

図は、MALDI-IMSを行うときの一連の流れを示したものである。冷凍生体組織からの切片作成・前処理を経て、目的分子のイオン化とその分布の解析を行う。LDI-IMSでは (iii) を省略し、nano-PALDI-IMSでは (iii) でマトリクスではなくナノ微粒子を用いる。

ールのような中性脂質，さらに糖脂質のような低分子量有機化合物の測定では，組織切片上で位置情報が失われやすいため切片の洗浄工程を行わないという工夫がなされる²⁾。

マトリクス支援レーザー脱離イオン化によるIMS (MALDI-IMS) ではマトリクスの塗布が測定感度向上の点で重要である。図に示したものはこのMALDI-IMSを行うときの一連の流れである。これに限らず，マトリクスを使用しないレーザー脱離イオン化によるIMS (LDI-IMS)，ナノ微粒子を用いたIMS (nano-PALDI-IMS) などがある。ナノ微粒子の適用は，微粒子の大きさが数nmオーダーであることから，数十 μm 大の結晶を形成するマトリクスよりも高解像度で生体分子の分布を可視化し，マトリクスではイオン化されにくい生体分子のイオン化を可能にする^{3, 4)}。

■IMS解析の応用

筆者らはFabry病患者の心筋生検を対象として測定を行い，検出したシグナルを異なる4種類の脂質を含むスフィンゴ糖脂質Gb3と同定した。またGb3

分子の組織内局在が，液胞変性をきたしている細胞の分布と一致する事を解明した⁵⁾。このような脂肪酸組成が異なるスフィンゴ糖脂質分子種の分布イメージングを行える手法は，IMSだけである。

またIMSは医学・薬学のみならず，農学分野における植物体内の農薬動態調査，工学分野におけるポリマーの分解挙動の解析などにも幅広く応用されている。今後も装置や試料調整法が改良され，応用の幅が広がっていくことを期待したい。

文 献

- 1) Hayasaka T, *et al*: *Anal Bioanal Chem* (2011) 401(1): 183-93.
- 2) 「質量顕微鏡法 イメージングマスマスペクトロメトリー実験プロトコール」(瀬藤光利/著) シュプリンガー・ジャパン, 2008
- 3) Goto-Inoue N, *et al*: *J Am Soc Mass* (2010) 21(11): 1940-3.
- 4) 「Imaging Mass Spectrometry Protocols for Mass Microscopy」(M.Setou Editor) Springer, 2010.
- 5) Onoue K: *Circ J.* (2010) 24; 75(1):221-3.

Imaging Mass Spectrometry (質量顕微鏡法)

Imaging Mass Spectrometry

稲見 勝朗・瀬藤 光利

Key Words: IMS, on-tissue digestion method, MALDI-IMS, nano-PALDI-IMS

■ Abstract ■

生体内に存在する物質の形態を観察する事は、人体組織の理解や、疾病メカニズムの解明・治療に欠かせないものである。しかし生体分子を観察するには、まず標的分子の特定・解析や分子標識の作成が必要であるので、未知の物質を発見し直接解析するのは困難であった。質量顕微鏡法では、生体分子の質量を測定、局所におけるマススペクトルで表し、これを解析して組織における特定質量分子の分布を可視化する。この手法により、性質が未知の物質を発見するだけでなく、直接解析することができるのである。

■ Imaging Mass Spectrometry, IMS

(質量顕微鏡法)の特性と原理

IMS (質量顕微鏡法)は、従来の光や電子を検出する観察方法とは異なり、生体分子の質量を検出・可視化することで、その局在情報を含めた形態を直接観察し、同時に生化学的な情報の獲得を可能にするものである。観察にあたり抗体など特定の標識体は不要なので、生体内の未知の物質を発見・解析するための強力な手段となる。医学分野においては疾病組織のバイオマーカー探索や、特定分子の発現解析などに用いられている。

IMSでは、二次元平面上で分子群の位置情報を保ったまま質量分析を行うことができる。通常、質量分析は分離・精製した溶液中の生体分子で行うが、この手法では主に生体組織切片を対象とする。生体組織切片の観察では、着目した部位に正確に微小径のレーザー光を照射し、微小領域のイオン化を行う。数万点に及ぶ測定点をレーザーで

二次元走査することによって、各点でのマススペクトルが取得される。それらのマススペクトルの中から任意の分子情報を選択的に抽出して、測定点ごとのシグナル強度比に応じて対象分子の組織切片における分布を可視化する。マススペクトルの数は1つの試料において測定点数に応じて数万以上にもなり、この膨大な情報量を効率良く高速に解析するソフトウェアが開発されている¹⁾。

■ IMSの実際 (図参照)

