

# Open TG-GATES

このDBについて データ検索 公開データ一覧 利用許諾条件 お問い合わせ

> Top > Liver > Increased mitosis

Pathology Glossary

## Finding: Increased mitosis

All (380 Pathological items)  
⊕ 28 compounds

Bile duct cell (19 Pathological items)  
⊕ 1 compounds

Centrilobular (4 Pathological items)  
⊕ 1 compounds

Hepatocyte (232 Pathological items)  
⊕ 21 compounds

Midlobular (76 Pathological items)  
⊕ 2 compounds

Copyright (C) 2008-2011 National Institute of Biomedical Innovation, All Rights Reserved

# Open TG-GATES

このDBについて データ検索 公開データ一覧 利用許諾条件 お問い合わせ

> Top > Liver > Increased mitosis > Hepatocyte

Pathology Glossary

## Topography: Hepatocyte

Pathological items: 232 items

Refine by Compound:

Refine by Dose x Time:

No.	Cell	Compound	Finding	Topography	Grade	Dose	Time	Image
1	No ChipData (-)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	High	3 hr	-
2	003017456028 (CEL)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	High	4 day	-
3	003017456029 (CEL)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	High	4 day	-
4	003017456030 (CEL)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	High	4 day	-
5	No ChipData (-)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	High	4 day	-
6	003017491017 (CEL)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	Middle	3 hr	-
7	No ChipData (-)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	Middle	3 hr	-
8	No ChipData (-)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	Middle	3 hr	-
9	003017456027 (CEL)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	Middle	4 day	-
10	No ChipData (-)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	Middle	4 day	-
11	003017457009 (CEL)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	Middle	8 day	-
12	003017491019 (CEL)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	Low	3 hr	-
13	003017456024 (CEL)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	Low	4 day	-

Continued

# Open TG-GATES

このDBについて データ検索 検索データ一覧 利用許諾条件 お問い合わせ

> Top > Liver > Increased mitosis > Hepatocyte

Pathology Glossary

Refine by Dose & Time:

High: 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50

No	CEL	Compound	Finding	Topography	Grade	Dose	Time	Image
1	No ChipData (-)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	High	3 hr	-
2	003017456028 (CEL)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	High	4 day	-
3	003017456029 (CEL)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	High	4 day	-
4	003017456030 (CEL)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	High	4 day	-
5	No ChipData (-)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	High	4 day	-
6	003017491011 (CEL)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	Middle	3 hr	-
7	No ChipData (-)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	Middle	3 hr	-
8	No ChipData (-)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	Middle	3 hr	-
9	003017456027 (CEL)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	Middle	4 day	-
10	No ChipData (-)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	Middle	4 day	-
11	003017457009 (CEL)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	Middle	8 day	-
12	003017491012 (CEL)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	Low	3 hr	-
13	003017456024 (CEL)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	Low	4 day	-

# Open TG-GATES

このDBについて データ検索 検索データ一覧 利用許諾条件 お問い合わせ

> Top > Liver > Increased mitosis > Hepatocyte

Pathology Glossary

Topography: Hepatocyte

Pathological items: 232 Items

Refine by Compound: methazepine

Refine by Dose & Time: High: 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50

No	CEL	Compound	Finding	Topography	Grade	Dose	Time	Image
1	No ChipData (-)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	High	3 hr	-
2	003017456028 (CEL)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	High	4 day	-
3	003017456029 (CEL)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	High	4 day	-
4	003017456030 (CEL)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	High	4 day	-
5	No ChipData (-)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	High	4 day	-
6	003017491011 (CEL)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	Middle	3 hr	-
7	No ChipData (-)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	Middle	3 hr	-
8	No ChipData (-)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	Middle	3 hr	-
9	003017456027 (CEL)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	Middle	4 day	-
10	No ChipData (-)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	Middle	4 day	-
11	003017457009 (CEL)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	Middle	8 day	-
12	003017491012 (CEL)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	Low	3 hr	-
13	003017456024 (CEL)	bendazac	Increased mitosis	Hepatocyte	minimal	Low	4 day	-

# Open TG-GATEs



このDBについて データ検索 公開データ一覧 利用許諾条件 お問い合わせ

> Top > Liver > Increased mitosis > Hepatocyte

➡ Pathology Glossary

## Topography: Hepatocyte

Pathological items: 3 items

Refine by Compound: methapyrilene GO  
Refine by Dose x Time: High x 29 day GO

No	CEL	Compound	Finding	Topography	Grade	Dose	Time	Image
1	003017651021 (CEL)	methapyrilene	Increased mitosis	Hepatocyte	slight	High	29 day	o
2	003017651022 (CEL)	methapyrilene	Increased mitosis	Hepatocyte	slight	High	29 day	-
3	003017651023 (CEL)	methapyrilene	Increased mitosis	Hepatocyte	slight	High	29 day	-

Copyright (C) 2008-2011 National Institute of Biomedical Innovation, All Rights Reserved

### 資料

#### 病理所見用語集

1	肝臓	2
(1)	Topography	2
(2)	Findings (非腫瘍性病変)	5
(3)	Findings (腫瘍性病変)	10
2	腎臓	12
(1)	Topography	12
(2)	Findings (非腫瘍性病変)	14
(3)	Findings (腫瘍性病変)	18
3	Qualifier (Distribution)	20
4	Grade	21

