

愛媛大学社会連携推進機構  
研究成 果 報 告 書

第8号  
(2014)

## 社会連携推進機構研究成果報告書第8号の発行にあたって

愛媛大学社会連携推進機構長  
矢田部 龍一

日本は、少子高齢化と人口減少というダブルパンチに見舞われています。この課題に対応するために、政府は地方創成を掲げて、昨年9月に「まち・ひと・しごと創生本部」を設置しました。

創生本部の設置目的ですが、まち・ひと・しごと創生法案の中で次のように謳われています。「少子高齢化の進展に的確に対応し、人口の減少に歯止めをかけるとともに、東京圏への人口の過度の集中を是正して住みよい環境を確保して、将来にわたって活力ある日本社会を維持していくために、まち・ひと・しごと創生に関する施策を総合的かつ計画的に実施する。」

この目的を達成するためには、地域で創業を促進して、事業活動を活性化することにより魅力ある就業機会を創出することが求められます。そして、創業の促進と事業活動の活性化のためには、産学連携の推進が何より求められます。

ところで、愛媛大学は、ものづくりに関わる多くの理系教員を擁しており、毎年、多くのシーズを創出しています。また、産学連携、地域連携を推進するための組織整備にも積極的に取り組んでいます。既に、「知的財産センター」、「産学連携推進センター」、「地域創成研究センター」、「防災情報研究センター」、「南予水産研究センター」、「植物工場研究センター」を設置していましたが、昨年の4月には、四国中央市に3研究部門と1研究支援室からなる「紙産業イノベーションセンター」を開設致しました。研究部門としては、製紙・紙加工に関する課題解決と製紙技術の高度化に向けた研究を行う「製紙技術研究部門」、機能性材料等を紙に付与することにより、新規紙製品を開発する「紙製品研究部門」、各種原材料の新たな機能を探求する「機能性材料研究部門」の3部門を設置し、また、新技术の実用化を推進するために、企業との調整や特許案件の整理等を行う「地域連携・研究支援室」を設置して、産業界への速やかな研究成果の還元をめざしています。

さらに、昨年9月には文部科学省の地の拠点整備事業に、「地域の未来をステークホルダーと共に創る実践的人材の育成」が採択され、地域との連携をより積極的に進めているところです。また、平成28年度には、地域志向の新学部である「社会共創学部」の設置を予定しています。愛媛大学は、新学部の設置を通して、より本格的な地域連携に取り組んでいく所存です。

愛媛大学の平成26年度の産学連携の実績ですが、共同研究152件、受託研究111件、特許申請件数53件というところです。400名を超える理工農の教員と240名を超える医学系教員などを擁する愛媛大学の研究能力から見れば、まだまだ十分な産学連携の実績とは言えないかも知れませんが、成果は着実に上がりつつあります。

今回、第8号の研究成果報告書を発行できる運びになりました。ご努力頂いた関係各位に心より感謝申し上げますとともに、本報告書が広く活用されることを願います。

愛媛大学には、本報告書に示した以外にも多くのシーズが眠っており、また、多くの有能な研究者が在籍しています。日本経済の復興のために、地域経済の復興のために、国立大学法人愛媛大学の知的資源の活用を切にお願いするとともに、今後とも皆様方のご指導、ご支援を賜りますよう宜しくお願い申し上げます。

## 目 次

### 研究成果報告書第8号の発刊にあたって

愛媛大学社会連携推進機構長

矢田部 龍一

### 研究成果報告

#### 白内障手術時に生じるAHTの可視化を含む硝子体可視化のための方法に関する研究 -- 1

愛媛大学大学院医学系研究科教授  
愛媛大学大学院医学系研究科准教授  
愛媛大学大学院医学系研究科准教授  
愛媛大学大学院医学系研究科講師  
愛媛大学大学院医学系研究科非常勤講師  
参天製薬株式会社  
参天製薬株式会社

大橋 裕一  
白石 敦  
田坂 嘉孝  
鈴木 崇  
川崎 史朗  
宮脇 宣明  
長野 敬

#### ヒアレイン点眼液及びセルロース含有点眼液の薬効比較に関する研究 ----- 9

愛媛大学大学院医学系研究科教授  
愛媛大学大学院医学系研究科准教授  
愛媛大学大学院医学系研究科准教授  
愛媛大学大学院医学系研究科医員  
参天製薬株式会社

大橋 裕一  
白石 敦  
鄭 曜東  
五藤 智子  
堂田 敏義

#### 放射線誘発口内炎に対するプロスタグラジン類の薬効評価 ----- 17

愛媛大学医学部附属病院教授  
愛媛大学医学部附属病院薬剤部  
小野薬品工業株式会社研究本部創薬研究部

荒木 博陽  
渡邊 真一  
中西 美樹

#### ヒトT細胞白血病ウイルスI抗体測定試薬「HISCL HTLV-I Ab」の基礎的検討 ----- 22

愛媛大学医学部附属病院診療支援部部長

西宮 達也

#### バイオエタノール廃液及び残渣の柑橘類、畑作物等への栽培利用に関する基礎研究 - 25

愛媛大学農学部教授  
愛媛大学農学部助教  
新日鉄住金エンジニアリング株式会社

上野 秀人  
当真 要  
加藤也寸彦

クリンカーの農業技術利用の開発 ----- 28

愛媛大学農学部教授  
愛媛大学農学部助教  
西日本碎石株式会社

上野 秀人  
当真 要  
岡 寛

画像処理を用いたアクティブな家庭向け見守りシステムの開発 ----- 31

愛媛大学総合情報メディアセンター教授  
愛媛県産業技術研究所技術開発部主任研究員  
合資会社コバルト代表

中川 祐治  
秋元 英二  
安永 文香

飼料添加物の評価及び開発 ----- 36

愛媛大学南予水産研究センター教授  
愛媛大学南予水産研究センター講師  
愛媛大学南予水産研究センター特任助教

三浦 猛  
三浦智恵美  
太田 史

養殖マダイの耐病性育種に関する基礎的研究 ----- 40

愛媛大学南予水産研究センター准教授  
有限会社まる阿水産生産部開発課課長

高木 基裕  
澤山英太郎

# 白内障手術時に生じる AHT の可視化を含む硝子体可視化のための方法に関する研究

愛媛大学大学院医学系研究科教授	大橋 裕一
愛媛大学大学院医学系研究科准教授	白石 敦
愛媛大学大学院医学系研究科准教授	田坂 嘉孝
愛媛大学大学院医学系研究科講師	鈴木 崇
愛媛大学大学院医学系研究科非常勤講師	川崎 史朗
参天製薬株式会社	宮脇 宣明
参天製薬株式会社	長野 敬

## 【研究背景および目的】

通常の白内障手術では、水晶体後囊あるいはチン氏帯、毛様体、前部硝子体膜(*anterior hyaloid membrane: AHM*)で構成される後房一硝子体バリアの機能は保たれており、眼内灌流液が硝子体腔へ流入することはない。しかし、近年の超音波白内障手術においては、水流により水晶体の核と皮質を分離する hydrodissection 中、核吸引中、皮質吸引中、人工レンズ(*intraocular lens: IOL*)挿入中など、眼内圧が高度に上昇する場面も少なくない。この眼内圧上昇の程度は、眼内還流溶液ボトルの高さや hydrodissection 時に前房内に充填されている眼内に注入する粘弾性物質(*ophthalmic viscosurgical device: OVD*)の特性に大きく左右されることが知られている。このように眼内圧が高度に上昇した状況では、後囊あるいは後房一硝子体バリアにも多大なストレスがかかるものと予想される。

Hydrodissection は、水晶体の核と皮質を分離し、水晶体核を適切にスムーズに処理するために必須の手技であるが、時に、後囊破損や核落下、前部硝子体膜剥離などを引き起こすことが報告されている。豚眼を用いたわれわれの実験でも、ハイドロダイセクション時に全部硝子体膜破裂(AHM tear)を、術中における眼圧の急激な変動や高灌流圧が、全部硝子体膜剥離(AHM detachment)を引き起こす可能性があることが示されている。

本研究の目的は、豚眼を対象に、高灌流圧やハイドロダイセクション時の眼内圧上昇が後囊一硝子体あるいは後房一硝子体バリアの健常性に与える影響について評価することにより、より安全な白内障手術手技を提案する

ことである。

### 【方法】

実験には摘出後 12 時間以内の豚眼を用いた。

#### 実験 1

##### 灌流圧負荷による後房一硝子体バリアへの影響

豚眼の 9 時の角膜輪部に、圧センサー(DI-151RS; DATAQ Instruments, Inc. Ohio)を接続した 16 gauge needle を穿刺し、前房内に留置し、眼圧をモニタ一した。次いで、balanced salt solution (BSS) (BSS plus ; Alcon, Fort Worth, TX) 100mL に  $\phi 1.0 \mu\text{m}$  フルオレセインビーズ液(Fluoresbrite<sup>TM</sup> Carboxylate YG 1.0 micron Microspheres, Polysciences inc, Pennsylvania)を 3.0mL の割合で混ぜた灌流液の入ったボトルに 27 gauge needle を接続し、12 時の位置で角膜輪部に穿刺した(図 1)。4 段階の異なるボトルの高さ(45, 85, 145, 285cm)による眼圧下で、10 眼ずつ、20 秒間灌流した。処置後直ちに、豚眼を赤道部で水平断し、チン氏帯・毛様体・前部硝子体膜・硝子体腔におけるフルオレセインビーズの染色状態を、ビデオカメラ (Videocamera ; DXC-C33 Sony Japan, Lens ; ML-0310VF MORITEX Japan)で撮影し、Miyake-Apple view にて観察した。

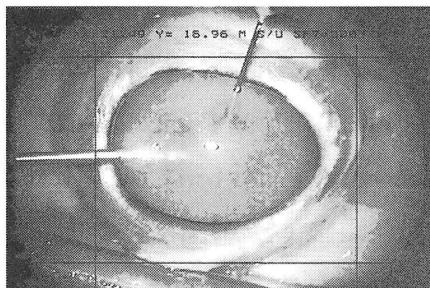


図 1 実際の実験の様子；圧センサーに接続された 16G 針を豚眼角膜輪部の 9 時の位置に、27G 針を 12 時の位置に留置し、フルオレセインビーズ染色液を混ぜた BSS を一定圧で 20 秒間灌流した。

#### 実験 2

##### ハイドロダイセクション時の圧負荷による後囊および後房一硝子体バリアへの影響

豚眼に対して 2.8mm 角膜切開を 12 時方向に行い、特性の違う 5 種類の粘弾性物質 OVDs (Opegan<sup>®</sup>; Santen Pharmaceutical Co., Ltd. Osaka Japan, Opelead<sup>®</sup>;

Senju Pharmaceutical Co., Ltd. Osaka, Japan, Viscoat<sup>®</sup>; Alcon, Fort Worth, TX, Healon<sup>®</sup> & Healon<sup>®</sup>5 ; Advanced Medical Optics: AMO, Santa Ana, CA) を 0.4 mL 前房内に注入した。その後、continuous curvilinear capsulorhexis (CCC) を直径 6.5 mm を目安に作成した。CCC 作成後、すべての CCC に対して、キャリブレーションしてあるモニター上のメジャーでその水平径 (CCC-X)・垂直径 (CCC-Y) を測定し、6.0–7.0 mm の範囲に収まるもののみを使用した。ここで、実験 1 と同様に、圧センサーを接続した 16 Gauge 針を 3 時の位置に留置し、眼圧を持続的に測定しながら、角膜切開のちょうど対側にあたる 6 時の位置で、前囊下に NAGAHARA HYDRODISSECTION CANNULA (ASICO LLC; Westmont, IL) を挿入し、ø1.0 µm フルオレセインビーズ液を混和した BSS を速度 3.0 ml/10sec で注入しつつ、hydrodissection を施行した。実験は、各 OVD について 20 眼ずつを行い、処置後、実験 1 と同様に、後囊・チン氏帯・毛様体・前部硝子体膜・硝子体腔のフルオレセインビーズの染色状態を Miyake-Apple view にて観察した。

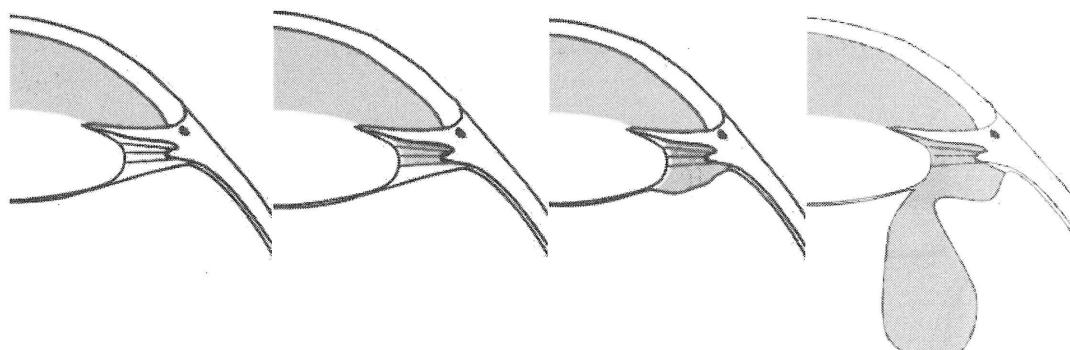
## 【結果】

### 実験 1 灌流圧負荷の結果

#### Miyake-Apple view による染色像の分類

負荷直後に、Miyake-Apple view で観察されたチン氏帯・毛様体・前部硝子体膜・硝子体腔のフルオビーズによる染色像は進展の程度により解剖学的に 4 つのタイプに分けられた。(図 2)

図 2



AC type

Grade 1

Zinn type

Grade 2

AHM type

Grade 3

AHT type

Grade 4

## 眼内圧と染色像の関係

4段階のボトル高による最高眼内圧と染色像の分布を表1に示す。眼内圧と染色像のGradeの間には有意な相関関係が認められた。（(Spearman's rank correlation;  $r=0.7028$ ,  $p<0.0001$ )

表 1

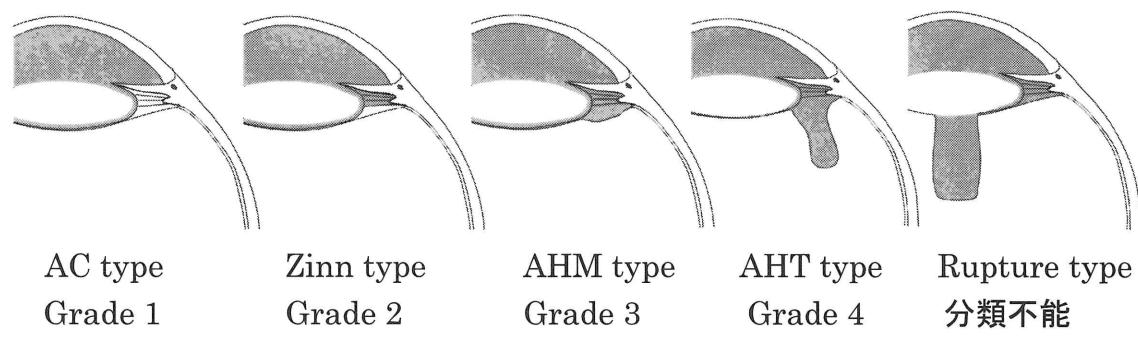
染色像 (type)	眼数				最高眼内圧 ; mmHg
	Bottle height ; cm				
	45	85	145	285	
AC; Grade 1	6	1	0	0	32.28 (8.88)
Zinn; Grade 2	2	1	2	0	63.39 (36.23)
AHM; Grade 3	2	8	7	8	117.00 (67.47)
AHT; Grade 4	0	0	1	2	185.35 (71.50)

