

脳科学に関する 研究開発課題の中間評価結果

平成30年7月

科学技術・学術審議会

研究計画・評価分科会／学術分科会

脳科学委員会

科学技術・学術審議会 研究計画・評価分科会／学術分科会
脳科学委員会 委員名簿（第9期）

合原 一 幸	東京大学生産技術研究所 教授
有信 睦 弘	東京大学 政策ビジョン研究センター 特任教授
安西 祐一郎	独立行政法人日本学術振興会 顧問・学術情報分析センター 所長
伊佐 正	京都大学大学院医学研究科 教授
○岡部 繁 男	東京大学大学院医学系研究科神経細胞生物学 教授
加藤 忠 史	理化学研究所脳科学総合研究センター チームリーダー
神庭 重 信	九州大学大学院医学研究院 教授
祖父江 元	名古屋大学大学院医学系研究科 特任教授
高橋 真理子	株式会社朝日新聞社 科学コーディネーター
武田 朗 子	東京大学大学院情報理工学系研究科 創造情報学専攻 教授
中山 啓 子	東北大学大学院医学系研究科附属創生応用医学研究センター 教授
長谷川 真理子	総合研究大学院大学 学長
◎樋口 輝 彦	国立精神・神経医療研究センター 名誉理事長
三品 昌 美	立命館大学総合科学技術研究機構 教授
水澤 英 洋	国立精神・神経医療研究センター 理事長
安松 浩	田辺三菱製薬株式会社創薬本部創薬企画部 専門部長
渡辺 茂	慶應義塾大学 名誉教授

（敬称略 50音順）

◎：主査、○：主査代理

※ 利害関係を有する可能性のある者が評価に加わった場合には、その理由や利害関係の内容を明確に記載すること。

「革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト」の概要

課題実施期間及び評価時期

平成26年度から平成35年度
(中間評価:平成27年度、28年度、30年度、33年度を予定、事後評価:平成35年度を予定)

概要・目的

革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクトは、平成26年度から開始しており、日本が世界に対して強みを持つ霊長類の遺伝子操作技術、光学系技術等のさらなる効率化・高度化を行うことで、霊長類の高次脳機能を担う神経回路の全容をニューロンレベルで解明し、精神・神経疾患の克服や、情報処理技術の高度化等に貢献することを目的として実施する。

研究開発の必要性等

(必要性)

ヒトの精神・神経活動の理解及び精神・神経疾患の克服のためには、神経回路の全容を明らかにすることが必要である。霊長類であるマーモセットは前頭葉が非常に発達していることなどに加え、遺伝子操作技術を適用することが可能であり、かつ我が国が技術的にリードしていることから、ヒトの脳の神経回路の全容解明を行う上で、マーモセットの脳の全容解明を行うことが極めて有用である。本プロジェクトにより霊長類の脳の理解が進むことで、ヒトの高次脳機能障害に関する診断・予防・治療法の確立や、脳の高次情報処理原理を利用した工学技術などの新たな社会の創成に貢献する技術の開発につながる事が期待される。

(有効性)

脳のマクロレベルとミクロレベルでの研究をそれぞれ格段に発展させつつ、これらを統合することによってヒトの脳の理解と精神・神経疾患の克服を目指すアプローチは国際的な潮流であり、有効性の高いものである。ヒト脳疾患において障害がおきている神経回路に対応するマーモセットの神経回路を同定し、革新的神経回路操作技術によって神経回路と脳機能傷害の因果関係を証明することができれば、脳疾患シミュレーションやその創薬への応用などの革新的技術の創出が可能となる。

(効率性)

我が国において強みのある計測技術等の高度化や革新的な技術開発、ヒト脳とマーモセット脳の構造・活動の対応付けを行うための技術開発等を本プロジェクトにおいて結集することにより、効率的に研究が推進できるとものと期待される。また、脳科学研究戦略推進プログラムにおける成果の活用や連携の強化によって、より効率的な研究の推進が期待できる。

「革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト」の概要

予算の変遷

(単位:億円)

	平成26年度	平成27年度	平成28年度	平成29年度	平成30年度 (当初額)	翌年度以降	総額
革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト(全体予算)	30.0	37.3	36.7	32.2	42.6 ※1	調整中	調整中