本用語集は国立医薬品食品衛生研究所のホームページに掲載されている病理所見用語集 (<http://www.nihs.go.jp/center/yougo/byouri.html>, 1994年) を一部改変したものである。

2007年2月28日  
トキシコゲノミクスプロジェクト  
毒性病理部門

1 肝臓

(1) Topography

TYPE_ID	英語名	日本語名
TO-L0001	DEAD	死亡
TO-L0002	NA	観察対象外
TO-L0010	Acinus	細葉
TO-L0020	Arteriole	細動脈
TO-L0030	Artery	動脈
TO-L0040	Artery, celiac	腹腔動脈
TO-L0050	Artery, hepatic	肝動脈
TO-L0080	Artery, interlobular	小葉間動脈
TO-L0070	Bile canaliculoductular junction	毛細・細胆管接合部 (介在部)
TO-L0080	Bile canaliculus	毛細胆管
TO-L0090	Bile duct	胆管
TO-L0100	Bile duct, interlobular	小葉間胆管
TO-L0110	Bile duct cell	胆管細胞
TO-L0120	Bile ductule	細胆管
TO-L0130	Biliary tract	胆道
TO-L0140	Blood vessel	血管
TO-L0150	Capillary	毛細血管
TO-L0160	Capillary, sinusoidal	窦様毛細血管
TO-L0170	Caudate lobe	尾状葉 (尾状突起、乳頭突起)
TO-L0180	Centrilobular	小葉中心性
TO-L0190	Cholangiocyte	胆管細胞
TO-L0200	Choledochus	総胆管
TO-L0210	Common bile duct	総胆管
TO-L0220	Connective tissue	結合組織
TO-L0230	Connective tissue, interlobular	小葉間結合組織
TO-L0240	Connective tissue, periportal	門脈周囲結合組織
TO-L0250	Disse's space	ディッセ腔
TO-L0260	Endothelium	内皮細胞
TO-L0270	Fat storing cell	脂肪蓄積細胞
TO-L0280	Glisson's sheath (囊)	グリソン鞘 (囊)
TO-L0290	Hepatic oord	肝細胞索
TO-L0300	Hepatic duct	肝管
TO-L0310	Hepatic plate	肝細胞板
TO-L0320	Hepatocyte	肝細胞
TO-L0330	Hering duct	ヘリング管
TO-L0340	Hilus hepatis	肝門

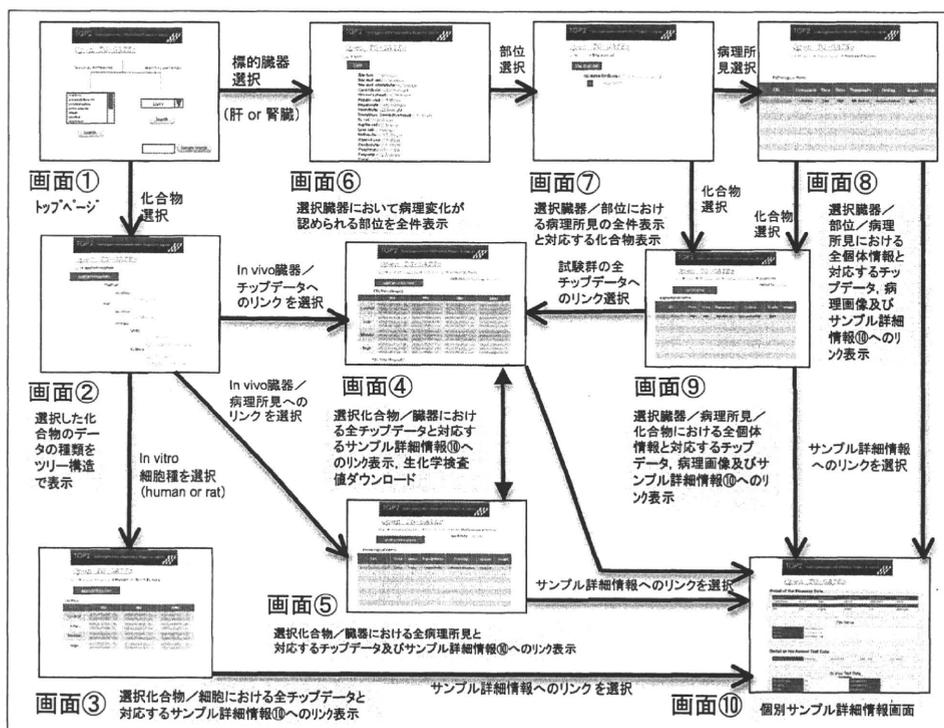
# Open TG-GATES

このDBについて    データ検索    公開データ一覧    **利用許諾条件**    お問い合わせ

## データベース利用許諾条件

- 本データベースは、トキシコゲノミクスプロジェクトおよびトキシコゲノミクス・インフォマティクスプロジェクトにより作成されました。
- 本データベースの利用においては、データベースの全部または一部に自由にアクセスし、データの取得、再配布および二次的著作物の作成・配布ができます。但し、本データベースの利用にあたっては、以下で定める利用許諾条件を遵守して下さい。
  - 本データベースの全部または一部、あるいは二次的著作物の配布に際しては、本データベースの作成者のクレジットを表示して下さい。本データベースのクレジットは、トキシコゲノミクスプロジェクト (Toxicogenomics Project) およびトキシコゲノミクス・インフォマティクスプロジェクト (Toxicogenomics Informatics Project) です。
  - 本データベースの全部または一部のデータを利用して作成された二次的著作物は、この利用許諾を継承して配布して下さい。
  - 本データベースを利用して研究を行い、その成果を論文に記載する場合は、論文中に必ず本データベースを引用して、本データベース名称 (Open TG-GATES) とURL (<http://toxico.nibio.go.jp>) を記載して下さい。
  - 本利用許諾で許諾されていない事項については、以下の問合せ先に連絡をとり、利用許諾を求めて下さい。

