

コンパニオン診断薬の開発

深川 怜史¹⁾、宮田 康平¹⁾、南 星旭¹⁾、四元 房典¹⁾、安永 晋一郎²⁾、宮本 新吾¹⁾

医学部産婦人科学教室¹⁾、医学部生化学教室²⁾

【HB-EGF を標的とした卵巣癌治療】

卵巣癌は最も致死性が高く、近年増加傾向にある婦人科悪性腫瘍であり、その解剖学的特徴から無症候性に腹腔内に直接浸潤し、多量の腹水を貯留する疾患である。治療は根治手術を基本とし、多くの患者ではアジュバンド療法を含む術後の化学療法を必要とするが、現在の標準治療における進行癌患者の5年生存率は40%を下回っている。このため新たな治療戦略の開発が望まれている。近年、乳癌や大腸癌などの固形腫瘍において、単独の分子を標的とした分子標的治療の臨床応用が目覚ましく進んでおり、卵巣癌を含む他癌種への適応拡大が進んでいる。

上皮系増殖因子 Heparin-binding EGF-like Growth factor (HB-EGF) は、卵巣癌、乳癌、胃癌、肺癌など本邦での発生の約半数を占める悪性腫瘍治療の標的分子である。HB-EGF は膜貫通型タンパク質として合成され、主に ADAM (A Disintegrin And Metalloprotease) ファミリーにより切断されることで、リガンドとしての活性を持つ遊離型の HB-EGF となる。HB-EGF の結合した上皮系増殖因子受容体 (EGFR および HER4) はホモダイマーまたはヘテロダイマーを形成し、細胞内に種々のシグナルを伝達する。このシグナルは癌の増殖や浸潤に重要な役割を果たしており、上皮系増殖因子受容体に対する分子標的治療薬は臨床応用されている。これらの治療薬は一定の効果は得ているものの、他の受容体型チロシンキナーゼによるシグナルの補完や phosphoinositide-3 kinase (PI3K)/Akt 経路の活性化による耐性機構が指摘されており、期待されたほどの効果が得られていない状況である。

当科では HB-EGF の癌治療標的分子としての意義を検討しており、卵巣癌、胃癌、乳癌などの治療に

において有効であることを報告してきた。特に卵巣癌では腹水ならびに組織中の HB-EGF は他のリガンドと比較し高値であり、予後とも相関することがわかっている。HB-EGF 特異的抑制薬である BK-UM は *in vitro* および卵巣癌モデルマウスでの検討にて卵巣癌細胞の著明な増殖抑制効果を認めている⁽¹⁾。この薬剤を用いた再発・難治性卵巣癌に対する医師主導型治験を開始し、第Ⅰ相試験では11例に、第Ⅱ相試験では15症例を対象に BK-UM を投与している。これにより安全性は確認でき、有効性に関しては解析中であるものの、血中 HB-EGF の低下、抗腫瘍効果、腹水抑制効果などの有効性が期待される結果を得ている。癌治療における HB-EGF やそれに関連した分子の生物学的意義については未知な部分も多く、当教室ではこれらを明らかにするための検討を行っており、以下に一部を紹介する。

【HB-EGF の転写に関わる分子の同定】

近年、遺伝子の発現制御にはゲノムの構造やエピジェネティックな制御が関連していることが多数報告されるが、最も直接的に遺伝子発現調節を行っている転写因子に着目し、解析を行った。卵巢癌細胞株におけるルシフェラーゼアッセイを基にした HB-EGF のプロモーター解析より HB-EGF の転写制御に、特に抗癌剤による HB-EGF の発現亢進に関わる転写制御領域を同定した。In silico 解析およびクロマチン免疫沈降法などによる解析により転写因子 SP1 が HB-EGF の発現制御に関与していることを同定した。マウスを用いた既出の報告では、創傷治癒や炎症などのホメオスターシスの過程で SP1 は HB-EGF を発現させる転写因子として報告されている²⁾。SP1 の発現を抑制した卵巢癌細胞株では抗癌剤による HB-

EGF の発現が低下し、抗癌剤感受性が高まることから、HB-EGF の発現亢進は SP1 を介して抗癌剤への防御機構に関与していることが示唆された。

【代謝関連経路との関わり】

癌と代謝疾患の関連については既に多くの報告があり、スタチンなどの代謝疾患治療薬には悪性腫瘍患者の予後改善効果があることが示唆されている。当科では非切断型 HB-EGF が過剰発現する実験系を用いたマイクロアレイに基づくスクリーニングを行い、HB-EGF の自己分泌によって代謝関連分子の発現が亢進することがわかった。その中で酸化 LDL のスカベンジャーレセプターである CD36 に着目して、HB-EGF との関連について検討を行った。卵巢癌組織での CD36 の発現は良性卵巢腫瘍や正常卵巢と比較し高値であり、HB-EGF の発現と相関していた。また、リガンドである、酸化 LDL は卵巢癌患者の腹水中には高濃度に存在し、これも HB-EGF との相関を認めた。その後の解析により、CD36 は活性型 HB-EGF である遊離型の HB-EGF を増加させるとともに、Src を介した細胞内シグナル伝達により、HB-EGF の転写も活性化することが証明された。shRNA 法を用いた腹膜播種モデルマウスでの検討では、CD36 の発現を抑制すると腹膜播種が減少することがわかった。そこで、糖尿病治療薬の一つであるピオグリタゾンが高濃度での使用で CD36 の転写を低下させることから、抗腫瘍薬としての効果について検討した。卵巢癌皮下移植モデルマウスで、ピオグリタゾン単独投与では抗腫瘍効果はみられなかったものの、BK-UM との併用では BK-UM 単独投与と比較しても有意に抗腫瘍効果がみられた。これらの結果から、CD36 は卵巢癌における HB-EGF の転写および活性を補助的に制御しており、有効な標的分子である可能性が示唆された。

【コンパニオン診断薬の開発】

前述した様に、HB-EGF と予後には関連があることが既に判明している。しかしながら、第 I 相臨床試験及び第 II 相臨床試験では、HB-EGF が必ずしも高値を示さなくても、BK-UM の投与により腹水抑制効果や薬剤耐性機構の改善を示す症例が観察された。これらのことより、血中 HB-EGF 値を含めたバ

イオマーカーの検索が必要と考えられる。

MicroRNA とは non-coding RNA といわれ、近年の研究により様々な生命現象に関わることが明らかになっている。そして、新たな疾患マーカーとして、血液中に安定した状態で存在する microRNA が注目されている。そこで我々は初発卵巢癌患者の血清や臨床試験で BK-UM を投与した患者の血清を用いて microRNA array 解析を行った。これらの解析により、BK-UM 投与により変動する microRNA 群、HB-EGF 高発現に伴い変動する microRNA 群を探索し、HB-EGF を標的にした治療の反応性を診断する腫瘍マーカーを同定することを目指し解析を進めている。

【今後の展望】

臨床試験を通じて、BK-UM の腹腔内投与により腹水が減少した症例を複数経験した。しかし、従来の腹腔内投与ではポート留置のための手術が必要であり、臨床応用を考えると煩雑になることが懸念される。そこで、より簡便な、より患者の負担が少ない投与方法として皮下投与に着目し、皮下投与の薬物動態試験、非臨床試験を実施している。また、HB-EGF と共に変動する microRNA の検索を継続し、卵巢癌の予後予測診断キットの作成を目指している。癌の診療に有用な創薬とバイオマーカーの樹立ならびに新たな治療標的の開発は、多くの悪性腫瘍の予後を改善する医療イノベーションの実現に寄与することが期待される。

【文 献】

- 1) Miyata K, Yotsumoto F, Nam SO, Kuroki M, Miyamoto S. Regulatory mechanisms of the HB-EGF autocrine loop in inflammation, homeostasis, development and cancer. *Anticancer Res.* 32(6), 2347-2352 (2012).
- 2) Miyamoto S, Hirata M, Yamazaki A, Kageyama T, Hasuwa H, Mizushima H, Tanaka Y, Yagi H, Sonoda K, Kai M, Kanoh H, Nakano H, Mekada E. Heparin-binding EGF-like growth factor is a promising target for ovarian cancer therapy. *Cancer Res.* 64(16), 5720-5727 (2004).

