

科学技術振興調整費 「科学技術連携施策群の効果的・効率的な推進」
平成 19～21 年度実施「遺伝子・細胞治療に携わる臨床研究者育成」成果の概要

研究代表者 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 教授 松井秀樹

1) 研究目的

遺伝子治療ならびに細胞治療は、新しい医療として今後医療現場に導入され、癌などの難治疾患の治療法として応用されることが期待されている。しかし、遺伝子・細胞治療は、薬剤による疾患治療法ではないため製薬会社などが開発研究を実施することを躊躇しているのが現状である。そのため、医師主導による探索的臨床研究（トランスレーショナルリサーチ、以下 TR）により開発を行う必要がある。しかし、我が国では TR に携わる人材が不足しているため、臨床研究が諸外国と比較して大きく遅れをとっている。この人材不足の問題は、臨床試験に携わる医師を育成するようなプログラム、機関が存在しないことが大きい。そこで本プロジェクトでは、遺伝子・細胞治療に携わる臨床研究若手医師の育成を目的とした以下のプログラム開発を中四国の大学ならびに四国がんセンターで連携して実施することとした。

1. TR マネージャー育成プログラム・・・遺伝子・細胞治療に関する臨床研究をスムーズに遂行するための臨床研究推進能力を若手医師に身につけさせる育成プログラム
2. 臨床研究コーディネーター育成プログラム・・・高度な臨床研究から創出された新しい医療シーズを臨床応用に結びつかせるために、さらなる臨床研究あるいは基礎研究の推進ができる若手医師育成プログラム

2) 研究成果の概要

本研究では、遺伝子・細胞治療に携わる臨床研究者、とくに TR マネージャーならびに臨床研究コーディネーターという 2 つの人材スキルを併せ持った臨床研究者（医師）の育成を目的としたプログラムの開発を行った。本研究の予算額は、平成 19 年度 79,000 千円、平成 20 年度 86,400 千円、平成 21 年度 85,622 千円である。

(1) サブテーマ 1 座学・海外派遣プログラム作成

カリキュラム策定委員会ならびに実証評価委員会を設置し、プログラム作成を行った。カリキュラム策定委員会が、座学のカリキュラム・シラバスのプロトタイプを作成し、同シラバスに沿った座学を特任助教などの若手医師、大学院生を対象に実践し、カリキュラム・シラバスの実証を行った。実証評価委員会は、座学を実施した講師あるいは座学を受講した若手医師、大学院生に対し、毎講義後にアンケート調査ならびにヒアリング調査を実施し、その結果をふまえて、評価した。その評価をカリキュラム策定委員会にフィードバックし、同委員会はカリキュラム、シラバスをブラッシュアップし、最終的な座学プログラムを作成した。

遺伝子・細胞治療臨床研究に携わる若手医師育成カリキュラムとして以下の 3 コースから構成されるカリキュラムと各座学のシラバスを作成した（次頁図参照）。

1. TR マネージャー基礎コース
2. TR マネージャー発展コース

3. 遺伝子・細胞治療 TR マネージャーコース

TR マネージャー基礎コース

科目	内容	時間数
TR 統計解析学総論	TR における生物統計者、統計解析実務者の業務フロー、業務内容、チームにおける役割について講習する。	90分 1回
TR 統計解析学概論 I	数理統計学、サンプル割付、生存時間解析の手法、パラメータ推定のソフト作成法、薬物動態解析法および薬力学解析法ならびに TR データ解析法について講習する。	90分 2回
TR 統計解析学概論 II	ランダム化比較対照試験、データ構造標準化、SAS、SPSS プログラミングについて、講習と演習を行う。	90分 2回
TR 関連法令・生命倫理論	TR の試験報告書ならびに解析報告書に関する法令・生命倫理に関する講習を行う。	90分 1回
データベースデザイン概論	データベースのデザインについて講習を行う。	90分 1回
プロトコール概論	プロトコールについて講習を行う。	90分 1回
症例報告書概論	症例報告書のデザインならびに作成方法について講習を行う。	90分 1回
GCP 概論	GCP 省令について講習を行う。	90分 1回
TR 英語概論	TR に必要な英語について講習を行う	90分 1回
計 90 分 x 11		

