

ヤマアジサイにおける分子遺伝学的研究による遺伝的多様性の評価

明治大学農学部花卉園芸学研究室 織田大輝・原田千二郎・半田高

【緒言】

形態に基づく従来の分類（大場，2007）では，日本に自生するアジサイ属アジサイ亜節は，関東地方半島部沿岸と伊豆諸島から小笠原諸島の限られた地域にのみ分布するガクアジサイ（*Hydrangea macrophylla*）と，北海道から九州まで広く分布するヤマアジサイ（*H. serrata*）の 2 種があり，このうちのヤマアジサイは，主に鈴鹿山脈を境に装飾花が白色の東日本型ヤマアジサイ（*H. serrata* var. *serrata*）と，有色の西日本型ヤマアジサイ（*H. serrata* var. *acuminata*）に分けられ，また北陸・東北以北にはエゾアジサイ（*H. serrata* var. *yessoensis*）が，九州にはヒュウガアジサイ（*H. serrata* var. *minamitanii*）とナンゴクヤマアジサイ（*H. serrata* var. *australis*）がそれぞれ変種として提示されている（図 1）。

一方，近年の分子生物学的手法の発展に伴い DNA 情報から再検討された APG 分類体系（分子遺伝学的分類）では，アジサイ亜節はガクアジサイ（*H. macrophylla*）、エゾアジサイ（*H. yessoensis*）、東日本型ヤマアジサイ（*H. serrata*）、西日本型ヤマアジサイ（*H. acuminata*）の 4 種として提案され，ヒュウガアジサイ，ナンゴクヤマアジサイ，ヤクシマルリアジサイは西日本型ヤマアジサイの下位分類群とされ，アマギアマチャは東日本型ヤマアジサイの一部とされた（村上ら，2024）。

アジサイ亜節植物の育種では，古くよりガクアジサイを主体にして，ヤマアジサイやエゾアジサイの選抜やこれらの交配が行われてきた。また，ヤマアジサイは国内に広く分布し，上記のように各地域に適応した形態的に多様な変種が多く存在することから，形態分類と APG 分類での不一致や，各集団における遺伝的多様性など不明な点も多い。日本に自生するアジサイ亜節植物を適切に保全しつつ，今後の育種材料として利用するには，野生集団の遺伝的多様性の把握が重要である。

このため，明治大学花卉園芸学研究室では，園芸植物として世界的にも重要なアジサイ亜節植物の遺伝資源が自生する日本各地の野生集団について，自生地における形態調査と DNA 分析による分子遺伝学的解析を実施している。

今回は，主にヤマアジサイとその変種の遺伝的多様性について分子遺伝学的に解析した原田（修士論文，2024）と織田（学部卒業論文，2025）の研究結果について紹介する。

