

同志社大学 2020年度

オンライン開催

講演発表と
ポスター発表の
同時開催

ハリス理化学研究所 研究発表会

2020年11月26日(木) 13:00~17:45

時刻	講演プログラム
13:00	開会挨拶 同志社大学 ハリス理化学研究所 所長 藤原 耕二
13:10	自転車運動における 骨格筋脱酸素化動態の個人差 スポーツ健康科学部 助教 高木 俊
	スレッド走を用いた活動後増強と スプリントパフォーマンスの関係 スポーツ健康科学部 助教 渡邊 裕也
14:10	感情を科学する意義 心理学部 教授 余語 真夫
	休憩10分
14:20	非線形ダイナミクスによる 新規マイクロ運動機関構築の試み 理工学部 化学システム創成工学科 准教授 山本 大吾
	全二重通信のためのブラインド型 アナログ自己干渉キャンセラ 理工学部 電子工学科 准教授 衣斐 信介
15:20	可積分系理論に基づく固有値計算法 理工学部 電子工学科 助教 新庄 雅斗
	休憩10分

ポスター発表 第一部 (※詳細は裏面)

時刻	講演プログラム
15:30	磁性をもつペプチド・ポリマーナノ粒子の 自己組織化ならびに細胞との相互作用 理工学部 機能分子・生命化学科 教授 東 信行
	細胞傷害性T細胞の 効率的培養と有用物質生産 理工学部 化学システム創成工学科 准教授 田原 義朗
16:30	Noncoding RNAによる Se含有タンパク質翻訳制御機構の解明 生命医科学部 医生命システム学科 助教 三田 雄一郎
	休憩10分
16:40	COVID-19対策における専門家会議と政府の サイエンスコミュニケーションの問題点 生命医科学部 医生命システム学科 教授 野口 範子
	がん細胞における新たな コレステロール代謝機構の発見 生命医科学部 医生命システム学科 助教 和久 剛
17:40	ペプチド-ポリマー・ハイブリッド戦略による 機能性足場材料の開発 理工学部 機能分子・生命化学科 教授 古賀 智之
17:40	閉会挨拶 委員長 長岡 直人

ポスター発表 第二部 (※詳細は裏面)

申込方法

下記URL、QRコードからお申込ください。



申込URL | <https://harris-riken.doshisha.ac.jp/lecture/presentation.html>

お申込締切日

2020年11月20日(金)



事前に申込が必要です



※お申込みいただきました後に詳細をご連絡させていただきます。

※お申込みいただきました個人情報は「2020年度ハリス理化学研究発表会」に関する管理・連絡のために利用するとともに、ハリス理化学研究所からの各種ご案内に利用させていただきます。

参加費
無料

主催 同志社大学、同志社大学ハリス理化学研究所

共催 同志社大学リエゾンオフィス

後援 (公財)関西文化学術研究都市機構、京都府、京田辺市、木津川市、久御山町、精華町、井手町、(公社)京都工業会、京田辺市商工会、城陽商工会議所、日本経済新聞社京都支社、京都新聞、日刊工業新聞社、フジサンケイビジネスアイ、(株)けいはんな、京都リサーチパーク(株)、同志社理工学会

同志社大学ハリス理化学研究所は1959年に前身である理工学研究所として発足し、今年で62年目を迎えました。年に一度開く研究発表会を今年度は初の試みでオンラインにて開催し、講演発表とポスター発表を同時進行で行います。

なお、ご視聴に関する詳細につきましては、お申込み頂いたメールアドレスに事前にお知らせいたします。是非ご覧ください。

ハリス理化学研究所研究発表会 ポスター発表

第一部 13:00~15:20

藻類由来金属マイクロコイル分散発泡シートの6G電波吸収特性

ハリス理化学研究所 教授 彌田 智一

Are Pubertal Age, Sexually-related Milestones, Libido, and/or Adult Personality Traits Related to Fecundity?

ハリス理化学研究所 教授 Philip TROMOVITCH

抗腫瘍活性を有するノルスペルミジンのDNAへの作用:DNAの高次構造変化と遺伝子発現活性

理工学部 化学システム創成工学科 教授 土屋 活美

生命医科学部 医情報学科 准教授 貞包 浩一郎

(大学院 生命医科学研究科 博士後期課程 2年次) 西尾 天志

Does word positivity attract our spatial attention?

生命医科学部 医情報学科 教授 小林 耕太

(大学院 生命医科学研究科 博士前期課程 1年次) 田中 啓詩

サイクロン分離・蒸発器を有するCO₂冷凍システムの性能評価

理工学部 機械システム工学科 教授 山口 博司

(大学院 理工学研究科 博士前期課程 2年次) 脇本 浩幸

急縮小・急拡大管内を流動する磁気粘弾性流体の粘弾性に着目した数値解析

理工学部 機械システム工学科 教授 山口 博司

(大学院 理工学研究科 博士後期課程 2年次) 田澤 拓也

第二部 15:30~17:40

細胞様構造の自己創生の実空間モデリング:自律的マイクロ相分離

生命医科学部 医工学科 教授 剣持 貴弘

(大学院 生命医科学研究科 博士前期課程 1年次) 黒田 真帆

木粉・セルロースファイラー入り難燃樹脂の機械加工特性

理工学部 機械理工学科 教授 青山 栄一

理工学部 機械システム工学科 教授 廣垣 俊樹

(大学院 理工学研究科 博士後期課程 1年次) 尾崎 信利

二軸押出機を用いた伸長流動によるPP/SEBSポリマーブレンドの分散混合に関する研究

理工学部 機械システム工学科 教授 笹田 昌弘

理工学部 機械理工学科 教授 田中 達也

(大学院 理工学研究科 博士前期課程 2年次) 松岡 京甫

ZrC/ZrB₂系コンポジットの合成同時焼結と機械的特性評価

理工学部 機能分子・生命化学科 教授 廣田 健

理工学部 機能分子・生命化学科 教授 加藤 将樹

(大学院 理工学研究科 博士前期課程 2年次) 松本 快

熱可塑性樹脂粒子を添加したCFRPの摩擦・摩耗特性の把握

理工学部 機械システム工学科 教授 松岡 敬

理工学部 機械理工学科 准教授 中村 守正

理工学研究科 連携大学院客員教授 内藤 公喜

(大学院 理工学研究科 博士前期課程 1年次) 友藤 豪

添加粒子の違いによるマグネシウム基複合材料のトライボロジー特性への影響

理工学部 機械システム工学科 教授 松岡 敬

理工学部 機械理工学科 准教授 中村 守正

理工学研究科 連携大学院客員教授 染川 英俊

(大学院 理工学研究科 博士前期課程 1年次) 國近 まりや

2020年度 同志社大学ハリス理化学研究所研究発表会

日時 2020年11月26日(木) 13:00~17:45
オンライン開催

◆ 目 次 ◆

○印は講演者 (敬称略)

部門研究/研究助成金成果発表

自転車運動における骨格筋脱酸素化動態の個人差	○高木俊 …………… 1
スレッド走を用いた活動後増強とスプリントパフォーマンスの関係	○渡邊裕也・後岡直樹 …………… 4
感情を科学する意義	○余語真夫・金明哲・八木匡・多田実・ 大平英樹・中村靖子・石倉忠夫・ Philip TROMOVITCH・力丸裕・金子学・ 田中克明・新美暁子 …………… 8
非線形ダイナミクスによる新規マイクロ運動機関構築の試み	○山本大吾・貞包浩一郎・剣持貴弘・ 彌田智一・土屋活美 …………… 12
全二重通信のためのブラインド型アナログ自己干渉キャンセラ	○衣斐信介・岩井誠人 …………… 17
可積分系理論に基づく固有値計算法	○新庄雅斗 …………… 23
磁性をもつペプチド・ポリマーナノ粒子の自己組織化ならびに細胞との相互作用	○東信行・成松清士郎・奥村穂・ 古賀智之 …………… 27
細胞傷害性 T 細胞の効率的培養と有用物質生産	○田原義朗 …………… 33
Noncoding RNA による Se 含有タンパク質翻訳制御機構の解明	○三田雄一郎 …………… 35
COVID-19 対策における専門家会議と政府のサイエンスコミュニケーションの問題点	○野口範子 …………… 39
がん細胞における新たなコレステロール代謝機構の発見	○和久剛・萩原透・渥美友里・ 田村奈都子・浦野泰臣・小林聡 …………… 43
ペプチド-ポリマー・ハイブリッド戦略による機能性足場材料の開発	○古賀智之・川村一朔・西村慎之介・ 瀧由貴子・外園尚暉・東信行・ 山本浩司・森田有亮 …………… 47

Inter-individual differences in muscle deoxygenation during cycling exercise

Shun TAKAGI*

(Received September 18, 2020)

The aim of this study was to compare quadriceps muscle O₂ dynamics between aerobic capacity-matched subjects without (NAP) and with (AP) attenuation point in deoxygenated-hemoglobin concentration at vastus lateralis (AP_{Deoxy-Hb@VL}) during ramp cycling exercise. Relative changes from rest in deoxygenated-hemoglobin concentration (Deoxy-Hb) were monitored at the vastus lateralis (VL), rectus femoris (RF), and vastus medialis (VM) by near infrared spatial resolved spectroscopy during cycling exercise. Cardiac output and pulmonary VO₂ were also continuously measured. At VL and VM, a significantly higher slope of Deoxy-Hb was found in NAP than AP during high intensity exercise. At RF during high intensity exercise, the slope of Deoxy-Hb tended to be higher in NAP than AP. During moderate intensity exercise, the slopes of Deoxy-Hb were similar between groups at all measurement sites. While the slope of pulmonary VO₂ was similar between groups, the slope of CO was lower in NAP than AP during high intensity exercise. These results suggest that the slope of muscle deoxygenation was not attenuated at the other thigh muscles in NAP, compared to AP during high intensity exercise. The differences in subjects with and without AP_{Deoxy-Hb@VL} may not be explained by muscle deoxygenation in other thigh muscles.

Key words : near infrared spectroscopy, muscle O₂ dynamics, inflection point, regional difference

キーワード : 近赤外分光法, 筋酸素ダイナミクス, 変曲点, 部位差

自転車運動における骨格筋脱酸素化動態の個人差

高木 俊

1. はじめに

運動時の活動筋における酸素消費量の増加は、酸素需要に見合う酸素供給の増加によって引き起こされる。しかしながら、運動強度の増大に伴い、酸素需要の増大に対する酸素供給の増大が十分に追従できなくなる。そのため、自転車運動の下肢においては、運動強度の増大に伴い骨格筋の脱酸素化が直線的に亢進すると一般的に考えられている。

しかし実際には、運動強度の増大に伴いすべての骨格筋において直線的に脱酸素化が亢進するわ

けではない¹⁾。自転車運動の主働筋の一つである外側広筋においては、中等度強度付近では脱酸素化ヘモグロビン濃度 (Deoxy-Hb) が直線的に増大するが、高強度運動時には Deoxy-Hb の増大が停滞することが知られている (Fig. 1A)。しかしその一方で、10-30%程度の対象においては、外側広筋における Deoxy-Hb の増大が停滞するポイント (AP_{Deoxy-Hb@VL}) が確認されないことも報告されている (Fig. 1B)^{2,3)}。AP_{Deoxy-Hb@VL} の発生や有無に関するメカニズムは現時点で不明であるが、外側広筋

*Faculty of Health and Sports Science, Doshisha University, Kyoto
Telephone: +81-774-65-7528, E-mail: shtakagi@mail.doshisha.ac.jp

以外の骨格筋における脱酸素化 (O_2 extraction の亢進) の相違によって説明できる可能性がある。外側広筋における脱酸素化は、動脈硬化性疾患の発症と関連する体力指標である最高酸素摂取量 (Peak VO_2) と相関関係があり⁴⁾、運動トレーニングの効果判定指標としての応用が期待されている。そのため、運動中の骨格筋脱酸素化動態の個人差とその要因を理解することは重要である。本研究では、自転車運動の主働筋である大腿四頭筋における自転車運動の脱酸素化動態を $AP_{Deoxy-Hb@VL}$ が確認される対象と確認されない対象で比較することを目的とした。本研究では、 $AP_{Deoxy-Hb@VL}$ が確認されない対象においては、大腿四頭筋の外側広筋以外の筋における脱酸素化の亢進が減弱すると仮説を立て検証した。

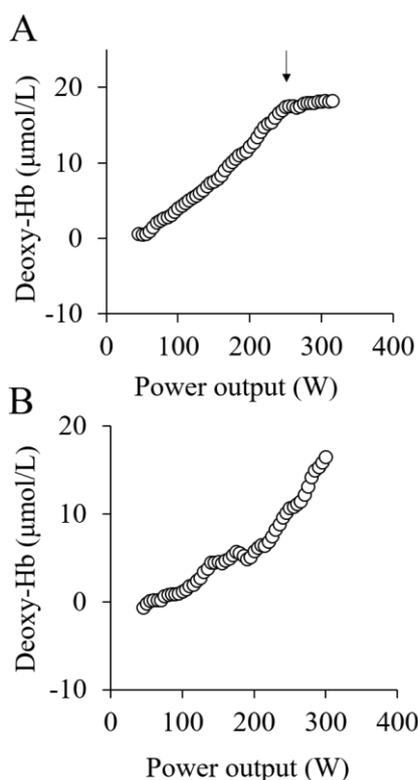


Fig. 1. Representative changes in deoxy-Hb at vastus lateralis muscle during ramp cycling exercise until exhaustion with (A) and without (B) attenuation point. A down-pointing arrow indicates the attenuation point.

2. 対象および方法

2-1. 対象および運動負荷

健康な若年成人男性 23 名 (21 ± 1 歳) を対象として、自転車エルゴメーターを用いたランブ負荷自転車運動を疲労困憊まで実施した。

2-2. 測定項目

近赤外空間分解分光法により外側広筋 (VL)、大腿直筋 (RF)、内側広筋 (VM) における脱酸素化ヘモグロビン濃度 (Deoxy-Hb) 及び筋酸素飽和度 (SmO_2) を、Breath-by-breath 法による呼気ガス分析によって酸素摂取量 (VO_2) 二酸化炭素排出量、呼吸交換比を、胸郭インピーダンス法により心拍出量 (CO) および心拍数 (HR) を、それぞれ運動中に連続的に測定した。Deoxy-Hb 及び SmO_2 測定部位における脂肪層を超音波 B モード法にて測定し、光の散乱が近赤外分光法により取得したデータに及ぼす影響を光学的に補正した⁵⁾。最大運動時に自覚的運動強度を、運動直後に動脈血酸素飽和度 (SpO_2) をそれぞれ評価した。測定した酸素摂取量から最高酸素摂取量 (Peak VO_2) を決定した。Peak VO_2 はインピーダンス法にて評価した除脂肪体重にて補正した。

2-3. $AP_{Deoxy-Hb@VL}$ の決定と評価方法

Deoxy-Hb データを 10 秒毎に平均化した上で 50% peak VO_2 時点から疲労困憊時点までのデータに対して最小二乗法による二直線回帰にて変曲点を決定した⁶⁾。高強度運動側の回帰直線の傾きが中等度強度側の回帰直線の傾きよりも小さい場合、 $AP_{Deoxy-Hb@VL}$ ありと定義した。結果的に、23 名中 5 名において $AP_{Deoxy-Hb@VL}$ が確認されなかった。測定時のノイズ等の理由により変曲点を精度よく決定できなかった 5 名を除外して、 $AP_{Deoxy-Hb@VL}$ なし群 (NAP 群, n=5) と $AP_{Deoxy-Hb@VL}$ あり群 (AP 群, n=13) において各測定項目を比較した。また、AP 群における $AP_{Deoxy-Hb@VL}$ が 72-84% peak VO_2 の範囲で確認されたため、中等度強度運動時 (55-70% peak VO_2) 及び高強度運動時 (85-100% peak VO_2) において各測定項目における傾きを評価した。

3. 結果及び考察

Deoxy-Hb および SmO₂ の平均値に関しては、すべての運動強度におけるすべて測定項目において、有意な群間差を認めなかった。

高強度運動時の VL における傾きは、NAP 群において Deoxy-Hb が有意に高値を示し、SmO₂ が有意に低値を示した。RF における傾きは、高強度運動時に両群ともに Deoxy-Hb が増大し、SmO₂ が減少した。しかし、高強度運動時の Deoxy-Hb の傾きは、NAP 群にて高値の傾向を示した。高強度運動時の VM における傾きは NAP 群において Deoxy-Hb が有意に高値の傾向を認め、SmO₂ が有意に低値であった。高強度運動時における VO₂ および HR の傾きには群間に有意な差を認めなかったが、CO の傾きについては NAP 群において有意に低値を示した。本研究の仮説とは異なり、NAP 群においては高強度運動時において VL 以外の骨格筋にて脱酸素化の亢進が减弱せず、むしろ AP 群に比較して亢進する傾向であった。そのため、外側広筋以外の他の大腿四頭筋における脱酸素化 (O₂ extraction の亢進) によって、AP_{Deoxy-Hb@VL} の有無を説明できない可能性が示唆された。

中等度強度運動時の傾きにはすべての測定項目において群間に有意差を認めなかった。また、年齢、身長、体重、体脂肪率、除脂肪体重、筋酸素動態測定部位における脂肪厚・筋厚、除脂肪体重あたりの peak VO₂、最大仕事量には群間に有意差は認めなかった。さらに、最大運動時における呼吸交換比、HR、自覚的運動強度及び運動直後の SpO₂ においても群間に有意な差が確認されなかった。したがって、これらの要因によっても本研究で観察された AP_{Deoxy-Hb@VL} の有無を説明できないものと考えられる。

本研究の一部は、2019 年度同志社大学ハリス理化学研究所助成金によって実施された。ここに記して謝意を示す。

参考文献

- 1) S. Takagi, R. Kime, M. Niwayama, N. Murase, T. Katsumura, “Muscle oxygen saturation heterogeneity among leg muscles during ramp exercise”, *Advances in experimental medicine and biology*, **765**, 273-278 (2013).
- 2) R. Belardinelli, T. J. Barstow, J. Porszasz, K. Wasserman, “Changes in skeletal muscle oxygenation during incremental exercise measured with near infrared spectroscopy”, *European journal of applied physiology and occupational physiology*, **70**[6], 487-492 (1995).
- 3) L. F. Ferreira, S. Koga, T. J. Barstow TJ, “Dynamics of noninvasively estimated microvascular O₂ extraction during ramp exercise”, *Journal of applied physiology*, **103**[6], 1999-2004 (2007).
- 4) S. Takagi, “Skeletal muscle oxygen dynamics and peak aerobic capacity”, *The Journal of Physical Fitness and Sports Medicine*, **5**[5], 379-383 (2016).
- 5) M. Niwayama, H. Suzuki, T. Yamashita, Y. Yasuda, “Error factors in oxygenation measurement using continuous wave and spatially resolved near-infrared spectroscopy”, *The Journal of Japanese College of Angiology*, **52**, 211-215 (2012).
- 6) E. C. Inglis, D. Iannetta, J. M. Murias JM, “The plateau in the NIRS-derived [HHb] signal near the end of a ramp incremental test does not indicate the upper limit of O₂ extraction in the vastus lateralis”, *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, **313**[6], R723-R729 (2017).

Relationship Between Sprint Performance and Post-Activation Potentiation Induced by Sled Towing

Yuya WATANABE*, Naoki USHIROOKA*

(Received September 16, 2020)

It is known that moderate to high intensities conditioning activities can acutely enhance subsequent athletic performance given adequate recovery. This phenomenon is called post-activation potentiation (PAP). We hypothesized that the application of PAP would contribute to better sprint performance. PAP occurs mainly in agonist muscles in conditioning activities. Thus, to enhance sprint performance, mobilization of the agonist muscles of the sprint movement is needed. Sled towing, which puts a load on the sprint movement, is considered a good choice for causing sprint-specific PAP. We designed a study comparing the effects of heavy sled towing (70% body weight), light sled towing (30% body weight), and squats (70% 1-repetition-maximum) on sprint performance.

Key words : enhancing athletic performance, resisted sprint training, warming-up strategy

キーワード : パフォーマンス向上, レジステッドスプリントトレーニング, ウォーミングアップ

スレッド走を用いた活動後増強とスプリントパフォーマンスの関係

渡邊 裕也, 後岡 直樹

1. はじめに

筋力や筋パワーなどの体力要素は優れたパフォーマンス発揮の基盤となる。そのため、多くのスポーツ競技において、パフォーマンス向上につながる基礎体力を獲得するために各種トレーニングが行われている。なお、各種トレーニングを継続的に実施することで対応する体力要素が増強することは広く知られている。標的となる筋に負荷を課すレジスタンストレーニングは筋力増強や筋肥大を引き起こし、一定以上の強度の有酸素トレーニングは全身持久力を向上させることは自明である。スプリント競技においては最大疾走スピードをいかに向上させるかがパフォーマンスに大きく関係し、それを高めるために筋力や筋パワーの向上は重要と考えられている。

また、中-高強度の運動課題を実施することで、筋および神経が刺激され、一時的に運動パフォーマンスが向上することが知られている¹⁾。これを活動後増強 (Post-activation potentiation : PAP) と呼ぶ。PAP は一定期間トレーニングを繰り返すことで獲得される運動機能の向上とは全く異なる短期的な適応であり、その効果は一時的なものである。PAP の主要なメカニズムとして、ミオシン調節軽鎖のリン酸化、高次運動単位動員の増加、羽状角の減少が挙げられる。ミオシンは ATP を加水分解し、それによって得られるエネルギーを用いてアクチンと相互作用することで張力を発揮する。運動課題の実施により、ミオシンの調節軽鎖がリン酸化されることでその機能が活性化し、筋の張力が高まると考えられている²⁾。高次運

*Faculty of Health & Sports Science, Doshisha University, Kyoto
Telephone and FAX: +81-774-65-6720, E-mail: yuwatana@mail.doshisha.ac.jp

動単位の増加については、強縮を伴う運動課題が大きな α 運動ニューロンで発生する活動電位の伝達障害を減少させることにより、TypeII線維の動員率が増加するとされている³⁾。筋の作用軸と筋線維の走行がなす角を羽状角と呼ぶが、羽状角が小さいほど筋の収縮効率は高いことが知られている。先行研究では、等尺性最大筋力発揮の数分後に羽状角の減少が認められたという報告がある⁴⁾。これらの現象が複合的に関与することでPAPは発生すると考えられる。

PAPを活用することで、より高い運動パフォーマンスの発揮が可能になるかもしれない。PAPは主に運動課題の主働筋で起こるため、運動パフォーマンス向上を引き起こすには標的となる動作と同一の主働筋を持つ運動課題が必要となる。一般的には、PAPを引き起こす運動課題としてスクワットなどのレジスタンスエクササイズが用いられるケースが多く、中程度の負荷〔最大挙上重量（One repetition maximum：1RM）の60-84%〕で複数セット実施した場合に増強効果が高いとされている⁵⁾。股関節伸展筋力がスプリントパフォーマンスと有意な相関関係を持つこと⁶⁾を考慮すると、股関節伸展筋群を主働筋とするスクワットによるPAPはスプリントパフォーマンスの向上をもたらすことが可能と考えられる。しかしながら、スクワット動作はスプリント動作と完全に同一ではない。スプリント動作そのものに負荷を与える方法としてスレッド走（Sled towing）が知られている。これはそりを牽引しながら走るレジスタンススプリントトレーニング（負荷を課したスプリントトレーニング）の一種である。PAPによるスプリントパフォーマンス向上を試みる場合、スレッド走を運動課題として採用するのがより効果的であると予想される。

これまで、スクワットやスレッド走を運動課題としたPAPとスプリントパフォーマンスの関係を検討した研究^{7,8)}は行われているが、中程度の負荷、複数セットの2条件を満たしているものは限られている。そこで本研究では、この2条件を満たすスクワットおよびスレッド走を用いた運動課題がスプリントパフォーマンスに与える即時的影響を調査し、種目別の効果を比較することを目的とする。

2. 方法

2.1 研究の概要

対象者は、30mスプリント走（Pre）、運動課題、30mスプリント走（Post）で構成される一連の実験プロトコルを実施する。運動課題は2種類の負荷のスレッド走（体重の30%および70%の負荷）と、スクワット（70%1RM）の3種類とする（詳細は後述）。PreとPostのスプリントパフォーマンスの変化を3種類の運動課題で比較し、パフォーマンス向上に貢献する運動課題を探索する。対象者は2日以上の間隔をあけて3種類すべての運動課題を実施する。なお、運動課題の順序は無作為に割り付ける。

本研究は、同志社大学「人を対象とする研究」に関する倫理審査委員会の承認を経て実施される（承認番号：20010）。

2.2 対象者

本研究では、より正確なデータを安全に取得する観点から男子大学生陸上競技選手を対象とする。対象者の募集においては、研究の目的、実施内容、手順、リスクとともにいつでも不利益を被ることなく参加辞退できることを口頭および文書で説明し、研究実施前にすべての対象者から、同意書に自署名を得る。

2.3 運動課題

本研究では、PAPを発生させるための運動課題として、スレッド走ならびにスクワットを実施する。

1) スレッド走

スレッド走はそりを牽引しながら走ることでスプリント動作に負荷を与える方法である（Fig.1）。本研究では体重の30%および70%の負荷を用いる。両負荷ともに15mの走行を3セット実施する。セット間の休息は90秒とする。なお、いずれのセットも全力で行う。

2) スクワット

スクワットはバーベルを用いたバックスクワットとする。対象者はバーベルを首の後方で担ぎ、肩幅程

度のスタンスで完全にしゃがみ込むポジションまで腰を落とし、股関節および膝関節が完全に伸展するポジションまで挙上する。負荷は 1RM の 70%とし、3 回を 3 セット実施する。安全面に留意しつつ、可能な限りすばやく挙上するよう指示し、下降の速さは任意とする。なお、セット間の休息は 90 秒とする。



Fig. 1. Sled towing.

2. 4 スプリントパフォーマンスの評価

運動課題の前後に 30m スプリント走を実施し (Pre および Post), タイムを計測する。タイムの計測地点は、10m, 15m, 30m 地点とする。また、スプリント走の動画を撮影する。得られたタイムならびに動画情報から各区分における平均ピッチと平均ストライドを求める。なお、各区分の平均ピッチはスタートお

よび各区分を通過した直後の接地を 1 歩目とし、次の区分を通過した直後の接地までの歩数と所要時間から算出する。平均ストライドは区分距離を区分タイムで除することによって算出された平均疾走速度を、平均ピッチで除することにより得る。

2. 5 実験手順

対象者は、事前測定において身長、体重、スクワットの 1RM を計測する。得られた体重と 1RM の数値から各運動課題における負荷を決定する。事前測定後 2 日以上の間隔をあけて、PAP の効果を検証する実験を行う。

実験ではまず、20 分間のウォーミングアップを行い、3 分間の休息後に Pre のスプリント走を行う。その後、15 分間の休息を経て運動課題を実施する。運動課題実施後、8 分間の休息をはさみ、Post のスプリント走を測定する。実験のフローを Fig. 2 に示した。

2. 6 統計処理

得られたデータの運動課題間の差の検定は、繰り返しのある二元配置分散分析 (Two-way ANOVA) を用いて行う。すべての検定において $P < 0.05$ を有意とする。統計処理は SPSS (IBM SPSS Statics ver.26.0, 日本 IBM, 日本) を用いて行う。

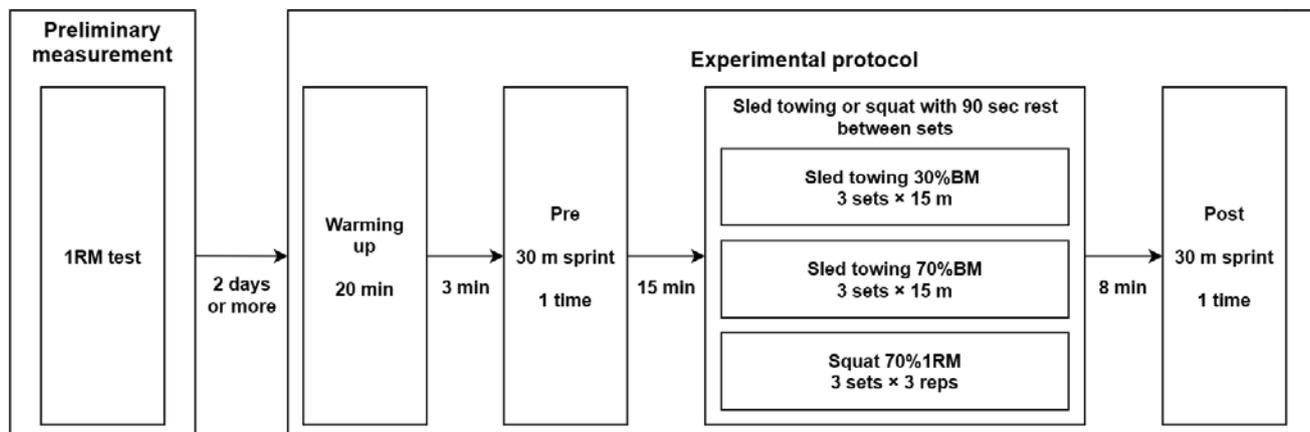


Fig. 2. A flow chart of the current study.

