

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	高麗人參の疲労回復効果に関する研究				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	井口 和明
	研究分担者	所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	井口 和明

講演題目
高麗人參の疲労回復効果に関する研究
研究の目的、成果及び今後の展望
高麗人參（オタネニンジン）は疲労回復・滋養強壮等の効果をもつ民間薬として古来より広く用いられ、漢方薬や健康食品にも使われている。しかしながら、その効果と作用成分については多くの報告があるものの、明確な解析は比較的少ない。主効果成分とされるジンセノシド類は消化管からの吸収も良くなく、その効果が疑問視されることが多い。男性ホルモンであるアンドロゲンは女性にも存在し、骨・筋肉の形成、糖脂質代謝、脳機能など、強壮作用に相当する生体機能亢進効果をもつ。本研究ではアンドロゲンに着目し、独自に考案した疲労モデルを用いて、高麗人參の効果をアンドロゲンあるいは代謝関連遺伝子発現量で検討した。また、高麗人參のジンセノシドのうち、成分 A（非公表のため）は消化管からの吸収が良いことが報告されていることから成分 A および高麗人參の 50% エタノール抽出物（以下、FRG と略す）を飲水に混ぜ自由摂取させて検討した。 疲労モデルにおいて、FRG または成分 A 摂取により、いずれも自発運動量の改善が認められた。両者ともに、精巣初代培養によりテストステロン分泌能が有意に改善し、精巣テストステロン分泌細胞のマーカーとされる InsL3 mRNA 量は、FRG または成分 A 摂取でいずれも顕著に高く、抗疲労効果がテストステロン（アンドロゲン）と関連していることが示唆された。肝臓の IGF-1 mRNA 量は FRG または成分 A 摂取とともに増加していた。テストステロンとともに両者は筋タンパク質合成を促進するように働くが、一方で、骨格筋の Myostatin mRNA 量は摂取により増加しており、筋組織の成長は抑制されていた。その他の遺伝子解析で筋組織からのアミノ酸利用が高まっていた。また、FRG または成分 A 摂取で、肝臓では糖新生や脂肪利用に関連する遺伝子群の発現が亢進し、脂肪組織でも脂肪合成に関連する遺伝子の発現が低下し、栄養素の補給の方向に働いていることが確認された。これらのことから、FRG および成分 A の疲労回復促進効果がエネルギー代謝系に働くことを見出した。また、遺伝子発現の傾向は、FRG 摂取、成分 A 摂取で、いずれも正相関があったことから、発酵高麗人參の作用がそれに含まれるジンセノシドの一つである成分 A が主たる効果成分である可能性が示された。また、アンドロゲン増加に起因すると考えられる運動量増加に基づく疲労回復促進効果にも関与していることが示唆された。 高麗人參の疲労回復促進効果は、アンドロゲンおよびエネルギー代謝関連酵素による生体の栄養素補給の促進が関係していることが示唆された。今後、本研究で用いた疲労モデルにて、高麗人參特有の他のジンセノシド類等の単独投与等による結果も併せて検討することで、高麗人參の強壮作用を実証できるものと考えられた。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	イグサ成分 Effusol のストレス性認知機能障害に対する予防効果				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	鈴木 美希
	研究分担者	所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	鈴木 美希

講演題目
イグサ成分のアミロイド β 誘発認知機能障害に対する効果
研究の目的、成果及び今後の展望
【目的】 イグサ (<i>Juncus effusus</i>) はイグサ科の多年草で畳表に用いられるが、イグサに含まれるフェナントレン化合物であるエフソールやデヒドロエフソールは、GABA_A 受容体活性化を介して、鎮静や抗不安作用を示す。これまで、ストレス負荷時に分泌されるグルコルチコイドによる認知機能障害をイグサ成分が改善するとの知見を得てきた。超高齢社会を迎えた我が国において、アルツハイマー病を始めとする認知機能障害の予防は大きな課題であり、ストレス負荷はそれら認知機能障害と密接に関与する。デヒドロエフソールをマウスに経口摂取させると Aβ_{25-35} 誘発記憶障害が改善されるとの報告がある。イグサ成分は、アミロイド β 誘発認知機能障害を抑制することで、ストレス負荷によるアルツハイマー型認知症発症や増悪に対しても予防的に作用する可能性がある。そこで本研究では、第一にイグサ成分デヒドロエフソールによる Aβ_{1-42} 誘発性の認知機能障害に対する効果を検討した。 【成果】 6-9 週齢の雄性 Wistar 系ラットの頭蓋に麻酔下で穴をあけ、海馬 CA1 領域に記録電極付きインジェクションカニューレと刺激電極を挿入し、高頻度刺激 (100 Hz, 10 sec, 10 times) にて記憶の分子メカニズムとされる長期増強 (LTP) を誘導した。ラット海馬 CA1 領域に Aβ_{1-42} を局所投与 (0.25 μL/min, 4 min, 1 μL) すると、海馬 CA1 領域の LTP 誘導は、対象群と比較して有意に減弱された。海馬 CA1 へ Aβ_{1-42} とデヒドロエフソール (200 μM, 0.25 μL/min, 4 min, 1 μL) を同時投与すると、Aβ_{1-42} 誘発の LTP 障害はデヒドロエフソール同時投与により改善する傾向が見られた。 マウス側脳室内に Aβ_{1-42} を投与すると、海馬歯状回および CA1 領域の細胞内 Zn²⁺が増加し、投与 2 週間後において物体認識記憶障害が惹起される。そこで、デヒドロエフソール (15 mg/kg) を 2 日間経口投与したところ、細胞内 Zn²⁺結合タンパク質であるメタロチオネインの発現が誘導され、歯状回顆粒細胞層における細胞内 Zn²⁺の増加が抑制された。以上より、イグサ成分デヒドロエフソールの LTP を指標とした Aβ 誘発認知機能障害に対する有効性が示され、そのメカニズムにはメタロチオネイン誘導促進を介した細胞内 Zn²⁺の減弱が示唆された。 【今後の展望】 ストレス負荷によるアミロイド β 誘発認知機能障害の増悪に対して、イグサ成分の効果を検討し、地域産業振興の新たなターゲット農作物として、機能性食品開発に繋げていく。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	単球系細胞上の G 蛋白質共役型受容体による慢性炎症制御機構の解析				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	梅本 英司
	研究分担者	所属・職名	浜松医科大学 皮膚科学講座・教授	氏名	本田 哲也
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発 表 者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	梅本 英司

講演題目
単球系細胞上の G 蛋白質共役型受容体による慢性炎症制御機構の解析
研究の目的、成果及び今後の展望 慢性炎症は緩やかな炎症反応が長期間持続して慢性化した状態を指す。慢性炎症は、肥満を中心とするメタボリックシンドローム発症の素因としても着目されているが、その分子機構については不明な点が多い。 G 蛋白質共役型受容体 (GPCR) のひとつ GPR35 は、ゲノムワイド関連解析 (GWAS) により潰瘍性腸炎との関連が示唆されている。近年、GPR35 欠損マウスは肥満を示すこと、また脂肪細胞上の GPR35 を介したシグナルは脂肪組織の脂質代謝や抗炎症関連遺伝子の発現を促進することが報告された (Agudelo LZ et al. <i>Cell Metabolism</i>, 27: 378-392, 2018)。そこで、野生型および GPR35 欠損マウスに高脂肪食を与え、脂肪量を比較したところ、GPR35 欠損マウスでは高脂肪食摂取時の内臓および皮下脂肪量が有意に増加した。末梢血中の白血球集団では、GPR35 は単球に高発現する。単球は脂肪組織に移動しマクロファージに分化すること、また脂肪組織中のマクロファージは肥満の制御に重要な役割を果たすことから、脂肪組織におけるマクロファージ集団を解析したところ、GPR35 欠損マウスでは特定のマクロファージ集団が減少する傾向が認められた。今後、脂肪組織のマクロファージ集団における GPR35 シグナルの役割をさらに解析する予定である。 GPR35 の内因性リガンドとして、トリプトファンの代謝中間体であるキヌレン酸などが報告されているがその結合定数は必ずしも高くない。私たちは腸管で産生される代謝分子が血中に運ばれ、末梢組織に発現する GPR35 に作用する可能性を考えた。そこで、マウスの腸管内容物を、有機溶媒を用いて分画化し、β-アレスチンの動員を指標に GPR35 の反応性を評価した。その結果、比較的水溶性が高い画分で GPR35 に対する反応性が認められ、GPR35 反応性分子は腸管内容物に存在することが示された。現在、この画分に含まれる GPR35 反応性分子を同定するため、種々のクロマトグラフィーにより精製を進めている。ごく最近、活性化した血小板などが産生する 5-ヒドロキシインドール酢酸 (5-HIAA) が GPR35 に結合することが報告された (De Giovanni M et al. <i>Cell</i>, 185: 1-16, 2022)。腸管内容物に含まれる GPR35 反応性分子が 5-HIAA であるかどうかを含めて、今後の解析を進めたいと考えている。さらに、GPR35 シグナルを標的とした慢性炎症制御の可能性について検討を加える予定である。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	レジオネラの宿主ファゴソーム内における生存・増殖に必要な鉄の供給を担うエフェクターの新規制御系の解析及びその変異による高病原性化機構の解明				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	三宅 正紀
	研究分担者	所属・職名	米国レイビル大学医学部・教授	氏名	Yousef Abu Kwaik
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発 表 者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	三宅 正紀