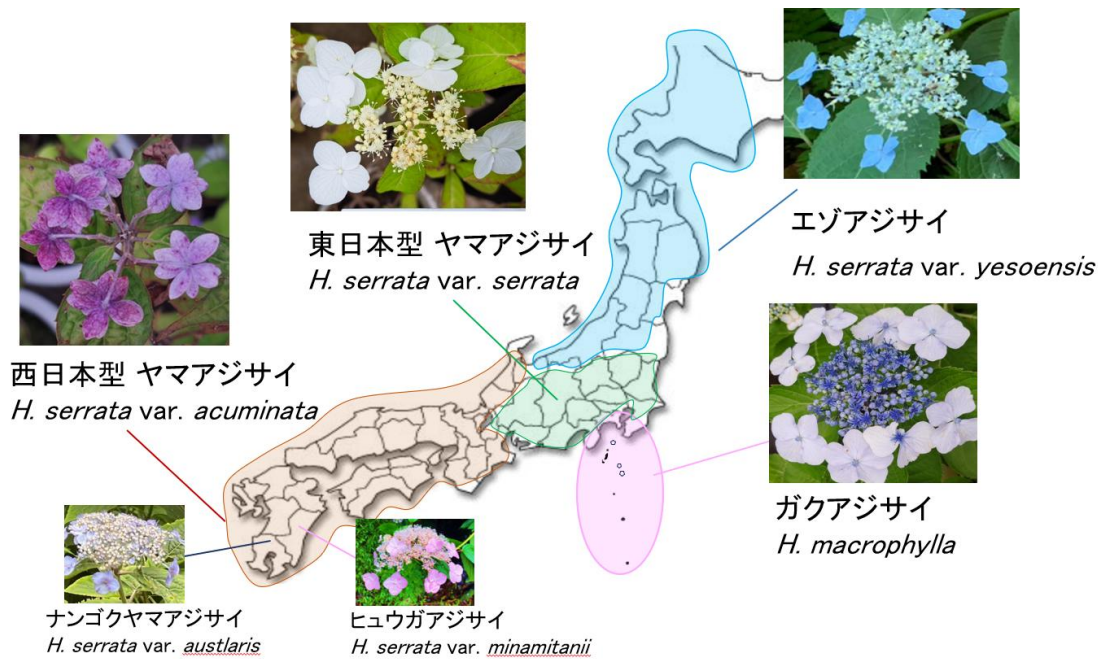


図1. 形態分類によるアジサイ亜節各種・変種の分布 (川島, 2010 を改変)

【研究の目的】

原田の研究目的

ヤマアジサイでは国内各地の自生地から山採りの品種・系統が多く発見されている。ヤマアジサイは自生地が広範囲なため、各地域の異なる環境や生態系に応じて変異が生じたと考えられる。原田はヤマアジサイにおいて西日本から多くの山採り品種・系統が発見されている点に注目し、分子遺伝学的手法を用いて西日本の野生集団を中心に遺伝的多様性と遺伝構造の評価を行った。また、ヤマアジサイでは採取地の地名を品種・系統名とすることが多いが、一部では実際の採取地とは異なる名前であったり、採取地不明であったりするなどの混乱があることから、分子遺伝学的解析により、主に西日本の自生地由来とされるヤマアジサイ品種・系統の推定起源地域の評価も試みた。

織田の研究目的

一般的に植物の異なる種・変種の自生地境界付近では、交雑による遺伝的交流による遺伝的多様性が高くなる傾向や形態的変異の拡大が報告されている。こうした自生地境界で生じる形態変異には園芸的にも有用な個体が生じる、しかし、現状ではアジサイ亜節内の種・変種における自生地境界における遺伝的多様性や形態的変異の詳細は不明のままである。織田はヤマアジサイを中心にしたアジサイ亜節植物の種・変種間の自生地境界における野生集団を調査して形態的変異を把握すると共に、分子遺伝学的解析により各集団の遺伝的多様性と遺伝構造ならびに評価した。

【材料および方法】

原田の研究材料（図 2）

核 SSR 解析の材料として，ヤマアジサイの野生集団は 39 集団 388 個体を用いた．また，ヒュウガアジサイの野生集団は宮崎県 2 集団 18 個体を，ナンゴクヤマアジサイの野生集団は宮崎県 2 集団 27 個体と鹿児島県 2 集団 21 個体の計 4 集団 48 個体を用いた．さらに，アウトグループ（分析対象種の近縁種）として，エゾアジサイ 1 集団 17 個体およびガクアジサイ 1 集団 14 個体を用いた．また，ヤマアジサイおよびその変種の園芸品種・系統の推定起源地域の評価には 64 品種・系統を用いた．

織田の研究材料（図 3）

核 SSR 解析の材料として，形態的に判断した東日本型ヤマアジサイ 18 集団 157 個体，西日本型ヤマアジサイ 15 集団 222 個体，エゾアジサイ 5 集団 50 個体，ガクアジサイ 1 集団 12 個体，ヒュウガアジサイ 1 集団 9 個体，ナンゴクヤマアジサイ 1 集団 8 個体の合計 50 集団 458 個体を用いた．なお，アジサイ亜節 2 種・5 変種のうち，遺伝資源として重要なヤマアジサイ，エゾアジサイ，ガクアジサイの自生地境界に自生する 18 集団を図 3 中の赤枠 4 つで囲んだ．