問い合わせ先  
独立行政法人 医薬基盤研究所  
医薬基盤研究所  
トキシコゲノミクス・インフォマティクスプロジェクト  
〒567-0085 大阪府茨木市影部あさぎ7-6-4  
TEL: 072-641-9926  
EMAIL: [opentggates@nibio.go.jp](mailto:opentggates@nibio.go.jp)



## TGP2共同研究体制

- リーダー : 大野泰雄(国立医薬品食品衛生研究所)
  - サブリーダー : 漆谷徹郎(基盤研、同志社女子大)
  - 基盤研サブリーダー : 山田 弘
  - 基盤研顧問 : 奥野恭史(京都大学)
- 医薬基盤研究所: 中津則之、箕輪洋介、五十嵐芳暢
- 国立医薬品食品衛生研究所: 菅野純(分担研究者)、小野敦(WG)
- 同志社女子大学薬学部: 水川裕美子(分担研究者)
- 東京農工大学: 三森国敏(分担研究者)
- 製薬企業13社: アステラス、エーザイ、大塚、小野、キッセイ、三和化学、塩野義、住友化学、第一三共、大日本住友、武田、田辺三菱、中外
- バイオマーカーWG チームリーダー: 小野敦(国衛研)、廣出充洋(武田)、上原健城(塩野義)、中津則之(基盤研)、住田佳代(住友)、堀之内彰(武田)、南圭一(小野)
- 血液ゲノミクスWG: 神吉将之(リーダー・アステラス)、宮本実(サブリーダー・武田)
- パリエーションWG: 矢本敬(リーダー・第一三共)
- 研究支援部門: 矢本敬(第一三共)、新田浩之(小野)、廣出充洋(武田)、上原健城(塩野義)、宇波明(アステラス)、垣内太(エーザイ)



## 大規模トキシコゲノミクスデータベースの インフォマティクス解析による 安全性バイオマーカー探索

第37回日本トキシコロジー学会学術年会

@沖縄県宜野湾市

(2010年6月16日)

箕輪洋介、山田弘

(独)医薬基盤研究所

トキシコゲノミクス・インフォマティクスプロジェクト (TGP2)

1

### Outlines

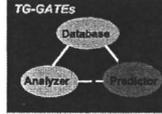
- トキシコゲノミクス(・インフォマティクス)プロジェクト(TGP1/TGP2)、及び取得データの概要
- Phenotype-anchoringによるマーカー探索
  - 2-class、multi-class判別分析
  - 相関解析
- Phenotypeのラベルを事前に設定しないアプローチ
  - クラスタ分析による共発現変動遺伝子の抽出

2

## トキシコゲノミクスプロジェクト(TGP1)

期間：平成14年度～平成18年度

研究成果：TG-GATEsを構築



平成19年4月より参加企業で運用開始

**Database** データ：8億件  
 化合物数：150  
 サンプル：ラットの肝臓・腎臓  
           ラット・ヒトの肝細胞  
 データ： 毒性学データ  
           遺伝子発現データ  
           アノテーション情報  
           化合物情報

**Analyzer**  
 遺伝子発現データの標準化, 統計処理  
 クラスター分析, 主成分分析等

**Predictor**  
 毒性予測(判別分析, 主成分分析等)

### 創薬研究初期段階の効率化

- 毒性スクリーニング(探索毒性)**
- ・単回投与データから長期連投の毒性予測
  - ・毒性類似化合物の予測
  - ・*in vivo* - *in vitro*の反応性の比較
- 候補化合物のランク・選択**
- ・毒性の種類・強さの予測
- 毒性メカニズムの解析**
- 毒性バイオマーカーの探索**