まず凍結させた生体組織から凍結マイクロームにより組織切片を作製する (i)。作製した凍結切片を導電性の素材で表面をコートされた支持素材 (ITOスライドガラスなど) に載せ、融解させることで組織を接着し、解析を目的とする分子に適した前処理を施す (ii)。マトリクス溶液を組織切片に塗布して (iii)、質量分析計で各測定点におけるマススペクトルを検出する (iv)。得られたマススペクトルから生体分子の存在量を色の濃淡で表現し、分子分布の可視化を行う (v)。

生体内に存在する微量な分子を測定するためには、試料に適した様々な前処理が必要である。特に高分子量タンパク質の計測においては、切片の厚さが $10\mu\text{m}$ 以下となったときに高効率イオン化と低ノイズを示す測定結果が得られる。また生体分子、たとえばタンパク質の位置情報を保持して固定するための処理法としてon-tissue digestion法がある。これは組織内タンパク質を変性させた後に、微量量のトリプシン溶液でタンパク質を消化することにより、イオンとして検出されにくい高分子量のタンパク質をトリプシン消化産物として検出するものである。対して、リン脂質やコレステロ

Katsuaki Inami, Mitsutoshi Setou
浜松医科大学 解剖学講座 細胞生物学分野
Hamamatsu University School of Medicine, Department
of Cell Biology and Anatomy

生物物理の最前線 質量顕微鏡法の新展開

瀬藤光利

質量顕微鏡法は、生体物質の局在解析と同定を同時に、しかも網羅的に行うことを可能とする新しい映像手法である。これにより、これまで解析が困難だった分子種も可視化できるようになり、分野を超えて応用されるようになった。

質量分析イメージング(imaging mass spectrometry, IMS)とは、質量分析を用いて物質の分布を可視化する手法であり、そのなかでも肉眼以上の解像度をもつものをとくに質量顕微鏡法とよぶ。組織切片をそのままに、生体分子の局在を光学顕微鏡で見るときの可視化し、その分子種を明らかにすることが質量顕微鏡法の狙いである。現在、生体物質のイメージングに用いられるおもな手法には、免疫染色と蛍光タンパク質標識がある。免疫染色では抗原抗体反応を利用するため、使用する抗体と反応する物質しか観察することができず、一時に多種類の物質を可視化することも困難である。また、遺伝子改変により、緑色蛍光タンパク質などを用いて目的タンパク質を標識する手法でも、あらかじめ見る対象を同定しておく必要がある。一方、生体物質を解析し、同定するための従来の質量分析では、組織から目的分子を抽出する作業を行う必要があった。しかし、この過程で、組織内での物質の分布についての情報は失われてしまい、抽出されない分子は見落とされてしまう。一方、質量顕微鏡法では、標識をせずに特定物質を可視化することができ、同定されていない分子の局在も知ることができる。しかも原理的には、多種類の分子を同時に可視化することも可能である。つまり、既存の手法で

は同時に行うことができなかった、物質の可視化と同定を同時に行うことができるという、大きな利点がある。

質量分析とは、原子や分子をイオン化し、その質量と電荷の比を利用して分子量を分析する手法である。生体物質の質量分析に適用できる、さまざまなイオン化法が開発されているが、質量顕微鏡ではマトリクス支援レーザー脱離イオン化法(matrix-assisted laser desorption/ionization, MALDI)を用いるのが一般的である。この手法では試料と試料のイオン化を助けるマトリクスを混合し、レーザーを照射してマトリクスと試料を気化させることにより、分子をイオン化させる。非常に汎用性の広いイオン化法で、低分子からタンパク質や合成ポリマーまで、気体を除く広範な試料を解析することができる。イオン化した分子は、飛行時間型質量分析計(time of flight mass spectrometry, TOF-MS)で分析する。TOF-MSでは、イオン化した分子に高電圧をかけ、検出器に向かって一定の距離を飛行させる。電荷が同じなら質量の小さい分子イオンほど検出器に早く到達するため、質量と電荷の比(質量電荷比 m/z)によって分離される。測定された分子イオンの m/z を横軸に、縦軸にイオン強度をとったものを質量スペクトルという。 m/z は物質ごとに異なるため、既知の物質であれば質量スペクトルをもとに同定することができ、分子種によってはそのためのデータベースも作成されている。また、質量分析装置内で試料のイオンと希ガス原子を衝突させ、分解した試料イオン断片の分子量から構造解析を行うこともできる(タンデム質量分析法)。この場合、たとえ対象

