

令和元年6月20日現在

機関番号：14302

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K00960

研究課題名(和文)簡易凍結徒手切片法を用いたマウス等哺乳類の代替動物実験(分裂細胞の検出等)の考案

研究課題名(英文) Detecting cell division using frogs, *Xenopus* larvae, as an alternative to using mammals by the hand-made preparation of frozen tissue specimen

研究代表者

梶原 裕二 (Kajiwara, Yuji)

京都教育大学・教育学部・教授

研究者番号：10281114

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,600,000円

研究成果の概要(和文)：これまで実験動物としてマウスが用いられたが、「動物愛護管理法の改正」から哺乳類を用いた実験は高校では難しい。細胞分裂を観察する実験で、両生類や魚類が代替できるか検討した。プロモデオキシウリジン(BrdU)、抗BrdU抗体を用い、学校で実施できる実験とした。カエル幼生の後肢には多数の分裂細胞が含まれ、指原基内には褐色の細胞が多数存在した。染色状況もマウスと変わりはなく、本法が両生類でも適用でき、代替できることがわかった。マウスでは小腸上皮の分裂は柔毛底で生じるが、両生類や魚類では小腸壁に散在した。両生類の精巣では分裂細胞はシストを形成し、マウスと異なっていた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高校生物では、動物組織を観察する実験はほとんどない。新たに開発した簡易凍結徒手切片法は簡単に組織切片が作成できる。これまで実験動物としてマウスが用いられてきたが、「動物愛護管理法の改正」から大学を別に、高校では実施できない。そこで、代替動物として両生類や魚類を用いて、動物組織内で生じる細胞分裂とDNA複製を可視化する実験の開発を試みた。その結果、カエルやキンギョが代替動物として利用できること、プロモデオキシウリジンと抗体により、動物組織内の細胞分裂とDNA複製を観察する高校で実施できる新たな実験が確立できた。

研究成果の概要(英文)：Cell proliferation is an important phenomenon during the formation and maintenance of animal bodies. In mammalian bodies, several tissues, such as the blood cells, absorptive epithelium cells of small intestine, spermatid cells, have continued active cell divisions. In the present experiment, the Bromo-deoxy-Uridine (BrdU) to label newly synthesized DNA was used to detect the cell division in the mammalian mice. Furthermore, the same method to detect cell divisions could be applied to the amphibian frog as an alternative animal to mammals. In the post limb-bud of frog larva, there were many positive cells stained with anti-BrdU antibodies. This showed that experimental procedure with the BrdU was good for amphibian frogs as well as mammalian mice. There were some differences the distribution of cell divisions in the small intestine and the testis between mice and frogs. Thus, the present experiment was good for understanding the cell division in the biology class of high schools.

研究分野：科学教育

キーワード：哺乳類代替動物 細胞分裂 両生類 プロモデオキシウリジン 簡易凍結徒手切片法

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

細胞は $10\mu\text{m}$ ほどの小さな大きさなので、それを観察するには顕微鏡が必要である。しかし、動物の組織標本の作成は難しく、高等学校、大学初期課程では実施されることがほとんどない。私たちヒトを含む動物の生命現象が教科書で説明される時、多くは、組織や細胞の模式図や写真による。しかし、特に生物では、対象となる生命現象が私達や動物の体の中で実際に生じているという実感が重要で、近年重視される「命の大切さ」を育む観点にも通じる。加えて、模式図や既存の組織標本では、必然的にその内容を超越する学習は不可能であり、従来の方法では、多様な動物で、多様に生じる生命現象を学校で学ぶことはできない。対象となる動物、生命現象は常にオープン・エンドが不可欠である。これらの理由から、科研費(H22-H24, H25-H27)の援助を受け、高等学校で実施できる動物組織の作成方法、簡易凍結徒手切片法を開発し、新規の動物組織を観察する実験を考案した。