## トキシコゲノミクス・インフォマティクスプロジェクト(TGP2)

期間：平成19年度～平成23年度

### 非臨床・臨床試験における安全性検証の効率化

#### I.安全性バイオマーカーの探索研究

- インフォマティクスを駆使したバイオマーカー候補の抽出
- 非臨床レベルでの検証
- TG-GATEsコンテンツの充実

#### II.ヒト外挿性の向上

- 血液のトランスクリプトーム
- メタボロミクス

#### III.レギュラトリーサイエンスの基盤整備

- バリデーション試験

TG-GATEsを最大限に活用、産官学共同研究

## TGP1/TGP2で取得したトキシコゲノミクスデータ

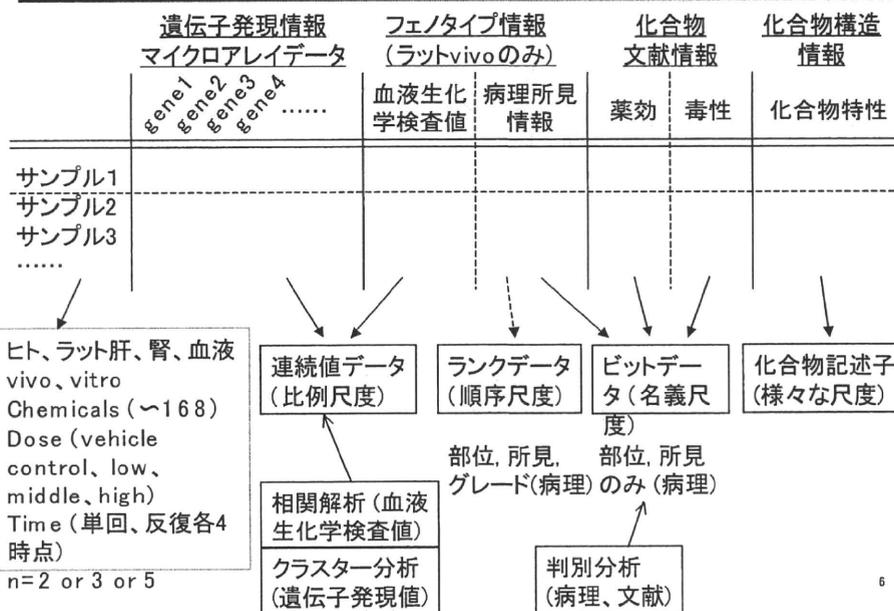
生物種	臓器	テストタイプ	化合物数	用量	時点(単回投与; hr)	時点(反復投与; day)	n数
ラット	肝臓	vivo	168	C, L, M, H	3, 6, 9, 24	4, 8, 15, 29	3
ラット	腎臓	vivo	42	C, L, M, H	3, 6, 9, 24	4, 8, 15, 29	3
ラット	血液	vivo	6	C, M, H	3, 6, 9, 24	4, 8, 15, 29	5
ラット	肝臓	vitro	156	C, L, M, H	2, 8, 24	-	2
ヒト	肝臓	vitro	120	C, L, M, H	2, 8, 24	-	2

(2010年4月時点)

- ・古典的な毒性パラメータ(病理所見・血液生化学検査値等)に紐付けされた遺伝子発現データ(Affymetrix GeneChip)
- ・インフォマティクス解析に加え、適宜、追加動物試験、vitro毒性試験、PCR検証、EM検査、特殊染色等の検証実験を実施。

5

## TGPデータのデータ構造・尺度

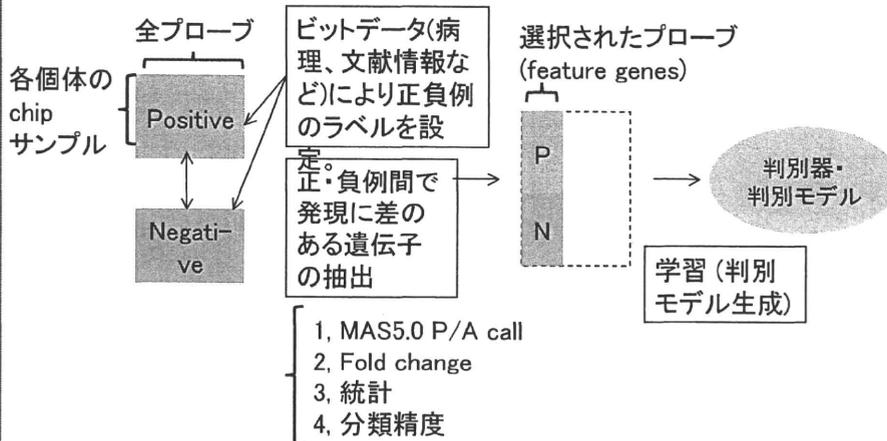


6

## Outlines

- トキシコゲノミクス(・インフォマティクス)プロジェクト(TGP1/TGP2)、及び取得データの概要
- Phenotype-anchoringによるマーカー探索
  - 2-class、multi-class 判別分析
  - 相関解析
- Phenotypeのラベルを事前に設定しないアプローチ
  - クラスタ分析による共発現変動遺伝子の抽出

### Phenotype-anchoringによるマーカー探索 (2-class、multi-class判別分析の手続き)

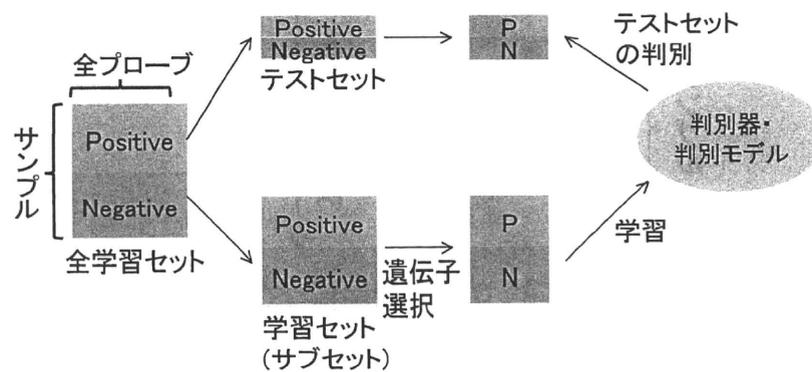


## マーカー遺伝子及び判別モデルの妥当性検証

- 外部テスト化合物における再現性(公共DB、企業内データ、TGPテストデータ・追加データ等)。
- 生物学的妥当性(ラベル、判別結果、feature genes)
- 内部データのインフォマティクス解析(cross-validationなど)による妥当性検証。
  - (i) 判別精度、及び(ii) 汎化性能(over-fittingの有無)の評価。

