

## 《報告》

## 良い研究、良い論文をつくるために (FD資料として)

太田 美智男

梶山女学園大学看護学部

## 要 旨

本報告はFD資料として若手教員などを対象に、(A)どのように研究を行うか、(B)科研費申請のポイント、(C)バイオ実験研究の方法、についてまとめた。(A)では研究をどのように立案し進めていくか、さらに発表の方法について説明した。(B)では文科省科学研究費取得のための申請における注意点などを簡単にまとめた。(C)では看護系教員にはあまりなじみがないバイオ実験研究について、材料入手から進め方や方法を概説した。

考えてみれば科学研究のあらゆる分野において、研究の進め方については指導者である教授などから大学院生などへの徒弟制度的やり方で知識が伝達されてきたのである。したがってそれぞれの師弟関係で研究の進め方が異なり、教えられる知識もまた異なっていた。客観性および普遍性を目指す科学の世界においてこのようなことは実に不思議なことであり、科学研究の発展を時には阻害する要因ともなるのではないだろうか。

キーワード：研究，科研費申請，バイオ実験研究，研究発表

## (A) どのように研究を行うか

## 1. 研究分野

研究分野はそれぞれの教員の専門分野の範囲からある程度絞り込むことができる。専門分野からかけ離れた研究を行っても、評価されないことが多い。例えば、医学部の教員が新しい半導体を開発しても医学部では評価されない。また研究の分野によって簡単に研究できる分野と難しい分野がある。

遺伝子組み換え実験はP2レベルの実験室が必要だが、その設備が看護学部には無い。また動物実験を行うためには動物愛護法ならびにカルタヘナ条約で定められた基準の設備を持つ動物飼育施設が必要だが、看護学部でその施設を持つことは難しい。

また研究のフィールドの関係で出来ないこともある。研究のフィールドを持つことは、付属病院を持たない看護学部ではかなり困難を伴う。市中病院や老健などは、それぞれの施設が医療や介護の現場であり研究を目的としていないために、本当にその施設にとって役に立つ研究について協力を依頼することが必要である。研究のための研究に施設を使うべきではない。

## 2. 研究テーマの選び方

日本では伝統的に指導者(上司)から研究テーマを与えてもらうことが多い。そのテーマが魅力的で実行可能ならば問題ないが、それほど魅力的ではなかったり研究を実施することに困難を伴

う場合も多いので、研究をスタートさせた後からでも指導者と常にその点について遠慮無くディスカッションが必要である。

研究テーマを自分で考える場合、自分の専門分野の範囲の研究テーマを行うのが基本である。自分で研究テーマを決める場合、研究を行うに際し指導者からの多大な支援は期待できないことが多い。テーマは日頃の疑問などを基に考える。あるいは学生、院生のときに指導を受けたテーマを発展させるようなテーマにする。しかしそのようなテーマはやり尽くされていることが多い。また指導者を超えられない。高い評価を受けている指導者に指導を受けることができれば、高いレベルの研究成果が得られる可能性が高くなる。例えばノーベル賞受賞者の弟子はノーベル賞をとりやすいなどである。

研究テーマは一つだけより、複数持つ方がいい。すでに発表された興味ある論文を読んで、追試してみるのもいい。そうすればどこかに違う結果や結論が出てきたり、さらに発展させるようなテーマが見つかることがある。

実験系の研究では、まず手を動かすことから始まる。考えているだけではなににも始まらない。“文献ばかり読んでないで体を動かせ”

#### 〈参考〉

研究テーマを選ぶとき、その研究によって何が明らかとなるか、それが医療・保健や看護の分野でどのように役立つか、を考える。研究目的、期待される結果を考えてテーマを設定する（これは論文の重要度を決める）。新しい結果や、すでに発表された論文の結果と同じでも重要な結果（例えば子宮頸がんが近年増加しているのは周知だが、2011年には特に増加している、というような結果）が得られれば、論文にして発表する価値がある。少しでも医療に役立つテーマを選びたいものです。

### 3. 論文検索の必要性

研究テーマを考えるときに、medline, pubmed、医中誌などでテーマに関連する文献を徹底的に検索する。もし外国であっても同じ研究がすでに十分行われていたら、そのテーマはあきらめた方がいいでしょう。先行研究を超えることは難しい。

### 4. ディスカッションの必要性

周囲の先生方と研究テーマや方法、さらには得られた結果について大いにディスカッションすることが大切である。時には批判されることも必要。それによって非常に鍛えられて、良い研究を行うことが出来るようになる。米国の大学研究室では毎週複数のセミナーを行いディスカッションしていた。日本人はディスカッションが下手だし、嫌う傾向がある。そのことが日本人研究者の欠点で研究が国際的ににくい原因の一つである。

### 5. 共同研究の勧め

一人で行うよりも共同研究は2倍以上の成果をもたらすことが多い。学部内共同研究、他大学との共同研究、他分野の研究者との共同研究など、人間関係を広げておくことは役に立ちます。特に違う分野の研究者との共同研究はとても有効です。

共同研究を立ち上げる場合に、共同研究者が論文を書ける人だといいいのですが、もしあまり書けない人（例えば市中病院の臨床医）だとせっかく研究した結果が論文にならないこともある。

また、外国の研究者（米国人など）はとても律儀なひとが多いが、まれには騙す人もいるので、その人が信頼できるかどうか一応注意することが必要である。

## 6. 指導者と指導される者の関係

通常は研究指導者が研究テーマ、方法などについて提案をする。また研究の費用、施設や機器、研究のフィールドなどについても指導者が責任を持つことが期待される。したがって良い研究結果が得られるかどうかについても、指導者が責任の多くを負うことになるので結構つらい立場である。良い結果が出なければ論文にならないので、指導される人は指導者に往々にして不満を持つことがあるが、最初に研究テーマを相談するときに指導される人は真剣に意見を述べておくことがそのような不満を少なくする。また研究の過程で絶えず指導者とディスカッションする必要がある。

## 7. 論文著者

筆頭著者（First author）になるのが誰か、予め話し合っておく。連名（2番目以降の著者）での論文も業績になる。指導者は責任著者（Corresponding author）になるので、最後の順番（Last name）でも評価される。もし直接の研究指導者が准教授以下で、教授も指導に加わっているときは、教授を最終著者にして、Corresponding authorは2番目の順番（Second author）にすればいい。後で述べるように、Corresponding author（および教授）は論文について発表内容、掲載料など全ての責任を負う。