一方、従来、動物を用いた実習ではマウスが多く用いられてきた。しかし、「動物愛護管理法の改正」から生命系の大学を別にして、哺乳類などの有羊膜類に属する脊椎動物を用いた実験は簡単に実施できない状況である。実際、高校生物の血球を観察する実験では、知見の充実した哺乳類ではなく、カエルが用いられている。この理由から、哺乳類を含む有羊膜類に属さない動物を対象とした代替実験の考案が必要となっている。

2. 研究の目的

多細胞生物の体では、様々な機能や形態をもつように分化した多数の細胞で構成される。例えば、私たち、ヒトの体は約 250 種類の分化した $60\text{-}70$ 兆個の多数の細胞でできている。それらの細胞は、整然と組織だった構造をもちつつ、脳や小腸、生殖器等各種の器官、器官系をつくり、各器官が体全体として統制を保たれながら個体がつくりあげられる。これらの規則正しい組織の構造を観察する実習は、複雑な多細胞生物の体のつくりを理解する基礎となる(梶原、2013)。高等学校の生物の教科書や資料集には、動物の体の組織が写真や模式図で多く掲載される。例えば、消化や吸収の働きでは、小腸柔毛の組織と細胞、視覚の働きでは、網膜の組織と視細胞など、生命活動の場となる器官や組織、細胞の存在抜きに生物を学ぶことはできない。

従来、動物の組織を観察する実験は植物よりも難しく、顕微鏡の標本作成に長い期間を必要とし、かつ専用の機器や高度な技術が必要なため、高等学校ではほとんど実施されない。高校生が自身の学校で、動物の体の中で生じる生命現象に対する課題研究が実施できるように、この困難な状況を改善した。科学研究費(平成 23 年度～平成 25 年度)の援助を受け、動物組織を観察できる簡便な手法を開発し報告した(梶原、2013)。この方法を用いると、多細胞動物の内部構造を観察することができ、例えば、フナやカエルなど身近な動物の組織を実際に観察することができる。さらに、簡単に動物組織を観察できるようになったため、実験動物としてこれまで長い間、広く用いられてきた哺乳類のマウス以外にも、多様な動物の体のつくりを調べられるようになった。この観点から、科学研究費(平成 26 年度～平成 28 年度)の援助を受け、哺乳類以外の他の脊椎動物や、脊椎動物以外の動物を用いて、動物の系統に沿った動物の体のつくりを観察する実験(図 1)を考案した(梶原、2016)。

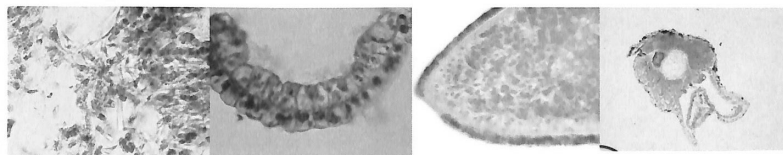


図 1 様々な系統の動物の体。左から、カイメン、ヒドラ、プラナリア、イモリ幼生

従来、動物を用いた実習ではマウスが多く用いられてきた。しかし、「動物愛護管理法の改正」から生命系の大学や研究機関を別にして、哺乳類のマウスや爬虫類・鳥類など、有羊膜類に属する脊椎動物を用いた実験は簡単に実施できない状況となっている。対象となる実験動物の適切な飼養、適切な研究計画、生命倫理遵守、代替法の検討、熟練者による実施が必要となる。このような状況下では、高等学校で哺乳類を用いた生命科学の実験をするには、設備の整った大学などの生命系の研究機関において実施しなければならず、生徒の自由な発想による課題研究は難しい。この理由から、「動物愛護管理法の改正」で直接対象とされる哺乳類を含む有羊膜類に属さない動物を対象とした代替実験の考案が必要となる。

また、多細胞動物にとって、体の発生、成長、発達、維持には細胞の分裂は必要不可欠である。高等学校の生物の実験では、細胞分裂は特に細胞分裂期や染色体の観察が主となる。遺伝子の本体である DNA の複製を実際に観察する実験はほとんどない。これまで哺乳類のマウスを用いて実施されてきた分裂細胞の標識実験、具体的には、チミジンの相同体であるプロモデオキシウリジン(BrdU)を用いた分裂細胞の標識実験について、両生類のアフリカツメガエルが代替動物として使用できるか検討する。この手法によると、多細胞動物の体内で生じる細胞分裂や DNA の複製などの重要な生命現象を、学校においても実施できる実験となる。