1RM: One-repetition maximum, BM: Body weight.

3. 予備実験の結果と考察

本実験に先駆けて行った予備実験の結果を紹介する。予備実験では男子大学生陸上競技選手 2 名が体重の 70%の負荷で行うスレッド走を運動課題としたプロトコルを実施した。2 名のスプリントタイムの平均は Pre が 3.750 秒, Post が 3.696 秒であり, 1.43%のタイム短縮が観察された (Fig. 3)。

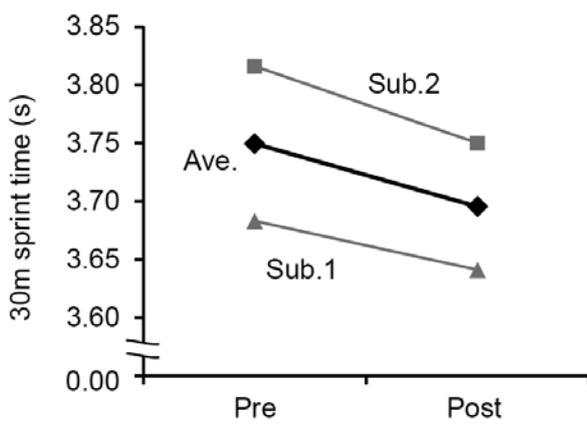


Fig. 3. Changes in 30m sprint.

Sub.: Subject, Ave.: Average.

4. 結論

先行研究の情報ならびに予備実験の結果を踏まえると, 体重の 70%負荷で行うスレッド走がスプリントパフォーマンス向上につながる可能性が期待される。さらに動画の情報を解析することでパフォーマンス向上に至った背景を考察することが可能となる。

本研究は, 2020 年度同志社大学ハリス理化学研究所助成金によって実施される。

参考文献

- 1) L. P. Kilduff, H. R. Bevan, M. I. Kingsley, N. J. Owen, M. A. Bennett, P. J. Bunce, A. M. Hore, J. R. Maw, D. J. Cunningham, “Postactivation Potentiation in Professional Rugby Players: Optimal Recovery”, *J Strength Cond Res*, 21(4), 1134-1138 (2007).
- 2) J. S. Davis, C. L. Satorius, N. D. Epstein, “Kinetic Effects of Myosin Regulatory Light Chain Phosphorylation on Skeletal Muscle Contraction”, *Biophys J*, 83(1), 359-370 (2002).
- 3) N. A. Tillin, D. Bishop, “Factors Modulating Post-Activation Potentiation and Its Effect on Performance of Subsequent Explosive Activities”, *Sports Med*, 39(2), 147-166 (2009).
- 4) K. Mahlfeld, J. Franke, F. Awiszus, “Postcontraction Changes of Muscle Architecture in Human Quadriceps Muscle”, *Muscle & Nerve*, 29(4), 597-600 (2004).
- 5) J. M. Wilson, N. M. Duncan, P. J. Marin, L. E. Brown, J. P. Loenneke, S. M. Wilson, E. Jo, R. P. Lowery, C. Ugrinowitsch, “Meta-Analysis of Postactivation Potentiation and Power: Effects of Conditioning Activity, Volume, Gender, Rest Periods, and Training Status”, *J Strength Cond Res*, 27(3), 854-859 (2013).
- 6) 渡邊信晃, 榎本靖士, 大山卞圭悟, 宮下憲, 尾懸貢, 勝田茂, “スプリント走時の疾走動作および関節トルクと等速性最大筋力との関係”, *体育学研究*, 48, 405-419 (2003).
- 7) L. B. Seitz, G. S. Trajano, G. G. Haff, “The Back Squat and the Power Clean: Elicitation of Different Degrees of Potentiation”, *Int J Sports Physiol Perform*, 9(4), 643-649 (2014).
- 8) M. A. Wong, I. J. Dobbs, C. M. Watkins, S. R. Barillas, A. Lin, D. C. Archer, R. G. Lockie, J. W. Coburn, L. E. Brown, “Sled Towing Acutely Decreases Acceleration Sprint Time”, *J Strength Cond Res*, 31(11), 3046-3051 (2017).

Significance of Science of Emotions

Masao YOGO*, Mingzhe JIN, Tadashi YAGI, Minoru TADA, Hideki OHIRA, Yasuko NAKAMURA, Tadao ISHIKURA,
Philip TROMOVITCH, Hiroshi RIQUIMAROUX, Manabu KANEKO, Katsuaki TANAKA, and Akiko NIIMI

(Received September 18, 2020)

Emotions such as love, anger, fear, sadness, happiness seem to play important role of our lives. Our research team has attempted to understand scientifically the role of emotions in our lives. Over the last decade, there has been a revolution in the scientific understanding of emotions. For example, according to the Psychological Construction Theory of Emotions (Barrett, 2017), there is no specific neural circuit for each of the various emotions such as anger, sadness, and happiness. According to that view, much of the traditional scientific understanding of emotions is wrong. In this paper, we consider the significance of scientifically understanding emotions. The consideration suggests potential challenges for future scientific research. The truth discovered by common sense and science in the human world is not always in match.

Key words : emotions, science, common sense,

キーワード : 感情, 科学, 常識

感情を科学する意義

余語真夫*, 金 明哲, 八木 匡, 多田 実, 大平英樹, 中村靖子, 石倉忠夫,
Philip TROMOVITCH, 力丸 裕, 金子 学, 田中克明, 新美暁子

1. 「心」

「心理学」「行動科学」「精神病理学」「精神神経内分泌免疫学」「認知神経科学」「行動経済学」などが模範とする「物理学」の主たる目的は、人間の恣意的な理解や解釈を排して、自然界の諸現象

の普遍的な法則を発見すること、そして物質をより基本的な要素に還元して自然界の諸現象の成り立ちやふるまいを説明することである。

もちろん物理学では、「なぜ宇宙の膨張は加速しているのか」といった、我々人間が日常生活では認識不可能な諸現象の謎に挑んでいる。しかし、

*Faculty of Psychology, Doshisha University
Email: myogo@mail.doshisha.ac.jp

この場合、「宇宙」という實在、「膨張」「加速」の實在が客觀的に公認されている。

一方、「心」についてはどうなのか。「心」なるものが實在すると断言できる明瞭な科学的根拠はない。仮に「心」なるものが實在するとするならば、物理学に倣って、各種の客觀的尺度（質問紙、面談、自律神経系の応答の計測、中枢神経系の作動の計測、行動観察など）の觀測を通して、「心」を可識化できるのだろうか。また、上述したように「行動」を理解することにより、背後あるいは水面下に潜む「心」なるものを推定し、理解することはできるのか。

「心理学」「行動科学」「精神病理学」「精神神経内分泌免疫学」「認知神経科学」「行動経済学」などと名乗る実証科学のジャンルは、今日では十分に市民権を得ているように思われる。それらの実証科学の専門家の多くを含め、人々が共有していると思われる大前提の一つは、「心」なるものが實在するという見識であろう。

「心」は實在するという前提が社会的に共有されているがゆえに、利用可能な実験法と測定法を駆使し、還元論的に探れば「心」の真相を解明できる、と人々は樂觀的希望を抱いているように見受けられる。また、「心」なるものは實在するが、現代の技術レベルではそれに直截アクセスして可識化できないので「行動」を客觀的に觀察することによって「心」なるものを推定するのだという言説もある。

しかしながら、果たして、こうした見識は科学的であると言えるのだろうか。正当な科学的な見識では、まず、「心」なるものが實在するという前提を疑うべきであると考えられる。

哲学者の河野（2011）は述べている。「これまでの心理学や脳科学は、次のような想定に立っていなかっただろうか。すなわち、心のはたらきには、基本的な単位のようなもの、言い換えるならば、心を建築物に例えるならば、その資材となっているような単位があるという想定である。たとえば、知覚は、要素的な感覚からできているという想定。感情といえば、喜怒哀楽のような基礎的で単純な

感情があるという想定、思考というものも、何かある一定の区切りのような機能が自ずと存在するという想定である。しかし、よく考えてみれば、そのような単位が存在すると仮定する必要はないし、どのように定めようとそうした基本的單位に必然性があるとも思われない。」（p.48）。つまり、「心」という概念も、様々な「行動」を記述する概念も、「認知」や「感情」や「知覚」などの概念も、普遍的な真実ではなく、恣意的な定義である、ということだ。

さらに言えば、「心」という概念は多義的な日常語なので、科学研究を推進するためには改めて目的とする事象について世界共通の定義をする必要があると考えられる。現状では「心」という概念は「心」「魂」「情」「情念」「マインド」「精神」などの概念のコンプレックス（複合体）であり、科学研究には馴染まない。

2. 「感情」

上述した事柄は、「感情」なるものについても該当する。近年、とりわけ「行動経済学」という学術ジャンルで注目が沸騰している「感情」にも該当する。

事実、日本国内では「感情」と「経済学」を掛け合わせた単行本（和訳書も含む）が多数出版されている。たとえば、「行動経済学—経済は『感情』で動いている」（友野、2006）、「経済は感情で動く—はじめての行動経済学」（モッテルリーニ、2008）、「世界は感情で動く」（モッテルリーニ、2009）、「行動経済学—感情に揺れる経済心理」（依田、2010）、「お金と感情と意思決定の白熱教室—楽しい行動経済学」（アリエリー、2014）、「人は感情でモノを買う」（伊勢、2015）、「私たちの“感情”と“欲望”は、いかに資本主義に偽造されているか？—新自由主義社会における＜感情の構造＞」（ロルドン、2016）、「愛と怒りの行動経済学—賢い人は感情で決める」（ヴィンター、2019）など、である。

例として上掲した本の著者らは学者である。しかしながら、それらの本で語られている「感情」

は人間に自明に存在する「心」のはたらきであることが前提となっており、そのうえ著者によって「感情」という概念の定義が多様である。同様の現象は「地政学」「政治学」「文学」「哲学」「医学」「社会学」などの学術ジャンルでも発生している。

科学者を含む人々が共有していると思われる大前提の一つは、「感情」なるものが実在するという見識である。「感情」は実在するがゆえに、利用可能な実験法と測定法を駆使し、還元論的に探れば「感情」の真相を解明できる、と人々は希望を抱いているように見受けられる。

また、「感情」なるものは実在するが、現代の技術レベルではそれに直截アクセスして可識化できないので「行動」や「生理学的状態」を客観的に観察することによって「感情」を推定することができるのだという言説もある。

正当な科学的な見識では「感情」なるものが実在するという前提を疑うべきである。「感情」という概念の科学的定義が定まっていないため、「感情」なるものが実在すると断言できる明瞭な科学的根拠は生まれない。仮に「感情」なるものが実在とするならば、各種の客観的尺度（質問紙、面談、自律神経系の応答の計測、中枢神経系の作動の計測、行動観察など）の観測を通して、「感情」を可識化できるのだろうか。また、「行動」を理解することにより、背後あるいは水面下に潜む「感情」なるものを推定し、理解することはできるのだろうか。

3. 「心」も「感情」も実在しない、という可能性

古代インドに発し、中国に渡来した著名なインド人仏教者の一人とされるのが、菩提達磨ボーディダルマ（ **बोधिधर्म**）だ。日本では達磨さんとして古来、親しまれている禅宗の開祖である。禅宗の目的とするところは「無心」になることである。そのために座禅を含め様々な修行に打ち込むことが禅宗では要求される。

禅宗を国際的に教え伝える先駆者である鈴木大拙は1962年の英語講演原稿で述べている。「慧可

（487-593年）が心の不安ゆえに教えを求めて菩提達磨の許へやってきたとき、達磨は『汝の心をここへ出してくれば、安心させてやろう』と答えた。これに対して慧可は、『長年心を探して参りましたが、いまだにそれを掴めません』と答えた。達磨は『そこだ！汝の心を安心させた！』といい、これで慧可は悟った。（中略）人は常に心について語るけれども、その明確な観念は持てず、いわば空を掴むようなものだという事である。だれしも身体のことには知っていようが、心に関してはそれが心理学の概念だとする域を出ることはできない。心が血液や神経組織や、ある種の中枢分泌のような生理学上の実体ではないことは、疑いない。恐らくそれは、様々な細胞や繊維の間の非常に複雑な関係の体系、あるいは、すべての器官が一定の集合化体系に到達するときに人体が造り出す脳の働きの、ある種の随伴現象と定義できる。」（鈴木、2013、pp.15-16）。

鈴木による幾度もの欧米の多数の大学における精力的な英語講演により、禅宗、座禅に関する国際的理解が進展した。その副産物の一つは、近年、心理学や精神医学などで研究され教育実践が盛んな行動療法「マインドフルネス」である。

こうした禅宗の思想は現代の科学や哲学にも大いに影響を与えている。類似する哲学理論は、たとえば「心の哲学」（サール、2006）であり、心理学理論は「心理学的構成論」（バレット、2019）である。それらの理論では「心」とか「感情」は主観的経験あるいは知覚であることは事実だが、それらの主観的経験を少なくとも現代の科学技術では客観的に可識化することは不可能であること、それらの主観的経験や知覚は身体と環境の交わりの文脈のなかで脳において創発されるものであろうこと、それらの主観的経験や知覚は外見的な行動を観測しても推定できないこと、そしてそれらの主観的経験や知覚を物理学に倣って基本要素に還元することは不可能であることが主張されている。

「感情」に焦点を合わせると、幸福、悲しみ、怒り、恐れなどの言葉と概念は実在するが、人類に普遍的な基本感情（幸福、悲しみ、怒り、恐れ、

嫌悪、驚き)にそれぞれ固有の顔の表情筋活動パターン、音声の音響学的特性、自律神経系の応答パターンは実在しないし、基本感情を生み出す個別特殊の脳神経構造もネットワークも実在しない。さらには「感情」「感覚」「知覚」「認知」(注意、記憶、意思決定、推論、判断)などの心理学的概念のそれぞれに対応した個別特殊な脳神経構造もネットワークも実在しない。少なくとも現時点では、それらの「心」のはたらきは極めて少数の神経ネットワークとそれらの共鳴で創発されているとしか言えない(バレット, 2019; 大平, 2019)。

4. 感情を科学する意義

科学者を含む人々が思い描いている、または暗黙の常識として認めている「心」や「感情」は、まったくもって幻想であり、真相とは解離している可能性がある。

しかしながら、なぜこの時代に、様々な学術ジャンルで「感情」への眼差しが熱いのか。おそらく、その主たる理由は、心理学が100年以上かけて明かしてきた実証的証拠の多くが、経済学や法学や政治学などの様々な学術ジャンルで伝統的に継承され、理論の前提にしてきた「人間観」が誤っていることを示唆し始めていることにある。別の理由は心理学や哲学や認知神経科学などの理論研究と実証研究が、従来の常識化された「感情」の理解が誤っていることを示唆し始めていることにある。

「理性」や「論理」と呼ばれる概念では説明がつかない現象が人間の営みには豊富に認められるが、長年、科学者や学者はそれらの現象に目をつぶるか、目を背けてきた。その不完全な理論を完全な理論に仕立て上げるために、「感情」という概念が好んで導入されるようになったように見受けられる。ここで問題は、「感情」と呼ばれる現象や言葉の定義が曖昧模糊としていることだ。

本稿の論題である「感情を科学する意義」とは、科学者や学者、評論家、芸術家、政治家、マスメディアなどの念頭にある「感情」について、良質

な科学的知識を発見し、整理し、啓蒙し、広い意味での誤解や意思疎通の齟齬を解消することである。

そのために「感情」なるものの正体を斬新なモデル設計と、地道で精密な実証研究で明かしていく努力が欠かせない。そうした基礎研究の蓄積により、新しい「人間観」を我々は創造することができるだろう。そうして得られた成果は、学校教育、家族関係、人材育成、組織・人事マネジメント、スポーツ、医療・福祉、商業、エンジニアリング、芸術、環境設計、エンターテインメントなど、人間の営みが展開されるあらゆる場面で、何を成すべきなのかについて新たな見通しを創出させることに貢献するだろう。

たとえば学校教育や家庭で「感情豊かな子どもを育てる」というフレーズがしばしば登場するが、それはいったい何を意味しているのだろうか。幸福・ポジティブな感情に満ちた人生は望ましく、不幸・ネガティブな人生は望ましくないというフレーズも珍しくないが、それはいったい何を意味しているのだろうか。

人間の世界の常識と科学の発見する真相は必ずしも整合しない。

引用・参考文献

- 1) 河野哲也(2011). 意識は実在しない: 心・知覚・自由 講談社.
- 2) バレット・リサ・フェルドマン(著)高橋 洋(訳)(2019). 情動はこうしてつくられる: 脳の隠れた働きと構成主義的情動理論 紀伊国屋書店.
- 3) 大平英樹(2019). 内受容感覚の予測的符号化と感情経験の創発 日本感情心理学会(企画)内山伊知郎(監修)感情心理学ハンドブック 北大路書房, Pp. 195-221.
- 4) サール・ジョン・H(著)山本貴光・吉川浩満(訳)(2006). MIND: 心の哲学 筑摩書房.
- 5) 鈴木大拙(著)常盤義伸(編)(2013) 禅八講: 鈴木大拙 最終講義 角川学芸出版.

Attempt to Design Novel Active Micro-sized Systems Based on Non-equilibrium Dynamics

Daigo YAMAMOTO*, Koichiro SADAKANE**, Takahiro KENMOTSU**, Tomokazu IYODA***, and Katsumi TSUCHIYA*

(Received September 8, 2020)

Our research group has been trying to design micro-sized machines based of non-equilibrium dynamics. We focused on five different active systems induced by various sources of propulsion, such as chemical reaction, ultra-sonification, and light. In this paper, we introduce in particular the study on dynamics of catalytic particles (aggregates) in a solution containing organic fuels. The particles are found to exhibit various types of regulated motions individually under the condition of low particle concentrations. Further findings include: higher concentrations lead to several unique collective motions of the particles, depending on species of organic fuels. At the end, results of other subgroups are introduced briefly.

Key words : non-equilibrium dynamics, catalytic particle, autonomous motion, collective motion

キーワード : 非線形ダイナミクス, 触媒粒子, 自律運動, 集団運動

非線形ダイナミクスによる新規マイクロ運動機関構築の試み

山本 大吾, 貞包 浩一郎, 剣持 貴弘, 彌田 智一, 土屋 活美

1. はじめに

「非平衡ゆらぎ」に潜む非線形特性を活用して, cm ないし mm スケールでの滑らかな仕事の実行を可能とする運動機関の創出および, その非線形ダイナミクスを記述できる理論体系の構築は, 極めて重要である. 20 世紀初頭, Einstein は Brown 運動に関する論文をまとめ, メゾスコピックな階層に独特の物理法則が存在することを指摘した. この研究は, その後, 揺動散逸定理として結実し, 線形非平衡の物理学として展開しているものの, その理論体系は, 熱力学的な開放系では崩れ, 揺動と散逸の線形関係

も破綻する. 近年, Jarzynski により, 線形関係の破れが系の成しうる仕事に直接関係することが示される¹⁾など, 非平衡物理学は着実に発展してきている. しかしながら, どのような条件を設定すると, 高効率で仕事を取り出すことが可能となるのかといった, 基本的な課題に答え得るような理論は未だ存在しない. また吉川らは, 化学ポテンシャルにより, 等温条件下, マクロスケールでの自律的な運動が生じることを, 明らかにしてきている²⁾. 本研究課題では, これらの研究成果をさらに発展させて, 非線形ダイナミクスの観点に立脚して, 熱力学的な開放

* Department of Chemical Engineering and Materials Science, Doshisha University, Kyoto

** Faculty of Life and Medical Sciences, Doshisha University, Kyoto

*** Harris Science Research Institute, Doshisha University, Kyoto

Telephone: +81-774-65-6564, FAX:+81-774-65-6564, E-mail:dyamamot@mail.doshisha.ac.jp

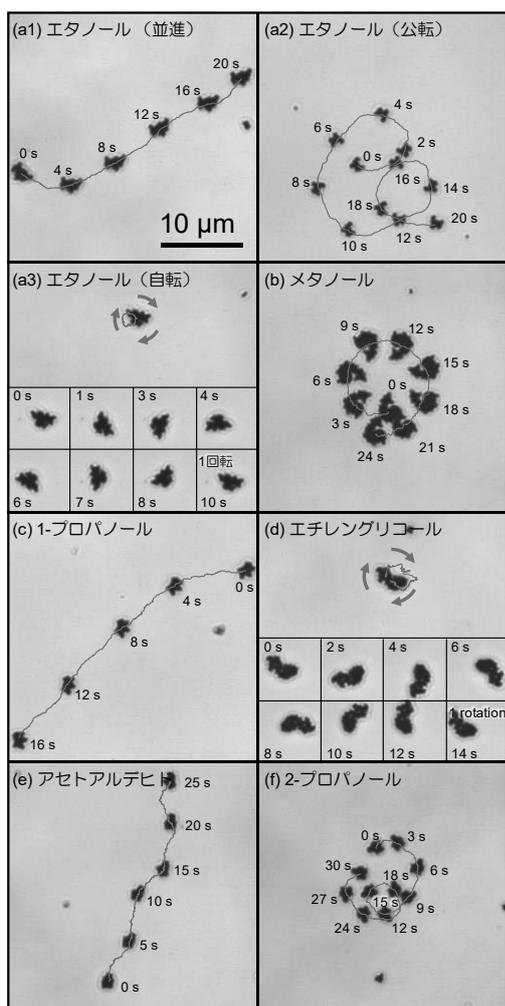


図 1 有機燃料を含む水溶液中の白金粒子凝集体の指向的運動の例³⁾

条件下，特定のマクロな運動モードが誘起されるような現象の実験系を構築し，そこから得られる結果を基に，非平衡ゆらぎからの高効率エネルギー変換システムを確立することを目指す。

そのために，代表者である土屋を中心として，他 4 名の研究分担者が参画し，以下の 5 つの研究を分担して行っている。

- 研究(1) 化学反応で働く自律モータ (山本担当)
- 研究(2) 照射下での物体の自律運動・流体ポンプ (貞包担当)
- 研究(3) 超音波照射下での液面運動の周期性と液滴群誘発のダイナミクス (土屋担当)
- 研究(4) 常温での化学⇒運動エネルギー変換システム (彌田担当)
- 研究(5) 運動タンパクの自律的集団運動 (剣持担当)

これら 5 つの研究は，いずれも，非平衡開放条件の下，規則的運動が自己生成する実験系となっている。各々の実験系で得られた結果を基に，非平衡ゆらぎからマクロな運動を高効率で起こさせるための，物理学的な基礎を築くことが期待できる。

しかしながら，今年はコロナ禍の影響もあり，最終年度の現在に至っても，代表者および研究分担者間で総括的な議論が十分に行えていない。そこで本稿では，本部門研究の研究のうち，筆頭著者である山本が担当している研究(1)に関する研究成果を重点的に紹介する。なお，研究(2)～(5)の研究成果については第 3 節にて短く示す。

2. 研究(1) 化学反応で働く自律モータ

背景

研究(1)では，自然界ではありふれているこれらの自発運動をシンプルな人工系で再現し，生物模倣的なモデル系を確立することを目的としている。本研究ではこれまでに，アルコールなどの有機物を含む水溶液中で白金触媒粒子の凝集体が凝集体形状に応じて自発運動をおこなうことを見出している³⁾。駆動力は溶存酸素を用いた有機物質の酸化反応であり，大局的に見れば，水棲の微生物と同様の運動機構であるといえる (図 1)。この研究を発展させ，より濃厚な白金触媒粒子サスペンションを用いて，白金触媒粒子の集団運動を誘起させ，よりマクロな仕事を取り出すことを目的として研究を行っている。

実験方法

白金触媒粒子の種類として，触媒活性や一次粒子径の異なる 3 種類の粒子 (株式会社ニラコおよびシグマアルドリッチジャパン) を用いて実験を行った。白金に触媒される反応物質として，エタノールとアセトアルデヒドを選び，これらの反応物質を含む濃厚な白金触媒粒子 (二次粒子径: 数 μm) サスペンション (300 mg/L) を調製した。これをガラスベースディッシュに注ぎ，底部における白金粒子凝集体の二次元的な挙動を光学顕微鏡で観察した (図 2)。

ここで，本反応系は，溶存酸素を用いた有機燃料の酸化反応であり，この限定反応物質は溶存酸素

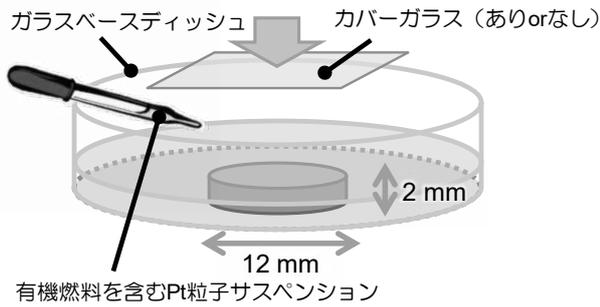


図2 実験概要

である。そのため、カバーガラスによって、観察箇所である底部に蓋をする（閉鎖系）か否か（開放系）によって大気中からの酸素の供給の制御が可能である。以上のように本系における操作条件あるいは操作因子は、粒子特性と濃度、反応物質の種類と濃度、開放系/閉鎖系などが挙げられ、非常に多い。

本研究では、諸因子が集団運動に与える影響に関して包括的に纏め上げ、実験条件と集団運動パターンの相関をとることを第一段階の目的としており、今回は、粒子特性が異なると考えられる上述の3種類の粒子を用いて、反応物質の種類によって集団運動に与える影響を調べた。

研究成果

図3(a)にエタノールを含む水溶液中における白金粒子凝集体の集団運動の典型例を示す。はじめは均

一に分散していた白金粒子凝集体が次第にクラスターを形成した。ここで閉鎖系では、クラスター形成後、解散して集団運動が終了するのに対し、開放系ではクラスターが並進しながら分裂と合一を繰り返す行いが観察された。十分に時間が経過すると、粒子は再び均一に分散した状態になった。同様にアセトアルデヒドを用いた実験結果を図3(b)に示す。

白金粒子凝集体がクラスターを形成していくが、並進する様子は見られず、その場で放射状に解散し、その後、解散した粒子が再び同じ位置にクラスターを形成する様子が見られた。その際、全てのクラスターが同じタイミングで形成・解散を繰り返すといった同期現象が観察された。このような挙動は、自然界における蛍の集団の同時点滅に類似しており、同期現象のモデル系としても有用であると考えられる。また、エタノールのとときと比較して集団運動の持続時間が短いことも確認できた。これはアセトアルデヒドがエタノールよりも酸化されやすく、また揮発しやすいことが原因であると考えられる。

同様の実験を、粒子サイズや触媒活性が異なる3種類のPt粒子を用いて行い、粒子特性が集団運動に与える影響を詳細に調べたが、持続時間やクラスターサイズなどに若干の違いが生じたものの、大局的には類似した集団運動（クラスターの分裂・合一 or クラスターの集合・解散）を示し、むしろ、反応物