図 2. 原田（2024）が用いた地域集団



図 3. 織田（2025）が用いた地域集団

分子遺伝学的解析の方法

葉から改良 CTAB 法により DNA を抽出し，アジサイ用に開発された核 SSR プライマー 10 セットを用いた PCR 反応により核 SSR（マイクロサテライト）領域を増幅し，得られた塩基配列情報をもとに統計解析を行った．各野生集団における遺伝的多様性の指標（ N_a , N_e , I , H_o , H_e , uH_e , AR , F_{is} ）を計算した後，種・変種および各地域集団の階層的遺伝構造を Structure 解析により図示した．また，原田はヤマアジサイの品種・系統の推定自生地をアサイメントテストにより評価し，織田はヤマアジサイの自生地境界における集団形成過程を DITABC 解析により推定した．

【結果】

原田の解析結果

(1) 核 SSR 解析による遺伝的多様性の評価

ガクアジサイおよびヤマアジサイ各変種の遺伝的多様性を核 SSR 解析により評価した (表 1)。なお、表中の各指標は、値が大きいほど遺伝的多様性が高いことを示し、高い値は背景色を赤くした。

解析の結果、山採りの園芸品種が多く発見されている西日本型ヤマアジサイは、ガクアジサイや他のヤマアジサイ変種よりも遺伝的多様性が高い値となった。

表 1. 核 SSR 解析によるガクアジサイとヤマアジサイの遺伝的多様性

種・変種名	集団No.	N	Na	H_o	H_e	$AR_{[14]}$
東日本型ヤマアジサイ	p1~18	154	8.55	0.51	0.63	5.45
西日本型ヤマアジサイ	p19~39	234	9.82	0.51	0.66	5.90
ヒュウガアジサイ	p40~41	18	3.45	0.26	0.37	3.23
ナンゴクヤマアジサイ	p42~45	48	4.82	0.43	0.53	3.89
エゾアジサイ	p46	17	3.64	0.37	0.43	3.60
ガクアジサイ	p47	14	2.73	0.32	0.28	2.73

N : サンプル数, Na : 集団平均の対立遺伝子数, H_o : ヘテロ接合度の観察値, H_e : ヘテロ接合度期待値, $AR_{[14]}$: アレリックリッチネス (14 個体あたりの対立遺伝子の豊富さ)。

表 2. 核 SSR 解析によるヤマアジサイ地域集団における遺伝的多様性

地域	集団No.	N	Na	H_o	H_e	$AR_{[25]}$	pa	fpa
関東・東海	p1 ~ 10	87	7.00	0.46	0.58	5.70	5	0.13
中部	p11, 17, 18	25	6.09	0.61	0.64	6.09	0	0.00
北陸	p12 ~ 16	38	6.00	0.56	0.58	5.52	3	0.11
近畿	p19, 20	27	6.00	0.55	0.59	5.91	3	0.15
中国	p21 ~ 25	40	6.27	0.51	0.60	5.51	2	0.12
四国	p26 ~ 30	35	7.00	0.50	0.59	6.53	5	0.20
九州	p31 ~ 37	100	7.82	0.52	0.64	6.33	7	0.38

N : サンプル数, Na : 集団平均の対立遺伝子数, H_o : ヘテロ接合度の観察値, H_e : ヘテロ接合度期待値, $AR_{[14]}$: アレリックリッチネス (25 個体あたりの対立遺伝子の豊富さ), pa : 地域固有の対立遺伝子数, fpa : 1 個体あたりの地域固有の対立遺伝子の出現頻度

次に、ヤマアジサイを複数の地域集団に分けて遺伝的多様性を評価した（表 2）。その結果、西日本型ヤマアジサイの中でも特に四国・九州集団の遺伝的多様性が高かった。

以上の結果から、四国・九州から多くの山採り園芸品種が発見されている現状は、この地域集団の高い遺伝的多様性に関係している可能性が考えられる。これら 2 地域は地域固有の対立遺伝子の指標（ p_a , f_{p_a} ）の値が高いことから独自の遺伝子型を多く有しており、ヤマアジサイの遺伝的多様性にとって重要な地域と考えられる。

