調節することで、最終的に得られる NP SiO₂ 超薄膜の細孔サイズ(1.21–13.6 nm)、細孔密度 (0.52–2.39 g cm⁻³)および多孔度 (6–79 %)を nm スケールで制御することに成功した。以上のことから、本研究内容は精密に制御された細孔サイズを利用した分子分離のための選択層としての応用が期待される。



(3) NP SiO₂ 超薄膜の表面機能化と表面特性制御^[3]

三次元ナノ構造が制御された NP SiO₂ 超薄膜の表面機能化と表面特性制御を試みた。その結果、NP SiO₂ 超薄膜を pH 応答性アミン含有シランカップリング剤で表面修飾することにより NP SiO₂ 超薄膜の表面機能化に成功した。さらに、溶液 pH に応じて NP SiO₂ 超薄膜の表面特性を制御することに成功し、表面アミノ基のプロトン化/脱プロトン化に応じた電荷選択的なイオン透過性の制御を達成した。以上のことから、本研究内容は選択的なイオン/分子分離膜および電気化学(バイオ)センサなどへの応用が期待される。



3. 結言

本研究では、かご型シルセスキオキサンを無機ユニットとして有する有機-無機ハイブリッド高分子ナノシートをテンプレートとして用いることで、三次元ナノ構造(膜厚、膜密度、多孔度、細孔サイズ)および表面特性(表面電荷、表面濡れ性)を nm スケールで制御可能な NP SiO₂ 超薄膜の作製に成功した。さらに、表面機能化された NP SiO₂ 超薄膜を用いることによって、溶液 pH に応じた電荷選択的なイオン透過性の制御を実現した。以上のことから、本研究内容は、ナノ構造が制御された新たな NP 無機酸化物薄膜の設計指針を提供するとともに、NP SiO₂ 超薄膜をベースとした高選択性・高速分子分離膜や電気化学(バイオ)センサなどへの応用が期待される。

参考文献

- [1] Y. Ishizaki et al., *Langmuir*, **2018**, 34, 8007–8014.
- [2] Y. Ishizaki et al., *ACS Appl. Nano Mater.*, **2020**, 3, 7454–7461.
- [3] Y. Ishizaki et al., *to be submitted*.

アフリカツメガエル骨髄由来間葉系幹細胞の培養系の確立

医学系研究科 氏名 山口 理奈
指導教員名 出澤 真理

【背景】

間葉系幹細胞 (Mesenchymal stem cells; MSCs) は、哺乳類の体に存在する体性幹細胞のひとつであり、骨髄や脂肪などの中胚葉由来の間葉系組織に存在する。ヒトでの定義は International Society Cell & Gene Therapy による声明で定められており、プラスチックディッシュ接着性で、CD73, CD90, CD105 陽性、CD11b, CD14, CD19, CD34, CD45, CD79, HLA-DR 陰性を示し、骨細胞・軟骨細胞・脂肪細胞への分化能を有する細胞である (Dominici *et al.*, 2006, Cytotherapy)。抗炎症作用や免疫制御作用等の液性効果により、傷害組織の修復を促進することから、細胞治療の有力なソースとして利用されてきた。

MSCs は、ヒト以外にも、ヒツジ、イヌ、ネコ、ウサギ、マウス等の哺乳類、ニワトリ等の鳥類で報告されていたが、これまで両生類では報告がなかった。高い再生能力を持つ両生類の MSCs と、哺乳類の MSCs を比較することができれば、MSCs の組織修復力を亢進する因子を同定できる可能性があると考え、本研究では両生類 MSCs の同定方法や培養系を確立することを試みた。

【目的】

本研究の目的は、両生類の一種であるアフリカツメガエルの MSCs の同定方法と培養系を確立することである。

【方法・結果】

アフリカツメガエル大腿骨ならびに脛腓骨から得た骨髄は、アフリカツメガエルに適するように改変した培地、温度下で培養した。市販の培地は哺乳類の血漿浸透圧 285 ± 5 mOsmol/L に適するように作られているため、アフリカツメガエルの血漿浸透圧 250 mOsmol/L に合うように、滅菌水で希釈し使用した。また、カエル血清はカエル心臓から採血した血液を遠心し、得られた上清をろ過滅菌した上で、培地に 1% 添加した。また、変温動物であるアフリカツメガエルの体温は、生育水温に合わせて 24 °C 前後であるため、インキュベーターを 24 °C に設定し培養を行った。その結果、プラスチックディッシュ接着性かつコロニー形成能をもつ細胞を得ることができた。この細胞を 13 継代目まで培養し、細胞形態を観察した結果、5 継代目から細胞質の広がった扁平な細胞が現れ始め、13 継代目では、ほぼ全ての細胞がこのような形態に変化した。さらに各継代の細胞倍加時間を計測した結果、1 から 4 継代目では 24 時間前後を維持していたが、5 継代目以降徐々に時間が伸び、13 継代目では 50 時間に変化し、細胞形態変化後に細胞倍加時間が長くなる傾向が観察された。また、初代培養から 5 継代目までの細胞表面マーカーの発現を観察した結果、*cd44*, *cd73*, *cd90*, *cd166* 陽性 (**cd105* はアフリカツメガエルに存在しない)、*cd11b*, *cd14*, *cd19*, *cd31*, *cd34*, *cd45*, *cd79*, *hla-dr* 陰性を示した。さらに、この細胞をサイトカイン処理により骨細胞、軟骨細胞、脂肪細胞に誘導した結果、各々の細胞を特異的に染めるアリザリンレッド、アルシアンブ