が未知の化合物であっても、その構造を決定することができる^{1), 2)}。

質量顕微鏡の構造を<図1>に示す³⁾。解析対象の組織は、急速凍結させてから10 μm 以下の厚さに薄切りし、支持体に乗せる。解析時のレーザー照射によって生じた余剰電荷を逃がすため、支持体は導電性素材で、しかも顕微鏡法としての用途を満たすため透明でなければならない。一般にこの2つの条件を満たす素材として、有機ELディスプレイにも用いられる酸化インジウム-スズ(indium tin oxide, ITO)を表面に被覆したスライドガラスが用いられることが多い。MALDIを用いた従来型の質量分析では、試料とマトリクスをあらかじめ混合してしまうが、質量顕微鏡法では組織切片の物質の局在情報が攪乱されるのを防ぐため、微量のマトリクスを切片上に均一に散布する必要がある。そのため、エアスプレーでマトリクスを切片上に噴霧するスプレーコーティング法や、インクジェットプリンターの要領で、微量のマトリクスを切片上に滴下する液滴法などが開発されている。MALDI-TOF-MSを用いたIMSでは、組織上でレーザー照射位置を徐々に移動させていって、組織切片上を走査し、位置情報をもった多数の質量スペクトル群を得る。得られたスペクトル群から、注目する分子の質量スペクトルを抽出し、その分子の各測定点での信号強度分布を色分布などに変換することで、その分子が試料上のどの部位に多く存在するのかが可視化することができる。

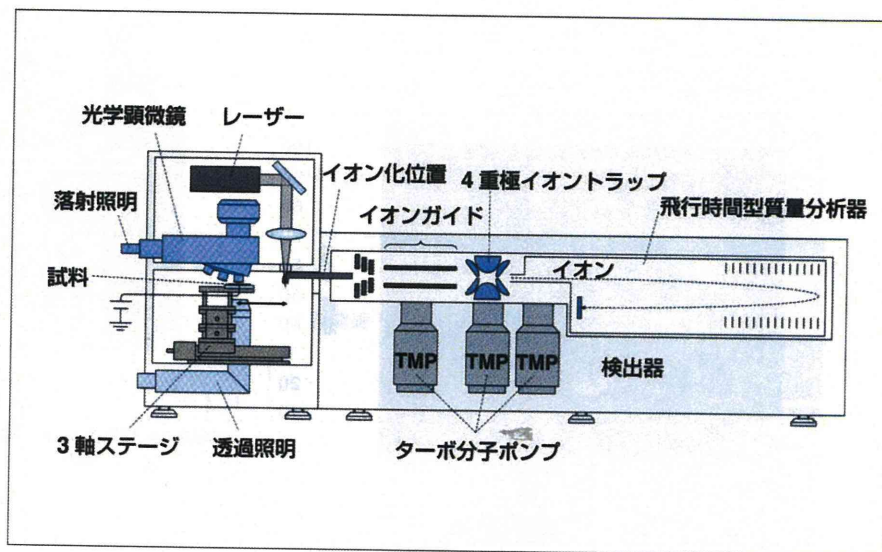
医学・生物学分野への応用

質量顕微鏡法を用いることで、これま

で難しかった分子の局在の可視化が可能になった。たとえば、脂質は抗体の作製や標識が難しく、これまで生体組織内での分布を可視化することが困難だった。マウス小脳のIMS解析例では、脳に均一に存在する $m/z = 798.5$ の信号と、白質に局在する $m/z = 826.7$ の信号に注目し、タンデム質量分析 (MS/MS) を行った。それにより、両者とも細胞膜を構築するリン脂質の一種であり、脂肪酸組成の異なるホスファチジルコリン (phosphatidylcholine, PC) であることが判明した (図2)⁴⁾。

脂肪酸と糖鎖からなる糖脂質も、細胞膜を構成する成分の1つである。これまで糖脂質の可視化に用いられてきた抗体は、糖脂質の糖鎖部分のみを認識していたため、分子種ごとの詳細な局在を見ることはできなかった。マウスの脳内には、糖鎖と脂質からなる細胞膜の構成成分である糖脂質の一種、ガングリオシド (ganglioside) が複数種存在する。質量顕微鏡では糖鎖部分と脂溶性基部分の構造差異を同時に見ることができ、2種のガングリオシド GD1・GM1 を解析したところ、それぞれ脂溶性基部分含有セラミドの炭素鎖長が異なる分子種の、脳内における特徴的な分布を明らかにすることができた。さらに、一方の分子種が加齢にともなって脳内に蓄積していく様子を観察できた (図3)⁵⁾。このように質量顕微鏡を用いることで、特定の脂肪酸組成をもつ脂質の局在を可視化することができる。

質量顕微鏡法はもともとタンパク質の解析手法として開発されており、さまざまな応用が検討されている。新規診断技術としての可能性の検討も、そ



〈図1〉質量顕微鏡の内部構造

大きく分けて、以下の5つの部分からなる。(1)組織切片にレーザー照射を行い脱離した分子を荷電させるイオン源部、(2)イオン分子を装置に導入するイオンガイド部、(3)質量電荷比 (m/z) によってイオン分子を分離する質量分析部、(4)イオン検出器、(5)全体の制御と検出器で得られたデータの処理を行うコンピュータ (図では省略)。(文献3より引用。)