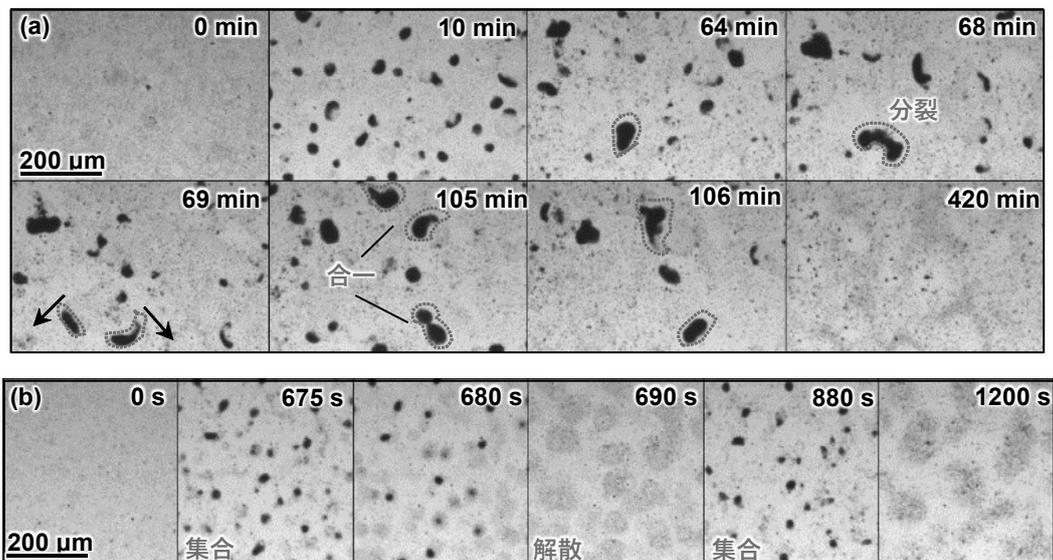


図3 有機燃料を含む水溶液中の白金粒子凝集体の集団運動 (a) エタノール, (b) アセトアルデヒド
※図1とは測定スケールが大きく異なり、凝集体の集団を観察していることに注意。

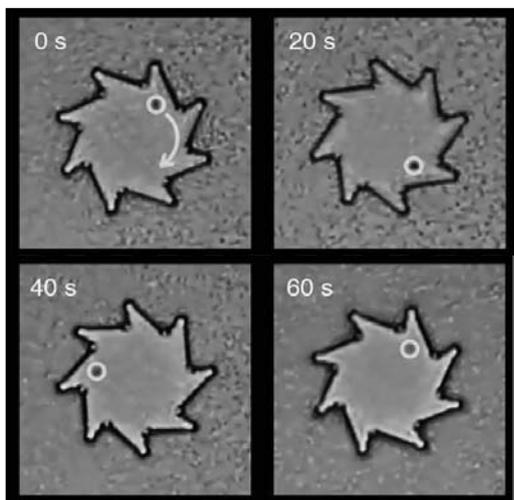


図4 バクテリアラチェットモーター⁴⁾
 バクテリアの集団が存在することでラチェットが一方向に回転する。

質である有機燃料の種類を主因子として運動モードが変化することがわかった。これらの結果は、単成分の白金触媒粒子を用いれば、粒子特性によらず、上述の集団運動モードが再現性良く普遍的に見られる現象であることを示唆している。

今後の展望

今年は未曾有の事態もあり、当初の研究計画より大幅に遅れが生じている。研究(1)に関して、着手予定であった計画を今後の展望として最後に述べ、本成果発表を締めくくりたいと思う。

近年では、バクテリアの集団運動によって自らの100倍以上の大きさの歯車を回転させるといった、微生物の集団運動を利用して仕事を取り出す研究が報告されている(図4)⁴⁾。このようなエネルギー変換技術は極めて興味深いですが、微生物の場合には増殖・死滅などによる集団環境の影響を考慮する必要があり、持続的な仕事を取り出しあるいは仕事量の制御は極めて難しい。今後は、上述の成果を基にこれと同様のエネルギー変換技術の創成を試み、マクロな仕事を取り出しに挑戦する予定である。

3. 研究(2)～(4)の研究成果について

本節では、今回紹介できなかった他の4つの研究の成果について端的に述べる。

研究(2)

グラファイト粒子を拡散させたエタノール水溶液にレーザー(波長: 532nm、強度: 170mW)を照射することで、空間揺らぎのあるグラファイトの並進粗密波を作り出せることを発見した。この現象は、熱マランゴニ効果等を考慮に入れた「移流拡散方程式」に基づくシミュレーションで再現することもできた。

研究(3)

超音波照射下で溶液自由表面に誘発される液柱運動の周期性とミスト発生のダイナミクスについて研究した。通常の複雑/非線形挙動に対して特異的(ではあるが本質的)な様相を呈す数珠状液柱の基本構造を定量化し、数珠個々の形状振動モードの共振周波数を理論予測し、さらに、入力閾値を超えて誘発されるミスト発生のタイミング/確率を評価した。

研究(4)

本研究では、化学エネルギーから運動エネルギーへの効率的な変換を可能にすべく、特殊な形状を持つ触媒材料の作製を行っている。今回、マイクロコイルに白金メッキを施したが、反応溶液中でのコイルの運動性は低かった。今後、コイル表面の白金の被覆量や触媒活性などを調べる必要がある。

研究(5)

ポリエチレングリコール(PEG)とデキストラン(DEX)混合系で、数十 μm 程度の細胞サイズの高分子液滴が自発的に生成されることを見出した(水/水相分離)。また、生成されるDEX滴内にキネシン、微小管を局在させ、ATPを導入することで、DEX液滴内で、自発的にキネシンと微小管の対流運動が生じることを明らかにした。

謝辞

本研究は、同志社大学ハリス理化学研究所(第1部門研究)の補助により行われた。ここに記して謝意を表す。また、それぞれの研究において、次の学生(修了生を含む)に協力して頂いた。

研究(1)

久保内雅生, 寺田遼翔, 松田直樹 (同志社大学大学院理工学研究科)

研究(2)

鷹取慧, 上野洋, 長谷川よし乃, 庄野真由 (同志社大学大学院生命医科学研究科)

研究(3)

王小璐, 里見奎祐 (同志社大学大学院理工学研究科)

研究(4)

森田大貴 (同志社大学大学院理工学研究科)

研究(5)

作田浩輝, 藤田ふみか (同志社大学大学院生命医科学研究科)

参考文献

- 1) C. Jarzynski, “Nonequilibrium Equality for Free Energy Differences”, *Physical Review Letters*, **78**, 2690 (1997).
- 2) Y. Sumino, N. Magome, T. Hamada, K. Yoshikawa, “Self-Running Droplet: Emergence of Regular Motion from Nonequilibrium Noise”, *Physical Review Letters*, **94**, 32767 (2005).
- 3) D. Yamamoto, T. Takada, M. Tachibana, Y. Iijima, A. Shioi, and K. Yoshikawa, “Micromotors Working in Water through Artificial Aerobic Metabolism”, *Nanoscale*, **7**, 13186-13190 (2015).
- 4) R. Di Leonardo, L. Angelani, D. Dell’Arciprete, G. Ruocco, V. Iebba, S. Schippa, M. P. Conte, F. Mecarini, F. D. Angelis, and E. D. Fabrizio, “Bacterial Ratchet Motors”, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **107**[21], 9541-9545 (2010).

Blind Analog Self Interference Canceller for In-Band Full-Duplex

Shinsuke IBI* and Hisato IWAI*

(Received September 18, 2020)

This paper presents a novel differential active self-interference canceller (DASIC) algorithm for asynchronous in-band full-duplex (IBFD) Gaussian shift keying (GFSK), which is designed for wireless Internet of Things (IoT). In IBFD communications, where two terminals simultaneously transmit and receive signals in the same frequency band, there is an extremely strong self-interference (SI). The SI can be mitigated by an active SI canceller (ASIC), which subtracts an interference replica based on channel state information (CSI) from the received signal. The challenging problem is the realization of asynchronous IBFD for wireless IoT. Due to the asynchronous mode, it is subject to pilot contamination induced by non-orthogonal pilot sequences. Due to the contamination, the SI cannot be canceled entirely at the receiver, resulting in residual interference. To address the above issue, the DASIC incorporates the principle of the differential codec. Because of the differential structure, the DASIC can suppress SI without the CSI estimation of SI.

Key words : In-band full-duplex, analog self-interference canceller, differential encoder, blind signal processing

キーワード : 帯域内全二重通信, アナログ自己干渉キャンセラ, 差動符号化, ブラインド信号処理

全二重通信のためのブラインド型アナログ自己干渉キャンセラ

衣斐 信介, 岩井 誠人

1 はじめに

内閣府の第5期科学技術基本計画において、無線IoT (Internet of Things) 端末により、所望の大規模データをあらゆる箇所から集約することで様々な知識や情報を共有し、ビッグデータ解析を通して今までにない新たな価値を生み出す Society 5.0 の実現が喫緊の課題として位置付けられている。この実現には、「サイバー空間（仮想空間）」と「フィジカル空間（現実空間）」を高度に接続することが求められる。この接続には、「無線空間」の高度化が急務であり、端末から集約局に至る上り回線の無線IoT通信が重要な役割を担う。このような基本計画とユーザの潜在的欲求を背景に、5G（第5世代移動通信システム）では、これまでの人と人とを高速回線で

繋ぐという目標（eMBB: enhanced Mobile Broadband）とは別に、大量のモノとモノを繋ぐ（mMTC: massive Machine Type Communication）、また高信頼で高即応の通信（URLLC: Ultra-Reliable and Low Latency Communications）の実現も新たな目標に掲げ、サイバー空間とフィジカル空間を繋ぐ電波空間としての情報基盤の根幹を担うことが期待されている¹⁾。

原則として、5Gでは送受信機間の時間・周波数同期が確保された上で、オペレータの管理の下、安心安全に通信回線を確立する。近年、多数の無線端末を収容するために大規模マルチユーザMIMOの信号検出手法が精力的に検討されており、線形信号処理だけではなく、繰り返し統計信号処理の非線形演算を利用することで、その

* Department of Electronics, Faculty of Science and Engineering, Doshisha University, Kyoto
Telephone : +81-774-65-6355, E-mail : sibi@mail.doshisha.ac.jp

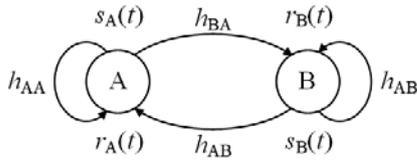


Fig. 1. IBFD channel.

信号検出性能が大幅に高まることが報告されている²⁾。しかし、無線機が高額となるだけではなく、IoT 端末の送受信タイミングを綿密に制御しなければならないため、運用にコストがかかるという側面がビジネス展開段階において障壁になり得る事実には留意すべきである。小容量データの授受にコストの高い 5G を利用するより、より安価な IoT 無線機かつ低い運用コストで Society 5.0 を実現する試みも重要である。この試みの実現には、これまでの「時間・周波数同期」を前提とする通信システム設計指針からの脱却が肝となる。

同期を確保するため、一般的にはプリアンブル・トレーニング信号を用いる。しかし、小容量データパケットに比べて、比較的長いオーバーヘッド信号の付与は非効率であり、本来、非同期状態での利用が望ましい。さらに、IoT 端末が信号の送信タイミングを集中管理局で管理することなく、好きなタイミングで自由に信号を送信、つまりランダムアクセスをすることで、アクセス制御のためのオーバーヘッド信号も不要となる。このような非同期型のランダムアクセスの実現により、電波空間の有効利用を図ることができ、近い将来に向かえるであろう Society5.0 社会の下支えが可能となる。

本稿における数学的表記は以下の通りである。連続時間は (t) 、離散時間は $[k]$ で表現する。実数体を \mathbb{R} 、複素数体を \mathbb{C} で表現し、複素数の実部を $\Re\{\cdot\}$ で表す。j は虚数単位 $\sqrt{-1}$ である。

2 帯域内全二重通信

非同期型のランダムアクセスの実現には、非同期型の帯域内全二重 (IBFD: In-Band Full Duplex) が有効である。IBFD は、ノード (端末) が同一時刻に同一周波数帯の通信路を用いて信号の送受信を行う技術であり、近年、理論的・実用的の両側面から検討が精力的になされている^{3, 4)}。

ノード A と B が IBFD 通信を行う場合、ノード A は

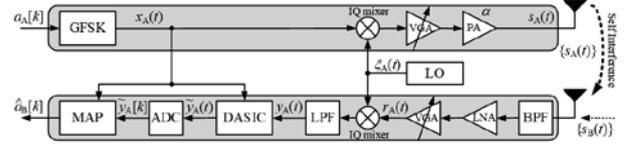


Fig. 2. Block diagram of IBFD GFSK transceiver.

自身の信号をノード B へ送信しつつ、同時にノード B が送信する信号を受信する。このとき、Fig. 1 に示すようにノード A の受信信号 $r_A(t)$ には、ノード B から届く信号 $s_B(t)$ (経路 h_{AB}) に加え、ノード A 自身の信号 $s_A(t)$ (経路 h_{AA}) が自己回り込み干渉として含まれる。ノード A の受信機では自身の信号が既知であるため、その既知信号を活用して自己干渉 (SI: Self-Interference) レプリカを生成し、それを受信信号から減算することで干渉キャンセルを行うことができる。本来、この干渉キャンセルには、 h_{AA} の回り込み干渉の通信路状態を正確に推定しなければならないため、ノード A と B が互いに直交したトレーニング系列を同一タイミングで送信する必要がある。本稿では、非同期状態の回線接続の確立を目的として、このようなトレーニング系列に係る制約を必要としない、差動符号化の原理を取り入れたブラインド型のアナログ自己干渉キャンセラ (DASIC: Differential Analog Self Interference Canceller)⁵⁾ の原理を解説する。

Fig. 2 に IoT 無線通信に適した GFSK (Gaussian filtered Frequency Shift Keying) を用いた IBFD の送受信機構成を示す。各ノードが送信する RF (Radio Frequency) 信号 $s_i(t) \in \mathbb{R}$, ($i \in \{A, B\}$) は次式で与えられる。

$$s_i(t) = \sqrt{2}\alpha \Re\{x_i(t)\xi_i(t)\} \quad (1)$$

$$\xi_i(t) = \exp[j(\omega_i t + \theta_i(t))] \quad (2)$$

ただし、 α はノード i の送信信号の振幅、 $\omega_i = \omega_c + \omega_i^o$ はオフセット ω_i^o を有する ω_c を中心とした角周波数を表す。さらに、 $\theta_i(t) = \theta_i'(t) + \theta_i^o$ はオフセット θ_i^o を有する $\theta_i'(t)$ を中心とした位相雑音である。式 (1) に含まれる複素ベースバンド (CBB: Complex-valued BaseBand) 信号 $x_i(t) \in \mathbb{C}$ は次式で表される。

$$x_i(t) = \exp[j\phi_i(t)] \quad (3)$$

ただし、 $\phi_i(t)$ は情報伝達のための位相変数である。いま、1 シンボルのエネルギーを E_s 、時間長を T_s で表記

すると、振幅は $\alpha = \sqrt{E_s/T_s}$ で与えられる。なお、 α は可変ゲイン増幅器 (VGA: Variable Gain Amplifier) と電力増幅器 (PA: Power Amplifier) により、理想的に制御されているものとする。

各ノードにおける GFSK の変調規則が同一であるものとする、時間区間 $kT_s \leq t (= t' + kT_s) < (k+1)T_s$ の情報伝達変数 $\phi_i(t)$ は次式で表される⁶⁾。

$$\phi_i(t) = 2\pi\eta \sum_{l=k-L+1}^k a_i[l]q(t' + (k-l)T_s) + \pi\eta \sum_{l'=0}^{k-L} a_i[l'] \quad (4)$$

ただし、 $a_i[k] \in \{-1, 1\}$ は情報ビットを双極性で表現したものであり、 η は変調指数、 L はガウスフィルタの 3 dB 帯域幅 B_G と T_s の帯域時間積 $B_G T_s$ に依存するメモリサイズである。本稿では、($\eta = 0.5, B_G T_s = \infty$) の MSK (Minimum Shift Keying) と ($\eta = 0.5, B_G T_s = 0.5$) の GMSK (Gaussian MSK) の変調方式を例に挙げて考える。関数 $q(t)$ は位相パルスであり、

$$q(t) = \begin{cases} 0 & t \leq 0 \\ 1/2 & t > LT_s \end{cases} \quad (5)$$

の制約の下、次式で与えられる。

$$q(t) = \int_{-\infty}^t g(\tau) d\tau \quad (6)$$

ここで、関数 $g(\tau)$ は次式の周波数パルスで与えられる。

$$g(\tau) = \frac{1}{2T_s} \left[Q \left(2\pi B_G \frac{\tau - \frac{T_s}{2}}{\sqrt{\ln 2}} \right) - Q \left(2\pi B_G \frac{\tau + \frac{T_s}{2}}{\sqrt{\ln 2}} \right) \right] \quad (7)$$

ただし、 $Q(\cdot)$ は Q 関数を意味する。

本稿では、ノード A においてノード B のメッセージを検出する場合を考える。このとき、帯域通過フィルタ (BPF: Band-Pass Filter) 通過後の受信 RF 信号 $r_A(t)$ は次式で与えられる。

$$r_A(t) = \Re \{ h_{AA} \alpha x_A(t + \tau_A) \xi_A(t + \tau_A) \} + \Re \{ h_{AB} \alpha x_B(t + \tau_B) \xi_B(t + \tau_B) \} + n_A(t) \quad (8)$$

ただし、 $h_{AA}, h_{AB} \in \mathbb{C}$ は各々 A-A 間と A-B 間の通信路係数であり、振幅係数 α 、距離減衰、シャドーイング、フェージングの影響をすべて含むものとする。また、 τ_i は伝搬遅延時間、 $n_A(t) \in \mathbb{R}$ は雑音項である。

CBB 信号 $y_A(t)$ は低雑音増幅器 (LNA: Low-Noise Amplifier)、VGA、IQ ミキサ、理想低域通過フィルタ (LPF: Low-Pass Filter) 処理を施した後に得られ、次

式で与えられる。

$$\begin{aligned} y_A(t) &= \sqrt{2} \{ r_A(t) \xi_A^*(t) \}_{\text{LPF}} \\ &= h_{AA} \kappa_{AA}(t) \alpha x_A(t + \tau_A) \\ &\quad + h_{AB} \kappa_{AB}(t) \alpha x_B(t + \tau_B) + z_A(t) \quad (9) \end{aligned}$$

ただし、 $z_A(t) = \sqrt{2} \{ n_A(t) \xi_A^*(t) \}_{\text{LPF}}$ であり、平均 0、分散 $\beta^2 \triangleq N_0/T_s$ の複素ガウスランダム過程に従うものとする。ここで、 N_0 は 1 シンボル間隔の雑音エネルギーである。 $\kappa_{Ai}(t)$ 、($i \in \{A, B\}$)、は局発搬送波 (LO: Local Oscillator) の不完全性に起因する変数であり、次式で与えられる。

$$\kappa_{Ai}(t) = \xi_i(t + \tau_i) \xi_A^*(t) = \kappa'_{Ai}(t) \kappa_{Ai}^{\circ} \quad (10)$$

$$\kappa'_{Ai}(t) = \exp [j(\theta'_i(t + \tau_i) - \theta'_i(t))] \quad (11)$$

$$\kappa_{AA}^{\circ} = 1 \quad (12)$$

$$\kappa_{AB}^{\circ} = \exp [j(\omega_B^{\circ} - \omega_A^{\circ})] \exp [j(\theta_B^{\circ} - \theta_A^{\circ})] \quad (13)$$

IBFD では、信号対干渉電力比 (SIR: Signal-to-Interference power Ratio) は次式で与えられる。

$$\zeta = \frac{\mathbb{E} \left\{ \left| \tilde{h}_{AB} \alpha \tilde{x}_B[k] \right|^2 \right\}}{\mathbb{E} \left\{ \left| \tilde{h}_{AA} \alpha \tilde{x}_A[k] \right|^2 \right\}} = \frac{|h_{AB}|^2}{|h_{AA}|^2} \quad (14)$$

上式は、ノード A と B の距離が長いほど、 $|h_{AA}|^2$ が $|h_{AB}|^2$ に比べて大きくなり、深刻な自己干渉を誘発することを示唆している。原理的に低い SIR では、 $h_{AB} x_B(t)$ の信号成分は、ADC (Analog-to-Digital Converter) の分解能が悪いと、ADC 出力から消失する。したがって、式 (8) の右辺第 1 項の自己干渉成分は、ADC の前段、すなわちアナログ領域でキャンセルすべきである。受信機側で、 $h'_{AA} \triangleq h_{AA} \alpha \xi_A(t + \tau_A)$ の SI レプリカが正確に生成可能であると仮定すると、典型的にな ASIC (Active SI Canceller) が³⁾、次式を用いて理想的に干渉成分をキャンセルすることができる。

$$r_A(t) - \Re \{ h'_{AA} x_A(t + \tau_A) \} \quad (15)$$

本稿では、実際には SI レプリカが完全に生成できないことに着目し、次節で述べる DASIC 回路を用いて、受信 RF 信号 $r_A(t)$ から自己回り込み干渉成分を抑圧して CBB 信号 $\tilde{y}_A(t)$ を抽出し、最終的に最大事後確率 (MAP: Maximum A-posteriori Probability) 判定器で、ノード B の情報ビット系列 $\hat{a}_B[k]$ を判定する。

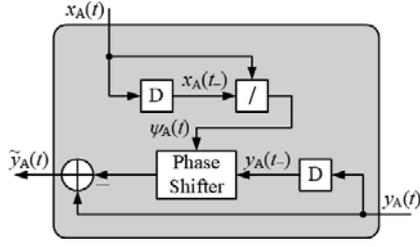


Fig. 3. Block diagram of the DASIC process.

3 差動アクティブ自己干渉キャンセラ

Fig. 3 に提案する DASIC の構成を示す. ノード A における DASIC では, 同一ノード内の送信機側から CBB 信号 $x_A(t)$ を受け取り, 次式の位相シフト量を示す信号を生成する.

$$\psi_A(t) = \frac{x_A(t)}{x_A(t - T_s)} \quad (16)$$

数学的表記簡略化のために $t_- = t - T_s$ を定義し, 位相シフト器において 1 シンボル遅延の CBB 信号 $y_A(t - T_s)$ に対して式 (16) の位相シフトを与えると,

$$\begin{aligned} y_A(t_-)\psi_A(t) &= h_{AA}\alpha x_A(t) + \varepsilon_A(t) \\ &+ h_{AB}\kappa_{AB}(t)\alpha x_B(t_- + \tau_B)\psi_A(t) \\ &+ z_A(t_-)\psi_A(t) \end{aligned} \quad (17)$$

を得る. ただし,

$$\varepsilon_A(t) = h_{AA}\alpha [\kappa_{AA}(t)x_A(t + \tau_A) - x_A(t)] \quad (18)$$

式 (10)–式 (12) は, SI の伝搬遅延 τ_A が 0 であれば, $\varepsilon_A(t)$ も 0 であることを示唆している. つまり, 伝搬遅延 τ_A は雑音項 $\varepsilon_A(t)$ を誘発する.

最終的に, アナログ干渉キャンセラ出力は次式で与えられる.

$$\begin{aligned} \tilde{y}_A(t) &= y_A(t) - y_A(t_-)\psi_A(t) \\ &= \tilde{h}_{AB}\alpha \tilde{x}_B(t + \tau_B) + \tilde{\varepsilon}_A(t) + \tilde{z}_A(t) \end{aligned} \quad (19)$$

ただし,

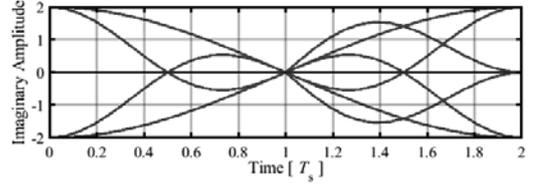
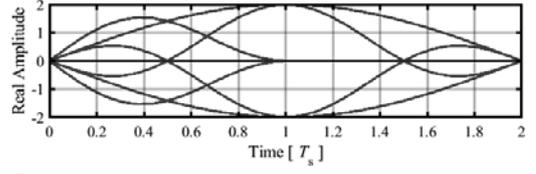
$$\tilde{h}_{AB} = h_{AB}\kappa_{AB}^0 \quad (20)$$

$$\tilde{x}_B(t + \tau_B) = x_B(t + \tau_B) - \psi_A(t)x_B(t_- + \tau_B) \quad (21)$$

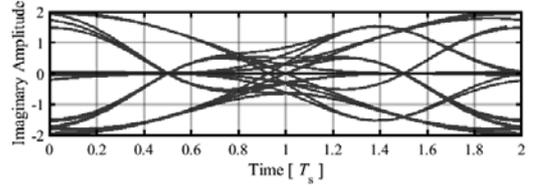
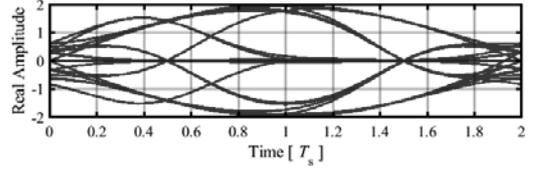
$$\begin{aligned} \tilde{\varepsilon}_A(t) &= \varepsilon_A(t) + \tilde{h}_{AB}[\kappa'_{AB}(t) - 1]\alpha x_B(t + \tau_B) \\ &- \tilde{h}_{AB}[\kappa'_{AB}(t_-) - 1]\psi_A(t)\alpha x_B(t_- + \tau_B) \end{aligned} \quad (22)$$

$$\tilde{z}_A(t) = z_A(t) - \psi_A(t)z_A(t_-) \quad (23)$$

ここで, $\tilde{\varepsilon}_A(t)$ は DASIC 出力に残留する SI 成分である.



(a) MSK: $B_G T_s = \infty$.



(b) GMSK: $B_G T_s = 0.5$.

Fig. 4. Eye diagrams of the DASIC output $\tilde{y}_A(t)$.

MSK と GMSK ($B_G T_s = 0.5$) の DASIC 出力のアイダイアグラムを Fig. 4 に示す. ただし, ここでは $\tau_A = \tau_B = 0$ の理想的な状況としている. また, 雑音項 $z_A(t)$ は 0, $\tilde{h}_{AB}\alpha = 1$ としている. 図より, 実部と虚部のアイアパーチャは, 各々 $2(k+1)T_s$ と $2kT_s$ 毎に最大化されていることが分かる. GMSK の場合は, ガウスフィルタの存在により符号間干渉 (ISI: Inter-Symbol Interference) が生じて, アパーチャが縮小する. ADC にてアイアパーチャが最大となる理想的なタイミング $t = kT_s + \Delta t$ でサンプルし, 次式の離散 CBB 信号 $\tilde{y}_A[k]$ を得る.

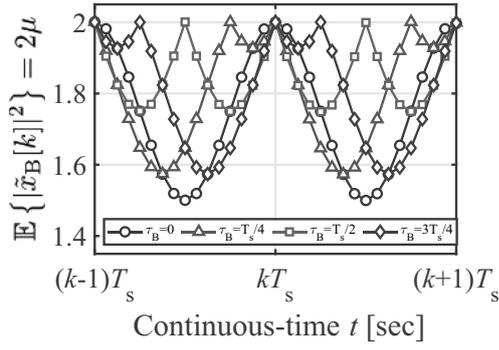
$$\tilde{y}_A[k] = \tilde{h}_{AB}\alpha \tilde{x}_B[k] + \tilde{\varepsilon}_A[k] + \tilde{z}_A[k] \quad (24)$$

ただし, $\tilde{x}_B[k]$ は重畳 CBB 信号, $\tilde{z}_A[k]$ は等価雑音であり, 各々次式で与えられる.