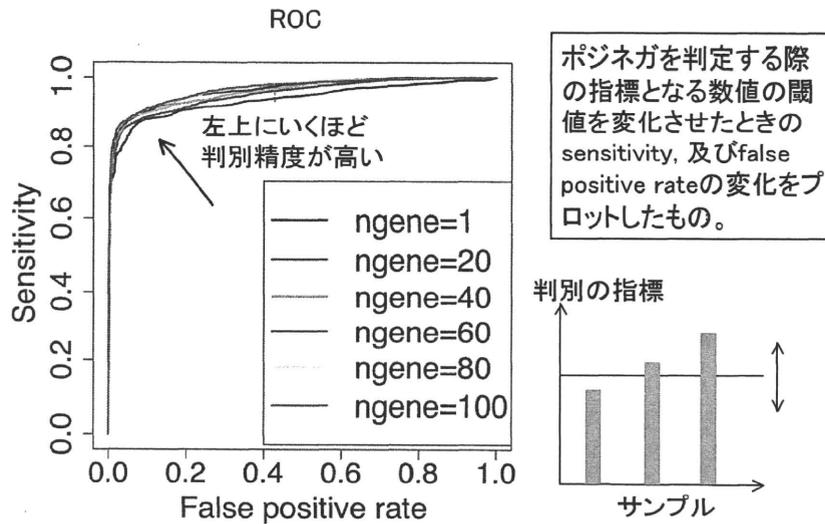
9

## 判別モデルの判別精度評価 (n-fold cross-validation)



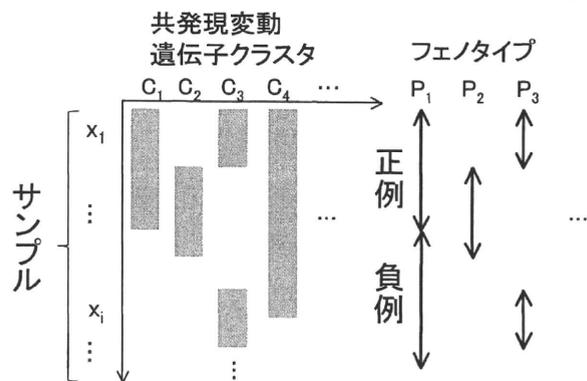
10

## 判別モデルの判別精度評価 (Receiver Operating Characteristic (ROC) curves)



11

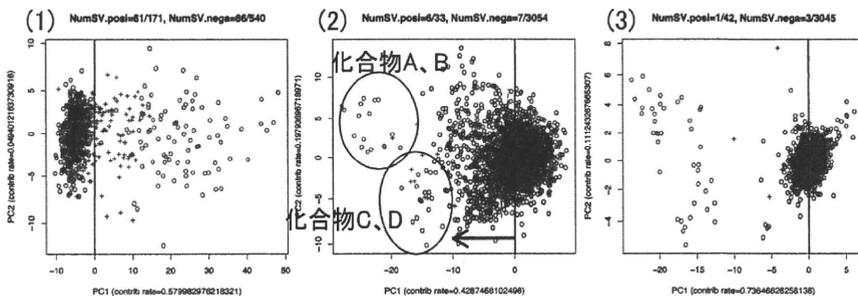
## 判別モデルの汎化性能評価



- $C_1$ は $P_1$ と、 $C_2$ は $P_2$ と、 $C_3$ は $P_3$ と関係している( $C_4$ はクリアに対応するフェノタイプ(毒性学的エンドポイント)が無い)。
- $C_1$ のような遺伝子が無い場合、 $C_{2-4}$ の中から比較的正負例のラベルに当てはまりの良いプローブが選ばれてover-fittingする危険性がある。

12

## 判別モデルの汎化性能評価 (主成分分析)



[理想的なケース]  
 ・ポジネガが第1主成分でクリアに分かれる。  
 ・ポジネガが近接しており、判別平面が一意に決まる。

・ポジコンが化合物で2つに分かれている。  
 ・ネガでも変動している。  
 ・ラベルの設定が不適切なため、over-fittingしている。

・ポジネガの境界付近の情報量が少ない。  
 ・feature geneの絞り込みが不十分。  
 ・判別平面が一意に決まらない(汎化性に欠ける)。

赤; 正例、青; 負例  
 横軸; 第一主成分  
 縦軸; 第二主成分  
 +; サポートベクター

13

## 2-class、multi-class判別分析まとめ

- 判別モデルの妥当性検証においては、判別精度のみならず、汎化性に留意する必要がある。
  - 遺伝子選択手法に起因する問題(データに依存して最適な方法は変わる)。
  - 学習アルゴリズムに起因する問題。
  - ラベルの再考。
  - Phenotype-anchoring 以外のアプローチ(潜在的な多クラスの存在)。

