を使っていたが、大量の精子が存在する場合のDNAの回収率が10%まで低下することがわかったので、同じQIAGENのQIAamp DNA Purification Kit、QIAamp Viral RNA KitおよびUltraSens Virus Kitを試した。予備的な実験において、これらの中で最も回収率が高かったのはQIAamp UltraSens Virus Kitであった。そこで、このキットを用いて、平均1個のウイルス粒子あるいは1個のHIV-1感染MOLT-4細胞を含む液からRNAとDNAを回収し、RT-nested PCRを行った結果、陽性反応が出る頻度は、ウイルス粒子で55%、感染細胞で60%であった。これらの値がポアソン分布から予想される値63%とよく一致していることから、このキットを用いてもRNeasy Kitと同様に1個のウイルス粒子あるいは感染細胞を検出できることがわかった。次に、Percoll密度勾配遠心で洗浄した精子0.5 x 10^6個、1 x 10^6個、2 x 10^6個、4 x 10^6個および8 x 10^6個に100個のウイルス粒子あるいは100個の感染細胞を混ぜ、competitive RT-nested PCRで定量したところ、HIV-1 RNAあるいはHIV-1 DNAの回収率は精子がないときと比べてそれぞれ75–112%と96–122%であった。この結果は、8 x 10^6個の精子が共存しても、ウイルス粒子内のHIV-1 RNAあるいは感染細胞内のHIV-1 DNAの回収率が有意に低下しないことを示している。

D．考察

改良したプロトコールによって、10^6個以上の大量の精子が混入していてもHIV-1のRNAあるいはDNAを1コピーまで検出できることが明らかになった。洗浄精子を用いた今までの臨床実施においては10^6個以上の精子を用いたことはなかったので、過去の臨床実施の安全性が保証されていなかったわけではないが、より信頼性の高い方法を用いるべきであると考えたので、本年度の途中から改良したプロトコールを臨床実施で採用している。

この改良された検査法を用いても、現行の精子洗浄法によって、大量のウイルス粒子あるいはHIV-1感染MOLT-4細胞を人為的に混入させた精液からウイルスがまったく混入しない精子が精製できることがわかった。現行の精子洗浄法は運動性精子の回収率が千分の1程度とあまりよくないので、この点を改良する必要がある。それによってIVFあるいは人工受精の可能例を増やすことができるであろう。その場合、今回の改良された検査法が重要な役割を果たすと考えられる。

E．結論

HIV-1 RNA/DNAの同時検出法を改良し、8 x10^6個までの大量の精子が存在しても1コピーのHIV-1 DNAが検出できるようにした。この方法を用いて、現行の精子洗浄法によってウイルスおよび感染細胞がほぼ確実に除去されることを確かめた。

2. HIV 陽性婦人における STD および若年婦人における HIV 感染実態に関する研究

担当者

主任研究者	田中憲一	新潟大学大学院医歯学総合研究科（産婦人科）教授
分担研究者	高桑好一	新潟大学大学院医歯学総合研究科（産婦人科）助教授
研究協力者	田村正毅	新潟大学大学院医歯学総合研究科産婦人科
	藤田和之	新潟大学医歯学総合病院産婦人科
	加嶋克則	新潟大学医歯学総合病院産婦人科
	伴千秋	国立大阪病院産婦人科
	宇田川秀雄	旭中央病院産婦人科
	井上孝実	国立名古屋病院産婦人科
	谷口晴記	三重県立医療センター産婦人科

2-1）HIV 陽性婦人の STD 罹患状況に関する検討

A. 研究目的

本邦における HIV の感染者および AIDS の患者数は増加傾向にあることが指摘されており，平成 22 年度には，患者数が 5 万人に達すると推計されている。このような HIV も含めた性感染症(STD)の増加は重大な問題であり，その対策は緊急の課題である。

STD 感染と HIV 感染は悪循環を作り感染伝播することが知られている。すなわち，STD 感染がある場合局所の粘膜組織の障害が生じ，HIV 感染が生じやすくなる。一方，HIV 感染がある場合免疫能の低下が認められ，STD 感染の可能性も高くなる。そこで，HIV 感染婦人における STD 感染の状況を明らかにするために，全国のエイズ拠点病院に対するアンケート調査を行った。平成 14 年度の研究においては、アンケート調査による後方視的検討を行った。今回の研究では、これらに加え、さらにアンケート調査を実施するとともに、協力施設において HIV 陽性婦人に関して、十分な説明のもと同意を得て、子宮頚管クラミジア DNA、淋菌 DNA,ヒトパピローマウイルス(HPV)、子宮頚部スメアテストの検査を実施した。