また、集団内の近親交配の程度を示す指標として F_{is} を計算した。 F_{is} の値は 0.25 以上で近親交配が生じていることを示し、0.5 以上になると集団が遺伝的に脆弱となるリスクをもたらすとされている。計算の結果、ヒュウガアジサイ 2 集団では F_{is} 値が 0.2 および 0.32 であり、何らかの原因で近親交配が生じている可能性が示された（表 3）。ヒュウガアジサイの他の遺伝的多様性の指標は低い値ではないため、現状では遺伝的多様性は保たれているが、自生地の縮小や隔離などにより近親交配が今後も進んだ場合は将来的に遺伝的多様性が低下し、環境の変化に対して極めて脆弱な集団になる可能性が危惧される。

表 3. 核 SSR 解析によるヒュウガアジサイ 2 集団における遺伝的多様性と近親交配の程度

集団No.	採取地	N	Na	H_o	H_e	$AR_{[5]}$	p_a	F_{is}
p40	宮崎県諸塚町（ヒュウガ）	9	3.09	0.29	0.42	2.46	0	0.32 *
p41	宮崎県綾町（ヒュウガ）	9	1.73	0.22	0.26	1.57	1	0.20

N：サンプル数，Na：集団平均の対立遺伝子数， H_o ：ヘテロ接合度の観察値， H_e ：ヘテロ接合度期待値， $AR_{[14]}$ ：アレリックリッチネス（5 個体あたりの対立遺伝子の豊富さ）， F_{is} ：近交係数

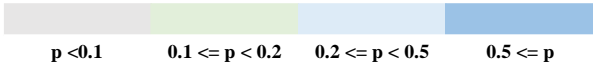
（2）アサインメントテストによる山採り園芸品種・系統の推定起源地域の評価

次に、西日本由来とされる山採りの園芸品種・系統について核 SSR 分析の結果を用いたアサインメントテスト解析により推定起源地域を評価した（表 4）。なお、表中の p 値は配属確率を示し、 $p > 0.01$ となった集団のみを推定由来集団としてみなし、「-」は配属無し、灰色は $0.01 \leq p < 0.1$ 、緑色は $0.1 \leq p < 0.2$ 、水色が $0.02 \leq p < 0.5$ 、青色は $0.5 \leq p$ をそれぞれ示す。各品種の配属確率が高い順に 1～3 位の集団を示した、表中太字はもともとの推定採取地の地域を示す。今回の解析では材料不足と遺伝子マーカーの解像度不足により、都道府県レベルの起源地推定では正確な結果は得られなかったため、より大まかな地域区分で推定起源地を評価した。

アサインメントテストの結果、ヤマアジサイ園芸品種・系統は基本的には推定されている地域と同じ地域が第 1 位または第 2 位に評価されたが、一部の品種・系統については推定起源地とは異なる結果となったことから、これらについては慎重な取り扱いやより詳細な解析が必要と考えられる。