※1 戦略的国際脳科学研究推進プログラムの事業経費を含む

PD・PS・PO

PD※2	岡部 繁男(東京大学)
PS※3	岡部 繁男(東京大学)
PO	松田 哲也(玉川大学) 大塚 稔久(山梨大学) 渡辺 雅彦(北海道大学)※4

※2:平成28年7月に交代
※3:平成28年1月より1人体制
※4:平成28年7月に就任

プロジェクトリーダー

理化学研究所	岡野 栄之 宮脇 敦史
--------	----------------

中核拠点

代表機関名	代表研究者名	課題名
理化学研究所	岡野 栄之 宮脇 敦史	革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト
参画機関名	代表研究者名	業務名
慶應義塾大学	芝田 晋介 (平成28年4月に交代)	霊長類ミクロ・マクロコネクーム解析及びマーモセット脳科学研究支援
実験動物中央研究所	佐々木 えりか (平成30年4月に参画)	
京都大学	中村 克樹	マーモセットの高次脳機能マップの作成とその基盤となる神経回路の解明及び参画研究者に対する支援

臨床研究グループ

臨床研究総括チーム

代表機関名	代表研究者名	課題名
東京大学	笠井 清登	精神・神経疾患患者および健常者の脳画像等データソース統合にもとづく中核拠点 霊長類回路マップと疾患研究チーム患者回路情報の連結
参画機関名	代表研究者名	課題名
名古屋大学	尾崎 紀夫	精神神経疾患のImaging Geneticsによる病態関連神経回路解明
大阪大学	橋本 亮太	疾患病態における認知・行動を司る神経回路の解明
量子科学技術研究 開発機構	須原 哲也	精神疾患の神経回路-分子病態解明とモデル化
玉川大学	松元 健二	精神・神経疾患モデル動物としてのマウスマットにおける脳内回路解明のためのヒト健常者の詳細な機能および構造脳画像取得
京都大学	小林 哲生	疾患横断的回路抽出

疾患研究チーム(精神疾患)

代表機関名	代表研究者名	課題名
東京大学	笠井 清登	大規模脳画像解析とヒト-霊長類トランスレータブル脳・行動指標開発にもとづく精神・神経疾患の病態神経回路解明
参画機関名	代表研究者名	課題名
名古屋大学	尾崎 紀夫	精神疾患に関わる稀な遺伝子変異の探索による病態関連神経回路の解明
大阪大学	橋本 亮太	疾患病態における認知・行動を司る神経回路の解明
量子科学技術研究 開発機構	須原 哲也	精神疾患の神経回路-分子病態解明とモデル化
昭和大学	橋本 龍一郎	自閉症スペクトラム障害・統合失調症の神経回路異常に関するマルチモーダルMRIを用いた研究と異種間トランスレータブル脳機能指標の開発
生理学研究所	吉田 正俊	自発性眼球運動を指標とするサリエンシー検出機構の回路抽出
広島大学	岡本 泰昌	脳画像計測を用いた気分障害の神経回路病態の解明
筑波大学	武井 陽介	モデル動物の分子モーター解析

臨床研究グループ

疾患研究チーム(脳血管障害等)

代表機関名	代表研究者名	課題名
京都大学	高橋 良輔	脳血管障害とパーキンソン病における脳神経回路障害とその機能回復に関わるトランスレータブル脳・行動指標の開発
参画機関名	代表研究者名	業務名
京都大学	伊佐 正	霊長類モデルを用いた脳血管障害後の運動麻痺・高次脳機能障害の発生機序と機能代償回路の同定、機能回復のトランスレータブル指標の確立
国立精神・神経医療 研究センター	村田 美穂	急性及び慢性神経障害における神経回路網とその代償機構の解明
横浜市立大学	高橋 琢哉	シナプス機能分子を認識するPETプローブの開発
順天堂大学	小池 正人	パーキンソン病およびその関連疾患の初期病変の超微形態観察およびトランスレータブルな指標の検証
大阪大学	吉峰 俊樹	脳の局所神経回路障害の電気生理学的解析・パーキンソン病動物モデルの解析

疾患研究チーム(神経変性疾患)