TR マネージャー発展コース

科目	内容	時間数
プロトコール作成概論	プロトコールの内容・作成方法について講習を行う。	90分 1回
GMP 立案・文書化概論	薬事法、GMP 立案・文書化に関する講習を行う。	90分 1回
倫理審査委員会概論	倫理審査委員会の役割・義務について講習を行う。	90分 1回
知的財産特論	知的財産の判断、申請法など出願実務の講習を行う。	90分 1回
試験報告書作成概論	試験報告書の内容・作成方法について講習を行う。	90分 1回
TR チーム管理総論	TR チームの運営・コミュニケーション技術について講習する。	90分 1回
TR チーム管理各論 1	TR チームの関連法令・生命倫理・秘密保持の遵守について講習する。	90分 1回
TR チーム管理各論 2	TR チームの計画、業務立案・業務修正について講習する。	90分 1回
TR チーム管理各論 3	TR チームの財産、資材管理、特許管理に関する講習を行う。	90分 1回
人材育成総論	TR チームの人材育成法の講習を行う。	90分 1回
TR 英語概論	TR に必要な英語について講習を行う	90分 1回
計 90 分 x 11 回		

遺伝子・細胞治療 TR マネージャーコース

海外派遣プログラムは、カリキュラム策定委員会が以下の項目について調査を実施するよう調査会社に依頼した。

- ・ 米国におけるこれまでの臨床研究人材育成・キャリア開発プログラム
- ・ 米国 Clinical and Translational Science Award (CTSA)の詳細
- ・ 米国内各大学の育成プログラム概要
- ・ 英国における臨床研究人材育成・キャリア開発プログラム

カリキュラム策定委員会は、調査会社からの報告書を基に特任助教の海外研究施設の選定を行った。そして以下の2施設を海外研修施設として選定した。

- ・ テキサス大学 MD アンダーソンがんセンター/ベイラー医科大学
- ・ カリフォルニア大学サンディエゴ校

3名の特任助教を選定した海外研修施設に派遣し、研修させた。研修として、K30プログラムに参加している選定施設所属の若手医師に随伴し遺伝子・細胞治療臨床研究の見学、遺伝子治療用製剤の生産施設見学、臨床研究推進ミーティングへの参加、TRマネージャーとの議論などを実施させた。海外研修に参加した若手医師に研修報告書を提出させた。実証評価委員会は、その報告書を受け、海外研修プログラムの策定を行った。以下の内容の海外研修プログラムを作成した。

- ・ 派遣機関・・・米国Clinical and Translational Science Award (CTSA)に選出されている機関
- ・ 研修内容・・・12週間のプログラムからなるClinical Research Enhancement through

科目	内容	時間数
ベクター品質管理論	ベクターの製造方法・規格化・無菌化に関する講習を行う。	90分 1回
ベクター品質管理施設論	P3 レベル施設の構造・設備・使用方法に関する講習を行う。	90分 1回
ベクター品質試験論	安定性試験、生物汚染試験、毒素試験、動物を使用した品質試験法に関する講習を行う。	90分 1回
ベクター安全管理論	ベクターの組み換え・増殖性ベクターの安全性、ウイルス汚染法、安全管理技能について講習を行う。	90分 1回
幹細胞特論	幹細胞分化制御・長期培養など高度幹細胞技術の講習を行う。	90分 1回
細胞解析学概論	形態学的解析法などの細胞解析方法について講習を行う。	90分 1回
組織機能試験概論	組織機能試験などの生理学的検査法について講習を行う。	90分 1回
バイオマテリアル概論	バイオマテリアルの基礎と応用について講習を行う。	90分 1回
細胞品質管理概論	細胞治療用細胞の製造方法・規格化・無菌化に関する講習を行う。	90分 1回
細胞品質管理施設概論	P3 レベル施設の構造・設備・使用方法に関する講習を行う。	90分 1回
細胞品質試験概論	各種細胞品質試験法について講習を行う。	90分 1回
細胞安全管理概論	細胞治療用細胞の安全管理技術、安全管理法に関する講習を行う。	90分 1回
細胞安全試験概論	各種細胞安全試験法について講習を行う。	90分 1回
計 90 分 x 13		

Supplemental Training(補習授業による臨床研究強化プログラム)などの短期臨床研究研修プログラムに参加させ、現地の若手医師と一緒に遺伝子・細胞治療臨床研究の研修を受ける。

- ・ 研修評価・・・2週毎の研修レポート、ヒアリング調査、現地研修調査などにより研修の進捗状況について把握する。臨床研究研修ノートによりスキルを客観的に評価する。