講演題目
レジオネラ <i>ccm</i> 遺伝子によるレジオネラ小胞 (LCV) 内への鉄輸送エフェクターLPW_30711 の発現制御解析
研究の目的、成果及び今後の展望
我々はこれまでに、レジオネラ症病原体 <i>Legionella pneumophila</i> (Lp) 野生株 AA100 ゲノムへのトランスポゾン (Tn) 挿入変異により、マクロファージ (Mφ) 内における増殖性が欠損しているにもかかわらず、野生株と同等の高い細胞毒性を示す Tox^h (hyper toxic) 株 4 株 (GS147、GO108、GT282、GE193) を分離した。GS147 株の変異遺伝子は <i>lpw_30711</i> であり、Lp Paris 株において Lp の発育因子である鉄の飢餓時における取り込みに関与する遺伝子として同定された <i>iroT</i> にあたることが判明した。我々はこれまでに、LPW_30711 が菌体内から IV 型分泌装置を介して感染 Mφ 内へ輸送されるエフェクターであり、レジオネラ小胞 (Legionella-containing vacuole, LCV) 内への鉄輸送に関与することを見出している。一方、他の Tox^h 株である GO108 株、GT282 株、GE193 株は、シトクロム <i>c</i> 成熟化遺伝子群として知られている <i>ccm</i> 遺伝子群内に Tn 挿入部位があった。これらの株が Tox^h 株として GS147 株と同様の特徴を示すこと、また <i>ccm</i> 遺伝子群が Lp 菌体内における鉄代謝に影響を及ぼすことから、<i>ccm</i> 遺伝子群と <i>lpw_30711</i> 遺伝子には何らかの関連がある可能性を推察した。これまでの実験により、GO108 株、GT282 株における <i>ccmC</i>、<i>ccmF</i> の変異は、LPW_30711 の発現低下を起こすことがタンパク質レベルで確認され、その結果、LCV 内への鉄輸送も低下することを明らかにした。さらに、外部より過剰な鉄を加えることで LCV 内に鉄を供給しても、これら <i>ccm</i> 遺伝子変異株は、GS147 株とは異なり、Mφ 内増殖性が十分に補完されないことが見出され、その原因が菌体内の鉄代謝系が正常に機能しないためと推測された。 今回、GO108 株、GT282 株の Mφ 感染における <i>lpw_30711</i> の mRNA 発現量を RT-qPCR により解析したところ、AA100 株より有意に低下していることがわかった。<i>lpw_30711</i> のプロモーター領域には Fur (ferric uptake regulation) box が存在し、この部位に Fur が結合してリプレッサーとして働くことが知られている。そのため、同じくプロモーター領域に Fur box が存在する他の鉄代謝関連タンパク質をコードする遺伝子 <i>feoB</i> (鉄の菌体内へのトランスポーター)、<i>frgA</i> (シデロフォア・レジオバクチン合成酵素)、<i>lbtA</i> (レジオバクチンの生合成)、<i>lbtU</i> (レジオバクチン受容体) の Mφ 内における mRNA 発現量について解析したところ、GO108 株、GT282 株両株におけるこれら全ての遺伝子について、その低下が見られた。これより、<i>ccm</i> 遺伝子の Fur box によって制御されるプロモーター領域への関与が推測された。そこで、Mφ 内での GO108 株、GT282 株における <i>lpw_30711</i> のプロモーター活性を測定するために、pGS-lac-02 の <i>lacZ</i> 遺伝子に <i>lpw_30711</i> のプロモーター領域をインフレーム融合したレポータープラスミド pGS-lac-02::<i>lpw_30711</i>prom を構築した。本プラスミドを導入したレジオネラ株をヒト Mφ 様細胞 U937 に 16 時間感染させた後菌体を回収し、β-ガラクトシダーゼの基質 ONPG を加え、吸光度を測定することで β-ガラクトシダーゼ活性を評価した。その結果、AA100 株と比較して、GO108 株と GT282 株では <i>lpw_30711</i> のプロモーター活性が著しく低下していた。これより、<i>ccm</i> 遺伝子の変異により、<i>lpw_30711</i> のプロモーター活性が抑制されることが明らかとなった。 これらのことから、<i>ccm</i> 遺伝子群はオペロンを形成することが示唆され、<i>ccm</i> 変異株ではシトクロム <i>c</i> の成熟化自体が阻害されることで、活性化される Fur が増加し、<i>lpw_30711</i> や鉄代謝関連遺伝子の発現が抑制される可能性が推測された。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	リポソームを応用した経粘膜ワクチンによる感染症予防に関する研究				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	黒羽子 孝太
	研究分担者	所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発 表 者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	黒羽子 孝太

講演題目
Transient receptor potential (TRP) チャネル活性化による経皮感作促進作用
研究の目的、成果及び今後の展望 本研究では、経粘膜および経皮ワクチンの開発を目指している。ワクチンとして抗原を生体に投与する際、免疫応答を高めるためにアジュバント活性を有する安全な物質が必要となる。アジュバント物質となり得る物質を抗原と供にリポソームに組み込むことで、アジュバント活性を有する安全な機能性リポソームワクチンの開発を目指している。このワクチンにより感染症の予防や拡大を抑えることが可能となり、経粘膜的に感染し発症するレジオネラ症やノロウイルスに対するワクチンの開発にも応用され、保健衛生に貢献できることが期待される。 これまで接触性皮膚炎マウスモデルを用いた研究で、ハプテンである蛍光物質fluorescein isothiocyanate (FITC) でマウスを感作する際、フタル酸エステルが存在が経皮感作を増強することを明らかとしてきた。さらに、そのメカニズムとしてフタル酸エステルが、ハプテンを取り込んだ樹状細胞のリンパ節への移動を促進することを明らかとしてきた。この樹状細胞の移動促進の要因として、神経細胞に存在する侵害刺激受容体Transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) チャネルが関与しており、細胞を用いた<i>in vitro</i>のカルシウムイメージング法により、フタル酸エステルがTRPA1チャネルを活性化していることを示した。このことから、TRPA1チャネル活性化物質が、抗原を取り込んだ樹状細胞のリンパ節への移動を促進させ、抗原に対する免疫応答を高めるワクチンのアジュバントとして利用できるのではないかと考え検討を行っている。 油脂の主成分であるトリアシルグリセロールの一種であり、酪酸を構成脂肪酸とするトリブチリンはTRPA1チャネル活性化物質として働くことを見出してきた。経皮感作促進作用を検討するために、ハプテンとしてFITC、トリブチリンの混合溶液を用いて、一週間おきに二回経皮感作した。最終感作から一週間後、マウス耳介にFITCを塗布し惹起を行った。経時的にマウス耳介の腫脹を測定した結果、FITCとトリブチリンで経皮感作したマウス群で有意な耳介腫脹が観察された。このことから、油脂の主成分であるトリアシルグリセロールが感作促進作用を有することが明らかとなった。経皮感作を促進することから、経皮的にワクチンを接種する際に、免疫応答をより活性化することで安全なワクチンアジュバントとして利用できる可能性が示唆された。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	分子シャペロンを利用した分泌型 IgA 高発現植物の創出				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	中西 勝宏
	研究分担者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	黒羽子 孝太
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	中西 勝宏

講演題目
分子シャペロンを利用した組換え型 IgA 高発現法の検討
研究の目的、成果及び今後の展望
粘膜組織で感染防御に働く分泌型 IgA 抗体は、単量体 IgA 二分子が J 鎖を介して結合した二量体 IgA に更に分泌片 (SC) が結合したタンパク質複合体であり、SC の存在によって消化酵素に耐性となり消化管内で有効に働くことができる。粘膜組織を介して感染する病原体に特異的な分泌型 IgA を作製できれば、経口投与可能な抗体医薬品としての応用が期待できる。当研究室ではこれまでに、赤痢菌や O157:H7 に代表される腸管出血性大腸菌が産生する毒素である志賀毒素 (Shiga toxin1, Stx1) に特異的な IgG モノクローナル抗体 (D11C6) および IgA モノクローナル抗体 (G2G7) を獲得している。また、獲得した D11C6 の Fab 領域と IgA の Fc 領域を融合させたハイブリッド IgA 抗体の遺伝子を作製し、哺乳類細胞や植物での発現に成功している。しかし、分泌型 IgA の前駆タンパク質である二量体 IgA の生産の際、哺乳類細胞と植物のどちらの発現媒体を用いた場合においても、一定の割合で J 鎖と結合していない単量体 IgA が存在しており、IgA と J 鎖の結合率を向上させることで更なる分泌型 IgA の産生量の増加が期待できた。分泌型 IgA の感染症治療薬への応用を目指して、本研究では、分泌型 IgA 構築の律速段階となる IgA と J 鎖の結合の効率の向上を目的に、IgA と J 鎖の結合を介添えする分子シャペロンである marginal zone B and B-1 cell-specific protein (MZB1) を用いた二量体 IgA の発現量の増加を、哺乳類細胞と植物の 2 つの発現媒体で試みた。 IgA 抗体を発現するマウス由来ハイブリドーマから獲得した MZB1 の cDNA を、二量体 IgA を発現する哺乳類細胞もしくは組換え植物体へ一過的に導入した。各発現媒体から得られた IgA を SDS-PAGE にて分離し、イムノブロット法にてサンプル中の二量体 IgA と単量体 IgA の比率を比較することで二量体 IgA の構築効率を比較解析した。一過性発現系ではどちらの発現媒体においても、MZB1 遺伝子の導入前後で約 250 kDa の分子量の二量体 IgA と 160 kDa の単量体 IgA のシグナル強度の比率に変化は見られなかった。一方で、二量体 IgA を発現する哺乳類細胞株へ MZB1 遺伝子を導入し、MZB1 の安定発現株を作製したところ、二量体 IgA/単量体 IgA 比および IgA 発現量の増加が見られた。二量体 IgA は単量体 IgA と比較してプロテアソームによる分解を受けにくく、細胞内で安定であることから、二量体 IgA の構築効率が向上し、IgA がより安定化したことが IgA 発現量の増加にもつながったと考えられる。植物発現系においても同様に、MZB1 を安定発現する植物を作出することで IgA 生産量の増加できることが示唆された。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	静岡県産食品素材を用いた排尿トラブル改善食品の開発研究				
研究組織	代表者	所属・職名	大学院・薬食研究推進センター・センター長（特任教授）	氏名	山田 静雄
	研究分担者	所属・職名	大学院薬学研究院・講師	氏名	伊藤 由彦
		所属・職名	中部大学大学院・応用生物学研究科・教授	氏名	禹 済泰
		所属・職名	大学院薬学研究院薬食研究推進センター研究員	氏名	白井 みち代
	発表者	所属・職名	大学院・薬食研究推進センター・センター長（特任教授）	氏名	山田 静雄