3. 研究の方法

(1) 実験動物

アフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)は島津理科機器から成体を入手し、産卵・発生させた、後肢が成長した変態中の幼生(st.54)、生後6ヶ月の子ガエルを用いた。マウス(*Mus musculus*, Slc:ICR 系統)は雄・8週令(清水実験材料から入手)を用いた。マウスを用いた実験は京都教育大学における動物実験の実施に関する規定に沿ってH24年に実施した。5-Bromo-2'-deoxy-Uridine (BrdU;SIGMA-ALDRICH社)を用いて分裂細胞を標識した。アフリカツメガエルでは、BrdUを純水に10mg/mlの濃度で溶解し、子ガエルには0.1ml(1mg/カエル)、幼生(体重0.42g)には0.03ml(0.3mg/幼生)腹腔内投与した。また、さらに子ガエル(体重2.0g)と幼生の飼育水に0.5mg/mlの濃度でBrdUを溶解し、48時間飼育し、経口投与した(48時間BrdU標識)。マウス(体重25g)は、BrdU溶液(10mg/ml)を0.5ml(5mg/マウス)腹腔内投与し、さらに飲料水にBrdUを0.5mg/mlの濃度で溶解し24時間、経口投与した(24時間BrdU標識)。

BrdU 標識標識の終了時、子ガエルとマウスは過剰のジエチルエーテルで麻酔死させた。カエル幼生は飼育水を25%エタノールとし麻酔死させた。解剖後、子ガエルの腸、精巣を、カエル幼生の後肢を取り出し10%ホルマリンで固定した。マウスの小腸、精巣を取り出しブアン氏固定液で固定した。

(2) 簡易凍結徒手切片法による組織切片の作成

動物の組織切片の作成は梶原と八十田、梶原と山崎の方法を用いた。以下、手法を概略する。中央に穴を開け、20%エタノールで置換・保存したブロックリー髓を試料の保持体とした。支持体の中央の穴に、凍結包埋剤(OCTコンパウンド、サクラファインテックジャパン)を入れ、試料を挿入した。ブロックリー保持体と内部の凍結包埋剤をドライアイスで挟み数分放置・固化させた。あるいは、低温貯蔵庫(-80℃)で冷却したアルミ板をドライアイスの代替として用いて固化させた。凍結・固化した保持体と試料を安全カミソリの刃(フェザー製・ハイステンレス)を用いて、徒手法により標本を作製した。ブロックリー髓・凍結包埋剤とともに薄切された切片をシャーレに入れた生理食塩水に浮かべ、凍結包埋剤を溶解した。切片をピンセットでスライドグラス上に取り、以下の通り、抗BrdU抗体による免疫染色で核内のBrdUを検出した。対比染色として、マイヤー氏ヘマトキシリン溶液で核を染色した後、50%グリセリン-生理食塩水で封入、カバーガラスをかけた。カバーガラスの周囲をマニキュアで密封し、長期保存が可能な標本とした。組織標本は光学顕微鏡(ECLIPSE-E200;ニコン)で観察し、顕微鏡用デジタルカメラ(DSカメラ・DSL-2;ニコン)で写真撮影を行った。

