JDX-2021368B

2020 年度
「きぼう」利用テーマ・船内科学研究に係る科学成果評価
報告書

宇宙航空研究開発機構

有人宇宙技術部門

きぼう利用センター

1. 概要

本資料は、2020年度（2020年6月から2021年3月）に実施した、「きぼう」船内を利用した科学研究テーマの科学成果評価の結果および評価への入力となった対象テーマの成果報告書等を取り纏めたものである。

2. 評価対象

評価対象となったテーマを表1に示す。
これらのテーマは、2012年度～2018年度の間に軌道上実験を実施した9件の科学研究テーマである。

3. 評価の目的、評価指標

「きぼう」で行われた研究成果の達成状況とその意義、分野学術や社会への貢献、波及効果に対する評価を通じて、各々の研究成果のアピールポイントを効果的に情報発信すること、また、きぼう利用に関する改善点、利用の方向性等へ提言を得て、今後の利用計画設定に資することを目的として評価が行われた。この目的に照らし、表2に示す各評価項目に基づき、書類審査、面接審査（成果報告会）が実施され、評価結果は、最終的に、以下の4段階の総合評価指標および提言として取り纏められた。

S：目標を高度に達成し、特筆すべき成果を上げた（エクストラサクセス相当）.
A：目標を充分に達成した（フルサクセス相当）.
B：目標を一部達成した（ミニマムサクセス相当）.
C：成果として不足・不十分であり、目標を達成していない.

※2017 年度までの基準(以下)と異なる。
S：目標を高度に達成し、特筆すべき成果を上げた.
A：目標を充分に達成した（エクストラサクセス相当以上）.
B：目標を達成した（フルサクセス相当）.
C：目標達成に不足・不十分な点があり、引き続き解析・検討を要す.

4. 評価体制

評価は、生命医科学分野あるいは物質・物理科学分野のきぼう利用テーマ選考評価委員会（以下、「選考評価委員会」）により実施された。また、分野専門家3名のピアレビューアをテーマ毎に設定し、書類審査を併せて行い、選考評価委員会は、これを参考として審査を行った。
ここで、選考評価委員会は、きぼう利用において、応募されたテーマ等の選考、設定された利用テーマ等の評価を行うために設置された JAXA 有人宇宙技術部門長の諮問委員会であり、物質・物理科学分野及び生命医科学分野の2分野が設定されている。
今回、評価に当った選考評価委員会の構成員リストを表3に示す。

5. 評価プロセス

研究成果報告の提出から成果評価の公表までの評価プロセスを図4に示す。

6. 科学成果評価に係る文書

本資料に含めるテーマ毎の研究成果報告書、科学成果評価結果等を、表5に示す。

表1　評価対象テーマ （所属は報告書提出当時）

テーマ名	研究代表者 （評価時）	実験時期（※）	成果評価 （委員会）	分野
植物細胞の重力受容の形成分化とその分子機構の研究 （Plant Gravity Sensing）	金沢工業大学 教授　辰巳仁史	2014 年 10 月 ～2016 年 5 月	2020 年 8 月 21 日	生命医科学
宇宙環境を利用した植物の重力応答反応機構および姿勢制御機構の解析 （Auxin Transport）	大阪府立大学 名誉教授 上田純一	2016 年 5 月 ～2017 年 3 月	同上	
宇宙放射線が哺乳動物生殖細胞に及ぼす影響（Stem Cells）	大阪市立大学 教授　森田　隆	2013 年 3 月 ～2017 年 6 月	同上	
長期宇宙滞在飛行士の姿勢制御における帰還後再適応過程の解明 （Synergy）	JAXA 宇宙科学研究所　名誉教授 石岡憲昭	2014 年～ 2017 年	2020 年 8 月 31 日	
ゼブラフィッシュの筋維持における重力の影響（Zebrafish Muscle）	京都大学 名誉教授　瀬原淳子	2014 年 9 月 ～11 月	2020 年 9 月 7 日	
神経変性疾患の発症機構解明に向けた微小重力環境下でアミロイド線維形成と性状評価（Amyloid）	自然科学研究機構 生命創成探究センター/分子科学研究所 センター長・教授 加藤晃一	2017 年 12 月 ～2018 年 7 月	2021 年 2 月 1 日	
無重力での視力変化等に影響する頭蓋内圧の簡便な評価法の確立（IPVI）	日本大学 教授　岩﨑賢一	2014 年～ 2018 年	2021 年 3 月 4 日	
位置有感生体等価比例計数箱による宇宙ステーション内での線量当量計測技術の確立（PS-TEPC）	高エネルギー加速器研究機構 共通基盤研究施設長 佐々木慎一	2016 年 12 月 ～2018 年 4 月	2020 年 6 月 8 日	物質物理科学
宇宙実験による新しい微粒化概念の詳細検証(Atomization) ～乱流微粒化シミュレータの構築を目指し～	名古屋産業科学研究所上席研究員 （名古屋大学名誉教授） 梅村章	2018 年 6 月 ～9 月	同上	

※　医学実験の地上でのベースデータコレクションは含む。その他実験の地上対照実験は含まない。人対象研究については年単位の記載としている。

表2　評価項目

科学的・技術的成果	(1)　研究目標の意義および達成度 • 研究目標の意義は高いか（ミッション選定/準備段階移行以降に修正された場合）. また、時間経過により減じていないか. • 研究目標は達成されたか. サクセスクライテリアに照らした達成度のレベル.
	(2)　実施体制 • 研究チームおよび JAXA の体制は適切であったか.
	(3)　科学的、技術的成果 • 得られた成果は、国際的なレベルに照らして、高いか. • 設定された目標を越える成果があったか.
	(4)　活用、波及効果 • 関連科学分野・技術領域への波及効果があったか、また、期待されるか. • 科学的、技術的に活用が見込めるか、成果活用の意義・重要性は高いか.
	(5)　きぼう利用の必然性 • きぼうで行う必然性があったか.
総合評価・提言	(6)　総合評価 • 成果インパクト、応用・波及効果などのポテンシャル、他、アピールポイント. • 今後の宇宙実験に向けての課題、改善すべき点. • 当該科学分野・領域におけるきぼう利用の発展性、継続の意義.

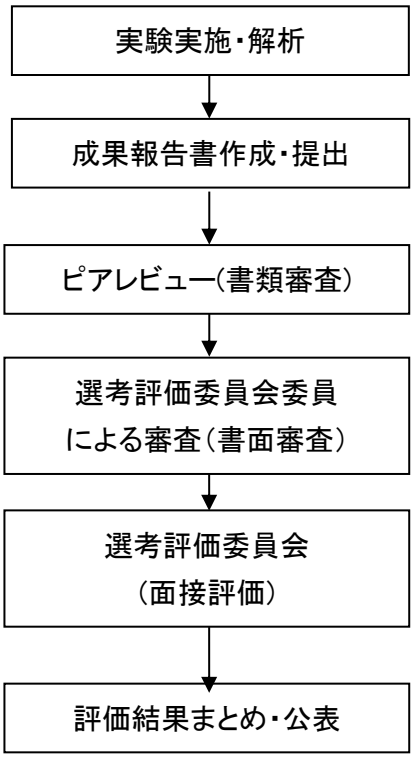
表3　きぼう利用テーマ選考評価委員会　構成員
（評価時。2017 年度の構成員から変更あり。）

物質・物理科学分野

委員長	長井　寿　国立研究開発法人　物質・材料研究機構　名誉研究員
委員	石川　正道　同志社大学高等研究教育院　客員教授
	江刺　正喜　株式会社メムス・コア　CTO 東北大学　マイクロシステム融合研究開発センター　シニアリサーチフェロー
	福山　博之　東北大学　多元物質科学研究所　副所長／教授

生命医科学分野

委員長	山口　朗　東京歯科大学口腔科学研究センター　客員教授
委員	牛田　多加志　東京大学大学院工学系研究科機械工学専攻　教授
	武田　伸一　国立研究開発法人　国立精神・神経医療研究センター　名誉所長
	田村　宏治　東北大学大学院生命科学研究科　教授
	中村　耕三　医療法人社団　大坪会　東和病院　院長
	中村　幸夫　国立研究開発法人　理化学研究所バイオリソース研究センター細胞材料開発室　室長
	本間　研一　北海道大学大学院医学研究科　時間医学講座　名誉教授
	諸橋　憲一郎　九州大学大学院医学研究院分子生命系部門 性差生物学講座　主幹教授



実験終了後、概ね 2 年後に、研究代表者より提出

テーマごとに 3 名程度の専門家が、専門的見地から審査する。

ピアレビューの結果をもとに、選考評価委員会の各委員が各テーマを審査する。

研究者による成果報告、事前に実施済みの書類審査結果(ピアレビュー結果、委員評価結果)をもとに、委員会としての科学評価結果をまとめる。

図4　科学成果評価プロセス

表5　添付文書の構成

テーマ名	研究成果報告書	評価結果	研究成果概要書(日)	研究成果概要書(英)
植物細胞の重力受容の形成分化とその分子機構の研究（Plant Gravity Sensing）	別紙 1-1	別紙 1-2	別紙 1-3	別紙 1-4
宇宙環境を利用した植物の重力応答反応機構および姿勢制御機構の解析（Auxin Transport）	別紙 2-1	別紙 2-2	別紙 2-3	別紙 2-4
宇宙放射線が哺乳動物生殖細胞に及ぼす影響（Stem Cells）	別紙 3-1	別紙 3-2	別紙 3-3	別紙 3-4
長期宇宙滞在飛行士の姿勢制御における帰還後再適応過程の解明（Synergy）	別紙 4-1	別紙 4-2	別紙 4-3	別紙 4-4
ゼブラフィッシュの筋維持における重力の影響（Zebrafish Muscle）	（※）	別紙 5-2	―	―
神経変性疾患の発症機構解明に向けた微小重力環境下でアミロイド線維形成と性状評価（Amyloid）	別紙 6-1	別紙 6-2	別紙 6-3	別紙 6-4
無重力での視力変化等に影響する頭蓋内圧の簡便な評価法の確立（IPVI）	別紙 7-1	別紙 7-2	別紙 7-3	別紙 7-4
位置有感生体等価比例計数箱による宇宙ステーション内での線量当量計測技術の確立（PS-TEPC）	別紙 8-1	別紙 8-2	別紙 8-3	別紙 8-4
宇宙実験による新しい微粒化概念の詳細検証(Atomization) ～乱流微粒化シミュレータの構築を目指し～	別紙 9-1	別紙 9-2	別紙 9-3	別紙 9-4

（※） 論文公表後に公開

以上

ＩＳＳ・きぼう利用ミッション
「植物細胞の重力受容の形成分化とその分子機構の研究
（略称：Plant Gravity Sensing）」
研究成果報告書

代表研究者；辰巳仁史（金沢工業大学・バイオ・化学部・応用バイオ学科）

２０２０年1月１０日

1．諸言

・研究内容、目標の概要

重力受容の分子メカニズムの解明は宇宙において重力が関わる諸問題に対する回答の糸口を与えるだけではなく、地上における重力受容に関わる生命現象を理解し人類に役立てる意味でも大きな意義がある。

植物個体の重力に対する方向を変えることで細胞内カルシウムイオン濃度([Ca^{2+}]$_c$)が上昇する(Toyota et al., 2008b)。 この反応は他の重力受容により生ずる反応に比べて時間経過が早い（30秒以内に反応が開始する）現象であるので、高等植物における重力受容の初期過程を反映していると考えられる。重力方向の変化は細胞の歪みや細胞内小器官の偏在に強い影響を与えることが知られている。このような重力方向の変化による細胞の変形に対するセンサーとして最も有力な分子は機械刺激受容性 Ca^{2+}透過チャネルである。その中でもチャネル分子 Mca1 は重力受容に関わるチャネルの最も有力な候補である(Nakagawa et al., 2007)。本研究の目的は、重力受容のための分子装置(図1に模式的に示す)が無重力条件下で組み立てられるかどうか、また組み立てられた重力受容装置の仕組みはどのようになっているのかを解明することである。また ISS 軌道上の微小重力環境で重力受容システムや細胞の植物の形態形成や生命維持機能がどのような影響を受けるかを検討することである。

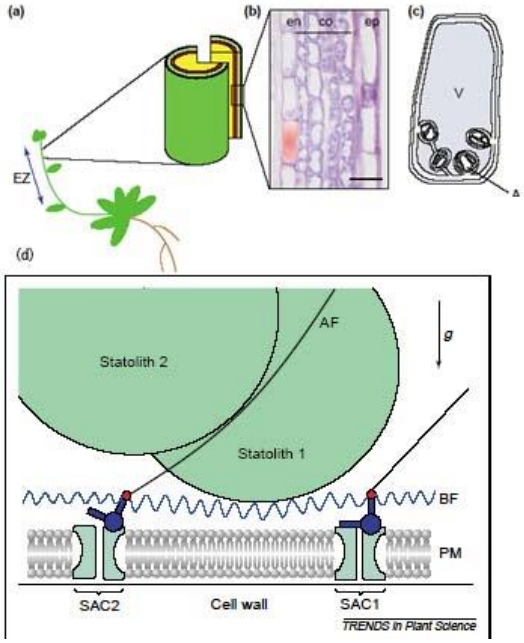


図１．植物細胞の重力受容の仮説：植物個体の葉柄(a)の内部の内皮細胞(b)には重力により沈降するアミロプラストが存在する(c)。このアミロプラストは重力により沈降するとアクチン線維に沿って力をチャネルに伝えることによりチャネルを活性化する。この複雑な重力受容装置が働くことにより重力刺激によって細胞内カルシウムイオン濃度の上昇が起きる。Morita et al.2004, Perbal et al.2003, を改変

本研究では、上記の疑問に答えるために、以下の二つの実験（A,B）を行う。（A）無重力環境下で重力受容の分子機構の正常な形成が可能かどうかを検討する。また、形成過程に Mca1 の関与を検討する。そこから植物における重力の受容機構の形成には重力の方向の情報が重要な役割を持っていること、また重力受容機構形成に関わる分子を明らかにする。（B）重力受容にかかわるチャネル分子 Mca1 の微小重力受容における役割を検討する。そのためにチャネル分子 Mca1 遺伝子過剰発現植物や欠損植物、Mca1 可視化植物（Mca1-GFP 発現植物）を用いた栽培実験を宇宙で行って、重力受容における Mca1 の役割を明らかにする。また、ISS の船内環境が高 CO2 であることから、地上で同様の高 CO2 環境での培養試験を実施し、遺伝子解析などを行う。高 CO2 実験のデータについて結果をまとめる。

・研究内容の重要性、分野・領域での位置付け、意義

ヒトが地球上で立ったり座ったりしているときに，重力はヒトの体重(質量)に作用して，下向きの大きな力を生み出す。国際宇宙ステーションのような重力が小さい環境では，ヒトの体は宙に浮かぶ。ヒトの場合には重力の向きは前庭器官で感じ，回転は半規管で感じることができる。一方で植物の重力受容はダーウィンの時代から知られていたがその仕組みは長らく不明であった。その後植物では花茎にある内皮細胞や根端のコルメラ細胞が重力の向きを感じる細胞として分化したと考えられるようになった。我々はシロイヌナズナを用いて重力の応答を分析してきたが (Iida et al., 2013; Iida et al., 2014; Tatsumi, 2011; Tatsumi et al., 2014a; Tatsumi et al., 2014b; Toyota et al., 2013; Toyota et al., 2007; Toyota et al., 2008a; Toyota et al., 2008b)，植物が細胞や分子のレベルで、どのようにして重力の向きやその変化を感じているかは，多くの不明な点が残されている。

植物における重力受容の分子メカニズムが分かれば、地上とは異なる宇宙空間において植物の生育を行うために必要な分子の仕組みがわかるだろう。植物の重力感知の細胞機構および重力受容に関わるチャネルの発見は植物学だけではなく生物科学全体に大きな影響を与える。細胞内で重力受容に関与する分子機構が解明されると植物だけではなく動物細胞における重力受容の分子機構の解明にも寄与し、重力依存的な障害である骨粗しょう症などの原因を分子機構から突き止め解決する糸口が得られると考える。また、重力受容機構の解明は宇宙環境に適応する植物の開発や、転倒しても重力感受性が高いために、転倒から立ち直る植物の開発など波及効果は計り知れないほど大きい。

また、重力受容のチャネルが明らかになると、特に重力受容のチャネルに対する重力作用部位（チャネル重力感知ドメイン）の特定がなされる。それは、薬物をデザインする場合に大変有用になる。よってこの作用部位自身が特許対象となる。穀物栽培に障害となる雑草の重力受容チャネルの特異的阻害剤などが開発されうると、雑草特異的に重力受容を阻害し植物の生育を抑制することなどが可能となるだろう。このように農薬のドラッグデザインなどの知的資産の形成に貢献できる。

・研究動機、バックグラウンド

これまでの研究から植物において見られる屈地性（重力方向に根が伸びるなどの反応）に、植物の内皮細胞が必要であることがわかっている。しかしその重力受容の分子機構の詳細は現在においても多くは不明である。イギリスのトレウァバスたちや我々の研究から、植物を回転し重力方向を変える刺激を行うと細胞内カルシウムイオン濃度の変化がおきる事が知られている(Plieth and Trewavas, 2002)。われわれは機械受容性カルシウムイオンチャネルの活性化がこの細胞内カルシウムイオン濃度の上昇の原因であると提唱している(Toyota et al., 2013; Toyota et al., 2008a)。

植物の細胞内カルシウムイオン濃度を生きた植物からリアルタイムで測定する方法は大変有用であるが、細胞内カルシウムイオン濃度測定を宇宙でおこなった例はない。従ってこの方法による重力受容の研究も行われていない。重力受容の分子機構を調べるのに遺伝子変異体植物を用いることは大変重要である。機械受容チャネル候補遺伝子 MCA1 は東京学芸大学の飯田と名大の研究申請者のグループの共同研究で世界に先駆けて発見され機能解析が行われた(Nakagawa et al., 2007)。MCA1 は根先端にあり土壌の硬さを機械受容するセンサーとして働いていることが知られている。アフリカツメガエルの発現実験では Mca1は機械受容チャネルであることを示唆するデータが得られている (Furuichi et al., 2012)。

これまでの多くの研究から、重力受容に機械受容チャネルが関係していると提唱されている。本研究では MCA1 が重力受容にも関わることを予想している。公募地上実験(2005 年採択)によって、

MCA1 は重力受容に関わっていることを示唆するデータが得られた。これまでに遺伝子 MCA1 を欠損した植物を宇宙実験で用いた例はなく、また重力受容装置の形成過程に MCA1 が関わることを示すことができると、大変重要な研究成果となると考える。

2. 研究計画

2.1 研究目標

本研究では RUN-1 として微小重力環境において発芽、生育させたシロイヌナズナ幼植物における形態形成と遺伝子発現、RUN-2 として重力刺激応答性 Ca^{2+}シグナルを解析することとした。それぞれ野生株、MCA1 欠損株、MCA1 過剰発現株を用いることで、重力の感知と応答における MCA1 の役割を明らかにすることを目的とした。RUN-1、RUN-2 の研究計画を以下に示す。

【RUN1】

・形態観察用サンプルとして、①MCA1-GFP 過剰発現株（MCA1-GFP）をそれぞれ 1G、μG 環境で発芽育成する。生育後、パラホルムアルデヒド（以下、PFA）4%（グルタールアルデヒド、GA）0.1%液による化学固定を行い、冷蔵保存(4℃)する。形態観察用サンプルは、2 週間以内に地上に回収する。回収後、MCA1 の分布（局在発現）を蛍光顕微鏡で観察し、1G および μG 環境における MCA1 の発現量および分布を調べる。重力受容にかかわるアミロプラストの分布およびアクチン線維の分布を光学顕微鏡で観察する。

・遺伝子解析用サンプルとして、②MCA1 野生株(MCA1)、③MCA1 欠損株(mca1 ko)、④MCA1 過剰発現株（MCA1 ox）をそれぞれ 1G、μG 環境で発芽生育する。生育後、遺伝子保存剤（以下、RNAlater）処理を行い、凍結保存(−80℃)する。遺伝子解析用サンプルは、6 ヶ月以内に地上に回収する。回収後、遺伝子解析（リアルタイム PCR、マイクロアレイ）を行う。mRNA のアレイ解析は 3 回程度の複数回数を行う。これまでに得られている WT のアレイ解析と事前に比較する。その比較と再現性を確認の後、MCA1ox、MCA1ko の mRNA のアレイ解析を行う。

微小重力下における形態的な変化、遺伝子発現変化から、重力受容装置の機能的異常と形態的変化の関係を明らかにする。

【RUN2-1】1G 群（コントロール群）

1G 環境下で生育させた⑤MCA1 野生株（MCA1 Wildtype/エクオリン）をセレンテラジン浸漬・排出後、光電子増倍管(フォトマル)供試体に入れて重力付加前のフォトン数をコントロールとして採取する（10 分から 1 時間程度）。その後 1 G 重力刺激を植物の花茎から根方向に負荷する（正方向：1 回目、測定時間は 10 分程度とする）。その後、1 時間程度休息した後に重力付加前のフォトン数を計測する（2 回目、1 時間程度）、その後植物の花茎から根方向に負荷し、10 分間発光を測定する（逆方向：3 回目）その後、ディッシュ

を反転させ、1-2 時間静置後、根から花茎方向に 1 G 重力刺激を負荷し、10 分間発光を測定する（4 回目）。
カルシウムイオン濃度上昇は光電子増倍管(フォトマル)を用いて、カルシウムイオン濃度上昇にともなって発生するエクオリンの化学発光を検出する。

表 2.1-1　サクセスクライテリア

	クライテリア	現状	備考
Minimum Success	・軌道上で 8 日間程度生育した植物をセレンテラジン処理してエクリオン発光を計測でき、重力刺激受容に伴うカルシウム応答の有無が検討できること。 ・回収後の RNAlater 保存サンプルの遺伝子解析が可能であること。化学固定サンプルは観察可能であること。（MCA1 の局在、膜に正常にあるかないかを見ることは重要）	(1)達成 (2)少数だが有無が検討できた。	
Full Success	以下が実施でき、微小重力環境下での重力応答メカニズムを解明できること。 ・軌道上で 8 日間程度生育した植物をセレンテラジン処理し、エクリオン発光を計測でき、地上で見られる向き依存的な重力受容の特性を植物が獲得できるかあるいは重力受容に機能的異常がないかを解析できること。 ・回収後の RNAlater 保存サンプルの遺伝子解析の結果と化学固定サンプルの解析の結果、重力受容装置の機能的異常と形態的変化の関係が解明できること。	(1)遺伝子発現を行い、形態的変化との関係が解析できた。 (2)技術的な課題で発芽数が少なかったことから判定できなかった。	
Extra Success	フルサクセスを超え、生命全体にとって新しい重力受容機構の解明に結びつく。	高 CO2 環境での追加実験を行い遺伝子解析等を行った。	

2．2 体制

研究チーム体制を表 2.2-1 に、JAXA 支援体制を表 2.2-2 に記載した。

表 2.2-1. 研究チーム体制

	氏名	所属(注)	研究分担
代表研究者	辰巳仁史	名古屋大学大学院医学系研究科	研究全般の統括、重力応答の測定・解析
共同研究者	曽我部正博	名古屋大学大学院医学系研究科	測定と刺激装置の開発
	飯田秀利	東京学芸大学教育学部 生命科学分野	遺伝子改変植物の開発と維持、遺伝子発現解析
	古市卓也	名古屋大学エコトピア研究所 融合プロジェクト部門	植物の生育、重力応答の測定・解析
	豊田正嗣	Department of Botany University of Botany, Wisconsin-Madison	植物の生育、重力応答の測定・解析

(注) 所属はフェーズ移行当時

表 2.2-2. JAXA の支援体制

氏名	所属(注)	分担
谷垣　文章	JAXA 宇宙環境利用センター	研究コーディネーター
矢野　幸子	JAXA 宇宙環境利用センター	研究コーディネーター
福井　啓二	日本宇宙フォーラム	研究コーディネーター
嶋津 徹	日本宇宙フォーラム	研究コーディネーター
伏島　康男	日本宇宙フォーラム	研究コーディネーター
鈴木　ひろみ	日本宇宙フォーラム	研究コーディネーター

(注) 所属はフェーズ移行当時

JAXAの体制が各フェーズで充分に機能し、役割を果たしたと考えられる。組織個人レベルでそれぞれがベストを尽くして、宇宙実験に取り組んだ。特段問題はないと思われる。ただし、ISS 内部の空気の組成の情報が事前に得られなかったことは今後の課題としておくのがよいと思われる。空気の組成は地上コントロール実験をデザインするときに必要であり、ISS 内部と同じ空気の組成で地上コントロール実験が ISS 実験と同時に行われるのが科学研究としては好ましいと思われる。

2．3 スケジュール

本テーマは、2010 年 3 月に、船内実験室第 2 期後半期間候補テーマとして採択された。

その後、実験準備調整を行い、2012 年 8 月 28 日に外部評価、2012 年 10 月 4 日に内部評価、が開催され、運用準備フェーズへの移行が承認された。

軌道上実験は 2014 年から 2016 年にかけて実施された。実験実施スケジュールを、表 2.3-1 に示す。フェーズ移行時の計画では、2014 年度に培養実験（Run 1）実施、2015 年度にフォトン計測実験（Run 2-1、2-2）実施であったので、ほぼ予定通りであったが、以下に示すトラブルにより Run 1 の再実験（Run 3）を実施したため、軌道上実験終了は予定より約半年程度遅れとなった。

表 2.3-1　軌道上実験実施スケジュール

Run	1	2-1	2-2	3
実験内容	栽培実験	フォトン計測実験		栽培実験
打上げ機	Space X　4 号機	HTV 5 号機		Space X　8 号機
打上げ日	2014.9.21	2015.8.19		2016.4.9
播種 1）	2014.10.1	2015.10.1	2015.10.29	2016.4.20
培養開始	2014.10.3	2015.10.2	2015.10.30	2016.4.22
培養終了	2014.10.13	－	－	2016.5.2
アルデヒド固定 2）	2014.10.17	－	－	－
帰還	2014.10.26	－	－	2016.5.12
セレンテラジン処理	－	2015.10.14	2015.11.11	－
セレンテラジン抜取 フォトン計測開始	－	2015.10.15	2015.11.12	－
上下反転	－	2015.10.16	2015.11.13	－
フォトン計測終了	－	2015.10.16	2015.11.15	－

1）　種子を貼付したオブラートを寒天培地上に置いた後、冷蔵で 1-2 日保管してから培養を開始する。

2）　アルデヒド固定用の器具のパーツの紛失があり、予定通りアルデヒド固定が出来なかった（サンプルを冷蔵で 4 日保管した後に実施）。このため、Run3（Run1 の再実験）を実施した。

3. 実験準備・運用

本テーマ実施に当たっては、可能な限り既開発品・市販品を使用することとした。例えば植物体を培養する容器は、市販のタッパーウェアを使用した。

植物栽培装置は、Space Seed 実験で使用した植物栽培供試体（Plant Experiment Unit: PEU）を再使用することとしたが、容器のサイズが Space Seed と本テーマでは異なるため、最小限の改修を行った。

また、フォトン計測のための供試体を新規に開発した。フェーズ移行時点で概念検討は終了しており、フェーズ移行（2012 年 10 月）後に開発着手、2014 年 10 月に開発完了審査を実施して開発を完了した。その後、植物体を使用した試験を経て、2015 年 8 月に打上げを行った。

フォトン供試体の写真

4. 実験結果および成果

4.1 微小重力環境において発芽、生育させたシロイヌナズナ幼植物における形態形成と遺伝子発現の解析

ISS において寒天培地上に播種したのち、10 日間を経て発芽、生育させたシロイヌナズナ幼植物について、軌道上で化学固定（PFA+GA 処理）、RNA 保存処理（RNAlater 処理）した試料を回収し、地上での解析を実施した。

①PFA＋GA 固定サンプル

1)共焦点顕微鏡（Mca1GFP）での観察結果

・地上1G は、Mca1 が細胞壁の膜近傍に観察されるが、ISS1G、ISS μ G の順番で原形質分離が起きており、細胞全体が蛍光観察された。また、通常、細胞壁直下に存在するアクチン繊維も、原形質分離が生じている結果、分布に変化が見られた。その原因の詳細は不明である。

2)実体顕微鏡での観察結果

・根は、メッシュに絡みつくことは無く、メッシュを通り抜けた先の寒天の中でコイル状態になっていた。原因は不明であるが、ストレス等など何らかの影響でオーキシンの分布などに変化が生じ、その結果、原形質分離が生じたというストーリが考えられる。

3)地上部の形態観察

ISS において栽培された試料では共通して、地上 1G 区と比較して葉柄が長くなっていた。

②RNAlater 処理サンプル

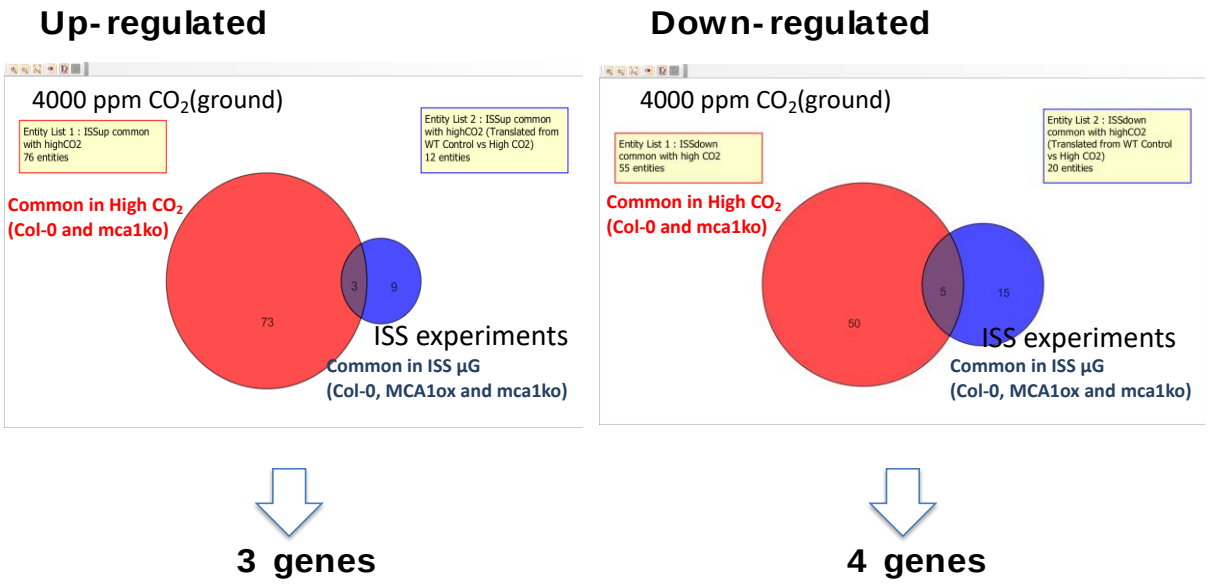
固定試料から調整した mRNA を用いてマイクロアレイ解析を実施した。試料は野生型シロイヌナズナ（wt 株）、MCA1 欠損株（mca1ko 株）、MCA1 過剰発現株（MCA1ox 株）の3種であり、栽培環境は地上対象試験（地上 1G）、ISS 内における微小重力環境（ISSμG）、擬似 1G 環境（ISS1G）の3条件である。地上1G を基準として、ISSμG または ISS1G 環境で栽培した試料において発現亢進が見られたマーカー数を以下の表に示す。

		ISS−μG	ISS−1G	both	μG−Specific (WT)	1G−Specific (WT)
up−regulated (>1.5 fold)	WT	243	413	156	87	257
	MCA1ox	424	525	183	241	342
	mca1ko	916	891	645	271	246

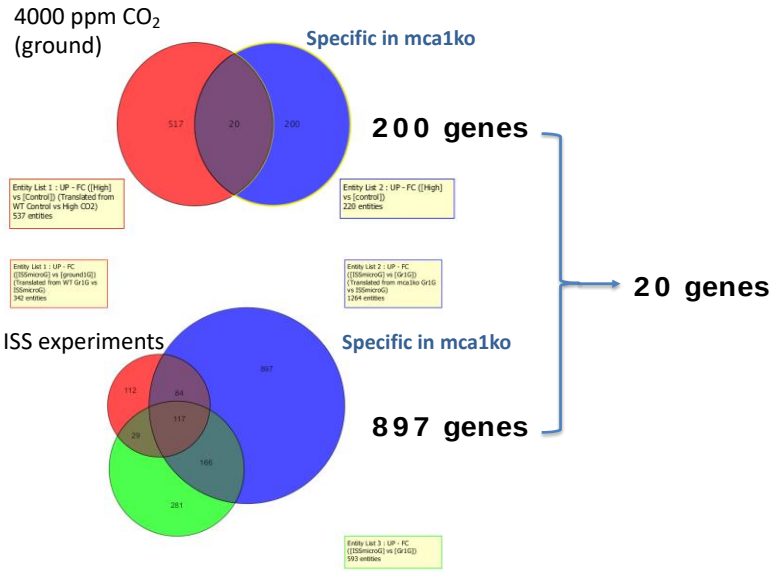
表に示すとおり、いずれの栽培条件においても発現亢進された遺伝子数は mca1ko 株で最も多く、wt 株で最も少ないことが示された。発現抑制された遺伝子群についても、その遺伝子数には同様の傾向が見られた。重力屈性を担う植物ホルモンであるオーキシンに対する応答に関連した遺伝子群の発現変動も見られたが、ISSμG 特異的に発現する遺伝子、ISS1G 特異的に発現する遺伝子ともに数が多

く、本実験結果のみの解析では、重力センサー候補分子の特定は困難な状況にある。ISS における栽培では微小重力に加えて放射線、高 CO_2 など複合的なストレスが存在するため、重力センサーの下流で機能すると考えられる酵素、転写因子などの特定には、ストレス要因毎に発現変動する遺伝子の絞り込みが必要である。

Gene Ontology 解析をおこなったところ、嫌気性呼吸系（低酸素状態）に関連した遺伝子群の発現上昇が3株に共通してみられた。また、mca1ko 株特異的に、病原菌感染応答に関連した遺伝子群の発現上昇が ISSμG、ISS1G 区に共通してみられた。そこでモデル実験として、これらに対応する遺伝子の絞り込みを試みることにした。栽培試験時における ISS 内の CO_2 濃度は 4,000 ppm 程度であったことから、同程度の高 CO_2 環境において栽培した試料（wt 株および mca1ko 株）を用いたマイクロアレイ解析を行い、差分比較により、CO_2 応答、病原菌応答に関与すると見られる遺伝子の絞り込みを行った。



ISSμG において3株で共通して発現亢進、発現抑制が見られるマーカーについて、高 CO_2 環境において栽培した2株で共通して発現変動するマーカーとの重ね合わせを行ったところ、3遺伝子の発現が亢進し、4遺伝子の発現が抑制されることを見出すことができた。

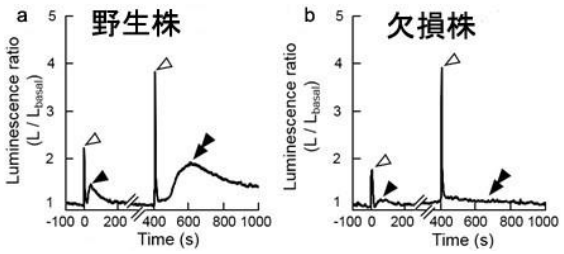


ISSμG および地上高 CO_2 環境において栽培した mca1ko 株で特異的に発現亢進するマーカーの重ね合わせを行ったところ、20 遺伝子が共通して発現亢進することが見出された。20 遺伝子には病原菌感染応答に関与することが報告されている遺伝子が含まれていた。Ca^{2+}シグナルを指標とした検証試験においても、高 CO_2 環境において栽培した mca1ko 株では病原菌感受性が亢進されることが示された。これらの結果から、ISS 同様の高濃度 CO_2 環境を構築し、宇宙実験の結果と重ね合わせを行うことで、高濃度 CO_2 環境における栽培の試行回数を増やすことにより、ISS 内で高濃度 CO_2 に応答して発現変動する遺伝子の絞り込みを行うことができたと云える。

重力感知における MCA1 の役割を明らかにするため、1G 環境において MCA1 依存的に発現する遺伝子を探索した。地上 1G において MCA1ox 株で wt 株よりも発現亢進しているマーカーとして 426 個を抽出したのち、ISSμG において wt 株、MCA1ox 株で発現が抑制されているものの、mca1ko 株では抑制がみられないマーカーとして 35 個を抽出した。その重ね合わせを行うことで、候補として2遺伝子が見出された。しかしながらそのいずれも重力応答との関連性は見出されず、そのほかの解析手法においても、有力な候補を見出すには至らなかった。そこで、旋回腕装置を用いた過重力環境における検証試験を行うこととした。

〈旋回腕実験〉

チャネル分子 Mca1 遺伝子の正常発現植物および欠損植物を JAXA 宇宙実験棟で培養する。これら植物を旋回腕で生み出される 1G、2G、3G、4G、5G の環境の下で手作りの装置を旋回腕にとりつけ回転刺激を行う。植物の重力刺激応答は細胞内カルシウムイオン濃度の上昇である。このカルシウム濃度上昇は、植物に予め導入しておいたエクオリンの発光を引き起こす。この発光は実験装置にとりつけたフォトマルで測定する。重力応答の反応時間は約 5 分である。チャネル分子 Mca1 遺伝子の正常発現植物および欠損植物に対して、上記の実験を繰り返し、反応を記録分析する。その結果、これまで知られていた回転の応答および重力方向に対する植物の向きの変化による応答に加えて、重力方向を変化し、その後重力方向をもとの位置に戻した時に、緩やかな時間経過をするカルシウム濃度上昇反応が新たに見つかった。



図未公開データ。エクオリン導入シロイヌナズナからの 細胞内カルシウム濃度変化の測定。a、野生株では最初の回 転刺激（白矢頭）および再回転（二つ目の白矢頭）でカル シウムイオンの濃度が上昇している。再回転の時のカルシ ウム応答は時間経過が緩やかである（二重矢頭で示す）。b、 同様の実験を Mca1 欠損株で行う。二重矢頭で示すゆるやかなカルシウム応答が消失している。

この緩やかな時間経過をするカルシウム濃度上昇反応が Mca1 機械受容カルシウムチャネルを消失したシロイズナズナでは見られなくなった。Mca1 機械受容カルシウムチャネルを消失したシロイズナズナに Mca1 を発現させると反応が回復したことから、Mca1 は緩やかな時間経過をするカルシウム濃度上昇反応にかかわる重要な重力の受容装置に含まれていることが示唆された。これは、長らく不明であった重力受容にかかわる機械受容チャネルがみつかったことを意味しており重要な研究上の進歩であると考えられる。

＜ミニマムサクセス＞達成度：○

回収後の RNAlater 保存サンプルは遺伝子解析が可能であること。化学固定サンプルは観察可能であること。

→RNAlater 保存サンプルはマイクロアレイによる解析が可能であり、化学固定サンプルは原形質分離による Mca1、アクチンの分散が確認できた。

＜フルサクセス＞達成度：○

回収後の RNAlater 保存サンプルの遺伝子解析の結果と化学固定サンプルの解析の結果、重力受容装置の機能的異常と形態的変化の関係が分かること。

→遺伝子発現解析は未だ進行中であるものの、旋回腕試験を用いることで重力感知における MCA1 の役割を明らかにすることができた。化学固定サンプルの観察においては、機能的異常と形態的変化(コイル状の根、アクチン、Mca1-GFP の分布の変化)の関係を解析可能と考える。

＜仮説反証・予想外の実験結果＞

宇宙実験終了後に実施した地上対照実験において、高 CO_2 環境でも葉柄が長くこと、さらに長期栽培試験により、花茎の形成および開花が促進されることを確認している。当初の予定にはなかった研究であるが、従来は微小重力環境による影響であるものと考えられてきた徒長に対して、ヒトが居住する閉鎖空間である宇宙船、宇宙ステーションに特有の高濃度 CO_2 が一定の寄与を果たすことを明らかにすることができた。

4.2 重力刺激応答性 Ca^{2+}シグナルの計測

実験の概要を記載する。

＜ミニマムサクセス＞達成度:○

(2)セレンテラジン処理し、エクリオン発光を計測でき、重力刺激受容に伴うカルシウム応答の有無が検討できること。

→Run2-1(1G 生育群)は、セレンテラジン処理し、エクリオン発光を計測でき、重力刺激受容に伴うカル シウム応答の有無が検討できた。

＜フルサクセス＞達成度:×

セレンテラジン処理し、エクリオン発光を計測でき、地上で見られる向き依存的な重力受容の特性を植物が獲得できるか否かあるいは重力受容に機能的異常があるかないかを判定できること。

→Run2-2 がデータ未取得により、Run2 の方はクオリティの観点から論文化は難しい。

5. 結言

ISS・きぼう利用ミッション「植物細胞の重力受容の形成分化とその分子機構の研究(略称:Plant Gravity Sensing)」により、以下の成果が得られた。

(1)微小重力環境で栽培したシロイヌナズナの根は近傍の支持体(メッシュ)に絡みつく。

(2)ISS レベルの高濃度 CO_2 環境では、植物の徒長が引き起こされる。

(3) Mca1 は緩やかな時間経過をするカルシウム濃度上昇反応にかかわる。

［参考文献］

・本文中で引用・言及した文献のリスト.

Furuichi, T., H. Iida, M. Sokabe, and H. Tatsumi. 2012. Expression of Arabidopsis MCA1 enhanced mechanosensitive channel activity in the Xenopus laevis oocyte plasma membrane. *Plant Signal Behav*. 7:1022-1026.

Iida, H., T. Furuichi, M. Nakano, M. Toyota, M. Sokabe, and H. Tatsumi. 2013. New candidates for mechano-sensitive channels potentially involved in gravity sensing in Arabidopsis thaliana. *Plant Biol (Stuttg)*.

Iida, H., T. Furuichi, M. Nakano, M. Toyota, M. Sokabe, and H. Tatsumi. 2014. New candidates for mechano-sensitive channels potentially involved in gravity sensing in Arabidopsis thaliana. *Plant Biol (Stuttg)*. 16 Suppl 1:39-42.

Nakagawa, Y., T. Katagiri, K. Shinozaki, Z. Qi, H. Tatsumi, T. Furuichi, A. Kishigami, M. Sokabe, I. Kojima, S. Sato, T. Kato, S. Tabata, K. Iida, A. Terashima, M. Nakano, M. Ikeda, T. Yamanaka, and H. Iida. 2007. Arabidopsis plasma membrane protein crucial for Ca2+ influx and touch sensing in roots. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*. 104:3639-3644.

Plieth, C., and A.J. Trewavas. 2002. Reorientation of Seedlings in the Earth's Gravitational Field Induces Cytosolic Calcium Transients. *Plant Physiol*. 129:786-796.

Tatsumi, H. 2011. Utilazation of microgravity conditions to examine the cellular process of gravity sensor formation and the molecular mechanism of gravity sensing in plants. *Nihon micro gravity ouyou gakkai*. 28:x.

Tatsumi, H., T. Furuichi, M. Nakano, M. Toyota, K. Hayakawa, M. Sokabe, and H. Iida. 2014a. Mechanosensitive channels are activated by stress in the actin stress fibres, and could be involved in gravity sensing in plants. *Plant Biol (Stuttg)*. 16:18-22.

Tatsumi, H., M. Toyota, T. Furuichi, and M. Sokabe. 2014b. Calcium mobilizations in response to changes in the gravity vector in Arabidopsis seedlings: Possible cellular mechanisms. *Plant Signal Behav*. 9.

Toyota, M., T. Furuichi, M. Sokabe, and H. Tatsumi. 2013. Analyses of a Gravistimulation-Specific Ca2+ Signature in Arabidopsis using Parabolic Flights. *Plant Physiol*. 163:543-554.

Toyota, M., T. Furuichi, H. Tatsumi, and M. Sokabe. 2007. Hypergravity stimulation induces changes in intracellular calcium concentration in Arabidopsis seedlings. *Adv.Space Res.* 39:1190-1197.

Toyota, M., T. Furuichi, H. Tatsumi, and M. Sokabe. 2008a. Critical consideration on the relationship between auxin transport and calcium transients in gravity perception of Arabidopsis seedlings. *Plant Signaling & Behavior*. 3:521-524.

Toyota, M., T. Furuichi, H. Tatsumi, and M. Sokabe. 2008b. Cytoplasmic calcium increases in response to changes in the gravity vector in hypocotyls and petioles of Arabidopsis seedlings. *Plant Physiol*. 146:505-514.

・本研究の成果に基づく論文等は、「成果リスト」（後述）に含める.

・本文中引用箇所に引用番号を提示の上、リストは引用順とする. 他、形式は任意.

[成果リスト]

・ミッション成果に基づく成果物のリスト.

・学術論文、出版、学会発表、工業所有権、獲得外部競争資金、取材・報道等パブリシティ、他.

学術論文

Masatsugu Toyota,, Takuya Furuichi, Masahiro Sokabe , and Hitoshi Tatsumi(2013) Analyses of a gravistimulation-specific Ca2+ signature in Arabidopsis using parabolic flights *Plant Physiology* 163: p543-54 2013 doi: http://dx.doi.org/10.1104/pp.113.223313

著書

Toyota, M. *, Furuichi, T. *, and Iida, H. * (2017) Molecular Mechanisms of Mechanosensing and Mechanotransduction. *In*: Plant Biomechanics. (Eds. Geitmann, A. and Gril, J.) Springer, 375-397.
*These authors contributed equally to this work.

学会発表

日本植物学会第 83 回大会(2019) 9/16 東北大学 川内キャンパス 仙台
宇宙から識る植物科学 ● オーガナイザー 宮沢 豊(山形大・理) 曽我 康一(大阪市立大・院・理)
2aSC01 シロイヌナズナの重力受容の分子機構を探し求めて
辰巳 仁史(金沢工業大・バイオ・化学部・応用バイオ学科)

古市卓也、中野正貴、豊田正嗣、矢野幸子、笠原春夫、鎌田源司、飯田秀利、曽我部正博、辰巳仁史「植物の重力感知・適応におけるカルシウムシグナルの役割」日本宇宙生物科学会第 30 回大会, 平成 28 年 10 月, 名古屋

Furuichi, T. (2017) Impact of Environmental Stresses in International Space Station (ISS) on Plant Growth and Developments. 第 58 回日本植物生理学会年会, 平成 29 年 3 月, 鹿児島

古市卓也(2018) 国際宇宙ステーションにおける超高濃度CO2環境が植物の成長と発育に及ぼす影響. 第59回日本植物生理学会年会, 平成30年 3 月, 札幌

古市卓也、松波志帆、加藤彩、中澤映李加、長尾由依、藤田博子 (2019) 国際宇宙ステーションにおける超高濃度CO2環境下での植物の生育改善. 第60回日本植物生理学会年会, 平成31年 3 月, 名古屋

獲得外部競争資金

辰巳仁史(代表)AMED プライム 平成 28 年−令和1年年度
アクチン線維がメカノセンサーとして働くメカニズムの解明 37,000 千円

辰巳仁史(代表). 基盤研究C 期間(年度) 平成27,28,29 年度、
研究課題名 アクチン線維切断促進因子AIP1の一分子イメージングによる切断解析
研究経費 420万円

辰巳仁史(代表) 基盤研究C 期間(年度) 平成30,31,32 年度、
研究課題名 偏光と超高解像度顕微鏡でアクチン線維が張力センサーとして働くメカニズムを解明する330万円

古市卓也(代表)平成 28−29 年度文部科学省 科学研究費補助金 新学術領域研究(研究領域提案型)「宇宙に生きる:宇宙からひも解く新たな生命制御機構の統合的理解」公募研究「微小重力、閉鎖空間における農作物生産を支える要素基盤の形成」4,800 千円

以 上

2020年度 ISS・きぼう利用ミッション科学成果評価結果

植物細胞の重力受容装置の形成分化とその分子機構の研究
(Plant Gravity Sensing)
研究代表者 辰巳仁史(金沢工大学)

総合評価

B: 目標の一部を達成した(ミニマムサクセス相当).

重力刺激受容に伴うカルシウム応答について検討することができたという点で、ミニマムサクセスを達成した。一方、Mca1が重力受容チャネルであるという前提にも拘わらず、遺伝子発現解析が充分に行われていない。また、Run3の結果が充分に示されていない。本研究の目標である、植物の重力受容メカニズムの解明という視点においても、報告書に具体的なデータが示されておらず、定性的な議論に終わっている。また、学術論文としての成果公表も行われていない。

大きなリソースを投入した宇宙実験の結果として、得られたデータを取り纏め、論文などの形で記録・公表することを強く推奨する。また、Mca1とカルシウム濃度上昇反応との相関の可能性など、意義ある指摘も行われており、今後の発展的研究について検討することが望ましい。

2020年8月

きぼう利用テーマ選考評価委員会(生命医科学分野)

別紙1-3

ＩＳＳ・きぼう利用ミッション

「植物細胞の重力受容の形成分化とその分子機構の研究（略称）」

研究成果概要書

代表研究者；辰巳仁史（金沢工業大学・バイオ・化学部・応用バイオ学科）

２０２０年1月10日

1）研究成果

重力受容の分子メカニズムの解明は宇宙において重力が関わる諸問題に対する回答の糸口を与えるだけではなく、地上における重力受容に関わる生命現象を理解し人類に役立てる意味でも大きな意義がある。

重力方向の変化は細胞の歪みや細胞内小器官の偏在に強い影響を与えることが知られている。このような重力方向の変化による細胞の変形に対するセンサーとして最も有力な分子は機械刺激受容性 Ca^{2+}透過チャネルである。その中でもチャネル分子 Mca1 は重力受容に関わるチャネルの最も有力な候補である(Nakagawa et al., 2007)。本研究の目的は、重力受容のための分子装置が無重力条件下で組み立てられるかどうか、また組み立てられた重力受容装置の仕組みはどのようになっているのかを解明することである。また ISS 軌道上の微小重力環境で重力受容システムや細胞の植物の形態形成や生命維持機能がどのような影響を受けるかを検討することである。

ISSでのシロイズナズナの幼植物における重量刺激によるカルシウム応答の有無測定はできたが、計測対象の植物が数本のみであり、小さい信号の変化は見えるが、科学的に議論する信号の大きさではなかった。

遺伝子解析：ISS において寒天培地上に播種したのち、10 日間を経て発芽、生育させたシロイヌナズナ幼植物について、軌道上で化学固定（PFA+GA 処理）、RNA 保存処理（RNAlater 処理）した試料を回収し、地上での解析を実施した。ISSμG 特異的に発現する遺伝子、ISS1G 特異的に発現する遺伝子ともに数が多く、本実験結果のみの解析では、重力センサー候補分子の特定は困難な状況にある。

地上1G は、Mca1 が細胞壁の膜近傍に観察されるが、ISS1G、ISS μ G の順番で原形質分離が起きており、細胞全体が蛍光観察された。また、通常、細胞壁直下に存在するアクチン線維も、原形質分離が生じている結果、分布に変化が見られた。根は、メッシュに絡みつくことは無く、メッシュを通り抜けた先の寒天の中でコイル状態になっていた。

エキストラの成果としては ISS の環境が高 CO2 であったので、高 CO2 の影響について研究に貢献できる可能性がある。ISSμG および地上高 CO_2 環境において栽培した mca1ko 株で特異的に発現亢進するマーカーの重ね合わせを行ったところ、20 遺伝子が共通して発現亢進することが見出された。

一方で上記の遺伝子解析から重力受容に関わる分子の有力な候補を見出すには至らなかった。そこで、旋回腕装置を用いた過重力環境における検証試験を行うこととした。旋回腕による過重力環境での実験から、Mca1 は重力の受容装置に含まれており、緩やかな時間経過をするカルシウム濃度上昇反応にかかわることを示唆するデータが得られた。

Summary report of the ISS-Kibo utilization mission,

"Utilization of the micro gravity condition to examine the cellular process of formation of the gravity sensor and the molecular mechanism of gravity sensing（Plant Gravity Sensing）"

Principal Investigator; Hitoshi Tatsumi（Kanazawa Institute of Technology）

Jan.10th, 2020

［英文］

Gravity is a critical environmental factor affecting the morphology and functions of organisms on Earth. Plants sense changes in the gravity vector (gravistimulation) and regulate their growth direction accordingly.

Plants exhibit cytoplasmic calcium concentration ($[Ca^{2+}]_c$) increases in response to a variety of endo- and exogenous signals such as phytohormones, temperature and touch, and the mechanisms of which have been extensively investigated. However, few studies have assessed the relationship between $[Ca^{2+}]_c$ increase and gravistimulation, because gravity is a ubiquitous force and difficult to control on Earth.

In *Arabidopsis thaliana* seedlings, gravistimulation, achieved by rotating the specimens, is known to induce a biphasic increase in cytoplasmic calcium concentration ($[Ca^{2+}]_c$). Based on kinetic and pharmacological analyses, the first and second $[Ca^{2+}]_c$ increases appear to be related to rotation and gravistimulation, respectively, and are mediated by distinct molecular mechanisms. However, the molecular mechanism of the $[Ca^{2+}]_c$ increase by gravistimulation has not been identified and its differentiation in seedling is totally unknown. Recent our preliminary experiments suggest that a certain putative mechanosensitive channel is involved partially in the $[Ca^{2+}]_c$ increase by gravistimulation. It is most likely from our results that the channels are linked to the actin filament tethered with high and dense objects e.g., amyloplasts, the gravistimulation induces sedimentation of the amyloplasts mechanically, and activates the channels.

In the proposed research plan, *Arabidopsis thaliana* seeds are plated and sprouted in the Japanese Experiment Module (JEM, dubbed as *KIBO*) under the micro-gravity conditions. These seedlings are gravistimulated by centrifugation to test whether the gravisensing complex mechanism (i.e., amyloplasts-actin-filaments-the channels) is formed under micro-gravity conditions. The same gravistimulation will be applied to the channel knockout seedlings and the channel over-expressing seedlings to examine the role of the channel in the gravisensing process. If the channel is involved in the gravisensing processes, the $[Ca^{2+}]_c$ increase will be diminished in the knock out seedlings, and by contrast the $[Ca^{2+}]_c$ increase will be augmented in the over-expressing seedlings. The data obtained in ISS *KIBO* module showed very small $[Ca^{2+}]_c$ increase. However, the number of specimen and data were too small to proceed the further analysis.

The specimen was treated with RNAlater Stabilization Solution and returned to the earth. RNA array analysis has been done. The RNA was extracted from whole seedlings and used for the transcriptome analyses. A comparison of micro-g and 1g spaceflight samples with 1g ground controls identified 200-300 genes that were differentially regulated. However, these numbers are too large to identify the molecule that is responsible for the gravity sensing in the plant.

$[Ca^{2+}]_c$-increases triggered by rotating Arabidopsis seedlings under 1–5 *g* conditions were also investigated with swing arm centrifugation machine in Jaxa (Tsukuba). With a backward rotation from upside-down to right-side-up position, a novel, "very slow" $[Ca^{2+}]_c$-increase in addition to the biphasic $[Ca^{2+}]_c$-increase was found and the kinetics of the increase was analyzed in this study.

ISS・きぼう利用ミッション
「宇宙環境を利用した植物の重力応答反応機構および姿勢制御機構の解析（Auxin Transport）」
研究成果報告書

代表研究者：上田 純一（大阪府立大学大学院理学系研究科）

2020 年 3 月 2 日

1. 緒言

陸上植物（以下、「植物」）の成長と発達は、光、重力、温度、水分状態、気体成分、接触などの周囲の環境要因の影響を受けている。運動性を有する動物とは異なり、動くことが出来ない植物のライフサイクルにおける各生理的過程は、重力によって大きな影響を受けると考えられる。したがって、植物は地上の重力刺激に適応あるいは応答するためのさまざまなメカニズムを獲得している。重要な重力応答の一つは重力抵抗性である。これにより、植物は重力に逆らって成長することができる。植物は、細胞壁の物性を堅固にすることにより丈夫な体を構築している。他の特徴的な重力応答は重力屈性である。これは、重力ベクトルによって誘導される成長であり、植物器官をその機能に適した位置に空間的に配置する。すなわち、その地上部は光を効率的に捕捉するために上方に（または重力ベクトルに対して負に）、地下部は土壌から水とミネラルを吸収し、植物体を土壌中にしっかりと保持させるために、下方に（または重力ベクトルに対して正に）成長する。

植物の成長と発達は、植物ホルモンや他の植物成長物質の動態によって制御されている。その中でも、代表的な植物ホルモンのオーキシン（インドール-3-酢酸：IAA）は、細胞の伸長、頂芽優勢、発根、維管束のパターン形成などの複数の生理的過程の調節に重要な役割を果たしている。主に茎頂で生合成されたオーキシンは、地上部では中心柱を通って根端に向かって輸送され、その後、オーキシンの噴水モデルとして知られるとおり、対称的な方法で特定の根端細胞にリダイレクトされ、根伸長部域に向かって移動する。このユニークな極性方向へのオーキシンの輸送は、「オーキシン極性移動」と呼ばれており、膜拡散と植物の軸性に沿ったキャリアーを介したオーキシン独特の移動形態であり、それによって植物のさまざまな発生・成長過程を制御するオーキシンの勾配を作り出している【1】。

オーキシン極性移動は、主にオーキシン取込みキャリアーとしての AUX1 タンパク質【2, 3】と排出キャリアーである PIN タンパク質などの細胞膜に局在する機能タンパク質によって制御されていると考えられている【4〜7】。特に排出キャリアーである PIN タンパク質は、研究代表者らのシロイヌナズナ（*Arabidopsis thaliana*）の *pin* 突然変異体の研究によって発見され、実際、*pin* 突然変異体ではオーキシン極性移動が低下していることが示された【4, 8】。シロイヌナズナでは、AtPIN1 がオーキシン極性移動に基本的に重要なタンパク質であることが示されている。これらの PIN タンパク質は分泌小胞の機能によって細胞膜の基底部に特異的に局在することから、PIN タンパク質はオーキシン極性移動に不可欠であると考えられている【3, 4】。

双子葉植物のエンドウ（*Pisum sativum* L.）では、3 つの PIN 遺伝子、*PsPIN1*、*PsPIN2* および *PsPIN3* が分離されている【9〜11】。単子葉植物のトウモロコシ（*Zea mays* L.）では、4 つの *ZmPIN1* サブファミリー遺伝子、すなわち *ZmPIN1a*、*b*、*c*、および *d* が同定されている【12〜14】。AtPIN1 に対して作製された抗体を用いた実験から、ZmPIN1 は、一部の組織の細胞膜の極性側および非極性側に局在化していること、胚乳の組織細胞の内膜に蓄積することが示された【13〜15】。Gallavotti らは、ネイティブに発現した内因性 ZmPIN1a タンパク質を発現するトランスジェニック植物を用いた実験から、栄養成長中および生殖発生中のすべてのトウモロコシの分枝イベントが、ZmPIN1a タンパク質の活性化を通じて、オーキシンに対する応答反応を最大にすることによって調節されることを示唆した【16】。彼らはまた、ZmPIN1a タンパク質の機能は、シロイヌナズナの *pin1-3* 突然変異体を rescue できたので AtPIN1 のそれ

と同様であることを示している。

重力刺激が植物の成長と発達にどのように影響するかを明らかにするためには、過重力環境とともに、宇宙微小重力（宇宙 μg）環境などの重力刺激のない環境の利用が最も重要で有用な研究手段である。現在まで、スペースシャトル（STS）や国際宇宙ステーション（ISS）における宇宙 μg 環境下で成長した植物のさまざまな生理学的応答反応と植物ホルモン動態の変化やその成長に対する応答反応に関する研究が報告されてきた【17〜29】。この様な刺激のない環境下では、植物は「自発的形態形成」と呼ばれる成長を示す（【30】のレビュー参照）。最近では、自発的形態形成という用語は、無重力環境下での細胞内極性の確立と成長方向の決定を説明するために使用されるとともに【31, 32】、 3 次元（3D）クリノスタットでの擬似微小重力環境下で成長した植物の形態形成にも用いられている【33〜37】。3D クリノスタット上でオーキシン極性移動阻害剤の一つである 2,3,5-triiodobenzoic acid（TIBA）を与えると、地球上 1 g 環境下の場合と比較して、オーキシン極性移動が低下し、黄化エンドウ芽生え上胚軸の成長方向が変化すること【38, 39】、また、TIBA は PIN タンパク質の細胞膜への局在に深く関与していることが示されている【40〜43】。これらの事実を考えると、TIBA が宇宙 μg 環境下で植物の成長と発達を制御する場合、特にオーキシンキャリアータンパク質に関連する遺伝子発現とその産物の局在化を含むオーキシンダイナミクスに対する TIBA の影響を研究することは重要であると考えられる。

研究代表者らは、重力が植物の成長と発達に対してどの様な影響を及ぼしているかを明らかにするために、植物ホルモン動態の側面から、1998 年にスペースシャトル「ディスカバリー」を用いた植物宇宙実験（STS-95）を実施した。STS-95 宇宙実験では、実際、宇宙 μg 環境において黄化 Alaska エンドウ芽生え上胚軸および黄化 Golden Cross Bantam トウモロコシ幼葉鞘および中胚軸切片におけるオーキシン極性移動が影響されたので、オーキシン極性移動は重力の支配下にある現象であることを示した【44, 45】。宇宙 μg 環境下で成長した黄化 Alaska エンドウ芽生え上胚軸におけるオーキシン極性移動は、地上 1 g 環境下で成長した芽生えのそれより低いことが示された【44, 45】。しかしながら、黄化 Golden Cross Bantam トウモロコシ芽生えの幼葉鞘におけるオーキシン極性移動は、地上 1 g 環境よりも宇宙 μg 環境で大きな値を示した【44, 45】。同様の結果が、3D クリノスタット上の擬似微小重力環境下での実験においても示された【37, 44】。STS-95 宇宙実験と TIBA、*N*-(1-naphtyl)phthalamic acid （NPA）、9-hydroxyfluorene-9-carboxylic acid（HFCA）などのオーキシン極性移動阻害剤を用いた地上実験から、宇宙において認められる黄化 Alaska エンドウ芽生えの自発的形態形成時におけるオーキシン極性移動の低下は、自発的形態形成の結果ではなく原因であることが明らかになった【44, 46】。しかしながら何故黄化エンドウ芽生えと黄化トウモロコシ芽生えでは、宇宙 μg 環境下におけるオーキシン極性移動に相違があるのかについては、植物種、器官や組織の違い、およびオーキシン極性移動システムそのものの違いである可能性が考えられるが、その詳細については未だ明確ではない。

2. 研究計画

2.1 研究目標

今般、研究代表者らは、重力によって影響される植物の成長、発達ならびにそれに密接に関係しているオーキシン極性移動の重力制御メカニズムを分子レベルで明らかにするために、その排出キャリアーである PsPIN1 や ZmPIN1a をコードする遺伝子の発現とその産物の細胞内局在に焦点を当てて、ISS（NASA の運用命名法による運用名：Auxin Transport）における宇宙 μg 環境を利用した宇宙実験を行うことを計画した【47】。この目的のために、PsPIN1 や ZmPIN1a に対する新規な特異的ポリクローナル抗体を作製した【48, 49】。ここでは「Auxin Transport」宇宙実験における、宇宙 μg 環境下で生育した黄化エンドウおよび黄化トウモロコシの芽生えの成長と発達およびそれに密接に関連するオーキシン極性移動の詳細を明らかにするとともに、黄化エンドウ芽生え上胚軸細胞おける *PsPIN1* mRNA および黄化ト

ウモロコシ芽生え幼葉鞘細胞および中胚軸細胞における *ZmPIN1a* mRNA の発現に対する、また、PsPIN1 や ZmPIN1a タンパク質の細胞内局在に対する宇宙 μg 環境の影響を明らかにすることを研究の主たる目的とした。さらに、重力によって制御されるオーキシン極性移動における PsPIN1 および ZmPIN1a タンパク質の動態がどの様な役割を担っているのかについても解析することとした。また、宇宙 μg 環境下でオーキシン極性移動が影響されたことによって、これら黄化芽生えにおける内生植物ホルモン動態がどの様に変化するのかについても網羅的に調べることとした。これらの結果を踏まえて、重力による植物の姿勢制御のメカニズムを明らかにすることを最終の研究目標とした。

2.2　体制

当該宇宙実験の実施体制は表 1 のとおりである。

表 1.　Auxin Transport 宇宙実験の実施体制（順序不同）

実施体制	
研究責任者	
上田　純一	大阪府立大学大学院理学系研究科（現在名誉教授）
共同研究者・研究協力者	
宮本　健助	大阪府立大学高等教育推進機構
上田　英二	大阪府立大学大学院理学系研究科
岡　真理子	鳥取大学農学部
東端　晃	宇宙航空研究開発機構
鈴木　智美	宇宙航空研究開発機構
山﨑　千秋	宇宙航空研究開発機構
嶋津　徹	（財）日本宇宙フォーラム
佐野　ひろ美	有人宇宙システム株式会社
笠原　春夫	有人宇宙システム株式会社
鎌田　源司	（株）エイ・イー・エス、フューチャーデベロップメントディビジョン

2.3　スケジュール

当該宇宙実験が提案、採択され、さらに実施されるまでの時間的経過については図 1 に示すとおりである。

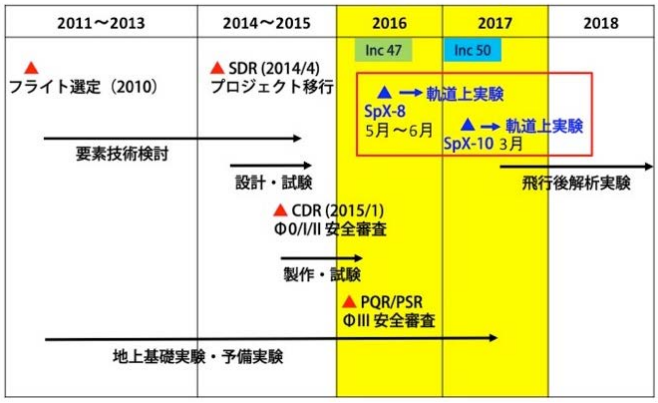


図 1.　Auxin Transport 宇宙実験が提案、採択され、さらに実施されるまでの時間的経過

3.　実験準備・運用

3.1 植物材料

Auxin Transport 宇宙実験で用いたエンドウ（*Pisum sativum* L. cv. Alaska）とトウモロコシ（*Zea mays* L. cv. Golden Cross Bantam）の種子は、それぞれ（株）渡辺採種場（宮城県）および紅果園（北海道）から入手した。

黄化エンドウ芽生えに対しては、アクリル樹脂製の「pea box」（幅 95 mm×D 奥行き 50 mm×高さ 63 mm、Pea Chamber）あるいは観察用窓をもつ「pea box」（幅 80 mm×D 奥行き 65 mm×高さ 55 mm、Observation chamber）を使用した（図 2）。いずれも天井に換気用の 4 つの穴（直径 1 cm）を開け、これを疎水性フルオロポア膜（MilliSeal; Merck Millipore, Tokyo, Japan）で覆った。「pea box」に正確にフィットするように、ロックウール（厚さ：16 mm、カルチャーマット、（株）日本ロックウール社製）を詰めた。地上において、各「pea box」に 12 個のエンドウ乾燥種子を種子がロックウールに完全に埋まるように、また、種子の胚軸（すなわち、胚軸と幼根を結ぶ線）がロックウールの表面に水平になるように埋め込んだ。これらの「pea box」は SpaceX-8 および SpaceX-10 に搭載され、それぞれ 2016 年 4 月 9 日および 2017 年 2 月 19 日に米国ケネディ宇宙センターから ISS に向けて打ち上げられた。

一方、黄化トウモロコシ芽生えに対しては、アクリル樹脂製「maize box」（幅 100 mm×奥行き 62 mm×高さ 150 mm、Maize Chamber）を使用した（図 2）。各「maize box」には通気用に正面に 4 つ、側面に 2 つの穴を開け、同じ疎水性のフルオロポア膜で覆った。種子の支持体としては、エンドウと同様のロックウールを用い、各「maize box」に 20 個の種子を、種子の胚軸がロックウール表面に対して垂直となるように正確に埋め込んだ。これらの「maize box」は SpaceX-10 に搭載され、2017 年 2 月 19 日に米国ケネディ宇宙センターから ISS に向けて打ち上げられた。

3.2　軌道上で植物材料を調製するための手順ならびにサンプル帰還のための手順

今般の宇宙実験は 4 つの Run で構成されている。日本時間の 2016 年 4 月 9 日に SpaceX-8 ミッションにおいて開始された最初の実験（Run 2 および Run 3-1 と Run 3-2）は、2016 年 5 月および 6 月に ISS Increment-47 で実施された。2017 年 2 月 19 日の SpaceX 10 ミッションでの実験（Run 1 および Run 4）は 2017 年 3 月に ISS Increment-50 で実施された。それぞれのサンプルは、それぞれ SpaceX-9 と SpaceX-10 に搭載された「Cargo Dragon Capsule」によって 2016 年 8 月 27 日および 2017 年 3 月 19 日に地上に帰還した。 ISS 搭乗員の作業時間の制約により、Run 2 および Run 3-1 と Run 3-2 の実験は、Run 1 の実験よりも早く実施された。

Run 1： 軌道上で宇宙飛行士が、3 個の「pea box」のエンドウ乾燥種子に水（Milli-Q 水、オートクレーブ）あるいは 30 µM の TIBA（Sigma-Aldrich, MO, USA）各 45 mL を給水後、細胞培養装置（Cell Biology Experiment Facility : CBEF）内の宇宙 µg と人工 1 g 環境を作出するコンパートメントに配置した。この様な環境下で黄化エンドウ芽生えを 3 日間（68 時間 10 分）暗闇で 23.5℃ で発芽および成長させた。実験終了時に写真を撮影した後、黄化エンドウの芽生えを、免疫組織化学解析用のサンプルを保存するために特別に設計された化学固定バッグ（Chemical Fixation Bag : CFB）を使用して固定液で固定した。その後、CFB はプラスチックの箱に保管され、ISS キャビンのプラス 2℃ 環境および実験室フリーザー（Minus Eighty-degree Celsius Laboratory Freezer : MELFI）のマイナス 95℃ で保存された。

Run 2： 上記の給水後、ISS の CBEF 内の宇宙 µg および人工 1 g 環境下、暗所、23.5℃ で 3 日間（74 時間、20 分）黄化エンドウ芽生えを成長させた。その後、英国の宇宙飛行士ティム・ピーク氏は、以下に詳述するように「Auxin tube」を使用してオーキシン極性移動実験を実施した（図 2）。

Run 3-1 および Run 3-2： 宇宙飛行士は、軌道上でエンドウ観察チャンバー（Observation Chamber）内の

乾燥エンドウ種子に 40 ml の水（Milli-Q 水、オートクレーブ）を給水し、CBEF 内の宇宙 μg および人工 1 g 環境下でビデオ測定実験ユニット（V-MEU）内暗黒中、23.5℃ で芽生えを育てた。 3 日（Run 3-1、74 時間 52 分）および 4 日（Run 3-2、95 時間 23 分）後、宇宙飛行士は各チャンバーを取り外し、培地サンプリングボックスを使用して各サンプルを固定し、その後、サンプルを-95℃ で保存するために MELFI に移した。 Run 3-2 では、インキュベーション中、2 日目から 4 日目まで、6 時間間隔で CBEF の V-MEU の CCD カメラによって植物の成長と発達を自動的に記録した。

Run 4： 軌道上で宇宙飛行士が各「maize box」に 120 mL の水（Milli-Q 水、オートクレーブ）を給水した後、これを Ziplock バッグに入れて、CBEF 内の宇宙 μg 環境下で芽生えを育てた。黄化トウモロコシ芽生えは、ISS の宇宙 μg 環境下、暗所、25℃ で 4 日間（96 時間 27 分）成長させた。写真を撮影後、いくつかの黄化トウモロコシの芽生えはオーキシン極性移動実験に供し、残りは免疫組織化学解析用のサンプルとして CFB で固定するか、MELFI で-95℃ で凍結した。

STS-95宇宙実験における黄化トウモロコシ芽生えを用いた実験結果を検証するために、地上対照実験を行った。免疫組織化学実験を実施するためにCFBで固定液を用いて固定された芽生えと、遺伝子発現および内生植物ホルモンレベルの分析のための芽生えは、それぞれ+ 2℃およびMELFI内-95℃で保存された。軌道上においてオーキシン極性移動実験を行った「Auxin tube」は、そのままの状態でMELFI内-95℃で保存された。これらのサンプルは、SpaceX-10によって運ばれた「Cargo Dragon Capsule」によって地球に帰還したが、その間およびその後も保管温度条件を維持するためにドライアイス詰めにされ、そのままの状態で研究室に送付された。サンプルの帰還および輸送中にサンプルの解凍は認められなかった。

宇宙実験で使用した器具、容器等を図 2 に示す。また軌道上運用実績については以下のとおりである。

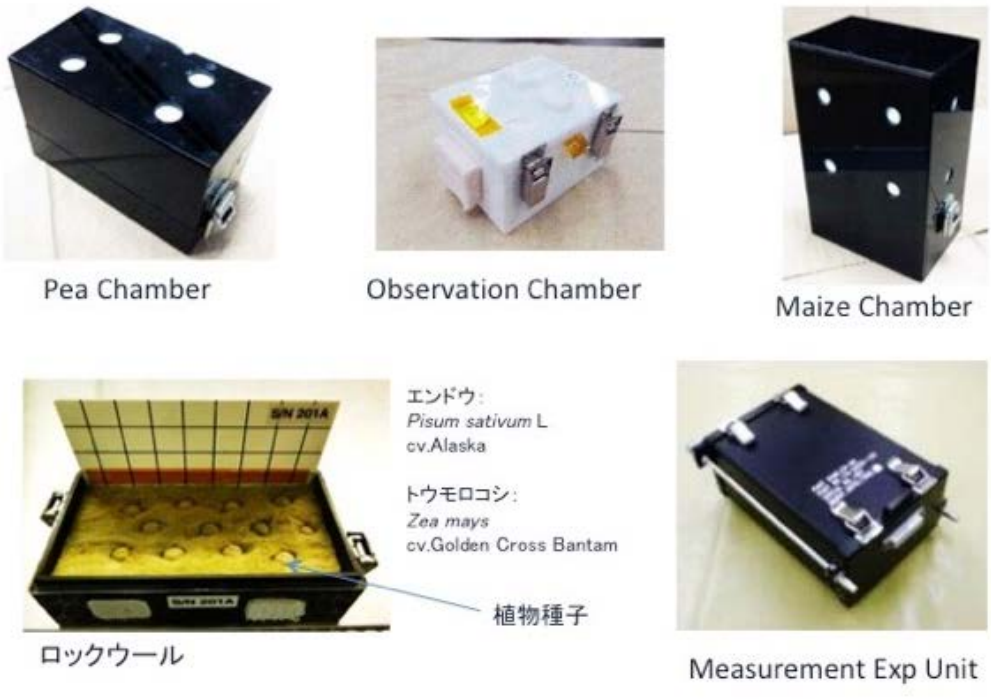


図 2.　Auxin Transport 宇宙実験で使用した主な装置と器具類

Auxin Transport 宇宙実験に関する軌道上運用実績

Run 2、Run 3　（日付は全て日本時間）

・打上げ：　Space X 8 号機　2016 年 4 月 9 日
　・Run2 培養開始：　2016 年 5 月 23 日
　・Run2 培養終了：　2016 年 5 月 26 日

　・Run3-1 培養開始：　2016 年 5 月 30 日
　・Run3-1 培養終了：　2016 年 6 月 2 日
　・Run3-2 培養開始：　2016 年 6 月 7 日
　・Run3-2 培養終了：　2016 年 6 月 11 日
・帰還：　Space X 9 号機　2016 年 8 月 27 日

Run 1、Run 4　（日付は全て日本時間）

・打上げ：　Space X 10 号機　2017 年 2 月 19 日
　・Run4 培養開始：　2017 年 3 月 7 日
　・Run4 培養終了：　2017 年 3 月 11 日
　・Run1 培養開始：　2017 年 3 月 12 日
　・Run1 培養終了：　2017 年 3 月 15 日
・帰還：　Space X 10 号機　2017 年 3 月 19 日

3.3 軌道上におけるオーキシン極性移動実験の手順

軌道上でのオーキシン極性移動実験は、以前に報告した方法【44, 45】に若干の修正を加えて実施された。地上で、2/100（v / v）に希釈した ^{14}C-IAA（インドール-3-酢酸、[1-^{14}C]IAA, 55 mCi / mmol, American Radiolabeled Chemicals Inc., St. Louis, MO, USA）を含むラノリン水溶液（30%, w/w）20μL を 1.5 mL エッペンドルフチューブの底に添加した（図 3）。

上胚軸の子葉側および反子葉側が識別できるように宇宙飛行士によって子葉側の上胚軸がシャーピーペンでマークされた。JAXA Stem Cutter を使用して 3 日齢の黄化エンドウ芽生えから上胚軸第 1 節間切片（長さ 20 mm）が切除された。放射性 IAA は切片の基底部側からは実質的に移動しないため【44】、切片の先端側を 1.5 mL エッペンドルフチューブの底の ^{14}C-IAA を含むラノリンに挿入した。結果的に ^{14}C-IAA が切片の先端側から取り込まれることになり、その極性移動が認められることになる。次に、19 時間キャビン温度で切片を含むエッペンドルフチューブを培養した後、極性移動状態をそのまま保持するために-95℃ の MELFI にこのチューブを移し固定した。

黄化トウモロコシ芽生えの地上部では、中胚軸よりも幼葉鞘のオーキシン輸送の活性が有意に高いことが分かっている【50】。そこで幼葉鞘および中胚軸の両方におけるオーキシン極性移動に対する宇宙 μg の影響を調べるために、幼葉鞘と節（幼葉鞘と中胚軸の間の接合部）を含む中胚軸からなる切片（長さ 20 mm）を用いることとした。 この様に調製した 4 日齢の黄化したトウモロコシの切片を、幼葉鞘側から放射性オーキシンが取り込まれるように、切片の幼葉鞘側をエッペンドルフチューブに挿入し、キャビン温度で 16 時間培養した後、MELFI の-95℃ で凍結して固定した。

地球への帰還後、ISS で既に凍結された飛行サンプルはドライアイスとともに冷凍ボックスに移され、その後、日本の研究室に輸送された。サンプルの帰還および輸送中にサンプルの解凍は認められなかった。

3.4　サンプル帰還後の地上におけるオーキシン極性移動解析手順

黄化エンドウ芽生えの上胚軸および中胚軸を有する切片におけるオーキシン極性移動は、すでに報告した方法【44, 45】を一部修正して行った。図 3 に、エンドウ上胚軸およびトウモロコシの地上部の切片におけるオーキシン極性移動の測定手順を示した。

凍結した黄化エンドウ芽生え上胚軸切片をドライアイス上で解凍することなく、子葉側と反子葉側に縦半分に慎重に分割した。放射性 IAA を含むラノリンに浸した部分を除いた後、各上胚軸切片を基底側から 5 つのゾーン（長さ 3 mm）に分割した。分割された上胚軸切片の小片は直接液体シンチレーションカクテル（UniverSol ESTM, MP Biomedicals, LLC, OH, USA）を含むバイアルに入れ、シンチレーションカウンター（2200CA, Packard Instrument, CT, USA）を用いて放射活性を測定した。切片の他端に移動した放射活性を移動した IAA の量とした。

一方、凍結黄化トウモロコシ芽生えの切片は、長さはほぼ 20 mm であったが、切片は節を含む中胚軸および幼葉鞘から成っていたので、放射性標識 IAA を含むラノリンに浸漬した幼葉鞘部分を除いた後、各切片は 7 つに分割した。この場合、節は zone 4 とし、中胚軸末端は zone 7 とした。軌道上実験での幼葉鞘と中胚軸の推定平均長はそれぞれ 6.9 mm と 13.1 mm であったので、幼葉鞘と中胚軸の同様の比率からなる 20 mm の切片を地上対照実験に用いた。

3.5　地上 1 g 環境下での対照実験

地上対照実験は、Run 1～Run 4 の ISS 軌道上実験と同じ手順およびその各タイムスケジュールに従って、JAXA 筑波宇宙センターならびに大阪府立大学において実施した。

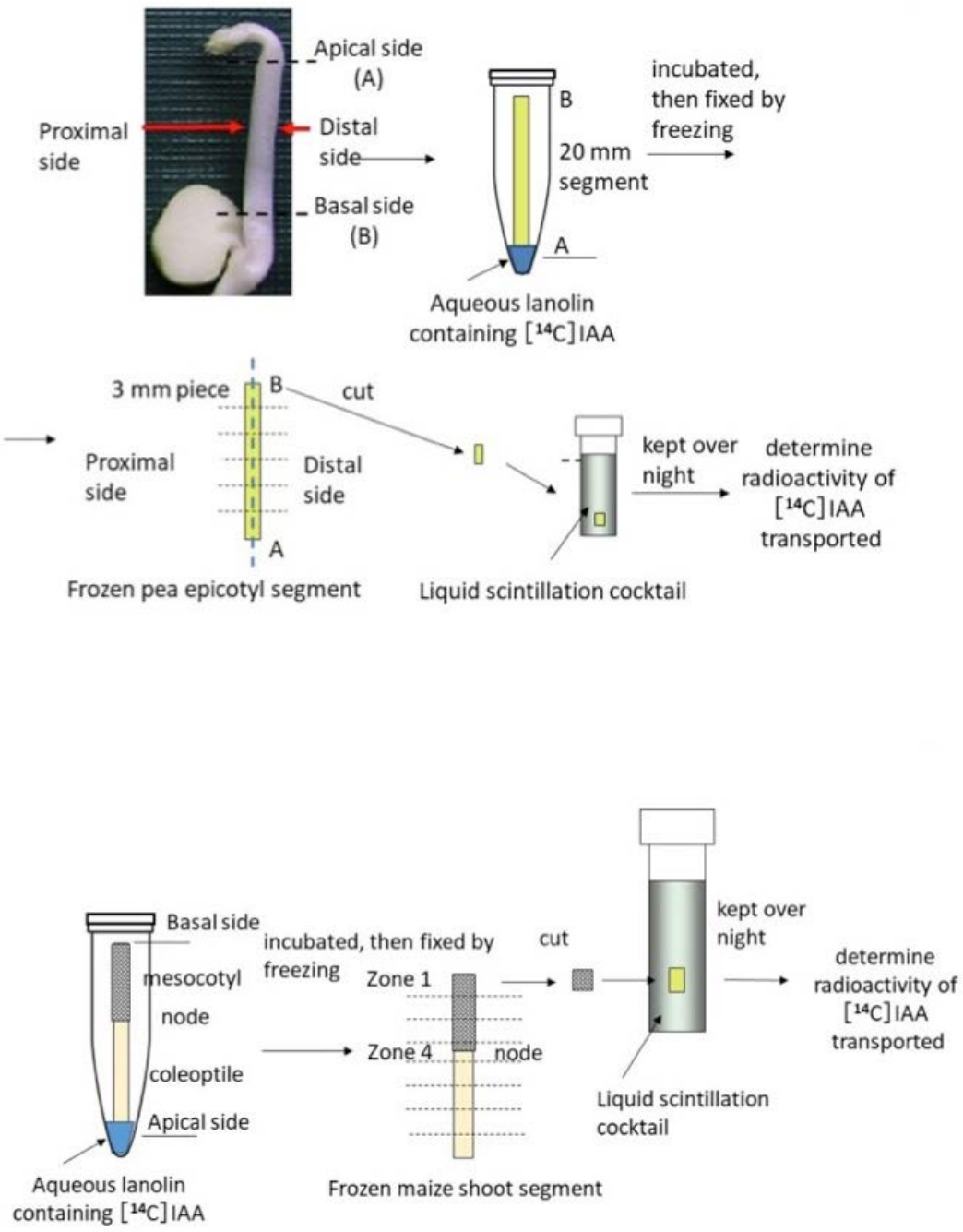


図 3.　黄化エンドウ上胚軸（上）および黄化トウモロコシ地上部（下）の切片におけるオーキシン極性移動の測定手順

3.6　免疫組織化学実験に用いる化学固定液の作製

3.6.1　化学固定の原理

当該宇宙実験の目的を達成するためには、飛行後、宇宙実験で得られた生物試料を、そのままの形態ならびに遺伝子発現およびタンパク質局在を保持した状態で地上に回収することが必要である。そのためには化学薬品を用いた化学固定が必要となる。化学固定液は、生物種や器官の違い（組織の硬さ、水・脂質の含有率等）、解析対象とする分子（遺伝子、タンパク質等）によって、最適な組成を選択する必要がある。化学固定液の種類は、アルデヒド系固定液、アルコール等を用いた有機溶剤固定液、金属イオ

ンを用いた化学固定液およびこれらを複合した化学固定液などが代表的なものである。アルデヒドや金属イオンの化学固定液は試料内のタンパク質を架橋することで分解・代謝を防ぐことができる。有機溶剤固定液は脱水作用によりタンパク質を析出させることで安定化させるが、同時に脱水による組織・細胞の収縮が生じるため、膨潤効果を有する酢酸を添加することがある。

3.6.2　宇宙実験における実験上の制約

宇宙実験において免疫組織化学解析に使用する化学固定液は用事調製する必要がある。化学固定液は、作製から試料の化学固定時まで長期間保存されると、分解や化学変化を起こすことで劣化し、その本来の機能が十分に発揮されない。一方、化学固定された試料も、数時間から長くとも 2 日後には、化学固定液から取出し、次の処理へと進む必要がある。試料の化学固定期間が長くなると、試料の過固定をもたらし、細胞構造の破壊や試料内のタンパク質の過度の架橋や析出による立体構造変化によって、十分な科学成果の取得が困難になる。したがって、宇宙実験の実施には、これらの制約を克服した実験系の構築が必須となる。

3.6.3　化学固定液候補の選択

これまでに植物試料を用いた免疫組織化学解析にて使用実績のある表 2 の AE50～FAA の 8 種類の化学固定液を対象とした。これらの化学固定液を用いた実験は、化学固定期間は最長 2 日間である。しかし、実際の宇宙実験を想定した場合、化学固定後の試料は地上に回収されるまでの間、化学固定液に浸漬された状態が継続する。宇宙実験試料の打上・回収に使用する Space X「Cargo Dragon Capsule」は約 1 ヶ月間の係留期間であり、地上に回収後に日本までの輸送期間を考慮した結果、試料を 1 ヶ月間、化学固定液に浸漬しても目的とするタンパク質の細胞膜における局在が解析できる化学固定液が必要である。

黄化エンドウ芽生えを、用事調製した 8 種類の化学固定液で 1 ヶ月間化学固定した後に、免疫組織化学法により、PsPIN1 の局在を解析した結果、アルデヒドや金属イオンを用いた化学固定液で得られた試料に比べ、有機溶剤を用いた化学固定液によって化学固定された試料においてその局在を解析することが可能であった。特に、化学固定液 AE50 で良好な結果が得られたため、AE50 を基本組成として、さらなる検討を重ねた。

表 2.　実験に供した化学固定液とその組成

固定液名称	組成
AE50	50% (v/v) ethanol, 5% (v/v) acetic acid
Carnoy	60% (v/v) ethanol, 30% (v/v) chloroform, 10% (v/v) acetic acid
Zinc Fixative	0.05% (w/v) calcium acetate, 0.5% (w/v) zinc acetate, 0.5% (w/v) zinc chloride, 1M Tris–HCl pH7.4
Zinc Formalin	3.7% (v/v) formaldehyde, 1.5% (w/v) zinc sulfate
PFA+GA	4% (w/v) paraformaldehyde, 0.25% (v/v) glutaraldehyde, 50mM sodium phosphate pH7.2
PFA	4% (w/v) paraformaldehyde, 50mM PIPES pH7.2, 5 mM $MgSO_4$, 5 mM EGTA
FNB	10% (v/v) formalin neutral buffer
FAA	3.7% (v/v) formaldehyde, 50% (v/v) ethanol, 5% (v/v) acetic acid
nAE50	50% (v/v) ethanol, 5% (v/v) acetic acid, 0.1% (w/v) Nonidet P-40
ndAE50	50% (v/v) ethanol, 5% (v/v) acetic acid, 0.1% (w/v) Nonidet P-40, 5% (v/v) DMSO
AM50	50% (v/v) methanol, 5% (v/v) acetic acid
nAM50	50% (v/v) methanol, 5% (v/v) acetic acid, 0.1% (w/v) Nonidet P-40
ndAM50	50% (v/v) methanol, 5% (v/v) acetic acid, 0.1% (w/v) Nonidet P-40, 5% (v/v) DMSO

3.6.4　化学固定液の組成改良

脂質が多く含まれる植物細胞を化学固定し、表層微小管の細胞骨格を免疫組織化学解析する際、ホルムアルデヒドベースの化学固定液に、組織浸透性を高めるために界面活性剤やジメチルスルホキシド（DMSO）を少量添加することで、良好な結果が得られることが知られている。そこで、AE50 に、界面活性剤として 0.1% Nonidet P-40 を加えた nAE50 および 0.1% Nonidet P-40 と 5% DMSO を加えた ndAE50 を新たに考案した（表 2）。

次に、これらの化学固定液を用事調製し、試料を 1 ヶ月間化学固定した後に、免疫組織化学法により、PsPIN1 の局在を解析した。その結果、茎の横断切片における目的のタンパク質の局在には差異が無かったが、縦断切片における根側の細胞膜に局在するシグナルは、AE50 よりも、nAE50 や ndAE50 のほうが良好であることが分かった。そこで、nAE50 と ndAE50 の 2 候補に絞り、2 種の優位性を決定することとした。

3.6.5　宇宙実験の実施と飛行後解析

Auxin Transport 宇宙実験における試料の化学固定に関するスケジュールを表 3 に示す。宇宙実験で使用した化学固定液の化学固定前の保管期間は 44 日および 40 日であった。黄化トウモロコシ芽生えの 2 次固定に対しては、地上予備実験では nAM50 が最適であったが、実際の宇宙実験サンプルに対しては過固定となったため、Carnoy を用いた。化学固定終了後は、直ちに、免疫組織化学解析用の処理へと移り、宇宙 μg 環境下における PsPIN1 および ZmPIN1a タンパク質の局在を解析した。

表 3.　Auxin Transport 宇宙実験の化学固定試料に関するスケジュール（日付は全て日本時間）

Run 1　黄化エンドウ芽生えを対象としたスケジュール

日付	内容	備考
2017 年 1 月 30 日	nAE50 化学固定液調製	
2017 年 2 月 19 日	SpaceX-10 号機打上	
2017 年 3 月 12 日	黄化エンドウ芽生え培養開始	
2017 年 3 月 15 日	黄エンドウ芽生え 1 次化学固定	使用前化学固定液保管期間：44 日間
2017 年 3 月 19 日	SpaceX-10 号機着水	
2017 年 3 月 27 日	化学固定試料 TKSC 着	
2017 年 3 月 28 日	1 次化学固定終了、新規調製 nAE50 化学固定液による 2 次化学固定	1 次化学固定期間：13 日間
2017 年 3 月 29 日	2 次固定化学終了、脱水作業	
2017 年 3 月 31 日	パラフィン置換	
2017 年 4 月 3 日	パラフィン包埋	

Run 4 黄化トウモロコシ芽生えを対象としたスケジュール

日付	内容	備考
2017 年 1 月 30 日	nAM50 化学固定液調製	
2017 年 2 月 19 日	SpaceX-10 号機打上	
2017 年 3 月 7 日	黄トウモロコシ芽生え培養開始	

2017 年 3 月 11 日	黄トウモロコシ芽生え 1 次化学固定	使用前化学固定液保管期間：40 日間
2017 年 3 月 19 日	SpaceX-10 号機着水	
2017 年 3 月 27 日	化学固定試料 TKSC 着	
2017 年 3 月 28 日	1 次化学固定終了、Carnoy 化学固定液による 2 次化学固定	1 次化学固定期間：17 日間
2017 年 3 月 29 日	2 次固定化学終了、脱水作業	
2017 年 3 月 31 日	パラフィン置換	
2017 年 4 月 3 日	パラフィン包埋	

3.7　全 RNA の抽出

ISS 軌道上で実施された Run 1、Run 2 および Run 3-1 の各実験から得られた凍結黄化エンドウ芽生え、Run 4 の実験から得られた凍結黄化トウモロコシ芽生えおよび地球上 1 g 環境下で成長した地上対照実験の各芽生えを同様に凍結し、RNA 抽出に使用した。

黄化エンドウ芽生えでは、先端のフック領域（芽生え先端から 0〜3 mm）と、上胚軸の子葉側と反子葉側（フックの下 3〜8 mm の領域）上胚軸を凍結芽生えから切り出した。黄化トウモロコシ芽生えについては、幼葉鞘の先端（0〜3 mm）、幼葉鞘の残存部、中胚軸、本葉、根の先端（0〜10 mm）および根の残存領域の 6 つの部域に分割した。各芽生えとも、それぞれの Run から得られた 3 本の凍結切片を Micro Smash MS-100 ビーズビーター（Tomy Seiko, Tokyo, Japan）を用いて 5,500 r.p.m で 20 秒間 4 回、磨砕遠心分離した。各ラウンド間では、氷上で 3 分間冷却した。

製品のプロトコールに従って、TRI 試薬（Sigma-Aldrich, MO, USA）を使用して、全 RNA を抽出した。トータル RNA の抽出および精製プロセス中は、DNase I（Takara Bio, Shiga, Japan）処理を行い、残留 DNA を除去した。得られた全 RNA はリアルタイム定量 PCR（qPCR）分析に供したなお、実験は n = 3 で実施した。

3.8　リアルタイム定量 PCR

Run 1、Run 2、Run 3-1の各RNAはExScript RT試薬キット（Takara Bio）で逆転写し、iCyclerサーマルサイクラー（Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA）を用いて増幅した。相補的DNA量は、SsoAdvanced Universal SYBR Green Supermix（Bio-Rad）を使用して測定した。蛍光モニタリングを装着したリアルタイムPCRは、PCR増幅用のプライマーペアを備えたLight Cycler 96リアルタイムPCRシステム（Roche Diagnostics, Switzerland）を使用して行った。各遺伝子に特異的なプライマーを設計し、リアルタイムPCRを行った。

PsPIN1（アクセッション番号：AY222857）については、forward：5'-TGTTTGGTGGACATGAATTTGG-3'および reverse：5'-TCTCTATGACCGTCCACTTTTCC-3;　PsDEAD-box（アクセッション番号：AY167670）は、forward：5'-TTGTGAACACCAGACGGAAAGT-3'およびreverse：5'-GGTCCATGTCTCCGTGTGTTG-3'とした。qPCR のPsPIN1は、DNAヘリカーゼをコードするPsDEAD-box遺伝子の発現に基づいてnormalizeした【51】。

一方、Run 4の*ZmPIN1a*（アクセッション番号：DQ836239）については、特異的プライマーは、forward：5'-TGTTAGGGACTTTTCATGCGC-3'およびreverse：5'-AAGAGCCCTAGCATCATTCCATCG-3'、および*ZmAUX1*（アクセッション番号：AJ011794）は、forward：5'-GTTCCTCGCCATCATCTTCC-3'およびreverse：5'-TGATATAGACGGTGAAGCTGACG-3'とした。*ZmPIN1a*に対するハウスキーピング遺伝子としては、複数サンプルのマイクロアレイ解析のデータから判断して異なる重力環境の影響を受けないユビキチン

関連遺伝子である*ZmUPL*遺伝子（アクセッション番号：AM749995）を用いた。*ZmPIN1*a遺伝子とZmAUX1遺伝子の相対発現比は、*ZmUPL*遺伝子の発現に対してnormalizeした。なお、Z*mUPL*遺伝子の特異的プライマーは、forward：5'-TGGGAGTTTCATCTCGTCCAT-3'およびreverse：5'-TCGTCAGCAGGCCCTTAGAC-3'とした。

各PCRについては、温度を65℃から95℃まで0.2℃/secで上昇させ、生成物の融解曲線から、各転写物が単一の生成物であることを確認した。分析は、独立して抽出された3検体のRNAについて3回ずつ行った。

3.9　膜タンパク質の抽出とウエスタンブロット解析

Run 1から得られた3本の黄化エンドウ芽生えについては、頂端鉤状部、上胚軸子葉側および反子葉側の凍結切片、およびRun 4の黄化トウモロコシ芽生えの幼葉鞘の先端（0〜3 mm）、幼葉鞘の残存部、中胚軸、本葉、根の先端（0〜10 mm）および根の残存領域の6つの部域は、0.2 mlの抽出バッファー（8 M Urea、2%（w / v）の3-[(3-cholamidepropyl)dimethylammonio]−1-propanesulphonate (CHAPS), proteinase inhibitor cocktail tablets（Roche, Germany）を含む50mM dithiothreitol（DTT）で磨砕した。同量の5%（v/v）SDS溶液をホモジネートに加えた後、膜タンパク質を抽出するために、ホモジネートを4℃で1時間振とうした。4℃で5分間13,000 gで遠心分離した後、膜タンパク質を含む上清を回収した。膜タンパク質画分中のタンパク質は、製品の説明文（GE Healthcare, Tokyo, Japan）に従って2-D Quant Kitを用いて定量した。

PsPIN1 および ZmPIN1a タンパク質の定量およびウエスタンブロット解析は、既に報告した方法に従って行った【49】。総タンパク質 8μg を Ready Gel 5-20%（Wako Pure Chemicals Co., Osaka Japan）を用いて SDS-PAGE に供した。 SDS-PAGE 後、タンパク質をポリフッ化ビニリデン膜（Bio-Rad Laboratories, Inc., Tokyo, Japan）に転写した。ブロットした膜を洗浄バッファー（137 mM NaCl を含む 20 mM Tris-HCl バッファー、pH7.6）で洗浄し、5%（w / v）スキムミルクとインキュベートした後、ブロットしたメンブレンを抗 PsPIN1 抗体とインキュベートした。一次抗体とインキュベーションした後、ハイブリダイゼーション膜を洗浄バッファーで 3 回洗浄した。次に、ハイブリダイゼーション膜を 10,000 倍希釈した抗ウサギ Ig、HRP 結合ホール Ab（GE Healthcare）とともに 2 時間インキュベートした。洗浄した後、ECL Select ウェスタンブロッティング検出試薬（GE Healthcare）とインキュベートした後、VersaDoc システム（Bio-Rad）を使用して化学発光シグナルを検出した。ローディングコントロールとしては、抗 β-アクチンの一次抗体（Clone C4, Santa Cruz Biotechnology, CA, USA）と二次抗体、HRP 結合 Whole Ab（GE Healthcare）を用いた。ウエスタンブロッティングの後、ImageJ ソフトウェア（Wayne Rasband, National Institute of Health, USA）を使用して PsPIN1 および ZmPIN1a タンパク質の強度を求め、内部標準として用いたアクチンで normalize した。統計分析には、3 つの独立したブロッティング膜で得られた強度データを使用した。

3.10　免疫組織化学的解析

3.10.1　PsPIN1 抗体および ZmPIN1a 抗体の産生

PsPIN1 ポリクローナル抗体の産生については以下の方法で行った【48】。PsPIN1 の親水性領域のアミノ酸 387-400、すなわち VDGHRETQEDYLEK を固相ペプチド合成法（Eurofins Genomics, Tokyo, Japan）に従って合成した。次に、得られたペプチドは抗原とするために keyhole limpet hemocyanin に結合し、ウサギに 77 日間免疫した。メーカーの抗体生産プロトコールに従い、PsPIN1 オリゴペプチドに特異性を示すアフィニティ精製を行って、ポリクローナル抗 PsPIN1 抗血清を得た。

ZmPIN1a抗体の産生についても同様の手法によって行った【49】。ZmPIN1aの親水性領域のアミノ酸282から297、すなわちGATPRPSNYEEDPQGK (accession番号：DQ836239)を固相ペプチド合成法（Eurofins Genomics）に従って合成した。得られたペプチドをkeyhole limpet hemocyaninに結合した後、アジュバン

トと混合した抗原2 mgを77日間ウサギに免疫した後、得られたポリクローナル抗ZmPIN1a抗血清を、製造業者の抗体産生プロトコールに従ってZmPIN1a特異的オリゴペプチドに対してアフィニティー精製を行い、ポリクローナル抗ZmPIN1a抗血清を得た。

3.10.2　PsPIN1 および ZmPIN1a タンパク質の免疫組織化学

Run 1 実験で、3 日間 ISS の宇宙 μg 環境および宇宙 1 g 環境で成長させた黄化エンドウの芽生えは化学的に固定され、ISS および地上帰還後も冷蔵庫で保管温度を 2℃ に維持して JAXA つくば宇宙センターに送付された。黄化エンドウ芽生えのサンプルは、CFB 中で nAE50 の固定液に 13 日間保存された。黄化エンドウ芽生えのサンプルを CFB から取り出した後、上胚軸領域（子葉側および反子葉側）および頂端フック領域を調整し、二次固定としてこれらのサンプルに新しく調製した nAE50 固定液を浸透させ、4℃で一晩保存した。エタノールと *tert*-ブチルアルコールシリーズで脱水した後、サンプルを Paraplast Plus（Sigma-Aldrich）に埋め込み、ミクロトーム（モデル RM2135; Leica Biosystems, Germany）で厚さ 10 μm の薄片を調製し、シリコンでコーティングされたスライドガラスに置いた。免疫組織化学染色と蛍光顕微鏡を用いた観察はすでに報告した方法【48】に従って実施した。Run 1 における 5 本の独立した黄化エンドウ芽生えを免疫組織化学染色後、PsPIN1 蓄積と細胞内局在解析を ImageJ ソフトウェアを使用して行った。

ZmPIN1a タンパク質の免疫組織化学についても、すでに報告されている方法【49】を一部修正して実施した。その他の実験行程については黄化エンドウ芽生えの場合と同様である。

3.11　統計分析

統計分析は、R ソフトウェアプログラム（R ver.2.14.2; http://www.r-project.org; R Development Core Team, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria）を使用して行った。「重力環境」、「TIBAの有無」、および「組織の違い」の違いを確認するために、2因子（2w）または3因子（3w）の分散分析（ANOVA）を統計分析に適用した。平均の比較のために、post-hoc Tukey multiple comparisons testによってその差を調べた。 $P<0.05$であれば統計的に有意であるとみなした。

4.　実験結果および成果

Auxin Transport 宇宙実験は、先に示したスケジュールに従って順調に実施することができた。また、サンプル帰還後の地上における各解析実験も問題なく実施することができた。実施計画段階では、これらの宇宙実験の成果を合計 5 編の論文として公表することにしていたが、2019 年度にすでに 2 編が国際誌に印刷公表され、現在 1 編の論文が投稿中であり、さらにエクストラサクセスに相当する 2 編の内の 1 編は投稿準備中である。なお最後の 1 編についても現在論文原稿を執筆中である。以上のとおり、Auxin Transport 宇宙実験については全ての実施計画を達成できる状況にあり、大成功であると自負している。さらに Auxin Transport 宇宙実験の実施に不可欠な内容を含んでいる地上基礎実験の結果およびその成果についても 2018 年度にすでに 2 編の論文として国際誌に印刷公表したところである。

以下に Auxin Transport 宇宙実験で得られた結果ならびにその成果について詳述する。

4.1　宇宙 μg 環境下における黄化エンドウ芽生えの成長と発達

ISS の CBEF における宇宙 μg と宇宙 1 g 環境での黄化エンドウ芽生えの成長と発達について比較した。また宇宙 μg 環境とオーキシン極性移動阻害剤である TIBA との相互作用についても調べた。

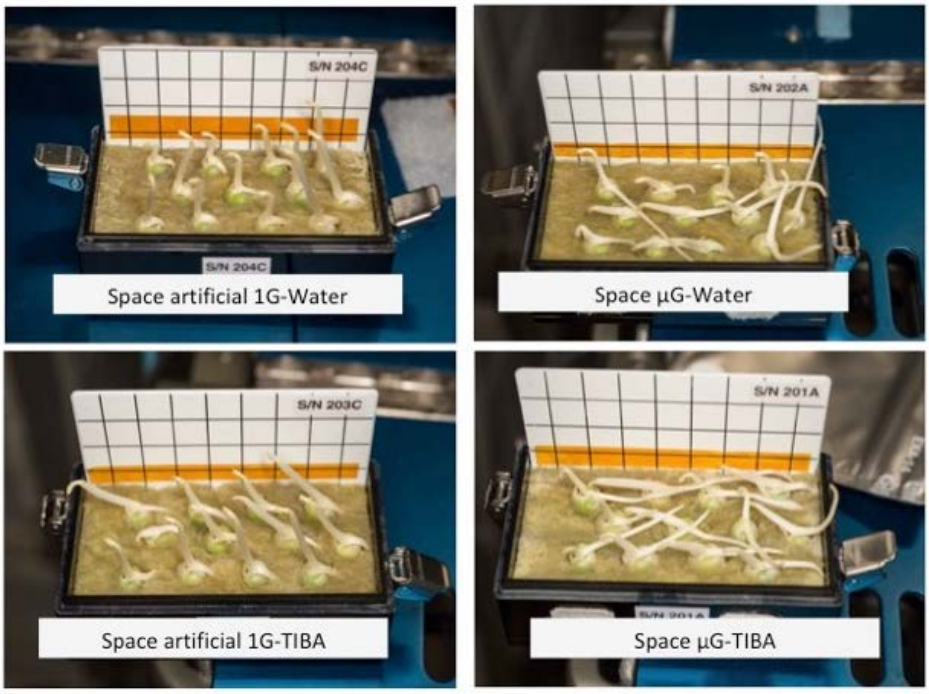
軌道上で給水 3 日後および 4 日後に撮影された芽生えの写真に基づいて成長解析を行った結果、宇宙 1 g 環境と比較して、宇宙 μg 環境はエンドウ乾燥種子の発芽にほとんど影響をしなかったものの、芽生

えの成長と発達には大きく影響した。給水 3 日後の写真から、宇宙 μg 環境は芽生えの伸長成長とその方向に影響した（**図 4**）。宇宙 1 g 環境下で 3 日間成長させた黄化エンドウ芽生え上胚軸は子葉から約 90 度離れて成長した（**図 4**）。宇宙 μg 環境下で 3 日間成長させた黄化エンドウ芽生え上胚軸の成長は、宇宙 1 g 環境下で成長したものと比較してわずかに阻害された。上胚軸は子葉節近傍で屈曲し、子葉から 40～50 度離れて伸長した。上胚軸と同様に根の成長方向も影響された。宇宙 1 g 環境下の黄化エンドウ芽生えの根は、ほぼ 1 g の重力ベクトル方向に成長した。逆に、宇宙 μg 環境下で成長した黄化エンドウ芽生えのすべての根は、子葉から約 20 度離れる方向に伸長した。その結果、宇宙 μg 環境下で成長した黄化エンドウの芽生えは自発的形態形成を示した。