## 8. インパクトファクター（IF）と被引用回数（Citation数）

雑誌のランキングをするために米国の会社が考案して、それぞれの雑誌（英文雑誌のみ、フランスでは反発。HIV 発見論文はフランス語雑誌に掲載された）の掲載論文について引用回数を掲載論文数で割った数値をインパクトファクターとした。つまり掲載論文の平均引用回数であり、雑誌のIFは雑誌のランクを示すとされ、ScienceやNatureなどは25点を超える。しかし分野によってIFは異なり、研究者の多い分野（例えば神経学、免疫、細胞生物学、分子生物学など）ではIFが高い雑誌が多い。一方で法医学などではIFは1.5くらいの雑誌がほとんどである。医学系ではIFの数値が人事選考で重要視されるが、工学系ではあまり重要視されない。理由は分野が多く最も権威のある米国化学会雑誌（JACS）でもIFは5点ぐらいで、それほど高くないからである。IFは掲載雑誌のランクを示すが年々変動する。また個々の論文の重要度を示すものではない。個々の論文の価値を示すものとして、被引用回数がある。その論文が何回引用されたかであり、年々数値は増加する。この数値も人事選考に利用されることがある。過去の自分の論文を自分の論文内で引用すればその数値は増加する。ちなみにハーバード大学医学部ではIFよりも論文の内容をより重要視しているそうです。まっとうな正論だと思います。

## 9. 論文掲載料

論文掲載料は雑誌により異なり、学会誌などでは無料が多い。しかし商業誌（といってもScienceなども商業誌）では通常有料で、数万円から15万円ぐらいの掲載料を必要とする。別刷り（リプリント）代は通常は30部ぐらいまでは無料。それを超えるときは別刷り代は有料となる。掲載料については学園の研究費や科研費から支払うことができる。普通は自分で立て替えてから

後での振り込みとなる。もし研究費から支払えないときは、個人が負担するしかないが、それは First author ならびに Corresponding author が負担すべきである。別刷りについては余分な部数は必要ないだろう。昔と異なり現在は著者は優先的に論文の PDF ファイルを入手できるので、必要なら自分でそれをプリントすればよく、余分な別刷りは置き場所をとるだけで結局はゴミ箱行きとなる。なお論文の別刷りは人事の選考などに提出する必要がある。

**英文校正あるいは翻訳料：**英文校正料も First author あるいは Corresponding author が支払うべきでしょう。英文論文は当然として、日本語論文でも英文タイトル、英文抄録を要求される。自分が考えた英文は通常かなり問題があると思ってもいい。したがって Native speaker による英文校正が必要になることが多い。英文校正をしている業者は日本国内にも非常に多いが、質の良い校正をしてくれるところは少ない。大きな業者は値段が高く、小さな業者は値段が安い傾向がある。校正料は元の英文の出来によって差があるが、A4 の 1 ページ (12 ポイント、ダブルスペースの文章) で 2, 3 千円ぐらいからである。英文論文全体で 4, 5 万円ぐらいとなる。米国本国の業者だと、1 ページ 5, 6 千円から 1 万円ぐらいである。ただし、米国人でも専門分野が異なると間違えて校正されるので、注意が必要である。また最初はいい業者と思っても、繁盛するようになると日本人の社員に下請けに出すので、あやしげな校正になる。良い業者は口コミで探すのが一番である。ネットで原稿をやりとりするので 1 週間もあれば校正された原稿が来る。

**英文全体の翻訳：**7, 80 万円から 100 万円ぐらいで日本語の論文全体を英訳してくれる業者もある。かなり良い英文論文になる。一生に 1, 2 度しか英文論文 (学位論文など) をつくらないということなら、このような業者に依頼するのは悪いことではない。むしろ勧めます。しかしせっかく英文にしてもデータが大したことがないとリジェクトされるので、良いデータが出たら英文論文にしましょう。なお、梶山女学園大学では英文全体の翻訳の費用を個人研究費や学園研究費で支払うことが禁止されている。多分文科省の科学研究費でもそういった支出は認められないと思われる。自費で支払うことになるが、それは当然であろう。英語で論文を書くことも研究者の力量の一つという考え方です。

## 10. 英文論文と日本語論文

医学系は英文論文しかほとんど評価しない。しかし看護系は日本語論文も評価される。近年は学位論文については英文論文が発表されていることが要求される大学が増加してきた。(例: 名大保健学科看護専攻、名市大看護学部など) したがって学位指導教授は英語論文を学生の代わりに書けることが望ましい (現実にはそれほど簡単ではないが)。実は日本語論文と英文論文を書く手間は、それほど違わない。看護系の英文誌はそれほど多くないので、学位に関係した論文でなければ日本語論文でいいからどんどん投稿すべきである。ただし看護系日本語雑誌はレビュー (査読) に時間がかかりすぎる (時に半年以上) ようなので、看護系にこだわらず短時間にレビューしてくれる雑誌の方が良い。

**ネットジャーナル：**近年はネットジャーナルといって印刷された雑誌ではなく、インターネット上の雑誌が増加している。メリットとして、査読が早く出版までの時間が早いこと、掲載費用が少ないこと。印刷雑誌と比べて場所をとらないことなどがある。ネットジャーナルも印刷雑誌と評価は同じに考えられている。

## 11. 論文の形式

抄録 (Abstract)、前文 (Introduction)、方法と材料 (Materials and Methods)、結果 (Results)、考察 (Discussion)、引用文献一覧 (References) の構成は日本語論文、英語論文で基本的に同じである。日本人の論文は総じて抄録の書き方が下手で、論文の結果と成果だけを書くべきなのに余分なことを書きすぎの傾向がある。抄録は決められた長さを決して超えてはならない。前文はそれまでに行われた研究の流れとその流れの中で本研究の位置づけやねらいを述べる。材料や調査対象数について、統計的に有意差が出る数を扱うことが重要である。また明らかにしたい目的によって対象数を考える。結果では図表を見やすく美しくつくり、それについて簡潔に述べる。図表の説明文も手抜きしてはならない。よく図表の説明文に誤りが見られる。考察は得られた結果から何が言えるか、またそれまでの研究の流れに何を付け加えることが出来たか、などを論じる。日本人の論文は考察でも結果の部分の繰り返して述べていることが多い。しかし考察において、「図\*※によれば」などの記述は厳禁であり、それは結果の方へ回すべきである。最後に謝辞と研究費の出所について記するのを忘れないこと。引用文献については、日本語雑誌では数を制限しているところがある。英文誌では40～50ぐらい引用することもまれではない。原稿を何度も校正していると、引用文献を削ったりしたところが本文中にまだ残っていることが多い。つまり引用文献の番号と本文の中の引用文献番号が一致しないことがよくある。引用文献の順番とともに、注意を要するところです。引用文献の形式も雑誌によって決まっている。別の雑誌に投稿を変更したときに、その形式を変更していないと査読者に指摘される。この誤りも非常に多い。