ルー、オイルレッド陽性の細胞が各誘導後に観察された。また、骨細胞、軟骨細胞、脂肪細胞のマーカー遺伝子である *osteocalcin*, *type II collagen*, *ppary* の発現を観察した結果、各誘導後に各々の遺伝子の発現が観察された。

【考察・結論】

アフリカツメガエル骨髄から得たプラスチックディッシュ接着性のコロニー形成能を持つ細胞は、哺乳類 MSCs を定義する、各 *cd* マーカーの発現プロファイルを示し、骨細胞・軟骨細胞・脂肪細胞へ分化する、という条件を満たしたため、アフリカツメガエル骨髄由来 MSCs である可能性が示唆された。



陰イオン交換樹脂を固体触媒とした 糖脂肪酸エステル合成プロセスに関する研究

工学研究科 氏名 笹山 知嶺
指導教員名 北川 尚美

【背景および本研究の目的】

糖脂肪酸エステル (FaSug) は、親水性の糖 (Sug) と親油性の脂肪酸 (Fa) のエステルであり、生分解性で安全性が高いことから、主に食用乳化剤として利用されている。しかし、他の乳化剤に比べて価格が高く、そのシェアは小さい。これは、現行製造法に多くの課題があるためである。現行法では、Sug と脂肪酸メチルエステル (FaMe) を原料とし、均相塩基触媒によるエステル交換反応で製造されている。ただし、逆反応を抑制するため生成するメタノール (MeOH) を系外に留去させる減圧条件が必須、触媒が FaMe と反応して石けんを副生、反応後に触媒や石けんを除去する煩雑な精製操作が必要となる。これらがコスト高の要因と言われている。また、FaSug は Fa の炭素鎖長によって親水・親油性を制御でき、特に、炭素鎖長を短くすると静菌性が高くなるという報告がある。しかし、現行法は減圧条件が必須であるため、炭素鎖長の短い FaMe を用いると MeOH と共に留去してしまう。そのため、市販の FaSug の炭素鎖長は 12 以上に制限されている。また、Sug に関しても、還元末端を持つものは塩基触媒によって分解されるため、市販品は還元末端のないショ糖のみが用いられている。このように FaSug は、バイオマス由来で優れた特性が期待されるものの、製造法のために原料が限定され、その能力を十分に活かしていない。

本研究では、これらの課題を解決し、工業的に代替できる新たな製造法の開発を目指し、分離が容易な固体塩基触媒を用いた連続合成プロセスの構築に取り組んだ。触媒には、石けん副生がなく、大気圧下で高いエステル交換活性を示す陰イオン交換樹脂に着目した。ただし、樹脂を触媒とした FaSug 合成に関する知見はほとんどないため、本研究では目的の合成反応を進行させるための条件探索から始め、工業的なプロセス設計の指針獲得のための検討や、生成物の特性評価と原料に関する汎用性の検証、を行った。

【陰イオン交換樹脂を触媒とした合成法の開発】

特にエステル交換活性の高い強塩基性の陰イオン交換樹脂を用い、現在市販されている炭素鎖長の長い FaSug を対象として目的の合成反応が進行する樹脂の前処理条件を探索、その鍵となる操作因子を解明した。まず、回分合成実験の結果から、樹脂触媒系では目的の FaSug 合成反応に加えて、イオン交換による反応物 FaMe や生成物の分解反応も併発すること、樹脂に Sug を十分に吸着させる前処理を導入することで、目的の合成反応を優先的に進行させられること、が明らかとなった。ただし、系内の Sug 濃度が低下すると反応物や生成物の分解反応が進行しやすくなるため、系内濃度を高く保つための条件を設定する必要があることも分かった。そこで、流通系に展開し、Sug を連続的に供給したところ、系内の Sug 濃度が高く保たれ、それによって高選択率を維持して FaSug を連続合成することができた。

【樹脂触媒系における反応機構と吸着特性の解明】

生成物収率の増大を目的とし、樹脂触媒系における反応機構解析と吸着特性を解析した。まず、実験的な検討から反応機構を推察するため、塩基性度の異なる樹脂を用いて回分合成実験と、反