(3) BrdU 検出法

BrdUの検出はBrdU染色キットを用いた(BrdU *In-Situ* Detection Kit;BD-Bioscience社)。スライドグラスに載った組織薄片の水をドライヤーで乾燥させ、スライドグラスに密着させた。染色液が拡散しないように、薄片の周囲に油性マジックで約1cmの円を描いた。緩衝液(キット溶液A)を滴下し2分間馴染ませた。緩衝液を除去し、1%トリプシン液を滴下、3分間(32℃)タンパク質分解処理して、核内のDNAを露出させた。緩衝液で3分間、3回洗浄した。この抗体は1本鎖のBrdUに反応するため、試料を乾熱滅菌器内で10分間(89℃)熱処理し、1本鎖DNAに解離した。5分間室温に放置冷却した後、生理食塩水で3分間3回洗浄した。ビオチン化BrdU抗体を滴下し、湿室内で湿度を保ちながら90分間反応させた。生理食塩水で2分間3回洗浄した。ストレプト・アビジン-HRP(ホースラディッシュパーオキシダーゼ酵素)を滴下し、湿室内で30分間反応させた。生理食塩水で2分間3回洗浄した。DAB(ジアミノベンチジン)クロモゲン基質溶液を滴下し、5分間発色させた。生理食塩水で2分間3回洗浄し、反応を停止した。

4. 研究成果

(1) マウス小腸と精巣の分裂細胞

マウス小腸のBrdU標識細胞の組織像を示す(図2A、B)。組織像から、小腸柔毛の下部に多くの陽性細胞が存在する。特に、小腸柔毛底にあるクリプト(陰穿)から連なった上皮細胞が見られる。クリプト最奥部には陽性細胞が存在しない領域があり、腸管の免疫を担当するパネート細胞の領域と思われる。パネート細胞より上側には、陽性細胞が多数観察でき、小腸上皮幹細胞由来の分裂細胞群の存在が確認できる。この領域から常に新しい上皮細胞が作られ、柔毛先端部へ押し出されるように、小腸上皮細胞は常に置き換わりが行われている。この組織像は従来から見られる小腸の分裂像と一致する。

マウス精巣のBrdU標識細胞の組織像を示す(図2C、D)。組織像から、精細管の周囲に多数の陽性細胞が存在する。この陽性細胞は精原細胞で、セルトリ細胞により調整されながら幹細胞として盛んに細胞分裂をすることが知られている。また、陽性細胞が見られない精細管も存在し、BrdUを投与した時期が分裂期になかった精細管と思われる。

この分裂細胞を標識するBrdUを用いた実験方法と簡易凍結徒手切片法により、高等学校においても、小腸や精巣に見られる分裂活性が高い細胞の存在、幹細胞の存在を実際に観察する実験が可能である。抗BrdU抗体による陽性細胞の検出操作自体は3時間

弱なので、生物クラブや少人数の課題研究などで十分に実施できよう。また、染色キット自体は高価であるが、適切に希釈した溶液（キットあたり千枚以上の標本が染色可能）を大学などの機関から頒布すれば可能である。この実験系により、生物基礎や生物において、生物の重要な概念である DNA の複製を実際の動物の体の中で生じている現象として理解することができる。

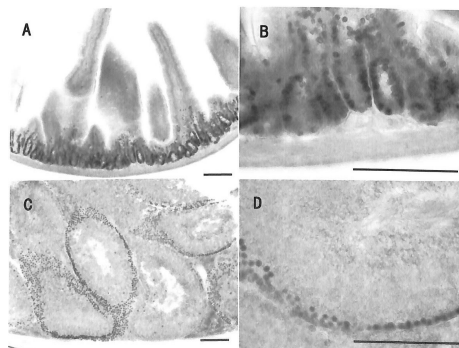


図 2 マウス成体の小腸柔毛と精巣の分裂細胞。低倍率(A, C)と高倍率(B, D)の組織像を示す。分裂細胞は黒く染色される。

(2) アフリカツメガエル幼生後肢の分裂細胞

アフリカツメガエル幼生の変態期(st.54)、発達中の後肢の組織像を示す(図 3)。この時期の後肢は既に指原基が形成され始めており、図 3 ではそれらのうち 3 本の指原基を示す。図から明らかなように、後肢の指原基内は褐色を呈した細胞で満たされており、それらの染色状況もマウスの小腸や精巣の陽性細胞(図 2)と変わりはない。さらに、発達中の後肢には進行帯と呼ばれる間充織の増殖により肢芽の成長が起こるので、この場所に多くの抗 BrdU 抗体陽性細胞が存在することは、増殖細胞を検出したと判断できる。従って、主にマウスで用いられてきたこの実験方法が、哺乳類以外の両生類のカエルでも適用できることを示す。