講演題目
静岡県産食品素材を用いた排尿トラブル改善食品の開発研究
研究の目的、成果及び今後の展望 本研究では、静岡県の名産である温州ミカンなどの柑橘類の未利用資源（果皮など）の含有成分であるポリメトキシフラボノイドのノビレチンを用いて、排尿障害モデルにおける薬効および膀胱などの下部尿路系の受容体への結合活性を評価することにより、排尿トラブルを改善する機能性食品の開発を目指す。 1. 食品由来機能性成分の膀胱受容体への結合活性と膀胱平滑筋の弛緩作用の評価 温州ミカン、ポンカンやシークワーサー果皮などの柑橘類に含有されるノビレチンが頻尿改善作用を示すことを既に報告した。その作用機序の一つとして、ラット膀胱のムスカリン性受容体結合活性を示すこと、膀胱平滑筋（排尿筋）の収縮を抑制（弛緩）させることなどが関与することを明らかにした。 2. 食品由来機能性成分の排尿機能に対する評価 排尿障害モデル動物において、海藻類のアカモク抽出物が排尿障害改善作用を示すこと、およびラット摘出膀胱切片の収縮を抑制（弛緩）させることを明らかにした。その活性成分については今後検討する予定である。 3. ヒトにおける排尿機能の改善に対する臨床試験 沖縄のサザンナイトラボラトリーの菅谷公男先生との共同研究において、排尿にトラブルを訴える高齢対象者において、ノビレチン含有の柑橘類エキスの反復摂取が改善作用を示すことを見出した。また、静岡県産食品素材ではないが、女性の排尿トラブルを訴える高齢者で、ハーブ類のノコギリヤシ果実エキスの3週間摂取により、昼間および夜間の頻尿改善作用を示すことを二重盲検対照比較試験により明らかにした。現在論文に投稿中である。 【今後の展望】 超高齢化に伴い、排尿トラブルを訴える高齢者が増加している現状において、治療薬も多く開発されているが、副作用が問題になっている。排尿症状の軽症者において、排尿トラブルを改善する機能性食品への期待が大きいことから、今後、本課題における研究を推進し、安全かつ有効な機能性食品を開発していきたいと考えている。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	褐藻類アカモク抽出エキスの下部尿路障害への応用				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	伊藤 由彦
	研究分担者	所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発 表 者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	伊藤 由彦

講演題目
褐藻類アカモク抽出エキスの下部尿路障害への応用
研究の目的、成果及び今後の展望
【背景・目的】アカモク(<i>Sargassum horneri</i>)は、日本近海の浅海に分布する海藻である。以前より、東北地方で郷土食として食されており、近年では、ポリフェノールやフコイダン、フコキサンチン、食物繊維を豊富に含むことから、健康によい機能性の高い食品として注目を集めている。本研究ではアカモクよりエタノール抽出したエキスの新たな機能性の検討とその作用メカニズムの解明を目的とし、アカモクエキスの膀胱平滑筋への作用および排尿機能に対する作用を検討した。 【方法】(1) アカモクエキスの摘出膀胱標本のアセチルコリン(ACh)誘発収縮への影響を検討するため、マグヌス装置を用いた収縮実験を行った。エタノール抽出アカモクエキス 0.3, 1, 3 mg/ml をマグヌス槽に添加し 30 分後に、30 μ M ACh を添加し収縮を惹起した。また、エキス中に含まれるフコキサンチン、フコキサンチノール、β ストステロールを 30 μ M となるようにマグヌス槽に添加し、ACh に対する収縮に対する作用を検討した。(2) シクロフォスファミド(CYP)を用いてラットに膀胱炎を誘発し、アカモクエキスの 1 週間連続経口投与(50 mg/kg/day)を行った。その後、膀胱内圧および排尿量をウレタン麻酔下シストメトリー法により経時的に測定した。 【結果】(1) アカモクエキスは ACh 収縮を有意に抑制した。また、エキス中に主に含まれる成分の中で、フコキサンチノールが ACh 収縮を有意に抑制した。(2) アカモクエキスの連続経口投与により、CYP 処置群に対して有意に一回排尿量および排尿間隔の増加が認められた。 【結論】アカモクエキスはラット膀胱平滑筋の収縮を抑制した。また、CYP 誘発膀胱炎モデルラットの排尿症状を改善した。以上のことから、アカモクエキスには排尿機能を改善する成分が含まれることが示された。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	骨格筋メカノバイオロジーを基軸とする生体恒常性維持に関する研究				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	原 雄二
	研究分担者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	井口 和明
		所属・職名	薬学部・助教	氏名	鈴木 美希
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	原 雄二

講演題目
骨格筋メカノバイオロジーを基軸とする生体恒常性維持に関する研究
研究の目的、成果及び今後の展望
骨格筋は単に運動器官としての機能だけでなく、生理活性物質の産生やエネルギー代謝など、生体全体の恒常性維持にも重要な役割を果たす。絶え間ない筋収縮・弛緩に伴い骨格筋を構成する筋線維は損傷を受けるが、骨格筋に内在する筋幹細胞の働きにより筋線維が再生され、骨格筋および生体における恒常性が維持される。本研究では、筋幹細胞に基づく筋線維の再生機構の全容解明を目的とする。その手がかりとして、① 幹細胞に掛かる物理的な力（ちから）を感知する「メカノセンシング」機構、および ②メカノセンシングに直接関わる細胞膜について、膜を構成する脂質分子群の動態に着目し、これらの機能的な関わり合いがどのように筋幹細胞にて作用し、骨格筋再生をもたらすのか明らかにすることを目指した。 今年度、特に下記のテーマ・計画にて研究を実施した。 1. 骨格筋幹細胞にて機能する、膜張力感知イオンチャネル群に関する研究（筋再生とメカノセンシング機構の連関解明） 2. 脂質二重層間における脂質輸送機構とその意義解明に関する研究（脂質動態を感知する膜タンパク質群の同定等） 1 について、骨格筋幹細胞にて機能するイオンチャネルとして、いわゆる「機械受容イオンチャネル」に着目し、発現解析を行った。その結果、数種類の候補チャネルを同定した。それらの遺伝子欠損マウスの解析を行ったところ、幹細胞の増殖等に関わることを見出した（論文投稿中）。 2 について、脂質輸送をもたらすリン脂質スクランブラーゼによってチャネル活性制御される候補イオンチャネルについて同定を行った。その結果、周りの環境変化を感知して活性化される Transient Receptor Potential チャネルの一つが、リン脂質動態により制御されることを見出した。興味深いことに、同イオンチャネルは後根神経節に高く発現することから、神経筋機能に対し、リン脂質動態を介したイオンチャネル活性制御が関わる可能性が示唆された。 これらの研究成果は、骨格筋幹細胞が力を感じ取る（メカノセンシング）機構の全容解明を通じ、超高齢化社会を迎えつつある我が国において、健康長寿達成に対し重要な知見をもたらすものと期待される。

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	インフルエンザウイルス感染細胞内のシアリダーゼ活性の解析				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	高橋 忠伸
	研究分担者	所属・職名	広島国際大学薬学部・教授	氏名	池田 潔
		所属・職名	薬学部生化学分野・助教	氏名	紅林 佑希
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	高橋 忠伸