応物や生成物の分解実験を個別に行った。その結果、弱塩基性の樹脂では、**Sug** の吸着力は低いものの、合成反応の速度を維持したまま、両分解反応を抑制できることが分かった。そこで、この樹脂を流通系に展開して連続合成実験を行ったところ、予想に反して生成物濃度は一定にならず、次第に低下した。この要因を検討したところ、樹脂を触媒とした連続合成では **Sug** 吸着力の影響が大きく、吸着力の低い弱塩基性樹脂では流通系で **Sug** を樹脂内に十分に取り込むことができないことが分かった。したがって、回分合成では分解を抑制できる弱塩基性樹脂が、連続合成では **Sug** 吸着力の高い強塩基性樹脂が、それぞれ有効であることが明らかとなった。

【連続合成プロセスの最適化とスケールアップの検討】

現在市販されている炭素鎖長の長い **FaSug** に加え、新たに炭素鎖長の短い **FaSug** も対象として、工業的な連続合成プロセスの設計指針を獲得するための検討を行った。まず、連続合成において重要な操作因子である滞在時間の影響を検討した。その結果、従来の鎖長の長い **FaSug** では、十分な合成反応の進行のためには滞在時間を長くする必要があるが、それによって分解反応の寄与も大きくなるため、合成反応の選択率が最大となる適切な滞在時間が存在することが分かった。一方、鎖長の短い **FaSug** では、短い滞在時間でも合成反応の選択率が十分に高く分解の寄与が小さいため、時間あたりに得られる生成物量を表す生産性が著しく向上することが分かった。また、滞在時間を一定として樹脂量を変化させた連続合成実験を行ったところ、樹脂量に対して生産性を線形的に増大させられることを明らかにした。これによって、目的生産量を達成するために必要な樹脂量を推算するためのスケールアップパラメーターを獲得した。さらに、樹脂触媒は前述の両分解反応によって活性が徐々に低下するが、定期的に適切な再生処理を行うことで、収率の低下なく **FaSug** 合成に繰り返し利用できることを示した。

【生成物の特性評価と原料に関する汎用性の検証】

まず、樹脂触媒を用いる新たな手法で合成した **FaSug** を分離精製し、その特性評価を行った。専門機関による食品添加物公定書に基づく純度分析や安全性試験により、合成した **FaSug** が市販品としての規格を満たすことを確認した。また、界面活性作用や静菌作用などの機能性評価を行い、市販品と同等以上の機能性を持つことも示した。次に、樹脂の触媒活性が不純物の影響を受けにくいという知見に基づき、より安価で安全な原料として、精製糖（150 円/kg）ではなく粗糖（50 円/kg）を、毒性の **MeOH** を副生する **FaMe** ではなく安全なエタノール（**EtOH**）を副生する脂肪酸エチルエステル（**FaEt**）を用いた連続合成を行った。その結果、粗糖を用いた際の収率は、精製糖の場合とほとんど変わらず、さらに **FaEt** を用いた場合も、大きな低下は見られなかった。したがって本手法は、不純物を含む安価な粗糖や、安全性の高い **FaEt** を利用できる汎用性の高い合成法と考えられる。

【総括】

本研究で構築した樹脂を触媒としたプロセスは、現行法よりも温和な条件下で、石けんの副生なく、短い滞在時間で **FaSug** を連続合成できるため、工業的に代替可能なものであると考えられる。さらに、原料に関する汎用性が高いことや、合成した **FaSug** が市販品としての規格を満たし、同等以上の機能性を持つことも確認されている。したがって、本手法によって多彩な界面活性作用を持つ **FaSug** をより安価に製造し、化石資源由来の界面活性剤の代替を推進することで SDGs の目標 12 「持続可能な消費と生産」の達成にも貢献できると考える。

植物根に棲息する *Bradyrhizobium* 属細菌の生態に関する研究 -窒素循環機能と環境中の動態-

生命科学研究科 氏名 原 沙和
指導教員名 佐藤 修正

はじめに

Bradyrhizobium 属細菌はダイズをはじめとするマメ科植物の根粒から単離された株が多く、共生窒素固定能を持つ根粒菌として永らく認識されてきた分類群であった。しかし近年のゲノム解析などにより *Bradyrhizobium* 属細菌はこれまで考えられていたより多様な機能を持ち、様々な環境に適応していると考えられるようになってきた。例えば北アメリカの森林土壌で *Bradyrhizobium* 属細菌が 20~30% もの高い優占度を示し、その分離株は根粒形成能を欠き、芳香属化合物分解能を持つことが報告された。また、光合成能、水素酸化能を有する株が報告されていることに加え、硝酸を窒素に還元する脱窒能を有する株も多く、前述の窒素固定能力と合わせて陸域生態系における窒素循環に寄与していると考えられる。