地域高齢者の運動介入プロジェクト

身体活動研究所・ポストドクター	畑	本	陽	一
身体活動研究所・スポーツ科学部助教	池	永	昌	弘
身体活動研究所・スポーツ科学部教授	檜	垣	靖	樹
身体活動研究所長・スポーツ科学部教授	田	中	宏	暁

はじめに

我が国の65歳以上の高齢者人口は3,186万人で、総人口に占める割合は25.0%となり、人口、割合共に過去最高となった（総務省統計局：平成25年9月15日）。現在、この高齢社会をどのようにして健康長寿社会にしていくかが重要課題である。

健康寿命の延伸を阻害する要因として、がんや脳卒中・心筋梗塞などの生活習慣病が注目されてきたが、近年、これに加え、認知症や運動機能の低下、サルコペニア（加齢に伴って生じる骨格筋量と筋力の低下）が挙げられている。従って、これらを事前に予防することが健康寿命の延伸につながると考える。

近年、認知症やサルコペニアへの予防方法として日常的な有酸素運動が有効であるという研究報告が蓄積されつつある^{1, 3)}。さらには、全身持久力の高い者は全死亡リスクが低下するとの報告があり^{2, 4)}、体力の維持・向上は健康寿命の延伸に寄与する。

そこで、山口県柳井市と身体活動研究所の連携事業として、柳井市の65歳以上の高齢者を対象に、定期的な有酸素運動が体力・身体機能・血糖値（HbA1c）への影響について調査した。また本連携事業は、高齢者の認知・介護予防プログラムのモデル作成という位置づけとしても行っている。今回地域高齢者の運動介入プロジェクトの3ヶ月間の運動介入による結果を報告する。

方 法

本研究では、柳井市在住の65歳以上を対象とし、週1回の運動倶楽部に3ヵ月間、7割以上参加した者を解析対象とした。運動倶楽部では、運動専門のスタッフが指導し、対象者は運動処方に基づく至適

運動強度での有酸素運動を合計60分間行った。

有酸素運動の種類は、スロージョギング、スローステップ、スロージョギングターンを行った。また対象者には自宅で1週間に150分以上の運動を実施するよう教示した。

有酸素作業能力の評価

有酸素性作業能は、自転車エルゴメータにて運動を行い、運動中の心音（心臓の音）を測定することで評価した⁵⁾。心臓の第一心音と心拍数の積であるダブルプロダクト（Double Product）が急激に変化する点の（DPBP: Double Product Breaking Point）（図1）運動負荷強度を METs（メッツ）に換算し、客観的な体力評価に用いた。我々は、DPBP が有酸素作業能力の指標となる乳酸性作業閾値（LT: Lactate Threshold）、換気性作業閾値（VT: Ventilation Threshold）と強い相関関係にあることを報告した⁵⁾。

身体機能測定

下肢パワー及び下肢機能の評価法として、チェアスタンド (CS: Chair stand) を用いた。CS は合図と共に 5 回椅子から立ち座りを行い、5 回完了するまでの時間を測定することで下肢パワー及び下肢機能の評価する。

耐糖能の評価

耐糖能の評価は、HbA1c（%、NGSP）を用いた。

結果・まとめ

本研究では、地域高齢者に対して定期的に行う有酸素運動が有酸素性作業能力、身体機能、耐糖能に及ぼす影響について調査した。3ヶ月間の定期的な

運動によりいずれの値も有意に改善した（図2、3、4）。従って、地域高齢者を対象とした週1回の運動プログラムは、有酸素作業能力や身体機能が改善することが示唆された。しかしながら、本研究の結果は、運動倶楽部への参加率が高かった者を解析対象としたため、健康への意識が高い集団による結果である。今後、定期的な運動により健康度を高める可能性がある一方で、運動倶楽部への参加率が低かった者の解析や、また現場での指導法や対策について熟考する必要があるだろう。

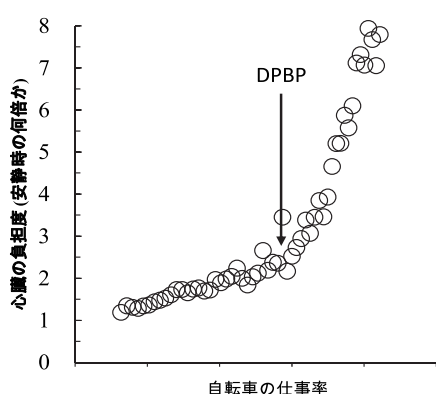


図1：心音測定によるダブルプロダクト（DPBP）

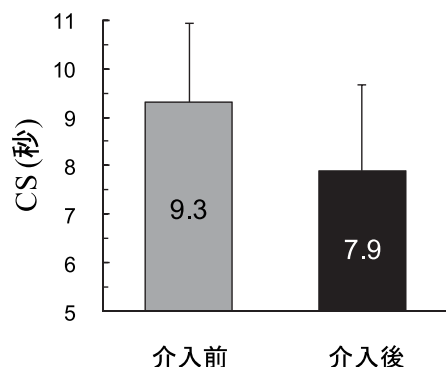


図2：運動倶楽部参加前後の下肢パワー（CS）の変化。運動倶楽部参加者で運動前に記録が低値であった者（n=28）。※記録が速いほど優れていることを示す。

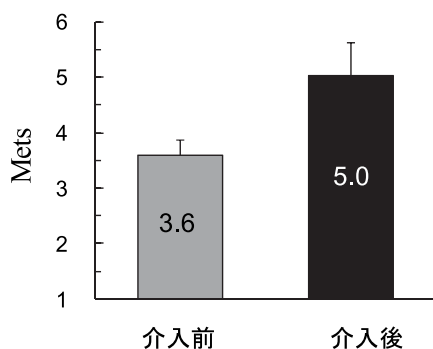


図3：運動倶楽部参加前後の有酸素性作業能（Mets）の変化（n=22）

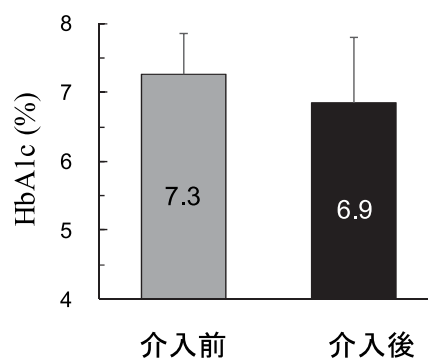
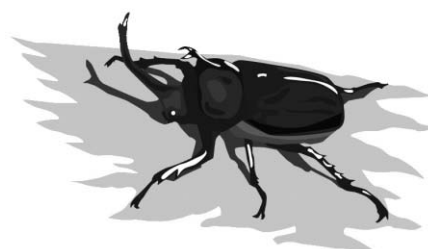


図4：運動倶楽部参加前後の血糖値の変化。運動開始前にHbA1c 糖尿病が6.5%以上の者（n=30）。

注

1. Erickson KI, Voss MW, Prakash RS, et al. Exercise training increases size of hippocampus and improves memory. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011; 108(7): 3017-3022.
2. Kodama S, Saito K, Tanaka S, et al. Cardiorespiratory fitness as a quantitative predictor of all-cause mortality and cardiovascular events in healthy men and women: a meta-analysis. *JAMA*. 2009; 301(19): 2024-2035.
3. Ozaki H, Loenneke JP, Thiebaud RS, Stager JM, Abe T. Possibility of leg muscle hypertrophy by ambulation in older adults: a brief review. *Clin Interv Aging*. 2013; 8: 369-375.
4. Sawada SS, Muto T, Tanaka H, et al. Cardiorespiratory fitness and cancer mortality in Japanese men: a prospective study. *Med Sci Sports Exerc*. 2003; 35(9): 1546-1550.
5. Tanaka H, Matsuda T, Tobina T, et al. Product of heart rate and first heart sound amplitude as an index of myocardial metabolic stress during graded exercise. *Circ J*. 2013; 77(11): 2736-2741.