TIBA は、ISS 内 CBEF の宇宙 1 g 環境および宇宙 μg 環境のいずれにおいてもエンドウ種子の発芽にほとんど影響しなかった。TIBA は、宇宙 1 g 環境下で成長した黄化エンドウの芽生えにおいて、上胚軸の自発的形態形成様の屈曲を誘導した（図 4）。 TIBA は、宇宙 1 g 環境下での根の通常の重力屈性反応にも影響するとともに、ロックウール表面までの根の長さと根の成長方向に影響した。宇宙 μg 環境下では、TIBA は上胚軸と根の屈曲を低下させた。宇宙 μg 環境下で成長した黄化したエンドウの芽生えでは根が気中に向かって成長したが、TIBA は根の成長方向に影響し、一部の根が気中またはロックウール表面に沿って成長した。また、宇宙 μg 環境下は、気中に成長した根の長さにはほとんど影響しなかった。地上対照実験では、30μM の TIBA は黄化エンドウ芽生え上胚軸の伸長成長を著しく阻害した。宇宙 μg 環境下では TIBA のその阻害効果は観察されなかった。これらの事実は、TIBA は宇宙 μg 環境下で生育した芽生えの上胚軸だけでなく根においても、その自発的形態形成を引き起こすプロセスに影響していることを示唆している。

Run 3-2 実験では、アクリル樹脂観察チャンバー内の黄化エンドウ芽生えの成長と発達は CBEF の CCD カメラによって自動的に記録された。黄化エンドウ芽生えの成長を速度論的に解析すると、給水後 3 日までは、宇宙 μg 環境は成長にわずかに影響し、その後は大きく阻害した。 STS-95 宇宙実験では、宇宙 μg 環境下で成長した 6.5 日齢の黄化エンドウ芽生え上胚軸の伸長成長は、地上対照のそれと比較して有意に阻害された【45, 46】。 今般の ISS での実験は、宇宙 μg 環境が黄化エンドウ芽生えの伸長成長に実質的に影響するという以前の結果を裏付けるものであった。

速度論的解析から、給水後 2 日まで、宇宙 1 g 環境下で成長した黄化エンドウ芽生えと宇宙 μg 環境で成長した黄化エンドウ芽生えは、ともにその上胚軸は子葉節近くで子葉から遠ざかる方向に約 40 度曲がっていた（**図 4**）。その後、宇宙 μg 環境下での上胚軸はこの方向を維持しながら成長した。一方、宇宙 1 g 環境下で成長した上胚軸の成長方向は、負の重力屈性応答によって反重力方向に変わった。発芽直後では、自発的形態形成を示す上胚軸の屈曲は宇宙 1 g 環境下でも観察されたことから、発芽直後の初期成長は明らかに重力刺激を受けていないことが示唆される。結果は示していないが、宇宙 μg 環境下で成長した芽生えの根の成長方向においても、同様の変化が認められた。



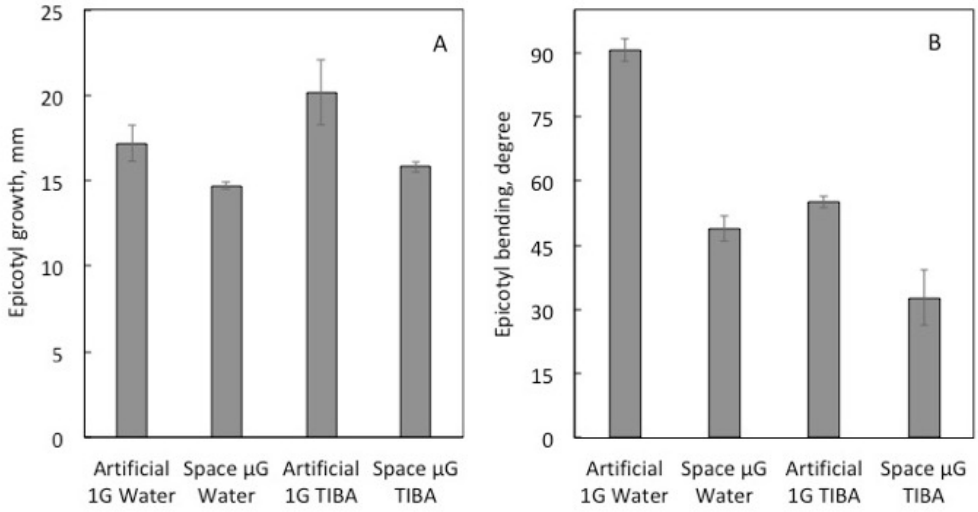


図 4.　TIBA 存在下および非存在下、宇宙 1g（Artificial 1 G）および宇宙 µg 環境下において生育した黄化エンドウ芽生えの上胚軸の成長（左）と屈曲角度（右）

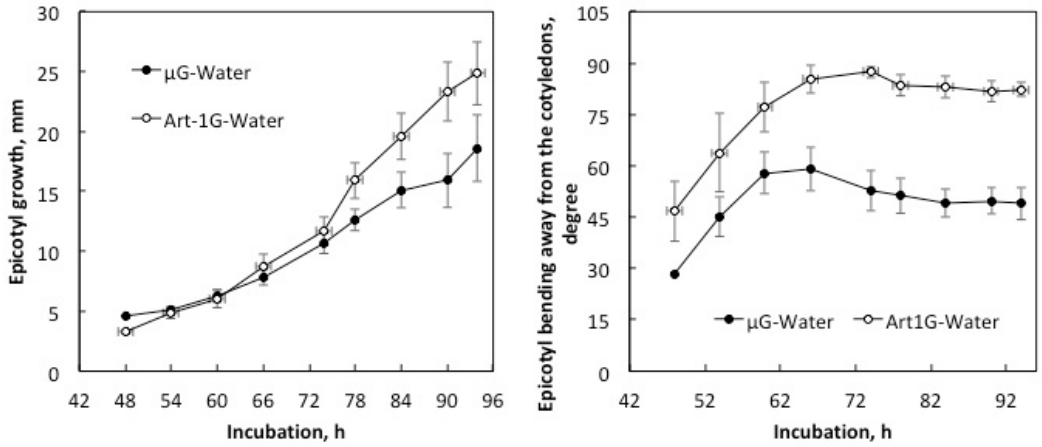
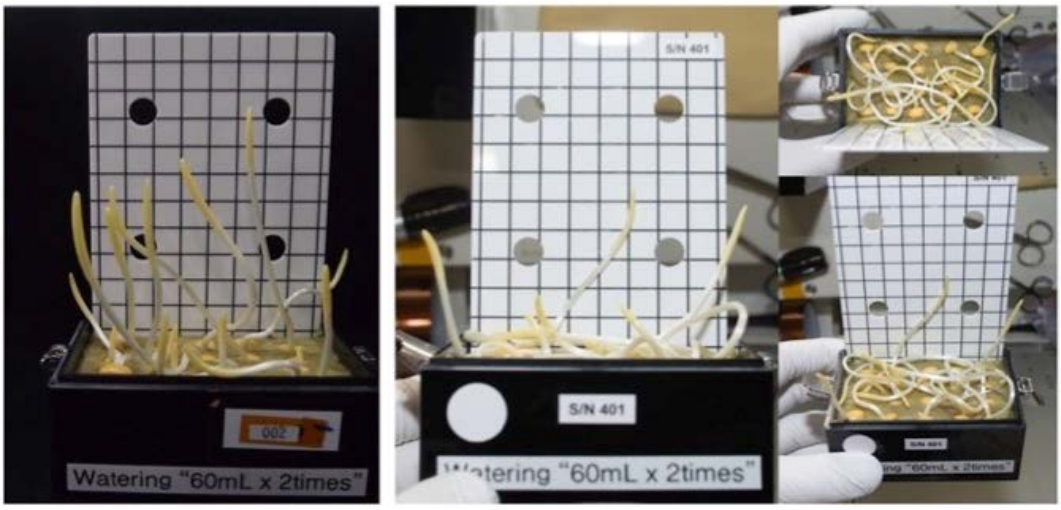


図 5.　宇宙 1g（Art-1 G）および宇宙 μg（μG）環境下において生育した黄化エンドウ芽生え上胚軸の成長（左）と屈曲角度（右）

4.2　宇宙 μg 環境下における黄化トウモロコシ芽生えの成長と発達

宇宙 μg 環境が黄化トウモロコシ芽生え幼葉鞘におけるオーキシン極性移動を促進した STS-95 宇宙実験での結果を検証するために、宇宙での芽生え成長と発達、およびオーキシン極性移動を地上 1 g 環境下のものと比較した。

軌道上において給水後 4 日目に撮影した芽生えの写真から、宇宙 μg 環境は、トウモロコシの種子の発芽にほとんど影響をしないことがわかった。また、黄化トウモロコ芽生えの幼葉鞘は真っ直ぐに成長したが、中胚軸はランダムな方向に湾曲して成長した（図 6）。一方、地上 1 g 環境下で成長した黄化トウモロコシ芽生えでは、幼葉鞘と中胚軸はほぼ真っ直ぐ上向きに、重力ベクトルとは反対の方向に成長した。宇宙 μg 環境で成長した黄化トウモロコシ芽生えの幼葉鞘および中胚軸の長さは、地上対照実験のそれと比較して著しく阻害された（図 6）。



Maize seedlings grown under 1 *g* conditions on Earth

Maize seedlings grown under microgravity conditions on the ISS

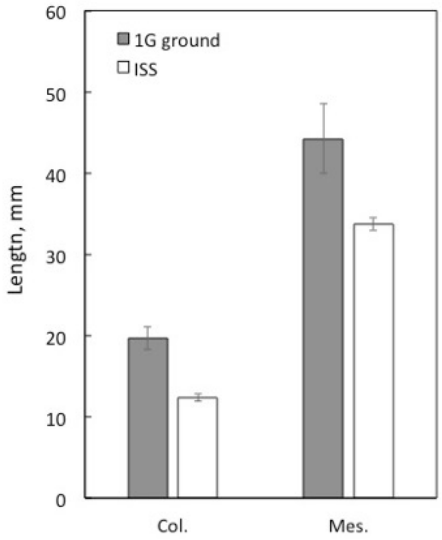


図 6.　宇宙 μg 環境下（ISS）および地上（1G ground）における黄化トウモロコシ芽生え（Col. 幼葉鞘、Mes. 中胚軸）の成長と発達

4.3　宇宙 μg 環境下において生育した黄化エンドウ芽生え上胚軸のオーキシン極性移動

今般、ISS 宇宙実験を実施して、宇宙 μg 環境下で成長した黄化エンドウ芽生えにおけるオーキシン極性移動に対する重力の影響を調べた。^{14}C で標識された IAA を黄化エンドウ芽生え上胚軸の先端側に投与し、ISS のキャビン内の宇宙 μg 環境下でその移動を調べることとした。

地上基礎実験の結果から、黄化エンドウ芽生え上胚軸の子葉側におけるオーキシン極性移動活性が反子葉側のそれよりもはるかに大きいという結果を踏まえて【38, 39】、ISS 宇宙実験においても、上胚軸の子葉側および反子葉側に分けてオーキシン極性移動を調べた。軌道上実験の終了後に凍結された黄化エンドウ芽生え上胚軸切片は、地上の実験室においても解凍することなくドライアイス上で子葉側および反子葉側に縦方向に半裁した（図 3）。切片の極性側の他端に移動した放射活性を移動した IAA の量とした。

宇宙 1 g 環境下で成長した黄化エンドウ芽生えのオーキシン極性移動は、地上 1 g 環境下で成長したものとほぼ同程度であった。宇宙 μg 環境では、子葉側および反子葉側上胚軸のオーキシン極性移動は有意に低下した。TIBA は、宇宙 1 g および宇宙 μg 環境下でのオーキシン極性移動を著しく低下させたため、オーキシン極性移動に対して、TIBA は宇宙 μg 環境と相互作用することが示唆された。STS-95 宇宙実験において示唆したように、今般の宇宙時実験において、オーキシン極性移動の低下が宇宙 μg 環境下での黄化エンドウ芽生えの形態（自発的形態形成）と密接に関連していることが示された（図 7）。

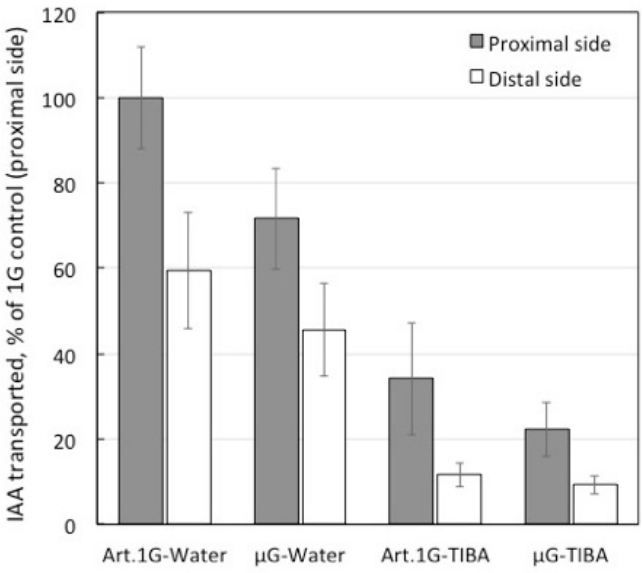


図 7.　TIBA 存在下および非存在下、宇宙 1g（Art. 1G）および宇宙 µg 環境下において生育した黄化エンドウ芽生え子葉側（Proximal side）および反子葉側（Distal side）上胚軸のオーキシン極性移動

4.4　宇宙 µg 重力環境下において生育した黄化トウモロコシ芽生えのオーキシン極性移動

すでに述べたように、今般の宇宙実験で使用した幼葉鞘および中胚軸を有する切片は極性移動実験終了後軌道上で凍結され、そのまま解凍することなく帰還した。放射性 IAA を含むラノリンに浸漬した幼葉鞘部分を廃棄した後、切片を 7 つの zone に分割した。切片の節の部分と放射性 IAA を投与した反対側をそれぞれ zone 4 と zone 1 として定義した。黄化トウモロコシの芽生えのオーキシン極性移動の地上対照実験は、宇宙実験で調製された切片に準じて地上で調製された切片を用いて行った。

zone 7 から zone 5 にかけて、IAA の総量は徐々に低下したが、zone 4 ではその IAA の一時的な蓄積が認められた（図 8）。宇宙 µg 環境下で成長した黄化トウモロコシ地上部切片におけるオーキシン極性移動は、地上 1 g 環境下で成長したものよりも有意に高かった。 今般の宇宙実験における結果と同様、黄化トウモロコシ芽生え地上部切片のオーキシン極性移動は 3D クリノスタットでの擬似微小環境によって大きくなることが報告している【45, 46】。また、幼葉鞘におけるオーキシン極性移動は、中胚軸におけるオーキシン極性移動よりも有意に高いことも報告している【50】。以上の事実は、オーキシン極性移動活性に対する宇宙 µg の影響は黄化トウモロコシ芽生えの幼葉鞘と中胚軸で異なること、節（すなわち幼葉鞘と中胚軸の接合部）は幼葉鞘から中胚軸に輸送されるオーキシンの生理的な貯蔵場所として機能していることを示唆している。

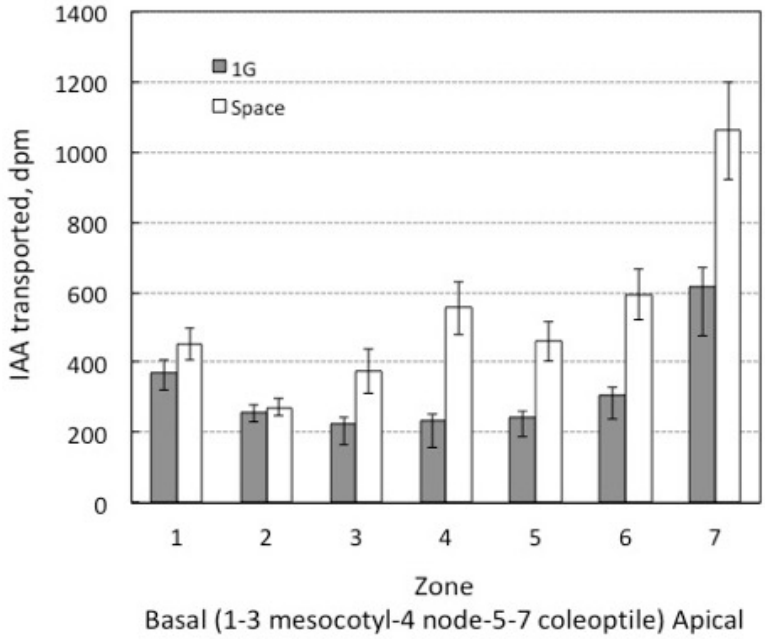


図 8.　宇宙 μg 環境下（Space）および地上（1 G）において生育した黄化トウモロコシ芽生えのオーキシン極性移動

zone 1 – 3, 中胚軸、zone 4, 節（中胚軸と幼葉鞘の接点）、zone 5 – 7, 幼葉鞘

放射性オーキシン（^{14}C-IAA）は幼葉鞘の先端側から投与された。

4.5　*PsPIN1* mRNA の蓄積に対する宇宙 μg 重力環境の影響

図 9A において示されているとおり、3 元配置 ANOVA の結果から、黄化エンドウ芽生え上胚軸（subapical）領域における *PsPIN1* mRNA の蓄積は、「重力環境（G）」および「組織の違い（T）」において統計的に有意差があることがわかった。「G」×「TIBA（S）の有無」の相互作用の効果においても大きな差がみられた（図 9A）。post-hoc Tukey multiple comparisons test の結果、異なる重力環境下で成長した黄化エンドウ芽生えの上胚軸の子葉側における *PsPIN1* mRNA の蓄積は反子葉側のそれと比較して差はなかったが、反子葉側と比較すると子葉側でわずかに高い傾向がみられた（図 9A）。2 元配置 ANOVA の結果、芽生えの頂端鉤状部（apical hook）領域での PsPIN1 mRNA の蓄積は、宇宙 μg 環境の影響を受けていることがわかった（図 9B）。重力環境とは無関係に、30μM の TIBA は、上胚軸の子葉側および反子葉側での *PsPIN1* mRNA の蓄積に影響しなかった（図 9B）。しかし、宇宙 μg 環境下で成長した芽生えの頂端鉤状部領域では、*PsPIN1* mRNA の蓄積は宇宙 1g 環境下で成長したものよりも大きかった（図 9B）。

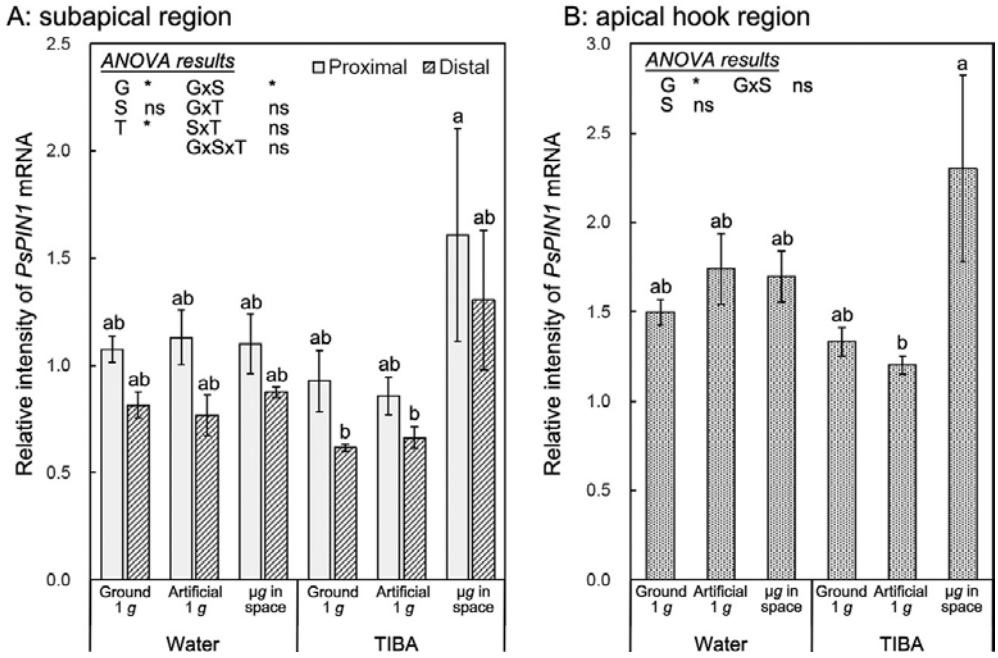


図 9.　*PsPIN1* mRNA の蓄積に対する宇宙 μg 環境の影響

*　：統計的に有意差あり

ns　：統計的に有意差なし

4.6　PsPIN1 タンパク質の蓄積に対する宇宙 μg 重力環境の影響

3 元配置 ANOVA は、各重力環境における黄化エンドウ芽生え上胚軸の子葉側での PsPIN1 タンパク質の蓄積に有意差があることを示した。「G」×「T」と「S」×「T」の相互作用効果にも大きな違いがみられた（図 10A）。post-hoc Tukey multiple comparisons test により、異なる重力環境下で成長した黄化エンドウ芽生えの上胚軸の子葉側での PsPIN1 タンパク質の蓄積は、反子葉側のそれと比較して差はなかったが（図 10A）、反子葉側と比較して子葉側で比較的大きくなる傾向があることが示された。宇宙 μg 環境下で成長した黄化エンドウの芽生えでは、TIBA の存在下では、上胚軸子葉側の PsPIN1 タンパク質の蓄積は反子葉側のそれよりも有意に低かった（図 10A）。一方、2 元配置 ANOVA の結果から、黄化エンドウの芽生えの頂端鉤状部領域における PsPIN1 タンパク質の蓄積は、TIBA の存在下または非存在下で重力環境の影響を受けないことがわかった（図 10B）。

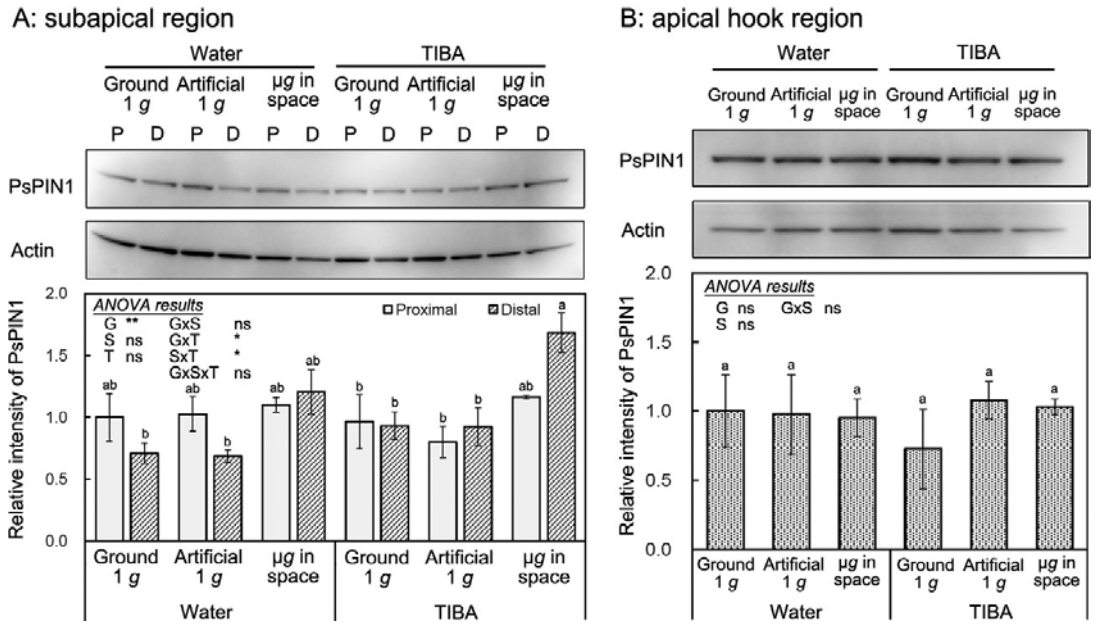


図 10.　PsPIN1 タンパク質の蓄積に対する宇宙 μg 環境の影響

4.7　宇宙実験用化学固定液の決定

これまでの地上予備実験においては、すべて用事調製の化学固定液を用いて試験を実施した。しかし、宇宙実験では、化学固定液の使用前の保管期間が課題となる。すなわち、化学固定液を打上前に作製し、化学固定用治具に封入し、打ち上げることを考えると、用事調製ではなく、作製後、1〜2 ヶ月間保管された化学固定液を用いることが必要である。黄化エンドウ芽生えに対しては、nAE50 および ndAE50 を作製後、1〜2 ヶ月間冷蔵保管し、これを用いて試料を 1 ヶ月間化学固定した後、免疫組織化学法によって PsPIN1 タンパク質の局在を解析した。検討の結果、作製後 1 ヶ月間保管の nAE50 および ndAE50 では PsPIN1 の局在シグナルに差はみられなかった。しかし、作製後 2 ヶ月間保管の nAE50 および ndAE50 では、ndAE50 よりも nAE50 のほうで、優れた PsPIN1 タンパク質の局在シグナルを得られることがわかった。以上の結果から、宇宙実験のエンドウ芽生え用の化学固定液には nAE50 を用いることとした。

一方、黄化トウモロコシ芽生えの 2 次固定に対しては、地上予備実験では nAM50 が最適であったが、実際の宇宙実験サンプルに対しては過固定となったため、Carnoy を用いた。化学固定終了後は、直ちに、免疫組織化学解析用の処理へと移り、宇宙 μg 環境下における PsPIN1 および ZmPIN1a タンパク質の局在を解析した。

4.8　PsPIN1 タンパク質の細胞内局在に対する宇宙 μg 重力環境の影響

上胚軸の内皮細胞細胞膜における PsPIN1 タンパク質の局在は、4 つのタイプに分類される。すなわち、基底部側、基底部-側面側（維管束側）、側面側（維管束側）、およびその他である。 PsPIN1 は、主に ISS の宇宙 1 g 環境下および地球上の 1 g 環境下で成長した黄化エンドウ芽生えの上胚軸（subapical）領域では、内皮細胞の細胞膜の基底部側（根側）への局在が認められた。地球上の 1 g 環境下で成長した芽生えでは、PsPIN1 タンパク質の約 80〜90%が子葉側上胚軸の内皮細胞の細胞膜の基底側に局在していた（図 11）。 3 元配置 ANOVA 解析の結果、PsPIN1 タンパク質が子葉側上胚軸の細胞膜の基底側に局在し

た細胞の頻度は、反子葉側のそれと差がないことが示された（図 12）。

PsPIN1 の細胞膜の基底部側、基底部-側面側、および側面側への局在に関する 3 元配置 ANOVA 解析の結果、「G」および「G」×「S」の相互作用効果に有意差がみられた（図 12）。TIBA の存在下、非存在下にかかわらず、細胞膜の基底側の PsPIN1 局在は、宇宙 μg 環境によって有意に低下した（図 12）。

頂端鉤状部の内皮細胞の細胞膜における PsPIN1 タンパク質の局在は、3 つのタイプに分類された。すなわち、基底部側、基底部-側面側（維管束側または表皮側）およびその他である。地球上の 1 g 環境下および ISS の宇宙 1 g の環境下で生育した芽生えでは、頂端鉤状部領域の約 70%の子葉側の内皮細胞において、PsPIN1 タンパク質は細胞膜の基底部側に、頂端鉤状部領域の約 70%の反子葉側の細胞では、PsPIN1 タンパク質は細胞膜の基底部-側面側に局在した（図 12）。ただし、TIBA の存在下では、宇宙 μg 環境が PsPIN1 タンパク質の局在パターンに実質的に影響した。上胚軸の細胞膜の基底側に局在する PsPIN1 の頻度は、上胚軸の子葉側で特に減少した（図 12）。宇宙 μg 環境では、TIBA と宇宙 μg 環境の相互作用が黄化エンドウ芽生えのオーキシン極性移動を実質的に阻害したので、このような PsPIN1 タンパク質の局在が何らかの方法で上胚軸のオーキシン極性移動に影響していることは容易に推察することができる。

3 元配置 ANOVA 解析の結果、子葉側と反子葉側上胚軸の間において、PsPIN1 が細胞膜の基底部側と基底部-側面側に局在する細胞の頻度に有意差があることがわかった（図 12）。 同様に、細胞膜の基底側の「S」と「T」、基底部-側面側の「T」、およびその他の「G」において、それぞれ PsPIN1 タンパク質局在に関して有意差を示した。また、細胞膜における PsPIN1 局在について、基底部側の「G」×「T」、基底部-側面側の「G」×「S」、「G」×「T」、「G」×「S」×「T」、その他の「G」×「S」×「T」の相互作用効果において有意差がみられた。

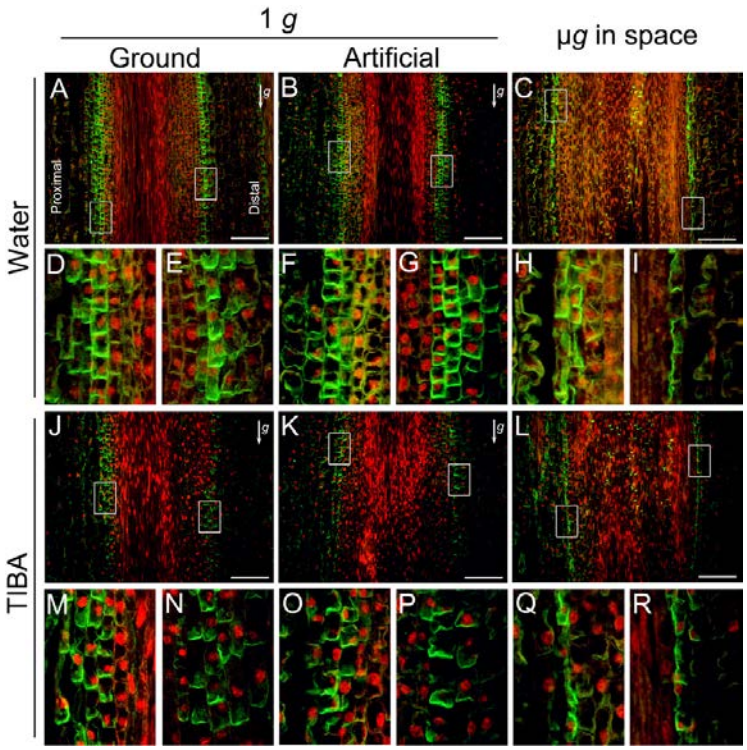


図 11.　黄化エンドウ芽生え上胚軸における PsPIN1 タンパク質の細胞内局在に対する宇宙 μg 環境および TIBA の影響

水で成長した黄化エンドウ芽生えの頂端フック領域における PsPIN1 タンパク質の局在パターンは、地球上の 1 g 環境下と ISS の宇宙 1 g の環境下で有意な差はなかった（図 13、図 14）。post-hoc Tukey multiple comparisons test により、黄化エンドウ芽生えの頂端フックの子葉側と反子葉側において、細胞膜の基底部側と基底部-側面側での PsPIN1 局在について有意差があることがわかった（図 14）。

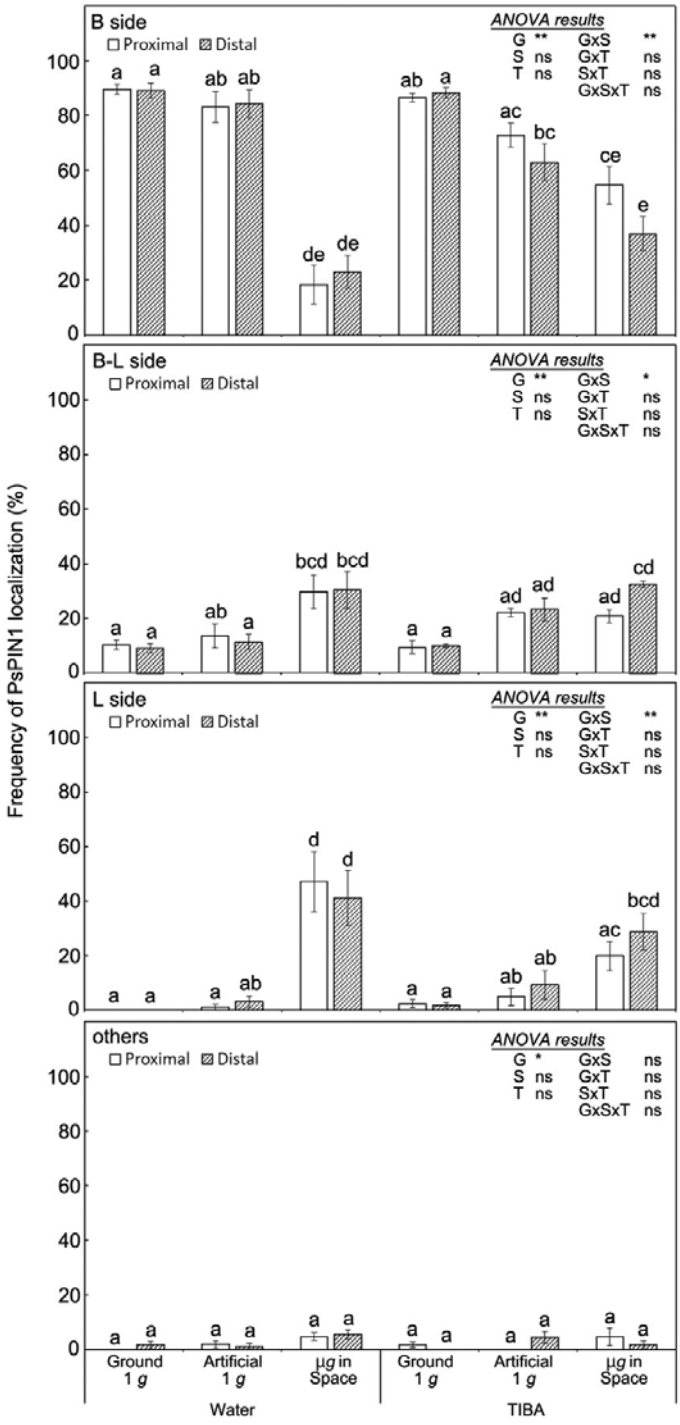


図 12.　黄化エンドウ芽生え上胚軸における PsPIN1 タンパク質の細胞内局在に対する宇宙 μg 環境および TIBA の影響

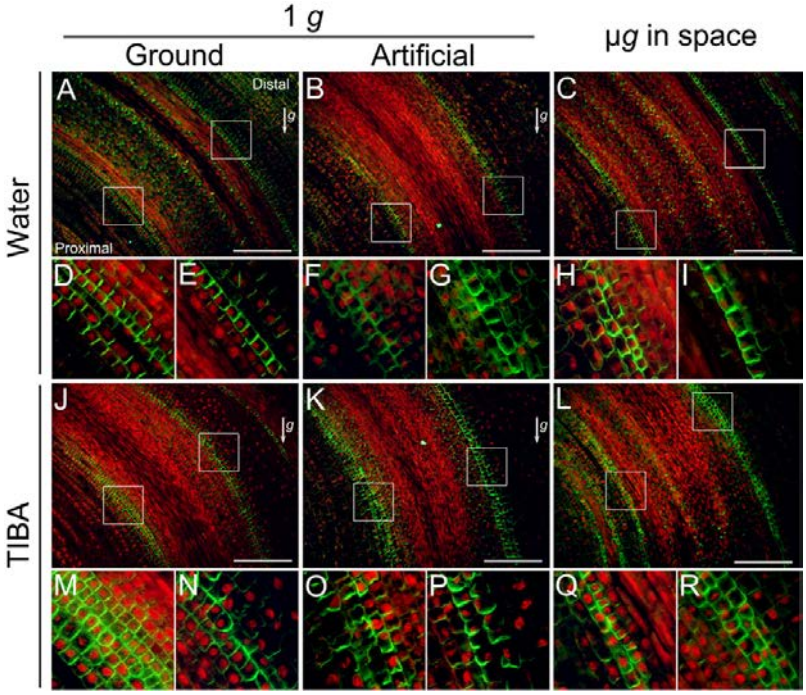


図 13.　黄化エンドウ芽生え頂端鉤状部領域における PsPIN1 タンパク質の細胞内局在に対する宇宙 μg 環境および TIBA の影響

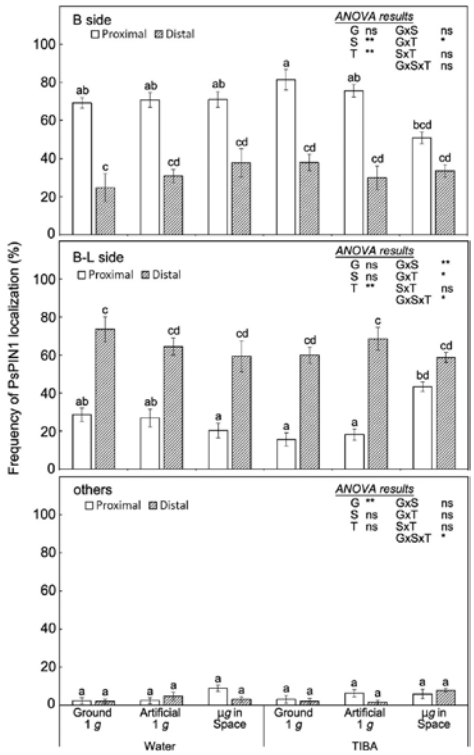


図 14.　黄化エンドウ芽生え頂端鉤状部領域における PsPIN1 タンパク質の細胞内局在に対する宇宙 μg 環境および TIBA の影響

4.9　黄化トウモロコシの芽生えにおける *ZmPIN1a* および *ZmAUX1* mRNA の蓄積に対する宇宙 μg 環境の影響

リアルタイム PCR 分析の結果は、幼葉鞘の先端とその下部領域、および中胚軸における *ZmPIN1a* mRNA の蓄積は、地上で成長した黄化トウモロコシの芽生えとほぼ同程度であることを示した。宇宙 μg 環境下で成長した黄化トウモロコシ芽生えの幼葉鞘の下部領域および中胚軸における *ZmPIN1a* mRNA の蓄積は、1g 環境下で成長した芽生えのものとほぼ同程度であったが、宇宙 μg 環境下で成長した芽生えの幼葉鞘では比較的高い傾向がみられた。

トウモロコシでは 4 つの *ZmPIN1* サブファミリー遺伝子、*ZmPIN1a*、*b*、*c*、および *d* が同定されており、この内 *ZmPIN1d* は生殖組織で特異的に発現していることが報告されている【15】。今般の ISS 実験では、幼葉鞘および中胚軸における *ZmPIN1c* mRNA の蓄積は、宇宙 μg 環境の影響を受けないことが示された。この実験で使用した *ZmPIN1b* mRNA を増幅するためのプライマーセットは 3 つの産物をもたらし、RT-PCR で *ZmPIN1b* mRNA のみを増幅することはやや困難であった。これは、*ZmPIN1b* mRNA の配列が *ZmPIN1a* および *ZmPIN1c* ときわめて類似性が高いためと思われる。

一方、幼葉鞘の先端およびその下部領域および中胚軸におけるオーキシンの取込みキャリアータンパク質をコードする *ZmAUX1* mRNA の蓄積は、地上で成長した黄化トウモロコシ芽生えとほぼ同じであった。 *ZmAUX1* mRNA の蓄積は、組織や器官の違いに関係なく、宇宙 μg 環境の影響を受けなかった。

4.10　黄化トウモロコシ芽生えにおける ZmPIN1a タンパク質の蓄積に対する宇宙 μg 環境の影響

ウエスタンブロット分析により、地上 1 g 環境下で成長した黄化トウモロコシ芽生えでは、幼葉鞘における ZmPIN1a タンパク質の蓄積量は中胚軸とほぼ同程度であった。宇宙で育った芽生えのこれらの器官における ZmPIN1a タンパク質の蓄積は、地上で育った芽生えのそれよりも比較的高い傾向にあったものの、宇宙 μg の環境および地上 1 g 環境下で育った芽生えの間には統計的に有意な差は認められなかった。黄化トウモロコシ芽生えの本葉、根先端部および根の先端を除く基部側の部域においても同様の傾向であり、宇宙 μg 環境の影響は認められなかった。

4.11　黄化トウモロコシ芽生え幼葉鞘および中胚軸における ZmPIN1 タンパク質の細胞内局在に対する宇宙 μg 環境の影響

地上 1 g および宇宙 μg 環境下で成長した黄化トウモロコシ芽生えの縦断面および横断面における ZmPIN1a タンパク質の細胞内局在は、その特異的ポリクローナル抗体を用いた免疫組織化学的手法によって検出された。

地上で成長した黄化トウモロコシ芽生えの幼葉鞘頂端部の縦断面では、維管束の内皮細胞の細胞膜の基底側における ZmPIN1a タンパク質の局在が観察された。宇宙 μg 環境下で成長した黄化トウモロコシ芽生えの幼葉鞘の縦断面では、内皮細胞の細胞膜の基底側における類似した ZmPIN1a タンパク質の局在が観察された。

一方、幼葉鞘の柔組織細胞の細胞膜における ZmPIN1a タンパク質の局在は、維管束の内皮細胞における局在とはまったく異なっていた。黄化トウモロコシ芽生え幼葉鞘の縦断切片では、ZmPIN1a タンパク質は、重力環境、すなわち地上 1 g および宇宙 μg 環境とは無関係に、細胞膜の側面側に局在した

地上 1 g および宇宙 μg 環境下で成長した黄化芽生え幼葉鞘の柔組織細胞における ZmPIN1s タンパク質の側面方に局在している細胞の頻度を調べたところ、地上 1 g 環境下で成長した黄化トウモロコシ芽生え幼葉鞘の柔組織細胞の横断面では、細胞の側面側に局在している ZmPIN1a タンパク質の大部分は維管束方向ではなく中央部方向に局在した。しかし、対照的に、宇宙 μg 環境下で成長した芽生えでは、ZmPIN1a タンパク質は主に維管束方向に局在していた。この事実は、宇宙 μg 環境が黄化トウモロコシ芽生え幼葉鞘の柔組織における ZmPIN1a タンパク質の細胞内局在に実質的に影響することを示してい

る。

一方、地上 1 g 環境下で成長した黄化トウモロコシ芽生えの中胚軸では、ZmPIN1a タンパク質は、維管束組織に沿った内皮細胞および表皮細胞の細胞膜の基底部側（根側）に局在した。 宇宙 μg 環境下で成長した黄化トウモロコシ芽生え中胚軸の局在パターンは、地上で成長したものとほぼ同様であった。

なお、4.9～4.11 の結果については、現在当該論文を国際誌に投稿中のためその図表の公表を控えさせていただいた。

4.12　サクセスクライテリアに関する自己評価

Auxin Transport 宇宙実験の研究計画時におけるサクセスクライテリアとその内容および自己評価については表 4 のとおりである。

表 4.　サクセスクライテリアと自己評価

サクセスクライテリア	内容	自己評価
ミニマムサクセス	宇宙 μg 環境下における黄化エンドウ芽生えおよび黄化トウモロコシ芽生えの成長と発達、およびオーキシン極性移動	◎
フルサクセス	黄化エンドウ芽生えにおけるオーキシン極性移動関連遺伝子発現と産物の免疫組織化学的解析による細胞内局在	◎
	黄化トウモロコシ芽生えにおけるオーキシン極性移動関連遺伝子発現と産物の免疫組織化学的解析による細胞内局在	○*
エキストラサクセス	宇宙 μg 環境下での黄化エンドウ芽生えおよび黄化トウモロコシ芽生えにおける遺伝子発現の網羅的解析	○*
	宇宙 μg 環境下での黄化エンドウ芽生えおよび黄化トウモロコシ芽生えにおける内生植物ホルモン動態に関する網羅的解析	△**

*　現在論文を国際誌に投稿中あるいは投稿準備中である。

**　内生植物ホルモン分析に関する網羅的解析については全て終了し、現在論文草稿を執筆中である。

5.　結語

ISS・きぼう利用ミッション「宇宙環境を利用した植物の重力応答反応機構および姿勢制御機構の解析（Auxin Transport）」により以下の成果が得られた。

(1)　宇宙 μg 環境下では、黄化エンドウおよび黄化トウモロコシ芽生えの成長は阻害されるとともに自発的形態形成を示した。

(2)　宇宙 μg 環境は、黄化エンドウおよび黄化トウモロコシ芽生えオーキシン極性移動を、それぞれ阻害ならびに促進した。

(3)　宇宙 μg 環境は、黄化エンドウおよび黄化トウモロコシ芽生えにおけるオーキシン極性移動関連遺伝子の発現とその産物量には影響しなかった。

(4)　宇宙 μg 環境は、黄化エンドウおよび黄化トウモロコシ芽生えにおいて、直接的にオーキシンを排出する分子の細胞内局在に影響した。

(5)　植物の重力に対する姿勢は、地上部におけるオーキシン極性移動の変化とそれを司るオーキシン排出分子の細胞内局在によって制御されていることが示された。

参考文献

1. Teiz, L., Zeiger, M., 2002. Plant Physiology, third ed. Sinauer Associates, Inc., Publisers, Sunderland, MA, USA.

2. Kerr, I.D., Bennett, M.J., 2007. New insight into the biochemical mechanisms regulating auxin transport in plants. Biochem. J. 401, 613-622. https://doi.org/10.1042/BJ20061411.

3. Marchant, A., Kargul, J., May, S.T., Muller, P., Delbarre, A., Perrot-Rechenmann, C., Bennett, M.J., 1999. AUX1 regulates root gravitropism in *Arabidopsis* by facilitating auxin uptake within root apical tissues. EMBO J. 18, 2066–2073. https://doi.org/10.1093/emboj/18.8.2066.

4. Okada, K., Ueda, J., Komaki, M.K., Bell, C.J., Shimura, Y., 1991. Requirement of auxin polar transport system in early stage of *Arabidopsis* floral bud formation. Plant Cell 3, 677–684. https://doi.org/10.1105/tpc.3.7.677.

5. Gälweiler, L., Guan, C., Müller, A., Wisman, E., Mendgen, K., Yephremov, A., Palme, K., 1998. Regulation of polar auxin transport by AtPIN1 in *Arabidopsis* vascular tissue. Science 282, 2226–2230. https://doi.org/10.1126/science.282.5397.2226.

6. Křeček, P., Skůpa, P., Libus, J., Naramoto, S., Tejos, R., Friml, J., Zažímalová, E., 2009. The PIN-FORMED (PIN) protein family of auxin transporters. Genome Biol. 10, 249. https://doi.org/10.1186/gb-2009-10-12-249.

7. Luschnig, C., Vert, G., 2014. The dynamics of plant plasma membrane proteins: PINs and beyond. Development 141, 2924–2938. https://doi.org/10.1242/dev.103424.

8. Oka, M., Miyamoto, K., Okada, K., Ueda, J., 1999. Auxin polar transport and flower formation in *Arabidopsis thaliana* transformed with indoleacetamide hydrolase (*iaaH*) gene. Plant Cell Physiol. 40, 231–237. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a029532.

9. Chawla, R., DeMason, D.A., 2004. Molecular expression of *PsPIN1*, a putative auxin efflux carrier gene from pea (*Pisum sativum* L.). Plant Growth Regul. 44, 1–14. https://doi.org/10.1007/s10725-004-2139-9.

10. Hoshino, T., Hitotsubashi, R., Miyamoto, K., Tanimoto, E., Ueda, J., 2005. Isolation of *PsPIN2* and *PsAUX1* from etiolated pea epicotyls and their expression on a three-dimensional clinostat. Adv. Space Res. 36, 1284–1294. https://doi.org/10.1016/j.asr.2005.03.121.

11. Ueda, J., Tada, T., Hoshino, T., Miyamoto, K., Uheda, E., Oka, M., 2012. Isolation of *PsPINs* and *PsAUX1* cDNAs encoding putative auxin efflux and influx carriers and/or facilitators, respectively from etiolated epicotyls of an agravitropic pea (*Pisum sativum* L.) mutant, *ageotropum*. Biol. Sci. Space 26, 32–41. https://doi.org/10.2187/bss.26.32.

12. Carraro, N., Forestan, C., Canova, S., Traas, J., Varotto, S., 2006. *ZmPIN1a* and *ZmPIN1b* encode two novel putative candidates for polar auxin transport and plant architecture determination of maize. Plant Physiol. 142, 254-264. https://doi.org/10.1104/pp.106.080119.

13. Forestan, C., Meda, S., Varotto, S., 2010. ZmPIN1-mediated auxin transport is related to cellular differentiation during maize embryogenesis and endosperm development. Plant Physiol. 152, 1373-1390. https://doi.org/10.1104/pp.109.150193.

14. Forestan, C., Varotto, S., 2010. PIN1 auxin efflux carriers localization studies in *Zea mays*. Plant Signal Behav. 5, 436-439. https://doi.org/10.4161/psb.5.4.11339.

15. Forestan, C., Farinati, S., Varotto, S., 2012. The maize *PIN* gene family of auxin transporters. Front Plant Sci. 3, 16. https://doi.org/10.3389/fpls.2012.00016.

16. Gallavotti, A., Yang, Y., Schmidt, R.J., Jackson, D., 2008. The Relationship between auxin transport and maize branching. Plant Physiol. 147, 1913-1923. https://doi.org/10.1104/pp.108.121541.

17. Halstead, T.W., Dutcher, F.R., 1987. Plants in space. Annu. Rev. Plant. Physiol. 38, 317-345. https://doi.org/10.1146/annurev.pp.38.060187.001533.

18. Kamada, M., Fujii, N., Aizawa, S., Kamigaichi, S., Mukai, C., Shimazu, T., Takahashi, H., 2000. Control of

gravimorphogenesis by auxin: accumulation pattern of *CS-IAA1* mRNA in cucumber seedlings grown in space and on the ground. Planta 211, 493–501. https://doi.org/10.1007/s004250000321.

19. Correll, M.J., Kiss, J., 2008. Space-based research on plant tropism. In: Gilroy, S., Masson, P. (Eds) Plant Tropism, Blackwell, Oxford, UK. pp. 161-182. https://doi.org/10.1002/9780470388297.ch8.
20. Kiss, J.Z., 2014. Plant biology in reduced gravity on the Moon and Mars. Plant Biol. 16 (suppl. 1), 12-14. https://doi.org/10.1111/plb.12031.
21. Hoson, T., Matsumoto, S., Soga, K., Wakabayashi, K., Hashimoto, T., Sonobe, S., Muranaka, T., Kamisaka, S., Kamada, M., Omori, K., Ishioka, N., Shimazu, T., 2009. Growth and cell wall properties in hypocotyls of Arabidopsis *tua6* mutant under microgravity conditions in space. Biol. Sci. Space 23, 71-76. https://doi.org/10.2187/bss.23.71.
22. Hoson, T., Soga, K., Wakabayashi, K., Hashimoto, T., Karahara, I., Yano, S., Tanigaki, F., Shimazu, T., Kasahara, H., Masuda, D., Kamisaka, S., 2014. Growth stimulation in inflorescences of an Arabidopsis tubulin mutant under microgravity conditions in space. Plant Biol. 16(S1), 91–96. http://dx.doi.org/10.1111/plb.12099.
23. Paul, A.-L., Wheeler, R.M., Levine, H.G., Ferl, R.J., 2013. Fundamental plant biology enabled by the Space Shuttle. Amer. J. Bot. 100, 226-234. https://doi.org/10.3732/ajb.1200338.
24. Wakabayashi, K., Soga, K., Hoson, T., Kotake, T., Yamazaki, T., Higashibata, A., Ishioka, N., Shimazu, T., Fukui, K., Osada, I., Kasahara, H., Kamada, M., 2015. Suppression of hydroxycinnamate network formation in cell walls of rice shoots grown under microgravity conditions in space. PLoS One 10, e0137992. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137992.
25. Wakabayashi, K., Soga, K., Hoson, T., Kotake, T., Kojima, M., Sakakibara, H., Yamazami, C., Higashibat, A., Ishioka, N., Shimazu, T., Kamada, M., 2017. Persistence of plant hormone levels in rice shoots grown under microgravity conditions in space: its relationship to maintenance of shoot growth. Physiol. Plant. 161, 285-293. https:// doi.org/10.1111/ppl.12591.
26. Johnson, C.M., Subramanian, A., Pattathil, S., Correll, M.J., Kiss, J.Z., 2017. Comparative transcriptomics indicate changes in cell wall organization and stress response in seedlings during spaceflight. Amer. J. Bot. 104, 1219-1231. https://doi.org/10.3732/ajb.1700079.
27. Soga, K., Yamasaki, C., Kamada, M., Tanigawa, N., Kasahara, H., Yano, S., Kojo, K.H., Kutsuna, N., Kato, T., Hashimoto, T., Kotake, T., Wakabayashi, K., Hoson, T., 2018. Modification of growth anisotropy and cortical microtubule dynamics in Arabidopsis hypocotyls grown under microgravity conditions in space. Physiol. Plant. 162, 135-144. https://doi.org/10.1111/ppl.12640.
28. Yamazaki, C., Fujii, N., Miyazawa, Y., Kamada, M., Kasahara, H., Osada, I., Shimazu, T., Fusejima, Y., Higashibata, A., Yamazaki, T., Ishioka, N., Takahashi, H., 2016. The gravity-induced re-localization of auxin efflux carrier CsPIN1 in cucumber seedlings: spaceflight experiments for immunohistochemical microscopy. NPJ Microgravity 2, 16030. https://doi.org/10.1038/npjmgrav.2016.30.
29. Ferl, R.J., Paul. A.-L., 2016. The effect of spaceflight on the gravity-sensing auxin gradient of roots: GFP reported gene microscopy on orbit. Npj Microgravity 2, 15023. https://doi.org/10.1038/npjmgrav.2015.23.
30. Stanković, B., Volkmann, D., Sack, F.D., 1998. Autotropism, automorphogenesis, and gravity. Physiol. Plant. 102, 328-335. https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1998.1020222.x.
31. Volkmann, D., Behrens, H.M., Sievers, A., 1986. Development and gravity sensing of cress roots under microgravity. Naturwissenschaften 73, 438-441. https://doi.org/10.1007/BF00367291.
32. Driss-Ecole, D., Legué, V., Carnero-Diaz, E., Perbal, G., 2008. Gravisensitivity and automorphogenesis of lentil seedling roots grown on board the International Space Station. Physiol. Plant. 134, 191-201. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2008.01121.x.

33. Hoson, T., Kamisaka, S., Masuda, Y., Yamashita, M., 1992. Changes in plant growth processes under microgravity conditions simulated by a three-dimensional clinostat. Bot. Mag. Tokyo 105, 53-70. https://doi.org/10.1007/BF02489403.

34. Hoson, T., Kamisaka, S., Yamamoto, R., Yamashita, M., Masuda, Y., 1995. Automorphosis of maize shoots under simulated microgravity don a three-dimensional clinostat. Physiol. Plant. 93, 346-351. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1995.tb02238.x.

35. Hoson, T., Kamisaka, S., Masuda, Y., Yamashita, M., Buchen, B., 1997. Evaluation of the three-dimensional clinostat as a simulator of weightlessness. Planta 203, S187-S197. https://doi.org/10.1007/PL00008108.

36. Takahashi, H., 1994. Hydrotropism and its interaction with gravitropism in roots. Plant Soil 165, 301-308. https://doi.org/10.1007/BF00008073.

37. Miyamoto, K., Hoshino, T., Yamashita, M., Ueda, J., 2005. Automorphosis of etiolated pea seedlings in space is simulated by a three-dimensional clinostat and the application of inhibitors of auxin polar transport. Physiol. Plant. 123, 467–474. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2005.00472.x.

38. Hoshino, T., Miyamoto, K., Ueda, J., 2006. Requirement for the gravity-controlled transport of auxin for a negative gravitropic response of epicotyls in the early growth stage of etiolated pea seedlings. Plant Cell Physiol. 47, 1496–1508. https://doi.org/10.1093/pcp/pcl015.

39. Hoshino, T., Miyamoto, K., Ueda, J., 2007. Gravity-controlled asymmetrical transport of auxin regulates a gravitropic response in the early growth stage of etiolated pea (*Pisum sativum*) epicotyls: studies using simulated microgravity conditions on a three-dimensional clinostat and using an agravitropic mutant, *ageotropum*. J. Plant Res. 120, 619-628. https://doi.org/10.1007/s10265-007-0103-2.

40. Geldner, N., Friml, J., Stierhof, Y.D., Jürgens, G., Palme, K., 2001. Auxin transport inhibitors block PIN1 cycling and vesicle trafficking. Nature 413, 425–428. https://doi.org/10.1038/35096571.

41. Geldner, N., Anders, N., Wolters, H., Keicher, J., Kornberger, W., Muller, P., Delbarre, A., Ueda, T., Nakano, A., Jürgens, G., 2003. The Arabidopsis GNOM ARF-GEF mediates endosomal recycling, auxin transport, and auxin-dependent plant growth. Cell 112, 219–230. https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00003-5.

42. Kojo, K.H., Yasuhara, H., Hasezawa, S., 2014. Time-sequential observation of spindle and phragmoplast orientation in BY-2 cells with altered cortical actin microfilament patterning. Plant Signal Behav. 9, e29579. https://doi.org/10.4161/psb.29579.

43. Hille, S., Akhmanova, M., Glanc, M., Johnson, A., Friml, J., 2018. Relative contribution of PIN-containing secretory vesicles and plasma membrane PINs to the directed auxin transport: Theoretical estimation. Int. J. Mol. Sci. 19. e3566. https://doi.org/10.3390/ijms19113566.

44. Ueda, J., Miyamoto, K., Yuda, T., Hoshino, T., Fujii, S., Mukai, C., Kamigaichi, S., Aizawa, S., Yoshizaki, I., Shimazu, T., Fukui, K., 1999. Growth and development, and auxin polar transport in higher plants under microgravity conditions in space: BRIC-AUX on STS-95 space experiment. J. Plant Res. 112, 487–492. https://doi.org/10.1007/PL00013904.

45. Ueda, J., Miyamoto, K., Yuda, T., Hoshino, T., Sato, K., Fujii, S., Kamigaichi, S., Izumi, R., Ishioka, N., Aizawa, S., Yoshizaki, I., Shimazu, T., Fukui, K., 2000. STS-95 space experiment for growth and development, and auxin polar transport. Biol. Sci. Space 14, 47–57. https://doi.org/10.2187/bss.14.47.

46. Ueda, J., Miyamoto, K., Uheda, E., Oka, M., Yano, S., Higashibata, A., Ishioka, N., 2014. Close relationships between polar auxin transport and graviresponse in plants. Plant Biol. 16 (Sup1), 43–49. https://doi.org/10.1111/plb.12101.

47. Ueda, J., 2016. https://www.nasa.gov/mission_pages/station/research/experiments/1991.html (accessed 27 November 2018, Principal Investigator: Prof. Junichi Ueda).

48. Kamada, M., Miyamoto, K., Oka, M., Ueda, J., Higashibata, A., 2018. Regulation of an asymmetric polar auxin transport by PsPIN1 in endodermal tissues of etiolated *Pisum sativum* epicotyls: Focus on immunohistochemical analyses. J. Plant Res. 131, 681–692. https://doi.org/10.1007/s10265-018-1031-z.

49. Kamada, M., Miyamoto, K., Oka, M., Uheda, E., Ueda, J., Higashibata, A., 2018. Procedures for chemical fixation in immunohistochemical analyses of PIN proteins regulating polar auxin transport: Relevance to spaceflight experiments. Life Sci. in Space Res. 18, 42–51. https://doi.org/10.1016/j.lssr.2018.05.005.

50. Ueda, J., Sakamoto-Kanetake, M., Toda, Y., Miyamoto, K., Uheda, E., Daimon, H., 2014. Auxin polar transport is essential for the early growth stage of etiolated maize (*Zea mays* L. cv. Honey Bantam) seedlings. Plant Prod. Sci. 17, 144-151. https://doi.org/10.1626/pps.17.144.

51. Bai, F., DeMason, D.A., 2006. Hormone interactions and regulation of Unifoliata, PsPK2, PsPIN1 and LE gene expression in pea (*Pisum sativum*) shoot tips. Plant Cell Physiol. 47, 935–948. https://doi.org/10.1093/pcp/pcj066.

ISS・きぼう利用ミッション
「宇宙環境を利用した植物の重力応答反応機構および姿勢制御機構の解析
（Auxin Transport）」
成果リスト
代表研究者：上田 純一（大阪府立大学大学院理学系研究科）
2020 年 3 月 2 日

1. Auxin Transport 宇宙実験に関する発表論文（2018 年～2019 年）

Kamada M, Miyamoto K, Oka M, **Ueda J**, Higashibata A. 2018. Regulation of asymmetric polar auxin transport by PsPIN1 in endodermal tissues of etiolated *Pisum sativum* epicotyls: focus on immunohistochemical analyses. Journal of Plant Research 131, 681–692. https://doi.org/10.1007/s10265-018-1031-z

Kamada M, Miyamoto K, Oka M, Uheda E, **Ueda J**, Higashibata A. 2018. Procedures for chemical fixation in immunohistochemical analyses of PIN proteins regulating polar auxin transport: Relevance to spaceflight experiments. Life Sciences in Space Research 18, 42-51. https://doi.org/10.1016/j.lssr.2018.05.005

Miyamoto K, Inui A, Uheda E, Oka M, Kamada M, Yamazaki C, Shimazu T, Kasahara H, Sano H, Suzuki T, Higashibata A, **Ueda J**. 2019. Polar auxin transport is essential to maintain growth and development of etiolated pea and maize seedlings grown under 1 g conditions: Relevance to the international space station experiment. Life Sciences in Space Research 20, 1-11. https://doi.org/10.1016/j.lssr.2018.11.001

Kamada M, Oka M, Inoue R, Fujitaka Y, Miyamoto K, Uheda E, Yamazaki C, Shimazu T, Sano H, Kasahara H, Suzuki T, Higashibata A, **Ueda J**. 2019. Gravity-regulated localization of PsPIN1 is important for polar auxin transport in etiolated pea seedlings: Relevance to the International Space Station experiment. Life Sciences in Space Research 22, 29-37. https://doi.org/10.1016/j.lssr.2019.07.001

2. Auxin Transport 宇宙実験に関する学会報告（2010 年～2019 年）

Studies on gravity-controlled growth and development in higher plants using true microgravity conditions on the Japanese experiment module “Kibo” in the International Space Station
Junichi Ueda、Kensuke Miyamoto
日本宇宙生物科学会第 24 回大会（シンポジウム、東北大）
2010 年 9 月 17 日～18 日

エンドウ重力応答突然変異体“*ageotropum*”の自発的形態形成とオーキシン極性移動関連遺伝子発現
上田純一、多田朋弘、戸田雄太、宮本健助
第 27 回宇宙利用シンポジウム（JAXA 淵野辺）
2011 年 1 月 24 日～25 日

多田朋弘、 戸田雄太、 宮本健助、 上田純一
エンドウ重力応答突然変異体 *ageotropum* の自発的形態形成とオーキシン極性移動関連遺伝子動態

日本植物生理学会 2011 年
（東北大　---- 東日本大震災のため開催中止）

Important role of auxin polar transport in automorphogenesis in plants
Junichi Ueda
Invited lecture in The Research Institute of Horticulture,
Skierniewice, Poland,
August 8, 2011

エンドウ重力応答突然変異体*ageotropum*の自発的形態形成とオーキシン動態
上田純一、戸田雄太、多田朋弘、宮本健助
日本植物学会第75回大会（東京大、駒場）
2011年9月17日～9月19日

オーキシン極性移動の不均等分布を有する黄化エンドウ上胚軸第一節間の重力屈性：重力刺激の方向および組織張力の観点から
宮本健助、戸田雄太、上田英二、上田純一
日本宇宙生物科学会第25回大会（横浜国大）
2011 年 9 月 30 日～10 月 1 日

宇宙植物科学研究の最前線-NASA における STS-95 植物宇宙実験と地上基礎研究を中心として-
上田純一、宮本健助
第 1 回植物生理化学シンポジウム（鹿児島大）
2011年10月8日

植物の重力応答反応とオーキシン動態
上田純一、宮本健助、上田英二、岡 真理子、戸田雄太
第 28 回宇宙利用シンポジウム（日本学術会議）
2012年1月23日～24日

Close relationships between auxin polar transport and a gravitropic response of epicotyls in the early growth stage of etiolated pea seedlings
Junichi Ueda, Kensuke Miyamoto, Eiji Uheda, Mariko Oka, Sachiko Yano, Akira Higashibata, Noriaki Ishioka
ISLSWG Workshop "Plant Biology in Space"
Freiburg, Germany,
August 1-3, 2012

黄化エンドウ芽生え上胚軸の重力応答反応とオーキシン動態
上田純一、宮本健助、上田英二、岡 真理子
日本宇宙生物科学会第26回大会（徳島大）
2012年9月27日～9月29日

Auxin Transport宇宙実験のためのオーキシン排出キャリア抗体の作製
鎌田源司、上田純一、東端　晃
日本宇宙生物科学会第26回大会（徳島大）
2012年9月27日～9月29日

黄化エンドウ芽生えの頂芽切除による側芽の成長に対する擬似微小重力の影響
宮本健助、上田英二、長谷川宏司、上田純一
日本宇宙生物科学会第26回大会（徳島大）
2012年9月27日～9月29日

Effect of simulated microgravity conditions on a 3-dimensional clinostat on lateral bud growth induced by removal

of shoot apex in Alaska pea seedlings

Kensuke Miyamoto, Mariko Oka, Eiji Uheda, Junichi Ueda

34th Annual Meeting International Gravitational Physiology "Gravitational Effects from Micro to Macro Biology"

Honokuni Toyohashi Art Center,

Toyohashi City, Aichi, Japan

June 23 (SUN) - 28 (FRI), 2013

植物の重力応答反応はオーキシン動態から説明可能か

黒田裕一、宮本健助、上田英二、上田純一

第3回植物生理化学シンポジウム

神戸天然物化学（株）西神

2013年7月13日

エンドウおよびトウモロコシのオーキシン排出キャリアー抗体を用いた形態形成の解析

鎌田源司、上田純一、東端　晃

日本宇宙生物科学会第 27 回大会（筑波大）

2013 年 9 月 27 日～28 日

宇宙植物実験「宇宙環境を利用した植物の重力応答反応機構および姿勢制御機構の解析」に向けて

宮本健助、上田英二、岡 真理子、上田純一

2013宇宙WG/RT合同研究会 招待講演（日本宇宙フォーラム）

2013 年 12 月 5 日

Auxin polar transport is essential for graviresponse of etiolated pea seedlings

Junichi Ueda, Motoshi Kamada, Mariko Oka, Kensuke Miyamoto, Eiji Uheda, Akira Higashibata

PGRSA Annual Conference - 2014

Hilton San Francisco Financial District, 750 Kearny Street

San Francisco, California 94108

July 13, 2014 - July 17, 2014 (Mountain Time)

黄化 Alaska エンドウ上胚軸頂端鉤状部の成長・発達に対する重力の影響：

3 次元クリノスタットおよび重力応答突然変異体 *ageotropum* を用いた解析

山崎隆弘、上田英二、上田純一、宮本健助

日本植物学会第 78 回大会（明治大）

2014 年 9 月 12 日～14 日

黄化エンドウ芽生え上胚軸頂端鉤状部の成長・発達に対する擬似微小重力の影響

宮本健助、山﨑隆弘、上田英二、上田純一

日本宇宙生物科学会第 28 回大会（大阪府大）

2014 年 9 月 22 日～23 日

植物の姿勢制御におけるオーキシン極性移動の役割－特にオーキシン極性移動関連遺伝子の発現について－

林 直哉、尾崎真紀子、田畑雅章、上田純一、宮本健助、岡 真理子

日本宇宙生物科学会第 28 回大会（大阪府大）

2014 年 9 月 22 日～23 日

エンドウおよびトウモロコシのオーキシン排出キャリア抗体を用いた免疫組織化学解析と宇宙実験に有用な化学固定液の検討

鎌田源司、上田純一、東端　晃

日本宇宙生物科学会第 28 回大会（大阪府大）

2014 年 9 月 22 日～23 日

植物の姿勢制御におけるオーキシン極性移動の重要性

上田純一、鎌田源司、岡 真理子、宮本健助、黒田裕一、上田英二、東端　晃

植物化学調節学会（京都大）

2014 年 10 月 17 日～19 日

キク科植物由来セスキテルペンラクトン類のオーキシン極性移動阻害活性

星 萌子、新井 司、戸田雄太、宮本健助、上田純一、長谷川宏司、繁森英幸

第 4 回植物生理化学会シンポジウム（東北大）

2014 年 11 月 1 日～2 日

黄化エンドウ芽生え上胚軸鉤状部の成長・発達に対する重力の影響

山﨑隆弘、上田英二、上田純一、宮本健助

第 4 回植物生理化学会シンポジウム（東北大）

2014 年 11 月 1 日～2 日

植物の姿勢制御におけるオーキシン極性移動の重要性

黒田裕一、鎌田源司、岡 真理子、宮本健助、上田英二、東端　晃、上田純一

第 4 回植物生理化学会シンポジウム（東北大）

2014 年 11 月 1 日～2 日

黄化アラスカエンドウ芽生え上胚軸鉤状部の成長・発達に対する重力の影響：３次元クリノスタットおよび*ageotropum*を用いた解析

宮本健助、山﨑隆弘、岡 真理子、上田英二、上田純一

第 29 回宇宙環境利用シンポジウム（JAXA 淵野辺）

2015 年 1 月 25 日～26 日

植物の重力応答反応におけるオーキシン極性移動の重要性

上田純一、黒田裕一、鎌田源司、岡 真理子、上田英二、宮本健助、東端 晃

第 29 回宇宙環境利用シンポジウム（JAXA 淵野辺）

2015 年 1 月 25 日～26 日

植物宇宙実験の成果と今後の展望、特に植物ホルモン、オーキシン動態を中心として

上田純一

宇宙科学談話会 招待講演（JAXA 淵野辺）

2015 年 3 月 18 日

宇宙で植物を育てると・・・

上田純一

七夕講演会・観望会 招待講演（大阪府大）

2015 年 7 月 6 日

黄化エンドウ上胚軸の重力屈性制御に関わる生長調節物質の探索：重力応答突然変異体*ageotropum*を用いた解析

長谷川 剛、 小出麻友美、 繁森英幸、 長谷川宏司、 上田純一、 宮本健助

日本植物学会（新潟）

2015 年 9 月 6 日～8 日

植物の重力応答反応　–特にオーキシン極性移動の観点から–

上田純一

日本宇宙生物科学会第 29 回大会 招待講演（帝京大医）

2015 年 9 月 26 日～27 日

黄化エンドウ芽生え上胚軸の成長・発達およびオーキシン極性移動に対する過重力刺激の影響
村山忠隆、上田英二、上田純一、宮本健助
日本宇宙生物科学会第 29 回大会（帝京大医）
2015 年 9 月 26 日～27 日

オーキシン極性移動関連遺伝子発現に対する重力の影響
林 直哉、宮本健助、上田英二、上田純一、鎌田源司、東端 晃、岡 真理子
第 29 回日本宇宙生物科学会（帝京大医）
2015 年 9 月 26 日～27 日

黄化エンドウ芽生え上胚軸鉤状部の成長・発達に対する重力の影響
－オーキシン極性移動およびエチレンの関与－
山﨑隆弘、上田英二、上田純一、宮本健助
第 5 回植物生理化学会シンポジウム（筑波大）
2015 年 9 月 11 日～12 日

黄化エンドウ芽生え上胚軸の成長・発達、およびオーキシン極性移動に対する過重力の影響
村山忠隆、上田英二、上田純一、宮本健助
第 5 回植物生理化学会シンポジウム（筑波大）
2015 年 9 月 11 日～12 日

Studies on gravity-controlled growth and development in plants using true microgravity conditions on the Japanese experiment module “Kibo” in the internal space station (Auxin Transport)
Junichi Ueda
Joint CSA/ESA/JAXA/NASA ISS Increments 47&48 Science Symposium (JAXA 筑波)
January 19, 2016

植物の成長戦略と重力 －自発的形態形成と頂芽優勢の観点から－
宮本健助、岡 真理子、上田英二、上田純一
第 29 回宇宙環境利用シンポジウム（JAXA 淵野辺）
2016 年 1 月 19 日～20 日

黄化トウモロコシ芽生えにおけるオーキシン極性移動と重力応答反応
林　直哉、宮本健助、上田英二、上田純一、岡 真理子
日本植物生理学会（岩手大）
2016 年 3 月 18 日～20 日

宇宙で植物を育てる－宇宙基地における植物栽培を目指して－
上田純一
関西宇宙イニシアティブ 第 51 回 KaSpI セミナー 招待講演（大阪府大、I-site）
2016 年 3 月 19 日

環境の変化と植物の形、特に光や重力の影響について
上田純一
形の文化会 招待講演（大阪府大、I-site）
2016 年 5 月 29 日

黄化エンドウ芽生え上胚軸の成長およびオーキシン極性移動は、過重力刺激に対して極めて耐性である
村山忠隆、上田英二、上田純一、宮本健助
第 6 回植物生理化学会シンポジウム（大阪府大）
2016 年 7 月 23 日～24 日

天然型オーキシン極性移動阻害物質であるデヒドロコスタスラクトンの生理作用およびその作用機構

岡田一穂、戸田雄太、繁森英幸、上田純一、宮本健助
第 6 回植物生理化学会シンポジウム（大阪府大）
2016 年 7 月 23 日～24 日

黄化エンドウ芽生えにおける天然型オーキシン極性移動阻害物質、デヒドロコスタスラクトンの生理作用
岡田一穂、戸田雄太、上田純一、宮本健助
日本植物学会（沖縄）
2016 年 9 月 16 日～18 日

植物の姿勢制御におけるオーキシン極性移動の役割－カルシウムイオン動態の関与
林 直哉、宮本 健助、上田 純一、岡 真理子
日本宇宙生物科学会第 30 回大会（愛知医大）
2016 年 10 月 13 日～15 日

オーキシン排出キャリア抗体を用いたエンドウ芽生え形態形成の解析
鎌田源司、藤高弥生、宮本健助、上田純一、嶋津　徹、東端　晃
日本宇宙生物科学会第 30 回大会（愛知医大）
2016 年 10 月 13 日～15 日

Growth and auxin polar transport in etiolated pea seedlings under hypergravity conditions
Tadataka Murayama, Mariko Oka, Eiji Uheda, Junichi Ueda, Kensuke Miyamoto
11th Asian Microgravity Symposium–2016
Hokkaido University Convention Hall, Sapporo, Japan
October 25 to 29 (Tuesday to Saturday), 2016

Altered auxin polar transport is essentially related to morphogenesis in response to changed gravity conditions in etiolated pea seedlings
Junichi Ueda, Kensuke Miyamoto, Eiji Uheda[1], Mariko Oka, Motoshi Kamada, Toru Shimazu, Akira Higashibata
11th Asian Microgravity Symposium–2016
Hokkaido University Convention Hall, Sapporo, Japan
October 25 to 29 (Tuesday to Saturday), 2016

黄化エンドウ上胚軸の成長・発達とオーキシン極性移動に対する重力刺激の影響：特に過重力刺激の観点から
村山忠隆、上田純一、宮本健助
植物化学調節学会（高知大）
2016 年 10 月 28 日～30 日

キク科薬用植物中の天然型オーキシン極性移動制御物質の探索とその作用機構
戸田雄太、岡田一穂、繁森英幸、上田純一、宮本健助
植物化学調節学会（高知大）
2016 年 10 月 28 日～30 日

Auxin Transport 宇宙実験：宇宙微小重力環境下で生育させた黄化エンドウ芽生えにおける *PsPINs* および *PsAUX* の遺伝子発現
井上理子、岡 真理子、林　直哉、宮本健助、鎌田源司、山崎千秋、嶋津 徹、佐野ひろみ、笠原春夫、鈴木智美、東端　晃、上田純一
日本宇宙生物科学会第 31 回大会（前橋）
2017 年 9 月 21 日～22 日

Auxin Transport宇宙実験：宇宙微小重力環境下で生育させた黄化エンドウ芽生えの成長とオーキシン極性移動

宮本健助、乾　暉昇、鎌田源司、岡 真理子、山崎千秋、嶋津　徹、佐野ひろみ、笠原春夫、鈴木智美、東端　晃、上田純一

日本宇宙生物科学会第 31 回大会（前橋）

2017 年 9 月 21 日～22 日

Auxin Transport 宇宙実験

微小重力環境下で生育させた黄化エンドウ芽生えにおける PsPIN1 の局在

鎌田源司、宮本健助、上田純一、嶋津　徹、山崎千秋、鈴木智美、東端　晃

日本宇宙生物科学会第 31 回大会（前橋）

2017 年 9 月 21 日～22 日

重力応答正常品種Alaskaと重力応答突然変異体*ageotropum*との比較解析によるエンドウ上胚軸の重力屈性制御物質の探索：β-(isoxazolin-5-on-2yl)-alanine の関与の可能性

長谷川 剛、大宮由芽、小出麻友美、繁森英幸、上田純一、長谷川宏司、宮本健助

第 7 回植物生理化学会（佐賀大）

2017 年 10 月 14 日～15 日

重力応答突然変異体 *ageotropum* との比較解析によるエンドウ上胚軸の重力屈性制御物質の探索：β-(isoxazolin-5-on-2yl)-alanine の関与の可能性

宮本健助、長谷川 剛、大宮由芽、小出麻友美、繁森英幸、上田純一、長谷川宏司

植物化学調節学会（鹿児島大）

2017 年 10 月 27 日～29 日

Auxin Transport space experiment on the Japanese Experiment Module “Kibo” in the Internal Space Station

Invited lectures in the Research Institute of Horticulture, Skierniewice and in Franciszek Górski Institute of Plant Physiology of the Polish Academy of Sciences, Krakow, Poland

Junichi Ueda

September 3 and September 5, 2018

Auxin Transport 宇宙実験：(1) 宇宙実験に至る経緯、背景および実験概要

東端　晃，嶋津　徹，宮本健助，上田英二，岡 真理子，鎌田源司，山崎千秋，笠原春夫，佐野ひろ美，鈴木智美，上田純一

日本宇宙生物科学会第 32 回大会（東北大）

2018 年 9 月 22 日～23 日

Auxin Transport 宇宙実験：(2) 宇宙微小重力環境下で生育させた黄化エンドウ芽生えおよび黄化トウモロコシ芽生えの成長とオーキシン極性移動

宮本健助，乾　暉昇，上田英二, 岡 真理子，鎌田源司, 山崎千秋, 嶋津　徹, 笠原春夫, 佐野ひろ美,鈴木智美, 東端　晃, 上田純一

日本宇宙生物科学会第 32 回大会（東北大）

2018 年 9 月 22 日～23 日

Auxin Transport 宇宙実験：(3) エンドウおよびトウモロコシ黄化芽生えにおけるオーキシン極性移動関連遺伝子の発現とその産物の細胞内局在に対する宇宙微小重力環境の影響

鎌田源司，岡 真理子，井上理子，藤高弥生，山崎千秋，嶋津　徹，佐野ひろ美，笠原春夫，鈴木智美，東端　晃，上田英二，宮本健助，上田純一

日本宇宙生物科学会第 32 回大会（東北大）

2018 年 9 月 22 日～23 日

Auxin Transport 宇宙実験：宇宙環境下で生育させた黄化 Alaska エンドウ芽生えにおける水チャネル関連遺伝子発現

鎌田源司，岡 真理子，宮本健助，山崎千秋，嶋津 徹，笠原春夫，東端　晃，上田純一

日本宇宙生物科学会第 33 回大会（千葉、量研・放医研）

2019 年 9 月 21 日～22 日

Auxin Transport宇宙実験：黄化芽生えにおける植物ホルモンの網羅的解析

山﨑千秋，宮本健助，鎌田源司，榊原　均, 小嶋美紀子, 竹林裕美子, 嶋津　徹, 笠原春夫，佐野ひろ美，山﨑誠和, 鈴木智美，東端　晃，岡 真理子, 上田英二, 上田純一

日本宇宙生物科学会第 33 回大会（千葉、量研・放医研）

2019 年 9 月 21 日～22 日

2020年度 ISS・きぼう利用ミッション科学成果評価結果

宇宙環境を利用した植物の重力応答反応機構および姿勢制御機構の解析
(Auxin Transport)
研究代表者 上田純一(大阪府立大学)

総合評価
A: 目標を充分に達成した(フルサクセス相当)

本研究は、エンドウおよびトウモロコシの芽生えの、宇宙微小重力におけるオーキシンの極性輸送能力の差異に着目し、*PIN1*遺伝子の発現解析やPIN1タンパク質の細胞内局在の解析を行い、オーキシン極性移動の重力制御メカニズムを明らかにすることを目的としたものである。詳細な細胞生物学的解析が行われ、植物の成長、発達で中心的な役割を担うオーキシン極性移動に関する*PIN*遺伝子の発現動態を明らかにした。また、複数の重要な学術論文公表を含む波及効果のある成果を上げており、高く評価できる。

宇宙における植物の成長、発達のメカニズムを深く理解することは、宇宙での植物生産など、将来の有人宇宙活動に必須の技術への応用という視点でも重要である。現在進められている遺伝子発現の網羅的解析を完結させ、さらにインパクトの大きい成果発信を期待する。

2020年8月

きぼう利用テーマ選考評価委員会(生命医科学分野)

ISS・きぼう利用ミッション
「宇宙環境を利用した植物の重力応答反応機構および姿勢制御機構の解析（Auxin Transport）」
研究成果概要書

代表研究者：上田 純一（大阪府立大学大学院理学系研究科）

2020 年 3 月 2 日

Auxin Transport 宇宙実験は、研究計画に示したスケジュールに従って順調に実施することができた。また、サンプル帰還後の地上における各解析実験も問題なく実施することができた。実施計画段階では、これらの宇宙実験の成果を合計 5 編の論文として公表することにしており、2019 年度にすでに 2 編が国際誌に印刷公表され、現在 1 編の論文が投稿中であり、さらにエクストラサクセスに相当する 2 編の内の 1 編は投稿準備中である。なお最後の 1 編についても現在論文原稿を執筆中である。以上のとおり、Auxin Transport 宇宙実験については全ての実施計画を達成できる状況にあり、大成功であると自負している。さらに Auxin Transport 宇宙実験の実施に不可欠な内容を含んでいる地上基礎実験の結果およびその成果についても 2018 年度にすでに 2 編の論文として国際誌に印刷公表したところである。以下に Auxin Transport 宇宙実験で得られた結果ならびにその成果の概要を記述する。

重力によって影響される植物の成長と発達ならびにそれに密接に関係しているオーキシン極性移動の重力制御メカニズムを分子レベルで明らかにするために、その排出キャリアータンパク質をコードする遺伝子の発現とその産物の細胞内局在に焦点を当てて、ISS における宇宙微小重力（以下「宇宙 μg」と記述）環境を利用した宇宙実験を行うことを計画した。ここでは宇宙 μg 環境下で生育した黄化エンドウと黄化トウモロコシの芽生えの成長と発達およびそれに密接に関連するオーキシン極性移動の詳細を明らかにするとともに、黄化エンドウ芽生え上胚軸細胞および黄化トウモロコシ芽生え幼葉鞘細胞と中胚軸細胞におけるオーキシン極性移動制御タンパク質をコードしている遺伝子の発現に対する、また、オーキシン極性移動制御タンパク質の細胞局在化に対する宇宙 μg 環境の影響を明らかにすることを研究の主たる目的とした。さらに、重力によって制御される植物の成長と発達におけるオーキシン極性移動制御タンパク質の役割を解析した。この目的を達成するために、既にオーキシン極性移動制御タンパク質に対する新規な特異的ポリクローナル抗体を作製してきたところである。

宇宙 μg 環境下で生育させた黄化アラスカエンドウ（*Pisum sativum* L. cv Alaska）および黄化トウモロコシ（*Zea mays* L. cv Golden Cross Bantam）の芽生えの成長と発達をそのオーキシン動態の観点から明らかにするために、2016 年と 2017 年に国際宇宙ステーション（ISS）の日本実験モジュール（JEM）において宇宙実験（NASA の運用命名法による運用名：Auxin Transport）を実施した。宇宙 μg 環境下で 3 日間成長した黄化エンドウの芽生えは、自発的形態形成を示した。すなわち上胚軸と根は、子葉から離れる方向にそれぞれ 45 度と 20 度離れる方向に伸長した。ISS 内に設置されている細胞培養装置（CBEF）の遠心機によって作出した人工 1 g（以下「宇宙 1 g」と記述）環境下では、地上と同様、黄化エンドウ芽生えの上胚軸と根はそれぞれ負および正の重力屈性応答を示した。一方、4 日齢の黄化トウモロコシ芽生えでは、幼葉鞘はほぼ真っ直ぐに成長したが、中胚軸は宇宙 μg 環境下でランダムな方向に曲がって成長した。対照とした地上 1 g の環境下で成長した黄化トウモロコシ芽生えの幼葉鞘および中胚軸はほぼ真っ直ぐ上方、すなわち重力ベクトルに反する方向に向かって成長した。黄化エンドウ芽生え上胚軸および黄化トウモロコシ芽生えの地上部におけるオーキシン極性移動は、宇宙 1 g 環境または地上の 1 g 環境と比較して、宇宙 μg 環境下でそれぞれ有意に低下あるいは上昇した。オーキシン極性輸送阻害剤、2,3,5-トリヨード安息香酸（TIBA）は、実際、宇宙 1 g 環境および宇宙 μg 環境下で成長した黄化エンドウの芽生えの成長方向とオーキシン極性移動に影響した。これらの結果は、植物の重力応答反応には適

切（正常）なオーキシン極性移動が不可欠であることを強く示唆している。

重力によるオーキシン極性移動の制御メカニズムを明らかにするために、宇宙 1 g 環境下、宇宙 μg 環境下および地球上の 1 g 環境下、暗所で 3 日間成長させた黄化エンドウ芽生えのフックおよび上胚軸細胞における PsPIN1 遺伝子発現およびその産物の細胞内局在を調べた。重力環境に関係なく、黄化エンドウ芽生え子葉側上胚軸での *PsPIN1* mRNA の蓄積は統計的な有意差は認められないものの、反子葉側のそれと比較してわずかに高くなる傾向にあった。 TIBA は、上胚軸の子葉側と反子葉側の *PsPIN1* mRNA の蓄積に影響しなかった。しかしながら、芽生え先端のフック領域では、TIBA は、宇宙 1 g 環境の場合と比較して、宇宙 μg 環境下では *PsPIN1*mRNA の蓄積を増加させた。芽生え上胚軸における PsPIN1 タンパク質の蓄積をウエスタンブロット法によって調べた結果、それは *PsPIN1*mRNA の蓄積とほぼ同様であった。PsPIN1 に特異的なポリクローナル抗体を用いた免疫組織化学的解析により、宇宙 1 g 環境下で成長した芽生えの先端およびフック領域の PsPIN1 の大部分は、内皮の細胞膜の基底部（根側）に局在していることが明らかになった。逆に、宇宙 μg 環境下で成長した芽生えでは、PsPIN1 の局在は大きく乱れていた。 TIBA は、特に μg 環境下で PsPIN1 の細胞局在パターンを大幅に変化させた。これらの結果は、重力によるオーキシン極性移動の制御メカニズムは、PsPIN1 の膜局在化による可能性が高いことを強く示唆している。

一方、地上 1 g 環境と比較して宇宙 μg 環境下で成長した黄化トウモロコシ芽生えのオーキシン極性移動は促進されるが、このメカニズムを分子レベルで明らかにするために、オーキシン排出キャリアーである ZmPIN1a をコードしている遺伝子の発現ならびにその産物動態と細胞内局在に対する宇宙 μg 環境の影響を調べた。宇宙 μg 環境下で生育した芽生えの幼葉鞘および中胚軸における *ZmPIN1a* mRNA の蓄積は、地上 1 g 環境下で育った芽生えとほぼ同様であった。またその芽生えの幼葉鞘と中胚軸における ZmPIN1a タンパク質量は地上で生育した芽生えのそれと変わらなかったが、宇宙 μg 環境はそれをわずかに増加させる傾向があった。ZmPIN1a に特異的なポリクローナル抗体を用いた免疫組織化学的解析により、ZmPIN1a の大部分が幼葉鞘および中胚軸の柔組織細胞の細胞膜の基底部（根側）側、および細胞膜の基底部側および外側に認められたが、宇宙 μg 環境は、幼葉鞘の柔組織細胞における ZmPIN1a の局在化を実質的に変化させ、地上 1 g 環境下のものと比べ、ZmPIN1a が維管束に向かって配向する細胞が多かった。これらの事実は、黄化トウモロコシ芽生えにおいて、宇宙 μg 環境がオーキシン極性移動を高めるメカニズムは *ZmPIN1a* 遺伝子発現または ZmPIN1a タンパク質量よりも幼葉鞘の柔組織細胞における ZmPIN1a タンパク質の局在の変化に起因する可能性が高いことを示唆している。

Auxin Transport 宇宙実験の研究計画時におけるサクセスクライテリアとその内容および自己評価については以下のとおりである。

サクセスクライテリア	内容	自己評価
ミニマムサクセス	宇宙 μg 環境下における黄化エンドウ芽生えおよび黄化トウモロコシ芽生えの成長と発達、およびオーキシン極性移動	◎
フルサクセス	黄化エンドウ芽生えにおけるオーキシン極性移動関連遺伝子発現と産物の免疫組織化学的解析による細胞内局在	◎
	黄化トウモロコシ芽生えにおけるオーキシン極性移動関連遺伝子発現と産物の免疫組織化学的解析による細胞内局在	○*
エキストラサクセス	宇宙 μg 環境下での黄化エンドウ芽生えおよび黄化トウモロコシ芽生えにおける遺伝子発現の網羅的解析	○*
	宇宙 μg 環境下での黄化エンドウ芽生えおよび黄化トウモロコシ芽生えにおける内生植物ホルモン動態に関する網羅的解析	△**

* 現在論文を国際誌に投稿中あるいは投稿準備中である。

** 内生植物ホルモン分析に関する網羅的解析については全て終了し、現在論文草稿を執筆中である。

Summary report of the ISS-Kibo utilization mission,
"Studies on gravity-controlled growth and development in plants using true microgravity conditions (Auxin Transport)"

Principal Investigator: Professor Junichi Ueda (Graduate School of Science, Osaka Prefecture University)

March 2, 2020

We conducted "Auxin Transport" space experiments in 2016 and 2017 in the Japanese Experiment Module (JEM) on the International Space Station (ISS), with the principal objective being integrated analyses of the growth and development of etiolated pea (*Pisum sativum* L. cv Alaska) and maize (*Zea mays* L. cv Golden Cross Bantam) seedlings under true microgravity conditions in space relative to auxin dynamics. Etiolated pea seedlings grown under microgravity conditions in space for 3 days showed automorphogenesis. Epicotyls and roots bent ca. 45 degree and 20 degree toward the direction away from the cotyledons, respectively, whereas those grown under artificial 1 g conditions produced by a centrifuge in the Cell Biology Experiment Facility (CBEF) in space showed negative and positive gravitropic response in epicotyls and in roots, respectively. On the other hand, the coleoptiles of 4-day-old etiolated maize seedlings grew almost straight, but the mesocotyls curved and grew toward a random direction under microgravity conditions in space. In contrast, the coleoptiles and mesocotyls of etiolated maize seedlings grown under 1 g conditions on Earth were almost straight and grew upward or toward the direction against the gravity vector. The polar auxin transport activity in etiolated pea epicotyls and in maize shoots was significantly inhibited and enhanced, respectively, under microgravity conditions in space as compared with artificial 1 g conditions in space or 1 g conditions on Earth. An inhibitor of polar auxin transport, 2,3,5-triiodobenzoic acid (TIBA) substantially affected the growth direction and polar auxin transport activity in etiolated pea seedlings grown under both artificial 1 g and microgravity conditions in space. These results strongly suggest that adequate polar auxin transport is essential for gravitropic response in plants.

To clarify the mechanism of gravity-controlled polar auxin transport, we focused on the expression of genes related to auxin efflux carrier protein PsPIN1 and its localization in the hook and epicotyl cells of etiolated Alaska pea seedlings grown for three days in the dark under microgravity and artificial 1 g conditions on a centrifuge in the CBEF in the ISS, and under 1 g conditions on Earth. Regardless of gravity conditions, the accumulation of *PsPIN1* mRNA in the proximal side of epicotyls of the seedlings was not different, but tended to be slightly higher as compared with that in the distal side. TIBA also did not affect the accumulation of *PsPIN1*mRNA in the proximal and distal sides of epicotyls. However, in the apical hook region, TIBA increased the accumulation of *PsPIN1* mRNA under microgravity conditions as compared with that under artificial 1 g conditions in the ISS. The accumulation of PsPIN1 proteins in epicotyls determined by western blotting was almost parallel to that of *PsPIN1* mRNA. Immunohistochemical analysis with a specific polyclonal antibody of PsPIN1 revealed that a majority of PsPIN1 in the apical hook and subapical regions of the seedlings grown under artificial 1 g conditions in the ISS localized in the basal side (rootward) of the plasma membrane of the endodermal tissues. Conversely, in the seedlings grown under microgravity conditions, localization of PsPIN1 was greatly disarrayed. TIBA substantially altered the cellular localization pattern of PsPIN1, especially under microgravity conditions. These results strongly suggest that the mechanisms by which gravity controls polar auxin transport are more likely to be due to the membrane localization of PsPIN1. This physiologically valuable finding of a close relationship between gravity-controlled polar auxin transport and the localization of auxin efflux carrier PsPIN1 in etiolated pea seedlings

based on the microgravity experiment conducted in space will contribute to establish how to cultivate plants in space in future.

To clarify the mechanisms of microgravity-enhanced polar auxin transport in shoots of etiolated maize (*Zea mays* L. cv Golden Cross Bantam) seedlings grown under microgravity conditions in space as compared with seedlings grown on Earth at molecular levels, we also investigate effects of microgravity on the expression of gene encoding essential efflux carriers for auxin transport of ZmPIN1a proteins, and cellular localization of its products. The accumulations of *ZmPIN1a* mRNA in the coleoptiles and the mesocotyls in seedlings grown in space were almost the same as in seedlings grown on Earth. The amount of ZmPIN1a proteins in the coleoptiles and the mesocotyls in seedlings grown in space was not different from that in seedlings grown on Earth, whereas microgravity conditions tended to increase it slightly. Immunohistochemical analysis with a specific polyclonal antibody of ZmPIN1a revealed a majority of ZmPIN1a was observed in the basal (rootward) side of the plasma membrane of endodermal tissue cells in the coleoptiles and the mesocotyls, and in the basal and lateral sides of the plasma membrane in parenchymatous cells of the coleoptiles. Microgravity substantially altered ZmPIN1a localization in the parenchymatous cells of the coleoptiles, shifting more toward the vascular bundles than those grown on Earth. These suggest that the mechanisms by which gravity enhances polar auxin transport in maize shoots are more likely to be due to the altered ZmPIN1a localization in parenchymatous cells of the coleoptiles, which facilitates auxin loading into vascular tissues, than by the enhanced gene expression of ZmPIN1a or the increased ZmPIN1a proteins. Together with our previous ISS results with peas described above, these suggest that gravity substantially regulates polar auxin transport, depending on plant species.

We have already published 2 manuscripts (plus one submission) relevance to the ISS experiment results (full success) describe above. In addition, we are now just before submitting a manuscript of microarray analysis of gene expression in etiolated pea seedlings grown under microgravity conditions in space as an extra success according to the program of this space experiment ‘Auxin Transport’. Preparation of a manuscript relevance to plant hormone estimated is now under progress as well.