さらに *Bradyrhizobium* 属細菌は非マメ科植物の根内・根圏で土壌に比べて高い優占度を示すことが近年報告されている。これら非マメ科植物に共生する *Bradyrhizobium* 属細菌株は、根粒菌株とは異なる生活様式を持っていると考えられるが、系統的多様性や機能といった生態に関する知見は乏しい。本研究は、イネ科植物ソルガムに共生する *Bradyrhizobium* 属細菌の窒素循環機能と土壌-植物系での動態を明らかにすることを目的とした。

ソルガムから分離した *Bradyrhizobium* 属細菌の系統と窒素循環機能の多様性

福島県二本松市の圃場で栽培したソルガム根から、低栄養選択培地を用いた直接分離法とダイズトラップ法で *Bradyrhizobium* 属細菌を分離した。ダイズトラップ法は根粒形成能を利用した方法で、ソルガム根から回収した細菌画分をダイズ種子に接種し、形成された根粒から分離した。ソルガム根からダイズトラップ法で 38 株、直接分離法で 7 株の *Bradyrhizobium* 属細菌を得た。分離株の 16S-23S rRNA 間 ITS 領域配列による系統から、根粒菌(*B. japonicum*, *B. diazoefficiens*)と土壌低栄養光合成細菌 (*B. oligotrophicum* S58 など)に加えて、日本で分離例のない株 *B. ottawaense* に近縁な株が見出された。

分離株は根粒形成能および自由生活条件における窒素固定活性から、根粒菌型・自由生活窒素固定型・非窒素固定型の 3 タイプに分けられた。*B. ottawaense* 系統群の分離株には根粒菌型と非窒素固定型が共存していた。ゲノム解析から、これらの性質の違いは共生アイランドと呼ばれる根粒共生に必要な遺伝子が集まるゲノム領域の欠損に起因していることが明らかになった。

さらに機能遺伝子保存性を分離株で比較すると、脱窒過程の遺伝子保存性に違いがあった。脱窒は $(\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2)$ の 4 段階で硝酸(NO_3^-)を窒素(N_2)まで還元する嫌気呼吸反応

である。ソルガム根由来の分離株 *B. ottawaense* は、*B. diazoefficiens* と同様に N_2O を N_2 まで還元する *nos* 遺伝子群を保有する完全脱窒型であった。

B. ottawaense の土壌-植物系における動態

B. ottawaense はカナダで分離された根粒菌であり、ソルガム根由来の *B. ottawaense* SG09 も根粒形成遺伝子群を持つ。しかし、これまでに日本の土壌から *B. ottawaense* 根粒菌が単離された報告はなかった。そこで、なぜソルガム根由来で *B. ottawaense* が分離されたのか興味を持たれた。本研究ではダイズ根粒形成能および *B. ottawaense* のソルガム根での優占度を含め、*B. ottawaense* の土壌-植物系における動態を解析した。

福島県二本松市圃場および宮城県大崎市圃場（東北大鹿島台圃場）の土壌でダイズおよびソルガムを栽培し、ダイズ根粒、ソルガム根および栽培土壌から抽出した DNA を用いて、*Bradyrhizobium* 属細菌の種組成を調査した。その結果、*B. ottawaense* は両土壌で数パーセントの相対存在比を示すが(全細菌に対する *Bradyrhizobium* 属細菌の相対存在比は 3.1~4.0% で、その 3.7~6.8% が *B. ottawaense*)、ダイズ根粒からはほとんど検出されなかった (*Bradyrhizobium* 属内の相対存在比 0.03%~1.1%)。一方、日本のダイズ根粒菌として知られている *B. diazoefficiens* は土壌の *Bradyrhizobium* 属内の相対存在比が 6.0%~21% であるが、根粒で 57~74% の高い相対存在比を示した。したがって、土壌に棲息する *B. ottawaense* は *B. diazoefficiens* と異なりダイズ根粒形成率が低いことが示唆された。そこで競合的条件における *B. ottawaense* の根粒形成能を確認する目的で、ソルガム分離株 *B. ottawaense* SG09 株とダイズ根粒菌 *B. diazoefficiens* USDA110 株と混合菌体をダイズに接種したところ USDA110 株と同等の根粒形成能を示した。これは土壌を用いた非培養法解析結果と矛盾する。そこで自然界に棲息する *B. ottawaense* の根粒形成能を明らかにする目的で、ソルガム根から新たに *B. ottawaense* を分離し共生アイランドの有無を調査した。その結果、分離した 8 株全てが共生アイランドを欠損していた。したがって、供試土壌に棲息する *B. ottawaense* のほとんどが共生アイランドを持たず、ダイズへの根粒共生能のないことが示唆された。