B. 研究方法

最初に全国のエイズ拠点病院産婦人科施設に対して調査を行った。調査項目は，(1) HIV 陽性婦人の診察を行ったことがあるか否か，(2) HIV 陽性婦人で各種 STD（クラミジア，淋菌，HPV）および子宮頚部スメアテストを実施したことがあるか，(3) HIV 陽性婦人について前方視的に STD の検討を行う場合協力してもらえるか否か，である。(2) で該当症例が存在する場合にはその概要を報告してもらった（表 1、表 2）

表 1

HIV 感染女性の STD 感染に関するアンケート

貴施設名＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

担当者ご所属＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

担当者ご氏名＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

質問 1 .貴施設で HIV 合併婦人の診察を行ったことがありますか。
（括弧内に○をつけて下さい。）

（　　）有り　　（　　）無し

有りの場合以下の質問にお答え下さい。

質問 2.　HIV 合併婦人で STD（クラミジア，淋菌，HPV，その他のいずれか）の検査を行ったことがありますか。

（　　）有り（約　　名）　　（　　）無し

質問 3.　HIV 合併婦人のクラミジア，淋菌，HPV の感染調査を予定していますが，これらの感染症の検査にご協力いただけますか。

（　　）可　　（　　）不可

質問 2.で HIV 感染婦人の STD の検査を行ったことがある施設に対しましては，あらためて質問表を送付させていただきたいと存じますので，よろしくお願いいたします。

表 2

「HIV 陽性婦人の STD 感染の実態に関する調査」別紙

貴施設名＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

症例番号（　　）

(1) 年齢　（　　）才

(2) 初診された時期　　平成（　　）年

(3) 国籍　（　　）

(4) STD 検査の結果について（結果につきましては陽性あるいは陰性に○をつけて下さい）

①クラミジア：実施時期　　年　　月

陽性　　陰性

②淋菌：実施時期　　年　　月

陽性　　陰性

③ヒトパピローマウイルス：実施時期　　年　　月

陽性　　陰性

④その他

項目（　　）：実施時期　　年　　月

陽性　　陰性

項目（　　）：実施時期　　年　　月

陽性　　陰性

⑤子宮頚部細胞診：実施時期　　年　　月

結果：クラス　（　　）

C. 研究結果

エイズ拠点病院 363 施設に対して HIV 陽性婦人の診察に関するアンケートを送付した。これら 363 施設中 233 施設（64.2%）から回答を得た。

これらのうち HIV 患者（女性）の診療経験を有する施設は 69 施設（29.6%）であった（図 1）。

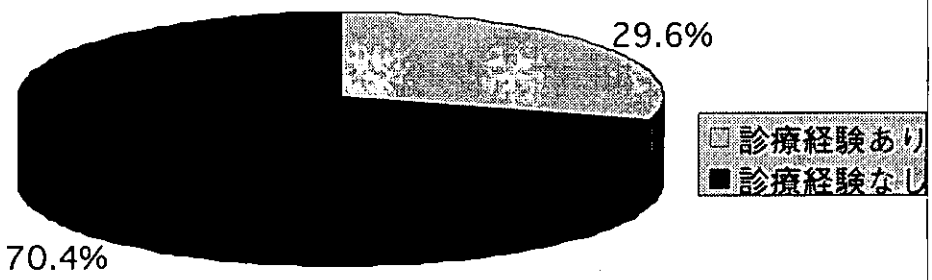

図1　エイズ拠点病院におけるHIV陽性婦人診療経験の有無(n=233)

これらの施設で HIV 陽性婦人に対し，何らかの STD 検査または子宮頚部スメアテストを実施されている症例が 72 例あった（平成 14 年度にすでに回答されていたものを含む）。これらの症例について回答をいただいた施設は以下のとおりである。

札幌医科大学産科婦人科学教室
弘前大学産科婦人科学教室
秋田大学産科婦人科学教室
国立仙台病院産婦人科
国立栃木病院産婦人科
国立霞ヶ浦病院産婦人科
旭中央病院産婦人科
防衛医科大学校産科婦人科学教室
都立荏原病院産婦人科
信州大学産科婦人科学教室
長野赤十字病院産婦人科
長野県立須坂病院産婦人科
佐久総合病院産婦人科
諏訪赤十字病院産婦人科
県西部浜松医療センター病院産婦人科
国立東静病院産婦人科
岐阜大学産科婦人科学教室
金沢医科大学産科婦人科学教室
福井大学産科婦人科学教室
京都市立病院産婦人科
大阪大学産科婦人科学教室
広島大学産科婦人科学教室
広島市立広島市民病院産婦人科
産業医科大学産科婦人科学教室
熊本大学産科婦人科学教室
琉球大学産科婦人科学教室