講演題目
インフルエンザウイルス感染細胞内のシアリダーゼ活性の解析
研究の目的、成果及び今後の展望
A 型インフルエンザウイルスの表面酵素ノイラミニダーゼ (NA) は、糖鎖末端のシアル酸を切断する加水分解酵素「シアリダーゼ」の活性を示す。ウイルス感染細胞内で新しく合成される NA は、ゴルジ装置に局在して糖鎖修飾を受けてから細胞膜表面へ移行する。感染細胞内の新生 NA は、ゴルジ装置に局在した時点でシアリダーゼ活性を有しているものと予想されてきたが、証明はされていない。代表者は研究分担者と、シアリダーゼ活性を局所的に蛍光イメージングするプローブ「BTP3-Neu5Ac」を開発してきた。さらに新プローブ「BTP9-Neu5Ac」も開発した。BTP3-Neu5Ac と比較して BTP9-Neu5Ac は高い局所染色性を示す。本研究では独自開発した蛍光プローブを利用して、感染細胞内のゴルジ装置に局在した新生 NA のシアリダーゼ活性を可視化することで、細胞内シアリダーゼ活性の解析法を確立する。抗インフルエンザ薬 (シアリダーゼ阻害薬) のイナビル (ラニナミビル オクタン酸エステル) は、細胞内に移行して内在性エステラーゼによってオクタン酸エステルが切断されることで活性体のラニナミビルに変換され、細胞内でシアリダーゼ阻害効果を発揮することが推測されている。しかし細胞内 NA の阻害効果は、細胞内シアリダーゼの解析手法が無く、明確にはなっていない。本研究で確立する手法を用いて、細胞内の NA のシアリダーゼ活性がイナビルにより阻害されるかを解析することで、イナビルの作用機序を明らかにする。 A 型インフルエンザウイルス感染 7 時間後、ヒト肺がん由来 A549 細胞内のゴルジ装置に新生 NA が局在した。BTP9-Neu5Ac の利用により、細胞内ゴルジ装置に局在した新生 NA のシアリダーゼ活性を蛍光イメージングできた。また、ゴルジ装置の NA がシアリダーゼ活性を発揮することを明らかにした。ここで確立した細胞内 NA のシアリダーゼ活性の蛍光イメージング法を利用して、細胞内ゴルジ装置に局在した NA のシアリダーゼ活性を、イナビルが阻害することを明確に可視化した。一方で細胞内へ移行しないと報告されている抗インフルエンザ薬のザナミビルやイナビル活性体のラニナミビルは、細胞内 NA のシアリダーゼ活性を阻害しなかった。本研究は、イナビルが細胞内 NA のシアリダーゼ活性を標的として阻害することを明確に示した。 細胞内 NA のシアリダーゼ活性を可視化できることで、NA のシアリダーゼ活性に対して新しい解析法を提供でき、NA の未知の機能を解明できるものと期待される。本研究の手法は、細胞内 NA のシアリダーゼ活性阻害を作用機構とする、イナビルのような長時間作用型シアリダーゼ阻害剤の探索にも利用できる。

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研 究 テーマ	化学物質の多面的プロファイリングによる毒性予測：発がん性試験代替法の開発				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	吉成 浩一
	研究分担者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	菅野 裕一郎
		所属・職名	薬学部・助教	氏名	志津 怜太
		所属・職名	薬学部・助教	氏名	保坂 卓臣
		所属・職名	産業技術総合研究所・主任研究員（本学客員共同研究員）	氏名	竹下 潤一
	発 表 者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	吉成 浩一

講演題目
ラット肝発がん性物質の核内受容体活性化作用
研究の目的、成果及び今後の展望 現在、医薬品、食品添加物、農薬、化粧品などの新規化学物質のヒトでの安全性は、動物実験を基に評価されている。しかし、動物愛護や動物福祉、開発の低コスト化・効率化の観点から、動物実験に替わるインビトロ試験やインシリコ手法を利用した評価法の開発が求められている。これまでに、皮膚刺激性や遺伝毒性などでは動物実験代替法が開発されているが、安全性評価に重要で、全身毒性を評価する反復投与毒性試験や発がん性試験に関しては全く開発が進んでいない。そこで本研究では、発がん性試験の代替法開発を最終的な目標として研究を行った。 当研究室では食品安全委員会で開催されている農薬評価書の毒性試験情報を収集しデータベース化を進めている。このうち2年間ラット発がん性試験結果がある農薬（雄 365 農薬、雌 364 農薬）のデータを調べたところ、雄で 87 農薬、雌で 71 農薬がいずれかの臓器・組織で腫瘍を発生させ、そのうち約 6 割の標的は肝臓と甲状腺であった。化学物質による肝がんの主要な発現機序として、核内受容体 CAR 及び PPARα 並びに類似の受容体型転写因子である AHR の活性化が知られている。また、甲状腺がんに関しては、これら転写因子の活性化に伴う肝薬物代謝酵素の誘導による甲状腺ホルモンの代謝亢進とそれに伴う甲状腺刺激ホルモンの発現亢進、甲状腺濾胞細胞の増殖や肥大が主要な機序であることが知られている。したがって、これら受容体型転写因子の活性化作用の評価が発がん性予測に有用であると考えられた。そこで、肝発がん性物質がこれら受容体の活性化作用を示すか否かを明らかにするために、肝発がん性を示した 35 種の農薬について、哺乳動物ワンハイブリッドアッセイによりラット PXR 及び PPARα 活性化作用を、ラット肝がん由来 H4IIE 細胞を用いたレポーターアッセイにより AHR 活性化作用を、ラット初代培養肝細胞における CAR 標的遺伝子 <i>Cyp2b1</i> の mRNA レベルの測定により CAR 活性化作用を評価した。その結果、35 種の被験物質のうち、5 種が AHR 活性化作用を、2 種が PPARα 活性化作用を、18 種が CAR 活性化作用を、1 種が PXR 活性化作用を示した。いずれの核内受容体も活性化しなかった物質は 2 種のみであった。以上の結果から、これら受容体の活性化作用評価が発がん性評価に有用であると考えられた。 今後、反復投与毒性試験のデータを参照して、適切な陰性物質を選択し、同様のアッセイを行う予定である。その後インビトロ試験結果と化学構造情報を利用した類似性評価による発がん性を予測するためのリードアクロス手法の開発を目指す。また、肝がん、甲状腺がんの次に多いがんは、雄では精巣がん、雌では子宮がんであったことから、現在性ホルモン関連受容体の活性化作用を評価しており、肝がんや甲状腺がんと同様の手法で解析を進める予定である。

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	新たな治療標的の同定を目指した乳がんの悪性化における AHR の役割の解明				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	菅野 裕一郎
	研究分担者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	吉成 浩一
		所属・職名	薬学部・助教	氏名	保坂 卓臣
		所属・職名	薬学部・助教	氏名	志津 怜太
	発表者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	菅野 裕一郎

講演題目	新たな治療標的の同定を目指した乳がんの悪性化における AHR の役割の解明				
研究の目的、成果及び今後の展望	乳がんはエストロゲン受容体 (ER)、プロゲステロン受容体 (PR) 及びヒト上皮成長因子受容体 2 (HER2) の発現量によりサブタイプに分類され、サブタイプに応じた薬物治療が行われている。しかしながら、ER や HER2 を標的とした治療において薬物抵抗性を獲得してしまうこと、また ER や HER2 のような治療標的が存在しないサブタイプ (triple negative 乳がん:TN) が存在し、これらの悪性度は高く予後不良であることなどが問題となっている。したがって、乳がんの悪性化に関わる新規分子の同定は新たな治療戦略の提案につながると考えられる。芳香族炭化水素受容体 (aryl hydrocarbon receptor, AHR) は、ダイオキシン類の毒性発現を仲介するタンパク質として同定された受容体型転写因子である。これまでに、乳がん患者の正常部位及び腫瘍部位における AHR 発現量の比較により、AHR の発現は正常部位よりも腫瘍部位で高いこと、悪性度の高いサブタイプ由来の培養細胞株では AHR が高発現していることを見出した。さらに、AHR の活性阻害又はノックダウンにより、乳がん細胞の増殖、浸潤及び遊走が抑制されることを報告している。そこで本研究では、「乳がんの悪性化における AHR の役割の解明」を目的とし、乳がん細胞において AHR が制御する細胞内シグナルの同定を行くこととした。 AHR によるがん細胞の機能調節の概要を明らかにするため、TN である MDA-MB 231 細胞株 (WT) 及び AHR をノックダウンした細胞株 (KO) のオープンクロマチン領域を網羅的オープンクロマチン領域解析法 (ATAC-Seq 法) を用いて比較した。得られた結果を基に、WT と KO 細胞株におけるオープンクロマチン領域の変動を比較した。その結果、KO 細胞株において増加していた領域は 3910 か所、減少していた領域は 3365 か所であった。さらに、変動していた領域における特異的な塩基配列を HOMER Motif Analysis (http://homer.ucsd.edu/homer/motif/) により探索したところ、増加していた領域では FRA1 及び FOXM1 応答配列が減少していた領域では FRA1 及び RUNX2 応答配列に富んでいることが見出された (図)。以上のことより、AHR は古典的な AHR シグナルのみでなく間接的な転写因子の活性調節を介してがんの悪性化に関与している可能性が示唆された。今後、本研究で明らかとなった AHR シグナルによる間接的な転写因子の活性化を介するがんの悪性機構を明らかにしていく予定である。				

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研 究 テーマ	化学物質のリスク評価の精緻化に向けた肝発がんの発症機序及び ヒト齧歯動物間種差の解明				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	志津 怜太
	研究分担者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	吉成 浩一
		所属・職名	薬学部・講師	氏名	菅野 裕一郎
		所属・職名	薬学部・助教	氏名	保坂 卓臣
	発 表 者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	志津 怜太