B. ottawaense における N_2O 還元活性と制御機構

N_2O は地球温暖化効果ガスであり、 CO_2 の約 300 倍の温暖化係数をもつ。人為的な排出源は主に農業であることから、地球温暖化を防止するためには農地からの N_2O 削減が重要である。一方、 N_2O は細菌の脱窒反応の中間産物であり、一部の細菌は N_2O を N_2 に還元する機能をもつ。*B. diazoefficiens* USDA110 株も N_2O 還元能を示し、地球温暖化防止への応用性が検討されてきた。特に USDA110 株 *nasS* 変異株では *nos* オペロンの転写が促進され、根圏の N_2O 発生が抑えられた。

N_2O を唯一の電子受容体とする嫌気培養条件で SG09 株の N_2O 還元活性を測定すると USDA110 株に比べて約 5 倍高い活性を示した。SG09 株において *nos* オペロンの発現制御系を解析すると、*nasST* 制御系が認識するターミネーター領域が USDA110 株のものとは異なっていた。さらに SG09 株の *nasS* 欠損変異体は、野生株に比べて N_2O 還元活性に有意な差は認められず、*B. ottawaense* において *NasST* を介した *nos* オペロンの発現制御が機能していないことが示唆された。以上より、*B. ottawaense* SG09 株は地球温暖化効果ガス N_2O の削減に向けての応用効果が期待される菌株であると考えられる。

カイコガ由来の生糸を用いた柔軟な骨伝導性および抗菌性材料の開発

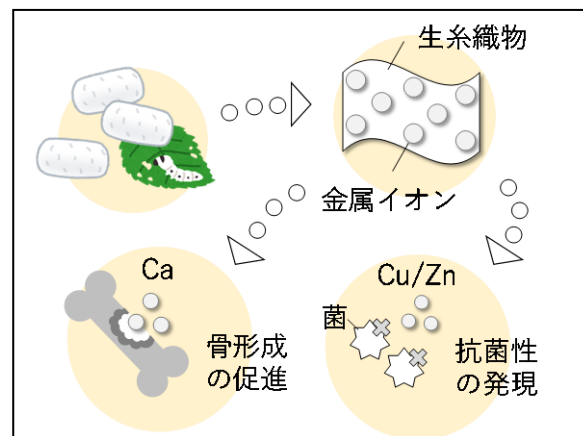
医工学研究科 氏名 千釜 広己
指導教員名 金高 弘恭

はじめに：既存の人工骨の問題点

現在日本では、高齢者の増加に伴って要介護者も増加傾向にある。その原因疾患について調べると、骨・関節疾患が一位を占めており、対応が強く求められている。これまで、ケガや病気で骨を欠損した場合は、腸骨などの自分の健全な骨を採取し、患部に埋入する「自家骨移植」がゴールドスタンダードとして行われてきた。しかし、侵襲性の高さや供給量の制限などから、近年では自家骨に代わる人工骨への需要が増えてきた。中でも、ハイドロキシアパタイトなどのセラミックス材料は骨との高い親和性を示すため、臨床で多く使用されている。しかし、セラミックス材料は一般的に変形性に乏しいことから、複雑な骨の欠損部の形状にフィットさせることが難しい。この問題を解決するため、本研究では、織物を用いた新しい埋入材料の開発を目指した。

生糸を用いた問題の解決

生糸は、カイコガ由来のタンパク質からなる天然繊維であるが、豊富な親水性アミノ酸を有し、金属との高い親和性が特徴である。従って、生糸表面には効率的に金属を導入することができる。例えば、カルシウムは、骨伝導性（生体から異物として認識されることなく材料が生体骨と一体化する性質）を向上させることが報告されているため、生糸にカルシウムを導入することができれば、高い変形性を保ちつつ、骨欠損を治療することができる材料の開発が可能になると考えた。



さらに、臨床では、手術部位において細菌が混入し、感染症を引き起こすケースが報告されている。一度細菌によって患部に炎症が生じると埋入した材料を取り出さなければならぬため、患者に多大な負担をかけてしまう。そこで、生糸に銅や亜鉛などの抗菌元素を導入すれば、手術部位における菌感染症も予防できるのではと考えた。以上より、本研究では、生糸織物に金属（カルシウム、銅、または亜鉛）を導入して、骨欠損の早期治療と手術部位の菌感染症の予防を同時に実現するフレキシブルな材料の開発を目標とした。

材料の作製

生糸織物（以下、R-Silk）を 1.0 mol/L に調製した塩化カルシウム、塩化銅、または塩化亜鉛水溶液に 36.5℃ で 24 時間浸漬させて金属の導入を試みた。その後、サンプルを超純水で軽く洗浄し、室温で乾燥させた。以下、サンプル名をそれぞれ R-Ca、R-Cu、R-Zn とする。