前方視的に HIV 陽性婦人に対する

検索は以下の施設で実施された。
国保旭中央病院産婦人科
国立名古屋病院産婦人科
国立大阪病院産婦人科
三重県立医療センター産婦人科
新潟大学産婦人科

これらの施設においては HIV 陽性婦人に対して、十分な説明のもと、同意を得て検索を行った。

何らかの STD 検査または子宮頚部スメアテストを実施されている 88 症例の国籍別人数を図 2 に示した。88 例中日本人は 37 例であり，タイが 32 例，ブラジルが 8 例であり，その他が 9 例，国籍不明（記載なし）が 2 例であった。

年令階層別の人数を図3に示した。20 才未満が 1 例、20-24 才が 9 例，25-29 才が 27 例，30-34 才が 25 例、35-39 才の 13 例，40 才以上が 9 例であった。

クラミジア DNA 検査が実施された症例は 61 症例であり、このうち 9 例（14.8%）が陽性であった。年令階層別の陽性率を図 4 に示した。

19 才以下で 1 例中 1 例、20-24 才では 6 例中 3 例（50.0%）、25-29 才で 20 例中 3 例（15.0%）で陽性であった。また、30-34 才で 19 例中 2 例（10.5%）で陽性であったが、35 才以降では陽性例は認められなかった。