ISS・きぼう利用ミッション
「宇宙放射線が哺乳動物生殖細胞に及ぼす影響（Stem Cells）」
研究成果成果報告書
代表研究者；森田　隆（大阪市立大学大学院医学研究科）
2019 年 1 月

1. 緒言

宇宙空間は、微小重力と宇宙放射線が錯綜する特殊な空間である。宇宙放射線により直接的に放射線急性被ばくを受けたという報告はないが、晩発効果としての癌化などの可能性は否定できない。長期的な有人宇宙飛行を想定する場合リスクの評価および防御対策の策定は重要である。

本研究の目的は、月面探査やさらに有人火星探査などが計画されている現在、長期的な放射線の生物への影響はどれぐらいであるかを正確に解析し、リスク評価できるようにすることである。それにより、宇宙滞在者を被爆による被害から守ることである。

宇宙放射線には、その起源として 3 種類が知られている。第 1 は、銀河宇宙放射線、第 2 は補足粒子線、第 3 は太陽放射線である。銀河宇宙放射線は、銀河系から飛来する宇宙線であり、地球の場合、天の川銀河から到達するものである(図１)。それらは、超新星爆発により、種々の粒子線を放射する。銀河宇宙線は、太陽系外から飛来するもので、数 MeV/n から 109GeV にわたり、広いエネルギー分布をもつ。ISS では、約 98%が陽子などの重荷電粒子で、残りの約 2%が電子と陽電子である。重荷電粒子のほとんどは陽子(87%)と He(12%)である（文献１－３）。その他の 1%は、HZE 粒子は、数は少ないがそれぞれの粒子のもつ生物学的影響が大きく、それらの作用が重要である。補足粒子線は、地球の磁場により補足された荷電粒子である。これらは、エネルギーの高い陽子や電子からなる。内側の内帯では、陽子のエネルギーは数 MeV から数百 MeV に分布する。ISS では、補足要旨と銀河宇宙船の影響はおよそ半々とされている。太陽粒子現象は、太陽フレアやコロナ質量放出によって、太陽から、電子や、陽子から鉄までの重荷電粒子が放出されてくる。重荷電粒子としては陽子が 80－90%で He イオンが 10－20%、HZE 粒子が 1%ぐらい放出される。これらは太陽活動が大きいときによくおこる(文献１－３)。

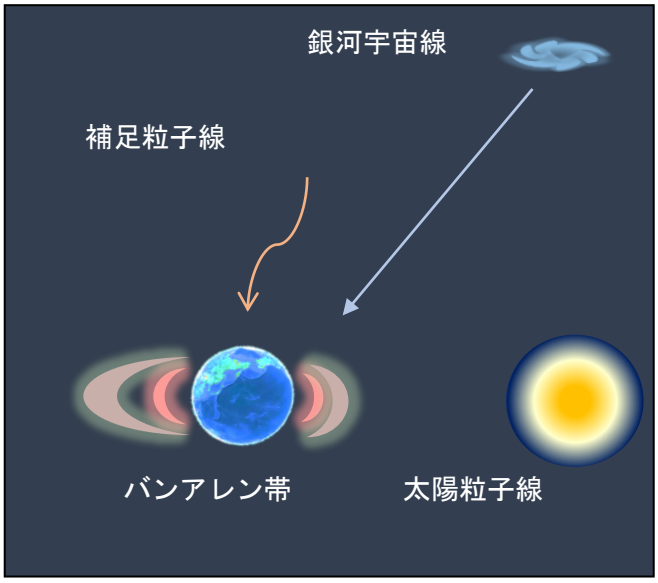


図１　宇宙放射線の起源

一方、物理学的線量測定により、宇宙放射線は、地上の約 100 倍とされている。したがってその影響は非常に大きいという印象を与えるが、実際に ISS での被ばく線量は約 0.4 mGy/day ということがわかっている(文献１－３)。これは非常に**低線量率での低線量被ばく**に相当する。さらに先に述べたように宇宙放射線は、様々なエネルギーを持つ線質の異なる放射線が含まれたもので**単一の線種ではなく複雑である**。宇宙放射線の影響を調べるためには、陽子とそれ以上の重粒子線の影響を考えることが重要である。しかし、これらの重粒子線の生物学的影響を測定することは難しい。そこで、本研究では以下のような点に注目して宇宙実験の研究計画を立てた。

（１） 宇宙放射線の生物学的影響を知るためにマウスの胚性幹細胞（ES）を用いた。

宇宙放射線の影響を解析するために、ヒトに応用できるよう哺乳動物であるマウス細胞を選んだ。当初、マウス個体を宇宙ステーションにうちあげることを考えたが、設備や飼育がむずかしいこと、更に宇宙線が低線量であるため、個体への影響がでるまでには個体の寿命である 2 年間近くの飼育が必要となることなどから無理であるという結論になった。そこで、マウスの細胞を凍結して長期間被爆させることを着想した。マウス細胞のなかでも、我々は、ES 細胞を使用した。ES 細胞は染色体が正常であり、また、マイクロインジェクションなどにより、個体に戻すことが可能である。染色体異常の解析や発生への影響解析に適していると考えた。さらに ES 細胞のなかでも野生型 ES 細胞に加えて、DNA 修復遺伝子であるヒストン H2AX 遺伝子を欠損したマウス ES 細胞を近畿大学医学部寺村博士らと共同で作成して打ち上げた。これは宇宙放射線が低線量であるので、細胞の放射線感受性を高めるためであった。

（２） ISS に ES 細胞を凍結状態で打ち上げ、長期間保存してその影響を調べた。

マウス細胞を ISS 内で長期間培養することは困難である。また、培養により数々の選択圧がかかり、最終的な細胞集団が何を代表するものか不明となる恐れがある。したがって、本研究では、長期間被ばくさせることのできる方法として、細胞を凍結した状態で ISS に打ち上げ、1 年ごとに地上に回収することとした。

（３） 地上で加速器を用いて重粒子線影響を調べた。

通常の X 線などとは宇宙放射線の影響は異なるので、本研究では陽子線や各種重粒子線を照射できる放射線医学総合研究所の重粒子線照射装置（HIMAC）を共同利用研究として用いた。

2. 研究計画

２．１　研究目標

本研究では、凍結したマウス ES 細胞を国際宇宙ステーションに打ち上げて、数年保存した後、地上に戻し、細胞生存率の低下、DNA 損傷、染色体の異常、さらに、受精卵にマイクロインジェクション後、発生を調べ、長期滞在へのリスクを評価することを計画した。2013 年 3 月にマウス ES 細胞をスペース XII 号機で国際宇宙ステーション(ISS)に ES 細胞を打ち上げ、2014 年 5 月には、約 1 年経過し、たサンプルが冷凍状態で回収された。さらに、2015 年 2 月、2016 年 4 月、そして 2017 年 7 月に最後のサンプルが無事回収された。これらについて、宇宙放射線による DNA 損傷や染色体異常を検出し、その影響を考察した(図２)。

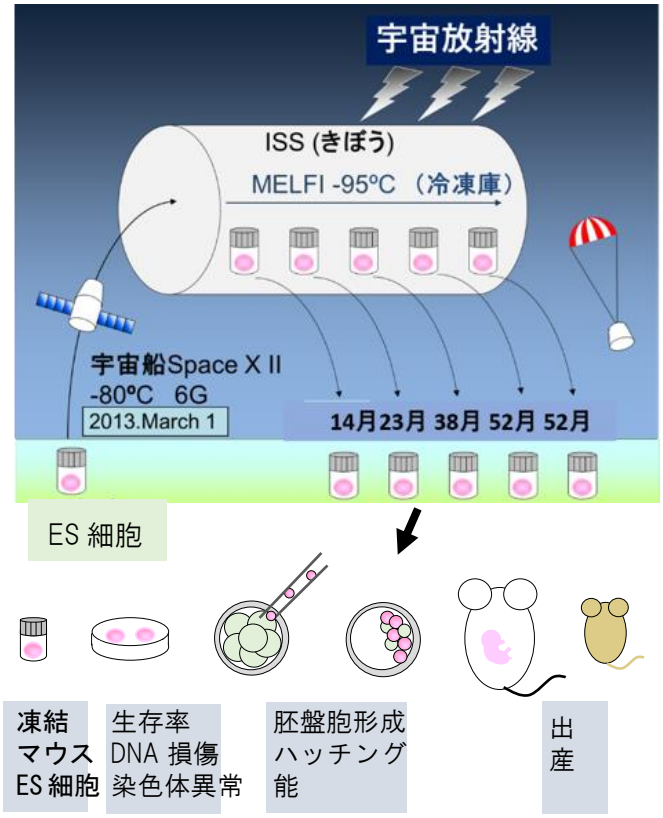


図２　宇宙実験の概要
凍結したマウス ES 細胞を国際宇宙ステーションから地上に回収後、生存率、染色体異常、発生能などを調べる

２．２　体制

研究チームの体制

氏名	所属	役割分担
森田　隆	大阪市立大学大学院医学研究科動物実験施設	宇宙放射線の生物への影響を解析する
吉田佳世	大阪市立大学大学院医学研究科実験動物学	宇宙放射線によるマウス ES 細胞における染色体異常を解析する。
笠井清美	（国研）量子科学技術研究開発機構 放射線医学総合研究所　人材育成センター	ES 細胞の重粒子線による影響を解析する
Francis, A. Cucinotta	University of Nevada, Las Vegas, Health Physics and Diagnostic Sciences	ヒストン H2AX 遺伝子欠損 ES 細胞の重粒子線に対する染色体の異常を解析する
秦　恵	Radiation Institute for Science and Engineering (RalSE) Texas A&M Chancellor Research Initiative Prairie View A&M University	ヒストン H2AX 遺伝子欠損 ES 細胞の X 線、重粒子線に対する染色体の異常および DNA 損傷を解析する
近藤　玄	国立大学法人　京都大学再生医科学研究所附属再生実験動物施設	ＥＳ細胞からマウス個体作製
渡邊仁美	国立大学法人　京都大学再生医科学研究所附属再生実験動物施設	ＥＳ細胞からマウス個体作製

ＪＡＸＡ支援体制

ＪＳＦ；嶋津　徹(以下敬称略)、鈴木ひろみ

ＪＸＡ；矢野幸子、鈴木智美、東端　晃、山崎千秋

内容；(1) マウス ES 細胞のパケジングなどの工夫を行った。

(2) マウスのチューブの配列の確認などを行った。

(3) ケネディ宇宙センターで打ち上げ前の準備を行った。

(4) つくばから大阪市立大学への凍結サンプルの運搬および温度ロガーやパドレスの管理を行った。

(5) つくばでキーエンスの顕微鏡を用いて解析を行った。

評価；(1) 本研究において最も重要な凍結マウス ES 細胞を無事、打ち上げ、さらに、回収から、つくばへの輸送、また、大阪市立大学への輸送までの過程が滞りなく進行された。回収後、ISS およびつくばの地上サンプルについて、凍結状態から融解し、培養したところ問題がなかったことが各任され、温度、品質管理が非常に高く評価される。

(2) また、定期的な打ち合わせや回収日程の相談など支援頂いた。最後の回収としてに 52 か月のサンプルを 2 回分として一度に回収したこともよい選択であったと考えられる。

(3) 1500 本を超えるサンプルの記録と配置を決めた管理法も成功であった。場所による放射線影響などの考慮が現在も可能となっている。

(4)機器の購入に関して協力を頂くとともに、終始、親身になって支援頂いた。

２．３　スケジュール

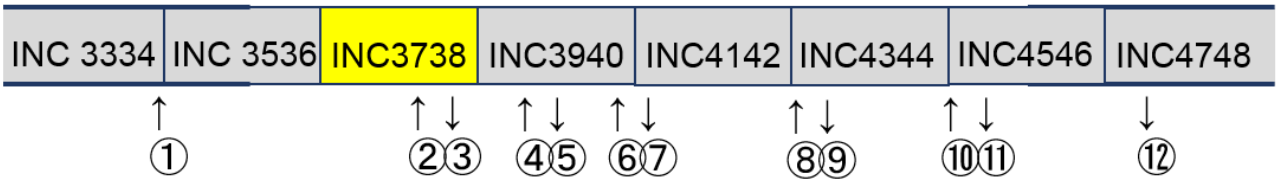
2012 年　マウス ES 細胞の培養と凍結保存を行った。
2013 年　マウス ES 細胞を凍結状態で、ケネディ宇宙センターへ運搬し、ISS に打ち上げた。

この間、放医研において重粒子線加速器 HIMAC を用いて地上実験を行った。

2017 年　最後のサンプルが ISS から回収された。
宇宙サンプルの解析をぎょうっ開始した。
2019 年　マウス染色体解析を行った。
2020 年　実験結果をまとめた。

宇宙船による打ち上げとサンプルの回収作業は以下の通りである。

運用計画



No	活動概要	日時	軌道上滞在日数（日）			
①	ドラゴン運用2号機でサンプルケース5式とBioDosimeter1式を打上げ	2013/3/2 0:10 (JST)	443	711	1134	1584
②	ドラゴン運用3号機でBioDosimeter1式を打ち上げ	2014/4/19 04:25 JST)				
③	ドラゴン運用3号機でサンプルケース1式とBioDosimeter1式を回収	2014/5/19 04:05 (JST)				
④	ドラゴン運用4号機でBioDosimeter1式を打ち上げ	2014/9/21 14:52 (JST)				
⑤	ドラゴン運用4号機でBioDosimeter1式を回収	2014/10/26 04:39 (JST)				
⑥	ドラゴン運用5号機でBioDosimeter1式を打ち上げ	2015/1/10 18:47 (JST)				
⑦	ドラゴン運用5号機でサンプルケース1式とBioDosimeter1式を回収	2015/2/11 09:44 (JST)				
⑧	ドラゴン運用7号機でBioDosimeter1式を打ち上げ （打上失敗）	2015/6/28 11:21 (JST)				
⑨	ドラゴン運用8号機でサンプルケース1式とBioDosimeter1式を回収	2016/4/9 05:43 (JST)				
⑩	ドラゴン運用9号機でBioDosimeter1式を打ち上げ	2016/7/18 13:45 (JST)				
⑪	ドラゴン運用9号機でBioDosimeter1式を回収	2016/8/27 0:48 (JST)				
⑫	ドラゴン運用11号機でサンプルケース2式とBioDosimeter1式を回収	2017/7/3 21:15 (JST)				

３．実験準備・運用

実験の準備は、大阪市立大学大学院医学研究科遺伝子制御学研究室で行った。
2012 年、吉田佳世准教授により、マウス ES 細胞が培養され、チューブにいれて凍結した。
その後、下記のようなパッケージに凍結状態で並べ替え、米国に送付した(図３)。
サンプルには Bio-dosimeter であるパドレスを付けて打ち上げ、毎年、交換することとなった。
サンプルは ISS「きぼう」内の冷凍庫 MELFI に保管され 4 回に分けて回収された。

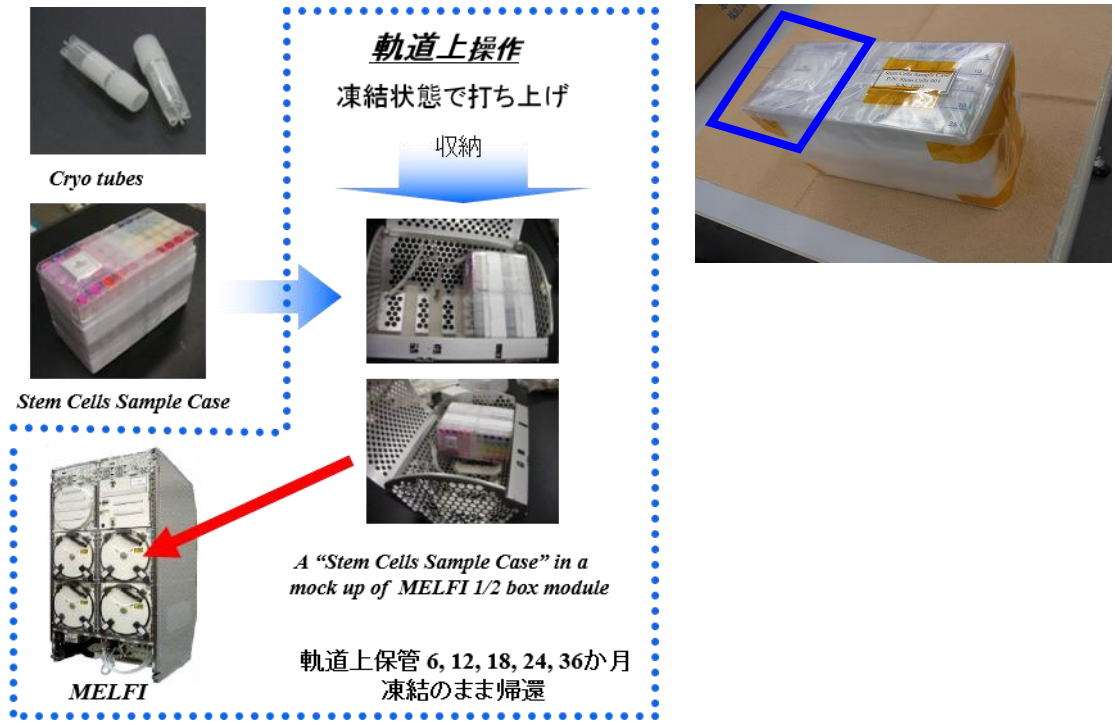


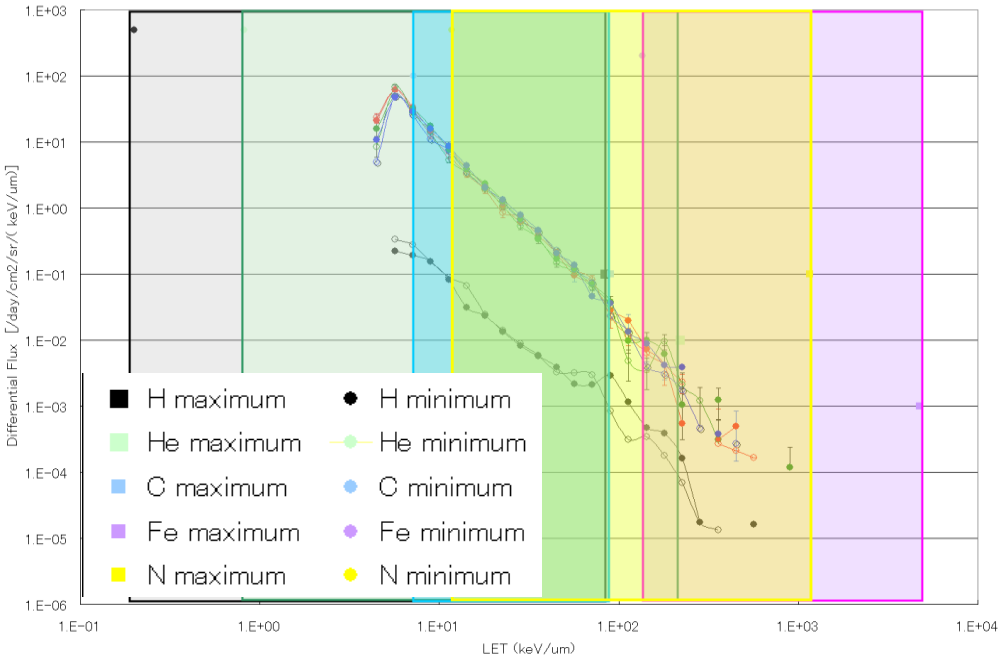
図３　サンプル作製と打ち上げ準備

4. 実験結果および成果

４．１PADLES による物理的線量の測定

本研究では、マウス ES 細胞のパッケージに放射線を測定する PADLES 線量計をつけている。これらの線量計は宇宙飛行士により回収され、JAXA で計測された。以下は永松先生らによる解析データである。

図４　PADLES の宇宙放射線データ



このように宇宙放射線は、低線量率、低線量であり、高 LET の粒子線を含む。エネルギーの分布も広く、線種も多様である(図４)。このような条件を地上で再現することは困難であり、実際に宇宙空間を利用して生物への影響を解析することが必要である(文献１－４)。

以下は吸収線量、線量当量などまとめたデータである。

Package Serial No.	1			6		
Total Absorbed Dose [mGy in water]	179.1	±	5.84	169.7	±	14.8
Total Dose Equivalent [mSv]*	295.0	±	13.1	235.3	±	22.8
Absorbed Dose Rate [mGy/day]	0.40	±	0.01	0.38	±	0.03
Dose Equivalent Rate [mSv/day]*	0.67	±	0.04	0.53	±	0.05
Absorbed Dose (≤ 10keV/・m) [mGy]	168.9	±	5.92	159.7	±	14.9
Absorbed Dose (> 10keV/・m) [mGy]	10.2	±	0.83	10.0	±	1.12
Dose Equivalent (> 10keV/・m) [mSv]*	126.2	±	11.7	75.6	±	17.3
Mean QF	1.65	±	0.09	1.39	±	0.18

Package Serial No.			1
Total Absorbed Dose [mGy in water]	101.9	±	6.7
Total Dose Equivalent [mSv]＊	166.4	±	10.6
Absorbed Dose Rate [mGy/day]	0.38	±	0.02
Dose Equivalent Rate [mSv/day]＊	0.62	±	0.04
Absorbed Dose(≦10keV/μm) [mGy]	95.5	±	6.7
Absorbed Dose(＞10keV/μm) [mGy]	6.37	±	0.68
Dose Equivalent (＞10keV/μm) [mSv]＊	70.9	±	8.3
Mean QF	1.63	±	0.15

Package Serial No.			4
Total Absorbed Dose [mGy in water]	412.9	±	22.2
Total Dose Equivalent [mSv]＊	575.2	±	31.9
Absorbed Dose Rate [mGy/day]	0.35	±	0.02
Dose Equivalent Rate [mSv/day]＊	0.49	±	0.03
Absorbed Dose (≤10keV/μm) [mGy]	398.5	±	22.3
Absorbed Dose (>10keV/μm) [mGy]	14.4	±	1.5
Dose Equivalent (>10keV/μm) [mSv]＊	176.7	±	22.8
Mean QF	1.39	±	0.11

Package Serial No.			17
Total Absorbed Dose [mGy in water]	195.1	±	8.0
Total Dose Equivalent [mSv]＊	301.6	±	13.5
Absorbed Dose Rate [mGy/day]	0.40	±	0.02
Dose Equivalent Rate [mSv/day]＊	0.62	±	0.03
Absorbed Dose(≦10keV/μm) [mGy]	186.0	±	8.1
Absorbed Dose(＞10keV/μm) [mGy]	9.08	±	0.74
Dose Equivalent (＞10keV/μm) [mSv]＊	115.7	±	10.9
Mean QF	1.55	±	0.09

Package Serial No.			24
Total Absorbed Dose [mGy in water]	148.6	±	12.0
Total Dose Equivalent [mSv]＊	212.0	±	14.4
Absorbed Dose Rate [mGy/day]	0.33	±	0.03
Dose Equivalent Rate [mSv/day]＊	0.47	±	0.03
Absorbed Dose(≦10keV/μm) [mGy]	141.9	±	12.0
Absorbed Dose(＞10keV/μm) [mGy]	6.68	±	0.58
Dose Equivalent (＞10keV/μm) [mSv]＊	70.1	±	7.9
Mean QF	1.43	±	0.15

４．２　放射線によるマウス ES 細胞の放射線感受性の解析（コロニー形成能）

野生型マウス ES 細胞に放射線を照射し、その後、プレートにまいてコロニー形成能を解析した。その結果、以下の図のように、X 線、鉄イオン線、炭素イオン線の照射により、コロニー形成能が減少することが明らかとなった。さらに、同じ線量（Gy）でも、X 線と炭素線では、コロニー形成能の低下は炭素線の方がやや大きいが、それほど差はない。しかし、鉄線を照射した場合は、コロニー形成の低下は著しい。したがって、宇宙放射線の中の重粒子線の成分は、粒子数としては少ないけれど、その影響は大きいと考えられる(図５)。D_{10} は生存率が 10%になる線量を示す。

	Fe	C	X 線
D_{10}	1.65 Gy	3.39 Gy	3.67 Gy
RBE	2.22	1.08	1.0

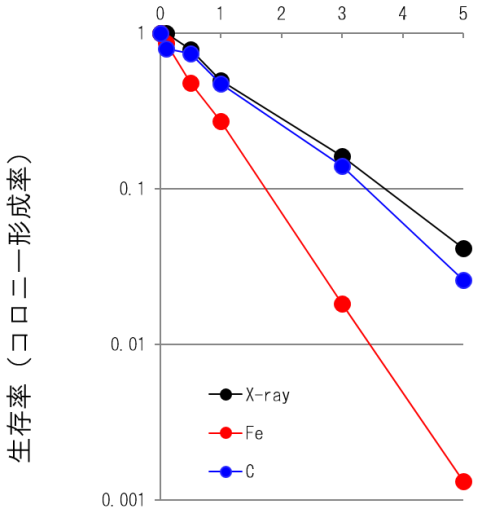


図５　マウスＥＳ細胞の放射線

本実験では、培養した細胞に放射線を照射した。しかし実際の宇宙実験では凍結した細胞を用いた。凍結した細胞と培養中の細胞では、一般に宇宙放射線の影響が異なる(図６)。これは放射線には、DNA に対する直接的な一次過程の損傷と、放射線が水分子に対して電離をおこし、その結果生じるラジカルなどによる 2 次過程による影響があるためであると考えられる。凍結細胞では、水分子による二次反応が抑えられると考えられる。さらに細胞の凍結保存には DMSO が必要であり、DMSO がラジカルなどを壊す働きがあることも考えられる。

実際に地上での実験から、以下のように、－80℃でマウスＥＳ細胞を凍結してＸ線、炭素線、鉄線で照射した場合、以下のように、感受性が細胞凍結により低下することが明らかとなった。

D_{10}	X 線	炭素線	鉄線
培養	3.63 Gy	3.33 Gy	1.67 Gy
凍結	5 Gy	>5 Gy	3.69 Gy
比	1.37	>1.50	2.21

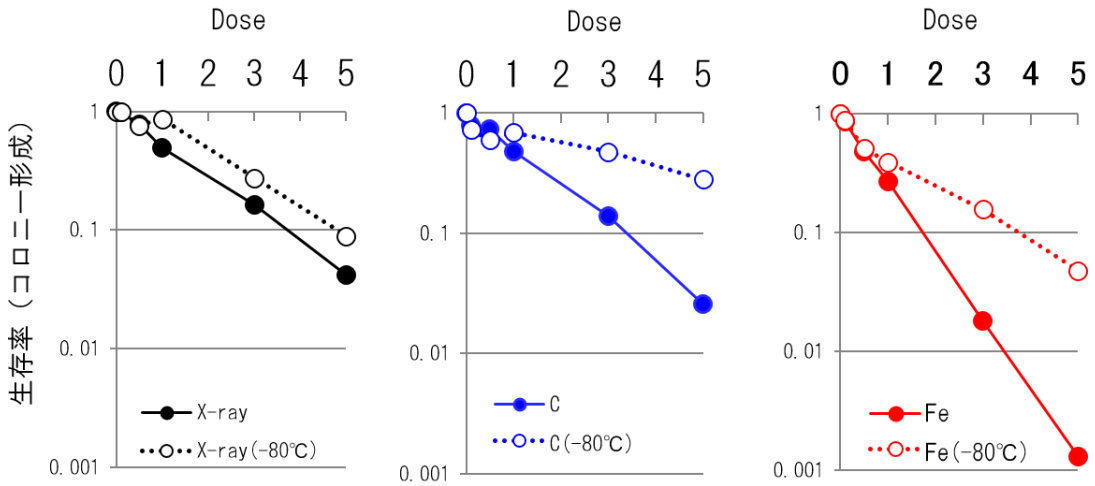


図６　凍結マウスＥＳ細胞の放射線感受性

4－3　放射線による DNA 二重鎖切断に対する生物のもつ修復機構

電離放射線の生物に対する影響は、DNA 二重鎖切断を生じることが原因である(図７)。生物には、これらの DNA 損傷に対して修復する機能がある。放射線が DNA 二重鎖を切断すると、まず ATM というタンパクが活性化され、切断点付近のヒストン H2AX タンパクがリン酸化される。その場所には、NBS1, Rad51, Mre11 などのタンパクが集合する。その後、2 種類の修復機構がある。一つは、非相同末端結合で、もう一つは相同組換えである。非相同末端結合では、Ku70 (Xrcc6)、Ku80 (Xrcc5) などのタンパクが結合した後、DNAPKcs と Ligase4 により、切断された末端同士が結合される。そのため、切断された部分の配列は欠損する。実際に現在よく用いられる CRISPR 法でも同様の切断と修復が行われるが、数塩基から、数十塩基欠損して再結合している場合が多い。一方、相同組換えでは、Rad51, Rad52, Radd54 などのタンパクが結合して、切断されていない染色体の相補的な部分を探し出し組換えによって修復する。この場合は、切断された部分の配列は、もう一方の染色体をコピーすることにより回復する。したがってより正確な修復といえる。このような過程のなかで、ヒストン H2AX は修復の開始に重要な遺伝子である。これまでの研究からその遺伝子欠損では、放射線感受性が高くなるが、欠損により、細胞が致死となることはないことが知られている(文献５－７)。

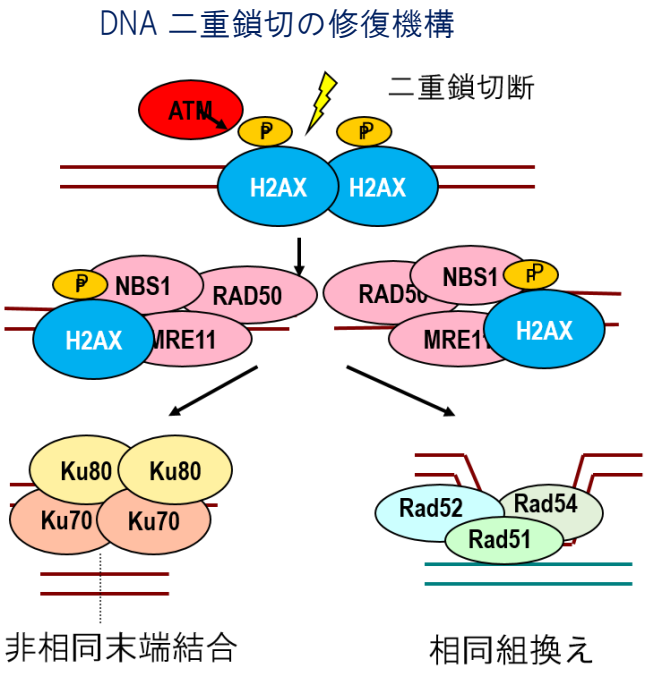
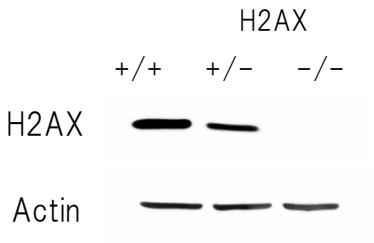


図７　ＤＮＡ二重鎖切断の修復

本研究では、近畿大学医学部の寺村岳講師によりマウス ES 細胞にヒストン H2AX 遺伝子欠損を導入された。ヒストン H2AX 遺伝子をヘテロで欠損したマウス同士を交配し、受精卵を回収した後、KSR 培地で個別に培養することにより、ヒストン H2AX+/+, +/−, −/−の遺伝子型を持つ ES 細胞クローンをそれぞれ作製することができた。

これらの細胞についてノーザンブロットで H2AX 遺伝子の発現を検討した。その結果ホモでは検出されないが、ヘテロマウスでは、野生型の約 50%に減少していることが明らかとなった(図８)。これらの細胞について、X 線感受性を調べた。その結果以下のように、H2AX がホモの状態で欠損したマウスでは、コロニー形成を調べると放射線感受性が増加した(図８)。したがって、本研究では、凍結細胞を使用することにより、放射線感受性が低下するが、ヒストン H2AX 遺伝子を欠損させることにより、放射線感受性を増加させ、宇宙での放射線の影響を調べることができると考えた(文献５－７)。



	D_{10}
H2AX +/+	>5 Gy
H2AX +/−	5.0 Gy
H2AX −/−	2.56 Gy

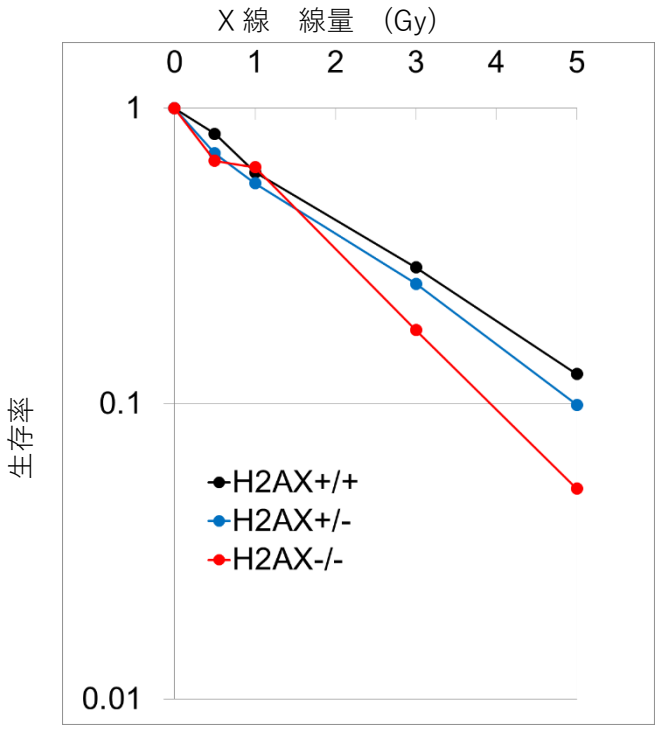


図８　ヒストン H2AX 遺伝子欠損マウスのノーザンブロットと放射線感受性

４－4 マウス ES 細胞サンプルの種類

以上の検討から、宇宙実験サンプルとして、マウス ES 細胞(図９)を培養し、凍結保護剤 Cell Banker を加えて凍結保存した。以下のように、マウス系統 129 より由来した R1　ES 細胞の野生型、C57BL/6 系統に由来する ES 細胞、これらの細胞にヒストン H2AX 欠損を導入した細胞、さらに蛍光を発する GFP 遺伝子を導入した ES 細胞（図１０）を用意し、凍結保存して ISS に打ち上げた。

Cells	Concentration (cells/ml)	Number of tubes in a package
Wild-type ES Cell (R1)	2 x 10^6	16
Wild-type ES Cell (R1)	5 x 10^6	8
Wild-type ES Cells（B6, GFP)	2 x 10^6	12
H2AX+/+ ES Cell	2 x 10^6	9
H2AX+/- ES Cell	2 x 10^6	9
H2AX-/- ES Cell	2 x 10^6	9
H2AX+/+ ES Cell (GFP)	2 x 10^6	9
H2AX+/- ES Cell (GFP)	2 x 10^6	9
H2AX-/- ES Cell (GFP)	2 x 10^6	9
1 package		90
5 Packages （5 Durations ）	x 5	450
Total (ISS+Tsukuba+Osaka)	x 3	1350

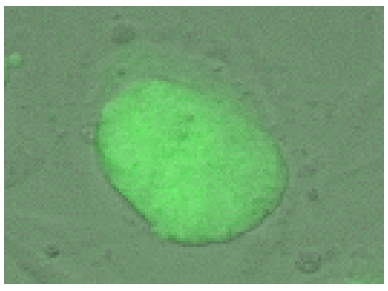


図９　マウス ES 細胞の写真

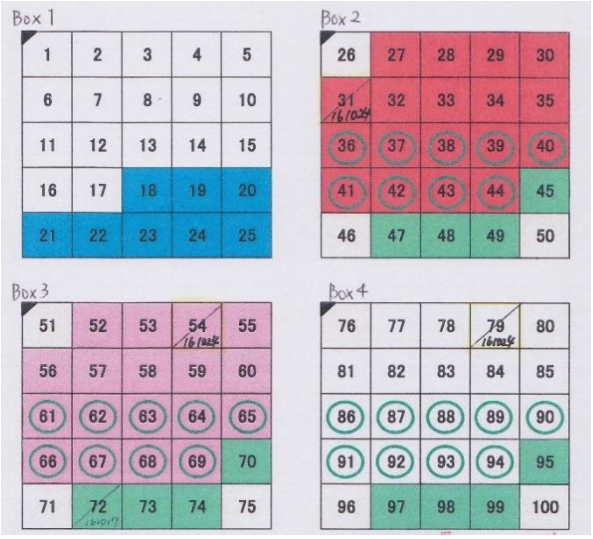


図１０　凍結したチューブの配列

４－５実験結果

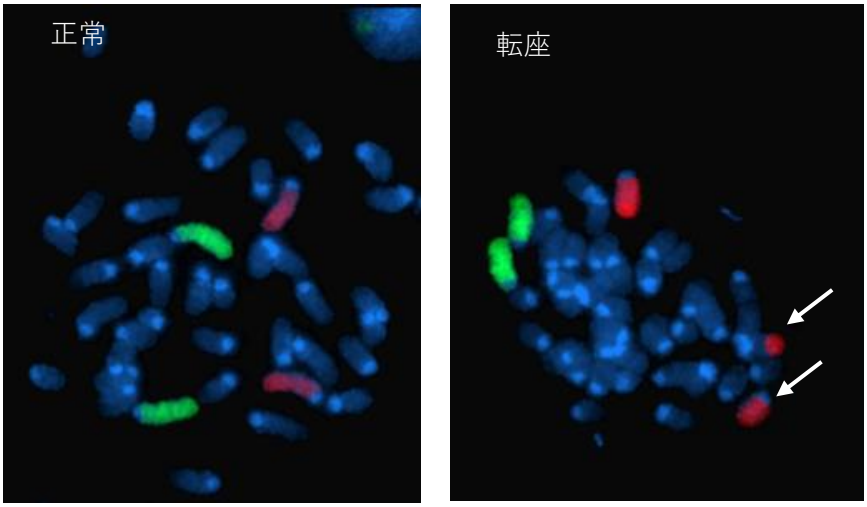
(1) 染色体異常の解析

染色体異常は、放射線による細胞への影響を測る良い指標である。本研究においてももっとも重要な方法である。

（細胞培養よよび染色体異常の検出方法）
マウス ES 細胞は、0.1%のジェラチンコートしたプラスチックシャーレに、マイトマイシン C 処理したマウス胚由来繊維芽細胞（MEF）フィーダー細胞の上にまいた。培地は Knockout DMED;Invitrogen),に KSR(KNOCKOUTSR Serum Replacement;Invitrogen)、L-グルタミン、必須アミノ酸、2ーメルカプトエタノール、1000U のを添加した。細胞は５%CO_2で 37℃で培養を行った。
染色体は、細胞を融解してから最初の分裂の間に、染色体全体のプローブを用いた FISH 法で行った。細胞培養後、コルセミドを添加して分裂を分裂中期で停止させた。さらに 37℃で培養しカリキュリン A を加えて染色体を凝集させた。細胞は 0.075M の KCl で懸濁しメタノール酢酸（3:1）で固定した。細胞はスライドグラスに HANABI により落下して展開し、一夜乾燥させた。染色体サンプルは、染色体 1（緑）、染色体 2（赤）、染色体 4（黄）で in situ hybridization を行った。染色体そのものは、DAPI で染色した。染色体サンプルは蛍光顕微鏡で、Cytovision のソフトを用いて観察し計数した。約 1000 個の染色体を観察した。

（地上での実験結果）
マウス ES 細胞について染色体解析の結果、以下のような画像(図１１)が得られた。この場合は、第 1 染色体と第 2 染色体のみ染色したものである。第１染色体が緑で、第２染色体が赤に染色されている。右図では、第２染色体の片方が他の 2 本の染色体に転座していることがわかる。以上のような解析を地上での実験で確認した。

図１１　染色体異常の写真



マウス ES 細胞を培養条件下で鉄イオン線で照射し、その後、前述の方法に従って、染色体サンプルを作製し染色体の交換が見られる核の数を計数した。本実験は米国 NASA　ジョンソン宇宙センターの秦恵博士と Cucinotta 博士らとの共同実験で、鉄線照射（600 MeV/n）は米国 BrookHaven 国立研究所で行った。この結果、野生型では、0 Gy では、ほとんど異常は見られないが、0.4 Gy　さらに 1Gy を照射すると染色体交換は増加した。一方、ヒストン H2AX 遺伝子のヘテロ欠損マウス ES 細胞では、0Gy　でも異常が検出されるとともに、0.4Gy, 1.0Gy では、野生型より、異常が増加することが示された。ヒストン H2AX 遺伝子が完全に欠損したマウス ES 細胞では野生型細胞の約 2 倍異常が生じることが明らかとなった（未発表データ）。このことは、ヒストン H2AX 遺伝子の欠損により、放射線に対する感受性（コロニー形成による生存率）が高まる結果と一致している(図１２)。

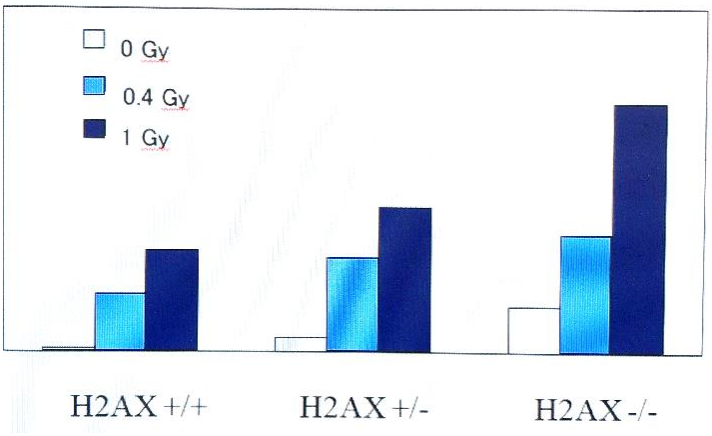


図１２　ヒストン H2AX 遺伝子の欠損と染色体異常

（ISS および地上での実験結果）

本研究では、宇宙に 14，23，38、52 か月保存されたマウス ES 細胞の染色体異常や DNA の切断を計測した。同時に、物理的な線量計パドレスにより ISS で測定された線量を含む領域での放射線を地上で ES 細胞に照射した。線源としては、宇宙放射線で多い陽子線と鉄線など粒子線を用いた（放射線医科学研究所 HIMAC 加速器による）。このとき生じる染色体異常などのデータを宇宙サンプルと比較し、一致すれば、パドレスからの情報から直接、その生物（細胞）効果が予想できる。もし、両者が一致せず、ギャップがある場合、パドレスからの線量と生物効果に補正を加えリスク評価する必要がある。このように、宇宙放射線観測において、線量計と ES 細胞の染色体異常などの生物影響の間にギャップがあるかどうか明らかにし、正しいリスク評価を行うことが理想である(図１３)。

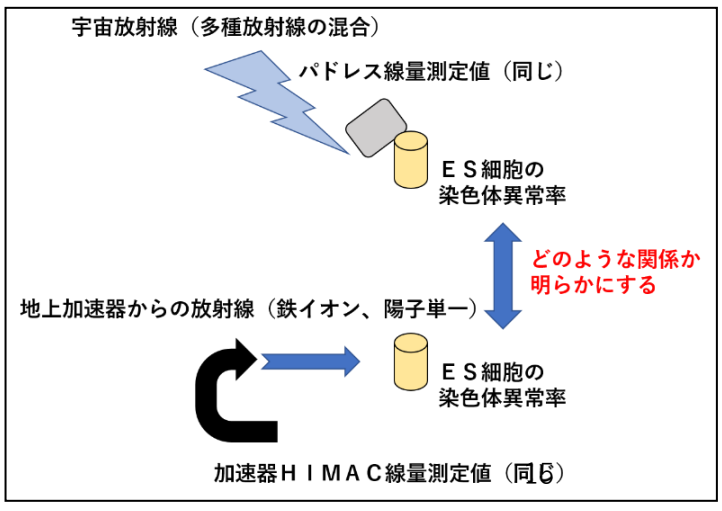


図１３　染色体異常によるリスク評価

放射線医学総合研究所・重粒子線照射装置(HIMAC)で地上実験を行った。図１４のように、円の中心部から手前に重粒子線が照射される。発砲スチロール箱にドライアイスと凍結したES細胞が入っている。

加速器で照射した粒子線は以下の2種類である。

HIMAC	Energy	LET
陽子線	230 MeV/n	0.415 keV/mm
鉄線	500 MeV/n	218 KeV/ mm

図１４放医研 HIMAC 加速器による重粒子線照射実験

ISS から回収した凍結マウス ES 細胞および放医研 HIMAC で照射した凍結マウス ES 細胞は−80℃ドライアイスあるいは、フリーザーに保存されている。これらの細胞を融解後、すぐに細胞数を計測、同時に生存数の割合も記録した。とくに、注意が必要なのは、融解時の作業に手技的なばらつきがあると細胞の生存率は大きく変わるので、一定の熟練した操作が必要であった。フィーダー細胞の上で培養した。フィーダー細胞は予めマイトマイシン C で処理されているので、中期の染色体像を示すことはないことを確認した。細胞を培養後、固定し、展開する機器（HANABI）でスライドグラス上に展開した。FISH プローブで第一染色体を緑、第 2 染色体を赤、第 4 染色体を黄色で染め、サイトビジョンのソフトを用いて染色体を観察した。標準として陽子線と鉄線を 0.2 Gy と 1.0 Gy で照射したサンプルを用いた。PADLES のデータから、吸収線量率が永松らにより約 0.4mGy/day と検出されているため、0.6 Gy を挟むようにした。

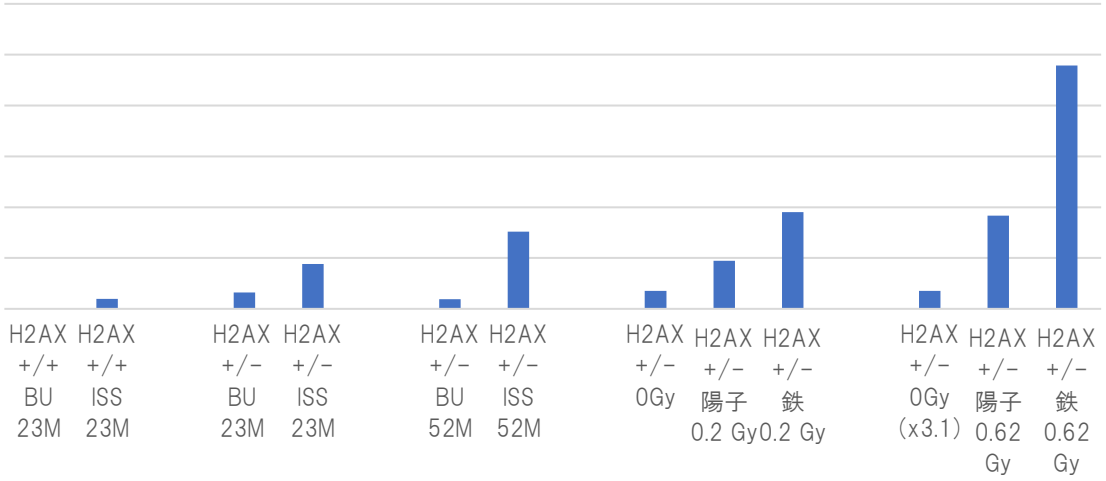
染色体解析のなかで、染色体切断は多く判別が複雑であるので、転座のみを指標に計測した。各サンプル 1000 個を対象にして解析を行った。以下にデータを表とグラフで示した。未公表であるため、数値は記していない。

染色体異常は、AST；明らかな 1 か所の転座、DIC; 2 動原体をもつ染色体と動原体のない染色体、IT; 染色体が 2 色に染まる、ID、2 個か 0 個の動原体があり、2 色の染色体をもつ、COM; 3 か所以上の断裂が 2 本以上の染色体におこっている、などにより分類して以下のデータを得た。

ES　細胞	サンプル	細胞番号.	染色体転移数	割合	異常の種類
H2AX+/+ male	地上 52M	B11	0/1027	0	
H2AX+/+ male	ISS 52M	B-2	1/1015	0.985	IT 1
H2AX+/- female	地上 23M	C11	2/1251	1.60	DIC 1,COM 1
H2AX+/- female	ISS 23M	C-2	9/2268	4.41	AST 4, DIC 2, COM 2, ID 1
H2AX+/- female	地上 52M	B11	1/1031	0.96	DIC 1
H2AX+/- female	ISS 52M	B-2	8/1051	7.61	AST 2, IT 5, COH 1
H2AX+/- female	対照 0Gy		2/1120	1.78	DIC 1, ID 1
H2AX+/- female	陽子 0.2 Gy		6/1267	4.74	DIC 2, IT 2, AST 2
H2AX+/- female	鉄 0.2 Gy		10/1053	9.50	AST 3, DIC 2, IT 4, ID 1
H2AX+/- female	対照 0Gy			1.78	0.624 Gy を予測
H2AX+/- female	陽子 0.624 Gy			9.18	0.624 Gy を予測
H2AX+/- female	鉄 0.624 Gy			23.93	0.624 Gy を予測

染色体異常の結果を以下のように図で表した。

図１５　染色体異常の頻度



ヒストン H2AX 遺伝子の野生型（+/+）ES 細胞では、ISS に 52 か月間保存しても、地上サンプルとともに染色体異常はほとんど見られなかった。

ISS で 52 か月保存したヒストン H2AX 遺伝子ヘテロマウス ES 細胞では、染色体異常が見られた。一方、地上で 52 か月保存したサンプルでは、ほぼバックグラウンドレベルの染色体異常頻度であった。

地上で陽子線を照射した H2AX ヘテロ型のマウス ES 細胞サンプルについては、0.2Gy の線量で、明らかな染色体異常の増加が見られた。地上で鉄線を照射した H2AX ヘテロ型のマウス ES 細胞サンプルについては、0.2Gy の線量で、明らかな染色体異常の増加が見られた。H2AX(−/−)のホモマウスでは、染色体異常が多く、また染色体の核がアポトーシスを起こしているものも多いため、染色体解析のサンプルとして用いなかった。陽子線、鉄線ともに、0.2 Gy での照射による染色体異常の値をそれぞれ 3.1 倍し、ISS サンプルが被ばくしたと考えられる 0.62 Gy に換算をしてグラフに表示した（図１５）。

(1)の結論

52 か月間 ISS で宇宙放射線を受けた細胞の染色体異常の頻度は地上実験による鉄線の結果よりも低い。陽子線よりはやや低い。この結果は、ISS での宇宙放射線被ばくが低線量率の慢性的被ばくであるのに対して、加速器での実験は一時的に照射する急性の被ばくである差異を反映している可能性がある。宇宙サンプルについても、慢性的な被ばくを蓄積して地上での培養により染色体異常などを調べるので急性被ばくに原理的には近い。しかし、低線量率による損傷の質が異なる可能性があると考えられるので、より詳しい解析が必要である(文献８－９)。

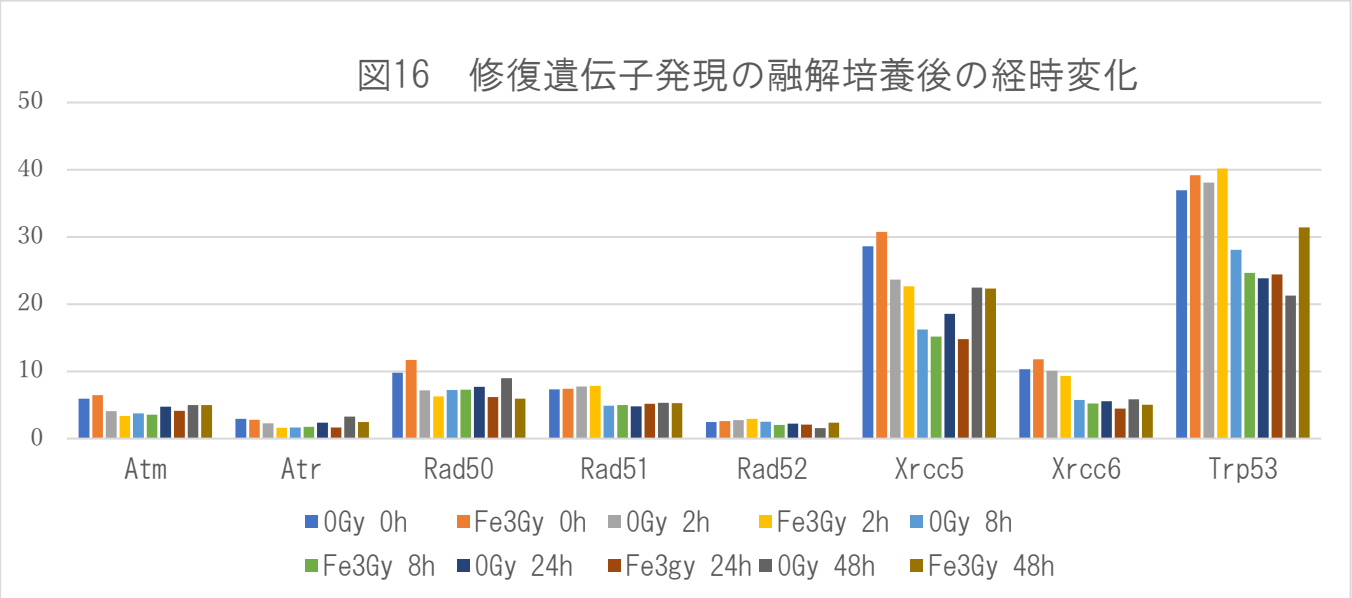
実際に宇宙放射線という複雑な線種を含む低線量率、低線量による生物影響を定量的に判定することは、地上でシミュレーションすることも難しく、宇宙実験を行うことも用意ではない。今回、染色体異常という指標を用いて、定量的に測定できたことは重要であり、有人火星探査などのリスク評価にも役立つと考えられた。

(2) 遺伝子発現の解析

宇宙放射線の被ばくにより、どのような遺伝子が修復にかかわるか、遺伝子発現に差があるものを探索するのが目的である。本研究では、まず DNA チップを用いて、マウス ES 細胞から放射線に被ばくの有無で、発現に差のある遺伝子を検索した。DNA array では、相対的な遺伝子発現の変化は検出できるが、絶対的な転写量については、プローブにより差があることがあり、定量的解析には、再度 RT-PCR などの解析が必要となる。そこで、RNA-sequencing を網羅的に行う解析により重粒子線照射サンプルと宇宙サンプルについて検討した。遺伝子発現については、解凍直後から、経時的に RNA を回収して追跡した。

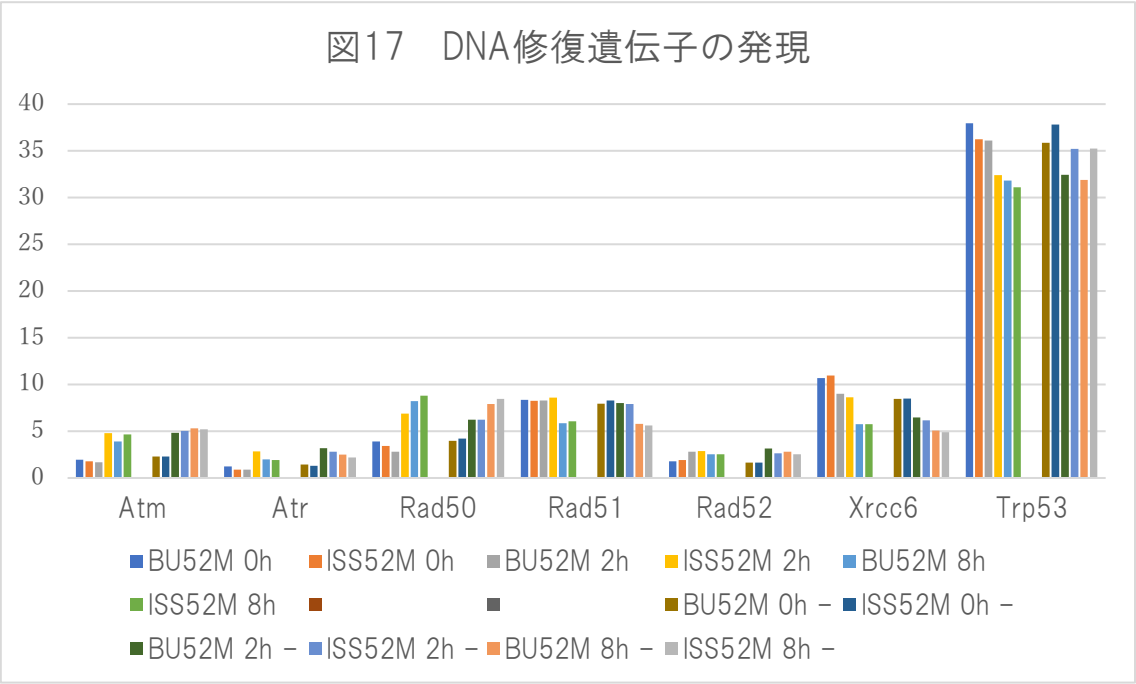
(a) 放医研の HIMAC により Fe で 3Gy, 0Gy 照射したマウス ES 細胞を 2, 8, 24, 48 時間培養後、RNA を抽出して遺伝子発現を RNA sequencing により解析した

Fe 線の非照射と 3Gy 照射したサンプルで比較した。照射後の時間を 0、2、8、24、48 時間で比較した結果の例を示した。多くの遺伝子の転写は、細胞融解後 2ー8 時間で増加し、24 時間、48 時間後には、低下する傾向が見られた。DNA 修復遺伝子の中で 3Gy の鉄線の照射により、遺伝子発現が顕著に増加するものはほとんど見られなかった(図１６)。しかし、わずかながら 3Gy の照射で RNA 量が増加するものがあり後で示す。



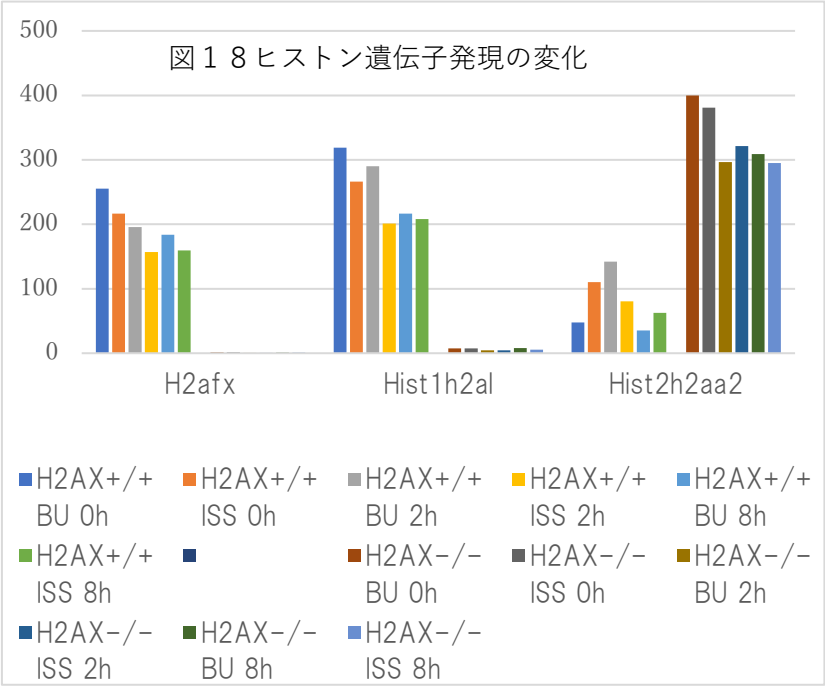
この図１６のように、融解後の時間により、RNA 合成量は変化する。時間経過に関わらず安定に発現しているものと一時発現が上昇し、その後下降、48 時間後やや上昇するものなどが代表的な DNA 修復遺伝子で見られた。本研究では、融解後 2 時間、あるいは 8 時間後の変化に注目した。

(b) ISS に 52 か月凍結保存したマウス ES 細胞と地上で保存したマウス ES 細胞について融解後、0、2，8 時間培養し、RNA を回収し RNA sequencing により比較した。



このデータ(図１７)は DNA 修復遺伝子について、ISS での 52 か月と地上でのデータを比較したものである。Atm、Atr, Rad51 などの遺伝子で、融解後 2 時間で、ISS サンプルにおいて発現上昇がみられる。一方、これらの遺伝子は 3Gy の鉄線では上昇しないことから放射線被爆依存的に発現しているか判定できなかった。それぞれの右側には、ヒストン H2AX 欠損マウスの遺伝子発現が示されているが、これらの修復遺伝子であまり変化は見られなかった。

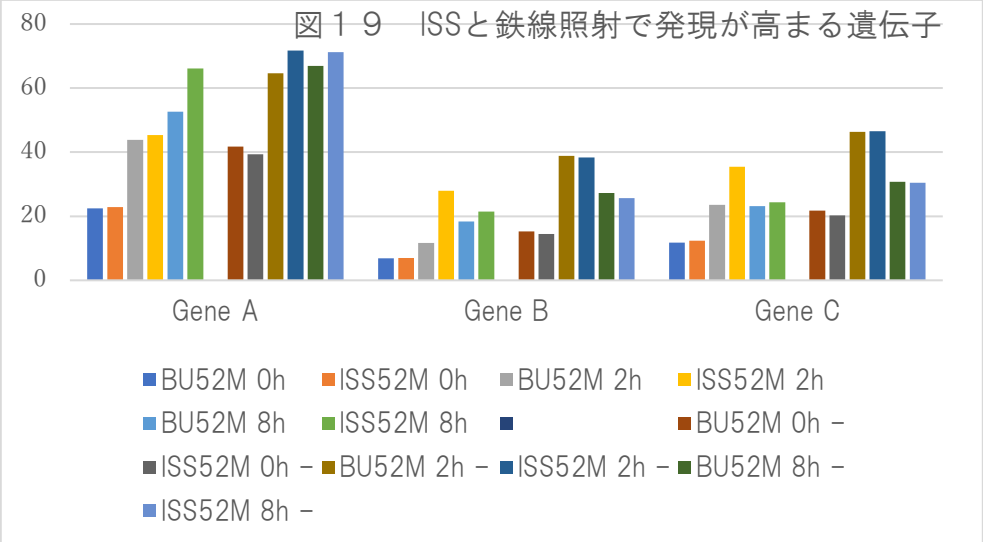
図１８は、ヒストン H2AX 遺伝子の発現を示した。ヒストン H2AX 遺伝子欠損細胞では明らかに発現が検出されていない。それと同時に H2Al 遺伝子も欠損細胞では発現しなくなっている。また、H2aa2 と呼ばれる遺伝子は、逆にヒストン H2AX 遺伝子の欠損を補うかのように発現が増強していることが分かった。



(c) Fe 3Gy 照射で発現の増加し 52 か月 ISS 保存サンプルでも発現が増加する遺伝子について

遺伝子発現解析の結果、鉄線照射および ISS での保存の両方で上昇の見られる遺伝子が数少ないが存在する。それらについて遺伝子名を A, B, C として、以下のように表と図で示した。これらの遺伝子については、重粒子線あるいは宇宙放射線に応答し、DNA 損傷の修復あるいはアポトーシスの誘導などに関与すると考えられる(図１９)。表では野生型地上サンプルの 0 時間培養後の RNA 量を 1.00 として表示した。

遺伝子	H2AX +/+ BU 0h	H2AX +/+ ISS 0h	H2AX +/+ BU 2h	H2AX +/+ ISS 2h	H2AX +/+ BU 8h	H2AX +/+ ISS 8h	H2AX −/− BU 0h	H2AX −/− ISS 0h	H2AX −/− BU 2h	H2AX −/− ISS 2h	H2AX −/− BU 8h	H2AX −/− ISS 8h
A	1.00	1.02	1.95	2.01	2.34	2.94	1.86	1.75	2.87	3.19	2.97	3.17
B	1.00	1.02	1.70	4.07	2.67	3.13	2.23	2.10	5.70	5.58	3.97	3.74
C	1.00	1.05	2.01	3.02	1.97	2.07	1.85	1.72	3.94	3.96	2.61	2.59



(2)の結論

以上の実験から、融解後 2 時間から 8 時間への時間経過で全般的に遺伝子発現の増加がみられる。しかし、ISS と地上群で顕著に発現の差がみられる遺伝子はほとんどなかった。この結果は DNA の損傷を修復する遺伝子についても同様であった。哺乳動物細胞では、放射線による修復遺伝子の転写の誘導がほとんど見られず、細胞周期などに依存する場合が多いことと一致すると考えられる。

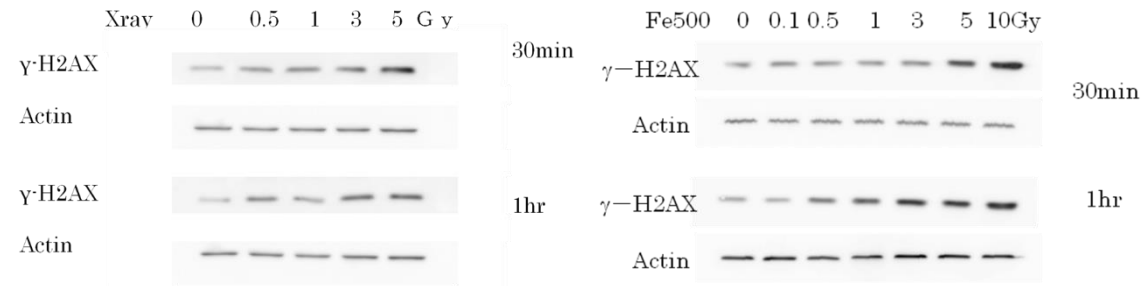
しかし修復関連遺伝子の中に、ISS で増加するとともに地上での Fe 3Gy 照射でも増加する遺伝子が 3 個あった。これらの遺伝子は、宇宙放射線に応答していると考えられた。現在のところ、その発現誘導量から、宇宙放射線の線量などを定量的に予測することは困難であるが、それらの遺伝子の機能について、今後解析する予定である。

マウスやヒトゲノムには約 3 万の遺伝子があるといわれており、今回の解析した遺伝子断片数は約 6 万である。このなかには(1)先に述べた放射線で誘導される遺伝子とともに、(2)ヒストン H2AX 遺伝子の欠損により、発現がなくなる遺伝子と逆に発現が増加する遺伝子もあった。このような結果をもとに、それらの遺伝子の詳細な機能の解析が必要であると考えられる。

(3) 宇宙放射線による DNA 二重鎖切断にともなうヒストン H2AX タンパクのリン酸化とフォーカス形成の解析

電離放射線は DNA に二重鎖切断を生じさせる。その後、ヒストン H2AX タンパクがリン酸化され、DNA 修復機構が開始する。このとき、ヒストン H2AX タンパクのリン酸化は、DNA 切断の付近に生じるため、リン酸化ヒストン H2AX(γH2AX と呼ぶ)は電離放射線による DNA 損傷の目印となり、蛍光顕微鏡で観察することができる。以下の予備実験では、マウス ES 細胞に X 線および鉄線を照射し、その後培養を 30 分、1 時間と続け、タンパクを回収しウエスタンブロットを行った。リン酸化されたヒストン H2AX が増加するのが検出できる(図２０)。1Gy 以下の低線量では、X 線と鉄線で 30 分のサンプルでは、余り差が見られない。また X 線の方では、1 時間後には、γH2AX の量が元に戻っているのに対して、鉄線では、1 時間後も安定して残存している。低線量ではむしろ増加していた。このような現象は、鉄線などの重粒子線では、同じ DNA 二重鎖付近に複数の切断などの損傷が起き、修復が困難であるといわれていることと一致した。本研究でも宇宙放射線によるヒストンのリン酸化した量により、受けた線量を推定したい。しかし、宇宙放射線は 52 か月 ISS で被ばくさせても約 0.62Gy である。もし、低線量率でさらに効果が弱いとウエスタンブロットでは DNA 損傷を定量的に扱えない可能性が高いと考えられた。

図２０　ヒストン H2AX タンパクの放射線によるリン酸化



本実験では、このような点を考慮し凍結マウス ES 細胞のリン酸化ヒストン H2AX フォーカスを FACS により定量的に解析するための予備実験としてフィーダー細胞の放射線（Ｘ線）による定量的な解析を試みた。凍結 MEF 細胞 2×10^6 個の細胞に X 線を 0, 5Gy 照射後 3 時間培養後、トリプシン-EDTA にて収集し、2%PFA で細胞固定をおこなった。DNA 損傷は、抗γH2AX 抗体(Millipore)、二次抗体は Alexa fluore488 標識抗マウス IgG 抗を用いて行い、DNA 量は Propidium Iodide (PI)にて染色し、フローサイトメーターBD　LSRⅡを用いてγH2AX 陽性細胞の蛍光強度の変化を解析した(図２１)。0Gy と 5Gy の X 線照射した MEF 細胞のリン酸化 H2AX の発現は、図２２のドットプロットのようになり、5Gy の X 線照射したリン酸化 H2AX 陽性の細胞集団が上方にシフトしていることから、5Gy 照射細胞のリン酸化 H2AX 陽性細胞が増加していることを示すことができた。しかし、5Gy の照射においても、FACS の分布の変化はわずかであり、ウエスタンブロットより、定量化が容易とは考えられなかった。

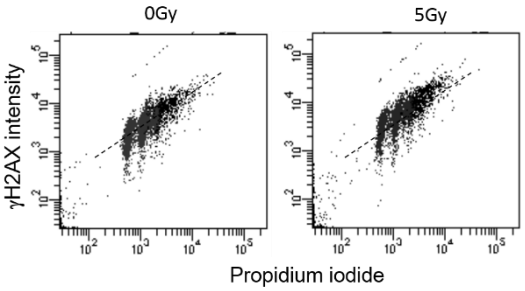


図２１．X 線照射したマウス胎性線維芽細胞を用いて、リン酸化 H2AX の発現の蛍光強度の変化を FACS で比較した。

最終的には、マウス ES 細胞について融解後、一定時間後に、細胞を固定させて抗γH2AX 抗体で染色し、蛍光で示されたフォーカスを観察し、定量していくことが良いと考えられた。地上実験としては、以下のようにマウス ES 細胞に鉄線で 0、0.5、1Gy を照射した写真を示した。時間は融解後の時間を示した。緑がγH2AX 抗体に結合した蛍光（GFP）である(図２２)。

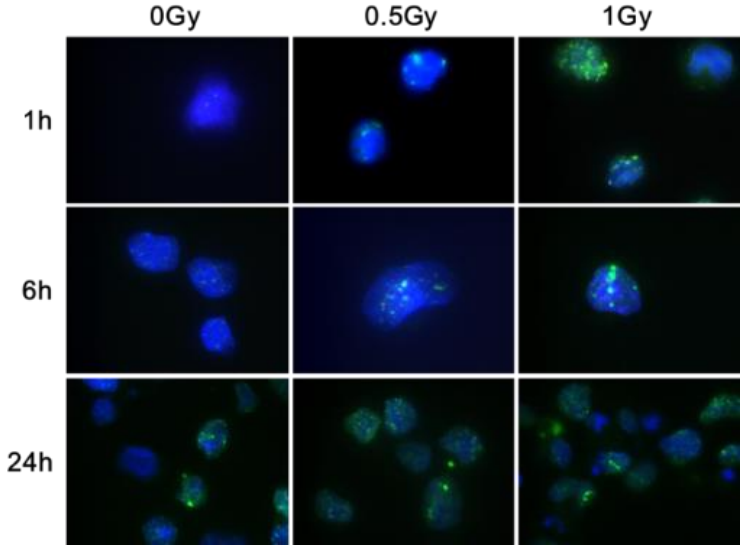


図２２　鉄線照射によるヒストン H2AX のリン酸化

培養している細胞の場合は、放射線照射後 30 分, 1 時間でフォーカスが検出できるが、凍結 ES 細胞を融解して培養する場合、ヒストン H2AX のリン酸化は何時間後が良いか不明である。本研究では、上の写真のように融解後 1−6 時間がよいと考えられた。１Gy の鉄線で 6 時間後に見られる緑のフォーカスの列は鉄などの重粒子線が通過した軌跡であることが高橋、大西らにより明らかにされているものである。本研究では、このような軌跡や小さいフォーカスの量的分布を検討する予定であったが、上図のような写真は得られるが、マウス ES 細胞では、定量的に比較できるサンプル数が十分得ることができなかった。

(3)の結論

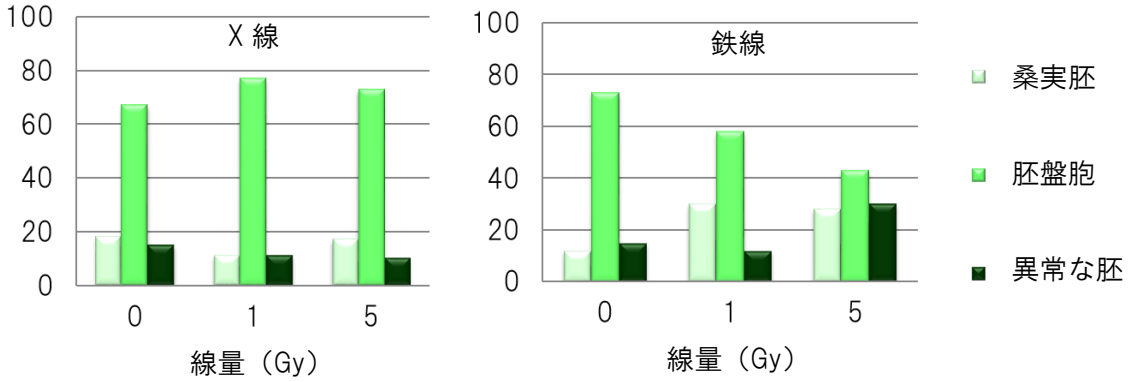
DNA 損傷の指標としてリン酸化ヒストン H2AX の抗体がよく用いられる。本研究では、マウス ES 細胞を用いるため、スライドガラスへの接着力が低いこと、放射線非照射でも、細胞分裂に伴うと考えられる小さいフォーカスがみられること、さらに、ノーザンブロット、FACS などでは解析が難しいことが分かった。しかし、低線量率被ばくにおいて、野生型では、染色体異常がほとんどなく、ヒストン H2AX ヘテロの細胞では、染色体異常が示されることから、DNA 切断による損傷を直接観察、定量できることは重要であるので、今後、条件を検討し、個々の細胞の詳細な解析を行うことが必要である。

(4) キメラマウスの作製]

マウス ES 細胞の特徴である万能性を利用し、細胞分化、個体発生への宇宙放射線の影響を解析することが可能である。

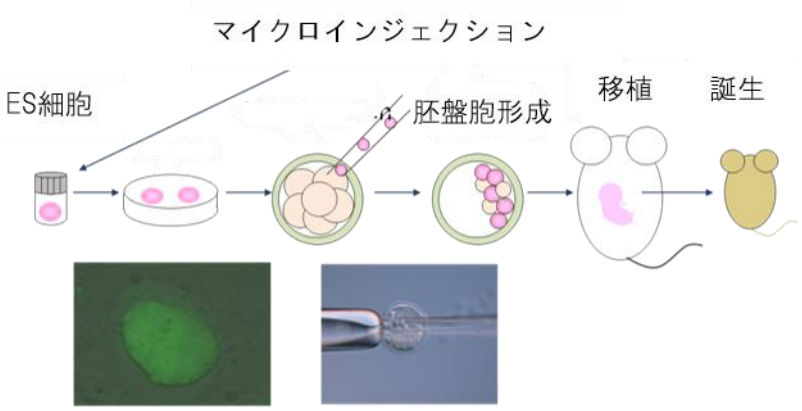
マウス受精卵について放射線に対する感受性を検討した。以下のように受精卵に X 線と鉄線を 0, 1, 5Gy で照射後、in vitro で培養すると、X 線では 5 Gy 照射でも約 75%の胚は胚盤胞まで分化する。一方、鉄線を照射した場合は、約 40%の胚が胚盤胞になるが、30%の胚が異常な形態となり、約 30%の胚が桑実胚のままであった(図２３)。このことから、受精卵においても鉄線は生物的効果が高いと考えられた。

図２３　鉄線によるマウス受精卵の発生阻害



同様に、宇宙放射線に被爆したマウス ES 細胞について、その後の発生に異常がみられるか検討した。本実験は、京都大学ウイルス・再生医科学研究所附属再生実験動物施設・統合生体プロセス分野の近藤玄教授と渡邊仁美助教と共同で行った(図２４)。

図２４マイクロインジェクションによるマウス ES 細胞の個体化

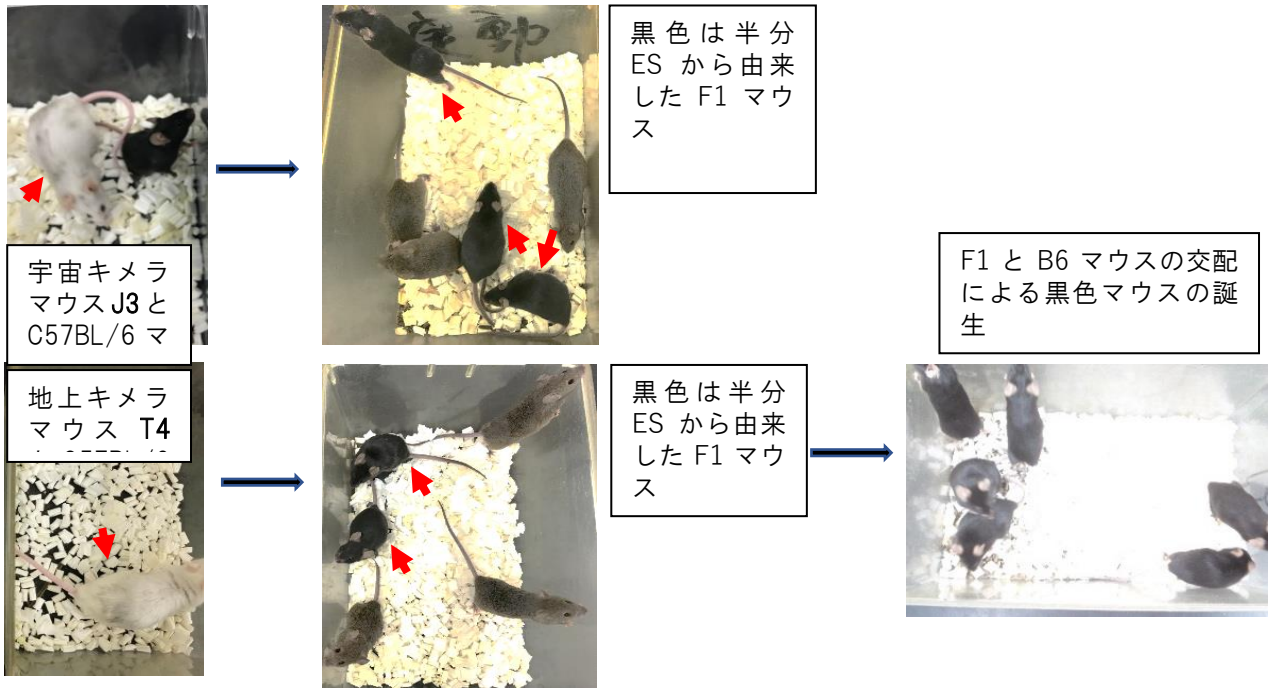


宇宙で 38 か月保存したマウス ES 細胞(C57BL/6;毛色黒)を正常な ICR マウス(毛色;白)受精卵にマイクロインジェクションし、その後、偽妊娠マウスの子宮に移植した。その結果、図２５のような白と黒の毛の混じったキメラマウスが生まれた(図２５)。写真は宇宙に 52 か月凍結保存したマウス ES 細胞をインジェクションして生まれてキメラマウスである。地上保存からも ISS 保存細胞からもキメラマウスが生まれた。このことは、宇宙で 52 か月間

宇宙放射線を受けたマウス ES 細胞が個体発生を担う能力を維持していることを示している。

それらのマウスをさらに、C57BL/6(毛色:黒)と交配し F1 マウスを作製した結果、52 か月間宇宙で保存した ES 細胞由来のキメラマウスから黒色のマウスが誕生した。このことは、ES 細胞がさらに生殖系細胞として次世代のマウスに伝わったことを示している。すなわち、宇宙で 52 カ月被爆した ES 細胞も、生殖細胞になる能力を有していることを示している。38 か月宇宙で保存したマウス ES 細胞から由来した F1 マウスについては、さらに、F1 マウスと C57BL/6 マウスとの交配から(下図のオレンジ枠のマウスを使用)、子孫が生まれており、52 カ月間 ISS での宇宙放射線は本実験系では生殖細胞としての能力を欠損させることはなかったと考えられた（図２５)。

図２５　キメラマウスの作製と交配



38 か月間 IS と地上で保管したＥＳ細胞から個体化実験

38M	ES	キメラ	♂	♀	BI♂	BI♀
ISS-38	D6	D6D	0	3	0	0
ISS-38	D6	E3	10	8	0	0
ISS-38	D6	E2B	1	1	1	1
ISS-38	D6	E4	3	2	2	1
ISS-38	D6	E6	12	2	4	1
TKB-38	D18	E7	8	5	8	5
TKB-38	D18	A-2	6	6	0	0
TKB-38	D18	E5A	7	6	5	3
TKB-38	D18	E2A	2	4	1	3
生殖キメラ率			ISS		26.9%	18.8%
			つくば		60.9%	52.4%

52 か月間 IS と地上で保管したＥＳ細胞から個体化実験

52M	ES	キメラ	♂	♀	BI♂	BI♀
ISS-52	B8	S1	4	1	0	0
ISS-52	B8	S2	4	6	0	0
ISS-52	B8	S4	2	1	1	0
ISS-52	B8	S6	2	5	1	4
ISS-52	B7	J2	6	6	2	0
ISS-52	B7	J3	6	0	3	0
TKB-52	B20	T1	5	3	0	0
TKB-52	B20	T4	5	3	2	1
TKB-52	B20	T2	3	3	0	0
TKB-52	B20	T3X	0	2	0	0
生殖キメラ率			ISS		29.1%	57.1%
			つくば		15.4%	9.1%

(4) の結論

以上の実験から、38 か月(約 456mGy)、52 か月間(約 624mGy) ISS 内に保存したマウス ES 細胞は、地上サンプルと同様に、キメラマウスとなり、個体の一部となる分化能を維持するとともに、生殖細胞となり、生殖キメラ(germ-line chimera)となった。さらに、38 か月の細胞については、オス、メスからも次世代のマウスが出産することから、本研究の条件下では、宇宙放射線の影響により、個体発生、生殖能が停止する可能性は低いと考えられた。

考察

（１） 試料運搬の成否

本研究はマウス ES 細胞を長期間冷凍保存し低線量の影響を調べる研究である。そのため、細胞は常に―80℃以下でなければならず、打ち上げと回収においても米国 Space-X の輸送用冷凍庫の使用が必須であった。米国、つくば、大阪市立大学の間の輸送も常にドライアイスを用い、温度ロガーによる温度管理が必要であった。また、空港でのＸ線検査を受けないよう取り計られた。その結果、現在回収したマウス ES 細胞の生存率は高く保たれ、その後の解析に使用できたことは意義が多きい。

（２） 線量と ISS 構造の関係

ISS 内の様々な位置での PADLES での線量測定については、文献（２）に記されている。通常の「きぼう」での測定値は、吸収線量率は 0.27-0.34mGy/day、線質係数は約 2 である。今回、MELFI での保存により冷凍庫の吸収線量率は約 0.35-0.40 mGy/day であり、線質係数は、1.39-1.65 であった。その結果、線量当量率は、ISS で約 0.6mSv/day に対して、MELFI 内では、0.47－0.67mSv/day となり、冷凍庫による遮蔽の影響は大きくないと考えられた。

（３） 凍結細胞による低線量被ばくの検出

本研究では、宇宙放射線の被ばくを定量化するために、マウス凍結 ES 細胞を用いた。その理由は、ISS での宇宙放射線が 0.4mGy/day という低線量率であるため、長期間の被ばくが必要であるからである。一方、マウス個体は宇宙で長期間の飼育が困難であるとともに、匹数にも制限がある。さらに、十分な被ばく線量に達するまでに、マウスの寿命である約 2 年を経過してしまう。そのような理由から、凍結細胞を用いることとなった。しかし、凍結細胞を被ばくさせると、水分子などによる二次過程による効果が少なくなることがある。そこで、本研究では、DNA 修復遺伝子であるヒストン H2AX 遺伝子欠損マウスを用いた。これにより、放射線感受性が高くなり、凍結細胞での欠点を回復できると考えた。

実際には、52 か月に及ぶ ISS での保存の結果、野生型 ES 細胞には染色体異常は生じず H2X 遺伝子ヘテロ欠損細胞で確認された。その値は、凍結細胞であるとはいえ、同様に凍結条件で鉄線や陽子線を照射した場合より低いと考えられる。

このことは、既に知られているように、放射線照射において慢性的あるいは分割照射により、その効果が低減することと関係があると考えられる。また、野生型との差は、低線量率での被ばくの損傷とその修復におけるヒストン H2AX の役割と関係があると考えられる。今回、本実験では、宇宙放射線による低線量率被ばくを定量化したものとして意義があると考えられる。

（４） 火星飛行への影響

火星への有人飛行には、約 660mSv 被ばくすると考えられている(文献１０－１１)。今回の ISS での 52 か月に及ぶ実験に概ね相当する。もし、低線量率により、生物学的影響が軽減されるならば、有人による長期間の宇宙滞在のリスクは少なくなるかもしれない。そのためには、今回のような凍結細胞を用いた予備実験が必要であると考えられる。

５．結言

ISS・きぼう利用ミッション「宇宙放射線が哺乳動物生殖細胞に及ぼす影響（Stem Cells）」により以下の成果が得られた。

(1) 長期凍結保存したマウス ES 細胞を培養し、染色体の異常を観察した結果、野生型では、ISS と地上で異常はなかったが、ヒストン H2AX 遺伝子ヘテロ欠損 ES 細胞では異常が見られた。

(2) ヒストン H2AX 遺伝子ヘテロ欠損細胞では、23 か月保存より長期の 52 か月 ISS 保存により染色体異常は増加し、経年的に DNA の異常が蓄積されていることが明らかとなった。

(3) ISS での染色体異常は、地上で、陽子線や鉄線などの重粒子線を照射した場合より低いことから、低線量率による効果、つまり染色体異常を生じる DNA 損傷を引き起こす場合にも閾値があると考えられた。

(4) 長期 ISS で凍結保存したマウス ES 細胞をマイクロインジェクションにより、地上群と同様に、受精卵に導入しキメラマウスに個体化することができ、発生能を有していることが明らかになった。

(5) 38, 52 カ月 ISS で保存した ES から作製されたキメラマウスを C57BL/6(黒色)と交配後、黒色の毛色を持つ ES 由来のマウスができたことから、ISS 由来 ES 細胞から生殖キメラ(黒色)ができ、生殖細胞形成に問題のないことが分かった。

(6) 38 カ月 ISS に保存した生殖キメラマウスは♂♀ともに野生型 C57BL/6 マウスと交配し、仔マウスを生むことができることから、生殖能力も維持できることが明らかとなった。

(7) ヒストンＨ２AX 遺伝子欠損（-/-）ES 細胞では、Ｘ線、陽子線、鉄線による放射線に対する感受性が高まるが、このとき、Rad51 遺伝子などほとんどのＤＮＡ修復遺伝子発現は、変化しないことが明らかとなった。

(8) 一部の修復関連遺伝子Ａ，Ｂ，Ｃについては、３Gy の鉄線で発現が強まると同時に 52 か月 ISS に保存した ES 細胞でも同様の増加がみられ、宇宙放射線による遺伝子誘導として検出できた。

(9) ヒストンＨ２AX 遺伝子の欠損により、発現の強まる遺伝子群と発現が減弱する遺伝子群が明らかとなった。このような遺伝子間の相互作用により、放射線に対する防御機構が成り立っていることが予想された。

サクセス	クライテリア	達成度	備考
Minimum Success	国際宇宙ステーションで保管し回収したマウス ES 細胞に蓄積されている DNA 損傷を確認し、マウス個体への発生過程あるいは生まれた個体の生殖細胞に及ぼす宇宙放射線の影響を定量的に示すこと。	○	●ISS 保存の ES 細胞で染色体異常が増加したことを明らかにしたことは DNA 損傷の蓄積を示唆したものである。 ●38 か月 ISS に保存した細胞については個体発生とともに両性において妊孕性を保っていること、52 か月では個体発生に異常がないことを示した。
Full Success	国際宇宙ステーションでの保管期間の異なるマウス ES 細胞に蓄積された DNA 損傷およびマウス個体への発生過程あるいは生まれた個体の生殖細胞に及ぼす宇宙放射線の影響について、保管期間（線量）との相関を示すこと。 また、DNA 修復遺伝子を改変したマウス ES 細胞を用いて、宇宙放射線による DNA 損傷に対し、DNA 修復遺伝子がどのように応答、機能するかを示すこと。	○	●ES 細胞の染色体異常は、23 か月から観察され、52 か月には約 2 倍に増加していることを示した。一方、個体発生については、38，52 か月でもともに異常がないことを示した。 ●遺伝子解析については、多くの修復遺伝子そのものには、発現に変化はないことを示した。また、3 個の遺伝子では、放射線で誘導されると同時に、ISS でも誘導が見られることから、それらが宇宙放射線に応答していることを示した。さらに、ヒストン H2AX 遺伝子欠損により、発現が誘導されるもの、逆に抑制される遺伝子を明らかにした。これらの遺伝子の相互作用により、染色体異常が起こったり、それを妨げたりするよう働いていると考えられた。
Extra Success	宇宙放射線に起因する DNA 損傷修復機構やその後の発生過程への影響について、フルサクセスを越える新たな知見を示すこと。	◎	●52 か月におよぶ低線量率(0.62 Gy）の宇宙放射線の生物学的影響を染色体異常として定量的に検出できたことは重要であり、低線量率により生物への影響がどれだけ軽減されるかを明らかにする出発点となる。それにより、火星探査など放射線リスクが低くなる可能性もあり、未来社会へ貢献できる可能性がある。

参考文献

（ISS の線量測定）

1. Detection of space radiation-induced double strand breaks as a track in cell nucleus. Ohnishi T, Takahashi A, Nagamatsu A, Omori K, Suzuki H, Shimazu T, Ishioka N.; Biochem Biophys Res Commun. 2009 Dec 18;390(3):485-8. doi: 10.1016/j.bbrc.2009.09.114. Epub 2009 Sep 30.
2. Area radiation monitoring on ISS Increments 17 to 22 using PADLES in the Japanese Experiment Module Kibo ; Nagamatsu A, Murakami, K, Kitajo, K, Shimada K, Kumagai H, Tawara H. Radiation Measurements　1-10 (2013)
3. 受動・積算型線量計による宇宙放射線計測技術の開発; 俵裕子、上垣内茂樹、益川充代、永松愛子、中野　完、倉持恵美子、保田浩志，安田仲宏. 放射線 7, 13-40, 2001
4. Space radiation dosimetry by a combination of CR-39 and TLD; .Nagamatsu A, Kamigaichigek S, Masukawa F, Tawara H, Hayashi T, Masaki M, Kumagai H.; Biol Sci Space. 2000 Oct;14(3):178-9.

（ヒストン H2AX 遺伝子欠損による放射線の感受性）

5. Control of radiosensitivity of F9 mouse teratocarcinoma cells by regulation of histone H2AX gene expression using a tetracycline turn-off system.Yoshida K[1], Morita T. Cancer Res. 2004 Jun 15;64(12):4131-6.
6. H2AX haploinsufficiency modifies genomic stability and tumor susceptibility.; Celeste A, Difilippantonio S, Difilippantonio MJ, Fernandez-Capetillo O, Pilch DR, Sedelnikova OA, Eckhaus M, Ried T, Bonner WM, Nussenzweig A.; Cell. 2003 Aug 8;114(3):371-383.
7. Histone H2AX: a dosage-dependent suppressor of oncogenic translocations and tumors.Bassing CH, Suh H, Ferguson DO, Chua KF, Manis J, Eckersdorff M, Gleason M, Bronson R, Lee C, Alt FW.; Cell. 2003 Aug 8;114(3):359-70.」

（宇宙放射線による生物影響の予測）

8. Biological Effectiveness of Accelerated Protons for Chromosome Exchanges.George KA, Hada M, Cucinotta FA.Front Oncol. 2015 Oct 19;5:226. doi: 10.3389/fonc.2015.00226. eCollection 2015
9. Risks of cognitive detriments after low dose heavy ion and proton exposures. Cucinotta FA, Cacao E.; Int J Radiat Biol. 2019 Jul;95(7):985-998. doi: 10.1080/09553002.2019.1623427. Epub 2019 Jun 10. Review.

（火星での放射線影響の予測）

10. Measurements of energetic particle radiation in transit to Mars on the Mars Science Laboratory. Zeitlin C, Hassler DM, Cucinotta FA, Ehresmann B, Wimmer-Schweingruber RF, Brinza DE, Kang S, Weigle G, Böttcher S, Böhm E, Burmeister S, Guo J, Köhler J, Martin C, Posner A, Rafkin S, Reitz G. Science. 2013 May 31;340(6136):1080-4.
11. Non-Targeted Effects Models Predict Significantly Higher Mars Mission Cancer Risk than Targeted Effects Models. Cucinotta FA, Cacao E. Sci Rep. 2017 May 12;7(1):1832. doi: 10.1038/s41598-017-02087-3.

成果リスト

学術論文

1. Yoshida K, Yoshida, S, Study of the Effects of Space Radiation on Mouse ES cells. ; Eguchi-Kasai, K, Morita, T.; Biol. Sciences Space 24, 11-15 (2010)
2. Yoshida K., Hada M., Eguchi-Kasai K., Teramura, T., Cucinotta, FA, Morita T.; Estimation of Effects of Space Radiation Using Frozen Mouse ES Cells in ISS, JRR, Supl. HITSRS2013 ,
3. Kitada K[1], Kizu A[2], Teramura T[3], Takehara T[3], Hayashi M[1], Tachibana D[1], Wanibuchi H[4], Fukushima S[5], Koyama M[1], Yoshida K[6],Morita T[2]. ; Gene-modified embryonic stem cell test to characterize chemical risks. Environ Sci Pollut Res Int. 22:18252-9. (2015)
4. Norbury JW[1], Schimmerling W[2], Slaba TC[3], Azzam EI[4], Badavi FF[5], Baiocco G[6], Benton E[7], Bindi V[8], Blakely EA[9], Blattnig SR[3], Boothman DA[10], Borak TB[11], Britten RA[12], Curtis S[13], Dingfelder M[14], Durante M[15], Dynan WS[16], Eisch AJ[10], Robin Elgart S[17], Goodhead DT[18], Guida PM[19], Heilbronn LH[20], Hellweg CE[21], Huff JL[22], Kronenberg A[9], La Tessa C[19], Lowenstein DI[19], Miller J[9], Morita T[23], Narici L[24], Nelson GA[25], Norman RB[3], Ottolenghi A[6], Patel ZS[17], Reitz G[21], Rusek A[19], Schreurs AS[26], Scott-Carnell LA[3], Semones E[17], Shay JW[10], Shurshakov VA[27], Sihver L[28], Simonsen LC[3], Story MD[10], Turker MS[29], Uchihori Y[30], Williams J[31], Zeitlin CJ[3] Galactic cosmic ray simulation at the NASA Space Radiation Laboratory. Life Sci Space Res (Amst). 8:38-51 (2016)
5. Hayashi M, Yoshida K, Kitada K, Kizu A, Tachibana D, Fukui M, Morita T, Koyama M, Low-dose irradiation of mouse embryos increases Smad-p21 pathway activity and preserves pluripotency. J Assist Reprod Genet. 2018 Jun;35(6):1061-1069. doi: 10.1007/s10815-018-1156-y. Epub 2018 Mar 16.

学会発表

1. Yoshida K., Yoshida S., Eguchi-Kasai K., Morita T.; Study on the Effect of Space Radiation to Mammalian ES and iPS Cells to Their Development. 21th Annual NASA Space Radiation Investigators' Workshop May 16-19, 2010 Port Jefferson, New York
2. 森田 隆“マウスＥＳ細胞を用いた哺乳度物に対する宇宙放射線の影響」第 57 回日本放射線影響学 会ワークショップ 「宇宙射線の測定と生物影響「 2014 年 10 月 1 日鹿児島
3. K. Yoshida, A. Kizu, K. Kitada, M. Hada[2], K., Eguchi-Kasai, T. Teramura, H. Suzuki, T. Shimazu, S S. Yano, M. Shirakawa, I. Osada, H. Kasahara, F. A. Cucinotta, T. Morita.; The effects of space radiation to mouse embryonic stem cells in international space station (Stem Cells) The 60th Annual Meeting of the RRS Las Vegas, 2014 Sep 24,2014.
4. Morita, T." Stem Effects to Frozen Mouse Embryonic Stem Cells in International Space Station, Human Research Project; Investigators' workshop, Jan 13-15 (2015) Galveston, Texas, USA
5. K. Yoshida, A. Kizu, K. Kitada, M. Hada[2], K., Eguchi-Kasai, T. Teramura, H. Suzuki, T. Shimazu, S S. Yano, M. Shirakawa, I. Osada, H. Kasahara, F. A. Cucinotta, T.

Morita.;Evaluation of Space Radiation Effects to Mouse Embryonic Stem Cells Stocked in MELFI in ISS for Fourteen Months as “STEM CESSs” Project, Space Radiation and Heavy Ions in Therapy Symposium 2015, May 22-24, Osaka, Japan.

6. K. Yoshida, A. Kizu, K. Kitada, M. Hada[2], K., Eguchi-Kasai, T. Teramura, H. Suzuki, T. Shimazu, S S. Yano, M. Shirakawa, I. Osada, H. Kasahara, F. A. Cucinotta, T. Morita.;The Space Experiment Project (Stem Cells) in International Space Station to Evaluate Effects of Space Radiation Using Mouse ES Cells.radiation 15th International Congress of Radiation Research, 2015, May 25-29, Kyoto, Japan.

7. K. Yoshida, A. Kizu, K. Kitada, M. Hada[2], K., Eguchi-Kasai, T. Teramura, H. Suzuki, T. Shimazu, S S. Yano, M. Shirakawa, I. Osada, H. Kasahara, F. A. Cucinotta, T. Morita.; Space Wxpreriment to estimate effects of space radiation mouse ES cells in ISS;ワークショップ「粒子線を利用した研究へのいざない」日本放射線影響学会大 59 回大会、2016 年 10 月 26－28 日、ＪＭＳアステールプラザ　広島

8. 吉田佳世[1)]，木津あかね[1)]，秦　恵[2)]，江口一笠井清美[3)]，寺村岳士[4)]，山崎千秋[6)]、鈴木ひろみ[5)]，嶋津　徹[5)]，永松愛子[6)]，鈴木智美[6)]、東端　晃[6)]、矢野幸子[6)]，白川正輝[6)]，　，笠原春夫[7)]，P, Saganti, F. A. Cucinotta[8)]，森田　隆：宇宙放射線によるマウス凍結 ES 細胞への影響：日本宇宙生物科学会第 31 回大会、2016 年、9 月 21 日、群馬会館、前橋市

9. 吉田佳世[1)]，木津あかね[1)]，北田紘平[1)]，秦　恵[2)]，江口一笠井清美[3)]，寺村岳士[4)]，鈴木ひろみ[5)]，嶋津　徹[5)]，永松愛子[6)]，矢野幸子[6)]，白川正輝[6)]，長田郁子[7)]，笠原春夫[7)]，F. A. Cucinotta[8)]，森田　隆：凍結マウスＥＳ細胞を用いた宇宙放射線影響の解析：宇宙航空環境医学会・宇宙生物科学会合同大会シンポジウム、2016 年、10 月 15 日、愛知医科大

10. K. Yoshida, A. Kizu, K. Kitada, M. Hada[2], K., Eguchi-Kasai, T. Teramura, H. Suzuki, T. Shimazu, S S. Yano, M. Shirakawa, I. Osada, H. Kasahara, F. A. Cucinotta, T. Morita. Space Experiment to estimate effects of space radiation mouse ES cells in ISS; ワークショップ「粒子線を利用した研究へのいざない」日本放射線影響学会大 59 回大会、広島, (2016)

11. K. Yoshida, A. Kizu, K. Kitada, M. Hada[2], K., Eguchi-Kasai, T. Teramura, H. Suzuki, T. Shimazu, S S. Yano, M. Shirakawa, I. Osada, H. Kasahara, F. A. Cucinotta, T. Morita. Space Experiment to estimate effects of space radiation mouse ES cells in ISS; ワークショップ「粒子線を利用した研究へのいざない」日本放射線影響学会大 59 回大会、広島, (2016)

12. 吉田佳世[1)]，木津あかね[1)]，秦　恵[2)]，江口一笠井清美[3)]，寺村岳士[4)]，山崎千秋、鈴木ひろみ[5)]，嶋津　徹[5)]，永松愛子[6)]，鈴木智美、東端晃、矢野幸子[6)]，白川正輝[6)]，P. Saganti，笠原春夫[7)]，F. A. Cucinotta[8)]，森田　隆；　宇宙放射線によるマウス凍結 ES 細胞への影響：宇宙生物科学会第 2 回大会、前橋　(2017)

13. 吉田佳世[1)]，木津あかね[1)]，秦　恵[2)]，江口一笠井清美[3)]，寺村岳士[4)]，山崎千秋、鈴木ひろみ[5)]，嶋津　徹[5)]，永松愛子[6)]，鈴木智美、東端晃、矢野幸子[6)]，白川正輝[6)]，P. Saganti，笠原春夫[7)]，F. A. Cucinotta[8)]，森田　隆；国際宇宙ステーションで 52 か月間凍結保存したマウス ES 細胞への宇宙放射線影響の解析; シンポジウム「宇

宙における放射線防護を考える-影響の多面性と評価-」日本放射線影響学会大 60 回大会、千葉,(2017)

工業所有権

特許申請　「チューブキャッチャー」権利者；二九精密機器株式会社
発明者；速水哲雄、西川秀樹、森田　隆
特願；第 20012-110115 号　出願；平成 24 年 5 月 11 日
内容；凍結細胞の入ったチューブを宇宙への輸送のために、温度を上げずに並べられるよう、チタン製で液体窒素のなかでも簡単に操作ができる道具を開発し使用した。

獲得外部競争資金

1. 科研費基盤 C　平成 24 年～26 年　「胚性幹細胞を用いた宇宙放射線の影響解析」420 万円　代表　森田　隆
2. 科研費基盤 C　平成 27 年～29 年　「国際宇宙ステーション内に長期保存したマウス胚性幹細胞を用いた宇宙放射線の影響研究」390 万円　代表　森田　隆

取材報道などパブリシティー

1. 2013 年 1 月に大阪市立大学大学院医学研究科で JAXA と共同で研究計画に関する記者会見を行った。
2. 同内容が NHK によるニュース報道および、主要各社（朝日、読売、毎日、産経、日経など）新聞記事および yahoo news などのネットメディアに取り上げられた。
3. 2013 年 3 月に米国ケネディ宇宙センターからサンプル打ち上げ時には、新聞・ネットニュースなどで、大阪市立大学のサンプルが搭載されていることが報道された。
4. 2014 年 7 月には、第 1 回目の宇宙サンプルが大阪市立大学に回収された時点で、NHK ニュースにより、サンプルが搬入される様子が取り上げられた。
5. 2014 年３月、若田宇宙飛行士が ISS の船長となった際、サンプルの線量計を取り換える動画が一般に配信された。
6. 大阪市立大学大学院医学研究科では、2013 年 NASA から、Cucinotta 博士、秦博士による宇宙における放射線影響に関する特別講演を開催した。また、2018 年には、NASA から Beheshti 博士と Smithwick 博士による GeneLab に関するセミナーを開催した。
7. 2015 年 5 月には、大阪、阿倍野ハルカスにおいて、SRHITS (Space Radiation and Heavy Ion Therapy Symposium)を森田が会長、吉田が事務局長として開催し、80 名を超える海外からの放射線に関する研究者が集まり議論と交流を行った。

2020年度 ISS・きぼう利用ミッション科学成果評価結果

万能細胞（ES細胞）を用いた宇宙環境が生殖細胞に及ぼす影響の研究
（Stem Cells）
研究代表者 森田隆（大阪市立大学）

総合評価

A: 目標を充分に達成した(フルサクセス相当)

宇宙放射線の生物への影響は、将来の有人探査計画にとって、極めて重要な課題である。本研究は、マウスの冷凍ES細胞を用いて、放射線による染色体異常、DNA損傷への修復遺伝子の応答、また、蓄積されたDNA損傷と軌道上保管期間との相関など、哺乳類の放射線影響に関する重要な知見を得、フルサクセスを達成したと評価できる。しかし、解析結果の詳細は、未だ公表されておらず、学術論文としてとして纏め、成果を世に問うことを急ぐべきである。

一方、軌道上輸送や凍結温度など、様々なISS利用実験の制約の中、工夫された実験プロトコルにより、ES細胞の生存回収およびキメラマウスという貴重なサンプルを得たこと自体が、大きな成果であったと言える。今後、より詳細な解析を行い、見出された遺伝子の機能と発現量の変動のメカニズム等の解明を推進することを推奨する。

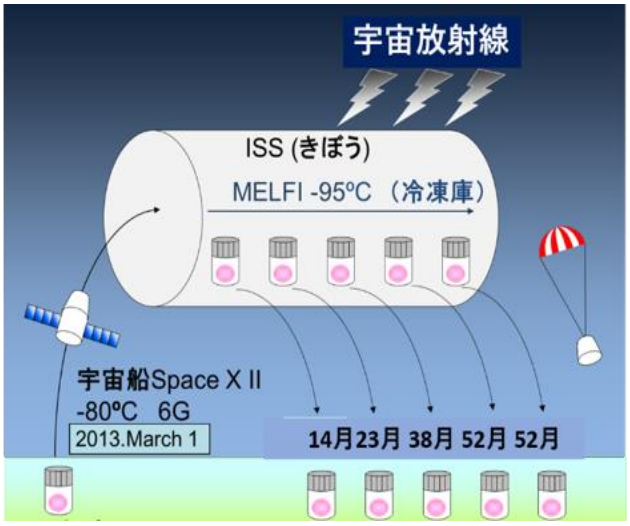
2020年8月
きぼう利用テーマ選考評価委員会（生命医科学分野）

ISS・きぼう利用ミッション
「宇宙放射線が哺乳動物生殖細胞に及ぼす影響（Stem Cells）」
研究成果概要書(和文)

代表研究者；森田　隆（大阪市立大学大学院医学研究科）

2020 年 1 月

宇宙空間は、微小重力の中で宇宙放射線が照射される特殊な空間である。近年、月面探査や火星への有人飛行の計画も進んでおり、人類の長期滞在における放射線のリスクを確立することが望まれる。宇宙放射線は低線量率、低線量であるが、鉄イオン粒子など生物学的影響が大きい重粒子線も含む。したがって本研究では、哺乳動物の細胞を国際宇宙ステーション（ISS）に打ち上げ、地上に回収後、生物学的異常がでるかを解析し、物理的手法による線量と比較検討し、生物への影響を正しく評価することが目的である。



本研究では、マウス胚性幹細胞（ES）とヒストン H2AX 遺伝子を欠損させた細胞などを凍結して、ISS 内に保存した。打ち上げ後、14, 23, 38, 52 か月後に地上に回収した。同時に装備されていた PADLES 線量計から、ISS 内冷凍庫で約 0.36 mGy/日という線量を受け、52 か月では約 0.57Gy の宇宙放射線を受けたことが明らかとなった。

（１） 染色体異常の解析

打ち上げ後、14, 23, 38, 52 か月間 ISS と JAXA(つくば)で保管されていたサンプルについて細胞を融解し培養後、染色体を展開して染色体の異常を FISH で観察した。DNA 修復遺伝子ヒストン H2AX 遺伝子が野生型で機能する場合は、52 か月でも ISS と地上で異常がほとんど検出できなかった。しかし、H2AX(+/-)の ES 細胞を解析すると、地上に比べて ISS の方が染色体異常頻度が高く、さらに経時的に高くなることが明らかとなった。同時に加速器で陽子線と鉄イオン線を照射した場合の染色体異常の頻度と比較した。このような実験から、宇宙放射線による長期間被ばくを染色体異常により直接検出し定量することを可能にした。

（２） マウス ES 細胞の個体発生と生殖機能の解析

ISS と地上で 38 か月と 52 か月保存したマウス ES 細胞（C57BL/6;毛色黒）をそれぞれ受精卵にマイクロインジェクションし、ともにマウス個体を作製した。その結果、白と黒の毛色の混じったキメラマウスが両方から生まれた。このことから宇宙で 52 か月保管したマウス ES 細胞には、個体まで分化する能力があることが分かった。キメラマウスについて、さらに C57BL/6 マウスと交配し毛色が黒いマウスが得られたことから、ES 細胞が生殖細胞にもなることを明らかにした。38 か月の F1 マウスについては、ISS、地上由来ともに、さらに交配を行い出産したことから、次世代へも、生殖細胞になる能力を有していることが明らかになった。

（３） ISS 内での DNA 修復遺伝子の放射線に対する発現応答

宇宙放射線に対して DNA 修復遺伝子が防御の機能を果たしていることは、ヒストン H2AX 遺伝子欠損 ES 細胞の染色体異常が高まることからも明らかである。RNA シーケンス法により、ISS と地上で保管した細胞の RNA から、宇宙放射線に応答し発現が誘導されるかを調べた。その結果、相同組換えや非相同末端結合修復に関与する多くの DNA 修復の発現に変化はなかった。一方、ストレスと細胞周期に関わるいくつかの遺伝子については、培養 2 時間後に明らかな増加が見られた。このような遺伝子の発現誘導により、宇宙放射線による DNA 損傷に対して細胞の防護機能が働くことが予想された。

結語

本研究により、初めて国際宇宙ステーション内で 14, 23, 38, 52 か月間凍結保存したマウス ES 細胞を用いて、宇宙放射線の影響を染色体異常を解析した。宇宙放射線は 4 年あまりで約 0.57Gy の被ばくとなるが、今回の実験で、宇宙放射線の影響をマウス染色体異常として定量的に測定できた。このことから、本研究は長期有人宇宙飛行における放射線のリスク評価を生物学的に裏付ける手法として貢献できると考えられる。

Summary report of the ISS-Kibo utilization mission

Effects of space radiation to mammalian germ cells (Stem Cells)

Principal Investigator ; Takashi Morita

(Osaka City University, Graduate School of Medicine)

Jan, 2020

When we think of space environment, we must care about micro-gravity and space radiation. Recently, it should be planned of manned flight to develop earth-moon and to travel to mars. So, it is necessary to establish risk assessment of space radiation during the long-termed flight and stay in space. Space radiation is low-dose and low-dose rate radiation, but it contains heavy particles as carbon and ion having high LET. In our project, we planned to launch mouse embryonic stem cells (ES cells) as frozen condition to ISS. They were retrieved to ground after about 1, 2, 3, 4 years. We studied biological effect of space radiation and compare the data with the physical data to use PADLES bio-dosimeter. Our purpose was to know the biological effects of space radiation to mammals.

In this project, we launched mouse ES cells of wild-type and histone H2AX-deficient ES cells after freezing and kept them in freezer, MELFI at -95°C in ISS-Kibo (Fig.1). After 14, 23, 38, and 52 months, the cells were taken back in dry-ice to the ground. The thin and small bio-dosimeter PADLES were attached to the cell samples in the MELFI. The absorbed dose rate is about 0.36 mGy/day, and totally about 0.57 Gy of space radiation was absorbed by the samples of 52 months.

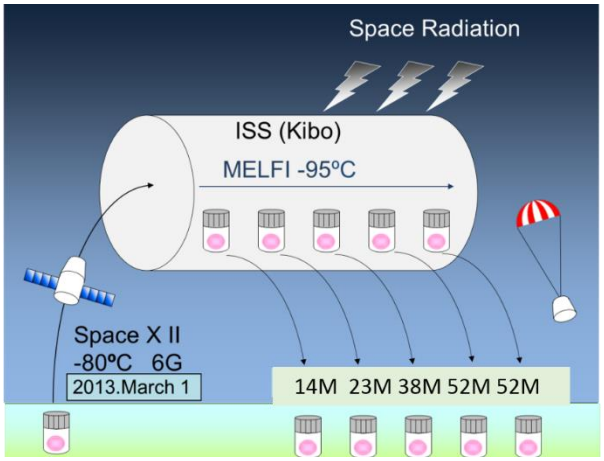


Fig. 1 Scheme of space experiment

(1) Analyses of chromosome aberrations

The mouse ES cells exposed for14, 23, 38, and 52 months in ISS were retrieved. They were thawed and cultured. Then, chromosomes were spread on the slide glasses. The chromosome were hybridized with FISH probes and observed by UV-microscope equipped by Cytovision software. Wild-type cells of histone H2AX had normal chromosomes kept in ISS for 52 months. When we observed H2AX (+/-) ES cells, we found increase of numbers of chromosome aberrations depending on the duration of stock in ISS.

We also showed chromosome aberrations using mouse ES cells exposed by proton and Fe ion-irradiated at 0.2Gy and 1Gy using HIMAC accelerator at NIRS in Chiba. From these results, we can give supporting evidence from biological aspect to space radiation risk assessment to mammals.

(2) Analyses of development of mouse ES cells

Mouse ES cells stocked in ISS or on ground for 38 months or 52 months were microinjected into blastocysts to make pups. We obtained chimeric mice with white and black

coat color from 38 and 52 months stocked ES cells, either in ISS or on ground. It showed that both mouse ES cells had capability to differentiate to produce adult tissues and organs. Those chimeric mice had crossed with C57BL/6 mice, and black mice had produced, showing that both ES cells kept in ISS and on ground for 52 months had ability to become sperms or eggs to transmit. The black mice derived from 38 months stocked in ISS were further crossed with C57BL/6 mice and they got pups from male or female, indicating that their germ cells were potent to transmit their DNA to descendants.

(3) Responsive expression of genes involving in DNA repair of ES cells stocked in ISS

The importance of DNA repair genes to space radiation was clearly shown by our result that histone H2AX-deficient mouse ES cells were more sensitive to space radiation than wild-type cells. We also examined gene expressions of ES cells in ISS or on ground by RNA sequencing. Although expressions of major DNA repair genes were constant, we observed a few of upregulated genes concerning stress response in ISS stock. We think they are involved in the regulation of DNA repair and apoptosis against stresses of space radiation.