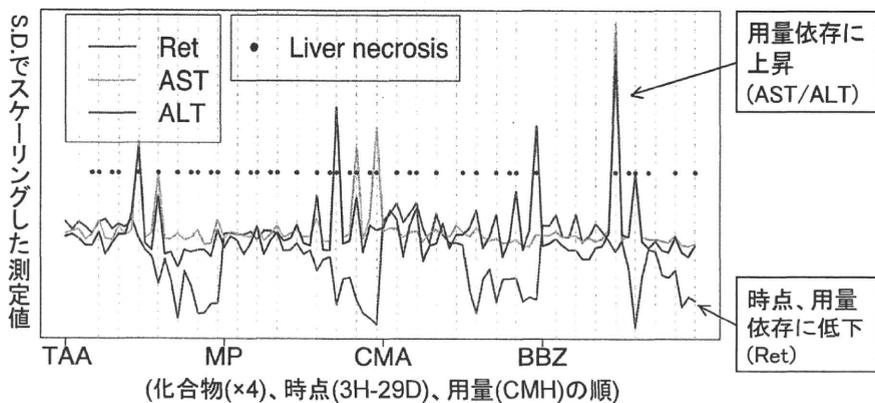
14

## Outlines

- トキシコゲノミクス(・インフォマティクス)プロジェクト(TGP1/TGP2)、及び取得データの概要
- Phenotype-anchoringによるマーカー探索
  - 2-class、multi-class判別分析
  - 相関解析
- Phenotypeのラベルを事前に設定しないアプローチ
  - クラスタ分析による共発現変動遺伝子の抽出

15

### Phenotype-anchoringによるマーカー探索 (遺伝子発現-phenotypeプロファイル相関解析)



- 1, 標的とするphenotype (Liver necrosis, AST/ALT)に、別のphenotype (Reticulocyte)が重なっているため、T検定やFold changeなどの単一時点における用量依存の変動のみをとらえる遺伝子選択法では、分離が困難。
- 2, phenotypeラベルが比例尺度(連続値)や順序尺度(ランク)を含む。

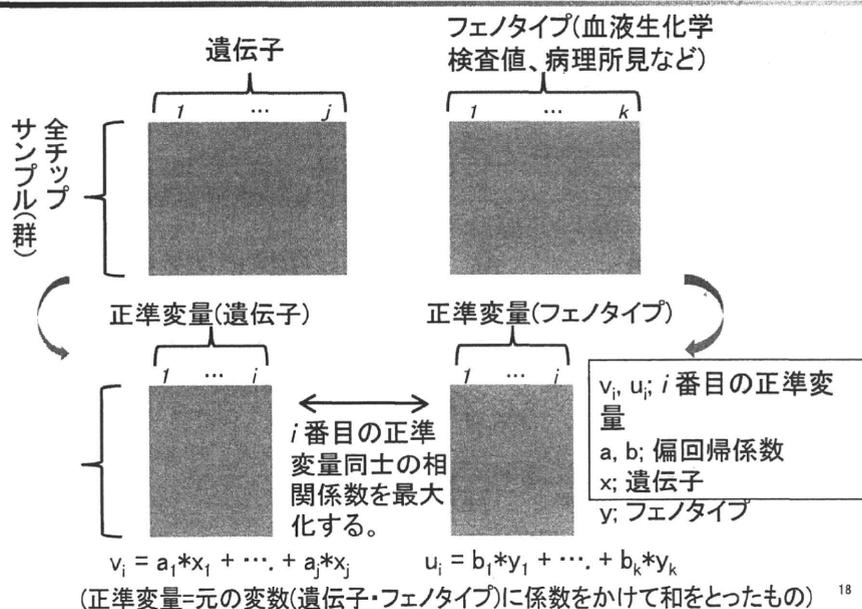
16

## 相関解析手順・注意点

- 1) 解析対象サンプルの数(ベクトルの次元)に留意する(球面集中現象、次元の呪い等、高次元性に起因する問題)
  - 1) 事前知識による対象サンプルの絞り込み、bootstrap resampling 等。
- 2) 遺伝子・phenotypeの選定、次元の縮約など。
  - 1) 発現変動の認められる遺伝子・phenotype (血液学・血液生化学検査値など)の抽出。
    - 1) 低発現領域の除去(遺伝子発現値)
    - 2) エントロピーフィルタ(変動の少ない・小さい遺伝子・phenotype、外れ値の除去)
  - 2) 遺伝子・phenotypeの多重共線性(パターンの重複によるモデルの不安定化)の除去(多変量解析の場合)。
    - 1) 変数選択、クラスタリング。
- 3) 単相関解析、重回帰分析、正準相関分析など。

17

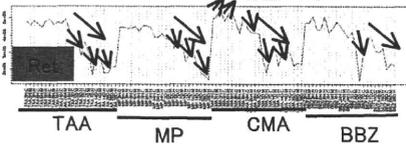
## 正準相関分析 (Canonical Correlation Analysis; CCA)



18

## 第1正準変量

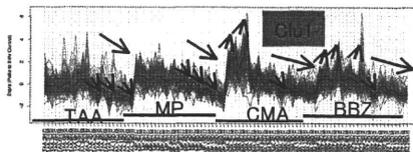
血液生化学検査値



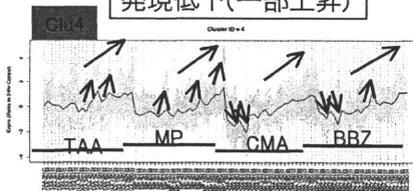
時点、用量依存の  
発現低下(一部上昇)

・ただし、Gene clu4は、gene clu1と共線性のあるため、解析から除外(エントロピーのより大きい gene clu1を採用)。

遺伝子(クラスタ)



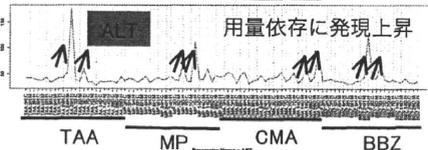
時点、用量依存の  
発現低下(一部上昇)