表 4. 核 SSR 解析のアサインメントテストによる推定起源地域の評価

品種名	推定採取地	1位	p	2位	p	3位	p
‘駿河黄金’	静岡	東海	0.63	関東	0.30	中部	0.11
‘白富士’	静岡	-	-	-	-	-	-
‘富士の滝’	静岡	四国	0.09	中部	0.06	-	-
‘桃色ヤマアジサイ’	静岡	関東	0.21	中部	0.13	北陸	0.06
天城甘茶	静岡	中部	0.70	関東	0.38	北陸	0.08
‘綾’	石川	北陸	0.21	中部	0.16	関東	0.02
‘白波’	滋賀	中部	0.02	四国	0.01	-	-
‘深山八重紫’	京都	北陸	0.05	中部	0.01	-	-
‘京テマリ’	京都	北陸	0.02	-	-	-	-
‘別子テマリ’	愛媛	四国	0.40	中部	0.29	中国	0.20
‘伊予桜’	愛媛	北陸	0.91	四国	0.82	九州	0.38
‘伊予獅子テマリ’	愛媛	中国	0.29	四国	0.09	九州	0.05
‘伊予の薄墨’	愛媛	四国	0.04	-	-	-	-
‘伊予の光’	愛媛	四国	0.30	中国	0.21	北陸	0.14
‘新宮テマリ’	愛媛	-	-	-	-	-	-
‘土佐の白玉’	高知	四国	0.68	中国	0.59	近畿	0.50
‘土佐清流’	高知	四国	0.08	九州	0.05	近畿	0.04
‘土佐のまほろば’	高知	近畿	0.12	九州	0.09	-	-
‘仁淀八重’	高知	四国	0.22	近畿	0.20	北陸	0.10
‘脱藩の暁’	高知	-	-	-	-	-	-
土佐緑風	高知	四国	0.63	北陸	0.45	中国	0.21
‘仁尾ヶ内テマリ’	高知	-	-	-	-	-	-
‘長門紫’	山口	九州	0.73	四国	0.07	-	-
‘豊前の紺色’	福岡	九州	0.73	四国	0.07	-	-
‘坊ヶ鶴テマリ’	大分	九州	0.74	対馬	0.03	-	-
‘九重テマリ’	大分	九州	0.45	-	-	-	-
‘久住の花火’	大分	九州	0.68	対馬	0.04	四国	0.01
‘九重至宝’	大分	九州	0.05	-	-	-	-
‘九重麗華’	大分	九州	0.91	ナンゴク	0.12	四国	0.05
‘九重八重’	大分	九州	0.10	-	-	-	-
‘久住の舞’	大分	九州	0.10	-	-	-	-
‘赤軸久住の花火’	大分	九州	0.68	対馬	0.05	四国	0.03
‘白花久住の花火’	大分	九州	0.11	-	-	-	-
‘久住の光’	大分	九州	0.84	近畿	0.35	四国	0.02
‘九重紫紅’	大分	九州	0.68	近畿	0.03	-	-
‘久住の梅’	大分	九州	0.65	四国	0.10	近畿	0.05
‘九重桃姫’	大分	-	-	-	-	-	-
‘斑入り九重山’	大分	九州	0.58	-	-	-	-
‘九重の渦巻’	大分	九州	0.46	近畿	0.01	-	-
‘久住の線香花火’	大分	九州	0.34	四国	0.02	対馬	0.02
‘倉木てまり’	大分	九州	0.65	対馬	0.02	-	-
‘由布の恵’	大分	対馬	0.03	-	-	-	-
‘津江テマリ’	大分	九州	0.20	-	-	-	-
‘津江大デマリ’	大分	九州	0.79	ナンゴク	0.11	四国	0.10
‘津江小デマリ’	大分	九州	0.69	北陸	0.04	四国	0.03
‘岩の白露’	大分	東海	0.13	九州	0.12	北陸	0.01
‘小糸’	大分	九州	0.65	四国	0.18	中国	0.07
‘大谷デマリ’	宮崎	九州	0.66	近畿	0.22	中国	0.08
‘日向紋り’	宮崎	-	-	-	-	-	-
‘鶴富’	宮崎	九州	0.40	近畿	0.05	-	-
‘日向手毬’	宮崎	近畿	0.92	九州	0.46	四国	0.44
‘薩摩紫紺’	鹿児島	-	-	-	-	-	-
‘霧島錦’	鹿児島	九州	0.51	-	-	-	-
‘電光’	九州	四国	0.66	九州	0.15	中国	0.07
‘海峡’	韓国(济州島)	韓国	0.47	四国	0.02	-	-
‘霧の夕映え’	ヒュウガ	ヒュウガ	0.01	-	-	-	-
‘咲耶姫’	ヒュウガ	九州	0.15	ヒュウガ	0.02	-	-
‘虹の谷’	ヒュウガ	-	-	-	-	-	-
‘日向の紅神楽’	ヒュウガ	ヒュウガ	0.01	-	-	-	-
‘日向白宝’	ヒュウガ	九州	0.03	ヒュウガ	0.02	-	-
‘紅奴’	ヒュウガ	ヒュウガ	0.17	-	-	-	-
‘美鈴てまり’	ヒュウガ	-	-	-	-	-	-
‘浮雲’	ナンゴク	ナンゴク	0.50	九州	0.19	四国	0.16
‘南国彗星’	ナンゴク	四国	0.05	東海	0.05	ナンゴク	0.04