(2) サブテーマ2 臨床研究実践コースプログラム作成

カリキュラム策定委員会が、4人の特任助教に対しTRマネージャーとしてのスキルを実践的に学ぶための臨床研究実践コースの選定、ならびに配属するコースの選定を行った。選定した臨床研究実践コースは以下のとおりである

コース1：胸部悪性腫瘍に対する腫瘍選択的融解ウイルスを用いた放射線併用ウイルス療法の臨床研究

コース2：テロメラーゼ依存性腫瘍選択的増殖ウイルスを標識薬剤とする蛍光分子イメージング技術を用いた高感度がん細胞検出システム開発臨床研究

コース3：前立腺癌に対するIL12遺伝子治療臨床研究

コース4：消化器癌に対する細胞治療臨床研究

コース1・・・頭頸部・胸部悪性腫瘍(頭頸部癌、食道癌、肺癌)を対象に、テロメライシンを腫瘍内局所投与し、同時に局所放射線治療を行った場合の安全性の検討(最大耐量の推定、主要エンドポイント)と評価可能症例における治療効果の観察(副次エンドポイント)を行う第I/II相臨床研究の申請・実施準備について、実践的に学ばせた。具体的には、平成19年度は臨床研究プロトコルの考案と学内及び厚生労働省審査用申請書類の作成を行った。平成20年度は臨床研究の申請に向けた準備として、オンコリスバイオファーマとの協議、医薬品医療機器総合機構(PMDA)に提出するテロメライシンの製造確認申請書類の作成、学内の遺伝子治療臨床研究審査委員会への申請を行った。平成21年度は2回の学内遺伝子治療臨床研究審査委員会の質疑応答に参加、テロメライシンの製造工程の研修を行った。

コース2・・・テロメラーゼ依存性腫瘍選択的増殖ウイルスを標識薬剤とする蛍光分子イメージング技術を用いた高感度がん細胞検出システムの開発に関する臨床研究を実施させた。新規開発したウイルス製剤OBP-401を標識薬剤とし、半自動化高感度GFP蛍光検出システムを用いて末梢血中に流れる浮遊がん細胞を高率にかつ定量的に検出する体外的超早期がん診断システムの開発を行った。消化器癌患者の末梢血を採取して細胞成分を分離し、チューブ内で至適濃度のOBP-401ウイルスを混じて一定時間培養した後、各検体のGFP蛍光強度について、本開発システムを用いて測定した。OBP-401を標識薬剤とした末梢血中の浮遊がん細胞検出システムで、70-80%という比較的高い特異性を持って同定できた。また、普遍的にGFP陽性細胞数ががんの病状・病期を示すことは示唆されなかったが、個々の経過をみるとGFP陽性細胞数が実際の患者の病状とある程度一致する可能性が示唆された。特任助教を本臨床研究に参加させることにより、実践的に臨床研究を学ばせることができた。

コース3・・・前立腺癌に対するIL12遺伝子治療臨床研究において、厚生科学審議会科学技術部会での承認、適応患者の選定、IL-12遺伝子発現アデノウイルスベクターの輸入手続き、受け入れ試験を実施し、若手医師に実践的に学ばせた。21名の前立腺癌患者に対

して、IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究を実施させた。さらに、前立腺癌に対する新規遺伝子 Reduced expression in immortalized cells (REIC) 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究の準備を行った。具体的には、臨床研究計画書の作成、学内審査会への出席、委員への説明、厚生労働省への申請、厚労省審査会への出席と説明について実践的に学ばせた。