## 実験2、ハイドロダイセクション後の結果

### Miyake-Apple viewによる染色像の分類

ハイドロダイセクション直後に、Miyake-Apple viewで観察された染色像は実験1でみられた4つのタイプに加えて、新たに後嚢破損を来す場合、すなわちCapsule ruptured (Rupture) typeが存在した。Rupture typeは他の4つと解剖学的に連続性がないので、Gradingは行わなかった。（図2）

図 2



## 粘弹性物質別のハイドロダイセクション時の最高眼圧値と染色像との関係

各 OVD でのハイドロダイセクション中の眼圧変化は、Opegan®では peak IOP は 16.21 mmHg、Opelead®では 19.47 mmHg と軽度の上昇しか示さなかったのに対し、Healon®では 38.48 mmHg、Viscoat®では 56.06 mmHg、Healon®5 では 137.80 mmHg まで hydrodissection 開始から 1~2 秒内に上昇した。各 OVD でハイドロダイセクションを行った時の Miyake–Apple view で観察された染色像を表 2 に示す。hydrodissection 前の眼圧(Initial IOP) ( $p=0.3352$ , ANOVA)に関しては、有意な差はなかったが、hydrodissection 中に記録された peak IOP においては有意差が見られた( $p<0.0001$ , ANOVA)。Healon®5 群は、他の 4 群全ての OVD に対して有意に高い値を示し( $p<0.0001$ , Tukey–Kramer multiple comparison test)、また、Viscoat®群は、Opegan®群( $p=0.0139$ , Tukey–Kramer multiple comparison test)、Opelead®群( $p=0.0482$ , Tukey–Kramer multiple comparison test)に比べて有意に高い値を示した。OVD 別に、Miyake–Apple view での染色像を比較検討した。Opegan®では AC type と Zinn type まで、Opelead®では AHM type まで、Healon®, Viscoat®では AHT type までがみられた。Healon®5 においては AHT type に加え、Rupture type が 3 眼認められた。

表 2

OVD	染色像						
	Initial IOP (mmHg)	Peak IOP (mmHg)	眼数				
			AC	Zinn	AHM	AHT	Rup
Opegan®	3.58 (1.61)	15.49 (12.42)	16	4	-	-	-
Opelead®	4.28 (1.91)	21.08 (8.90)	15	2	3	-	-
Healon®	4.24 (1.25)	40.96 (33.20)	7	9	2	2	-
Viscoat®	3.61 (1.34)	56.08 <sup>a</sup> (47.85)	10	3	3	4	-
Healon®5	4.25 (1.33)	115.33 <sup>b</sup> (64.92)	-	2	13	2	3
p value	0.3352	<0.0001					

次に、各染色像の平均 peak IOP を比較した結果を表 3 に示す。解剖学的に連續性のない Rupture type を除いて検討したところ、平均 peak IOP と染色 Gradeとの間には有意な相関があり (Spearman's rank correlation;  $r=0.706488$ ,  $p<0.0001$ ) 、先の灌流圧実験と同様に、ここでも、眼圧が上昇するほど有意に染色像の Grade は高くなるという結果が得られた。さらに、peak IOP は染色像の間で有意差が見られ ( $p<0.0001$ , ANOVA)、Rupture type は、AC type ( $p<0.0001$ ), Zinn type ( $p<0.0001$ ), AHM type ( $p<0.0001$ ), AHT type ( $p=0.0249$ ) の 4 群全てに対して、有意に高かった (Tukey-Kramer multiple comparison test)。

表 3

染色像 (type)	peak IOP ; mmHg
AC; Grade 1	21.19 (11.91, 4.03 – 50.61)
Zinn; Grade 2	29.76 (15.91, 3.81 – 57.05)
AHM; Grade 3	86.59 (60.31, 16.21 – 245.62)
AHT; Grade 4	122.47 (43.41, 75.18 – 211.48)
Rupture	189.47 (40.82, 142.42 – 215.38)

### 【考察】

白内障手術は、closed eye surgery であり、眼内圧が上昇する状況がいくつあるが、その代表的なものが、核処理時などの灌流圧の設定とハイドロダイセクションのステップである。こうした局面における眼内圧の上昇が、眼内の水晶体近傍組織、特に後房一硝子体バリアに与える影響については、臨床的な評価が困難なこともあって、詳細には検討されてこなかった。今回、Miyake-Apple view による豚眼を用いた染色実験から、AC type, Zinn type, AHM type, AHT type, Rupture type の 5 つのパターンに分類することができ、眼圧が高くなるほど、後囊および後房一硝子体バリアに多大なストレスが負荷され

ていることが確認された。さらに、使用する OVD によって hydrodissection を行う際の眼圧上昇の程度に大きな幅があることが如実に示された。白内障手術時に OVD が果たす役割には、CCC 施行時や眼内レンズ挿入時などの空間保持と術中の角膜内皮の保護作用があり、それぞれの OVD によって特性は異なっており、それぞれの特性に眼内圧上昇を考慮し手使用する必要があることが示唆された。

後囊破損が眼内炎のリスクファクターであることは知られているが、前部硝子体膜裂孔の形成も、直接的な硝子体汚染につながることから、後囊破損と同等の眼内炎発症リスクを有する可能性があると考えられる。われわれは、これが後囊破損など、明らかな術中合併症のない眼で生じる術後細菌性眼内炎の一因ではないかと類推している。今回の検討から、眼圧が上昇するにつれて、灌流液はより深部へ流入することが明らかになった。また、単純な圧負荷試験においてさえ AHM tear の形成がみられたことは、hydrodissection のみならず、ボトルの高さや核処理中や眼内レンズ挿入時などの手術中の眼圧が高まるような操作にも細心の注意を払う必要があることを示唆している。水晶体囊や後房一硝子体バリアの機能を維持するために、手術中の不必要的眼圧ストレスは避けるべきであることが示された。

本研究により、これまで不明であった白内障手術時の後房一硝子体バリアへの影響が明らかにされ、より安全な白内障手術方法への提言となった。

### 【参考文献】

- 1: Mitani A, Suzuki T, Tasaka Y, Uda T, Hiramatsu Y, Kawasaki S, Ohashi Y. Evaluation of a new method of irrigation and aspiration for removal of ophthalmic viscoelastic device during cataract surgery in a porcine model. BMC Ophthalmol. 2014 Nov 7;14:129.
- 2: Tasaka Y, Minami N, Suzuki T, Kawasaki S, Zheng X, Shiraishi A, Uno T, Miyake K, Ohashi Y. New side-view imaging technique for observing posterior chamber structures during cataract surgery in porcine eyes. BMC Ophthalmol. 2013 Sep 23;13:47.
- 3: Kawasaki S, Tasaka Y, Suzuki T, Zheng X, Shiraishi A, Uno T, Ohashi Y. Influence of elevated intraocular pressure on the posterior chamber-anterior hyaloid membrane barrier during cataract operations. Arch Ophthalmol. 2011 Jun;129(6):751-7.

4: Kawasaki S, Suzuki T, Yamaguchi M, Tasaka Y, Shiraishi A, Uno T, Sadamoto M, Minami N, Naganobu K, Ohashi Y. Disruption of the posterior chamber-anterior hyaloid membrane barrier during phacoemulsification and aspiration as revealed by contrast-enhanced magnetic resonance imaging. Arch Ophthalmol. 2009 Apr;127(4):465-70.

# ヒアルロン酸ナトリウム及びカルボキシメチルセルロース含有点眼液の薬効比較に関する研究

愛媛大学大学院医学系研究科教授 大橋 裕一  
愛媛大学大学院医学系研究科准教授 白石 敦  
愛媛大学大学院医学系研究科准教授 鄭 曉東  
愛媛大学大学院医学系研究科医員 五藤 智子  
参天製薬株式会社 堂田 敦義

## 【研究背景および目的】

ドライアイの有病率は約 5～30%とも言われており、涙液分泌の減少や安定性の低下による眼表面微小環境の破壊、角結膜の乾燥による角結膜の上皮障害をきたして、充血、異物感、流涙、視力低下など様々な症状を呈する。<sup>1, 2</sup>

現在、有効とされている治療法は、人工涙液を主体とした点眼治療であり、点眼剤の主成分としてヒアルロン酸ナトリウム (Sodium hyaluronate, SH) 、カルボキシメチルセルロース (Carboxymethylcellulose, CMC) 、ヒドロキシプロピル・メチルセルロース (Hydroxypropyl methylcellulose, HPMC) の 3 種類が含有されている。しかしながら、これまでこの三種類製剤の保水力および乾燥防止作用による角膜上皮の保護作用についての比較検討は報告されていない。本研究の目的は、SH、CMC および HPMC の保水力、乾燥における培養ヒト角膜上皮細胞 (Human cultured corneal epithelial cell, HCEC) に対する保護作用について比較検討することである。

## 【方法】

SH、CMC および HPMC それぞれの人工涙液製剤は、Milli-Q 水にて溶解して臨床で汎用される濃度である 0.1% および 0.3% に調整した。細胞保護試験には製剤を DMEM/F12 培地にて希釀して使用した。

### 実験 1 「保水力の比較実験」

0.1%および0.3%のSH、CMCおよびHP人工涙液製剤5mlを標準規格の濾紙(Filter Paper Quantitative 90 mm; diameter, 90 mm; thickness, 0.21mm; Tokyo Roshi Kaisha, Ltd, Tokyo, Japan)に滴下し、滴下直後及びその後4時間ごとに濾紙の重さを測定した。(室温25°C、湿度36%～38%)

### 実験2「細胞保護試験実験」

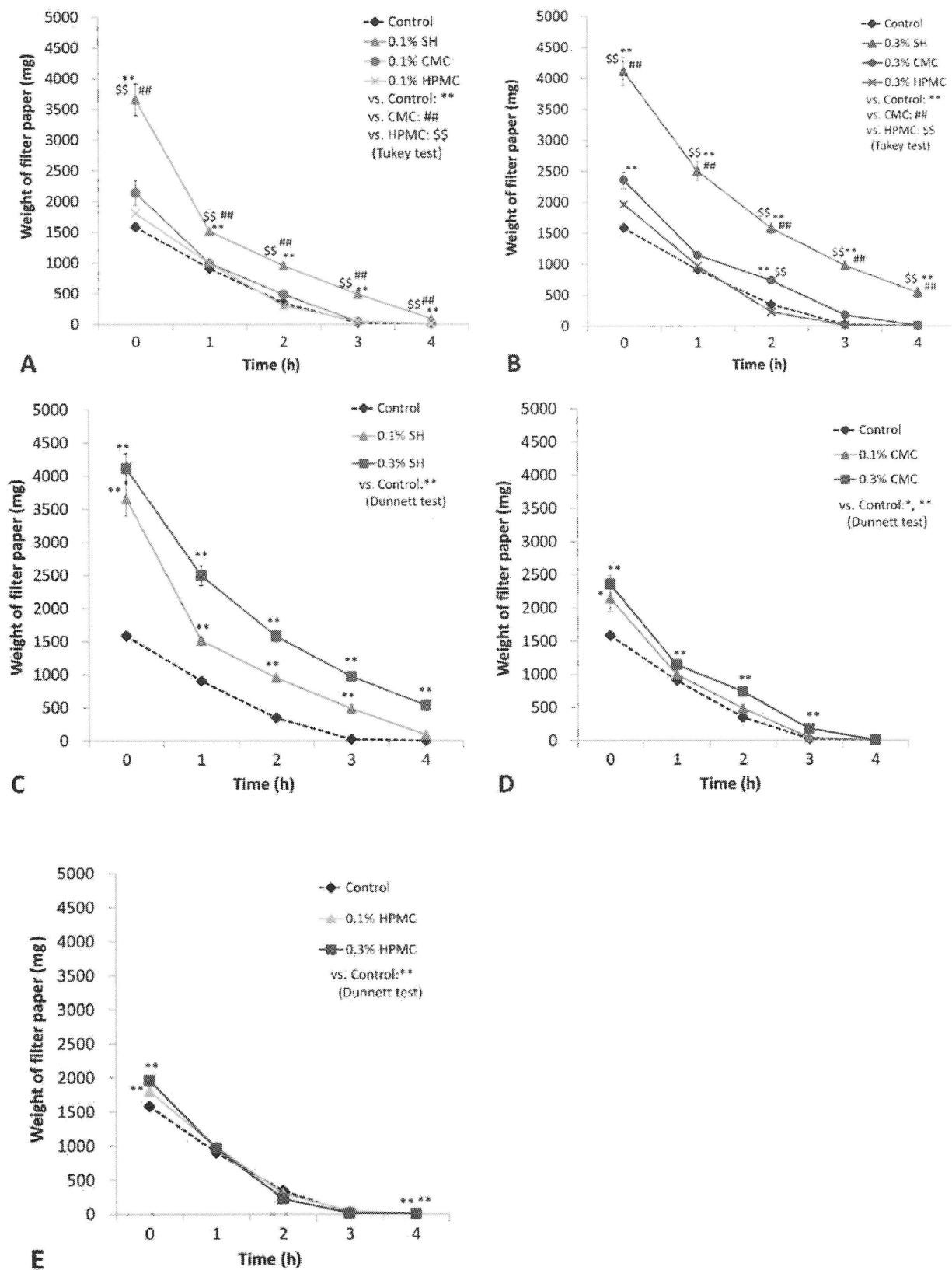
HCEC細胞を60分間、0.1%および0.3%のSH、CMCおよびHPの人工涙液と共に培養し、人工涙液を除去後、細胞を10分、20分、30分、45分および60分間室温下にて乾燥した。細胞を再度DMEM/F12培地にて培養、vital dyeにて染色(CellTiter 96 Aqueous One Solution Cell Proliferative Assay, Promega Corporation, WI)。吸光率を測定し細胞の生存率を算出した。

## 【結果】

### 1. 保水力の比較

0.1%及び0.3% SH、CMCおよびHP人工涙液を滴下直後の濾紙の重さはコントロールであるMilli-Q水滴下濾紙より有意に高かった(それぞれP=0.001、P=0.001とP=0.003; Tukey variant test)。また、SH滴下群はCMCおよびHPMC群より有意に高かった(all P<0.001; 図1A and 1B)。0.3%CMC滴下群は2時間の時点を除いて HPMC群とは有意差がなかった(図1B)。0.1%及び0.3% SH滴下群はコントロール群よりすべての観察点において有意に高く、また濃度依存性(dose-dependent)を示した(図1C)。この濃度依存性はCMC群(図1D)の0～3時間およびHPMC群の0時間において認められた(1E)。