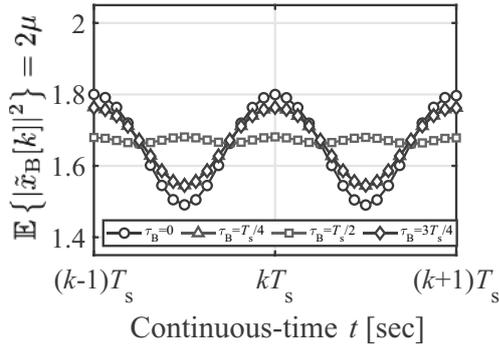
$$\tilde{x}_B[k] = x_B[k] - \psi_A[k]x_B[k-1] \quad (25)$$

$$\tilde{z}_A[k] = z_A[k] - \psi_A[k]z_A[k-1] \quad (26)$$

式 (24) は $\tilde{y}_A[k]$ が $\tilde{x}_B[k]$ と $x_B[k-1]$ の重畳 CBB 信号からなることを示唆している. このとき $\tilde{x}_B[k]$ と $\tilde{z}_A[k]$ の二次モーメントは $\mathbb{E}\{|\tilde{x}_B[k]|^2\} = 2\mu$, ($0 \leq \mu \leq 1$) と $\mathbb{E}\{|\tilde{z}_A[k]|^2\} = 2\beta = 2\frac{N_0}{T_s}$ で与えられる.



(a) MSK: $B_G T_s = \infty$.



(b) GMSK: $B_G T_s = 0.5$.

Fig. 5. Equivalent signal density $\mathbb{E}\{|\tilde{x}_B[k]|^2\} = 2\mu$.

Fig. 5 は 伝搬遅延 τ_B 毎に連続時刻 t と $\mathbb{E}\{|\tilde{x}_B[k]|^2\} = 2\mu$ の関係を示したものである。ただし、 μ の値が kT_s で最大となるように、ADC の Δt の値を調整している。(a) の MSK では、 Δt を適切に調整することで、 $\mu = 1$ を実現できているものの、(b) の GMSK では、伝搬遅延 τ_B によって $\mathbb{E}\{|\tilde{x}_B[k]|^2\} = 2\mu$ のエネルギーに損失が生じる。 $\tau_B = 0$ の理想状態からの最大損失は、 $\tau_B = T_s/2$ の $10 \log_{10} \frac{1.80}{1.68} = 0.3$ [dB] である。非同期 IBFD では、構造的に、 $\tau_B = 0$ の状態を維持することができないものの、その最大損失は 0.3 [dB] に抑えられている。

いま、メモリサイズ $L = 3$ で信号を表現可能な帯域時間積 $B_G T_s$ により帯域制限が施されているものとする、重畳 CBB 信号 $\tilde{x}_B[k]$ の構成要素 $x_B[k]$ と $x_B[k-1]$ が次式で表される。

$$x_B[k] = \exp \{j(w_0 a_B[k] + w_1 a_B[k-1] + w_2 a_B[k-2]) + j\sigma[k]\} \quad (27)$$

$$x_B[k-1] = \exp \{j(w_0 a_B[k-1] + w_1 a_B[k-2] + j\sigma[k])\} \quad (28)$$

ただし、 $w_l \triangleq 2\pi\eta q(\Delta t + lT_s)$, ($l \in \{0, 1, 2\}$), $\sigma[k]$ は次

式で定義される状態である。

$$\sigma[k] = \pi\eta \sum_{l'=0}^{k-3} a_B[l'] \quad (29)$$

一方、式 (25) の位相シフト係数 $\psi_A[k]$ は、

$$\begin{aligned} \psi_A[k] = & \exp \{jw_0 (a_A[k] - a_A[k-1]) \\ & + jw_1 (a_A[k-1] - a_A[k-2]) \\ & + j\pi\eta a_A[k-2]\} \end{aligned} \quad (30)$$

で与えられる。

重畳 CBB 信号の振る舞いを直感的に理解するため、 $B_G T_s = \infty$ で変調指数 $\eta = 0.5$ の MSK (Minimum Shift Keying) を考える。MSK の場合 $\sigma[k]$ は 4 状態を有し、 $\mathcal{U} = \{0, \frac{\pi}{2}, \pi, \frac{3\pi}{2}\}$ である。このとき、ADC がアイアパーチャを最大とするタイミング Δt でサンプルすると、 $w_0 = 0$, $w_1 = w_2 = \pi/2$ となる。結果として、

$$x_B[k] = \exp \left\{ j\frac{\pi}{2} (a_B[k-1] + a_B[k-2]) + j\sigma[k] \right\} \quad (31)$$

$$x_B[k-1] = \exp \left\{ j\frac{\pi}{2} a_B[k-2] + j\sigma[k] \right\} \quad (32)$$

$$\psi_A[k] = \exp \left\{ j\frac{\pi}{2} a_A[k-1] \right\} \quad (33)$$

いま、 $\delta[k] = a_B[k] - a_A[k] \in \{-2, 0, 2\}$ を定義すると、式 (25) は

$$\tilde{x}_B[k] = \begin{cases} 2 \exp[ju_A[k]], & (\delta[k-1] \neq 0) \\ 0, & (\delta[k-1] = 0) \end{cases} \quad (34)$$

となる。ただし、

$$u_A[k] = \frac{\pi}{2} \left(a_B[k-2] + \frac{\delta[k-1]}{2} \right) + \sigma[k] \in \mathcal{U} \quad (35)$$

つまり、ノード B から送信された情報ビット $a_B[k-1]$ がノード A 自身が送信している情報ビット $a_A[k-1]$ に一致するときは 0 となり、一致しないときは 0 以外の 4 状態の値をとる。

Fig. 6 に DASIC 出力の離散 CBB 信号の散布図を示す。図の形状が示唆する通り、同図に描画した判定しきい値に基づき、次式によりノード B の双極性の情報ビットを判定することができる。

$$\hat{a}_B[k-1] = \begin{cases} a_A[k-1], & \text{if } |\tilde{y}_A[k]| \leq |h_{AB}| \\ -a_A[k-1], & \text{others} \end{cases} \quad (36)$$

ここで留意すべき点は、雑音のガウス分布の裾が上下左右からしきい値を跨ぐため、半二重 (HD: Half Duplex) のような、片側からしきい値を越える確率に比べ 2 倍と

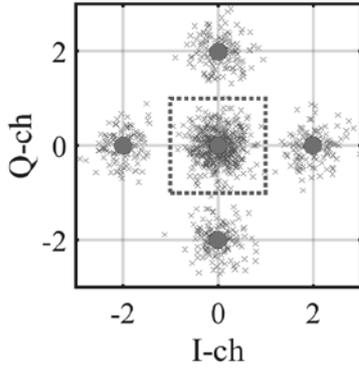


Fig. 6. Signal constellation of DASIC output $\tilde{y}_A[k]$.

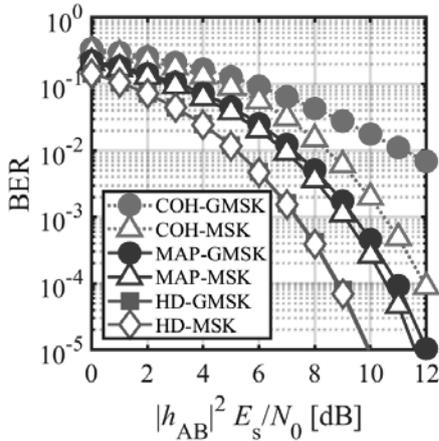


Fig. 7. BER performance of DASIC.

なる点である。これは DASIC のデメリットであるが、式 (36) のような単純な硬判定による復調方式ではなく、別の高度な繰り返し信号処理を適用することで、このデメリットを緩和することができる⁵⁾。

4 計算機シミュレーション

Fig. 7 に $|h_{AB}|^2 E_s/N_0$ に対する DASIC による IBFD のビット誤り率特性 (BER: Bit Error Rate) を示す。通信路はレイリーフェージングとしているが、瞬時の $|h_{AB}|^2 E_s/N_0$ を横軸としているので、通信路で位相回転のみ存在するものと等価である。式 (36) による単純な硬判定による同期検波の特性を (COH) として示す。紙面の関係上、本稿では解説していないが、MAP 検出を適用した特性を (MAP) として示す。また、比較対象として、自己干渉が存在しない半二重通信において、MAP 検出を行った場合の特性 (HD) を併せて示す。なお、各特性において、 $B_G T_s = 0.5$ のガウスフィルタを

用いた GFSK である GMSK と、用いない MSK による評価を行っている。

自己干渉が存在しない HD の特性と比較して、MSK の単純な硬判定の特性 (COH-MSK) は 3 [dB] 右へシフトしている。前述したとおり、これは雑音の影響が 2 倍になったためである。一方、GFSK の場合 (COH-GMSK)、ガウスフィルタによる帯域制限の影響により信号検出精度が低下している。MAP 検出による IBFD の場合 (MAP-GMSK, MAP-MSK)、HD と比べて約 2 [dB] 程度の平行シフトに留めているため、信号の重畳による影響を緩和できているといえる。

5 まとめ

本稿では、IBFD 通信のための差動符号化の原理を取り入れたブラインド型の差動アクティブ自己干渉キャンセラ (DASIC) の原理を紹介した。本方式の高度化により、究極形の非同期ランダムアクセス技術の確立を期待でき、今後の無線 IoT 情報基盤技術としての展開にも期待したい。

本研究の一部は同志社大学ハリス理化学研究所研究助成の支援のもとに行われた。ここに記して謝意を表する。

参考文献

- 1) M. Agiwal, A. Roy and N. Saxena, "Next Generation 5G Wireless Networks: A Comprehensive Survey", *IEEE Communications Surveys & Tutorials*, **18**[3], 1617-1655 (2016).
- 2) T. Takahashi, S. Ibi, and S. Sampei, "Design of Adaptively Scaled Belief in Multi-Dimensional Signal Detection for Higher-Order Modulation", *IEEE Trans on Commun.*, **67**[3], 1986-2001 (2019).
- 3) D. Bharadia, E. McMillin, and S. Katti, "Full Duplex Radios", *Proc. of ACM SIGCOMM 2013*, 375-386 (2013).
- 4) Z. Zhang, K. Long, A. V. Vasilakos, and L. Hanzo, "Full-Duplex Wireless Communications: Challenges, Solutions, and Future Research Directions", *Proc. IEEE*, **104**[7], 1369-1409 (2016).
- 5) 衣斐信介, 三瓶政一, "全二重 GFSK 通信のためのアナログ自己干渉キャンセラに関する一検討", *信学技報*, **117**[456], 307-312 (2018).
- 6) B. E. Rimoldi, "A Decomposition Approach to CPM", *IEEE Trans. Inf. Theory*, **34**[2], 260-270 (1988).

Eigenvalue Computations Based on the Integrable Systems

Masato SHINJO *

(Received September 18, 2020)

The Toda equation describing motions governed by nonlinear springs is well-known as famous soliton equation in the study of integrable systems. Flaschka's variables lead to Lax dynamics of the Toda equation with tridiagonal matrix. The Toda flow interpolates the QR algorithm at integer times. It is interesting that a skillful discretization of the Toda equation contributes to computing eigenvalues of tridiagonal matrices related with shifted LR algorithm. In this paper, from the viewpoint of discretizations of Lax dynamics, I propose a discrete analogue of the Lax pair associated with symmetric and non-symmetric matrices, and then grasp the shifted QR and LR algorithms in the framework of integrable systems. Furthermore, based on the resulting discrete lax pair, I explain some of the discrete integrable systems which corresponds to extensions of the discrete Toda equation, observe numerically variables in them as discrete-time evolutions.

Key words : integrable systems, eigenvalues computation,

キーワード : 可積分系, 固有値計算

可積分系理論に基づく固有値計算法

新庄 雅斗

1. はじめに

科学技術計算において、固有値や特異値を求める行列計算は重要な問題である。固有値を求める際、問題の背景やその利用目的に応じて適切な固有値計算法が選択されるが、汎用性の高い計算法として、行列の QR 分解に基づく QR 法がある。QR 法は、QR 分解に現れる行列のもつ直交性から、数値安定な計算法として知られている。数値計算において、固有値計算の精度や速度は行列の構造や規模に強く依存するため、しばしば、原点シフトの導入が試みられる。原点シフトが導入されたシフト付き QR 法は、シフト量を適切に定めれば、QR 法と比較して高速に固有値を求めることができる。

近年、求積可能な非線形力学系である可積分系の

方程式と数値計算の関係が見出されており、例えば、可積分系の基礎方程式である戸田方程式¹⁾の時間発展が、戸田方程式が固有値保存な力学系であることを背景に、QR 法の 1 ステップと対応づく²⁾ことは興味深い。特筆すべきは、既存の固有値計算法の再解釈にとどまらず、可積分系理論に基づいて新しい固有値計算法の定式化に成功している点である。例えば、3 重対角行列向け固有値計算法として、世界標準となっている qd 法の漸化式は、戸田方程式の離散版³⁾の時間発展式と数学的に等価であり、行列の LR 分解を利用したシフト付き LR 法の 1 ステップとして解釈できる。また、離散戸田方程式の拡張系に基づいて、3 重対角行列の空間方向への拡張に相当するヘッセンベルグ型行列に対する高精度な固有値計算法

*Faculty of Science and Engineering Department of Electronics, Doshisha University, Kyoto
Telephone: 0774-65-6239, E-mail: mshinjo@mail.doshisha.ac.jp

が定式化されている⁴⁾。このように、離散可積分系に基づく固有値計算法は、応用上優れた特性をもつ一方で、現在、帯行列に対する固有値計算法の定式化には至っていない。また、可積分系とQR法の対応関係は知られているが、可積分系におけるシフト付きQR法の位置付けは明らかにされていない。したがって、本研究では、非線形な波動現象を記述する戸田方程式およびその拡張系がラックス方程式として表現できることに着目し、ラックス方程式の離散化の観点から、既存の固有値計算法であるシフト付きQR法やシフト付きLR法を捉える。つづいて、離散ラックス方程式に基づいて固有値保存な離散力学系を導出し、新たな固有値計算法の定式化を目指す。

2. ラックス方程式の固有値保存な離散化

対称行列 $\mathcal{A} = \mathcal{A}(t) \in \mathbb{R}^{m \times m}$ に関連するラックス方程式は

$$\dot{\mathcal{A}} = \mathcal{A}\mathcal{B} - \mathcal{B}\mathcal{A} \quad (1)$$

で与えられる。ただし、 $\dot{\mathcal{A}}$ は連続時間 t に関する \mathcal{A} の導関数を表し、 \mathcal{B} は \mathcal{A} に対応する歪対称行列である。式(1)において、 \mathcal{A} を対称3重対角行列で選べば、非線形バネによって支配される練成振動系を記述する戸田方程式^{5,6)}に一致する。また、ラックス方程式(1)は、 \mathcal{A} に対する固有値問題と固有ベクトルの時間発展式の2つの式から成るラックス対

$$\mathcal{A}\Psi_i = \lambda_i \Psi_i, \quad i = 1, 2, \dots, m, \quad (2)$$

$$\dot{\Psi}_i = -\mathcal{B}\Psi_i, \quad i = 1, 2, \dots, m \quad (3)$$

の両立条件として捉えることができる。ただし、 λ_i は \mathcal{A} の固有値、 $\Psi_i = \Psi_i(t)$ は λ_i に対応する固有ベクトルである。式(3)は、上三角行列 $\mathcal{C} = \mathcal{A} - \mathcal{B}$ を用いて、 $\dot{\Psi}_i = (\mathcal{C} - \mathcal{A})\Psi_i$ と書くこともある。一般には、物理現象などを数値的に理解するために、力学系を精度良く近似するように離散時間が導入される。しかしながら、本研究では、可積分系の方程式を固有値計算に関連づけるため、式(2)-(3)に対して固有値問題を連続系と離散系の間で共有するように

$$\mathcal{A}^{(n)}\Psi_i^{(n)} = \lambda_i \Psi_i^{(n)}, \quad (4)$$

$$\frac{\Psi_i^{(n+1)} - \Psi_i^{(n)}}{\delta^{(n)}} = -\mathcal{B}^{(n)}\Psi_i^{(n+1)}, \quad (5)$$

$$\frac{\Psi_i^{(n+1)} - \Psi_i^{(n)}}{\delta^{(n)}} = \mathcal{C}^{(n)}\Psi_i^{(n)} - \mathcal{A}^{(n+1)}\Psi_i^{(n+1)} \quad (6)$$

のような離散化を導入する。ただし、 n は離散時間変数、 $\delta^{(n)}$ は離散化で生じる不等間隔差分であり、 $\mathcal{C}^{(n)}$ は $\mathcal{A}^{(n)} = \mathcal{B}^{(n)} + \mathcal{C}^{(n)} + \delta^{(n)}\mathcal{B}^{(n)}\mathcal{C}^{(n)}$ をみたす上三角行列である。もちろん、不等間隔差分 $\delta^{(n)}$ の極限 $\delta^{(n)} \rightarrow 0$ を考えれば、式(4)-(6)は式(2)-(3)に一致する。ここで、補助的行列 $Q^{(n)} = I + \delta^{(n)}\mathcal{B}^{(n)}$ 、 $R^{(n)} = (\delta^{(n)})^{(-1)}I + \mathcal{C}^{(n)}$ を用いて、式(4)-(6)を書き換えると、シフト付きQR法の漸化式

$$\mathcal{A}^{(n)} - \mu^{(n)}I = Q^{(n)}R^{(n)}, \quad (7)$$

$$\mathcal{A}^{(n+1)} = R^{(n)}Q^{(n)} + \mu^{(n)}I \quad (8)$$

が得られる。ただし、 $\mu^{(n)} = -(\delta^{(n)})^{-1}$ はシフトパラメータである。式(7)-(8)を用いた離散時間発展 $n \rightarrow n+1$ は、相似変換 $\mathcal{A}^{(n+1)} = R^{(n)}\mathcal{A}^{(n)}(R^{(n)})^{-1}$ を与えるため、固有値不変であることがわかる。

一方、非対称行列 $A = A(t) \in \mathbb{R}^{m \times m}$ に関連するラックス対は、 λ_i を A の固有値、 $\Phi_i = \Phi_i(t)$ を対応する固有ベクトルとして、

$$A\Phi_i = \lambda_i \Phi_i, \quad i = 1, 2, \dots, m, \quad (9)$$

$$\dot{\Phi}_i = -B\Phi_i, \quad i = 1, 2, \dots, m \quad (10)$$

で与えられる。ただし、 $B = (A)_{<0}$ は A から上三角部を除いてできる狭義下三角行列である。式(9)-(10)の両立条件から、ラックス方程式 $\dot{A} = AB - BA$ が直ちに導かれる。また、 $C = (A)_{\geq 0}$ を A から狭義下三角部を除いてできる上三角行列とすると、式(10)は $\dot{\Phi}_i = (C - A)\Phi_i$ と表すこともできる。式(4)-(6)と同様に、式(9)-(10)に対する離散類似として、離散ラックス対を

$$A^{(n)}\Phi_i^{(n)} = \lambda_i \Phi_i^{(n)}, \quad (11)$$

$$\frac{\Phi_i^{(n+1)} - \Phi_i^{(n)}}{\delta^{(n)}} = -B^{(n)}\Phi_i^{(n+1)}, \quad (12)$$

$$\frac{\Phi_i^{(n+1)} - \Phi_i^{(n)}}{\delta^{(n)}} = \mathcal{C}^{(n)}\Phi_i^{(n)} - A^{(n+1)}\Phi_i^{(n+1)} \quad (13)$$

とする。ただし、 $B^{(n)}$ と $\mathcal{C}^{(n)}$ は、それぞれ、 $A = B + C$ の離散類似 $A^{(n)} = B^{(n)} + \mathcal{C}^{(n)} + \delta^{(n)}B^{(n)}\mathcal{C}^{(n)}$ で定まる狭義下三角行列と上三角行列である。ラックス対の両立条件とラックス方程式が数学的に等価である

ことを背景に、式(11)-(13)の両立条件を考えると、狭義下三角行列 $B^{(n)}$ と上三角行列 $C^{(n)}$ は

$$B^{(n+1)} - B^{(n)} = (\delta^{(n)} C^{(n)} B^{(n)} - \delta^{(n+1)} B^{(n+1)} C^{(n+1)})_{<0}, \quad (14)$$

$$C^{(n+1)} - C^{(n)} = (\delta^{(n)} C^{(n)} B^{(n)} - \delta^{(n+1)} B^{(n+1)} C^{(n+1)})_{\geq 0} \quad (15)$$

をみたく。補助的な行列として、 $L^{(n)} = I + \delta^{(n)} B^{(n)}$ 、 $R^{(n)} = (\delta^{(n)})^{-1} I + C^{(n)}$ を導入すると、式(11)-(13)は、 $\mu^{(n)}$ をシフトパラメータとするシフト付きLR法

$$A^{(n)} - \mu^{(n)} I = L^{(n)} R^{(n)}, \quad (16)$$

$$A^{(n+1)} = R^{(n)} L^{(n)} + \mu^{(n)} I \quad (17)$$

へと書き換えることができる。式(16)-(17)による離散時間発展 $n \rightarrow n+1$ は、シフト付きQR法と同様に、固有値保存変形を与える。

以上のことから、シフト付きQR法およびシフト付きLR法は行列固有値を保存量とするラックス方程式の離散類似であることがわかる。

3. 離散ラックス方程式とその離散時間発展

離散ラックス対の両立条件を考えれば、固有値保存な離散可積分系の方程式が得られる。ここでは、非対称行列の例として、ヘッセンベルグ型行列および帯行列に関わる離散ラックス方程式について、数値例と併せて紹介する。

3.1 ヘッセンベルグ型行列に関わる離散ラックス方程式

戸田方程式に対する一般化は数多く存在するが、空間方向への拡張の一つにコストANT戸田方程式⁷⁾がある。コストANT戸田方程式は非対称行列 A をヘッセンベルグ型行列で定めたラックス方程式で与えられる。式(14)-(15)において、行列成分のみたす関係式を書き下せば、離散コストANT戸田方程式⁸⁾

$$J_k^{(n+1)} - J_k^{(n)} = \delta^{(n+1)} V_{k-1,1}^{(n+1)} - \delta^{(n)} V_{k,1}^{(n)}, \quad (18)$$

$$V_{k,j}^{(n+1)} - V_{k,j}^{(n)} = \delta^{(n+1)} J_k^{(n+1)} V_{k,j}^{(n+1)} - \delta^{(n+1)} V_{k-1,j+1}^{(n+1)} + \delta^{(n)} V_{k,j+1}^{(n)} - \delta^{(n)} J_{k+j}^{(n)} V_{k,j}^{(n)}, \quad (19)$$

$$V_{k,M}^{(n+1)} - V_{k,M}^{(n)} = \delta^{(n+1)} J_k^{(n+1)} V_{k,M}^{(n+1)} - \delta^{(n)} J_{k+M}^{(n)} V_{k,M}^{(n)} \quad (20)$$

が得られる。ただし、 $J_k^{(n)}$ は $C^{(n)}$ の対角成分の-1倍

であり、 $V_{k,j}^{(n)}, j = 1, 2, \dots, M$ は $B^{(n)}$ の狭義下三角部に現れる $(k+j, k)$ 成分である。 M はヘッセンベルグ型行列の下帯幅に対応する定数であり、 $M = 1$ とすれば、式(18)-(20)は離散戸田方程式³⁾と一致する。

Fig. 1は、初期行列 $A^{(0)}$ を 5×5 のヘッセンベルグ型行列

$$A^{(0)} = \begin{pmatrix} 1 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 10 & 4 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 5 & 1 & 1 & 0 \\ 8 & 10 & 10 & 4 & 1 \\ 0 & 1 & -1 & 7 & 3 \end{pmatrix}$$

として、式(18)-(20)による $J_k^{(n)}$ の時間発展をプロットしたグラフである。ただし、 $A^{(0)}$ から一意に定まる離散コストANT変数の初期値は $J_1^{(0)} = -1, J_2^{(0)} = 7.1111, J_3^{(0)} = -1.5393, J_4^{(0)} = 3.0549, J_5^{(0)} = -5.4084$ および $V_{1,1}^{(0)} = -1.1111, V_{2,1}^{(0)} = 0.0539, V_{3,1}^{(0)} = -0.7055, V_{4,1}^{(0)} = 0.2408, V_{1,2}^{(0)} = -0.1111, V_{2,2}^{(0)} = 0.0154, V_{3,2}^{(0)} = 0.0598, V_{1,3}^{(0)} = -0.8889, V_{2,3}^{(0)} = -0.0139$ であり、 $\delta^{(n)} = 10$ で設定した。Fig. 1から、 $J_k^{(n)}$ が $A^{(0)}$ の固有値 λ_k の-1倍へ収束していく様子が確認できる。

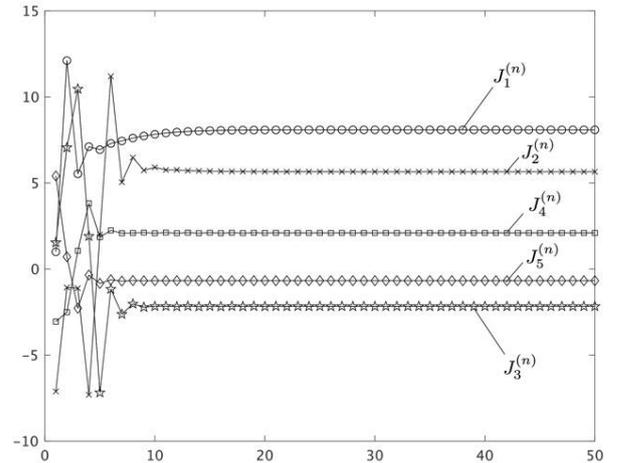


Fig. 1 A graph of discrete-time n (x -axis) and the values of $J_k^{(n)}$ (y -axis) via the discrete Kostant Toda equation with $M = 3$ and $m = 5$.

3.2 帯行列に関わる離散ラックス方程式

ラックス方程式として記述された戸田方程式の拡張系として帯行列に関連づく戸田階層⁵⁾がある。一例として、非対称行列 A を5重対角行列として、式(14)-(15)における成分のみたす関係式を書き下す

と、離散戸田階層は

$$J_{k,1}^{(n+1)} - J_{k,1}^{(n)} = \delta^{(n)}(J_{k,2}^{(n)}V_{k,1}^{(n)} - V_{k,2}^{(n)}) - \delta^{(n+1)}(J_{k-1,2}^{(n+1)}V_{k-1,1}^{(n+1)} - V_{k-2,2}^{(n+1)}), \quad (21)$$

$$J_{k,2}^{(n+1)} - J_{k,2}^{(n)} = \delta^{(n+1)}V_{k-1,1}^{(n+1)} - \delta^{(n)}V_{k+1,1}^{(n)}, \quad (22)$$

$$V_{k,1}^{(n+1)} - V_{k,1}^{(n)} = \delta^{(n+1)}(J_{k,1}^{(n+1)}V_{k,1}^{(n+1)} - J_{k-1,2}^{(n+1)}V_{k-1,2}^{(n+1)}) - \delta^{(n)}(J_{k+1,1}^{(n)}V_{k,1}^{(n)} + J_{k+1,2}^{(n)}V_{k,2}^{(n)}), \quad (23)$$

$$V_{k,2}^{(n+1)} - V_{k,2}^{(n)} = \delta^{(n+1)}J_{k,1}^{(n+1)}V_{k,2}^{(n+1)} - \delta^{(n)}J_{k+2,1}^{(n)}V_{k,2}^{(n)}, \quad (24)$$

で与えられる。ただし、 $J_{k,1}^{(n)}, J_{k,2}^{(n)}$ は、それぞれ、 $C^{(n)}$ の対角成分、上副対角成分を -1 倍した成分であり、

$V_{k,1}^{(n)}, V_{k,2}^{(n)}$ は、それぞれ、 $B^{(n)}$ の $(k+1, k), (k+2, k)$ 成分である。Fig. 2では、 3×3 の正方行列

$$A^{(0)} = \begin{pmatrix} 1 & -4 & 1 \\ 2 & -6 & -4 \\ 6 & -14 & -10 \end{pmatrix}$$

に対して、 $\delta^{(n)} = 1$ として式(21)-(24)で時間発展させた $J_{k,1}^{(n)}, J_{k,2}^{(n)}$ の値をプロットした。ただし、 $A^{(0)}$ から定まる離散戸田階層の変数の初期値は $J_{1,1}^{(0)} = -1, J_{2,1}^{(0)} = 2, J_{3,1}^{(0)} = 3, J_{1,2}^{(0)} = 4, J_{2,2}^{(0)} = 5$ および $V_{1,1}^{(0)} = 1, V_{2,1}^{(0)} = 2, V_{2,2}^{(0)} = 3$ である。Fig. 2から $J_{k,1}^{(n)}, J_{k,2}^{(n)}$ の値が定数に収束していくことが確認できる。

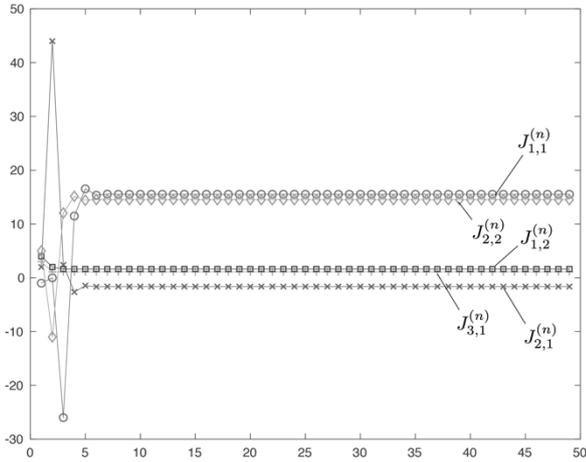


Fig. 2 A graph of discrete-time n (x -axis) and the values of $J_{k,1}^{(n)}, J_{k,2}^{(n)}$ (y -axis) via the discrete Toda hierarchy with and $m = 3$.