代表機関名	代表研究者名	課題名
東京医科歯科大学	岡澤 均	変性性認知症による脳機能ネットワーク異常の全容解明
参画機関名	代表研究者名	課題名
東京大学	富田 泰輔	超早期アルツハイマー病鍵神経回路同定およびタウ病理進展機構の解明
名古屋大学	祖父江 元	前頭頭葉変性症/筋萎縮性側索硬化症の神経回路破綻解明に基づく革新的治療開発
順天堂大学	服部 信孝	パーキンソン病患者・モデル動物由来多面的解析に立脚したパーキンソン病病態解析
国立精神・神経医療 研究センター	松田 博史	超早期アルツハイマー病における画像診断を用いた鍵神経回路の同定
量子科学技術研究 開発機構	樋口 真人	脳老化病態カスケードのトランスレータブルなイメージングとメカニズム制御の研究開発
東京都医学 総合研究所	長谷川 成人	TDP-43のシナプス伝播を介した病態解明

技術開発個別課題

革新的な技術開発

代表機関名	代表研究者名	業務名
大阪大学	関谷 毅	体内埋込型集積回路内臓フレキシブル超薄膜センサシートを用いたマーマセットの脳信号計測システムの開発
沖縄科学技術大学院大学	銅谷 賢治	脳構造・機能マップによる多階層モデルのための計算技術開発
東京大学	松崎 政紀	大脳皮質高次脳機能回路の操作・光計測技術の開発
玉川大学	磯村 宜和	光遺伝学的に投射先を同定するマルチニューロン記録技術の開発
東京大学 理化学研究所 バイオリソースセンター	饗場 篤 小倉 淳郎	遺伝子操作マーマセットの作製・世代短縮のための革新的胚操作技術の開発
東京大学 山梨大学	尾藤 晴彦 喜多村 和郎	革新的プロービングによる神経活動の高速3D測定と活動痕跡の長期可視化
北海道大学 東北大学	根本 知己 横山 弘之	新規半導体レーザー光源を用いた超解像多光子励起顕微鏡法の開発