骨伝導性の推定

作製したサンプルの骨伝導性を調べるために、擬似体液（SBF: Simulated Body Fluid）浸漬試験を行った。一般的に、骨伝導性を示す材料は、体液中で表面にアパタイト層を形成し、アパタイト層を介して生体骨と一体化することが知られている。従って、SBF 中における材料のアパタイト形成の有無を調べることで、生体環境での骨伝導性を推定することができる。SBF 浸漬試験の結果、R-Silk、R-Cu、R-Zn は表面にアパタイト層を形成しなかったことから、生態環境で骨伝導性を示す可能性が低いことが分かった。一方、R-Ca は SBF 中で良好にアパタイト層を形成したことから、生態環境でも骨伝導性を示し、早期に骨欠損を治療し得ることが分かった。

大腸菌に対する抗菌性の評価

次に、得られたサンプルの大腸菌に対する抗菌性を調べた。大腸菌の懸濁液を少量（50 μ L）、サンプルに浸み込ませ、18 時間培養した後に大腸菌をサンプルから抽出して生存率を調べた。R-Silk は 18 時間の培養によって大腸菌の数を著しく増加させたが、R-Cu および R-Zn は大腸菌の数を大幅に減少させた。これは、材料から放出された銅または亜鉛イオンが大腸菌に対して抗菌性を示したためであると考えられる。一方、カルシウムは抗菌元素ではないため、当初 R-Ca は大腸菌に対して抗菌性を示さないと予想していたが、菌試験の結果、R-Ca も R-Cu や R-Zn と同等以上の抗菌性を示すことが分かった。この抗菌メカニズムについては、さらなる検証が必要だが、おそらく、培養液中の自由水（細菌が生存のために必要な水の種類）の割合の低下が原因ではないかと考えられる。すなわち、R-Ca から放出されたカルシウムイオンや R-Ca の表面に自由水が捕捉され、大腸菌が自由水を利用できなくなったため、間接的に抗菌性が実現したのではないかと考えられる。これは、例えば漬物などの保存食品に応用されているメカニズムであり、塩分濃度を高くすることで、塩分自体に抗菌性がなくても細菌が生存できなくなるような環境を作ることができると思われる。

ラット線維芽細胞に対する毒性の評価

最後に、サンプルの安全性を確かめるために、ラット線維芽細胞を用いた実験を行った。サンプルをそれぞれ培養液に 3 日間浸漬させ、サンプルの内容物を抽出した。その後、それぞれの抽出物が入った培養液中でラット線維芽細胞を培養し、7 日後の生存率を調べた。その結果、R-Cu および R-Zn ではラット線維芽細胞に対して致命的な毒性を示した。これは、R-Cu や R-Zn から放出された Cu または Zn イオンが細胞を攻撃したためと考えられる。一方、R-Ca はラット線維芽細胞に対してあまり毒性を示さなかった。R-Ca から Ca イオンが放出されていることが確認されたが、培養液中にはもともと多量の Ca イオンが含まれているため、サンプルから放出された Ca イオンの影響はほとんどなかったと考えられる。

おわりに

以上より、R-Ca は、早期に骨欠損を治療し、手術部位の菌感染症を予防し得る、変形性に富んだ材料として有用であることが分かった。また、工学的手法だけでなく、細菌や細胞を用いた生物学的評価を積極的に取り入れることで、当初予想できなかった R-Ca の抗菌性や、食品科学との融合の可能性を見出すことができた。

質問応答のためのエンティティ知識モデリング

情報科学研究科 氏名 鈴木 正敏
指導教員名 乾 健太郎

ユーザの入力する質問に対して適切な答えを出力する質問応答システムは、自然言語処理技術の重要な応用問題として長年の研究が続けられている。近年では、深層学習技術の急速な進展を背景に、質問応答システムの研究には、2つの大きな流れが生じている。1つは、与えられる文書を読解することによって質問の答えを導き出す「オープンブック質問応答」と呼ばれるもの、もう1つは、外部の文書や知識源を参照することなしに、あらかじめ訓練された言語モデルが保持する知識のみを頼りに質問に答える「クローズドブック質問応答」と呼ばれるものである。

研究員は博士課程の研究において、オープンブック質問応答とクローズドブック質問応答のそれぞれにおける課題について研究を行った。オープンブック質問応答に対しては、従来の問題設定に存在していた「質問は与えられる文書を読解によって必ず解答できる」という仮定を取り払い、質問の解答可能性の判別を行う文書読解モデルを提案した。提案手法により構築したモデルを応用することにより、質問応答システムの解答抽出・解答統合の性能が向上することを実験により確認した。クローズドブック質問応答に対しては、既存手法で主流となっていたモデルの大型化に頼らずに、訓練データの工夫・拡張によって質問応答性能の向上を図るデータ指向の手法を提案した。提案手法では、百科事典の文章を利用して訓練データを拡張することにより、言語モデルの質問応答性能の向上を、従来手法よりも大幅に少ないパラメータ数で実現した。