織田の解析結果

(1) 核 SSR 解析による自生地境界集団における遺伝的多様性の評価

核 SSR 解析により，ヤマアジサイとその変種の自生地境界となる岐阜県，滋賀県，富山県の一部野生集団（表中赤字）は他の集団に比べて明らかに高い遺伝的多様性を示したことから，これら 3 集団はヤマアジサイ集団と近接する変種集団間で交雑した結果，遺伝的多様性が高くなった可能性が示唆された（表 5）．この遺伝的多様性が高い自生地境界野生集団の一部では装飾花の花型や花色に多様性があることも観察している（図 4）．

表 5. 核 SSR 解析による自生地境界集団における遺伝的多様性

形態に基づく自生地境界	集団名	形態	No.	<i>Na</i>	<i>Ne</i>	<i>I</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>uHe</i>	<i>Fis</i>
東日本型ヤマアジサイと 西日本型ヤマアジサイの境界	・滋賀県 集団A	西日本型	10	3.30	2.32	0.88	0.49	0.48	0.51	-0.04
	・岐阜県 集団B	中間型	9	4.60	3.26	1.21	0.66	0.61	0.65	-0.06
	・滋賀県 集団C	中間型	8	4.20	3.09	1.06	0.50	0.52	0.56	0.04
東日本型ヤマアジサイと エゾアジサイの境界	・群馬県 集団D	東日本型	15	3.20	2.32	0.85	0.35	0.49	0.51	0.34
	・群馬県 集団E	東日本型	7	2.70	2.02	0.69	0.41	0.39	0.42	-0.06
	・栃木県 集団F	東日本型	14	3.90	2.35	0.94	0.54	0.51	0.52	-0.10
	・岐阜県 集団G	中間型	10	3.80	2.52	0.97	0.47	0.52	0.55	0.13
	・山田牧場(長野)	エゾ	12	3.00	2.15	0.71	0.39	0.38	0.40	-0.04
	・新潟県 集団H	エゾ	11	3.30	2.10	0.77	0.48	0.41	0.43	-0.16
	・新潟県 集団I	エゾ	10	3.30	2.08	0.78	0.43	0.41	0.43	-0.05
	・栃木県 集団J	エゾ	5	2.10	1.71	0.52	0.30	0.31	0.35	-0.01
	・富山県 集団K	中間型	12	4.80	2.97	1.21	0.67	0.62	0.65	-0.06
西日本型ヤマアジサイ(北陸)と エゾアジサイの境界	・富山県 集団L	西日本型	8	3.50	2.45	0.96	0.56	0.54	0.57	-0.05
	・富山県 集団M	西日本型	10	3.90	2.72	1.05	0.58	0.56	0.59	-0.05
	・富山県 集団N	西日本型	7	3.70	2.56	1.02	0.56	0.55	0.60	-0.03
東日本型ヤマアジサイと ガクアジサイの境界	・千葉県 集団O	中間型	6	3.00	2.14	0.82	0.47	0.48	0.52	0.09
	・静岡県 集団P	東日本型	5	2.90	2.25	0.74	0.34	0.39	0.43	0.10
	・静岡県 集団Q	東日本型	4	2.70	2.14	0.73	0.40	0.41	0.47	0.09
全国のヤマアジサイ集団における各指標の平均値			459	3.45	2.37	0.88	0.48	0.48	0.51	0.00

No: サンプル数, *Na*: 対立遺伝子数, *Ne*: 有効対立遺伝子数, *I*: シャノン指数, *Ho*: ヘテロ接合度の実測値, *He*: ヘテロ接合, *uHe*: ヘテロ接合度の有効期待値
Fis: 近交係数 黄色の塗りつぶしは遺伝的多様性の指数が高い事を示している