図 1

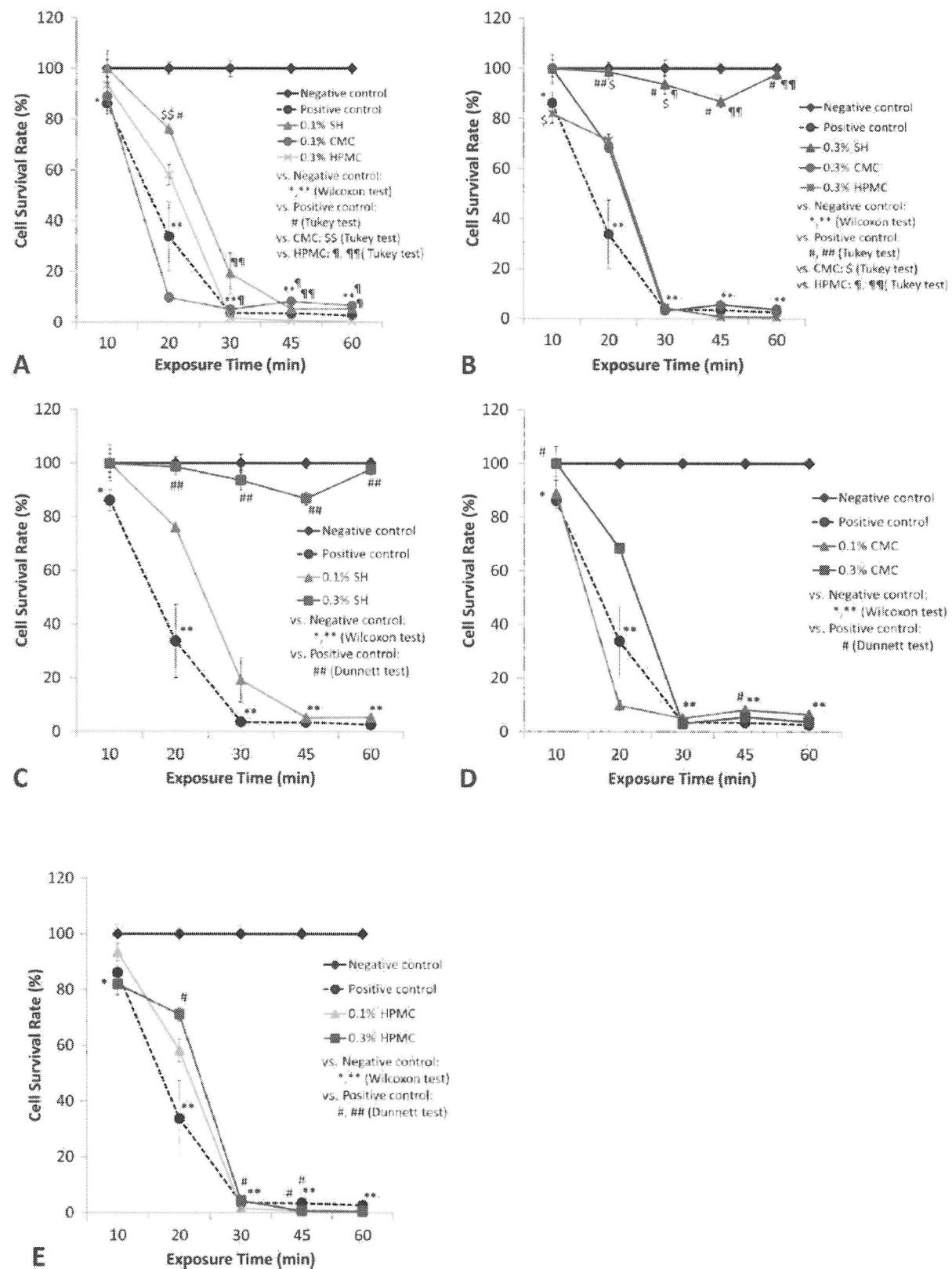


## 2. 乾燥防止による HCEC 細胞の保護作用の比較

HCEC 細胞を 0.1% 及び 0.3% SH、CMC および HP 工涙液にて 1 時間共培養後、乾燥させ一定時間後細胞の生存率を測定した。乾燥させない Negative control 群の細胞生存率は 100% であった(図 2)。DMEM/F12 培地で前処理群(Positive control)の 10、20、30、45 と 60 分における細胞生存率は、それぞれ 86.1%、33.7%、3.6%、3.4%、2.6% であった。0.1%SH で前処理した細胞生存率はそれぞれ 100%、76.1%、19.2%、5.2%、5.3% であった。乾燥 20 分後における 0.1%SH 群の細胞生存率は 0.1%CMC 群より有意に高く、乾燥 30、45 および 60 分後における 0.1%SH 群の生存率は 0.1%HPMC 群より有意に高かった(図 2A)。

0.3%SH 群の乾燥 20、30、45 および 60 分後の細胞生存率は 0.3%CMC 群および 0.3%HPMC 群より有意に高かった(図 2B)。乾燥 30、45 および 60 分後、0.1%CMC 前処理細胞の生存率は 0.1%HPMC より高かったが、図 2A) 0.3%濃度においては、両群間に有意差がなかった(図 2B)。0.3%SH の細胞保護作用は 0.1%SH よりも有意に高く、濃度依存性を呈していた(図 2C)。これに対して、CMC および HPMC 群は positive control との有意差を認めず、乾燥 20 分の時点を除いて両群とも濃度依存効果は見られなかった(図 2D, 2E)。

図 2



## 【考察】

SH、CMC と HPMC は、現在ドライアイ治療に用いられる人工涙液の主成分である。CMC は高粘度ポリマーであり、眼表面においては人工涙液の接触時間を延長し涙液排出を遅らせる効果を持ち 60 年にわたって臨床で用いられてきた。CMC は陰イオンにより涙液保持時間を増やすことができると考えられており、粘稠度は分子量に依存する。SH の陰イオンはグリコサミノグリカン二糖類鎖高分子で、線状連鎖を繰り返し交替されている N-アセチルグルコサミンとグルクロロン酸から構成されている。SH は自重量の 1000 倍の水分を保持することができ、強い耐乾燥、耐脱水能力を保有する。HPMC は、ポリマーの主成分であり、CMC より粘性はなく優れた結合力を有する。

ドライアイ症例に対する人工涙液処方には基準は存在せず、医師の経験によりなされているのが現状である。今回我々は SH、CMC、HPMC の保水性、乾燥条件における HCEC 細胞の保護作用について培養実験を行い検討した。

本検討により 0.1% および 0.3% SH に浸した濾紙の重量は、すべての観察時点において CMC、HPMC 群より有意に大きかった。この結果は SH の保水力が水分の蒸発を防いだと考えられる。この結論は中村らが報告した SH 水溶液もしくは寒天上に滴下した SH が高い保水能を有するという結果と一致した。<sup>3</sup>

SH は高分子量天然グリコサミノグリカンであり、優れた保水力はスポンジのような多糖類鎖の特殊構造によるものと考えられている。<sup>4</sup> この特徴は涙液膜を安定し眼表面の湿潤性を保つ効果がある。<sup>5</sup> Snibson らが報告したように、SH の眼表面滞在時間は HPMC より有意に長く、水分を保持するだけでなく徐放効果もあると推察される。<sup>6</sup>

続いて、乾燥にたいする3種類の人工涙液のHCEC細胞保護作用を検討した。ほぼすべての観察点においてSH前処理細胞の生存率はCMCおよびHPMC群より有意に高かく、SHの細胞保護効果は濃度依存性を示していた。この結果はSH含有人工涙液が角膜上皮の早期修復、恒常性維持の向上に有効であったという過去の報告に一致する。<sup>7,8</sup>

SH含有人工涙液の優れた治療効果はSHの強い保水力および耐乾燥力のほか、ドライアイにおいて高発現する炎症性サイトカインCD44を抑制効果にも関与する可能性が臨床症例において考えられている。<sup>7</sup>また、SHによる角膜上皮細胞の遊走および伸展効果も報告されており、SHには角膜上皮細胞の保護、再生を促進する効果があると考える。<sup>9, 10</sup>

本研究より、SHはCMC、HPMCより優れた保水力、乾燥にたいするHCEC細胞の保護作用を有することが示唆された。しかしながら、最適な人工涙液としては主成分ほか、製剤の濃度、分子量、浸透圧、防腐剤の種類およびイオン成分も考慮する必要がある。また、生体においては、瞬目の影響およびそれによる涙液の蒸発など様々な因子の検討が必要であり、今後は、人または実験動物による検証が必要である。

## 【参考文献】

1. The epidemiology of dry eye disease: report of the Epidemiology Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). *Ocul Surf.* 2007;5:93–107.
2. The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). *Ocul Surf.* 2007;5:75–92.
3. Nakamura M, Hikida M, Nakano T, et al. Characterization of water retentive properties of hyaluronan. *Cornea.* 1993;12:433–436.
4. Balaza EA, Band P. Hyaluronic acid: its structure and use. *Cosmetics & Toiletries.* 1984;99:65–72.
5. Holly FJ. Artificial tear formulations. *Int Ophthalmol Clin.* 1980;20: 171–184.
6. Snibson GR, Greaves JL, Soper ND, et al. Ocular surface residence times of artificial tear solutions. *Cornea.* 1992;11:288–293.
7. Brignole F, Pisella PJ, Dupas B, et al. Efficacy and safety of 0.18% sodium hyaluronate in patients with moderate dry eye syndrome and superficial keratitis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2005;243: 531–538.
8. Hirai S, Kawahara M, Sakamoto K, et al. Effects of various lubricants on corneal surface regularity in rabbits. *J Ocul Pharmacol Ther.* 2005;21: 376–381.
9. Gomes JA, Amankwah R, Powell-Richards A, et al. Sodium hyaluronate (hyaluronic acid) promotes migration of human corneal epithelial cells in vitro. *Br J Ophthalmol.* 2004;88:821–825.
10. Nakamura M, Hikida M, Nakano T. Concentration and molecular weight dependency of rabbit corneal epithelial wound healing on hyaluronan. *Curr Eye Res.* 1992;11:981–986.

# 放射線誘発口内炎に対する プロスタグランジン類の薬効評価

愛媛大学医学部附属病院教授

荒木博陽

愛媛大学医学部附属病院薬剤部

渡邊真一

小野薬品工業株式会社研究本部創薬研究部

中西美樹

## 【背景および目的】

現在、新たな抗がん剤や放射線療法が組み込まれた新規プロトコールの開発が進められているが、薬の副作用に対する治療法の開発は、病気本来の治療法の開発に比べて遅れているのが現状である。口腔粘膜炎（口内炎）はがん化学療法を受ける患者の約30～40%、頭部または頸部の放射線治療を受ける患者の殆どに発症する。がん治療を受けている患者に口内炎が発症した場合には、患者に多大な自覚的苦痛をもたらすだけでなく、疼痛による食事摂取量の減少やコミュニケーション機能の低下が誘発され、患者のQOLを著しく低下させる因子となっている。しかし、現在、がん治療時の口内炎に対して有効な治療薬剤がなく、局所麻酔薬や鎮痛薬による対症療法が行なわれているのが現状であり、良質ながん療法を遂行するためには口内炎への副作用対策、すなわち口内炎の治療法の開発が必須となっている。海外ではケラチノサイト増殖因子であるパリフェルミンが承認されているが、適応は造血幹細胞移植における強化化学療法/放射線療法時のみであり、国内においては承認されていない。また、1回の治療で5,000ドル以上かかるため非常に高価である。口腔粘膜炎の未充足ニーズは、罹病率でも医療コストでも大きいものの、この病態には海外においても1剤しか承認されていない（国内未承認）。また、がんの発症件数は高齢化の進展により今後も増加することが予測されている。近年、放射線治療の適応が増加していることもあり、今後も罹患者数の増加が見込まれる。本邦における放射線治療患者は年間20万人に上るとされており、粒子線治療も含め放射線治療のニーズは今後も高まると予想されるが、副作用対策における有効な薬剤がなく、その開発が待ち望まれている。我々はこれまでに、ハムスターおよびマウスを用いた口内炎モデルの確立を行っており、今回はハムスターを用いた放射線誘発口内炎に対するプロスタグランジン(PG)類の評価を行った。

## 【方法】

### 1. 放射線誘発口内炎に対するPGE2の評価

実験には雄性シリアンハムスター6週齢を用い、チークポーチに放射線40Gyを単回照射することで口内炎モデルを作製した。放射線照射にはHITACHI MBR-1520R-3を使用した。放射線照射後当日よりVehicle(3% ヒドロキシプロピルセルロース：HPC)およびPGE2(1mg/mL)を200μL/site連

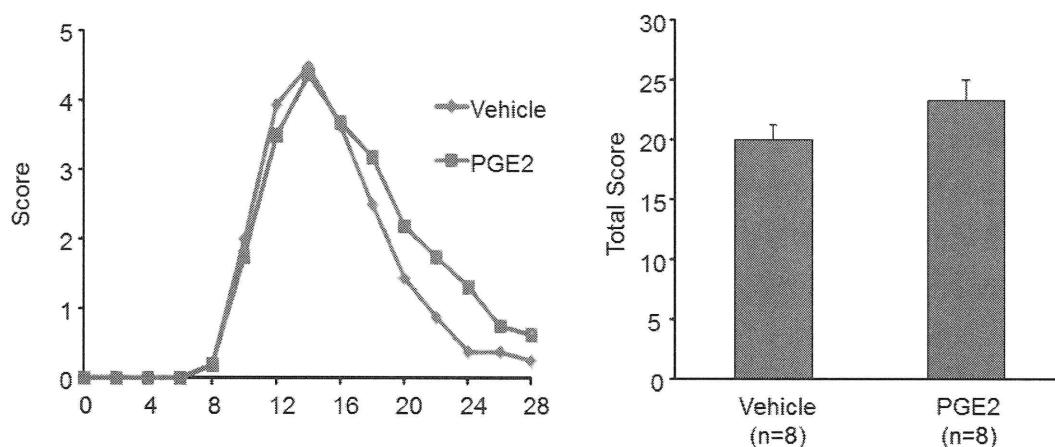
日反復投与した。口内炎は下記の6段階(スコア0-5)に分類して肉眼的に評価した。

#### スコアリング

0. 正常
1. 紅斑や充血がみられ、軽度の表皮剥離がある。膿や潰瘍の形成はない。
2. 高度の紅斑や充血がみられ、中程度の表皮剥離がある。膿や潰瘍の形成はない。
3. 高度の紅斑や充血がみられ、表皮剥離から潰瘍形成。わずかに出血や膿が認められる場合もある。
4. 膿を伴う潰瘍がチークポーチの50%未満に認められる。
5. 膿を伴う潰瘍がチークポーチの50%以上に認められる。萎縮あるいは癒着するケースもある。

#### 【結果】

PGE2投与群とControl群で口内炎スコアの経日的変化および総和に有意差はみられなかった(図1)。



Effect of PGE2 on radiation-induced oral mucositis in hamsters. PGE2 or vehicle (3% Hydroxypropyl cellulose) were administered in a cheek pouch once a day after irradiation. The hamster cheek pouch was irradiated with 40 Gy on day 0. Data represents the mean value.