4. まとめ

本研究では、可積分系を特徴付けるラックス対の離散化の観点から、固有値保存な離散類似を提案し、シフト付きQR法およびシフト付きLR法を可積分系の

枠組みで捉えることができた。また、離散ラックス対の両立条件として得られる離散可積分系の変数の一部が離散時間極限で固有値へと収束することを確認した。今後は、得られた離散可積分系の一般解の導出や漸近解析を行う。また、固有値計算への応用を目的として、適当な変数変換を通じて、高速かつ数値安定な固有値計算法の定式化を試みる。

本研究の一部はハリス理化学研究所研究助成および同志社大学個人研究費を受けて遂行された。ここに記して謝意を表す。

参考文献

- 1) M. Toda, “Vibration of a Chain with Nonlinear Interaction”, J. Phys. Soc. Jpn., **22**, 431-436 (1967).
- 2) P. Deift, L. C. Li, C. Tomei, “Matrix Factorizations and Integrable Systems”, Commun. Pure Appl. Math., **42**, 443-521 (1989).
- 3) R. Hirota, “Conserved Quantities of “Random-Time Toda Equation””, J. Phys. Soc. Jpn., **66**, 283-284 (1997).
- 4) A. Fukuda, “The Discrete Hungry Lotka-Volterra System and a New Algorithm for Computing Matrix Eigenvalues”, Inverse Problems, **25**, 015007 (2009).
- 5) J. Moser, “Finitely Many Mass Points on the Line under the Influence of an Exponential Potential—An Integrable System. Dynamic Systems Theory and Applications”, Lecture Notes in Phys., **38**, 1975.
- 6) H. Flaschka, “The Toda Lattice, II. Existence of Integrals”, Phys. Rev. B, **9**, 1924-1925 (1974).
- 7) B. Kostant, “The Solution to a Generalized Toda Lattice and Representation Theory”, Adv. Math., **34**, 195-338 (1979).
- 8) 阪本豪太郎, 新庄雅斗, “ヘッセンベルグ行列に関連するラックス方程式の時間発展”, 九州大学応用力学研究所研究集会「非線形波動研究の多様性」研究集会報告, **2019A0-S2**, 120-125 (2020).

Spontaneous Formation of Magnetic Nanoparticles from Peptide-Based Diblockpolymers and Their Interactions with Cell

Nobuyuki HIGASHI*, Kiyoshiro NARIMATSU*, Minoru OKUMURA*, Tomoyuki KOGA*

(Received September 15, 2020)

Novel polymeric nanoparticles (NPs) with uniform sizes were prepared from peptide-vinyl polymer diblock hybrids by the self-organized precipitation (SORP) method. Hybrid polymers of poly(styrene) and tetra-peptide (cell-binding epitope, RGDS, reverse SDGR, cationic KKKK, and anionic DDDD) were successfully synthesized by combining solid-phase peptide synthesis and reversible addition fragmentation chain transfer (RAFT) polymerization methods. Narrowly dispersed hybrid polymers (PDI < 1.25, M_n 14000~17000) were obtained. Altering the preparation conditions easily tuned the size and size distribution of the NPs. When the zeta potentials for the NP suspensions were measured at pH 6.0, the obtained values corresponded to the net charge of each peptide segment. More importantly, the NPs could encapsulate fluorescent Nile red and magnetic iron oxide NP, which might be suitable for fluorescent imaging and magnet-induced patterning of cells, respectively.

Key words : peptide-based diblock polymer, RAFT polymerization, SORP method, magnetic nanoparticle, fluorescent imaging

キーワード : ペプチドブロックポリマー, RAFT 重合, SORP 法, 磁性ナノ粒子, 蛍光イメージ

磁性をもつペプチド・ポリマーナノ粒子の自己組織化 ならびに細胞との相互作用

東 信行, 成松 清士郎, 奥村 穂, 古賀 智之

1. はじめに

高分子微粒子は光工学, 電子工学, バイオテクノロジーなど様々な分野で用いられており, また近年では, 微粒子の機能化を目的に様々な機能性分子を微粒子の表面に担持させる試みが注目されている. 微粒子表面の機能化の代表的な手法として, **grafting-to** 法がある¹⁻³⁾. 微粒子表面にあらかじめ反応点を担持させておき, その反応点と機能性分子を反応させることで微粒子表面に機能性分子を修飾する方法である. 反応点を持つ微粒子の調製法を確立できれば,

様々な機能性分子と反応させることによって任意の機能性表面を担持した微粒子の調製が可能である. しかしながら, この方法では反応が進行するにつれて, 表面に固定化された機能性分子の立体障害が大きくなるため, 反応の進行に一定の限界値が存在する. また, 一度微粒子を調製した後に, 機能性分子と反応させるため, 反応プロセスが多くなるという問題点がある. 微粒子の表面機能化のもう一つのアプローチとして, 微粒子を調製すると同時に微粒子表面に機能性部位を担持させる手法についても盛んに

*Department of Molecular Chemistry & Biochemistry, Doshisha University, Kyoto
Telephone: +81-774-65-6622, E-mail: nhigashi@mail.doshisha.ac.jp

研究が行われている。その代表的なものが液中乾燥法である。混和しない良溶媒と貧溶媒を用い、この二つの溶媒を機械的エネルギーによって連続相と分散相に乳化する方法である。その際、適切な量、種類の界面活性剤や分散安定剤を加えることでエマルションを安定化が可能となる。あらかじめ分散相にポリマーを溶解させておき、エマルションを保ったまま分散媒を蒸発させることによって、分散相の大きさを反映したポリマー微粒子を調製できる。この時、二つの溶媒を適切に選択することで、ポリマーと二つの溶媒との溶媒和の違いによって微粒子表面に自発的に機能性部位を存在させることができると考えられる。また近年では、単分散エマルションを調製する技術も進歩しており、そのうちの 하나가膜乳化法⁴⁾である。これは、均一な多孔質膜の細孔に分散相液体を通し、微小液滴化して連続相中に分散させることで多孔質膜の細孔の大きさに依存したエマルションを調製する技術である。これにより、ポリ乳酸の微粒子表面にポリエチレングリコールを担持した機能性ポリマー微粒子をワンポットで調製できることを報告している⁵⁾。しかし、これら液中乾燥法では、エマルションの安定化のために界面活性剤や分散安定剤などの添加剤が必要となる。また、この添加剤は精製によってある程度は取り除くことができるが、ごく一部は微粒子に残ってしまうという報告もされており、生体への利用を目的とした微粒子の調製法としては不適切である。最近、添加剤を必要としない液中での微粒子調製法として自己組織化析出法(Self-Organized Precipitation (SORP)法)が開発された^{6,7)}。高分子を良溶媒に溶解させ、貧溶媒を加えた後、良溶媒を蒸発除去することにより高分子を貧溶媒中に微粒子として析出させるという極めて検便な方法である。この方法では、二つの条件(良溶媒と貧溶媒の混和すること、良溶媒の沸点が貧溶媒よりも低いこと)を満たせば、添加剤等を必要とせず、様々な材料から微粒子を得ることが可能である。その際、貧溶媒を適切に選択することによって、微粒子表面に自発的に機能性部位を担持させることが可能であると考えた。

本研究では、微粒子表面の機能化のための分子として、ペプチドに着目した。ペプチドはそのアミノ酸

配列によってさまざまな機能を設計することができる。また、構成されるアミノ酸種によっては反応性の官能基を有しているため、側鎖や末端に容易に化学修飾を行うことができるのも特徴である。ここではペプチド・ポリマー・ハイブリッドの中で最も容易に合成できると考えられるペプチド・ブロックポリマーに注目した^{8,9)}。具体的には、細胞接着性 Arg-Gly-Asp-Ser (RGDS)¹⁰⁾ ペプチド・ブロックポリマーを SORP 法により微粒子化することで、細胞接着性表面を持つ高分子ナノ粒子の調製を目指した。細胞接着性の RGDS とポリスチレン (PSt) からなるペプチド・ブロックポリマー (PSt-*b*-RGDS (Fig. 1)) の合成は、ペプチド固相合成法と可逆的付加-開裂連鎖移動ラジカル (RAFT) 重合法¹¹⁾ を組み合わせて行った。これを良溶媒に THF、貧溶媒に水を用いた SORP 法によりナノ微粒子化することで、粒子内部に疎水性の PSt、微粒子表面に親水性の RGDS ペプチドが担持された細胞接着性の高分子ナノ粒子が自発的に調製できると期待した。また、粒子の更なる機能化を目指し、粒子内部への機能性材料の内包を試みた。具体的には、ナイルレッド (NR) と磁性ナノ粒子 (MNP) を添加することで、蛍光性および磁性を有する高分子ナノ粒子を調製した。最終的には、この粒子と細胞との相互作用について検討し、細胞操作のためのナノツールとしての活用を目指した。

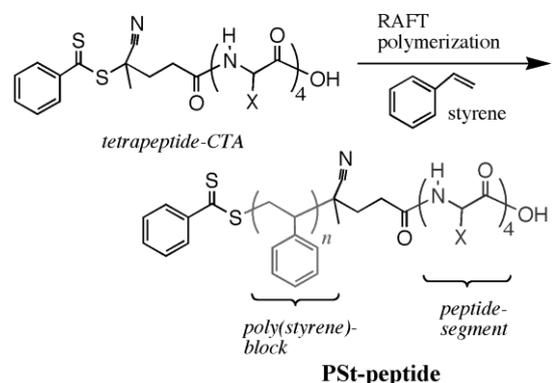


Figure 1. Preparation of poly(styrene)-*b*-peptide diblockpolymers by using RAFT polymerization method. Peptide segment: RGDS, SDGR, KKKK, and DDDD.

2. 実験方法

2-1. ジブロックポリマーの合成

ペプチド連鎖移動剤(peptide-CTA)およびSDGR-CTAをFmoc固相合成法により合成した。得られたペプチドの分子量はマトリックス支援レーザー励起イオン化法(MALDI-TOFMS)スペクトルより、また、構造確認は¹H-NMRスペクトルにより行った。

PSt-peptideブロックポリマーの合成はFigure 1に従って行った。連鎖移動剤として、peptide-CTA 0.005 mmol, モノマーとしてSt 4 mmol, 開始剤としてAIBN 0.0025 mmolを混合し、溶媒にアセトンを用いて1 mLにメスアップした。凍結脱気を行った後、60℃で3・6・12・18・48・144時間重合させた。重合後、非溶剤に冷メタノールを用いた再沈殿法により精製し、減圧乾燥させることで目的のPSt-peptideブロックポリマーをえた。構造は¹H-NMRスペクトルにより、また、分子量はGPCにより評価した。

2-2. SORP法によるナノ粒子の調製

ポリマーTHF溶液(0.1 mg/mLまたは1.0 mg/mL)1 mLをゆっくりと攪拌しながら、2 mLの超純水を1 mL/minの滴下速度で加え、滴下後さらに2分間攪拌した。その後室温で二日間静置しTHFを蒸発させ、ポリマーナノ粒子分散液を得た。なお、ポリマーTHF溶液および超純水は微粒子調製前に0.450 μmのコスモナイスフィルターを用いてろ過したものを使用した。

粒径制御は次のようにした。PSt-peptideのTHF溶液(0.1 mg/mL)の量を変化させることでナノ粒子の粒径制御を行った。PSt-*b*-RGDSのポリマーTHF溶液(0.25 mL・0.5 mL・1.0 mL・2.0 mL・4.0 mL)をゆっくりと攪拌しながら、2 mLの超純水を1 mL/minの滴下速度で加え、滴下後さらに2分間攪拌した。その後室温で静置しTHFを蒸発させ、ポリマーナノ粒子分散液を得た。別の方法は、容量と滴下測度を変化させることにより行った。PSt-peptideのTHF溶液(0.1 mg/mL)についてTHF/水の最終比率は変化させずに、スケール(各液体量)を変化させることによって、ナノ粒子の粒径制御を行った。超純水の滴下速度を1 mL/minで固定し、スケールを2

倍・3倍と変化させて(THF溶液(mL)/水(mL)=1/2・2/4・3/6)微粒子調製を行った。PSt-*b*-RGDSのTHF溶液をゆっくりと攪拌しながら、超純水を1 mL/minの滴下速度で加え、滴下後さらに2分間攪拌した。その後室温で静置しTHFを蒸発させ、ポリマーナノ粒子分散液を得た。また、スケールを2倍・3倍と増加させるのに伴って、水の滴下速度も2倍・3倍と速くして、後は同様に微粒子調製することによっても粒径を制御した。

2-3. ナノ粒子の機能化

ポリマーのTHF溶液(0.1 mg/mL)に、さらにナイルレッド(NR)や粒径5 nmのFe₃O₄磁性ナノ粒子(MNP)を溶解させ(NR:0.1 μg/mL, MNP:0.5 μg/mL)、微粒子化することで、蛍光性、磁性およびその両方を有するPSt-peptideナノ粒子の調製を行った。THF溶液を攪拌しながら超純水を1 mL/minの滴下速度で加え、滴下後さらに2分間攪拌した。室温で2日間静置しTHFを蒸発させ、機能性材料を内包したポリマーナノ粒子分散液を得た。その後、ナノ粒子を遠心分離(15000 rpm, 30 min)によって回収し、超純水に再分散させ洗浄するというサイクルを3回行うことで内包されていないNRやMNPを除去した。

2-4. SEM観察ならびに測定

SEM観察は、日本電子製JSM7500FDを用いた。サンプルは微粒子調製後の分散液をそのまま使用した。カーボンテープ上にマイカ基板を貼り付け、サンプル溶液を1 cm四方のマイカ基板上に滴下し、そのまま乾燥させた。なお、磁性体を内包させたポリマーナノ粒子に関しては、微粒子調製後の分散液を凍結乾燥し、スパチュラでカーボンテープ上に乗せ、エアークンプレッサーで処理することでサンプリングした。観察前に厚さ60 Åで白金スパッタ処理を行い、加速電圧はサンプルに合わせて1-3 kVで観察した。

粒子のゼータ電位は大塚電子株式会社製ELS-8000を用いて測定した。調製した微粒子分散液(0.05 mg/mL)を1000倍に希釈し、25℃下、電位80 Vで測定を行った。測定は粒子系測定の積算回数を10回、ベース測定の積算回数を5回、泳動方向テストを正負2回ずつ行った後、電気泳動移動度の測定

を 5 回、繰り返し回数 4 回で行った。再現性を測るため、同様の測定を 4 回行った。

蛍光スペクトルは、日本分光株式会社製 FP-8300 型蛍光分光光度計を用いて、1 cm 角の石英セル中で行った。測定条件は 25°C 下、感度 medium、励起バンド 5 nm、蛍光バンド 5 nm、励起波長 530 nm の条件で行った。

3. 結果及び考察

3-1. RAFT 重合による PSt-peptide の合成

Figure 2 (a) に CTA-RGDS を用いた St の RAFT 重合により得られたポリマーの GPC チャートを示した。また Figure 2 (b) にモノマーの重合率に対する分子量と多分散度の変化を示した。モノマーの重合率に比例して分子量が増加し、かつ理論分子量と GPC より算出した分子量がよく一致しており、PDI

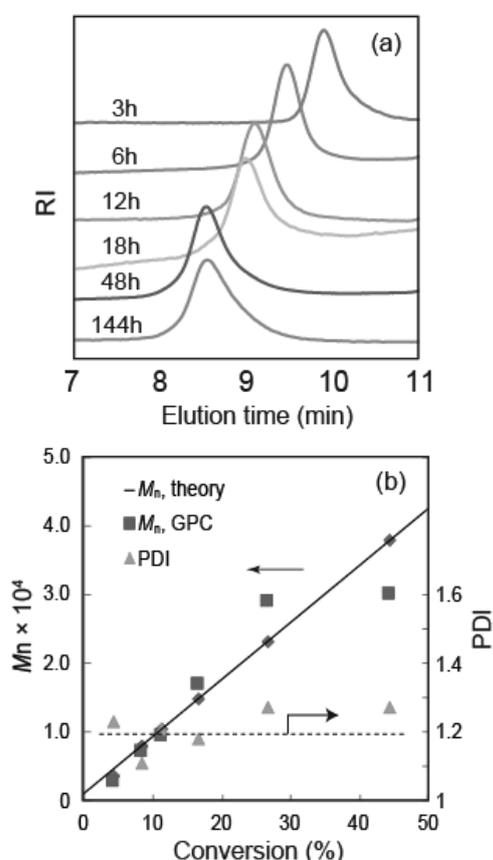


Figure 2. RAFT polymerization of styrene with RGDS-CTA. (a) SEC charts of PSt-RGDSs obtained at different polymerization time. (b) Plots of M_n and PDI as a function of conversion.

も 1.3 以下とよく制御できていることから、リビング的に重合が進行したことがわかる。

3-2. 制御された粒径をもつナノ粒子の生成

粒径制御のために、THF/水の割合を変化させて、微粒子調製を行った。Figure 3 に水 2 mL に対して、THF 溶液の量を変化させ (0.25 mL および 4.0 mL) 微粒子調製した時の SEM 像と粒径分布を示した。SEM 像から、0.25 mL では粒径約 50 nm、4.0 mL では粒径約 160 nm の粒径の揃った粒子が観察された。また、粒径分布について評価すると THF 溶液の量が少なきときは粒径分布が狭く、THF 溶液の量が増加すると粒径分布も広がっていくことがわかった。

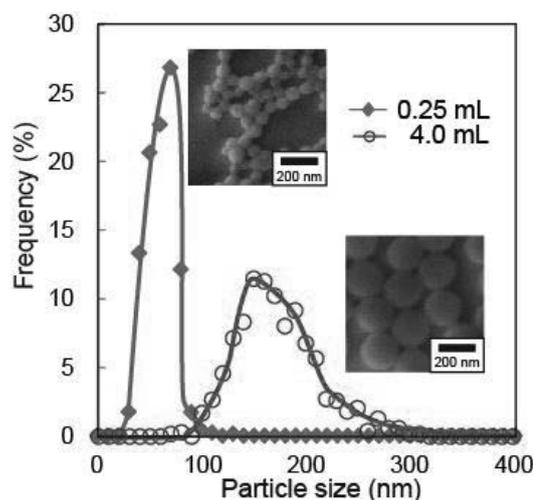


Figure 3. Size distributions of PSt-RGDS nanoparticles by varying THF/water ratio during SORP method.

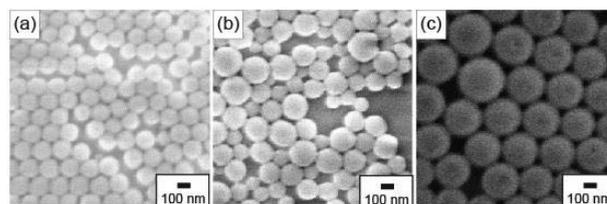


Figure 4. SEM images of PSt-RGDS nanoparticles. THF/water = 1.0 mL/2.0 mL (a), 2.0 mL/4.0 mL (b), 3.0 mL/6.0 mL (c). Drop rate = 1 mL/min.

また別の粒径制御の方法として、THF/水の最終比

率は変化させずに、スケール（各液体量）を変化させることによって粒径を制御した。Figure 4に 滴下速度を 1 mL/min で固定し、スケールを 2 倍・3 倍と変化させて (THF 溶液 (mL)/水 (mL) = 1/2・2/4・3/6) 微粒子調製した時の SEM 像を示した。THF 溶液 (mL)/水(mL)=1/2・2/4・3/6 では平均粒径がそれぞれ 100 nm・200 nm・260 nm とスケールが大きくなるにつれて粒径が大きくなっていることがわかる。これは 1 mL/min の滴下速度で水を加えていくときに、スケールが大きくなるのに伴って、系内の水の濃度がゆっくり増加するためだと考えられる。そのため生成する核の量が少なくなり粒径が大きくなったと考えられる。そこで、スケールを 2 倍・3 倍と増加させるのに伴って、水の滴下速度も 2 倍・3 倍と速くすることで、生成する核の量を調整し、粒径制御を試みた。Figure 5 には先述の滴下速度を固定した系に加えて、スケールとともに滴下速度も 2 倍・3 倍と速くした系の粒径分布を示した。滴下速度を固定して調製した系では、スケールの増加に伴って、粒径が大きくなるのに対して、スケールとともに滴下速度も変化させた系では全ての場合において、ほぼ同じ粒径分布であった。このことから微粒子調製の際に生成する核の量を調整することで粒径制御できることがわかった。

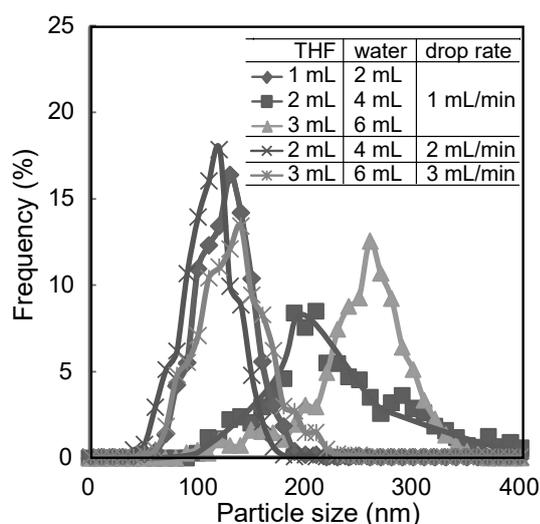


Figure 5. Size distributions of PSt-RGDS nanoparticles by varying the total volume and the drop rate.

次に粒子の表面状態に関する知見を得るために、PSt-RGDS ナノ粒子（粒径 80 nm）のゼータ電位の測定を行った。レーザー電位計により粒子の電気移動度 $U(\text{cm}^2/\text{V}\cdot\text{s})$ を計測し、ゼータ電位を求めたところ、 -51.1 mV であった。PSt-GDS は超純水中 (pH 5.6) では Arg が正に、Asp と末端のカルボキシ基が負に帯電しており、分子全体で負に帯電している（正味電荷 -1 ）と考えられることから、ペプチド部位が微粒子表面に担持されていることが支持された。他の PSt-peptide ナノ粒子についても、ペプチドの電荷状態に見合うゼータ電位が観察された。

3-3. 蛍光性 NR や磁性 MNP の内包・機能化

次に、得られた PSt-RGDS ナノ粒子の蛍光イメージングや磁性材料としての有用性を賦与するために、NR や MNP の内包実験を行った。ポリマーの THF 溶液 (0.1 mg/mL) に、NR または NMP を溶解させ (0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、それ以外はこれまでと同様の条件で微粒子化を行った。まず、NR の内包について、蛍光スペクトルより検討したところ、疎水的な環境に存在するスペクトルを示し、安定な PSt-RGDS ナノ粒子内部への内包を支持した。Figure 6 はガラス基板に NR 内包 PSt-RGDS ナノ粒子分散液をガラス板上にキャストし、同じ場所を位相差および蛍光顕微鏡観察したものである。位相差像でナノ粒子の凝集が観察された部分からは NR 由来の強い赤色蛍光が見られた。

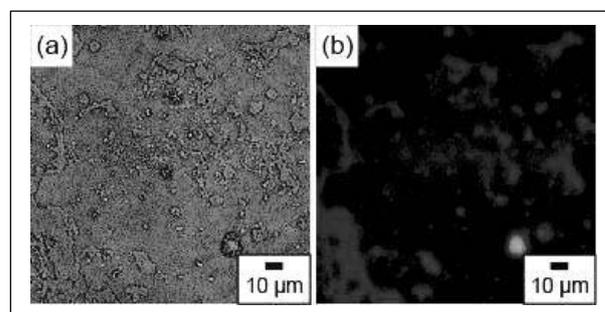


Figure 6. Phase contrast micrograph (a) and fluorescence micrograph (b) of the NR-loaded PSt-RGDS nanoparticle cast film on a glass plate..

次に磁性を有する PSt-ナノ粒子の調製を行った。

Figure 7 にその SEM 像と, MNP 内包ポリマー微粒子の凝集体に磁石を近づけ, その動きを観察した結果を示した. SEM 像から, 平均粒径 130 nm 程度の粒径の揃った粒子が観察された, この粒子の磁性特性を検討した. 画像中央の白い部分が磁性ナノ粒子の凝集で, そこに磁石を近づけると, 磁性ナノ粒子が磁石に引き寄せられ, 凝集が下に伸びていく様子が観察できた. PSt-RGDS ナノ粒子に磁性を付与することに成功した.

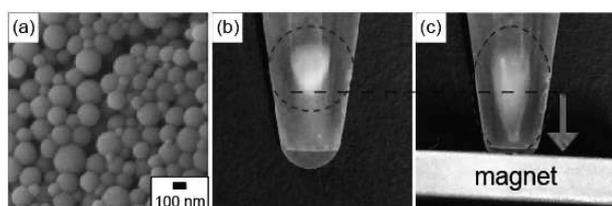


Figure 7. SEM image of PSt-RGDS nanoparticle (a), and photographs of the MNP-loaded PSt-RGDS dispersions without (b) and with (c) a magnet plate.

4. 結言

本研究では, 新規なペプチド-ポリマーブロックポリマーを合成し, それらのナノ粒子化と機能化を行った. 具体的な成果を以下にまとめる.

- RAFT 重合法によりテトラペプチド-ポリスチレン自ブロックポリマーを系統的に合成した.

- SORP 法を利用して粒径分布の狭いナノ粒子化に成功した.

- 蛍光色素や磁性ナノ粒子も安定に内包できた.

これらナノ粒子と細胞との相互については講演時に述べる.

本研究の一部は, 2019 年度 同志社大学ハリス理化学研究所研究助成金の支援を受けて行った. ここに記して謝意を表する.

参考文献

- 1) R. Lupitsky, M. Motornov and S. Minko, Single nanoparticle plasmonic devices by the “Grafting to” method, *Langmuir*, **24**, 8976-8980 (2008).