Conclusion

In this project, we observed the effect of space radiation to mouse ES cells stocked 52 months in ISS by the increase of chromosome aberration and increase of stress responsive-gene expression, in spite of the low-dose and low-dose rate of irradiation. To analyze effects of space radiation from biological aspect is essential for risk assessment of manned flight to moon of the earth or mars,

ISS・きぼう利用ミッション
長期宇宙滞在飛行士の姿勢制御における帰還後再適応過程の解明 （略称：Synergy）
研究成果報告書

代表研究者
石岡憲昭 （宇宙航空研究開発機構宇宙科学研究所）：足底圧分布担当
2019 年 12 月

1. 緒言

1.1. 研究の概要

きぼう第 2 期利用候補テーマ実験として、長期宇宙滞在からの帰還後の宇宙飛行士における下肢骨格筋ならびに体性感覚の適応過程を検討し、宇宙飛行士の帰還後のリハビリテーション法に貢献できるデータの取得を目指す。

上記目的を遂行するために、長期宇宙滞在した宇宙飛行士を対象に、軌道上滞在前後で下記の項目を測定する。

① 下肢拮抗筋の活動パターの測定
下肢拮抗筋（前脛骨筋とヒラメ筋・腓腹筋・足底筋）の筋電図の測定

② 姿勢動揺バランスの測定
姿勢動揺バランスの制御における下肢骨格筋と神経系の関係を検討するために、床反力計上で画像に表示された方向へ重心を傾けるタスクを行う（図 1）。

③ 下肢骨格筋上の皮膚表面の血流測定
下肢骨格筋上の皮膚表面の血流を血流測定装置で解析する。さらに歩行時の足底圧分布についても経時的な変化を解析する。

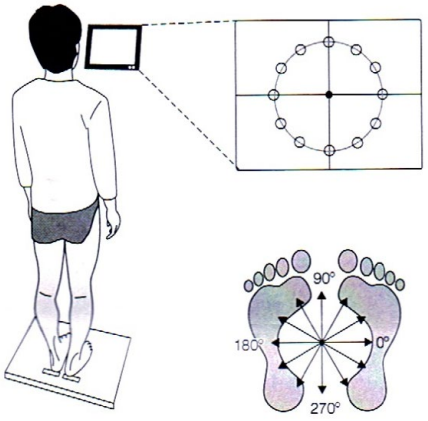


図 1. 被験者は床反力計上で静止位置を維持し、立位時の水平平面上の足圧中心位置は前方のモニターに表示した。ターゲットポジションは 12 方向で真右を 0 度とし、反時計まわりに 30 度毎ターゲットを設定した[(1)]。

1.2. 研究の意義

長期宇宙滞在への貢献：本研究は、帰還後の宇宙飛行士に生じる歩行の問題を解明することを目的としており、効果的なリハビリテーション法の開発や軌道上に滞在中の筋萎縮の予防に対する運動処方ならびに新たなトレーニング方法の提案にも貢献することが期待される。帰還後の効果的なリハビリテーション法の開発が実現すれば、宇宙飛行士はこれまで以上に長期にわたって軌道上への滞在が可能となり、今後の各国の ISS プロジェクトに貢献するものと思われる。さらに、日本は月面に有人を送ることを計画しているが、月面での 1/6G 環境下では地上と異なる歩行形態が適していると考えられる。本提案での成果は、歩行を多角的にとらえるものであり、地

上と異なる重力下での歩行様式の研究にも貢献すると考える。また、地上での社会や産業への貢献が期待される。現在、日本では高齢化が問題となっている。そのため、長期間にわたって寝たきりになる高齢者が増加していくものと思われる。これまで活動していた下肢筋が不活動になると長期宇宙滞在した宇宙飛行士と同様の変化が生じることが予想される。また長期入院している臥床患者でも宇宙滞在時と同様の現象が下肢に生じる。したがって、本研究の結果は、地上での効果的なトレーニング法ならびにリハビリテーション法の開発へつながり、介護や福祉関係の分野にも寄与することが期待される。

1.3. 研究の動機、背景

宇宙環境、特に微小重力が生体に及ぼす影響として、これまでは骨の脆弱化や骨格筋の萎縮などが主問題として挙げられてきた。また、宇宙飛行士は、帰還直後に歩行が円滑にできないことも知られている。特に宇宙飛行士の健康や体力の維持という観点からは、骨密度低下や筋萎縮に対する研究が数多くなされ、軌道上で使用する運動器具や軌道上で行う運動方法の改良が行われてきた。しかしながら、長期宇宙滞在からの帰還後の下肢拮抗筋の共収縮の回復過程や体性感覚における神経筋の協調性や再適応に関する研究は非常に少ない。本研究では、宇宙飛行士の帰還直後の歩行が困難となる原因として筋萎縮や骨量減少だけでなく、長期宇宙滞在に適応した下肢拮抗筋の拮抗状態の不均一性、ならびに前庭系や小脳での体性感覚調節の乱れが帰還直後に地上に再適応する前に生じていることによると考えた。そこで、長期宇宙滞在した宇宙飛行士を対象に、1)下肢拮抗筋の共収縮、2)体性感覚で調節されている重心、3)下肢骨格筋表面の血流量の地上への適応過程を解析し、帰還直後の適応過程に関する基礎データを取得し解析することを提案した。

1) 下肢拮抗筋の共収縮

微小重力環境下では、短期間のスペースシャトルによるフライトでさえ、抗重力筋の筋線維横断面積が著しく減少することが明らかにされている。また、それに伴って筋活動量も減少し、筋電図積分値（筋活動量を示す値）も減少することが宇宙飛行士を用いた実験ならびに動物実験で示されている(図 2)。ラットを用いた後肢懸垂（地上で尾部を釣り上げて後肢に慢性的に負荷が加わらないようにする方法）では、初期に拮抗筋の共収縮が生じることが報告されている(図 3)。また、地上で乳児が最初に歩き出した際には、下肢拮抗筋の共収縮が生じている。それらのことより、長期宇宙滞在から帰還直後の歩行の困難さは、筋萎縮のみが原因ではなく、拮抗筋同士の共収縮等の拮抗状態の不均一さも大きく関係していると考えられる。

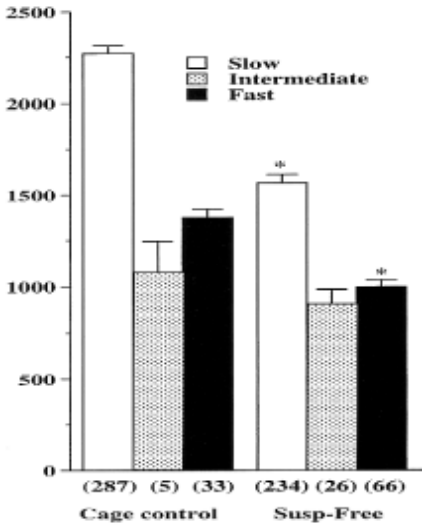


図 2　10 日間の後肢懸垂による、ラットヒラメ筋の筋線維断面積の変化 [(2)]。

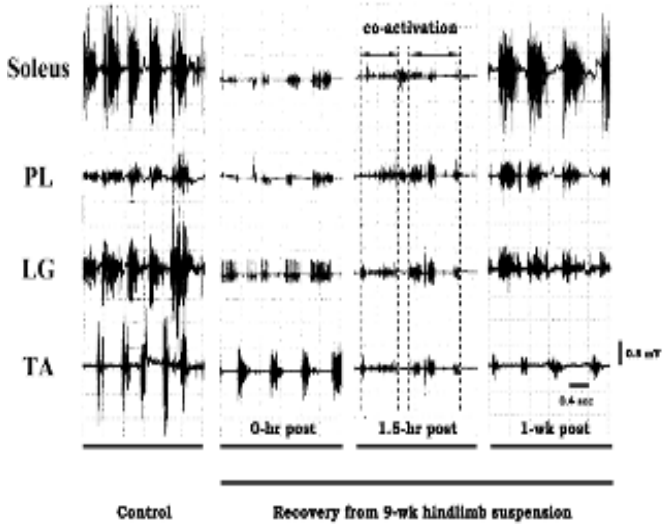


図 3　長期間の後肢懸垂が歩行中におけるラット後肢筋の活動パターンに及ぼす影響[(3)]。Soleus：ヒラメ筋、PL：足底筋、LG：外側腓腹筋、TA：前脛骨筋。

2）体性感覚に関する重心変化

宇宙滞在から帰還直後の宇宙飛行士は歩行時にふらつく等で安定して姿勢を維持できなくなる状態が生じることが知られている。この歩行時の状態は、スペースシャトルによる短期間の軌道上滞在からの帰還時にも報告されている[(4)]。しかし、実際に帰還直後の歩行の不安定さを定量化し、そのメカニズムに迫った研究はほとんどない。これまでの多くの研究では、平衡感覚を制御する器官として、前庭系の耳石が主に注目されてきた。地上での平衡感覚や体性バランスは、内臓器官重量の左右不均衡を小脳で調整して維持されている。また、幼児の足裏での圧力の掛かり方（分布）をピドスコープで測定すると、よく転ぶ幼児では後方に重心が掛り、転びにくい幼児では前後均一に重心が掛かっている[(5)]（図 4）。バランス制御は、感覚系情報を統合し筋出力を調節することによって間断なく行われている。ベッドレストでは、下肢骨格筋の活動が持続的に抑制され、感覚神経系での制御も抑制されていると考えられる。したがって、長期間の軌道上への滞在時に生じる筋萎縮ならびに下肢拮抗筋の共収縮や前庭系の不均衡、小脳のバランス調節の乱れなどの様々な要因によって、帰還直後の歩行の困難さが増し、それらは重心変化として顕著に現れると考えられる。

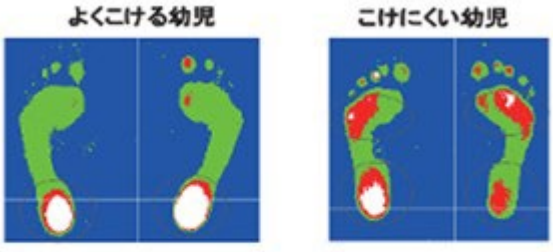


図4: よくこける幼児とこけにくい幼児のピドスコープによる足裏の圧力分布測定[(5)]

3）下肢骨格筋表面での血流量の変化

宇宙滞在時に体液シフトが生じることは知られている。地上実験においても、ベッドレストモデルなどを用いて多くの研究が行われてきた。しかし、これら研究の多くは、心循環系における血液調節に注目している。ベッドレスト中に腓腹筋（ふくらはぎ）の血流が減少することが報告されている[(6)]

が、長期宇宙滞在からの帰還直後の下肢骨格筋の表面における血液状態がどのような回復・適応過程を経ているのかは明らかにされていない。本研究では、宇宙環境に滞在中の下肢骨格筋の萎縮によって、ミルキングポンプ作用が衰退し、下肢骨格筋の表面における血流量が帰還直後に減少しており、その後の再適応過程で血流量が正常値へ回復すると考えた。

2. 研究計画

2.1. 研究の目標

国際宇宙ステーション（ISS）の運用が本格的に始まり、宇宙飛行士の長期宇宙滞在が実現したことにより、軌道上滞在中に生じる微小重力や宇宙放射線など宇宙環境でのストレスの影響を評価することは、宇宙飛行士の健康管理のために極めて重要な課題になる。今後、日本人の宇宙での活躍の機会が増す状況にある中、長期にわたる軌道上への滞在時ならびに帰還後の健康や体力を維持するための方法の確立が重要な課題となる。

軌道上での滞在により、宇宙飛行士の下肢における抗重力筋（ヒラメ筋等）への機械的負荷が減少して筋萎縮が生じることが知られている。宇宙環境で生じる筋萎縮に関する研究は以前から数多く取り組まれているが、決定的な解決方法が未だに得られていないのが現状である。

本研究では、長期宇宙滞在からの帰還後の宇宙飛行士における下肢骨格筋の活動パターンならびに体性感覚の適応過程に注目し、宇宙飛行士の帰還後のリハビリテーション法に貢献できるデータの取得を目標とした。具体的には、長期宇宙滞在した宇宙飛行士を対象に軌道上での滞在前と滞在後における下肢拮抗筋の筋活動パターンを比較すること、下肢骨格筋上の皮膚表面の血流量を測定すること、姿勢動揺バランスを解析することにより、長期宇宙飛行によって生じる骨格筋ならびに体性感覚で生じる生理的な問題点を明らかにして、それらの問題点を解決するための基礎資料を得ることである。以下に本研究のサクセスクライテリアを示した。

サクセス	クライテリア	達成度	備考
Minimum Success	すべての測定時期において、筋電図データ・重心動揺バランスデータ・歩行動作画像が取得でき、宇宙飛行士のフライト前・帰還直後、およびその後の再適応過程における歩行動作の違い・変化を定量的に評価できること。	－	デジタルデータの取得
Full Success	ミニマムサクセスの結果よりシナジー解析を行い、正常な歩行動作・立位制御には、以下に示す3つの要素が関与しているという仮説を実証すること。 ①複数の下肢骨格筋の協調作用 ②体性感覚での重心調整 ③血流調整 更に、重力下での回復過程における上記①～③の定量的データを取得することにより、回復にパターンがあるかどうかを評価する。	－	①～③全て
Extra Success	フルサクセスに加え、高齢者・長期臥床患者のリハビリ等に応用できる知見を得ること。 （宇宙飛行士と、別途取得する高齢者のシナジー解析を比較することにより、適応範囲を明らかにすること）	－	

2.2. 研究実施体制

研究分担者（CI: Co-Investigator）

神崎素樹 （京都大学大学院人間・環境学研究科）： 姿勢動揺・筋活動担当

石原昭彦 （京都大学大学院人間・環境学研究科）： 血流動態担当

寺田昌弘（京都大学宇宙総合学研究ユニット）： 歩行動作・筋活動担当

PI の石岡を含め 4 人の研究チームを編成し、各 CI にそれぞれ専門とする分野を担当してもらった。特に姿勢動揺・筋活動は、本研究のミッション名「Synergy」に由来し骨幹をなしている。BDC の準備からデータ取得まで一丸として実施できた。解析は各担当に任せたが、必要に応じてミーティングを開き情報の共有とデスカッションを行った。したがって、本研究のチームとして十分機能していたといえる。JAXA 担当者は研究開始から BDC 完了までに変更があったが、東端主任、大平開発員からは変わらずに支援を受けた。NASA との調整や BDC に関わる準備、有人倫理対応や解析全般への支援等、JAXA は本研究の円滑な運用に十分寄与したと考える。研究実施体制については、図 5 に示す。

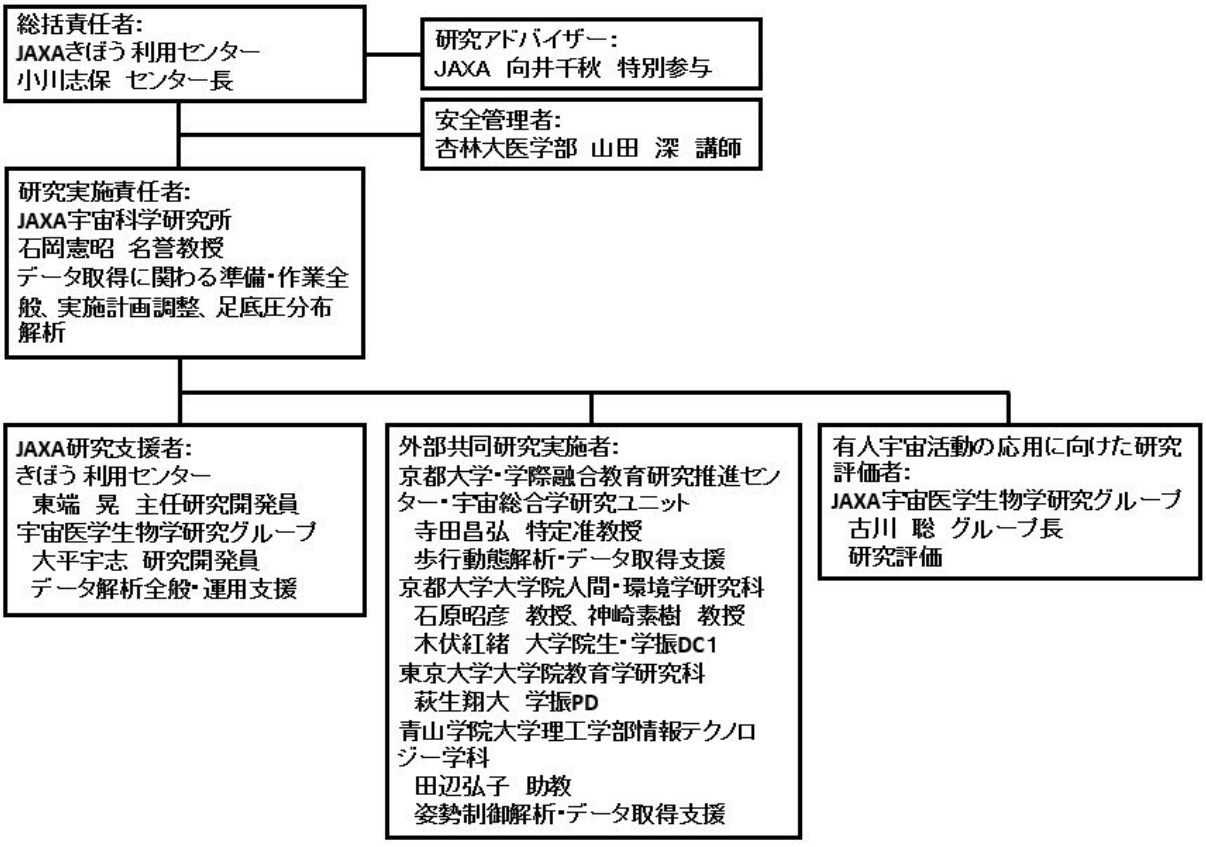


図 5 研究実施体制（2018 年現在）

2.3. 実施スケジュール

本研究の全体スケジュール案を表1に示す。長期宇宙滞在した宇宙飛行士の軌道上滞在前と帰還後のみの測定を行った。測定時期は、軌道上への滞在前 1 回（打ち上げ 6～1 ヵ月前の間に 1 回実施：Pre）、帰還後 4 回（帰還後 1 週間以内に 2 日以上間隔を開けて 2 回：Post1 および Post2；1 ヵ月（−0/+1）後に 1 回：Post3；3 ヵ月（−0/+3）後に 1 回：Post4）の計 5 回とした。そのため、1 名の被験者から最長で打ち上げ 6 ヵ月前から帰還後 6 ヵ月の間に 5 回データ取得を行うこととした。各測定時期においては、機器の設置完了後に研究者/JAXA 担当者を被験者として、機器の正常作動確認、リハーサルを実施した。

表1　実施スケジュール

	FY	2012（FY24）				2013（FY25）				2014（FY26）				2015（FY27）				2016（FY28）			
No	項目名称	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	研究準備																				
1.1	倫理委員会		▼																		
1.2	地上対照実験			▼																	
1.3	解析・評価、成果報告			◆	→	→	→	→													
2	宇宙フライト実験																				
2.1	国際調整				▲	▲		▲		▲		▲		▲							
2.2	訓練（■）、 飛行前データ取得（▲）									■ ▲		■ ▲		■ ▲		■ ▲		■ ▲			
2.3	飛行後データ取得											▲		▲		▲		▲			
2.4	解析・評価、成果報告									←	←	←	←	←	←	←	←	←	←	←	▼

3.　実験準備

3.1. 研究に用いる機器

本研究では全て市販の機器を使用した。

1)　筋電図測定装置：FreeEMG/PocketEMG（BST Bioengineering）

図 6 は EMG の装着（左）と筋電図用電極を貼り付けた様子。下肢のヒラメ筋、腓腹筋、前脛骨筋、長腓骨筋、外側広筋、大腿直筋、大腿二頭筋、中殿筋に電極を貼り付けた。

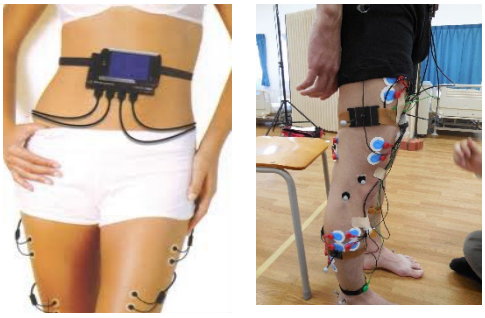


図 6　EMG（左：BTS Bioengineering HP より（現在は商品としてラインナップされていない））と
電極貼付の実際（右：京都大学神崎研究室にて）

2）血流測定装置：レーザードップラー血流計

（ALF21 （接触型）、ADVANCE 社：https://www.advance.jp）（図7）

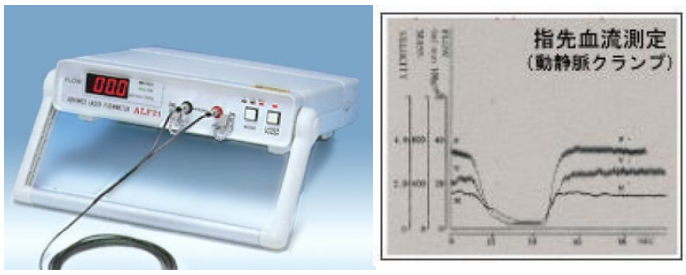


図 7　血流測定装置と指先での血流測定例
（ADMEDEC 社ホームページより https://www.admedec.com/alf21/ALF21.php）

血流量は、2つのパラメータより組織血流量 （Flow） ＝ 赤血球量成分 （Mass） × 血流速度成分（Velocity） から求めることができる。

3） 姿勢動揺バランス測定：床反力計 （FP4060-05、BTS Bioengineering）

図 8 は床反力計を示しており、右足用に 2 枚、左足用に 2 枚の計 4 枚を使用した。

図 8　床反力計（ベルテック社ジャパン（当時））
（現在 https://manualzilla.com/doc/6592653/バイオメカニクス用フォースプレート-bertec-fp4060 を参照）

4） 動画撮影装置：光学式3次元動作解析装置（SmartDX300、BST Bioengineering）

3 次元動作解析はカメラ6台とワークステーションのシステムから構成されており、被検者には 27 個の赤外線反射マーカーを貼付した。被験者には床反力測定装置と足底圧測定装置を設置したコース上を歩いてもらった。図 9 には測定風景とキャプチャ像、床反力の実際を示した。

図 9　3 次元動作解析システム（左：ベルテック社ジャパンの web ページ（当時）から掲載（現在閲覧不可））と
キャプチャ像 （右：矢印は床反力の方向と強さ）

5） 足底圧計測装置：P-Walk （BST Bioengineering）

本研究では、当初に足底圧分布の測定は予定していなかったが、より詳細な解析の観点から追加した。P-Walk2 台を横に並べ、ウオークアナリシスでデータ取得してベルテック社のソフト G-Studio で解析した（図 10）。

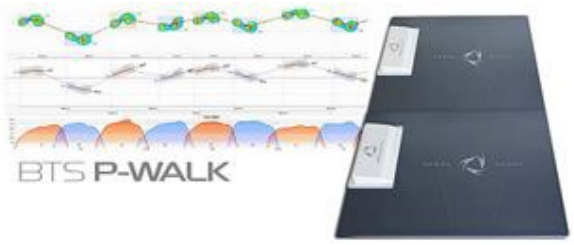


図 10 足底圧分布計測装置
（ベルテック社ジャパンの web ページ（当時）から掲載（現在は http://www.vedosport.com/Products/2371.html を参照））

3.2. 実験方法

3.2.1. 姿勢動揺・筋電図

被験者は、床反力計上にて静止立位を維持した後、前方のディスプレイに呈示される 12 方向に設定されたターゲットにできるだけ足圧中心を一致させる立位課題を行った[8, 9]（図 1 参照）。課題中、前後・左右方向の足圧中心位置および両下脚のヒラメ筋、腓腹筋内側頭、腓腹筋外側頭、前脛骨筋、外側広筋、大腿直筋、大腿二頭筋長頭、中殿筋より表面筋電図を導出した。静止立位時の足圧中心位置から各ターゲットまでの距離は 30 mm とした。足圧中心がターゲットまわりで安定した時間の筋電図データを用い、非負値行列因子分解により筋シナジー（筋シナジーから各筋への重みづけベクトル）とその活動度（中枢神経系から筋シナジーへの運動指令）を算出した[7, 10]

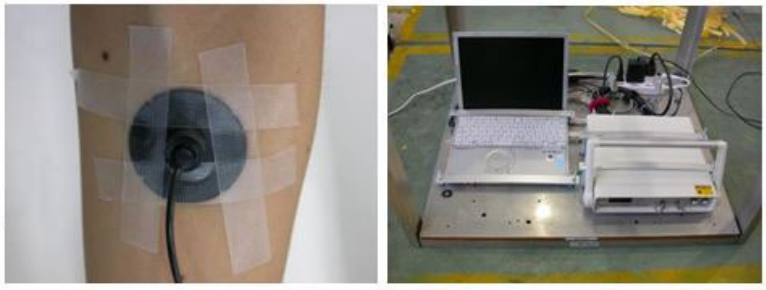
3.2.2. 歩行動作

歩行動作の解析には、動画撮影装置（光学式 3 次元動作解析装置：SmartDX300、BST Bioengineering）を用いた。3 次元動作解析はカメラ 6 台とワークステーションのシステムから構成されており、被検者には 27 個の赤外線反射マーカーを貼付した。被験者には床反力測定装置と足底圧分布測定装置を設置したコース上を歩いてもらった。記録された被験者マーカーのデータを用いて解析を行った。歩行動作の解析においては、Davis プロトコール[11]に従って被験者に添付したマーカー位置の情報を基に関節角度を検討し、歩行中の動作を評価した。

3.2.3. 血流動態

右側の下腿部表面にプローブを貼り付けて（図 11A）、その場で足踏みを 5 回行ってもらった。レーザー血流測定装置とコンピュータ（図 11B）で血流を測定・記録した。血流（mL/min/100g tissue）のデータから血流変化を解析した[12,13]。帰還 1 日後、7 日後、1 ヵ月後、3 ヵ後の 1st と 5th の血流

について、一元配置の分散分析で検定して、その後に post-hoc test を行った。また、帰還後のそれぞれの測定日で、1st と 5th の血流の間で *t*-test を行った。



A　　B

図 11　腓腹筋（下腿）後部の皮膚表面にプローブを貼り付けた（A）。プローブで皮膚表面の血流を感知して、血流測定装置に血流データを送信した（B）。血流測定装置で得られたデータは、コンピュータに送信されて保存された。（京都大学石原研より）

統計解析

本研究においては、6 メートル程度の歩行を 15 回程繰り返し行ったデータから、同一パターンの動作（例：右足接地→左足離脱→左足接地→右足離脱→右足接地）を抽出し、その間の筋電図波形ならびに姿勢データ（関節角度、骨盤軌跡、歩幅）を比較した。筋電図波形からは、活動時の波形を積分、その後、定量的に活動パターンや活動量を比較した。また、動画解析では被験者に添付したマーカーの軌跡を追跡し、歩行時の体軸の安定性、関節角度、骨盤軌跡、歩幅等を比較し、歩行時の姿勢変化を追跡した。姿勢動揺のバランス測定では数値データを特殊方程式で計算し、データ解析を行った。これらのデータは各測定ポイント間で、統計解析ソフトを用いて分散分析で統計的解析を行った。血流や足底圧の解析についても同様に統計解析ソフトで分散分析、多重比較等により有意差を検定した。

3.3. 手順の概要

本実験の測定時期は、軌道上滞在前 1 回（Pre）、帰還後 4 回（Post1、Post2、Post3、Post4）の計 5 回とし、測定時間は最大 50 分とした。BDC 本番までの各フェーズでの準備は計画通りに進んだ。準備と運用を考慮し、最終的に以下の手順を完成させた。また宇宙飛行士が被験者のため、有人倫理の観点から十分な配慮を行った（以下 3.4 項から 3.9 項を参照）。

1） 被験者の下肢（ヒラメ筋・腓腹筋・前脛骨筋・長腓骨筋・外側広筋・大腿直筋・腿二頭筋・中殿筋）に筋電図用の電極を貼付し、腓腹筋上の皮膚表面の部分に血流計、体の各部位にモーションキャプチャ用のマーカーをそれぞれ貼付した。

2） 床反力計の後部で静止時の血流測定のためにステップを踏んでもらった（5 ステップを 2 回）。床反力計上に移動してもらい、直立時の姿勢動揺を測定した。更に床反力計に乗ったまま、モ

ニター内で表示される方向（12 方向）へ重心を傾け、10 秒間維持した後、直立状態に戻ってもらった。これらの課題中に筋電図の測定を行った。

3） 床反力計から降り、6 メートル程度の直線歩行を 15 回程（歩行ステップ調整のための試し歩行数回を含む）行った。歩行の際に、動画撮影・筋電図測定・血流測定・足底圧分布測定を行った。

4） 測定終了後に電極ならびに血流計を速やかに外した。

※被験者へ電極・マーカーを添付した後に、貼付位置記録のため、に画像を撮影した。

※三次元動作解析（モーションキャプチャ）の赤外線カメラが測定中に不具合を起こした場合、バックアップ映像データ取得のため、に市販の家庭用ビデオカメラに切り替えて歩行動作の動画を撮影することとした。図 12 に機材の配置図と実際の写真を示した。

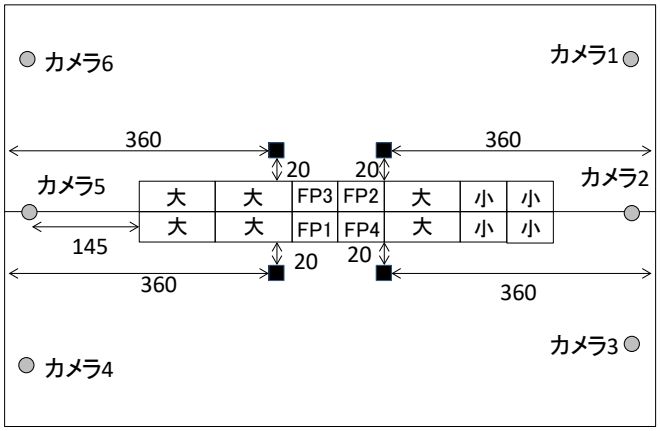


図 12 3 次元行動解析システムの設置図と NASA（JSC）での実際の設置の様子

設置図中の□（緑色）は P-Walk を示す。またカメラ 6 台、床反力計（FP1～4）を示す。

測定は、筑波宇宙センター （TKSC）、または NASA ジョンソン宇宙センター（JSC）で実施した。

3.4. 使用する機器・薬品等の危険性の評価と安全管理体制

使用した筋電図測定装置は、FDA（Food and Drug Administration）の承認を受けたものであり、血流計は国内で医療機器登録されているものである。その他の機器は医療機器ではなくこれまで多くの研究者によって学術論文等でその成果が報告されており、安全上の問題はない。

3.5. 被験者等の個人情報の保護

本実験で独自に取得したデータ、撮影した動画、基本情報（体重、年齢など）は、本実験の共同研究者の間のみで使用した。その際にデータの受け渡しとしてパスワードでロックされたファイルを CD や USB メモリで共有し、パスワードは別途送ることとした。CD や USB メモリの受け渡しは、直接手渡しで行った。これらのデータは研究実施責任者において匿名化し、管理した。研究終了後は、個人を特定できる情報は第三者の目に触れることがないよう注意して破棄した。また、本研究によって得られた結果の解析および学会誌への発表に際しては、個人的な情報は一切公開せず、被験者の個人情報を削除または匿名化し、プライバシーが完全に保護されるよう十分配慮した。

被験者へ電極・マーカーを貼付した後に、貼付位置記録のため画像を撮影した。この場合、個人が特定できる上半身等は写さず、記録画像のみとして使用し、保存媒体も鍵付きの保管場所で厳重に保管した。

3 次元動作解析（モーションキャプチャ）の赤外線カメラが測定中に不具合を起こした場合、バックアップ映像データ取得のために市販のビデオカメラで撮影した。その際には、被験者のプライバシーに配慮し取得した映像が第三者の目に触れないように、保存媒体を鍵のついた保管場所に保管するなど取扱いには十分な配慮をした。

3.6. 異常値および副作用等が発生した際の対処方針

本実験の測定中に被験者の健康に関する異常値（病気や疾患等）が見つかった際には、JSC 地上データ取得（BDC）の医療体制の運用に従い、適切に報告を行うことにした。実験の測定中に被験者の健康に関する異常値は認められなかった。

また、本実験での測定は、被験者に対して副作用が発生するような手順はないので特に医師の立ち会いは行わなかった。ただし、帰還直後（帰還後 1 週間以内に 2 日以上間隔を開けて 2 回）の測定においては被験者が転倒する可能性があるので、補助者を付き添わせた。補助者は被験者と並行して歩行し、転倒の恐れがある場合は介助した。手順にはないがフライトサージャンが帰還後 1 週間以内の BDC に立ち会った。副作用等が発生した場合は、直ちに測定を中止することにした。実験の測定中に被験者に副作用が生じることはなかった。

3.7. 被験者等に与える可能性のある影響と対策

筋電図測定の電極を被験者の下肢に張り付けた際に、かぶれやかゆみ等が生じる可能性がある。かぶれやかゆみ等が生じた場合は、かぶれやかゆみに対する市販薬を塗布することにした。実験の測定中に被験者にかぶれやかゆみ等が生じることはなかった。

帰還直後（帰還後 1 週間以内に 2 日以上間隔を開けて 2 回）の測定においては、被験者が転倒する可能性がある。転倒を予防するため、測定時には被験者に補助者を付き添わせることにした。補助者は被験者と並行して歩行し、転倒の恐れがある場合は介助することにした。更にそれぞれの測定において1回でも転倒した場合には、直ちに実験を中止し、被験者を安静にすることにした。また、帰還直後（帰還後 1 週間以内に 2 日以上間隔を開けて 2 回）の測定においては、NASA レベル 3 の医療監視体制 （医師は 15 分以内に連絡可能、一次救命の認証者 2 名が 2 分以内に到着可能で、設置 AED を 2 分以内に使用できる）に準じることにした。実験の測定中に被験者が転倒することはなかった。

3.8. 医師の立会および医療施設の必要性

帰還直後（帰還後 1 週間以内に 2 日以上間隔を開けて 2 回）の測定では、被験者の転倒等が懸念されるため、補助者を付き添わせることにした。補助者は被験者と並行して歩行し、転倒の恐れがある場合は介助することにした。転倒で負傷した場合は、必要であれば、実験実施場所に最も

近い医療機関に搬送することにした。帰還直後（帰還後 1 週間以内に 2 日以上間隔を開けて 2 回）の測定においては、NASA レベル 3 の医療監視体制に準じることにした。

3.9. 被験者等の同意

3.9.1. 被験者等の数及び募集と選定方法

実験前に長期宇宙滞在する宇宙飛行士の中から、本実験測定のインフォームドコンセントに書面で同意した者を対象とした。被験者数は男女問わず最大 10 名を希望したが、実際はバックアップ 1 名を含め 6 名であった。

3.9.2. 被験者等への説明内容及び方法

研究実施責任者もしくは共同研究者が被験者用説明文書にて、対面もしくは電話会議で説明した。実験前 ISS に滞在する宇宙飛行士に対し、他実験と合わせて説明書を用いて概要説明を行い、本実験への参加興味の回答を得た。多極間倫理委員会（HRMRB）の書式に従った同意書にサインをもらい、NASA 経由で受領した。

3.9.3. 研究等への参加の拒否または辞退への対応

本研究に参加するか否かは被験者の自由意思に基づくものであり、たとえ同意しない場合でも何ら不利益を生じることはないことを説明した。本研究への参加に同意した場合であっても同意を取り消すことが可能であり、その場合も被験者が不利益を被ることはないことを説明した。被験者となることを辞退した場合は、実験参加前、参加途中に関わらず被験者とはしないことを説明した。

4. 実験結果及び成果

5 名の宇宙飛行士が本実験に参加した。表 3 に宇宙ステーションに滞在した日数、帰還後から BDC 実施日までの経過日数をまとめた。

表 3 5 名の宇宙飛行の地上帰還後から測定までの実際の経過日数

	Flight period	1st	2nd	3rd	4th
Subj. 1	167 days	day 1	day 8	day 35	day 184
Subj. 2	199 days	day 2	day 7	day 54	day 105
Subj. 3	142 days	day 3	day 7	day 28	day 102
Subj. 4	186 days	day 5	day 7	day 31	day 135
Subj. 5	115 days	day 0	day 5	day 33	day 90

Flight period、宇宙環境に滞在した日数。1st、2nd、3rd、4th は、帰還 1 日後、7 日後、1 ヵ月後、3 ヵ月後の測定を意味する。day x は、帰還日から測定日までの実日数を示している。

本研究の結果をまとめ論文発表の準備をしているが、すべて未発表データのため、開示される本成果報告書には未発表データの掲載を控えたが、図 13 には本研究で使用した測定機器から得られるデータの例を示した。

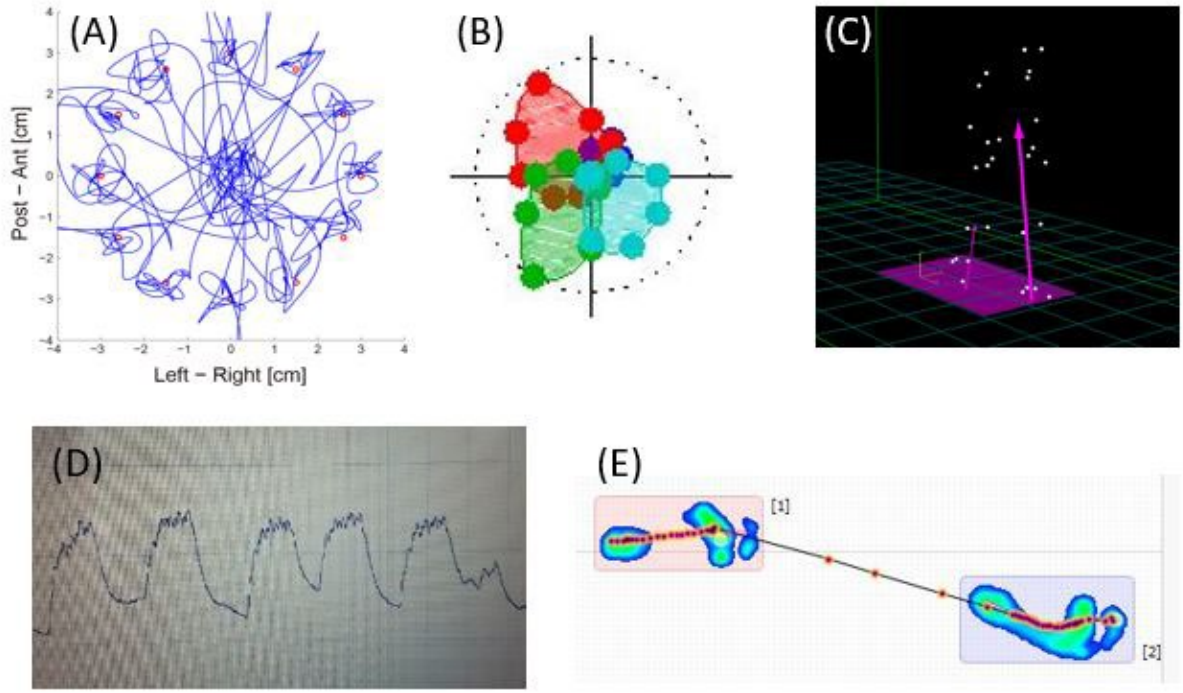


図 13　各測定機器から得られたデータ例
（A）は、姿勢制御測定から得られた圧力中心の動きを示している。下肢筋 16 部位の筋電図からの計算では、4 つの筋肉の相乗効果が見られる。（B）筋活動の変化を示していまる。（C）3D モーションキャプチャによって取得された画像と、床反力の大きさと方向を示している。（D）血流の変化を示している。 グラフには、5 回の足踏みステップが表示されている（1 セクションあたり 10 ステップ）。（E）は、歩行中の足底圧分布と圧力中心の軌跡の両方の表面を示している。

ミニマムサクセスは、「すべての測定時期において、筋電図データ・重心動揺バランスデータ・歩行動作画像が取得でき、宇宙飛行士のフライト前・帰還直後、およびその後の再適応過程における歩行動作の違い・変化を定量的に評価できること」であり、本研究で要求したデータは、すべてデジタルデータとして取得でき、フライト前・帰還直後、およびその後の再適応過程における歩行動作の相違・変化を定量的に評価できたことから、ミニマムサクセスは高度に達成することができた（◎）。

ミニマムサクセスが達成できたことから、フルサクセスに向けて解析を行い以下の結果を得た。

（1） 姿勢動揺解析

宇宙飛行前の筋シナジーの数は 3～4（5 名中 4 名のシナジーの数は 4 であった） であった。これは、健常成人男性の結果と類似するものであった。

全員に共通することは、宇宙飛行から帰還直後（Post1）は宇宙飛行前の筋シナジーと違う筋シナジーが構築され、宇宙飛行前に存在した筋シナジーが消失することで、筋シナジーの活動度が後ろ向きに集中した。これら結果は、帰還直後は立位を維持するための筋シナジーが複雑になり、

特に≒後ろ方向への制御が困難になったことを示す結果となった。足圧中心動揺の大きさは、宇宙飛行帰還後 1 週間（Post2）には宇宙飛行前の値に戻った。従来の評価方法（足圧中心動揺の大きさなど）では、約半年の宇宙飛行では帰還後 1 週間で姿勢制御は回復すると判断される。しかし、筋シナジーに着目すると、帰還1週間後の筋シナジー数は、宇宙飛行前および帰還直後よりも増加あるいは減少した。さらに新たな筋シナジーが出現している被験者も観察された。帰還 1 週間後においても、帰還直後と同様に後ろ向き方向に筋シナジーが集中した。これらの結果は、姿勢制御は帰還後1週間ほどで飛行前に回復したと判定される従来の評価方法とは異なり、筋シナジーに着目すると姿勢の制御はかなり不安定であり、特に後ろ向き方向の制御は困難であることを示しており、シナジー解析により詳細な姿勢制御の動態を明らかにすることができた。宇宙飛行から帰還後1ヶ月（Post3）の筋シナジーは、帰還後 1 週間と同じ傾向を示した。宇宙飛行から帰還後 3 ヶ月（Post4） では、筋シナジーの数は、減少する傾向を示し、宇宙飛行前の筋シナジーの数に近くなったが、その活動度は後ろ方向に集中していた。

（2） 歩行動作解析

1歩行周期 （足接地→足離地→足接地）中の①腰角度 （左右傾、前後傾、内外旋）、②股関節角度（内外転、屈曲伸展、内外旋）、③膝関節角度 （屈曲伸展）、④足関節角度 （屈曲伸展、足角）をそれぞれの測定時期で比較したが、それぞれの被験者のデータから、歩行動作中の角度パラメータは、Pre、Post1、Post2、Post3、Post4 でほとんどパターンが変化しないことが判明した。同一被験者内では、測定時期に関わらずそれぞれの歩行中の関節角度推移のパターンは一定であった。このことから、帰還直後では歩行動作に関わる下肢や腰の動きは顕著な変化が生じていないと考えられた。異なる被験者間でデータを比較しても、関節角度のパターンは似通っていた。そのため、歩行に用いる動作は他人でも非常に類似したものであると考えられる。歩行動作はパターン化されており、無意識でも歩けるため、帰還直後の筋力低下やバランス感覚の混乱の影響を受けにくいと考えられた。

（3） 血流動態解析

5 回の足踏み動作で血流が減少する可能性（下肢に流れた血液（静脈血）を還流（venous return）させる能力が衰えることによる）を検討するために、その場での足踏みを 5 回行ってもらい下腿（腓腹筋）上の皮膚表面の血流を測定した。飛行前（Pre）に血流測定を行った 5 名の宇宙飛行士について、帰還 1 日後、7 日後、1ヵ月後、3ヵ後の 1 回目と5 回目の血流について解析したところ、それぞれの 1 回目、5 回目の間には有意な差は認められなかったが、帰還直後から 7 日後まで（Post1、Post2）は、足踏み時の血流が有意に減少することが明らかになった。この血流減少は帰還 1 ヵ月後（Post3）で回復し、3.カ月後には 1 回目も 5 回目も Pre の値まで回復した。これは帰還 7 日後までは下肢の血流を上部に戻す能力が低下している（静脈還流の能力が衰えている）ことを示している。しかしながら、帰還直後と回復 7 日後では、いずれも 1 回目と 5 回目の間には血流に差が認められなかった。したがって、帰還直後は静脈還流を働かせるために筋肉が収縮と弛緩を繰り返して血流を維持する筋ポンプ機能が働いていること、また帰還 1 ヵ月から 3 ヵ月後では減少した血流が

飛行前の値まで回復することが明らかになった。地上帰還後のリハビリテーションを含めた地上での生活により、筋ポンプの働きが帰還 1 ヵ月から 3 カ月後には飛行前に回復したと推察された。

（4） 足底圧分布解析

本研究では、姿勢制御や歩行解析の一環として追加された足底圧分布を測定し、比較解析を行った。最大圧力と平均圧力の両方が増加傾向を示し、アーチインデックスがより少なくなり重度のアーチフットとなった。歩行の際、足は踵接地→立脚中期→踵離地と蹴り出し→足指離地と動き、その間に回外→回内→回外と回外・回内運動（あおり運動）を繰り返している（図 14）。宇宙からの帰還後は、回外・回内運動のバランスが崩れ、回外運動の比率が、回内運動より大きくななった。その結果、足の外側方向に足底圧中心がシフトして、接地面積の減少と圧力の増加が認められた。

図 14 歩行時の回外・回内運動[14]

フルサクセスについて項目ごとに結果を以下に述べる。

「ミニマムサクセスの結果よりシナジー解析を行い、正常な歩行動作・立位制御には以下に示す 3 つの要素が関与しているという仮説を実証すること。」

① 複数の下肢骨格筋の協調作用

宇宙飛行により筋シナジーの数は変化し、宇宙飛行により新たな筋シナジーが構築されたこと、存在していた筋シナジーが消失したこと、筋シナジーの活動度が後ろ向きに集中し。これは、歩行動作や立位制御が複数の下肢骨格筋の協調作用によることを示すと同時に宇宙飛行により後ろ方向の姿勢制御が複雑になったことを意味している。筋シナジーに着目することで、「姿勢制御は帰還後1週間ほどで飛行前に回復したと判定される従来の評価方法」ではとらえられなかった下肢骨格筋の協調作用を明らかにするだけでなく、3 ヶ月後でも飛行前に回復していないことを明らかにできた。このことは仮説を十分に実証したと考えられ、フルサクセスクライテリアを高度に達成したものと考える（◎）。

② 体性感覚での重心調整

直線方向への一定速度の歩行を測定した結果、帰還直後でも歩行動作に関わる下肢や腰の動きは顕著な変化が生じていないと考えられた。そのため、歩行という動作はパターン化されており無

意識でも歩けるために、帰還直後の筋力低下やバランス感覚の混乱の影響を受けにくいと考えられたが、立位時のシナジーパターンや歩行中の足底圧分布が 3 ヶ月後でも回復しないということを考えると、急に止まったりする動作や方向転換するような動作の解析もする必要があったと思われる。体性感覚での重心調整に関してはもう少し詳細な解析が必要と思われるため、フルサクセスクライテリアとしては一部達成であったと考える（△）。

③ 血流調整

帰還直後から7日後まで（Post1、Post2）は、足踏み時の血流が有意に減少することが明らかになった。血流の減少は、骨格筋の萎縮や神経・筋機能の変性に深く関係していると考えられ、筋シナジーや足底圧分布の結果を合わせて考えると、帰還直後の歩行動作、立位制御と相関性を示した。さらに地上へ帰還することよる再適応によって、宇宙環境に滞在する前の血流まで回復できるのかどうか、回復できる場合はどの程度の期間が必要なのかという課題解決にも寄与することができた。フルサクセスクライテリアとしては達成できたと考える（〇）。

更に、「重力下での回復過程における上記①～③の定量的データを取得することにより、回復にパターンがあるかどうかを評価する。」

今回の研究で定量的データを取得することができ、血流には回復パターンがあること、足底圧分布は 3 ヶ月後でも回復していないが、回内・回外運動にパターンが見られること、また筋シナジーは個体差があるものの姿勢の制御はかなり不安定であり、特に後ろ向き方向の制御が困難であるという共通性が見いだされたことから回復にパターンがある可能性が示唆されるため、一部達成（〇/△） と思われた。今後、帰還後 6 ヶ月および 1 年の筋シナジーや足底圧分布などを追跡する必要があると考えられる。

以上の成果から全体的なフルサクセスクライテリアは達成された（〇）と判断した。しかしながら、これまでは宇宙からの帰還後の歩行、立位に関する研究は国内外でほとんどなされていないため、今回の成果は全て新しい知見であり、追加した長期宇宙滞在後の足底圧分布の変化についての研究も、回外・回内運動に影響を与えることを定量的に示すことができたことは予定外の新知見であり、エクストラサクセスに準じるものと考えている。

エクストラサクセスは、「フルサクセスに加え、高齢者・長期臥床患者のリハビリ等に応用できる知見を得ること（宇宙飛行士と、別途取得する高齢者のシナジー解析を比較することにより、適応範囲を明らかにすること）」であり、現在、高齢者のシナジー解析によりデータを取得し継続中であるが、比較や適応範囲については明らかにできていないので未達成（×）と判断した。

結言

ISS・きぼうミッション「Synergy」により以下の成果が得られた。

（1） 宇宙滞在によって起こる筋シナジーの変化が地上帰還後の宇宙飛行士の歩行、姿勢制御に長期にわたり影響を及ぼしていることが明らかになった。

（2） 歩行動作は経時的に大きな差を示さなかったが、姿勢動揺と筋電図の測定によるシナジーや足底圧分布は、帰還直後から経時的に変化することを定量的に明らかにした。

（3） 血流は 1 ヶ月から 3 ヵ月後で宇宙飛行前の値に回復したが、筋シナジーや足底圧分布、足のバランスは 3 ヶ月後でも飛行前の状態を示さなかった。

参考文献

引用文献

1. 神﨑 素樹 （京都大学大学院人間・環境学研究科准教授)「立位バランスの測定と評価」, 体育の科学, 62, 2012
2. Ohira Y, Yasui W, Roy RR, Edgerton VR. Effects of Muscle Length on the Response to Unloading. Acta Anatomica, 159: 90–98, 1997.
3. Ohira Y, Nomura T, Kawano F, Sato Y, Ishihara A, Nonaka I. Effects of nine weeks of unloading on neuromuscular activities in adult rats. J Gravit Physiol. 9(2): 49–59, 2002.
4. Edgerton VR, McCall GE, Hodgson JA, Gotto J, Goulet C, Fleischmann K, Roy RR. Sensorimotor adaptations to microgravity in humans. J Exp Biol, 204 (Pt 18): 3217–3224, 2001.
5. 三村寛一, 織田恵輔, 北野裕大, 上田真也, 臼井達矢, 喜多宣彦, 三村達也, 安部恵子(2009) 幼児期におけるピドスコープを用いた接地足蹠 足底. 大阪教育大学紀要, 58:213–222, 2009.
6. Convertino VA, Doerr DF, Stein SL. Changes in size and compliance of the calf after 30 days of simulated microgravity. J Appl Physiol, 66:1509–1512, 1989.
7. Hagio S, Kouzaki M. The flexible recruitment of muscle synergies depends on the required force generating capability. J Neurophysiol, 112: 316–327, 2014.
8. Imagawa H, Hagio S, Kouzaki M. Synergistic co–activation in multi–directional postural control in humans. J Electromyo Kinesiol, 23: 430–437, 2013.
9. Kubo A, Hagio S, Kibushi B, Moritani T, Kouzaki M. Action direction of muscle synergies in voluntary multi–directional postural control. Frontiers in Human Neurosci. 11: 434, 2017.
10. Nishida K, Hagio S, Kibushi B, Moritani T, Kouzaki M. Comparison of muscle synergies for running between different foot strike patterns. PLoS ONE, 12: e0171535, 2017.
11. Davis RB, Õunpuu S, Tyburski D, Gage JR, A gait analysis data collection and reduction technique. Human Move Sci, 10, 575–587, 1991.
12. Nagatomo F, Fujino H, Kondo H, Suzuki H, Kouzaki M, Takeda I, Ishihara A. PGC–1α and FOXO1 mRNA levels and fiber characteristics of the soleus and plantaris muscles in rats after hindlimb unloading. Histol Histopathol, 26: 1545–1553, 2011.
13. Takemura A, Roy RR, Edgerton VR, Ishihara A. Biochemical adaptations in a slow and a fast plantarflexor muscle of rats housed in small cages. Aerospace Med Human Perfom, 87: 443–448, 2016.
14. 「実践すぐにできるテーピングマニュアル」中嶋寛之／編 4-88117-026-0 C3047 全日本病院出版会 2005 年 2 月.

研究成果リスト

【論文】

無し。ただし現在、1 報は審査を受けている（Acta Astronautica）。2 報は既に書き上げ投稿待ちである（Biological Science in Space、Acta Astronautica を予定している）。

【招待講演】

1. 神﨑素樹, 萩生翔大, 寺田昌弘, 石岡憲昭. JAXA 宇宙医科学研究シンポジウム: 宇宙からの帰還後における立位動作の運動制御の変化. 第 52 回日本リハビリテーション医学会学術集会, 新潟, 2015.
2. 神﨑素樹, 萩生翔大, 寺田昌弘, 石岡憲昭. シンポジウム『宇宙医学』:宇宙飛行による立位動作の運動制御の変化. 日本宇宙生物科学会第 29 回大会, 東京, 2015.
3. 神﨑素樹, 萩生翔大, 久保 陽, 石岡憲昭. ワークショップ:筋シナジーとトレーニング. 第 24 回日本バイオメカニクス学会プレコングレス, 京都, 2016.
4. 神﨑素樹. 特別講演:冗長自由度の簡略化の観点から身体運動を捉える. 第 16 回ジストニア研究会, 東京, 2018.

【一般講演】

1. 石岡憲昭, 寺田昌弘, 神崎素樹, 石原昭彦. 宇宙飛行後の歩行時足底圧分布と下肢血流の経時的変化, 日本宇宙生物科学会第 30 回大会, 名古屋, 2016.

【研究報告会】

1. 石岡憲昭, 寺田昌弘, 神崎素樹, 石原昭彦, 永友文子, 東端 晃, 山田 深, 大平宇志, 萩生翔大, 田辺弘子, 木伏紅緒, 栗山可奈, 本馬敦子, 芝 大, 相羽達弥, 白川正輝, 緒方克彦, 向井千秋. 長期宇宙滞在飛行士の姿勢制御における帰還後再適応過程の解明 Synergy, JAXA 宇宙医学研究センター 平成 26 年度研究開発報告会, 東京, 2014.
2. 石岡憲昭. 長期宇宙滞在飛行士の姿勢制御における帰還後再適応過程の解明（Synergy）, JAXA 宇宙医学研究センター 平成 28 年度研究開発報告会, 東京, 2017.

長期宇宙滞在飛行士の姿勢制御における帰還後再適応過程の解明
（Synergy）
研究代表者　石岡憲昭（JAXA）

総合評価

A: 目標を充分に達成した(フルサクセス相当)

本研究は、宇宙から帰還した宇宙飛行士を対象に、姿勢動揺、歩行動作、血流動態、足底圧測定などのパラメータを体系的に計測し、帰還後の歩行機能障害の機序解明を目指したものである。計測・解析は計画通り行われ、予定のデータを取得した。また、宇宙滞在で減少した血流が、帰還後3ヶ月で飛行前のレベルまで回復する一方で、筋シナジーは回復しないことなど、大変興味深い現象も指摘されている。

しかし、サクセスクライテリアの自己評価、また、結言に述べられたそれぞれの成果について、根拠を以て説明されておらず、成果報告書では確認できない。計測終了・解析着手後、3年を経たにも関わらず、成果の多くが未公表であることは、大変残念である。学術的にも応用面でも、大変意義のある結果が得られていると推察され、早急に、ここまでの成果をインパクトの高い原著論文として公表すること。また、周辺科学との交流を進め、エクストラサクセスに設定された、「高齢者・長期臥床患者のリハビリ等への応用」を含めたより統合的な提言ができる成果達成を目指し、引き続き、検討を進めることを推奨する。

2020年8月
きぼう利用テーマ選考評価委員会（生命医科学分野）

ISS・きぼう利用ミッション

長期宇宙滞在飛行士の姿勢制御における帰還後再適応過程の解明（略称：Synergy）

研究成果概要

代表研究者；石岡憲昭 （JAXA 宇宙科学研究所 名誉教授）

2019 年 12 月

【研究の仮説と目的】

宇宙飛行士が軌道から戻った直後に歩行するのを困難にする要因は、下肢拮抗筋の状態の不均一性、および前庭系と小脳の体性感覚調節の不安定性であると仮定した。そこで長期宇宙滞在からの帰還後の宇宙飛行士における下肢骨格筋ならびに体性感覚の適応過程を検討し、宇宙飛行士の帰還後のリハビリテーション法に貢献できるデータを取得する目的で、長期宇宙滞在した宇宙飛行士を対象に、軌道上滞在前後で①下肢拮抗筋の筋活動パターン、②姿勢動揺バランス、③下肢骨格筋の血流の各項目を測定した。さらに足底圧分布の計測を追加した。

【研究方法】

宇宙飛行士5名を被験者として、それぞれ長期宇宙滞在に行く前（Pre）、長期宇宙滞在からの帰還1日後（Post1）、7日後（Post2）、1月後（Post3）、3月後（Post4）に①では歩行、立位時の下肢拮抗筋（両脚のヒラメ筋、腓腹筋内側頭、腓腹筋外側頭、前脛骨筋、外側広筋、大腿直筋、大腿二頭筋長頭、中殿筋）の筋電図を測定した。②では、身体動揺バランス制御における下肢骨格筋と神経系の関係を測定するために、画像に表示された方向へ床反力計上で重心を傾ける課題を行った（図 1）。③では、下肢骨格筋の血流を血流測定装置で計測した。さらに歩行時の足底圧分布も計測して、それぞれ経時的な変化を解析した。図 2 に本研究で使用した測定機器からえられるデータを示した。

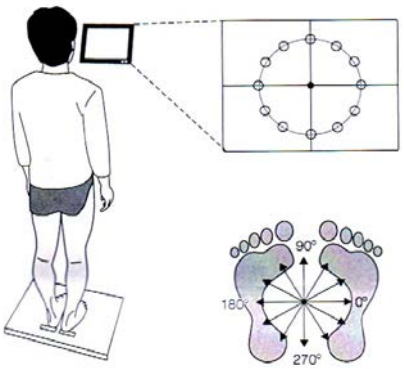


図 1.

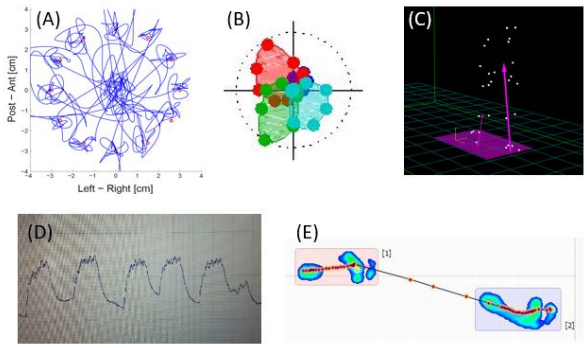


図 2.

図 1． 立位の姿勢動揺の測定方法：被験者は床反力計上で静止位置を維持し、12 方向のターゲットにランダムで移動させられる。出典） 体育の科学 Vol.62 No.7 2012。

図 2. 各測定機器から得られたデータ例：(A)姿勢制御測定から得られた圧力中心の動き、(B)(A)と下肢筋 16 部位の筋電図からの計算で得た筋活動の変化。4 つの筋肉の相乗効果が見られる。(C)3D モーションキャプチャによって取得された画像と、床反力の大きさと方向。 (D)血流の変化。 グラフには、5 回の足踏みステップが表示されている。 (E)は、歩行中の足底圧分布と圧力中心の軌跡の両方の表面を示している。

【結果】

（1）姿勢動揺：担当　神崎素樹（京都大学大学院人間・環境学研究科　教授）　筋電図の記録から非負値行列因子分解より筋シナジーの重みと活動度を算出した。その結果、帰還直後において、飛行前に存在していた筋シナジーが消失したり、新たに出現したり、筋シナジーの数は変化し新たな筋シナジーが構築された。特に後ろ方向の筋シナジーの活動度が小さくなった。これは、宇宙飛行により後ろ方向の姿勢制御が複雑になったことを示している。また、従来の姿勢バランスの評価指標である足圧中心動揺は、帰還直後は大きくなったが、帰還後 1 週間以降は宇宙飛行前と同じ値であった。このことは、従来の姿勢バランスの評価では、姿勢バランスは帰還後 1 週間で元の状態戻ると判定されるにもかかわらず、本研究で着目した筋シナジーは、帰還後 3 ヶ月たっても、回復しないことを明らかにした。

（2）歩行解析：担当　寺田昌弘（京都大学宇宙総合学研究ユニット　特定准教授）　1 歩行周期（足接地→足離地→足接地）中の①腰角度（左右傾、前後傾、内外旋）、②股関節角度（内外転、屈曲伸展、内外旋）、③膝関節角度（屈曲伸展）、④足関節角度（屈曲伸展、足角）をそれぞれの測定時期で比較した。それぞれの被験者データから、歩行動作中の角度パラメータは、Pre、Post1、Post2、Post3、Post4 でほとんどパターンに変化が見られないことが判明した。

（3）血流動態解析：担当　石原昭彦（京都大学大学院人間・環境学研究科　教授）宇宙飛行士にその場で5回の足踏みを行ってもらい1回目と5回目の腓腹筋上の皮膚表面の血流を測定し比較した。足踏みによる1回目と5回目の血流は、ともに対照群に対して長期宇宙滞在からの帰還後 Post1、Post2 で減少した。一方、減少した1回目と5回目の血流は、ともに長期宇宙滞在からの帰還1月後から3ヶ月後で Pre の値まで回復した。

（4）足底圧解析：足底圧データは、左右差はあったが、同じ傾向が見られた。アーチ指数は 5 人の宇宙飛行士全員がアーチ足を示し、足底圧のピーク値、中足骨と踵の圧力変動、および足底の接触面が経時的に減少した。これは、回外運動の増加により圧力中心（COP）の軌道が外側に移動することを示唆していた。これらの変化からの完全な回復は 3 か月後でも達成されなかった。

【まとめ】

地上帰還後の宇宙飛行士の全体的な歩行動作は経時的に大きな差を示さなかったが、姿勢動揺と筋電図の測定によるシナジーや血流、足底圧分布が、帰還直後から経時的に変化することを明らかにした。血流は3ヶ月でほぼ宇宙飛行前の値に回復したが、シナジーや足底圧の分布、足のバランスは飛行前の状態に回復しなかった。長期宇宙滞在からのはマクロな歩行動作には大きな影響はないように見えるが、ミクロな制御下では影響を受け、3ヶ月経っても回復しないことが明らかとなった。

本研究は従来の姿勢バランスの評価指標では捉えられない変化を定量的に明らかにするとともに今後のリハビリテーション法に貢献できる可能性を示すことができた。また、本研究で明らかにした変化が固定されたままなのか、飛行前の状態に回復するのかは、今後長期（少なくとも6ヵ月後、1年後にわたっての解析が必要である。

Summary report of ISS - Kibo utilization mission

The elucidation of the re-adaptation on the attitude control after return from long-term space flight (Synergy)

Principal Investigator; Noriaki Ishioka (Professor Emeritus, JAXA/ISAS)

December 2019

1. Hypothesis and Purpose

We hypothesized that the factors making it difficult for astronauts to walk immediately after their return from orbit are the unevenness in the state of the lower limb antagonistic muscles, and the instability of somatosensory regulation in the vestibular system and cerebellum. The purpose of this study is to investigate the adaptation process of lower limb skeletal muscles and somatosensory in astronauts after returning from a long-term stay in space, and to contribute to rehabilitation methods after returning from space.

2. Experimental procedures

Before (Pre) staying in space, one day (Post1) after returning to earth, one week (Post2) after returning, one month (Post3) after returning earth, and three months (Post4) after returning earth, the following items were measured using five astronauts as subjects: (1) muscle activity pattern of lower limb antagonists, (2) postural sway balance, and (3) blood flow of the skin surface on the central region of the gastrocnemius muscle. During these measurements, the subjects performed the tasks of standing and walking. During tasks, electromyograms (EMGs) of 8 muscles (soleus, medial gastrocnemius, lateral gastrocnemius, tibialis anterior, vastus lateralis, rectus femoris, biceps femoris, and gluteus medius) in both sites were recorded (Fig. 1). Muscle synergies and their activation were extracted using non-negative matrix factorization. Furthermore, the planter pressure distribution during walking was also measured. Figure 2 shows the data obtained from the measuring instruments used in this study.

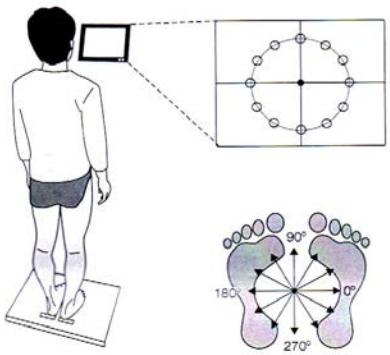


Fig. 1.

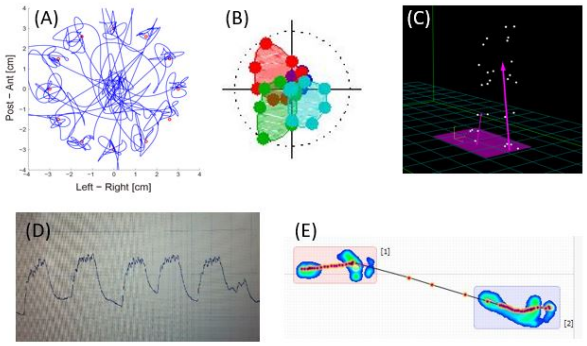


Fig. 2.

Fig. 1. The subjects were to shift and align their center of pressure (COP) to targets dispersed in 12 different directions in the horizontal plane by leaning their bodies for 10 s.

Fig. 2. (A) shows the movement of the center of pressure obtained. (B) Four muscle synergies are observed in calculations from (A). (C) shows the image obtained by 3D motion capture and the magnitude and direction of the floor reaction force. (D) shows the changes in blood flow. The chart shows five sections of foot steps taken (10 steps per section). (E) shows the surfaces of both the plantar pressure and the trajectory of the center of pressure during walking.

3. Results

(1) Muscle synergy analysis: Motoki Kouzaki in charge (Professor, Kyoto University).

The muscle synergies disappeared, and muscle synergies newly recruited by space staying. With respect to activation of muscle synergies, posterior direction of muscle synergies was decreased by space staying. These responses maintained three months after returning earth.

(2) Gait analysis: Masahiro Terada in charge (Associate professor, Kyoto University).

During one walking cycle (Foot strike→Foot off→Foot Strike), the walking behaviors were compared for hip angle, hipshot angle, knee joint angle, ankle joint. As the results, each parameters of the walking behaviors were not changed significantly in each measurement point.

(3) Blood flow analysis: Responsible: Akihiko Ishihara (Professor, Kyoto University).

Each subject stepped five times on the same spot at their own speed in standing position. Blood flow at both the first and fifth steps was decreased at post1 and Post2. However, at post3, blood flow at both the first and fifth steps had recovered to normal levels, and at Post4, blood flow showed the Pre level before long space stay.

(4) Plantar pressure analysis: Noriaki Ishioka in charge.

The arch index indicated that all five astronauts had arched feet, and peak plantar pressure, metatarsal and heel pressure fluctuations, and plantar contact surface decreased over time. This suggested that the trajectory of the center of pressure (COP) moved outward due to the increase in supination motion. Full recovery from these changes was not achieved after three months.

4. Discussion and conclusion

The blood flow returned to nearly pre-flight level during three months, but muscle synergy, plantar pressure distribution, and foot balance did not recover to pre-flight level. It seems that macro walking behavior does not seem to be greatly affected by long-term stay in space, but it was affected by micro level, and it did not recover even after 3 months. This study quantitatively clarifies changes that cannot be captured by conventional posture balance evaluation indices, and has shown the possibility of contributing to future rehabilitation methods. Whether the changes identified in this study remain fixed or recover to their pre-flight condition, we concluded to need to be analyzed over the long term (at least 6 months and 1 year later).

2020年度 ISS・きぼう利用ミッション科学成果評価結果

ゼブラフィッシュを用いた宇宙滞在感受性遺伝子の同定とその感知機構の解明
（Zebrafish Muscle）

研究代表者　瀬原　淳子（京都大学）

総合評価

A: 目標を充分に達成した(フルサクセス相当)

本研究は、実験条件やサンプル数などの宇宙実験の厳しい制約の中、軌道上および地上帰還後のゼブラフィッシュの運動解析を行い、骨格筋における遺伝子発現の変化を明らかにした初めての研究であり、フルサクセス以下の全ての目標を達成したと評価できる。特に、骨格筋における遺伝子発現変動を網羅的に解析し，その変化を時系列で捉えるというアプローチに成功し、姿勢、加齢、運動抑制などに関連する、さまざまな遺伝子の機能モジュール群を見出したことは画期的であり、筋萎縮の分子メカニズムや筋萎縮関連疾患の理解に大きな貢献が期待される成果を得た。ここまでの成果を取り纏め、できるだけ早く論文化して欲しい。

また、網羅的解析を完遂し、分子メカニズムの解明に至ることが出来れば、大きなインパクトのある成果として評価されるものと予想される。エクストラサクセス達成を目指し、引き続き、詳細な解析を進め、成果を公表することを強く推奨する。

2020年9月

きぼう利用テーマ選考評価委員会（生命医科学分野）

別紙6-1

ISS・きぼう利用ミッション
「神経変性疾患の発症機構解明に向けた微小重力環境下での アミロイド線維形成と性状評価（微小重力環境下でのアミロイド線維形成)」

研究成果報告書

代表研究者；　加藤晃一（自然科学研究機構 生命創成探究センター/分子科学研究所）

2020 年 11 月

１．　緒言

アミロイド線維はタンパク質が規則正しく凝集した超分子複合体であり、アルツハイマー病や糖尿病などの原因となることが知られている。それぞれの疾患には固有の原因タンパク質が存在しているにもかかわらず、それらが線維を形成する仕組みは共通していると考えられている。すなわち、線維形成機構を理解することは、これら疾患の治療や予防において重要となる。しかしながら、アミロイド線維の詳細な形成機構は未だ解明されていない。アミロイド線維形成反応は結晶成長との類似性が議論されているが、その実体については不明な点が多い。本研究の目的は、アミロイド線維を形成する様々なタンパク質について、宇宙空間でそれらの線維形態にどのような変化が見られるか、調査することである。具体的には、アルツハイマー病の発症に関わるアミロイドβタンパク質（Aβ）を対象とし、地上で形成するアミロイド線維と宇宙での微小重力環境下で形成するアミロイド線維の形態の違い、また線維伸長のカイネティクスの変化を明らかにすることを目的とした。

その際、宇宙空間にて形成させたアミロイドβ線維を地上に持ち帰り、宇宙空間におけるアミロイドβの線維形成過程および線維形態を捉える予定である。微小重力環境下では地上と比べ対流や沈降が抑えられるため、アミロイド線維形成速度が遅くなると予想され、ゆっくりとした線維形成過程においては、毒性のないアミロイド線維が形成されることが期待される。地上では反応が速すぎて捉える ことのできないような過渡的な中間体を微小重力環境下において安定に調製し観察することができれば、その構造体をターゲットとするような創薬展開も期待される。

本申請で提案する微小重力環境下でのアミロイド線維形成実験は過去に前例がなく、これまで行われていなかった新たな研究を展開する点で新規性・革新性が高いと考えている。本研究で得られる結果を発展させれば、アミロイド線維形成が関わる種々の神経変性疾患の発症機構の解明につながるだけでなく、微小重力環境下における疾患の発症リスクを評価することが可能となり、大きな社会貢献につながるだろう。

２．　研究計画

2.1　研究目標

アミロイド線維はタンパク質が規則正しく凝集した超分子複合体であり、アルツハイマー病や糖尿病などの原因となることが知られている。線維形成機構を理解することは、これら疾患の治療や予防において重要となるが、詳細な線維形成機構は未だ解明されていない。アミロイド線維形成は結晶成長との関連性が指摘されており、地上では物理的・化学的欠陥が多い中間体が形成されてしまうが、宇宙空間では構造的欠陥の少ない単結晶性の向上した中間体を安定的に確保できる可能性が高い。そこで、本研究は、宇宙空間でアミロイド線維を形成させてサンプルリターンを行い、地上でアミロイド線維の中間体の構造解析を行い、アルツハイマー病などの治療薬開発に繋げることを目的とする。

RUN1 では、各種条件（Aβ40, Aβ42, seed 有無, 濃度）を変えた少量のアミロイドβタンパク質溶液について、細胞培養装置（Cell Biology Experiment Facility: CBEF）の恒温槽を使ってアミロイド線維化を試みる。また、RUN2 では、RUN1 の情報をもとに試料の条件・種類を絞り、大容量で調製したアミロイドβタンパク質溶液を微小重力環境においてアミロイド線維を伸長させ、回収した実験試料を電子顕微鏡等で解析してアミロイド線維の構造を調べることを計画した。その際、Aβ の家族性変異体を用いて、変異の有無がアミロイド線維に与える影響を解析し、アミロイド線維形成と疾患発症の関連について体系的に理解することを目指す。

本実験の達成基準（サクセスクライテリア）の最終版を表１に示す。なお、フライト実験準備移行審査時に、内部審査の指摘を受け、研究計画書初版で設定された当初のサクセスク

ライテイアから改訂した。サクセスクライテリアの当初版を表 2 に示す。

表1. サクセスクライテリア（最終版）

サクセスレベル	クライテリア	補足
ミニマム	・微小重力環境下と地上における、アミロイド線維形成速度やアミロイド線維の形態変化の有無を比較し、差異があることを証明する。	【判断時期】Run2試料回収後半年 【設定根拠】微小重力環境下で高品質の線維が形成されることを明らかにし、地上と微小重力環境下でのアミロイド線維の形態差を見出すことに意義が有る。高品質なアミロイド線維形成を実現できることは成果となる。
フル	上記に加えて下記ができること。 ・微小重力下で作製したアミロイドβ中間体を用いて、地上で得られている以上の構造情報（原子配置・原子間距離など）を得る。	【判断時期】Run2試料回収後1年 【設定根拠】Run2の試料回収を行い、電子顕微鏡解析に必要十分量の試料を回収し、構造解析を実施することで、中間体の構造を解明することが主目的である。
エキストラ	上記に加えて下記ができること。 ・アミロイド線維伸長機構に関わる高精度な構造情報に基づいて阻害剤候補を選定し、創薬研究を具体化できる。	【判断時期】Run2試料回収後2年 【設定根拠】アミロイドβ線維の中間体の構造を明らかにして、阻害剤候補を選定できることで創薬ステップを進められる。

表2. サクセスクライテリア（当初版）

サクセスレベル	クライテリア	補足
ミニマム	・微小重力環境下と地上における、アミロイド線維形成速度やアミロイド線維の形態に変化があることを確認する。	【判断時期】Run2試料回収後半年 【設定根拠】微小重力環境下で高品質の線維が形成されることを明らかにし、地上と微小重力環境下でのアミロイド線維の形態差を見出すことに意義が有る。
フル	上記に加えて下記ができること。 ・微小重力下で作製した高品質な線維結晶を用いて、線維伸長の中間体の構造を解明する。	【判断時期】Run2試料回収後1年 【設定根拠】Run2のサンプル回収を行い、電子顕微鏡解析に必要十分量のサンプルを回収し、構造解析を実施することで、中間体の構造を解明することが主目的である。

エキストラ	上記に加えて下記ができること。 ・アミロイド線維の中間体構造をターゲットとする阻害剤候補を選定し創薬研究を具体化できる。	【判断時期】Run2試料回収後2年 【設定根拠】アミロイド線維の中間体の構造を明らかにして、阻害剤候補を選定できることで創薬ステップを進められる。

2.2　体制

研究チーム体制および JAXA 支援体制は、各フェーズで充分に機能し、役割を果たした。研究チーム体制および JAXA 支援体制を表 3 および表 4 に示す。

表 3. 研究チーム体制

役割	氏名・所属	担当
代表研究者	加藤晃一 自然科学研究機構 生命創成探究センター/分子科学研究所　教授	研究全体の統括
共同研究者	矢木真穂 自然科学研究機構 生命創成探究センター/分子科学研究所　助教	実験全般（実験サンプル準備、解析全般）
共同研究者	谷中冴子　助教 自然科学研究機構 生命創成探究センター/分子科学研究所　助教	実験全般（実験サンプル準備支援、解析支援）
共同研究者	村田和義 自然科学研究機構 生理学研究所　准教授	電子顕微鏡等による解析
共同研究者	西村勝之 自然科学研究機構 分子科学研究所　准教授	固体 NMR 等による解析

表 4. JAXA 支援体制（2020 年 10 月現在）

氏名・所属	担当
中村裕広 宇宙航空研究開発機構・有人宇宙技術部門・きぼう利用センター	とりまとめ
東端　晃 宇宙航空研究開発機構・有人宇宙技術部門・きぼう利用センター	とりまとめ支援
嶋津　徹 日本宇宙フォーラム・宇宙利用事業部	研究者支援
山盛　徹 日本宇宙フォーラム・宇宙利用事業部	研究者支援

2.3 スケジュール

フィジビリティスタディ（FS）計画選定から飛行後解析までのスケジュールを表 5 に示す。構造解析のための最適条件スクリーニングとして RUN1 を、構造解析のためのサンプルリターンとして RUN2 を計画・実施した。実験準備段階移行審査時に設定したスケジュールに対し、RUN1 は 1 か月遅れ、RUN2 は 5 か月前倒しで実施するに至った。

表 5. FS 計画選定から飛行後解析までのスケジュール

	実験準備段階移行時点の計画	実績スケジュール
フィジビリティスタディ（FS）計画選定	2015 年 12 月	2015 年 12 月
フライト実験準備移行審査	2017 年 3 月	外部評価:2017 年 2 月 23 日 内部評価:2017 年 3 月 17 日
製品確認会(PDR,CDR 相当)	2017 年 5 月	2017 年 8 月 10 日
開発完了および運用前確認会（PQR,PSR 相当）	2017 年 10 月	2017 年 10 月 25 日
試料打ち上げ（RUN1）	2017 年 11 月	2017 年 12 月 16 日(Spx-13)
回収（RUN1）	2017 年 12 月	2018 年 1 月 14 日
運用前確認会 #2	2018 年 9 月	2018 年 5 月 30 日
インクリメント準備確認会	2018 年 10 月	2018 年 3 月 29 日(Inc53/54) 2018 年 11 月 26 日 (Inc55/56)
試料打ち上げ（RUN2）	2018 年 11 月	2018 年 6 月 29 日(Spx-15)
回収（RUN2）	2018 年 12 月	2018 年 8 月 4 日
実験実施後評価 （飛行後解析進捗確認会）	2019 年 3 月	2020 年 1 月 31 日
実験実施後評価 （最終評価）	2019 年 10 月	2021 年 2 月 1 日（予定）

３．　実験準備・運用

・フィジビリティスタディ（FS）段階での実施事項

選定後の FS において、研究代表者と JAXA が協力して、以下の作業を行い、実験要求書案、実験計画書案を作成した。

- 実験要求、供試体概念検討、運用性検討、安全性検討
- 実験項目、コスト、スケジュール、体制の具体化
- 付帯条件への対応
- 技術的課題の洗い出しと解決策の検討
- 予備的な実験

選定時の付帯条件ならびに技術的課題に対する対応をそれぞれ表 6、表 7 に示す。また、実験計画最適化の検討結果を図 1 に示す。

大きな改善点としては、FS 選定時には、カイネティクス解析のデータ取得に用いる恒温機能付きプレート式蛍光計測装置の搭載を検討していたが、予備検討および実験計画の見直しを行い、線維の形態観察およびカイネティクス解析の両方ともに、回収試料を用いて地上で実施することとしたため、蛍光顕微鏡および恒温機能付きプレート式蛍光計測装置は不要となった点が挙げられる。

表 6.付帯条件に対する対応

No	付帯条件	回答
1	クリノスタット等を用い	1 軸クリノスタットを用いて地上実験を実施したが、ク

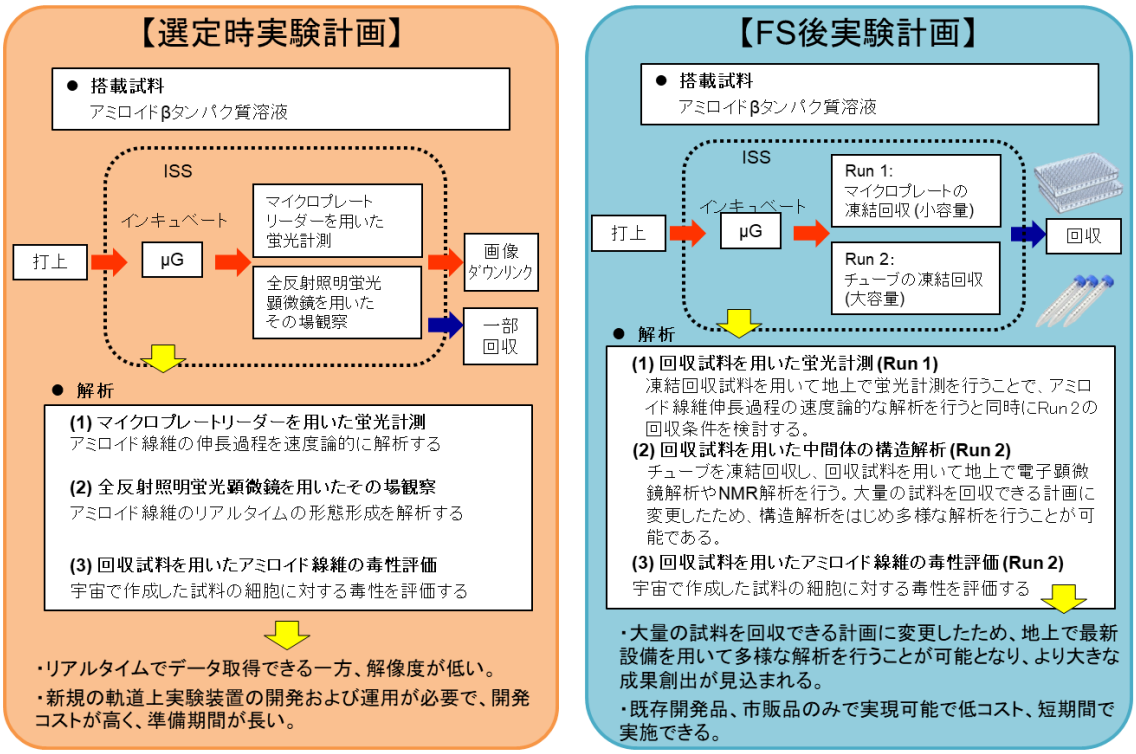
	た地上実験を十分行い、期待する成果が得られる研究計画とすること。	リノスタットの回転による攪乱の影響が顕著に表れてしまい、クリノスタットでは高品質のアミロイド線維が得られない。様々な実験条件でアミロイド線維を形成させて解析したが、高品質のアミロイド線維は得られていない。また、実験前、実験後の溶液が冷凍保存できることを確認し、実験開始時は、温度制御のみで線維成長させられることを地上実験で確認しており、見直し後の実験計画においても当初の目的を達成できる。
2	上記地上実験の結果や他の研究動向を踏まえ宇宙実験の必要性を明確化すること。また、本研究の成果がアルツハイマー病等の神経変性疾患の病態解明等につながる見通し・ビジョンをより明確化すること。	アミロイド線維伸長は複雑な反応であり、現状では地上研究やコンピューターシュミレーションで線維伸長機序を解明することは困難である。高品質かつ安定なアミロイド線維の中間体を得て構造解析を行うためには、宇宙実験が必須である。本実験によりアミロイド線維伸長のメカニズムおよびアミロイド線維の持つ特異構造を明らかにすることが出来れば、アミロイド線維やオリゴマーを原因因子とするアルツハイマー病等の神経変性疾患に対する治療薬の特異性を高めることができると考えられる。
3	観察器具・計測装置の具体化を含めた軌道上実験計画の具体化、既存の装置や要素技術の利用について検討すること。	軌道上実験計画について、回収した試料に対する解析項目を増やし、新しい計画が実験目的・意義を低減せず、クルータイム、装置開発コスト、準備期間の面からみても優れていると判断した。現在の計画は、既存の装置と市販品のみで実現できる計画とした。

表 7. 技術的課題に対する対応

FS 選定時の技術的評価		対応状況
評価項目	コメント	
実施体制	・特に問題なし。	・問題なし。
実験試料	・アミロイドβペプチド、家族性変異型アミロイドβペプチド ・事前に十分量の試料を準備することが可能との記載あり。	・フライト試料を打ち上げ前に準備可能である。
装置等 （コスト見込）	・アミロイド線維の観察に軌道上の蛍光顕微鏡がそのまま使用可能か確認が必要である。 ・市販品ベースで、溶液混合・観察用キットの新規開発、および恒温機能付プレート式蛍光計測装置の搭載化が必要である。	・試料を持ち帰り、地上で観察する実験計画に変更したため、蛍光顕微鏡の使用は不要となった。 ・地上で試薬を混合し、軌道上でインキュベートする実験計画に変更したため、溶液混合・観察用キットや恒温機能付きプレート式蛍光計測装置は不要となった。
試料量 輸送条件	・試料量、輸送条件とも問題はないと思われる。	・試料量、輸送条件は、これまでの実験での実績に比べて過大ではない。

運用条件 （クルー時間・打ち上げ/回収質量）	・クルータイム、回収質量ともに大きくないと予想されるが、試料種類が多いため手順の明確化後に検討が必要である。 ・打ち上げ質量は、プレート式蛍光計測装置によるため評価は困難。	・クルータイム(4 時間)、打ち上げ質量(2.8kg)/回収質量(2.8kg)ともに過去の実績に比べて過大ではない範囲である。 ・計画変更によりプレート式蛍光計測装置は不要となった。
安全性	・希塩酸、蛍光試薬等について安全性評価が必要である。 ・プレート式蛍光計測装置については評価が困難である。	・THL=0 （一重封入） 特に問題なし。 ・計画変更によりプレート式蛍光計測装置は不要となった。
FS 期間内での技術的課題の解決の見込	・試料の混合方法、反応条件、蛍光観察条件に特別な制約や要求がなければ、課題は少ないと思われる。 ・プレート式蛍光計測装置の搭載化が必要である。	・計画変更によりプレート式蛍光計測装置は不要となった。

図 1. 実験計画の最適化検討



・フライト実験準備移行審査　外部評価

2017 年 1 月 27 日の事業企画会議にて、「カテゴリ C」事業として、フライト実験準備移行審査に進むことが了承された。2017 年 2 月 23 日に、実験目的・意義、サクセスクライテリア、付帯事項に対する対応結果など、実験要求の妥当性について、きぼう利用テーマ選考評価委員会による外部評価を受けた。

【評価結果の概要】加藤テーマに関して、FS 選定以降に実施された実験要求検討結果を踏まえて、新たな実験計画が提案され、研究実施の実現性があると判断できる。この実験計画

により選定時の付帯条件については解消された。

・フライト実験準備移行審査　内部評価

2017 年 3 月 17 日に、実験計画の妥当性について、JAXA 内の実験準備フェーズ移行審査会による内部評価を受けた。経営的視点を含めて審査を行い、フライト実験準備フェーズへの移行の妥当性について評価された。

- 実験目的・意義
- フィジビリティスタディ結果
- サクセスクライテリア
- 選定時の付帯条件に対する対応結果
- 供試体整備計画（仕様、検証計画、適合性確認試験計画等）
- 運用計画（運用シナリオ、利用リソース等）
- 実施計画（実施項目、体制、スケジュール、資金、審査計画等）
- LL 取り込み状況、リスクの識別等

結論として、実験準備フェーズへの移行に当たって、実験要求が設定され、供試体の開発や試験、運用準備などの本格的な準備作業に着手可能となった。この際、内部審査の指摘を受けて、サクセスクライテリアの表記を一部改訂した（表 1, 2)。

・試料準備（予備検討）

2017 月 9 月 26 日-27 日に岡崎統合バイオサイエンスセンター（現 生命創成探究センター）にて実施した、試料調製スキームの予備検討実験において、96 種類の異なる試料を 96 well プレートに分注する際、通常のピペットマンを使用して 1 well ずつ分注すると非常に時間がかかってしまうことが判明した。また、試料を冷却するために氷を使用していたが、時間の経過に伴い、試料が水没する可能性が判明した。そこで、本予備検討の結果を受けた改善策として、8 連ピペットマンの使用、ならびに冷却用専用プレートの使用が提案された。それに伴いマルチチャネルピペット 8 連（メトラートレド)、マルチチャネルピペット 8 連専用チップ（メトラートレド)、保冷トレイ（ASKUL)、冷却用アルミドロップビーズ（三商)、オンアイスアルミブロック（EXIGEN）を購入した。

・試料準備・打ち上げ（RUN1）

2017 年 11 月 9 日-10 日岡崎統合バイオサイエンスセンター(現 生命創成探究センター)にて、RUN1 用の試料調製を行った。

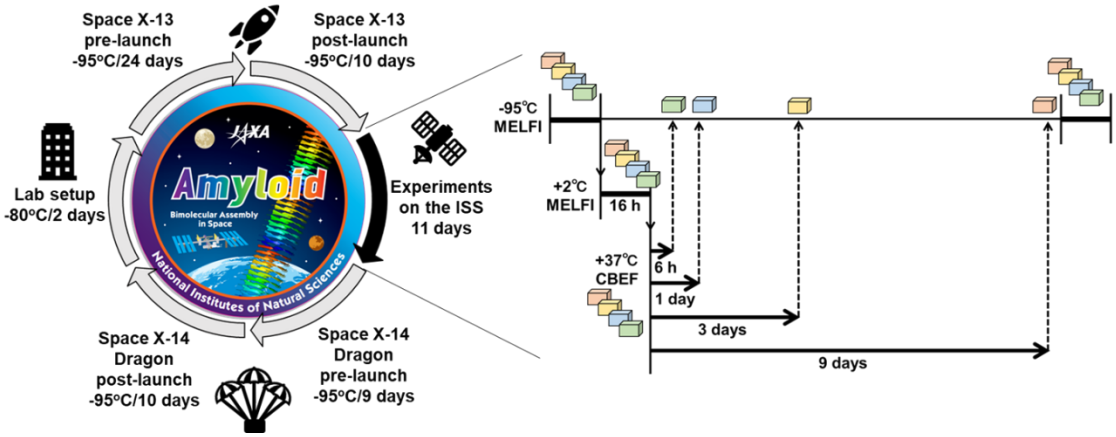
凍結乾燥した Aβ タンパク質サンプル（計 14 種類）を 0.1%アンモニア水/リン酸緩衝液混合溶液にて希釈し、希釈系列を作成した。溶液を均一に混合させたのち、PCR プレート(0.2 ml 96 well PCR Plate, Semi-skirted with upstand）に 1 ウェルあたり 200 μL 分注し、専用キャップ（Strips of 8 Flat Optical Cap）を取り付けて封入した。さらにキャップの上面をカプトンテープで補強した。同じサンプルを 16 枚作成した。また、コーニングチューブに 1 本当たり 12mL 分注して封入したものを合計 8 本調製した。アルミバッグに PCR プレートを 4 枚と 15 mL チューブ 2 本を収納したものを 4 セット作成しディープフリーザーで冷凍した。冷凍（-80 度）で射場まで輸送し、冷凍打ち上げした（-80 度)。

・軌道実験・試料回収（RUN1）

サンプルは実験開始まで冷凍保管した(MELFI-95 度)。2017 年 12 月 26 日にサンプル 4 セットを取り出し、冷蔵庫に移して解凍した(MELFI 2 度)。27 日に、4 セットを MEU-A4 式に各々収納、CBEF（μG）にセットして 37.0±0.5 度でインキュベートを開始した。インキュ

ベート開始から 6 時間、1 日、3 日、9 日後に MEU-A 各 1 式を取り出し、サンプルを-95 度 MELFI に移してインキュベートを終了させた（図 2）。サンプルは回収まで冷凍で保管し(MELFI-95 度)、冷凍で地上に回収した (DCB-80 度)。温度ロガーは常温で回収した。すべての軌道上作業は、12 月 19 日より ISS にて長期滞在を開始した金井宇宙飛行士が担当した。2018 年 1 月 24 日に、宇宙空間にて形成させたアミロイド β 線維の試料が、研究室まで届けられた。

図 2. 軌道実験(RUN1)の概要



(M. Yagi-Utsumi *et al. npj Microgravity* **6**, 17 (2020)より転載)

・運用準備確認会 #2

RUN1 の回収サンプルについてカイネティクス解析を実施し、RUN2 のタイムコース、実験試料の種類・濃度などの実験パラメータを設定した。

- サンプル種類：安定同位体標識 Aβ40（野生型および家族性変異型 7 種類）および非標識 Aβ42（野生型）
- サンプル濃度：100μM を採用。
- インキュベート時間：RUN1 の 9 日培養サンプルの実績にあわせるため、インキュベート開始から 216.5-1/+5 時間に設定することとした。許容範囲は、RUN1 と直接的な比較が可能で、かつ RUN1 と同程度またはより多いアミロイド線維取得のため、短い方は-1 時間、長い方は+5 時間とした。

・試料準備・打ち上げ（RUN2）

2018 月 5 月に実験計画の打ち合わせを行い、試料調製に向けての準備状況の確認を行った後、6 月に生命創成探究センターにて、RUN2 用のサンプル調製を実施した。野生型 Aβ42 および Aβ40、ならびに各種家族性変異型 Aβ40、合計 9 種類について、凍結乾燥した Aβタンパク質サンプルを 0.1%アンモニア水/リン酸緩衝液混合溶液を用いて作成した。溶液を均一に混合させたのち、コーニングチューブ B に 1 本あたり 5 mL 分注・封入し、各 3-4 本を調製した。アルミバッグにチューブ 9 本を収納したものを 3 パック作製し、ディープフリーザーで冷凍した。冷凍（-80 度）で射場まで輸送、冷凍打ち上げした（-80 度）。

・軌道実験・試料回収（RUN2）

サンプルは実験開始まで冷凍保管した(MELFI-95 度)。2018 年 7 月、実験開始前日に全てのサンプルを取り出し、冷蔵庫に移して解凍した（POLAR 2 度)。実験当日、サンプル全てを MELFI から取り出し、MEU-A 3 式に収納、CBEF（μG）にセットして 37.0±0.5 度でインキュベートを開始した。インキュベート開始から 216.5-1/+5 時間後に全て取り出し、-95

度 MELFI に移してインキュベートを終了させた。サンプルは回収まで冷凍で保管し（MELFI-95 度）、冷凍で地上に回収した （DCB-80 度）。温度ロガーは常温で回収した。JSC でサンプル受領後、TKSC まで冷凍輸送、その後、研究室まで冷凍で発送された。

・飛行後解析

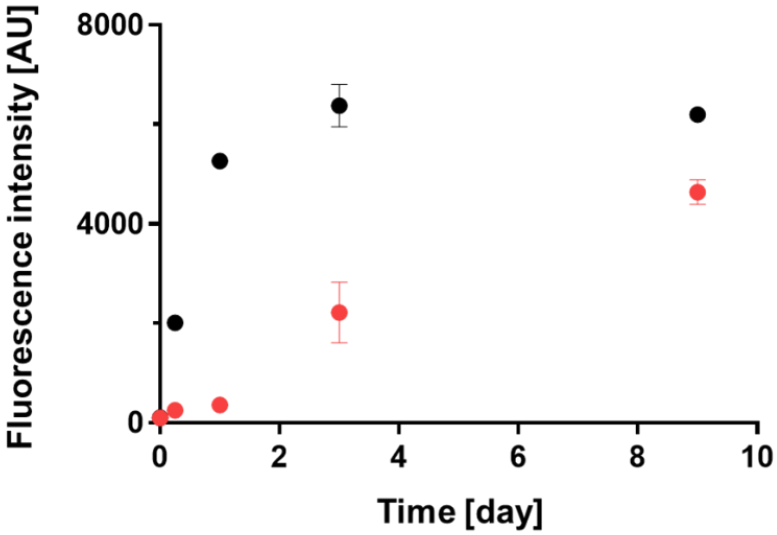
2018 年 8 月にアミロイドタンパク質試料が無事に研究室に帰還したことを受け、宇宙で形成したアミロイド線維の構造解析を開始した。

- チオフラビン T 蛍光強度計測：アミロイド線維の形成速度に関する知見を得る。
  - チオフラビン T 蛍光を指標として、アミロイド線維形成の時間変化を捉える。
  - 速度論的パラメータから線維形成のメカニズムの詳細を理解する。
- 固体 NMR 解析：アミロイド線維の構造的均一性を確認する。
  - NMR スペクトルの線幅およびパターンからアミロイド線維の構造均一性を評価する。
- クライオ電子顕微鏡による単粒子解析：アミロイド線維の 3 次元立体構造解析
  - クライオ電子顕微鏡を用いて、目的とするアミロイド線維の構造を選別し、クラス分けを行った後、単粒子解析を実施して 3 次元構造を構築する。

４．　実験結果および成果

RUN1 試料の解析に関しては、冷凍保存されていた 37℃インキュベーション開始から 6 時間後、1 日後、3 日後、および 9 日後の実験試料を地上にて解凍し、チオフラビン T 蛍光強度を測定した。その結果、微小重力環境下においてアミロイド β タンパク質の線維化を確認することができた。実験を始める前は、微小重力環境下ではアミロイド線維形成がおこらない可能性も考えられたが、そうではなく、微小重力環境下でもアミロイドβタンパク質の線維化がおこることが新たに判った。さらに、地上で保管しておいた同じ実験試料を比較対象として、アミロイド線維の伸長速度を調べたところ、アミロイド β タンパク質の線維伸長の速度は、地上に比べて微小重力空間の方が遅いことが判明した（図 3)。

図 3. Aβ(1-40)のアミロイド形成過程

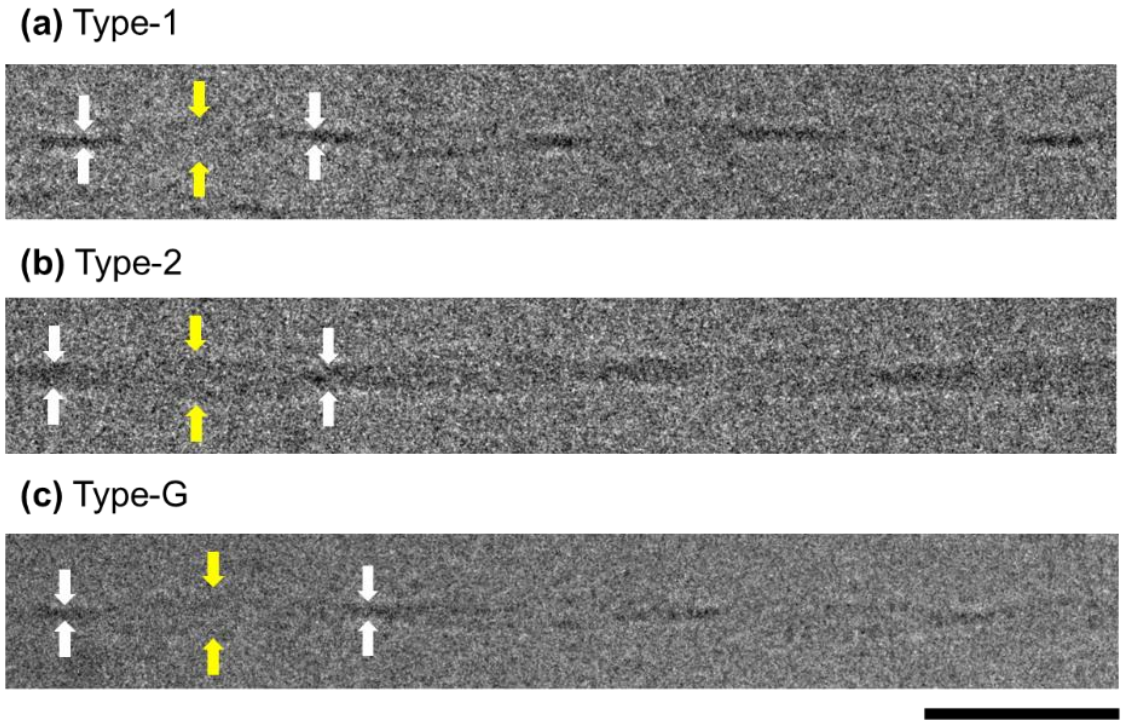


Aβ(1-40)溶液を、微小重力下（赤）および地上（黒）で 100 μM の濃度でインキュベートした。(M. Yagi-Utsumi *et al. npj Microgravity* **6**, 17 (2020)より転載)

さらに、クライオ電子顕微鏡により、アミロイド線維の形態の詳細を調べた結果、微小重力下で形成したアミロイド線維は大きく分けて 2 つの構造をとっていることがわかった(図 4, 5)。そのうちの 1 つ（Type 1）は地上で形成したアミロイド線維（Type G）に類似していたが、もう 1 つ（Type 2）は地上ではみとめられなかった特徴的な構造であることが明らかとなった（図 6)。微小重力環境においては、アミロイド線維は対流や沈殿の影響を受けずにゆっくりと伸長して地上とは異なる構造になると考えられる。

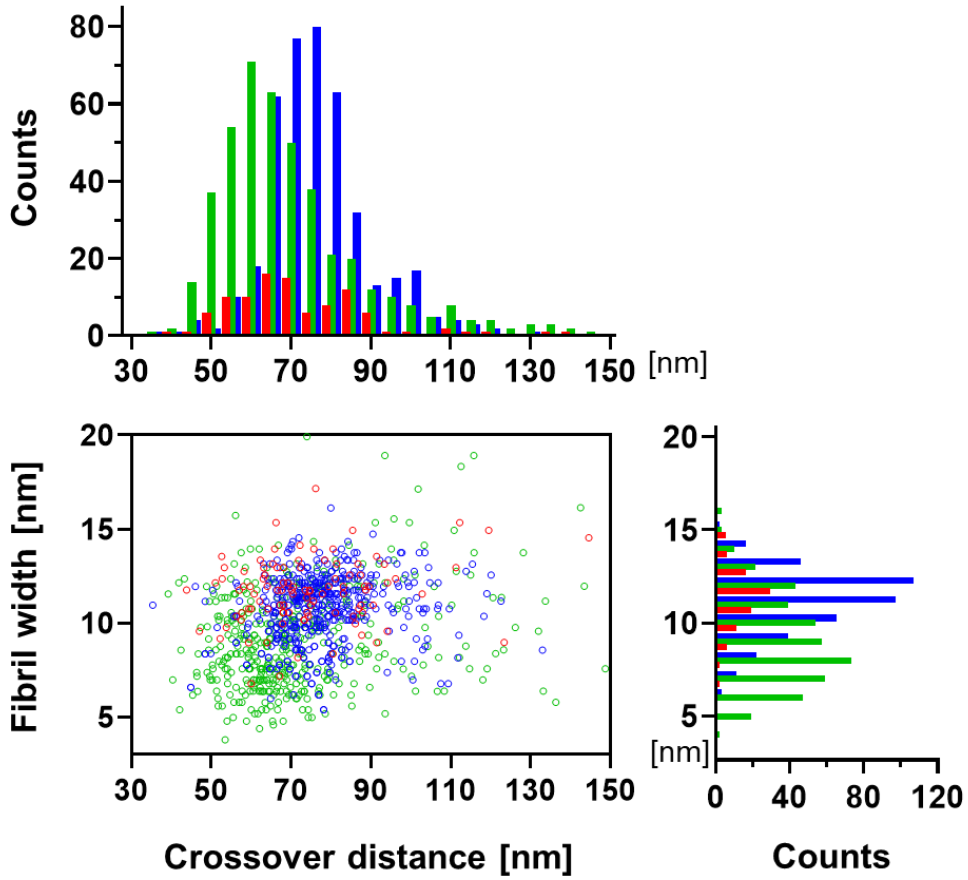
国際宇宙ステーションはこれまで地上では制御できなかった重力による影響を取り除くことができるため、アミロイド線維の形成メカニズムを研究するうえで理想的な実験環境を提供する。本研究により、微小重力環境下では、地上でつくったものとは異なる独特なかたちのアミロイド線維が形成されることが世界で初めて明らかとなった。今回明らかになった独特な形態のアミロイド線維について、その詳細な構造を明らかにしていくことは、アルツハイマー病などのアミロイド線維が関わる病気の発症機構の本質を分子のレベルで理解し、創薬研究に役立つものと期待される。

図 4.　Aβ(1-40)アミロイド線維のクライオ電子顕微鏡写真



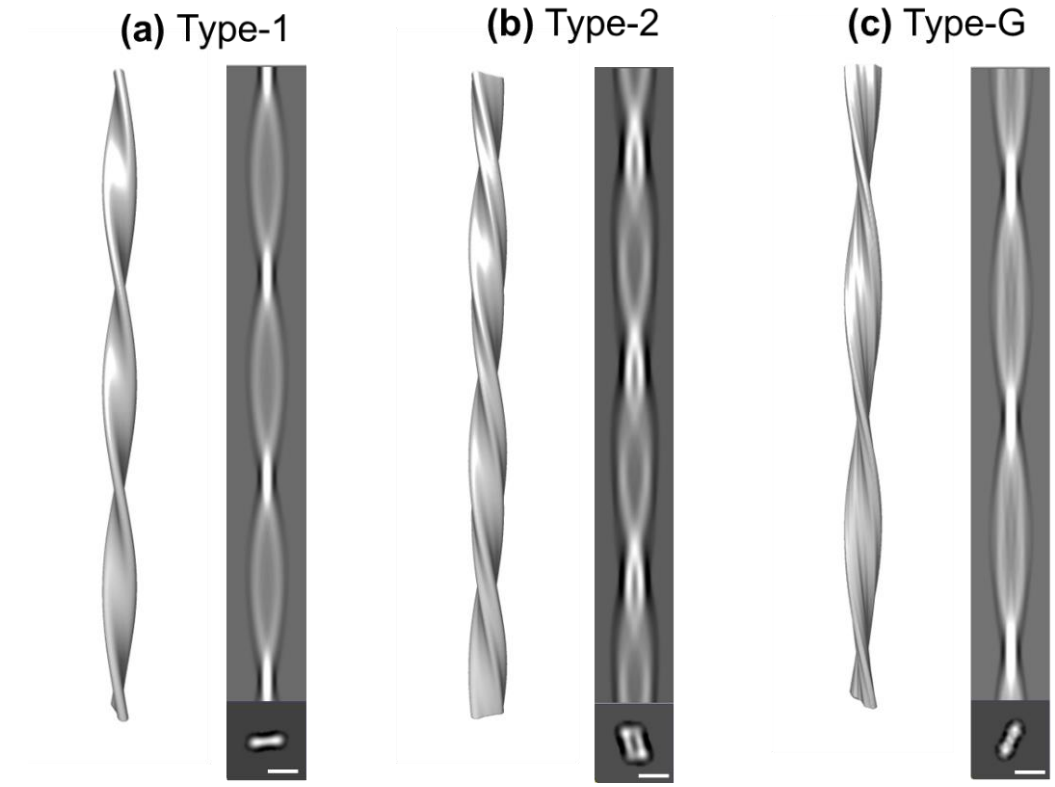
(A) Type-1、(B) Type-2、(C) Type-G のアミロイド線維の代表的な電子顕微鏡写真。交差点の最も狭い点と交差点間の最も広い点をそれぞれ白矢印と黄色矢印で示す。スケールバーは 50nm。(M. Yagi-Utsumi *et al. npj Microgravity* **6**, 17 (2020)より転載)

図 5. 3 種類のアミロイド線維に関する交差点間距離および線維幅の分布



Type-1（緑）、Type-2（赤）、および Type-G（青）。線維幅は交差点間の最も広い点で計測した幅を指す。(M. Yagi-Utsumi *et al. npj Microgravity* **6**, 17 (2020)より転載)

図 6. Aβ(1-40)アミロイド線維の 3D 画像再構成



(A) Type-1、(B) Type-2、(C) Type-G のアミロイド線維の 3D 再構成の再投影（右、上）と断面（右、下）。スケールバーは 10nm。(M. Yagi-Utsumi *et al. npj Microgravity* **6**, 17 (2020)より転載)

以上、研究目標に沿った成果が得られた。サクセスクライテリアに対する達成度の自己評価を表 8 に示す。

表8. サクセスクライテリア（最終版）に対する達成度の自己評価

サクセスレベル	クライテリア	補足	達成度
ミニマム	・微小重力環境下と地上における、アミロイド線維形成速度やアミロイド線維の形態変化の有無を比較し、差異があることを証明する。	【判断時期】Run2試料回収後半年 【設定根拠】微小重力環境下で高品質の線維が形成されることを明らかにし、地上と微小重力環境下でのアミロイド線維の形態差を見出すことに意義が有る。高品質なアミロイド線維形成を実現できることは成果となる。	◎高度に達成 地上と微小重力環境下でのアミロイド線維の形態差を証明した。
フル	上記に加えて下記ができること。 ・微小重力下で作製したアミロイドβ中間体を用いて、地上で得られている以上の構造情報（原子配置・原子間距離など）を得る。	【判断時期】Run2試料回収後1年 【設定根拠】Run2の試料回収を行い、電子顕微鏡解析に必要十分量の試料を回収し、構造解析を実施することで、中間体の構造を解明することが主目的である。	△一部達成 微小重力環境下においては、地上ではみとめられなかった特徴を有するプロトフィブリル間相互作用が生じていることを明らかとした。現在、3次元精密構造解析を実施中である。
エキストラ	上記に加えて下記ができること。 ・アミロイド線維伸長機構に関わる高精度な構造情報に基づいて阻害剤候補を選定し、創薬研究を具体化できる。	【判断時期】Run2試料回収後2年 【設定根拠】アミロイドβ線維の中間体の構造を明らかにして、阻害剤候補を選定できることで創薬ステップを進められる。	×未達成

５．　結言

ISS・きぼう利用ミッション「神経変性疾患の発症機構解明に向けた微小重力環境下でのアミロイド線維形成と性状評価（微小重力環境下でのアミロイド線維形成）により、以下の成果が得られた。

(1)Aβ(1-40)のアミロイド線維の形成速度は、地上に比べて微小重力空間の方が遅い。

(2)微小重力環境下で形成した線維の構造多型の分布は、地上のものとは異なっている。

(3)微小重力環境下においては、地上ではみとめられなかった特徴を有するプロトフィブリル間相互作用が生じていた。

[成果リスト]

学術論文

Maho Yagi-Utsumi, Saeko Yanaka, Chihong Song, Tadashi Satoh, Chiaki Yamazaki, Haruo Kasahara, Toru Shimazu, Kazuyoshi Murata, and Koichi Kato, “Characterization of amyloid β fibril formation under microgravity conditions,” *NPJ Microgravity*, **6**, Article number: 17 (2020). DOI：10.1038/s41526-020-0107-y

学会発表

加藤晃一、「アルツハイマー病発症メカニズムを知る鍵、「アミロイド線維」を宇宙実験でつくる」、“未来へのバイオ技術”勉強会 宇宙と健康医療研究～抗加齢を中心に、バイオインダストリー協会会議室、2018 年 11 月 6 日

矢木真穂、「宇宙実験からアルツハイマー病の解明を目指す！」、第 30 回自然科学研究機構シンポジウム 宇宙科学と生命科学の深～いつながり、2020 年 9 月 26 日、オンライン講演会

獲得外部競争資金

自然科学研究機構平成 28 年度特別研究費, 加藤晃一 (2016)

自然科学研究機構平成 29 年度特別研究費, 加藤晃一 (2017)

科研費基盤研究 (C), 「タンパク質分子を取り巻く環境を考慮した構造解析によるアミロイド形成機構の解明」, 矢木真穂 (2019-2021).