Endonote というソフトは私は使っていないが論文作成にとっても便利らしい。日本語論文でも英文論文でも使えます。

**科学的表現：**論文においては科学的表現（学術名など、必要ならラテン語表記）を用いなければならない。ラテン語表記は斜体（イタリック）にする。例えば *Salmonella* のように。注意すべきは、significant, significantly という言葉は統計用語で“有意”という意味だということです。“かなり”という意味で用いてはならない。また試薬や器具については購入会社を正確に記すること。英文論文ではその会社の英語表記が曖昧なことがあり、困ることがある。会社名はその会社のホームページで確認することを勧める。

## 12. 英文について

日本人の論文英語は多くの場合かなり問題がある。文法的誤りと、記述内容ならびに書き方の問題がある。文法的問題として、①時制の問題、研究結果を述べるときは過去形にする。②a, the の問題、数えられる名詞とそうでない名詞、③単数複数の問題、④主語、動詞、補語などの問題（主語と補語が一致しない文をウナギ文という。食堂に入って料理を注文するときに日本語では、ほくはウナギ、と言う。それを英語に直訳すると I am an eel fish. となる。自分＝ウナギということになる。日本人の論文にはときどきこのような表現が見られる）、⑤可能性の表現（may, might, will, would, can, could, probably, likely など）の使い分け、could や might を使うと結論に自信が無いと思われる。⑥能動態と受容体、受動態は客観的表現を表すが、使いすぎると文章が弱くなる。時には、We found -- などを用いるといい。⑦副詞、形容詞などに注意。Surprisingly などの感情的な言葉を使いすぎると変になる。⑧文中括弧はできるだけ用いないこと。⑨関係代名詞をうまく使うこと。⑩関係副詞は使わないこと、⑪分詞構文をうまく使えば表現しやすい。⑫同じ単語を繰り返して使わない、などなど。

英文フォントはTimes new Romanを使うといい。半角ですが、文中に全角文字が入ると外国のコンピューターではそこから文字化けするので、訂正して再送することが要求される。例えば $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $^{\circ}\text{C}$ などを使うときに注意する。

ソフト、辞書：英文ソフトはWordを使いますが、英和・和英辞書としてはパソコンソフトの「英次郎」を使っています。安くてとても便利です。それと英英の類義語辞書（シソーラス）があれば十分だと思う。日本語から英文への翻訳ソフトは、どうもまだわけのわからない英文になってしまうようです。日本人で英語の堪能な文系の人は大勢いますが、そういった人に頼んでもどうも科学論文はうまく書けないようです。

### 13. 論文のレビューについての私の経験

論文を投稿した後の査読者（レビュアー）とのやりとりは、アメリカンフットボールのように考える。つまりゲームのように押したり引いたりして最終的にアクセプトされればいい。査読者はかなり無責任で、いい加減なコメントを書いてくることが多いが、そこで腹を立てずゲームの駆け引きだと思って我慢する。

#### 〈査読者の心理〉

私が査読者として経験したことを書きます。まず、英文がひどいと査読する気持ちが減退します。特にスペルミスや基本的な文法が間違った文章は論外です。査読者に英文を直させようとしているのか？とも思ってしまいます。またインド人の論文によくあるのですが、少しのデータでやたらに長い論文を書いてくる。半分以上をカットしたくなります。そういえば野口英世の論文の書き方と似ています。実質的内容が少なく空疎に長い。

本来査読者は、論文の内容が良ければ、著者に対してよりよい論文になるようなアドバイスをすることが望まれる。しかし日本人の査読者のほとんどは投稿論文のあら探しをする心理状態になる。何か欠点を見つけ出すように一生懸命になってしまうのです。その結果著者と心理的に喧嘩状態になってしまい、著者が投稿を取り下げてしまう、ということが多い。そうすると掲載論文が少なくなるので、編集委員（Editor）としては大変困る、ということがよくあります。

### 14. してはいけないこと：論文の不正と研究費の不正

- 二重投稿：同じ論文原稿を別々の雑誌に投稿すること。片方がアクセプトされればもう一方を取り下げるわけである。
- データの使い回し：同じデータを別々の論文に使うこと。この場合ばれないように図などを一部作り変えていることが多い。
- データをねつ造すること：パソコンソフトで写真の改造などを行う。左右反対にするなど。実験をやっていないのにデータが出来上がってくるので、周囲の研究者や同僚が不審に思って匿名でインターネット上に告発して明らかになることが多い。実験ノートやデータが無いので、不正調査委員会に対する言い訳として、データはパソコンやハードディスクに保存していたが、それらが古くて壊れたので捨てた、と言う。しかし実験ノートはとても大事で、その実験ノートがないことはそれだけで怪しいということになる。ちなみに米国の多くの研究所では実験ノートはその研究所の財産とみなされ、研究者が別の大学などに移るときには実験ノートを研究所に置いていかねばならない。
- データの数値などを改ざんすることなど：自分が期待する結果になるように、都合の悪いデー

タは数値を変えたり削ってしまう。また被験者の数を実際よりも多くするなど。これらの不正は非常に多くの研究者が行っている。しかしデータ改ざんの誘惑に負けてはいけない。改ざんすると間違った結論になり、結局はその人の研究者としての評価が失われることが多い。