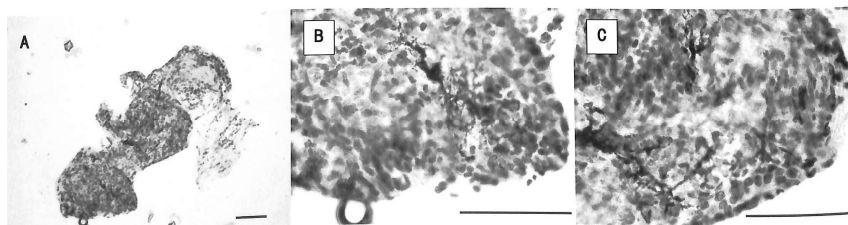


図 3 アフリカツメガエル幼生の発達中の後肢分裂細胞。後肢の低倍率(A)と高倍率(B, C)の組織像を示す。後肢で形成されている指原基 3 本(A)を示す。

(3) アフリカツメガエル子ガエルの小腸・精巣の分裂細胞

アフリカツメガエル子ガエルの小腸(図 4)と精巣(図 5)の分裂細胞の組織像を示す。カエルの場合、腸の分裂細胞はマウスの小腸(図 2)のように小腸底部のクリプトに限定されずに、広範囲に散在する(図 4)。哺乳類の小腸では、出生前後に成体型の幹細胞が存在するクリプトを形成する。アフリカツメガエルでは、変態期に幼生型の腸から成体型の幹細胞をもつ腸上皮が再構築されるが、哺乳類のようなクリプトは見られない。おそらく、腸上皮の幹細胞が哺乳類のクリプトのように局在しないことが、カエルの分裂細胞が散在する理由と考えられる。いずれにせよ、哺乳類の柔毛は腸の消化・吸収において重要な構造であるため、両生類の襞状の腸における分裂細胞の分布の違いも合わせて考えると興味深い。

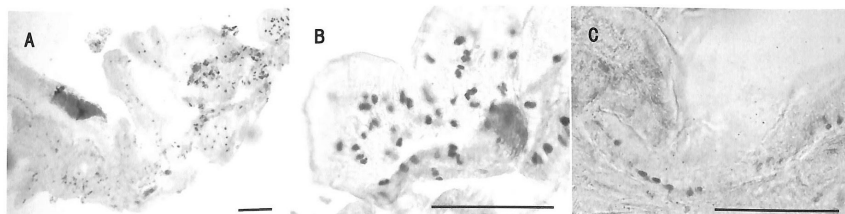


図 4 アフリカツメガエル子ガエルの小腸の分裂細胞。小腸の低倍率(A)と高倍率(B, C)の組織像を示す。カエルの場合、陽性細胞が小腸内に広範囲に散在し、マウスの小腸では分裂細胞(図 2)がクリプトに局在するのに対して分布が大きく異なる。

アフリカツメガエル子ガエル精巣内の分裂細胞(図 5)は、マウスの精巣内の分裂細胞

(図2)と様子が大きく異なる。マウスでは精細管の周りに分裂細胞が並ぶが、カエルでは、クラスター状(塊状)の分裂細胞が精巢内に散在している。多いもので約16個、あるいは4個、数個と少数の分裂細胞が分散している。無尾両生類の精巢は精細管と呼ばれる構造からなるが、哺乳類のような精細管でなく、袋状でそれに続く精巢内輸出管を一つの単位とし、精細管の中に同調分裂をする生殖細胞がセルトリ細胞からなるシスト(袋)が存在する。シスト毎に分化段階が異なる。図5で見られるクラスター状の分裂細胞は、シスト内の同調分裂した生殖細胞と思われる。有性生殖を行う多細胞動物において、配偶子形成、生殖細胞の分化とそれに続く受精、発生過程は、多細胞動物の本質を理解できる一連の現象である。この視点から見ると、生殖細胞の増殖を実際に動物の体で確認する実験は重要であろう。