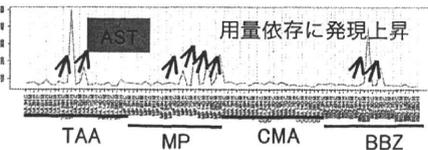
時点、用量依存の  
発現上昇(一部低下)

## 第2、第3正準変量

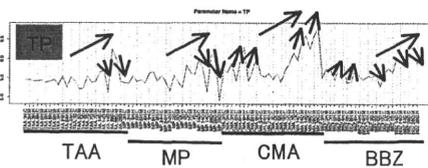
血液生化学検査値



用量依存に発現上昇

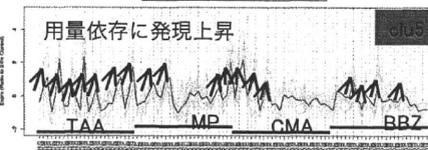


用量依存に発現上昇

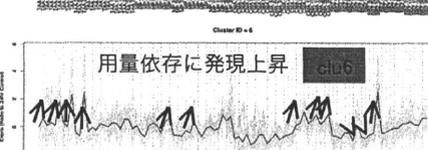


時点依存に発現上昇、用量依存  
に発現上昇/低下(抑制変数)

遺伝子(クラスタ)



用量依存に発現上昇



用量依存に発現上昇

## 相関解析まとめ

- 連続値データの変動プロファイルをラベルとして利用することによる、マーカー遺伝子の分離能の向上。
- データの高次元性に起因する問題。
  - 球面集中現象、次元の呪い。
  - 多重共線性
- 多変量相関解析の利点。
  - 抑制変数の発見・間接相関の除去

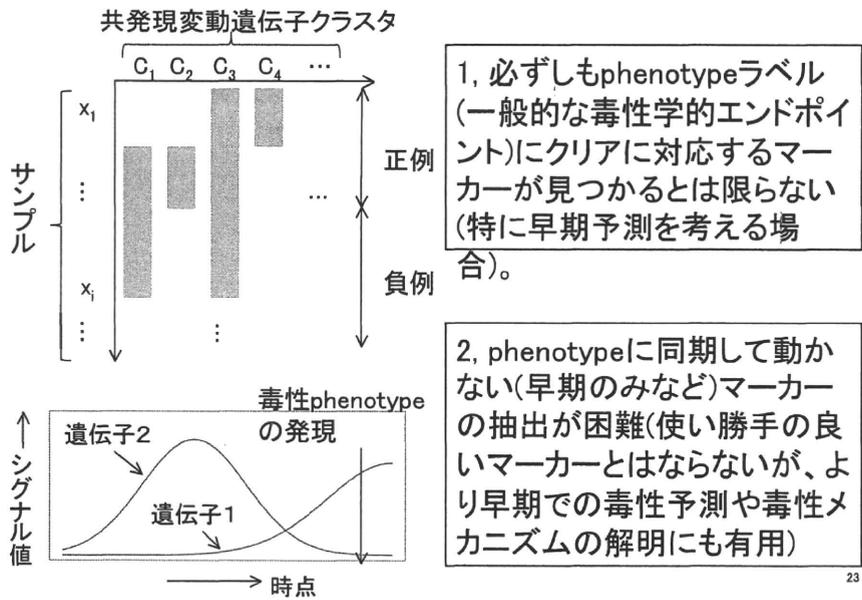
21

## Outlines

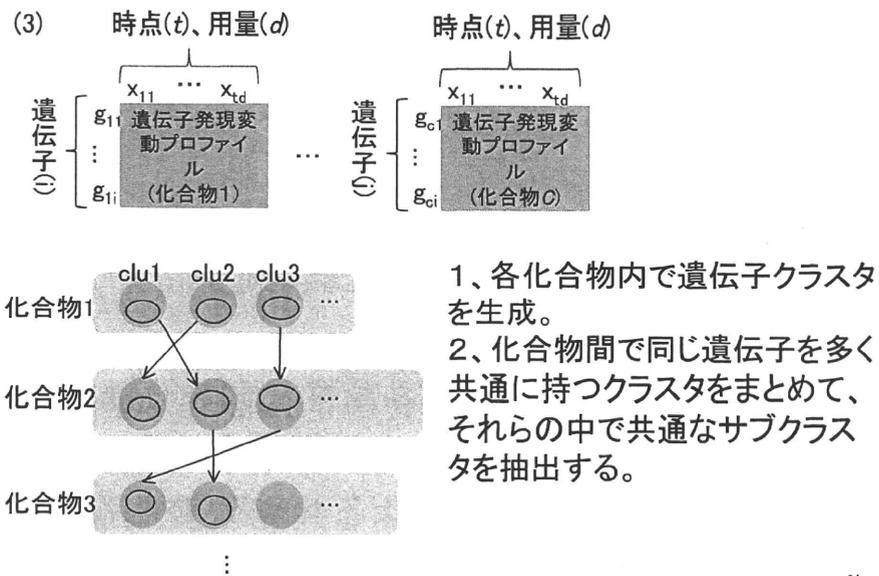
- トキシコゲノミクス(・インフォマティクス)プロジェクト(TGP1/TGP2)、及び取得データの概要
- Phenotype-anchoringによるマーカー探索
  - 2-class、multi-class判別分析
  - 相関解析
- Phenotypeのラベルを事前に設定しないアプローチ
  - クラスタ分析による共発現変動遺伝子の抽出