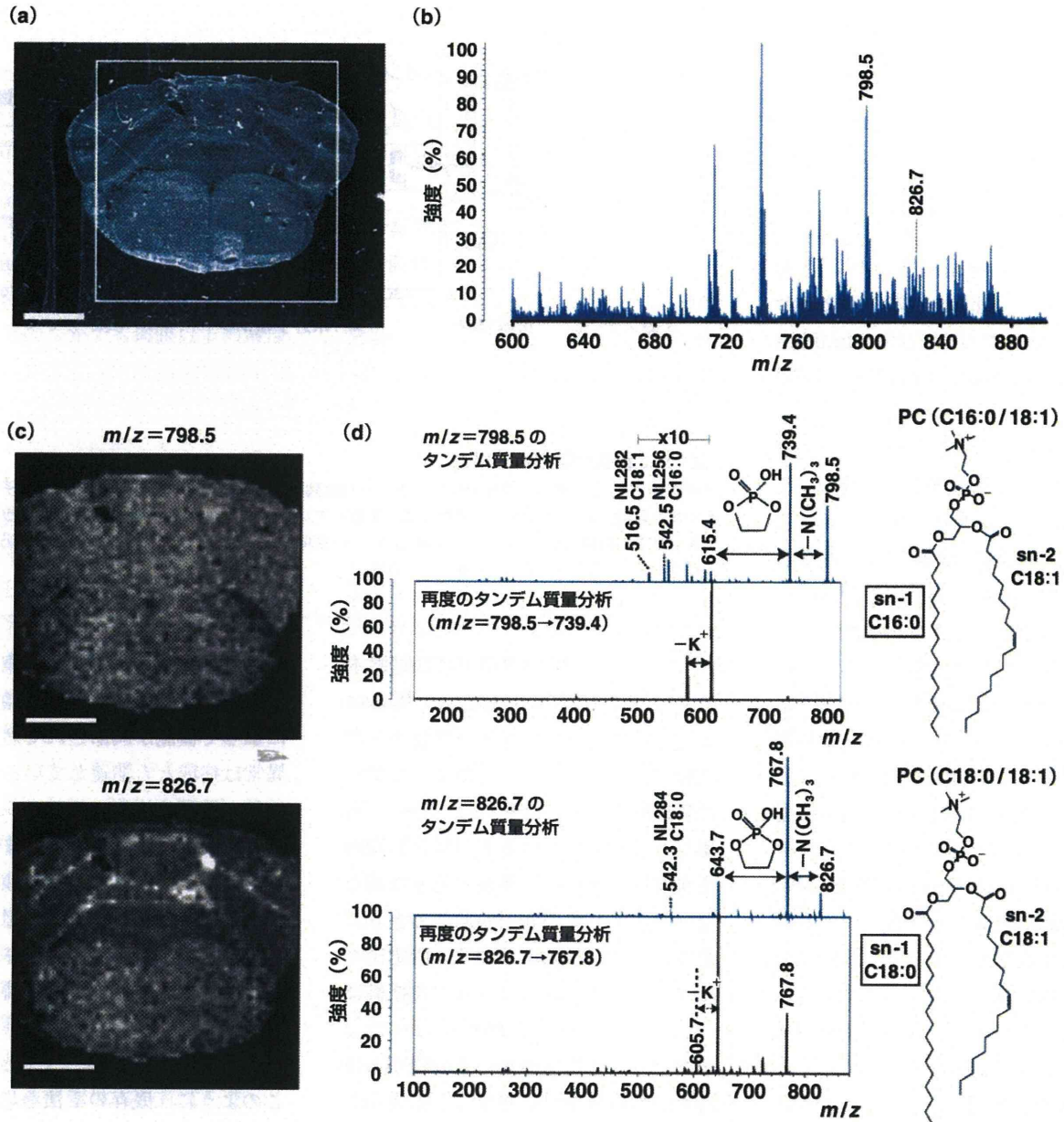
の1つである。医療機関では病理標本の多くをホルマリン固定し、場合によってはさらにパラフィンで包埋した状態で保存している。このような試料の質量分析を用いた解析は、一般に困難だと考えられているが、質量顕微鏡法が適用できれば、簡便で迅速な新たな診断法としての利用が期待できる。そこで筆者らは、ホルマリン固定後パラフィン包埋されたヒト胃がん組織について、IMSによる解析を行った。その結果、悪性度の高い未分化がんの特異的な信号を見いだすことに成功した。続く構造解析から、それがヒストン H4 であることを同定し、ホルマリン固定後の組織も質量顕微鏡で解析できることを実証した (図4)⁶⁾。