取材・報道等パブリシティ

「ドクター金井の宇宙ラボ VOL.1　アミロイド実験」、JAXA

宇宙飛行士の健康管理術Ⅲ～「健康長寿のヒントは、宇宙にある」～、BS 朝日、2019 年 3 月 24 日

プレスリリース、アルツハイマー病発症の要因とされるアミロイド形成の宇宙実験、2020 年 6 月 15 日

EurekAlert! (News Release), Amyloid formation in the International Space Station, June 16, 2020

Maho Yagi-Utsumi, “Amyloid Formation in the International Space Station,” BEHIND THE PAPER, npj Microgravity Community, June 17, 2020

アミロイド宇宙実験の研究成果報道、「MEDICAL NEWS LINE」(東京メトロポリタンテレビジョン)、2020 年 6 月 29 日

2020年度 ISS・きぼう利用ミッション科学成果評価結果

神経変性疾患の発症機構解明に向けた微小重力環境下での アミロイド線維形成と性状評価（Amyloid）

研究代表者　加藤晃一（自然科学研究開発機構）

総合評価

B: 目標の一部を達成した(ミニマムサクセス相当).

本研究は、宇宙環境を利用して、アミロイド線維の構造・形成機構を明らかにし、アルツハイマー病などの神経変性疾患の発症機構の解明を目指したものである。線維の形成速度が微小重力環境下では遅く、地上と異なる構造が形成されることを世界で初めて明らかにした点は高く評価できる。また、新たな試料凍結保存・形成技術を開発し、数多くの変異型アミロイドの軌道上での伸長に成功したこと、また、クライオ電顕という最新の技術を有効に用いた解析を進めていることなど、実験技術開発の上でも、貴重な成果を得た。

一方で、実験結果の解析は未完であり、形成メカニズムの詳細に迫っておらず、フルサクセスを一部達成しているが、総合評価としてはミニマムサクセス相当と評価する。

引き続き、変異型等の詳細な解析を進め、アミロイドβ中間体の構造解析の完了、さらに、阻害剤候補など創薬展開の提案など、フルサクセス、さらに、エキストラサクセスの達成を目指した検討を継続し、それらを公表することを、強く推奨する。

2021年2月

きぼう利用テーマ選考評価委員会（生命医科学分野）

ISS・きぼう利用ミッション
「神経変性疾患の発症機構解明に向けた微小重力環境下でのアミロイド線維形成と性状評価（微小重力環境下でのアミロイド線維形成）」
研究成果概要書

代表研究者；　加藤晃一（自然科学研究機構 生命創成探究センター/分子科学研究所）

2020 年 11 月

アミロイド線維はタンパク質が規則正しく凝集した超分子複合体であり、アルツハイマー病や糖尿病などの原因となることが知られている。それぞれの疾患には固有の原因タンパク質が存在しているにもかかわらず、それらが線維を形成する仕組みは共通していると考えられている。すなわち、線維形成機構を理解することは、これら疾患の治療や予防において重要となる。しかしながら、アミロイド線維の詳細な形成機構は未だ解明されていない。アミロイド線維形成反応は結晶成長との類似性が議論されているが、その実体については不明な点が多い。本研究の目的は、アミロイド線維を形成する様々なタンパク質について、宇宙空間でそれらの線維形態にどのような変化が見られるか、調査することである。具体的には、アルツハイマー病の発症に関わるアミロイドβタンパク質（Aβ）を対象とし、地上で形成するアミロイド線維と宇宙での微小重力環境下で形成するアミロイド線維の形態の違い、また線維伸長のカイネティクスの変化を明らかにすることを目的とした。

第 1 回目の実験（RUN1）では、試料の条件や種類を様々に変えた少量の Aβ タンパク質溶液について、きぼうに搭載した恒温槽を使って 37℃でアミロイド線維化を試みた。恒温槽内で Aβ タンパク質の線維を形成させ、実験開始から 6 時間後、1 日後、3 日後、および 9 日後の 4 回に分けて取り出し、凍結保存して地上に運搬した。第 2 回実験（RUN2）では、試料の条件・種類を絞ったうえで、Aβ タンパク質溶液を大容量で調製し、微小重力環境においてアミロイド線維を伸長させ、同様に地上に回収した。

試料の解析に関しては、冷凍保存されていた実験試料を地上にて解凍し、チオフラビン T の蛍光強度を指標としてアミロイド線維の伸長を測定した。その結果、微小重力環境下において Aβ タンパク質の線維化を確認することができた。地上で保管しておいた同じ実験試料を比較対象として、アミロイド線維の伸長速度を調べたところ、Aβタンパク質の線維伸長の速度は、地上に比べて微小重力空間の方が遅いことが判明した。さらに、クライオ電子顕微鏡により、アミロイド線維の形態を調べた結果、微小重力下で形成したアミロイド線維は大きく分けて 2 つの構造をとっていることがわかった。そのうちの 1 つは地上で形成したアミロイド線維に類似していたが、もう 1 つは地上ではみとめられなかった特徴的な構造であることが明らかとなった。微小重力環境においては、アミロイド線維は対流や沈殿の影響を受けずにゆっくりと伸長して地上とは異なる構造になると考えられる。

国際宇宙ステーションはこれまで地上では制御できなかった重力による影響を取り除く

ことができるため、アミロイド線維の形成メカニズムを研究するうえで理想的な実験環境を提供する。本研究により、微小重力環境下では、地上でつくったものとは異なる独特なかたちのアミロイド線維が形成されることが世界で初めて明らかとなった。今回明らかになった独特な形態のアミロイド線維について、その詳細な構造を明らかにしていくことは、アルツハイマー病などのアミロイド線維が関わる病気の発症機構の本質を分子のレベルで理解し、創薬研究に役立つものと期待される。

Summary report of the ISS-Kibo utilization mission, "Characterization of amyloid formation under microgravity environment: Toward understanding the mechanisms of neurodegenerative diseases (Amyloid)"

Principal Investigator, Koichi Kato, phD. (Exploratory Research Center on Life and Living Systems (ExCELLS)/ Institute for Molecular Science (IMS), National Institutes of Natural Sciences)

Nov. 2020

Amyloid fibrils are self-assembled ordered supramolecules comprising proteins and known to be associated with various diseases including Alzheimer's diseases and diabetes. Although each of these diseases is characterized by its specific amyloidogenic proteins, it has been speculated that there exist common molecular mechanisms that govern amyloid formation across diverse systems. Hence, it is important to elucidate the underlying mechanisms of amyloid formation for promoting clinical approaches to the amyloid diseases. Recent evidence has suggested similarity between amyloid formation and protein crystallization. However, little has been known about the detailed mechanisms of amyloid formation. Under these circumstances, we attempted to characterize the amyloids formed under a microgravity environment.

We compared the fibril formation of Alzheimer's disease-related amyloid β (Aβ) proteins on the International Space Station (ISS) with that on the Earth and found that the process of Aβ fibrillization significantly slowed down in the microgravity environment. Furthermore, distinct morphologies of Aβ fibrils were formed on the ISS. Type-1 fibrils, which made up ~80% of total fibrils, exhibited narrow widths (6–8 nm) at the crossover points, whereas Type-2 fibrils, which accounted for the remaining 20%, had broader widths (>10 nm) at the crossover points. Cryo-EM data showed that the cross-sectional structures of Type-1 fibril exhibited a compact shape, while the cross-section of Type-2 accommodated a square trace with symmetrical orientation, suggesting their distinct differences in the relative orientation and internal substructure of protofilaments.

By inspection of these results, the project highlights the utility of the ISS as an ideal experimental environment for investigating the mechanisms of amyloid formation without uncontrollable perturbations caused by gravity, thereby providing fundamental insights into the pathological amyloid formation.

ISS・きぼう利用ミッション
「無重力での視力変化等に影響する頭蓋内圧の簡便な評価法の確立（IPVI）」

原題：宇宙飛行による眼の変化と非侵襲的頭蓋内圧評価

英文：Non-invasive assessment of intracranial pressure for space flight and related visual impairment

研究成果報告書
代表研究者：岩崎賢一（日本大学医学部）
２０２１年１月

１． 緒言

１．１ 研究内容、目標の概要

本研究のもっとも重要な**目的**は「**世界ではじめて、宇宙飛行前に比べた宇宙飛行後の頭蓋内圧（頭蓋骨内部の圧力）推定値の変化を明らかとすること**」である。その上で「**長期滞在後に頭蓋内圧推定値が異常上昇を示した例があった場合には、視神経乳頭浮腫などの眼球異常との関連が認められるか明らかとする**」ことも目指した。

2011 年に Mader らが、**長期宇宙飛行中に眼球に顕著な異常（視神経乳頭浮腫、脈絡膜ヒダなど）を発症した 7 例を認め、それらの宇宙飛行士では、地上帰還後に頭蓋内圧に近似する脳脊髄液圧が境界域以上の高値（≧15.5mmHg）であったことを報告した（文献１）**。この眼の異常は、地上での頭蓋内圧亢進症（頭蓋内圧が異常上昇）の典型症状であり、宇宙飛行士の健康やミッションの重大リスクにつながる可能性もあり、原因究明や予防が喫緊の重要課題とされた（文献２）。この現象の原因として、**宇宙飛行の微小重力曝露に伴い体液が頭部方向へシフトし、頭蓋内圧が異常上昇する可能性が高いと指摘されてきた**（文献１、文献２）。

しかしながら、これまでに、宇宙飛行中はおろか、**宇宙飛行の前と比較し飛行後の頭蓋内圧の変化を評価した研究は皆無であった**。そこで、本実験の作業**目標**を「**国際宇宙ステーションの長期宇宙飛行の前と後で、非侵襲的に血圧と脳血流速度の波形を高時間解像度で記録し、それらの波形の数理モデル解析から頭蓋内圧値を推定し、飛行前に比べた飛行後の頭蓋内圧の変化を世界ではじめて評価すること**」とした。この実験に際し、基礎生理学的な仮説としては「宇宙飛行による体液の上方シフトの影響で、飛行前に比べ長期宇宙飛行後は頭蓋内圧が上昇する」とした。さらに、臨床医学的な仮説としては、「頭蓋内圧値が飛行後に高値（≧15.5mmHg）となった宇宙飛行士がいた場合は、長期宇宙滞在中に眼の異常などを呈している」とした。

この実験を通じて、宇宙飛行士の頭蓋内圧を非侵襲的に評価する方法が実践できれば、宇宙での視機能障害等の原因究明ならびに対策、頭蓋内圧亢進症のスクリーニングなどにおいて有用であると実験提案に際し考えた。

1．2 研究の背景と動機、位置づけと意義

前述のごとく 2011 年に Mader らが、約半年の長期宇宙飛行を行った飛行士 7 例に、視神経乳頭浮腫や脈絡膜ヒダなどが認められたことを報告した（文献１）。視神経乳頭浮腫や脈絡膜ヒダは、視神経・視覚の障害などになる可能性があり、宇宙飛行士の重篤な健康リスクとミッションの重大リスクにつながる可能性がある。そのため、Human Research Roadmap（文献２）のリスク一覧に Visual Impairment and Intracranial Pressure Syndrome：視力障害/頭蓋内圧症候群として収載された。その後名称を Spaceflight associated neuro-ocular syndrome (SANS) と改め、早急に原因を究明し対応すべき重要な課題として関連研究が多数行われてきている（文献２、３）。

SANS 兆候のうちで特に視神経乳頭浮腫や脈絡膜ヒダは、地上での頭蓋内圧亢進症の典型的な症状とされる。Mader らは、眼球異常を認めた飛行士のうちの 4 例に対し、地球に帰還し数日たった後に腰椎穿刺を行い、脳脊髄液の圧が境界域以上の高値（15.5mmHg～21mmHg）であること認めた（文献１）。これらの事実から、宇宙飛行中の体液の頭部方向シフトにより頭蓋内の体液量などが増加し、頭蓋内圧が上昇して視神経を圧迫することが、眼球異常を発生させた原因として推定された。その後、多くの研究者がこの仮説に関連した研究を実施してきており、宇宙飛行前後での MRI 検査による脳の形態変化（文献４）や脳脊髄液量の変化（文献５）の検討が行われた。一方で、頭蓋内圧に関しては、Mader らの報告（文献１、６）の後には、**宇宙飛行実験による研究が行われることはなく、飛行前からの変化に関しては全く不明のままであった。現時点も SANS の原因の明確な証拠は得られていない。**

宇宙飛行による頭蓋内圧の変化を明らかにすることが重要とされていたにもかかわらず、**飛行前からの前向き研究が行われなかった理由として、飛行前に腰椎や脳に針を刺す検査を行うことのリスクがある**と我々は考えた。そこで、宇宙飛行士にとってリスクの低い**非侵襲的**な脳血流速度波形と血圧波形の測定から頭蓋内圧を推定する方法で、まずは、**宇宙飛行の前と後で複数の宇宙飛行士に測定を行い、飛行前後での頭蓋内圧の変化を評価するべき**と考えた。

非侵襲的な頭蓋内圧の推定は、医療、研究の両面で有用と考えられ、複数の試みがなされてきた。例えば、脳血流速度の pulsatility index が頭蓋内圧に相関することが報告され（文献７）、その関係から相対的変化を推定する方法がある。さらに近年、経頭蓋ドプラ血流計の小型化と解像度向上に伴い解析方法が発展し、橈骨動脈の血圧波形と中大脳動脈の脳血流速度波形の伝達について数理モデルを用いて解析し頭蓋内圧推定値を得る方法が開発された（文献８）。本提案の研究グループの Thomas Heldt 博士は、この解析法の開発の第一人者で、解析法の精度向上を長年行っていた。また、研究代表者らはこれまで宇宙飛行中（文献９）や遠心過重力曝露中（文献１０）等の特殊環境下で非侵襲的に血圧波形と脳血流速度波形を同時測定し脳循環調節の評価を行い発表してきた。そこで、**これらの研究者が共同し、宇宙飛行士の血圧波形と脳血流速度波形を高解像度で再現性を高め測定記録し、最新の解析法を応用することで、宇宙飛行前後で非侵襲的に頭蓋内圧を推定でき、世界に先駆けた研究になると考え本研究を提案した**。

このように本研究は、頭蓋内圧の観点に特化し、非侵襲的でありつつ高時間解像度・高再現性の脳血流測定法と、最新の数理モデル解析から SANS を捉える研究であり、他に類を見ず、**本手法は宇宙飛行士の SANS の発症機序解明や予防に役立てることが期待できる意義のあるものと考えた**。つまり、「2020 年までの宇宙医学分野の ISS/きぼう利用シナリオ」に示された「宇宙飛行士の健康管理に役立つ宇宙医学研究」という意味でも、「メカニズム解明をめざす宇宙基礎医学研究」という意味でも重要であると考え提案した。

またさらに前述のごとく、長期宇宙飛行後に脳脊髄液圧が異常高値であった例が報告されており（文献１、６）、頭蓋内圧が SANS の必須の原因でなかったとしても、将来の半年の宇宙滞在を超える宇宙開発ミッションにおいて**宇宙飛行士の頭蓋内圧亢進症による健康障害予防のために、「腰椎穿刺や脳室穿刺などと比べ簡便で非侵襲的でリスクの少ない頭蓋内圧評価法」を宇宙飛行士対象に実証すること自体にも意義があると考え提案を行った**。

2. 研究計画

2．1 研究目標

表1　サクセスクライテリア

フェーズ移行時（2013 年度審査時提示資料より抜粋）に設定したもの。

ミニマムサクセス	以下をすべて実証すること。 国際宇宙ステーション長期滞在前後の動脈圧波形と脳血流速度波形を高時間解像度で記録し、頭蓋内圧推定値および長期滞在前後の変化を確認できる。
フルサクセス	上記に加え、以下の仮説を実証すること。 頭蓋内圧推定値と、視機能検査データの解析を行い、長期滞在後に頭蓋内圧推定値が高値を示した例では、視神経乳頭浮腫、視機能低下、遠視化などが認められる。
エクストラサクセス	以下のいずれかを達成すること。 1）長期滞在により大半の宇宙飛行士の頭蓋内圧が亢進し、視神経の軸索流や血液循環が阻害され、視機能障害のリスクとなる。そのリスクは滞在期間が長くなるほど大きくなる、という仮説が立てられる。 2)生理的対策の具体化に向け、国際宇宙ステーション内での測定、頭蓋内圧推定の簡易測定法を提案できる。

研究目標は以下の根拠に基づき設定した。

ミニマムサクセス

宇宙飛行による頭部方向体液シフトの影響で宇宙飛行後に頭蓋内圧が上昇する可能性が指摘されているが、これまで、宇宙飛行前に比べた飛行後の頭蓋内圧の変化を捉えた研究が全くなかった。そのため、まずミニマムサクセスとしては、**本実験手法を用いて長期宇宙飛行の前後での頭蓋内圧推定値の変化を確認できる**こととした。

フルサクセス

視神経乳頭浮腫を発症した例の飛行後の侵襲的な測定においては、頭蓋内圧に近似する脳脊髄液圧が**境界域以上の高い値**であったことが認められていた（文献1）。そのため、フルサクセスは、**宇宙飛行後に頭蓋内圧推定値が飛行前に比べ上昇し、かつ、その値が明らかに高い例を捉えられた場合には、その例において視神経乳頭浮腫などの SANS の兆候が認められる、という仮説を実証する**こととした。

エクストラサクセス

長期宇宙飛行の影響で宇宙飛行後に大半の宇宙飛行士に頭蓋内圧の上昇が認められれば、ほとんどの宇宙飛行士に視機能障害のリスクがあることとなり、今後、長期宇宙飛行をする宇宙飛行士すべてに、この病態の予防を行うことを提案できると予想した。

また、宇宙飛行後、宇宙飛行中のいずれの時点においても、頭蓋内圧が異常高値となれば、健康障害の明らかなリスクと考えられる。そのため、宇宙飛行士の健康管理のために、非侵襲的な頭蓋内圧測定法の実用化が早急に求められていると考えられる。つまり、**本実験の非侵襲的な頭蓋内圧推定方法を国際宇宙ステーション内で用いる提案ができれば、今後 SANS の病態解明**

や生理的対策、もしくは頭蓋内圧亢進症の生理的対策の具体化に向けて意義が大きいと考え、エクストラサクセスとして設定した。

本報告書には JAXA 実験として、有人サポート委員会宇宙医学研究推進分科会および JAXA 倫理委員会で審査を受けたうえで、1 年滞在クルーのデータも取得し、解析結果を含めて記載をしているが、当該の 1 年滞在クルーは本テーマのフェーズ移行審査にて設定された上記サクセスクライテリアの対象外とする。

２．２ 体制

・研究チーム体制

表２　研究チーム体制

実験要求書の最終版（2019 年 2 月時点）より抜粋し詳細を追加し記載した。

氏名	所属	役割分担
岩﨑　賢一 （研究代表者：研究テーマ提案者）	日本大学医学部 社会医学系衛生学分野	研究計画の立案をする。飛行前後に血圧・脳血流速度波形を測定し、一心拍毎のデータから簡易的な頭蓋内圧変化の評価を行う。その結果と、一心拍内の詳細解析による頭蓋内圧推定値と、眼の変化を総合的に解釈する。論文の責任著者としての作業を行う。
小川　洋二郎 （共同研究者）	日本大学医学部 社会医学系衛生学分野	研究計画の立案をする。飛行前後に血圧波形、中大脳動脈血流速度波形を非侵襲的に測定する。一心拍毎のデータを解析し、結果を解釈する。論文原稿の校閲を行う。
篠島　亜里 （共同研究者）	慶應義塾大学医学部	研究計画の立案をする。論文原稿の校閲を行う。
柳田　亮 （共同研究者）	日本大学医学部 社会医学系衛生学分野	飛行前後に血圧波形、中大脳動脈血流速度波形を非侵襲的に測定する。一心拍毎のデータを解析し、結果を解釈する。論文原稿の校閲を行う。
倉住　拓弥 （共同研究者）	日本大学医学部 社会医学系衛生学分野	飛行前後に血圧波形、中大脳動脈血流速度波形を非侵襲的に測定する。一心拍毎のデータを解析し、結果を解釈する。論文原稿の校閲を行う。
加藤　智一 （共同研究者）	日本大学医学部 社会医学系衛生学分野	研究計画を立案する。飛行前後に血圧波形、中大脳動脈血流速度波形を非侵襲的に測定する。論文原稿の校閲を行う。
田子　智晴 （共同研究者）	日本大学医学部 社会医学系衛生学分野	飛行前後に血圧波形、中大脳動脈血流速度波形を非侵襲的に測定する。
小西　透 （共同研究者）	日本大学医学部 社会医学系衛生学分野 （航空自衛隊より出向）	飛行前後に血圧波形、中大脳動脈血流速度波形を非侵襲的に測定する。一心拍毎のデータを解析する。統計相関解析を行う。論文原稿の校閲を行う。
向井　千秋 （共同研究者）	JAXA 東京理科大学	研究計画を立案する。個体ごとの差異と、得られた頭蓋内圧変化などを総合的に解釈し、論文原稿の校閲を行う。
古川　聡 （共同研究者）	JAXA	個体ごとの差異と、得られた頭蓋内圧変化などの結果について解釈する。論文原稿の校閲を行う。

Thomas Heldt （共同研究者）	マサチューセッツ工科大学（Massachusetts Institute of Technology）	研究計画の立案をする。取得した血圧、脳血流波形に関し、一心拍内の両波形の関連を詳細解析し、頭蓋内圧を推定する。結果を解釈し、論文原稿の校閲を行う。
Benjamin D. Levine （共同研究者）	テキサス大学 Institute for Exercise and Environmental Medicine & UTSW	研究計画の立案をする。ヒューストンにおける、血圧、脳血流の測定などの支援、および、得られた頭蓋内圧の推定値と循環変化の解釈等を行う。論文原稿の校閲を行う。
Syed Muhammad Imaduddin （共同研究者）	マサチューセッツ工科大学（Massachusetts Institute of Technology）	取得した動脈圧波形と脳血流波形から頭蓋内圧推定値を得る際にガウス混合モデル等を応用し、その結果の解釈を行う。論文原稿の校閲を行う。

・JAXA 支援体制

表3　JAXA 支援体制

実験要求書の最終版（2019 年 2 月時点）より抜粋し一部追加し記載した。

氏名	所属	役割分担
井上　夏彦 古本　伸一 相山　怜子 小林　拓恵 秋元　茉莉	宇宙航空研究開発機構 有人宇宙技術部門 宇宙飛行士・運用管制ユニット 宇宙医学生物学研究グループ	研究コーディネーター
嶋津　徹 山中　亜利 武岡　元 市川　智洋 山崎　千秋 山盛　徹	日本宇宙フォーラム（JSF） 宇宙利用事業部	研究コーディネーター

上記体制は各フェーズで充分に機能し役割を果たした。JAXA と JSF の上記支援チームや軌道上実験運用チームには、NASA ジョンソン宇宙センターでのデータ測定のための大量の実験装置の輸送や実験室の準備、また、問診・視診のために国際宇宙ステーション日本実験棟「きぼう」と筑波宇宙センターのユーザー運用エリア（User Operations Area ：UOA）を医学実験運用向けの専用回線システム（高解像度の映像と音声の双方向通信）で結ぶ準備などで、初の試みを含めて対応をしていただいた。ただし、合計で 11 例の長期 ISS 滞在の宇宙飛行士からデータを測定したため、測定フェーズには約 4 年間と長い期間がかかり、特にその間に JAXA、JSF の研究コーディネーターが多く交代した（表３には、途中交代者は多数になるため記載せず、2019 年 2 月時点の体制を記載した）。測定の支援は、NASA ジョンソン宇宙センターでの NASA とのインターフェースのみでなく、実際の測定時の実施内容の確認や記録なども含んでいたため、特に医学や脳循環測定の専門性の高い内容の理解を得ながら行っていただいた。そのため、交代ごとに、個々の実験手順の意味合いを理解していただく必要があり、その都度時間を要した。実験実施や測定データの質などには問題はなかったが、交代は少ないほうが効率的と感じた。

２．３ スケジュール

本テーマは、「平成 24 年度(2012 年度) きぼう利用テーマ募集 一般区分フライト実験候補テーマ」として選定され、研究採択からフェーズ移行審査までの間に以下 3 点の変更を行った。①JAXA の要請により、日本語テーマ名を「宇宙飛行による眼の変化と非侵襲的頭蓋内圧評価」から、より平易で一般の方にも理解しやすい「無重力での視力変化等に影響する頭蓋内圧の簡便な評価法の確立」に変更した。②被験者数を、提案時の 3 名要求から、統計学的有意差を得ることを考慮し 10 名に変更し、さらに一年滞在クルー1 名（文献１１）も被験者として追加し、計 11 名とした。③血圧と脳血流の関連変化の記録確認のために、バルサルバ法を追加した。

その後、フェーズ移行審査に際し図１に示す全体スケジュールを提示し、2013 年 11 月に実験準備フェーズ移行に係る外部審査会、2014 年 2 月に実験準備フェーズ移行審査会を受審し、フライト実験として承認された。その際に再検討を依頼された内容を反映して、④帰還直後に加えて再適応経過を観察するために帰還 30 日後から 180 日後の測定を追加した。⑤データシェアプラン利用を充実させ、軌道上健康管理データや経時的な視機能検査結果などを得ることとした。

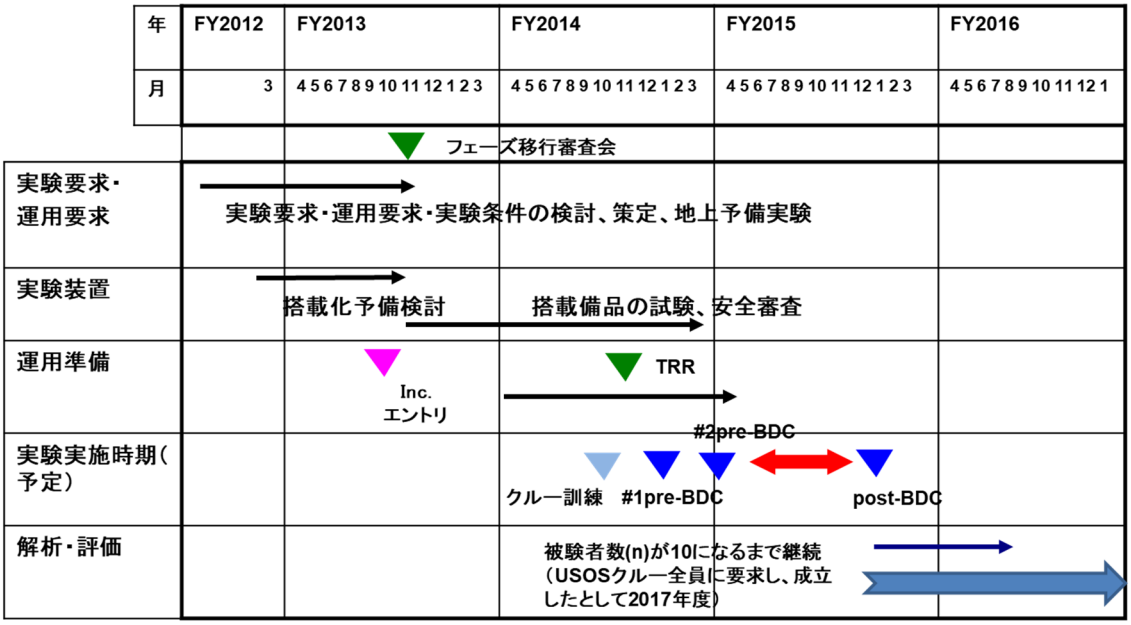


図１ フェーズ移行審査から飛行後解析までの当初全体スケジュール（2013 年度審査時提示資料より抜粋）

その後の実績スケジュールを、図２に示す。**図１に示した当初予定と図２に示した実績の違いは、主に以下①②の２点である。**

①図１に示した当初予定においては、全ての米国軌道セグメント（United States On-Orbit Segment ：USOS）クルーの宇宙飛行士で実験が成立した場合、2017 年度前半にデータ測定が完了する予定であったが、実際のデータ測定完了は、約 1 年半遅く 2018 年後半となった。その理由としては、必ずしもすべての宇宙飛行士から被験者同意が得られたわけではなかったこと、同意を得られていたがミッション計画変更（ダイレクトリターン）になり被験者とできなくなった例があったこと、ミッションの実施時期が延期された場合もあったこと、さらに、科学的意義を考慮し追加した「帰還後 1～6 カ月後のリカバリーデータの測定」に関して最後の宇宙飛行士は帰還後約 6 カ月であったことなどがあげられる。

②データシェアプランによる NASA からのクルー標準医学検査データ（MEDB）等の最終受領（全データの確定、最終解析開始）が、我々のデータ測定の完了時点より 10 か月近く後になるとは想定していなかった。実際には、各国の宇宙組織が既に採血データなどを取得していても、それらを

NASA 担当部署に集め NASA 担当者が確認しデータベース化してシェアの承認を行うプロセスに時間を要したため、受領完了は、我々のデータ測定完了の約 10 か月後の 2019 年となった。

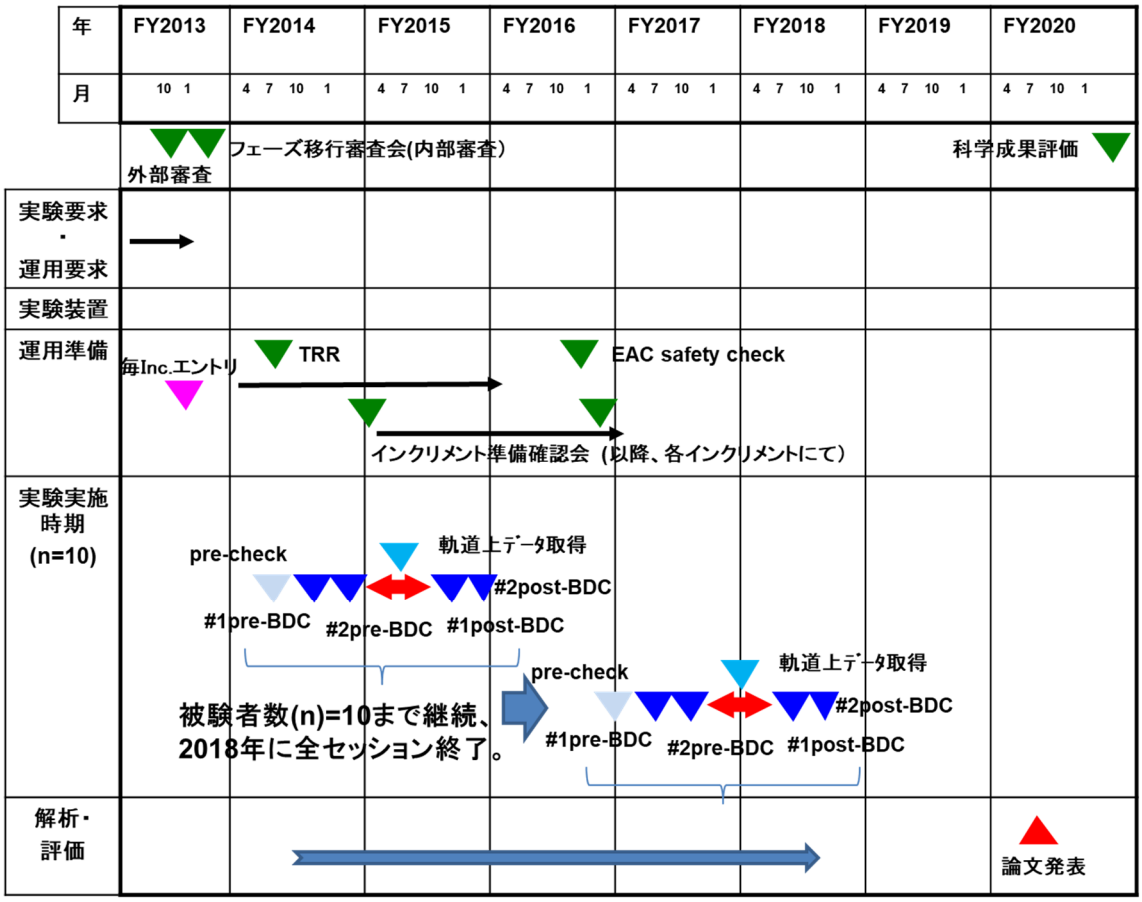


図２　フェーズ移行審査から論文発表までの実績

フェーズ移行審査から論文発表までの実績において具体的な実施事項は以下の通りである。
1）各インクリメント宇宙飛行士に対し、エントリーとインフォームドコンセントを、1 年滞在クルー1 名を含め計 11 名獲得まで継続した。
2）並行して、NASA ジョンソン宇宙センター（Johnson Space Center：JSC）での地上データ測定実験 Baseline data collection(BDC)を開始するにあたり、2014 年 9 月に NASA ジョンソン宇宙センターの安全審査（Test Readiness Review：以下 TRR）を受審し、承認された。TRR は倫理申請とともに年次更新を継続した。ドイツ・ケルンにある欧州宇宙飛行士センター（European Astronaut Centre：以下 EAC）での測定に関しては、測定実施施設であるドイツ宇宙センター（Deutsches Zentrum für Luft- und Raumfahrt：DLR）の envihab でのリハーサル時に、セーフティチェックを受審した。また、軌道上実験では各インクリメント準備確認会にて受審、承認を得た。
3）実験参加の同意を得られた被験者候補に対し、後述する実験を 2014 年から開始し 2018 年に全測定データの取得を完了した（被験者が特定されることを避ける目的で、年より詳しい情報は不記載とした）。2019 年には、すべてのデータシェアプラン項目のデータを NASA から受領し、全データ確定・最終解析を行い、結果をまとめた。
4）その後、主要結果にもとづき論文執筆を行い、1 年滞在クルーに対して論文記載内容の確認と公表の承認を行ってもらい論文投稿し、リバイズ時にも同様に 1 年滞在クルーの確認、承認を得て、2020 年 10 月に The Journal of Physiology 誌への論文発表（preprint online）に至った。

3. 実験準備・運用

テーマ採択後、実験要求の詳細化検討を実施した。その後、利用装置・備品の検討、実験手順の詳細化を行った。装置はバックアップ装置を揃えるとともに、ノイズ除去、データ品質のリアルタイムモニタが可能な最新データ記録システムを準備した。測定実験 BDC の詳細手順は、国内検証、リハーサル後、装置一式を NASA ジョンソン宇宙センターもしくはドイツ EAC（欧州宇宙飛行士センター）に輸送し、現地リハーサルを経て、要求時間内に良質データが取得可能となるよう準備を行った。これらの装置・備品および手順は、JAXA/NASA/ESA/国際各倫理委員会の承認を経て、NASA ジョンソン宇宙センターの TRR 安全審査の承認を得た。

軌道上データ取得手順については、フライト運用チームと、都度利用する通信手段等を事前調整した。クルーが通常利用している軌道上機器であったため、結果、クルー訓練は実施しなかった。

なお、クルーの視機能に関するデータ（視神経乳頭浮腫の画像所見など）や他参照データ（運動履歴、薬剤履歴情報、赤血球・ヘマトクリットなどの血液データ）のシェアについては、NASA が指定する Mini-ED（Mini Experiment Document）やデータシェアプラン（Data Share Plan：DSP）にて事前に要求した。

また、本研究は日本大学医学部の倫理委員会（No. 30-5-0）、および、JAXA（No. 102_7_01）、NASA（No. MODCR00000496）、ESA（2019_09_03）、国際倫理委員会（No. Pro0858-(MODCR00000496)-Amd-14）の承認を得た（倫理承認番号等は、成果リスト原著論文（1）の論文投稿時点での改訂番号にて記載した。）

3．1 使用する機器・薬品等の危険性評価と安全体制

本テーマの利用装置・消耗品類は、プローブホルダ以外は全て市販品であり、非侵襲的な測定装置で医療機械として承認されているものである。これらの使用に関しては、その使用手順を含め、前述の日本大学医学部の倫理委員会、および、JAXA、NASA、ESA、国際倫理委員会で承認され、TRR の承認を得た。

安全体制は、軌道上実験では ISS 計画での通常運用時の医療体制に、飛行前後の測定実験 BDC では各極の BDC 医療体制の運用に従った。具体的には、NASA ジョンソン宇宙センターでは医療監視レベル 4（基本的にリスクが最小限に抑えられた手順、医師による電話相談が可能）、EAC では測定施設のドイツ宇宙センターDLR にある envihab の安全体制、筑波宇宙センターでは、緊急時は安全管理者（医師）のオンコール、ケガ発生時は安全管理者への連絡、筑波宇宙センター内での応急手当、必要に応じ近隣の医療施設（筑波メディカルセンター病院等）への搬送対応である。全被験者、全セッションで対象事例はなかった。

3．2 被験者の個人情報の保護

前述の各倫理員会の承認された内容に則り、また、JAXAのセキュリティ規程に準じ、個人情報はすぐに匿名化し、ID、データは別々に保管した。データは、スタンドアローンの小型記憶装置（ラップトップ PC や外付け HDD 等）に保存し、当該の記憶装置へのアクセスはパスワードにて保護し、ネットワーク等への接続は行わず、セキュリティレベルの高い鍵付の部屋にある鍵付キャビネに保管した。実験記録、データへのアクセスは、基本的に研究代表者のみが行い、個々の役割に応じて指定・限定した。特に解析のみを担当する海外研究者 3 名とその施設に対しては、個人が特定される情報が含まれたデータの送信や開示はせず、匿名化し、かつ測定時期や条件等もブラインド化したデータで最終解析を実施した。

個人情報が漏れた場合に被験者が受ける影響について事前検討し、「本研究で得られたデータの意味を解釈することは容易ではなく、データ単独だけでは意味を成さず、最小リスクと考える。」と判断した。また、個人の識別が可能なデータを公表することはないとし、遵守している。加えて、1年滞在クルーに関しては別途、論文内容の確認や承認などの手続きを行った。

３．３ 異常値および副作用等が発生した際の対処方針

飛行前後の測定実験 BDC を実施するにあたり、ターミネーションクライテリアを設定した。異常値等が発生した場合は、データ取得を中止し、各極の BDC 医療体制の運用に従い、適切に報告することとした。被験者全セッションにおいて、該当する事例はなかった。

３．４ 被験者に与える可能性のある影響と対策

連続血圧計で、指先の不快感を被験者が訴える場合は、圧を解除し、不快感を除去することとした。超音波検査用のゼリーでかぶれ等を起こす場合は、実験を中止し、ステロイド軟膏を塗布することとした。また、プローブホルダ作製時の、①ポリマーによるかぶれ等の発症については、ヒト用歯科印象剤を利用する、②髪がポリマーに巻込まれた場合、固化後取り除く際、抜毛で若干痛みを伴う可能性については、ヒト用超音波検査用のゼリーを皮膚および髪に塗布後、ポリマーを利用することで対応した。他、ECG 電極によるかゆみや発疹を起こした場合は、実験を中止し、ステロイド軟膏を塗布することとした。

全セッションにおいて適宜対応し、問題となる事象はなかった。

３．５ 被験者等の同意

３．５．１ 被験者等の数および募集と選定方法

３ヶ月以上 ISS に滞在する宇宙飛行士を 10 名、1年滞在クルー1 名を含め計 11 名を要求した。各インクリメントで募集し、インフォームドコンセントを経て研究参加に興味を持った宇宙飛行士が、NASA のインクリメントサイエンスコーディネータによる実験組合せ（他実験との干渉および各極の方針）において割り当てられ、ISS 計画参加5極すべての同意後、被験者候補が選定された。被験者候補者に対しては、後述するごとく経頭蓋ドップラ血流の描出が可能であることを確認し、最終的に被験者とした。

３．５．２ 被験者等への説明内容および方法

代表研究者が、倫理資料で承認された同意文書に基づき、スライド等も用いて被験者候補に対し、電話会議にてインフォームドコンセントを行った。研究参加の同意が得られた場合には、同意文書に被験者ならびに研究代表者が両名で、NASA のインクリメントサイエンスコーディネータを介し署名を行った。

３．５．３ 拒否または辞退への対応

本研究への参加は、被験者本人の自由意思に基づくものであり、同意しない場合でも何ら不利益を生じることはなく、参加同意後でも、同意の取り消しが可能であり、被験者に不利益を何ら被ることはない旨を説明した。

3．6 実験内容

被験者スクリーニング

実験参加の同意が得られた被験者に対して、JAXA 筑波宇宙センター（日本実験棟「きぼう」モジュールのシステム訓練時）または NASA ジョンソン宇宙センターにおいて、経頭蓋ドプラ血流が描出可能かスクリーニングを実施して、被験者要件を満たしていることを確認した。

測定のための NASA ジョンソン宇宙センターの実験室整備

図3に示すごとく、日本大学医学部衛生学分野の研究室より NASA ジョンソン宇宙センターに輸送した測定機器を配置した。

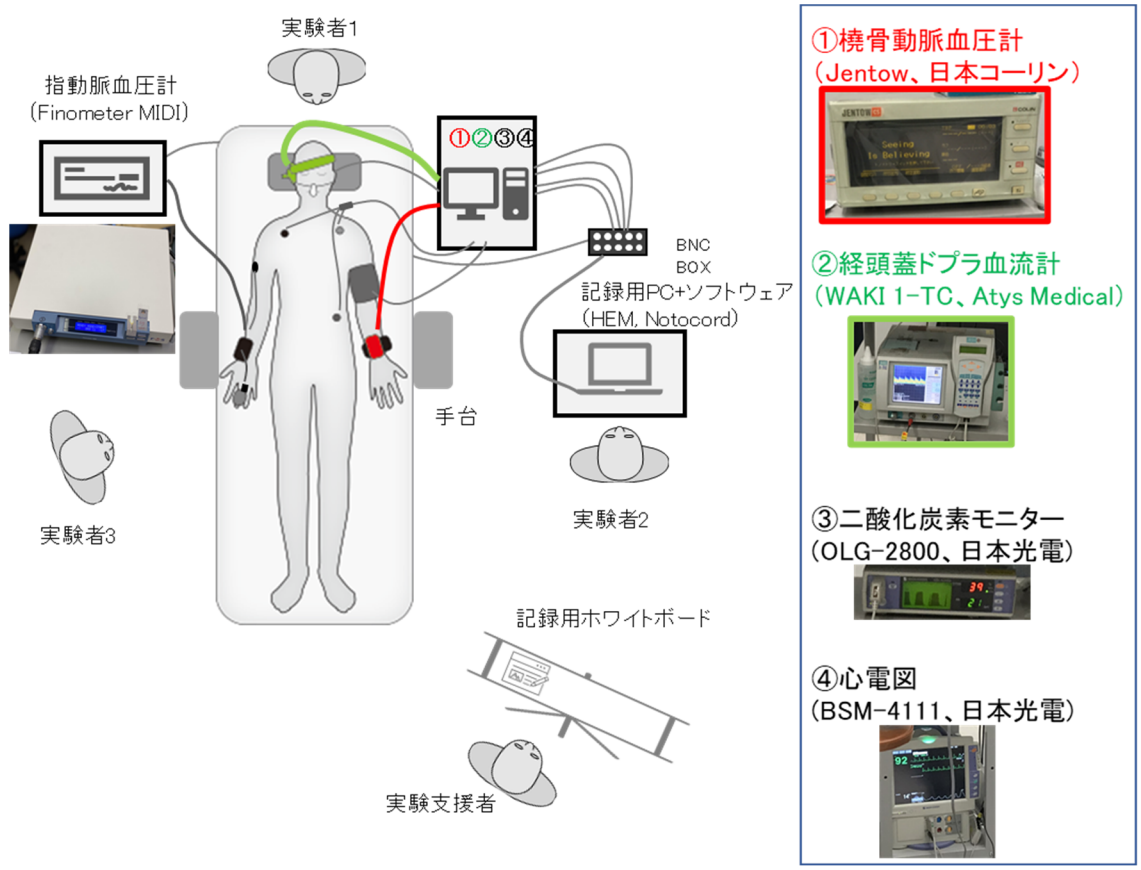


図3 NASA ジョンソン宇宙センター内実験室における測定機器等の配置

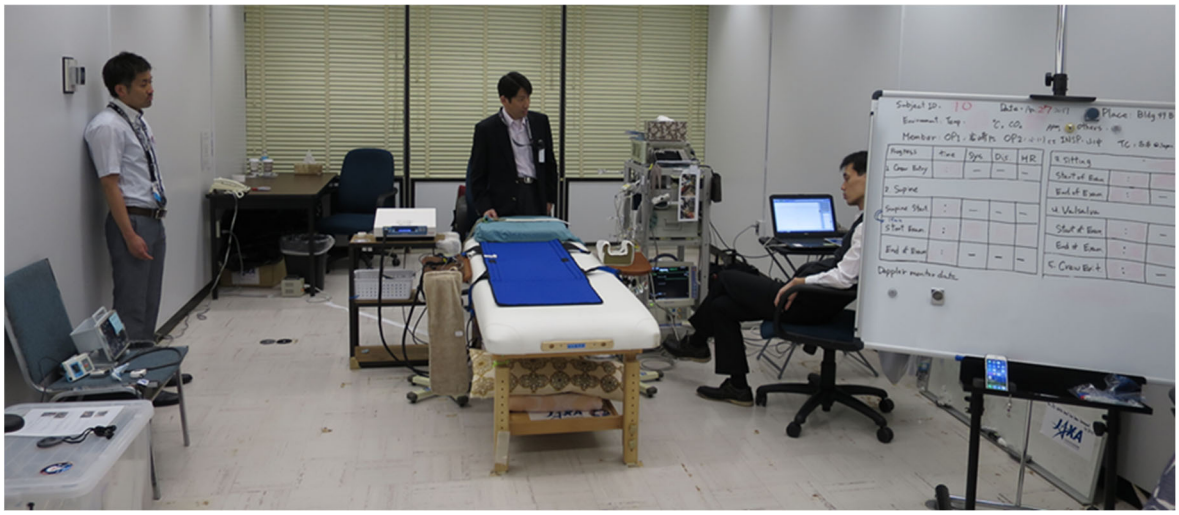


図4 NASA ジョンソン宇宙センター内実験室全景

実験実施のタイムスケジュール

被験者ごとの実験実施のタイムスケジュールとしては以下の図に示す通りであった（図５）。

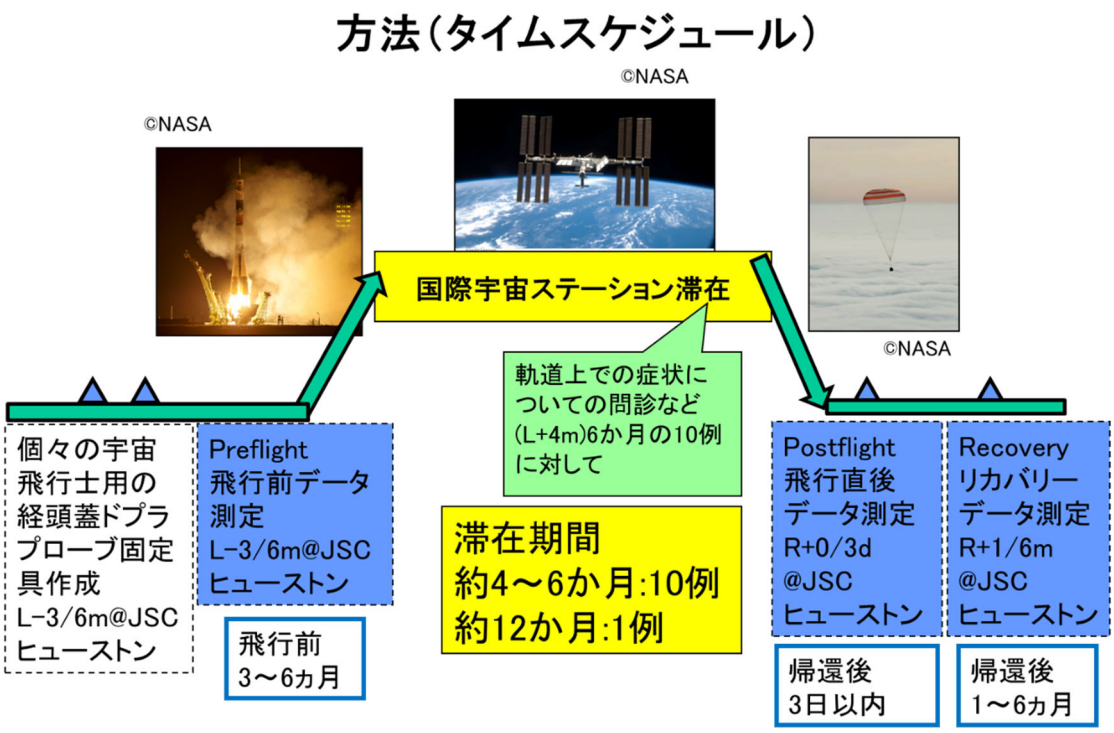


図５　実験実施のタイムスケジュール
L－3/6m（打上げ 3～6ヵ月前）、R＋0/3d（帰還 0～3 日後）、R＋1/6m（帰還 1～6ヵ月後）
JSC：Johnson Space Center（NASA ジョンソン宇宙センター）

概略としては、打上げ 3～6ヵ月前、NASA ジョンソン宇宙センターの実験室に測定実験 BDC のために宇宙飛行士が初回に来訪した際に、まず個々の宇宙飛行士用の経頭蓋ドプラ固定具を作成し、測定シグナル・データの確認、次回データ測定時のデータ再現性確認、および、被験者の実験への慣れのための測定を実施した。

次の打ち上げ 3～6 ヵ月前の飛行前データ測定、および、地球帰還 0～3 日後の飛行直後のデータ測定、および、地球帰還後 1～6 か月後のリカバリーのデータ測定は、完全同一のプロトコールにより、原則ヒューストンの NASA ジョンソン宇宙センターにおいて実験を実施した。なお、ドイツ・ケルンにあるドイツ宇宙センターDLR の envihab でも、一部データを取得したが、その場合でも完全同一のプロトコール、同一機種の測定機器により実施した。

なお、飛行直後のデータ測定の期間を、地球帰還 0~3 日後としたのは、文献１の報告に、視機能の異常および脳脊髄液圧が高値を示した例は、少なくとも帰還後 12 日は脳脊髄液圧の高値が残存していたと報告されていたためである。

各測定実験は日本大学より３名の実験者が研究支援の JSF や JAXA のスタッフとともに NASA ジョンソン宇宙センターに出張し、一回の出張につき概ね一週間程度滞在して、複数回の測定実験を実施した。

個々の実験の詳細について、以降順に説明を加える。

初回の測定実験 BDC、経頭蓋ドプラ固定具作成

打上げ3～6か月前にNASAジョンソン宇宙センターにおける初回の測定実験BDCでは、まず、個々の宇宙飛行士ごとのドプラプローブの固定具を作成した。この固定具は、宇宙飛行前、宇宙飛行後、複数回の中大脳動脈血流速度の繰り返し測定において同一ヶ所・同一角度でプローブを装着するために、ドプラテクニックの基本に則り被験者の側頭部において最も流速が速く強いドプラシグナルが検出される位置にプローブをあてた状態で、耳栓及び医療用の歯科用印象剤を用いて耳から側頭部の型取りをして作成した（図6、図7）。この方法は、以前のニューロラボミッション時に使用した方法（文献9）をさらに改良したものである。

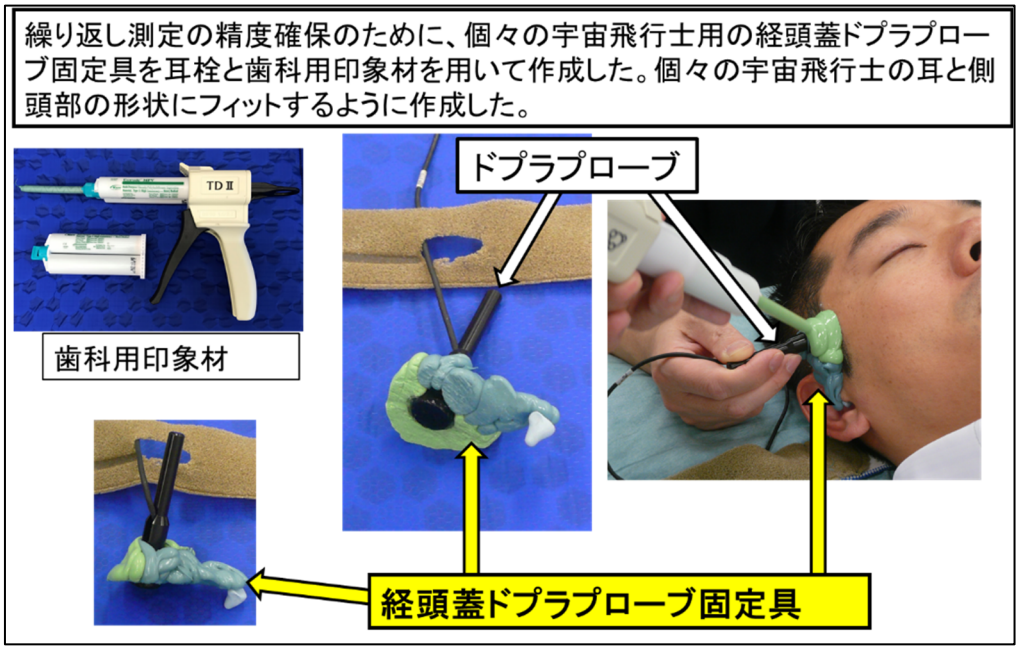


図6　宇宙飛行士ごとの経頭蓋ドプラプローブの固定具の作成

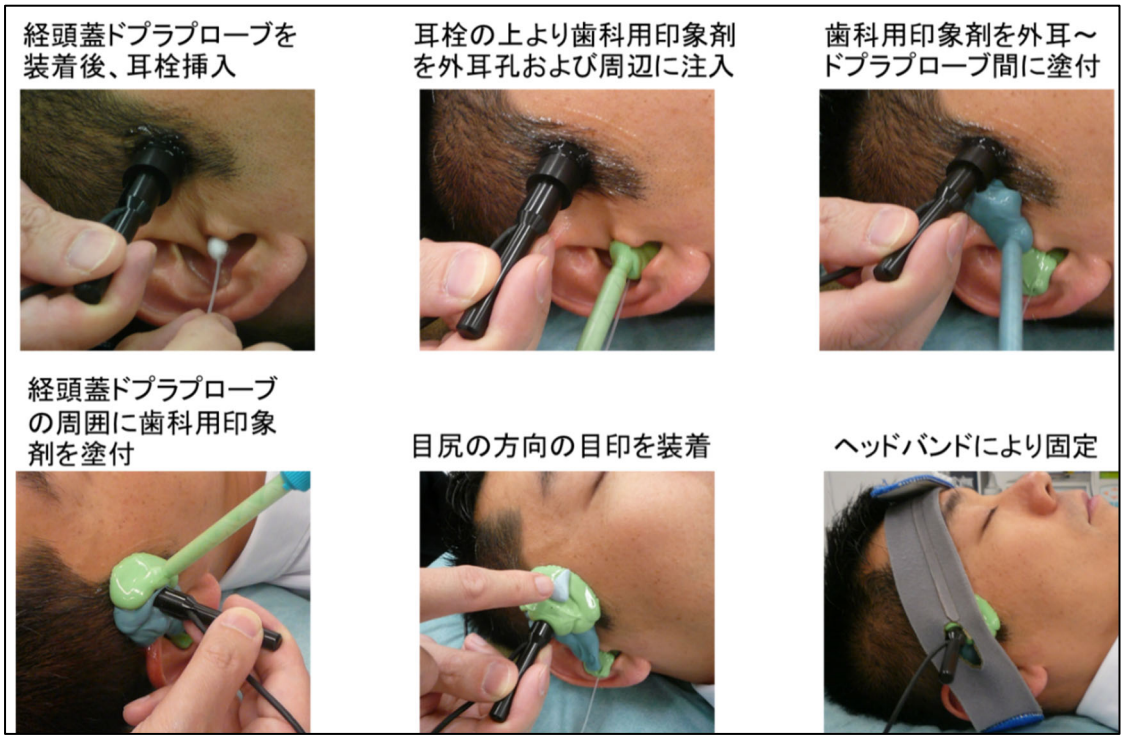


図7　経頭蓋ドプラプローブの固定具の作成手順

仰臥位で 15 分間以上安静がとれた後に、測定シグナルが適切に取得できていることを確認するため、さらに次の測定実験 BDC で各種シグナルが繰り返し同様に測定できていることを確認するため、また被験者が実験に慣れるため、仰臥位（6 分）、座位（6 分）、およびバルサルバ法（20mmHgX15 秒、2 回）において、心電図、中大脳動脈血流速度、血圧波形、呼気二酸化炭素濃度波形を記録した。全ての被験者において予定時間 60 分以内で完了した。

飛行前測定（Preflight）、飛行後測定（Postflight）、リカバリー後測定（Recovery）

次の飛行前測定実験 BDC（Preflight、打上げ 3～6 か月前）、および飛行後測定実験 BDC（Postflight、地球帰還後 3 日以内）、リカバリー後測定実験 BDC（Recovery、地球帰還後 1～6 ヵ月）は、いずれも同様に以下のように行った。

ベッド上で仰臥位となり、橈骨動脈血圧計、指動脈血圧計、心電図を装着した。また、先に作成した被験者ごとの固定具とヘッドバンドを用いて経頭蓋ドプラプローブを側頭部に装着した。呼気二酸化炭素モニターを鼻孔と口の上に装着した（図８）。橈骨動脈血圧の値は左上腕にまいた血圧計の 3 回以上の測定値により自動的に校正が行われた。

仰臥位になってから 15 分間の安静がとれた後に、仰臥位のデータを 6 分間記録した。

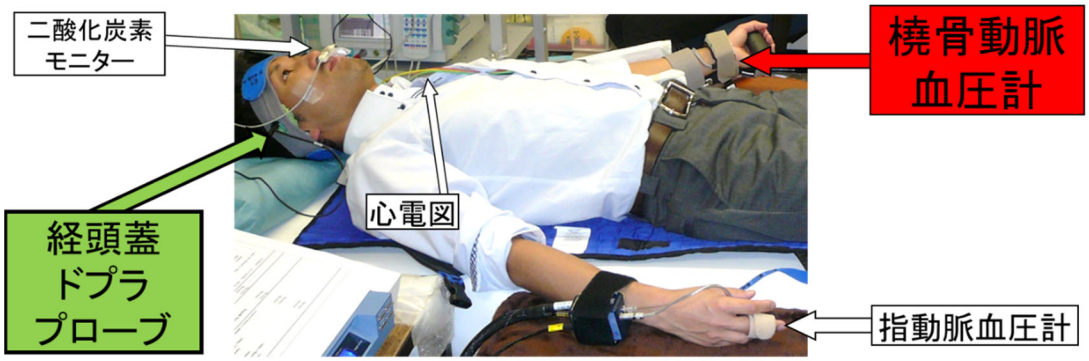


図８　仰臥位での測定と装着した測定機器

仰臥位の測定が完了した後、実験者がサポートしながら、被験者が座位に能動的に体位変換した（図９）。

図９　座位への体位変換

座位に体位変化した後、橈骨動脈の位置が心臓レベルの高さになるようにアームスタンドを調整した。経頭蓋ドプラ血流計のシグナルにノイズが入った場合などではヘッドバンドの強さなどを調整しなおした。橈骨動脈血圧の値は左上腕にまいた血圧計の測定を再度行い、その値により校正が行われた。すべてのシグナルが測定できていることを確認し座位のデータを 6 分間記録した（図10）。

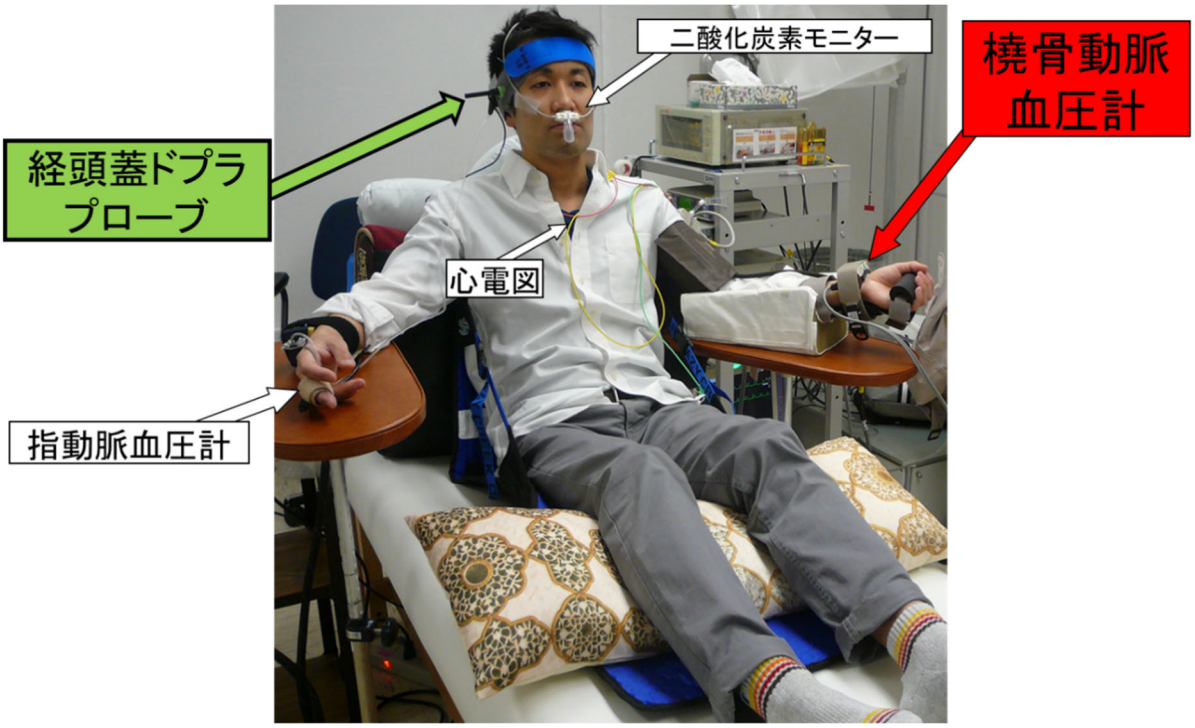


図10　座位の測定

測定の最後にバルサルバ法（20mmHgX15 秒、2 回）を行い、中大脳動脈血流速度、血圧波形が胸腔内の圧変化によって上昇、下降し、それらをきちんと記録できていることを確認して測定終了とした（図11）。

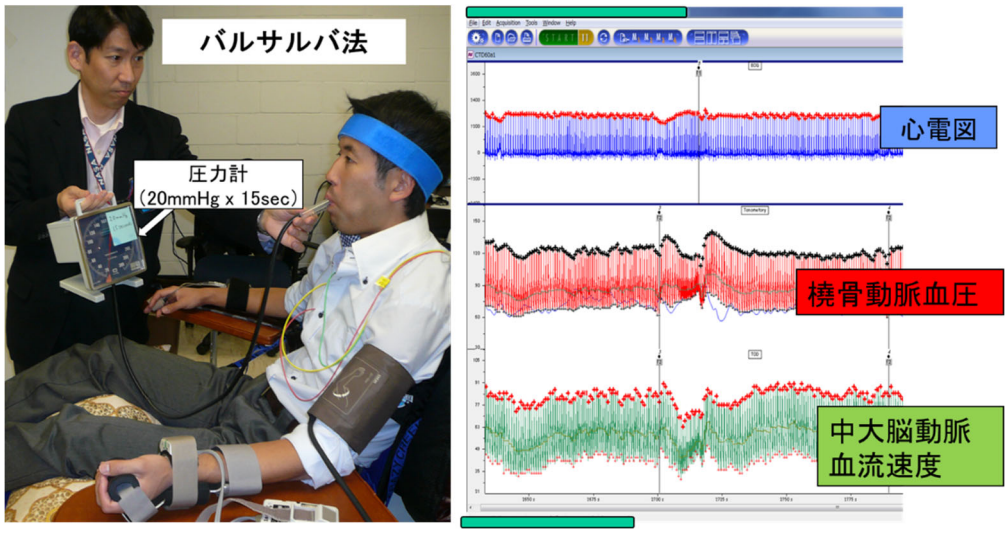


図11　バルサルバ法での波形の急速変化の追従性の確認

その後、測定機器を外し、軌道上での顔面浮腫様顔貌の確認のための顔写真の撮影を行った。11 例の宇宙飛行士のすべての測定において予定時間の 45 分以内で完了した。

測定実験 BDC 時の制約

全ての被験者に対しデータ測定の 12 時間前より、ニコチン、カフェイン、アルコールの摂取を禁じた。また、1 時間前より循環系に影響を及ぼす薬剤の摂取を、4 時間前より食事を、12 時間前より運動と船外活動訓練を禁じた。これらの制約が守られていたかは、実験時に本人に口頭で確認するとともに、前述のデータシェアプランの運動履歴、薬剤使用歴からも確認した。

測定データの解析（頭蓋内圧の解析）

各測定実験 BDC で得たデータは、後日オフラインで解析した。各々の波形の区間平均値や、動脈血圧波形と脳血流速度波形の関係解析から頭蓋内圧の推定値を算出した。

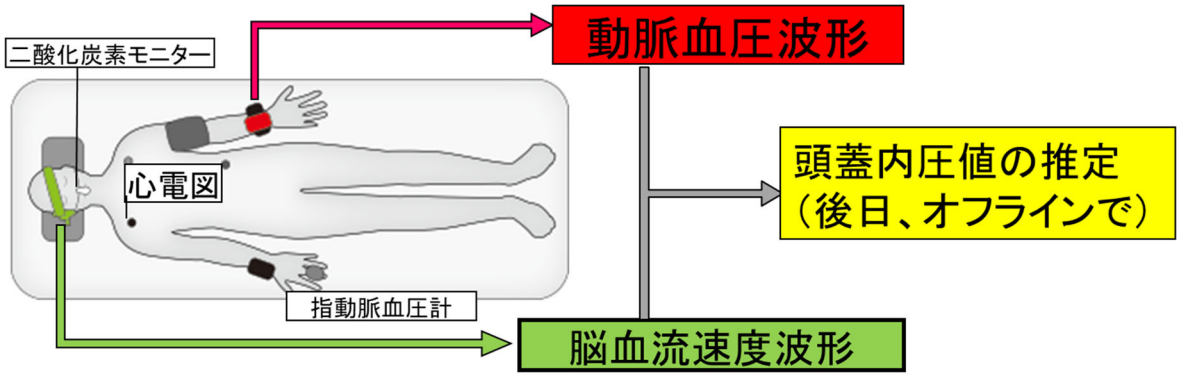


図１２　測定シグナルとデータ解析のシェーマ

頭蓋内圧の解析は数理モデルを用いて脳血流速度波形と動脈圧波形の関係性から推定値を得た（文献８）。特に、フェーズ移行審査の際のコメントを受けて、本研究実施中に並行して実施された解析方法の精度向上のための混合 Gaussian 分布のモデル（文献１２）と pseudo-Bayesian estimation アプローチを適応した（文献１３）。まず、一区間 20 心拍の重ならない 5 区間の動脈血圧波形と脳血流速度波形から５個の頭蓋内圧推定値を得てベースライン値として、その後に連続的に全データ区間の変化を推定し、最後に全区間の平均を算出した。この手法により算出した頭蓋内圧推定値は、以前の研究（文献１３）において、14 名の患者（2～25 才）の脳の侵襲的測定圧と良好な相関（bias：0.6 mmHg、limits of agreement：－6.6 ＋7.7 mmHg）を示した。この結果は脳神経外科の臨床で一般的に用いられているコッドマン脳実質センサーの精度（bias：0.3 mmHg、limits of agreement：－6.7 ＋7.1 mmHg （文献１４）と同等である。

座位の頭蓋内圧値の推定には、動脈圧値は中大脳動脈の高さに静水圧を考慮し補正した値を用いた（成果リスト原著論文（１））。その際には、個々の宇宙飛行士のデータ測定実験 BDC の日に最も近い採血日の血液ヘモグロビン濃度を用いて血液の比重について先行研究（文献１５）をもとに算出した。

なお、これらの頭蓋内圧推定を盲検とするため、頭蓋内圧解析担当者には、データ測定のタイミング（飛行前、飛行後、リカバリー、仰臥位、座位）や飛行士の情報はブラインドにしたデータのみを渡して解析を実施した。

搭乗期間中の軌道上実験

ISS 滞在 4 ヶ月目（+1/-1 ヶ月）に1回、国際宇宙ステーション日本実験棟「きぼう」モジュール内で、Medical Laptop（宇宙医学実験支援システム）、USB HD カメラ等を用い、筑波宇宙センターの UOA から、軌道上の被験者に対して、顔面浮腫の状態の視診および問診（顔面浮腫関連症

状）、頭蓋内圧亢進関連症状の問診を行った。また、顔の画像を記録した。軌道上実験操作手順は表4に示す。

表4 **軌道上実験操作手順**

	操作内容	
	被験者（宇宙、ISS きぼう）	**研究チーム（地上、筑波宇宙センター）**
1	メディカルラップトップ/USB HD カメラ/ヘッドセットなどの準備	筑波宇宙センターの UOA の設備準備
2	研究チーム（地上）による顔面浮腫の所見確認のための写真撮影（①クルー正面・②右側面）	写真撮影の指示
3	メディカルラップ上の画像を確認	画像をダウンリンクし、顔面浮腫所見の確認
4	PI-クルー間の限定回線（画像を見ながらの音声）の設定	
5	問診、視診を受ける	顔面浮腫や頭蓋内圧の上昇に関連する症状のインタビューを行う（顔面が腫れている感覚、鼻閉感、頭痛、 頭重感、就寝中に息苦しいかったか？など）
6		所見の記録とダウンリンク画像の受領

データシェアプラン Data Share Plan (DSP)

健康管理目的で実施されている眼科検査（MEDB1.10：視力検査、色覚、視野検査、眼圧、眼底検査、・光干渉断層計検査 OCT、超音波検査など）の結果から、視神経乳頭浮腫が発生したか、脈絡膜ヒダが発生したかなどの NASA 検眼士（オプトメトリスト）の診断報告をデータシェアプランにより得た。

また、MEDB2.1（血液検査、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット、赤血球数）、MEDB5.2/ASCR（運動履歴）、身長/体重も、データシェアプランにより得た。 さらに、NASA の MEDB1.1/1.3 により薬剤使用歴、帰還時の輸液や投薬の情報も得た。

統計解析

データは平均±標準偏差（standard deviation）で表示した。繰返し測定の実験デザインを考慮し、反復測定一元配置分散分析（時間因子：飛行前 Preflight、飛行後 Postflight、リカバリー後 Recovery）を適応した。

正規分布の検定は Kolmogorov-Smirnov test を用い、正規分布が仮定できないデータに関しては Friedman test を用いた。飛行前 Preflight、飛行後 Postflight、リカバリー後 Recovery の多重比較は Student-Newman-Keuls 法を用いた。仰臥位と座位のデータを合わせて検定を行うと等分散もしくは正規分布が仮定できなかったため 2 元配置分散分析は行わずに、仰臥位と座位の比較は Mann-Whitney U test に Bonferroni 調整を加えて行った。解析ソフトは SigmaPlot software version 14.0 (Systat Software Inc, San Jose, CA, USA)を用いた。

脳血流速度とヘモグロビン濃度の間の相関解析には R（The R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria）を用いて the Repeated Measures Correlation Analysis （文献16） を Bakdash and Marusich 作成の「rmcorr R package」（文献17）を利用して実施した。

P 値 0.05 未満を有意とした。

4. 実験結果及び成果

4．1　被験者の概要

約4年で 11 例の全てのデータ測定実験を完了した。その後、約 1 年で全てのデータシェアプランの結果を NASA より受取り、解析を完了させた（男性 10 名、女性 1 名）（滞在期間：約 4～6 か月 10 例（150 ± 28　日）、約 12 か月 1 例（文献11）。

年齢は打ち上げ時 46 ± 7　才であった。身長、体重は、打ち上げ 30 日前に 178.7　±　6.1 cm、82.5　±　8.5 kg で、地上帰還日には 179.4　±　6.7 cm、80.1　±　9.3 kg であった。

動脈血圧波形、脳血流速度波形のほか各波形は、下の図13のごとく飛行前後で類似した形態のノイズも少ない安定したものが記録できた。

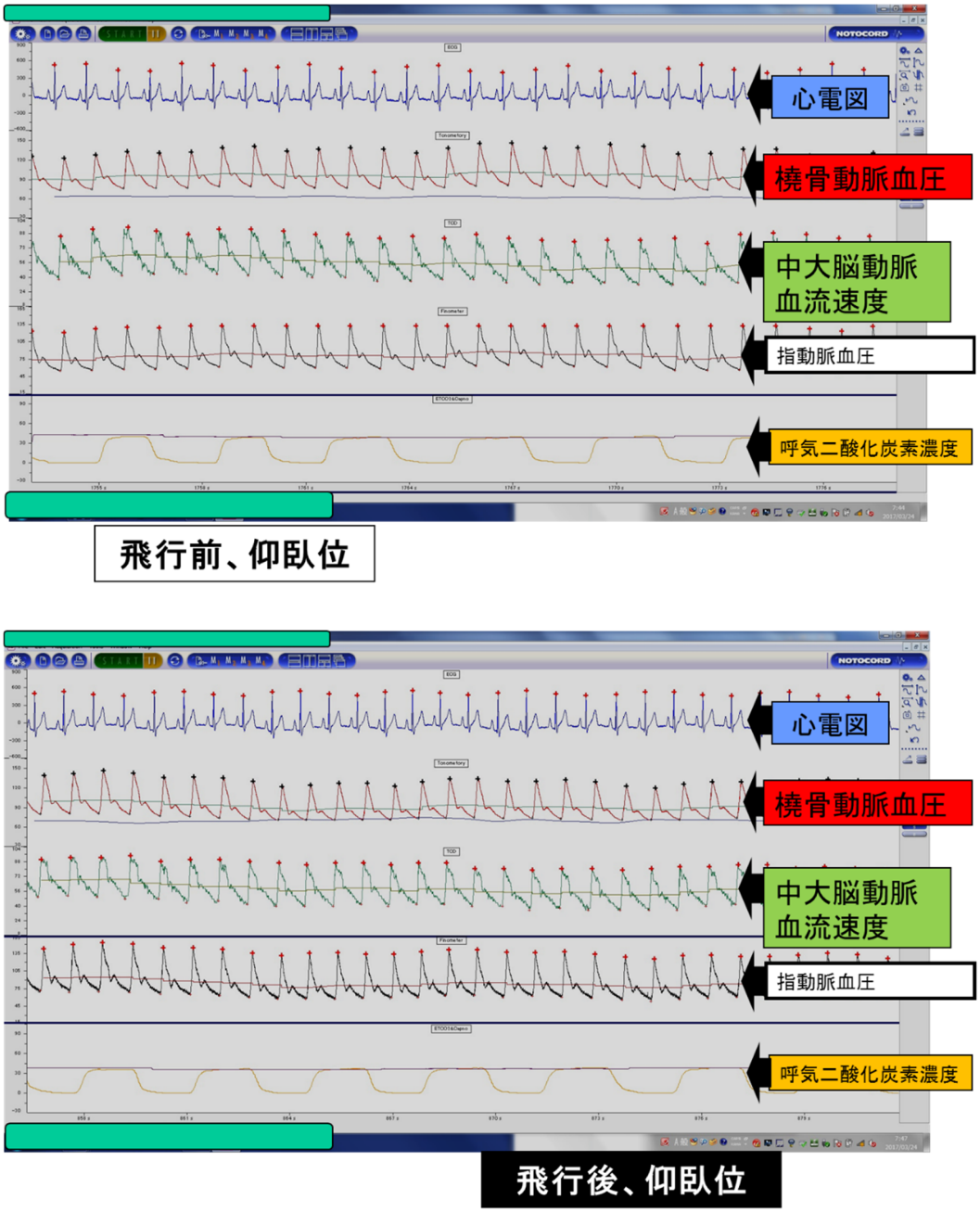


図13　代表例の記録波形（仰臥位）

上段が飛行前での記録波形であり下段が飛行後（帰還後 2 日 R+2）の記録波形である。

4．2　仰臥位での頭蓋内圧推定値の結果

飛行前に比べ飛行後の頭蓋内圧推定値が明確に上昇した例は、1 例のみであった**（図１４B の飛行士番号 9 番：シンボル X ）。たしかに仮説の通り、この頭蓋内圧推定値が明確に高値（17.7mmHg）にまで上昇したこの 1 例では SANS 兆候（光干渉断層計検査 OCT 所見：両側眼球の視神経乳頭浮腫、脈絡膜ヒダ）を認めた。**そして、リカバリーでは、正常値に戻っていた。

一方で、**全体としては基礎生理学的な仮説に反し、予想外の結果として、ほとんどの例（11 例中 10 例＞90%以上）で、頭蓋内圧が飛行前に比べ、飛行後に低下か不変であった。**特に、**眼に SANS 兆候などの異常所見のなかった 9 例（図１４A）ではグループ平均で統計学的に有意に飛行後に頭蓋内圧が低下し、リカバリーで飛行前と有意差のない値に戻っていた。**

つまり、「宇宙飛行中の‘体液シフト’によって、一様に宇宙飛行士の頭蓋内圧値が飛行前に比べ飛行後に上昇することはなく、むしろ多くは低下する」ことが示唆された。

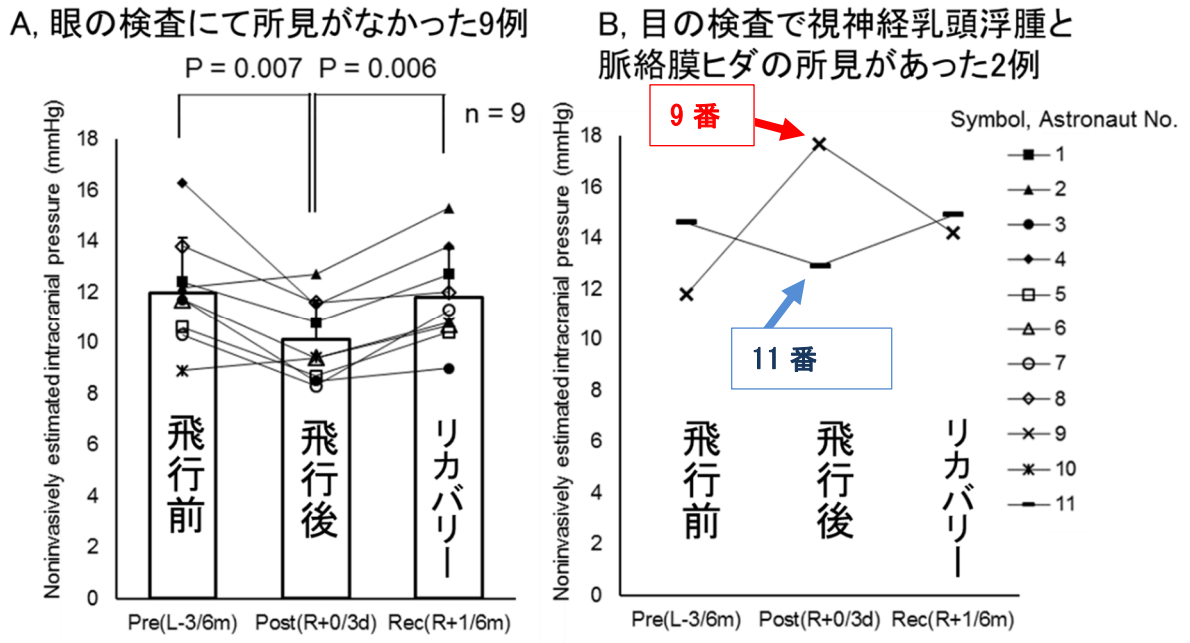


図１４　仰臥位の頭蓋内圧推定値の変化 (n=9 and n=2)（成果リスト原著論文（１）から改変）
飛行前：Pre(L-3/6m) (打上げの 3～6 カ月前)、飛行後：Post(R+0/3d) (地上帰還後 0～3 日)、リカバリー：Rec(R+1/6m) (地上帰還後 1～6 カ月)

さらに、もう一点予想外の結果としては、**SANS 兆候を示したもう 1 例（図１４B の飛行士番号 11 番：シンボル － ）では、頭蓋内圧が飛行前に比べ、飛行後に低下していた、**ということである。また、この例では Marder らの報告（文献１）と異なり、飛行後の頭蓋内圧値は境界域以下（12.9mmHg）であった。つまり、SANS 兆候示す例においても、飛行後に頭蓋内圧が飛行前に比べ上昇せず、かつ飛行後に境界域以上の値を示さない場合があることが初めて示された。**このことから、宇宙飛行中の頭蓋内圧上昇が SANS の必須の主原因ではない可能性が示唆された。**わずか一例の結果であり、軌道上の頭蓋内圧推定値を得ているわけではないので、この例だけから断定的なことは言えないが、今後は、宇宙飛行中から飛行後にかけての頭蓋内圧の異常上昇以外の SANS の原因を検討する研究が重要と思われた。その一つに、4．4項で示す本実験で得られた「地上における座位などの垂直姿勢での臥位に比べた頭蓋内圧の低下」が宇宙飛行中にはなくなることがあげられる。

4．3　宇宙飛行中の体液シフト症状と頭蓋内圧推定値の変化の結果

飛行中 4 か月目のインタビューにおいて 3 例で、頭部方向への体液シフトの症状である鼻閉と顔面の腫れた自覚感覚の両者が持続していたことが認められた。またこれらの例では、視診と顔写真で浮腫様の顔貌が確認された。

しかし、これら症状ある 3 例のうち **2 例では予想外にも飛行中に眼球の異常変化を認めず、また頭蓋内圧推定値も飛行前に比べ飛行後に低下していた。**

これまでの教科書的な記載としては（文献１８）、宇宙飛行中の頭部方向の体液シフトの症状は、ほとんどの例において 1 か月余りで消退すると言われていた。しかし、近年国際宇宙ステーションに長期滞在した宇宙飛行士では長期に症状が持続する例もあることが宇宙飛行士自身からも語られている（文献１９）。そして、**本研究において宇宙飛行開始から 4 か月という長時間が経過した時点でも軌道上で頭部方向への体液シフトによる鼻閉と顔面浮腫の症状が持続する例が少なからず存在することが判明した。**

一方で 3 例中 2 例は眼球の SANS 兆候を発症せず、また飛行前に比べ飛行後に頭蓋内圧が低下しており、つまり、これらの結果も、長期におよぶ頭部方向への体液シフトが、SANS 兆候や飛行後の頭蓋内圧の上昇を必ずしも引き起こさない可能性を初めてデータとして示した。

4．4　仰臥位と座位の頭蓋内圧推定値の変化の結果

仰臥位から座位への体位変換による頭蓋内圧推定値の変化は、飛行前、飛行後、リカバリーのいずれの測定実験においても、同様に有意な低下（約 4～6mmHg 程度）を示した（図１５）。一方、座位の値は、飛行前、飛行後、リカバリーの比較では有意な変化を示さなかった。これは、仰臥位に比べ座位では脳血流速度波形のシグナル・ノイズ比率が低かった可能性や、時間的制限から動脈圧のマンシェット測定値によるキャリブレーションが座位では原則 1 回であったことなどが、解析データの精度に影響した可能性が考えられた。

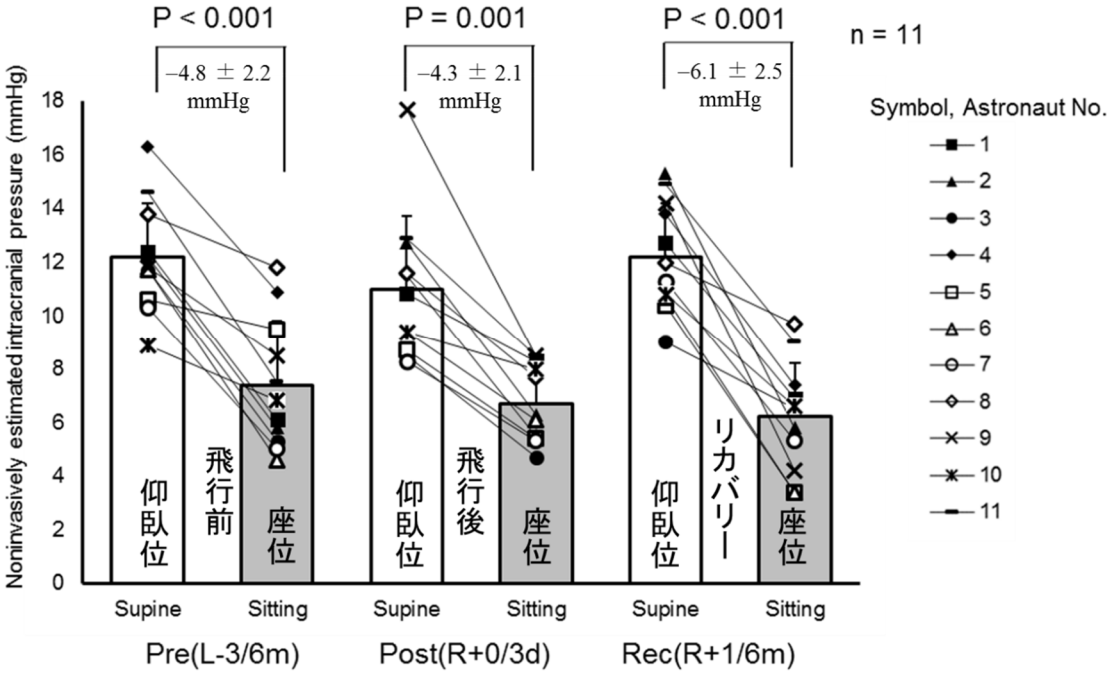


図１５　仰臥位から座位への体位変換による頭蓋内圧変化（成果リスト原著論文（１）から改変）
飛行前：Pre(L-3/6m) (打上げの 3～6 カ月前)、飛行後：Post(R+0/3d) (地上帰還後 0～3 日)、リカバリー：Rec(R+1/6m) (地上帰還後 1～6 カ月)

今回のこの実験の結果は、**脳神経外科などの患者や治療後症例の頭蓋内圧（文献２０～２２）の観察ではなく、健康な宇宙飛行士において、水平に横たわっている状態から座っている垂直姿勢に起き上がると、5mmHg 程度、頭蓋内圧が低下することを、初めて明らかにした。**

この体位変換に伴う頭蓋内圧の低下は、体位変換により頭部が身体に対し地球重力軸の上方に位置するようになったことで、地球重力によって血液や体液が下方に引かれて頭蓋内の静脈血液などの量が減少することで発生している可能性が高い。また、垂直姿勢になって地球重力により発生する頭部と他の身体部位との静水圧差で、頭蓋内の血液や脳脊髄液の圧力が低下することも関係している可能性がある。つまり、この地上での日々の垂直姿勢への体位変換による頭蓋内圧低下は、宇宙飛行中は微小重力のために発生しないと考えられる。そのことが SANS 発症の原因になっている可能性が考えられた。この今回の実験結果から「あらためて仮説として有力になった内容」に関し、次の４．５項で詳述する。

４．５　今回の頭蓋内圧推定値の実験結果から考えられる SANS 発症原因の考察

2011 年の Marder らの報告（文献１）とは異なり、今回の実験では、SANS の兆候（視神経乳頭浮腫、脈略膜ヒダ）が認められた 2 例のうち 1 例では、飛行後の頭蓋内圧値が明らかな高値でなく、かつ、むしろ飛行前に比べ低下していた。このことから、宇宙飛行中の頭蓋内圧上昇が SANS の必須の主原因ではない可能性が示唆された。

さらに、軌道上実験で頭部方向体液シフトによる鼻閉と顔面浮腫の症状が長期に持続していたことが判明した 3 例中 2 例でも SANS 兆候を発症せず、かつ飛行前に比べ飛行後に頭蓋内圧が低下しており、これらの結果も、長期におよぶ頭部方向の体液シフトが、SANS 兆候や飛行後の頭蓋内圧の上昇を引き起こさない場合があることを示した。

一方で仰臥位から座位への体位変換による頭蓋内圧変化については、11 例全ての宇宙飛行士において、全てのデータ測定において、横たわっている状態から座っている状態に起き上がると、頭蓋内圧が 5mmHg 程度低下することが明らかとなった。この体位変換にともなう頭蓋内圧低下は、重力のある地上では毎日繰り返されていると考えられる。つまり、地上で健康な宇宙飛行士は一日の大半（寝ている時以外、24 時間の 3 分の 2 程度）は、仰臥位に比べて数 mmHg、頭蓋内圧が地球重力の作用で低下し、この頭蓋内圧の低下により視神経周囲の脳脊髄液が頭蓋内方向に吸引されて視神経周囲の圧力も低下していると考えられる。しかしながら、宇宙では微小重力であるため、体位変換時のこの頭蓋内圧と視神経周囲の圧力低下の現象がまったく起こらない状態が持続していると考えられる。そのことが SANS 発症の原因になっている可能性が考えられた。

今回の実験結果から、あらためて仮説として有力になった、この「宇宙飛行中は体位変換により頭蓋内圧が低下する時間帯が無く、日内変動がほぼない」が実際に宇宙飛行中に起きているかを検証するためには、軌道上で頭蓋内圧測定をすることが必要となる。

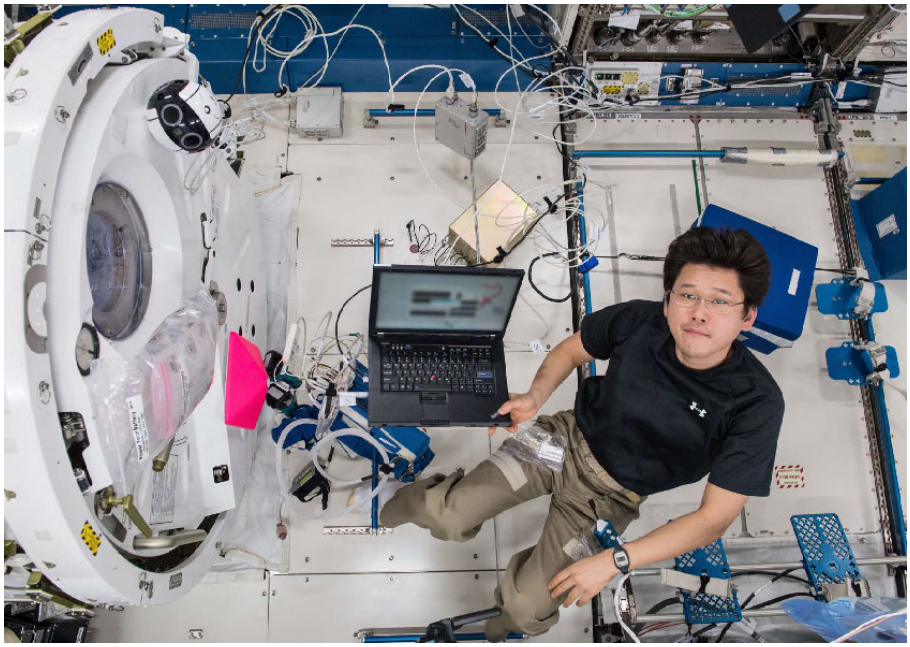
４．６　今回の成果の活用、波及効果

今回の実験の結果、地上で宇宙飛行士に対し非侵襲的に頭蓋内圧を推定する手法を確立できたため、この手法を、宇宙飛行中に応用することが可能であると考えられた。本方法を宇宙飛行中に用いることができれば、今回宇宙飛行前後で認められた頭蓋内圧の変化が宇宙飛行中にも発生しているのか検討が可能となる。また、本法を宇宙飛行中に用いる実験を行えば、前述の「宇宙飛行中は体位変換により頭蓋内圧が低下する時間帯が無く、日内変動がほぼない」という仮説を検証する研究も行えると思われる。そして、今後 SANS のさらなる病態解明に向けて意義が大きいと考えられる。

またさらに将来、半年の宇宙滞在を超える宇宙開発ミッションにおいて宇宙飛行士の健康障害予防のために本法をもちいることも有用であると思われる。具体的には宇宙飛行中もしくは宇宙飛行後に本法を用い、頭蓋内圧の異常上昇が認められた宇宙飛行士に対しては、頭蓋内圧を下げる処置（例：下半身陰圧負荷、遠心人工重力、過換気低二酸化炭素）を行うなどが想定される。

実際に 2018 年より、**本研究で樹立した頭蓋内圧測定の原理を利用して国際宇宙ステーションに滞在している宇宙飛行士の頭蓋内圧測定が可能かどうか、そのコンセプトの実証を、別の宇宙飛行実験「長期宇宙滞在がヒトの脳循環調節機能に及ぼす影響（Human cerebral autoregulation during long-duration spaceflight）」において併せて実施中である。**この宇宙飛行実験においては、軌道上で脳血流速度、血圧波形の取得を実施しており、その研究成果より検討可能と考えている。**これが実証できれば、国際宇宙ステーション内での宇宙飛行士の頭蓋内圧簡易測定の実現に本格的につながることになる。**

下の写真（図１６）は、軌道上で脳血流速度、血圧波形を取得するために用いる測定装置の最初の動作確認を実施した際の記録写真である。



http://jda.jaxa.jp/result.php?lang=j&id=5273870c18ab3fde314efb7f3deb61c3

図１６ 「きぼう」船内にて、Cerebral Autoregulation のチェックアウトを行う金井宇宙飛行士と Int-Ball（JAXA デジタルアーカイブス 50P2018002258）
中央の PC が制御用ソフトの入った PC であり、その PC の左下青い装置が連続血圧計、PC 右上の金色の装置が経頭蓋ドプラ血流計である。（クレジット：JAXA/NASA、撮影日:2018/02/22）

また、宇宙飛行中の微小重力が、頭蓋内圧の異常上昇の有無にかかわらず SANS 発症に関与しているのであれば、それを予防するためには、人工的に疑似重力を負荷する「遠心人工重力」の宇宙での応用が必要となってくると考えられる。 実際に、JAXA 開発の遠心機による軌道上でのマウスの人工重力の実験により、宇宙飛行中の眼の網膜の変化に対して遠心人工重力は予防的に働くことが示されている（文献２３）。我々は、この遠心人工重力をヒトに負荷する装置を有しており、これを用いて短時間の 1.5～2Gz 程度の負荷がヒトの脳循環に及ぼす影響を検討しており（文献２４、２５）、このような装置をまずは研究レベルで宇宙飛行中に応用し、その際に今回の頭蓋内圧の推定方法を用いることも有用であろうと考えられた。

4．7　サクセスクライテリアに関する達成度

以上の成果から、サクセスクライテリアに対する達成度を以下の通りまとめる。

表5　サクセスクライテリア達成度

サクセスクライテリア		達成度
ミニマムサクセス	以下をすべて実証すること。 国際宇宙ステーション長期滞在前後の動脈圧波形と脳血流速度波形を高時間解像度で記録し、頭蓋内圧推定値および長期滞在前後の変化を確認できる。	◎：高度に達成 1）全例（11 例）で、国際宇宙ステーション長期滞在前後の動脈圧波形と脳血流速度波形を高時間解像度で記録し、その波形を用い、頭蓋内圧推定値を算出できた。 2）**世界で初めて、宇宙飛行前後の頭蓋内圧推定値の変化を確認できた。**特に 1 例で明らかな高値への上昇を認めた。 一方、**当初予想とは異なる結果として、眼に異常がなかったグループでは、飛行後に統計的に有意な低下を認め、飛行後リカバリー測定で、飛行前と同等の値に戻ることも確認できた。**実際の宇宙飛行実験を行ったことにより捉えられた新たな結果であった。
フルサクセス	上記に加え、以下の仮説を実証すること。 頭蓋内圧推定値と、視機能検査データの解析を行い、長期滞在後に頭蓋内圧推定値が高値を示した例では、視神経乳頭浮腫、視機能低下、遠視化などが認められる。	◎：高度に達成 **仮説の通り、長期滞在後に頭蓋内圧推定値が明らかな高値を示した1例で、SANS 兆候である視神経乳頭浮腫、脈絡膜ヒダの眼の異常変化を認めた。** 一方で、**当初予想とは異なる結果として視神経乳頭浮腫、脈絡膜ヒダの眼の変化を認めた別の1例では、飛行前に比べて飛行後に頭蓋内圧推定値が低下した。この宇宙飛行実験で初めて捉えられた結果から、飛行中の頭蓋内圧の異常上昇が SANS の必須の原因ではない可能性が示唆された。**
エクストラサクセス	以下のいずれかを達成すること。 1）長期滞在により大半の宇宙飛行士の頭蓋内圧が亢進し、視神経の軸索流や血液循環が阻害され、視機能障害のリスクとなる。そのリスクは滞在期間が長くなるほど大きくなる、という仮説が立てられる。 2)生理的対策の具体化に向け、国際宇宙ステーション内での測定、頭蓋内圧推定の簡易測定法を提案できる。	○：達成 1）ほとんどの宇宙飛行士（90%以上　10/11　人）で頭蓋内圧が上昇せず、予想外であったが**仮説と逆の結果となった**。これとは別に、地上で仰臥位から**座位への体位変換により頭蓋内圧が低下するのを、健康な宇宙飛行士で初めて捉えた。**その値は、患者対象の侵襲的な先行研究と類似することが確認できた。**地上での体位変換による頭蓋内圧低下が長期の宇宙飛行中に無くなることが SANS 発症の原因の一つと考えれるという仮説を、あらためて有力な候補として示唆できた。** 2）今回、地上で宇宙飛行士に対し非侵襲的に頭蓋内圧を推定する手法を確立できた。このことから、**SANS 発症の原因究明や対策の具体化に有用と思われる宇宙飛行中の頭蓋内圧推定のために、本研究で用いた方法を提案できると考えた。**特に現在、本研究で樹立した頭蓋内圧推定の原理を利用して**国際宇宙ステーションに滞在している宇宙飛行士の頭蓋内圧の推定が可能か、そのコンセプトの実証の研究を進めている**（現在実施中の別の宇宙飛行実験 Cerebral Autoregulation において軌道上で脳血流速度と動脈血圧波形の取得を進めており、その結果より検討可能と考えている）。これが実証できれば、国際宇宙ステーション内での宇宙飛行士の頭蓋内圧簡易測定の実現に本格的につながることになると考える。

４．８　その他の科学的成果

脳血流速度の変化

脳血流速度（中大脳動脈の血流速度）は飛行前に比較し、飛行後に有意に増加し、その後、リカバリーで飛行前と有意差のない値にまで回復した（図１７）。

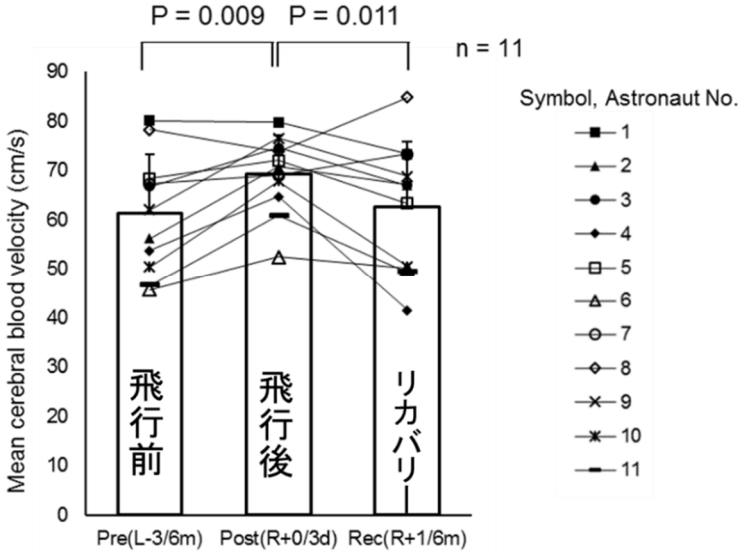


図１７　脳血流速度の変化（成果リスト原著論文（１）から改変）
飛行前：Pre(L-3/6m) (打上げの 3～6 カ月前)、飛行後：Post(R+0/3d) (地上帰還後 0～3 日)、リカバリー：Rec(R+1/6m) (地上帰還後 1～6 カ月)

血液中のヘモグロビン濃度の変化

血液中のヘモグロビン濃度は、飛行前に比較し、飛行後に有意に低下し貧血傾向となり、その後リカバリーで飛行前値と有意差はあるものの回復した（図１８）。

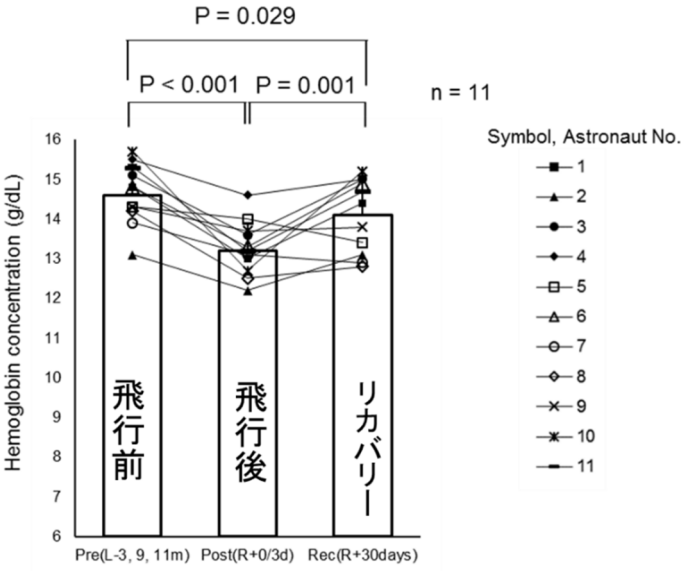


図１８　ヘモグロビン濃度の変化（成果リスト原著論文（１）から改変）
飛行前：Pre(L-3, 9, 11m), (打上げの 3、9、11 カ月前)、飛行後：Post(R+0/3d) (地上帰還後 0～3 日)、リカバリー：　Rec(R+30days) (地上帰還後 30 日)

脳血流速度とヘモグロビン濃度の関係

ほとんどの宇宙飛行士（11 人中 9 人）は飛行後に、ヘモグロビン濃度の低下と脳血流速度の上昇を呈した（図19A）。そして、Repeated Measure Correlation Analysis の結果、脳血流速度と血液ヘモグロビン濃度は有意な負の相関を示した（図19B）。つまり、宇宙飛行後にヘモグロビン濃度が低下するのに対して、脳血流速度が増加したと考えられた。これは、長期宇宙飛行にともなって宇宙飛行後にヘモグロビン濃度が低下して貧血となり（文献26～28）、そのため血液中の酸素含量が減り、それを代償し脳への酸素供給量を一定に保つため、人体の脳血流自動調節が働いて脳血流量を増加させたと考えられた。つまり言い換えれば、長期宇宙飛行にともない飛行後には「宇宙飛行貧血」と呼ばれる（Spaceflight anemia，文献27）（Space Anemia，文献28）状態になるものの、それを適切な脳血流自動調節機能が代償して、脳血流量を増やしていると考えられた。この現象は、地上帰還後、1 か月以上をかかって徐々に回復していくと考えられた。

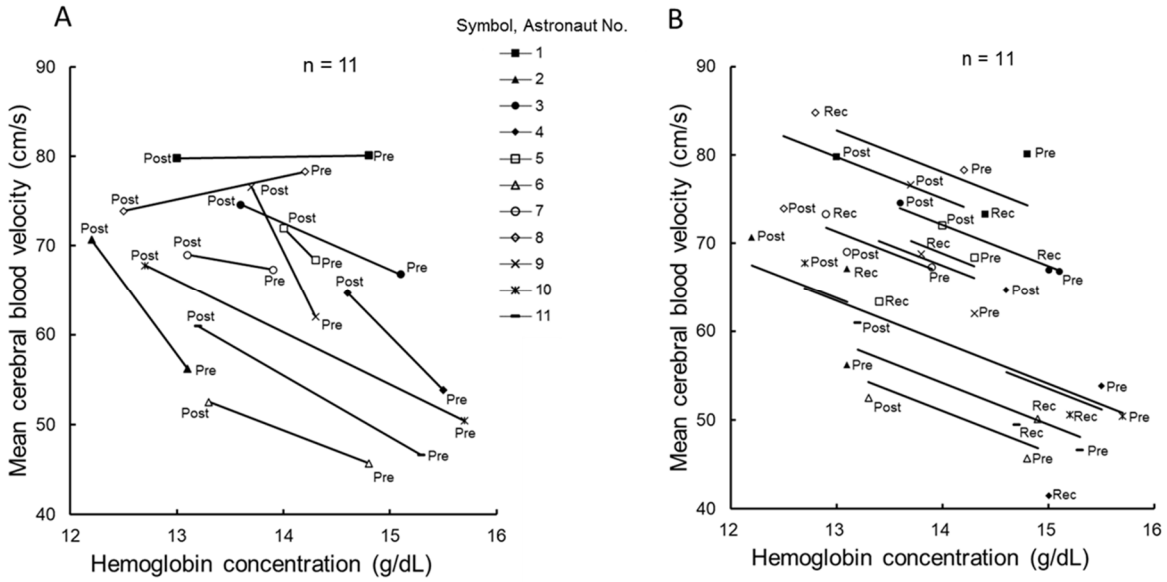


図19　血液中のヘモグロビン濃度と脳血流速度の関係（成果リスト原著論文（1）から引用）
A，飛行前 (Pre)、飛行後(Post)
B, Repeated Measure Correlation Analysis の相関解析では有意な負の相関を示した。
(Pre, Post, and Recovery [Rec]). r = －0.589 (df = 21, 95% CI [－0.814, －0.212], p = 0.003), the regression coefficient = －4.68.