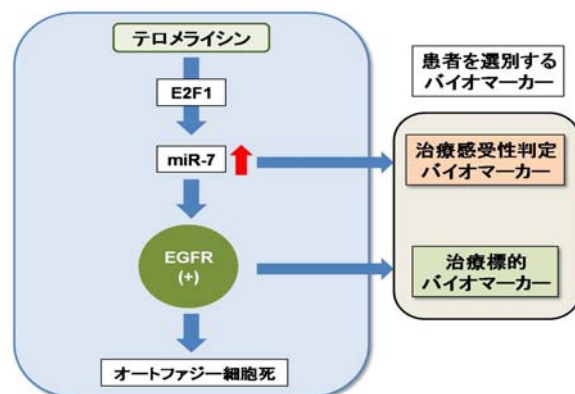
コース4・・・膵臓癌切除症例を対象としたMUC1-CTL+MUC1-DC細胞療法のチームに配属させ、同チームで実施している臨床研究についての実践トレーニングを行った。具体的には、本実践的トレーニングにより膵臓癌患者からのフェレーシスによるリンパ球・樹状細胞の採取方法、細胞プロセッシングにおける安全性の評価、細胞療法における免疫学的反応評価、膵臓癌患者に対するMUC1-CTL+MUC1-DC細胞治療の治療効果判定について研修させた。さらに、肝細胞癌症例に対する新規のHSP70-mRNA導入樹状細胞療法の前臨床研究ならびに臨床研究の計画・実施についての実践トレーニングを行った。具体的には、Proteomicsの手法を用いた肝細胞癌の新規標的抗原の同定、樹状細胞へのmRNA導入基礎実験、HSP70-mRNA導入樹状細胞療法の前臨床試験を実践させ、細胞治療臨床研究を学ばせた。

若手医師臨床研修ノート作成と育成評価法の開発・・・若手医師の臨床研究研修あるいは臨床研究能力の客観的評価をするための研修ノートを作成した。評価は、臨床研究能力を客観的かつ明瞭に示すことができるよう5段階で数値化して、指導教官により判定するシステムとした。また、評価と同様にどのように改善をすべきかをアドバイスとして示せる研修ノートとした。研修ノートは、自分自身の弱点を示すのと同時に、教育をするべき指導者側の教育指針としても使えるよう配慮した。

(3) サブテーマ3 臨床研究コーディネーター育成プログラム作成

特任助教の選出ならびに若手研究者ユニット研究の推進を行うプロジェクト・スーパーバイザー委員会を設置し、4人の特任助教を長とするユニットを構成し、各ユニットに研究費の配分を行った。さらに同研究ユニットに肺癌、前立腺癌、脳腫瘍等に対する遺伝子・細胞治療に関する前臨床研究を実践させた。また、プロジェクト評価委員会を設置し、若手研究者ユニット研究の評価ならびに助言を行った。

研究ユニット1：マイクロRNAアレイを用いた腫瘍融解ウイルス製剤（テロメライシン）の作用機構解析・・・本研究では、テロメライシンのがん細胞に対する細胞障害活性におけるマイクロRNAの発現制御を介した分子機構メカニズムの解明を行い、治療感受性を規定するバイオマーカーとしてのマイクロRNAとターゲット遺伝子の有用性について検証することを目的とした。具体的には、平成19年度にテロメライシンによる細胞障害に伴うマイクロRNAの発現変化についてマイクロアレイを用いた網羅的解析を行った。平成20年度は、解析結果からマイクロRNA-7の発現制御に着目して、そのターゲット遺伝子であるEGFRの制御機構を介したオートファジー細胞死の分子機構メカニズムを解明した。平成21年度は、テロメライシン感受性および抵抗性がん細胞株を用いて、治療感受性を規定するバ



イオマーカーとしてのマイクロ RNA とターゲット遺伝子 EGFR の有用性について検証した。本研究結果よりテロメラシンの治療感受性を規定するバイオマーカーとして、マイクロ RNA-7 が治療感受性判定バイオマーカーとして、EGFR が治療標的バイオマーカーとして有用である可能性が示唆された（前頁図）。

研究ユニット 2：がん特異的蛍光発現ウイルス製剤（テロメスキャン）による体内リンパ節転移診断システムの開発：光学機器企業との検出装置の開発・・・改変アデノウイルス製剤 OBP-401 は、テロメラーゼ活性依存性にかん細胞で選択的に増殖して GFP を発現する。OBP-401 を腫瘍内投与すると、周辺リンパ節に到達し転移病巣で増殖することで緑色蛍光を発し、微小リンパ節転移を可視化することが期待できる。そこで本研究では、外科手術前に OBP-401 を腫瘍内に投与してリンパ流に乗せ、ペンプローブ型あるいは腹腔鏡型の高感度 GFP 蛍光検出装置を用いることで、微小リンパ節転移を手術中にリアルタイムに検出して切除範囲を同定する外科手術ナビゲーションシステムの開発とその有効性について検討した。硬性鏡一体型蛍光検出器の試作器を開発し、その後同機器を改良した検出器の開発に成功した。この検出器を用いて、OBP-401 と同様の蛍光波長を持つ蛍光ビーズをブタの胃壁に注入し、同部に存在するリンパ節を可視化し摘出することに成功した（右図参照）。