- 他人の論文の文章を出典を書かないで無断引用すること：この不正は文系の論文に多い。ばれると停職など、近年は非常に厳しく社会的制裁を受ける。
- 研究費の目的外使用：架空伝票によって研究費を浮かせ、それを個人的な旅行の費用などに使う。また、パソコンを買うことが多い。
- 業者への預け金：3月末までに研究費を使い切れなかったときに、業者に架空発注して支払ったことにしてその業者に研究費を預け、翌年度以降に別の品目を実際には購入する。
- リポートを受け取る：高額の研究機器を注文する場合、特定の業者からリポート金を受け取ってその業者に発注する。競合する業者からの告発などで発覚する。

これらは厳禁であり、ばれると大学での職を失うことになる。二重投稿には、同じデータや図表を国際学会のProceedings（それぞれの発表をまとめて本にしたもの）と原著雑誌に投稿するもの、日本の雑誌（日本語論文）と欧米誌（英文論文）に両方投稿するものがある。日本ではこれまで習慣的にそれが行われてきたが問題になるので止めた方がよい。特に同じ図表を日本語と英語それぞれの論文に載せることは、欧米人にもばれるので止めるべきである。

データの統計処理の誤りや人には意図的ではない実験の過ちが起こるが、それをその次から意識的に繰り返せば今度は確信犯となる。実験研究の場合、同じ実験は必ず最低2回（できたら3回）は繰り返してデータの再現性を確認する。対照実験にこそ時間を同じように使う。研究費の目的外使用（旅費、飲食費、など）と年度内に使い切れないうちの業者への預け金などは、ばれると科研費申請を最低3年間ストップされる。また全額の国への返却を求められる。

繰り返すが、実験ノートは必ず保存しておかなければならない。ハードディスクにデータを保存してハードディスクが壊れたなどのごまかしはきかない。ハードディスクからは消去してもデータを回復できる。

## 15. 研究費のこと

研究費は単年度でめる。年度をまたいで繰り越すことは難しい。科研費については年度をまたぐことができるようになったが、手続きが面倒であり、費用項目にもよる。民間会社との共同研究は金額が少ないが数年にわたって研究費を得ることができるので、奨励されるべきである。また年度を繰り越すことができる。

## 16. 学会発表

スライド発表とポスター発表の形式がある。どちらにしても、カラーを入れて見栄えの良いスライドやポスターをつくること。Power pointでつくるのもいいが、Adobe IllustratorなどのDraw系ソフトを用いると、色のバリエーションが豊富でとても見栄え良くできる。大きさも自在に変えることができる。同じ研究結果なら、より見栄えのいいポスターの方が評価が高い。その点で1枚プリントはありがたい。SugiyamaあるいはSJUSN（Sugiyama Jogakuen University School of Nursing）のロゴあるいはマーク（紋章）入りのポスターを推奨する。

## 17. 国際学会

国際学会はアジアで行われる場合でも英語による発表となる。口頭発表とポスター発表があり、ポスター発表の方が負担が少ない。口頭発表ではその後の英語による質疑がしんどいです。発表の英語は英語論文のようにNative speakerに校正してもらった方がいい。発表はProceedingsとして出版されるので(後日そのための原稿を求められる)、論文業績の一つとなる。ただしインパクトファクターは付かない。

国際学会の登録料は通常5万円ぐらいであり、早期登録すれば1万円ぐらいのディスカウントがあることもある。往復の交通費と滞在費を併せて米国なら25万円ぐらいになるが、出席すれば良い経験にはなる。なお、ホテルは学会指定ホテルだと高く(一泊2万円は普通)、学会指定旅行業者に依頼しても似たようなものである。がんばって個人的にインターネットなどで予約できれば、一泊5千円ぐらいのモーテルが予約できることもある。モーテルの方がベッドがきれいで、キッチンがついているので自炊できる。なお、米国などでは基本的に一人部屋は無いので、2ベッド部屋を二人で使えば安くすむ。

## 18. 特許

特許については2011年に梶山女学園大学に新たに特許規定ができた。研究における発明については特許申請が可能なら、発明審査委員会に報告して大学特許にするか個人特許にするかを審査してもらう。ほとんどの発明は個人特許になると予想される。その後で出願するが、出願費用は個人負担となる。出願後時期を見て審査請求を特許庁に申請し、審査後特許取得となる。なお、特許には出願者と発明者があり、特許の権利は出願者のみが有する。費用は数十万円だが、その後特許維持費がかかっていく。会社との共同発明による出願では、多くの場合会社が出願人となり、教員は発明者として実質的にはなにがしかの研究費を受けて権利を放棄することが多い。外国特許については、米国、ヨーロッパ特許はかなりの費用がかかる(数百万円くらい?)。したがって国などの援助を受けるしかない。

**特許申請の注意事項:** 発明を学会、セミナー、論文などで発表すると原則として特許として申請できない。卒論発表会でも不可です。研究グループ内のセミナーでの報告は許される範囲である。

## 19. 実験研究について、実験方法を学ぶには?

百聞は一見にしかず。とにかくどこかの研究室で実験を見せてもらう。つてを頼ってお願いし、押しかけるしかありません。統計については他の大学に学びに行くのもいいが、看護学部内で勉強会をつくって勉強すればよい。また、難しい技術や梶山に無い機器を用いる実験は、他施設との共同研究を積極的にやること。断られても駄目もとです。免疫(血清学)、微生物、酵素、遺伝子操作関係はある程度看護学部実験室で可能である。

例えば電子顕微鏡など梶山に無い機器を用いたいときにどうするか? ①内緒で他大学にお願いして使わせてもらう。②その大学の先生と共同研究で使わせてもらう。③学外者利用申請を出して有料で使う。④研究生などになって使う。⑤努力して科学研究費などをとって、自分で購入する。⑥その研究はあきらめる。

**研究のフィールド:** これまで、名古屋近辺の病院についてお願いしてきました。名大病院、国立東名古屋病院、日赤など、積極的にアプローチして共同研究をお願いしましょう。私がお手伝いします。テーマによりますが何とかかなと思います。



## 〈参考〉

対象施設を多くすることによって、研究結果に普遍性という価値が生まれます。特定の施設だけを対象とした研究は、得られた結果はもしかしたらその施設だけのこともかもしれません。特定の施設を対象とした研究の場合、観察期間を長期にする（例えば20年間）ことによって結果に時間的な変動という付加価値がつきます。すなわち論文としての価値が高まります。

## 20. 実験研究で研究材料の入手法

研究のフィールドと同様に、名古屋近辺の医療施設に積極的にアプローチしましょう。また共同研究も積極的に提案しましょう。本来、材料提供だけでは共同研究者にはしにくいのですが、しかたありません。こちらはお願ひする立場ですから。