技術開発個別課題

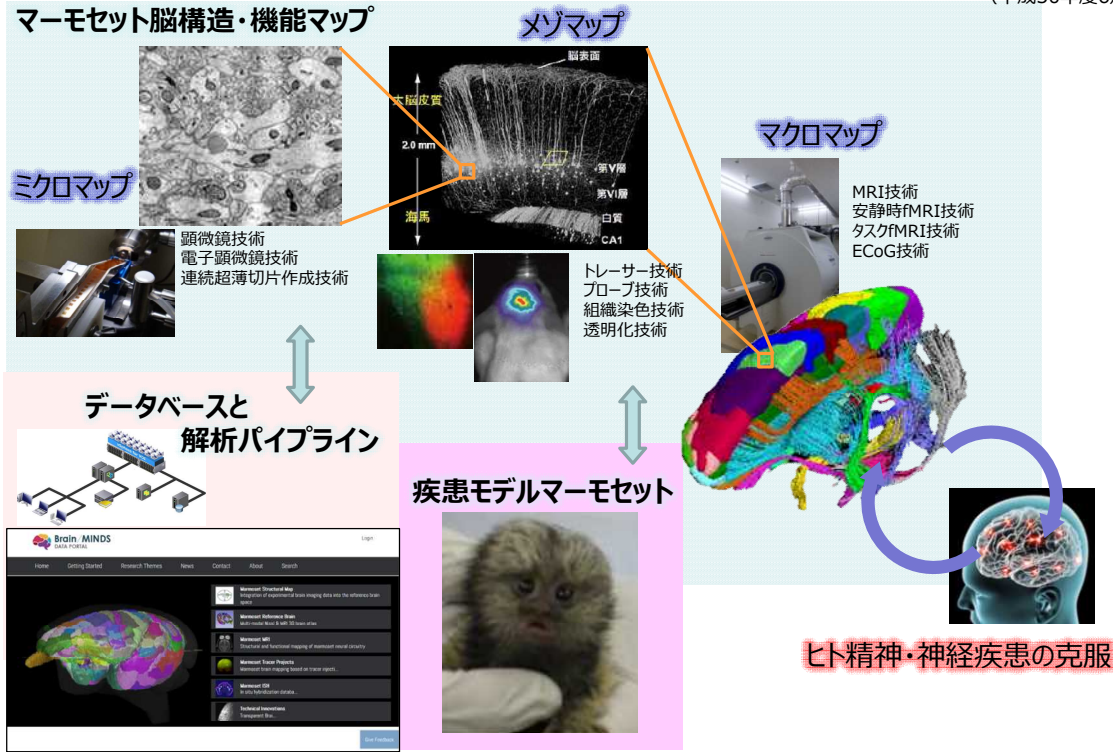
新技術創出

代表機関名	代表研究者名	業務名
東京大学	大木 研一	マーマセット脳のマルチモーダル・マルチスケール機能マッピングと超微細レベルの機能マッピング技術の開発
東京大学	上田 泰己	マーマセット脳の3次元観察・解析に資する基盤技術開発
大学共同利用機関法人 自然科学研究機構 東北大学	南部 篤 虫明 元	マルチスケール・マルチモーダルマップ法によるマーマセット脳の構造・機能解析
福島県立医科大学 北海道大学	小林 和人 山崎 美和子	経路選択的な標識・操作技術を応用したマーマセット大脳皮質—基底核ネットワークの構造・機能マッピング
京都大学	篠原 隆司	オス生殖細胞を用いた遺伝子改変霊長類作成技術の開発
九州大学	今井 猛	神経回路自動再構築のための超多色標識法の開発
順天堂大学 大阪大学	日置 寛之 古田 貴寛	透明化技術を基軸とした全脳レベルから超微細構造レベルへのズームイン法の確立
群馬大学	平井 宏和	アデノ随伴ウィルスベクターを用いた生体マーマセット中枢神経系の細胞種特異的遺伝子ノックダウン/ノックアウト法の開発
名古屋大学	小坂田 文隆	マーマセットコネクトーム解析のための神経回路トレーシングシステムの開発
東京大学 岡山大学	坂本 雅行 須藤 雄気	神経活動計測・操作を実現する革新的な全光型電気生理学的手法の開発
大阪大学	橋本 均	霊長類脳の高速・高精細全脳イメージング技術の開発
群馬大学	林 朗子	精神疾患の神経回路異常の解明にむけた革新的な機能的コネクトミクス法の開発

「革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト」の成果

中核拠点 (霊長類脳構造・機能マップ作成、革新的な解析技術の開発)

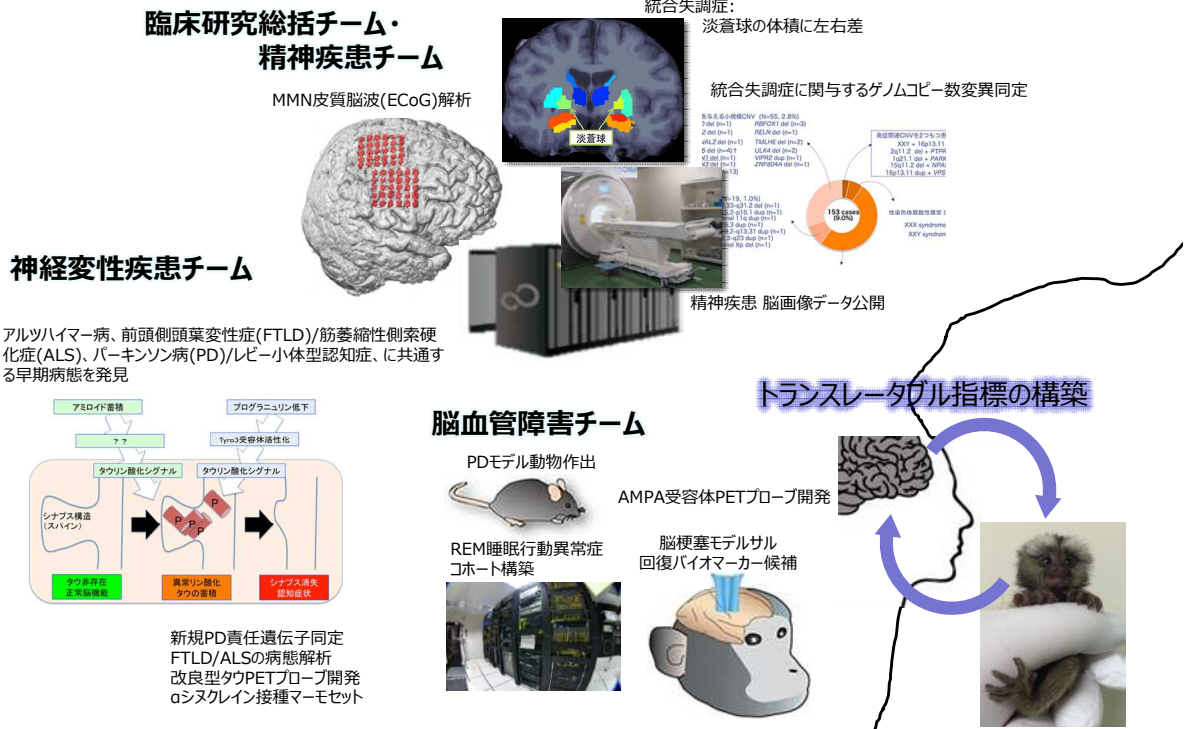
本事業の進捗状況
(平成30年度6月現在)