研究ユニット 3：前立腺癌に対する IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究（治療効果に対する免疫学的評価法の確立）・・・本研究は、前立腺癌に対する IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療を施行された患者の末梢血検体を解析し、サイトカイン、免疫細胞、各種腫瘍抗原に対する特異的 IgG などの挙動を解析し、治療効果と相関するか検討することを目的とする。最終的には、これら免疫学的 surrogate marker になり得るか検討する。健常者 16 名および遺伝子治療施行患者 10 名で比較した。サイトカインの IFN- γ 、IL-2、IL-12 については、健常者と遺伝子治療適応内分泌療法抵抗性再燃前立腺癌患者とに有意な差を認めなかった。TNF- α は、健常者に比べ、遺伝子治療適応内分泌療法抵抗性再燃前立腺癌患者では有意に上昇していた。NK 細胞活性は、健常者に比べ、遺伝子治療適応内分泌療法抵抗性再燃前立腺癌患者では有意に低下していた。活性化されたリンパ球の分画において、健常者に比べ、遺伝子治療適応内分泌療法抵抗性再燃前立腺癌患者では、活性化 T 細胞、活性化ヘルパー T 細胞、調節性 T 細胞では有意に上昇、活性化細胞傷害性 T 細胞では有意に低下していた。また、低濃度 IL12

遺伝子治療を受けた患者において、31種類の細胞傷害性Tリンパ球惹起可能前立腺癌腫瘍抗原ペプチド群に対する特異的IgG力価を測定したところ、3人の患者において、31種類中3種類のペプチドに対する抗体値に変動を認めた。これらペプチドが免疫学的 surrogate marker になる可能性が示唆された。

研究ユニット4：脳腫瘍に対する次世代型ホウ素中性子捕捉療法開発研究・・・現在ホウ素中性子捕捉療法臨床研究で用いられているホウ素製剤に BSH がある。BSH は、細胞内に導入されないため、中性子照射による腫瘍細胞死誘導効果が弱いと考えられている。そこで本研究では、細胞膜通過性の BSH の開発を行った。BSH にポリアルギニンを付加した化合物の作製に成功した。この化合物が、脳腫瘍細胞膜を容易に通過し、細胞内に集合すること明らかにした。さらに、脳腫瘍モデルマウスを用いて、作製した BSH 化合物が腫瘍細胞内に導入されるか検討した。マウス尾静脈より新規ホウ素製剤 multi-BSH-11R を静脈内投与した。投与後、6時間・24時間において、腫瘍細胞内に特異的にホウ素製剤 BSH が取り込まれていることを確認した。新規開発ホウ素製剤は、生体でも有用であることが示唆された。

(4) 参画機関における前臨床研究と特任助教育成

鳥取大学・・・ランダムリボザイムライブラリーによる IFN- α /5-FU療法感受性増強遺伝子の同定を行った。スクリーニングによって抽出された5種の候補遺伝子から、5-FU に対する感受性に寄与する遺伝子として、3遺伝子 (5FUSG1, 5FUSG2, 5FUSG3) を同定した。また、同定した3遺伝子について機能の確認を行い、siRNAによるこれらの遺伝子のmRNA発現抑制は、5-FU存在下における細胞生存率を低下させることが確認された。さらに、3遺伝子のうち、5FUSG2及び、5FUSG3のプラスミドDNAによる強制発現は、5-FU処理時の細胞生存率を有意に減少させた。このことから、本研究で使用したファンクショナルスクリーニングは有用であり、これによって同定された3遺伝子は臨床応用可能な新規医療シーズとなりえることが示唆された。また特任助教にランダムリボザイムライブラリーによる IFN- α /5-FU療法感受性増強遺伝子の同定法について指導した。また研究結果について一緒に議論した。

山口大学・・・膵癌の切除例および切除不能例に、活性化T細胞 (CTL) と樹状細胞 (DC) による細胞療法を行った。また肝細胞癌に対する新たな細胞療法を確立するため、DCにRNAを導入することに成功した。これら細胞治療に関する技術を田澤特任助教に指導した。また、リンパ球および樹状細胞の誘導法に関して研修方式で指導した。