講演題目
CAR のヒト型変異導入マウスを用いた CAR による肝発がんプロモーション作用の種差解析
研究の目的、成果及び今後の展望
【目的】肝に高発現し、多種多様な化学物質の曝露により活性化される核内受容体 CAR は、異物代謝酵素の発現調節を担う一方で、その活性化は齧歯動物において肝細胞増殖とそれに伴う肝がんを惹起する。疫学的な研究から、この CAR 依存的な肝発がんには種差があり、ヒトでは起こらないとされているが、分子レベルでの理解がなされていない。最近、我々は、マウス肝において、CAR は細胞増殖促進因子である YAP と相互作用し、YAP の核移行を促進することで肝細胞増殖を誘導することを明らかにした。さらに、YAP は WW ドメインを介してマウス CAR と相互作用するが、ヒト CAR とは相互作用しないことを見出した。WW ドメインは、PPxY のアミノ酸配列（PY モチーフ）と特異的に相互作用することが知られている。CAR タンパク質のアミノ酸配列と立体構造を調べた結果、マウス CAR はタンパク質構造の表面に PY モチーフ（PPAY）をもつのに対し、ヒト CAR ではそれに対応する配列が PPAH となっていた。本研究では、この PY モチーフの種差が CAR を介した肝発がんの種差の原因であるという仮説を立て、マウス CAR の PY モチーフをヒト型に変異（PPAY→PPAH）させた遺伝子改変マウスを用いて、CAR の PY モチーフのヒト型変異が肝細胞増殖に与える影響を解析した。【方法】CAR 遺伝子にヒト型変異を導入したマウス（CAR-Y150H 変異型マウス）を作製し、CAR-Y150H 変異型および野生型の雄性マウスに CAR 活性化薬であるフェノバルビタール（PB：100 mg/kg/日）又は溶媒である生理食塩水を、3 日間連続で腹腔内投与し、最終投与の 24 時間後に屠殺し、肝を摘出した。細胞増殖マーカーである Ki-67 の免疫組織染色により肝細胞増殖の程度を調べた。肝核抽出液を用いたウエスタンブロット法により、核内の YAP レベルを調べた。肝 RNA を用いた定量的逆転写 PCR 法により、CAR 標的遺伝子、YAP 標的遺伝子及び細胞増殖関連遺伝子の mRNA レベルを測定した。【結果・考察】肝 Ki-67 陽性細胞数は、野生型マウスでは PB 投与により増加したが、CAR-Y150H 変異型マウスでは増加しなかった。核内 YAP タンパク質レベルは、野生型マウスでは PB 投与により増加したが、CAR-Y150H 変異型マウスでは増加しなかった。CAR 標的遺伝子である <i>Cyp2b10</i> の mRNA レベルは、PB 投与により両マウスで増加したが、細胞増殖関連遺伝子である <i>Ccna2</i> や YAP 標的遺伝子である <i>Birc5</i> の mRNA レベルは、野生型マウスでは PB 投与により増加したが、変異型マウスでは増加しなかった。以上、CAR-Y150H 変異型は、野生型マウスと異なり CAR 活性化に伴う肝細胞増殖が見られないことから、CAR 依存的な肝細胞増殖のヒトと齧歯動物間の種差は、PY モチーフの一アミノ酸の差異によって決まる可能性が示された。

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	膵β細胞におけるセロトニン代謝異常の妊娠糖尿病発症への関与				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	石川 智久
	研究分担者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	木村 俊秀
		所属・職名	薬学部・講師	氏名	金子 雪子
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	石川 智久

講演題目
妊娠期におけるメラトニン関連分子の膵β細胞における発現および機能の解析
研究の目的、成果及び今後の展望
【目的】妊娠糖尿病の発症機構に関しては不明な点が多い。ゲノムワイド関連解析により、妊娠糖尿病の疾患遺伝子関連領域として、メラトニン MT₂ 受容体遺伝子 MTNR1B の変異が報告された。β細胞にも MT₂ 受容体は発現しており、インスリン分泌の抑制をもたらす。メラトニンは、セロトニンから AANAT による <i>N</i>-アセチルセロトニンの生成を経て、HIOMT により生成される。β細胞では、セロトニンは妊娠中期に特異的に生成され、妊娠時のインスリン抵抗性状態を代償するためのβ細胞量の増大及びインスリン分泌の増加をもたらすことが知られている。そのため、β細胞内で妊娠中にセロトニンからメラトニンが生成されれば、β細胞機能に影響する可能性が考えられる。そこで本研究では、妊娠期におけるメラトニン関連分子のβ細胞における発現および機能の解析を行った。 【成果】妊娠期および非妊娠期の C3H/He マウス単離膵島において、メラトニン受容体 MT₁ 及び MT₂ 受容体の mRNA 発現を確認した。同様に、妊娠期、非妊娠期膵島における AANAT のタンパク質、mRNA 発現も確認した。AANAT の発現は、アデニル酸シクラーゼ活性化薬 forskolin 処置により有意に増大した。すなわち、AANAT はβ細胞内 cAMP レベルの上昇を介して発現が増大することが示唆された。また、若週齢マウスでは認められなかった HIOMT の発現が、高週齢妊娠及び超高齢非妊娠マウス単離膵島において認められた。すなわち、妊娠や高齢により膵島内でメラトニン合成酵素の発現が誘導され、メラトニンが生成される可能性が示された。以上の結果より、妊娠及び加齢によりβ細胞においてメラトニンが生成されること、さらに、その生成は細胞内 cAMP 濃度の上昇による AANAT の発現増加によって制御されることが示唆された。 【今後の展望】ゲノムワイド関連解析により妊娠糖尿病とメラトニン受容体遺伝子の変異との関連が示唆されており、メラトニンシグナリングの変化が妊娠糖尿病発症に関与する可能性が考えられている。本研究結果により、もし妊娠期においてβ細胞における AANAT の発現や機能が亢進すれば、セロトニンとメラトニンのバランスが崩れ、メラトニンの作用が優位になることでインスリン分泌量が低下し、妊娠糖尿病が発症するという仮説が立てられる。妊娠糖尿病発症機構の解明に繋がる可能性があるこの仮説を証明するべく、さらなる検討を行っていく予定である。

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	ナノ粒子受容体分子を標的とした mRNA デリバリーシステムの開発				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	浅井 知浩
	研究分担者	所属・職名	金沢大学附属病院地域医療教育センター・特任教授	氏名	島上 哲朗
		所属・職名	広島国際大学 薬学部・教授	氏名	池田 潔
		所属・職名		氏名	
	発 表 者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	浅井 知浩

講演題目
新規脂質ナノ粒子を用いた mRNA デリバリーシステムの開発
研究の目的、成果及び今後の展望 近年、免疫応答や免疫寛容における CD169 (sialoadhesin, sialic acid binding Ig-like lectin 1) 陽性マクロファージの役割の解明が進み、多くの興味深い知見が蓄積されている。CD169 は、シアル酸含有糖鎖を特異的に認識する分子であり、マクロファージがエクソソームを捕獲する際には受容体として機能することが報告されている。CD169 陽性マクロファージは、病原体やエクソソーム抗原などを認識して細胞内に取り込み、炎症や免疫応答を惹起する。この免疫応答は、がんや炎症性腸疾患など、様々な疾病の病態に関与することが示唆されている。そこで我々は、CD169 陽性マクロファージによる物質輸送システムを探索し、このシステムを応用した mRNA デリバリーシステムを構築することで、画期的な mRNA 医薬を開発できるとの着想に至った。本研究の遂行により、CD169 陽性マクロファージの関与が知られる悪性腫瘍等、様々な疾患に対する mRNA 医薬の創製に繋がることが期待される。 本年度は、CD169 を特異的に認識する脂質ナノ粒子 (lipid nanoparticle: LNP) の開発を目的とし、CD169 に結合性を示すα2,3-シアル酸の脂質誘導体の設計、合成と mRNA デリバリーのための LNP の開発を行った。本研究では、生体適合性の高い基材であるペプチドを基盤とした新規 pH 応答性脂質誘導体 (Lipid P、構造は非開示) を設計、合成し、LNP の開発に応用した。Lipid P、ジバリティルホスファチジルコリン、コレステロールがそれぞれ 45/10/45 (モル比) となるように調製した混合脂質-エタノール溶液と mRNA-クエン酸水溶液を、マイクロ流体デバイス内で急速混合することで、LNP を調製した。本研究で開発した LNP は、従来のイオン化脂質を含有する LNP とは異なり、その処方にポリエチレングリコール脂質を含まずとも分散性の高い安定な粒子を形成することが明らかになった。LNP の粒子径は、100 nm 程度で高い均一性があり、また mRNA の封入率は 95%以上であった。LNP の mRNA 導入効率を明らかにするため、ヒト胎児腎細胞株 (HEK293T) にルシフェラーゼの mRNA を封入した LNP を添加し、発光強度を指標にタンパク質発現を評価した。その結果、LNP は、従来技術と比較して有意に高いタンパク質発現効果を示した。LNP の有用性を <i>in vivo</i> で評価するため、ルシフェラーゼの mRNA を封入した LNP をマウスの筋肉内に投与し、<i>in vivo</i> イメージングシステムを用いて生体内におけるタンパク質発現を評価した。ルシフェラーゼの発現を経時的に測定し、LNP が <i>in vivo</i> における mRNA デリバリーにも有用であることを明らかにした。以上の結果より、本年度に開発した LNP にα2,3-シアル酸の脂質誘導体を修飾して細胞選択性を付与することにより、CD169 陽性マクロファージへの mRNA デリバリーが可能になることが期待される。