「革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト」の成果

臨床研究グループ (ヒトの精神・神経疾患等の原因究明・克服に向けた研究開発)

本事業の進捗状況
(平成30年度6月現在)



「革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト」の成果

技術開発個別課題 (目標の達成を補完・加速させるための研究開発)

本事業の進捗状況
(平成30年度6月現在)

神経活動イメージング技術
脳構造イメージング技術

電極技術

透明化技術

その他

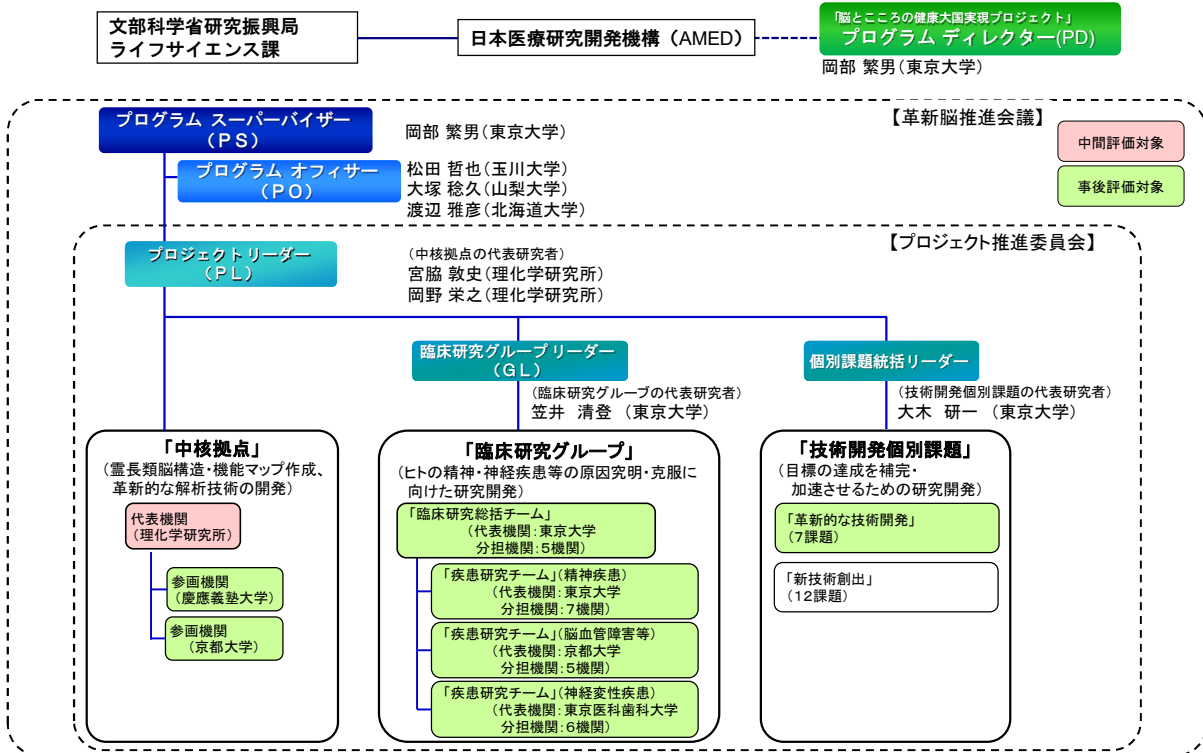
- データ解析技術
- ウイルスベクター技術
- 遺伝子改変技術
- 胚操作技術 etc.