川崎医科大学・・・サイモシン β 4をプラスミドとして局所投与した場合と、ペプチドとして局所投与した場合の心筋再生効果について比較検討を行った。プラスミド群とペプチド群で心筋癒着率の有意な抑制効果があり、プラスミド群ではペプチド群に比べて心筋癒着率が小さい傾向が見られたが有意差は無いことが明らかになった。さらにペプチド群と比べプラスミド群では投与後の死亡率が有意に低くが、プラスミド群のほうが、生体に対する侵襲性がより低いことが示唆された。特任助教に対し、本研究チームと共に動物実験デザインならびに研究成果についての議論に参加させることにより、臨床研究コーディネータースキルを習得させた。

香川大学・・・HDLは、動脈硬化病変よりコレステロールを引き抜き、肝臓へ転送するシ

ステム（コレステロール逆転送系）を介して抗動脈硬化作用を発揮することが知られている。本研究では、ヒトHigh density lipoprotein (HDL) 受容体のCLA-1遺伝子を用いた動脈硬化遺伝子治療前臨床研究を実施し、その有効性を検討した。HDL受容体SR-BI/CLA-1遺伝子を肝臓に発現させ、動脈硬化の治療する前臨床試験を計画した。超音波とマイクロバルブを用いたin vivo 遺伝子導入法を開発し、ラット肝臓に遺伝子が導入できるか検討した。免疫染色にて、遺伝子導入度1週間後において遺伝子発現を確認した。また遺伝子導入されたラットにおいては顕著な副作用を認めず、組織学的検討でも異常を指摘できなかった。また、特任助教は、本研究の研究計画ならびに研究成果についての議論に参加し、動脈硬化に対する遺伝子治療に関する臨床研究コーディネータースキルの習得ができた。

四国がんセンター・・・骨転移に関する蛋白および遺伝子の同定ならびにそれを標的とした治療法開発の基礎研究を行った。メラノーマ細胞株（SEKI）ならびにSEKIより作成した高骨転移株（SEKI-B4）と高副腎転移株（SEKI-A4）における遺伝子発現パターンをAffimetryx Gene Chipで解析し、各々（SEKI vs SEKI-B4, SEKI vs SEKI-A4, SEKI-B4 vs SEKI-A4）の比較検討よりSEKI-B4で高発現（5倍以上）している遺伝子群を抽出した。また、in vivo selectionを5回行い（HARA-B5）、その細胞の骨転移能を親株と比較した。HARA及びHARA-B5担がんマウスの生存期間を比較したところHARA-B5で有意に短くなっていた。HARA及びHARA-B5の遺伝子発現パターンをAffimetryx Gene Chipを用いて解析した。HARA-B5で高発現（5倍以上）している遺伝子群の中で骨転移に関連した因子としてCXCL-14, PTHrP, MMP2及びADMを同定した。また、これら前臨床研究を特任助教と研究計画や研究結果について討論を行いながら実施した。これにより四国がんセンターで展開されている遺伝子・細胞治療に関するシーズ（がん骨転移の治療法開発）について特任助教の理解が深まり、将来的に臨床試験に展開するに際しての手がかりを得ることができた。さらに、四国がんセンターで実施している治験業務について、特任助教に研修を行った。

（5）実施期間終了後における取組みの継続及び発展

岡山大学では、平成23年度より岡山大学大学院医学博士課程にTR医師育成コースを設置し、若手臨床研究医師育成に継続して取り組むこととしており、本事業で作成した教育プログラムをこの新設する大学院コースにおける教育に用いる。また、岡山大学病院では、大学あるいは産学連携で創出した医療シーズが、前臨床試験から臨床試験までシームレスにかつ効率よく進行することを支援することを目的として、平成21年度に新医療研究開発センターを設置したところであり、平成22年度より、本センターにおいて様々な臨床研究、治験の支援業務を実施する。

本事業では、4名の若手医師を特任助教として雇用し、本事業で開発した教育プログラムにより臨床研究医師としてのスキルを身につけさせるための教育を行ってきた。その結果、4人とも臨床研究医師として必要なスキルを習得したと認定されたため、4名の特任助教全員、平成22年度より岡山大学病院新医療研究開発センター、遺伝子・細胞治療センターの助教として採用された。この結果、本事業で実施していたユニット研究も継続することとなった。

このように本事業で開発したプログラムを用いて、また本事業の参画機関と協力して、臨床研究医師の育成に今後も継続して取り組むこととしている