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	温度に応答して標的分子を吸着・放出するプラスチック抗体開発とがん治療応用				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	小出 裕之
	研究分担者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	浅井 知浩
		所属・職名	薬学部・講師	氏名	米澤 正
		所属・職名		氏名	
	発 表 者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	小出 裕之

講演題目
温度に応答して標的分子を吸着・放出するプラスチック抗体開発とがん治療応用
研究の目的、成果及び今後の展望 抗体-抗原間の結合に代表されるタンパク質間の特異的で強い結合は、水素結合や疎水性相互作用など複数の弱い相互作用が広範囲、多点で結合することによって成立している。我々はこの抗体の結合様式を模倣して、poly N-isopropylacrylamide (pNIPAm) を基盤とした合成高分子ナノ粒子に、静電的相互作用や疎水性相互作用を生み出す機能性モノマーを最適な量組み込むことによって、標的分子に強く結合してその機能を中和可能であることを示してきた。 ところで、pNIPAm を基盤としたナノ粒子には下限臨界溶液温度 (LCST) が存在し、LCST 以上では粒子が収縮し、LCST 以下では粒子が膨潤する。また、LCST は組み込む機能性モノマーの構造や配合率によって変化する。我々は、ナノ粒子による標的分子の吸着は粒子の収縮時に起こり、膨潤時には相互作用しにくいことを明らかにしてきた。本研究では機能性モノマーの組成を最適化することで、体温付近で標的分子と結合し、温度低下に伴って標的分子を放出するナノ粒子を開発し、がん治療への応用を試みた。標的分子はハチ毒由来ペプチドであるメリチンを用いた。メリチンは正電荷と疎水性、中性 アミノ酸からなる両親媒性の正電荷ペプチドで、高い細胞毒性を有している。 メリチンが正電荷のペプチドであることに準じ、ナノ粒子は pNIPAm に加えて、負電荷モノマーの Acrylic acid と疎水性モノマーの N-tert-butylacrylamide を用い、分散共重合法により合成した。合成したナノ粒子の温度に応答した粒子径変化を解析したところ、それぞれの機能性モノマーの組成比を変えることで、体温に近い 37℃ 付近で粒子が収縮し、冷却時を想定した 25℃ 付近で膨潤するようナノ粒子の LCST を最適化した。in vitro における検討では、マウス結腸がん細胞 (Colon 26 NL-17) にナノ粒子ーメリチン複合体を添加し、37℃ あるいは 25℃ で 4 時間インキュベートした後の生細胞数を WST-8 assay により評価した。その結果、ナノ粒子ーメリチン複合体の殺細胞効果は 37℃ では発現せず、25℃ で顕著に発現した。最後に、温度応答性ナノ粒子のがん治療への有用性を実証するために、Colon 26 NL-17 細胞を皮下移植したマウスを用いてがん治療実験を行った。その結果、ナノ粒子ーメリチン複合体を投与した後に、腫瘍を冷却した群では、冷却を行わなかった群と比較して有意に腫瘍の増大を抑制した。以上より、温度に応答して標的分子を吸着・放出するナノ粒子の生体内応用の可能性が示された。

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	新型コロナウイルス検出および治療薬シーズとなる人工核酸分子の探索				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	轟木 堅一郎
	研究分担者	所属・職名	東京農工大学・教授	氏名	池袋 一典
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発 表 者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	轟木 堅一郎

講演題目
新型コロナウイルス検出および治療薬シーズとなる人工核酸分子の探索
研究の目的、成果及び今後の展望
【目的】新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)による感染症(COVID-19)の拡大が未だ止まない今、世界規模での治療法や診断法、予防法の確立が切望されている。各国でワクチン接種が進められているものの新たな変異株の出現や、医療提供状況の格差から、世界中の多数が抗体を有し事態が終息するにはなお数年を要し、かつ多くの被害者がで続けることが予想される。本研究において我々は、これまでに確立してきた DNA アプタマー獲得実績を元に、SARS-CoV-2 を特異的に認識する DNA アプタマーを開発し、安価かつ世界中で安定供給可能な COVID-19 の新たな感染阻害剤および抗原検査法開発の橋頭堡とすることを目的とした。開発する DNA アプタマーは、SARS-CoV-2 表面にあるスパイクタンパク質(S1)に特異的に結合することで、気道上皮細胞にあるアンジオテンシン変換酵素 2(ACE2)への結合を介し感染抑制することを期待した。 【方法】24 bp のランダム配列とプライマー結合配列をもつ 66 bp のオリゴ DNA を mg スケールで移動相に加え、Fc-S1 タンパク質(Sino Biological 社製)をプロテイン A カラムに固定化したタンパク質精製 LC により半日程度結合解離反応を繰り返した。S1-Fc に強く結合したオリゴ DNA を回収し、次世代シーケンズ解析により約 80,000 配列を決定した。これらの配列を <i>in silico</i> アプタマー候補予測プログラム (SMART Aptamer¹⁾) にて解析し、クラスタリング、縮重度、2 次構造の安定性を指標に上位 30 位までの候補配列を選抜した。これらを我々が開発した抗体医薬のハイスループットスクリーニング法である ELAA 法²⁾に適用し最適配列を探索した。獲得したアプタマーの S1 への結合部位を推定するべく、アプタマーは RNA composer により 2 次構造へと変換し、HDOCK³⁾ server 上で S1 との <i>in silico</i> ドッキングシミュレーションを行った。 【結果】今回開発した手法により、ループ構造を持つ 24 塩基配列の S1 特異的アプタマーを獲得することができた。S1 に対する解離定数 (K_d) = 33 nM であり、中和抗体などに匹敵する高い親和性を有していた。H-DOCK によるドッキングシミュレーションの結果から、本アプタマーが S1 の N 末端ドメインに結合することが示唆された。本ドメインは ACE2 への直接結合部位ではないが、結合部位の機能を制御し、感染増強に関わる重要な機能領域であるとの報告⁴⁾もあり、本アプタマーが SARS-CoV-2 を認識するリガンドであるのみならず、感染重症化抑制のための創薬シーズとなることが期待された。 【参考文献】1) <i>Anal. Chem.</i>, 92, 3307 (2020), 2) <i>Anal. Chem.</i>, 91, 9125 (2019), 3) <i>Nat. Protoc.</i>, 15, 1829 (2020), 4) <i>Cell</i>, 184, 3452 (2021).

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	オンチップ誘導体化による単一生細胞質量分析法の高感度化				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	水野 初
	研究分担者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	轟木 堅一郎
		所属・職名	薬学部・助教	氏名	杉山 栄二
		所属・職名		氏名	
	発 表 者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	水野 初

講演題目
オンチップ誘導体化による単一生細胞質量分析法の高感度化
研究の目的、成果及び今後の展望
ナノエレクトロスプレーイオン化（nanoESI）法によるダイレクト質量分析は、ESI 法と比べてキャピラリーの内径が小さいため、イオン化効率の高い、高感度な分析が可能である。そのため、極微量サンプルの測定に適しており、一細胞中の薬物や代謝物の分析が可能となる。しかし、細胞内に極微量しか存在しない多種多様な代謝物の変動を網羅的に解析するには感度の面で限界がある。特に、有機酸などの酸性代謝物をネガティブイオンモードで検出する際には、夾雑成分の影響により感度が著しく低下するという問題がある。本研究では、カルボキシ基を持つ酸性代謝物に対してカチオン性官能基を持たせるように誘導体化し、ポジティブイオンモードのみで種々の代謝物を高感度検出する方法を開発した。 カルボキシ基を有するモデル化合物として、9 種類のアミノ酸の混合溶液を試料とし、誘導体化試薬や反応条件の検討を行った。誘導体化試薬はカルボキシ基と選択的に反応する (S)-1-(4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)pyrrolidin-3-amine を用いることとした。この試料溶液数百 nL を金属コーティングしたガラスキャピラリー（Cellomics Tip CT-1, 先端口径 3 μm, HUMANIX）に注入後、縮合剤と内標準物質の混合溶液、誘導体化試薬を順に加え反応させた。その後、ガラスキャピラリーを nanoESI プローブとして質量分析した。質量分析には三連四重極型質量分析計（Xevo TQ-S micro, Waters）を用い、ポジティブイオンモード、選択的イオンモニタリングで測定した。9 種アミノ酸の混合溶液をキャピラリー内で誘導体化した試料を分析した結果、全てのアミノ酸誘導体が検出された。アラニンにおいては、誘導体化によってピーク強度が 2.1×10^4 から 6.6×10^6 に向上した。他のアミノ酸においても同様にピーク強度が約 100 倍向上し、誘導体化による感度向上が確認された。さらにヒトパーキットリンパ腫細胞株である Raji 細胞 1 個を顕微鏡観察下でガラスキャピラリー（Cellomics Tip CT-8 先端口径 8 μm, HUMANIX）内に採取し、前述の操作で誘導体化を行い、細胞内代謝物の高感度検出を試みた。その結果、Raji 細胞 1 個からもアミノ酸や有機酸に由来する誘導体ピークが検出された。 これらの結果から、キャピラリー内で誘導体化する本方法は、1 個の細胞から採取した微量試料の高感度分析を可能とし、生命現象の詳細な解明の一助となることが期待される。