５．結語

１）全例（11 例）で、国際宇宙ステーション長期滞在前後の動脈圧波形と脳血流速度波形を高時間解像度で記録し、その波形を用い、頭蓋内圧推定値を算出できた。その結果、世界で初めて、宇宙飛行前後の頭蓋内圧推定値の変化を確認できた。

２）ほとんどの宇宙飛行士（90%以上 10/11 人）において飛行前に比べて飛行後の頭蓋内圧推定値が上昇せず、予想外ではあるが仮説と逆の結果となった。さらに、眼に異常がなかったグループ（9 人）では、頭蓋内圧推定値が飛行前に比べ飛行後に統計的に有意な低下を認め、リカバリー測定で、飛行前と同等の値に戻ることも確認できた。この結果は、長期宇宙飛行中の体液シフトが系統的に飛行後の頭蓋内圧を上昇させることはないことを示唆した。

３）一方で、1 例では、飛行前に比べて飛行後に頭蓋内圧推定値が明らかな高値へ上昇したのを認めた（飛行前 11.8mmHg⇒飛行後 17.7mmHg）。この例では、仮説通り SANS 兆候である視神経乳頭浮腫と脈絡膜ヒダの異常所見が光干渉断層計で捉えられた。

４）SANS 兆候である視神経乳頭浮腫と脈絡膜ヒダの異常所見が光干渉断層計で捉えられた例は、さらに 1 例認めたが、この宇宙飛行士では、飛行前に比べて飛行後の頭蓋内圧推定値は低下していた。つまり、この例の存在は、宇宙飛行による頭蓋内圧の異常上昇が、視神経乳頭浮腫や脈絡膜ヒダなどの発症の必須の原因ではない可能性を示唆した。

５）宇宙飛行開始から 4 か月経過した時点でも、軌道上で頭部方向への体液シフトによる鼻閉と顔面浮腫の症状が持続する例が 3 例認められたが、うち 2 例は眼球異常を呈さず、また飛行前に比べ飛行後に頭蓋内圧推定値が低下し、長期におよぶ頭部方向への体液シフトが SANS 兆候や飛行後の頭蓋内圧の上昇を必ずしも引き起こさない場合があることを初めて示した。

６）また、初めて健康な宇宙飛行士において、地上で仰臥位から座位への体位変換により、飛行の前後に関わらず、全例で頭蓋内圧が低下するのを捉えた。その値は、患者対象の侵襲的な先行研究と類似していた（平均約 5mmHg 程度低下）。つまり、宇宙飛行士は、地上では毎日、一日の大半（就床中以外）、頭蓋内圧が低下している。しかしながら、宇宙飛行中には微小重力のため、体位変換によるこの頭蓋内圧低下が起こらず、視神経周囲の脳脊髄液が頭蓋内へ吸引されて視神経周囲の圧力が低下する現象も発生せず、視神経の軸索流や血液循環が阻害され SANS 兆候をおこす可能性が考えられた。この仮説を検証するために、本方法を用いて国際宇宙ステーション内で頭蓋内圧推定を行うことが有用と考えられた。

７）頭蓋内圧や眼球の異常変化とは関係なく独立して、長期宇宙飛行は飛行後の脳血流速度を上昇させた。この脳血流速度の上昇は、「宇宙飛行後の貧血」によるヘモグロビン濃度の低下による脳への酸素供給の減少を代償するため、適切に脳血流自動調節機能が反応したことによる可能性が示唆された。

視神経乳頭浮腫や脈絡膜ヒダなどの SANS 兆候は、微小重力曝露での頭部方向への体液シフトに伴う頭蓋内圧の異常上昇が原因となる可能性が指摘され、関連研究が数多くなされてきた。また、他にも様々な説が提唱されてきたが、いずれの説もいまだ根拠に乏しく広い支持を得るには至っていない。特に頭蓋内圧については、2021 年 1 月時点においても、実際の宇宙飛行実験でのシステマティックな前向き研究は、本研究以外には報告されていない。

［参考文献］

文献1）Mader TH, Gibson CR, Pass AF, Kramer LA, Lee AG, Fogarty J, Tarver WJ, Dervay JP, Hamilton DR, Sargsyan A, Phillips JL, Tran D, Lipsky W, Choi J, Stern C, Kuyumjian R & Polk JD (2011). Optic disc edema, globe flattening, choroidal folds, and hyperopic shifts observed in astronauts after long-duration space flight. *Ophthalmology* **118**, 2058–2069.

文献2）Stenger MB, Tarver WJ, et al. NASA Human Research Program evidence report: human health countermeasures element: risk of spaceflight associated neuro-ocular syndrome (SANS). Published November 30, 2017. available at https://humanresearchroadmap.nasa.gov/evidence/reports/SANS.pdf [Accessed 1/19/2021].

文献3）Lee AG, Mader TH, Gibson CR, Brunstetter TJ & Tarver WJ (2018). Space flight-associated neuro-ocular syndrome (SANS). *Eye* **32**, 1164–1167.

文献4）Roberts DR, Albrecht MH, Collins HR, Asemani D, Chatterjee AR, Spampinato MV, Zhu X, Chimowitz MI & Antonucci MU (2017). Effects of Spaceflight on Astronaut Brain Structure as Indicated on MRI. *N Engl J Med* **377**, 1746–1753.

文献5）Van Ombergen A et al. (2019). Brain ventricular volume changes induced by long-duration spaceflight. *Proc Natl Acad Sci U S A* **116**, 10531–10536.

文献6）Mader TH, Gibson CR, Pass AF, Lee AG, Killer HE, Hansen HC, Dervay JP, Barratt MR, Tarver WJ, Sargsyan AE, Kramer LA, Riascos R, Bedi DG & Pettit DR (2013). Optic disc edema in an astronaut after repeat long-duration space flight. *J Neuro-Ophthalmology* **33**, 249–255.

文献7）Bellner J, Romner B, Reinstrup P, Kristiansson KA, Ryding E, Brandt L (2004) Transcranial Doppler sonography pulsatility index (PI) reflects intracranial pressure (ICP) Surg Neurol **62**, 45-51

文献8）Kashif FM, Verghese GC, Novak V, Czosnyka M & Heldt T (2012). Model-based noninvasive estimation of intracranial pressure from cerebral blood flow velocity and arterial pressure. *Sci Transl Med* **4**, 129ra44.

文献9）Iwasaki K, Levine BD, Zhang R, Zuckerman JH, Pawelczyk JA, Diedrich A, Ertl AC, Cox JF, Cooke WH, Giller CA, Ray CA, Lane LD, Buckey JC, Baisch FJ, Eckberg DL, Robertson D, Biaggioni I & Blomqvist CG (2007). Human cerebral autoregulation before, during and after spaceflight. *J Physiol* **579**, 799–810.

文献10）Iwasaki K, Ogawa Y, Aoki K & Yanagida R (2012). Cerebral circulation during mild +Gz hypergravity by short-arm human centrifuge. *J Appl Physiol* **112**, 266–271.

文献11）Charles JB & Pietrzyk RA (2019). A Year on the International Space Station:

Implementing a long-duration biomedical research mission. *Aerosp Med Hum Perform* **90**, 4–11.

文献12）Fanelli A, Vonberg FW, LaRovere KL, Walsh BK, Smith ER, Robinson S, Tasker RC & Heldt T (2019). Fully automated, real-time, calibration-free, continuous noninvasive estimation of intracranial pressure in children. *J Neurosurg Pediatr* **24**, 509–519.

文献13）Imaduddin SM, Fanelli A, Vonberg FW, Tasker RC & Heldt T (2020). Pseudo-bayesian model-based noninvasive intracranial pressure estimation and tracking. *IEEE Trans Biomed Eng* **67**, 1604–1615.

文献14）Lescot T, Reina V, Le Manach Y, Boroli F, Chauvet D, Boch AL & Puybasset L (2011). In vivo accuracy of two intraparenchymal intracranial pressure monitors. *Intensive Care Med* **37**, 875–879.

文献15）Ashworth CT & Adams G (1941). Blood specific gravity studies. Relationship of specific gravity of whole blood to specific gravity of plasma, red blood cell count, hematocrit, and hemoglobin as indicators of hemoconcentration. J Lab Clin Med 26, 1934–1939.

文献16）Bland JM & Altman DG (1995). Statistics notes: Calculating Correlation coefficients with repeated observations: Part 1—correlation within subjects. *BMJ* **310**, 446.

文献17）Bakdash JZ & Marusich LR (2017). Repeated measures correlation. *Front Psychol* **8**, 456.

文献18）Nicogossian AE, Swain CF & Huntoon CL (1993). Overall physiologic response to space flight. In Space Physiology and Medicine, 3rd edn, eds Nicogossian AE, Huntoon CL & Pool SL, pp. 213–227. Lea & Febiger, Philadelphia.

文献19）Scott Kelly, Margaret Lazarus Dean (2017). Endurance. A Year in Space, A lifetime of Discovery. ALFRED A. KNOPF, NEW YORK. pp.139-146

文献20）Andresen M, Hadi A, Petersen LG & Juhler M (2015). Effect of postural changes on ICP in healthy and ill subjects. Acta Neurochir **157**, 109–113.

文献21）Eklund A, Jóhannesson G, Johansson E, Holmlund P, Qvarlander S, Ambarki K, Wåhlin A, Koskinen LO & Malm J (2016). The pressure difference between eye and brain changes with posture. Ann Neurol **80**, 269–276

文献22）Lawley JS, Petersen LG, Howden EJ, Sarma S, Cornwell WK, Zhang R, Whitworth LA, Williams MA & Levine BD (2017). Effect of gravity and microgravity on intracranial pressure. *J Physiol* **595**, 2115–2127.

文献２３） Mao XW, Byrum S, Nishiyama NC, Pecaut MJ, Sridharan V, Boerma M, Tackett AJ, Shiba D, Shirakawa M, Takahashi S, Delp MD (2018) Impact of Spaceflight and Artificial Gravity on the Mouse Retina: Biochemical and Proteomic Analysis. Int J Mol Sci **19**, 2546.

文献２４）Ogawa Y, Yanagida R, Ueda K, Aoki K, Iwasaki K (2016) The relationship between widespread changes in gravity and cerebral blood flow. Environ Health Prev Med. **21**, 186-192.

文献２５）Konishi T, Kurazumi T, Kato T, Takko C, Ogawa Y, Iwasaki K (2019) Changes in cerebral oxygen saturation and cerebral blood flow velocity under mild +Gz hypergravity. J Appl Physiol (1985). **127**, 190-197.

文献２６） Smith SM, Zwart SR, Block G, Rice BL & Davis-Street JE (2005). The nutritional status of astronauts is altered after long-term space flight aboard the International Space Station. *J Nutr* **135**, 437–443.

文献２７） Kunz H, Quiriarte H, Simpson RJ, Ploutz-Snyder R, McMonigal K, Sams C & Crucian B (2017). Alterations in hematologic indices during long-duration spaceflight. *BMC Hematol* **17**, 12.

文献２８） Trudel G, Shafer J, Laneuville O & Ramsay T (2020). Characterizing the effect of exposure to microgravity on anemia: more space is worse. *Am J Hematol* **95**, 267–273.

［成果リスト］

原著論文

（１） Iwasaki K, Ogawa Y, Kurazumi T, Imaduddin SM, Mukai C, Furukawa S, Yanagida R, Kato T, Konishi T, Shinojima A, Levine BD & Heldt T (2020). Long-duration spaceflight alters estimated intracranial pressure and cerebral blood velocity. *Journal of Physiology* First published: 25 October 2020、DOI: 10.1113/JP280318
（Journal Citation Reports によるインパクトファクター2019：4.547）

2020年度 ISS・きぼう利用ミッション科学成果評価結果

無重力での視力変化等に影響する頭蓋内圧の簡便な評価法の確立(IPVI)

研究代表者 岩﨑賢一（日本大学医学部）

総合評価

A: 目標を充分に達成した(フルサクセス相当)

本研究は、軌道上での利用を目指した頭蓋内圧の測定法を開発し、宇宙長期滞在時の内圧上昇とSpaceflight Associated Neuro-ocular Syndrome (SANS)との関係を調査することである。

国際枠組みの下での倫理審査など、ヒト対象の研究故の困難を乗り越え、粘り強く本研究を実施し、飛行後の宇宙飛行士の大半で頭蓋内圧が予想に反し低下していることを見出した。本知見は非常に大きな成果と考えられる。また、視神経乳頭浮腫などの宇宙飛行時の眼症状の発生が、必ずしも頭蓋内圧の上昇に依らないことを示した。論文による公表も順調に行われており、目標を充分に達成したと評価する。また、非侵襲的な頭蓋内圧測定法を実証し、初めてデータが得られたことは、来るべき有人探査の本格化に向けた技術的成果として、大変重要である。軌道上での測定法確立に向け、引き続き詳細な検討を継続することを期待する。

2021年3月

きぼう利用テーマ選考評価委員会（生命医科学分野）

ISS・きぼう利用ミッション
「無重力での視力変化等に影響する頭蓋内圧の簡便な評価法の確立（IPVI）」
原題：宇宙飛行による眼の変化と非侵襲的頭蓋内圧評価

研究成果概要書

代表研究者：岩崎賢一（日本大学医学部）

２０２１年３月

緒言：2011 年に Mader らが、長期宇宙飛行中に眼に顕著な異常（視神経乳頭浮腫、脈絡膜ヒダなど）を発症した例を認め、そのうち 4 例に地上帰還後に腰椎穿刺を行い、その結果、頭蓋内圧に近似する脳脊髄液圧が境界域以上の高値（≧15.5mmHg）であったことを報告した。この眼の異常は、地上での頭蓋内圧亢進症（頭蓋内圧が異常上昇）の典型症状であり、宇宙飛行士の健康やミッションの重大リスクにつながる可能性もあり、原因究明や予防が喫緊の重要課題とされ、Human Research Roadmap のリスク一覧に Spaceflight associated neuro-ocular syndrome (SANS) との名称で示されている。この現象の原因として、宇宙飛行の微小重力曝露に伴い体液が頭部方向へシフトし、頭蓋内圧が異常上昇する可能性が指摘されてきたが、宇宙飛行中はおろか、宇宙飛行の前と比較し飛行後の頭蓋内圧の変化を評価した研究は皆無であった。またその後、別の病因の仮説も複数示されてきたが、現時点でも SANS の原因の明確な証拠は得られていない。

宇宙飛行による頭蓋内圧の変化を明らかにすることが重要とされていたにもかかわらず、飛行前からの「前向き研究」が行われなかった理由として、飛行前に腰椎や脳に針を刺す検査を行うことへのリスクがあると我々は考えた。そこで、宇宙飛行士にとってリスクの低い非侵襲的な方法を用いることを考え、本実験の作業目標を「国際宇宙ステーションの長期宇宙飛行の前と後で、非侵襲的に血圧と脳血流速度の波形を高時間解像度で記録し、それらの波形の数理モデル解析から頭蓋内圧を推定し、飛行前に比べた飛行後の頭蓋内圧の変化を世界ではじめて評価すること」とした。この実験に際し、基礎生理学的な仮説としては「宇宙飛行による体液の上方シフトの影響で、飛行前に比べ長期宇宙飛行後は頭蓋内圧が上昇する」とした。さらに、臨床医学的な仮説としては、「頭蓋内圧値が飛行後に高値（≧15.5mmHg）となった宇宙飛行士がいた場合は、長期宇宙滞在中に眼の異常などを呈している」とした。この実験を通じて、宇宙飛行士の頭蓋内圧を非侵襲的に評価する方法が実践できれば、宇宙での眼の異常発生の原因究明ならびに対策、頭蓋内圧亢進症のスクリーニングなどにおいて有用であると考えた。

経頭蓋ドプラ血流計の小型化と解像度向上に伴い解析方法が発展し、橈骨動脈の血圧波形と中大脳動脈の脳血流速度波形の伝達について数理モデルを用いて解析し頭蓋内圧推定値を得る方法が開発された。本提案の研究グループの Thomas Heldt 博士は、この解析法開発の第一人者で、解析法の精度向上を長年行ってきた。また、研究代表者らはこれまで宇宙飛行中や遠心過重力曝露中等の特殊環境下で非侵襲的に血圧波形と脳血流速度波形を同時測定し脳循環調節の評価を行い発表してきた。そこで、これらの研究者が共同し、宇宙飛行士の血圧波形と脳血流速度波形を高解像度で再現性を高め測定記録し、最新の解析法を応用することで、宇宙飛行前後で非侵襲的に頭蓋内圧を推定でき、世界に先駆けた研究になると考えた。

方法：国際宇宙ステーションで、4〜12 か月の長期の宇宙飛行を行った 11 名の飛行士に対して、打上げ 3〜6 ヵ月前に NASA ジョンソン宇宙センターの実験室で個々の宇宙飛行士用の経頭蓋ドプラ固定具を作成した。そして、宇宙飛行前 3〜6 ヵ月前、宇宙飛行後 0〜3 日、宇宙飛行リカバリー後 1〜6 か月で、仰臥位と座位で、非侵襲的にトノメトリーにより橈骨動脈の血圧波形を取得し、経頭蓋ドプラ血流計により中大脳動脈の脳血流速度波形を取得した。打ち上げ 3〜6 ヵ月前の飛行前データ測定、および、地球帰還 0〜3 日後の飛行直後のデータ測定、および、地球帰還後 1〜6 か月後のリカバリーのデータ測定は、完全同一のプロトコールにより、原則ヒューストンの NASA ジョンソン宇宙センターにおいて実施した。なお、ドイツ・ケルンにあるドイツ宇宙センターDLR の envihab でも、一部データ測定を実施したが、その場合でも完全同一のプロトコール、同一機種の測定機器により実施した。

また、軌道上実験として ISS 滞在 4 ヶ月目に１回、日本実験棟「きぼう」モジュール内の Medical Laptop（宇宙医学実験支援システム）、USB カメラ、HD カメラ等を用い、筑波宇宙センターの UOA と限定回線で結んで、軌道上の被験者に対して、顔面浮腫の状態の視診および問診（顔面浮腫関連症状）、頭蓋内圧亢進関連症状の問診を行った。また、顔の静止画像を記録した。眼の異常所見の有無は Data Share Plan により通常の健康管理データから取得した。

結果と考察：１）全 11 例において、国際宇宙ステーション長期滞在前後の動脈圧波形と脳血流速度波形を高時間解像度で記録し、その波形を用い、頭蓋内圧推定値を算出できた。その結果、世界で初めて、宇宙飛行前後の頭蓋内圧推定値の変化を確認できた。

２）ほとんどの宇宙飛行士（90%以上 10/11 人）において飛行前に比べて飛行後の頭蓋内圧推定値が上昇せず、予想外ではあるが仮説と逆の結果となった。さらに、眼に異常がなかったグループ（9 人）では、頭蓋内圧推定値が飛行前に比べ飛行後に統計的に有意な低下を認め、リカバリー測定で、飛行前と同等の値に戻ることも確認できた。この結果は、長期宇宙飛行中の体液シフトが系統的に飛行後の頭蓋内圧を上昇させることはないことを示唆した。

３）一方で、1 例では、飛行前に比べて飛行後に頭蓋内圧推定値が明らかな高値へ上昇したのを認めた（飛行前 11.8mmHg⇒飛行後 17.7mmHg）。この例では、仮説通り SANS 兆候である視神経乳頭浮腫と脈絡膜ヒダの眼の異常を呈していたことが Data Share Plan により確認された。

４）SANS 兆候である視神経乳頭浮腫と脈絡膜ヒダの眼の異常が Data Share Plan により確認された例は、さらに 1 例あったが、この宇宙飛行士では、飛行前に比べて飛行後の頭蓋内圧推定値は低下していた。つまり、この例の存在は、宇宙飛行による頭蓋内圧の異常上昇が、視神経乳頭浮腫や脈絡膜ヒダなどの発症の必須の原因ではない可能性を示唆した。

５）宇宙飛行開始から 4 ヶ月経過した時点でも、軌道上で頭部方向への体液シフトによる鼻閉と顔面浮腫の症状が持続する例が 3 例認められたが、うち 2 例は眼の異常を呈さず、また飛行前に比べ飛行後に頭蓋内圧推定値が低下し、長期におよぶ頭部方向への体液シフトが SANS 兆候や飛行後の頭蓋内圧の上昇を必ずしも引き起こさない場合があることを初めて示した。

６）また、初めて健康な宇宙飛行士において、地上で仰臥位から座位への体位変換により、全例で頭蓋内圧が低下するのを捉えた。その値は、患者対象の侵襲的な先行研究と類似していた（平均約 5mmHg 程度低下）。つまり、宇宙飛行士は、地上では毎日、一日の大半（就床中以外）、頭蓋内圧が仰臥位より低下している。しかしながら、宇宙飛行中は微小重力のため、体位変換によるこの頭蓋内圧低下が起こらず、視神経周囲の脳脊髄液が頭蓋内へ吸引されて視神経周囲の圧力が低下する現象も発生せず、視神経の軸索流や血液循環が阻害され SANS をおこす可能性が考えられた。この仮説を検証するために、本方法を用いて国際宇宙ステーション内で頭蓋内圧値の推定を行うことが有用と考えられた。

７）頭蓋内圧や眼の異常とは関係なく、長期宇宙飛行は飛行後の脳血流速度を上昇させた。この脳血流速度の上昇は、「宇宙飛行後の貧血」によるヘモグロビン濃度の低下による脳への酸素供給の減少を代償するため、脳血流自動調節機能が適切に反応したことによる可能性が示唆された。

まとめ：１）世界で初めて宇宙飛行前後の頭蓋内圧推定値の変化を確認した。その結果、仮説に反し、ほとんどの宇宙飛行士（10/11 例）において飛行前に比べて飛行後の頭蓋内圧推定値が低下もしくは不変であり、眼に異常がなかったグループ（9 人）では、頭蓋内圧推定値が飛行後に有意に低下していた。この結果は、「長期宇宙飛行中の体液シフトが系統的に飛行後の頭蓋内圧を上昇させることはない」ことを示唆した。

２）眼の異常を呈した 2 例のうち 1 例で頭蓋内圧推定値が飛行後に低下していた。また、飛行 4 ヶ月目に軌道上で体液シフト症状のあった 3 例中 2 例が、眼の異常を呈さず、頭蓋内圧推定値も飛行後に低下していた。つまりこれらの結果から、「宇宙飛行の体液シフトによる頭蓋内圧の異常上昇が、視神経乳頭浮腫や脈絡膜ヒダなどの発症の必須の原因ではない」可能性が示唆された。

成果原著論文：Iwasaki K, et al. Long-duration spaceflight alters estimated intracranial pressure and cerebral blood velocity. J Physiol 599, 1067–1081. 2021.
https://doi.org/10.1113/JP280318　（本学術誌の Editor's Choice に取り上げられた。）

Summary report of the ISS-Kibo utilization mission:
“Non-invasive assessment of intracranial pressure for space flight and related visual impairment (IPVI)”
Principal Investigator: Kenichi Iwasaki (Nihon University School of Medicine)
March 2021

This summary report is based on the article by Iwasaki K, et al. (2021): Long-duration spaceflight alters estimated intracranial pressure and cerebral blood velocity. Journal of Physiology, 1067-1081, First published: 25 October 2020, DOI: 10.1113/JP280318.

Introduction

Mader et al. (2011) reported that abnormally high cerebrospinal fluid pressures were observed from postflight lumbar punctures on four astronauts who developed optic disc edema and other ocular alterations during spaceflight. They proposed that an elevated intracranial pressure (ICP) due to cephalad fluid shift during spaceflight might be responsible for the ocular symptoms, which are collectively referred to as Spaceflight-Associated Neuro-ocular Syndrome (SANS). However, they only performed lumbar punctures on astronauts after spaceflight. To our knowledge, no systematic studies have evaluated ICP both before and after a long-duration spaceflight. Therefore, we estimated ICP using noninvasively obtained cerebral blood flow velocity and arterial blood pressure (ABP) waveforms from astronauts before and after a stay on the International Space Station (ISS) to test our hypothesis that ICP would increase after long-duration spaceflight. We also hypothesized that astronauts with postflight increases in ICP above normal physiological levels would exhibit signs of SANS.

Methods

Eleven astronauts (10 males and 1 female, 46±7 years old at launch) who had been scheduled to stay on the ISS over 4-12 months participated in the present study. Before spaceflight (Preflight, 3 to 6 months before launch), after spaceflight (Postflight, 0 to 3 days after landing), and after recovery (Recovery, 1 to 6 months after landing), cerebral blood flow velocity in the middle cerebral artery was obtained by transcranial Doppler sonography (TCD) and arterial blood pressure in the radial artery was obtained by tonometry for 6 minutes in a supine position and for 6 minutes in a sitting position.

Approximately 4 months into the stay on the ISS, an inflight interview of 10 astronauts regarding symptoms possibly related to cephalad fluid shift was conducted from Tsukuba Space Center by a medical doctor on the research team. The interviews were standardized to ask specific questions in the same order using prespecified language. Facial photographs were taken during the interview for visual comparison with those taken before and after spaceflight.

The results of vision tests and complete blood count were provided by NASA via the Data Share Plan.

Noninvasive ICP (nICP) was computed using a model-based estimation method with a Gaussian mixture prior distribution (Imaduddin et al. 2020).

Results

The group-averaged supine nICP did not change significantly after spaceflight in the 11 astronauts. However, the group-averaged supine nICP decreased significantly by 15% in nine astronauts who did not develop optic disc edema or choroidal folds (n=9, analysis of variance [ANOVA], $p<0.005$). The decreased nICP returned to preflight levels during the recovery period.

Two of the 11 astronauts were found to have optic disc edema and choroidal folds. One of these astronauts showed increases in nICP from preflight (11.8 mmHg) to abnormal levels (17.7 mmHg) after spaceflight (R+1

day), whereas the other showed decreases in nICP after spaceflight (R+2 days).

From the inflight interviews, three astronauts had both symptoms of nasal congestion and a feeling of facial swelling even during the last phase of their mission. However, two of these three astronauts showed decreases in nICP after spaceflight and did not show signs of SANS.

All 11 astronauts showed decreases in nICP from the supine to sitting position, and the average (n=11) decrease was approximately -5 mmHg.

Mean cerebral blood flow velocity increased significantly (n=11, ANOVA, p=0.007) after spaceflight (R+0/3 days) by 15% and returned to preflight levels during the recovery period. Hemoglobin concentration decreased significantly after spaceflight by 9% (n=11, ANOVA, $p<0.001$). Most of the astronauts showed decreases in hemoglobin with increases in mean cerebral blood flow velocity after spaceflight. Repeated measure correlation analysis showed significant negative correlation between hemoglobin concentration and mean cerebral blood flow velocity ($r = -0.589$, $dF = 21$, 95% CI [−0.814, −0.212], $P = 0.003$, regression coefficient = −4.68).

Discussion

Contrary to our hypothesis, the present results showed that the group-averaged nICP did not increase after long-duration spaceflight, and even decreased significantly in astronauts without signs of SANS (e.g., optic disc edema or choroidal folds). Thus, the cephalad fluid shift during long-duration spaceflight rarely increased postflight ICP.

Only one astronaut showed increases in nICP to abnormal levels after spaceflight. This astronaut had optic disc edema and choroidal folds, consistent with the previous report by Mader et al. However, the other astronaut with optic disc edema and choroidal folds showed opposite changes (decreases) in nICP after spaceflight. Thus, the relationship between ICP and SANS remains controversial. The present results of these two astronauts suggest possible other causes for SANS rather than abnormally elevated ICP. Furthermore, the results of the inflight interviews suggest a dissociation between symptoms associated with the inflight cephalad fluid shifts and postflight nICP or SANS.

Based on the present results for the supine and sitting positions, daily decreases in ICP from the supine to the upright position in healthy astronauts would be in the range of several millimeters of mercury. The absence of these decreases in ICP when in microgravity could be a cause of SANS, since there are no drainage effects from daily posture changes on cerebrospinal fluid around the optic nerves.

Independently of these ICP changes, the present results suggest that long-duration spaceflight increases cerebral blood flow. A decrease in arterial oxygen content due to reduced hemoglobin concentration should increase cerebral blood flow to maintain the oxygen supply to the brain. Therefore, the decreases in hemoglobin concentration after long-duration spaceflight (spaceflight anemia) may be partly responsible for the increased cerebral blood flow velocity observed in the present study.

Conclusions

Contrary to our hypothesis, the present study showed that supine nICP decreased or did not change in the majority (10/11) of astronauts after long-duration spaceflight, and group-averaged supine nICP even decreased significantly in the nine astronauts without ocular alterations (e.g., optic disc edema and choroidal folds). Thus, long-duration spaceflight itself does not likely increase postflight ICP systematically or consistently in astronauts.

Two astronauts with optic disc edema and choroidal folds showed opposite changes in postflight nICP. Moreover, the results of inflight interviews indicated a dissociation between postflight nICP and symptoms that may be related to cephalad fluid shifts. Taken together, these results argue against a primary causal relationship between abnormally elevated ICP during long-duration spaceflight and SANS.

別紙8-1

ＩＳＳ・きぼう利用ミッション
「位置有感生体等価比例計数箱による宇宙ステーション内での線量当量計測技術の確立（PS-TEPC)」

研究成果報告書

代表研究者；佐々木慎一（高エネルギー加速器研究機構）

２０２０年1月

1． 諸言

1.1 研究の目的

宇宙での人間の滞在期間は荷電粒子を主体とする宇宙放射線による被曝によって最終的に制限される可能性が高い。これは、宇宙飛行士の放射線被曝を線量制限値を超えないように管理することに対応する。特に、地磁気圏を超えた月や火星への長期有人飛行の場合、ミッション期間中の線量が制限値と同程度となることも想定され、さらには太陽活動の変化により宇宙放射線環境は大きく変化し、宇宙船構造体との衝突により発生する光子や中性子の量も変化する。荷電粒子及び二次放射線からなる宇宙放射線被曝線量をできるだけ正確に把握すると共に、宇宙放射線環境の変動や被曝の蓄積をリアルタイムで実測できる能動型線量計が必須である。これまで、日米ロ欧の各宇宙機関が、スペース・シャトル及び ISS 等に線量計と称する実時間計測器を搭載しているが、荷電粒子のみが計測可能であったり、測定精度が線量計測に係る要求を満足していないという状態で、長期有人宇宙滞在にとって十分な計測機器は未だ開発されていない現状にある。

本研究で開発を進める位置有感生体組織等価比例計数箱（Position Sensitive Tissue Equivalent Proportional Chamber, PS-TEPC）は、荷電粒子を初めとする入射放射線に対してその飛跡や吸収エネルギー、線種による人体影響と関連付けられる LET（線エネルギー付与）を直接的方法で測定することができ、線量当量を実測可能である。本研究では、PS-TEPC を ISS 内に設置し、将来の長期滞在に向け、理想的なリアルタイム宇宙放射線線量モニターとして動作することを実証し、宇宙放射線線量計測システムの確立をめざす。

1.2 研究の概要

人体に対する放射線の影響は「実効線量」を用いて評価されるが、実効線量は実測できる量ではないため、相当する測定可能な量として、吸収線量と線質係数の積として定義される線量当量が用いられる。

線量当量 H[Sv] = 吸収線量 D[Gy]×線質係数 Q

線質係数（Q ）は放射線の線質による生物学的効果を表したもので、LET の関数として与えられる[1]。正確な線量は吸収線量（物質に吸収されたエネルギーをその質量で除したもの）と LET（単位飛跡長当たりに物質に付与されるエネルギー）の実測から求められる。

宇宙空間における標準的なリアルタイム線量計として NASA が用いている TEPC (Tissue Equivalent Proportional Counter)[2]は、生体組織等価物質で構成され荷電粒子のみならず中性子に対しても感度を有するが、LET を直接測定することができず、またその応答関数等に大きな曖昧さを有するため、正確な線量評価を行うことはできない。米国放射線防護委員会（NCRP）は宇宙飛行士の被曝測定の精度を 30%以下とするように強く勧告しているが[3]、TEPC においてこれを達成することはその原理から考えて困難であると言わざるを得ない。一方、LET が実測可能な測定器として JAXA・早大グループが開発した RRMD-III

(Real-time Radiation Monitoring Device-III)[4]や独キール大の DOSTEL(Dosimetric Telescope)[5]などがあるが、これらはシリコン(Si)検出器で構成されるため、生体組織等価とは見なせず、また中性子に対する感度がないことから、線量計としては十分ではない。我々は、TEPC に替わる線量計として、位置有感生体組織等価物質比例計数箱（以下、PS-TEPC：Position Sensitive Tissue Equivalent Proportional Chamber）の開発を進め、プロトタイプ(Ver.1)を製作しその原理実証実験に成功した[6-8]。PS-TEPC は並行平板電離箱構造を有し、電極並びに検出媒体にはそれぞれ組織等価なプラスチック並びに気体を用い、電荷収集部に Micro-Pixel Chamber（μ-PIC)[9]と呼ばれる微細 2 次元放射線位置検出器を配置した Time Projection Chamber (TPC)である。μ -PIC は同芯状のアノード（直径 50μm）・カソード（同 100 μ m）の電極対を 400μm 間隔で複数配置した構造を持ち、電極対で電子増倍された信号から生成電荷数（すなわちエネルギー）の情報を、電極配置から入射放射線の位置情報を得るものである。さらに時間情報を用いて入射粒子の 3 次元飛跡を構築し、同時測定された飛跡長と吸収エネルギーから LET を決定する事ができる。Ver.1 による実証実験に成功後、我々は小型化・低雑音化等の改良を重ねた PS-TEPC（Ver.2）を設計開発し、宇宙空間を模擬した加速器からの重イオンビームによる照射試験を繰り返し行い、最終的には、NCRP の勧告を満たす性能を得られるまでに至った[10]。これらの結果を踏まえ、PS-TEPC を ISS への打上・搭載し測定実験を行う事が計画され、実施に移された。

2. 研究計画

2.1 実験目的

先に述べたように、宇宙での人間の滞在期間は宇宙放射線による被曝によって最終的に制限される可能性が高く、宇宙飛行士の放射線被曝について線量制限値を超えないように管理することが極めて重要である。地磁気圏を超えた月・火星での長期に渡る有人宇宙飛行の場合、ミッション期間中の線量が制限値と同程度になることも想定されるため、荷電粒子及び二次中性子からなる宇宙放射線被曝線量をできるだけ正確に把握すると共に、宇宙放射線環境の変動や被曝の蓄積をリアルタイムで実測できる能動型線量計が必須である。

本研究で開発する位置有感生体組織等価比例計数箱（Position Sensitive Tissue Equivalent Proportional Chamber, PS-TEPC）は、荷電粒子及び中性子による線量を直接的な方法で実測することが可能である。本研究では、PS-TEPC を ISS 内に設置し、将来の長期滞在に向け、リアルタイム宇宙放射線線量モニターとして働くことを実証し、宇宙放射線線量計測技術を確立することを目的とする。

2.2　経緯及び背景

(1)　線量計について

線量計は、リアルタイムでの測定が可能な能動型と、地球帰還後しか測定はできないが小型で個人線量計になりうる受動型に分類される。国内においては、能動型としては先に述べた RRMD-III、受動型としては KEK-JAXA の共同研究による PADLES（Passive Dosimeter for Lifescience Experiments in Space）[11]があり、両者ともに我々の研究グループメンバーが参加して開発された。RRMD-III はスペース・シャトル搭載実験を 3 度おこなっており(STS-84, 89, 91)、0.2~700 keV/μm の範囲の LET をもつ荷電粒子を測定することができる。荷電粒子に対する LET 測定の分解能は RRMD-III が現状で優れているが、中性子に対する感度がなく、組織等価物質で構成されないため、これ一台では十分な宇宙放射線に対する線量評価を行うことはできない。PADLES は熱蛍光線量計（TLD)と固体飛跡検出器（CR-39)の組み合わせによる線量計で、人体組織に近い物質で構成され、宇宙線量計として実用化され、世界の標準になっている。他の能動型線量計として、米国 NASA の Tissue Equivalent Proportional Counter（TEPC)と、ドイツ・キール大学の Dosimetric Telescope（DOSTEL）がある。TEPC は生体組織等価ガス比例計数管で、現在、NASA がスペース・シャトルや ISS 内での標準検出器として採用している。この線量計は、荷電粒子のみならず中性子に対しても感度があるが、位置検出を行うことができないため、LET 計測に必要な検出器内での各粒子の経路長を決定できない。実際の TEPC の運用では入射粒子の一様等方性を仮定した近似が使われるが、原理的に NCRP 勧告を大きく上回る誤差を含むことになる（応答関数による誤差のみで円筒形で 51%、球形で 35%)。実際に NASA は TEPC による線量測定の精度を明らかにしていない。一方の DOSTEL は円形の Si 検出器 2 枚を組み合わせたタイプであるが、TEPC と同様に位置検出を行っていないため、粒子の一様等方性を仮定した応答関数から平均の経路長を求め、近似の LET を利用している。この近似により見積もられる誤差は 17%と TEPC に比べ小さい。RRMD-III 同様に中性子に対して感度がない。

（2）新たな線量計の開発

宇宙放射線は種々の粒子から成り、広範なエネルギーを持つことから、線種やエネルギーに関する情報を与える LET は重要な量である。特に、線量が線量当量で実測される以上、正しい LET の測定法の確立は急務である。さらには、中性子や光子等の二次粒子による反応や高エネルギー粒子による核反応にも対応するためには、組織等価物質で構成された線量計である事が重要である。これが NASA が TEPC に固執し半導体検出器方式を導入しない理由の一つであるとも考えられる。　今回、新たな線量計開発を行う際に

① 生体組織等価物質で構成されること。

② 全立体角（4π）を網羅できること。(Si 検出器は計測可能な視野の立体角が最大で 2π）

③　LET が、水中の LET として 0.2～700 keV/μm-water の広い範囲で測定可能なこと。

④　荷電粒子、中性子、光子に感度を有すること

の 4 点が要求される。我々はこのような機能を持った測定器を Position Sensitive Tissue Equivalent Proportional Chamber (PS-TEPC) と呼ぶことにする。「位置有感」に対する一つの解が京大で開発された Micro Pixel Chamber (μ-PIC)を使用した Time Projection Chamber (TPC、3 次元飛跡検出器)である。μ-PIC は陽イオン蓄積や放電など微細構造 2 次元検出器の問題を解決し得る検出器で、X 線天文学、中性子イメージング、暗黒物質探査、医学応用等への応用が期待されている。PS-TEPC に用いるためには。荷電粒子に対する応答試験、組織等価ガスの使用等の検出器として特性や、小型化、動作寿命や安定動作の知見、放電対策等の問題を解決する必要があった。実際上の開発に当たっては、以下を考慮し詳細に検討した。

①電極等の検出器材料として生体組織等価プラスチック (A-150)、並びにアクリル等順生体組織等価物質の使用。

②検出器ガスとして生体組織等価ガスの使用。μ-PIC に対して使用するのは初めてのことである。

③放射線入射に自動で測定・記録するする self-trigger 方式が可能となること。

④μ-PIC はこれまで主に電子線やガンマ線に対して使用され低 LET (0.2 keV/μm 程度)の実績は有るが、高 LET 粒子に対する応答を調べる必要 (μ-PIC を含むマイクロストリップ検出器 MSGC を荷電粒子測定に応用するのは初めての試み)。

特に、④については宇宙 X 線観測用の 10cm 角μ-PIC を用いて TPC を構築して重イオンビーム照射実験を行い、世界で初めてその有用性を示すことに成功した[6]。次にμ-PIC 及び回路の小型化と生体組織物質による検出器の製作に取り組み、基本的特性を実現させ、TEPC とほぼ同等の大きさの有効検出領域が 25×25×50 mm の大きさの小型 PS-TEPC の開発に成功した。

(3) 作業仮説

この研究に特有の仮説は存在しない。自明な仮説としては、PS-TEPC が理想的な宇宙放射線線量計測装置として動作し、宇宙放射線線量計測技術を確立できる、ということである。当該仮説は、実際に PS-TEPC を ISS に搭載・設置して線量計測データを取得し、宇宙飛行士の被曝管理に有用な管理量を導き出すことによって検証される。

2.3 サクセスクライテリア

本研究におけるサクセスクライテリアを図 2.3-1 のように設定した。同図に、フライトモデル (JAXA における開発呼称として PS-TEPC は J-TEPC と呼ばれた) 完成時における「実験」及び「装置開発・技術実証」に関わるサクセスクライテリア並びにその内容を示す。クライテリアについては、研究計画遂行を通して変更はない。

サクセスレベル	内容	達成見込み	達成判断時期	達成判断に係る実施主体
Minimum Success	・宇宙環境における荷電粒子及び2次中性子の入射粒子に対して、入射イベント毎の3次元飛跡計測並びにLET分布を測定し、吸収線量を軌道上で算出出来ること。	地上でのHIMACビーム試験の結果より、達成可能な見込み。	軌道上計測開始時	JAXA、研究チーム
Full Success	・宇宙放射線に対して想定されるLET範囲(水中におけるLETとして0.2～1000 keV/μm)をカバーした測定を3カ月にわたり行え、線量当量と実効的な線質係数を誤差30%以内で決定できること。	地上でのHIMACビーム照射試験の結果、及びガス劣化評価により達成可能な見込み。	比較機器であるPADLES回収後3ヵ月程度	JAXA 研究チーム
Extra Success	・宇宙放射線に対して想定されるLET範囲(水中におけるLETとして0.2～1000 keV/μm)をカバーした測定を6カ月以上行え、線量当量と実効的な線質係数を誤差30%以内で決定できること。	地上でのHIMACビーム照射試験の結果、及びガス劣化評価により達成可能な見込み。	軌道上計測6ヵ月経過後3ヵ月程度	JAXA 研究チーム

参考図 1　実験におけるサクセスクライテリア

（JMX-2016354「J-TEPC 開発完了審査 IDP」から抜粋）

サクセスレベル	内容	達成見込み	達成判断時期	達成判断に係る実施主体
Minimum Success	・今後のシステム開発に資する、性能評価のためのデータ取得が3カ月間出来ること。	地上でのHIMACビーム照射試験の結果、及びガス劣化評価により達成可能な見込み	軌道上計測3ヵ月経過後1ヵ月程度	JAXA、研究チーム
Full Success	・今後のシステム開発に資する、性能評価のためのデータ取得が1年間出来ること。	地上でのHIMACビーム照射試験の結果、及びガス劣化評価により達成可能な見込み	軌道上計測1年経過後1ヵ月程度	JAXA 研究チーム
Extra Success	N/A			

参考図 2　装置開発・技術実証におけるサクセスクライテリア

（JMX-2016354「J-TEPC 開発完了審査 IDP」から抜粋）

図 2.3-1　本研究に於けるサクセスクライテリア

2.4　体制　（打ち上げ後、実験遂行時）

2.4.1　研究チームの体制

氏　名	所　属	役割分担
佐々木慎一	高エネルギー加速器研究機構・共通基盤研究施設・施設長	研究総括、研究計画立案、実験結果解析、理論的研究
斉藤　究	高エネルギー加速器研究機構・共通基盤研究施設・放射線科学センター・准教授	担内容：PS-TEPC 設計製作、性能評価試験、加速器照射試験
岸本　祐二	高エネルギー加速器研究機構・共通基盤施設・放射線科学センター・助教	分担内容：PS-TEPC 設計製作、性能評価試験、加速器照射試験
飯島　和彦	高エネルギー加速器研究機構・共通基盤施設・放射線科学センター・専門技師	分担内容：性能評価試験、加速器照射試験
高橋　一智	高エネルギー加速器研究機構・共通基盤施設・放射線科学センター・技師	分担内容：ソフトウェア開発、性能評価試験、加速器照射試験
松本　晴久	宇宙航空研究開発機構・研究開発部門・第一研究ユニット・研究領域主幹	分担内容：設計・製作および性能・加速器テスト
寺沢　和洋	慶應義塾大学・医学部・物理学教室・助教	分担内容：PS-TEPC 設計製作、性能評価試験、加速器照射試験
身内賢太朗	神戸大学・大学院理学研究科・准教授	分担内容：PS-TEPC 設計製作、性能評価試験、加速器照射試験
道家　忠義*	(故)早稲田大学・理工学研究所・名誉教授	分担内容：線量計測に係わる評価、装置設計・性能に関する評価
俵　裕子*	(元)高エネルギー加速器研究機構・共通基盤研究施設・放射線科学センター・准教授	分担内容：線量計測に係わる評価、加速器照射試験

*道家、俵の 2 名については、実際の打ち上げ実験以降の参加は叶わなかったが、本研究への貢献が顕著で有り、研究チームメンバーとして記載する。

2.4.2　JAXA 支援体制

研究者チームと JAXA の分担は、以下の表 2.4-1 に示すとおりである。

表 2.4-1　研究者チームと JAXA の分担

作業項目		研究者チーム	宇宙環境利用センター	JEM運用技術センター
ミッション全体とりまとめ		－	○	－
実験準備、成果まとめ		－	－	－
	実験要求、運用要求、実験条件の検討	○	－	－
	実施計画の策定	－	○	－
	飛行後解析、成果発表	○	－	－
実験装置開発とりまとめ		－	－	○
	実験装置の設計製作試験（安全性、JEMシステム適合性評価を含む）	－	－	○
	センサー及びプリアンプの設計製作試験	－	○	－
	射場作業（必要に応じて）	－	－	○
運用準備		－	－	－
	リソース調整（電力、クルータイム、通信）	－	－	○
	運用準備（手順書作成、宇宙飛行士訓練など）、輸送	－	－	○
	フライト実験実施	－	○	－
運用システム移行評価・データ利用検討とりまとめ		－	○	－

注：JEM 運用技術センターは現在の有人宇宙技術センター

JAXA 内では、図 2.4-1 のような詳細は体制により、実験の支援が行われた。

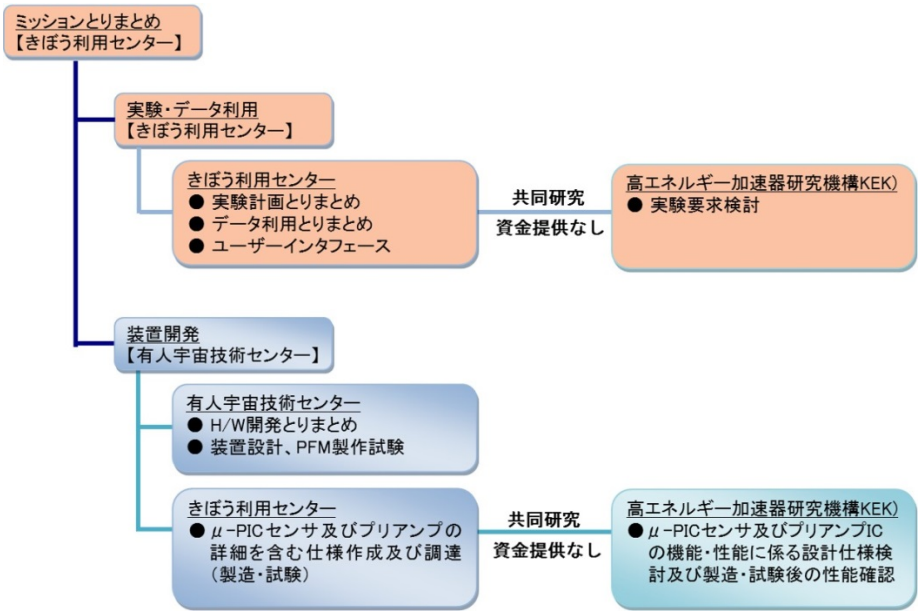


図 2.4-1　JAXA 内体制

2.4.3　体制に関する課題

体制についての課題として、以下 2 点が挙げられる。

① 装置製作過程で、製作メーカーにおいて問題が発生した場合（メーカーが実際に問題と認知できなかった場合も含めて)、その課題・問題点が研究チームにフィードバックされないまま、行程が進んでしまう事態があり、後で幾つかのトラブルの発生に繋がった。 問題発生が告知された場合、或いは研究チームで問題を認知した場合、個々に対応を依頼したが、研究チームが問題点を把握するまでに時間が必要とされた事案や、実験準備、運用の各段階で時間的なロスを発生させる原因になった可能性が高い。

② 準備が長期間に渡ったため仕方がない面もあるが、研究チームにとっての不測の担当者（JAXA 及びメーカー）の交代が多々あり、設計方針の詳細や問題点・課題などが確実に継承されずに、時として認知されずに不具合へと繋がる要因となった。担当者交代に際して、開発経緯の整合性や継続性を取る必要があったのではないかと思われる。

2.5　スケジュール

PS-TEPC 実験のテーマ選定以降の主なスケジュールを図 2.5-1 に示す。

図 2.5-1　　PS-TEPC 実験全体スケジュール

次節 3.1 でも詳しく述べるように、フライト準備フェーズ移行審査会（SDR）時に提示したスケジュールと比べ、開発完了が 25 ヶ月遅れた結果となった。原因は、以下に示すような JAXA 所掌で進めていた開発関連の遅延によるものである。

・プリアンプ IC のスクリーニング試験不合格による再調達に伴う遅延（7 ヶ月）

・プリアンプを主体とした増幅回路系のノイズレベル低減対応（16 ヶ月）：プリアンプの原型は研究者チームで設計し動作確認後、メーカーが基板設計を実施。雑音対策が十分でなかった可能性がある。

・HTV6 打上げ遅延に伴い、検出器（ディテクタ・ユニット）の真空排気に必要な最短期間を確保(2 ヶ月)

３． 実験準備・運用

3.1 概要（実験準備（PS-TEPC の開発）から打ち上げ、運用、停止まで）

小型化に成功した PS-TEPC（Ver.2）を基本とした宇宙モデルの概念設計が進められ、地上での動作実証用モデルとして Ver.3 が製作された。この中には、宇宙仕様増幅器回路やμ-PIC の新規開発も含まれた

Ver.1 では検出器を生体組織等価物質で構成し、PS-TEPEC が正確な線量評価を可能とする実時間測定器となることを示すことができた。さらには、宇宙放射線場を模擬した加速器からの種々の重荷電粒子ビームによる照射実験から、より広い LET 範囲の種々の粒子に対して結果を得る事ができ、PS-TEPC の動作実証を行い得た。一方で、実用線量計として、測定精度の向上を目的とした低雑音化や回路構成を簡略化して安定性や冗長性、可搬性を高める工夫が必要で、低ノイズ化、検出器や回路の小型化を進めた Ver.2 を製作した。この Ver.2 を用いて、ビーム照射実験を行い、詳細な線量計としての特性評価をまとめてきた。これまでに照射した荷電粒子は、H、He、C、Si、Ar、Fe であり、広い LET 範囲での測定が行えた。また、エネルギー分解能は Ver.1 と比べ 2〜3 倍良好となり、宇宙線由来の最小電離粒子（MIP）であるミュー粒子の測定にも成功した。前述の NCRP の勧告を満たす性能が得られるまでに至った[10]。

これまでの結果を踏まえて、SDR により PS-TEPC を ISS への打上・搭載し測定実験を行う事が採択された。まず、Ver.2 を基本とした宇宙モデルの概念設計が進められ、地上での動作実証用モデルとして Ver.3 が我々のもとに製作された。この中には、宇宙仕様増幅器回路やマイクロ-PIC の新規開発も含まれた。2012-2013 年度は、Ver.3 の特性試験実施と平行して宇宙実験で用いるものと同等なエンジニアリングモデル（BBM）の JAXA 所掌により製作を進め 2013 年夏に完成させ、放射線医学総合研究所の重イオン加速器（HIMAC）や高エネルギー加速器研究機構（KEK）の放射線照射棟 DT 中性子発生装置を用いて、荷電粒子や中性子照射に対するレスポンスを取得する照射テストのほか、宇宙仕様としての強度試験等を行ってきた。これをベースとしたフライトモデル（PFM）の製作が 2014 年度より開始され、各種の宇宙耐性試験に加えて放医研 HIMAC や KEK 放射線照射棟における照射校正試験が行われた。この過程で、これまでのモデルでは認められなかった回路系雑音が FLM モデルで顕著に表れる事象が見つかり、本年度 1 年近くをかけて原因の追求とその改善に努めてきた。2016 年 3 月までには適切な解決策が見つかり、それを修復し ISS への打ち上げの準備を進めた。

2016 年度になって、振動試験をはじめとする打ち上げのための所定の試験、並びに加速器ビームを用いた較正試験が 2016 年 7 月まで続けられた後、最終のガス交換のための真空排気作業等、打ち上げのための準備作業が綿密に始められた。10 月には打ち上げのためのガス充填作業や動作確認試験等の最終準備作業を行い、11 月 23 日に引き渡し、種子島宇宙センターへの移送、打ち上げ用ロケットである HTV- 6 への搬入を行い、12 月 9 日に打ち

上げに成功した。HTV-6 は 12 月 14 日に ISS へ到着し宇宙飛行士により ISS きぼうモジュール内への PS-TEPC フライトモデルの据え付けが行われた。その後、通信関係のトラブルがあったが無事修復され、試験調整が行われた後、12 月 28 日から定常運用開始となった。これにより、宇宙放射線測定実験が開始された。　翌年 4 月になって、突如通信が再度ダウンしたため調査を行ったが、後述するように、コントローラ本体の HD の不調によるものが原因と断定された。最終的には 11 月に代替 HD を打ち上げ交換することにより復旧し、データの取得並びに保存、地上への定期的な送信が行われるようになった。2018 年 4 月になって、1 年以上の長期にわたる ISS 搭載による宇宙空間での動作試験、データ取得試験の成功を確認した上で、4 月 2 日に PS-TEPC フライトモデルによる実験を停止した。

3.2　装置開発

3.2.1　実験装置

フライト実験準備フェーズ移行審査（SDR）の後、エンジニアリングモデル（BBM）及びフライトモデル（PFM）の開発をした[12]。図 3.2-1 に PFM の検出部の構造を測定原理と共に示す。測定原理に示すように、400μm ピッチで並べた同心円状電極で構成される μ-PIC により、入射放射線により生成した電離電子を収集増培し、信号波高値と 2 次元位置情報（x-y）を得る。電子の飛行時間から z-方向の位置を決定し入射放射線の 3 次元位置を構築する。μ-PIC（検出面積：2.6×2.6cm）、ドリフトプレーン（陰電極）及び電場校正用のガードリングで囲まれた部分が有効検出部となり、1 気圧の組織等価気体（CH_4:64.6%＋CO_2:32.4%＋N_2:3.2%の混合気体）で満たされる。

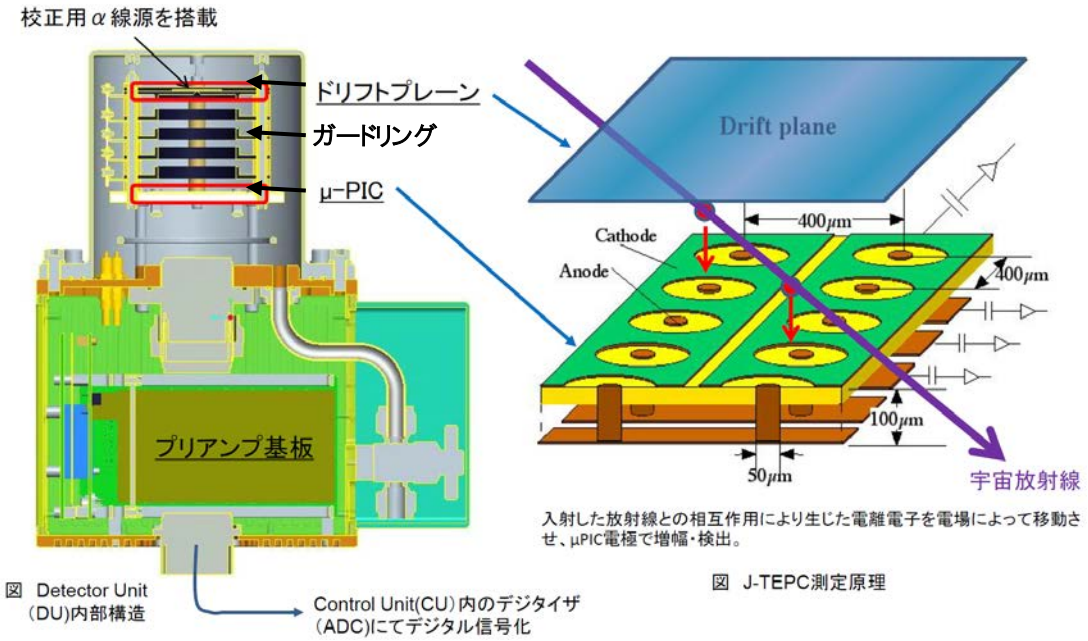


図 3.2-1　フライトモデル（PFM）の検出器部（ディテクタユニット、DU）の構造

検出部（DU）には増幅回路及び高電圧（HV）電源回路が組み込まれる。図 3.2-2 にμ-PIC

基盤を示す。

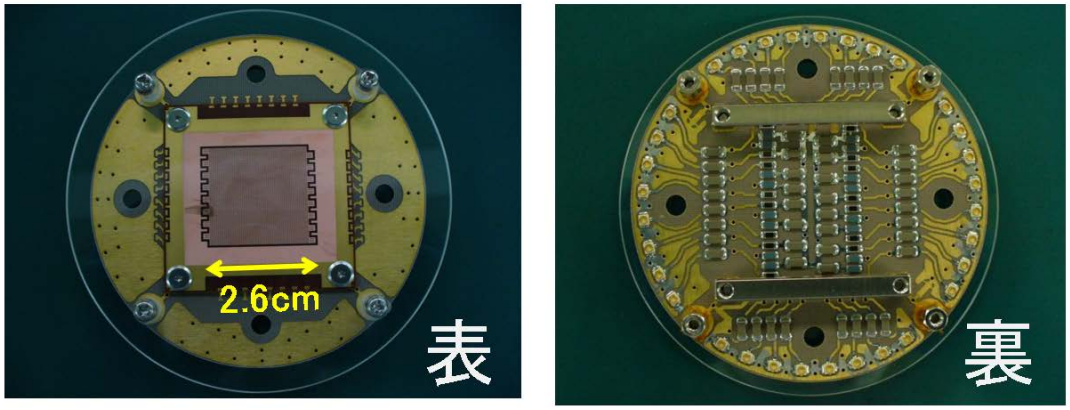


図 3.2-2　μ-PIC と電圧印加用基盤

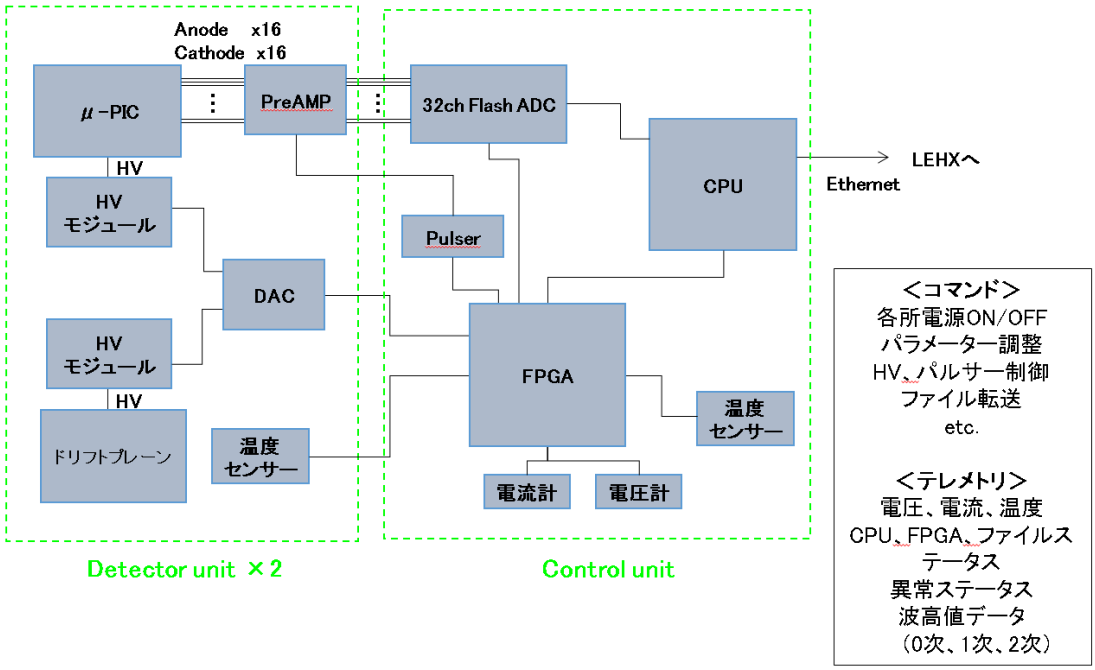


図 3.2-3　制御ユニット（CU）のブロックダイアグラム

図 3.2-3 に、制御ユニット（CU）のブロックダイアグラムを示す。DU からの信号は、Flash ADC でデジタル波形処理され、波高値や時間タイミング、位置情報のデータが解析、記録されると共に Ethernet を通して送信される。

3.2.2　ビーム照射試験

これまでの PS-TEPC と同様に、BBM や PMF に対してもビーム照射試験を実施し性能確認を行った。以下に、放射線医学総合研究所の重イオン加速器施設（HIMAC）における PFM のビーム照射試験の例を示す。

実験配置を図 3.2-4 に示す。H（230MeV/n）、C（400MeV/n）、Si（800MeV/n）、Fe（500MeV/n） のイオンビームをそれぞれ照射し、PMF の特性（飛跡構築、エネルギー測定、エネルギー分解能、線形性等）について調べた。

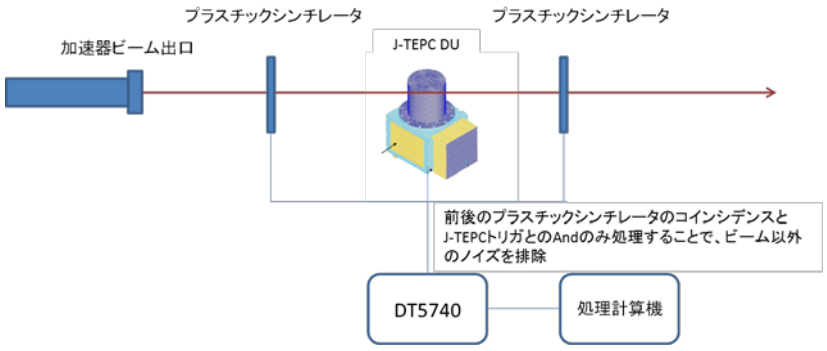


図 3.2-4　照射試験の配置

結果の例として、直径約 1cm の Fe イオンビーム（500MeV/n）に対する測定結果（3 次元飛跡、エネルギー分布、及び飛跡長分布）を図 3.2-5 に示す。図 3.2-6 及び図 3.2-7 には、H、C、Si、Fe の 4 粒子に対して測定したそれぞれ電荷量分布（電荷量からエネルギーが換算される）を示す。

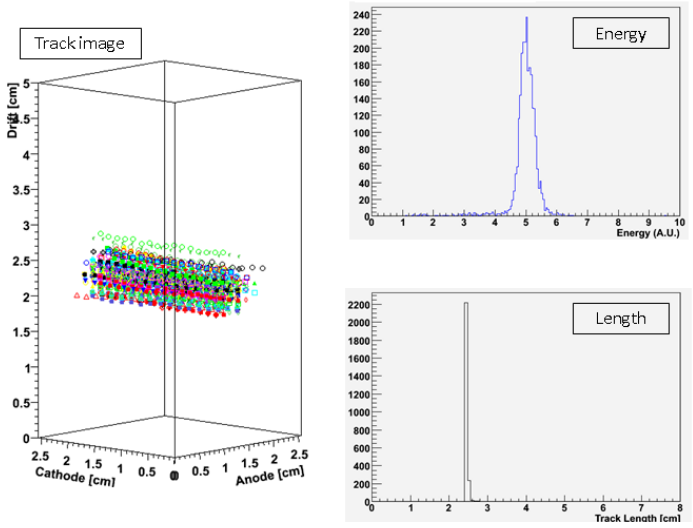


図 3.2-5　Fe ビームに対する測定結果
（左：ビーム飛跡、右上：吸収エネルギー、右下：飛跡長）

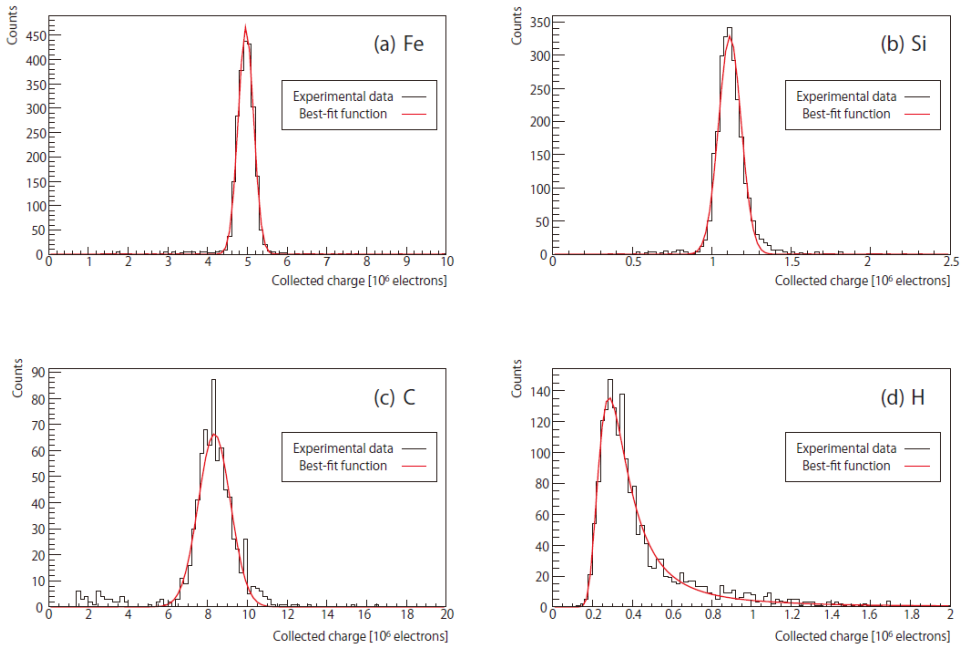


図 3.2- 6　H、C、Si、及び Fe 粒子に対する電荷量分布（エネルギー分布に相当）

図 3.2.-7 及び図 3.2.-8 に、それぞれ吸収エネルギーに対する計算値と測定値の比較、並びに LET に対するエネルギー分解能の変化を示す（いずれも 2016 年 7 月に実施した打上げ前の HIMAC 実験で取得したデータを解析したもの）。μ-PIC への印加電圧は Fe と Si 対しては 650V、C と H に対しては 900V である。ドリフトプレーンへの印加電圧はいずれの粒子に対しても－3300V である。

図 3.2.-7 において、横軸は高精度阻止能・飛程計算コードである SRIM2008[13]を用いて見積もった吸収エネルギー、縦軸は PS-TEPC（PFM）による測定値で、4 つの測定点は右から Fe(500 MeV/n)、Si(800 MeV/n)、 C(400 MeV/n)、H（230 MeV）を照射した際に取得された電荷量分布をフィッティングし、その中心値をエネルギーに換算したものである。点線は X=Y の直線であり、いずれの測定点も直線に良く乗っていることから、PS-TEPC が広いエネルギー範囲で良い線形応答を持つことが示される。同様に、LET についても広い範囲で線形性を有することが実証されている。

図 3.2-8 において、横軸は SRIM2008 によって計算した LET（実測値とよく一致する）、縦軸は測定エネルー分解能で、右から Fe(500 MeV/n), Si(800 MeV/n), C(400 MeV/n)H (230 MeV）を照射した際に取得された電荷量分布をフィッティングし、その標準偏差をプロットしたものである。点線は理論モデルでフィットした場合の曲線であり、このモデルではフィットが悪いことが知られている。理論モデルに補正項を加えたフィッティングの結果が実線であり、いずれの測定点も良くフィットしている。実際の計測では理論モデルに含まれないノイズ成分があり、それが補正項として現れているものと考えられる。ここで得

られたフィット式は以下に示す通りで、機上データの検出効率の補正並びに線量当量の決定精度評価に使用する。係数はベストフィットパラメータである。

$$\sigma = 7.97 \times (0.09 \times \mathrm{LET})^{-0.5} + 2.01 \quad [\%]。$$

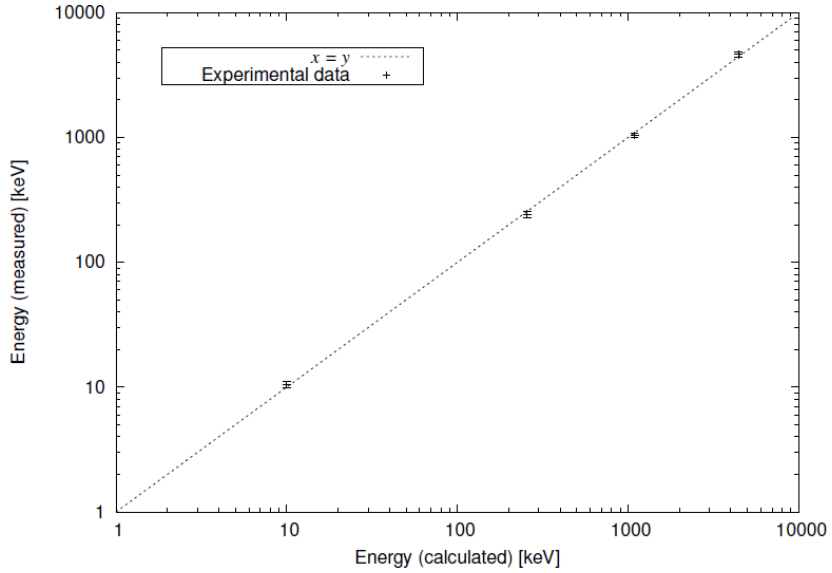


図 3.2-7　吸収エネルギーに対する実測値と SRIM2008 による計算値の比較

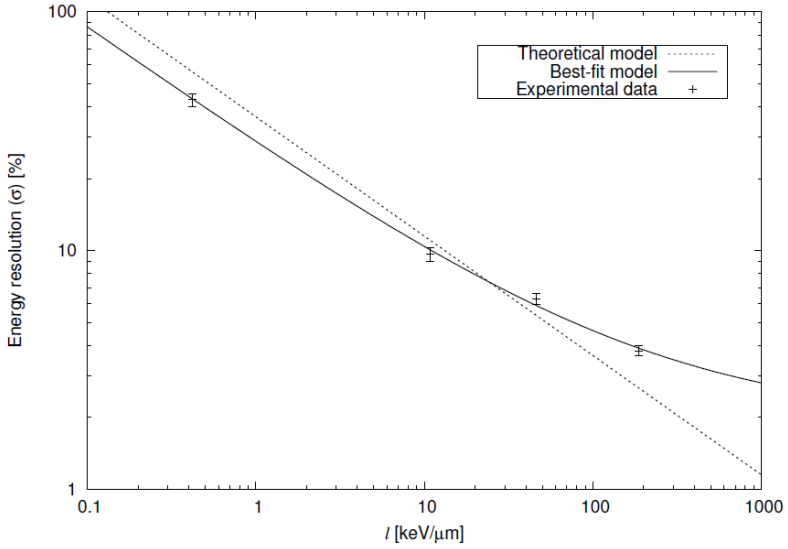


図 3.2-8　H、C、Si、及び Fe 粒子の LET に対するエネルギー分解能

ノイズレベルを許容可能な範囲まで低減することに時間を要したが、最終的に、図 3.2-9

に示す開発仕様を満たす PMF を完成することができた。PMF は 2 台の検出部（DU1 及び DU2）並びに制御ユニット（CU）から成り、2 台の DU は通常はそれぞれ低及び高 LET 粒子測定用として動作するが、印加電圧を変えることにより互いにそれぞれの範囲をカバーする冗長性を持つ。

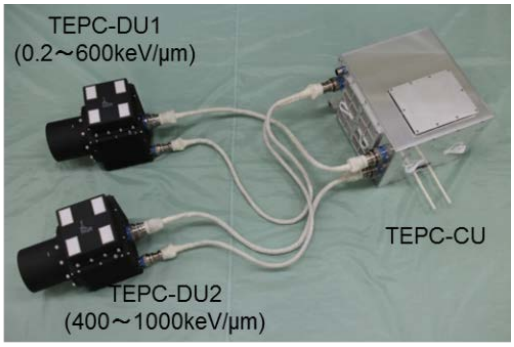


図 3.2- 9　完成したフライトモデル
と開発仕様（右）

項　目	開発仕様
LET 計測範囲	0.2～1000 keV/mm ＊被ばく線量に寄与する LET 領域 ＊単位は keV/mm (水中に対する)
寸　法	DU:166×W215×H256 mm CU:303×W214×H326 mm (アンテナ含まず)
重　量	DU　　: 6.8 kg CU　　: 13.3 kg ケーブル:　3 kg 総計　　30 kg
消費電力	140 W
その他	・全方位測定可能 ・リアルタイム測定可能 ・中性子検出可能 ・生体組織等価ガス（CH_4:64.6% + CO_2:32.4%＋N_2:3.2%）1 気圧入

3.3　軌道上実験運用

3.3.1　打ち上げ

開発メーカーである明星電気(株)において、出荷前にディテクタユニットの真空排気を行い、組織等価ガスを充填し、比較用の線量計 12 個（BioPADLES）並びに船壁設置用軌道上リファレンス用線量計（AreaPADLES）1 個とともに種子島宇宙センターに輸送（HTV6 レイトアクセス）され、打上げに供した（表 3.3 -1 参照)。

表 3.3-1　開発・打上品一式

名称	構成品名称	数量	説明
PS-TEPC (PFM)	DETECTOR UNIT	2	2 式のディテクタユニット（DU1 及び DU2）
	CONTROL UNIT	1	1 式のコントロールユニット（CU）
	SIGNAL CB	2	各 DU を接続する信号ケーブル
	POWER CB	1	各 DU と CU を接続する二股ケーブル
	120V　POWER CB	1	CU と PS120J を接続するケーブル
PADLES	Bio PADLES Area PADLES	13	各 DU に 6 個ずつ貼付られる合計 12 個の Bio PADLES、及び壁取付けの 1 個の AreaPADLES

3.3.2　運用

実験運用は、図 3.3-1 に示すシナリオに基づいて進められた。

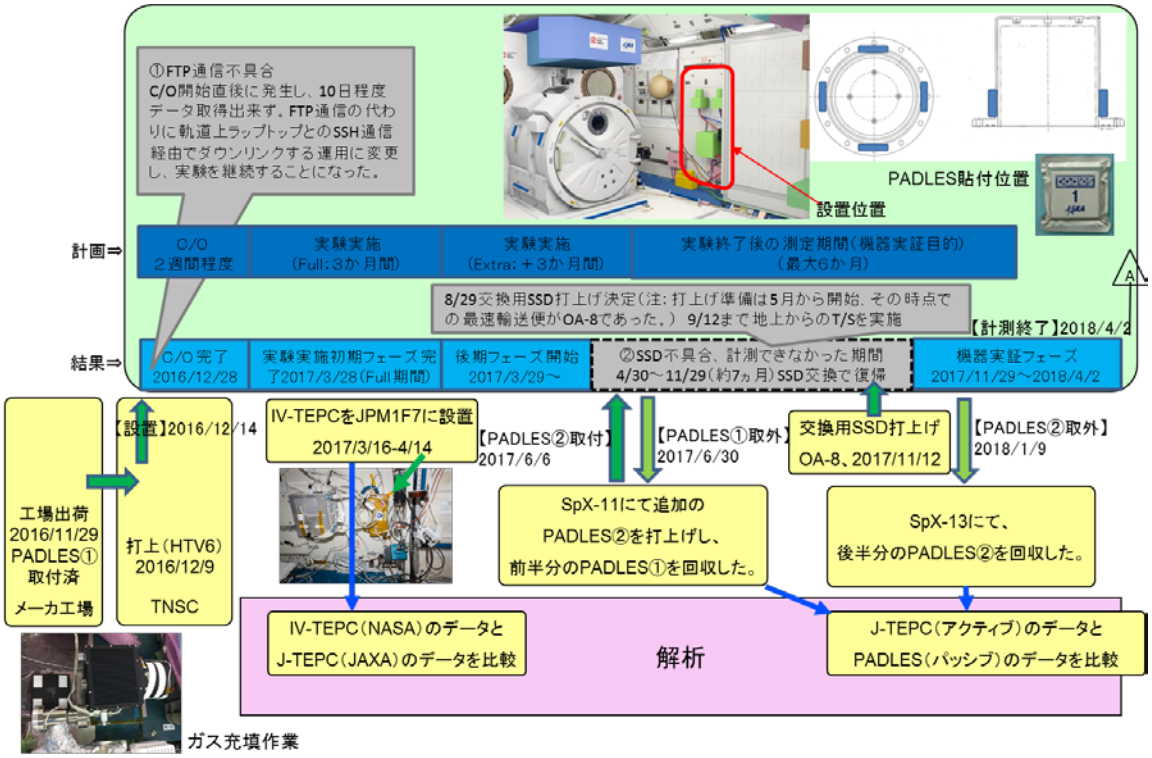


図 3.3-1　実験運用の概要

実際の運用の詳細は、以下の通りである。

（1）　打上設置

HTV 6 号機の打上げ（2016 年 12 月 9 日）後、可能な限り早い設置を要望し、PS-TEPC 及び比較対象用の線量計は 12 月 14 日に所定の場所に設置された（図 3.3-2）。

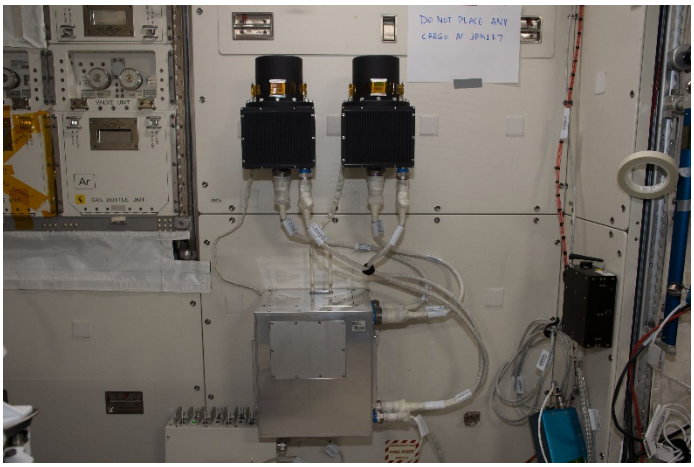


図 3.3-2　軌道上設置後

（2）軌道上 C/O

軌道上機器設置直後より軌道上チェックアウトとして各機器のテレメトリ確認を実施、データの計測を行ったが、翌日 12 月 16 日の FTP 伝送コマンド発行の約 20 分後にテレメトリが途絶するという現象が生じた。コマンド不達が続いたため、不具合対策（※）を行い、現象が再現した際に上流電源からのパワーサイクルを行うことで復旧させることができた。FTP 伝送を行う必要がある 0 次データの伝送については実運用への申し送りとし、所定の期間内でのチェックアウトを完了した。

（※）後に、ソフトウェアのエラー処理部分でフリーズしていたことが原因（ソフトウエア上のバグ）と判明。機器破損という危険性は伴うが、上流電源の機器遮断⇒再立ち上げというパワーサイクルを行う復旧手法を確立した。

（3）実験運用

ディテクタユニットの電圧設定を行い、可能な限り多くのデータを計測、収集した。リアルタイムで地上ダウンリンク（DL）される 1 次（波高値及び時間タイミング)、2 次データ（換算線量データ)、HS データ（温度、電圧、ステータス等の情報）に加え、他の実験との調整の上、帯域が確保できる場合に限り（概ね 1 ～ 2 週間に 1 度、8 時間～１６時間程度)、0 次データ（波形生データ）を DL した。DL されたデータは別途調整を行った一方向通信により研究者チームへ転送し、迅速なデータ確認ができる体制を整えた。

（4）PADLES 回収

軌道上計測開始から 3 か月以上経過しフルサクセス判断に必要な計測時間を達成後、積分線量計 PADLES の設置期間制約 (所定位置への設置期間が軌道上運用時間の 90%以上必要）を満たす最も早い帰還便として、SpX-11 により PADLES 一式（１３個）の回収を行い、比較計測に供した。PADLES 交換時には交換用 PADLES を打上げ（SpX－11)、比較計測が継続できるようにした（交換後の PADLES は SpX-13 で回収)。

（5）軌道上計測不具合と SSD の軌道上交換

エクストラ計測期間中の 2017 年 4 月 30 日に PS-TEPC との交信が途絶する事態が生じた。軌道上でのシリアル通信などにより内部ログを調査した結果、CU の記録媒体であるソリッドステートディスク（SSD）の内部ファイルの破損が疑われた。このため追加 SSD を調達し、追加打上げを実施（2017 年 11 月 12 日の OA-8 で打上げ）し、2017 年 11 月 29 日に軌道上での SSD 交換を行った結果、不具合は解消し、計測を再開することができた。再開までの 7 か月の間、データ取得はできなかった。

（6）PS-TEPC の本体回収

JAXA 側の判断により、不具合 SSD の原因調査のため同 SSD を回収（2018 年 5 月 6 日 SpX14 により地上帰還）した。しかしながら、地上での試験では不具合状況が再現せず、機器との組み合わせによる解析が必要と JAXA において判断され、PS-TEPC の本体も回収（2019 年 1 月 14 日 SpX16 により地上帰還）した。PS-TEPC 本体と不具合 SSD を組み合

わせての地上解析においても不具合の再発が確認できず、原因解析を継続中であるが難航している。運用中に発生したトラブル、処置、得られた知見について、表 3.3-2 に纏める。

表 3.3-2　軌道上不具合とレッスンズラーンド

番号	不具合内容	致命度	処置内容	レッスンズラーンド
①	0次データのFTP転送中にCPUがフリーズした。一度フリーズすると、計測が停止するのみならず、全通信が断絶してしまい、調査時間を含む大きなデッドタイムを生じてしまった。調査から、パワーサイクルによる再起動で正常動作に復帰することが明らかとなったものの、最も性能が出るガス充填直後の試験データを計測する時間が大幅に削られることになった。	中程度	FTP転送プロセスのプログラムを修正すれば不具合が解消すると見込まれたが、リスクを考えて実施せず。 軌道上ラップトップとのSSH通信経由で0次データダウンリンクを行う運用に変更。これに伴い運用負荷が増えたため、ダウンリンクする0次データ量がやや制限された。	CUに搭載されたプログラムの不備が原因であることがわかっている。確率的に起こる現象であり、転送量に応じて発生率が高まることも明らかになっている。試験ケースが充分であれば、納入前に検出できた可能性がある。 LEHXとの通信試験も含め、メーカーに責任をもって試験させる必要がある。
②	実験開始から約4か月後にテレメトリ断絶が発生し、パワーサイクルを実施したところ、OS boot中にフリーズする事象が発生した。この事象は恒久的に起こり、全ての計測が不能となった。	重篤	ファイルシステムの修復やOSの再インストール等のための様々な対処を試みたが、全てうまくいかず、交換用のSSDを追加で打上げし、軌道上交換したところ復旧した。不具合発生から復旧まで7か月間を要し、その間の計測が全くできなかった。（サイエンスインパクト重大）	地上回収品の不具合調査結果が出るまで結論は待つが、SSDの軌道上動作について現在では故障発生率は高いという認識があるものの、当時は軌道上のSSDには殆ど問題が起こっていないという認識がJAXA関係者とメーカーにあったと思われる。これは当時の少ないサンプル数に基づく認識であったことが推察される。プロジェクトを問わず、SSDに関係する不具合の知見をまとめて今後の部品選定のための情報源とすべき。
③	上記②不具合処置のため、SSD交換を実施し、再起動までは実現したが、一部通信不良が発生した。	軽微	CU内のネットワーク設定を正しく設定し直すことで復旧した。	地上試験で組み合わせた試験治具のMACアドレス設定がそのまま残っていたことが原因であった。試験後に打上げコンフィグにする際にネットワーク設定も確認項目とする。

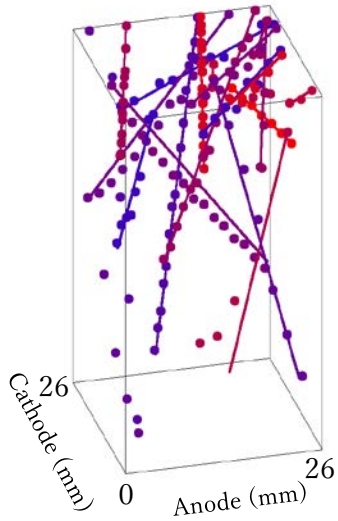
４．実験結果および成果

4.1　軌道上実験の結果

4.1.1　入射放射線の観測

（１）三次元飛跡解析

軌道上実験で取得した 3 次元飛跡データとして、図 4.1-1 に 20017 年 2 月 10 日の DU1 の機上データから再構成したものを例として示す。μ-PIC への印加電圧は 900 V で、ドリフトプレーンへの印加電圧は 3300 V である。点は測定点、実線は直線フィットの結果を表す。色は LET の高低を赤～青のグラデーションで表している。様々な方向からの入射が見られ、宇宙線起因のイベントが取得出来ている。生体組織等価の検出器を用いて宇宙線の 3 次元飛跡を取得したのは他に例がない。



測定条件
検出器　：DU1
測定日　：2017/02/10
・μ-PIC 印加電圧　：+900V
・ドリフトプレーン印加電圧：-3300V
（図中上がドリフトプレーン、下がμ-PIC 側）

図 4.1-1　軌道上実験で取得した宇宙線の 3 次元飛跡

軌道上実験の校正試験のため、既知のエネルギーのα線を放出する ^{241}Am 線源が検出部のドリフトプレーン中央部に設定されている。先に示した 3 次元飛跡の図では、図 4.1-2 に示すように、位置とエネルギーの情報を使用しα線のイベントを除く操作を行っている。

図 4.1-3 に、機上並びに地上における計数率を、α線イベントを選択した場合と選択しない場合に分けて示す。地上のデータは決められた時間範囲のみ計測した結果を示す。実測のα線放出率に等しい平均 0.1cps の計数率がα線の計数率として測定されており、イベントセレクションが正しく行われていることを示している。

(2) 入射放射線のイベントレート

図 4.1-4 において、左図はイベントレート（入射放射線の計数率）の時間推移を示し、地球周回（約 90 分で 1 周回）に対応するレートの変化が見て取れる。右上図は飛行経路を示しており、イベントレートによって色づけしている。経度-50 度、緯度-30 度付近で極端に

イベントレートが高く、これは右下図に示す南大西洋磁気異常（SAA）として知られている領域と良く対応している。　図 4.1-5 には、極域、非極域、SAA 領域に分けた場合のイベントレートの分布（上段）とイベントレートの推移（下段）を示した。代表例として 2017 年 2 月 10 日の DU2 のデータから解析したものを示している（このときのμ-PIC への印加電圧は 900 V ドリフトプレーンへの印加電圧は 3300 V)。非極域、極域、SAA 領域のイベントレートの極値がそれぞれ数 cps、数 cps～10cps、10cps～数百 cps に対応している。このことから、取得したイベントは宇宙線起因であり、レートに正確に追従していることが分かる。

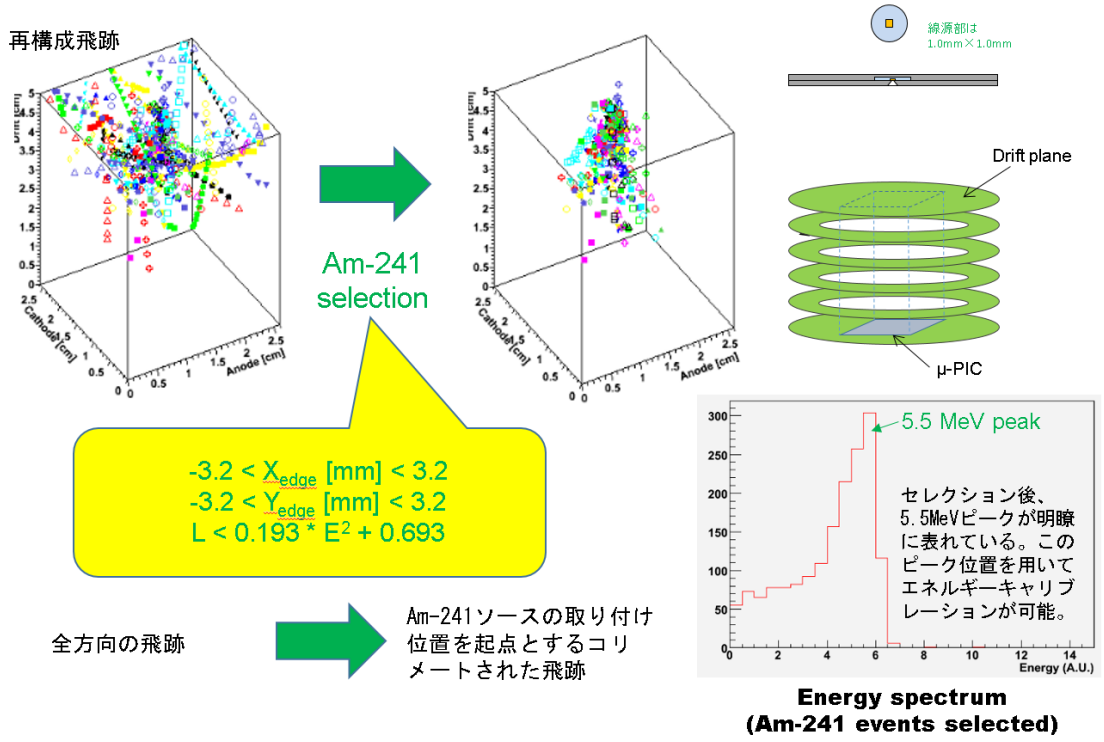


図 4.1-2　　^{241}Am α線源による機上でのリアルタイム校正

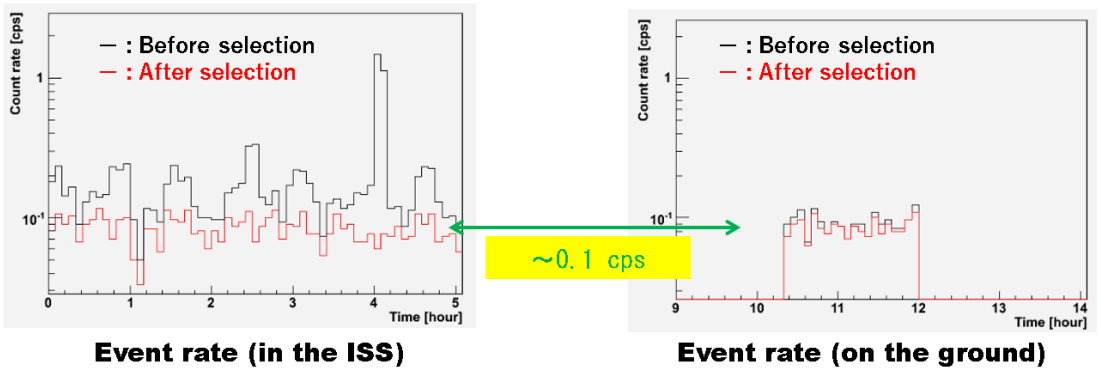


図 4.1-3　　イベントセレクション

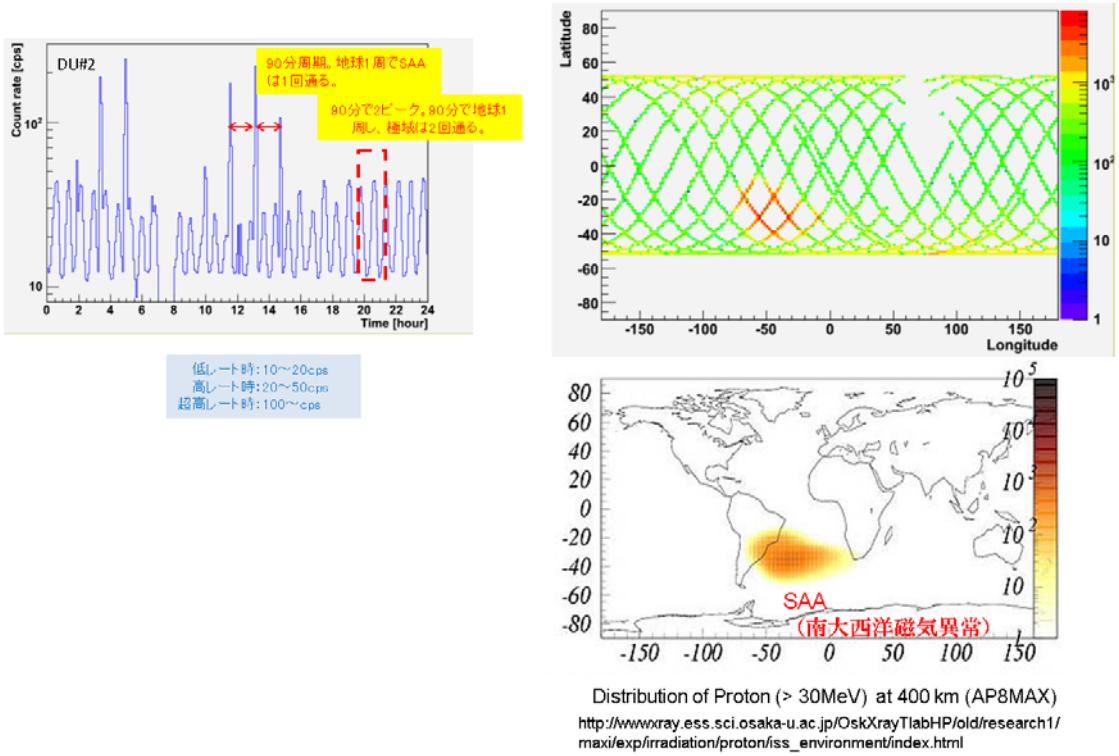


図 4.1-4　イベントレートと周回位置の関係

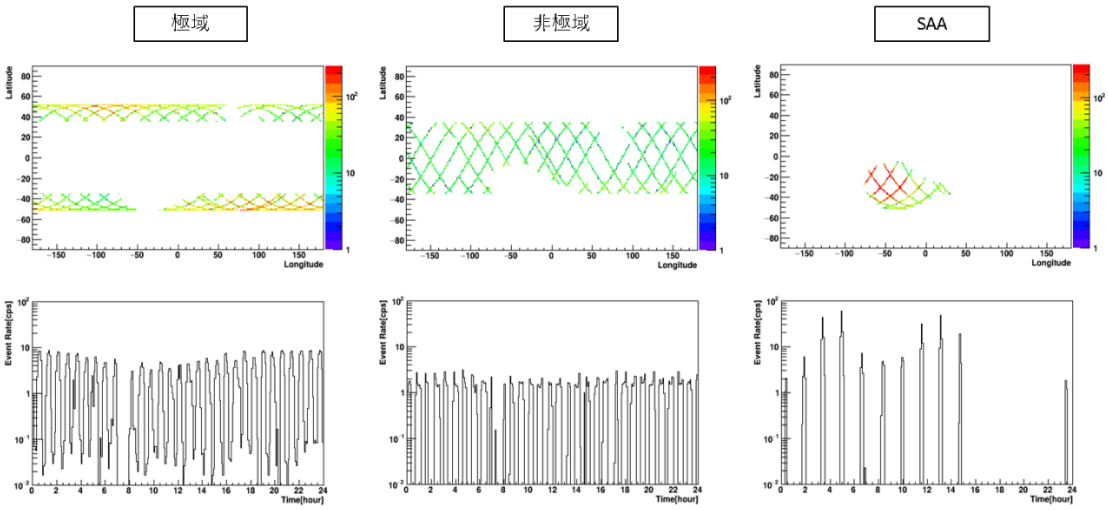


図 4.1- 5　飛行領域に対する一次データのイベントレートの変化。

4.1.2　LET 分布

機上データから導出した LET 分布を、DU1 で測定したものを例として図 4.1-6 に示す。ここで示した DU1 のデータは 2016 年 12 月 25 日のデータ（高 LET 側）と 2017 年 1 月

31 日のデータ（低 LET 側）を重ねたものである。得られた LET 分布は、高 LET 側と低 LET 側において連続して接続しており、緑と水色で示した RRMD-III（STS84△、並びに STS91□）により得られた LET 分布と誤差の範囲内で一致している。

図 4.1-7 に、DU1 及び DU2 において計測した LET 分布の比較を示す。DU1 のデータは 2016 年 12 月 25 日のデータ（高 LET 側）と 2017 年 1 月 31 日のデータ（低 LET 側）を重ねたもので、DU2 のデータは 2016 年 12 月 25 日のデータ（高 LET 側）と 2017 年 1 月 11 日のデータ（低 LET 側）を重ねたものである。同等の LET 分布が示されていることから、得られている LET 分布が検出部個体の固有パラメータに依存しないものであることが分かる。また、今回の測定した最大 LET は 650keV/mm-water 程度の粒子(Fe と思われる)であるが、それ以上の 1000 keV/mm-water 程度の粒子まで問題なく測定可能である。

図 4.1-8 に DU1 及び DU2 の同時計測（測定日：2017 年 1 月 19 日）により導出した LET 分布を示す。高 LET 側を DU1 を用いて、低 LET 側を DU2 を用いて計測した結果である。比較のため図 4.1- 6 の DU1 の LET 分布を赤い点で載せている。両者で同等の分布が得られており、2 台の検出部の同時計測によりリアルタイムにフルレンジの LET 分布を測定可能であることが示された。

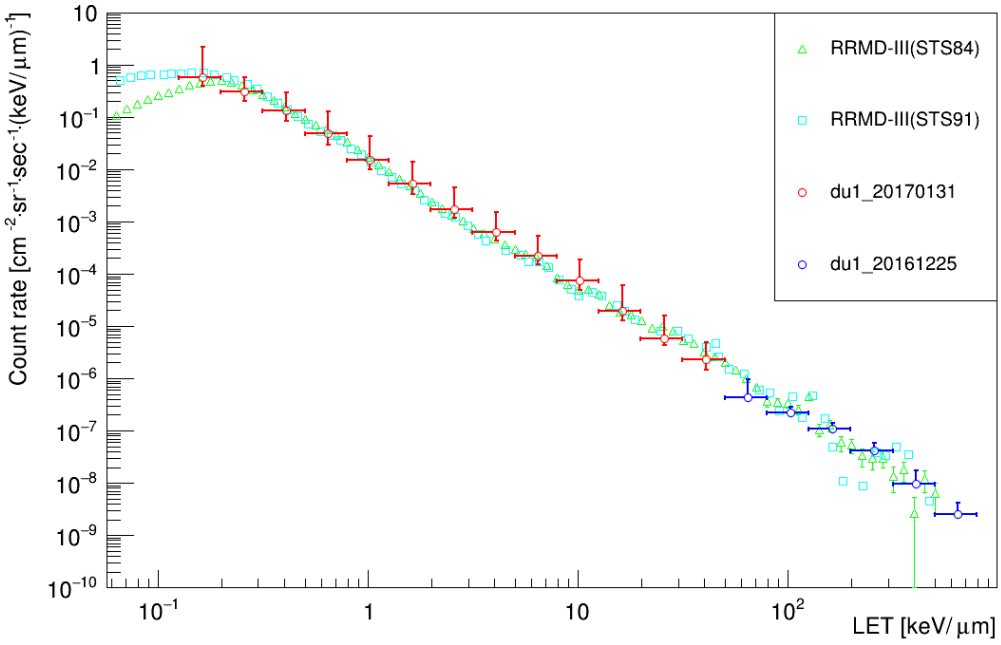


図 4.1-6　機上で測定した入射放射線の LET 分布（DU1）

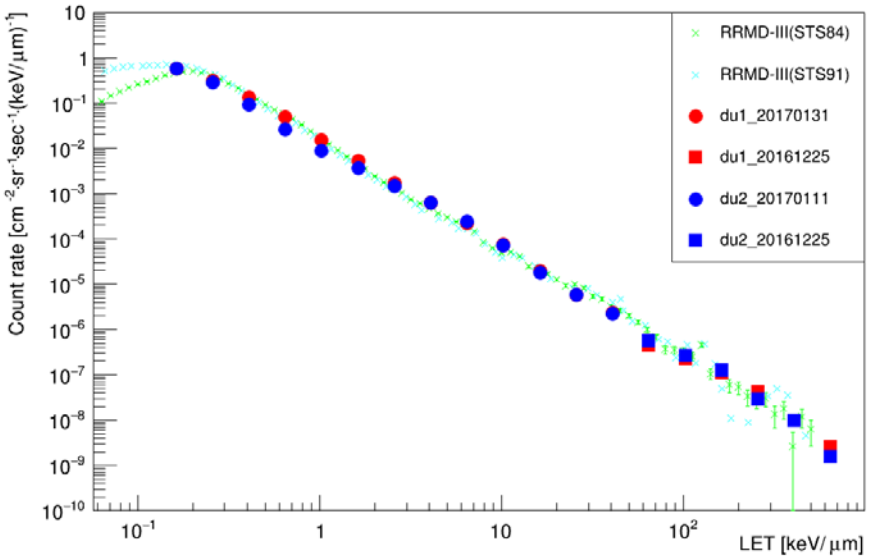


図 4.1-7　機上で測定した入射放射線の LET 分布（DU1 及び DU2 の比較）

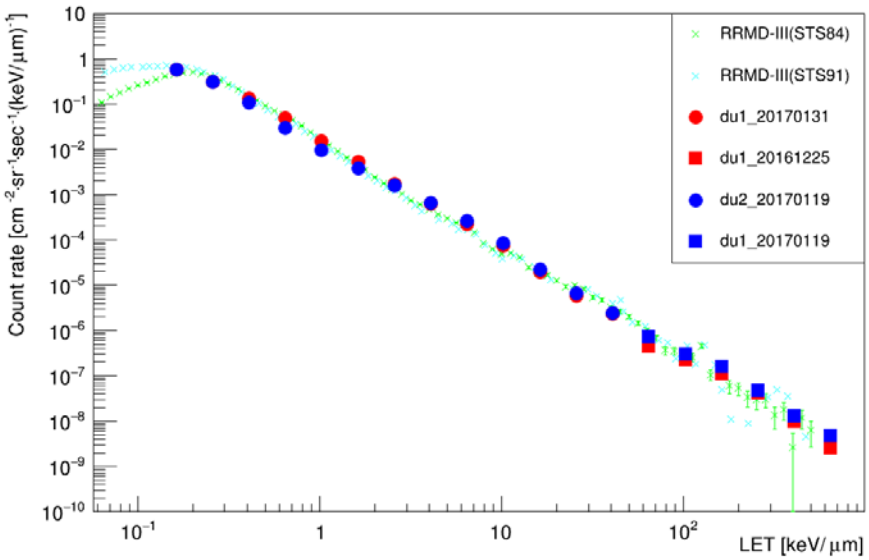


図 4.1-8　機上で測定した入射放射線の LET 分布（DU1 と DU2 同時計測）

4.1.3　吸収線量、線量当量及び実効線質係数

表 4.1-1 及びに表 4.1-2 に、それぞれ、期間を打ち上げ後約 4 ヶ月間（2016 年 12 月 25 日～2017 年 4 月 17 日）としその間の数日の平均として求めた線量当量、吸収線量、及び実効線質係数の評価結果、並びに期間を 1 日としてその間の平均として求めた線量当量、吸収線量、及び実効線質係数の評価結果を示す。誤差は、①飛跡長の決定制度（電子のドリフト速度の測定誤差、並びにドリフトに伴う拡散を含む）、②W 値（1 電子-イオン対を生成するのに必要な平均エネルギー）の誤差、③エネルギー校正に起因する誤差、④エネル

ギー分解能、⑤ドリフト中の電荷減衰効果の評価に伴う誤差、⑥装置ジオメトリに起因する誤差、から評価した[13]。

表 4.1-1　打ち上げ後、約 4 ヶ月間の平均として求めた線量当量、吸収線量、実効線質係数、及びそれに対する誤差

＜中心値と誤差＞

	単位	中心値	誤差（－側、1σ）	誤差（＋側、1σ）
吸収線量	[μGy/min]	6.39E-02	6.47E-03	7.27E-03
線量当量	[μSv/min]	2.56E-01	3.22E-02	4.06E-02
実効線質係数		3.99E+00	6.44E-01	7.78E-01

＜誤差の割合＞

	単位	中心値	誤差（－側、1σ）	誤差（＋側、1σ）
吸収線量	[%]	-	10.1	11.4
線量当量	[%]	-	12.6	15.8
実効線質係数	[%]	-	16.2	19.5

表 4.1-2　期間 1 日（4 月 17 日及び 4 月 12 日）の線量当量、吸収線量、実効線質係数、及びそれに対する誤差

＜中心値と誤差＞

	単位	中心値	誤差（－側、1σ）	誤差（＋側、1σ）
吸収線量	[μGy/min]	6.81E-02	7.44E-03	7.78E-03
線量当量	[μSv/min]	3.18E-01	3.95E-02	4.85E-02
実効線質係数		4.66E+00	7.72E-01	8.89E-01

＜誤差の割合＞

	単位	中心値	誤差（－側、1σ）	誤差（＋側、1σ）
吸収線量	[%]	-	10.9	11.4
線量当量	[%]	-	12.4	15.3
実効線質係数	[%]	-	16.6	19.1

4.1.4　実験開始後 1 年以上にわたる性能評価

検出器性能の経時変化は、主として検出器ガスの劣化によって起こり、収集電荷すなわ

ち出力波高値を減少させる現象として現れる。この原因は、検出器内の電極等の部材や内壁から放出される不純物に起因する電子付着の影響と考えられる。電子付着を仮定し電荷量 H（初期量を H_0 とする）が電子移動距離（発生点からμ-PIC までの距離）x に対して指数的に減少するとして、減衰量 H/H_0 は

$H/H_0=\exp(\eta x)$、

となる。ここでηは減衰定数であり、μ-PIC の複数の電極を通過するイベント抜き出して各電極からの電荷量を電子の移動距離に対してプロットし指数関数でフィットさせることで求めることができる。機上に於ける経時変化に対する減衰定数を測定すると、図 4.1-9(a)に示す様に打ち上げ当初に比べて 1 年後には減衰定数は小さな値となる。距離に対する波高値（収集電荷量）の変化は、同図(b)に示す結果となる。この補正を用いて LET 分布を求めると、同図(d)に示す分布となり、打ち上げ直後に取得した分布（図（c）或いは図 4.1-6）と誤差の範囲内で一致する分布が得られた。

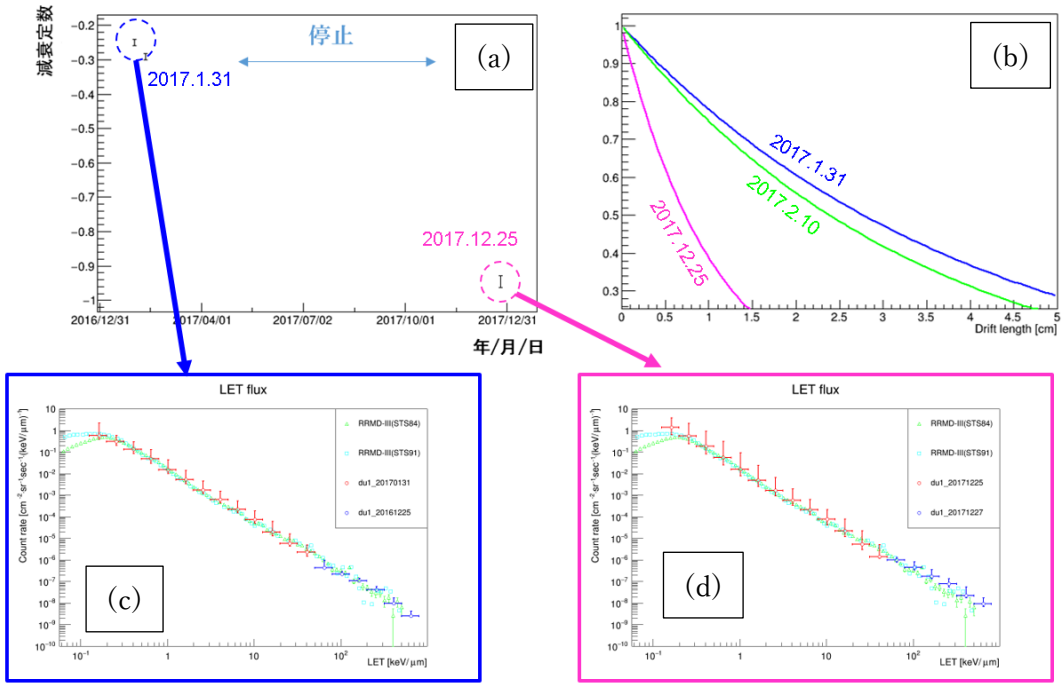


図 4.1-9　ガス劣化による減衰定数と 1 年経過後の LET 分布

4.2　結果の考察

4.2.1　他の測定装置との比較

（1）PADRES

図 4.2-1 に LET 分布について PADLES の結果との比較を示す。PS-TEPC のデータは DU1 のもので、2016 年 12 月 25 日のデータ（高 LET 側）と 2017 年 1 月 31 日のデータ（低 LET 側）をマージしたものである。PADLES は 2016 年 11 月 29 日に取り付け、2017 年 7 月 3 に取り外したものである。pack1～6、pack7～12 がそれぞれ DU1、DU2 に取り付けられ、pack13 は PS-TEPC 近傍の船壁に取り付けられたものである。PADRES のデータは取付位置や方向、周辺物質量に依存性があり、また個体間の差異もあって幅を持つが、その範囲内で、PS-TEPC で測定した LET 分布はよく収まっている。

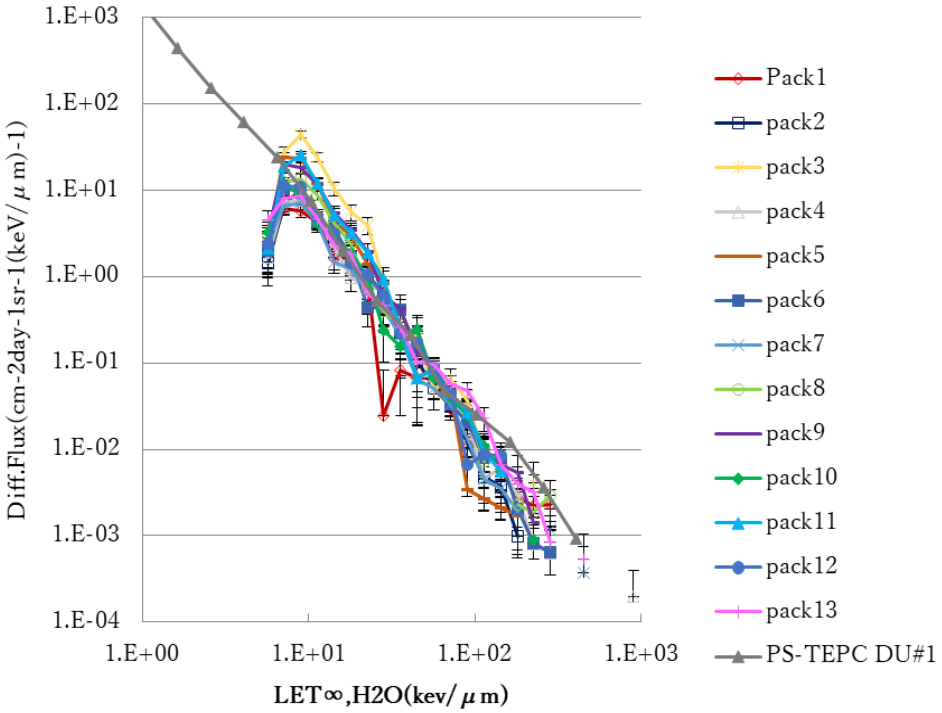


図 4.2-1 に LET 分布について PADLES の結果との比較

（2）NASA/TEPC との比較

PS-TEPC の近傍に NASA/TEPC（Intra-Vehicular TEPC）を設置し測定する機会があった。NASA/TEPC の誤差や LET 測定範囲（ただし、TEPC では LET は原理的に測定できない）等、実験の詳細が明らかにされていないので単純な比較はできないが、表 4.2-1 に示す結果となった。

表 4.2-1　NASA/TEPC（Intra-Vehicular TEPC）との比較

検出器	吸収線量率 [μGy/day]	線量当量率 [μSv/day]	備考
PS-TEPC	92（+11，−9）	369（+59，−46）	2017.4.12と4.17のデータ
IV-TEPC	145	430	2017.4.12のデータ

＊括弧内の数値は決定誤差

4.3　サクセスクライテリアの達成状況

サクセスクライテリアの達成状況を以下の表にまとめる。

表 4.3-1 サクセスクライテリア達成状況(実験)

サクセスレベル	内容	達成度	達成度判定根拠
Minimum Success	・宇宙環境における荷電粒子及び2次中性子の入射粒子に対して、入射イベント毎の3次元飛跡計測並びにLET分布を測定し、吸収線量を軌道上で算出出来ること。	達成 ◎	J-TEPCをきぼう内部に設置し計測を行い、入射イベントごとの3次元飛跡計測並びにLET分布を測定し、吸収線量を算出した。 イベントは宇宙由来の荷電粒子及び2次中性子の入射によるものである。
Full Success	・宇宙放射線に対して想定されるLET範囲(水中におけるLETとして0.2～1000 keV/μm)をカバーした測定を3カ月にわたり行え、線量当量と実効的な線質係数を誤差30%以内で決定できること。	達成 ◎	左記のLET範囲で3か月以上にわたり計測を行い実証実験を行った。 線量当量を誤差15%で、実効的な線質係数を誤差20%で決定した。
Extra Success	・宇宙放射線に対して想定されるLET範囲(水中におけるLETとして0.2～1000 keV/μm)をカバーした測定を6カ月以上行え、線量当量と実効的な線質係数を誤差30%以内で決定できること。	達成見込 ◎	左記のLET範囲で途中7か月間の中断を挟み、6か月以上にわたり計測を行った。 SSD故障不具合発生直前の計測開始後4か月弱の計測結果では、線量当量を誤差15%で、実効的な線質係数を誤差20%で決定できている。 計測開始後6か月目のデータはSSD故障不具合により得られなかったものの、SSD交換による計測再開後(実験開始から約11か月後以降)のデータを得ることができている。充填ガスの劣化が進んでいるため、補正検討項目が多いが、これまでと遜色のないLET分布を取得できており、達成の見込みが高い。

表 4.3-2 サクセスクライテリア達成状況(装置及び実験技術)

サクセスレベル	内容	達成度	達成度判定根拠
Minimum Success	・今後のシステム開発に資する、性能評価のためのデータ取得が3カ月間出来ること。	達成 ◎	2016年12月末から3か月間にわたり、計測器としての基本性能(吸収線量、LET分布、3次元飛跡の計測)の評価を実施し、同期間以上にわたって想定した全LET範囲で動作することが確認できた。
Full Success	・今後のシステム開発に資する、性能評価のためのデータ取得が1年間出来ること。	達成 ◎	2018年4月までに計測器としての基本性能(吸収線量、LET分布、3次元飛跡の計測)の評価を完了し、1年以上にわたり想定した全LET範囲で動作することが実証できた。(注)
Extra Success	N/A	N/A	N/A

注：装置の計測寿命を決めるのは主として DU 内に充填している生体等価ガスの劣化である。DU 内の基板等から放出されるアウトガスにより進行する劣化は計測を行っていない期間も進行したと考えられ、不具合により途中約 7 か月間の計測不能期間があったが、計測開始から 1 年後のデータは取得できたため、計測開始から 1 年間の性能評価に足るデータ

取得ができた。

5．　結言

5.1　成果の総括

ISS・きぼう利用ミッション「位置有感生体等価比例計数箱による宇宙ステーション内での線量当量計測技術の確立(PS-TEPC）」により、以下の成果が得られた。

(1)　位置有感生体組織等価比例計数箱（PS-TEPC）のフライトモデル（PFM）を設計開発し、放医研重イオン加速器 HIMAC を用いた校正照射試験等を実施、所定の性能を確認し ISS へ打ち上げ、きぼう内部に設置した。直後より計測実験を行い、宇宙放射線の入射イベントごとの 3 次元飛跡計測並びに LET 分布を測定し、吸収線量を算出した。イベントは宇宙由来の荷電粒子及び 2 次中性子の入射によるものである。

(2) 宇宙放射線に想定される LET 範囲（水中における LET として 0.2～1000 keV/μm)で 4 か月にわたり計測を行い実証実験を行った。線量当量を誤差 15%で、実効的な線質係数を誤差 20%で決定した。

(3) LET 範囲（水中における LET として 0.2～1000 keV/μm)で、途中 SSD の不具合による 7 ヶ月の中断を挟み、通算 6 ヶ月以上にわたり計測を行った。中断直前の 4 ヶ月の時点では、線量当量を誤差 15%で、実効的線質係数を誤差 20%で決定できており、SSD 交換後の計測再開時（実験開始から約 11 ヶ月後）でもデータ取得が可能であった。検出ガスである組織等価ガスの劣化は進んでおり、補正検討項目が多いが、これまでと遜色のない LET 分布が取得できた。線量当量及び実効的な線質係数を正確に求めるべく、また PSTEPC（PFM）自体の耐久性試験も含めて、現在も解析を継続中である。

5.2　まとめ

(1)　装置開発、技術実証の観点からは、線量計として 1 年以上（1 年と 4 ヶ月弱、途中中断 7 ヶ月）に渡り計測が可能であったことは、他に例がないのではないかと思われる。地上帰還後も問題なく動作しており、装置の健全性並びに安定性を評価したいと考える。

(2)　今回得られた成果は、月や火星ミッション用の線量計としての実用化にそのままフィードバックできると考えている。また、より一層の小型化による可搬性能の向上、放射線耐性設計が十分になされた線量計が開発できれば、地上における加速器や原子炉等の周辺での計測にも応用できると考える。複数線質の混合場に対して真に適用範囲の広い線量計測システムの確立を進めることができると思われる。

参考文献

[1] ICRP, ICRP 1990 Recommendations of the International Commission on Radiological Protection, Vol. 60, ICRP, 1991.