22

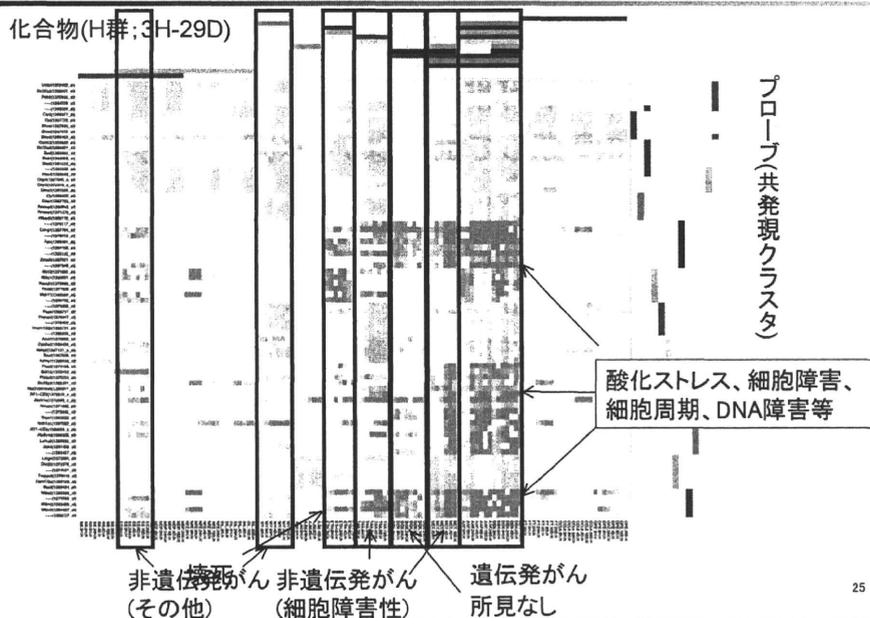
## Phenotype-anchoringによるアプローチの問題点



## クラスター分析による、高次元データからの共発現変動遺伝子クラスタの抽出

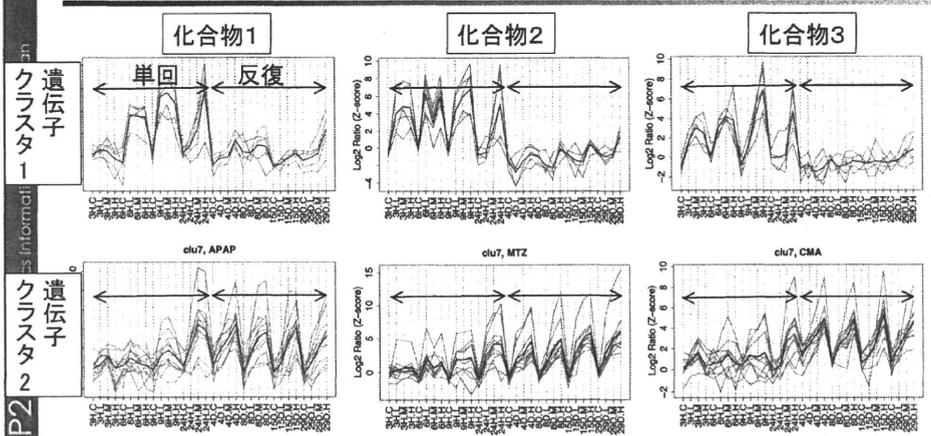


## 共発現遺伝子クラスタ



25

## 共発現遺伝子クラスタの発現変動プロフィール



- 遺伝子クラスタ1は主に単回、遺伝子クラスタ2は主に反復で変動。
- 病変は主に反復投与時に発現しているため、単回で発現変動プロフィールが化合物毎に異なる場合、判別では検出不能。

26

## クラスター分析による 共発現変動遺伝子の抽出まとめ

- ラベルを事前に設定する必要がなく、潜在的な多クラスデータに適用可能。
- Phenotypeに同期して動かない(早期にのみ動く)遺伝子にも適用できる。
- 問題点
  - 厳密解を求めることが不可能。
  - 変動遺伝子を厳密に定義する必要がある。

27

## まとめ

- 大規模トキシコゲノミクスデータの利点。
  - 膨大な背景データを利用出来ることで、投薬影響による種々雑多な遺伝子発現変動の中から、標的とする真の遺伝子発現変動を抽出する確率が高まり、解析結果の信頼性が増す(偽陽性のfiltering・over-fittingの回避)。
- 大規模データの統計・情報解析を行う上での注意点。
  - 汎化性、潜在的な多クラスデータの取り扱い、球面集中現象、多重共線性、間接相関の除去・抑制変数の発見、用量・時点の取り扱い方等
- 全ての条件に適用可能な万能な方法は存在しないので、データの質、種類、量等を見極めて、適切な解析方法を選択する必要がある。

28

## 謝辞

### ■ TGP1/TGP2

- 本研究は厚労科研費H19-トキシコ-指定-001「トキシコゲノミクスデータベースを活用した毒性メカニズムに基づく医薬品安全性評価に関する研究」、厚労科研費H14-トキシコ-指定-001「トキシコゲノミクス手法を用いた医薬品安全性評価予測システムの構築とその基盤に関する研究」による。