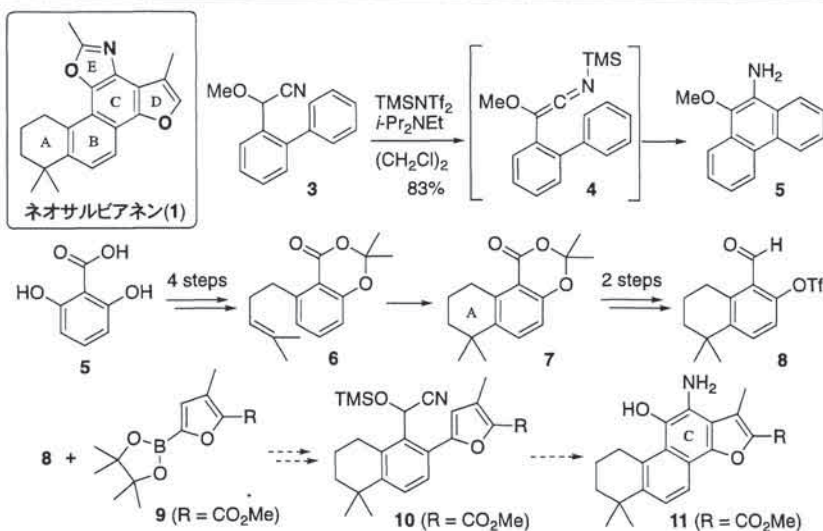
研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	N-シリルケテンイミンの特性を活用する反応開発と生物活性天然物の全合成				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	吉村 文彦
	研究分担者	所属・職名	薬学部・名誉教授	氏名	菅 敏幸
		所属・職名	薬学部・講師	氏名	稲井 誠
		所属・職名	薬学部・助教	氏名	大内 仁志
	発表者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	吉村 文彦

講演題目	ネオサルビアネンの合成研究
------	---------------

研究の目的、成果及び今後の展望

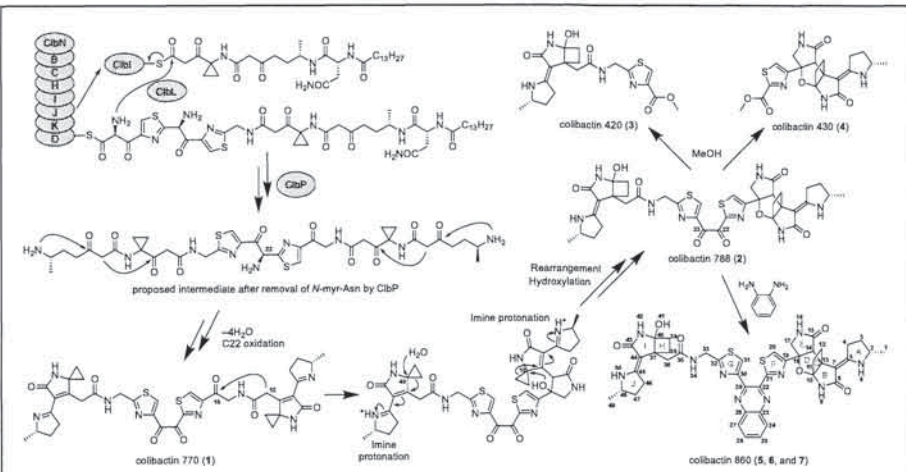
ネオサルビアニン(1)は2005年に Sun らのグループによって、*Salvia miltiorrhiza* の根を乾燥した漢方薬「丹参」から単離・構造決定されたジテルペノイドである。1 はフラン(D環)とオキサゾール(E環)を含む5つの環が縮環した得異な構造を有する。また、1 は顕著な抗がん活性を示し、新たな抗がん剤のリード化合物としても期待されている。我々は、1 のユニークな構造と魅力的な生物活性に着目し、1 の化学合成(全合成)に取り組んだ。



1 の合成上の最重要課題は、複素環が縮環した全置換ベンゼンである C 環をいかに構築するかである。これに関連して、最近我々はオルト位にアリール基を有するベンジルニトリル誘導体 2 を、第三級アルキルアミン (*i*-Pr₂NEt) 存在下シリルトリフルイミド (TMSNTf₂) と処理すると、系内で生じる N-シリルケテンイミン 4 の 6 π 電子環状反応と続く芳香化が室温で進行し、置換アニリン誘導体 5 が収率よく得られることを見出した。N-シリルケテンイミンが 6 π 電子環状反応の優れた π 電子成分として機能することを、世界で初めて実証した。今回、本法を 1 の C 環形成に利用する合成戦略を立案し、1 の全合成をめざすことにした。まず、市販の γ-レスシル酸 (5) からクロスカップリング反応を含む 4 工程でアルケン 6 を合成した。6 をビスマストリフレートと処理すると、Friedel-Crafts 型の分子内ヒドロアリール化反応が進行し、四級炭素を含む A 環が収率よく構築できた。環化体 7 を DIBAL と処理すると、アセトニドの開裂反応が進行し、*o*-ホルミルフェノールを得た。ついで生じたフェノール性水酸基をトリフル化し、トリフレート 8 へ変換した。現在、8 と別途合成したボリルフラン 9 との鈴木-宮浦クロスカップリングと、ベンジルニトリル 10 の 6 π 電子環状反応を検討している。

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	腸内細菌が産生する大腸がん新規リスク要因コリバクチンの発がん機序解明と予防法の確立				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	渡辺 賢二
	研究分担者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	恒松 雄太
		所属・職名	薬学部・講師	氏名	佐藤 道大
		所属・職名	薬学部・助教	氏名	岸本 真治
	発 表 者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	渡辺 賢二

講演題目	腸内細菌が産生する大腸がん新規リスク要因コリバクチンの発がん機序解明と予防法の確立
研究の目的、成果及び今後の展望	2021 年実施したコリバクチン化学構造決定に関する研究成果では、遺伝子組み換えを用いてコリバクチン生合成遺伝子 <i>clbP</i> の欠損株 ($\Delta clbP$) を作出し、本菌株と野生株 <i>E. coli</i>-50 の培養物について、non-target metabolomics 解析を行った。その結果、野生株のみにて特異的に産出される成分コリバクチン 788 (2, 分子量 789, 分子式 $C_{37}H_{40}N_8O_8S_2$, 図 1 中央右) を見出すことに成功した。そこで約 300 L の M9 培地を用いてコリバクチン生産菌 <i>E. coli</i>-50 を培養し、目的とするコリバクチン 788 の獲得・構造決定を試みた。しかしながらコリバクチン 788 は分解しやすい性質を示し、抽出・精製の過程において、それぞれ約半分の分子量をもつコリバクチン 420 (3, 分子量 420) とコリバクチン 430 (4, 分子量 430) に変換されることが判明した。種々検討の結果、コリバクチン 420 については 1.2 mg ほど単離することに成功した。高感度 NMR を利用し、コリバクチン 420 の構造を図のように決定することに成功した (図 1)。コリバクチン 430 は化学的不安定であったが、これも単離・構造決定を達成した。このように不安定であるコリバクチン 788 の単離・構造決定を目指し新たなアプローチとして、コリバクチン 788 を化学的に安定な形へ誘導化することを試みた。検討の結果、<i>E. coli</i>-50 培養物から得た脂溶性画分に対し、<i>o</i>-phenylenediamine を作用させ、分子量 861 のコリバクチン 860 (5, 6, 7) を 2.4mg 単離することができ、化学構造決定に成功した。  図 1. コリバクチンの非酵素的変換反応解析

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	トロイの木馬戦略に基づく新モダリティ医薬開発				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部 生薬学分野・講師	氏名	恒松 雄太
	研究分担者	所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	薬学部 生薬学分野・講師	氏名	恒松 雄太

講演題目
トロイの木馬戦略に基づく新モダリティ医薬開発
研究の目的、成果及び今後の展望 本研究ではメチオニンアミノペプチダーゼ II の特異的阻害剤フマギリン類を対象とし、新規赤痢アメーバ治療薬創製を目指した。現在進行中のAMED採択課題「複雑性創出型化学/生物ハイブリッド合成に基づく赤痢アメーバ治療薬創製」においても上記と類似した研究が進行中であるが、本申請研究はAMED採択課題とは異なる、補完的アプローチにて研究を実施する。本研究のミソは、赤痢アメーバの生態に関与する有機分子(二次代謝産物)を同定することを通じ、本分子の化学構造情報を赤痢アメーバの選択的生育阻害作用に役立てる点にある。具体的には、赤痢アメーバの生産するシデロフォア分子の探索を行い、その化学構造決定を行う。ここでシデロフォア分子とは、微生物類によって生産される鉄結合性の分子であり、効率的な成長・代謝のため外部環境中から鉄(III)イオンを取り込むために利用される有機分子である。赤痢アメーバ原虫のゲノム中にはシデロフォア分子の推定生合成遺伝子(非リボソーム性ペプチド合成酵素)が認められ、本遺伝子は鉄欠乏条件にて発現が上昇することが知られている。本研究にて得られるシデロフォア分子は赤痢アメーバの成長を促進すると仮定すると、本分子は赤痢アメーバ細胞内に積極的に取り込まれると期待する。そこで、既知の赤痢アメーバ成長阻害剤フマギリンとシデロフォア分子のハイブリッド化合物を創製し、より赤痢アメーバ/ヒト選択性の高い、いわば「トロイの木馬」型の新規抗生物質の開発を行う。 (1) 赤痢アメーバの産生するシデロフォア分子の構造決定 赤痢アメーバの産生するシデロフォア分子の探索を行った。まず、赤痢アメーバの培養系を確立した。その後、赤痢アメーバ細胞を培養し、その代謝産物について市販メタボロミクスプログラムにて解析することで、鉄欠乏条件にて特異的に生産される化合物を探索した。一方で、シデロフォア分子の探索試験(CAS試験)を指標に、activity-guidedな目的成分精製を行った。 (2) 生合成遺伝子異種発現法によるシデロフォア分子の構造決定 項目(1)が望み通りに進まないことも考え、本項目では生合成遺伝子の異種宿主発現にてシデロフォア分子の構造決定を目指した。EHI_XXXXX(非公表)と同調して発現する遺伝子群のうち、二次代謝反応に関与するものを選別し、これらを上記の異種発現ホストである大腸菌へと導入した。 今後は引き続きシデロフォア分子の探索を進めるとともに、トロイの木馬型分子の創製を目指す。