さらに、質問応答の国内における研究の裾野を広げ促進するため、質問応答システムの評価型ワークショップを開催した。本ワークショップは、投稿されるシステム同士で質問応答の性能を競わせるものであり、クイズの専門家に協力を依頼して作成したデータセットをベンチマークに利用している。本ワークショップはウェブ上での展開を基本としており、今年3月の国内学会においてシステムの最終評価を行う予定である。

極微細なナノ棒磁石の制御

工学研究科 氏名 五十嵐 純太
指導教員名 深見 俊輔

磁石には、N 極および S 極といった、磁化の向きがある。棒磁石がそうであるように、N/S の向きは、電源が無くても維持される。この特性は、メモリの世界では不揮発性と呼ばれ、近年、この磁石の性質を活かして、不揮発性メモリへの応用が活発に進められている。スピン移行トルク不揮発性磁気抵抗メモリ (STT-MRAM) と呼ばれる不揮発性メモリは、磁気トンネル接合 (MTJ) という素子によって構成されている。MTJ は、2 つの異なる薄い磁石 (強磁性体) を薄い絶縁層で挟んだ構造であり、2 つの強磁性体のうち、自由層と呼ばれる、N/S の向き (磁化方向) が制御可能な磁性層の N/S の向きを変化させ、その変化を電気抵抗の変化 (磁気抵抗効果) として読み出すことで、不揮発性メモリとして動作する。また、この自由層の N/S の向きは、磁界だけでなく、電流によっても制御可能であり、電流により、情報の読み書きが可能なことが、近年 STT-MRAM の応用が急速に進められている要因の一つだと考えられる。応用上の理由から、MTJ の自由層の N/S の向きは膜面垂直方向 (垂直磁気異方性) が望ましく、現在主流となっている MTJ は、自由層の磁石を薄くすることで、界面の効果 (界面磁気異方性) を強調し、垂直磁気異方性を実現している。この技術を用いると、十分な情報の忘れにくさ (熱安定性) を維持しつつ、直径 20 nm 程度まで MTJ の微細化が可能であるが、さらなる微細化を実現するためには、新たな材料探索等が必要だと考えられている。

近年、従来の MTJ では埋もれていた形状の効果を利用した、形状磁気異方性 MTJ が提案され、実証された。形状磁気異方性は電磁気学から導かれ、身近な例だと、棒磁石の N/S の向きを決めている。形状磁気異方性は、磁石の断面方向の縦横比が大きいほど強くなるため、形状磁気異方性 MTJ は直径 20 nm 以下の更なる微細化に適しており、また従来の MTJ ほど材料選択に制限がない。この形状磁気異方性 MTJ は、先行研究により、直径 X/1X nm の極微細なデバイスにおいて、高い熱安定性、および電流による書き込みが実証された。しかしながら、この形状磁気異方性 MTJ には、まだ未解明な点も多い。例えば、

1. 書き込み動作の際に、磁石の層は一斉に回転し、反転するのか? その限界膜厚/サイズ領域は?
2. 高温においても動作可能か?
3. 高速な電流による書き込み動作は可能か?

といったことが挙げられる。いずれも、基礎・応用両方の観点で重要である。そこで本研究では、極微細なナノ棒磁石に関して、書き込み動作に関する理解を深めることを目的として研究を行った。また、得られた知見から、ナノ棒磁石の構造を工夫することで、高い熱安定性を満たしつつ、高速かつ高効率に N/S の向きが制御可能だと実証した。研究成果発表会当日は、ナノ棒磁石がどのような特性を有しているのか、またどのようにして高効率な制御を可能としたのか、という点に関して報告する。

自閉スペクトラム症者の発話意図理解における 社会的手掛かりの効果に関する検討

医学系研究科 氏名 小林 亜紀子
指導教員名 川島 隆太

自閉スペクトラム症(Autism Spectrum Disorder; ASD)は、社会的コミュニケーションの障害と、限局的な興味などを特徴とする神経発達障害であり、他者の意図を理解することにおける困難は ASD の主な特徴の一つである。

相手に意図を伝えようとするとき、明示的な言葉が用いられない場面は多々存在する。ASD 者は特に、このような明示的でない言葉から相手の意図を理解することに困難を示すことが指摘されている。発言に込められた相手の意図を理解するためには、言葉の意味の理解に加え、その背景となる文脈的情報を考慮すること、すなわち、言語的情報の処理と文脈的情報の処理が求められる。これまでに行われてきた先行研究のほとんどは言語的情報の処理に重点を置き、文脈的情報を最小化することによって実験系を統制してきた。しかし、文脈的情報が最小化された生態学的妥当性の低い実験課題では、ASD 者が直面する困難が再現されず、実際の意図理解のメカニズムを捉えることができない可能性が指摘されている。