[2] G. Badhwar, A. Konradi, W. Atwell, M. Golightly, F. Cucinotta, J. Wilson, V. Petrov, I. Tchernykh, V. Shurshakov, A. Lobakov, Measurements of the linear energy transfer spectra on the mir orbital station and comparison with radiation transport models, Radiation Measurements 26 (2) (1996) 147-158. doi:https://doi.org/10.1016/1350-4487 (95) 00290-1.
URL http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/1350448795002901

[3] NCRP, “Operational Radiation Safety Program for Astronauts in low-earth orbit: a basic framework, NCRP Report No. 142, 2002, 56. ISBN 0-929600-75-4.

[4] T. Doke, T. Hayashi, J. Kikuchi, T. Sakaguchi, K. Terasawa, E. Yoshihira, S. Nagaoka, T. Nakano, S. Takahashi, Measurements of let-distribution, dose equivalent and quality factor with the rrmd-iii on the space shuttle missions sts-84, -89 and -91, Radiation Measurements 33 (3) (2001) 373{387, cited By 25. doi:10.1016/S1350-4487(00)00149-9.

[5] R.Beaujean, C. Reitz, J. Kopp, Mutation Res., 430 (1999) 183.

[6] T. Nagayoshi, T. Doke, Y. Fujita, K. Hattori, K. Ishida, J. Kikuchi, H. Kitamura, H. Kubo, H.Matsumoto, K. Miuchi, H. Nishimura, K. Saito, S. Sasaki, H. Sekiya, A. Takada, T. Tanimori, K. Terasawa, H. Tawara, Y. Uchihori, and K. Ueno: “Response of a Micro Pixel Chamber to Heavy Ions with the Energy of Several Hundreds of MeV/n” Nucl. Instr. Meth. A 581, 110-114 (2007).

[7] S. Sasaki, K. Saito, H. Tawara, T. Nagayoshi, Y. Fujita, T. Doke, K. Terasawa, K. Miuchi, H. Matsumoto, Y. Uchihori, Development of position-sensitive tissue equivalent proportional chamber for space dosimetry, in: 2007 IEEE Nuclear Science Symposium Conference Record, Vol. 3, 2007, pp. 1826-1829. doi:10.1109/NSSMIC.2007.4436513.

[8] S. Sasaki, “Development of a New Space Dismeter Based on LET Measurements for Heavy Charged Paerticles”, J. Jpn. Soc. Microgravity Appl. Vol.28 No.3 (2011) 67-73.

[9] A. Ochi, T. Nagayoshi, S. Koishi, T. Tanimori, T. Nagae, M. Nakamura, A new design of the gaseous imaging detector: Micro pixel chamber, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment 471 (1) (2001) 264-267, imaging 2000. doi:https://doi.org/10.1016/S0168-9002(01)00996-2.
URL http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168900201009962

[10] Y. Kishimoto, S. Sasaki, K. Saito, K. Takahashi, T. Doke, K. Miuchi, T. Fuse, A. Nagamatsu, Y. Uchihori, H. Kitamura, K. Terasawa, “Basic performance of a position-sensitive tissue-equivalent proportional chamber (PS-TEPC)”, Nucl. Instr. and Meth. A732 (2013) 591-594.

[11] H. Tawara, K. Murakami, A. Nagamatsu, K. Kitajo, K. Kumagai, N. Yasuda, Jpn. J. Appl.

Phys., 47 (2008) 7324.
[12] Yuji Kishimoto, Shinichi Sasaki, Kazutoshi Takahashi, Kazuhiro Terasawa, Kentaro Miuchi, Masato Katsuta, Aiko Nagamatsu, Tetsuhito Fuse , Kunishiro Mori, Hisashi Kitamura, Detector performance of the position-sensitive tissue-equivalent proportional chamber for space dosimetry onboard the international space station, Jpn. J. Appl. Phy., Vol. 59, 016003-1, (2020). doi: https://doi.org/10.7567/1347-4065/ab5de2
[13] J. F. Ziegler, M. Ziegler, J. Biersack, Srim the stopping and range of ions in matter (2010), Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms 268 (11) (2010) 1818 { 1823, 19th International Conference on Ion Beam Analysis.
doi: https://doi.org/10.1016/j.nimb.2010.02.091.
URL http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168583X10001862

成果リスト（SDR 以降）

1. 論文

1.1 ジャーナル

・S. Sasaki, “Development of a New Space Dismeter Based on LET Measurements for Heavy Charged Paerticles”, J. Jpn. Soc. Microgravity Appl. Vol.28 No.3 (2011) 67-73.

・Y. Kishimoto, S. Sasaki, K. Saito, K. Takahashi, T. Doke, K. Miuchi, T. Fuse, A. Nagamatsu, Y. Uchihori, H. Kitamura, K. Terasawa, “Basic performance of a position-sensitive tissue-equivalent proportional chamber (PS-TEPC)”, Nucl. Instr. and Meth. A732 (2013) 591-594.

・Yuji Kishimoto, Shinichi Sasaki, Kazutoshi Takahashi, Kazuhiro Terasawa, Kentaro Miuchi, Masato Katsuta, Aiko Nagamatsu, Tetsuhito Fuse , Kunishiro Mori, Hisashi Kitamura, Detector performance of the position-sensitive tissue-equivalent proportional chamber for space dosimetry onboard the international space station, Jpn. J. Appl. Phy., Vol. 59, 016003-1, (2020), (https://doi.org/10.7567/1347-4065/ab5de2)

1.2 Proceedings

・K. Terasawa, T. Doke, T. Fuse, Y. Ito, H. Kitamura, T. Komiyama, H. Kubo, H. Matsumoto, K. Miuchi, A. Nagamatsu, K. Saito, S. Sasaki, K. Takahashi, T. Tanimori, H. Tawara, and Y. Uchihori, Development of Position Sensitive Tissue Equivalent Proportional Counter (PS-TEPC) and establishment of a technique for space dosimetry on the International Space Station , Space Utilization Research 29 (2017).

・寺沢和洋、道家忠義、佐々木慎一、谷森達、松本晴久、俵裕子、内堀幸夫、窪秀利、込山立人、北村尚、身内賢太朗、永松愛子、伊藤裕一、布施哲人、岸本祐二、齋藤究、高

橋一智、寺門康男、中澤道夫、江口信次郎、 「位置有感比例計数管の重イオンに対する応答」、平成 28 年度放射線医学総合研究所・重粒子がん治療装置等共同利用研究報告書 (2017) 184-185.

1.3 その他の著作

・佐々木慎一、「宇宙線量計測システムの確立をめざして」、NL だより 6 月号 No.498 ナガセランダウア (2019) 1.

2. 講演発表

2.1 国際会議

・Y. Kishimoto, S. Sasaki, K. Saito, K. Takahashi, T. Doke, K. Miuchi, T. Fuse, A. Nagamatsu, Y. Uchihori, H. Kitamura, K. Terasawa, Basic performance of a position-sensitive tissue-equivalent proportional chamber (PS-TEPC), Vienna Conference on Instrumentation 2013 (VCI2013).
doi:https://doi.org/10.1016/j.nima.2013.05.149.
URL http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168900213007602

・Yuji Kishimoto, Shin-ichi Sasaki, Kiwamu Saito, Kazutoshi Takahashi, Kazuhiro Terasawa, Kentaro Miuchi, Aiko Nagamatsu, Masato Katsuta, Haruhisa Matsumoto, Toru Tanimori, Hidetoshi Kubo, Yukio Uchihori, Hisashi Kitamura, "Development of A Tissue-Equivalent Space Dosimeter with An Ability of Charged-Particle Tracking", ISRD2016 : International Symposium on Radiation Detectors and Their Uses, January 18, 2016.

・Yuji Kishimoto, Shin-ichi Sasaki, Kiwamu Saito, Kazutoshi Takahashi, Kazuhiro Terasawa, Kentaro Miuchi, Aiko Nagamatsu, Masato Katsuta, Tetsuhito Fuse, Haruhisa Matsumoto, Toru Tanimori, Hidetoshi Kubo, Yukio Uchihori, Hisashi Kitamura, "The Initial Results of Experiment on board the International Space Station using Position Sensitive Tissue-Equivalent Proportional Chamber “PS-TEPC”", 2017 IEEE Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference, Hyatt Regency, Atlanta, Georgia, U.S.A., October 25, 2017.

・Yuji Kishimoto, Shin-ichi Sasaki, Kiwamu Saito, Kazutoshi Takahashi, Kazuhiro Terasawa, Kentaro Miuchi, Aiko Nagamatsu, Masato Katsuta, Tetsuhito Fuse, Haruhisa Matsumoto, Toru Tanimori, Hidetoshi Kubo, Yukio Uchihori, Hisashi Kitamura, "Experiment on board the International Space Station using Position Sensitive Tissue-Equivalent Proportional Chamber “PS-TEPC”", ISRD2018 : International Symposium on Radiation Detectors and Their Uses, January 23, 2018.

2.2　国内学会等

・岸本祐二，佐々木慎一，高橋一智，齋藤究，寺沢和洋，身内賢太朗，永松愛子，勝田真登，松村祐介，伊藤裕一，松本晴久，森國城，谷森達，窪秀利，内堀幸夫，北村尚，"位置有感型比例計数箱 PS-TEPC の開発　～ISS 機上試験に向けて～"，第 13 回 Micro Pattern Gas Detector 研究会，神戸大学先端融合研究環統合研究拠点コンベンションホール, 2016 年 12 月 9 日.

・岸本祐二, "宇宙線による被ばくと線量計測"，筑波放射線安全交流会 総会・講演会， 筑波交流センター, 2017 年 7 月 11 日.

・岸本祐二, "位置有感型比例計数箱 PS-TEPC の開発"，放射線科学とその応用第 186 委員会第 24 回研究会，東京大学本郷キャンパス, 2017 年 7 月 31 日.

・岸本祐二，佐々木慎一，高橋一智，齋藤究，寺沢和洋，身内賢太朗，永松愛子，勝田真登，松村祐介，伊藤裕一，松本晴久，森國城，谷森達，窪秀利，内堀幸夫，北村尚，"位置有感型比例計数箱 PS-TEPC の開発：機上試験の初期結果"，第 78 回応用物理学会秋季学術講演会，福岡国際会議場・福岡国際センター・福岡サンパレスホテル, 2017 年 9 月 5 日.

・岸本祐二, "位置有感型比例計数箱PS-TEPCによる国際宇宙ステーションでの動作実証"，第 14 回 MPGD 研究会，岩手大学銀河ホール，2017 年 12 月 2 日.

・岸本祐二，佐々木慎一，高橋一智，齋藤究，寺沢和洋，身内賢太朗，池田直美，桝田大輔，永松愛子，勝田真登,松村祐介，松本晴久，森國城，谷森達，窪秀利，内堀幸夫，北村尚，"位置有感型比例計数箱 PS-TEPC の開発：ISS における LET 分布の導出"，第 79 回応用物理学会秋季学術講演会，名古屋国際会議場, 2018 年 9 月 18 日.

・岸本祐二, "位置有感型比例計数箱 PS-TEPC による機上試験データの解析"，第 15 回 MPGD 研究会，京都大学, 2018 年 12 月 15 日.

・岸本祐二, "位置有感型比例計数箱 PS-TEPC：ISS 船内における LET 分布の導出"，マイクロパターンガス検出器(MPGD) &アクティブ媒質 TPC 合同研究会，理化学研究所, 2019 年 12 月 6 日.

2020年度 ISS・きぼう利用ミッション科学成果評価結果

位置有感生体等価比例計数箱による宇宙ステーション内での線量当量計測技術の確立（PS-TEPC）

代表研究者：佐々木 慎一 （高エネルギー加速器研究機構）

総合評価

A: 目標を充分に達成した(フルサクセス相当)

ISSに代表される地球低軌道を超えて、月へ、火星へと、人類の活動範囲の拡大が現実として議論される現在、宇宙滞在での被曝線量の高精度計測技術の確立は、喫緊の課題である。本ミッションは、この課題の解決を目指し、線量当量をリアルタイム計測できる線量計の技術実証を行ったものである。計測器としての性能は、全方位に感度を持ち、放射線の飛来方向、エネルギー、線エネルギー付与（LET）を同時に計測できるなどの成功基準をすべて満たし、充分な成果を上げた点を高く評価する。なお、ガスの劣化、小型軽量化などの課題にも引き続き取り組むことにより、今後の宇宙開発の基盤となることを期待する。

本研究の成果は、宇宙科学など、他分野にとっても貴重であり、高い関心を寄せられるものと考えられる。本ミッションの成果・意義をより高めるためにも、線量当量だけでなく、素データを含めて、他分野研究コミュニティへの公開・共有を検討することを推奨する。

2020年6月

きぼう利用テーマ選考評価委員会（物質・物理科学分野）

ISS・きぼう利用ミッション
「位置有感生体組織等価物質比例計数箱の開発とそれによる宇宙ステーション内での線量当量計測技術の確立（PS-TEPC)」

研究代表者:　佐々木慎一（高エネルギー加速器研究機構）

2020 年 1 月

１．緒言

宇宙での人間の滞在期間は、荷電粒子が主体の宇宙放射線による被曝によって最終的に制限される可能性が高い。これは、宇宙飛行士の放射線被曝を制限値を超えないように管理することに対応する。特に、地磁気圏を超えた月や火星への長期有人飛行の場合、ミッション期間中の線量が制限値と同程度となることも想定される。さらには太陽活動の変化により宇宙放射線環境は大きく変化し、宇宙船構造体との衝突により発生する光子や中性子の二次放射線の量も変化する。荷電粒子及び二次放射線からなる宇宙放射線被曝線量をできるだけ正確に把握すると共に、宇宙放射線環境の変動や被曝の蓄積をリアルタイムで実測する能動型線量計が必須である。これまで、日米ロ欧の各宇宙機関が、スペース・シャトル及び ISS 等に線量計と称する実時間計測器を搭載しているが、大きな原理的誤差がある、或いは荷電粒子にしか感度がない等の状況で、米国放射線防護委員会（NCRP）の線量計測にかかわる測定精度の要求を満たした線量計は未だ開発されていない現状にある。

本研究で開発を進める位置有感生体組織等価比例計数箱（Position Sensitive Tissue Equivalent Proportional Chamber, PS-TEPC）は、荷電粒子を初めとする入射放射線に対してその飛跡や吸収エネルギーD、線種による影響を表す線質係数 Q を与える線エネルギー付与（LET）を直接的方法で測定することができ、線量当量（D×Q）を実測可能である。本研究では、PS-TEPC を ISS 内に設置し、将来の長期滞在に向け理想的なリアルタイム宇宙放射線線量計として動作することを実証し、宇宙放射線線量計測技術の確立をめざす。

２．実験

PS-TEPC は、検出器構造体や検出ガスを組織等価物質で構成し、電子収集電極にμ–PIC と呼ばれる微細 2 次元位置検出器を配置した Time Projection Chamber（TPC)である。μ–PIC は,同心円状のアノード（直径 40μm）及びカソード（同 100μm）の電極対を 400μm 間隔で複数配置した構造を持ち（2.6x2.6cm)、電極対で電子増殖された信号から電荷数（すなわちエネルギー）と 2 次元位置情報を得、電子の飛行時間を加えて 3 次元位置を得るものである（検出体積 2.6x2.6x5.0 cm^3)。これにより飛跡及びエネルギーを計測し、吸収エネルギー、飛跡長、LET を決定する。図１に実際に PS-TEPC（PFM）の構造図と、μ-PIC による測定原理を示す。測定には高 LET 測定用と低 LET 測定用の二つの検出器を用いたが（DU1 及び DU2)、印可高電圧の違いだけで、どちらも互換である。PS-TEPC による測

定は、ISS に打ち上げ搭載された 2016 年 12 月末から翌年 4 月まで、その後 7 ヶ月の中断が有ったが、2018 年 4 月初めまでの期間にわたり実施された。図 2 に、ISS 機上で測定した宇宙線よる 3 次元飛跡を示す。LET の高低は赤から青のグラデーションで示した。

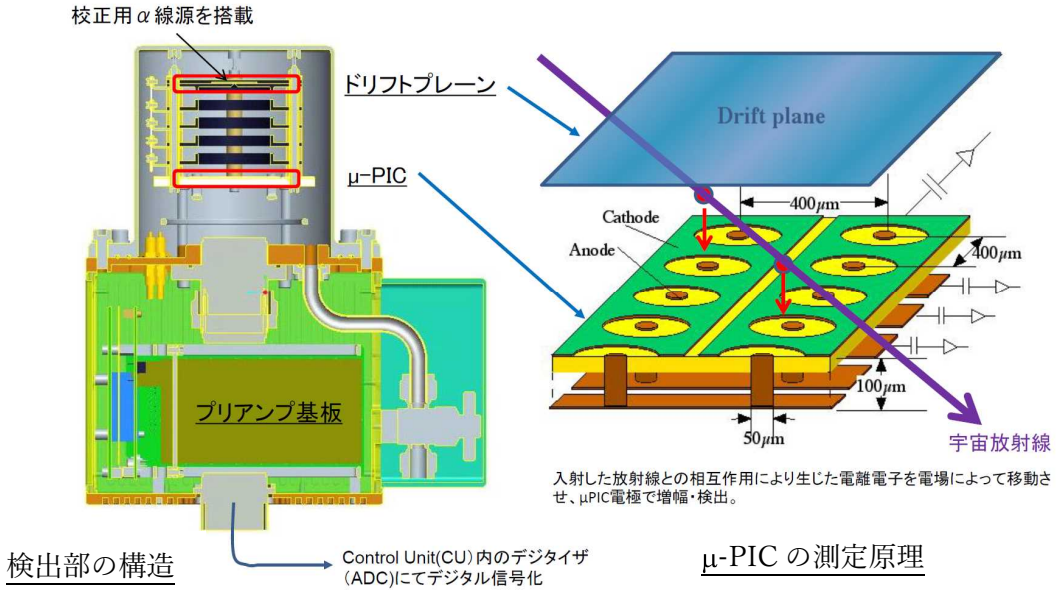


図 1　PS-TEPC フライトモデル（PFM）の構造とμ–PIC による測定原理

3　結果の概要

LET 分布は 0.2-700 keV/μm（水等価）の範囲の粒子に対して測定され、2 台の検出器で測定した分布は極めて良い一致を示した。この LET 分布は、スペース・シャトル内での Si 測定器での結果（STS-84、89、91）並びに本測定器に装着した宇宙用受動型線量計 PADRES の結果と実験誤差の範囲内で一致した。これまで Si 検出器や PADRES による測定結果はあるが、本測定器のように生体組織等価線量計による LET 測定は初めてのことである。中断後の測定では、ガスの劣化による電子付着の効果により、信号出力が減少したが、信号波形を用いて同効果を補正し、打ち上げ直後と遜色のない LET 分布の取得に成功した。

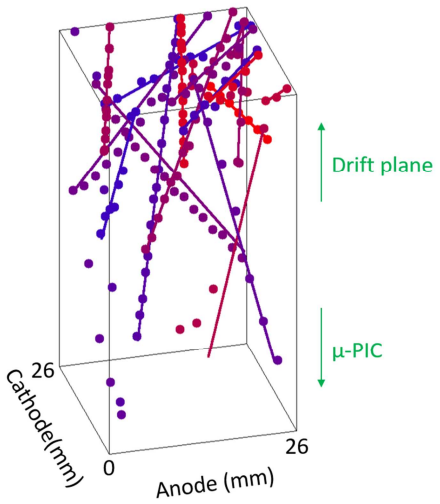


図 2　ISS 機上で測定した宇宙線の 3 次元飛跡

打ち上げ後 4 ヶ月経過した時点で、線量当量を誤差 15%、実効的な線質係数を誤差 20%で決定した。これは、当初設定したサクセスクライテリアのフルサクセスを達成するものであり、未だ解析中であるがエキストラサクセスも達成見込みである。1 年以上の期間 ISS にあって、正常に動作しており、装置の健全性及び安定を評価したい。

Summary report of the ISS-Kibo utilization mission,
"Development of Position Sensitive Tissue Equivalent Proportional Chamber (PS-TEPC) and Establishment of Dosimetric Technique in the International Space Station (ISS) (PS-TEPC)"

Principal Investigator,
Shinichi Sasaki (High Energy Accelerator Research Organization)
January, 2020

1. Introduction

Astronauts in spacecraft are exposed to radiation that is mainly contributed by ionizing particles and their secondary ones such as neutrons and photons. The radiation dose should be controlled not such that it does not exceed a fixed limit. The periods of stay in space is restricted owing to the amounts of radiation dose, because the dose received in the long-term operation like a mission to Mars possibly exceeds the limit. Thus, an active dosimeter which can measure the dose in real time are essential for such operations. The effect of radiation on human body are evaluated using a dose equivalent H, defined as a product of an absorbed dose D and a quality factor Q which indicates the effectiveness of a given radiation and is a function of the linear energy transfer (LET). As the LET of cosmic rays widely spreads, it is essential to measure an absorbed energy and a track length of radiation to determine LET for evaluation of H. The National Council of Radiological Protection strongly recommends an accuracy of less than 30% in the dose measurements for astronauts (NCRP Report-142). However, thus far there exists no instrument that has the ability to measure H for both charged particles and neutrons within the accuracy specified by NCRP, though several instruments have been developed.

To realize a dosimeter which has sufficient accuracy and sensitivity for dose measurement for any kind of radiation we developed a new space dosimeter called position-sensitive tissue-equivalent proportional chamber (PS-TEPC), through which we aim to establish the dosimetric system in space.

2. Experiment

PS-TEPC is a proportional chamber constructed with tissue-equivalent materials and a miniaturized μ-PIC of size 2.6 x 2.6 cm, and works as a three-dimensional (3D) time projection chamber. PS-TEPC measures the deposit energy and the trajectory of incident particles simultaneously. Therefore, event-by-event LET of the particles can be directly measured. The flight model of PS-TEPC consists of two detector units (DU) which work complementarily with each other and a control unit (CU). Figure 1 depicts the detector unit, where the operational principle of μ-PIC is also shown. The flight model was launched to the ISS on December 9,

2016, and was used for experiments in a period from December 28, 2016 to April 3, 2018 with an approximate 7 months break from April, 2017 due to the issue of a solid state drive in CU. Figure 2 shows a typical result for 3-D tracking measured at the ISS.

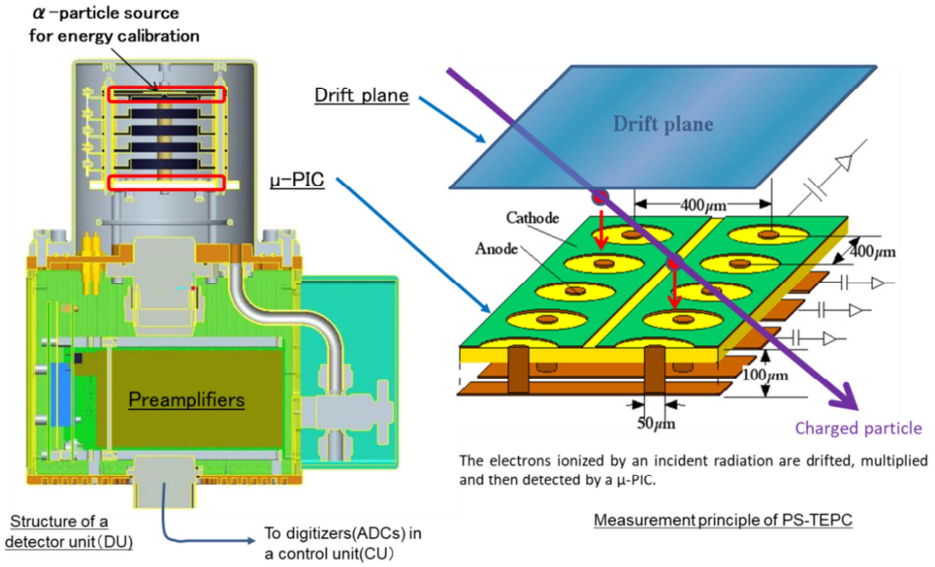


Fig.1 Flight model (PFM) of PS-TEPC and principal of measurement using μ-PIC.

3. Result

LET distributions were measured for the particles with LET of 0.2~700 keV/μm-water. The distributions measured by two DUs were compatible, and in good agreement with the previous results using Si detectors in the space-shuttle experiments (STS-84, 89 & 91). The distributions were also consistent with those obtained from PADRES attached to DU within the errors. In the measurements performed after the break (after approximately 11 months), the reduction of charge number from DU was observed owing to contamination of detection gas. Using the correction for attenuations of electrons drifting in the gas, the LET distributions could be obtained to be consistent with those immediately after the launch. The dose equivalent and the effective quality factor at 4 months after the launch were determined to be within the uncertainties of 15% and 20 %, respectively. These are satisfied with "full success" in the success criteria set at the beginning of this study. The "extra success" is also expected as the PS-TEPC was found to be properly and stably operating for a period of more than one year.

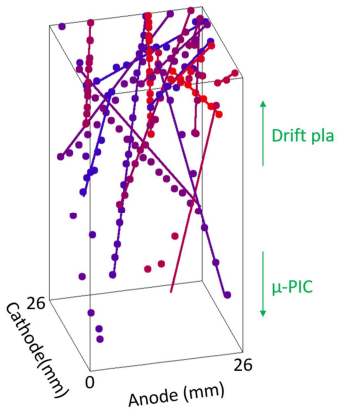


Fig.2 Trajectories of particles measured at the ISS.

ISS・きぼう利用ミッション
「落下実験から生まれた新しい微粒化概念の詳細検証
～乱流微粒化シミュレータの構築を目指し～」(Atomization)
研究成果報告書

代表研究者；梅村　章(名古屋産業科学研究所(名古屋大学名誉教授))

2020 年 3 月

1. 緒言

1.1 宇宙実験の水ジェットについて

噴射液体の微粒化は，広範な分野（工学，化学，薬学，農学）で利用されている技術である．特に，航空宇宙分野では，ターボジェットエンジンやロケットエンジンに代表されるように，液体の微粒化が高速燃焼を実現させる基幹技術であり，微粒化性能が燃焼性能を決定している．そのため，これまでにも膨大な数の液体微粒化研究がなされてきている．

基礎にある理論は，1878 年にレーリー卿が発表したジェットの不安定性に関する論文[1]である．これは，正に本宇宙実験で調べた無重力下で噴射された水ジェットの分断による液滴生成を対象にしたものであり，分断距離 L_B に対する有名な関係式を導いている．半径 a の噴口部で周期的に作られる波長 $9a$ の不安定波が，ジェット速度に比例した最短分断距離を与えるというのが結論である．

全ての液滴は，液柱から分裂して作られる．乱流ないしは流体力学的な不安定性にさらされた高速噴射液の表面から突き出してできる細い液柱（液糸）もジェットと同じである．本宇宙実験の水ジェットは，このように考えたときの液糸に対応するものであり，噴射器は高速噴射液の表面から液体を外側に吹き出し液糸を作る乱流ないしは流体力学的な不安定性の機能を代表する（従って、インクジェットプリンターのように外的に振動を加えて液柱を分断するような場合は除外する）．これまでの多数の実験室実験にもかかわらず，乱流微粒化機構の基礎的な理解が進んでいない主な原因に，現象が微細且つ高速であるために詳細な観察が困難で，乱流微粒化機構を解明するのに有力な概念の創出が難しかった点がある．本研究では，従来の研究になかった新しい実験手段である「微小重力環境」を利用し，乱流液糸の分断と同じ現象を，拡大した空間スケールでゆっくりと生起させることにより，詳細観察を可能にしている．

1.2 新しい微粒化概念

高速噴射液で起きる乱流微粒化を予測する手段を獲得し，信頼できる乱流微粒化シミュレータが開発できれば，エンジン設計の強力なツールになる．しかし，これまでの微粒化研究で考えられてきた微粒化概念では，それは不可能である．本宇宙実験に即して理由を述べれば，水ジェットの自然な分断を引き起こす不安定波は，噴射器で不可避的に導入されるノイズ（実態が不可知な微小噴射速度変動）によって噴射器出口に作られると考えられているからである．すなわち，不可知の量によってジェットが分断されるのであれば，定量的予測は不可能であり、実験しないと分断特性を知る術がない．しかし、ノイズ概念の正しさを実証する実験事実は，これまでに一つも報告されておらず，科学的な概念ではない点に注意しよう．

最大増幅率不安定波が作られる位置 x_0（従来の概念では噴射器出口 $x_0=0$）と初期振幅が与えられれば，ジェットが分断される位置 x_B は，レーリーの式において $L_B = x_B - x_0$ と置いて求まる．公表された過去の実験的研究に用いられている噴射系は研究者毎に異なっているから，ノイズによって作られた不安定波の初期振幅はまちまちになっていると考えるのが自然である．しかし，全ての実験結果は同じ噴射条件の下では同じ無次元分断距離 x_B/a を与えている．我々は，この事実に着目し，落下塔およびパラボリック飛行による一連の微小重力

実験観察に基づいて，レーリー卿が解析対象にしたジェットに対して図 1 に示した新しい微粒化概念（噴射液の自己不安定化機構）[2]を提唱した．

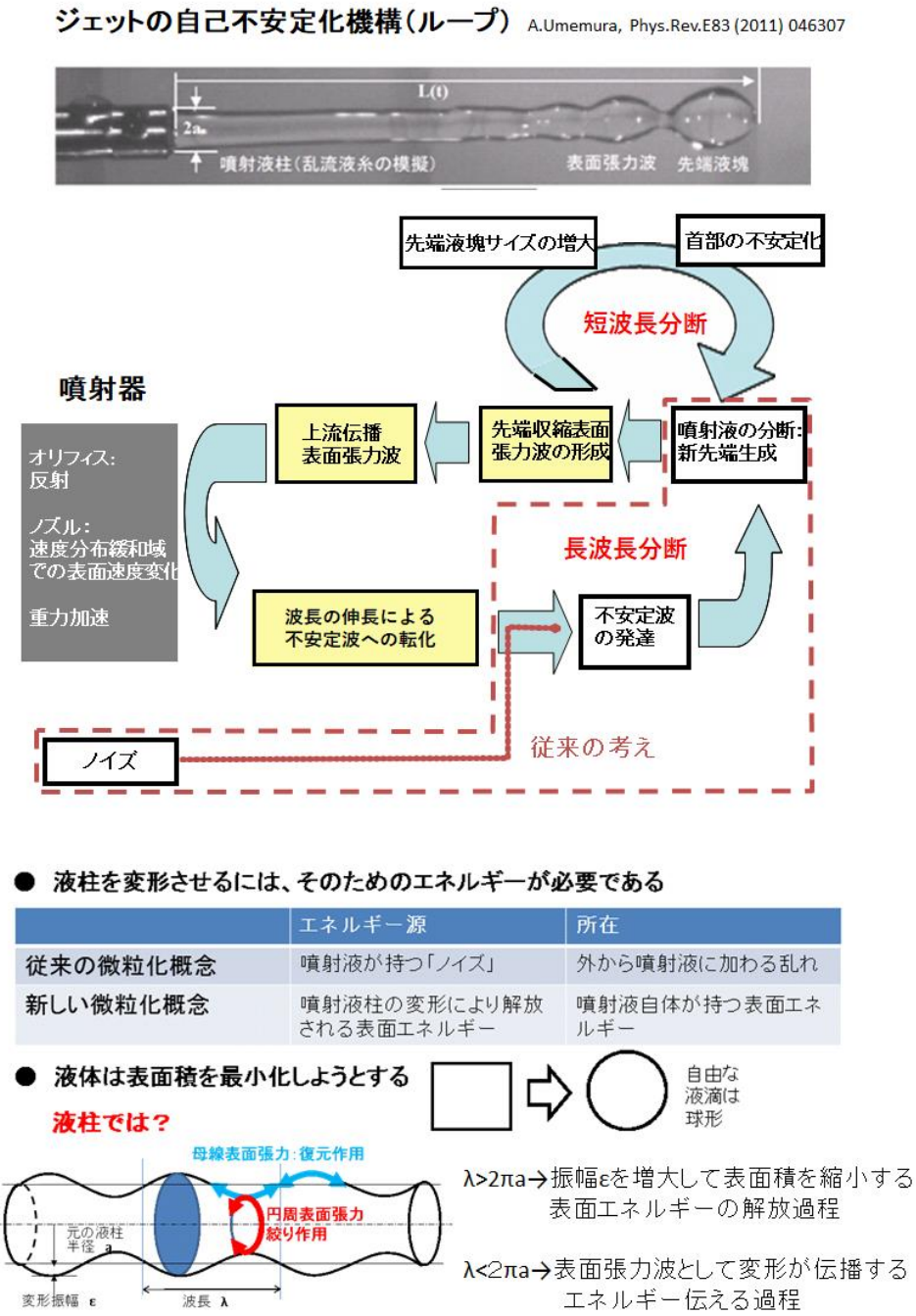


図 1-1　新しい微粒化概念[2]

本宇宙実験は，この新しい微粒化概念の正しさを実証し，その詳細を明らかにすることを目的にして行われた．噴射される液体の軸速度分布によって不安定波ができる位置が異なり，それに対応してジェットの分断位置が変化すると予測されるので，オリフィス(一様速度分布)とノズル(放物型速度分布)を使用し，ジェットに形成される自己不安定化ループが予想通りに異なってくるかを調べた．また，自己不安定化機構でなければ実現しえない，微小重力下の低速噴射液で生じる分断距離の 2 価値の存在[3]を確認した．

我々の新しい微粒化概念は，従来注目されてこなかった母線表面張力が果たす役割を正しく評価するものである．それによれば，高速噴射液でも表面から液体が外に吹き出して液糸ができれば，従来の考えとは異なり，液糸自体が備えている決定論的な自己不安定化機構に

より自然に分断を繰り返し，液糸径に対応したサイズを持つ液滴の列が作られることになる．これは決定論であるから，局所的な乱流，あるいは，流体力学的不安定性によって作られる液糸の径および吹出速度を予測する数理デルができれば，新微粒化概念から導かれる微粒化特性と組み合わせ，局所的な乱流状態に応じて生成される噴霧の状態を予測できるようになる．これが副題～乱流微粒化シミュレータの構築を目指し～が意味している事柄である．

実際，そのようにして世界で初めて乱流微粒化サブグリッドモデル（これまでのように対応する実験結果と突合せて調整するパラメータを一切含んでおらず，どのような乱流液体ジェットに対しても適用できる）の開発に成功し[4]，その妥当性をディーゼル噴霧シミュレーションで実証している[5,6]．初期に行ったＤＮＳ[7]と共に，これらのシミュレーション結果は，国際的に産業界からの大きな反響を呼び，燃焼器内のジェット混合の数値シミュレーションの流れを変えてきていている．わが国においても，現在自動車･航空機会社において活用が進められており，我国発の新ソフトを作る国家プロジェクト化が業界で構想されている．

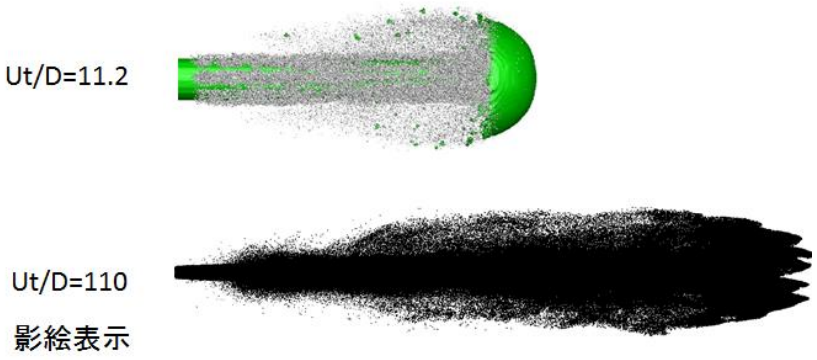


図 1-2　ディーゼルジェットの噴霧形成過程のＬＥＳ計算（パソコン並列計算）

実験結果は膨大な情報を内蔵する．本報告書ではジェット形成後に対象を絞り，ジェットの定常的分断を引き起こす波動場の構造の解明を目指して行った宇宙実験結果の分析から分かった重要な事柄について記す．

２．研究計画

2.1 研究目標（サクセスクライテリア）

	科学的サクセスクライテリア
Minimum Success	重力下の実験室実験との相違を明示し，噴射の分断長が，過去の噴射履歴に依存することを無重力実験で示せること．
Full Success	噴射の分断特性(分断長，分断液塊サイズ，分断波長，分断周期)が，「実験提案者により提案された微粒化メカニズム(自己不安定性による分断機構)」に基づいて，完全に説明できること． (ミニマムサクセスを前提条件とする)
Extra Success	ノズル流れの乱流遷移が分断特性に及ぼす影響を明らかにできること．(地上実験を前提条件とする)

2.2 体制

1) 代表研究者

氏名	所属	役割分担
梅村　章	公益財団法人名古屋産業科学研究所 研究部	研究全体の統括を行う．宇宙実験のデザイン，理論構築，乱流微粒化サブグリッドモデルの構築，数値シミュレー

		ション問題設定，宇宙実験結果の物理的解釈を行う.

2) 共同研究者

氏名	所属	役割分担
長野 方星	名古屋大学大学院工学研究科機械工学専攻	代表研究者の名古屋大学退職後の名古屋大学―ＪＡＸＡ共同研究をとりまとめ宇宙実験を遂行する.
大坂　淳	名古屋大学大学院工学研究科航空宇宙工学専攻、現（株）デンソー	航空機実験の実施・画像解析・実験ジェットのシミュレーションを実施し， 宇宙実験の装置設計および実験項目・手順に関する情報支援をＪＡＸＡに対して行う.
新城　淳史	島根大学 総合理工学部　機械・電気電子工学科	ディーゼルジェットの直接数値シミュレーション．宇宙実験の実施と画像解析．計算スキームを開発し、社会還元のための乱流微粒化シミュレータを構築する.
姫野　武洋	東京大学大学院工学系研究科航空宇宙工学専攻	相変化を伴う噴射液の表面変形を計算する数値解析法を開発し、本研究の社会還元のための乱流微粒化シミュレータの構築に資する.
菊池　政雄	国立研究開発法人宇宙航空研究開発機構 きぼう利用センター	宇宙実験に必要な助言を行うと共に，本研究で目指す微粒化シミュレータと別の研究で構築予定である液滴群燃焼シミュレータとを結合し噴霧燃焼シミュレータに纏め上げる道筋を確立する.

3) JAXA

氏名	所属
中村　裕広	国立研究開発法人宇宙航空研究開発機構きぼう利用センター技術領域主幹
菊池　政雄	国立研究開発法人宇宙航空研究開発機構きぼう利用センター主任研究開発員
猿渡　英樹	国立研究開発法人宇宙航空研究開発機構きぼう利用センター主任研究開発員
松本　聡	国立研究開発法人宇宙航空研究開発機構きぼう利用センター主任研究開発員
大熊　隼人	国立研究開発法人宇宙航空研究開発機構きぼう利用センター客員
道小島　友和	国立研究開発法人宇宙航空研究開発機構きぼう利用センター研究開発員
田口　竜也	国立研究開発法人宇宙航空研究開発機構きぼう利用センター研究開発員

4)役割分担

	研究者	JAXA
実験要求，運用要求，実験条件の検討	○	支援
実施計画の策定	支援	○
実験装置の検討，製作	支援	○
実験試料・実験装置の適合性・安全性の評価,確認	支援	○
運用準備(手順書作成，宇宙飛行士訓練等)，輸送	支援	○
フライト実験実施	支援	○
飛行後解析，成果発表	○	○

長年を経ての宇宙実験であり,上記以外にもＪＡＸＡおよび他機関の多くの方々に多大なご尽力をいただいた.また,後述のように， 道小島研究開発員による画像解析ソフト開発と宇宙実験ジェットの表面張力波の軌跡図の作成は本研究のレベルを格段に向上させた.

3.　実験準備・運用

実験の詳細は，本実験の工夫点がわかるように第４章の中で順を追って述べる.

3.1　運用フロー

実験運用は主に Remote Desktop(RDP)を用いた地上からのコマンディングによりリアルタ

イムで実施した．運用フローを図 3-1 に示す．

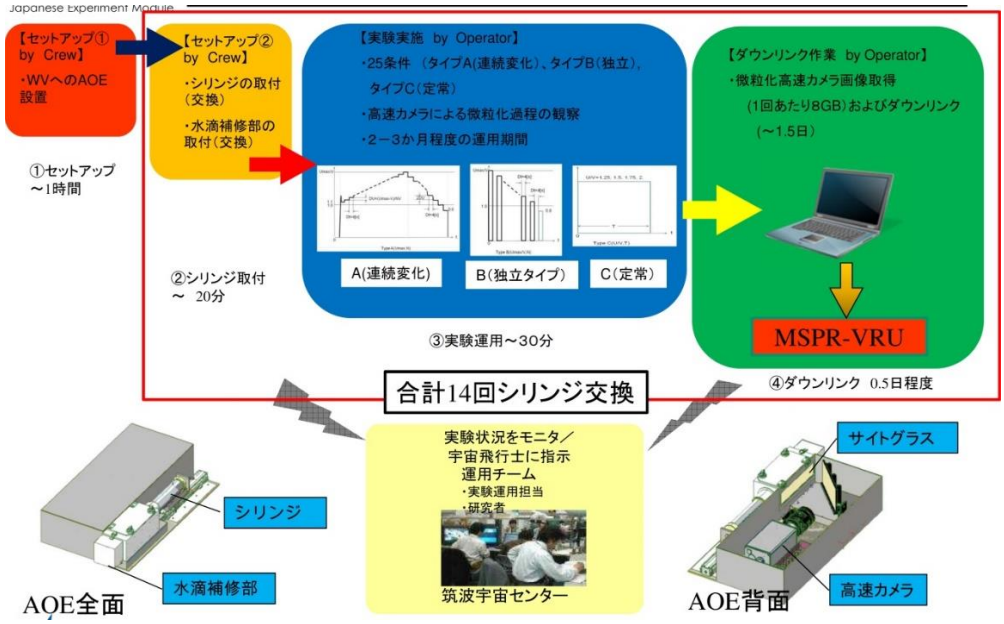


図 3-1　運用フロー

3.2　運用スケジュール

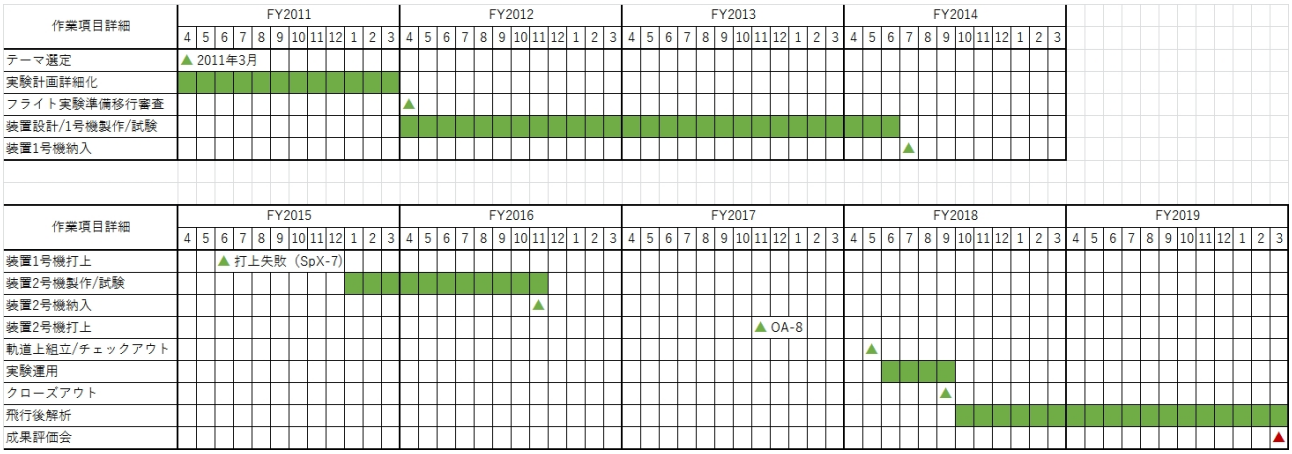


図 3-2　ミッションスケジュール

4. 実験結果および成果

宇宙実験で得た重要な結果は Microgravity Science and Technology [8]に載っているので，その内容に即して説明する．

本研究は，実験手法と理論立て，いずれにおいても，過去になされた試しのないものである．最近，図４-1 に示すオリフィスジェット（レーリー卿が扱ったジェット）の自己不安定化機構を数理的に具体的に説明する分散波の理論の構築に成功した[8, 9]．長くなるが，最初にそれを紹介する．それにより，従来の線形安定性解析との違いが理解できると共に，本宇宙実験の狙いと意義がより理解できるようになると考えるからである．

4.1 分散波の理論

4.1.1 先端収縮波

液柱の先端の収縮によって作られる上流伝播表面張力波の説明から出発する．それにより本実験で観察される表面張力波の原始的な描像がつかめる．

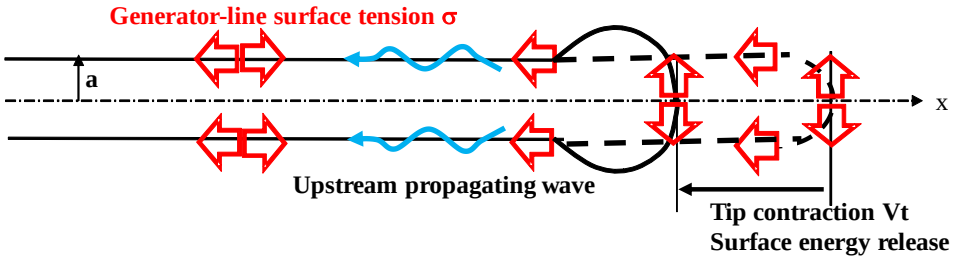


図 4-1　静止液柱の母線に沿って働く表面張力

図 4 -1 に示すように，一様半径 a，密度ρの無擾乱静止液柱には一定の表面張力σ が至るところ液柱の母線に沿って働いている．この表面張力は作用反作用の関係で釣り合っているので，先端部を除いて正味の軸力が働くことはない．先端部は正味の軸力 $F=2\pi a\sigma$で 上流（左側）に引っ張られており，一定速度 $V=\sqrt{\sigma/\rho a}$ [2]で収縮する．その結果，液体が体積速度$\pi a^2 V$ で先端部に蓄積されて増大する先端液塊が作られる．同時に，先端液塊の上流に表面張力波（以下，「先端収縮波」と呼ぶ）が形成されていく．これは，先端収縮によって解放された表面エネルギーの一部が表面張力波の形で上流に伝えられる過程を表し.上流の無擾乱静止液柱の表面を変形させる点に注意しよう．

一様軸速度 U を持ったオリフィスジェットでも，速度 U で移動する観察者から見れば図 4-1 と同じ現象が起きる．液柱先端は，時刻 t=0 に位置 x=0 で起きたジェットの分断により新たに作られたジェット先端が対応する．t<0 で起きたジェットの変形を全て消去した t>0 の無擾乱液体ジェットに対して，従来の方法に従って線形安定性解析をすることを考えると，実験室系においては，初期状態は，x = - L_B にあるオリフィスとつながった無擾乱の液柱であり，t>0 にジェット先端は $x = X = (U\text{-}V)t$ に従って移動する．1 次元ジェットモデル[2]に基づいて，ジェットの微小表面変形　$r'(t>0, -L_B<x<0)$に対する線形化された方程式を導くと次のようになる．

$$\left[\left(\frac{\partial}{\partial t}+U\frac{\partial}{\partial x}\right)^2+D^2\frac{\partial^2}{\partial x^2}\left(\frac{1}{a^2}+\frac{\partial^2}{\partial x^2}\right)\right]r'=0 \qquad \text{ここに} \quad D=Va/\sqrt{2} \tag{1}$$

4.1.2 従来の線形安定性解析

$r' = C_{k,\omega}e^{ikx-i\omega t}$ と置くと式(1)より次の分散式が得られる．

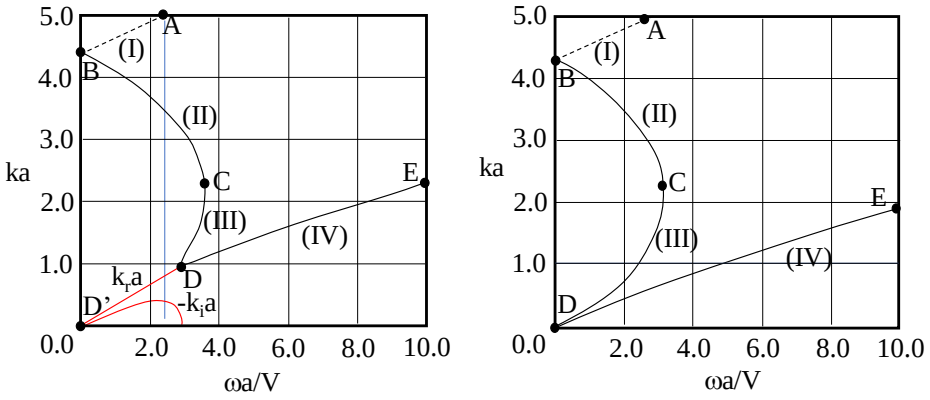
$$\frac{\omega a}{U}=ka\left[1\pm\frac{V}{\sqrt{2}U}\sqrt{k^2a^2-1}\right]. \tag{2}$$

暗に初期条件 $r'(t=0,-L_B<x<0)=\sum_{k,\omega}C_{k,\omega}e^{ikx}=0$ を満たす係数 $C_{k,w}$ の存在が条件になっているが，それを論じた論文は見当たらない．周囲の気体はジェットを乱さないと仮定されているので，可能な擾乱の導入源はジェットの両端 $x = -L_B$ と $x = X$ だけである．空間発展解析では振動数 ω は実数，波数 k は複素数 $k = k_r + ik_i$ となる．そして，擾乱 $r'(t,x=-L_B)=C_{k,\omega}e^{-ikL_B-i\omega t}$ が噴口位置 x = -L_B で噴射液が持つ白色ノイズとして（こう考えたのでは上述の係数 $C_{k,w}$ に対する条件が満たせなくなるにもかかわらず）導入されると考えられている．

図 4-2(a) に U/V=3 の場合の分散式（２）のグラフを示す．赤線は移流不安定波の特性を表す．黒線は中立波を表し，4 つの分枝に分類できる．(I) 破線部 AB の上流伝播波は位相速度 c_r=U-正値< 0 である．実際の振動数 ω は負値であるが便宜的に正値に転換してグラフ化してある．(II) 実線部 BC では c_r= U – 正値> 0. (III) CD, c_r= U – 正値 >0 , (IV) DE, c_r= U + 正値 > 0. 古典的な時間発展解析（k：実数、ω：複素数）が非物理的であるのは明らかであるが，中立波はいずれの解析でも同じ解を与え物理的考察に有用である．また、不安定波の特性も適当な変換で正

せるので，ここでは簡単なため，馴染み深い時間発展解析に基づいた説明を行っていく．問題は従来の研究では分散式（２）だけを考え，噴射器によって作られる無限種の表面張力波の発展の中で最大の空間増幅率$(-k_i)_{max}$を持つ不安定が卓越して増幅しジェットを分断すると主張する点である．上述のように，噴射器に起源をもつノイズにより作られる波の存在を実証する実験事実はないからである．従って，分散式に現れる波が何を表していかまで遡って考えないと，分散式を使って実際に起きる現象を読み解くことはできない．これが，これから説明する分散波の理論を構築した理由である．

図 4-2(b) は円周表面張力の効果を無視したときの分散式のグラフを表す．波長の短い上流伝播波の特性は，円周表面張力を無視した解析でつかめることがわかる．



(a) Derived from Eq.(1)　　(b) Derived from Eq.(3)

図 4-2　*U*/*V*=3 のオリフィスジェットの分散式曲線

4.1.3 先端収縮波を同定する方法

従来の研究と異なり，我々は噴射器内の流れに乱れがない場合に関心がある．従って，ジェットは最初先端収縮によってのみ乱される．先端収縮波の形成過程に対する洞察は次の解析によって得られる．上流伝播波は母線表面張力の効果が円周表面張力の効果を上回る場合にできるので，円周表面張力の効果を無視する．すると，式(1)は次のように書き換えられる．

$$0=\left[\left(\frac{\partial}{\partial t}+U\frac{\partial}{\partial x}\right)^2+D^2\frac{\partial^4}{\partial x^4}\right]r'=\left[\left(\frac{\partial}{\partial t}+U\frac{\partial}{\partial x}\right)+iD\frac{\partial^2}{\partial x^2}\right]\left[\left(\frac{\partial}{\partial t}+U\frac{\partial}{\partial x}\right)-iD\frac{\partial^2}{\partial x^2}\right]r'$$
$$=\left[\left(\frac{\partial}{\partial t}+U\frac{\partial}{\partial x}\right)-iD\frac{\partial^2}{\partial x^2}\right]\left[\left(\frac{\partial}{\partial t}+U\frac{\partial}{\partial x}\right)+iD\frac{\partial^2}{\partial x^2}\right]r' \tag{3}$$

この方程式の解は次のように表せる．

$$r'=C_-r'_-+C_+r'_+ \quad \text{ただし} \quad \left(\frac{\partial}{\partial t}+U\frac{\partial}{\partial x}-iD\frac{\partial^2}{\partial x^2}\right)r'_-=\left(\frac{\partial}{\partial t}+U\frac{\partial}{\partial x}+iD\frac{\partial^2}{\partial x^2}\right)r'_+=0 \tag{4}$$

あるいは，δ をディラックのデルタ関数として，

$$\left(\frac{\partial}{\partial t}+U\frac{\partial}{\partial x}-iD\frac{\partial^2}{\partial x^2}\right)r'_-=S\delta(x-X) \tag{5}$$

を満たす解 r'_- が求まれば，r'_+ は

$$\left(\frac{\partial}{\partial t}+U\frac{\partial}{\partial x}+iD\frac{\partial^2}{\partial x^2}\right)r'_+=r'_- \tag{6}$$

を積分して求まる．ここでは式（5）に従う上流伝播波について調べる．

ジェットの先端収縮によって $x<0$ の領域に作られる波を考えるときには，元の連続の式と運

動方程式の考察より先端収縮を特性つける一定強度 $S= Va/2$ の集中力がジェット先端位置に作用していると考えてよいことがわかる．ある時刻 τにジェット先端位置 $x=X= (U-V)\tau$に働く瞬間集中力によって時刻 $t>\tau$, 位置 $x<0$ に引き起こされるジェット表面変位 $G(x,t-\tau)$ (ホイヘンスの原理における素波に対応し，以下「素分散波」と呼ぶ）は次式によって与えられる．

$$G(t-\tau,x)=\frac{Va}{\sqrt{2\pi D(t-\tau)}}\exp\left[i\frac{\{x-(U-V)\tau-U(t-\tau)\}^2}{4D(t-\tau)}\right]. \qquad (7)$$

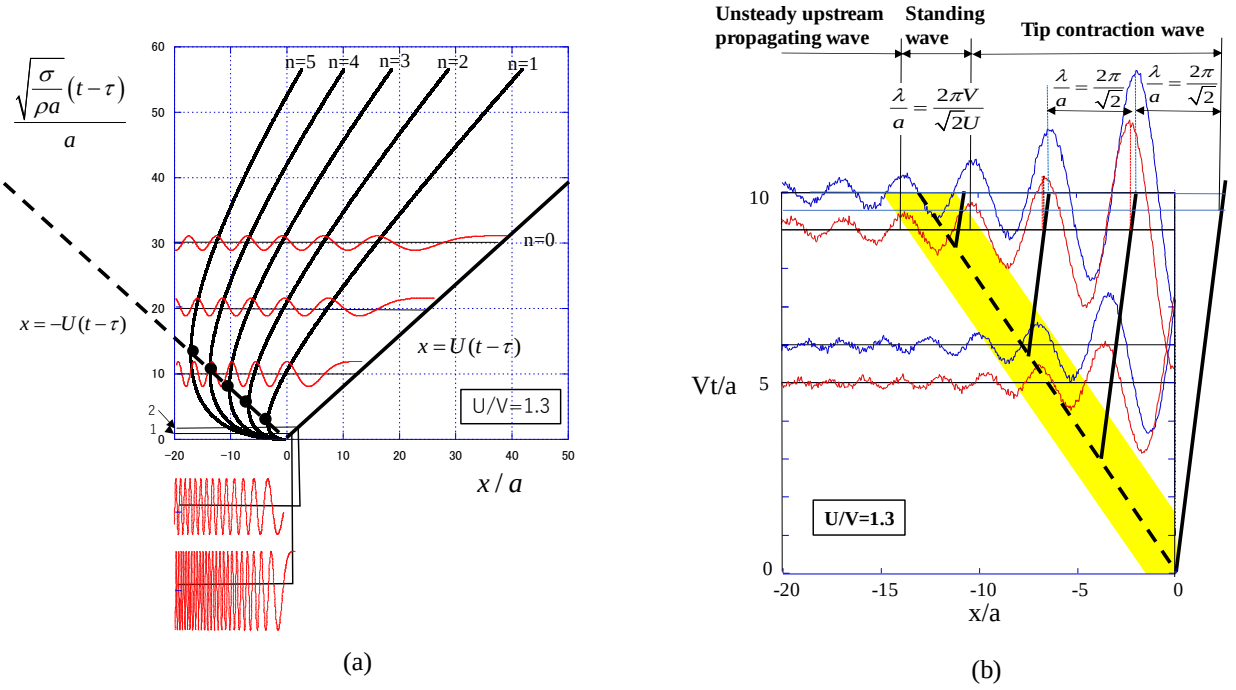


図 4-3　先端収縮波形成過程

G の実部を図示したのが図 4-3(a)である．赤線は過去の時刻 τ に放射された素分散波による現在の時刻 t における表面変位を表す．これは無限個の波要素から成り立ち，ジェット先端に近い波要素から順に n = 0, 1, 2,...と番号つける．n=0 の波要素はジェット先端と一緒に移動するので，経過時間 $t-\tau$ が増すと，各波要素の振幅は減少し，ジェット先端に近いものから順に波長が長くなり，上流伝播速度が小さくなる．そのため，ある位置にくると，ジェットの流速と上流伝播速度が釣り合う停留波要素になる．その後も波長が伸び続けるのでジェットに流されて下流に移動するようになる．各波要素の極大点 x_n で波要素の位置を同定すると，n 番目の波要素の軌跡は黒実線：

$$x_n=(U-V)\tau+U(t-\tau)-\sqrt{8\pi Dn(t-\tau)} \qquad (8)$$

で表される．

各波要素ははじめ上流に動き，ある位置で曲がって下流に動くようになる．この転向位置を繋げた線は破線で描かれた直線 x = - $U(t-\tau)$になる．これより，観察できる表面張力波の領域はジェット速度と同じ大きさで上流に広がっていくことがわかる．実際，現時刻 t に観察できるジェット表面の変形 r' はそれまでにジェット先端から放射された素分散波を全て重ね合わせたものになるので

$$r'_{-}(t,x)=\int_0^t G(t-\tau,x)d\tau \qquad (9)$$

によって算出される．図 4-3(b)は，図 4-3(a)の素分散波を使って式(9)の計算を行った結果を示す．破線 $x=-Ut$ の下流にできる観察可能な波の軌跡は黒色の平行線になる．これらは先端収縮

波を表し，停留素分散波だけが位相混合で消えず，観察できる波になることがわかる．この波は位相速度 $c_r = U\text{-}V$, 波長 $\lambda = \sqrt{2}\pi a$ を持ち，図 4-2(b)（ただし $U/V = 1.3$ に対する）の分散式のグラフで II 分枝（ＢＣ）上の 1 点に対応する．図 4-3(b)の先端収縮波領域の上流には小さな振幅を持った非定常な上流伝播波が存在する．

式(8)から導かれる興味ある発見は素分散波要素と分散式曲線との関係である．半無限空間 $-\infty < x \le 0$ および $0 \le x < +\infty$ にわたる各素分散波要素の時空間的発展は，それぞれ，図 4-2(b)の分散式曲線の (I)+(II) および(III)分枝を構成することがわかる．実際，式(8)を用いて第 n 素分散波の位相速度と波長は，

$$c_{rn} = \frac{dx_n}{d(t-\tau)} = U - \sqrt{\frac{2\pi Dn}{t-\tau}}, \quad \lambda_n = x_{n-0.5} - x_{n+0.5} = \left(\sqrt{n+0.5} - \sqrt{n-0.5}\right)\sqrt{8\pi D(t-\tau)} \ . \tag{10}$$

によって計算できる．この 2 式から$(t\text{-}\tau)$を消去し，$k_n = 2\pi/\lambda_n$，$\omega_n = k_n c_{rn}$ と置き，ω_n を k_n の関数として表現すると，n が零に近いものを除いて，図 4-2(b)の分散式曲線の(I)+(II)+(III) 分枝に完全に一致する．従って，分断式曲線上の各点は，他の素分散波要素と重なって位相混合しない観察可能な波を表していることがわかる．この知見は本宇宙実験で観察された波要素がどこで，どのようにして作られたのか探るのに非常に有用である．また，一度図 4-2(b)の分散式曲線上で観察されている波が同定されれば，図 4-2(a)の対応点を見て，円周表面張力の効果も含めた正しい波長を知ることができる．実験結果との比較では，このようにして修正した値を用いる．

4.1.4 噴口反射

素分散波は噴射器内に侵入できないから，噴口で反射し下流に伝わる波に変わる．図 4-4 は噴口位置 $x/a = -L_B/a = -20$, -30（$U/V = 1.5, 1.7$ の場合のオリフィスジェットの実験結果を参照して設定）で式(9)を評価し，表面変位の時間変化を表したものである．図の横軸の原点は先端収縮波（図 4-3(b)の破線）の上流端がオリフィスに到達する時刻に取ってある．反射波は，噴口位置の表面変位を打ち消すように作られる．初期に作られる振幅が小さく波長の短い反射中立波は後のジェット分断に関与せず，高々，先端液塊を摂動するだけである．実時刻 $t = L_B/U$ に先端収縮波の先端が噴口に到達すると，反射波の振幅と波長が飽和し，先端収縮波の振動数 $\omega = 1.62(U\text{-}V)/a$ に同期した同じ反射波が繰り返し作られるようになる．小さな噴射速度 U では，この同期反射波の波数 k は

$$ka = 1.62\left(1 - V/U\right) \ . \tag{11}$$

で与えられ，$ka<1$ の不安定波になり，ジェット速度 U で下流に移動する．従って，ジェットがこの同期不安定波によって分断されているのであれば，平均ジェット長は噴射速度 U で決まるジェットの固有値になりうる（後にわかるように、実際にはもっとの短い距離で分断する）．ここでは次の点に注意する．

式 (11)より，先端収縮波のオリフィス反射で不安定波ができる噴射速度 U には上限($ka=1$; $U/V = 2.61$)があることがわかる.従って，ジェットの分断に関連した不安定波を再生する支配的な自己不安定化機構は，噴射速度が $U/V = 2.61$ まで上がる前に変わらないといけない．この変化は次の理由によって自然に起きる．

(1) 噴射速度の増大によりジェットが長くなると，不安定波はその増幅によりジェットを分断できる．不安定波の非線形増幅は同期した上流伝播波を作り、オリフィス反射によって同じ不安定波を再生する[9].
(2) U/V <1.76 では，非定常上流伝播波の中に噴口反射により最大増幅率不安定波になるものが含まれている．この反射不安定波の初期振幅は，先端収縮波が反射して作られる不安定波

より小さいが，長いジェットでは増幅して支配的になることができる．

(3) オリフィスを離れる不安定波は，分散性によりオリフィスとの間に最大増幅率不安定波を作って再生する．しかし，この再生最大増幅率不安定波は再生ごと初期振幅が小さくなる特性を持つ．

すなわち，ジェット先端収縮は，ジェットの分断が繰り返されると，最大増幅率不安定波を作る傾向を持つことがわかる．この特性は観察される波の時間的変化や噴射速度を変えたときに起きるジェットにできる波の変化を理解する上で非常に重要である．

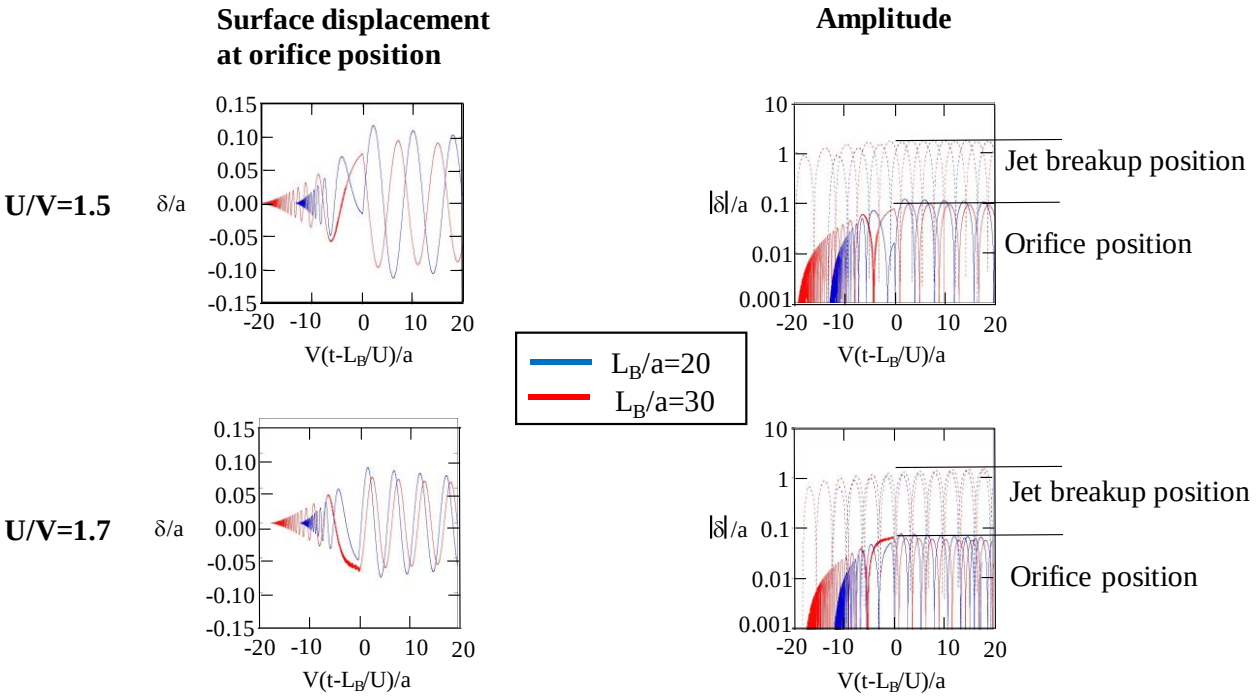


図 4-4　先端収縮によりオリフィス位置に作られる表面変位

4.1.5 先端液塊の局所的不安定化

ジェット先端部に液体が蓄積されると，上流の液柱と接続する箇所が不安定化する[1]．この局所的な不安定性が現れるのは，先端液塊が大きくなり表面張力による液体圧が上流の値より低くなると,上流の液体を吸い込みベルヌーイの原理によって括れ,その括れの程度が加速的に増大するからである．そのため，この蓄積液体の分断は,上流から不安定波の括れ部が接続部に到来すると一層起きやすくなる．小さな噴射速度では,ジェットが短く,オリフィス反射でできた不安定波が増幅してジェットを分断する余裕がない．反射不安定波は先端液塊の不安定化による分断のタイミング(~$2L_B/U$)を定める役割しか果たせない．そのため，平均ジェット長は，基本的にジェット先端部の液体の蓄積によって決まり,これが起きない場合よりも短い距離になる．このように低速噴射では,先端液塊と不安定波の共労的なジェットの分断の繰り返しにより噴射速度に対応した平均ジェット長が決まる．

4.1.6 ジェット分断の繰り返しの影響と定在波形成

過去の分断によって作られたジェット先端の収縮により現在のジェットを分断する不安定波が作られるので，図 4-5 に示すように一連のジェットの分断を考え，過去に放射された素分散波が現在のジェットにどのような観察可能な波を作るか知る必要がある．ここでは定常的な分断状態を考え，分断周期 T と分断距離 L_B が一定であると仮定する．式 (9)は次のように修正される．

$$r'(t,x)=\int_{MT}^{t}G(t-\tau,x)d\tau+\sum_{m=0}^{M}\int_{0}^{T}G(t-mT-\tau',x)d\tau' \quad ,$$

$$\int_{0}^{T}G(t-mT-\tau',x)d\tau'=\int_{0}^{\tau_*}G(t-mT-\tau',x)d\tau'+\int_{\tau_*}^{T}G(t-mT-\tau',x)d\tau' \qquad (12)$$

右辺の総和は過去のジェット分断の寄与を表す．積分は次の２つの拘束条件の下におこなわれなければならない．

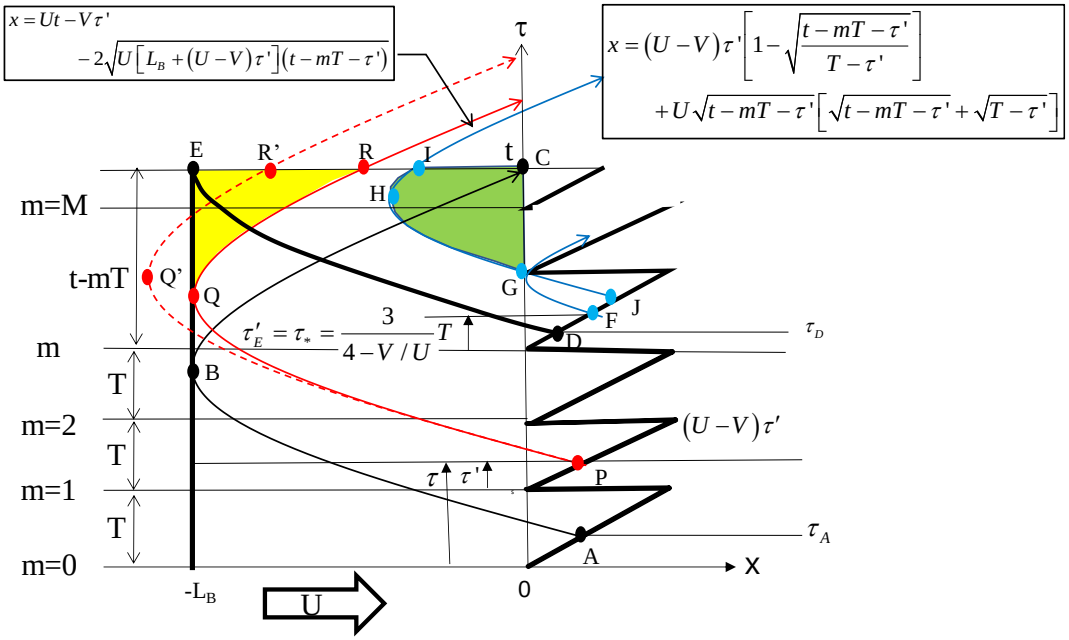


図 4-5　過去のジェット分断過程の寄与

(1) x=-L_B におけるオリフィスの存在

図 4-5 において x=0 で m 番目のジェット分断が起きた過去の時刻は $\tau=mT$ である．経過時間 $\tau'=\tau-mT<T$ を定義すると，時刻 τ' におけるジェット先端は $x=(U\text{-}V)\tau'$ に位置し,時刻 τ' にジェット先端から放射された素分散波の第 n 要素の軌跡は,式(8)で τ と t をそれぞれ τ' と $t\text{-}mT$ で置き換えて記述される．このような軌跡を図 4-5 に示した式(12)の積分領域に対して考え，次のことがわかる．ジェット先端から放射された素分散波は $x=-L_B$ にあるオリフィスを超えることはできない．過去のある時点に放射された素分散波の軌跡で，現在の x<0 のジェット領域に存在する臨界の軌跡は点Ａ，Ｂ，Ｃを連ねた黒実線になる．従って，$\tau<\tau_A$ の過去の時刻におけるジェット分断は現時刻 t における観測可能な波の算出には寄与しない．$\tau_A<\tau<\tau_D$ では，式(12)の 0 <τ' <T にわたる積分において,黄色領域の素分散波要素の寄与は排除しないといけない．図 4-4 は $T=\infty$ として計算した結果である．

(2) 有限分断間隔 T:

先端収縮によって放射された素分散波は各ジェット分断によるジェットの短縮を表す水平線分を横切ることができない．従って,緑色領域にある素分散波の寄与は,式(12)の $\tau'_E=\tau_*<\tau'<T$ にわたる積分から除外しないといけない．

オリフィスジェットの実験で観察された波の挙動は,このような効果を考慮して理解できる．分断周期 T が短縮し,分断距離 L_B が増大すると,式(12)において過去のジェット先端の動きの寄与は x=0 から離れた位置では無視できるようになる．そのため,過去の先端収縮はそのような位置に定在波を形成する．その上に現在のジェットの先端収縮による先端収縮波が重畳する．これにさらにオリフィス反射波を重ね,オリフィスジェットにできる波の山の軌跡を図示すると，図 4-6 のパターンが得られる．ϕ は反射不安定波の初期振幅 ε に対する定在波振幅の比であり,噴射速度が大きくなると ε が小さくなり，ϕ を大きくしたパターンに移っていく．本宇宙実験において，このパターン変化の出現も明瞭に確認できた．

平均ジェット長は噴射速度と共に増大する．このことは,噴射速度が増すに従いオリフィス反射で作られた不安定波が一層増幅できるようになることを意味する．不安定波の非線形増幅が 2 種類の同期上流伝播波(I 波と II 波)を作り，それがオリフィス反射すると同じ不安定波を再生する[9]．これにより，不安定波を作る支配的な機構は，この自己不安定化機構に移っていく．すると，先端液塊の不安定化の助けはもはや必要なくなる．オリフィスジェットの宇宙実験結果では，これまでに述べた仕組みで起きていることが確認できた．

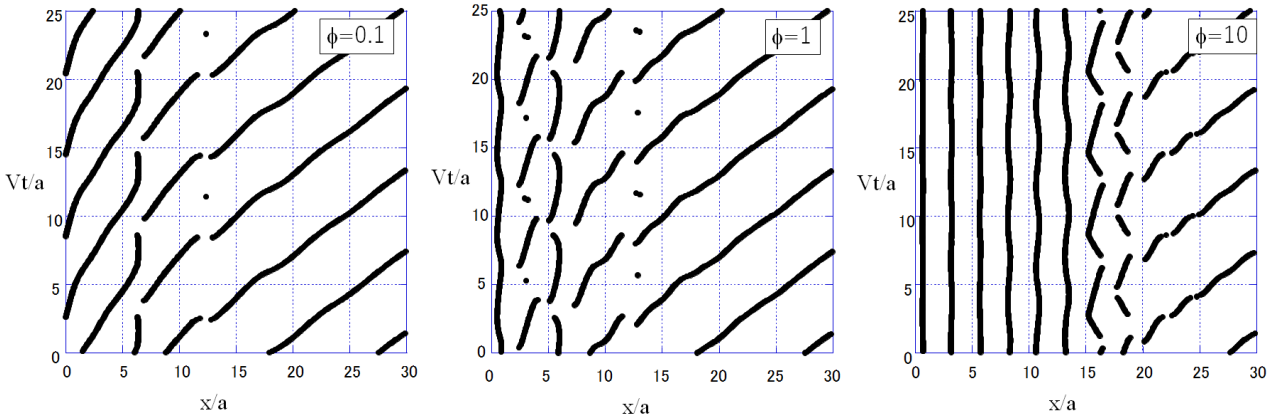


図 4-6　ϕ 値の増大に伴うパターン変化

4.2. 宇宙実験

4.2.1 実験装置

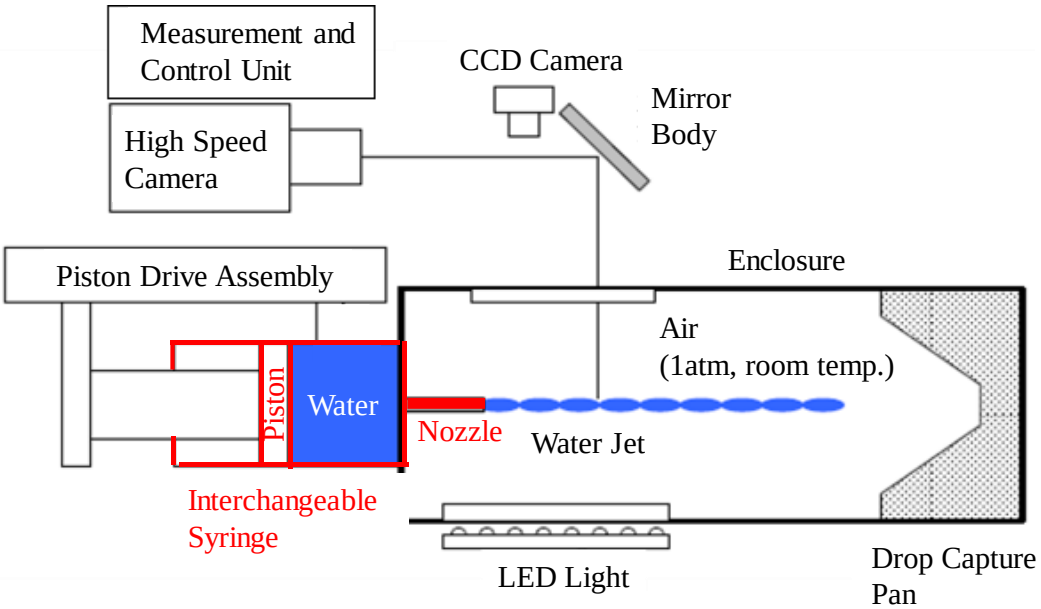
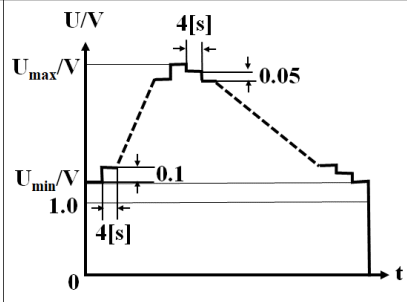
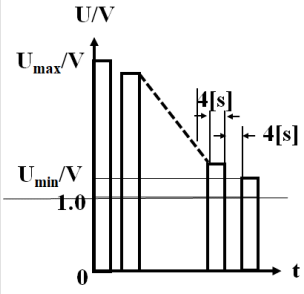
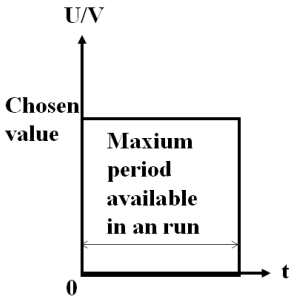


図 4-7　実験装置

図 4-7 に宇宙実験装置の概略図を示す．交換可能な水を封入した円筒シリンジ(内径 $2R$=50 mm)の噴射側端には，キャップした内半径 a のノズルが装着されており，他端にピストンがはめられている．各実験は，表 1 に記載した仕様のノズルを装着したシリンジに交換し，ノズルのキャップを外して実施される．ピストンは,モーターの回転運動をラック・ピニオン機構で直線運動に変換されたロットに押され動く．実験毎にプログラムされた噴射条件（噴射断面平均速度 U．以降,先端収縮速度 $V=\sqrt{\sigma/\rho a}$ で無次元化して表示する）で作動し，表 1 に示す 3 種類の噴射タイプ(A,B,C)を地上からの指令に従って実現する．噴射開始から目標噴射速

Uに 0.1 秒以内に達する．ロッドの動きには駆動モーターによる微小振動が重畳しているが，噴射液ではUになる．R/a>>1 であるから，乱流の層流化手法として知られているように,ピストンに押された水はノズル入口までに大幅に縮流し，非常に大きな歪速度を受けて乱れは減衰するからである．筐体内の静止空気(標準大気と同じ状態)中に噴射されたジェットの状態を高速度カメラで撮影し，画像データを地上に送って分析した．各シリンジに封入した水を全て使い切るように，余った水があるときは，同じ実験を繰り返し,再現性のチェックに資するようにした．

表１　Three types of an experimental run

	A type	B type	C type
Targeted discharge speed profile			
Purpose	Demonstrate that the present jet disintegration state depends on the history of capillary wave formation in the past.	The capillary wave system developed along the jet at each jet discharge speed is independent of each other.	Realize the steady jet disintegration state for a given jet speed.
Nozzle used	#2, 3: repetition of the same experimental run Underlined number: injector end coated with teflon		
Length ℓ / Radius a			
0 mm (Orifice) / 1.0 mm	Exp.3 #1,2; Exp.7 #1,2; Exp.23 #1,2; Exp,25 #1,2	Exp.4 #1,2; Exp.8 #1	
30 mm / 1.0 mm	Exp.1 #1,2; Exp.5 #1,2; Exp.20 #1; Exp.24 #1	Exp.2 #1: Exp.6 #1	
30 mm / 0.8 mm	Exp.21 #1,2; Exp.22 #1	Exp.6 #1	
30 mm / 0.55 mm	Exp.18 #1,2	Exp.19 #1,2; Exp.26 #1,2	
30 mm / 0.4 mm	Exp.9 #1,2; Exp.10 #1,2		Exp.11 #1
120 mm / 0.4 mm	Exp.12 #1-3; Exp.13 #1-3; Exp.15 #1-3; Exp.16 #1-3		Exp.14 #1; Exp.17 #1

4.2.2 実験条件

本宇宙実験の目的は，自己不安定化機構の存在を実証し,その詳細を明らかにすることである．そのために必要な実験の種類とノズル仕様を考え，表１の実験 1～25 を実施した．

我々は既にオリフィスジェットの実験室実験において,重力加速がジェットを分断する不安定波を作る自己不安定化機構の存在を実証している[10]．次節で詳述するように,ノズルから噴射された水ジェットは,速度分布緩和により,下流に行くに従ってジェットの表面速度が零から増大していく．波長の短い上流伝播波は表面速度に敏感であるから,ノズルジェットの実験室実験では，重力加速ジェットと同様の自己不安定化機構も同時に働くことになり，ノズルジェットに固有の自己不安定化機構を同定することができない．そのため，本宇宙実験ではノズルジェットの挙動を詳しく調べることに主眼を置き，オリフィスジェットは理論との比較と，ノズルジェットと比較参照用の位置づけで実施した．従って，以下ではノズルジェットの結果に焦点を絞って記す．オリフィスジェットの結果は，4.1 に展開した理論通りの挙動を示した．

4.2.3 ノズルジェットの特性

本実験で主として対象にした噴射速度範囲（1<U/V<2）では,空気抵抗によりジェットが有意に減速される前に分断するので,空力的な作用はないと考えてよい．ノズルに流入した水はノズル内壁の摩擦力により速度分布を持つ．ノズル長ℓが Bousinesq の助走距離 $Le/(2a)=0.065Re_D$ ($Re_D=2aU/\nu$<2300)より長いノズルでは，平均速度 U の放物型速度分布に落ち着いて噴射される．長いノズル(内径 a=0.4mm,長さℓ＝120mm)を使った実験では,この条件は十分満たされている．又,仮に流入流体に乱れが残っていてもノズル内で完全に減衰する．

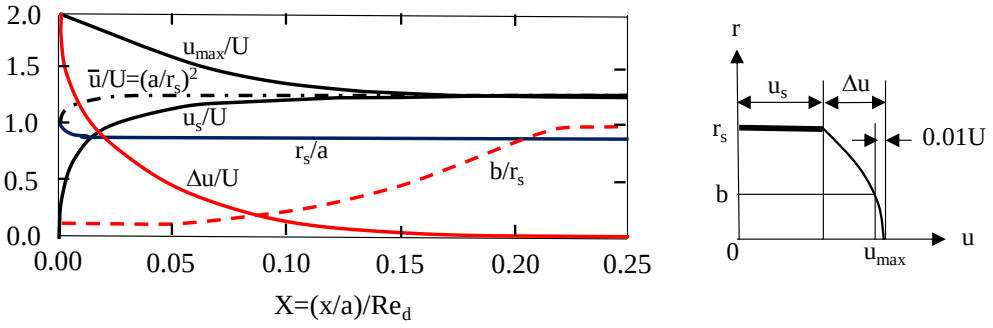
噴射液は内部粘性によって下流に行くに従い放物型速度分布から一様速度分布に向かって

変化し長い定常ジェットを実現しようとする（速度分布緩和）．図 4-8 は表面張力を無視した数値計算で速度分布緩和過程を計算した結果である．r_s は液体ジェットの局所半径，$\bar{u}/U=(a/r_s)^2$である．噴口から O(a)の距離で断面平均速度は一定値$\bar{u}/U=1.29$になっており，対応してジェット半径は r_s/a=0.88 に落ち着いている．この飽和値は噴射液の質量と運動量の保存則から算出される値に一致し，雰囲気の影響が無視できることを裏付けている．実際には，噴口端面の濡れにより吸引力が作用する結果，噴口近傍を除いてほぼ $r_s=a$, $u=U$ のジェットになる．この場合には，噴口から離れるに従いジェットの表面速度 u_s が零から Uに向かって増大していく一方，中心軸上の速度 u_{max} は $2U$ から U に向かって減少していく．この速度差 $\Delta u=u_{max}-u_s$,の範囲で軸速度が半径方向に変化する．噴口直近を除き,$\Delta u/U$ のグラフは次の指数関数形に近似できる．

$$\Delta u/U=1.5341\exp(-25.572X):\quad X>0.01$$

$$X=\frac{x}{a}\frac{\nu}{2aU}=\frac{x}{a}\frac{\nu}{2a\sqrt{We}\sqrt{\dfrac{\sigma}{\rho a}}}=\frac{x}{a}\frac{1}{\sqrt{We}}\frac{1}{339.4}\quad(a=0.4mm),\quad \frac{x}{a}\frac{1}{\sqrt{We}}\frac{1}{536.6}\quad(a=1.0mm) \tag{13}$$

ノズルに流入した水は入口近くで非常に大きな摩擦力を受けるので，ℓ <Le でもℓ ＜O(a)でなければ，放物型の速度分布になって吹き出し，長いノズルと同様に振舞う．



(a) Numerical simulation result　　(b) Velocity profile relaxation model

図 4-8　ノズルジェットの速度分布緩和過程の特性量と断面速度分布モデル

4.2.4　画像処理

高速度カメラで撮影したビデオ画像の処理ソフトが JAXA によって開発された．

4.2.4.1 ジェット輪郭線の抽出

噴口と繋がった液柱部をジェットと呼び,分断液滴は除外して考える．本研究では不安定波の挙動だけでなく,中立波の挙動も調べることが大事である．不安定波の挙動だけに注目した過去の実験的研究では 2 値化した画像からジェットの輪郭線が抽出されているが，この方法では小さな振幅を持った中立波を捉えることが困難である．背景照明法による撮影では，ジェットを通過する各光線は入射位置によって屈折の程度を変えてカメラに入るので，微小なジェットの表面変形でも，変形に対応した半径方向の輝度分布変化をもたらす[10]．本実験では図 4-9 に示した画像処理法により各画像のジェットの輪郭線を直接抽出する試みをした．図 4-9(a) に一連のビデオ画像を示す．図 4-9(b)の左側の図は，図 4-9(a)の縦線部の輝度分布を表す．右側のグラフはその導関数である．液面は,外側にある 2 つの極値点にあると考えられるので,その近傍の 3 測定点を通過する 2 次式から極値点を定め,ジェットに沿った各位置での直径（本実験のジェットは基本的に軸対称形である）を計算して輪郭線を求めた．こうすることによって 1 ピクセルより小さな表面変位まで読み取れる．一例とし,図 4-9(c)に図 4-9(a)

の画像から抽出したジェットの輪郭線を示す．この図から,低速噴射ではノズルジェットでもオリフィスジェットと同様,ジェット先端収縮により蓄積された液体塊の局所的な不安定化によって分断が起きていることがわかる．

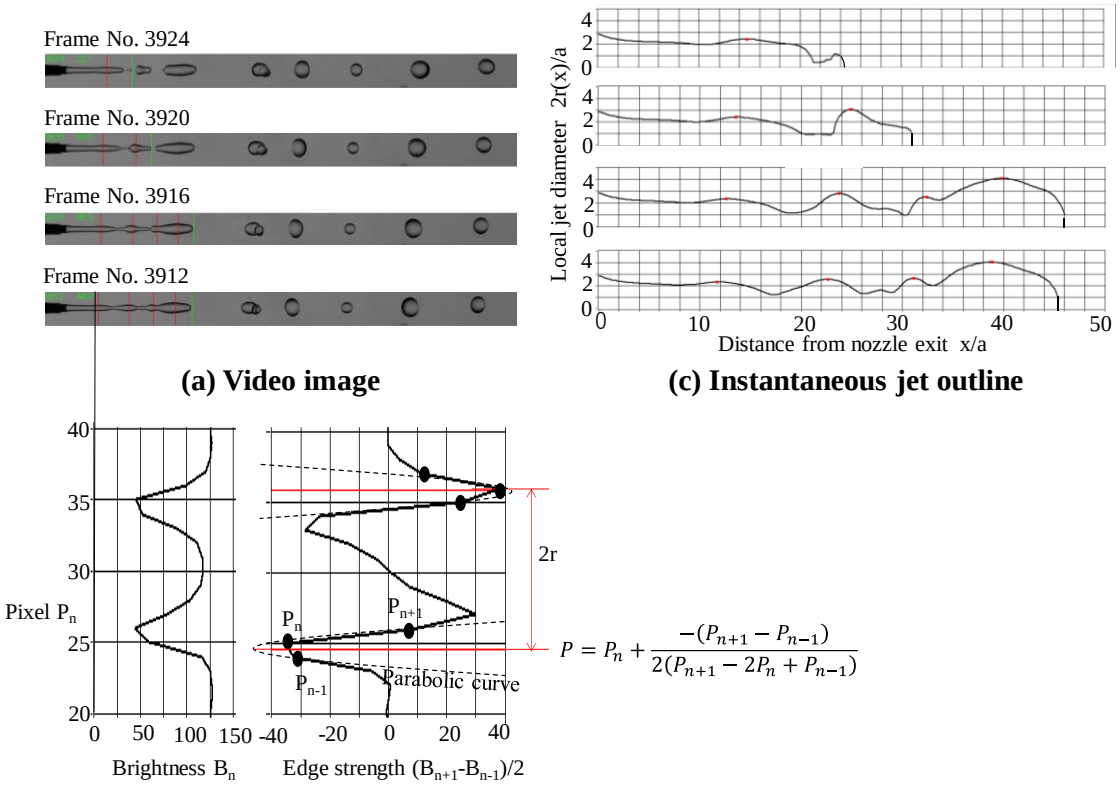


図 4-9 ジェットの輪郭線の抽出（a = 1 mm-ℓ = 30 mm nozzle- jet at U/V = 1.53）

4.2.4.2 極大点軌跡図

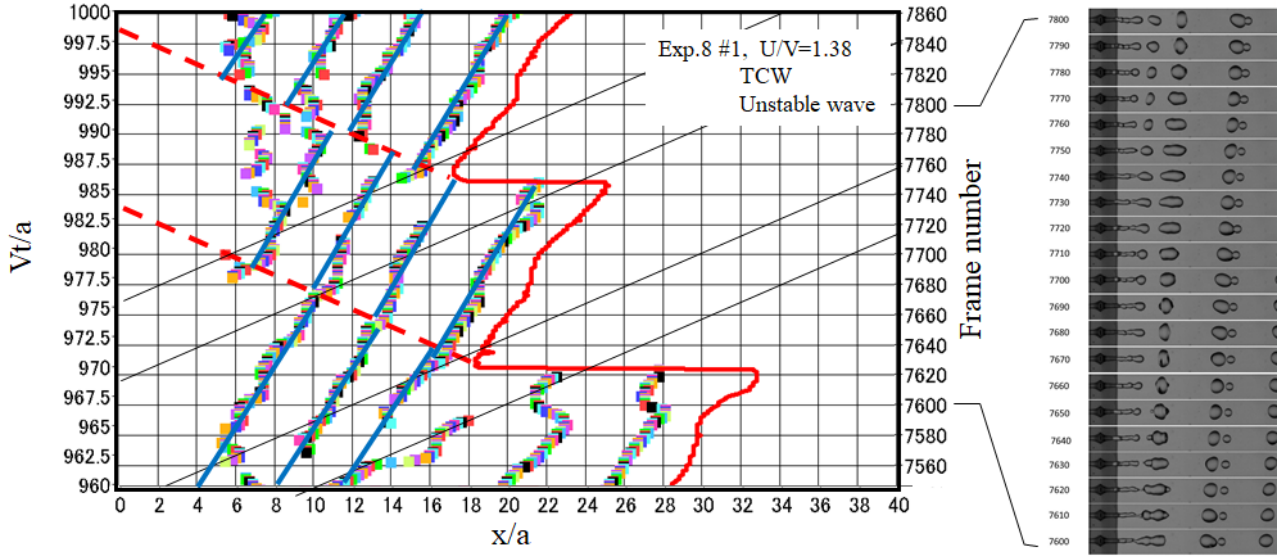
各実験の一連の画像毎に,ジェットの輪郭線の極大点位置をプロットしていくと,図 4-10 に示すような極大点軌跡図が描ける．分散波の特性や測定誤差により生じる非常に短い間隔の極大点の出現を防止するために,極大点の探索では隣り合った 4 ピクセルの値で平滑化した数値を用いた．図 4-10 の横軸には，噴口からジェット中心軸に沿って測った距離 x を噴口半径 a で無次元して示してある．右側縦軸は画像番号を表し,下から上に向かって時間が進む．左側縦軸は無次元時間 Vt/a を表す．宇宙実験結果の物理的解釈は極大点軌跡図に基づいて行われるので，極大点軌跡図の読み方をここで説明しておく．