図1 PGE2投与が口内炎スコアに及ぼす影響

継時的変化および観察期間中の総面積を示す。

## 2. 放射線誘発口内炎に対する PGF2 $\alpha$ の評価

口内炎はチークポーチへ放射線(30Gy)を単回照射することで作製した。

Vehicle(3% HPC)および PGF2 $\alpha$ (1 mg/mL)は 200  $\mu$ L/site を連日反復投与した。

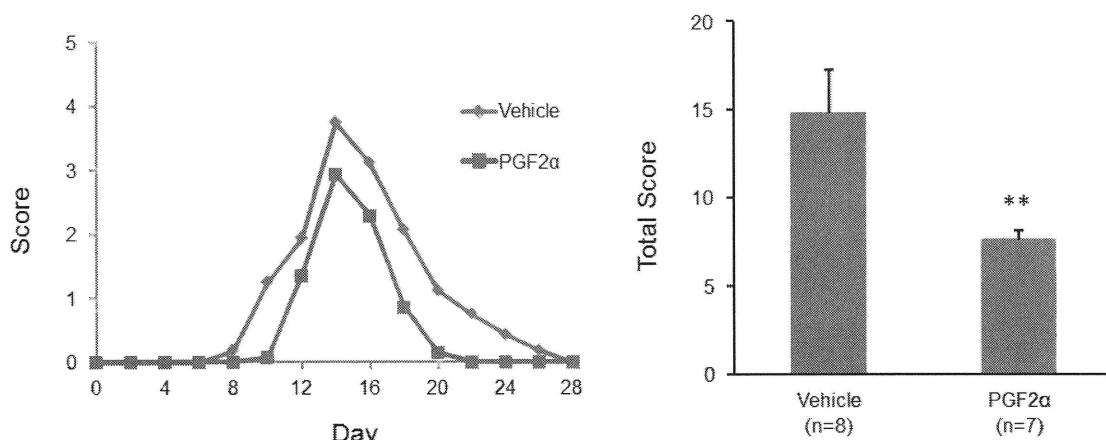
口内炎の評価は 1.の PGE2 の方法に準じる。また、好中球ミエロペルオキシダーゼ (MPO) 活性の測定および組織学的評価 (H&E 染色) は照射後 14 日目に行った。統計学的処理は Student's t-test により行い、有意水準は  $P<0.05$  とした。

### 【結果】

放射線 30Gy 照射当日より PGF2 $\alpha$  をチークポーチ内へ連日反復投与することで口内炎スコアの軽減を認めた。総面積においても Vehicle 群と比べて有意に ( $P<0.01$ ) 口内炎軽減作用を認めた(図 2)。肉眼的所見において PGF2 $\alpha$  群は Day10 では明らかな口内炎所見を示さず、Day14 においては口内炎が認められたものの Vehicle 群に比べて軽度であった。また、Day18 においては多くの個体で口内炎の治癒が確認された(図 3)。

炎症の指標の一つである好中球 MPO を検討した結果、Day14 のサンプリング時の口内炎スコアは PGF2 $\alpha$  群と Vehicle 群間に有意差はなかったものの、PGF2 $\alpha$  群は Vehicle 群に比べて有意に ( $P<0.01$ ) MPO 活性が減少した(図 4)。

組織学的所見では、PGF2 $\alpha$  群は Vehicle 群に比べて粘膜上皮の再生を示す所見が多くみられ、組織の委縮や線維化も軽度であった(図 5)。



Effect of PGF2 $\alpha$  on radiation-induced oral mucositis in hamsters. PGF2 $\alpha$  or vehicle (3%HPC-H) were administered in a cheek pouch once a day after irradiation. The hamster cheek pouch was irradiated with 30 Gy on day 0. Data represents the mean value. \*\* $P<0.01$ , significantly different from the Vehicle value (Student's t-test).

図 2 PGF2 $\alpha$  投与が口内炎スコアに及ぼす影響

継時的变化および観察期間中の総面積を示す。

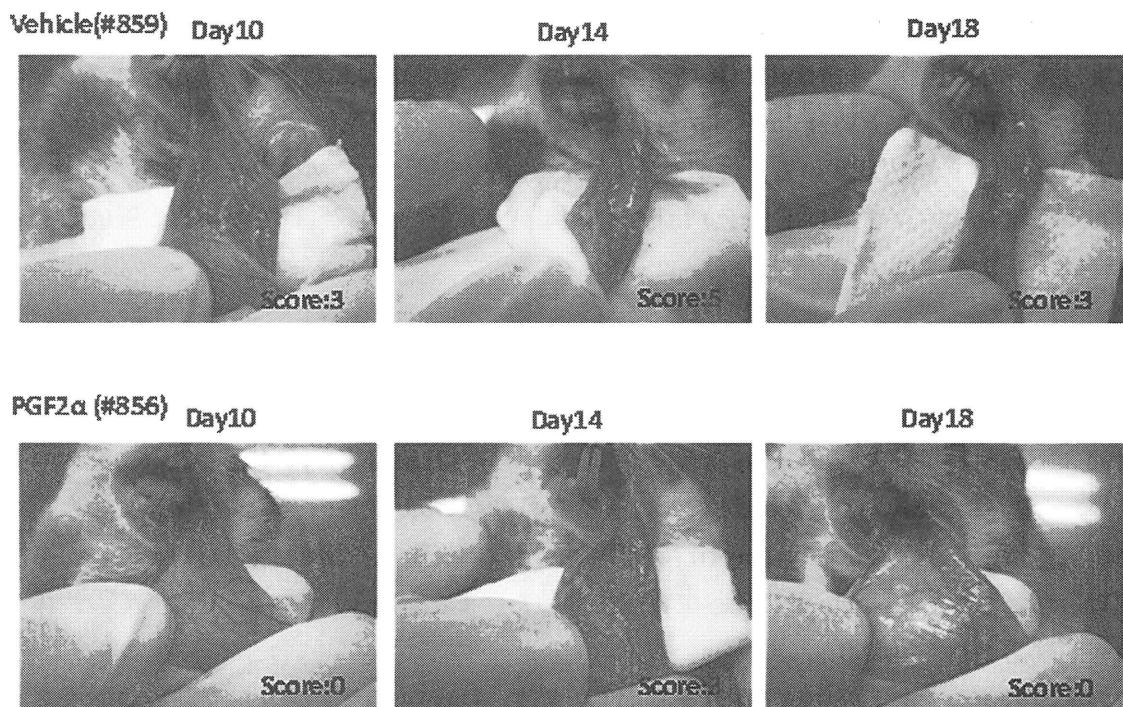
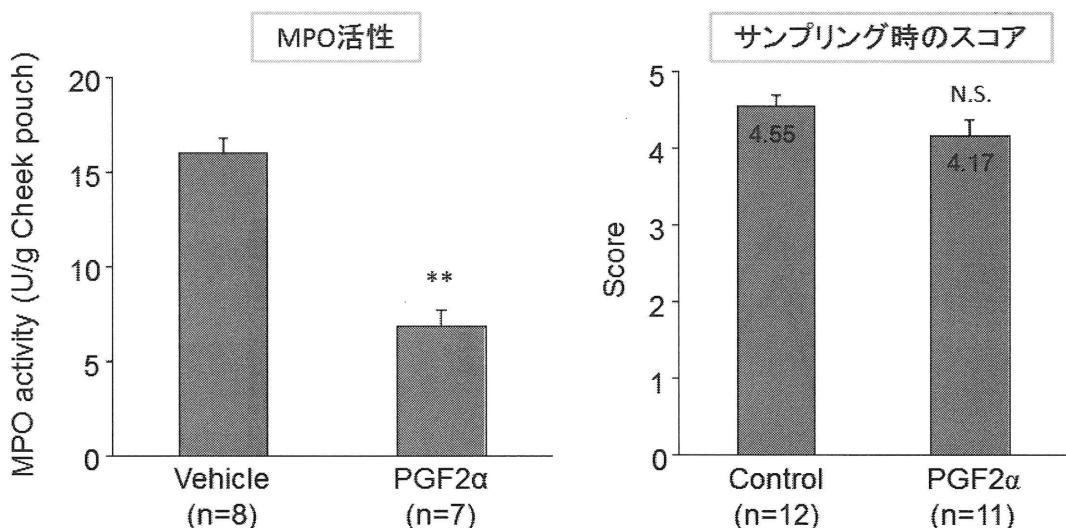


図3. 肉眼的所見の経時的変化

Day10, 14, 18における経時的変化を示す。



Effect of PGF2 $\alpha$  on radiation-induced oral mucositis in hamsters. PGF2 $\alpha$  or vehicle (3%HPC-H) were administered in a cheek pouch once a day after irradiation. The hamster cheek pouch was irradiated with 30 Gy on day 0. Cheek pouches were removed on day 14.

Data represents the mean  $\pm$  S.E.M. \*\* $P < 0.01$ , significantly different from the Vehicle value (Student's t-test).

図4. PGF2 $\alpha$ 投与がMPO活性に及ぼす影響  
Day14におけるMPO活性およびスコアを示す。

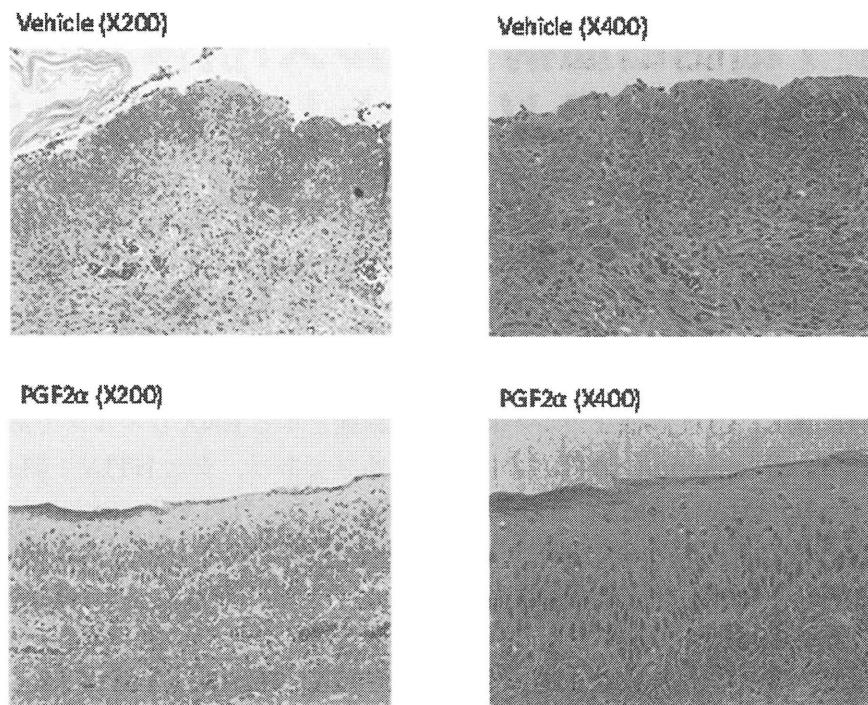


図 5. Day14 における組織学的所見 (H&E 染色)

### 【総括】

本研究により、PGF2 $\alpha$  の局所投与は放射線誘発口内炎軽減作用を有することが示唆された。しかしながら、その作用機序については明らかとなっておらず、今後検討を進めて行く必要があると思われる。

### 参考文献

1. Sonis ST. Mucositis as a biological process: a new hypothesis for the development of chemotherapy-induced stomatotoxicity. *Oral Oncol.* 1998;34:39–43.
2. Scully C, Sonis S, Diz PD. Oral mucositis. *Oral Dis.* 2006;12:229-41.
3. Watanabe S, Suemaru K, Nakanishi M, Nakajima N, Tanaka M, Tanaka A, Araki H. O Assessment of the hamster cheek pouch as a model for radiation-induced oral mucositis, and evaluation of the protective effects of keratinocyte growth factor using this model. *Int J Radiat Biol.* 2014; 90:884-91.
4. Rubenstein EB, Peterson DE, Schubert M, Keefe D, McGuire D, Epstein J, et al. Mucositis study section of the multinational association for supportive care in cancer; International Society for Oral Oncology. Clinical practice guidelines for the prevention and treatment of cancer therapy-induced oral and gastrointestinal mucositis. *Cancer.* 2004;100:2026-46.

# ヒトT細胞白血病ウイルスI抗体測定試薬 「HISCL HTLV-I Ab」の基礎的検討

愛媛大学医学部附属病院診療支援部部長 西 宮 達 也

【はじめに】ヒトT細胞白血病ウイルス Human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-I) は、レトロウイルス科に属し、CD4陽性Tリンパ球を宿主細胞とするRNAウイルスである。成人T細胞性白血病 Adult T-cell leukemia (ATL) の原因ウイルスであり、またHTLV-1関連脊髄症 HTLV-I associated myelopathy (HAM) や HTLV-1関連ぶどう膜炎 HTLV-I associated uveitis (HU)などの疾患を引き起こす。主な感染経路は母子感染（垂直感染）、性感染（水平感染）、輸血感染であり、特に母乳を介した感染が主な感染経路と考えられている。したがってHTLV-I抗体を測定し感染の有無を知ることは極めて重要であり、2011年度より妊婦検診にも導入されている<sup>1~3)</sup>。

今回、我々はヒトT細胞白血病ウイルスI抗体測定試薬「HISCL HTLV-I Ab」について基礎的検討を行ったので報告する。

## I. 対象および方法

### 1. 対象

検討対象は当院検査部にHTLV-I抗体の測定依頼のあった血清140例を用いた。

### 2. 方法

#### 1) 検討方法

機器：HISCL-5000、試薬：HISCL・HTLV-I Ab（化学発光酵素免疫法 CLEIA：シスマックス株式会社）

#### 2) 対照方法

①機器：ARCHITECT i1000、試薬：アーキテクト・HTLV（化学発光免疫測定法 CLIA：アボットジャパン株式会社）

②機器：ルミパルス G1200、試薬：ルミパルス・HTLV-I（CLEIA：富士レビオ株式会社）

③試薬：セロディア HTLV-I（PA法：富士レビオ株式会社）

4種の試薬の特徴は表1に示したとおりである。

表1 測定試薬の特徴

検討法	対照法			
	HISCL・ HTLV-I Ab	アーキテクト・ HTLV	ルミパルス・ HTLV-I	セロディア HTLV-I
測定原理	CLEIA	CLIA	CLEIA	PA
固相抗原	合成ペプチド	合成ペプチドおよび リコンビナント抗原	不活化処理 HTLV-I抗原	不活化処理 HTLV-I抗原
反応領域	HTLV-I p19 HTLV-gp46	HTLV-I / II gp46 HTLV-II gp21	—	—
検出TYPE	HTLV-Iのみ	HTLV-I / II	HTLV-Iのみ	HTLV-Iのみ
反応時間	17分	36分	35分	120分

## II. 成績

### 1. 精密度

同時再現性をみるため陰性および陽性コントロールを同時に 10 回測定した結果, CV は 0.0%, 2.78% と良好であった (表 2-1)。また日差再現性をみるため陰性および陽性コントロールを 10 日間測定した結果, CV 0.0%, 1.95% と良好であった (表 2-2)。