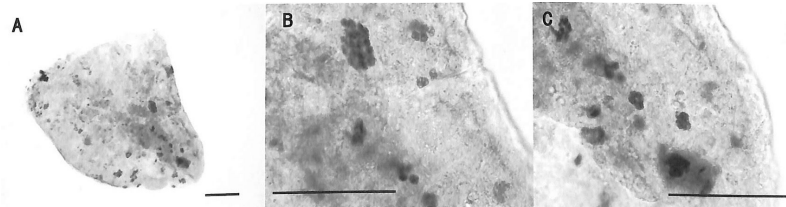


図5 アフリカツメガエル子ガエルの精巢の分裂細胞。精巢の低倍率(A)と高倍率(B)の組織像を示す。カエルの精巢では、陽性細胞が約16個、あるいは数個とクラスター状(塊状)に散在している。

(4) 他の無脊椎動物、ミミズを用いた検討

他の身近で扱いやすい動物として、無脊椎動物のミミズを用いて分裂細胞の検出を検討した。無傷のミミズ、また体を2分、再生中のミミズの体腔にBrdUを投与し、1-2日後BrdU陽性細胞の有無を調べた。しかし、ミミズでは、筋肉層や消化管には陽性細胞が見られなかった(図6)。内在性のペルオキシダーゼの活性が高く、過酸化水素で不活化したが、核に陽性部位が局在する細胞は見られなかった。ミミズは学校で扱いやすい動物なので、BrdUの取り込みについては、さらに検討が必要であった。



図6 ミミズ消化管の横断面。BrdU陽性細胞は見られない。

(5) 今後の展開

細胞分裂とそれに伴うDNAの複製は生物にとって基本となる重要な現象である。中学校や高等学校では、細胞分裂は分裂各期と染色体の観察に主眼が置かれる。しかし、動物や植物などの多細胞生物において、体づくりや維持に細胞分裂がどのように関わるかは見過ごされがちである。また、DNAの複製において、細胞周期のS期にヌクレオチドから新生DNAが実際に生じることを細胞、組織レベルで実際に確認する実験はほとんどない。本報告では、簡易凍結徒手切片法を用いることで、動物の体内で生じる細胞分裂、ヌクレオチドから複製されたDNAを実際に高等学校で観察できることを示した。さらに、抗BrdU抗体を使った実験手法は哺乳類マウスで用いられてきたが、両生類カエルにも適用できることが示された(図3,4,5)。本手法が従来用いられてきたマウス以外で適用できたことは重要で、今回は両生類や魚類を材料にしたが、さらに他の動物で適用できるか検討が必要である。

生物にとって細胞分裂とDNA複製が重要な現象である反面、これらの現象が外界の要因によって阻害される影響も大きい。この視点から、放射線の生物影響を学ぶ教材の開発も重要であり、放射線に対する科学リテラシーの充実が望まれる。本報告で示した両生類、あるいはさらに扱いやすい魚類などを実験材料として、放射線の影響を調べる教材開発も可能であろう。加えて、放射線の性質を調べたり、遮蔽効果を見たり、あるいは放射線影響からの回復過程を見るなど様々な探求課題が設定できよう。

これまで様々な植物や動物の組織や細胞を観察する実験例を示してきたが、本報告では細胞分裂という生物にとって重要な現象も観察対象とする手法を示した。これら一連の観察対象の拡大や新しい実験手法の開発、学校で扱いやすい実験動物の検討は、生徒が調べる活動の機会を広げ、課題設定を容易にすることで、次期学習指導要領で設置される「理数探求基礎」「理数探求」の充実に資すると考える。

(6) 高等学校での実践

京都府立城南菱創高等学校

多様な動物とその構造を系統的に学ぶ授業を京都府立城南菱創高校でH28年度、H29年度とH30年度11月に実施した。自然科学系統2学年を対象とした授業で、時間は実習を含め午後3時間で実施した。授業の主な流れは、アフリカツメガエルの解剖と内部器官の観察、事前に取り出し固定したマウスの小腸ルーメン側の観察、実際の柔毛を観察し、確認する、アフ