中核拠点

多細胞同時記録法 (スパイク信号の観察)

光遺伝学的刺激法 (出力先軸索の刺激)

「革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト」体制図



中間評価票

(平成30年7月現在)

1. 課題³名 革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト
(5年目中間評価)

2. 研究開発計画との関係

施策目標：健康・医療・ライフサイエンスに関する課題への対応

大目標（概要）：健康・医療戦略推進本部の下、健康・医療戦略及び医療分野研究開発推進計画に基づき、国立研究開発法人日本医療研究開発機構を中心に、精神・神経疾患の克服に向けた研究開発などを着実に推進する。

中目標（概要）：「健康・医療戦略」及び「医療分野研究開発推進計画」等に基づき、疾病領域ごとの取組：精神・神経疾患の克服に向けた研究開発等を推進する。

重点的に推進すべき研究開発の取組（概要）：「健康・医療戦略」及び「医療分野研究開発推進計画」等に基づき、精神・神経疾患の克服に向けた研究開発を着実に実施する。

本課題が関係するアウトプット指標：精神・神経疾患克服の基盤となる脳機能ネットワーク（神経回路）の解明

本課題が関係するアウトカム指標：なし

3. 評価結果

(1) 課題の進捗状況

○事業の概要

ヒトに近い高次脳機能を持つ霊長類（マーモセット等）について、我が国が強みを有する遺伝子操作技術及び光学技術等を活用して、神経回路に関する全脳の構造と活動のマップを作成する。さらに、ヒトの精神・神経活動にとって重要な神経回路等に対応する霊長類の神経回路機能をニューロンレベルで解明するとともに、脳機能ネットワークの全容解明に必要な革新的な技術開発を実施する。

これらの目的を達成するため、中核拠点（霊長類脳構造・機能マップ作成及び革新的な解析技術の開発）、臨床研究グループ（ヒトの精神・神経疾患等の原因究明・克服に向けた研究開発）、技術開発個別課題（目標達成を補完・加速させるための技術開発）を選定して平成26年度より事業を実施している。

本プロジェクトが開始後、5年度目を経過することから中間評価を実施した。

○進捗状況評価

・中核拠点

霊長類脳構造・機能マップ作成においては、マーモセットの脳の高精度MRIによ

る脳画像及び順行トレーサーによる神経線維投射マップの取得など、脳構造のデータ蓄積を推進するとともに、マーモセットの脳標準化アトラス及び遺伝子発現マッピングデータの公開などを実施した。

また、革新的な解析技術の開発においては、動物の脳活動を非侵襲的に可視化するためのシステム及び超広視野顕微鏡等の開発を実施した。

一方、プロジェクト全体のマネジメントが実現されておらず、本プロジェクトの根幹である疾患マーモセットの作出・繁殖・飼育の計画に遅れが生じていることに加えて、各研究グループが得たデータ等を統合しての脳の情報処理の原理抽出に向けた具体的な戦略が不明確なままである。

この状況に対しては、中核拠点において抜本的な実施体制の変更が望まれる。

・臨床研究グループ

精神疾患研究では、ヒト脳 MRI 画像撮像の標準プロトコルの策定による他施設連携体制の構築を推進するとともに、脳画像による統合失調症患者の高精度の判別法などに関する研究開発を実施した。

神経変性疾患研究では、3大認知症の予防・治療の実現に向けて、同疾患初期に変化するリン酸化タンパクなどに関する研究開発を実施した。

脳血管障害等研究では、血管障害とパーキンソン病（PD）を主たる対象として、トランスレータブルな脳梗塞の機能回復指標、PD モデル動物の作出及び PD 発症のリスクコホートの形成などに関する研究開発を実施した。