表2-1 同時再現性 n=10

	NEG	POS
MEAN(C.O.I.)	0.00	3.72
SD(C.O.I.)	0.00	0.10
CV(%)	0.00	2.78

表2-2 日差再現性 n=10

	NEG	POS
MEAN(C.O.I.)	0.00	3.47
SD(C.O.I.)	0.00	0.07
CV(%)	0.00	1.95

### 2. 共存物質の影響

共存物質の影響をみるために干渉チェック A プラスおよび RF プラス (シスメックス社) を用いて調べた結果、ビリルビン F 19.1mg/dL, ビリルビン C 21.9mg/dL, 溶血ヘモグロビン 504mg/dL, 乳び 1620FTU, RF 550 IU/mL まで影響は認められなかった (図 1)。

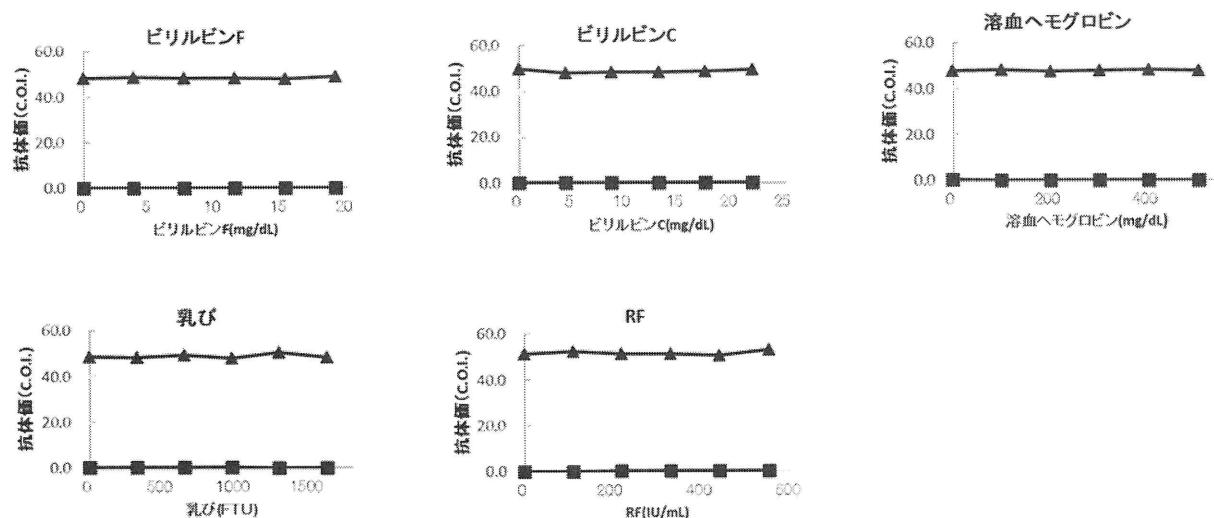


図1 共存物質の影響

### 3. 患者検体による影響

患者検体による影響をみるために HTLV- I 抗体が PA 法にて陰性であった RF 陽性 10 例, 抗核抗体陽性 10 例, および高γグロブリン血症 20 例を測定した結果, 全例陰性であった (表 3)。

表3 患者検体の影響

患者検体の種類	n	結果	抗体価(C.O.I.)
RF陽性 (235~3000IU/mL)	10	全て陰性	0.0~0.1
抗核抗体陽性 (2560~10240倍)	10	全て陰性	0.0~0.2
高γグロブリン血症 (M蛋白)	10	全て陰性	0.0~0.1
高γグロブリン血症 (ポリクローナル)	10	全て陰性	0.0~0.1

#### 4. 他法との相関性

HTLV- I 抗体が PA 法で陰性 50 例, 陽性 50 例の計 100 例について本法と対照法 3 法について比較した結果, 陰性, 陽性ともに全例一致した (表 4)。

表4 相関性

		HISCL・HTLV- I Ab (CLEIA)		
		陽性	陰性	合計
アーキテクト・ HTLV (CLIA)	陽性	50	0	50
	陰性	0	50	50
	合計	50	50	100

		HISCL・HTLV- I Ab (CLEIA)		
		陽性	陰性	合計
ルミパルス・ HTLV- I (CLEIA)	陽性	50	0	50
	陰性	0	50	50
	合計	50	50	100

		HISCL・HTLV- I Ab (CLEIA)		
		陽性	陰性	合計
セロディア・ HTLV- I (PA)	陽性	50	0	50
	陰性	0	50	50
	合計	50	50	100

#### III. 考察

HISCL・HTLV- I Ab の基礎的検討を行った結果, ほぼ良好な成績が得られた。精密度は, 同時再現性が 2.78%以下, 日差再現性が 1.95%以下となり, いずれも良好であった。共存物質の影響については, ビリルビン F19.1mg/dL, ビリルビン C21.9mg/dL, 溶血ヘモグロビン 504mg/dL, 乳び 1620FTU, リウマチ因子 550IU/mL まで影響がみられなかった。患者検体の影響をみるため, PA 法にて HTLV- I 抗体が陰性であったリウマチ因子陽性, 抗核抗体陽性, 高  $\gamma$  グロブリン血症例について本法で測定した結果, 全例陰性となり偽陽性はみられず, 検体成分による非特異的な反応は少ないものと推測された。他法との相関性は, アーキテクト・HTLV (CLIA), ルミパルス・HTLV- I (CLEIA), セロディア・HTLV- I (PA) の 3 法と比較した結果, 陰性 50 例, 陽性 50 例において 4 法とも全例一致した結果が得られ, 既存法と良好な相関性が認められた。

**【まとめ】**HISCL・HTLV- I Ab の基礎的検討を行った結果, ほぼ良好な成績が得られ, 既存法との相関性は良好であった。また, 本法は測定時間が約 17 分と短時間で結果が得られることより, HTLV- I 抗体スクリーニングの臨床検査として有用であると思われた。

#### 文 献

- 厚生労働省 : HTLV- I 母子感染予防対策保健指導マニュアル (改訂版) , 2011
- 森内正子, 森内裕幸 : HIV 感染と HTLV 感染—2 つのレトロウイルス母子感染の比較—, 臨床と微生物 38(6):667-673,2011
- 内丸 薫 : 成人 T 細胞白血病 (ATL), 検査と技術 42(13):1370-1375,2014

# バイオエタノール廃液及び残渣の柑橘類、 畑作物等への栽培利用に関する基礎研究

愛媛大学農学部教授

上野秀人

愛媛大学農学部助教

当真要

新日鉄住金エンジニアリング株式会社

加藤也寸彦

## 1. 研究背景

愛媛県のミカンジュース工場では、柑橘類の搾汁残渣が大量に排出されるが、糖分が残存していることからエタノール発酵させることによりバイオエタノールを製造し、未利用資源リサイクルの取り組みが行われている。しかし本工程においても最終的に蒸留廃液が排出されることになり、廃液処理に多額のコストが必要になっている。本廃液は有機物と硝酸を多量に含み、植物にとって比較的養分バランスに優れることから、液体肥料として農業でリサイクル利用する可能性が示唆された。

これまでの研究により、トウモロコシのポット栽培で蒸留廃液を施用したところ、液肥として利用が可能であることが明らかになった。しかし化学肥料に比べて効率が劣るため、施用量を増加させる必要があるが、過剰施用の場合は栽培後土壤に硝酸態窒素が残存することも判明し、施肥量の調整が課題となった。

## 2. 研究目的

本研究では、実際の農地に近い状況で、圃場実証試験を行い、トウモロコシ栽培に蒸留廃液を液肥として用い生育及び収量の評価を行うとともに、施肥回数を増加させることによる窒素利用効率の改善と土壤中の硝酸態窒素含量の残存の低減を試みることとした。

## 3. 材料および方法

愛媛大学農学部附属農場の園芸畑試験地において、トウモロコシ(*Zea mays*、品種：キャンベラ90)を栽培した。無施肥区、化学肥料区(化肥区)、液肥標準区、液肥1.7倍区、液肥1.7倍区(施肥回数2倍)(以後、施肥回数2倍区とする)の5処理区をそれぞれ6反復で設けた。一区画の面積は4m<sup>2</sup>(1m×4m)であり、株間30cm、条間40cmの二条植え(6.5株/m<sup>2</sup>)で5月18日に播種した。化肥区の基肥施用は播種日の2日前に行い、液肥区では播種日から20日後に施肥した。化肥区、液肥標準区、液肥1.7倍区の追肥は、それぞれ播種後36日と58日の2回行い、施肥回数2倍区は追肥を播種後29、36、47、58、65日の5回行った。窒素施用量の合計は、化肥区と液肥区で30gN/m<sup>2</sup>、液肥1.7倍区と施肥回数2倍区は51gN/m<sup>2</sup>とした。

栽培期間中、トウモロコシの生育(草丈、葉数、葉色値)および収量と、土壤(深さ0-30cm)のpH、EC、アンモニア態窒素含量、硝酸態窒素含量を調査した。

収穫後には、各処理区の収量、生鮮重、乾物重、品質、窒素吸収量と窒素利用効率、養分吸収量等を求め、施肥量および回数の違いを比較した。

## 4. 結果と考察

トウモロコシの草丈は、播種後44日以降、化肥区が最も高く推移したが(図1)、葉数は各処理区で同様に推移した。葉色値も全体を通して化肥区が高かったが、収穫前日では施肥回数2倍区が最も高い値を示した。これは化肥区の土壤中の無機態窒素が基肥直後と、栽培後に他の処理区よりも高かったためであると考えられる。液肥施用区の可食部乾物収量は、有意差は無かったが化肥区と同等あるいはそれ以上であった。

液肥1.7倍区では植物体乾燥重や糖度が化肥区と同等であり、施肥回数2倍ではさらに高い値を

示した（表1）。トウモロコシによる窒素吸収量は施肥回数2倍区で化肥区と同等であり、液肥1.7倍区よりも高い値を示した（図2）。トウモロコシ地上部の窒素利用効率は化肥区、液肥標準区、液肥1.7倍区、施肥回数2倍区でそれぞれ31.4、25.1、18.3、19.5であり、液肥の施用は化肥より地上部の窒素利用効率は低下するが、分肥することで改善した。

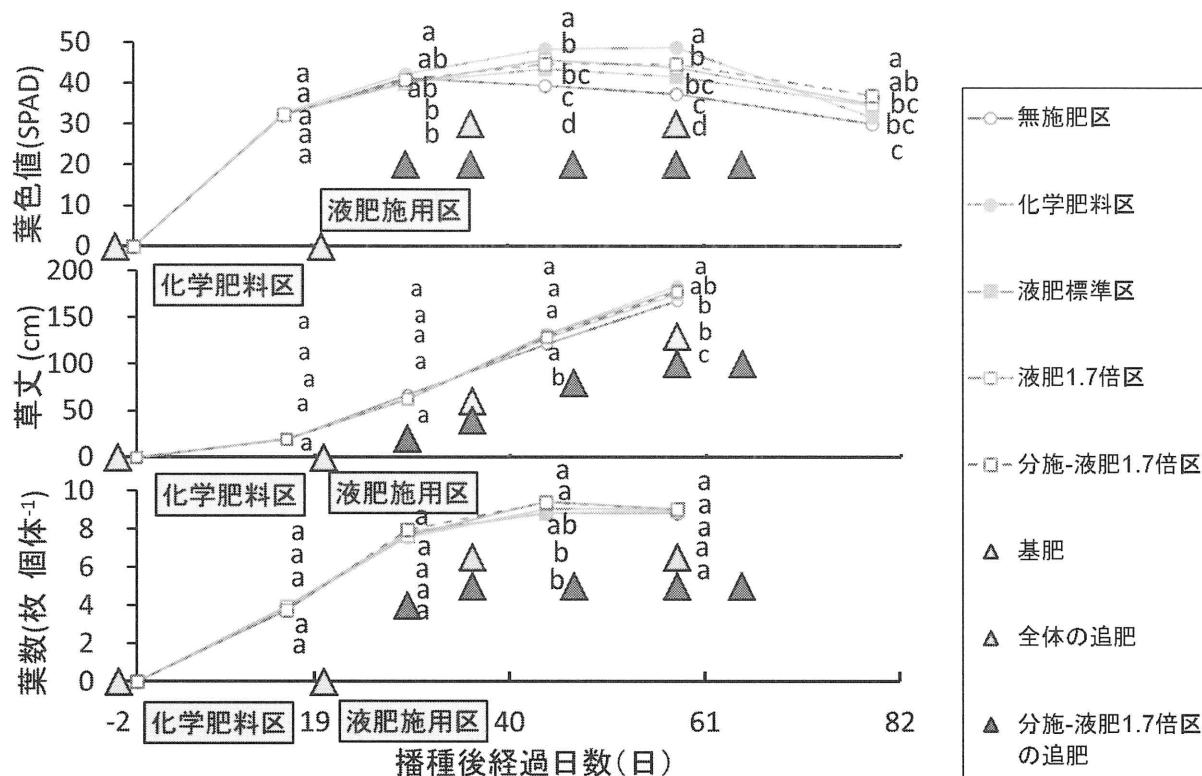


図1 葉色値、草丈、葉数の推移

値は平均値±標準誤差。異符号間に有意差あり( $p<0.05$ )。

第1表 各処理区における収量および品質

	茎葉+穂 乾燥重 (g/個体)	可食部 乾燥重 (g/個体)	可食部 新鮮重 (g/個体)	可食部 縦径 (cm)	可食部 横径 (mm)	糖度 (Brix%)
無施肥区	104.0±26.9 ab	38.3±10.7 a	125.7±15.1 ab	16.3±1.07 a	39.7±1.2 a	11.8±0.46 b
化肥区	105.7±34.2 ab	39.1±9.45 a	116.5±5.54 b	16.6±0.48 a	39.1±0.90 a	13.2±0.84 ab
液肥標準区	77.08±20.8 b	38.8±13.5 a	137.6±11.4 a	16.9±0.68 a	40.9±1.0 a	12.2±1.7 ab
液肥1.7倍区	101.4±40.9 ab	41.9±12.7 a	136.7±11.2 a	16.9±0.39 a	40.9±1.3 a	12.3±0.95 ab
液肥1.7倍区 (施肥回数2倍)	111.1±40.9 a	42.0±13.6 a	133.5±18.5 a	16.9±0.90 a	40.7±1.5 a	13.6±0.83 a