リカツメガエル小腸ルーメン側の観察、多細胞動物の増殖細胞の講義で行った。

実際にカエルを解剖し、内臓器官、小腸と腸間膜と血管走行、生殖器官の観察を行う。また、固定済みのマウス小腸を縦断し、柔毛構造を実際に確認する。次に、カエルの小腸のルーメン側を観察し、柔毛ではなく、小腸に対して縦方向に走行する多数の襞が存在することを確認する。また、小腸から吸収した栄養が腸間膜の血管により、肝臓まで運ばれることを確認する。その上で、哺乳類マウスの小腸には表面積を増すために、柔毛が発達するが、この柔毛は哺乳類で発達した構造で、両生類ではより簡単な襞構造になっていることを学ぶ。また、血管の走行が、マウスでは柔毛に対して縦方向、カエルでは襞に沿って走行するため、マウスとは逆になる。これらの観察事実を受けて、哺乳類マウスの小腸底のクリプト下部には小腸上皮幹細胞が存在し、分裂細胞が多数局在するが、カエル小腸では襞に分裂細胞が散在する違いを学ぶ。両種の比較により、哺乳類での効率的な消化、吸収器官として小腸上皮の発達が生じていることを学ぶ。加えて、刺胞動物のヒドラにおける腸の構築と体外消化の出現、原索動物のナメクジウオ、変態前のカエル幼生の腸が、襞のない単に環状構造をしていることを独自の標本で示した。これらの実験や講義を通して、従属栄養生物である多細胞動物の栄養摂取の重要性、多細胞動物における消化管の発達を理解し、動物の体のつくりを消化管から俯瞰する内容とした。

京都教育大学附属高等学校

京都教育大学附属高等学校及び京都府下高等学校の生徒を対象に、「両生類の内臓器官の観察・哺乳類の小腸柔毛の発達と増殖細胞の多様性」の課題のもと、SSC活動を平成28年10月22日、平成29年10月21日、平成30年10月27日に実施した。内容は(1)と同様である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 2件)

- (1) 「哺乳類代替動物としてアフリカツメガエルを用いた分裂細胞の検出実験」
京都教育大学紀要 133号, pp.1-13 (2018.9月)
梶原 裕二 (査読無し)
- (2) 「簡易凍結徒手切片法により生物の体を調べる」
生物の科学・遺伝 129号, pp.466-471 (2017.9月)
梶原 裕二 (査読無し)

[学会発表等](計 6件)

- (1) 「哺乳類マウスの代替動物の検討；魚類・両生類における増殖細胞の検出」
日本理科教育学会第68回大会(岩手大学・盛岡市) 2018年8月4日-5日
梶原 裕二
- (2) 「セキツイ動物の視覚を多角的に学ぶ教材開発」
日本理科教育学会第68回大会(岩手大学・盛岡市) 2018年8月1日-2日
金本 瑞穂、梶原 裕二
- (3) 「哺乳類マウスの代替動物実験-カエル・幼生を用いた増殖細胞の検出-」
日本生物教育学会第100回大会(熊本大学・熊本市) 2018年1月10日-11日
梶原 裕二
- (4) 「哺乳類マウスの代替動物としてカエルを用いた増殖細胞の検出」
日本理科教育学会第67回大会(福岡教育大学・宗像市) 2017年8月23日-24日
梶原 裕二
- (5) 「簡易凍結徒手切片法の紹介と観察事例」
京都府生物教育会1学期例会(京都教育大学・京都市) 2017年5月19日
梶原 裕二
- (6) 「哺乳類の代替動物としての両生類を用いた実験 簡易凍結徒手切片法を用いた分裂細胞の観察の試み」
日本理科教育学会第66回大会(信州大学・長野市) 2016年8月10日-11日
梶原 裕二

6. 研究組織

(1) 研究代表者：梶原 裕二

ローマ字氏名：KAJIWARA Yuji

所属研究機関名：京都教育大学

部局名：教育学部

職名：教授

研究者番号(8桁): 10281114

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。