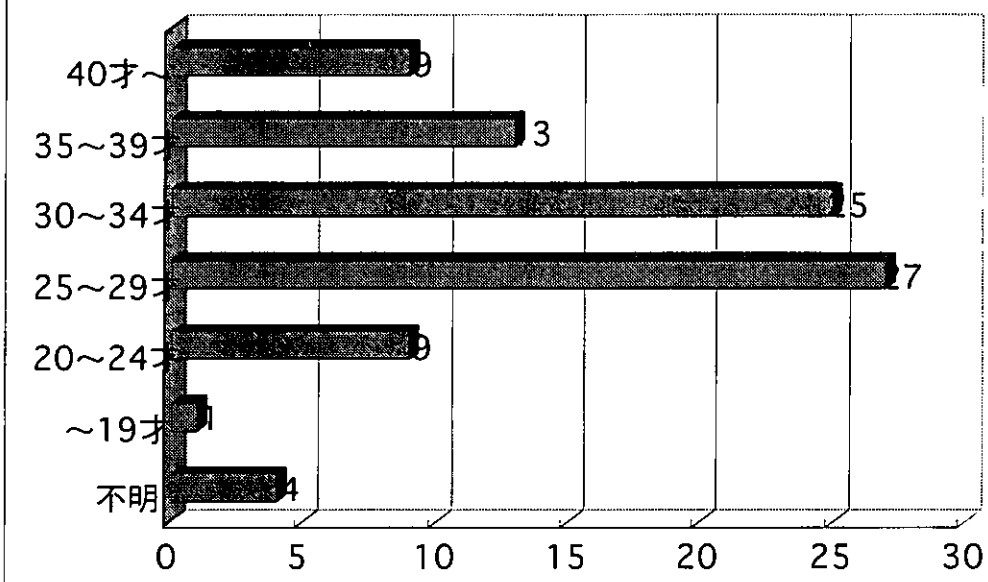

図2　年齢別患者数

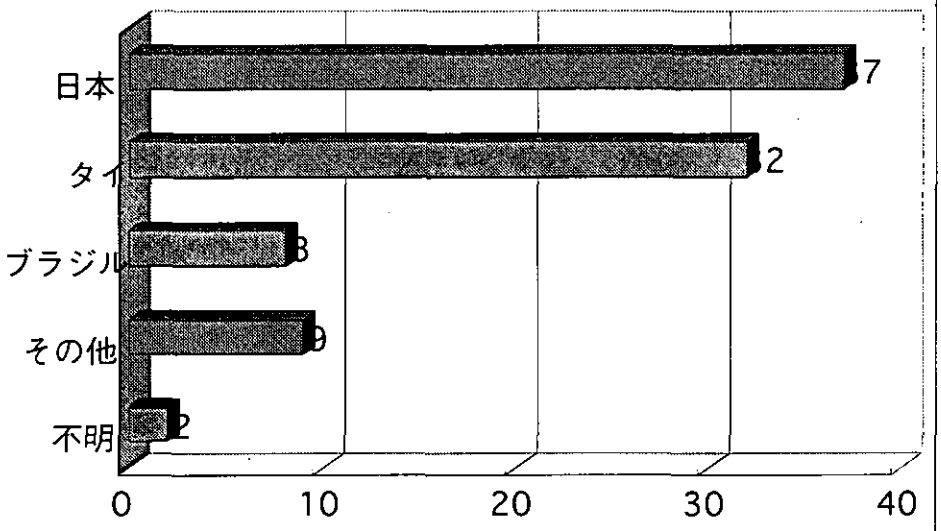

図3　国別患者数

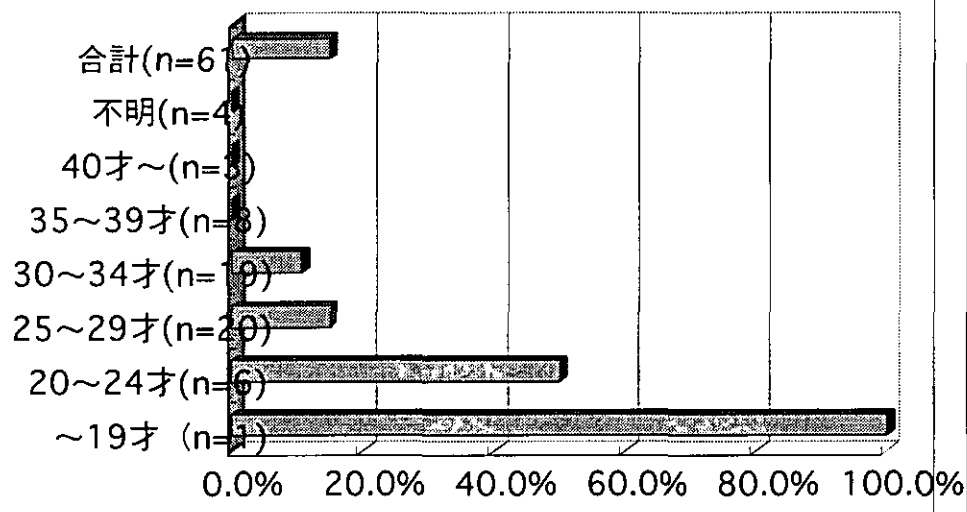

図4　　HIV陽性婦人におけるクラミジア陽性率

淋菌については 34 例で検査が実施されたが，陽性例は認められなかった。

子宮頚部のスメアテストについては 76 症例で実施されているが、クラス別の例数を図 5 に示した。Class I が 31 例（40.8%），Class II が 23 例（30.3%）であり，正常と判断される症例が 71.1%であった。一方, Class IIIa が 17 例（22.4%），Class IIIb が 2 例(2.6%)、Class IV が 1 例(1.3%)、Class V が 2 例（2.6%）であった。Class IIIa 以上の割合は，28.9%であり，一般婦人における IIIa 以上の割合に比較し，著しく高率である。年齢階層別の Class IIIa 以上については、20-24 才では 10 例中 3 例(30.0%)、25-29 才では 28 例中 4 例（14.3%)、30-34 才では 33 例中 11 例（33.3%)、35-39 才では 18 例中 3 例（16.7%）であり、40 才以上では 10 例中 1 例（10.0%）であった。