各研究グループにおいては、概ね計画どおり進捗していると評価できるものの、中核拠点のマップ作成に活用されたかという点においては、十分な成果が得られたとは言い難く、後半 5 年の実施期間においては同グループに対する中核拠点のマネジメントの在り方の見直しが望まれる。

・技術開発個別課題

完全脳埋込型の脳活動計測システム、全方位小型 2 色 2 光子顕微鏡、各種モデル及びビッグデータの統合的解析手法、神経活動を可視化する世界最高速・最高感度の改良型カルシウムプローブ、神経細胞の投射先記録技術、生体脳深部イメージングのためのレーザー技術など、今後のマーモセット脳の全容解明に向けて極めて有用な多くの革新的な技術開発が実施され、国際的に極めて競争力のある成果を上げており、計画どおり進捗していると評価できる。

開発された技術の本プロジェクトの後半 5 年間の研究へ応用すれば目標達成に大きく貢献できると考えられ、これらの技術を活用するための措置が望まれる。

（2）各観点の再評価

<必要性>

評価項目

科学的・技術的意義（独創性、革新性）

評価基準

- ・マーモセットの脳の全容解明が進捗したか
- ・精神・神経疾患の克服並びに情報処理技術高度化へ貢献したか

本プロジェクトの事前評価においては、精神・神経疾患の克服並びに情報処理技術高度化への貢献を目指し、ヒトの脳の神経回路の全容解明を行う上で、ヒトに近い高次脳機能を持つマーモセットの神経回路に関する全能の構造と活動マップを作成することが極めて有用であるとの評価がなされた。

本プロジェクトにおいて、高精度 MRI によるマーモセット脳構造 MRI 画像を取得するとともに、革新脳データポータルにて 3D マーモセット脳標準化アトラスや遺伝子発現マッピングデータを公開し、世界の研究者に活用されている。疾患モデルマーモセットの作出については、遺伝子編集や発生工学等の技術の開発・応用が試みられ、レット症候群モデルマーモセットを作出するなどの成果を挙げた。

一方で、中核拠点内及び臨床研究グループ等の研究などから得られたビッグデータを活用して新知見を得るという方向の成果は乏しい。今後は、得られたデータから霊長類の脳の情報処理原理を抽出するための戦略及び方法を明確にすること、データベースの構築においては疾患を中心として、ユーザー側の視点に立って修正することが必要である。

以上より、必要性への要求事項は一部不十分であり、改善が望まれる。

<有効性>

評価項目

新しい知の創出への貢献、知的基盤の整備への貢献や寄与の程度

評価基準

- ・脳機能ネットワークの解明や精神・神経疾患の克服に向けてマクロ、ミクロレベルでの研究が進展したか
- ・有用な革新的技術が開発されているか

本プロジェクトの事前評価においては、マクロレベルとミクロレベルの研究進展とそれらの統合によるヒトの脳の理解とともに、革新的神経回路操作技術によってマーモセット脳の神経回路と脳機能の関係性を証明することで、精神・神経疾患の理解と治療戦略の開発の加速が期待できるとの評価がなされた。

本プロジェクトにおいて、ヒトの脳の理解については、ヒト脳 MRI 画像撮像の標準プロトコルを策定し、統合失調症に特異的な淡蒼球の左右差を世界で初めて解明した。また、統合失調症患者のゲノム解析から第 22 番染色体の部分欠失を原因候補変異として同定し、患者死後脳や患者由来 iPS 細胞の解析を通して、同疾患の病態メカニズムの一端を解明するとともに早期診断の可能性を示唆した。

霊長類脳構造・機能マップ作成に寄与する革新的な技術開発については、脳深部の標識神経細胞からの発光を自由行動下、非侵襲的に可視化する新規発光システム AkaBLI や、大脳皮質の広領域の神経活動のマッピングに成功した超広視野顕微鏡等を開発するなど、計画以上に順調に進捗し、国際的に極めて競争力のある成果を挙げたことから、今後これら

の技術を本格的に応用することで、本プロジェクトの目標達成に大きな貢献が期待できる。
以上より、有効性への要求事項は満たしていると評価できる。

<効率性>

評価項目

計画・実施体制の妥当性

評価基準

- ・組織が適切に運営されているか
- ・積極的に連携がなされているか
- ・PD・PS・PO や外部有識者によって適切な評価と進捗管理が行われることで、効率的に研究が推進されているか