値は平均値±標準偏差を示す。異符号間に有意差あり。

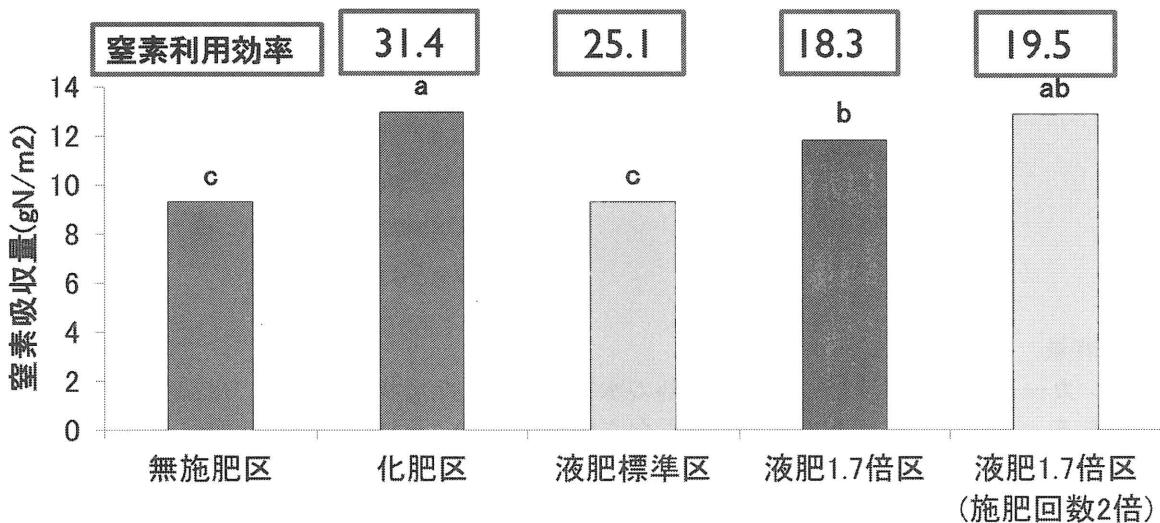


図2 トウモロコシの窒素吸収量の比較

数値は窒素利用率（施肥窒素量を100とする）を示す。異符号間には5%水準で有意差あり。

### 5.まとめ

蒸留廃液は化学肥料よりもトウモロコシ生育は劣ったが、収量は増加傾向にあり土壤中のpH緩衝能やCEC増大の効果も認められたため、圃場においても蒸留廃液の利用は可能であり、地力の維持、向上にも期待できることが考えられた。

蒸留廃液の分施によってトウモロコシ地上部の窒素利用率は改善されたが、化学肥料区と比較すると依然低くかった。また深さ30cmまでの土壤無機態窒素含量に違いは見られず、硝酸態窒素の残留は低いと考えられた。

以上のことから、本蒸留廃液は液体肥料としての有用性が高く、資源の有効利用が可能であることが明らかになった。

# クリンカーの農業技術利用の開発

愛媛大学農学部教授 上野秀人  
愛媛大学農学部助教 当真要  
西日本碎石株式会社 岡寛

## 1. 研究背景

クリンカーとは石炭燃焼後のボイラ底部の水槽に落下した塊状石炭灰を、破碎して粒度調整したものである。クリンカーは埋め立て処分もなされているが、再利用率は近年高まっている。その再利用分野はセメント原料などが約6割を占めており、農林水産業分野への利用は1%にも満たないのが現状である。しかし、クリンカーには無機養分やケイ酸などが含まれており、作物栽培において好影響を及ぼすことが期待される。

## 2. 研究目的

本研究では水稻育苗および水田土壤にクリンカーを施用し、クリンカーが水稻苗の生育・品質、水稻の生育、収量、玄米の外観品質、土壤特性に与える影響について検討した。

## 3. 材料および方法

### 実験1：水稻育苗試験

愛媛大学農学部附属農場において、1箱(縦60cm×横30cm)に育苗培土(N:P:K=0.7:0.7:0.7g/箱)4kg充填し、ヒノヒカリ(*Oryza sativa* L.cv.Hinohikari)を苗箱あたり種粉150gを播種し、育苗した。処理区はクリンカー無施用区(対照区)、クリンカー施用区(10%、20%、30%混合区(w/w))の合計4処理区とした。定期的に苗丈を調査し、播種後41日目にサンプリングして地上部・地下部乾物重、充実度、ケイ酸含有率などを測定した。

### 実験2：水稻ポット試験

愛媛大学農学部網室において1/5000aワグネルポットに乾土5.0kg充填し、ヒノヒカリ(*Oryza sativa* L.cv.Hinohikari)を3株ずつ栽培した。処理区はクリンカー無施用区(対照区)、ケイ酸カルシウム肥料施用区(ケイカル区)、育苗のみにクリンカーを施用したクリンカー苗施用区(苗施用区)、クリンカー施用区(5%、20%、30%混合区)の計6処理区、各5反復を設けた。すべての処理区に化学肥料を基肥施用し、定植28日、56日後に追肥を行った。定期的に生育を調査し、収穫後に収量、品質、茎葉ケイ酸含量、全窒素含量を測定した。また収穫後土壤のアンモニウム態窒素量、pH、ECを測定した。

## 4. 結果と考察

### 実験1

クリンカー施用区の草丈・SPAD値は、対照区と比べて高い傾向がみられた(図1)。また、地上・地下部乾物重、充実度、ケイ酸含量においても増加傾向がみられた(図2)。20%区のSPAD値と地上部乾物重も無施用区と比べて有意に高かった。以上より育苗培土にクリンカーを混合施用すると生育促進・苗質向上効果が期待できると考えられる。

### 実験2

水稻生育は処理区間に有意差はあまりみられなかつたが、追肥以降は草丈・茎数においてクリンカー施用区が対照区に比べ高く推移した。収量は対照区と比べて高い値を示し、外観品質ではクリンカー施用区が対照区と比べて整粒比が高く、未熟粒比は低い傾向がみられた(表1)。クリンカー施用区の茎葉中のケイ酸含量と窒素含量は、対照区と比べて高かつた。またクリンカー施用区の茎葉全窒素含量も対照区と比べて有意に高かつた。このことから、収量増加・品質向上効果はクリン

カーボン酸が吸収されて作用し、受光体勢が改善されたこと、および窒素含量增加とともにクロロフィル含量が増加して光合成産物が多く蓄積したことによると推察される（図3）。栽培後土壌においては、クリンカーペン区のアンモニウム態窒素量は対照区と比べて有意に高かった。加えて、クリンカーペン区の土壌ECはともに対照区と比べて有意に高かった（図4）。これはクリンカーペン中の無機養分が溶出してミネラル分を供給したものと考えられる。

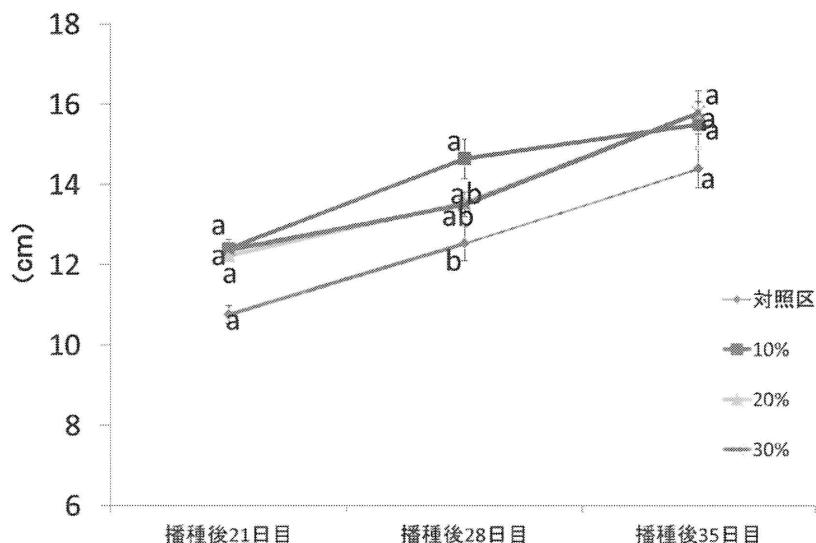


図1 苗丈の推移

値は平均値±標準誤差を示す  
異符号間に有意差あり( $P < 0.05$ )

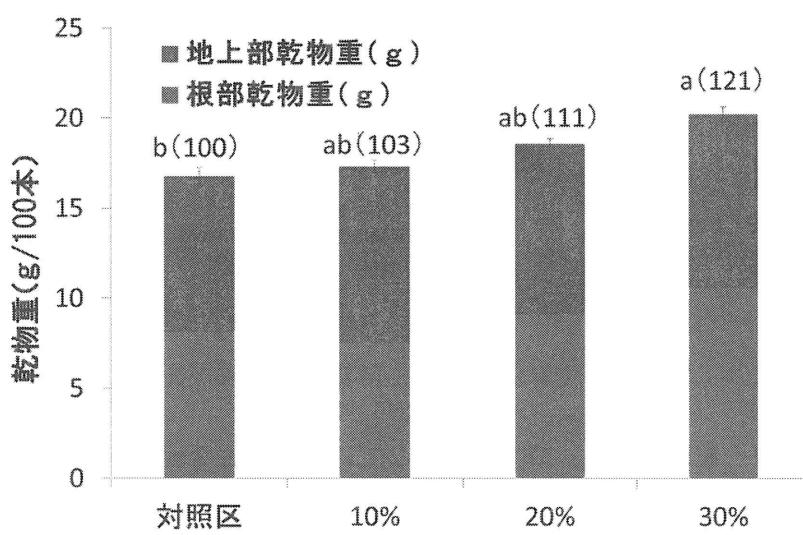
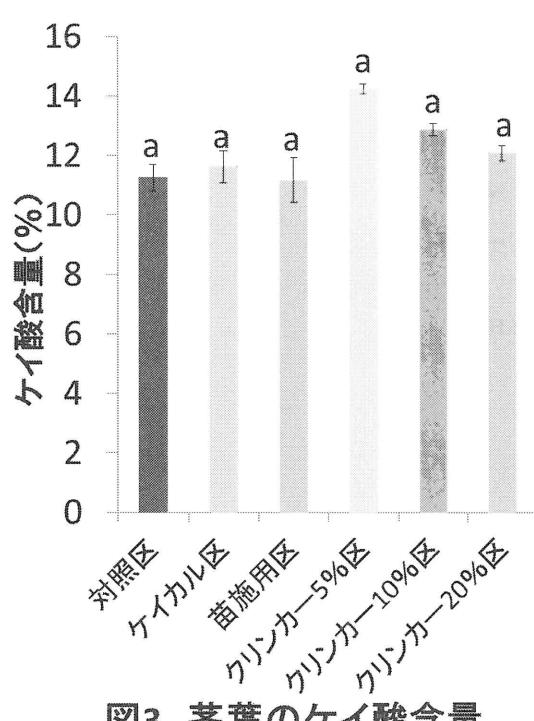


図2 水稻苗の地上部・地下部乾物重

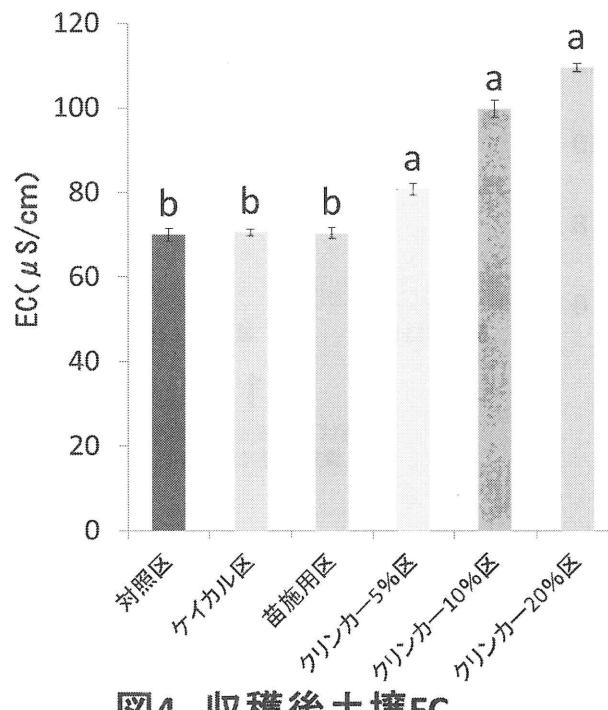
エラーバー:標準誤差 異符号間に有意差あり( $P < 0.05$ )  
かっこ内の数字は対照区を100とした相対値を示す

表1 収量構成要素および整粒比・未熟粒比割合

処理区	穂数 (穂/ポット)	全穀重 (g/ポット)	1穂あたりの 精玄米数 (粒/一穂)	精玄米重 (g/ポット)	千粒重 (g/ポット)	整粒比 (%)	未熟粒比 (%)							
対照区	5.00	a	6.89	a	43.6	a	4.06	b	18.9	ab	60.1	a	39.3	a
ケイカル区	5.80	a	8.40	a	47.4	a	5.18	ab	19.1	ab	66.9	a	32.7	a
苗施用区	5.20	a	7.15	a	44.6	a	4.34	b	19.0	ab	68.5	a	30.0	a
クリンカ-5%区	5.40	a	6.99	a	41.5	a	4.14	b	18.8	b	67.2	a	31.6	a
クリンカ-10%区	6.00	a	8.68	a	43.9	a	5.02	ab	19.0	ab	68.9	a	30.6	a
クリンカ-20%区	5.80	a	9.18	a	51.1	a	5.85	a	19.8	a	72.3	a	26.7	a



エラーバー:標準誤差 異符号間に有意差あり( $P < 0.05$ )



エラーバー:標準誤差  
異符号間に有意差あり( $P < 0.05$ )

## 5.まとめ

苗質評価では、クリンカ-1施用により、水稻苗の生育促進効果、苗質向上効果が認められた。特に根の乾燥重量増加が顕著であった。

水稻ポット栽培実験では、クリンカ-1施用により、草丈や茎数などについて生育促進効果がみられた。収量も増加傾向がみられ、外観品質も整粒率が増加し、未熟米が減少して品質が向上した。クリンカ-1施用区の茎葉中ケイ酸と窒素含量は高い傾向があり、イネがクリンカ-1由来のケイ酸を吸収して受光態勢が向上するとともに、根が発達して窒素吸収能力が増加することにより、增收効果が現れたと考えられる。またクリンカ-1施用区の土壤はECが高いことから、クリンカ-1を施用すると無機養分が土壤に供給されると考えられる。以上の結果から、クリンカ-1は有効な水田土壤改良資材として利用可能であると考えられる。

# 画像処理を用いたアクティブな家庭向け見守りシステムの開発

愛媛大学総合情報メディアセンター教授  
愛媛県産業技術研究所技術開発部主任研究員  
合資会社コバルト代表

中川 裕治  
秋元 英二  
安永 文香

## 1 研究背景と目的

現在のホームセキュリティシステムの多くは、赤外線やタッチセンサ、煙センサなどの専用センサで監視し、反応があれば信号を送っている。これは、単にON/OFF信号でありその内容について受信者側ではわからない。また、一部ではカメラを設置したサービスがあるものの、画像を“垂れ流し”している状態であり、常に画像に注目し続けていなければ異常の有無が分からぬのが現状である。介護住宅や独居住宅、留守家庭などでは、セキュリティの確保とあわせて室内の様子が確認でき異常の有無が識別できるシステムの要望がある。そこで本研究では、ネットワークを使って普及が進む携帯端末に室内の状況をカメラ画像をもとにして、画像処理を施し、室内の様子(異常)を検知するホームセキュリティシステムの開発を行なった。また、電力量のモニタリングや電力変動型センサの開発、及びサーバー内での画像の不可視化についても研究を行うこととした。これらにより、従来のホームセキュリティでは、複数のセンサが必要であったものが少なくすることや、画像の垂れ流し状態であったものが、高度の画像処理により自動判定(検出)が可能となり、利便性のよいホームセキュリティシステムの構築をすることを目的として、本研究を実施した。