また，HPV については，23 例で検査が実施され，14 例（60.9%）に陽性であった（図 7)。

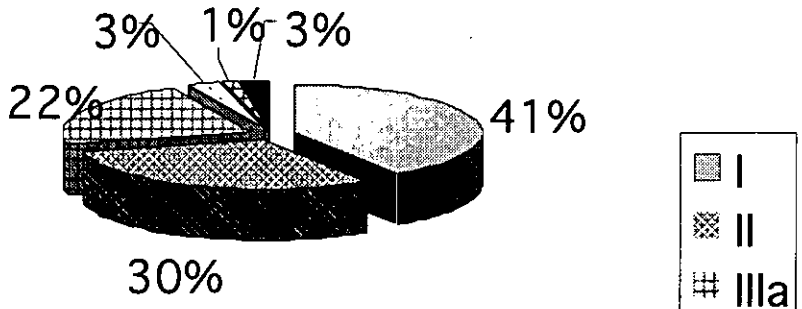

図5　HIV陽性婦人における子宮頚部スメアテスト結果

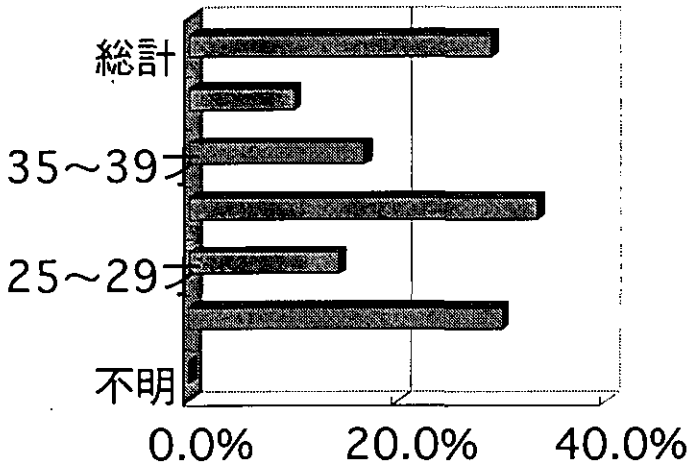

図6　HIV陽性婦人における子宮頚部スメアIIIa以上症例の割合

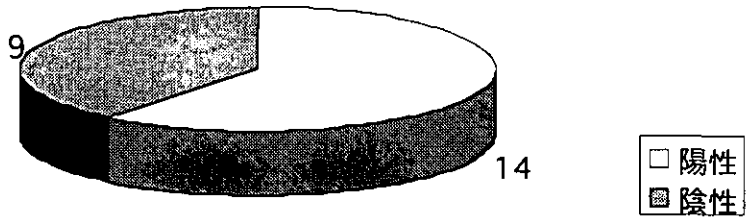

図7　　HIV陽性婦人におけるHPV陽性率

2-2）多施設共同による若年婦人を対象としたHIV検査の実施

A. 研究目的

すでに述べたように本邦におけるHIVの感染者およびAIDSの患者数は増加傾向にあることが指摘されており，平成22年度には，患者数が5万人に達すると推計されている。このようなHIVも含めた性感染症(STD)の増加は重大な問題であり，その対策は緊急の課題である。

平成12年度から平成14年度の厚生労働科学研究費補助金「エイズ対策研究事業・妊産婦のSTD及びHIV陽性率と妊婦STD及びHIVの出生児に与える影響に関する研究」において、一般妊娠婦人における子宮頚管クラミジアDNAおよび淋菌ならびにヒトパピローマウイルス（HPV）の検索を行い、10才台および20才台前半の妊娠婦人において、陽性率が高いことを指摘した。一方、これらの感染の可能性が高い人工妊娠中絶術を施行された婦人においてHIV抗体の検査実施率は極めて低い状況であった。今回の研究では帯下感，出血などの有症状婦人，STD検査希望，人工妊娠中絶術希望者などHIV感染に関し、ハイリスクと考えられる婦人特に若年婦人層における感染実態を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

若年婦人におけるSTDおよびHIV抗体の陽性率に関する検討については，東京都，神奈川県における開業産婦人科医院326施設中，若年婦人の受診が見込める203施設を対象に，多施設共同研究参加の意志を確認した。その結果33施設が本研究に参加の意志を示したが、結果的には26施設が参加した。参加施設は以下のとおりである（順不同）。

まつしま産婦人科・小児科クリニック（東京都江戸川区）
育良クリニック（東京都目黒区）
宇田川産婦人科（東京都江戸川区）
永井産婦人科（東京都立川市）
塩口産婦人科（東京都太田区）
横田医院（東京都板橋区）
岡本産婦人科医院（横浜市金沢区）
関根産婦人科医院（東京都練馬区）
久保田病院（東京都練馬区）
銀座医院（東京都中央区）
高島平クリニック（東京都板橋区）
桜井産婦人科（横浜市港北区）
小川クリニック（東京都豊島区）
水口病院（東京都武蔵野市）
斎藤医院（横浜市港南区）
浅倉クリニック（東京都江戸川区）
大倉山レディースクリニック（横浜市港北区）
池川クリニック（横浜市金沢区）
竹下医院（東京都新宿区）
仲町台レディースクリニック（横浜市都筑区）
畑中医院（東京都西東京市）
樋口産婦人科医院（東京都江東区）
美しが丘ウイメンズクリニック（横浜市青葉区）
米山医院（東京都足立区）
牧野クリニック（神奈川県平塚市）
本間ウイメンズクリニック（横浜市都筑区）