- 2) B. Wang, B. Li, B. Zhao, and C. Y. Li, Solid-state grafting-to and grafting-from methods, *J. Am. Chem. Soc.*, **130**, 11594-11595 (2008).
- 3) S. Kango, S. Kalia, A. Celli, J. Njuguna, Y. Habibi, R. Kumar, Surface modification of inorganic nanoparticles for development of organic-inorganic nanocomposites, *Prog. Polym. Sci.*, **38**, 1232-1261 (2013).
- 4) Y. Wei, Y. Wang, L. Wang, D. Hao and G. Ma, Fabrication strategy for amphiphilic microcapsules with narrow size distribution by premix membrane emulsification, *Colloids Surf. B: Biointerfaces*, **87**, 399-408 (2011).
- 5) Y. Kanakubo, F. Ito and Y. Murakami, Novel one-pot facile technique for preparing nanoparticles modified with hydrophilic polymers on the surface via block polymer-assisted emulsification/evapo-ration process, *Colloids Surf. B: Biointerfaces*, **78**, 85-91 (2010).
- 6) H. Yabu, T. Higuchi and M. Shimomura, Unique phase-separation structures of block-copolymer nanoparticles, *Adv. Mater.*, **17**, 2062-2065 (2005).
- 7) H. Yabu, Creation of functional and structured polymer particles by self-organized precipitation (SORP), *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **85**, 265-274 (2012).
- 8) Koga, M. Koike, S. Kamiwatari, N. Higashi, Rod-coil transition-based morphological variation of peptide-synthetic hybrid block copolymer assemblies in non-aqueous media” *Chem. Lett.*, **40**, 1244-1246 (2011).
- 9) T. Koga, S. Kamiwatari, N. Higashi, Preparation and self-assembly behavior of β -sheet peptide-inserted amphiphilic block copolymer as a useful polymeric surfactant, *Langmuir*, **29**, 15477-15484 (2013).
- 10) M. D. Pierschbacher, E. Ruoslahti, Cell attachment activity of fibronectin can be duplicated by small synthetic fragments of the molecule, *Nature*, **309**, 30-33 (1984).
- 11) G. Moad, E. Rizzardo, S. H. Thang, Living radical polymerization by the RAFT process, *Aust. J. Chem.*, **58**, 379-410 (2005).

Effective cultivation for substance production by cytotoxic T lymphocyte

Yoshiro Tahara*

(Received September 18, 2020)

Cytotoxic T lymphocyte (CTL) is a major cell in the cellular immunity. Cancer cells, infected cells and damaged cells are lead to apoptosis by CTLs. Development of the effective cultivation method of CTLs attracts much attentions and recently, it has been reported that activated CTLs produce cytotoxic extracellular vesicles against mesenchymal stem cells in the tumor microenvironment. The present study focused on the cultivation method and substance production by CTLs. In the most researches, CTLs are cultivated using the immobilized antibodies (anti-CD3 antibody). In the present study, however, it was shown that the immobilization of antibodies is not necessary to produce the number of CD8-positive T lymphocytes and the cytotoxic effect against mesenchymal stem cells in the cultural medium.

Key words : Cytotoxic T lymphocytes, Extracellular vesicles, Mesenchymal stem cell

キーワード : 細胞傷害性 T 細胞, 細胞外小胞, 間葉系幹細胞

細胞傷害性 T 細胞の効率的培養と有用物質生産

田原 義朗

1. はじめに

我々の身体には一度かかった病気に 2 回目はかかりにくくなる「免疫」という防御機能が存在する。これは体内の白血球を中心とする免疫細胞が病原体特異的な認識機能を持っているからであり、一度その病原体を認識した免疫細胞は体内に残り続け、2 回目の病原体の進入に迅速に対応できるからである。このとき癌細胞のような自身の体内に存在する病的な細胞を異物として認識し、攻撃することができる免疫細胞を細胞傷害性 T 細胞 (CD8 陽性) という。近年、癌患者の体内から T 細胞を取り出し、癌特異的な認識部位を遺伝子組換え操作によって導入し、癌特異的な細胞傷害性 T 細胞に変換し、再び癌患者に投与する細胞輸注療法に関する研究が盛んに行われるようになった。これは患者自身の T 細胞では認

識しにくい難治性の癌種においても適用可能な方法であり、次世代の画期的な癌治療法として期待されている¹⁾。またこれらの細胞作成時に用いられる培養培地にも注目が集まっており、2018 年の報告では、T 細胞から培地中に放出される細胞外小胞 (エクソソームなど) は、癌微小環境に存在する間葉系幹細胞に作用し、癌の転移を抑制するということが報告された²⁾。

本研究では細胞傷害性 T 細胞による細胞外小胞などの有用物質生産に注目し、そのための基本的な細胞の培養方法について検討した。具体的には従来の細胞傷害性 T 細胞の培養には固定化抗体による刺激が必要であるとされており、抗 CD3 抗体、抗 CD28 抗体をプレートやビーズなどの固相に固定して培養するのが一般的であった。しかしながら培地中の有用

*Faculty of Science and Engineering, Doshisha University, Kyoto.
E-mail: ytahara@mail.doshisha.ac.jp

物質生産において、この手法が適切であるかどうかについては議論されていない。そこで本研究では抗 CD3 抗体の固定化の有無による CD8 陽性 T 細胞の生産性、および活性化マーカーである CD25³⁾の発現について評価し、抗体の固定化の有無によって T 細胞はどのような反応をするのかについて考察した。最後に得られた培地による間葉系幹細胞への作用についても評価した。

2. 実験

2.1. T 細胞の培養

本研究の実験は同志社大学動物実験委員会のガイドラインに沿って実施した。C57BL/6 マウスの脾臓より T 細胞を回収し、24 well プレートにて 10 日間培養を行った。このとき抗 CD3 抗体をプレートに固定化した場合と、培地中に加えた場合について検討を行った。細胞の評価はフローサイトメトリーによって行い、PI 染色によって定義された生細胞において、CD8 および CD25 陽性細胞数を評価した。

2.2. 間葉系幹細胞との相互作用

上記の方法で抗 CD3 抗体を培地中に加えた場合に得られた培地を、限外ろ過膜によって濃縮し、C57BL/6 マウス骨髄由来間葉系幹細胞に添加した場合の細胞の様子を顕微鏡で観察した。

3. 結果と考察

3.1. T 細胞の培養

T 細胞の培養に必要な抗 CD3 抗体は、従来の報告では固定化する必要があるとされていた。しかしながら本研究で得られた結果では、培地に抗 CD3 抗体を添加した遊離抗体において、得られる生細胞数、生細胞中の CD8 陽性 T 細胞の割合、生細胞中の CD8 および CD25 陽性 T 細胞の割合はいずれの場合でも、培養 4 日目までは固定化抗体を上回る結果となった。

培養 4 日目以降でも生細胞中の CD8 陽性 T 細胞の割合は、固定化抗体が遊離抗体を上回ることはなく、現在までに多くの研究で行われていた固定化抗体を用いた培養は、CD8 陽性 T 細胞を生産するという点においては必ずしも適した方法ではないということ

が明らかとなった。

一方で CD8 陽性 T 細胞の活性化マーカーである CD25 の発現に関しては、培養 4 日目までは遊離抗体の方が優っていたが、7 日目以降は固定化培養のほうが、生細胞中の CD8 陽性 T 細胞における割合としては高くなった。また生細胞数に注目すると遊離抗体においては 4 日目、固定化培養においては 7 日目がピークとなった。これらの結果を総合すると細胞傷害性 T 細胞培養における固定化抗体の役割とは、抗 CD3 抗体の添加によって起こる細胞分裂に伴い減少する、細胞数に対する抗体の量比の減少スピードを低下させることで、ある程度継続的に活性の高い CD8 陽性 T 細胞が得られることにあると考えられる。

3.2. 間葉系幹細胞との相互作用

最後に遊離抗体による培養 4 日目の培地を濃縮し、間葉系幹細胞に投与したところ、細胞死を誘導していることが観察されたことから、遊離抗体を用いた培養でも、CD8 陽性 T 細胞は従来の報告と同様の機能を示していることが示唆された。

4. 結論

本研究によって細胞傷害性 T 細胞による物質生産の観点からは、遊離抗体による培養も有効な選択肢であることが明らかとなった。

謝辞

本研究はハリス理化学研究所研究助成によって実施いたしました。ここに感謝の意を表します。

参考文献

- 1) S.A. Rosenberg, N.P. Restifo, *Science*, **348**, 62-68 (2015).
- 2) N. Seo, Y. Shirakura, Y. Tahara, F. Momose, N. Harada, H. Ikeda, K. Akiyoshi, H. Shiku, *Nat. Commun.*, **9**, 435 (2018).
- 3) K. Thummler, N. Hantzschel, A. Skapenko, H. Schulze-Koops, A. Pich, *Bioconjugate Chem.*, **21**, 867-874 (2010).

Analysis of the Regulation of Selenoprotein P Translation by a Novel Noncoding RNA

Yuichiro MITA*

(Received September 18, 2020)

Selenium (Se) containing proteins contain Se in the form of selenocystine (Sec), which replaces the sulfur of cysteine with Se. The incorporation of Sec into proteins takes place in a special form using the Sec insertion sequence (SECIS). We searched a novel regulation of Sec insertion using SECIS. *in silico* analysis revealed that the SECIS of the plasma Se containing protein Selenoprotein P (SeP) had a noncoding RNA (L-IST) with a complementary sequence in the SECIS. Overexpression of L-IST caused an mRNA-independent decrease in the amount of protein in SeP. Inhibition of ATP synthesis was able to reduce SeP protein by two mechanisms: a decrease in SeP mRNA and an increase in L-IST. The reduction of protein by L-IST expression was caused by inhibition of mRNA to protein translation. Because SeP is a factor that exacerbates diabetes, suppression of SeP by L-IST is a promising therapeutic target for diabetes.

Key words : Selenoprotein P, SECIS, translation

キーワード : Selenoprotein P, SECIS, 翻訳

Noncoding RNA による Se 含有タンパク質翻訳制御機構の解明

三田 雄一郎

1. はじめに

生体を構成する元素は水素・炭素・酸素のように含有量の多い主要元素, 硫黄やリンのような少量元素, フッ素やヨウ素のようにごく微量しか含まれていないが, 生命の維持に必須な微量元素に大別することができる。微量元素にはヘモグロビンにおける鉄, 抗酸化タンパク質の合成・機能に必須な亜鉛やセレン(Se)など, 数多くの元素が含まれている。

微量元素の1つであるSeは人間の体内に約13 mg (1. 7×10^{-5} %)しか含まれていないが, Seが欠損すると重篤な心筋症を引き起こすことや, 免疫の異常,

がんの発症リスクが増加することが知られている¹⁾。一方で, 過剰に摂取することで糖尿病の発症リスクの増加や神経障害などの過剰症が起こる²⁾。生体内におけるSeの至適濃度の範囲は非常に狭く, Seのホメオスタシスの維持は生体機能・生命の維持に重要な役割を担っている。

Se含有タンパク質は, これまでに25種類存在することが明らかにされている。25種類存在しているSe含有タンパク質はシステインの硫黄がSeに置き換わったセレノシステイン(Sec)という形でタンパク質中にSeを含んでいる。Secのタンパク質中への

* Systems Life Sciences Laboratory, Department of Medical Life Systems, Faculty of Life and Medical Sciences, Doshisha University, Kyoto
Telephone: +81-774-65-6258, FAX: +81-774-65-6019, E-mail: ymita@mail.doshisha.ac.jp

挿入は翻訳後修飾によってシステインの硫黄がSeに置き換わるのではなく、mRNAからタンパク質への翻訳段階に行われている。そのため、Secは“翻訳される21番目のアミノ酸”と呼ばれている³⁾。

Se含有タンパク質の3'非翻訳領域(3' UTR)には、ヘアピン構造をとるSec挿入配列(SECIS)と呼ばれる特殊な配列が存在し、SECISにSECIS結合タンパク質であるSBP2が結合することによって、通常は終止コドンとして機能しているUGAコドンにSecを挿入することができるようになる。SECISとSBP2の結合力の強さはSECISの立体構造に依存していることが知られている。実際に、25種類存在するSe含有タンパク質のmRNAに存在するSECISの塩基配列は、遺伝子ごとに異なっていることや、それぞれのSECISとSBP2の結合力には違いがあることが報告されており、SECISの立体構造を変化させる因子はSe含有タンパク質の量を決定する因子であることが示唆されている⁴⁾。

そこで、近年注目を集めているnoncoding RNAがSe含有タンパク質の翻訳に与える影響の解析を行った。

2. 実験方法

2.1 noncoding RNAの同定

25種類存在するSe含有タンパク質のSECIS配列と、類似配列を持つ内在性noncoding RNAは、Basic Local Alignment Search Tool(BLAST)解析を用いてスクリーニングを行った。

2.2 遺伝子クローニングと*in vitro* RNA合成

BLAST解析によって同定された遺伝子は、SH-SY5Y細胞由来のcDNAをPrimstar GXL (TAKARA)で増幅し、in fusion cloning kit (Clontech)を用いてpcDNA3.1(-)のBamH Iサイトに挿入した。In vitro RNA合成はPlasmidを制限酵素で切断し、TranscriptAid T7 High Yield Transcription Kit (Thermo)を用いて行った。

2.3 使用した細胞と遺伝子トランスフェクション

SePを発現しているヒト肝細胞癌由来 HepG2 細胞

と、SePを発現していないヒト胎児腎臓腫瘍由来 HEK293 細胞を用いた。細胞へのRNA及びplasmidのトランスフェクションにはLipofectamin LTX (Invitrogen)、もしくはLipofectamin RNAiMax (Invitrogen)を用いた。

2.4 遺伝子およびタンパク質発現解析

各mRNAの発現はreal time PCR法により評価した。各タンパク質の発現は特異的抗体を用いたウェスタンブロット法により評価した。

2.5 mRNA翻訳状態の確認

Noncoding RNAがmRNAからタンパク質への翻訳に与える影響は、スクロース密度勾配遠心法を用いたポリソーム解析で評価した⁵⁾。

2.6 統計処理

2群間の比較にはstudent's t-test法を用い、3群以上間の比較には1次元分散解析(ANOVA)及びTukey-kramer法で解析を行った。p<0.05で統計的に有意な差とした。

3. 結果および考察

3.1 Selenoprotein Pにはantisense配列を有する内在性long noncoding RNAが存在する。

はじめに、25種類存在しているSe含有タンパク質のSECIS関連のRNAをスクリーニングするため、BLAST解析を行った。その結果、ceRNAとして働く可能性のある8種類のSECIS類似配列を持つRNAが見つかった。その多くはPseudogeneだった。興味深い事に、Se運搬タンパク質であるSelenoprotein P (SeP)にはSECIS配列のantisense配列を持つRNAであるL-ISTが見つかった(Table 1)。L-ISTは約3.5kbのnoncoding RNAで、精巢で多く発現している。L-ISTはSePがコードされているゲノム領域のアンチセンス鎖に存在している。そのため、L-ISTはSeP mRNAのSECIS配列を含む3' UTRと完全に相補的な配列を有している。各細胞株におけるSeP mRNAとL-ISTの発現を確認したが、両方を発現している細胞は見つからなかった(Fig. 1)。

Table 1. RNAs with SECIS-like sequences

Gene	Pseudogene	SECIS	Other	SECIS
<i>GPX1</i>	<i>GPX1P1</i>	67/69		
	<i>GPX1P2</i>	65/69		
<i>SelK</i>	<i>SelKP1</i>	84/88		
<i>SeP</i>			<i>L-IST</i>	62/62 81/81
<i>SelT</i>	<i>SELTP</i>	70/74		
<i>SelW1</i>	<i>SelW1P</i>	75/89		
<i>Sel15</i>			<i>Arginase 2</i> intron 2	76/82
<i>SPS2</i>	<i>SEPHS2P1</i>	61/77	<i>SCAPER</i> intron 27	67/77

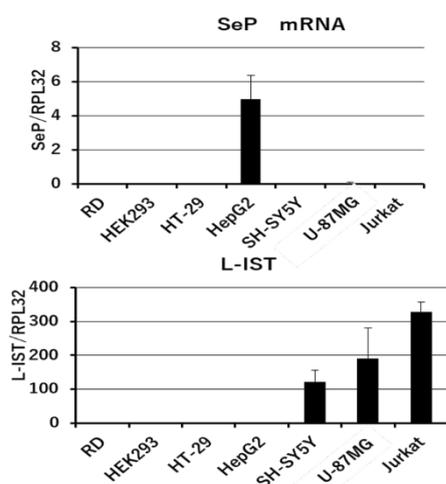


Fig. 1. Expression levels of SeP mRNA (A) and L-IST (B) in various cell lines.

3. 2 L-IST は mRNA 量非依存的に SeP タンパク質を減少させる。

L-IST は SeP mRNA に存在する SECIS 配列の antisense 配列を持つことから、SECIS 機能への関与が推測された。SeP の発現している HepG2 細胞に L-IST を過剰発現させたところ、SeP のタンパク質量の減少が見られたが、SeP mRNA 量に変化は認められなかった (Fig. 2)。

SeP 以外にも Se を持つタンパク質が存在するため、L-IST が他の Se 含有タンパク質に与える影響を解析した。解析を行った GPx1, GPx4, TR1, TR2 はタンパク質量、mRNA 量ともに変化が見られず、L-IST は Se 含有タンパク質全般ではなく SeP 特異的に転写以降の段階で SeP のタンパク質量を減少させていることが考えられる (Fig. 2)。SeP を発現していない HEK293 細胞に L-IST と SeP を過剰発現した際にも、HepG2 細胞と同様に、mRNA 量の減少を伴わないタン

パク質の減少が起こり (data not shown), 細胞特異性は見られなかった。

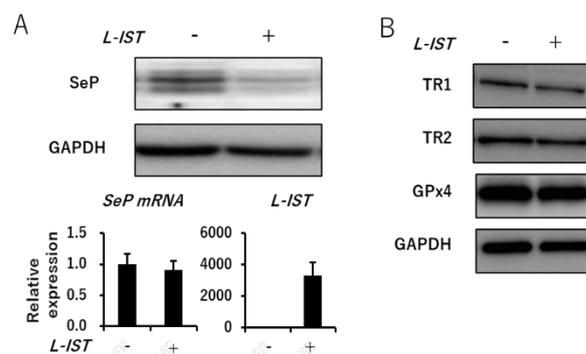


Fig. 2. Changes in expression of (A) SeP protein and SeP mRNA and (B) Se containing proteins (TR1, TR2, GPx4) in HepG2 cells when L-IST is overexpressed.

3. 3 L-IST は SeP mRNA のリボソームとの結合を阻害する。

L-IST が転写以降の段階で SeP タンパク質を減少させている可能性が示唆されたため、SeP mRNA の翻訳段階を、mRNA とリボソームの結合を指標に解析するポリソーム解析で評価を行った。その結果、L-IST を過剰発現した HepG2 細胞では、フラクション No の大きいリボソームが豊富に結合している領域の SeP mRNA が減少していた。一方で、Se 含有タンパク質の 1 つ、GPx4 は L-IST の過剰発現を行っても mRNA の分布に大きな変化は認められなかった。このことから、L-IST は SeP mRNA の翻訳段階、特にリボソームとの結合を阻害していることが示唆された。(Fig. 3)

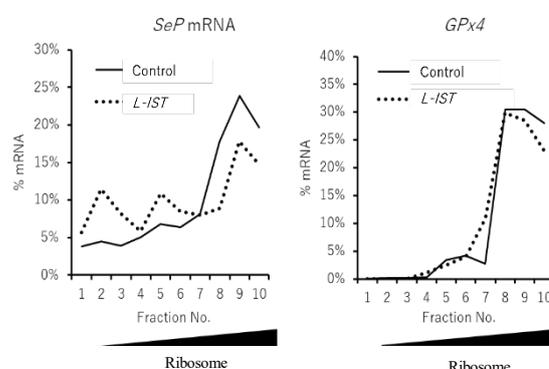


Fig. 3. Polysome analysis by sucrose density gradient centrifugation (left) SeP mRNA, (right) GPx4 mRNA.

3. 4 ATP合成の阻害がL-ISTの発現量を増加させる。

SePは糖尿病患者で増加し、糖尿病態を増悪させる因子であるため⁶⁾、SePのタンパク質量を減少させるL-ISTを増加させることは、糖尿病の新たな治療標的として有用であると考えられる。

そこで、SePを発現しているHepG2細胞に様々な物質を添加し、SeP mRNAを増加させることなく、L-ISTのみを増加させる物質のスクリーニングを行った。

その結果、酸化ストレスを誘導するH₂O₂によってSeP mRNAが減少しL-ISTが増加することが分かった。H₂O₂はミトコンドリアにおけるATPの合成を阻害することが知られている。そこで、ミトコンドリア内膜に存在するATP合成酵素阻害剤であるoligomycin Aで処理を行ったところ、HepG2細胞におけるSeP mRNAが減少しL-ISTが増加した。このことから、H₂O₂による酸化ストレスは、ミトコンドリアでのATP合成を阻害し、mRNAの減少とともにL-ISTを増加させることで、より強力にSePタンパク質を抑制していると考えられる。

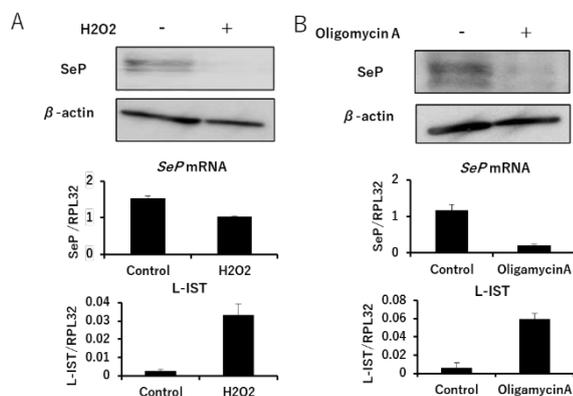


Fig. 4. Changes in SeP expression by Inhibition of ATP synthesis. Changes in protein and mRNA expression 24 hours after stimulation of HepG2 cells with 100 mM H₂O₂ (A) or 10 μM Oligomycin A (B).

4. 結語

*in silico*の解析によって、SePのタンパク質量をmRNA量非依存的に抑制する、新規のnoncoding RNAであるL-ISTを同定した。L-ISTはSeP mRNAとリボソームの結合を阻害することによってSePのタンパク質への翻訳を阻害している。SePは糖尿病の治療

標的に上げられているため、L-ISTの発現を増加させることは、糖尿病の新たな治療法になる可能性が高い。

本研究は、ハリス理化学研究所、科研費、鈴木謙三記念医科学応用研究財団から研究助成を受けて行った。ここに記して謝意を記す。

参考文献

- 1) L. H. Duntas, S. Benvenga, “Selenium: an element for life“, *Endocrine*, **48**[3], 756-75 (2015).
- 2) M. P. Rayman, “Selenium and human health“, *Lancet*, **379** [9822] 1256-68 (2012)
- 3) C. Vindry, T. Ohlmann, L. Chavatte, “Translation regulation of mammalian selenoproteins“, *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, **1682** [11], 2480-2492 (2018).
- 4) N. Fradejas-Villar, S. Secher, C. B. Anderson, M. Doengi, B. A. Carlson, D. L. Hatfield, U. Schweizer, M. T. Howard, “The RNA-binding protein Scisbp, differentially modulates UGA codon reassignment and RNA decay“, *Nucleic Acids Res.*, **45** [7], 4094-4107 (2017)
- 5) C. Carrieri, L. Cimatti, M. Biagioli, A. Beugnet, S. Zucchelli, S. Fedele, E. Pesce, I. Ferrer, L. Collavin, C. Santoro, A. R. R. Forrest, P. Carninci, S. Biffo, E. Stupka, S. Gustincich, “Long non-coding antisense RNA controls Uchl1 translation through an embedded SINEB2 repeat“, *Nature*, **491** [7424], 454-7 (2012)
- 6) Y. Mita, K. Nakayama, S. Inari, Y. Nishito, Y. Yoshioka, N. Sakai, K. Sotani, T. Nagamura, Y. Kuzuhara, K. Inagaki, M. Iwasaki, H. Misu, M. Ikegawa, T. Takamura, N. Noguchi, Y. Saito, “Selenoprotein P-neutralizing antibodies improve insulin secretion and glucose sensitivity in type 2 diabetes mouse models“, *Nature Commun*, **8** [1], 1658 (2017).

The Issue in Science Communication between the Expert Committee and the Government for Measures against COVID-19

Noriko Noguchi *

(Received September 14, 2020)

Since the first victim of COVID-19 was found in Japan, the government has taken measures by setting up several kinds of committees including the expert committee for measure against COVID-19 mainly consisted of the experts of the infection disease. Mr. Shinzo Abe, a prime minister of Japan had the press conference 5 times, at which Dr. Shigeru Omi who was a vice-chairperson of the expert committee explained about infection status and measures from the scientific point of view. The expert committee also had the press conference 10 times independently. The volunteer group consisted of experts of corona virus has transmitted information about COVID-19 across the internet at its homepage. It is good for us to have many resources of information but it may cause confusion sometimes. On 24th June, 2020, three members of the expert committee had the press conference to sum up their activities and to make a proposal to the government to make clear the role and the responsibility of the government and the expert committee. At that press conference, surprisingly, they were informed about abolition of the expert committee. Insufficient science communication between the government and the expert committee is considered as one of reasons for these situations. To solve these issues, cultivation of science communicators is an important urgent need.