## 21. 試薬、機器の注文法

生化学、遺伝子などの試薬は丸善薬店、木下理科に注文するとよい。また機器については木下理科がメンテナンス（アフターサービス）も良好です。木下理科が扱っていないときは、その他の会社に相談すればいいでしょう。

## 22. 動物実験について

動物愛護法とカルタヘナ条約によって、動物実験は設備の整った施設でないと出来なくなりました。特に遺伝子組み換え動物は絶対に環境へ逃がすことができません。逃がせば（本人と学長が）罰金刑など罰せられます。いずれにせよそのような実験は許可制です。また動愛法でサルと犬などは実験に使うのが難しくなりました。動物愛護団体はとてもやっかいな団体です。またサルは人に感染する危険な微生物を保菌していることがあるので、検疫を厳重にやった個体しか使うことができません。というわけで近年は代わりにブタ（子豚一頭5万円ぐらい）を使う。したがって使うことが出来る実験動物はブタ、ウサギ、ラット、マウス、モルモット、スunks、スナネズミ、山羊、羊、牛、（ネコ）などです。マウスやラットには遺伝的に均一な近交系動物があります。兄妹交配を数百回繰り返して遺伝的にほぼ均一にした動物を近交系動物といいます。値段が高く、一匹1500－3000円ぐらいはしますが、均一なデータが得られるので匹数が少なく済み、結局は得です。ちなみにチンパンジーはエイズの研究などに使いますが、一頭2千万円します。また使用後も殺すことはできません。余生を送る施設に送ります。

## 23. 遺伝子組み換え研究

遺伝子組み換え実験を行うためには、学内の遺伝子組み換え委員会（相山には無い）の許可が必要です。またP1, P2, P3の基準に沿った設備が必要になります。P3の設備は専用の部屋と空調が必要ですから、無理でしょう。P2も安全キャビネットとその定期検査が必要ですから、かなり面倒で費用もかかります。P1も含めて遺伝子組み換え実験室では飲食や喫煙が厳禁とされています。なお、遺伝子検出だけなら組み替え実験申請は要らない。ただし人遺伝子の解析は倫理委員会への申請が必要です。

## 24. 疫学的研究について、対象者と対照者の選び方

疫学研究の被験者は、年齢、生活環境、基礎疾患などについて研究目的に沿った集団を選ぶ。

対照も含めて、統計的に有意差が出る数の被験者を確保するようにしなければならない。統計的に有意ではない結果は、たとえ平均値に差があるとしてもその差を取り上げて議論できない。後ろ向き研究と前向き研究があるが、前向き研究の方が信頼性が高いとされる。このような疫学研究を行うためには被験者の集団あるいは対象施設との十分な打ち合わせを行い、協力が得られるようにすることが必要で、その準備は簡単ではない。学部として特定の市町村などとの連携が得られれば、非常に有益だろうと思われる。

## 25. 倫理的側面の考慮

人を対象とした研究は倫理委員会に申請し、研究許可を得なければならない。看護学部の倫理規定にしたがって審査申請するのだが、看護学部の倫理委員会の判断基準は基本的に厚労省ならびに文科省の医学研究の倫理基準に準拠している。そのために臨床研究と疫学研究が区分され、患者情報の保護などが強調されている。一方看護研究の多くはむしろ看護師など医療従事者を被験者とする研究であり、国の倫理基準とは対象について若干のずれがあることが多い。さらに看護学の領域では看護教育研究が盛んである。看護教育研究は学生を被験者とすることが多いので、患者対象の研究とは異なる問題が生じている。看護教育学会では被験者の保護のために、匿名化、自由意志による参加、不利益を被らないことなどの条件を倫理基準として示している。それに基づいた各大学での倫理審査を通過していることが論文受理の条件である。しかしこの基準は医学研究における国の研究倫理ガイドラインとはずれている。たとえば臨床研究か疫学研究かの区別すら曖昧である。介入研究かどうかについてもはっきりしない。このような異なった分野の研究について医学研究を対象にした倫理基準で判断することには無理がある。したがって看護教育研究について明確な倫理基準を示さない看護教育学会は無責任である。しかしそうはいっても現実的に発表が受理されないということなら、通常の倫理審査ではなく、看護教育研究倫理審査委員会のような形で別の基準で審査することが現実的であろう。このことは火急の検討課題だろうと思われる。

## (B) 科研費申請のポイント

### a) 全体的注意点

第三者に読んでもらいアドバイスを受ける：申請書は必ず教授、准教授の先生方に読んでもらって、チェックを受けること。第三者の目で見てもらうと不備がわかる。

評価の基準：審査委員は5種類のカテゴリーについてそれぞれ4点満点で点数を付ける。4名の審査委員が独立に審査し、合計点によって優劣をつける。それを全体評価として5点満点で点数を付ける。絶対評価ではなく、相対評価だから他の申請よりも点数を多くとらなければならない。通常各審査委員は、全体評価では3点を基準として優れていれば4点、劣っていれば2点をつける。5点や1点を付けることは少ない。したがって4点をいかに多くとるか、がポイントとなる。

1. 手書きは厳禁。ゴシック体あるいは明朝体を用いる。欧文はTimes new RomanかCentury体を用いると良い。できるだけ専門用語を用いること。菌名や遺伝子名などは斜体(イタリック)で表すことになっている。セクションの先頭は一コマ空ける。
2. 箇条書きできるところは箇条書きにすると簡潔な表現となる。長すぎる説明よりも簡潔に説明すべきだが、マス全体の8割ぐらいいは埋めるように書かないと、印象が良くない。

3. 必要に応じてイラスト、図を挿入する。しかし多すぎでは印象が良くない。1, 2個まででしよう。手書きの図は勧められない。色つきは推奨されない。
4. 重要な単語は強調文字にする。
5. 研究方法、実験方法について。審査委員は意外にこの部分に注目します。実際にやり遂げることができるかどうか、その実験は可能かどうかなどを検討する。また研究デザインや手順が研究目的に沿っているかどうか、期待される結果がでるかどうかなどもチェックする。