### 1-1. カメラを用いた認識と端末機での表示

カメラによる見守りシステムでは、画像認識つまり画像処理技術を用いて屋内の状況を判定する。そのために、図1のようにwebカメラPCサーバー、端末機(タブレット)の機器を構成し、サーバーにおいて受信した画像に対して各種処理をする。各種処理とは、今回追求した①火災の発生(炎検知)、②煙の発生(煙検知)、③不在住居における人物／侵入者の検知(人物検知)、④一定時間の動きがない人の確認(安否確認)、の4つである。これらの目的にあった数理的なプログラム処理を施したものを見守りシステムをタブレットにて表示確認するためにHTML5(※)を使って、インターネット上に配信できるようにする。(※ HTML5によりあらゆる端末機に対応可となる)上述した①から④を実現するために、それぞれ次のような方針をたてて、システムを

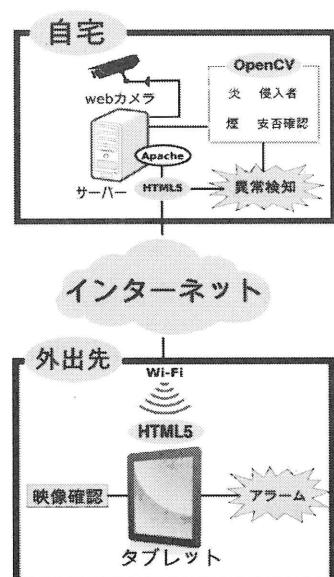


図1. システムの概要

構築した。

①の災検知については、取得画像の中の”輝度”とオプティカルフローの”大きさ”を計算し、閾値を超えたものについて炎と認識する。

②の煙検知では、輝度値とオプティカルフローの”向き”を計算し、閾値を超えたものを煙として認識する。

③人物の検知では、分類器を用いて人物の上半身と顔を認識することで判定する。

④の安否確認では、一定時刻ごとの輝度値を比較することによって被験者の動きを検知して、動きがあれば正常とし、そうでなければ警告表示をするようにする。

#### 1-1-1. 炎の検知

炎のオプティカルフローを求めるとき、絶対値が大きく、かつ方向がランダムであることが分かる。そこで、オプティカルフローの大きさの閾値を定め、閾値を超えたコマ数が10/30コマ以上であるときに炎と判断する。その結果、図2のように画像から的確に炎を検出することができた。

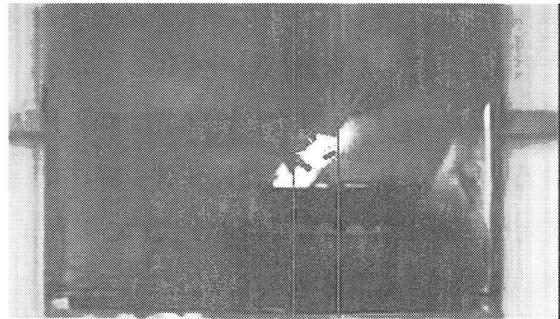


図2. 炎の検出結果

#### 1-1-2. 煙の検知

煙のオプティカルフローを求めるとき、絶対値が大きく、かつ方向が上向きであることが分かる。そこで、オプティカルフローの向きの平均を求め、その値を超えるコマ数が20/30コマ以上のときに煙と判断する。その結果、図3のように画像から立ち上る煙を検出することができた。

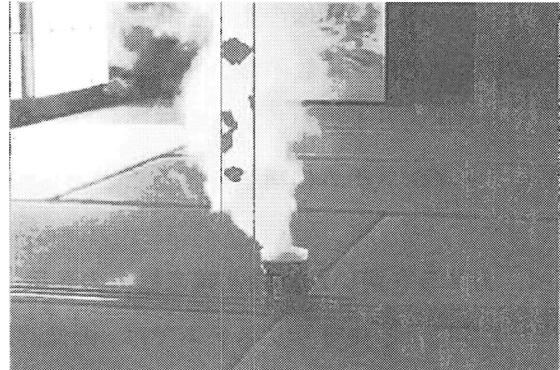


図3. 煙の検出結果

#### 1-1-3. 人物の検知

人物を検出するには、分類器を用いて、上半身認識、全身認識、下半身認識の3種類があるが、室内シーンの場合、家具などの障害物により下半身が隠され、全身や下半身の認識は困難である。そこで、上半身のみを認識し、かつ顔認識を併用することで認識精度を向上させた（図4）。また、ポスターなどに撮影された人物を誤検出しないために、動きに関する情報も付加する事で対応した。

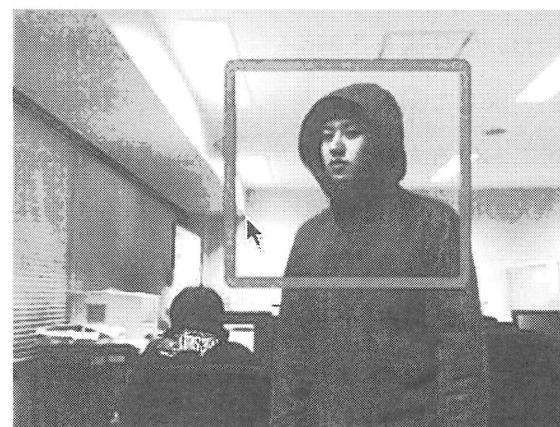


図4. 人物の検出結果

#### 1-1-4. 安否確認

安否確認では、被験者に対して一定時間に動きが全くない場合に警告を発することとした。これを実現するためには、取得された画像列から、一定時間の間隔を隔てた2つの画像間で輝度値の差分を求ることで可能となる。しかし、実際にはカメラや照明に起因する輝度値の変動がノイズとなるため、閾値を設けノイズの除去を行なった。図5に検出結果（赤色の部分が動いている場所）を示す。

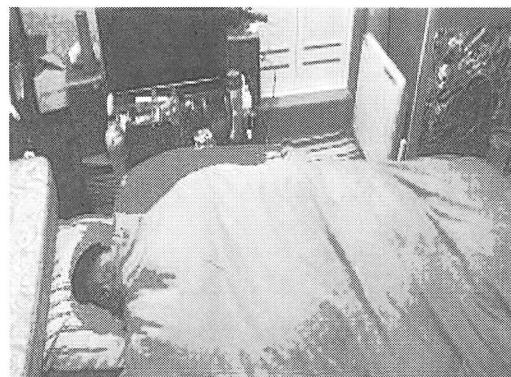


図5. 安否確認の結果

#### 1-2. 組み込み技術を用いた電力量表示と端末機からの操作

「家庭内の見守り」については、人の動きや火災などの見守りがあるが、ここでは「人の行動による見守り」と「電気の見守り」について組み込み技術を用いて研究開発を行った。ホームセキュリティについては、各種センサが使われているが、今回はカメラの画像を解析することで“動きを捉える”ことを主眼に置いて研究開発してきた。その補完的な観点にたって、家庭内の電気使用状況を端末機にモニタリングできるシステムに着目した（図6）。あわせて、被験者がスイッチを押すことで、一時的に電力が発生するセンサを開発し、これをモニタリングシステムに反映させることができれば、電力量のみを監視するだけで被験者の行動が推察できるようになる。

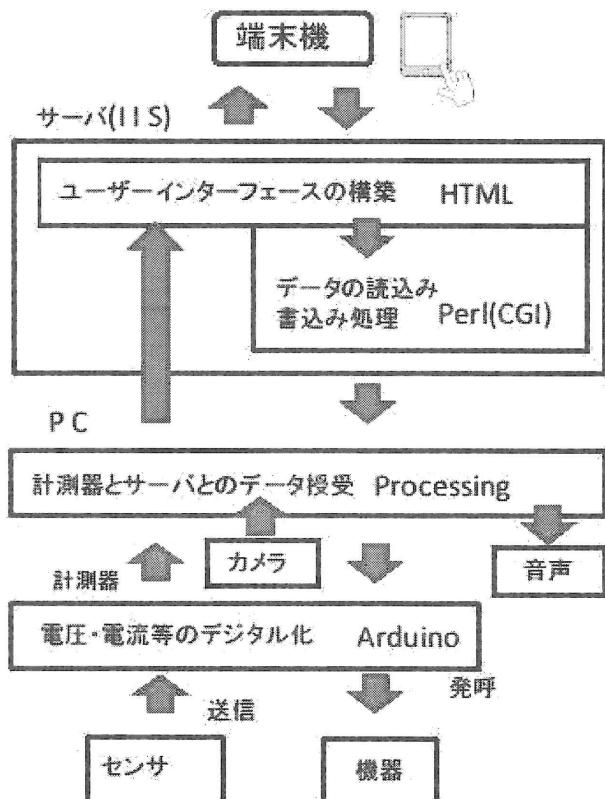


図6. 電力表示のためのフロー

#### 1-3. サーバー内セキュリティ対策とホームセキュリティ事情

共同研究者の（資）コバルトでのホームセキュリティサービスの通信経路と構成は図7のようになっている。データセンター（サーバー）に各ユーザー宅からのカメラ画像をインターネット経由で集積し、リクエストにより配信している。リクエストまたはセキュリティについては、「ユーザーID」と

「パスワード」により保護している。また、データセンター内にある画像は、長期保存とはしていないシステムであるので、画像データの暗号化などのセキュリティ対策はしていない。しかしながら悪質なウィルスやアタック攻撃によって、サーバーに侵入され、自由に画像の閲覧がされたり流出したりする想定外なことについても気を配っておく必要がある。今回、データセンター内のセキュリティを上げるために、取り込んだ画像が、サーバー内では不可視な状態となるようにすることについて検討し実験を行った。

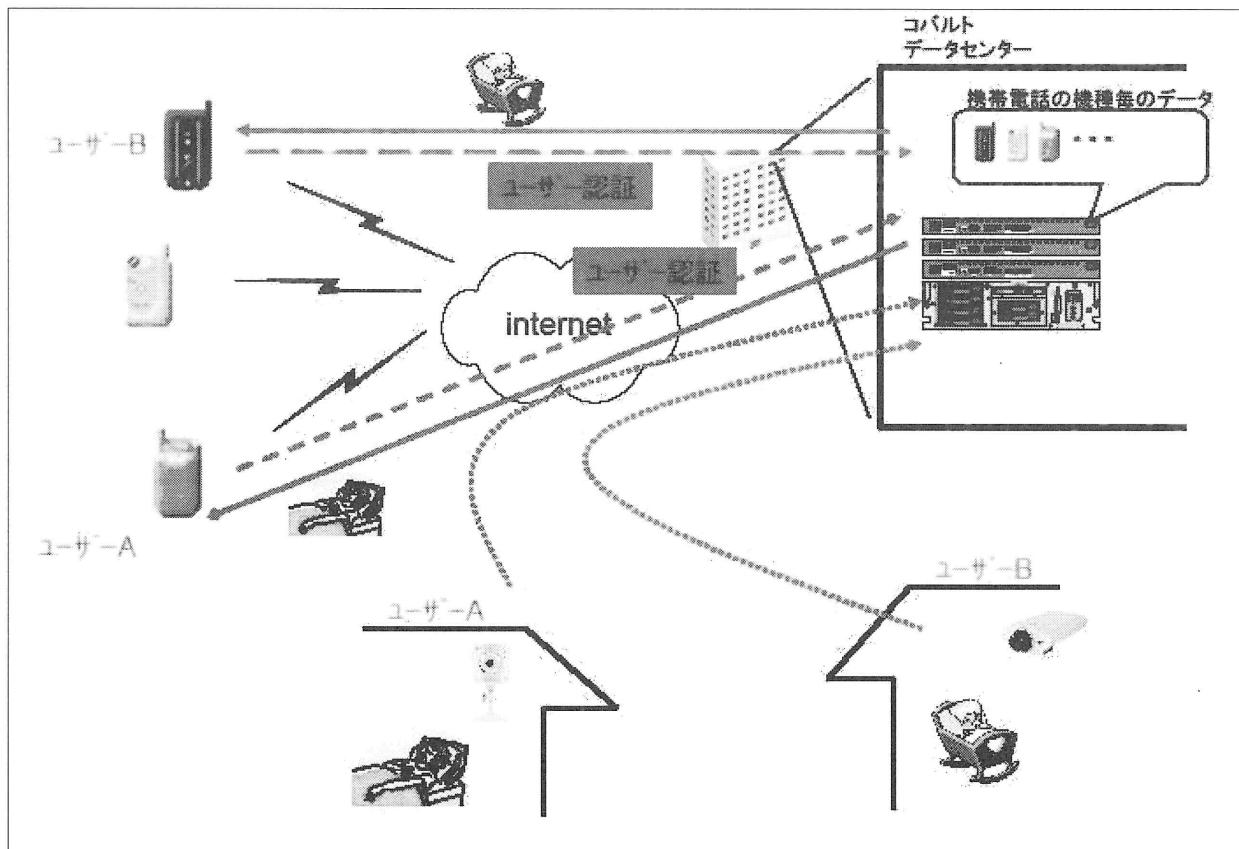


図7. ホームセキュリティの経路図(コバルト提供)

カメラにより取得した画像は、ほぼリアルタイムに端末機に向けて発信されるため、シンプルで高速なセキュリティの仕組み(不可視=見てもわからない、意味のないもの)とする必要がある。そこで、検討したのがHDD でのクイックフォーマットを参考に、画像データの最初の1バイト目を別の数値に置き換えた。

## 参考文献

- 1.玉木徹,『画像中の物体および人物領域の抽出手法に関する研究』,名古屋大学大学院工学研究科博士論文, 2000.
- 2.玉木徹・山村毅・大西昇,『画像系列からの人物領域の抽出』,電気学会論文誌C, Vol.119, No.1, pp.37-43, 2001.
- 3.小島篤博,『映像中の人行動の認識とその自然言語記述に関する研究』,大阪府立大学大学院博士論文, 2003.
- 4.塙本康輔,『画像データ処理による炎の検出アルゴリズムに関する研究』,  
<http://www.rd.ibaraki.ac.jp/seeds2004/s034.pdf>, 茨城大学, 2004.
- 5.中島慶人,『監視システムのための画像処理による 移動人物の検出と認識に関する研究』,総合研究大学院大学複合科学研究所博士論文, 2006.
- 6.鍵谷悠樹,『煙の輪郭による森林火災検出アルゴリズムの研究』,北海道大学大学院情報科学研究科修士論文概要, pp.1-4, 2008.
- 7.藤尾晃己,『タバコ火事防止のための Web カメラ画像からの煙検出の試み』,  
[http://irene.ike.tottori-u.ac.jp/joomla/index.php?option=com\\_content&view=article&id=301](http://irene.ike.tottori-u.ac.jp/joomla/index.php?option=com_content&view=article&id=301), 鳥取大学, 2011.
- 8.寺田賢治,『画像処理による煙検出器の開発と商品化』,徳島大学産学官連携推進部ニュース, pp.3-4, 2012.
- 9.藤田真一・寺田賢治・スティハンカルンガル,『画像処理における計算機室の監視システム』,2012年度電気関係学会四国支部連合大会論文集, p.214, 2012.