拡大内視鏡観察を用いた胃病変の質的診断における e-learning system による学習効果（Learning Curve） に対する研究（略称：NBI-LC Study）

石川県立中央病院消化器内科 光学医療研究所学外研究協力者 土 山 寿 志
筑紫病院内視鏡部・教授 光学医療研究所長 八 尾 建 史

はじめに

近年開発された狭帯域光観察（narrow band imaging：NBI）を併用した拡大内視鏡、いわゆる NBI 併用拡大内視鏡により、内視鏡診断学が飛躍的に進歩しています。早期胃癌に特徴的な微小血管構築像ならびに微細表面構造を捉えた八尾は、世界に先駆けて早期胃癌に対する拡大内視鏡による診断体系、いわゆる VS（vessel plus surface）classification system を確立しました。微小血管構築像ならびに表面微細構造を拡大内視鏡にて詳細に観察する新しい診断体系によって、胃病変の癌・非癌診断能は極めて向上しました。しかしながら、拡大内視鏡に熟練した内視鏡医にとっては高い診断能が得られていますが、一般の内視鏡医でも同様の診断能が得られるかは明らかではありません。拡大内視鏡で視覚化される解剖学的構造が多様性に富むこと、複数の用語・診断体系が存在することなど、拡大内視鏡初学者の内視鏡医にとって診断理論の習得が容易ではない現状があります。

そこで、さまざまな拡大内視鏡の臨床経験をもつ内視鏡医を対象とし、その胃病変に対する質的診断能の現状を明らかにすること、および一定の診断体系すなわち VS classification system を web 教材で学習し、診断能がどの様に変化するかを検討することを目的として本研究を計画しました。研究開始までの経緯と現在の進行状況についてご報告致します。

なお本研究は、内視鏡医学研究振興財団、ならびに福岡大学光学医療研究所から助成を頂いて運営させて頂いております。

研究開始までの経緯

平成23年、八尾建史を研究代表者とし、私（土山）が事務局となり、若干名のコアメンバーとともに本研究が産声をあげました。研究の目的は VS classification system の講義受講前後で癌・非癌の診断能を比較し、実際の内視鏡検査に拡大内視鏡を用いた場合の VS classification system 正診率を集計することでした。平成24年2月に大阪にて第1回ミーティングが開催されました。統計解析ならびにデータセンター管理を担当される京都府立医科大学 分子標的癌予防医学石川秀樹先生より会場を準備して頂き、当初の参加意思表明施設19施設の代表者が集いました。その際の討議で、日常臨床での症例収集は時間、労力ともに膨大にかかりすぎるため、あらかじめ準備した拡大内視鏡画像での診断能を比較する、現在の研究デザインとなりました。研究デザインは後述しますが、時間・場所を選ばず多数の内視鏡医が参加できるように全てインターネット上で行うシステムとなっております。八尾建史先生や、コアメンバーより日本全国へ参加を募り、参加施設は次第に増加、各施設の代表者が集うミーティングを重ねて不明点の確認、細部の調整を行ってきました。平成24年5月の第2回ミーティング（東京）では参加施設は30施設、平成24年10月に行った第3回ミーティング（神戸）の時には70施設となり、会場の収容人数を超えないように各施設からのミーティング参加者の人数制限をしなければいけない事態となりました（図1 a、b）。拡大内視鏡に対する関心の高さが窺い知れることと思います。

これらミーティングを経て研究デザインの細部が



a：会場風景



b：司会進行役の八尾建史（左）と土山寿志（右）

図1. 第3回ミーティング（平成24年10月12日、クオリティホテル神戸）

検討、修正されました。並行してインターネットシステムの構築に奔走することとなりますが、こちらは専門業者への委託となります。膨大な画像データの取り扱い、画面構成、入力チェックシステムなど様々な要望を行いました。平成26年秋、インターネットシステムが完成し、いよいよ開始準備が整いました。その間にも参加施設の呼びかけを行うとともに、各施設代表者へは拡大内視鏡初学者の内視鏡医を中心に参加医師の募集をお願いする努力を続けました。

研究デザイン

本研究の基本的な流れを示します（図2）。

1) test 1

（胃病変の拡大内視鏡画像を見て VS classification system による癌・非癌判定を行うテスト。40問あり、1問あたり5～8枚の画像が表示される。）

テストの正診率、内視鏡経験数、所属施設を割付因子としてA・B群の2群に無作為割付を行う。

2) A群のみ e-learning 受講

（M-NBIの基礎知識や VS classification system に関する動画教材。）

3) 両群で test 2 受験

4) B群のみ e-learning 受講

5) 両群で test 3 受験

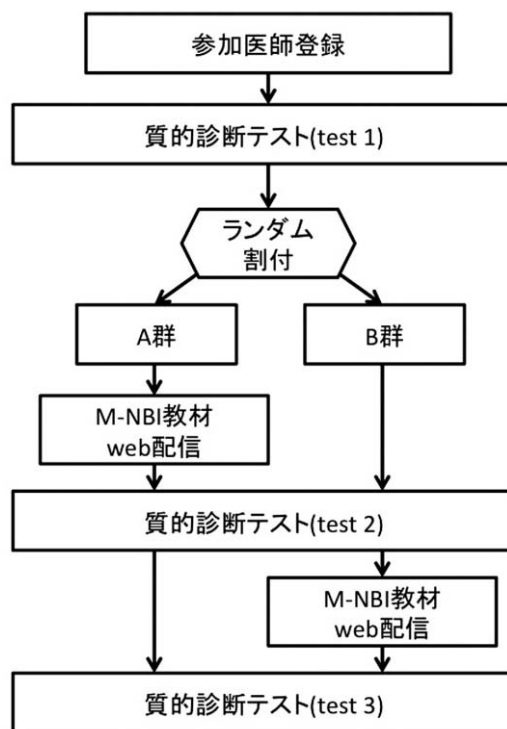


図2. NBI-LC study のフローチャート

全ての過程をインターネット上で行い、設定した期間内であれば24時間いつでも取り組めるシステムです。各参加医師に個人 ID、パスワードが配布され、テストの解答や e-learning 受講状況など全てコンピューター管理されています。各 test の解答はデータ解析終了後に初めて公表されます。

主要評価項目は、e-learning 受講前後すなわち test 1 と test 2 での正診率の差を両群で比較すること

です。副次的評価項目として test 3 の成績も検討します。開始直前に参加医師使用インターネット環境での動作確認とともにアンケートを実施しており、内視鏡経験年数や拡大内視鏡経験数など様々な層別化解析を行う予定となっております。

進捗状況

平成26年9月30日、参加医師による動作確認およびアンケートを開始しました。最終的に77施設（図3）、395名の内視鏡医により10月28日から test 1 が開始となりました。その結果から A 群198名、B 群197名に割付けられ、12月9日より A 群の e-learning 受講開始となりました。5週間の実施期間で2名は全コンテンツの受講を完遂できませんでしたが、その2名を含め平成27年1月13日より test 2 を開始し395名全員で解答を終えることが出来ました。以降 B 群の e-learning 受講、引き続き両群で test 3 を実施し、平成27年4月7日をもって全過程が終了しました。現在データセンターによる解析が行われているところです。

今後の展望

上部消化管領域における拡大内視鏡の明らかな有用性が示された現在、日常診療における拡大内視鏡を導入する施設は増加していると思われます。本研究の結果から、胃病変についての全国的な診断能の実態把握、診断体系の統一や有効な学習システムの構築につながることが期待されます。

福岡大学光学医療研究所発の全国の医師を研究の対象としたユニークな臨床研究です。次回機会があれば、研究結果について解析が終了したら呈示したいと思います。ご支援ありがとうございました。

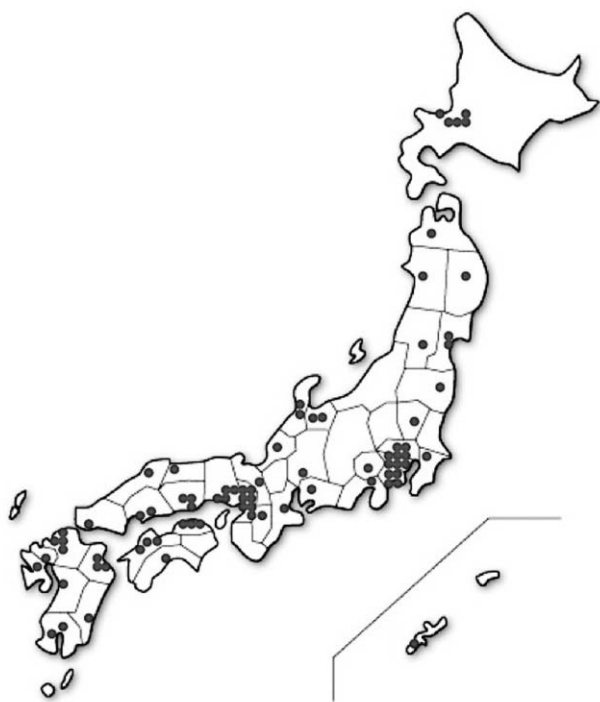
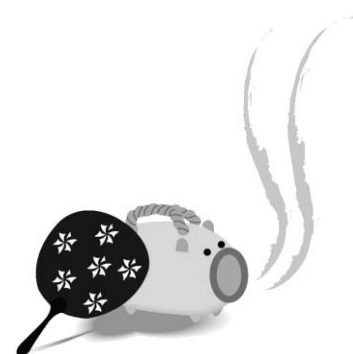