これらの施設において、30才未満の帯下感，出血などの有症状婦人，STD検査を希望する婦人，人工妊娠中絶術希望者などに対し，十分なイ

ンフォームドコンセントを行い，クラミジア DNA、淋菌 DNA，HIV 抗体の各検査を実施した。

C. 研究成果

1. HIV 抗体陽性率

若年婦人における HIV 抗体の陽性率については，831 名が HIV 抗体検査を受けいずれも陰性であった。年齢内訳は 19 才以下が 156 名，20-24 才が 327 名，25 才以降が 348 名であった。

クラミジア DNA については 386 例に検査が行われれ、41 例（10.6%）で陽性であった。年齢別陽性率に関しては、19 才以下では 61 名中 16 名（26.2%）、20-24 才では 152 例中 15 例(9.9%)に、25 才以降では 173 例中 10 例(5.8%)で陽性であり、19 才以下の階層で有意に高率であった（図 8)。

淋菌 DNA については 379 例に検査が行われれ 6 例（1.6%）で陽性であった。年齢別陽性率に関しては、19 才以下では 61 名中 2 名（3.3%）、20-24 才では 149 例中 2 例(1.3%)に、25 才以降では 169 例中 2 例(1.2%)で陽性であり、19 才以下の階層で高率であった（図 9)。

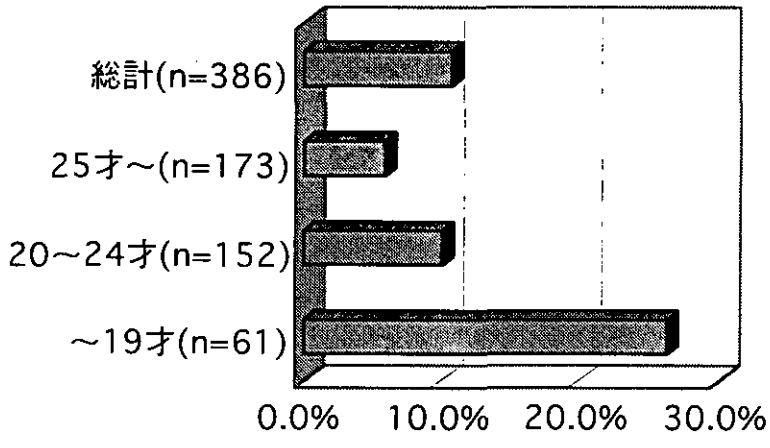

図8　年齢階層別クラミジア陽性率

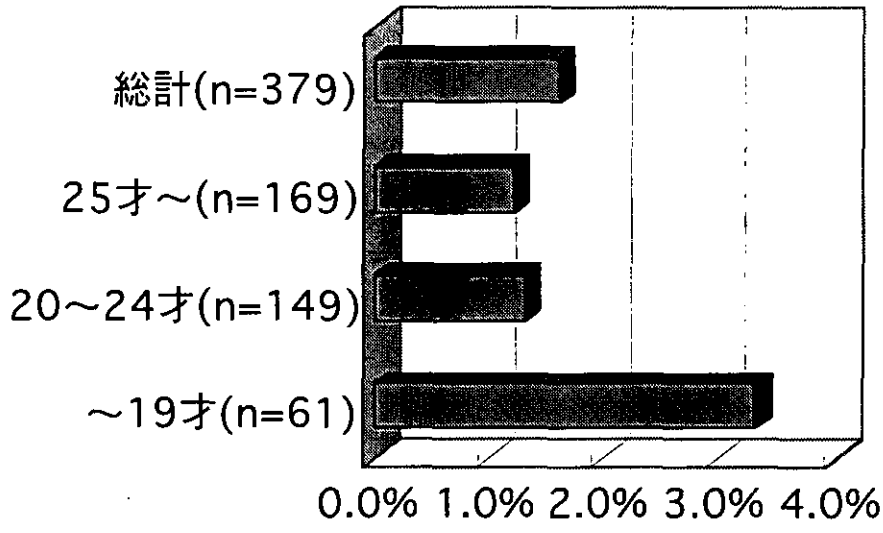

図9　年齢階層別淋菌陽性率

D.　考察

HIV も含めた STD の感染状況については国により大きな差異がある。特に HIV 感染者については欧米，東南アジア諸国，アフリカ諸国などでは高い感染率を示しているが、本邦においては一般人口における HIV 抗体陽性率はいまだ高いものではないが、徐々に感染が拡大していることが危惧されている状況である。

HIV 陽性婦人では，免疫能の低下から，STD 感染を起こしやすいことが指摘されているが，その実態を明らかにするために，平成 14 年度の厚生労働科学研究費補助金「エイズ対策研究事業・妊産婦の STD 及び HIV 陽性率と妊婦 STD 及び HIV の出生児