Key words : science communication, expert committee, government, COVID-19

キーワード : サイエンスコミュニケーション, 専門家会議, 政府, 新型コロナウイルス感染症

COVID-19 対策における専門家会議と政府の サイエンスコミュニケーションの問題点

野口 範子

1. はじめに

2020 年 2 月 14 日に内閣府に設置された新型コロナウイルス感染症(COVID-19)対策のための「専門家会議」のメンバーは、2020 年 2 月 3 日に厚生労働省内に発足した「アドバイザリーボード」と同じで、事務局が厚生労働省から内閣府に変わって、名前が「アドバイザリーボード」から「専門家会議」となったものである。4 月の緊急事態宣言発令に至るまで、安倍首相とともに会見に臨む「専門家会議」の尾身茂副座長の姿は多くの国民

の記憶に印象深く残っているだろう。この「専門家会議」は 7 月 3 日に正式に廃止され、そのメンバー 12 人のうち 8 人は、同日発足した「新型コロナウイルス感染症対策分科会」に移り、尾身茂氏が分科会会長を務めることになった。これに先立つ 6 月 24 日、日本記者クラブにおいて、「専門家会議」の脇田隆宇座長、尾身茂副座長、そして岡部信彦氏の 3 名が、2 月からの取り組みの総括を行い、専門家会議と政府の役割と責任の範囲を明確にするべきであるなどの提言を行った。この記

者会見中に、「専門家会議」の廃止の情報が記者から飛び出し、3メンバーもそこで初めて知るといふ事態となった。専門家会議では、感染拡大への危機感から、“前のめり”となったことを反省点として掲げていた¹⁾。そうなった原因の一つとして、専門家会議と政府の間で十分なサイエンスコミュニケーションがとれていなかったことが考えられる。

本学では、2016年度からサイエンスコミュニケーター養成副専攻を開講している。新型コロナウイルスの感染拡大は、サイエンスコミュニケーションの重要性を改めて示している。今回の発表では、本学のサイエンスコミュニケーター養成の取り組みを紹介するとともに、今後改善すべき課題などを提供する。

2. COVID-19 の経緯と会議体

COVID-19に関する出来事と会議体について表1にまとめた。日本では、2009年に新型インフルエンザ感染症が発生したことを受けて、2012年に新型インフルエンザ等対策特別措置法（特措法）が交付された。同年特措法に基づき、「新型インフルエンザ等対策有識者会議」が発足し、その下部組織として「基本対処方針等諮問委員会」が設置された²⁾。