図 4. 自生地境界集団における装飾花の多様性

以上の結果から，異なる種・変種の自生地境界に自生する野生集団の多様性を維持していくためには，その境界地域周辺の集団も含めた包括的な保全が必要と考える．

（２）核 SSR の Structure 解析による各地域集団の遺伝構造の解析

核 SSR の Structure 解析の結果，地域的な遺伝構造が階層的に見られた（図 5）．図中の各色は遺伝的なまとまりを示し，第 1 層下部の黒線下には形態分類による種・変種名を示した．この解析により，表 5 で遺伝的多様性が高かった 3 集団（図中の赤文字）では，近接する変種間における遺伝的交雑が明らかとなった．

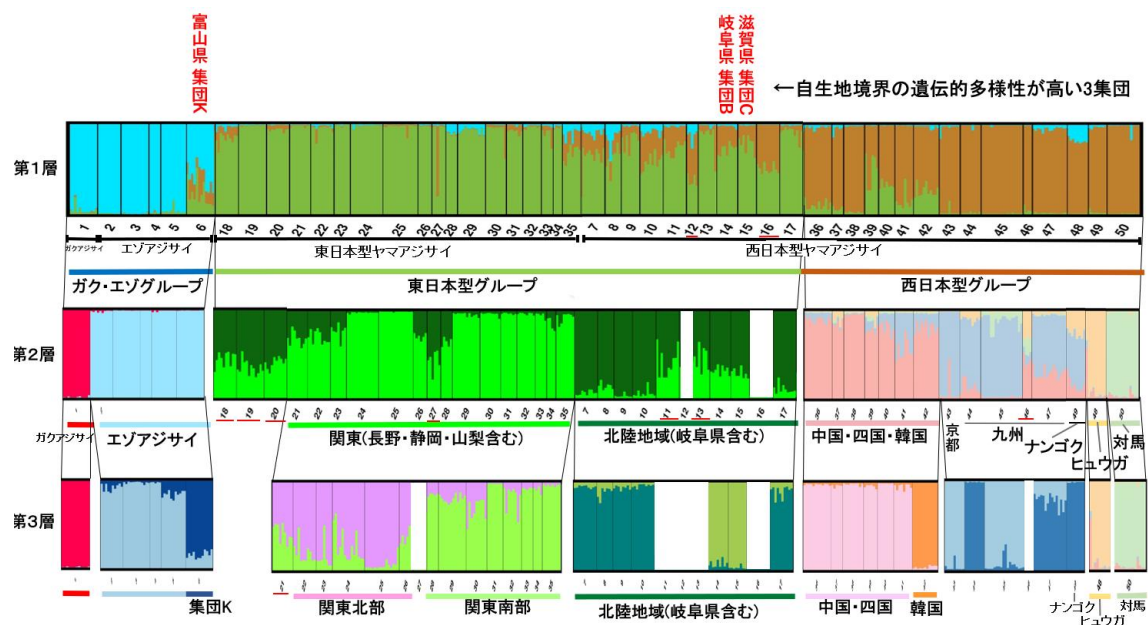


図 5. Structure 解析による各地域集団の遺伝構造

（３）核 SSR の DIYABC 解析による交雑過程の推定

表 5 で遺伝的多様性が高かった 3 集団は，Structure 解析の結果から近接する変種間の交雑により遺伝的多様性が高くなった可能性が示唆された．そこで，より正確にこの仮説を検証するために DIYABC 解析を行った．DIYABC 解析では以下の 3 つのシナリオを設定して事後確率を推定した．なお，DIYABC 解析に用いた個体 (POP) は，Structure 解析の結果をもとに選抜したものを用いた．

シナリオ 1 : POP3 から POP2 (遺伝的多様性が高い集団) が分化

シナリオ 2 : POP1 から POP2 が分化

シナリオ 3 : POP1 と POP3 の交雑によって POP2 が形成

例として，富山県 K 集団における 3 つのシナリオを図 6 に示した．計算の結果，事後確率は 3 集団すべてでシナリオ 3 の交雑モデルを支持したことから，これら 3 集団は周辺地域との交雑で遺伝的多様性が高くなったことを示唆した（図 7）．

以上の結果，ヤマアジサイの自生地境界野生集団の一部では遺伝的多様性が高く，遺伝資源として重要である事が明らかとなった．今後，こうした野生集団を保全し育種利用するためには，自生地境界の野生集団のみならず，自生地境界周辺地域の野生集団も含めた広範囲かつ包括的な管理が必要と考える．