図3. NBI-LC study 参加77施設



ひびき LNG 基地建設にともなう環境モニタリング

資源循環・環境制御システム研究所長 樋口 壮太郎

1. はじめに

震災以降、原発再稼働や再生可能エネルギー活用等エネルギー問題を巡る議論が活発である。このような中で昨年11月に北九州で海面処分場跡地に LNG 基地が完成した。これは海面処分場跡地に建設された事例としては世界で初めての事例であり、資源循環・環境制御システム研究所（以下、資環研と略称する）は5年間にわたり、工事前、工事中、竣工後の環境モニタリングに関するアドバイスを行ってきたので紹介する。

2. ひびき LNG 基地

基地の建設および運営を行っているのは西部ガス(株)のグループ企業、ひびきエル・エヌ・ジー(株)で産業廃棄物海面最終処分場跡地に液化天然ガス(以下、LNG)タンク18万KL(直径83m、高さ54m)×2基、世界最大級のLNGタンカーLNG(積載量12.5~21.7万KL)の棧橋設備等を有するひびきLNG基地を建設し、平成26年11月に完成した(写真1)(図1)(図2)。最終処分場は管理型最終処分場で旭硝子(株)が炭酸ナトリウム汚泥を埋立処分したもので埋立面積25ha、埋立容量45万m³である。

(1) 跡地利用時の埋立地環境

最終処分場の跡地利用にあたって埋立層内、埋立
地外においてボーリング等調査を行い、埋立ごみ質
調査および浸透水、地下水水質分析を行い、第三者
委員会（福岡大学、北九州市立大学で構成）において
生活環境保全上の支障がないことを確認した。工事
着手後は資環研が環境モニタリング調査の立ち会い
および調査結果の評価を行い、環境保全を確認した。

(2) 跡地利用時の配慮事項

LNG 基地建設にあたってはタンク 1 基あたり約 400本の基礎杭を打設することから工事中、月 1 回の処分場外の地下水調査および処分場内の浸透水調査を行った。その結果、工事の影響により敷地内の浸透水が一時的に管理基準値（COD 90mg/L、全窒素および SS 60mg/L）を超えることはあったものの敷地外の海域および地下水に異常はなかった。また LNG タンカーから LNG タンクまでは管路で移設するため護岸の鋼板製鉛直壁を貫通させる必要がある。このため貫通部を仮設鋼板遮水で囲い工事を行ったが、その際、長期間海中にあった鋼板部を目視であるが観察する機会を得た（写真 2）。表層部の腐食



写真1 ひびき LNG 基地全景



写真2 鋼板遮水壁貫通部

は進行しておらず、遮水機能は保たれていた。また津波等災害時対策として津波による浸水対策として高さ1.8mの防潮堤、防潮林（クロマツ：高さ5m程度）、重要設備部の嵩上げ等の対策を行っている（図3）。本跡地利用の場合、埋立地底部が岩盤で透水係数が小さいため杭基礎が可能となった。

(3) 現時点における状況

11月に施設供用開始されたばかりであるが、現時点では特に生活環境保全上の支障もなく順調に稼働している。本ケースは海面管理型最終処分場跡地に大型LNG基地を建設したもので埋立地盤に恵まれていたこともあるが最終処分場跡地に800本を超える杭

基礎を打設し、大型のLNGタンクを建設したおそらく世界で初めてのケースである。今後の海面処分場の大規模跡地利用の先行事例として注目される。

3. おわりに

前述したようにひびきエル・エヌ・ジー(株)は福岡を拠点とする西部ガスグループであるが、この事業の企画、事業実施の責任者でひびきエル・エヌ・ジー(株)の代表取締役社長は川原道憲氏であり、福岡大学工学部土木工学科（現、社会デザイン工学科）卒業のOBである。さらに工事を担当した職員にも多くの福岡大学OBが活躍しており、頼もしい限りであった。

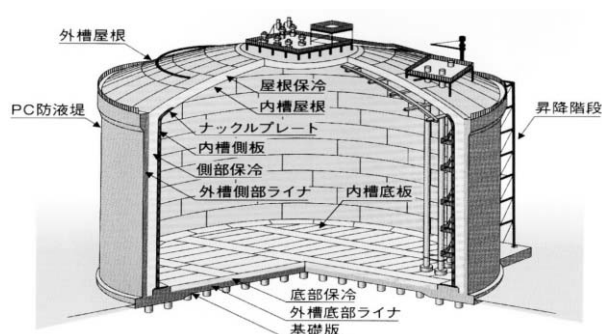


図1 LNGタンク概要図（ひびきエル・エヌ・ジー(株)パンフレット）

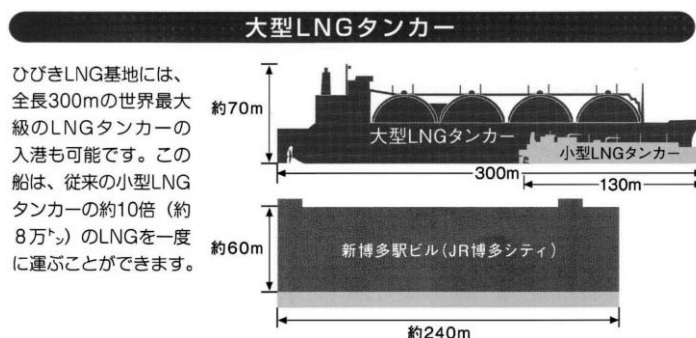
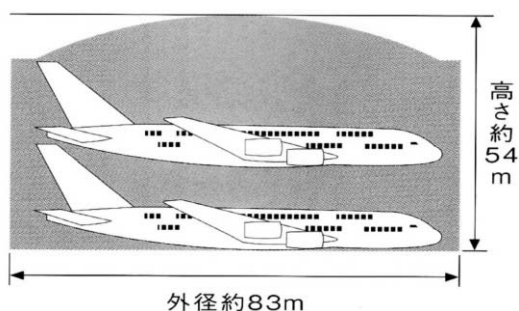


図2 大型LNGタンカーイメージ図（ひびきエル・エヌ・ジー(株)パンフレット）

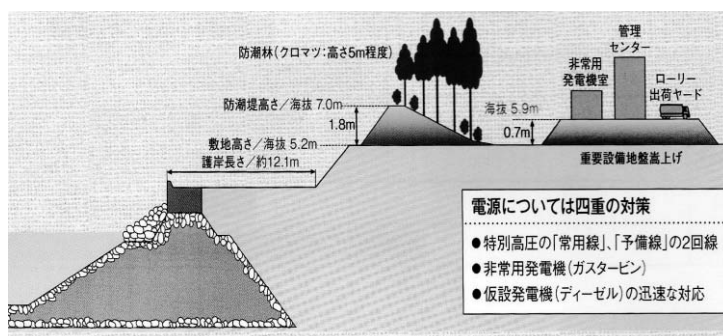


図3 津波対策（ひびきエル・エヌ・ジー(株)パンフレット）

メラノコルチンシグナルに関わるガングリオシドの機能解析

東北薬科大教授 加齢脳研客員教授 井ノ口 仁 一

1. 緒 言

脂肪組織は単なるエネルギー貯蔵庫ではなく、全身の糖・脂質代謝を制御する種々のシグナル分子を分泌する。その代表的なものが1994年に発見されたレプチンである。脂肪組織で作られたレプチンは血中に分泌され、脳の摂食中枢である視床下部に作用し、摂食を抑制するとともにエネルギー消費を促進することで、長期のエネルギーバランス調節に関わっている。

視床下部の弓状核（ARC）には、摂食を促進するニューロンと抑制するニューロンがあり、両者のバランスによって摂食行動が調節される。両者ともにその細胞体は ARC にあり、軸索を室傍核（PVN）に投射していて、前者は神経ペプチド Y（NPY）とアグーチ関連ペプチド（AgRP）、後者は α メラノサイト刺激ホルモン（ α -MSH）を分泌する。PVN のニューロンには MC4R があり、これに α -MSH が結合すると、活性化され摂食を抑制するのに対し、AgRP が結合するとその活性化が抑えられて摂食量が増加する。こうして α -MSH と AgRP は、MC4R に対して拮抗的に作用することによって摂食を調節している。NPY は、独自の受容体を介して摂食を促進する