表1. 新型コロナウイルス感染症に関する出来事と会議体

2009年	新型インフルエンザ感染症(亜型H1N1)発生
2011年	「新型インフルエンザ等対策閣僚会議」発足
2012年	新型インフルエンザ等対策特別措置法(特措法)公布 特措法に基づく「新型インフルエンザ等対策有識者会議」発足 下部組織として「基本対処方針等諮問委員会」設置
~~~~~	~~~~~
2019年	新型コロナウイルス感染症(Covid-19) 発生
2020年	1月16日 国内初の患者確認 1月16日 特措法に基づき、新型コロナウイルス感染症対策本部が内閣府に設置 2月 3日 対策本部事務局の厚労省内に「アドバイザリーボード」設置 2月13日 国内初の死者 2月14日 対策本部事務局が内閣府へ、「アドバイザリーボード」が「専門家会議」に 2月16日 「専門家会議」初会合 2月25日 厚労省内に「クラスター対策班」設置 3月26日 「基本対処方針等諮問委員会」委員決定 3月27日 「基本対処方針等諮問委員会」初会合 4月 7日 緊急事態宣言7都道府県に発令 4月17日 緊急事態宣言全国に拡大 5月12日 「諮問委員会」に4人の経済学者が加わり、緊急事態宣言の解除検討 5月14日 緊急事態宣言39県で解除 5月25日 緊急事態宣言全国で解除

そして 2019 年中国武漢市で発生した

COVID-19 の国内初の患者が確認されたのが2020年1月16日であった。同日特措法に基づき、新型コロナウイルス感染症対策本部が内閣府に設置された。この時、対策本部事務局は厚生労働省内にあり、2月3日に同省内にアドバイザリーボードが設置された。それから10日後国内で初の死者が出た。翌日、対策本部事務局が厚生労働省から内閣府に移り、アドバイザリーボードが専門家会議に変わった。アドバイザリーボードと専門家会議の構成員は同じで、表2に示すように、12人のうち10人は感染症の専門家である³⁾。

表2. 新型コロナウイルス感染症対策専門家会議

座長	脇田 隆字	国立感染症研究所所長
副座長	尾身 茂	独立行政法人地域医療機能推進機構理事長
構成員	岡部 信彦	川崎市健康安全研究所所長
	押谷 仁	東北大学大学院医学系研究科微生物分野教授
	釜池 敏	公益社団法人日本医師会常任理事
	河岡 義裕	東京大学医科学研究所感染症国際研究センター長
	川名 明彦	防衛医科大学内科学講座(感染症・呼吸器)教授
	鈴木 基	国立感染症研究所感染症疫学センター長
	館田 一博	東邦大学微生物・感染症学講座教授
	中山 ひとみ	霞ヶ関総合法律事務所弁護士
	武藤 香織	東京大学医科学研究所公共政策研究分野教授
	吉田 正樹	東京慈恵会医科大学感染症制御科教授

(12名のうち10名が感染症専門家)

2月下旬、厚生労働省内にはクラスター班が設置された。3月26日 COVID-19 に対する基本対処方針等諮問委員会の委員が決定された。表3に示すように諮問委員会の構成員16人のうち12人が専門家会議のメンバーである。

表3. 基本的対処方針等諮問委員会構成員

○	岡部 信彦	川崎市健康安全研究所所長
	押谷 仁	東北大学大学院医学系研究科微生物分野教授
◎	尾身 茂	独立行政法人地域医療機能推進機構理事長
	釜池 敏	公益社団法人日本医師会常任理事
	河岡 義裕	東京大学医科学研究所感染症国際研究センター長
	川名 明彦	防衛医科大学内科学講座(感染症・呼吸器)教授
	鈴木 基	国立感染症研究所感染症疫学センター長
☆	田島 優子	さわやか法律事務所 弁護士
	館田 一博	東邦大学微生物・感染症学講座教授
☆	谷口 清州	独立行政法人国立病院機構三重病院臨床研究部長
	朝野 和典	大阪大学大学院医学系研究科感染制御学教授
☆	中山 ひとみ	霞ヶ関総合法律事務所弁護士
☆	長谷川 秀樹	国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センター長
	武藤 香織	東京大学医科学研究所公共政策研究分野教授
	吉田 正樹	東京慈恵会医科大学感染症制御科教授
	脇田 隆字	国立感染症研究所所長

◎:会長 ○:会長代理 ☆:専門家会議以外のメンバー

(16名のうち12名が専門家会議のメンバー) 令和2年3月26日現在

これ以降は誰の記憶にもあるように、4月7日

の緊急事態宣言が7都道府県に発令され、17日に全国に拡大された。これらが経済に与えた影響は大きく、5月には諮問委員会に4人の経済学者が加わり、緊急事態宣言解除の検討がされ、14日には39県で、そして25日には全国で解除された。

### 3. 複数の発信経路の存在

COVID-19 対策における会議体とそれぞれの役割について図1にまとめた。新型コロナ感染症対策専門家会議はその名のとおり感染症の専門家が集まって議論し、対策方法について政府に提言を行う組織である。政府はそれを受けてその内容を諮問委員会に諮問し、諮問委員会は政府に答申する。政府は対策方針についてメディアを介して国民に向けて発信する。これが基本的な流れである。

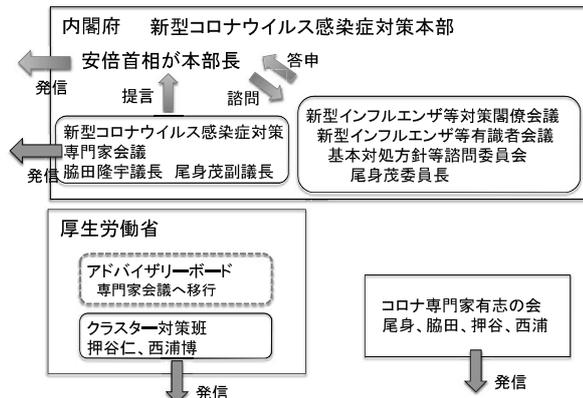


図1. 新型コロナ対策に関する主な組織の関係図(旧体制)

安倍首相は COVID-19 対策に関して4月1日から5月25日の間に5回記者会見を行っている。その時は必ず専門家会議副議長の尾身茂氏が同席しており、首相に代わり説明をしていた。一方、専門家会議は2月24日から5月29日の間に単独で記者会見を10回も行っている。最初の3回は「見解」としてであったが、感染拡大の心配が大きくなってきた3月19日以降の会見は「状況分析・提言」に変わっている。専門家会議が開催された初期の頃は、政府からの質問に回答をする形で専門家会議の見解が述べられていたが、その

後、専門家としての分析に基づき政府に提言する形に変わっていった。さらに、政府が設置した会議体のメンバーの多くが集まって「コロナ専門家有志の会」が結成され、ホームページ上で様々な情報が発信された⁴⁾。クラスター班のメンバーで、かつ有志の会にも所属している、自称8割おじさんこと西浦博教授が、SNSを介して首相の発言を訂正する場面もあった。有用な情報が多く発信されることは歓迎すべきことであるが、同一人物が複数の組織に所属し、複数の媒体を介して発信すると、受け手は混乱し、場合によっては不信感に繋がることもあるのではないだろうか。

### 4. 新型コロナウイルス感染症対策分科会の設置

専門家会議の脇田隆宇議長、尾身茂副議長、岡部信彦氏は6月24日に日本記者クラブにおいて、これまでの専門家会議の取り組みを総括し、問題点や反省点を述べるとともに、政府に向けて、「専門家会議と政府の役割と責任を明確にすべきである」との提言を述べていた。同時刻に、西村経済再生担当大臣が別途行った記者会見において、専門家会議の廃止を表明したことを、記者会見に望んでいた3氏は知ることになるというドラマチックな展開となった。

専門家会議は正式に廃止され、これに変わって、分科会が発足した。表4のように、分科会はこれまでの専門家会議のメンバー8人と、5月に新しく諮問委員会に加わった2人、これに新規メンバー8人の合計18人で構成されている²⁾。

表4. 新型コロナウイルス感染症対策分科会の構成員

石川晴巳	ヘルスケアコミュニケーションプランナー
石田昭浩	日本労働組合総連合会副事務局長
今村顕史	東京都立駒込病院感染症センター長、感染症科部長
太田圭洋	日本医療法人協会副会長
大竹文雄	大阪大学大学院経済学研究科教授 **
岡部信彦	川崎市健康安全研究所所長 *
押谷仁	東北大学大学院医学系研究所科微生物学分野教授 *
◎尾身茂	独立行政法人地域医療機能推進機構理事長 *
釜泡敏	公益社団法人日本医師会常任理事 *
河本宏子	ANA 総合研究所会長
小林慶一郎	公益財団法人東京財団政策研究所研究主幹 **
清古愛弓	全国保健所長会副会長
館田一博	東邦大学微生物・感染症学講座教授 *
中山ひとみ	霞が関総合法律事務所弁護士 *
平井伸治	鳥取県知事
南砂	読売新聞東京本社常務取締役 調査研究本部長
武藤香織	東京大学医科学研究所公共政策研究分野教授 *
○脇田隆宇	国立感染症研究所所長 *

◎分科会長 ○分科会長の代理 (令和2年7月3日)  
(18名のうち8名は専門家会議旧メンバー*、2名は諮問委員会新メンバー**)

厚生労働省内にアドバイザーボードが元のメンバーに新規の3名が加わり復活するとともに、全国知事会と厚生労働省意見交換会が行われることになった⁵⁾。現行の組織図は図2のようになっている。

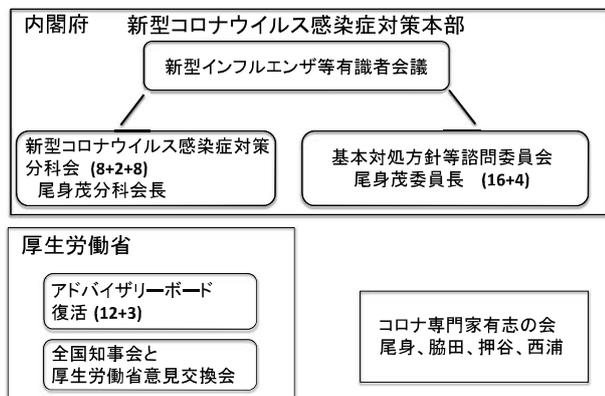


図2. 新型コロナ対策に関する主な組織の関係図(新体制)

分科会にはこれまでの専門家会議にはなかった、より広く異なる分野から新たなメンバーが加わっている。専門家会議の構成員の偏りが問題視されていたことに対する措置が取られたものと思われるが、異なるバックグラウンドを持つ人がこれだけ多く集まって十分な議論が可能なのか疑問に思う。もし、十分意見が出されたとして、どのようにまとめるのだろうか。ここで重要な役割を担うのがサイエンスコミュニケーターであると考え。様々な分野からの意見をまとめて、分かりやすい形で政府に伝えることが重要であるからである。

ハリス理化学研究所の第3部門研究として取り組んできた、「同志社大学大学院における文理融合型サイエンスコミュニケーション教育の育成」は、今般の新型コロナウイルス感染症の拡大の危機に直面することで、より一層重要性が認識されることとなった。サイエンスコミュニケーターの養成は喫緊の課題である。

本研究はハリス理化学研究所第9期部門研究第3部門として受けた助成により行われたもので、感謝いたします。

### 参考文献

1) 岡田 広行 東洋経済 ON LINE:  
<http://toyokeizai.net/articles/-/359804>

- 2) 内閣官房ホームページ, [cas.go.jp](http://cas.go.jp)
- 3) 首相官邸ホームページ, [kantei.go.jp](http://kantei.go.jp)
- 4) コロナ専門家有志の会, [note.stopcovid19.jp](http://note.stopcovid19.jp)
- 5) 厚生労働省ホームページ, [mhiw.go.jp](http://mhiw.go.jp)

## Novel Regulatory Mechanism of Cholesterol Biosynthesis in Cancer Cells

Tsuyoshi WAKU*, Toru HAGIWARA, Yuri ATSUMI, Natsuko TAMURA, Yasuomi URANO, Akira KOBAYASHI

(Received August 28, 2020)

Cholesterol serves as a component of cell membrane and a precursor for the biosynthesis of fat-soluble bioactive substances. Cancer cells enhance cholesterol biosynthesis to maintain its rapid cell growth. However, the regulatory mechanism in cancer cells is still unclear. Here, we found that cholesterol biosynthesis in cancer cells is regulated by a transcription factor NRF3 which promotes cancer development. DNA microarray and gene ontology analysis using NRF3 knockdown and/or overexpression cancer cells indicated that NRF3 induces the expression of enzymatic genes related to cholesterol biosynthesis, including HMGCR and HMGCS1. NRF3 also increases and activates SREBP2, a master regulator of cholesterol biosynthesis. Furthermore, we found the physical interaction between NRF3 and SREBP2 proteins, and the DNA recruitment of NRF3 to its response element adjacent to SREBP2 response element in the promoters of HMGCR and HMGCS1 gene. To investigate the impact of NRF3 on cholesterol biosynthesis, we performed GS-MS and found that lanosterol, a precursor of cholesterol, is reduced by NRF3, whereas cholesterol itself is not changed. LDL uptake assay revealed that NRF3 enhances cellular uptake of cholesterol by endocytosis. These results suggest that NRF3 reprograms SREBP2-mediated cholesterol biosynthesis in cancer cells.

**Key words :** Cholesterol biosynthesis, Transcriptional regulation, SREBP2, NRF3

**キーワード :** コレステロール生合成, 転写制御, SREBP2, NRF3

## がん細胞における新たなコレステロール代謝機構の発見

和久 剛*, 萩原 透, 渥美 友里, 田村 奈都子, 浦野 泰臣, 小林 聡

### 1. はじめに

コレステロールは、ステロイドホルモンや脂溶性ビタミンなどの前駆体や細胞膜の構成成分である。がん細胞は活発な細胞増殖を維持するために細胞膜成分の要求性が高く、コレステロール生合成を亢進させていることが知られている¹⁾。

細胞内コレステロール量は、小胞体膜上に局在する SREBP2, SCAP, および INSIG によって厳密に感知・制御されている²⁾。通常時、これらの因子は三量体を形成している。細胞内のコレステロール量が減少

すると SREBP2-SCAP 二量体は INSIG から乖離しゴルジ体へ運ばれた後、SREBP2 はさらにプロテアーゼ S1P, S2P によって切断される。切断された SREBP2 タンパク質の N 末端側は核内に移行し、ほぼ全てのコレステロール合成酵素を転写することで、細胞内のコレステロール量を一定に保っている³⁾。

我々はこれまでに、転写因子 NRF3 が様々な組織の腫瘍部位で高発現し、腫瘍増大や転移促進に寄与していることを明らかにしてきた⁴⁾。また、NRF3 は抗酸化剤応答配列 (antioxidant response element :

* Faculty of Life and Medical Sciences, Doshisha University, Kyoto  
Telephone: +81-774-65-6280, E-mail: twaku@mail.doshisha.ac.jp

ARE) に結合することが報告されていた⁵⁾。しかしながら、NRF3 の標的遺伝子については未だ不明な点も多いままであった。本研究では、NRF3 をノックダウンあるいは過剰発現したがん細胞の遺伝子発現解析から、NRF3 が一部のコレステロール合成酵素やSREBP2を直接転写していることを見出した。またコレステロールやその前駆体であるラノステロールの細胞内量をGC-MS解析で定量した結果、コレステロールの細胞内量はNRF3に影響を受けない一方で、ラノステロールの細胞内量はNRF3によって低下することを明らかにした。さらに、NRF3はLDLのエンドサイトーシスによるコレステロール取り込みを誘導することも見出した。

## 2. 試料及び実験方法

### 2.1 遺伝子発現解析

NRF3 をノックダウンしたヒト大腸がん由来 HCT116 細胞 (NRF3KD-HCT116) および p53 欠損 HCT116 細胞 (NRF3KD-HCT116p53KO) と、NRF3 過剰発現のヒト肺がん由来 H1299 細胞 (NRF3OE-H1299) を用いて DNA マイクロアレイを行なった。Gene ontology (GO) 解析には Web サーバー DAVID を用いた。

### 2.2 クロマチン免疫沈降 (ChIP) 解析

細胞をプロテアソーム阻害剤 MG132 で 16 時間処理した後、抗 NRF3 抗体を用いて ChIP を行った。

### 2.3 共免疫沈降 (Co-IP) 解析

3×Flag-NRF3 と 6×Myc-SREBP2 (活性型) の発現プラスミドを HCT116 細胞に共導入後、抗 Myc 抗体で免疫沈降し抗 Flag 抗体でウエスタンブロットした。

### 2.4 ガスクロマトグラフ質量分析 (GC-MS) 解析

細胞から脂質抽出を行った後、GC-MS で定量した。Cholesterol-d7 と 3β-Hydroxy-8, 24-lanostadiene を内部標準として用いた。

### 2.5 LDL 取り込み解析

各細胞を、蛍光色素 DyLight488 でラベルされたコレステロールを含む低密度リポタンパク質 (LDL) と共培養した後、フローサイトメトリーを用いて細胞に取り込まれたコレステロールを定量した。

## 3. 結果および考察

### 3.1 NRF3 はコレステロール合成経路に関与する

NRF3KD-HCT116, NRF3KD-HCT116p53KO および NRF3OE-H1299 の 3 条件で DNA マイクロアレイを行い、NRF3 ノックダウンで発現低下し、かつ NRF3 過剰発現で発現上昇する 100 遺伝子を絞り込んだ。次に、この 100 遺伝子に対して GO 解析を行った結果、NRF3 は 5 つのコレステロール合成酵素 (ACAT2, HMGCR, HMGCS1, IDI1, SC4MOL) の遺伝子発現に関与することを見出した (Table 1)。以上の結果は、NRF3 がコレステロール合成経路に関与することを強く示唆している。

### 3.2 NRF3 はコレステロール合成のマスター制御因子である SREBP2 を直接転写する

SREBP2 はコレステロール合成酵素群を包括的に転写するマスター制御因子である。そこで次に、NRF3 が SREBP2 の発現や活性化に及ぼす影響を調べた。ウエスタンブロットによってタンパク質切断前の不活

Table 1. Gene ontology of NRF3KD or NRF3OE cancer cells.

Term	P-Value	FDR	Genes
GO:0006695~cholesterol biosynthetic process	3.E-05	0.05	ACAT2, HMGCR, HMGCS1, IDI1 SC4MOL
GO:0008299~isoprenoid biosynthetic process	2.E-03	2.96	HMGCR, HMGCS1, IDI1
GO:0007584~response to nutrient	5.E-03	7.86	HMGCR, TGFBR2, GNPAT, PTEN
GO:0051726~regulation of cell cycle	2.E-02	28.30	ICK, GADD45B, PTEN, CDKL5
GO:0048661~positive regulation of smooth muscle cell proliferation	3.E-02	40.22	HMGCR, TGFBR2, TGM2
GO:0030512~negative regulation of TGF-β receptor signaling pathway	4.E-02	44.02	TGFBR2, CHST11, BAMBI
GO:0060044~negative regulation of cardiac muscle cell proliferation	5.E-02	51.33	TGFBR2, PTEN
GO:0034145~positive regulation of TLR4 signaling pathway	5.E-02	54.72	HMGB1, PELI1
GO:0042493~response to drug	6.E-02	59.79	TGFBR2, HMGCS1, GNPAT, PTEN, BCAR3

性型 SREBP2 タンパク質が NRF3 で増加すること (Fig. 1A, Inactive), また ChIP 解析によって SREBP2 プロモーターには NRF3 が結合する ARE が存在していることを明らかにした (Fig. 1B). さらに不活性型 SREBP2 と同様, タンパク質切断後の活性型 SREBP2 タンパク質量も NRF3 によって増加することも見出した (Fig. 1A, Active). 以上の結果から, NRF3 は SREBP2 を直接転写することで SREBP2 のタンパク質量を増加させる. それにより SREBP2 と SCAP のタンパク質量比を相対的に低下するため, SREBP2 の活性化が誘導されたと考えられる.

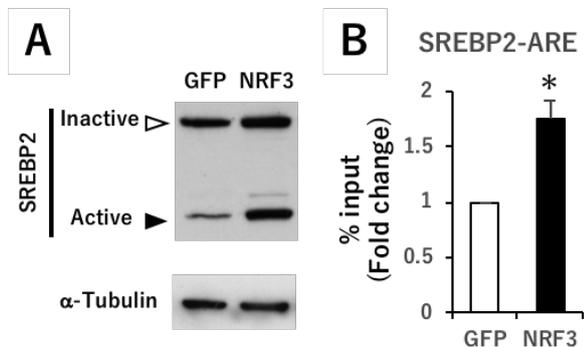


Fig. 1. NRF3 induces SREBP2 expression and activation. GFP; Control.

### 3.3 NRF3 は SREBP2 と協調してコレステロール生合成酵素を選択的に転写している

上記の結果から, NRF3 過剰発現細胞では SREBP2 が活性化しているにも関わらず (Fig. 1A), HMGCR や HMGCS1 など一部の合成酵素しか転写誘導されていないことが明らかとなった (Table 1). これらの知見は, NRF3 が SREBP2 の転写活性に選択性を与えていることを示唆している. この問題を解決するため, まずは NRF3 と SREBP2 のタンパク質が相互作用するのかを共免疫沈降によって調べた. その結果, NRF3 は活性型 SREBP2 と相互作用することを見出した (Fig. 2A). また HMGCR や HMGCS1 プロモーター内の SREBP2 応答配列 (SRE) 近傍には NRF3 応答配列 (ARE) が存在していることも見出した (Fig. 2B). そこで ChIP 解析を行い, これら ARE には NRF3 が結合することを確認した (Fig. 2C). 以上の結果から, NRF3 は SREBP2 と複合体を形成することで HMGCR と HMGCS1 を選択的に転写している可能性が示された.

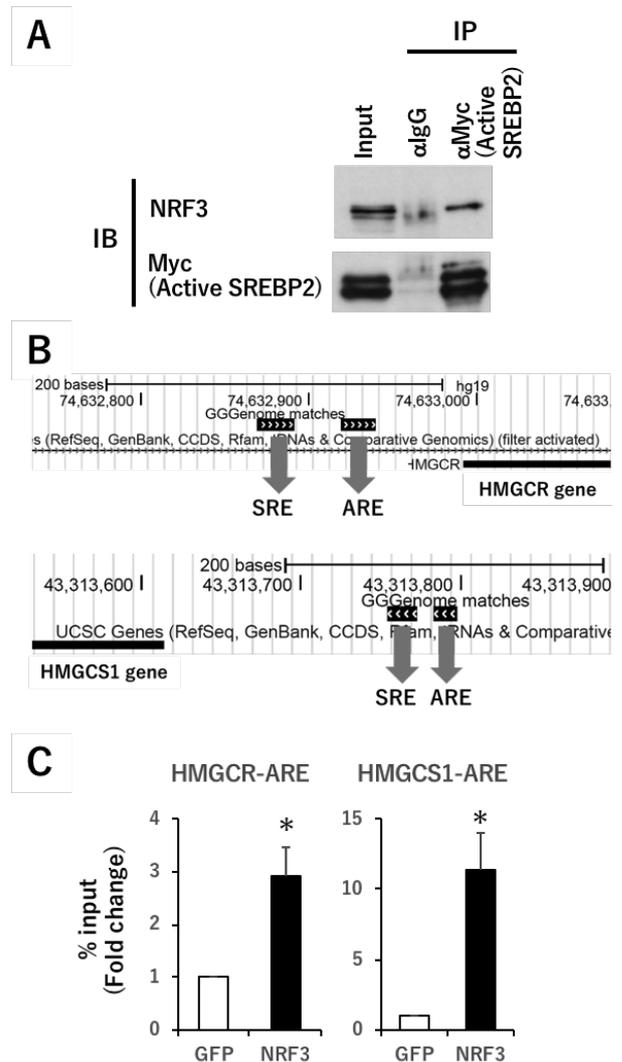


Fig. 2. NRF3 interacts with active SREBP2 and binds to ARE adjacent to SRE in HMGCR and HMGCS1 promoters. In (A),  $\alpha$ IgG; Control. In (B), ARE; NRF3 response element, SRE; SREBP2 response element. In (C), GFP; Control.

### 3.4 NRF3 はコレステロール生合成をリプログラムしている

実際に NRF3 がコレステロール生合成経路を変調 (リプログラム) しているのかを調べるため GS-MS 解析を行った. その結果, NRF3 過剰発現によってコレステロール量は変化しなかった一方で, コレステロール前駆体であるラノステロール量は有意に減少していた (Fig. 3A). 細胞内コレステロールは, 生合成以外にも LDL のエンドサイトーシスによって供給

されることが知られている⁶⁾。そこでLDL取り込み解析を行った結果、NRF3がコレステロール取り込みを促進していることを見出した (Fig. 3B)。

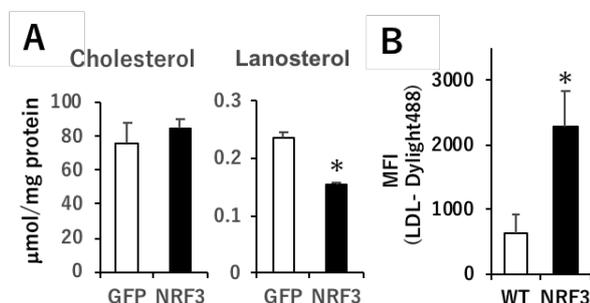


Fig. 3. NRF3 reduces lanosterol, and maintains cholesterol by LDL uptake. In (A), GFP; Control. In (B), WT (wild-type H1299); Control.

#### 4. 結論

細胞内コレステロール量は、マスター制御因子である SREBP2 により維持されている。本研究では、がん増悪に寄与する転写因子 NRF3 が SREBP2 と相互作用することで、コレステロール生合成酵素の HMGCR や HMGCS1 を選択的に発現誘導することでコレステロール生合成経路をリプログラムしている可能性を見出した。一方で NRF3 は、生合成経路のリプログラムによって細胞内コレステロール量が減少しないようにするため、LDL のエンドサイトーシスによる細胞外からコレステロール取り込みも促進していることを明らかにした。今後の課題は、NRF3-SREBP2 によるコレステロール生合成経路リプログラムが腫瘍形成や転移などのがん悪性化にどのような影響を及ぼすのかを検討すること、また NRF3 によるコレステロール取り込みはどのようなメカニズムで制御されているかを解明することである。

本研究の一部は、科研費および同志社大学ハリス理化学研究所第4部門の支援を受けて行った。ここに記して謝意を表す。

#### 参考文献

- 1) CR. Santos and A. Schulze, “Lipid metabolism in cancer”, *FEBS J.*, **279**, 2610-2623 (2012).
- 2) T. Yang, P.J. Espenshade, ME. Wright, D. Yabe,

Y. Gong, R. Aebersold, J.L. Goldstein, MS. Brown, “Crucial step in cholesterol homeostasis: Sterols promote binding of SCAP to INSIG-1, a membrane protein that facilitates retention of SREBPs in ER”, *Cell*, **110**, 489-500 (2002).

3) J.D. Horton, N.A. Shah, J.A. Warrington, N.N. Anderson, S.W. Park, M.S. Brown, J.L. Goldstein, “Combined analysis of oligonucleotide microarray data from transgenic and knockout mice identifies direct SREBP target genes”, *PNAS*. **100**, 12027-12032 (2003).

4) T. Waku, N. Nakamura, M. Koji, H. Watanabe, H. Katoh, C. Tatsumi, N. Tamura, A. Hatanaka, S. Hirose, H. Katayama, M. Tani, Y. Kubo, J. Hamazaki, T. Hamakubo, A. Watanabe, S. Murata, A. Kobayashi, “NRF3-POMP-20S Proteasome Assembly Axis Promotes Cancer Development via Ubiquitin-Independent Proteolysis of p53 and Retinoblastoma Protein”, *Mol. Cell. Biol.*, **40**, e00597-19 (2020).

5) A. Kobayashi, E. Ito, T. Toki, K. Kogame, S. Takahashi, K. Igarashi, N. Hayashi, M. Yamamoto, “Molecular cloning and functional characterization of a new Cap’ n’ collar family transcription factor Nrf3”, *J. Biol. Chem.* **274**, 6443-6452 (1999).

6) T.C. Walther, R.V. Farese, “Lipid Droplets and Cellular Lipid Metabolism”, *Annu. Rev. Biochem.*, **81**, 687-714 (2012).

## Functional Cell Scaffold from Peptide-Polymer Hybrids

Tomoyuki KOGA*, Hajime KAWAMURA*, Shin-nosuke NISHIMURA*, Yukiko TAKI**, Naoki HOKAZONO**, Nobuyuki HIGASHI*, Koji YAMAMOTO** and Yusuke Morita**

(Received September 17, 2020)

Significant efforts have been applied recently toward designing functional scaffolds that control cell adhesion, shape, and proliferation for tissue engineering and regenerative medicine applications. A hybridization of sequence-controlled peptides and synthetic vinyl polymers offers promising opportunities to design highly functional cell scaffolds. In this study, we report a universal technique for modulating the cytocompatibilities of two-dimensional (2D) and three-dimensional (3D) materials using a photocleavable Arg-Gly-Asp-Ser (RGDS) peptide-poly(2-hydroxyethyl methacrylate) (PHEMA) hybrid graft copolymer that is prepared *via* post-polymerization modification using a click reaction. This strategy was applicable to various hydrophilic and hydrophobic materials, such as 2D-glass plate, 3D-printed poly(lactic acid) and cellulose nanofiber, due to the high film-forming abilities of the PHEMA unit. The resultant thin film promoted cell adhesion and spreading of MC3T3-E1 and NIH/3T3 cells. In addition, *in vitro* cell studies demonstrated the high potential of this method for spatially controlling cell micropatterning and cell sheet engineering by integrating photolithographic techniques. We believe that this work provides a useful method to fabricate various scaffolds with a photo-controllable cell affinity for soft and hard tissue engineering.

**Key words :** Peptide, Synthetic polymers, Cell scaffold, Photo-patterning

**キーワード :** ペプチド, 合成高分子, 細胞足場材料, 光パターン化

## ペプチド-ポリマー・ハイブリッド戦略による機能性足場材料の開発

古賀 智之, 川村 一朔, 西村 慎之介, 瀧 由貴子, 外園 尚暉, 東 信行, 山本 浩司, 森田 有亮

### 1. はじめに

生体高分子の多様な機能や精緻な組織構造は、合目的かつ精密にデザインされた高分子構造に基づいている。例えば、タンパク質やペプチドはモノマー配列(側鎖構造の異なる 20 種類のアミノ酸の組み合わせ)が完全に制御された一次構造を有しており、ナノ空間の形成や特定官能基の空間配置を達成することで多岐にわたる生体機能を高効率・高選択的に発現している¹⁾。このような生体高分子の特性を活用したり、構造的・機能的原理を合成系に応用していくことは、高分子材料の高機能化を進める上で都合が良い。

人工ペプチドは、化学合成により一次構造を制御しながら簡便に調製することができ、様々な生体機能を容易にデザインできる利点を有している一方、合成高分子と比較して、合成スケールや加工性、溶媒への溶解性など、材料化を進めるにあたっての課題もある。このような観点から、配列制御ペプチドとビニルポリマーのハイブリッド戦略による高分子材料の機能化を進めてきた(Figure 1)。近年急速に進歩しているリビングラジカル重合法とペプチド固相合成法の組み合わせやクリック反応の利用で、ビニルポリマーの分子量や分子量分布を制御しながら、ジブロック型²⁾

*Department of Molecular Chemistry & Biochemistry, Doshisha University, Kyotanabe, Kyoto, 610-0321 JAPAN.

**Department of Biomedical Engineering, Doshisha University, Kyotanabe, Kyoto 610-0321 JAPAN.

Tel: +81-774-65-6621, E-mail: tkoga@mail.doshisha.ac.jp, ymorita@mail.doshisha.ac.jp

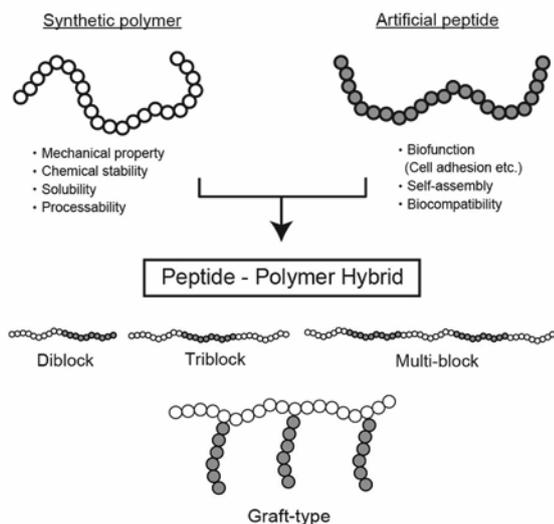


Figure 1. Peptide-polymer hybrids for functional soft-materials.

やトリブロック型³⁾, マルチブロック型^{4,5)}, グラフト型^{6,7)}のハイブリッドポリマーを精密に合成することができる (Figure 1). 本研究では, 生体適合性の高いポリ(ヒドロキシエチルメタクリレート)(PHEMA)に光分解性の細胞接着オリゴペプチドをグラフト鎖として導入したハイブリッド型の細胞足場材料を開発し, 人工材料と細胞との相互作用や細胞挙動の制御を目指した.

生体内で細胞の接着・増殖のための足場の役割を果たしているのは細胞外マトリックス (ECM) であり, このうち細胞接着タンパク質の一つであるフィブロネクチン(FN)は非常に強力な細胞接着活性を持つことが知られている. Pierschbacher と Ruoslahti は, FN 中の細胞接着活性に関与している部位が Arg-Gly-Asp-(Ser) (RGD(S)) のわずか 3~4 残基であることを見出した^{8,9)}. 事実, この発見以降, RGD 配列を用いた様々な足場材料の開発が進んでいる¹⁰⁻¹²⁾.

ここでは, クリック反応を利用した重合後修飾法を採用し, 細胞非接着性の PHEMA に光分解性リンカーを介して RGDS ペプチドをグラフト化した. PHEMA は水素結合性が高く, 成膜性が良いため, 親水~疎水性の様々な基材表面への安定なコーティングが期待できる. 従って, このハイブリッドポリマーシステムを用いることで, 多様な形状・サイズの二次元・三次

元材料表面を簡便にペプチドで修飾可能となろう. また, 材料表面に導入されたペプチドは光切断により任意に除去できることから, 細胞の接着・移動・分化・増殖など, 細胞活性を外部から制御できる新しい分子システムとなることを期待した.

## 2. 実験方法

### 2.1 アジドを末端に有する光分解性 RGDS ペプチドの合成⁷⁾

Fmoc-アミノ酸誘導体 (Fmoc-L-Ser, Fmoc-L-Asp (OtBu), Fmoc-Gly, Fmoc-L-Arg(Pbf), Fmoc-β-Ala, Fmoc-L-Lys(Mtt)), Fmoc-ANP および 6-アジドヘキサン酸 (*N*₃-HA) (3 当量) を縮合剤に HOBt (3 当量) および *N,N'*-ジイソプロピルカルボジイミド (DIPC) (3 当量) を用いて DMF 中で順次縮合させることにより, 目的の配列を有するペプチドを Fmoc-NH-SAL MBHA 樹脂上に合成した. 続いて, TFA/ジクロロメタン/TIS (v/v/v=1/98/1) 混合溶媒で Lys 側鎖上の Mtt 基を脱保護した. 露呈した樹脂上の Lys 側鎖のアミノ基と RhB (3 当量), 4-(4,6-ジメトキシ-1,3,5-トリアジン-2-イル)-4-メチルモルフォリニウム塩酸塩 (DMT-MM) (3 当量) および *N*-メチルモルフォリン (3 当量) を DMF/メタノール (v/v=4/1) 混合溶媒中で 24 時間反応させ, 蛍光ラベル化を施した. TFA/ジクロロメタン/TIS (v/v/v=8.5/1/0.5) 混合溶媒を用いて樹脂からのペプチドの切り出しを行い, 再沈殿精製により目的のペプチド (*N*₃-HA-ANP-K(RhB)-βA-RGDS-*Am*) を得た. 構造は MALDI-TOF MS, ¹H NMR および FTIR スペクトルにより評価した.

### 2.2 可逆的付加-開裂連鎖移動 (RAFT) 重合法を用いた HEMA と PgA の共重合⁷⁾

HEMA(17 mmol), アクリル酸プロパルギル(PgA) (3 mmol), 4-シアノ-(4-チオベンゾイルチオ)ペンタン酸 (CTPA) (0.02 mmol) および AIBN (0.01 mmol) を全量 5 mL となるように DMF に溶解させ, モノマー濃度を 4 M とした. この溶液を試験管に移し, 凍結脱気した後封管し, 60°C で重合した. 重合後, 液体窒素で急

冷することで反応を停止させた。その後、反応溶液をジエチルエーテルへ滴下することで生成したポリマーを回収した。DMFを良溶媒、ジエチルエーテルを非溶媒に用いた再沈殿法により精製し、目的のランダムコポリマー (poly(HEMA-co-PgA)) を得た。

### 2.3 クリック反応による poly(HEMA-co-PgA)へのRGDSペプチドの修飾

$N_3$ -HA-ANP-K(RhB)- $\beta$ A-RGDS-Am (96 nmol), CuBr₂ (175 nmol), PMDETA (349 nmol) およびアスコルビン酸(AsAc) (85  $\mu$ mol) を15 mLのメタノール/水 (v/v=5/7) 混合溶液に溶解させ、液体窒素を用いた凍結脱気により溶存酸素を除去した。続いて、この溶液とpoly(HEMA-co-PgA)コート基材をセパラブルフラスコに入れ、室温で窒素ガスを30分間バブリングした。セパラブルフラスコのコックを閉じ、40°Cで24時間反応させた。反応後、メタノール/水 (v/v=5/7) 混合溶液、1M-HCl_{aq}, 1M-EDTA_{aq} (pH 8.0) および蒸留水の順に10分ずつ浸漬させることで洗浄し、室温で乾燥させた。

### 2.4 測定

¹H-NMR スペクトルは日本電子社製 FT-NMR AL400, MALDI-TOFMS スペクトルはブルカートルトニクス株式会社製 Autoflex speed を用いて測定した。サイズ排除クロマトグラフ(SEC) 測定は日本分光製 LC-net II/AD (カラム GF-710F, PMMAスタンダード)を用いて行った。スピコート薄膜は、共和理研製スピコーターK-359S1を用いて3000 rpmで調製した。対水接触角測定は、協和界面科学製のDropMaster-501を用いた。ATR-FTIR スペクトルは日本分光社製 FTIR-4600を用いて測定した。光分解反応は、ハンディーUV ランプ SLUV (365 nm, 8 W)を用いて行った。UV スペクトルは、日本分光社製 V-650を用いて測定した。原子間力顕微鏡 (AFM) 観察は島津製作所製 SPM-9700を用いて行った。探針種には OMCL-TR800PSA-1 (曲率半径: <20 nm) を用い、コンタクトモードでスキャン速度 1.0 Hz で測定を行った。共焦点顕微鏡は、ライカマイクロシス

テム製 AF6000 を用いて行った。ポリ L-乳酸(PLLA) からなる三次元構造物は熱溶解積層方式の 3D-プリンター (Replicator Desktop 3D Printer, Maker Bod 社製) を用いて作製した。

### 2.5 細胞実験

マウス由来骨芽細胞様細胞 (MC3T3-E1, 理研 BRC) およびマウス由来繊維芽細胞 (NIH3T3) を 80%コンフルエントになるまで、10%のコウシ血清 (FBS) (04-001-1A, コスモバイオ株式会社製) および抗生物質(A5995-100ML, シグマアルドリッチジャパン株式会社製) を含む  $\alpha$ -MEM (ライフテクノロジーズジャパン株式会社製)および DMEM (ナカライテスク株式会社製)中にそれぞれ播種した。これらの細胞を実験に応じて $6.0 \times 10^3$ または $3.0 \times 10^4$  cells  $cm^{-2}$ の密度でポリマー薄膜上に播種し、無血清または血清培地中で、37°C, 5% CO₂のインキュベーターで培養した。生細胞はカルセイン-AMで染色した。

## 3. 結果および考察

### 3-1. RAFT 重合による poly(HEMA-co-PgA) の精密合成⁷⁾

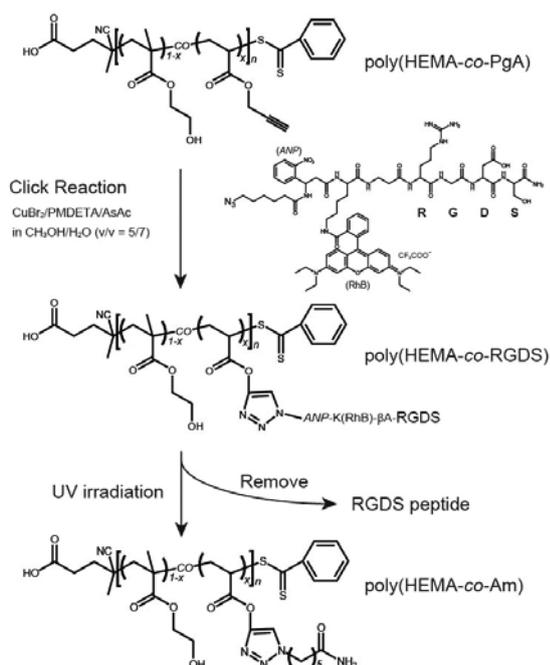
ニトロキシド介在重合(NMP)¹³⁾, 原子移動ラジカル重合(ATRP)^{14,15)} およびRAFT重合¹⁶⁾などに代表される近年のリビングラジカル技術の発展により、ブロックやグラフトポリマーおよびスターポリマーの様な特殊形状のポリマーだけでなく、アルキンのようなラジカルとの反応性が高い官能基を含むランダムコポリマーもリビング的に重合可能になりつつある。

本研究ではRAFT重合法を採用し、連鎖移動剤にCTPAを用いてまずHEMAとPgAのランダム共重合を行った。HEMAとPgAからなるランダム共重合体はポリマー鎖内にアルキンを有するため、重合後修飾が可能となる。共重合は、DMF中60°Cで重合時間を様々に変化させて行った。得られたポリマーの構造は¹H NMRスペクトルおよびSEC測定により評価した。各重合時間で得られたポリマーのSEC測定を

行ったところ全てのピークは単峰であり、かつ重合時間の増加に伴い高分子量側にシフトした。モノマー転化率に対して $M_n$ をプロットしたところ分子量は直線的に増加し、比較的分散度が小さい( $D < 1.4$ )ことから、重合はリビング的に進行することがわかった。一方で、PgAユニットの導入率( $F_{PgA}$ )はモノマー転化率に対してほぼ一定の値であった。以上のことから、ポリマー鎖長が制御され、仕込み通りの組成をもつpoly(HEMA-co-PgA)が得られることがわかった。以降の実験では、 $M_n=101500$ ,  $D=1.31$ ,  $F_{PgA}=9.87$ のpoly(HEMA-co-PgA)を用いた。

### 3.2 光分解性 poly(HEMA-co-RGDS) フィルムの作成と細胞接着挙動⁷⁾

クリック反応によるpoly(HEMA-co-PgA)フィルムへのRGDSペプチドの修飾と光切断について検討した。スピコート法によりポリマー薄膜をガラス基板上に作製した。次に、銅触媒存在下40°Cで末端アジド化RGDSペプチドを24時間反応させた(poly(HEMA-co-RGDS))。続いて、365 nmのUV光をフィルムの半面にフォトマスクを介して30分間照射

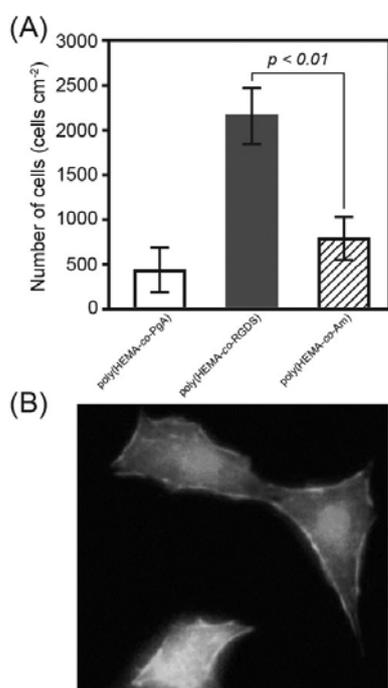


**Figure 2.** Scheme for the modification of alkyne-containing poly(HEMA-co-PgA) with the RGDS peptide via a click reaction, and the cleavage of the peptide by UV irradiation.

し、水 (pH 3.0) でよく洗浄した。UV照射後におけるフィルムを共焦点顕微鏡で観察したところ、UV未照射領域はRhBラベル化ペプチドに由来する蛍光がフィルム全体に均一に観察されるのに対して、UV照射領域は暗くなり、RGDSペプチドがフィルム表面から切断されたことがわかった。輝度値およびFTIR分析からRGDSペプチドの切断率を見積もったところ、ほぼ100%であることもわかった。以上の結果より、本手法によりRGDSペプチドの表面修飾とその光制御が容易に実現できることがわかった。

次に、poly(HEMA-co-RGDS)フィルムの細胞接着特性を検討した。MC3T3-E1細胞を $6.0 \times 10^3$  cells  $cm^{-2}$ の細胞密度で播種し、無血清培地中37°Cで24時間培養した。比較としてRGDS未修飾poly(HEMA-co-PgA)フィルム上でも同様の実験を行った。RGDS未修飾フィルムの表面には、HEMAユニットの親水性(対水接触角 $54^\circ$ )に起因して、少数の細胞の接着しか観察されなかった。一方で、RGDS修飾フィルムの表面には多数の接着細胞が観察された。接着細胞数は未修飾フィルムに比べて約4~5倍であり、よく伸展していることもわかった (Figure 3(A))。このことから、クリック反応により導入したRGDSエпитープが細胞接着部位としてフィルム上で有効に機能していることが示唆された。事実、接着した細胞の免疫蛍光染色像(Figure 3(B))より、インテグリン $\beta 1$ およびアクチンファイバーの発現が認められ、細胞接着がRGDSペプチドとインテグリンとの相互作用を介して生じていることがわかった。UV照射によりRGDSエピトープを容易に切断でき、細胞接着性を調節できる。UV未照射のフィルムと比較して、明らかに接着細胞数が減少していることがわかる(Figure 3(A))。この接着細胞数は、ペプチド切断後に生成する表面と同じ構造を有するモデル表面(Figure 2下段)の結果と概ね等しかった。

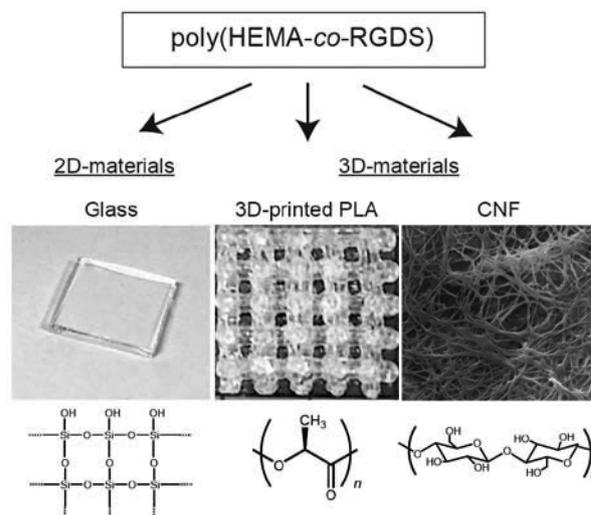
このように、グラフト型ペプチド-ビニルポリマー・ハイブリッドを用いることで、光照射により材料表面の細胞接着性を任意に制御することができる。細胞の二次元パターン化や細胞シート工学への応用も可能である。



**Figure 3.** (A) Summary of the cell adhesion experiments on various polymer thin films in serum-free medium for 24 h. A statistical analysis was performed using the *t*-test ( $N=6$ ). Error bars represent the standard deviation.  $*p<0.01$ . (B) Fluorescence microscopy image of MC3T3-E1 cells cultured on RGDS-modified hybrid film. Cells stained with actin filaments (red), cell nuclei (blue), and integrin (green).

### 3.3. 種々の材料表面へのハイブリッドフィルムのコーティング

本グラフト型ペプチド-ビニルポリマー・ハイブリッドシステムは、生体親和性と成膜性の高い PHEMA からなる高分子薄膜を用いるため、ガラスなどの二次元基材だけでなく、複雑な三次元構造体やナノスケールの材料表面にも適用できる (Figure 4). 特に PHEMA は水素結合性が高く、種々の固体表面で安定なフィルムを形成する. 3D プリンターを用いて生分解性ポリマーである PLLA の三次元構造体 (Figure 4 下段中央) を作製し、細胞接着性の評価を行った. PLLA 3D-構造体に poly(HEMA-co-PgA) をディップコートし、クリック反応により RGDS ペプチドの修飾を行った. 共焦点顕微鏡観察より、クリック反応により 3D-構造体全体に RGDS ペプチドを修飾できることがわかった. このペプチド修飾に伴い、PLLA 材料表面の細胞接着性(MC3T3-E1)も向上した. PLLA 構造体自体は細胞接着性がほとんど見られないのに対し、コーティング後の 3D-構造体



**Figure 4.** Poly(HEMA-co-RGDS) coatings on various 2D- and 3D-materials for developing functional cell scaffolds.

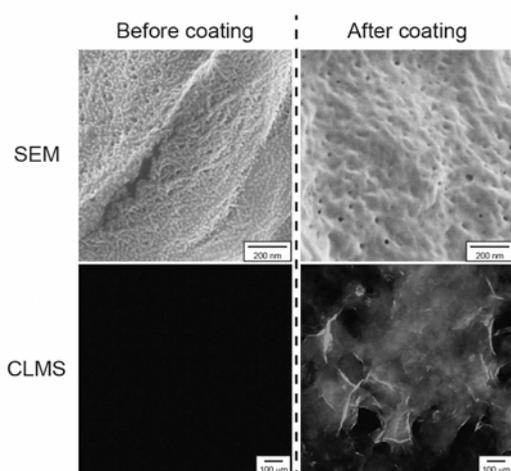
には多数の接着細胞が確認された⁷⁾. 3D プリンティング技術との融合により、様々な足場材料の設計が可能となる。

また、本高分子システムのナノスケールの 3D-構造体(ナノファイバー)への適用も検討した. 直径数十 nm~数 $\mu\text{m}$  の極細繊維は、繊維径の減少による比表面積の著しい増大による細胞接着性の向上や多孔質構造に基づく高い酸素・栄養等の供給特性が期待される. 特に、生分解性の天然高分子ナノ素材の活用は、合成スケールや環境面に対して大きなアドバンテージを有する. セルロースナノファイバー (CNF) は、軽量で優れた機械強度を有する再生可能な天然高分子材料として、近年注目されている. この CNF と poly(HEMA-co-RGDS) を組み合わせた足場材料の開発を行うことにした. これまでと同様の手順で、CNF(TEMPO 酸化型)シート上にディップコート法で poly(HEMA-co-PgA) をコーティングし、その後クリック反応で RGDS ペプチドを修飾した. Figure 5 はコーティング前後の SEM 及び共焦点顕微鏡像を比較したものである. SEM 像より、ナノファイバー表面にポリマーがコーティングされていることがわかり、また共焦点顕微鏡像からも RGDS ペプチドの RhB に由来する赤色蛍光が CNF シート全体から観察された. 現在、CNF 表面のコーティングの安定性や細

胞接着性についての評価等，ナノファイバースキャフォールドの開発を進めている。

#### 4. おわりに

クリッカブルな光分解性RGDSペプチドとpoly(HEMA-co-PgA)を用いた重合後修飾によりグラフト型ハイブリッドポリマーを調製し，細胞足場材料への応用について検討した。ポリマーフィルムを介して，クリック反応によりRGDSペプチドを簡単に材料表面に導入でき，照射により任意に除去することもできる。人工材料と細胞との相互作用を制御する新しい手法として有用である。また，この手法は，二次元材料のみならず，CNFを含む様々な三次元構造物にも適用でき，多彩な足場材料設計を可能にする。現在さらなる研究展開を進めている。



**Figure 5.** SEM and CLMS images of CNF obtained before and after coating with poly(HEMA-co-RGDS).

本研究の一部は，同志社大学ハリス理化学研究所第9期第5部門の支援を受けて行った。ここに記して謝意を表す。

#### 参考文献

- 1) C. B. Anfinsen, “Principles that Govern the Folding of Protein Chains” *Science*, **181**, 223 (1973).
- 2) N. Higashi, K. Narimatsu, M. Okumura, S. Nishimura, T. Koga, “Spontaneous Formation of Nanoparticles from Peptide-Vinyl Polymer Diblock Hybrids Prepared by RAFT Polymerization and Their Interactions with Cells”, *ACS Omega*, **4**, 8104 (2019).
- 3) T. Koga, S. Kamiwatari, N. Higashi, “Preparation and

Self-Assembly Behavior of  $\beta$ -Sheet Peptide-Inserted Amphiphilic Block Copolymer as a Useful Polymeric Surfactant”, *Langmuir*, **29**, 15477 (2013).

- 4) S. Nishimura, N. Higashi, T. Koga, “Facile Synthesis of Multiblock Copolymers Containing Sequence-Controlled Peptides and Well-Defined Vinyl Polymers by Nitroxide-Mediated Polymerization”, *Chem. Eur. J.*, **23**, 15050 (2017).
- 5) S. Nishimura, N. Higashi, T. Koga, “Synthesis of Peptide-Vinyl Polymer Multiblock Hybrids by Nitroxide-Mediated Polymerization: Breaking the Limitations of Monomer Compatibility”, *Polym. Chem.*, **10**, 71 (2019).
- 6) S. Nishimura, A. Hirata, Y. Taki, Y. Morita, N. Higashi, T. Koga, “Photocleavable and Polymerizable Peptide for Micropatterning of Bioactive Segments in Polymer Soft Materials”, *Chem. Lett.*, **47**, 555 (2018).
- 7) S. Nishimura, N. Hokazono, Y. Taki, H. Motoda, Y. Morita, K. Yamamoto, N. Higashi, T. Koga, “Photocleavable Peptide-Poly(2-hydroxyethyl methacrylate) Hybrid Graft Copolymer via Post-polymerization Modification by Click Chemistry to Modulate the Cell Affinities of 2D and 3D-Materials”, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **11**, 24577 (2019).
- 8) M. D. Pierschbacher, E. Ruoslahti, “Cell attachment activity of fibronectin can be duplicated by small synthetic fragments of the molecule”, *Nature*, **30**, 309 (1984).
- 9) E. Ruoslahti, M. D. Pierschbacher, “New perspectives in cell adhesion: RGD and integrins”, *Science*, **238**, 491 (1987).
- 10) U. Hersel, C. Dahmen, H. Kessler, “RGD Modified Polymers: Biomaterials for Stimulated Cell Adhesion and Beyond”, *Biomaterials* **24**, 4385 (2003).
- 11) H. Shin, S. Jo, A. G. Mikos, “Biomimetic Materials for Tissue Engineering”, *Biomaterials* **24**, 4353 (2003).
- 12) Y. Hirano, D. J. Mooney, “Peptide and Protein Presenting Materials for Tissue Engineering”, *Adv. Mater.* **16**, 17 (2004).
- 13) M. Georges, R. P. N. Veregin, P. M. Kazmaier, G. K. Hamer, “Narrow Molecular Weight Resins by A Free-Radical Polymerization Process”, *Macromolecules* **26**, 2987 (1993).
- 14) K. Matyjaszewski, “Atom Transfer Radical Polymerization”, J. Xia, *Chem. Rev.* **101**, 2921 (2001)
- 15) M. Kamigaito, T. Ando, M. Sawamoto, “Metal-Catalyzed Living Radical Polymerization”, *Chem. Rev.* **101**, 3689 (2001).
- 16) G. Moad, E. Rizzardo, S. H. Thang, “Living Radical Polymerization by the RAFT Process”, *Aust. J. Chem.* **58**, 379 (2005).