# 飼 料 添 加 物 の 評 価 及 び 開 発

愛媛大学南予水産研究センター教授

三 浦 猛

愛媛大学南予水産研究センター講師

三 浦 智恵美

愛媛大学南予水産研究センター特任助教

太 田 史

効率の良い飼料の開発は、魚類養殖での安定的な生産には欠かすことができない。本研究開発では、摂食性、成長促進性、耐病性を付与する飼料添加物の開発とその評価を目的として行われた。

## 1. 摂食および成長促進飼料の開発と評価

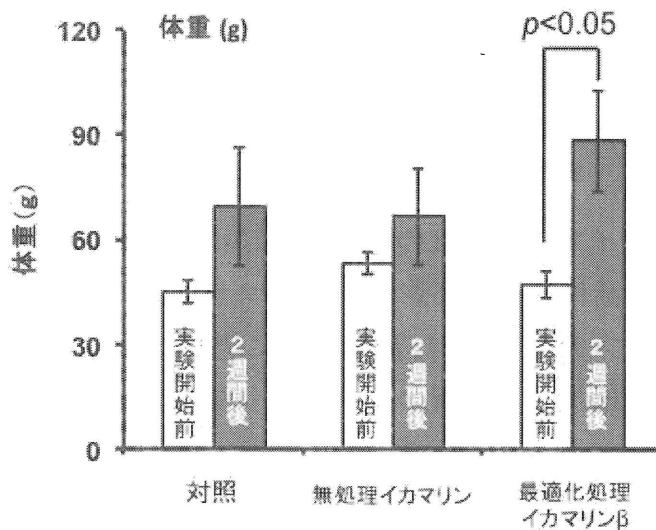
イカの内臓には、非常に強い集魚効果が有ることが知られており、養魚用飼料への添加により、摂食性の向上が期待できる。また、イカ内臓は、主として北海道、東北、北陸で食品加工残渣として年間 15,000 トン発生し、その処理が大きな問題となっている。このイカ内臓を養殖用飼料原料として有効に利用することができれば、水産加工残渣の低減と養殖の効率化が実現できる、まさに一石二鳥の方法となる。イカ内臓には 20ppm から 200ppm の Cd が含まれているが、近年開発されたキレート剤を用いた競争吸着法により Cd を除去する技術が開発され、養殖用飼料への利用が可能となった。愛南リベラシオでは、この脱 Cd イカ内臓溶解液を「イカマリン®」として、試験販売を開始した。本研究グループでの解析により、イカマリンは、マダイに対し摂食促進性に加え、著しい成長促進性があることが明らかとなった。同様の効果はクロマグロ、カンパチ、フグにおいても認められた。しかし、愛媛県の主要な養殖魚の一つであるブリでは、イカマリンの飼料への添加により、逆に摂食性の低下が認められた。これは、イカ内臓中にブリが嫌う何らかの物質が含まれているためと考えられる。イカマリンのブリに対する忌避物質の不活性化の方法を検討した結果、イカマリンを適切な方法で加熱処理することにより、ブリの摂食性が向上することが明らかとなった。最適化処理を施したイカマリン（イカマリン β）を用い、ブ

リの給餌試験を行ったところ、ブリに関しても、著しい摂食性と成長の向上、更には飼料効率の向上が認められた（図1）。

イカマリンの摂食性向上および成長促進のメカニズムをブリを用いて生理学的に解析したところ、イカマリンの摂食により、脳で食欲亢進に作用するニューロペプチドY（NPY）および消化管で消化促進に作用するコレシストキニン（CCK）の遺伝子発現量が有意に増加し、これの伴い胃でのタンパク分解酵素（プロテアーゼ）活性が有意に上昇することが明らかとなった（図2）。この結果は、イカマリンが魚類の摂食および消化に関わる内分泌系に作用し、成長を促進させていることを示している。

今後、今回開発したブリに最適化したイカマリン $\beta$ のブリ養殖での実証試験を行う予定である。

本研究成果の一部は、養殖ビジネス 52 (2) 61-64 (2015) に掲載された<sup>1)</sup>。



	対照	無処理イカマリン	最適化処理イカマリン $\beta$
増肉係数	1.04	1.06	0.88

図1. 最適化処理イカマリン $\beta$ のブリ成長への作用。イカマリンをブリ用に最適化処理することにより、ブリへの摂食および成長促進、餌料効率の向上が実現した。

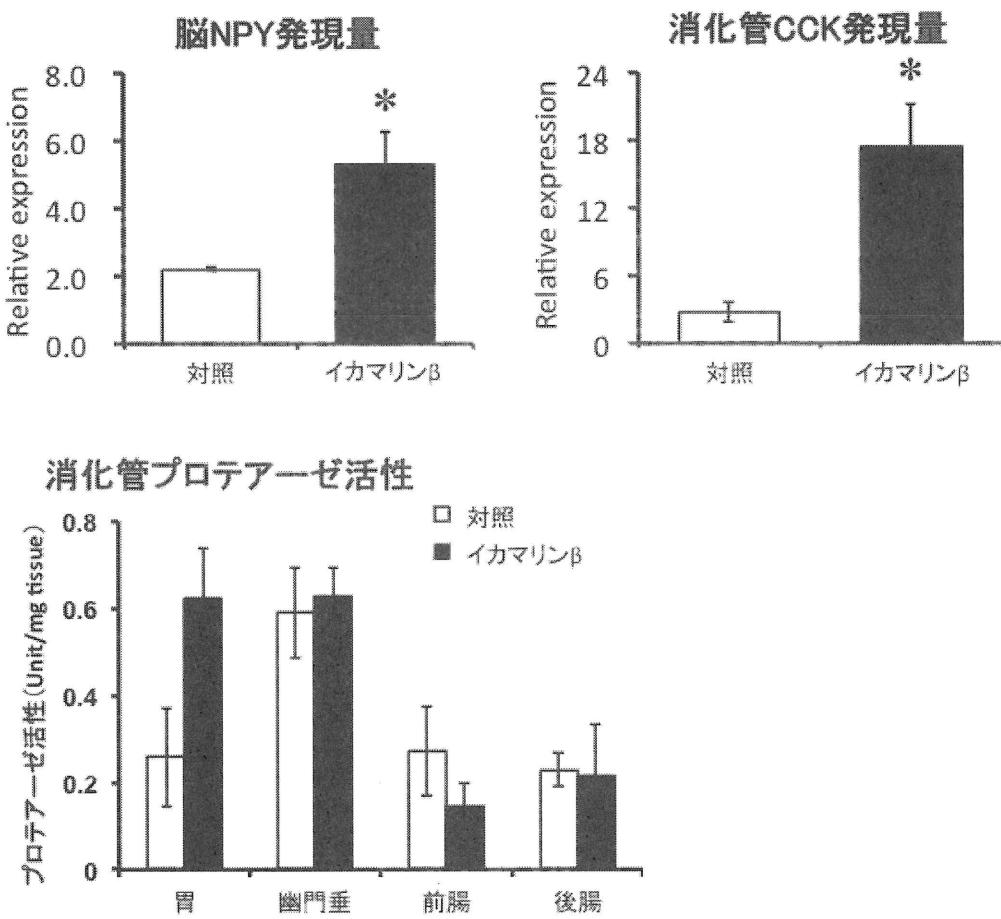


図2. ブリ最適化処理イカマリン $\beta$ の摂食および消化関連遺伝子の発現と消化管プロテアーゼ活性に与える影響。イカマリン $\beta$ は、食欲亢進に関わる脳内ニューロペプチドY(NPY)、消化促進に関わるコレシストキニン(CCK)の遺伝子発現を増加させ、胃のタンパク分解酵素(プロテアーゼ)活性を上昇させる。

## 2. 昆虫由来免疫賦活化物質の開発

昆虫は地球上最大の分類学上の“綱”であり、知られているものだけでも150万種以上、分類がなされていないものを含めれば、3,000万種を超える種類が存在すると考えられている。また、そのバイオマスは全人類の15倍を優に超えると推測されている。しかし、この豊富な資源は、これまで一部の例外を除いては、殆ど食料、あるいは飼料として使用されてこなか

った。私たちの研究グループは、魚粉に代わる飼料原料として双翅目昆虫を中心に養殖飼料への利用を検討してきたが、この研究の過程で、数種の昆虫には摂食および成長促進、更には免疫賦活化作用があることを見出した<sup>2)</sup>。免疫賦活化作用に関しては、更に詳細な解析を行い、双翅目昆虫および鱗翅目昆虫から免疫賦活化作用を持つ新規の高分子酸性多糖を単離同定することに成功した。私たちは双翅目由来機能性多糖を Dipterose、鱗翅目由来機能性多糖を Silkrose®とそれぞれ命名した<sup>3)</sup>。

これらの多糖は、Toll 様受容体を介して、自然免疫系に作用し、各種サイトカイン類の産生誘導、貪食細胞の一酸化窒素産生誘導し、魚類をはじめとする各種動物の耐病性を向上させることがあきらかとなった。

現在、Silkrose に関しては、更に詳細な免疫活性化の分子機構を解析するとともに、養殖飼料への機能性添加剤としての商品開発を行っている。

本研究成果の一部は、養殖ビジネス 52 (3) (2015) (印刷中)に掲載する予定である<sup>4)</sup>。

## 関連業績

- 1) 三浦猛, 太田司, 近藤史崇, 三浦智恵美, 高橋隆行, 井戸篤史: 脱カドミウムイカ内臓溶解液の養殖魚に対する所領効率改善効果. 養殖ビジネス 52 (2) 61-64 (2015).
- 2) Ido, A., Iwai, T., Ito, K., Ohta, T., Mizushige, T., Kishida, T., Miura, C. and Miura, T.: Dietary effects of housefly (*Musca domestica*) (Diptera: Muscidae) pupae on the growth performance and the resistance against bacterial pathogen in red sea bream (*Pagrus major*) (Perciformes: Sparidae). *Appl. Entomol. Zool.* (印刷中)
- 3) Ohta, T., Ido, A., Kusano, K., Miura, C. and Miura, T.: A Novel Polysaccharide in Insects Activates the Innate Immune System in Mouse Macrophage RAW264 Cells. *PLoS ONE* 9:e114823 (2014).
- 4) 三浦猛, 太田司, 三浦智恵美, 高橋隆行, 井戸篤史: 魚粉に代わる養殖用飼料原料 昆虫ミールの可能性と機能性. 養殖ビジネス 52 (3) (2015) (印刷中).

# 養殖マダイの耐病性育種に関する基礎的研究

愛媛大学南予水産研究センター准教授 高木基裕  
有限会社まる阿水產生産部開発課課長 澤山英太郎

## -養殖マダイ親魚の系統解析と耐病性との関係調査-

**【目的】**養殖マダイは成長や耐病性といった指標により、種苗生産機関において独自の選抜が行われている。まる阿水産が保有する親魚においても、群毎に成長や耐病性の違いが把握され、親魚管理の目安となっている。本研究では、まる阿水産がこの10年間で維持・管理してきたマダイ親魚群について遺伝的類縁関係や遺伝的多様度を調べ、経験的に把握されている各親魚集団の耐病性が遺伝的に支配されているのかを考察した。

**【方法】**解析には養殖マダイとして9群、比較対象として瀬戸内海で漁獲された天然マダイの計10群を用いた。遺伝マーカーとしては、既に開発されているマダイのマイクロサテライトDNAマーカー8座を用いた。アリル数やヘテロ接合体率から遺伝的多様度を評価するとともに、アリル頻度から非加重結合法により無根系統図を作成した。

**【結果】**全ての養殖マダイ群は天然群と比べてアリル数とヘテロ接合体率が減退しており、遺伝的多様性は大きく低下していた。近交係数については一部でマイナスに大きく偏り、ヘテロ接合体過剰が疑われた。系統図から、養殖マダイは大きく分けて2つの遺伝集団が存在し、そのうちの1集団はさらに3つの小集団に分かれていた。経験的に把握されている耐病性の違いは、遺伝的類縁関係を概ね反映しており、今後、特定の系統を用いることで病気に強い養殖マダイ系統を作出できることが示唆された。

### 【成果発表】

澤山英太郎・高木基裕 (2013) マイクロサテライトDNA多型から見た養殖マダイ系統の類縁関係と養殖特性の関連. 平成25年日本水産学会春季大会, 東京.

Eitaro Sawayama, Motohiro Takagi (2014) Genetic diversity and structure of domesticated strains of red sea bream, *Pagrus major*, inferred from microsatellite DNA markers. Aquaculture Research, in press (DOI: 10.1111/are.12498).

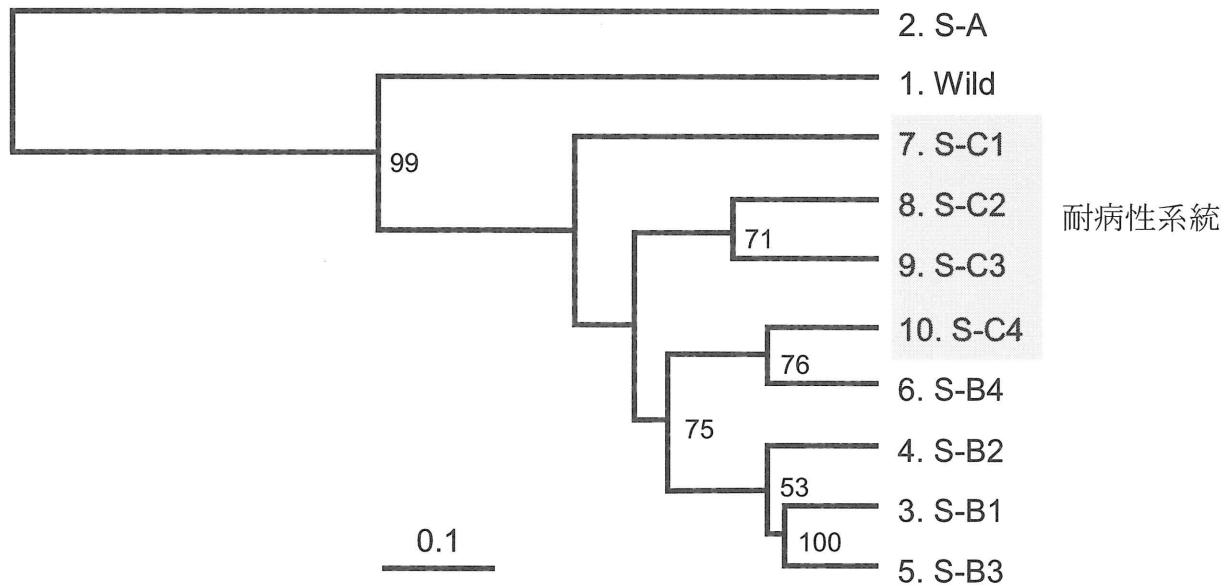


図 1. 系統樹から見た養殖マダイ系統の遺伝的類縁関係

## 愛媛大学社会連携推進機構研究成果報告書第8号

発 行 2015年3月  
発行者 愛媛大学社会連携推進機構  
〒790-8577 松山市文京町3番  
TEL (089)927-8819  
FAX (089)927-8820  
印 刷 セキ株式会社