**b) 各項目の注意点**

**1. 研究テーマについて**

題目は40字以内にする。研究テーマは、これまでに行ってきた研究で論文実績があることが大切である。また論文実績が無くても、徹底的に考えてオリジナリティーの高いテーマを選ぶ。文献検索をして、過去に同様の研究がどれだけされてきたか、そのなかで今回のテーマはどのように位置づけられるか？などを考える。同僚、上司と何度もディスカッションをしてテーマについて意見を聞くことも大事である。

**2. 研究目的**

研究目的は、何を、どこまで明らかにしたいか？について簡潔に書く。またその研究の意義についても述べる。研究の成果が看護、医療にとってぜひとも必要であるならば、審査委員はその申請に対し悪い評価をすることができない。

**3. 研究の背景、経過**

そのテーマの研究について、研究の背景、これまでの経過を具体的に述べる。文献検索して日本あるいは世界的にどこまで研究が進展しているか、申請者の研究がどのように進行しているか、今回の申請ではさらにどの点を解析するか、などを述べる。目的の部分との一部重複の記述があっても、それはかまわない。

**4. 研究方法、何をどこまで明らかにするか？**

人を対象とする研究は、倫理委員会の審査を受けていることが必要である。また利益相反が無いことも明記すべきである。疫学研究の場合、そのテーマとともに、サンプル集団をどのようにとるか、また対照のグループをどのようにとるか、が評価の対象となるだろう。

実験研究では、共同研究などによる具体的な計画が必要だろう。また遺伝子解析などでは倫理審査が必要になることもある。人血清・細胞などを用いた実験も倫理審査対象であり、動物実験ならば動物実験指針に基づいて行われなければならない。

**5. 研究組織**

若手の申請枠では単独の申請となるが、基盤研究などでは共同研究として複数の研究者が加わるのが普通である。良い共同研究者を選ぶことも重要なポイントとなる。別の分野（医学系、工学系、心理系、理学系や農学系など）の共同研究者も推奨される。

**6. 研究業績**

過去5年間の業績を記述。関連する業績を挙げよ、と注意書きにあるが、審査員は個々の論文のテーマと掲載雑誌を見るだけで、必ずしもそれぞれの論文内容を詳細に見るわけではないので、分野が多少異なっている場合でも全て挙げた方がよい。英文業績が一番評価され、次に邦文では全国レベルの学会誌論文、地方レベルの学会誌論文の順で、大学紀要はあまり評価の対象にはならない。工学系では、国際学会に発表して、それをまとめた本 (Proceedings) が出版されるのでそれを業績とすることが多い。発表演題が一応査読されている、というのが

理由である。

## (C) バイオ実験研究の方法

### 1. 生化学的方法

#### a. 生物材料の入手：ヒト材料、動物材料（血液、組織、尿、分泌液など）

ヒト材料として血液・血清、細胞・組織、咽頭ぬぐい液、尿・便、その他がある。臨床検査検体の残りを利用すると入手しやすいが、倫理委員会の承認が必要である。動物材料は入手が容易だが、本学部では長期飼育ができない。生物材料は時間と共に変性するので、すぐに使用するか使用するまで冷凍保存などをする。室温では保存できない。血清などで酵素測定を目的とする場合は $-80^{\circ}\text{C}$ 保存、抗体価測定の場合は $-20^{\circ}\text{C}$ 保存あるいは $4^{\circ}\text{C}$ 保存をする。微生物、DNAは原則的に $-80^{\circ}\text{C}$ 保存する。

#### b. 実験方法：測定方法と機器（酵素反応：基質の発色測定、免疫学的検出・定量法：後述、アイソトープ標識法など）

本学でできる基本的生化学実験は、

- ①蛋白の電気泳動による分析、
- ②酵素反応の測定、
- ③蛋白の抗体による検出、
- ④PCRによる遺伝子増幅と検出、
- ⑤リアルタイムPCRによる直接の遺伝子検出と半定量、
- ⑥細胞培養ならびにその細胞を用いたウイルス培養、
- ⑦酵素を用いた簡単な遺伝子組み換え実験、
- ⑧細菌培養とそれによる遺伝子組み換えプラスミドの増幅、
- ⑨蛍光色素、蛍光抗体、酵素抗体を用いた免疫反応や細胞・組織染色と蛍光顕微鏡観察、など。

ただし遺伝子組み換え実験には遺伝子組み換え委員会による許可が必要である。遺伝子検出実験はその必要ないが倫理委員会の承認が必要だろう。本学ではアイソトープ実験はできない。

#### c. 遺伝子測定：PCR、リアルタイムPCR、RT-PCR、PFGE、塩基配列の決定、DNAチップ（遺伝子の検出および定量、発現量の定量など）

遺伝子を検出するためにはPCR法、リアルタイムPCR法を行う。PCR、リアルタイムPCRを行うには、PCRプライマー、増幅酵素・試薬が必要である。また増幅されたDNAの電気泳動による確認を行う。

塩基配列決定は業者に外注するといふ。DNAチップはまだそれほど実用化されていない。

#### d. 細胞培養と細胞機能の測定：特定成分の蛍光染色、培養細胞に各種の処置を行い形態変化などの観察）

細胞培養するためには、培養液、牛胎児血清、無菌操作技術と $\text{CO}_2$ インキュベーターが必要である。培養する細胞はcell line化した細胞が市販されているのでそれを購入して増やす。他施設から分与してもらってもいい。なお、細胞は3日に1回植え継ぎをしなければならず、長期保存には液体窒素容器で $-180^{\circ}\text{C}$ で保存する必要がある。細胞成分を分析するには、蛍

顕微鏡による蛍光抗体などを用いた観察が行われることが多い。

- e. 試薬の作製と管理：酵素（液）は室温保存すると活性が落ちるので、冷蔵あるいは冷凍保存する。またビタミンB1などのように光によって分解する薬品は遮光して冷蔵する。緩衝液は室温保存できるものが多いが、時には変性することもあるので長期保存は勧められない。緩衝液などは基本的に作製した個人で保存管理すべきで、他人の緩衝液は実験がうまくいかない原因となることがある。なお、緩衝液の作製にはレシピどおりに試薬を調製すれば希望のpHが得られるので、必ずしもpHメーターは必要ではない。pHは温度によってかなり変動するので、望みのpHはどの温度で用いるかに注意する必要がある。