（図 1）。 α -MSH を分泌するニューロン（POMC ニューロン）と NPY/AgRP ニューロンにはレプチン受容体が多く発現しており、レプチンが結合すると POMC ニューロンは活性化され、一方、NPY/AgRP ニューロンの活動は抑制される。その結果として、MC4R が活性化し、細胞内 cAMP の上昇とともに摂食が抑制される（図 1）。

スフィンゴ糖脂質は、セラミドにグルコース、ガラクトース、N-アセチルグルコサミン、N-アセチルガラクトサミン、シアル酸などの糖が段階的に酵素付加を受けたもので、とくにシアル酸を含むスフィンゴ糖脂質をガングリオシドとよび、細胞膜のマイクロドメインを構成する成分の一つとしてシグナル伝達などに深く関わっており、我々膜マイクロドメイン矯正療法を提唱している（図 2）。GM3 は、ガングリオシド生合成経路の最初の物質で、炎症などのストレスで発現が増加し、2 型糖尿病および高脂血症の患者において血中濃度の上昇が認められる¹⁾。脂肪細胞においては、炎症性サイトカイン TNF- α が、GM3 の増加を介してインスリン受容体シグナルに異常をきたし²⁾、一方で、GM3 合成酵素欠損（GM3SKO）マウスにおいてはインスリンシグナル

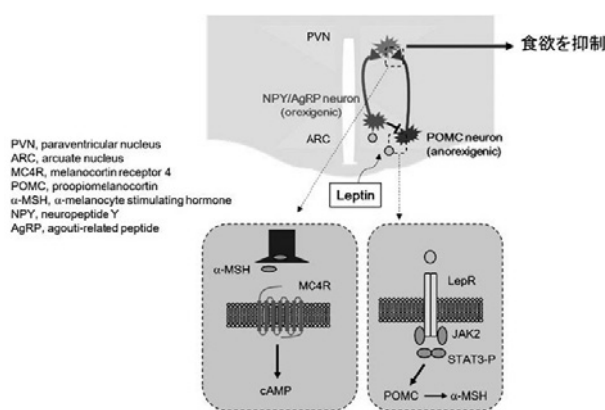


図 1 レプチンを介した視床下部における摂食調節機構

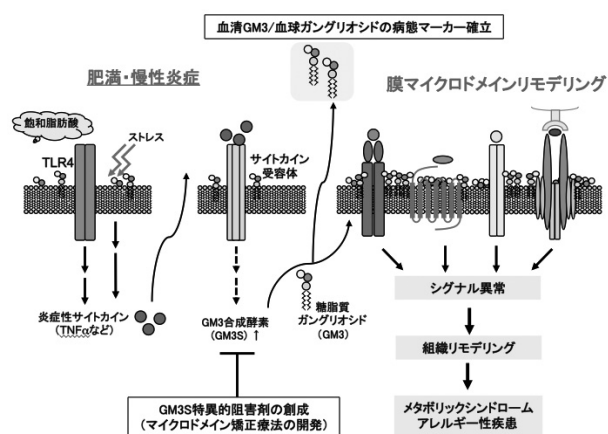


図 2 膜マイクロドメイン矯正療法の開発

が亢進している³⁾。炎症は、肥満とインスリン抵抗性との間をつなぐ重要なメカニズムであるが、高脂肪食負荷により視床下部で炎症が起こり、レプチン抵抗性を惹起するなどして、結果として視床下部のエネルギーバランス調節機能が損なわれることが報告されている。しかしながら、その詳細な分子機序には不明な点が多い。本研究では、摂食・代謝制御におけるガングリオシドの役割、特に視床下部のメラノコルチンシグナルにおける生理機能について調べるため、過食・肥満モデルマウスにおいて GM3 合成酵素を欠失 (GM3SKO) させた際の体重・摂餌量の変化、および、体毛色について検討を行った。

2. 結果および考察

KKAy マウスは、KK マウスに Ay 遺伝子を導入したモデルで、KK マウスより早期 (7~8 週齢) かつ重度な肥満・高血糖を発現する。KKAy マウスにおいては、本来皮膚のみに発現のみられる agouti-signaling protein (ASP) が全身に過剰発現し、皮膚の MC1R と脳の MC4R の α -MSH シグナルに対してアンタゴニストとして作用することで、毛色の変化 (黄色) および過食・肥満を主な表現型としてもつ。ASP は KKAy マウスの視床下部 MC4R に対して、本来のアンタゴニストである AgRP を模倣する形で作用し、MC4R シグナルを抑制することで摂食を促進している。

KKAy GM3SKO マウスでは体重・摂餌量ともにコントロールマウス、すなわち KK マウスのレベルにまで改善されていた (図 3)。KKAy マウスの Ay 変異による過食が GM3SKO によって正常に戻ったことから、視床下部で過剰に発現している ASP の MC4R

シグナルへの抑制作用に対して、ガングリオシドが拮抗していることが示唆された。

次に、KKAy マウスの毛色に GM3SKO による影響が見られるかどうか検討したところ、KKAy GM3SKO マウスは灰色の毛色であった (図 4)。以上の結果から、ASP による MC1R シグナルの抑制にガングリオシドが必要である可能性が示唆された。

今回、我々が見出したガングリオシドによるメラノコルチンシグナル制御機構を分子レベルで明らかにし、あらたな抗肥薬開発への糸口をつかみたい。

引用文献

- 1) Lucas V et al, Identification of Ganglioside GM3 Subspecies in Human Serum Associated With Risk Factors of Metabolic Syndrome PlosOne in press
- 2) Inokuchi J GM3 and Diabetes Glycoconj J 31; 193-197, 2014
- 3) Nagafuku M et al, Control of homeostatic and pathogenic balance in adipose tissue by ganglioside GM3. Glycobiology 25; 303-318, 2014

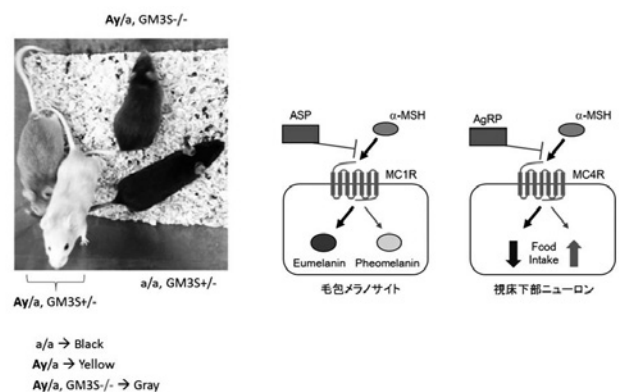


図 4 KKAy マウスと KKAy GM3SKO の毛色

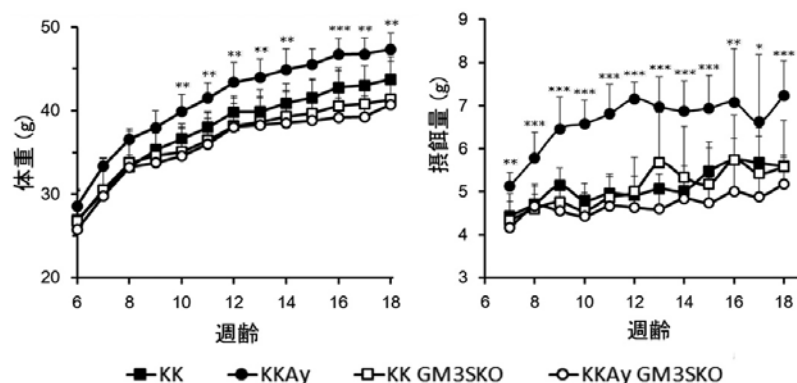


図 3 KK および KKAy の WT と GM3SKO マウスの体重・摂餌量の変化

医学系研究における多重性の問題

ライフ・イノベーション医学研究所 清 見 文 明
ライフ・イノベーション医学研究所長 内 藤 正 俊

データを集めて様々な解析を行うと、どこかでよさそうに見える結果は見つかるものです。そのような経験をした研究者も多いのではないのでしょうか。しかし、その結果は偶然の産物かもしれず、再現性が乏しいようにも思えます。この問題の根底にあるのが「多重性」です。投稿論文に用いる結果の再現性を高めるためにも、ぜひとも対処しておきたい事項です。本近況報告ではまず多重性を解説し、そのあと、医学系研究の計画書に記載してほしい事項3点を述べます。3点のうち2点は多重性に関係しています。