今後応用を検討すべき候補の1つとしては、翻訳後修飾を受けたタンパク質の、細胞内での分布の可視化があげ

られる。タンパク質はリン酸化やユビキチン化など、さまざまな翻訳後修飾によって機能が調節されており、その異常は病態とも関連している。タンパク質の翻訳後修飾の様相を、細胞内での分布の情報を維持したまま解析できるのは、いまのところ質量顕微鏡だけである。また、神経変性疾患で観察されるタンパク質封入体や、さまざまながんの構成物質の解明も期待される。

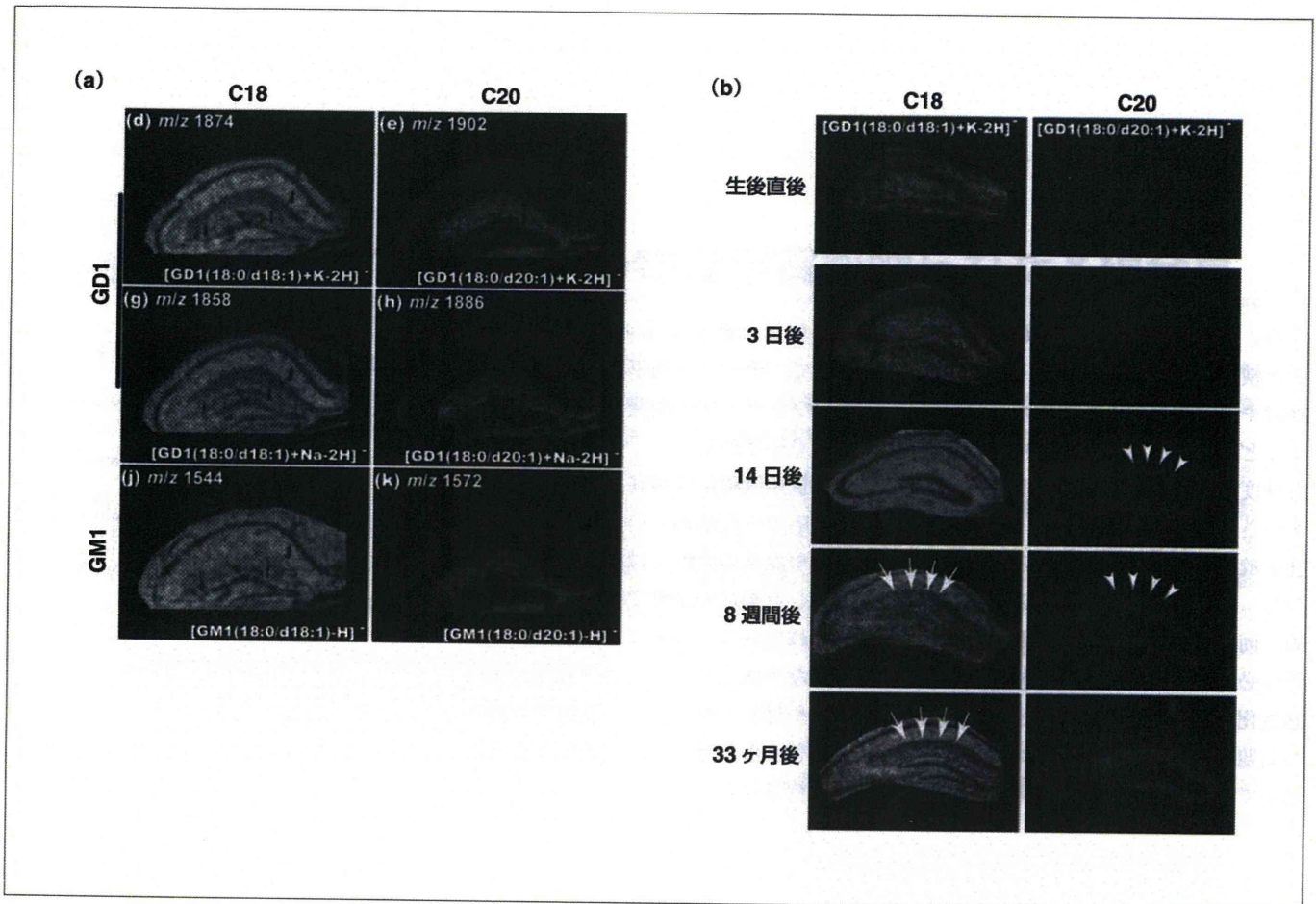
今後の課題と展望

このように、既存の手法を超えた多くの利点を持ち、すでにさまざまに応用されている質量顕微鏡法であるが、新規技術ゆえに今後克服しなくてはならない課題もある。たとえば、分子には容易にイオン化されるものとそうでないものがあり、容易にイオン化されるものから優先的に検出されることに