図の太赤実線はジェット先端位置の履歴を示す．水平線分の出現はその左端でジェットの分断が起きたことを示す．太赤実線の左側にプロットされた色付きの点が，各時刻におけるジェット輪郭線の極大点位置を示す．その位置を山とする波要素の動きが連なった点列から読み取れる．黒実直線はジェット速度 U で動く点の軌跡を表す．この直線の傾きに比べ，極大点軌跡の傾きが大きいか小さいかによって，図に現れている表面張力波の種類が分類できる．黒実直線より傾きが大きいか，あるいは負の傾きを持つ極大点軌跡は，上流伝播速度（位相速度＝U－正値）を持った波を表し，下流，特にジェット先端近傍のエネルギー源によって作られた波でなければならない．従来の考えとは逆に，ジェットに現れている波は,下流に移動していても,ほとんど全てがジェット先端側でエネルギーをもらって作られた波であることがわかる．ジェットの分断が噴射液の持つ乱れよって作られているのであれば，上流起源の下流伝播波（位相速度＝U＋正値）も存在しなければならず，黒実直線の傾きより小さな正の傾きを持つ極大点軌跡も現れてしかるべきであるが,それがない．このことは，仮に従来のノ

イズ概念が正しいとしても,その振幅は図 4-10 に見られる波の振幅より小さいことを意味する．この点は他の極大点軌跡図においても同様であった．後に示すように，ノズルジェットでも不安定波要素の軌跡は黒実直線に平行になる．このような極大点軌跡は部分的にジェット先端近くに見える．ジェットが伸びるときの先端軌跡の傾きは黒実直線より大きく，確かにジェット先端に収縮力が作用していることがわかる．

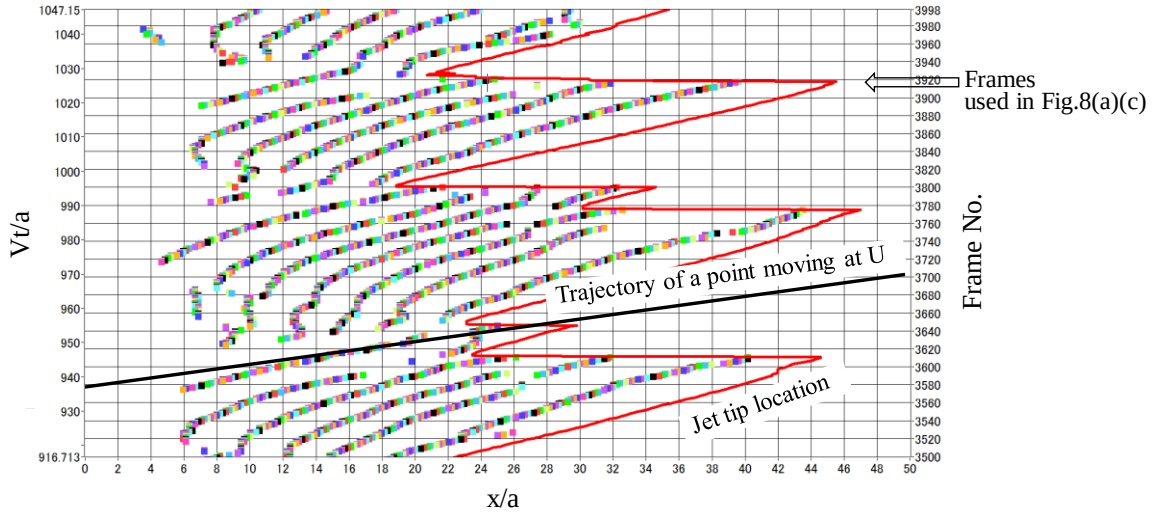
我々が提案している噴射液の自己不安定化機構では,ジェット先端の収縮および不安定波の増幅過程（共に表面積を縮小する過程である）で解放された表面エネルギーの一部が表面張力波（振幅が小いため目視による識別は困難）の形で上流に伝えられ，新たに噴射された液柱部に不安定波を作るのに使われる．噴射液の高速度撮影画像を処理して得られた極大点軌跡図は，小さな振幅の上流伝播表面張力波の挙動までよく捉えており，自己不安定化ループを同定するのに有力なデータになった．

極大点軌跡図を見るにあたって注意しなければいけない点を記す．噴口近くでは端面の濡れによってジェット表面が内側に曲がった円錐状になるため,そこに入った振幅の小さな波は表面の極大点を作らない．同様の事柄は,増幅した不安定波の括れ部や先端液塊部でも生じる．



(a) a=1mm orifice jet at U/V=1.38

(a)　a=1mm orifice　jet at U/V=1.38



(b) a=1mm･ℓ=30mm nozzle jet at U/V=1.53

図 4-10　極大点軌跡図例

オリフィスジェットとノズルジェットの極大点軌跡図の違いに注意しよう．図 4-10(a)の極大点軌跡図は図 4-3(b)とよく一致する．平行な青線分で表示された先端収縮波はジェット分断位置ＡとＢから引かれた赤破直線の下流にできている．オリフィス反射で作られた不安定波の軌跡も認められる．他方図 4-10(b) では曲がった先端収縮波の極大点軌跡が見え，下流に移動するに従い波長が伸長されて不安定波要素に転化しているのがわかる．ノズルジェットの自己不安定化機構の詳細を解明するために，この挙動の物理的意味を後で詳しく調べる．

4.2.4.3 ジェット先端位置履歴

一度自由ジェットができれば,噴射中常にジェット先端が存在する．その瞬間位置は,各画像のジェット輪郭線より求まる．一例として図 4-11 に長いノズルを用いたＡタイプ実験で得られたジェット先端位置履歴を示す．実験では，各 4 秒間の段噴射速度の最後の 1 秒間だけが毎秒 4000 コマで撮影されている．図を横に大きく引き伸ばすと，右上に描いた鋸歯形の折れ線になっている．時刻 t_{Bn} の分断で新しくできたジェットの先端は次の分断時刻 t_{Bn+1} までに位置 L_{Bn} から L_{Bn+1} まで移動する．本実験では,所与の噴射速度に対してジェット先端位置の時間平均を計算して平均ジェット長 $L(U)$を求めた．平均分断距離は L_{Bn} の算術平均として求まる．

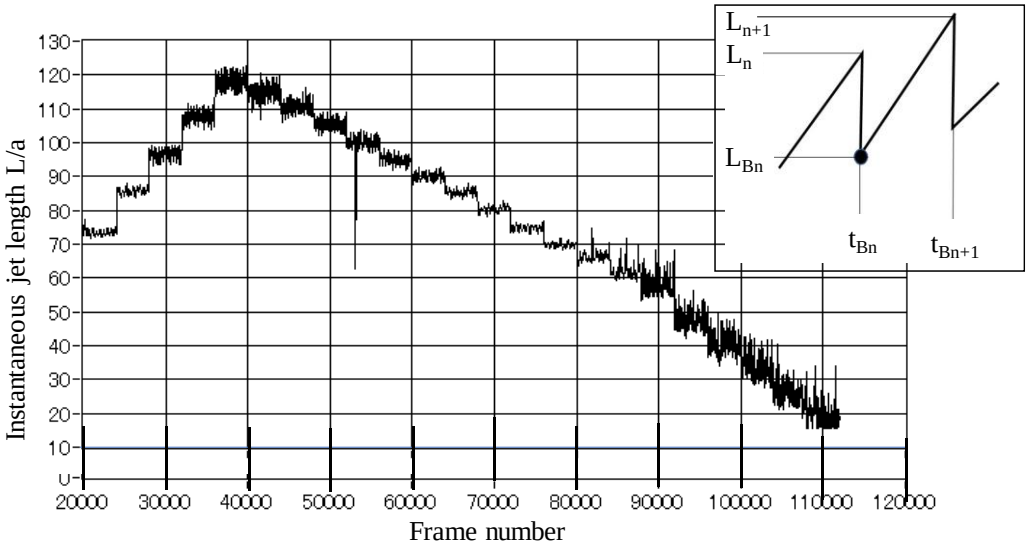


図 4-11　Ａタイプ実験でのジェット先端位置履歴例 (Exp.12 #1: a = 0.4 mm- ℓ = 120 mm)

4.3 平均ジェット長に関する実験結果と議論

4.3.1 平均ジェット長の噴射速度依存性

図 4-12 に長いノズルを用いたＡタイプ実験で得た平均ジェット長の噴射速度依存性を示す．比較のため,以前の放物飛行で行ったＣタイプ実験（異なった噴射器を使用）の結果も記入してある．各段の噴射速度期間は過渡噴射速度期間や$\bar{L}/U$より十分に長い．図 4-12(a) にはノズルジェットの自己不安定化機構の存在を実証する次の 2 つの特性がよく表れている．

4.3.1.1 履歴効果

ノズルジェットに対しても,従来のノイズ概念では白色ノイズが想定されており,微小で振幅が一様な全波数の波がノズル出口で常に作られており,その中から最大増幅率不安定波が卓越的に増幅してジェットを分断すると考えられている．これは,自然なジェット分断に対する一方向的な機構であるから,一度噴射速度がある値 Uに固定されれば,経過時間 L_B/U 後には $x=L_B$ で分断が繰り返される定常分断状態に入るはずである．4.1 で詳述したオリフィスジェットの自己不安定化機構によれば,ジェットに作られる波は $2L_B/U$ 以上の時間が経過して初めて噴射速度の固定化を感知することになる．定常分断状態が確立されるには，噴口部とジェット先端部との間での一連の干渉的な波生成が必要である．同様の事柄はノズルジェットで

も言える．ノズルジェットではジェットが長くなるので，定常分断状態に落ち着くにはもっと長い時間が必要になる．そのため，L_B/U よりは十分長いが Uに対応した定常分断状態が確立するには短い時間間隔で噴射速度を変化させると,前の噴射速度段時に作られた波の影響を引きずり，同じ実験を繰り返しても各段の平均ジェット長が同じ値にならなくなる．図 4-12(a) の履歴の多様性は，自由ジェット生成時からの歴史によって現在のジェット分断状態が決まることを示しており,自己分断機構の存在を裏付けている．

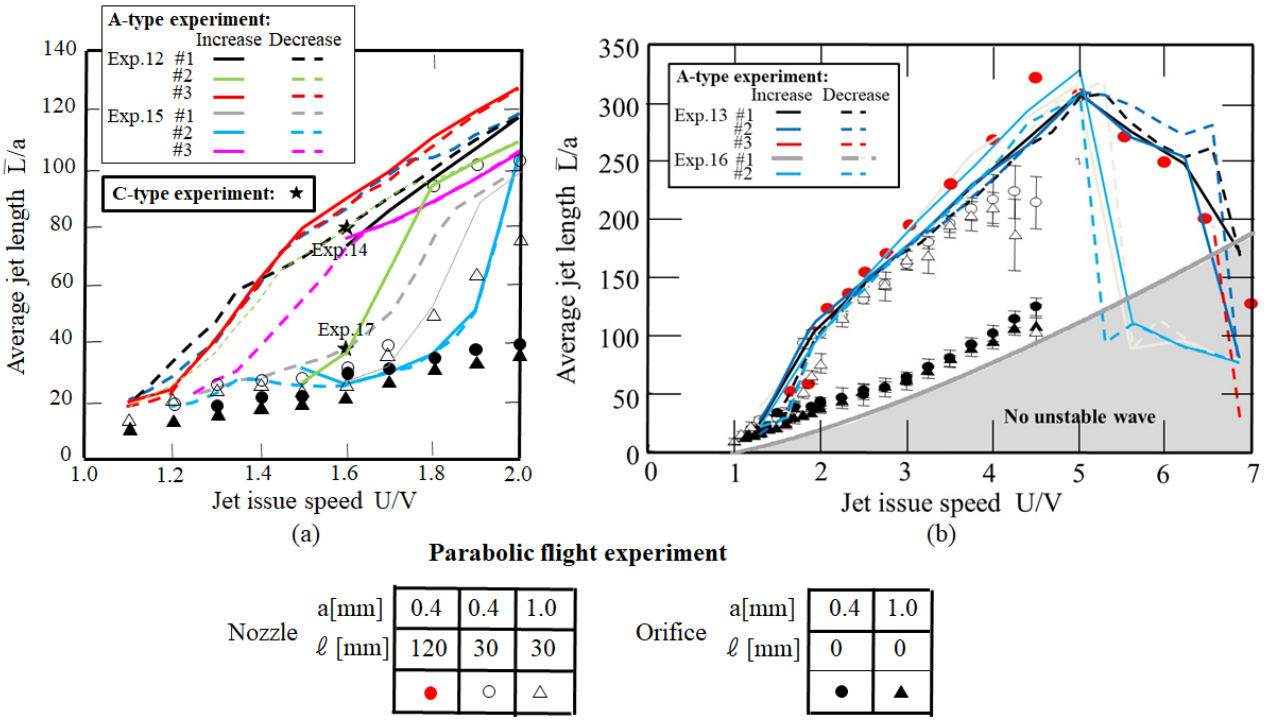


図 4-12　Aタイプ実験での平均ジェット長の噴射速度依存性

4.3.1.2 二価性

オリフィスジェットの自己不安定化機構では,不安定波は噴口反射でのみ作られ,ジェット長は噴射速度の一価関数になる．この特性は本宇宙実験でも確認できされた．図 4-12(a)のノズルジェットの履歴曲線は,上側と下側の包絡線として表される二価の定常分断状態が噴射速度範囲 $1<U/V<2$ に存在すること示している．下側の包絡線の挙動は,オリフィスジェットの定常分断状態に似ており,このノズルジェットの分断状態を以後「短距離分断モード」と呼ぶ．上側の包絡線に対応するものは「長距離分断モード」と呼ぶ．長距離分断モードに近い平均ジェット長は,噴射速度を $U/V=2$ から下げていったときに U/V ＝1 .2 まで得ることに成功している．逆に,U/V ＝1 から噴射速度を上げていったときに,自由ジェットができたのは $U/V>1.6$ であった．しかし,一度長いジェットができれば，U/V = 1.2.まで下げても自由ジェットが形成された．長距離分断モードと短距離分断モードは U/V = 1 の近くで合わさるが，短距離分断モードは U/V = 2 に近づくと長距離分断モードに遷移する．実験室実験では U/V = 1 の近くで「噴流」と「滴下」の間の履歴現象が起きる．滴下現象は専ら重力の効果として説明されきたが,滴下の力学の本質が実は短距離分断モードの自己不安定化機構にあることは明らかである．本実験の噴射速度において,短距離分断モードは実験室実験では出現しない．

各噴射速度段期間中のジェットを分断する不安定波の時間的変化を調べた結果,次の事柄がわかった．(1) 短距離分断モードあるいは長距離分断モードからのずれが 10a 程度より大きくない場合には,不安定波の波長を時間的に変化させて準定常分断状態が保てる．(2) さもなければ,短い時間の間に短距離分断モードあるいは長距離分断モードのいずれかに遷移しようとするか,間欠的に両モードに向う動きを示した．

4.3.1.3 オリフィスジェットとノズルジェットの関係

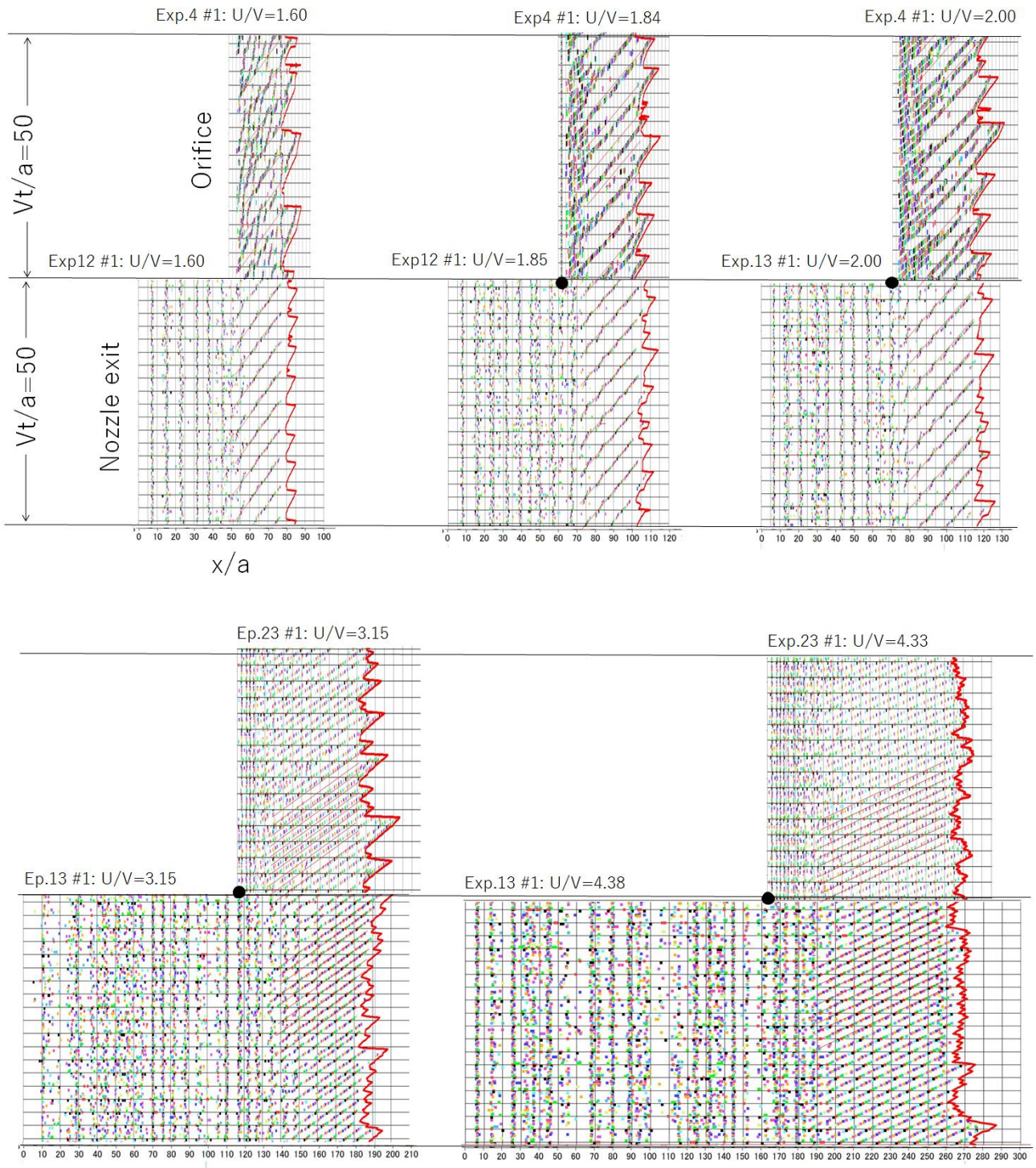


図 4-13　オリフィスジェットと a=0.4mm,ℓ=120mm ノズルジェットの比較

a = 0.4 mm-ℓ = 120 mm のノズルを使った宇宙実験では,ほぼ同じ位置で周期的にジェットの分断が起きる長距離分断モードが観察された．弱非線形解析[9]により,$U/V > 1.6$ のオリフィスジェットを分断する不安定波は,不安定波の増幅によって作られた同期上流伝播波のオリフィス反射により作られることが示された．ノズルジェットを分断する不安定波の起源も同じく不安定波の非線形増幅にあるとすれば,ノズルジェットの一様速度域ではオリフィスジェットと同じ不安定波の非線形増幅により同期上流伝播波が作られているはずである．それで,図 4-13 では,同じ U/V 値のオリフィスジェットとノズルジェットの極大点軌跡図を縦に並べて比較している．いずれの極大点軌跡図も，図 4-11 と図 4-12 の算出に用いた時間帯の無次元時間幅 50 を切り取ったものである．ノズルジェットの平均ジェット長位置に，オリフィスジェッ

トの平均ジェット長位置が来るように，オリフィスジェットの噴口位置をずらして配置してある．オリフィスジェットでは，オリフィス反射で作られた不安定波の軌跡がほぼ全域で平行な直線状の極大点列として表現されている（U/V~2 では非線形増幅不安定波により作られた整数倍の振動数の上流伝播波の反射下流伝播波によって噴口近くの不安定波の軌跡が隠されているが）．ノズルジェットに現れている平行直線極大点列を細赤直線分でトレースし,オリフィスジェット図に移すと,両者はほとんど重なる．これより,オリフィスジェットと同じ長さのノズルジェットの先端部はオリフィスジェットと同じ波構造になっており,その上流の領域はオリフィスと同等の役割を果たしていることがわかる．

ノズル出口から黒丸までの距離が噴射速度に対してどのように変化するか調べたのが図 4-14 である．実験点（赤丸）は Bousinesq の助走距離より若干短い位置にある．図には参考のために $\Delta u/V$=0.5, 1 ,$\sqrt{2}$ となる位置（赤線）と共に$\Delta u/U$＝ 0.01, 0.1 の位置（黒線）も示してある．図 4-8 に見るように,黒線位置ではΔu は指数関数的に小さくなっており,上流伝播波に対する伸長効果は無視できる程小さい．従って,上流伝播波の伸長に有効な速度分布緩和域の長さには Bousinesq の助走距離を採用するのが適当とわかる．後に証明するように$\Delta u/V=\sqrt{2}$となる赤実線の上流には不安定波ができないので,一様流速域から伝わってきた上流伝播波は赤実線と Bousinesq の助走距離の間でジェットを分断する不安定波に転換し,定常分断状態を実現していると考えられる.青三角印は図 4-13 の平均オリフィスジェット長を表し,これはＣタイプの放物飛行実験結果とも一致している．図 4-14 より U/V>2 のノズルジェット長は近似的に速度分布緩和距離とオリフィスジェット長の和として表現できることがわかる．

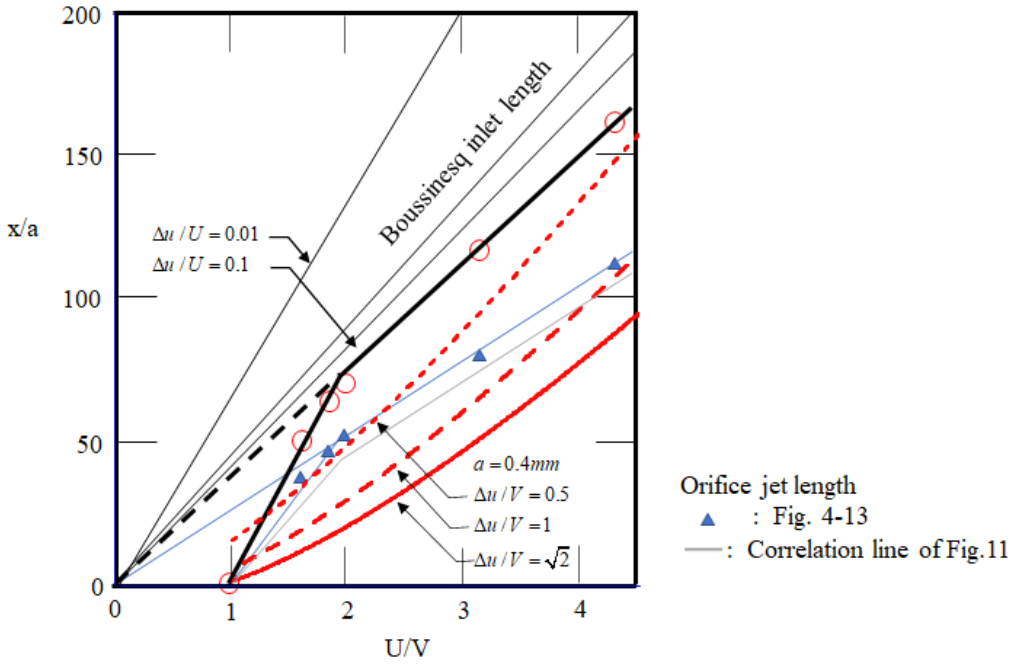


図 4-14　速度分布緩和域内での不安定波の生成

4.4　ノズルジェットの実験結果と自己不安定ループの同定

ノズルジェットの各極大点軌跡図はノズルジェットに作られた表面張力波の時空間発展を表す．その物理的意味をつかむにはそれぞれの波の起源を同定する必要がある．ノズルジェットに対しても，先端収縮により放射される分散波の考察から出発して，オリフィスジェットと同様にして自己不安定化ループを同定していくことができるが，速度分布緩和域の表面張力波の特性を知るための特別な解析が必要になる．貴重な極大点軌跡図を得たので，敢えてこの難題に挑戦した．初めに,その解析結果について説明し,それを用いて極大点軌跡図から読

み取れるノズルジェットの特徴を述べた後,最後に本実験の最大の収穫である長いノズルを用いた実験でとらえることができた自己不安定化機構が作るコヒーレントな波構造の発見に至った経緯を説明する.

4.4.1 速度分布緩和域の断面速度分布モデル

ジェットに沿う各位置 x における擾乱波の特性を調べるのに,その位置の基礎流と同じ流れが上下流に無限に続いていると見做して解析する手法を局所平行流近似と称し,様々な流れの線形安定性解析に用いられている. この解析法を使えば,ジェットに沿った各点 x の断面速度分布が与えられれば,各位置 x の擾乱波特性を調べることができる. それで,速度分布緩和過程中の局所断面速度分布を図 4-8(b)のように局所表面速度 $u_s(x)$ に放物型速度分布 $\Delta u(x)\left[1-(r/a)^2\right]$ を足し合わせた形にモデル化した.

4.4.2 局所線形安定性解析

このモデルによれば,ノズルジェットの基礎流はどこでも $u_s+\Delta u/2=U$ ＝一定であり,Δu あるいは u_s が x の関数として式（13）によって与えられるから,ノズルジェットに沿った擾乱波特性の変化を以下のようにして知ることができる. すなわち,所与の$\Delta u/V$値に対して,次の方程式を数値的に解き,固有値 $\phi=c'r/\Delta u$ を無次元波数 ka の関数として表現すれば,線形安定性解が得られる.

$$\frac{df}{d(r/a)}+\left[\frac{1}{r/a}+\frac{4(r/a)}{1-(r/a)^2-\phi}\right]f-1+(ka)^2f^2=0 \qquad \text{ただし} \quad f(r/a=0)=0,\quad f(r/a=1)=-\frac{(\Delta u/V)^2\phi^2}{1-(ka)^2} \tag{14}$$

ここに,表面張力波の位相速度 c_r を $c_r=u_s+c_r'$ と分離してある. これにより,ジェットの表面速度 u_s, 従って噴射速度 U の大きさとは独立に c_r' が決定できるようになる点が面白く, 初めて陽的なノズルジェットの安定性解析に成功した. 一様速度分布Δu = 0 に対してはオリフィスジェットの解に一致する.

4.4.2.1. 中立波の位相速度

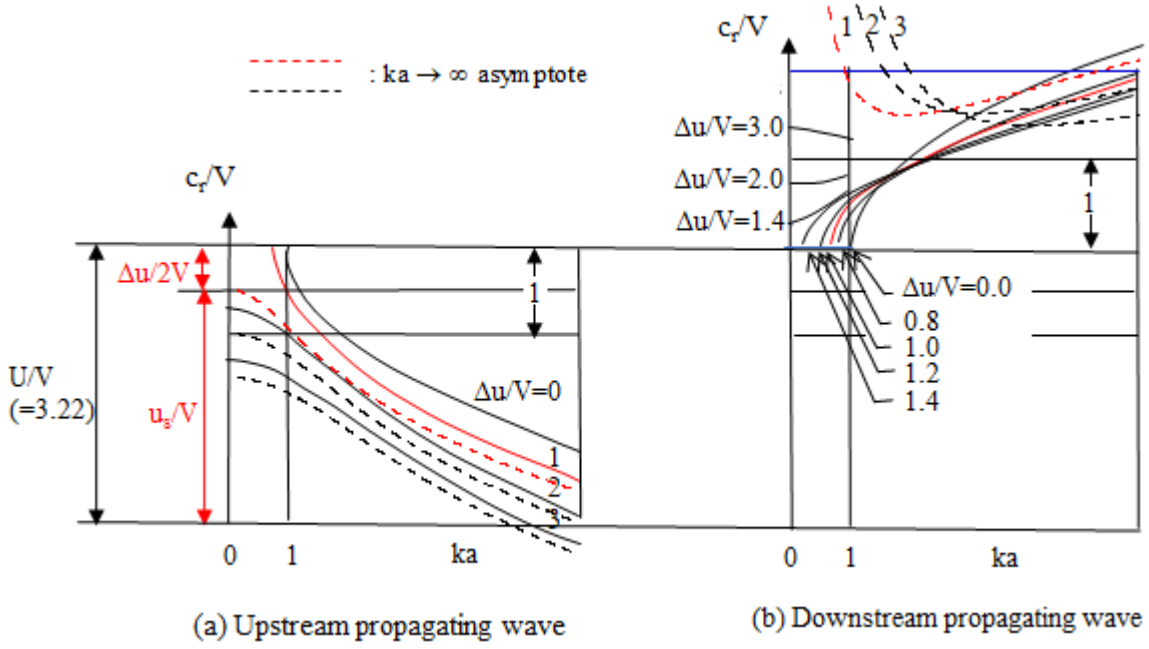


図 4-15　上流伝播波と下流伝播波の特性

図 4-15 に上・下流伝播波の位相速度 c_r を示す．同図からわかる重要な事柄は（１）表面速度 u_s=U-Δu/2 に敏感な上流伝播波は,上流に移動しても下流に移動しても波長が伸びる．（２）下流伝播波が常に下流に移動する点はオリフィスジェトとかわらないが,位相速度は広範囲の波数にわたってジェット中心軸の高速流の影響を有意に受ける．その結果，仮にノズル出口で周期的に下流伝播波が作られたとすれば，噴射速度 Uによって決まるある値より波数が大きいか小さいかによって,下流に移動する際に波長が縮まるか伸びるかの違いが生じる．

4.4.2.2 不安定波

時間発展解析で得る不安定波の c_r'は複素数 c_r'+ic_i',になる．実部と虚部の $\Delta u/V$ と ka への依存性が図 4-16 に図示してある． kc_i' は時間的増幅率を表す．ka = 0 の場合の方程式 (14) の解析解から $\Delta u/V > \sqrt{2}$ では c_i'=0、$\Delta u/V \le \sqrt{2}$ で $c_r' = \Delta u/2$ となることがわかる．図 4-16(a)より不安定波では常に $c_r' = \Delta u/2$ であるとすると，以下の事柄が言える．（１）不安定波は $\Delta u/V = \sqrt{2}$ （図 4-14 の太赤線位置）より下流でしかできない．従来考えられてきたように噴口位置で不安定波ができるためには U/V<0.7 でなければならず，無重力状態ではジェットが生成できない噴射条件になる．（２）不安定波の位相速度は速度分布緩和域においてもジェットの噴射速度 Uに等しい．（３）上流伝播波が伸長して $\Delta u/V < \sqrt{2}$ の位置で不安定波に転化する場合には，$(ka)_c = \sqrt{1-2(\Delta u/2V)^2}$ の波数の不安定になり,下流に移動しても波数は変わらず，増幅率が増大する．従って,一様速度分布域にある最大増幅率不安定波は$\Delta u/V$ = 1 となる速度分布緩和域内で作られなければならない．（４）図 4-14 に見るように,大きな噴射速度では $\Delta u/V$ > 1 の領域が速度分布緩和域の大部分を占め,この箇所はジェットの分断に何ら関与しない．これが,ノズルジェット長がオリフィスジェット長に比べ非常に長くなる理由である．

過去の実験室実験では専らノズルジェットが扱われている．上記の事柄を知らず，従来のノイズ概念に従いノズル出口で不安定波が作られると考え，レーリーの分断式を適用してジェットを分断した不安定波の初期振幅を見積り，原子結合距離程度という信じがたい数値が報告されている．それが線形安定性理論で仮定する無限小振幅に一致すると誤解し，ノイズ概念を補強する作用をしてきたのではないかと推察される．

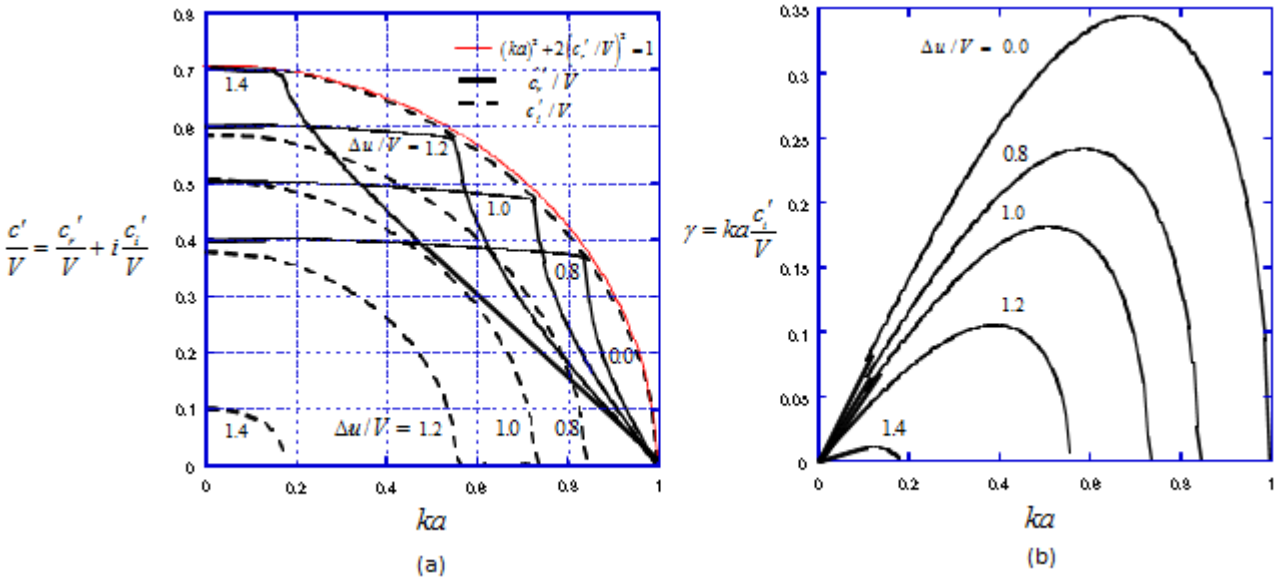


図 4-16　不安定波の特性

4.4.2.3 分散式曲線

上述の解は任意の U に対して成り立つものであるが,我々は所与の噴射速度 Uに対してジェットに沿った位置 x においてどのような観察可能な波ができうるか知りたい．それには,各

位置 x での分散式曲線に図を書き換えればよい．所与の Uに対して x/a と $\Delta u/V$ は式（13）を通して一対一対応するから,x/a の代わりに $\Delta u/V$ を用いてジェットに沿った位置を規定することにする．すると,所与の U/V と$\Delta u/V$ に対して図 4-15 と 4-16 のグラフに$\omega = kc_r$ の関係を適用して求める分散式曲線が描ける．一例として図 4-17 に $U/V = 1.61$ の場合の結果を示す．ラベル (I)-(IV)のついた分枝は図 4-2(a)と同じ意味合いをそれぞれ持つ．前に述べたように速度分布緩和域では,ジェットに沿って中立波が移動する（$\Delta u/V$ が変わる）と波数が変化するので，この図の使い方が重要である．

振動数ω が増大すると,II 波と III 波の波数は互いに近づき,ある振動数$\omega = \omega_S$ で一致し，2 分枝は$\omega = \omega_S$ に転向点を持つ連なった曲線になる．以下に述べていくように,速度分布緩和域内でのこのような転向点の存在が，ノズルジェットの自己不安定化機構を成立させていることが理論的に判明し,長いノズルを用いた実験によって検証されたことが本宇宙実験の最大の成果である．

まず,図 4-17 からわかる次の点に注意する．

(1) $\Delta u/V \geq \sqrt{2}$ では, III 波分枝と IV 波分枝が原点($k = 0$, $\omega = 0$)まで伸びている．

(2) これから,非常に興味深いことに,一定噴射速度のノズルジェットで噴口に近づく程,オリフィスジェットの噴射速度を上げた時と同じように連なった(III+IV)波分枝の湾曲が強くなり転向点の存在が明瞭になっていくことがわかる．上流伝播波に対して,局所ジェット表面速度 $u_s = U\text{-}\Delta u/2$ はオリフィスジェットの噴射速度と同じような役割を果たす．従って,表面速度が増大すると,転向点の波数と振動数は共に増大する．

(3) $\sqrt{2} > \Delta u/V > 0$ の領域では太黒破直線$\omega = Uk$ 上に不安定波が現れる．u_s を U まで上げた時の(III+IV)波分枝の形状変化は,オリフィスジェットの噴射速度を下げたときに似ている．

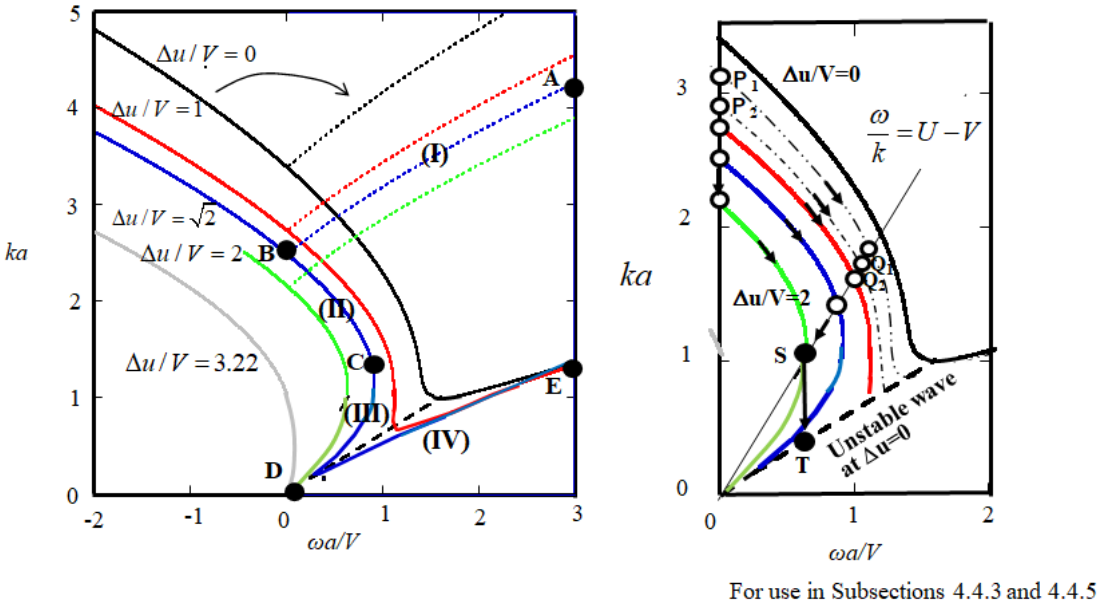


図 4-17　U/V=1.61 のノズルジェットの分散式曲線（$\Delta u/V$=0 と$\sqrt{2}$の間の不安定波（太黒破線）の増幅率は図 4-16(b) を参照のこと）

既に述べたように,分散式曲線上の各点は,考えている位置Δu で実現可能な観測可能な波要素を表す．一般に,その波は異なった位置のエネルギー源によって作られている（従来,このことを意識せず,誤解した推論がなされるきらいがあった）ので,極大点軌跡図を使って,どこでその波が作られたか同定する必要がある．次節で,この作業の仕方を例示する．

4.4.3　表面速度変化による先端収縮波の伸長

図 4-12 に見るように,U/V<1.6 の短距離分断モードの平均ノズルジェット長は,オリフィスジェ

ットと同じような値を取る．これは,そのような噴射速度では,噴口直近を除いて軸速度分布の効果が弱く,ジェット先端収縮の効果が支配的で,オリフィスジェットと基本的に同じ機構でジェットが分断するからである．

図 4-18 に a = 1 mm-ℓ = 30 mm のノズルから噴射された U/V = 1.61 のジェットの準定常分断状態での極大点軌跡図を示す．図 4-10(b)の場合より U/V が 0.08 増大しているので，速度分布緩和による波の伸長効果が目立って現れ，短距離分断モードにおける典型的な先端収縮波の挙動が明瞭に見える．太赤線はジェット先端の軌跡を表す．点Ａでのジェット分断の後，新しくできたジェット先端が点Ｔまで下流に移動する．この期間のジェット先端（ＡＴ）収縮により上流に放射された素分散波要素が停留波要素になる位置より下流に先端収縮波が作られる．この先端収縮波の前縁は青破線 AA”で表わすように上に曲がる．これは上流伝播素分散波が局所ジェット表面速度に敏感である結果である．すなわち，オリフィスジェットの場合の黒破直線 AA’に代わって，最上流に作られる先端収縮波要素は青破線 AA”になる．非常に興味深いことに，前縁先端収縮波要素は，次の理由によりオリフィスジェットと同じ特性を持つことが判明した．

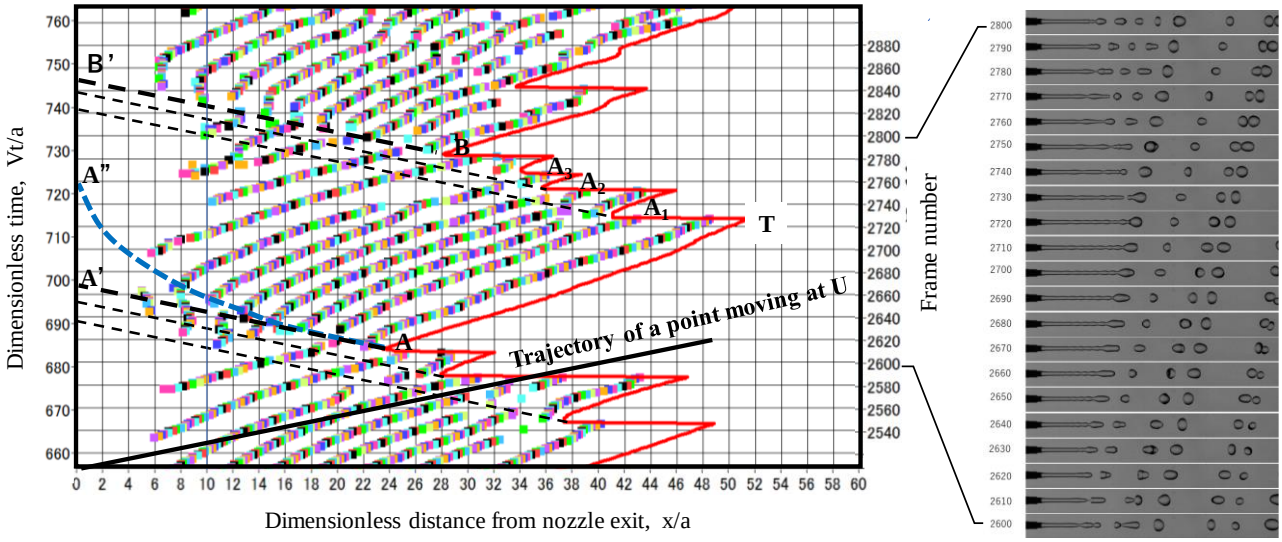


図 4-18　a = 1 mm-ℓ = 30 mm ノズルジェットの U/V = 1.61 での極大点軌跡図

ノズルジェット表面に沿って作用する母線表面張力の大きさは不変であるから,それによってジェット先端に働く正味の上流向き軸力の強さはオリフィスジェットと変わらず,先端収縮を特性つけるインパルス点は一定速度 U-V で下流に移動すべきである．従って，次の時刻に放射される素分散波の停留波要素は，前の時刻の停留波要素を速度 U-V でずらしたところに位置することになる．新しくできたジェット先端によって作られる前縁先端収縮波要素は，このような停留素分散波要素を繋いで形成される．そのため,前縁先端収縮波要素はオリフィスジェットと同じ位相速度 ω/k=U-V を保ち，生成場所(Δu) の変化による振動数 ω と波数 k の変化は図 4-17 の直線ω=k(U-V)に従って起きる．実際,青破線を起点とした各極大点軌跡は傾き U-V の直線に接していることが確認でき,また,隣り合った前縁先端収縮波要素の軸方向間隔は停留素分散波要素（図 4-17 の定在波に対応）の波長λ_sに一致していることも確認される．

例えば,図 4-18 のジェット分断点Ａの近くにある停留素分散波要素の波長は約 $2a$ と評価でき，図 4-17 の点 P_1 = (ka = 6.28/2 =3.1, $\omega a/V$ = 0)に対応する．この点を通る分散式曲線の$\Delta u/V$ の値は$\Delta u_1/V$ = 0.5 とわかり,確かに点Ａでは不安定波が存在できることがわかる．点Ａの近くに作られる前縁先端収縮波要素の波長は $\Delta u/V$ = 0.5 の分散式曲線が直線ω = k(U-V) と交わる点 Q_1 から$(ka)_1$ = 1.8 すなわち $(\lambda/a)_1$ = 3.5 とわかる．点Ａの停留素分散波要素の上流に他の停留素分散波要素 P_2 がΔu = Δu_2,の位置にできる．すると，前縁先端収縮波要素 Q_2 がそこにできる．

この過程を繰り返して，前縁先端収縮波要素が次々に上流に作られ，その波数は直線$\omega = k(U-V)$に沿って小さくなる．この過程は Q_n が図 4-17 の$\Delta u/V = 2$ の分散式曲線の転向点 S $((\lambda/a)_n \sim 2\pi)$に達すると終わる．式(13)を使うと，$\Delta u/V = 2$ の位置は x/a=5.51 になり，ノズル出口に近い．残念ながら，前に述べたように，このような位置の上流伝播波はとらえられない．しかし,表面速度が急速に増大するノズル近傍は,このような長い波に影響することはないから,ジェット先端収縮で放射された上流伝播波は,オリフィス反射と同様にノズル出口と干渉する．

各前縁先端収縮波要素は速度$(U-V)$で下流に移動し，表面速度がより大きいところに移るので，図 4-15 に従って位相速度が上がる．そのため，隣の波要素とつながった各先端収縮波要素は下流に行くに従って波長を伸ばす．このことは，速度分布緩和域にある先端収縮波要素は，もっと速く移動し波長の長い下流の波要素の影響を次々に受けることを意味する．図 4-18 で下流方向に曲がった一連の極大点軌跡はこの過程を表す．かくして，伸長した先端収縮波要素は速度分布緩和域において不安定波に転化することができる．しかし，先端収縮液塊にとっては伸長された先端収縮波の括れ部の到来でも,4.1 で述べたオリフィスジェットにおける不安定波と同様の役割を果たし，先端収縮液塊の分断を引き起こす契機になる．そのため，ジェットは点 A_1, A_2, A_3 そしてＢと続けて分断し，ジェット長が短くなる．より上流で作られた不安定波要素ほど増幅の程度が大きくなるからである．分断ＡとＢの間に起きた過程が繰り返し発生して短距離分断モードの平均ジェット長が決まる．

短いノズル（ a = 1 mm-ℓ=30 mm）を用いたときには，噴射速度を大きくすると，ノズル長が Boussinesq の助走距離より短くなる．その結果，ノズル出口の軸速度分布が放物型から次第にずれ平らになっていく．これは,不安定波のできない区間が高速噴射では噴口近傍に限られていくことを意味する．従って，図 4-18 に似たジェットの分断状態がかなり大きな噴射速度まで続くことができる．他方，長いノズル（ a=1 mm-ℓ=120 mm）では，図 4-14 に見るように，不安定波ができない区間は噴射速度の増大と共に長くなり続ける．そして，長距離分断モードの定常分断状態では，図 4-13 に見るように瞬間ジェット長の変動は小さな振幅になる．この定常分断状態は，ジェットの分断に関連してジェットに沿って作られる表面張力波が特定の振動数に同期していることを意味し，本宇宙実験で初めて実現できえたものである．それで以下では，基礎流がよく定義されている長いノズルの長距離分断モードに焦点を絞り，ノズルジェットの自己不安定化機構の物理像を明確化することにする．長いノズルと短いノズルの結果を比較し，いずれのジェットでも平均ジェット長さの噴射速度依存性は同じになるが，最短分断距離を考えれば，短いノズルの方がかなり短くなる．これにより，過去に報告された実験室実験の結果では瞬間ジェット長が大きく振動していた理由もあきらかになった．全ての報告はレーリーの理論との一致を述べているが，それは間違った特性量を見ていたためであり，実際にジェットにできている波を詳しく見ていれば異なった結論を得ていたはずである．

4.4.4　速度分布緩和域の II 波生成の物理的意義

長距離分断モードのノズルジェットは先端収縮波がノズル出口まで及ばない場合に対応する．図 4-13 の物理を明らかにするために，ノズルジェットに固有な不安定波の非線形増幅による不安定波再生の機構を考察した．

4.4.4.1 転向点位置と自己不安定化ループ

図 4-19 の曲線群は図 4-17(a)のノズルジェットの分散式曲線を模式的に表したものである.図には説明用の矢印と記号が記入してある．一様速度域で作られ速度分布緩和域に侵入する上流伝播波の動きは$\Delta u = 0$ の分散式曲線上の 1 点から始まる．図 4-19(a)に見るように，ある振動数 $\Omega = 0.7U/a$ を持った不安定波の非線形増幅によって作られた同期 II 波要素 (Q)は,ノズル$(\Delta u = 2U)$に近づくに従い波数を低下させていく．従って，ある位置 $x = x_S$ より上流には II 波が侵入できないところがある．この位置は，振動数$\omega=\Omega$ で転向点となる分散式曲線を与える $\Delta u/V$ の値から決定できる．$x = x_S$ に達した II 波要素とつながることができる波要素は，下流に移動

する III 波要素であり，これは II 波による $x = x_S$ ($\Delta u = \Delta u_S$)での表面振動によって作られる．この波は II 波によって上流に伝えられたエネルギーを下流に戻す役割を果たし，II 波と共存して共に下流に移動する．それに伴い III 波要素の波長が伸び，前に述べたように速度分布緩和域内で不安定波になることができる．この過程は，図 4-19 (a)の Q から W に向かった縦矢印が示すように,不安定波の再生が可能であることを示す．従って,このような転向点はオリフィス反射に似た働きを果たし，以降「S 位置」と呼ぶ．

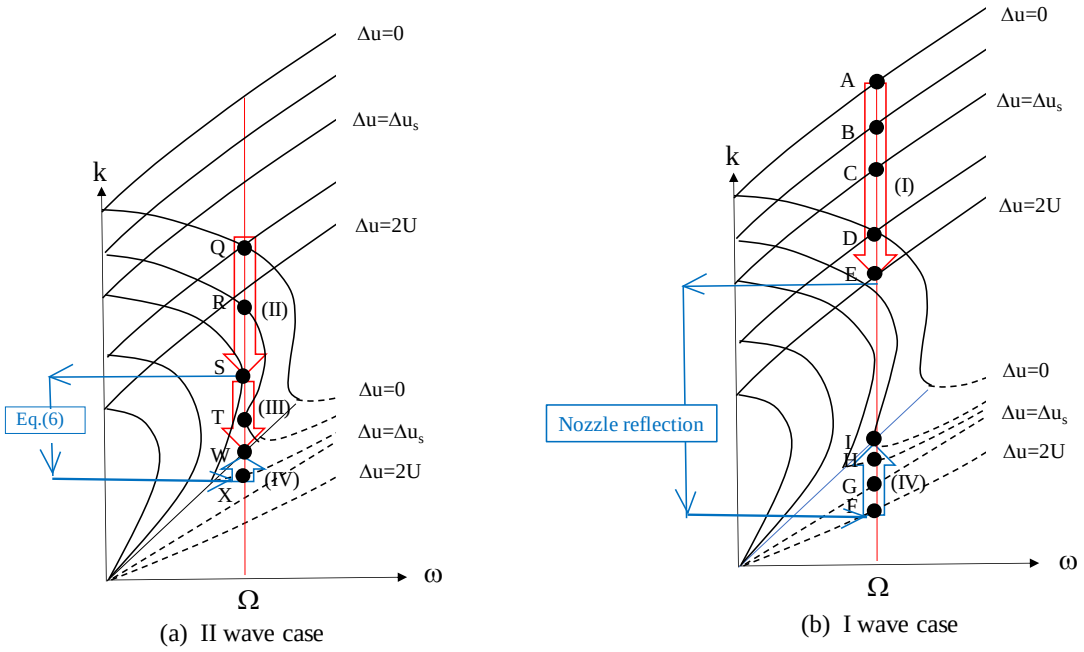


図 4-19 非線形増幅不安定波の再生機構（注：理想的な同期波系では速度分布緩和域内の I と W は同位置）

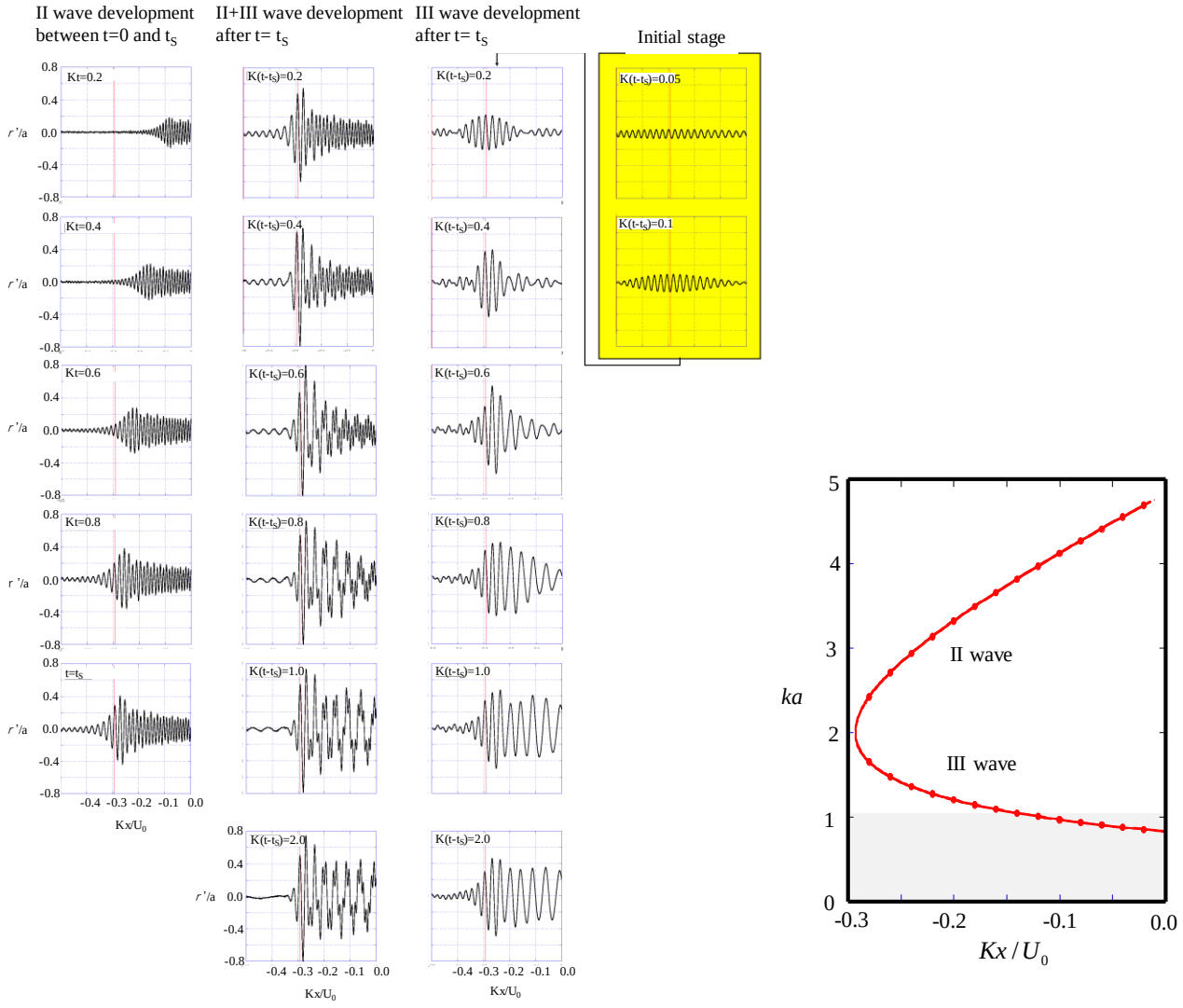
S 位置の存在を数値的に確かめるためにモデル解析を行った．前に述べたように，上流伝播波に対しては，ノズルジェットでの表面速度の増大はオリフィスジェットでの噴射速度増大と同様の役割を果たす．それで，下流に向かってジェット速度 U が直線的($U = U_0+Kx$)に増大するジェットにおいて，定点 $x = 0$ で周期的に $e^{i\Omega t}H(t)$ ($\Omega = 0.7U_0a$, H: ヘビサイト関数)に従って加振したときにできる上流伝播波の挙動を調べた．この問題の厳密解は，$-U_0/K < x < 0$ の領域に対して次式で与えられる．

$$r'(t,x) = \mathrm{Im}\left[e^{i\Omega t}\int_0^t \{G(x,\tau) - G(\tau=\infty)\}e^{-i\Omega\tau}d\tau\right]$$

$$G(x,\tau)\frac{1}{\sqrt{i\dfrac{D}{K}\left(1-e^{-2K\tau}\right)}}\exp\left\{i\frac{K\left\{\left(x+\dfrac{U_0}{K}\right)e^{-K\tau}-\dfrac{U_0}{K}\right\}^2}{2D\left(1-e^{-2K\tau}\right)}\right\} \qquad (15)$$

図 4-20 (a) は $U_0/V = 4$,$K = 0.03V/a$ の場合に対して計算した表面変位 r'/a を図示する．x=0 で加えられている振動に同期した II 波に対する S 位置は，$Kt_S = 0.877$ の時間が経過した後，$Kx_S/U_0 = -0.293$ (赤の縦線で示してある)の位置に確立される．第 1 欄と第 2 欄は表面変位の時間的変化を示す．第 1 欄に見るように,II 波の波長と振幅は共に S 位置近くで最大化しているのがわかる．第 3 欄は S 位置の表面振動が作る波を見るため，$Kt_S = 0.877$ 以降の素分散波だけを取り上げて計算した結果であり，III 波の生成過程を表す．加振振幅より大きな振幅を持った III 波が S 位置にできることがわかる．実験でも共存して下流に移動する II 波と III 波の極大点軌跡

が得られている．図 4-18 は，速度分布緩和域内で II 波が伸長されて III 波になり，それがさらに伸長されて不安定波になる過程をよく表している．同様のことは，長距離分断モードでも起き，III 波は$\Delta u/V$ = 1 で ka = 0.7 の不安定波になり，その増幅によりジェットが分断できる．このように速度分布緩和域に自己不安定化ループが作られることが確定した．



（a）Temporal evolution　　（b）Steady solution

図 4-20 速度分布緩和域内のＳ位置を特性つけるモデル解析結果

それで次に噴射速度を変えるとＳ位置がどのように変化するか調べた．

図 4-21 の太実線は U/V = 4,3, 2, 1.61 対してＳ位置のΔu への依存性を示す．この図より，一様速度域での振動数$\Omega = k'U$ の不安定波を再生するＳ位置がわかる．最大増幅率不安定波 ($k'a$ = 0.7)を再生するＳ位置は細実線で表され，次式によって見積れる．

$$\Delta u/V = 1.75U/V - 2.2. \qquad (16)$$

上式で $\Delta u/V > 1$ (U/V>1.83)であれば，Ｓ位置で作られる III 波要素は,位置$\Delta u/V$=1 で波数 ka = 0.7 の不安定波になることができる．1.26 < U/V < 1.83 の場合には，オリフィス反射と同様，波数 ka = 0.7 の不安定波は，Ｓ位置の表面振動によって直接作られる．このような不安定波の再生ループは，U/V がある値 (U/V~1.6)より大きくなり，ジェットが十分長くなり，不安定波の増幅で同期して作られた II 波が有意に寄与するようになると形成される．これより噴射速度が小さいときにはオリフィスジェットと同様，不安定波の生成は非定常上流伝播波のノズル出口反射により，短距離分断モードを実現しようとすることが確認される

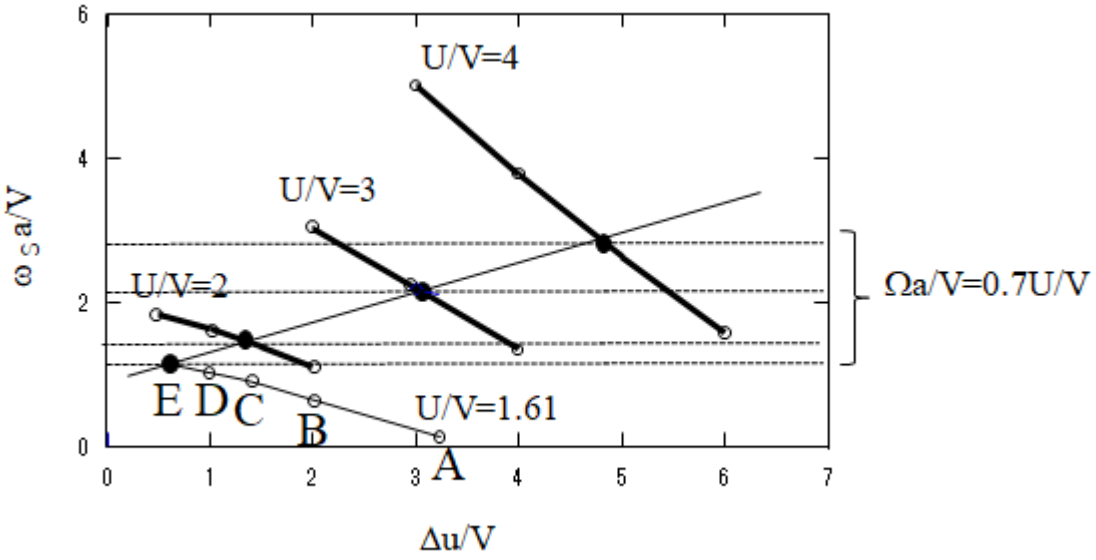


図 4-21 上流伝播波の振動数とＳ位置の関係

4.4.4.2 長距離分断モードの定常ジェット分断条件

理想的な定常分断状態は，噴射速度 Uで定まる一定位置 L_B において一定周期 T でジェット分断が起きる場合である．長距離分断モードでは T は $2\pi/\Omega$ に等しく，$\Omega = 0.7U/a$ は最大増幅率不安定波の振動数である．この場合には，定常ジェット分断に関連した全ての波が振動数Ωに同期している．前述の波はこの条件を満足し，Ｓ位置が $\Delta u/V > \sqrt{2}$ まで侵入する大きな噴射速度 Uにおいても，長距離分断モードの定常分断状態での自己不安定化ループを構成できる．

4.4.2 の局所解析結果を利用し，III 波と IV 波の振幅 ε の時空発展を一般的に解析した．速度分布緩和域を下流に移動する際に生じる波要素の振幅 ε の変化は，次式に支配されることが分かった．

$$\frac{\partial \ln \varepsilon}{\partial t} = -2c_r \frac{\partial \ln \varepsilon}{\partial x} + \left[\frac{2(ka)^2}{(ka)^2 - 1 + (\Delta u/V)^2/2} - 1 \right] \frac{\partial c_r}{\partial x} - \frac{c_r(\Delta u/V)}{(ka)^2 - 1 + (\Delta u/V)^2/2} \frac{\partial \Delta u}{\partial x}. \qquad (17)$$

これより次のことがわかった．（１）$(ka)^2\text{-}1+(\Delta u/V)^2/2 > 0$ の 領域（一様速度域近くの$\Delta u/V = 1$ となる位置を含む）における III 波 と IV 波の挙動は，$(ka)^2\text{-}1+(\Delta u/V)^2/2 < 0$ の領域（大きな噴射速度のときのノズル出口近傍）の挙動と逆になる．これにより，噴射速度が大きいとき、ノイズ概念で考えられているような事柄は，自然なノズルジェット分断では起きえないことが証明できた[8]．（２） Ｓ位置で直接作られる不安定波，あるいは III 波の伸長だけがジェットの分断を引き起こす最大増幅率不安定波になりえる．

4.4.5 長距離分断モードの表面張力波のコヒーレント構造

a = 0.4 mm-ℓ = 120 mm のノズルを用い U/V = 1.61 で行ったＣタイプ実験の結果を用い，噴射開始から長距離分断モードの定常分断状態に至るまでの過程を詳しく調べた．図 4-22 に，4000fpm で撮影した画像 3750~ 6999 の極大点軌跡図を縦にして並べてある．分離した最後の図は最終的な定常分断状態を示す．平行な極大点軌跡線として不安定波要素がとらえられている箇所は一様速度域である．最初，瞬間噴射速度はゼロから $U/V = 1.61$ まで上がる．この段階では，噴射液はノズル端面に付着した液体塊になる．最初の分離した極大点軌跡図（画像番号 2500 ～ 2749）の太赤線は，この液塊の先端位置の軌跡を表す，その上流に極大点軌跡が一つ現れ，緩やかに変形するのは液塊が小球から大球になっていく過程を表す．噴射速度は既に目標値に達しているので，図に見える極大点軌跡の変化は全て一定噴射速度 U/V = 1.61

の下で起きているものである．参考のために，先端収縮波と不安定波の位相速度の向きに引いた細青直線と細赤実線が記入してある．噴射液の乱れが作りえる極大点軌跡はどこにも見当たらない．

4.4.5.1. 自由ジェット形成期間

ジェットができる過程でも興味ある物理がいろいろ発見できたが省略する．

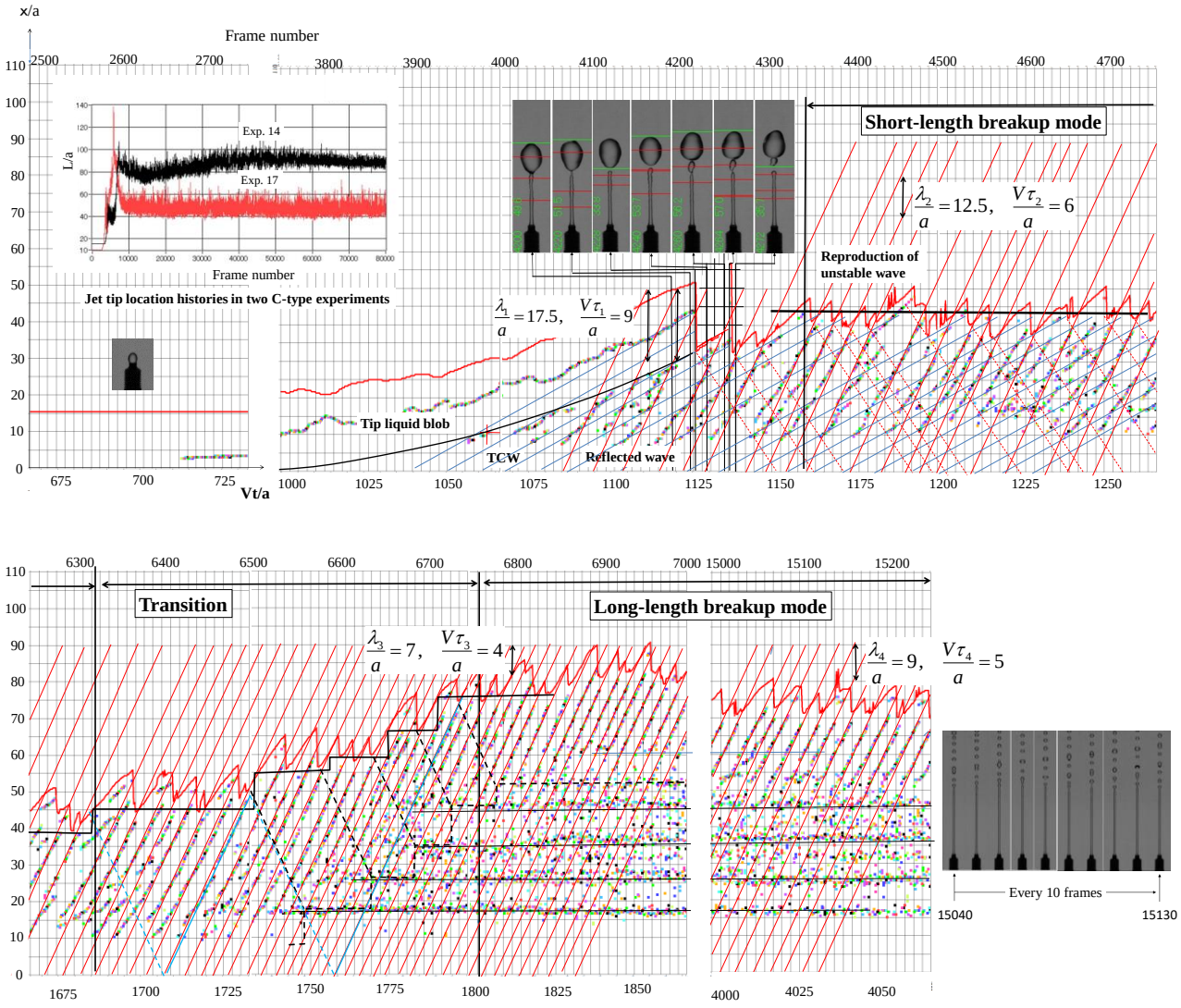


図 4-22　a = 0.4 mm-ℓ = 120 mm ノズルジェット U/V = 1.61 C タイプ実験の極大点軌跡図

4.4.5.2. 短距離分断モード期間

この実験例では，一旦短距離分断モードに落ち着こうとしている．短距離分断モードの自己不安定化機構は既に述べているので，これも説明を省略する．

4.4.5.3. 過渡期間

ここで起きている現象が一番興味深く,その極大点軌跡図が得られたことが本宇宙実験の一番の収穫であったと思っている．

自己不安定機構では，ジェットの分断とジェットに形成されいる表面張力波系が上手く同期して，定常分断状態に落ち着く．一旦は、短距離分断モードの定常状態に落ち着くかに見えても，過去のジェットの分断歴史の積み重ねで先端液塊の局所的不安定化が遅れると，ジェットが長くなる．すると，振動数の高い（波長の短い）反射不安定波（振幅は小さいが）が増幅して II 波を上流に作り，噴口近くの S 位置で同じ不安定波を再生する機会が得られる．図 4-21 で過渡期を考えるときには，所与の噴射速度に対する太実線に基づいて不安定波の再

生を果たすS位置を考える必要がある．U/V = 1.61 の太実線において，短距離分断モードからの遷移で最初に機能するS位置は噴口近く（A）である．このとき再生される不安定波は波長が長く最大増幅率不安定波になっていないので，次にジェットが長くなる機会が訪れると振動数の高い不安定波の自己再生に移り，S位置が下流（B）に移動する．ジェットを分断する不安定波の振動数の上昇と共にジェットが長くなり，不安定波の非線形増幅による不安定波の再生機構が支配的になる過程は，最大増幅率不安定波が一様速度域でジェットを分断し，同じ不安定波を再生するループが確立するまで繰り返される．この期間が画像 6325~6765 であり，この期間に無次元ジェット長が約 35 長くなっている．これは U/V = 1.61 のオリフィスジェット（短距離分断モードと同じ現象が起きている）の平均ジェット長に対応した短距離分断モードから長距離分断モードへの遷移をよく表現している．

興味深いのは，ジェットの分断距離の増大が階段状に起きている点である．対応して，時間遅れでジェットの分断に関与する不安定波ができる位置も階段状に変化している．その上流には下流方向に移動する波を表す極大点軌跡はないから，その位置が下流にある不安定波を再生するS位置でなければいけない．S位置の移動は時間的に連続的にスムースに起きることはできない．不安定波の再生機構が有効に働くのは、S位置が固定されているか，あるいは，不安定波の波長に対応する距離移動し，同期した複数の不安定波要素があり位相混合を免れる場合である．従って，過渡期では，S位置はある一定距離下流に移動しなければならない．このことは図 4-21 に戻って考えればわかる．実際，図 4-21 の太実線は線形式 $\omega a/V = -A\Delta u/V+B$,で近似でき，係数 A は O(1)の値を取る．よって，再生不安定波の振動数 $\omega=\Omega$ の変化によって引き起こされるS位置の下流変位は $\mathrm{d}(\omega a/V) = -A\mathrm{d}(\Delta u/V)$を使って見積もれる．式 (13) を代入すると $\mathrm{d}(x/a)/\ \mathrm{d}(\omega a/V) = [1.5341\mathrm{X}25.572A(U/V)/Re_{\mathrm{d}}]^{-1}\ \exp[25.572X]$となり，わずかな Ω の変化でも大きなS位置の変化が引き起こされることが知れる．

4.4.5.4. 長距離分断モード期間

最終的に落ちついた長距離分断モードでは，ジェットの分断とジェットに形成された波動系が同期した定常分断状態に近いものになっている．一様速度域に見える不安定波は最大増幅率不安定波である．U/V = 1.61 では，この不安定波ができる位置は式 (16)より $\Delta u/U$ = 0.384 となり，式(13)より x/a = 40.98 であることがわかる．この位置は，一様速度域で増幅している不安定波の極大点軌跡の上流端に一致する．このS位置は $\Delta u/V$ = 1 の下流にあるので，一様速度域での不安定波の非線形増幅によって作られた II 波がS位置で作る表面振動によって直接不安定波ができていることがわかる．S位置の上流には上・下流に移動する波を表す極大点軌跡は全く現れていない．しかし，代わりに，過渡期間にできたS位置がそのままとどまる形で水平に平行な極大点軌跡線が現れている．これは長距離距分断モードにある他のノズルジェットでも同様であった．平行な極大点軌跡線は何を表しているのであろうか？図 4-6 に見るように，ジェットの分断位置が一定な長いジェットでは過去の先端収縮により放射される素分散波は上流に定在波を形成する．また，一様速度域での不安定波の非線形増幅で作られる上流伝播波は不安定波の振動数に一致した同期波だけではない．ハーモニックスも作られるので，素分散波で見れば様々な素分散波がノズル出口までジェット上に存在する．その中で重ね合わせによって位相混合を起こさない波要素だけが波として観察されるのであるから，極大点軌跡図に見える規則的な平行線は，ジェットの分断周期に一致した素分散波が残って作られたものと考えられる．そうであれば，この規則的な図形が極大点軌跡図に現れるのも，自己不安定化機構が機能している証しであると考えられる．

4.5 サクセスクライテリアの評価

以上の成果から，サクセスクライテリアに対する達成度を以下のとおりまとめる．

	サクセスクライテリア	達成度

Minimum Success	重力下の実験室実験との相違を明示し，噴射の分断長が,過去の噴射履歴に依存することを無重力実験で示せること.	◎：高度に達成 噴射液の分断長が過去の分断履歴に依存することを実証する貴重なデータがＡタイプ実験で得られた.実験室実験では重力も不安定波を作るので、この確認が困難であった.
Full Success	噴射の分断特性(分断長,分断液塊サイズ，分断波長，分断周期)が、「実験提案者により提案された微粒化メカニズム(自己不安定性による分断機構)」に基づいて,完全に説明できること. (ミニマムサクセスを前提条件とする)	◎：高度に達成 本宇宙実験で得られた極大点軌跡図はそれぞれのジェットの分断に関与する波の起源と変化の過程を表現しており,自己不安定機構の物理を満足に解明できた.また、分散波の理論の構築により定量的評価が可能なった.
Extra Success	ノズル流れの乱流遷移が分断特性に及ぼす影響を明らかにできること.(地上実験を前提条件とする)	◎：高度に達成 噴射液の乱流が短距離分断を起こしていると考えられてきたが,予想通り,ノズル内部の乱流化により噴射液の速度分布がオリフィスジェットに近づくことにより，オリフィスと同様の短い分断距離に移っているに過ぎないことが極大点軌跡図で実証された.

５．結言

ISS・きぼう利用ミッション Atomization「落下実験から生まれ新しい微粒化概念の詳細検証～乱流微粒化シミュレータの構築を目指し～」により以下の成果が得られた.

(1) 軌道上で取得した映像から導出した極大点軌跡図は,ジェットの先端収縮により放射される分散波が作る波の挙動をよく表現しており，提案した新しい微粒化概念の妥当性を実証するものであった.

(2) オリフィスジェット(ジェットのプロトタイプ)に対し,分散波の理論を構築し自己不安定化機構の物理を完全に説明しきった.

(3) ノズルジェットに自然に不安定波ができるのは、速度分布緩和域内に上流伝播波の転向点が生じるからである.分散波の理論と極大点軌跡図を活用して、ノズルジェットの自己不安定化ループを具体的に同定した.

(4) 長いノズルを用いた本宇宙実験により,自己不安定化機構が作るコヒーレントな波構造の存在が初めてわかり,その物理を解明した.

(5) 決定論的な微粒化像が確定したことより,乱流微粒化シミュレータの構築に挑戦した.ＬＥＳで高速噴射液の乱流微粒化過程を記述するサブグリッドモデル（事前実験による調整パラメータを一切含まない)の構築に世界で初めて成功し,当初に目指した本研究の社会還元を果たした.

【参考文献】

[1] **L. Rayleigh**, On the instability of jets, *Proc. Lond. Math. Soc.* **10** (1878) 4-13.

[2] **A.Umemura,** Self-destabilizing mechanism of a laminar inviscid liquid jet issing from a circular nozzle, *Phys.Rev.* **E83** (2011) 046307.
[3] **A. Umemura, S. Kawanabe, S. Suzuki,J. Osaka**, Two-valued breakup length of a water jet issuing from a finite-length nozzle under normal gravity, *Phys. Rev.* **E84** (2011) 036309.
[4] **A. Umemura**, Turbulent atomization subgrid model for two-phase flow large eddy simulation (theoretical development), *Combust. Flame* **165** (2016) 154-176.
[5] **A. Umemura, J. Shinjo**, Detailed SGS atomization model and its implementation to two-phase flow LES, *Combust. Flame* **195** (2018) 232-252.
[6] **J. Shinjo, A. Umemura**, Fluid dynamic and autoignition characteristics of early fuel sprays using hybrid atomization LES, *Combust. Flame* **203** (2019) 313-333.
[7] **J. Shinjo, A. Umemura,** Simulation of kiquid jet primary breakup: dynamics of ligament and droplet formation, *Int. J. Multiphase. Flow* **36** (2010) 513-532.
[8] **A. Umemura, J. Osaka, J. Shinjo, Y. Nakamura, S. Matsumoto, M. Kikuchi, T. Taguchi, H. Okuma, T. Dokojima, T. Shimaoka, T. Sone, H. Nakagami, W. Ono**, Coherent capillary wave structure revealed by ISS experiments for spontaneous nozzle jet disintegration, *Microgravity Sci. Technol.* **32** (2020) 369-397.
[9] **A. Umemura**, Self-destabilizing loop of a low-speed water jet emanating from an orifice in microgravity, *J. Fluid Mech.* **797** (2016) 146-180.
[10] **A. Umemura, J. Osaka**, Self-destabilizing loop observed in a jetting-to-dripping transition, *J. Fluid Mech.* **752** (2014) 184-218.

成果リスト

1. 原著論文

[1] **梅村章・川那辺翔・小鹿仁史・陳峰・新城淳史**, 低速噴射水分裂の微小重力実験から得られた知見（第 1 報：特徴的な現象の抽出と詳細理解）, *日本航空宇宙学会論文集* **58**, (2010) 15-23.

[2] **梅村章・川那辺翔・小鹿仁史・陳峰・新城淳史**, 低速噴射水分裂の微小重力実験から得られた知見（第 2 報：重力の効果と分断距離の決定機構）, *日本航空宇宙学会論文集* **58**, (2010) 245-253.

[3] **J.Shinjo, A.Umemura,** Simulation of liquid jet primary breakup: dynamics of ligament and droplet formation, *Int.J. Multiphase Flow* **36**, (2010) 513-532.

[4] **A.Umemura**, Self-destabilizing mechanism of a laminar inviscid liquid jet issuing from a circular nozzle, *Phys. Rev. E*, **83**, (2011) 046307.

[5] **A.Umemura, S.Kawanabe, S.Suzuki, J.Osaka,** Two-valued breakup length of a laminar water jet issuing from a finite-length nozzle under normal gravity, *Phys. Rev. E*, **84**, (2011) 036309.

[6] **J.Shinjo, A.Umemura**, Detailed simulation of primary atomization mechanism in Diesel jet spray (Isolated identification of liquid jet tip effects), *Proc. Combust. Inst.* **33**, (2011) 2089-2097.

[7] **J.Shinjo, A.Umemura**, Surface instability and primary atomization characteristics of straight liquid jet sprays, *Int. J. Multiphase Flow* **37**, (2011) 1294-1304.

[8] **J.Shinjo, A.Umemura**, Droplet/turbulence interaction and early flame kernel development in an autoigniting realistic dense spray, *Proc. Combust. Inst.* **34**, (2013) 1553-1560.

[9] **L, Yikai, A.Umemura**, Two-dimensional numerical investigation on the dynamics of ligament formation from vertically vibrating liquid layer, *Int. J. Multiphase Flow* **60**,(2014) 64-75.

[10] **大坂淳・梅村章・大澤洋介・鵜生知輝**, オリフィス噴孔から噴射される低速噴射液上に形成される波構造の研究, *Int. J. Microgravity Sci. Appl.* **31**,(2014) 17-25.

[11] **A.Umemura, J. Osaka**, Self-destabilizing loop observed in a jetting-to-dripping transition, *J.*

Fluid Mech. **752**,(2014) 184-218.

[12] A. Umemura, Model for the initiation of atomization in a high-speed laminar liquid jet, *J. Fluid Mech.* **757**,(2014) 665-700.

[13] L. Yikai, A. Umemura, Threshold condition for spray formation by Faraday instability, *J, Fluid Mech.* **759**, (2014) 73-103.

[14] L. Yikai, A. Umemura, Numerical study on the jet formation due to Rayleigh-Taylor instability, *JJAP* **53**,(2014) 11030.

[15] J. Shinjo, J. Xia, A. Umemura, Droplet/ligament modulation of local small-scale turbulence and scalar mixing, *Proc. Combust. Inst.* **34**, (2015) 1595-1602.

[16] A. Umemura, Turbulent atomization subgrid model for two-phase flow large eddy simulation (theoretical development), *Combust. Flame*, **165** (2016) 154-176.

[17] A.Umemura, Self-destabilizing loop of a low-speed water jet emanating from an orifice in microgravity, *J. Fluid Mech.* **797**, (2016) 146-180.

[18] A.Umemura, J. Shinjo, Detailed SGS atomization model and its implementation to two-phase flow LES, *Combust. Flame* **195**, (2018) 232-252.

[19] J. Shinjo, A. Umemura, Fluid dynamic and autoignition characteristics of early fuel sprays using hybrid atomization LES, *Combust. Flame* **203**, (2019) 313-333.

[20] A. Umemura, J. Osaka, J. Shinjo, Y. Nakamura, S. Matsumoto, M. Kikuchi, T. Taguchi, H. Ohkuma, T. Dohkojima, T. Shimaoka, T. Sone, H. Nakagami, W. Ono , Coherent capillary wave structure revealed by ISS experiments for spontaneous nozzle jet disintegration, *Microgravity Sci. Technol.* **32** (2020) 369-397.

2. 口頭発表

題目	会合名	開催年	発表者
現行の噴霧燃焼シミュレータは正しいだろうか？（招待講演）	第１９回続可能な社会のためのエンジン技術研究会	2010	梅村章（名大）
液体ジェットの分断過程に及ぼす速度分布の影響	第 48 回燃焼シンポジウム	2010	鈴木創介（名大）
Characterization of primary atomization mechanism of straight liquid jets	63rd Annual Meeting of the APS Division of Fluid Dynamics	2010	新城淳史(JAXA)
Primary Atomization Characteristics of Diesel Fuel Sprays	8th Asia Pacific Conference on Combustion	2010	新城淳史(JAXA)
噴射液の不思議を解く	第 27 回宇宙利用シンポジウム	2011	梅村章（名大）
A new approach to turbulent atomization and spray combustion （Invited Lecture)	1st International Conference on Group Combustion of Droplets and Sprays	2011	梅村章（名大）
液体ジェットの分断過程に及ぼす噴射ノズルの影響	第 49 回燃焼シンポジウム	2011	鈴木雄貴（名大）
液体燃料噴霧形成の詳細数値解析およびエンジン燃焼への展開	日本混相流学会年会講演会	2011	新城淳史（名大）
Atomization of a Diesel fuel liquid jet	64th Annual Meeting of the APS Division of Fluid Dynamics	2011	新城淳史(JAXA)
高速液体燃料ジェットの表面不安定性と微粒化	第 20 回微粒化シンポジウム	2011	新城淳史(JAXA)
噴射液の微粒化に関し分かったこと(招待講演)	第 11 回微粒化研究会	2012	梅村章（名大）
同軸円形噴流におけるノズル近傍の気液界面挙動の研究	第 50 回燃焼シンポジウム	2012	伊藤岬（名大）
通常重力下及び微小重力下における液体水噴射液の分断に関する研究	第 50 回燃焼シンポジウム	2012	鈴木雄貴（名大）
液体燃料噴霧の自着火初期挙動の詳細解析	第 44 回流体力学講演会／航空宇宙数値シミュレーション技術シンポジウム 2012	2012	新城淳史(JAXA)
液体燃料の自着火噴霧内の群燃焼形態形成の詳細数値解析	日本混相流学会年会講演会	2012	新城淳史(JAXA)
液体燃料噴霧における乱流微粒化・ 蒸発混合・初期着火現象	東京大学ロケットシミュレーション講座シンポジウム	2012	新城淳史(JAXA)
詳細数値解析のアプローチによる噴霧形成および初期蒸発反応過程の解明	第 40 回ガスタービン学会定期講演会	2012	新城淳史(JAXA)
Droplet evaporation and vapor mixing characteristics in a high-speed liquid jet spray	65th Annual Meeting of the APS Division of Fluid Dynamics	2012	新城淳史(JAXA)
Towards a new paradigm of spray combustion research (Invited lecture)	9th Asia-Pacific Conference on Combustion	2013	梅村章（名産研）
液体燃料噴霧のノズル直下の微粒化・乱流混合特性に関する解析	第 45 回流体力学講演会／航空宇宙数値シミュレーション技術シンポジウム 2013	2013	新城淳史(JAXA)
宇宙実験による新しい微粒化概念の詳細検証	ＪＡＳＭＡＣ－２７	2013	梅村章（名産研）
JEM 搭載微粒化観察装置の開発状況	ＪＡＳＭＡＣ－２７	2013	瀬良暁雄（千代田化工）
The Development of Hardware for the Atomization Experiment in Microgravity on Kibo	31st ISTS	2017	田口竜也(JAXA)
The Status of Preparation for the Atomization Experiment under Microgravity in Kibo	IAC 2018	2018	道小島友和(JAXA)

3．受賞

表彰の名称	表彰者	表彰年月日	受賞者	受賞案件名
第 49 回流体力学講演会/第３５回航空宇宙数値シミュレーションシンポジウム最優秀賞	ＪＡＸＡ	2017/6/30	新城淳史・梅村章	実験によるパラメータチューニングを必要としない新しい乱流噴霧ハイブリッド LES コードの開発
日本燃焼学会論文賞	日本燃焼学会	2019/11/21	新城淳史・梅村章	Fluid dynamic and autoignition characteristics of early fuel sprays using hybrid atomization LES

４．きぼう利用の取り組みに関連して獲得した競争的資金・補助金等

競争的資金・補助金等の名称	担当府省・機関	研究課題名	代表研究者名	研究期間
科学研究費補助金（基盤研究（A））	文部科学省	新しい微粒化概念に基づく液体ロケットエンジン用微粒化シミュレータの開発	梅村章	H21～25
平成 24 年度 HPCI システム利用研究課題・「京」一般利用（条件付き選定）	文部科学省	高速噴射実形態噴霧の乱流微粒化・噴霧燃焼の解明	新城淳史	H24～25
科学研究費補助金（基盤研究（B））	文部科学省	ISS 実験研究成果の社会還元のための噴霧シミュレータ開発と噴霧物理解明	新城淳史	H29～R1

５．これから発表する予定の成果に関して

発表予定先	発表予定時期	発表予定内容	主著者
38th International Symposium on Combustion (Invited lecture)	2020	A new LES approach to trans-critical mixing and combustion processes in high-pressure liquid-injectant engines	A.Umemura

2020年度 ISS・きぼう利用ミッション科学成果評価結果

落下実験から生まれた新しい微粒化概念の詳細検証
～乱流微粒化シミュレータの構築を目指し～
(Atomization)

代表研究者：梅村 章（名古屋大学）

総合評価

A: 目標を充分に達成した(フルサクセス相当)

ノズル噴射液柱（液糸）の分断、不安定化をISSを用いた微小重力下で実施することによって、噴霧化現象は、代表者らが提案した、乱流が液糸の微粒化を決定するという理論モデルで説明できることを実証したことは高く評価できる。論文公表などを通してISSでの成果を広く積極的にアピールすることを期待する。

今後は、液滴燃焼に留まらず、インクジェットや創薬など他分野に関わる基礎・応用何れにも適用することによって、さらに大きなインパクトのある成果が得られるようになることを期待する。

2020年6月

きぼう利用テーマ選考評価委員会（物質・物理科学分野）

ISS・きぼう利用ミッション
「落下実験から生まれた新しい微粒化概念の詳細検証
～乱流微粒化シミュレータの構築を目指し～」(Atomization)
研究成果概要書

代表研究者：梅村　章（名古屋産業科学研究所・名古屋大学名誉教授）

2020 年 1 月

噴射液の微粒化は，広範な分野（工学，化学，薬学，農学）で利用されている技術である.特に，航空宇宙分野では，ターボジェットエンジンやロケットエンジンに代表されるように，液体の微粒化が高速燃焼を実現させる基幹技術であり，微粒化特性が燃焼性能を決定する.全ての液滴は，液柱から分裂してできるから，乱流ないしは流体力学的な不安定性により高速噴射液の表面から突き出してできる細い液柱（液糸）もジェットと同じである．本宇宙実験の水ジェットは，このように考えたときの液糸に対応するものであり，噴射器は高速噴射液の表面から液体を外側に吹き出し液糸を作る乱流ないしは流体力学的な不安定性の機能を代表する．

液糸分断の研究は，レーリー卿による無重力下での非粘性液体プラグ流ジェットに対する開拓的論文(1878 年)の発表以来の長い歴史を持つ．従来の微粒化理論の問題点は，噴射器内で生成された乱れがジェットを分断する不安定波を作るとする「ノイズ概念」に立脚している点にある．自然なジェットの分断では，ノイズは未知量になるから，それぞれの場合に対して実験で調べないと，どこで分断が起きるか知ることができなくなってしまう．

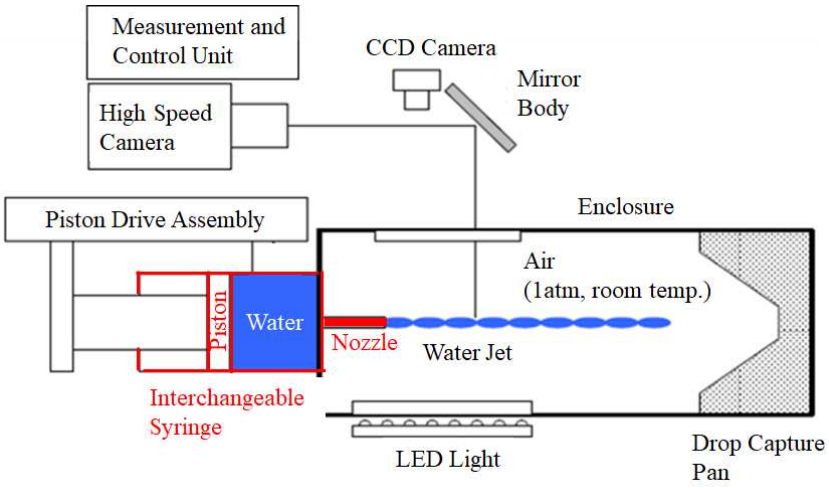


図 1　宇宙実験装置模式図

落下塔実験での液体ジェットの不安定性の観察に基づき，どの層流液体ジェットでもジェットに作られる自己不安定化ループによって自然に分断できる自己不安定化機構説を提唱した．この提唱は，ジェット先端の収縮あるいは不安定波の非線形増幅によって解放される表面エネルギーの一部が，上流伝播表面張力波の形で上流に伝えられ，新たに噴出される液体の表面を変形させる事実に基づいている．我々は以前に実験室実験の可視化により，上流伝播表面張力波が重力加速する噴射液では伸長されてジェットを分断する不安定波に転換する過程を実証した．放物型速度分布を持って噴射されるノズルジェットでは,速度分布緩和の過程において表面速度が零から噴射速度まで増大するため,実験室実験のジェットと似た自己不安定化ループができる．そのため,重力の効果を除去しないと，ノズルジェットに固有な自己不安定化ループを同定することができない．これが本宇宙実験で，特に半径 0.4mm,長さ 120 ㎜の長いノズルから大気中に噴射した水ジェットの表面変形を詳しく調べた理由である．比較のため，オリ

フィスジェットの実験も実施したが，これは正にレーリー卿が解析対象にしたジェットである．

予想通り，ノズルジェットでは，ある噴射速度範囲において２個の分断距離を持つことが示され，著しい履歴現象が現れたことより，ジェットの分断は過去の分断状態の歴史によって決まる（因果律を踏んでいる）ことが実証された．高速度撮影ビデオ画像の処理により，上流伝播表面張力波の動きの追跡に成功した．短距離分断モードは，基本的にオリフィスジェットと同じ自己不安定機構に従っていることが確認された．ジェットの先端収縮よって作られた上流伝播表面張力波が噴口に達し，そこで反射しドップラーシフトにより波長が伸びて作られた不安定波が，先端収縮により液体が蓄積されできる先端液塊の分断のタイミングを定める形で噴射速度に対応した分断距離を定めていることが判明した．長距離分断モードでは，速度分布緩和域がオリフィスと等価な役割を果たし，平均ジェット長は速度分布緩和域長とオリフィスジェット長の和として表せることが確認できた．実際，画像解析結果は，速度緩和域末端近くに表面張力波の共鳴点の存在を明示しており，大きな噴射速度では，一様速度域（オリフィスジェットと同じ）の不安定波の非線形増幅により作られた波長の短い同期上流伝播表面張力波は，共鳴点に到達すると，ノズルジェットが持つ速度分布の性で，それ以上上流には伝わることができず，上流から流れてくる処女液の表面を周期的に変動させ，元の不安定波と同じ振動数を持った不安定波を再生させることが実証できた．従って，同じ分断を繰り返すことができ，長距離分断モードの定常分断状態では興味深いコヒーレントな表面張力波構造が生成されることも判明した．この波構造の物理を完全に説明するために分散波の理論を展開し，ノズルジェットでは仮に噴射液に微小振幅の乱れが含まれていても，それがジェットを分断する不安定波を作ることはあり得ないことを数理的に証明した．

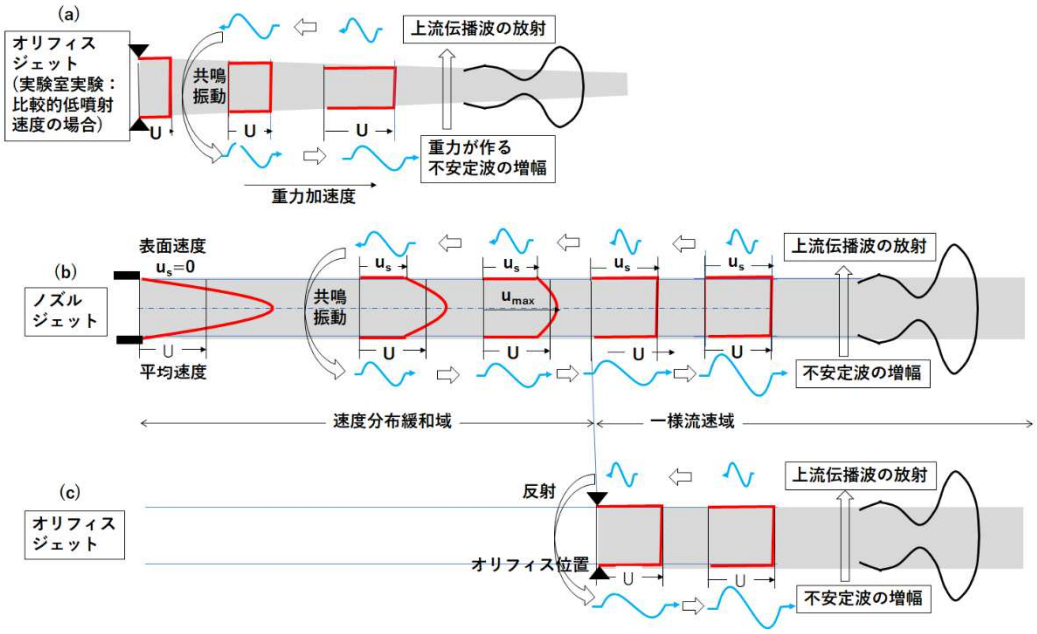


図２　基礎流の流速分布と自己不安定化機構の模式説明図

このように本宇宙実験は，高速乱流噴射液の表面にできる液糸に対しても決定論的に自然に分断し噴霧が生成されることを示している．それで，乱流理論と組み合わせ，ディーゼル噴霧生成過程を合理的に模擬する乱流微粒化ＬＥＳシミュレータを開発した．これは，実験により調整するパラーメータを一切含んでおらず，噴射条件が与えられれば，その後のジェットの表面からの噴霧生成が自然に計算できる世界で初めて開発された画期的なシミュレータである．

Summary report of the ISS-Kibo utilization mission

"Detailed validation of our new atomization concept derived from drop tower experiments ~Aimed at developing a turbulent atomization simulator~" (Atomization)

Principal Investigator; Akira Umemura（Nagoya Industrial Science Research Institute, Emeritus Professor of Nagoya University）

Jan., 2020

Liquid jet atomization is a technology utilized in various fields. In particular, in aerospace industries, it is a key technology which determines the performance of high-speed combustion in gas turbine and liquid rocket engines. All liquid droplets are produced by disintegration of a liquid column. A water jet issued into atmospheric air in the present ISS experiment (see Fig.) represents each fine liquid ligament extending from a high-speed liquid jet surface, and an injector of the experiment plays the same function as the turbulence or hydrodynamic instability which produces this liquid ligament.

The study of liquid jet atomization has a long history since the pioneering work of Rayleigh (1878) for an inviscid liquid plug flow jet under no gravity. A serious problem of convetional atomization theories is the noise concept that small flow fluctuations generated within the injector produce an unstable wave responsible for jet disintegration. For spontaneous jet disintegration, this means that we can not know where the jet disintegrates unless we examine it experimentally case by case.

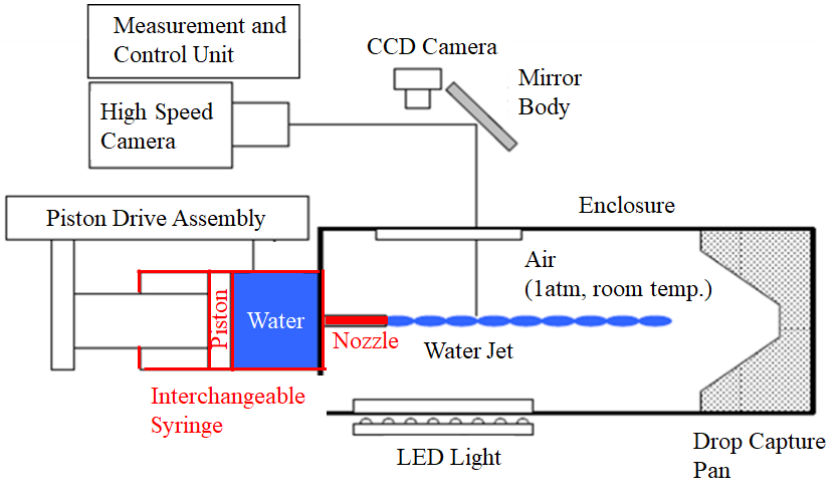


Fig. 1　Schematic of ISS experimental configuration

Based on our observation of liquid jet instability in drop-tower experiments, we proposed that any laminar liquid jet can spontaneously disintegrate by its own self-destabilizing loop formed along the jet. This proposal is based on the fact that part of the surface energy released by jet tip contraction or nonlinear unstable wave growth is transferred upstream as an upstream propagating capillary wave which deforms the newly issued liquid surface. We previously demonstrated, in a laboratory experiment, that gravitational jet acceleration can change the upstream propagating capillary wave to an unstable wave responsible for jet disintegration (see Fig.2). A nozzle jet issued with a parabolic velocity profile increases its surface velocity from zero to the jet issue speed in its velocity profile relaxation process. Therefore, a self-destabilizing loop similar to that of a gravitationally accelerating jet may function in nozzle jets. The removal of gravity effect is indispensable to experimentally identify the self-destabilizing loop intrinsic to the nozzle jet. This is why, in the present ISS experiments, we especially examined the surface deformation of a water jet issued from a long nozzle of radius 0.4 mm and length 120 mm in detail. For comparison, we also conducted orifice jet

experiments, which are the correct jets treated in Rayleigh's analysis.

As predicted in our proposal, the nozzle jet had a two-valued breakup distance in a certain jet issue speed range and exhibited significant hysteresis behaviors, indicating that the jet disintegration state is determined by the past jet disintegration history (following causuality). We suceeded in tracking the movement of each upstream propagating capillary wave by processing high-speed viedo images. The short-length breakup mode was confirmed to essentially follow the same self-destabilizing mechanism as that of the plug flow jet, in which the upstream propagating capillary wave produced by the jet tip contraction is reflected at the nozzle exit, and becomes an unstable wave which determines the timing of jet disintegration coupleted with the local destabilization of jet tip blob, i.e., a body of water accumulated by the jet tip contraction. In the long-length breakup mode, the velocity profile relaxation plays a role equivalent to an orifice and the average nozzle jet length is expressed as the sum of the velocity profile relaxation length and average orifice jet length at large jet issue speeds. In fact, the image analyses clearly indicated the existence of a resonant location near the end of velocity profile relaxation region. The synchronized upstream propagating capillary wave produced by the nonlinear unstable wave growth in the uniform velocity region cannot travel further upstream byond the resonant location due the velcity profile of the nozzle jet there. Therefore, the amplified upstream propagating capillary wave deforms the surface of virgin liquid jet cyclically and reprodices the same unstable wave there by dopper-shift effect. Thus, the same jet disintegration can be repeated in the nozzle jet. Interestingly, the ISS experiments also revealed a coherent capillary wave structure establised in the steady jet disintegration state of long-length breakup mode. To explain its underlying physics fully, we developed a new theory of dispersive wave, and it was theoretically proven that, even if the isseed water contained small fluctuations considered in the noise concept, these fluctuations cannot produce the unstable wave responsible for jet disintegration. .

The ISS experiments indicate that liquid ligaments formed from the turbunent jet surfaces can disintergrate to fine droplets in a terministic way. Combing with a turbulence theory, we could successfully develove a turbulent atomization LES simulator for Diesel spray formation. This is a simulator having no experimentally tunning parameters, developed for the first time in the world and it works for any turbulent jet flow.

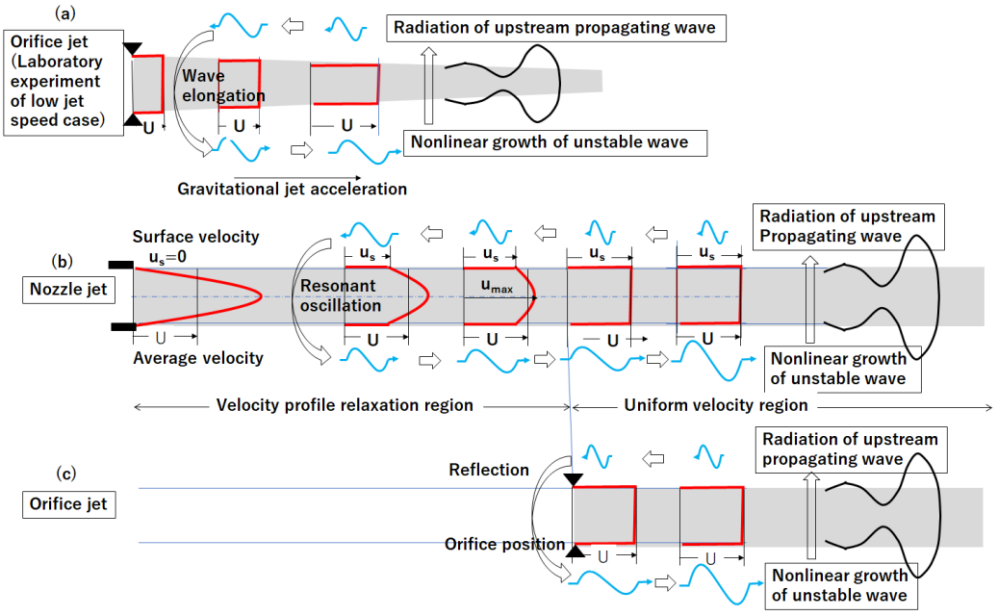


Fig. 2 Schematical explanation of relationship between jet types and their self-destabilizing mechanisms