【多重性】

医療統計、生物統計などを調べると、バイアス、精度、一般化可能性、ランダム化、比較、EBM といったいつもの用語が並び、その中に多重性も含まれています。今さらと感じるかもしれません。しかし、この問題は以前より指摘されながら、医学系研究では未だに解消されていません。今回、多重性を取り上げた背景がここにあります。

多重性とは

被験薬と対照薬の比較研究において、結論を誤ってしまう確率は残念ながらゼロ（0）にはなりません。本当は2群に差がないのに、「有意差あり」と誤ってしまうことを第1種の過誤と呼び、一般的にこの確率を5%未満に抑えるように設定します。検定では多くの場合、有意水準5%と呼ばれます。5%は暗黙の世界標準です。多重性の問題とは、第1種の過誤確率が5%を超えてしまう問題を言います。

多重性が起こる場面

多重性は検定を繰り返すことで生じ、様々な場面で見られます。代表的な例を紹介します。

- 多群比較 例えばA、B、Cの3群の場合、A群 vs B群、A群 vs C群、B群 vs C群と3回検定を繰り返し、有意差を見つけて結論する
- 多時点比較 処置前後比較を4週、8週、12週…と繰り返し、どこかの時点で有意差を見つけて「治療は有効」と結論する
- 多項目比較 例えば収縮期血圧と拡張期血圧で群間比較を行い、少なくとも一方で有意差が見られたら「2群に有意差あり」と結論する
- 多種検定 例えばt検定とWilcoxon検定を併用し、一方で有意差が見られたら「2群に有意差あり」と結論する
- 中間解析 10例、20例…と試験の途中で群間比較を繰り返し、有意差を見たら試験を中止して「2群に有意差あり」と結論する
- 区分の変更 著効、有効、やや有効、無効の評価データで、有効以上を有効とする、やや有効以上を有効とするなど、区分を変更して複数の群間比較を行い、有意差を見つけて「2群に有意差あり」と結論する

なぜ多重性が問題か

先に述べましたが、多重性に対処しないと、誤った判断をする確率が5%以上になってしまい、世界標準を満たさなくなります。5%で誤る行為を繰り返せば、全体として誤る確率が5%を超えるのは自明です：「正」と刻印されたボール95個と「誤」と刻印されたボール5個を袋に入れ、1つ抜き取ります。「誤」を引く確率は5%です。この行為を2回繰り返せば、2回のうち少なくとも一方で「誤」を

引く確率は9.75%で、5%を超えます。これが多重性の問題で、検定を繰り返して都合の良い結果を用いて結論すると、結論を誤る確率は大きくなります。

多重性への対応

多重性はほとんどすべての研究に存在します。多重性があること自体は問題になりません。適切に対処すれば良いのです。多群比較や中間解析には様々な統計的手法が提案されており、多群比較については統計解析ソフトが備えを持っています。閉検定手順、Bonferroni、Tukey-Kramer、Dunnettといったキーワード検索でほとんど解決できます。中間解析はその必要性を深く考えてください。本当に必要ならば、癌の分野で行われていますのでその実践（いかに大変であるか）を学び、群逐次法などを適用します。容易ではないことに留意してください。

多時点、多項目等への対処法は、次の【研究者へのお願い】の項に譲ります。事前にエンドポイントを特定し、重要性の順序を定め、解析方法を明記することで多重性を解消します。

多重性はほとんど常に存在し、そのすべてを解消できるわけではありません。事後的に発見したことを検定することもあります。その場合は言い過ぎを避けることで多重性へ対処します。論文には「検証した」などと記載せず、数値的な事実記載に留める、あるいは「示唆された」に留めればよいのです。

【研究者へのお願い—医学系研究の計画書に記載してほしい事項—】

医療に関連する研究のサポートが、ライフ・イノベーション医学研究所の役割の一つです。その一環として、およそ1年間、福岡大学病院における医学系研究の計画書を統計的な観点からレビューしてきました。その中で、前向き研究に対して改善してほしい事項が3つあります。研究結果を確固たるものにするためにも、研究計画書に下記の(1)～(3)を記載するように、研究者には強くお願いしたいと思います。

(1) 主要評価項目

検証的研究の場合は、主要評価項目を1つ明確に定義する。例えば糖尿病を対象とした試験において、「主要評価項目はHbA1cとする」では明確に定義し

たことにはなりません。名前は主要評価項目ですが、英語は primary endpoint であり、outcome measure の明確化を求めていますので、項目名だけでは十分ではありません。「主要評価項目はHbA1cの変化量（1年後—ベースライン）とする」、「主要評価項目は、4コース終了時点における無増悪生存期間とする」のように、評価時点、変化量／変化率、無増悪生存期間／全生存期間など、他の可能性を残さないように特定します。主要評価項目を1つに特定する理由は、多重性が生じないようにするためです。

探索的研究であっても、主要評価項目を記載することが望ましいと考えています。探索的であっても通常は明確な目的があります。その目的を達成するために必要な項目を測定しますので、主要評価項目は定められるはず。ただし、1つを明確に定めることを求めています。重要な複数の項目、時点などを列挙する場合があります。

(2) 主要評価項目に対する統計解析の方法

検証的研究の場合は、主要評価項目に対する統計解析の方法を1つ明確に定める。これも、多重性の問題が生じないようにするためです。解析方法は、再現できるように記載します。「主要評価項目である6歳時点での身長は、共分散分析で解析する」では明確とは言えません。「主要評価項目である6歳時点での身長は、投与群および病気の重症度を固定効果とし、ベースラインの身長を共変量とした共分散分析で解析する」、「全生存期間は、投与群、年齢および治療開始前のステージを共変量に含めたCox回帰を用いて解析する」のように記述すれば統計解析は再現でき、多種検定の問題は生じません。

3つめは今回の主題「多重性」とは無関係ですが、どうしても研究者に改善してほしいとの願いから、ここに追記します。

(3) 被験者数の設定

検証的研究の場合は、仮説を実証するために必要な被験者数を統計的な根拠とともに記載する。症例数の根拠を問われ、「何となく100例にしました」とは答えられませんし、 P 値=0.07で主要な仮説が証明できず、「おしかった」、「あと10例多ければ」と

悔いが残るかもしれません。臨床研究を前向きに実施するからには、証明したい臨床的命題があるはずです。それを証明するために、人的・金銭的リソースを費やし、患者さんのご協力を得て臨床研究を実施するわけですから、高い確率で証明できるように計画しなければなりません。症例数は検証的研究における重要事項の一つです。

なお、探索的研究では、必ずしも統計的根拠が求められるわけではありません。しかし、例えば「探索的研究であり、1年間で実施可能な症例数としてXX例とした」のように、設定したからには簡潔であってもその根拠が必要です。

なお、(1)～(3)には様々な例外がありますので、臨機応変な対応も必要です。



「別府一万年山断層帯（大分平野―由布院断層帯東部） における重点的な調査観測」への参加・研究報告

国際火山噴火史情報研究所ポストドクター研究員 中西利典^{とし みち}

1. はじめに

大規模な火山噴火と活断層による巨大地震は短期間に連動して発生する場合がある。例えば、1991年6月のフィリピンのピナツボ山の主噴火の約11ヶ月前には同山から北東100km程度を震央にするM7.8の地震があった。1707年（宝永四年）の富士山の噴火の49日前には南海トラフで推定M8.6-9.0の地震があったことが記録されている。こうした火山噴火と巨大地震の関連について数千年間にわたって検討するために、由布岳や鶴見岳、阿蘇山などの活火山の近くに位置する別府一万年山断層帯^{はねやま}における重点的な調査観測に参加している。以下では、この調査観測の概略を紹介した後に、筆者が平成26年度に担当した研究内容の概略を報告する。

2. 重点的な調査観測の概要

地震調査研究推進本部は、大規模地震の被害を軽減するために活断層帯の重点的な調査観測を推進している^(注1-2)。その一環として別府一万年山断層帯（図1A）で発生する地震に関して平成26年度から3年間の調査観測が開始された。この研究プロジェクトは三つのサブテーマ、(1)活断層の活動区間を正確に把握するための詳細位置・形状等の調査および断層活動履歴や平均変位速度の解明のための調査観測、(2)断層帯の三次元的形状・断層帯周辺の地殻構造の解明のための調査観測、(3)断層帯周辺における強振動予測の高度化のための研究で構成され、(1)京都大学大学院理学研究科、(2)九州大学大学院理学研究院および京都大学大学院理学研究科、(3)産業技術総合研究所を中心としてそれぞれ同時進行されている。筆者はサブテーマ(1)の陸域および伏在部における調査研究に参画しており、別府市南部においてボーリングコア掘削調査によって朝見川断層の活動履歴と