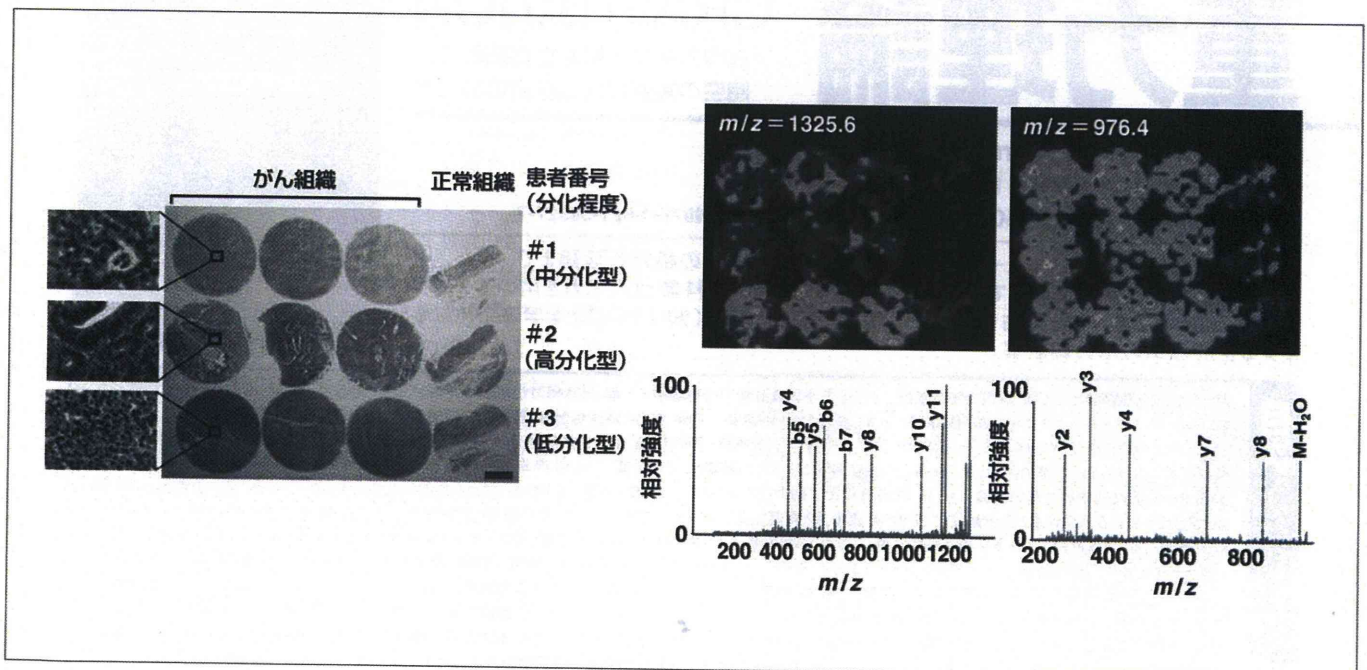
〈図2〉 マウス小脳の脂質の解析

(a)レーザーによるマウスの小脳の走査。(b)信号の多数のピーク。(c)2種類の信号のピーク ($m/z=798.5$ と $m/z=826.7$)に対するイメージング。 $m/z=798.5$ は均一な分布を示すが、 $m/z=826.7$ は白質への局在が見られる。(d)質量分析による構造解析の結果、両者はリン脂質の一種ホスファチジルコリン(PC)であることが明らかとなった。両者は炭素鎖の長さが異なる以外は同じ構造をしているため、識別が困難だったが、質量顕微鏡法を用いて初めて分布の可視化が可能となった。スケールバーは1.5 mmである。(文献4より引用。)



〈図3〉 マウス脳海馬領域のガングリオシドの分布

(a)炭素鎖長の異なる2種類のガングリオシド(細胞膜に含まれる糖脂質の一種)が、異なる分布を示している。(b)マウス脳海馬における、加齢ともなうガングリオシドの局在変化。C18は加齢とともに歯状回分子層で減少しているのに対し(矢印), C20は増加している(矢尻)。(文献5より引用。)



〈図4〉 ホルマリン固定後の胃がんパラフィン切片に対する質量顕微鏡法を用いたイメージング

$m/z = 976.4$ の信号は組織型によらず検出されており、アクチンと同定された。一方、 $m/z = 1325.6$ の信号は低分化型組織(悪性腫瘍)に特異的に検出され、ヒストンH4と同定された。(文献6より引用。)

なる。そのためイオン化されにくい分子を検出するためには、マトリクスの検討や特定物質のみを切片から洗い流すなどの工夫を要する。また、画像の解像度を上げるためには、レーザー径を小さく絞る必要があるが、レーザー径を絞るほどイオン化される分子が減少し、検出がより困難になる。そのため、両者のバランスを考慮した解析を行う必要があるとともに、検出器の高感度化も重要である。データ処理面での問題もある。組織切片上の数千点の部位で質量スペクトルを得るため、そ