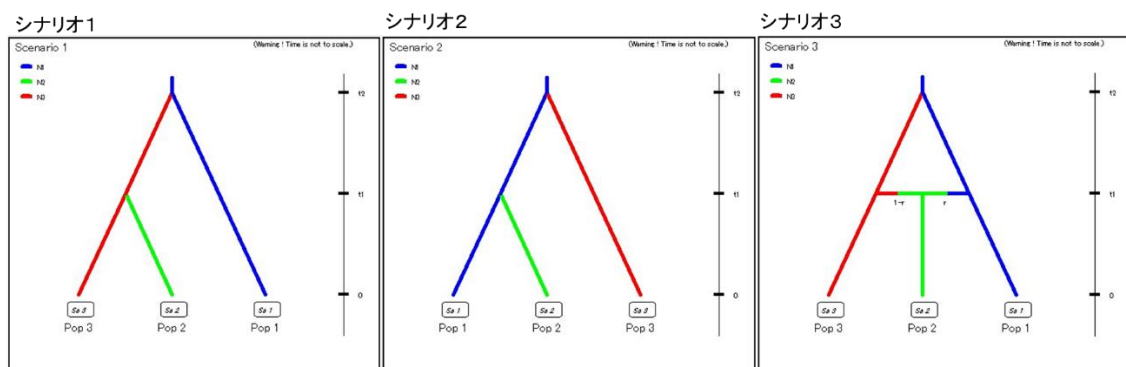


図 6. 富山県 K 集団の DIYABC 解析における 3 つのシナリオ

POP1: 北陸ヤマアジサイ (図 4 第 3 層), POP2: 富山県 K 集団, POP3: エゾアジサイ (図 4 第 3 層)

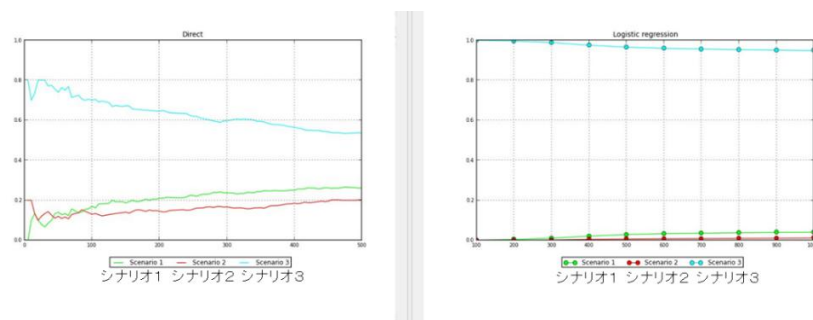


図 7. 富山県 K 集団における DIYABC 解析によるシナリオの事後確率

【まとめ】

アジサイ亜節植物をもとに育種されたアジサイは、日本人にとっては古くから親しまれ、海外でも盛んに利用されている園芸的にとっても重要な植物である。今回の研究でアジサイ亜節植物のうちでも、ヤマアジサイ（変種含む）は遺伝的多様性が高いことが明らかとなった。ヤマアジサイは形態的変異も豊富であることから、今後のアジサイ育種において重要な遺伝資源である。また、この多様性には地域固有のものも多いが、自生地の開発や乱獲により、多様性が失われてしまう可能性がある。地域固有の形質は一度失われると二度と回復することはできない。しかし自生地が広範囲で変異が豊富であるヤマアジサイを、植物園や大学等の公的機関といった生息域外で全て保存することは難しい。このため、鎌倉アジサイ同好会のような趣味家団体が行っている山採り園芸品種の維持・普及活動は、アジサイ亜節植物を今後も遺伝資源として利用していくうえでも極めて重要な活動である。

【謝辞】

本研究においては、鎌倉アジサイ同好会の前川英吉様、小林勝様、中平勝也様、伊藤信章様、石川晃一様にヤマアジサイ園芸品種・系統や採取地情報のご提供などで大変お世話になりました。ご協力に感謝いたしますと共に、貴会の益々のご発展を祈念いたします。