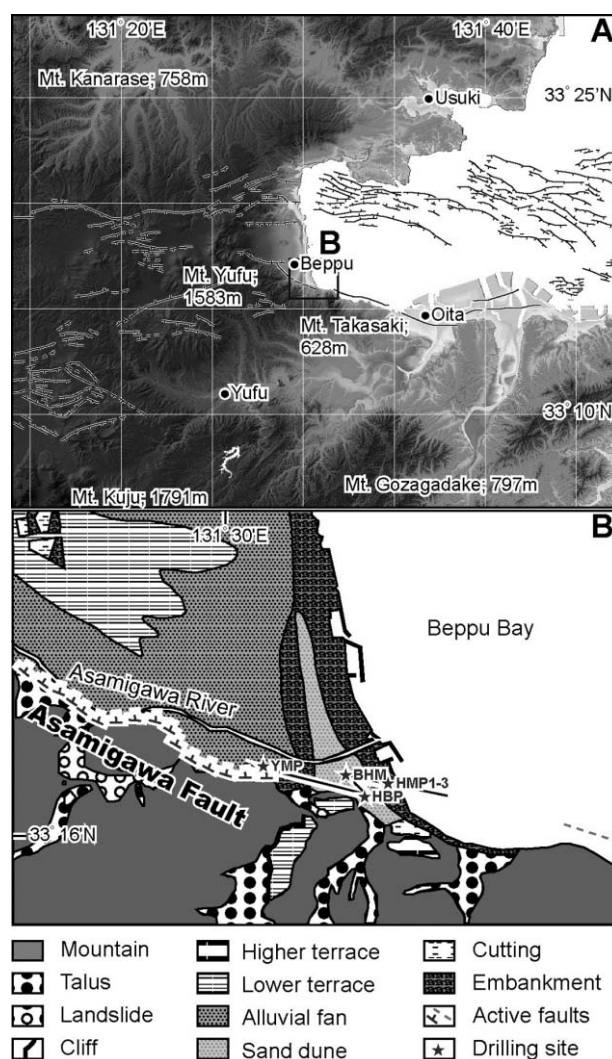


図1 調査地域の地形と活断層。

A：別府一万年山断層帯中部地域の標高段彩図と活断層（地震調査推進本部、2005）。B：別府扇状地南東端の地形分類図と活断層。地形分類は国土地理院（2011）、活断層の分布は千田ほか（2001）および岡田ほか（2001）による。黒線は図2の断面測線を示す。

注1 <http://www.jishin.go.jp/main/suihon/honbu05c/h22-4-2b.pdf>

注2 <http://www.jishin.go.jp/main/suihon/honbu09b/katsuchousa090421.pdf>

平均変位速度を検討した。

3. 朝見川断層での調査概要

別府一万年山断層帯の中南部を構成する朝見川断層(図1B)周辺には多くの家屋が立地しているが、その古地震学的な検討は不十分であった。同図に示したように別府扇状地南東端にあたる別府市浜脇地区は、人為改変や砂丘が分布しているので断層変位地形は不明瞭であるが、西方の扇状地と山地の境界を画する断層崖と東方の海底断層との間にも朝見川断層が連続して伏在していることが推定される。同断層の最新活動時期を解明し、将来の地震発生を長期予測するために複数回分の断層活動の履歴を復元することを目的として、空中写真判読などで良好な調査地を選定した。そこで二本のボーリング(HMP1-3およびYMP)コアを新たに掘削・採取して、得られた堆積物試料を分析した。これらのコアでは半裁面および軟X線写真による堆積構造の検討、放射性炭素年代の測定などをおこなった^(注3)。また、同活断層群周辺で得られた既存の二本のボーリング(HBPおよびBHM)コア試料を用いて海生、海生～汽水生、汽水生、汽水～淡水生、淡水生の種別で珪藻化石の群集組成を分析した(中西ほか、2015)。これらの結果を基にして四本のコアで認定した堆積環境と堆積年代を対比した(図2)。以下に各コアの層序を要約する。

HMP1-3 コアの掘削地点は朝見川断層の断層崖の

延長線上にある山地と砂丘を画する地形境界から約100m 北東側の埋立地に位置している。この地点の深度9m以下は崩れやすい粗粒な堆積物が多くてコア試料の回収率が悪かったため、水平距離2m以内で合計三本のコアを採取して岩相を丁寧に確認した。HMP1 コアは表層～深度10m、HMP2 コアは深度9～30m、HMP3 コアは表層～深度9mの地層に相当する。同コアは上位から、(1)埋め立てによる人工盛土、(2)海水準安定期～上昇期にかけて形成された海成層、(3)海水準上昇期の河川層で構成されると推定される。

HMP1-3 コア掘削地点の約900m西方に位置するやまびこ公園東方の空き地でYMP コアを掘削した。この掘削地点は朝見川断層の断層崖から約50m北側の埋立地に位置している。同コアは上位から、(1)人工盛土、(2)海水準安定期の河川層、(3)海水準安定期～上昇期の海成層、(4)海水準上昇期の河川層、(5)低海水準期の河川層で構成されることが考えられる。

前述の二本のコア掘削地点に挟まれた地域に分布する砂丘においてHBPおよびBHM コアが採取されていた。これらのコアを用いて珪藻化石を分析することによって、上位から、(1)人工盛土、(2)海水準安定期の河川層、(3)海水準安定期～上昇期の海成層、(4)海水準上昇期の河川層、(5)乙原溶岩を認定した(中西ほか、2015)。

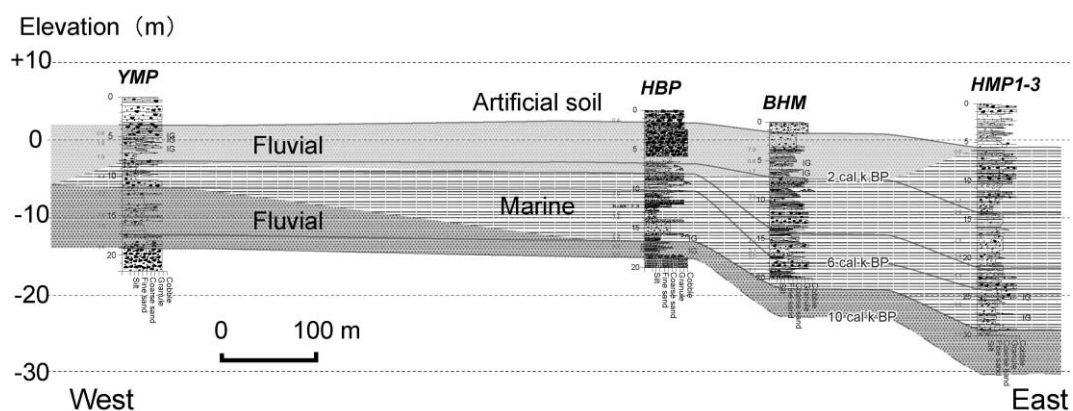


図2 朝見川断層の沈降側の地質断面図。各コアの柱状図は太いほど粗粒な堆積物であることを示している。

注3 地震調査研究推進本部(2015) 別府一万年山断層帯(大分平野一由布院断層帯東部)における重点的な調査観測、平成26年度報告書。

4. 今後の展望

YMP および HBP、BHM、HMP1-3 コアの解析結果を対比すると図2の地質断面が描ける。同図によると断層崖から100m以内で掘削されたYMPおよびHBPコアとそれ以外のコアとの間に堆積様式の相違が認められる。この違いはYMPおよびHBPコアが正断層である朝見川断層の断層面上において掘削されたことを反映していると考えられる。一方、朝見川断層の沈降側では、海水準上昇期と安定期に形成された二層の河川層が海成層を挟んで分布しており、海成層は海側から陸側に向かって徐々に薄くなる(図2)。こうした堆積環境では断層活動による急激な地盤の沈降イベントが地層に記録されている可能性がある。例えば、BHM コアの深度4~7mやYMP コアの深度5~7mには現在の海水面よりも低い標高において自然堤防および氾濫原堆積物の示相堆積構造とされている逆級化構造(増田・伊勢屋、1985)が認められる。これらの堆積年代は1800~600cal BP^(注4)にあたり、最新の時期は調査地点付近で大きな被害をもたらした歴史地震記録として西暦1596年の慶長豊後地震(宇佐美ほか、2013)に相当する可能性がある。これらの層準を中心として珪藻化石の群集組成を解析して、古地震による急激な堆積環境の変化の有無について次年度は詳しく検討する予定である。また、大規模な火山噴火によってもたらされた火山灰層や軽石層の降下層準を認定して、それらの供給源を検討したい。これらをまとめて、火山噴火と古地震との関連について検討する予定である。

文 献

千田 昇・池田安隆・中田 高・岡田篤正・宇根寛(2001) 2万5千分の1都市圏活断層図「別府」: 国土地理院。
国土地理院(2011) 土地条件調査解説書「大分地区」: 20p。
地震調査推進本部(2005) 別府一万年山断層帯の長期評価: http://www.jishin.go.jp/main/chousa/05mar_beppu/index.htm, 19.1MB。
増田富士雄・伊勢屋ふじこ(1985) “逆グレーディング構造”: 自然堤防帯における氾濫原洪水堆積物の示相堆積構造: 堆積学研究会報特集号,

108-116.