の情報は膨大なものとなる。したがって、データを効率よく高速処理するソフトウェアの開発も、同時に進めていく必要がある。

質量顕微鏡法は現在、分野の壁を越えて応用され始めている。たとえば毒性学や農学の分野では、動物や植物に投与した薬剤の挙動や代謝の可視化が行われており、創薬においても非常に有用な手法である。今後、食品・環境科学や材料工学など、生物医学以外のさまざまな分野にも応用が広がることが期待される。

参考文献

- 1) 瀬藤光利編：「質量顕微鏡法」シュプリンガー・ジャパン(2008)。
- 2) M. Setou : *Imaging Mass Spectrometry*, シュプリンガー・ジャパン(2010)。
- 3) T. Harada, A. Yuba-Kubo, Y. Sugiura *et al.*: *Anal. Chem.* **81**, 9153(2009)。
- 4) S. Shimma *et al.*: *Anal. Chem.* **80**, 878(2008)。
- 5) Y. Sugiura, S. Shimma, Y. Konishi *et al.* : *PLoS One*, 3e3232(2008)。
- 6) Y. Morita *et al.*: *Cancer Sci.* **101**, 1, 267(2010)。

世界中で読まれる通称“電話帳”待望の邦訳

重力理論

GRAVITATION

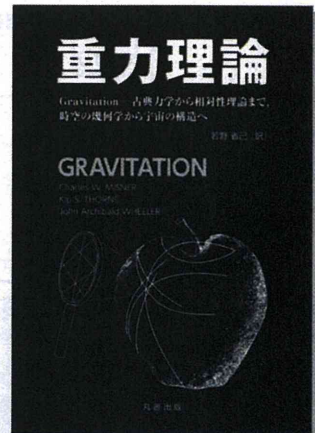
—古典力学から相対性理論まで、
時空の幾何学から宇宙の構造へ

C. W. Misner, K. S. Thorne, J. A. Wheeler 著

若野省己(京都大学名誉教授 Ph.D.,理学博士) 訳

B5判・1354頁 定価15,750円(本体価格15,000円) ISBN978-4-621-08327-7

「重力」に関することは、ニュートン力学からアインシュタインの相対性理論まで、また、そのために必要な数学的基礎まで、すべてを網羅しており、教科書としてこれを用いて一から勉強することもでき、また座右において、調べたいことや深く知りたいことを学ぶためにも使える世界標準の本の翻訳書。



目次

パートI 時空の物理学 1章 幾何力学の要約 パートII 平坦な時空での物理学 2章 特殊相対性理論の基礎/3章 電磁場/4章 電磁気と微分形式/5章 ストレス-エネルギーテンソルおよび保存則/6章 加速された観測者/7章 重力と特殊相対性理論は共存できない パートIII 曲った時空の数学 8章 微分幾何学:概観/9章 微分ポロジ- /10章 アフィン幾何学:測地線, 平行移動, および共変微分/11章 測地線の逸脱と時空の曲率/12章 曲った時空の言葉でのNewton的力学/13章 Riemann的幾何学:すべての基礎としての計量/14章 曲率の計算/15章 Bianchi恒等式および境界の境界 パートIV Einsteinの幾何学的な重力理論 16章 等価原理と“重力場”の測定/17章 質量-エネルギーはいかに曲率を生成するか/18章 弱い重力場/19章 重力を及ぼしている系の質量と角運動量/20章 4-運動量と角運動量に対する保存則/21章 変分原理と初期値データ/22章 熱力学, 流体力学, 電気力学, 幾何光学, および運動論 パートV 相対論的な星 23章 球状の星/24章 パルサーと中性子星, クエーサーと超新星/25章 Schwarzschild幾何学における運動の新たな中心的な特徴——“ポテンシャルにおけるくぼみ”/26章 星の脈動 パートVI 宇宙 27章 理想化された宇宙論/28章 宇宙の現在の状態への進化/29章 宇宙の現在の状態と未来の展開/30章 非等方で不均質な宇宙論 パートVII 重力崩壊とブラックホール 31章 Schwarzschild幾何学/32章 重力崩壊/33章 ブラックホール/34章 大域的な技術, 地平線, および特異点定理 パートVIII 重力波 35章 重力波の伝播/36章 重力波の生成/37章 重力波の探知 パートIX 一般相対論の実験的検証 38章 相対論の基礎をテストする/39章 重力の別な理論およびポストNewton近似/40章 太陽系の実験 パートX 未開拓の領域 41章 スピノール/42章 Regge計算法/43章 超空間:幾何学の力学に対する競技場/44章 時間の終わりを越えて

丸善出版株式会社

〒101-0051 東京都千代田区神田神保町2-17 神田神保町ビル6階 営業部 TEL(03)3512-3256 FAX(03)3512-3270
http://pub.maruzen.co.jp/

最新医学・第66巻・第10号 (2011年10月号 別刷)