- f. （参考）遺伝子組み換え実験：遺伝子組み換え実験の方法

遺伝子組み換え実験は本学では行うことが難しい。他施設でクローニングされた遺伝子を培養して増やす程度になるだろう。通常遺伝子は細菌プラスミドベクターにクローニングされている（リコンビナントプラスミド）。したがって遺伝子を増やすとは細菌を培養してリコンビナントプラスミドDNAを抽出することである。

## 2. 免疫学的方法

- a. 抗体の作製および入手法：動物への免疫法

特定の抗原に対する抗体は通常は抗血清として市販されている。0.5mlで1万5千円ぐらいする。しかし最近の市販抗血清は信頼性が高い。

抗血清を自分で作成するには、ウサギ、マウスなどの動物に抗原を自分で免疫する必要がある。本学には動物飼育施設が無いので、他施設に飼育を依頼する必要がある。通常の免疫は抗原をアジュバントとミックスし、皮下に注射する。1ヶ月後に再度免疫を行い、7-10日後に採血する。場合によってはさらに1ヶ月後に再度免疫してから採血する。ウサギ全採血によって80-120mlの血液が採れるので、血清量はその40%となる。近年ニワトリの血清を用いる方法が脚光を浴びている。卵から精製するので安価で量が多く得られる。

- b. 抗原抗体反応：凝集反応（赤血球凝集反応、ラテックス凝集反応）、蛍光抗体法、酵素抗体法  
これらの反応はいずれも臨床検査で日常用いられている。ゼミ、卒論などで行う予定ですので、希望者は個別には指導します。

- c. 人血清の入手と抗体価の測定

人血清の入手は比較的簡単であり、実験者自身あるいは患者血液を用いる。採血後30分-1時間37℃のふらん器内で凝固させ、上澄みを血清として用いる。遠心して凝固成分を取り除いてもいい。人血清を用いるときには必ず手袋を着用して取り扱う。小試験管など使い捨ての使用器具は実験後必ずオートクレーブしてからゴミ処理する。また使用機器についても実験後十分な洗浄を心がける。B, C型肝炎ウイルスの有無に注意し、できるだけ陽性血液を用いないことが必要である。

抗体価の測定は、まず10倍希釈し、その後2倍、4倍、8倍、16倍、32倍、64倍と希釈してその一部を測定する。反応陽性になった最高希釈倍率を抗体価とする。

- d. 血液細胞（リンパ球、好中球）の入手

ヘパリンを少量入れた試験管に新鮮血を採血する。てばやくフィコール液を入れた遠心管に移して遠心分離し、細胞層を回収する。キットになった器具を用いるといい。細胞は死にやすいので氷冷するなど注意して取り扱う。

### 3. 微生物学的方法

- a. 病原微生物実験室は基本的にP1レベルの注意が必要である。すなわち実験室では白衣着用、飲食は禁止、もちろんタバコも禁止、ドア、窓は閉めておく、できるだけ不要のもの（カバンなど）は持ち込ませない、などである。

b. 細菌の培養法

培地の作成、細菌の接種などについては無菌操作を行う。検体によって培地の種類、成分は異なる。寒天培地などの固形培地と試験管内液体培養がある。固形培地は独立のコロニーを分離できるので、菌の検出に用いる。液体培養は菌液を増やすのに用いる。

c. 細菌の同定法

まずグラム染色を行い、グラム陰性菌、陽性菌を判別する。同時に顕微鏡観察で球菌か桿菌かを判別する。細菌の菌種同定はそれぞれの菌種によって異なる確認培地を用いて行う。細菌によってはPCRなどにより特異的DNA配列を検出することで同定できる。ペロ毒素遺伝子、MRSAの耐性遺伝子などはPCRで検出できる。また、特異的抗体を用いて特定の菌種を同定する場合もある。抗体反応としては凝集反応を用いることが多い。また、抗原としての細菌を検出するのが難しいときは、患者血清中の抗体を検出することで特定の菌種による感染であることを証明できることもある。

d. 細菌の薬剤感受性測定

感受性ディスク法

寒天培地に菌を広げ、抗菌薬をしみこませた濾紙ディスクを上に乗せる。一夜培養してディスク周囲の増殖が阻止された阻止円の直径を測定する。

微量液体気積法

抗菌薬を各濃度に入れた小試験管あるいはマイクロプレートウェルに菌液を入れて一夜培養後、増殖の有無を観察する。最小発育阻止濃度をMIC（minimum inhibitory concentration）とする。

e. 無菌操作

オートクレーブで滅菌した培地、器具を用いる。接種する際には火炎滅菌操作を行う。白衣、マスクなどの着用が推奨される。必要に応じて手袋の着用をする。なお、白衣は実験室専用であることが望ましい。実験終了後は使用器具をオートクレーブ処理して廃棄する。また実験台は逆性石けんなどで消毒・清拭する。クリーンベンチ内は清拭後紫外線ランプで10-30分ぐらい滅菌する。なお長時間の紫外線ランプ照射は必要ない。

f. ウイルス培養法

培養ができないウイルスが多い。インフルエンザウイルスは培養可能なウイルスである。

ウイルスの培養には培養細胞に感染させて増やす方法と、ニワトリの受精卵や動物に接種して増やす方法がある。インフルエンザウイルスは両方で培養できる。ワクチン精製に用いるなど大量に必要な場合は受精卵に接種する。検査室ではウイルス検査は主に抗原抗体反応や、PCRによる遺伝子検出法を用いるので、ウイルス培養は行わない。例えば、HIVは感染患者では抗体ができるのでその抗体を検出する。またウイルス遺伝子のPCRによる直接検出も行われている。実験室でHIVウイルスを培養して取り扱うことは危険なので、多くの場合ウイルス遺伝子を取り出したリコンビナントクローンをを用いて研究する。培養できないウイルスについてもリコンビナントクローンをを用いる。

g. ウイルス抗体検出法

患者血清中のウイルスに対する抗体価を測定する。HIV、HCVなどのウイルス感染においては、患者血清中の抗体価が上昇しても体内にウイルスは排除されず存続している。したがって抗体価を調べれば感染しているかがわかる。