本研究では、現実の対人場面において、発言者の意図を理解するための重要な文脈的情報である『話者と聞き手の関係性』に着目した。『話者と聞き手の関係性』は、言語処理のごく初期に統合され、話者の態度を明らかにするなど、現実の対人場面において発言の意図を理解するために重要な役割を果たす文脈的情報の一つである。本研究の目的は、機能的磁気共鳴画像法(functional Magnetic Resonance Imaging; fMRI)を用い、『話者と聞き手の関係性』という文脈的情報を用いて発言の意図を推測し、理解しようとするときの神経メカニズムを明らかにし、この文脈的情報の処理における ASD 者の特性を明らかにすることであった。

本研究は、福井大学との共同研究として、福井大学大学院医学系研究科倫理委員会に研究実施の許可を得た。専門医による診断を受けた 21 名の ASD 者(男性 17 名 : 18-41 才)と、年齢、性別、言語性知能を統制した 20 名の健常者(男性 16 名 : 18-44 才)を対象に、本研究で独自に作成した課題を用いて fMRI 実験を実施した。課題成績を解析した結果、両群共にチャンスレベルよりも高い正答率を示した。課題時の脳画像を解析し、話者と聞き手の関係性に基づいて発言の意図を推測しているときの脳活動を抽出し、両群に共通して課題遂行に関与していた領域について解析したところ、内側前頭前野や楔前部、下前頭回、上側頭回、角回、紡錘状回、上後頭回、後頭極を含む 8 つの領域において有意な脳活動が認められた。さらに、ASD・健常者間で課題時の脳活動を比較したところ、後部帯状回に有意な群間差が認められ、課題中、健常者は後部帯状回を不活性化していた一方で、ASD 者は同領域を活性化していたことが明らかになった。

両群に共通して課題遂行に関与していた脳領域として明らかになった 8 つの領域は、文章読解形式の課題を用いた物語理解に関する神経イメージング研究において検出された領域と一致する。これらの領域は、物語理解の基盤となる言語プロセスに関与すると考えられており、本課題遂行のために用いられた言語プロセスは、ASD・健常者に共通していたと考えられる。課題時の脳活動を ASD・健常者間で比較したところ、後部帯状回に有意な群間差が認められた。後部帯状回は、

デフォルトモードネットワーク(Default mode network; DMN)と呼ばれる脳ネットワークの主要な領域の1つである。DMNに含まれる領域は、何もしていない安静時に活性化することが知られており、内省処理などの自己指向のプロセスに関与すると考えられている。特定の課題時にDMN領域が不活性化することは複数の先行研究で報告されているが、その意味については一致した見解は得られていない。本研究で用いた課題は、『話者と聞き手の関係性』という文脈的情報を用い、発言の意図を推測することを要求するものであった。本課題のように特定の認知プロセスに社会的情報に付加すると、ワーキングメモリーの負荷が大きくなり、このような課題では、記憶に関連するスキルが課題成績に影響することが報告されている。後部帯状回の不活性化は、情報をコード化し、記憶として保持することに寄与することから、健常者における同領域の不活性化は、話者と聞き手の関係性に関する情報を記憶として保持し、これを参照しながら発言の意図を推測していたことを示唆する。ASD者には、DMN領域を不活性化することの障害や、社会的情報の記憶に関連するスキルの障害が指摘されていることから、ASD者における後部帯状回の活性化は、課題遂行のために健常者が適用した認知プロセスを用いることの失敗を反映している可能性がある。しかしながら、本研究においてASD者は比較的高い課題成績を示したことから、後部帯状回における活動パターンの違いは、ASD者における同領域の機能不全というよりも、健常者とは異なる方略を用いて課題を遂行していたことを反映していると考えられる。後部帯状回の活性化は、本研究と同様の文章読解形式の課題を用いた物語理解課題で繰り返し報告されており、被験者自身の経験や知識と課題のシナリオを組み合わせ、課題を遂行するための状況モデルを構築することに寄与すると考えられている。これらの知見から、ASD者における後部帯状回の活性化は、課題中の発言を解釈するための新たなモデルを構築し、これに基づいて発言を解釈していたことを示唆する。

本研究は、『話者と聞き手の関係性』という文脈的情報を用いて発言の意図を理解しようとする際、ASD者は、健常者とは異なる後部帯状回の活動パターンを示すことを初めて明らかにした。文脈的情報処理におけるASD・健常者間の認知プロセスの違いは、両者のコミュニケーションにずれを生み、ASD者のコミュニケーションにおける困難に寄与している可能性がある。本研究は、文脈的情報処理という観点から、現実の対人場面でASD者が直面する困難を理解するための新たな神経科学的知見を提供するものとして意義を有する。