特集 分子イメージングの最先端

序 論

—分子イメージングの最先端の特集にあたって—

瀬 藤 光 利

最 新 医 学 社

序 論

— 分子イメージングの最先端の特集にあたって —

瀬 藤 光 利*

はじめに

我々が医学に取り組むとき、大きく分けて2つのやり方がある。1つは我々がよく知っている古くからのやり方で、患者を「みる」(見る, 診る, 観る, 視る, 看る, …)方法で、さらにはX線写真や病理画像といったイメージングも含めて全体をとらえる方法。もう1つは比較的新しいやり方で、臓器, 細胞から分子, 原子といった部分に分けていく方法である。

分子イメージングはこの2つの方法, 分子(部分をとらえる方法)とイメージング(全体をとらえる方法)を統合した新しい方法である。全体を見渡す医学・生物学のセンスと, 部分に切り込む物理化学のセンスの両者を兼ね備えた俊英日本人が, 数多く世界をリードして活躍している。そうした諸先生方に今回ご執筆をお願いすることができた。

がんの分子イメージング

内科, 外科, マイナー, いずれにおいても, がんは最も重要な問題の1つである。このがんの分子イメージングについては世界のリーダー4名をお願いすることができた。

まずは米国における分子イメージングの現状について, 世界のがん研究のメッカである

NIH は米国国立がん研究所(分子イメージングプログラム)の NIH 小林久隆先生に固形がんイメージングについて, また, 小林先生と共同で新しい蛍光物質を開発合成し, 消化器がん術中分子イメージング法の開発にも携わっておられる東京大学医学部の浦野泰照先生にご解説いただく。さらに, より基礎的な最先端の研究として2つを紹介したい。1つは, 私も開発にかかわらせていただいた質量顕微鏡によるがんの分子イメージングで, 慶應義塾大学医学部の涌井昌俊先生に肝臓がん観察応用についてご解説いただく。質量顕微鏡法は, 二次元的にスキャンした質量分析によってイメージングを行う新しい手法である。さらに, ハーバード大学医学部 藤崎譲士先生には, ごくごく最近『Nature』誌に発表された生体共焦点顕微鏡による幹細胞のイメージングについてご解説いただく。

内科疾患の分子イメージング

筆者の東京大学第三内科時代の先輩である高橋倫子先生, 後輩である西村 智先生にそれぞれ糖尿病内分泌疾患における分子イメージング, 循環器疾患研究における分子イメージングについてご説明いただく。高橋先生は, 2光子顕微鏡による生体深部の微細な分泌小胞の開口放出についての研究で世界的に有名である。西村先生と石井 優先生は生体内の細胞動態の研究において, 美しい動画で従来

* 浜松医科大学医学部 解剖学講座 教授

の静的な組織像を一変しつつある。便宜上、それぞれのご所属で循環器と免疫に分けさせていただいたが、実際のところ先生方は血液循環、脂肪、骨、免疫とあらゆるプレーヤーの相互の関係を明らかにされつつある。

神経の分子イメージング

分子イメージングの最も成功した事例は、フルオロデオキシグルコース (FDG) をプローブとしたポジトロン断層撮影 (PET) であり、すでにかん診療などにおいて保険適応がなされ、臨床で応用されている。その PET を用いたがんの話はがんの分子イメージングの部分で小林先生からもお話しいただけると思うが、現在それ以上の新しいプローブの開発が理化学研究所を中心としたナショナルプロジェクトで進んでおり、神経系はその重要なターゲットの1つである。そのプローブ機能評価研究チームの尾上浩隆先生に、PET プローブの応用と開発についてお話しいただく。

また、この理研と並んで日本の分子イメージングの中心地である放射線医学総合研究所分子イメージング研究センターの季 斌先生にはアルツハイマー病の分子イメージングについて、筆者の同僚の浜松医科大学メディカ

ルフォトニクス研究センターの尾内康臣先生にはパーキンソン病の分子イメージングについてご説明いただく。

細胞の分子イメージング

分子イメージングはその解像度を高めると同時に、分子をイメージングするだけでなくその機能をイメージングする方向に進んでいる。生体分子の機能をイメージングする方法として、タンパク質の構造変化に伴う蛍光エネルギーの変化を検出する FRET と呼ばれる方法があり、京都大学の松田道行先生にご説明いただく。また近い未来の方向性として、生体内のタンパク質の1分子のイメージングや、電子顕微鏡による分子イメージングが研究されている。それぞれ、そうした観察法の開発に携わってこられた上田昌宏先生、村田和義先生に概況をご説明いただく。

おわりに

分子イメージングは方法論的進展が目覚ましく、その応用は始まったばかりである。

今回の特集で紹介されたエキスパートの成果を参照し、近い将来に読者の方々がご自身の専門領域にさらに取り入れて、研究を発展されることを期待したい。