に与える影響に関する研究」において、エイズ拠点病院に対するアンケート調査を実施，後方視的な検討を行った。これにより、各種 STD の陽性率が高い傾向が示されたが、今年度の研究においては、これら、すでに検査を実施された症例に関する個票による STD 調査とともに、前方視的に検査を行い、HIV 陽性婦人における STD の実態を明らかにすることを目的とした。全国のエイズ拠点病院 363 施設に対し、アンケート調査用紙を送付し、協力を依頼したが、233 施設（64.2%）から回答が得られた。これら 233 施設の産婦人科で HIV 陽性婦人を診察した経験のある施設は 69 施設（29.6%）であり，エイズ拠点病院においても HIV 陽性婦人の診療を行ったことのない，産婦人科医師が相当数いることが示された。

何らかの STD 検査または子宮頚部スメアテストを実施されている 88 症例の国籍別人数では日本人は 37 例であり，タイが 32 例，ブラジルが 8 例であり，その他が 9 例，国籍不明（記載なし）が 2 例であった。

クラミジア DNA 検査が実施された症例は 61 症例であり、このうち 9 例（14.8%）が陽性であった。年令階層別の陽性率では、24 才以下の症例で 7 例中 4 例で陽性であり、若年婦人に高率である傾向が認められた。

若年婦人における HIV 抗体に関するの陽性率の研究については、東京都および神奈川県の開業産婦人科施設において、30 才未満の帯下感，出血などの有症状婦人，STD 検査を希望する婦人，人工妊娠中絶術希望者などに対し，十分なインフォームドコンセントを行い，クラミジア DNA、淋菌 DNA，HIV 抗体の各検査を実施した。

クラミジア DNA については 386 例に検査が行われれ、41 例（10.6%）で陽性であった。年齢別陽性率に関しては、19 才以下の階層で有意に高率であった。今回の検討では HIV 陽性者は認められなかったが若年婦人における STD の蔓延の状況を考慮すると今後とも検討を行なう必要があるものと判断される。

E. 結論

本研究により若年婦人における HIV 感染はいまだに低率であるものの，各種 STD の感染の状況とくに若年婦人において，広く蔓延している実態が明らかになった。今後さらに，若年層を中心とした検索が重要であると判断された。

一方，今回の結果は HIV 陽性婦人に対する，健康管理の観点から，STD などの検査を積極的に実施することが望ましいことを示すデータであると判断され、今後さらに前方視的に検索を行なうことが重要であると判断された。

発表

論文

1) Watanabe, M., Aoki, Y., Kurata, H. and Tanaka, K. Pneumocystis carinii pneumonia in a patient with stage IV ovarian cancer. Gynecol. Oncol. 87: 225-227, 2002.

2) Kurata, H., Takakuwa, K., Tsuneki, I., Aoki, Y. and Tanaka, K. Circulating highly fluorescent reticulocytes to predict the adequate harvesting of peripheral blood progenitor cells in platinum- based chemotherapy. Transfus. Apheresis Aci. 27: 199-202, 2003.

3) Suzuki, M., Kurabayashi, T., Yamamoto, Y., Fujita, K. and Tanaka, K. Effect of antioxidant treatment in oligozoospermic and asthenozoospermic men. J. Reprod. Med. 48: 707-712, 2003

4) Kato, S., Saito, R., Hiraishi, Y., Kitamura, N., Matsumoto, T., Hanabusa, H., Kamakura,
M. , Ikeda, Y. and Negishi, M. Differential prevalence of HIV type 1 subtype B and CRF01_AE among different sexual transmission groups in Tokyo, Japan, as revealed by subtype-specific
PCR. AIDS Res. Hum. Retroviruses. 19: 1057-1063, 2003.

5) Hanabusa, H. Author reply 464-5. Should treatment of hepatitis C in HIV-seropositive and HIV-seronegative patients with hemophilia include induction doses of interferon? Clin. Infect. Dis. 37: 463-464, 2003.

6) 高桑好一，田村正毅，田中憲一. 産婦人科診療所における妊婦 HIV 抗体検査実施に関するアンケート調査結果 -平成 13 年度厚生労働省エイズ対策研究事業による- 日本産科婦人科学会新潟地方部会会誌. 89：31-34, 2003.

7) 高桑好一，田中憲一. 産婦人科診療へのアプローチ. HIV. 産科と婦人科，71suppl：56-59，2004.

8) Tanaka, Y., Kato, S., Tanaka, M., Kuji, N., and Yoshimura, Y. (2003) Structure and expression of the human oocyte-specific histone H1 gene elucidated by direct RT-nested PCR of a single oocyte. Biochem. Biophys. Res. Commun. 304, 351–357.