麻疹、風疹、ムンプスウイルスなどの免疫があるかどうかは血清抗体価を調べることでわかる。一般にワクチンよりも感染による方が抗体価が高くなる。

測定はラテックス凝集反応、補体結合反応、蛍光抗体法、酵素抗体法 (EIA)、赤血球凝集阻止反応 (HI)、イムノクロマト法などで行う。

- ・ラテックス凝集法はラテックス粒子の表面にウイルス抗原を結合させ、患者抗血清との凝集反応を検出する。
- ・蛍光抗体法、酵素抗体法は、ウイルス抗原をマイクロプレートに貼り付け、患者血清と反応後洗浄して、結合している患者抗体を二次抗体である抗ヒト免疫グロブリン抗体（ウサギや山羊で作成）で検出する方法であり、あらかじめ二次抗体に蛍光色素を結合させるか酵素を結合させておいて、蛍光あるいは酵素反応の強度で判定する。
- ・イムノクロマト法はごく近年に開発され、急速に普及している方法である。きわめて簡便に、短時間に抗原（あるいは抗体）を検出することができる。定量性には乏しいが、高感度の検出法である。

#### 4. 病理学（形態学）的方法

a. 組織標本の作製法

1. 患者や動物の新鮮な組織片を用いる。
2. 切り出した組織片を固定液に入れて固定する。
3. 固定組織片をパラフィンで包埋する。
4. ダイヤモンドナイフなどで組織切片を切り出す。
5. 組織切片をスライドグラス上でヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色などで染色する。
6. 光学顕微鏡で観察する。

b. 電子顕微鏡観察：透過型電子顕微鏡 (TEM)、走査型電子顕微鏡 (SEM)

透過型電子顕微鏡と走査型電子顕微鏡の違いは、組織切片を切って透過する電子線で組織を観察するか、それとも電子線が反射してくるのを利用して細胞表面や形態などを観察するかの違いである。

電子顕微鏡は本学には無いので、他大学の設備を借りるか共同研究として利用する。

例：名大医学部の教育・研究 機器センターの電子顕微鏡を借りるには、事前の申し込みと他施設利用料金を支払わなくてはならない。または、共同研究として使用すると利用料金は学内料金となり、かなり安くなる。しかし名大内に共同研究を引き受ける教員が必要である。検体組織はまず脱水・固定する。ついでダイヤモンドナイフで超薄切片を作成する。

c. 共焦点レーザー顕微鏡

光学顕微鏡の一種であり、生の細胞のまま観察できるので、細胞の生態を観察するのに便利である。また蛍光色素で染めた細胞を観察することもできる。新しい観察手段である。

d. 細胞標本の作製

## 5. 動物実験

### a. 近交系マウス、トランスジェニックマウス、SPF動物、無菌動物

近交系マウス：兄妹交配を100世代以上繰り返したマウスで、ほとんど遺伝的に均一なマウス。いろいろな系統が樹立されていて、目的によって使い分ける。近交系マウスは実験動物業者から一匹1500円から4000円ぐらいするが、得られるデータにばらつきが少ないので対照群との有意差が出やすく、使用する匹数が少なく済む。マウス飼育はケージを清潔に保つことが重要であり、週2回のケージ交換を行う必要がある。餌、水を絶やさないように注意する。同一ケージ内に飼うことができる匹数は5-8匹までであり、それ以上に増やすとマウスの健康状態が悪化する。

### b. トランスジェニックマウス：特定の遺伝子をノックアウトしたりして遺伝子を改変したマウス。自然界には存在しない動物なので、カルタヘナ条約により逃亡しないように設備をして厳重な管理が要求される。もし逃がすと本人ならびに施設長（学長）が法的に罰せられる。

### c. 実験動物としてはマウス以外にラットがよく使われる。また、目的によって犬、猫、サルも用いる。近年はブタ（ミニブタ）がよく使われる。犬やサルは愛護団体の関係で使いにくい。また、サルは人に感染するようなウイルスを持つこともあるかもしれないので（ウイルス保菌については検疫によって厳重に検査されているが）、その取り扱いの難しさもあってできたら使いたくない。なお、ラットについても以前韓国出血熱（腎症候性出血熱）の感染事故が起こり実験者が死亡した（三重大学医学部）ので、特定の指定業者からのラットしか購入できない。

### d. 疾患モデル動物：特定の病気が発症しやすいように遺伝的に育種した動物。病気の研究に用いられるが、ヒトの病気と同じかどうか問題になるときもある。

### e. SPF動物：病原微生物を持っていないクリーンな動物のこと。

### f. 無菌動物：帝王切開によって胎児を取り出し、ビニール飼育器で完全に無菌環境で育てた動物。免疫研究や感染症の研究に用いる。無菌動物を自分でつくる必要はなく、実験動物中央研究所から購入できる。あらかじめ無菌飼育設備を準備することは当然である。

### g. ウサギの取り扱い方法

ウサギは一匹1万5千円ぐらいで購入できる。飼育は難しくないが、それなりに気むずかしい。餌は固形飼料、飼育ケージの掃除をこまめに行い清潔を維持する。注射を何回もするとそれを覚えて抵抗するようになる。採血は耳の静脈から行うがウサギをしっかり固定しないと暴れて失敗する。全採血は大静脈から行うといい。心臓採血が本によっては推奨されているが、心臓穿刺によってそのまま死ぬことがあり、私は推奨しない。

以上、駆け足で研究方法の概略を述べた。実験研究は職人的な技術を多く必要とするので、一人で立ち上げることは難しい。必ず指導者の下で実験を繰り返し、方法を身につけなければならない。一種の徒弟制度のようなものである。苦勞して行った実験がうまくいき、よい実験結果が得られたときはそれまでの苦勞が吹き飛び、なんとも言えない喜びを感じるものである。

（平成23年10月）



## Basic Principles for the Achievement of Good Research

Michio OHTA

*Sugiyama Jogakuen University School of Nursing*

### Abstract

This report was aimed to present basic principles for (A) performing and publishing good research, (B) applying grants, and (C) conducting biomedical experiments. In (A), research planning points and methods for good presentation of the results were described. In (B), major points for improving the applications to Monbusho grants and in (C), general procedures for performing biological experiments which were relatively unfamiliar to nursing school staffs were described. It seems that these issues have been traditionally passed on disciples from their professors in laboratories of any scientific fields. Accordingly, the ways of performing a research are variant by laboratories. The differences are dependent on the professor who teaches. This classical teaching system is likely unscientific, and sometimes interferes with the development of science which should be objective and universal.

**Keywords:** research, application for grants, biological research, research presentation