本プロジェクトの事前評価においては、我が国において強みのある計測技術等の高度化、革新的な技術開発、ヒト脳とマーモセット脳の構造・活動の対応付けを行うための技術開発等を結集するとともに、精神・神経疾患に対するモデルマーモセットの普及体制の整備を推進する「脳科学研究戦略推進プログラム」の「霊長類モデル」事業（平成 25～29 年度）との連携を強化することにより、効率的に精神・神経疾患の克服に貢献することが期待できるとの評価がなされた。

本プロジェクトにおいて、研究開発期間の前半 5 年の探索的な研究開発で、中核拠点並びに技術開発個別課題を通してマーモセット脳の構造・機能マッピングに必要な技術、疾患モデルマーモセット作出と繁殖に必要な技術の開発には進展が見られた。臨床研究グループにおいては、統合失調症患者等から取得したデータの公開及び倫理支援体制の構築と、参画する施設の倫理課題への対処などを実施した。

一方で、本プロジェクトの根幹である疾患モデルマーモセットの作出・繁殖・飼育に必要なリソース投入の優先順位付がなされておらず、当初の計画どおりに進展していないことへの具体的な措置の検討がなされていない。加えて中核拠点のトレーサー研究をはじめとして、将来的なデータ統合を見据えずに独立した研究グループで実施されている課題が認められるなど、ヒト脳とマーモセットの脳の構造・活動の対応付けを行うための技術開発等を、中核拠点において結集できていない。プロジェクト全体のマネジメントが実現されておらず、霊長類の脳の情報処理原理を抽出するための戦略及び方法が不明確なまま各研究が進められ、現時点で効率的に研究を進めているとは言い難い。

この状況に対しては、実施機関における取組や、代表研究者等による適切なマネジメントに加え、PS・PO の果たす役割が極めて大きいものと考えられ、抜本的な実施体制の変更が望まれる。

以上のことから、効率性への要求事項は、不十分であり、改善が望まれる。

(3) 今後の研究開発の方向性

本課題は「継続」、「中止」、「方向転換」する（いずれかに丸をつける）。

理由：

本プロジェクトは、有効性の項の評価で述べたとおり、脳科学の発展に大きな貢献が期待される成果及び国際的に極めて競争力のある成果を挙げるとともに、米国のブレインイニシアティブ、EUのヒューマンブレインプロジェクトに匹敵するものとして国際的に認知されている。また、精神・神経疾患の患者数の増大が大きな社会問題となりつつある中で、「健康・医療戦略」（平成26年7月22日閣議決定、平成29年2月17日一部変更）において、「認知症やうつ病などの精神・神経疾患等の発症に関わる脳神経回路・機能の解明に向けた研究開発及び基盤整備を各省連携の下に強力に進めることにより、革新的診断・予防・治療法を確立し、精神・神経疾患等を克服する。」ことが明記されており、本プロジェクトは継続して実施すべきである。

一方で、必要性や効率性の項の評価で述べたとおり、プロジェクト全体のマネジメントが実現されておらず、霊長類の脳の情報処理原理を抽出するための戦略及び方法が明確にされないまま研究が進められている点では、現時点での成果は十分とは言い難い。

そのため、中核拠点である理化学研究所脳神経科学研究センターにおいて、一層の成果創出に向けて、マーモセット脳の構造・機能マップ、疾患研究等から新知見を得るための戦略を示し、課題、実施体制の大胆な見直しも含めて総力を挙げて取り組む必要がある。

（4）その他

（留意事項）

本プロジェクトは「社会に貢献する脳科学」を目指すという使命が定められていることから、実施機関においては、成果を創出し、社会への還元を目指すという意識を高く持ち続けながら調査・研究を遂行することが必要である。代表研究者等においては、これらの認識の下、実施機関においてリーダーシップを発揮するとともに、PS・POが適切な指導・助言を行うことをもって、本プロジェクトの他課題とも更に連携を深め、達成目標に向けた成果を上げ、社会還元できるよう研究を推進する必要がある。

³原則として、事前評価を行った課題の単位で実施することとし、事前評価の単位と異なる場合は、課題との関係性について本欄中に明瞭に記載すること。