9) 神野正雄、酒井謙、近藤憲一、井上保、山井礼子、小池麻耶、岩下光利、中村幸雄、花房秀次、兼子智、加藤真吾. (2003) 夫 HIV 陽性、妻 HIV 陰性の夫婦に対する洗浄精子 ICSI による本邦最初妊娠例. 日本産婦人科学東京地方部会会誌 52(1), 100–103.

10) 金田次弘、加藤真吾、山元泰之、千葉智子、杉浦亙. (2003) 抗 HIV 療法のモニタリング. 日本エイズ学会誌 5(1), 109–112.

口頭発表

1) 花房秀次, 加藤真吾, 兼子智, 鈴木美奈, 高桑好一, 久慈直昭, 吉村泰典, 神野正雄,岩下光利, 田中憲一. HIV 除去精子を用いた体外受精の臨床成績と今後の課題. 日本エイズ学会, 2003年，神戸.

2) 花房秀次, 木内英, 田中理恵, 太田未緒, 和田育子, 小島賢一, 加藤真吾. 2003年における抗HIV療法の有効

性と課題. 日本エイズ学会，2003年，神戸.

3）山中晃、萩原剛、青木眞、味沢篤、岡慎一、木村哲、白坂琢磨、高田昇、花房秀次、三間屋純一、福江英尚、山本泰之、西田恭治、永泉圭子、佐々木昭仁、福武勝幸. HIV/HCV共感染血友病患者に対するPEGインターフェロンα-2bとリバビリン併用療法の中間経過報告（厚生労働省エイズ治療薬研究班治療研究）日本エイズ学会，2003年，神戸.

4）山中晃、青木眞、味沢篤、岡慎一、木村哲、白坂琢磨、高田昇、花房秀次、三間屋純一、佐々木昭仁、永泉圭子、山本泰之、西田恭治、福武勝幸.HIV陽性C型慢性肝炎血友病患者に対するインターフェロンα-2bとリバビリン併用療法の安全性と有効性 （厚生労働省エイズ治療薬研究班治療研究）. 日本エイズ学会，2003年，神戸.

5）高桑好一，加嶋克則，鈴木美奈，藤田和之，花房秀次，加藤真吾，兼子智，田中憲一. HIV感染男性，非感染女性夫婦に対するHIV除去精子浮遊液を用いた体外受精-胚移植の成績. 日本産科婦人科学会北日本連合地方部会，福島市，2003年

知的所有権の取得状況

1．特許取得

なし

2．実用新案登録

なし

3．その他

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

1. 高桑好一，田村正毅，田中憲一．産婦人科診療所における妊婦 HIV 抗体検査実施に関するアンケート調査結果 -平成 13 年度厚生労働省エイズ対策研究事業による- 日本産科婦人科学会新潟地方部会会誌．89：31-34，2003.

2. 高桑好一，田中憲一．産婦人科診療へのアプローチ．HIV. 産科と婦人科，71suppl：56-59，2004.

3. Suzuki, M., Kurabayashi, T., Yamamoto, Y., Fujita, K. and Tanaka, K. Effect of antioxidant treatment in oligozoospermic and asthenozoospermic men. J. Reprod. Med. 48: 707-712, 2003.

4. Kato, S., Saito, R., Hiraishi, Y., Kitamura, N., Matsumoto, T., Hanabusa, H., Kamakura,
M. , Ikeda, Y. and Negishi, M. Differential prevalence of HIV type 1 subtype B and CRF01_AE among different sexual transmission groups in Tokyo, Japan, as revealed by subtype-specific
PCR. AIDS Res. Hum. Retroviruses. 19: 1057-1063, 2003.

5. Tanaka, Y., Kato, S., Tanaka, M., Kuji, N., and Yoshimura, Y. (2003) Structure and expression of the human oocyte-specific histone H1 gene elucidated by direct RT-nested PCR of a single oocyte. Biochem. Biophys. Res. Commun. 304, 351–357.

6. 神野正雄、酒井謙、近藤憲一、井上保、山井礼子、小池麻耶、岩下光利、中村幸雄、花房秀次、兼子智、加藤真吾．(2003) 夫 HIV 陽性、妻 HIV 陰性の夫婦に対する洗浄精子 ICSI による本邦最初妊娠例．日本産婦人科学東京地方部会会誌 52(1), 100–103.

20030558

以降は雑誌/図書等に掲載された論文となりますので、
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。