中西利典・竹村恵二・松山尚典・齋藤武士・柴田康行・香月興太(2015) 別府市浜脇地区のボーリングコアから認定した朝見川断層の完新世における活動: 地形, 36, 印刷中。
岡田篤正・池田安隆・中田 高・千田 昇・宇根寛(2001) 2万5千分の1都市圏活断層図「大分」: 国土地理院。
宇佐美龍夫・石井 寿・今村隆正・武村雅之・松浦律子(2013) 『日本被害地震総覧599-2012』: 東京大学出版会, 56-57.



注4 放射性炭素年代値を暦年代に較正した西暦1950からの遡及年代値。

有明海再生に向けた技術開発

工学部准教授 渡 辺 亮 一

有明海では、高度経済成長期以降、治水事業としてダム建設が相次ぎ、アサリが育つのに必要な砂の流入が減り、泥混じりの干潟が増えた。加えて2012年7月の九州北部豪雨では、大量の淡水と泥が河川から有明海へ流れ込み、矢部川河口の沖合 2~3km に 10cm を超える粘土質の泥が堆積したと言われている¹⁾。二枚貝で特に需要の高いタイラギの漁は、福岡県と佐賀県で2012年から休業状態となっており²⁾、アサリの漁獲量は有明海で2006年度の約 5,800t から近年は 1,000t 未満に減っている³⁾。また、アサリの減少により有明海の初夏の風物詩とされる潮干狩り船の運航中止が相次いでいる¹⁾。対策として、別の場所の海砂を採取し、アサリなどの生育域の海底にまく覆砂事業が実施されているが、コストがかかり、砂の量も限られているので永続的に続けるのは難しいと言われている¹⁾。また、底泥を除去する浚渫もあるが、これは特別な運搬設備や大規模な処理場を必要とし、浚渫された底泥の減容化や機械脱水等の処理にコストがかかるうえ、浚渫による底泥の巻き上げによって濁水を生じさせる可能性がある。

有明海及び八代海等を再生するための特別措置に関する法律（平成14年11月29日法律第120号）⁵⁾、有明海及び八代海等を再生するための特別措置に関する法律施行令（平成14年11月29日政令第354号）⁶⁾、有明海・八代海等総合調査評価委員会令（平成14年11月29日政令第355号）⁷⁾が公布された。これらの法は、有明海及び八代海等が、国民にとって貴重な自然環境及び水産資源の宝庫として、その恵沢を国民がひとしく享受し、後代の国民に継承すべきものであることに鑑み、有明海及び八代海等の再生に関する基本方針を定めるとともに、有明海及び八代海等の海域の特性に応じた当該海域の環境の保全及び改善並びに当該海域における水産資源の回復等による漁業の振興に関し実施すべき施策に関する計画を策

定し、その実施を促進する等特別の措置を講ずることにより、国民的資産である有明海及び八代海等を豊かな海として再生することを目的としている⁵⁾。

3年前より、水循環・生態系再生研究所では、コヨウ株式会社と協力しながら微生物の分解反応を促進する効果が期待されている⁴⁾。フルボ酸鉄シリカ資材の導入による底泥の改善効果について研究を行っており、2015年度には熊本県長洲町と連携しながら産学官連携の体制で実証実験に取り組むことを考えている。

フルボ酸鉄は、可溶化した鉄と森林や湿地帯で生産された天然有機物のフルボ酸と錯形成したものである。もともとフルボ酸は、植物の葉や茎の部分が腐食してできた有機成分（腐植物質）中に存在するものであり、鉄はpHなどの変化により不溶化する。しかし、森林や湿地帯で生産されたフルボ酸などの天然有機物は、その鉄と錯形成することにより、安定な水溶性を示すと言われている⁷⁾。陸域由来の微量金属の中でも溶存鉄は、食物連鎖の根底を担う一次生産者が光合成を行う際に不可欠な必須金属であり、多くの海洋や河口・沿岸域において水生生物の成長制限要素となっている⁸⁾。だが、海水中におけ

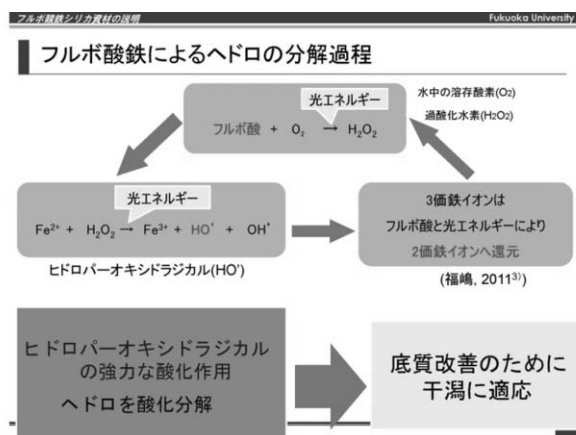


図1 フルボ酸鉄シリカ資材の効果概略

る溶存鉄濃度は極めて低いことが分かっている。これは、河川水とともに海域へ運ばれるはずのフルボ酸鉄が、山地の開発によって海域へ流入しにくくなっていることが要因としてあげられる。そのため、沿岸域では漁民による植林活動が行われ、その林床で生産されたフルボ酸による海域水産資源の向上が期待されている⁹⁾。また、北海道日本海側沿岸の磯焼けについては、鉄不足がその原因であることが示唆され、フルボ酸鉄を用いた磯焼け回復技術確立の可能性が示された¹⁰⁾。本研究所が実証実験を行っているフルボ酸鉄シリカ資材は、鉄を可溶化した状態で河口に供給することが可能であり、またシリカを含有していることから干潟におけるアサリ貝などの餌資源となる珪藻類に不可欠な栄養源を供給することにもなり、干潟環境の浄化に非常に期待されている。今年度はこれまでの成果を長洲町の協力のもとで、実際の干潟において実証していく予定である。

htmldata/H14/H14HO120.html)

- 6) 環境省：有明海及び八代海の再生するための特別措置に関する法律施行令 (<http://law.e-gov.go.jp/htmldata/H14/H14SE354.html>)
- 7) 瀬戸雅文，竹内登世子：アマモ種子の鉄コーティングによる着底・生長促進技術の開発，海洋開発論文集 第24巻，pp807-812, 2008.7.
- 8) 藤井学他：河口・沿岸域における不眠鉄の錯平衡と凝集特性，環境工学研究論文集 第41巻，pp389-400, 2004.
- 9) 矢沢勇樹他：房総里山から供給されるフルボ酸の鉄の物質輸送と生態系との関連 1—小櫃川流域の土地利用と栄養塩との関係—，特集「森—川—海の共存・共栄」，日本海水学会誌 第65巻第4号，pp223-238, 2011.
- 10) 山本光夫他：スラグと腐植物質による磯焼け回復技術に関する研究，日本エネルギー学会誌 第85巻第12号，pp971-978, 2006.



参考文献・ウェブサイト

- 1) 2013年5月5日，朝刊朝日新聞，31面.
- 2) 2013年12月6日，朝刊日本経済新聞，39面.
- 3) 2013年9月24日，朝刊日本経済新聞，39面.
- 4) コヨウ株式会社他：海底ヘドロの環境改善と植物の成長にも効果有り～フルボ酸鉄・シリカ含有資材の紹介～第64回エコ塾説明資料，pp1-11, 2012.
- 5) 環境省：有明海及び八代海の再生するための特別措置に関する法律 (<http://law.e-gov.go.jp/>