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	印刷工学技術とナノ粒子設計技術の融合による革新的経肺 DDS プラットフォーム開発				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部 薬剤学分野・准教授	氏名	佐藤 秀行
	研究分担者	所属・職名	薬学部 薬剤学分野・教授	氏名	尾上 誠良
		所属・職名	薬学部 薬剤学分野・助教	氏名	山田 幸平
		所属・職名	株式会社リコー	氏名	森谷 樹
		所属・職名	株式会社リコー	氏名	森永 匡彦
		所属・職名	フダン大学・教授	氏名	Wei Wu
		所属・職名	シドニー大学・教授	氏名	Hak-Kim Chan
		所属・職名	プリンストン大学・教授	氏名	Robert K.Prud'homme
	発 表 者	所属・職名	薬学部 薬剤学分野・准教授	氏名	佐藤 秀行

講演題目
Mucosal drug delivery 技術の戦略的応用による Cyclosporine A の薬物動態制御
研究の目的、成果及び今後の展望
印刷工学技術を応用した Fine droplet drying (FDD) 工法は、インクジェットヘッドを液滴形成技術として応用することで、均一な液滴形成による精密な粒子製造が可能である。我々は、これまでの検討で FDD 工法が得意とするシングルミクロンサイズの粒子設計により、ペプチド医薬の経肺的薬物送達を指向した新規製剤開発への有用性を報告してきた。今回、FDD 工法による吸入用微粒子に対し、機能性ナノ粒子を搭載することで FDD 工法による機能性吸入用微粒子設計を試みた。モデル化合物として難水溶性ペプチドである Cyclosporine A (CsA) を選択し、ナノ粒子搭載型吸入粒子の設計に先立ち、搭載する機能性ナノ粒子の設計、物理化学的特性評価ならびに機能性ナノ粒子をラット気道内投与後における粒子の局在を明らかにすべく、イメージングによる解析を行った。ナノ粒子の作成には析出法の一種である Flash NanoPrecipitation (FNP) 法を用い、粒子基剤として Polystyrene-co-Polyethylene glycol (PS-PEG) および PS-co-Polyacrylic acid (PS-PAA) を使用することでそれぞれ、粘液透過性ナノ粒子 (CsA/PEG) および粘液付着性ナノ粒子 (CsA/PAA) の設計を試みた。Multi-inlet vortex mixer を使用した FNP 法により、平均粒子径 150-200 nm 程度の均一な CsA 含有ナノ粒子の作成に成功し、それぞれ使用した基剤の親水部分に由来する表面電荷を有していたことから粒子表面に PEG および PAA が主に分布していると推察する。いずれのナノ粒子も良好な分散性を有しており、pH1.2 および 6.8 条件下における溶出試験において速やかな分散特性を示した。人工粘液を使用した粘液透過性試験において、CsA/PEG および CsA/PAA はそれぞれ粘液透過性および粘液付着性を有することが示唆された。さらに、これらの粒子に対し、蛍光物質を封入したナノ粒子懸濁液を作成し、ラット気道内投与後における肺内粒子動態評価を行った。その結果、CsA/PEG 粒子は CsA/PAA 粒子と比較して気道粘液層の深部まで到達しており、肺内においてより長時間滞留する特性を有していることを確認した。すなわち、粘液透過性ナノ粒子を応用することで、より効率的な薬物曝露の達成を可能とするであろう。現在、FDD 工法を粒子化に対して応用することでナノ粒子搭載型吸入用微粒子として作成し、実際の薬物を封入した製剤について鋭意検討を実施している。本研究により導き出される経肺 DDS プラットフォームは低分子医薬品のみならず、投与経路の限られる中～高分子医薬品に対する新しい投与形態を提示するものとなることを期待する。

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	NASH根治に向けた活性型肝星細胞を標的とする時間治療型ナノDDS基盤技術の開発				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部 創剤科学分野・准教授	氏名	金沢 貴憲
	研究分担者	所属・職名	薬学部 創剤科学分野・教授	氏名	近藤 啓
		所属・職名	薬学部 創剤科学分野・助教	氏名	照喜名 孝之
		所属・職名	薬学部 薬理学分野・助教	氏名	山口 桃生
		所属・職名	日本大学薬学部・准教授	氏名	和田 平
	発表者	所属・職名	薬学部 創剤科学分野・准教授	氏名	金沢 貴憲

講演題目
NASH根治に向けた活性型肝星細胞を標的とする時間治療型ナノDDS基盤技術の開発
研究の目的、成果及び今後の展望 非アルコール性脂肪肝炎（NASH）において、肝線維化の責任細胞である活性型肝星細胞（a-HSC）を標的とする創薬研究が活発に行われている。a-HSC は、NASH における肝線維化の責任細胞であり、この a-HSC を、肝再生能を有する静止型 HSC へ脱活性化できれば、NASH の根治および肝臓の再生が期待される。現在、a-HSC の脱活性化に関与するシグナル伝達経路とその候補薬物の報告はいくつかあるものの、in vivo では、a-HSC への薬物移行が著しく制限されるため、期待した治療効果を発揮できないケースが多い。よって、a-HSC 標的治療の実現には、NASH 病態下の肝臓で形成される硬く密な線維組織の物理的障害を掻い潜り、肝臓の 10%程度しか存在しない a-HSC に特異的な指向性を持つ DDS が必要不可欠である。一方、近年、生体において細胞間相互作用を担うエクソソームなどの細胞外小胞（small extracellular vesicle: sEV）が、臓器・細胞特異性を示すことが報告されている。 本研究では、a-HSC 指向性を持つ sEV の探索を目的として、NASH 病態下の肝臓内細胞間相互作用に着目し、脂肪酸で刺激した肝実質細胞由来 sEV の物性と HSC への取り込みについて無処置細胞由来 sEV と比較した。また、線維化の日内変動を検討するため、NASH モデルマウスを用いて、朝と夜における肝臓内でのコラーゲン量の測定を行った。 sEV の検討において、マウス由来肝実質細胞株 AML-12 への脂肪酸の暴露は、パルミチン酸（PA）で 48 時間培養することで行った。PA 処置および無処置 AML-12 細胞の馴化培地から、サイズ排除クロマトグラフィーにより sEV を単離し、物性ならびに、蛍光標識 sEV を用いてヒト HSC 株 LX-2 への細胞取り込みをフローサイトメトリーにより評価した。LX-2 は静止型および TGF-β1 刺激した活性型を用いた。その結果、動的光散乱法により、いずれの sEV も同程度の物性を示し、Western blotting により、CD9 および CD63 の発現が確認された。このとき、PA 処置により sEVs の 1 粒子当たりのタンパク質量は、増大した。また、sEV の静止型 HSC への取り込みでは、PA 処置による変化が見られなかったのに対し、a-HSC への取り込みでは、PA 処理 AML-12 由来 sEV は、無処置 AML-12 由来 sEV に比べて有意に増大した。よって、肝実質細胞由来 sEV は、脂肪曝露により、a-HSC への指向性が増大する可能性が示された。また、NASH モデルマウスの肝臓内コラーゲン量は、朝と夜で有意な差があることを明らかにした。本知見をもとに、引き続き時間治療型ナノ DDS 基盤技術の開発を進めていく。

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	ドキシソルピシン心筋症発症に関わる p300 の蛋白分解制御機構の解明				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	森本 達也
	研究分担者	薬学部・講師	刀坂 泰史	薬学研究院・博士3年	清水 聡史
		薬学部・講師	砂川 陽一	薬学研究院・博士2年	清水 圭貴
		薬学部・助教	宮崎 雄輔	自治医科大学・博士後研究員	Nurmila Sari
		薬学部・研究補助員	船本 雅文	国立病院機構京都医療センター・部長	長谷川 浩二
		薬学研究院・博士4年	清水 果奈	米国ハーバード大学医学学校・教授	Steven P. Gygi
	発 表 者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	森本 達也

講演題目
ドキシソルピシン心筋症発症に関わる p300 の蛋白分解制御機構の解明
研究の目的、成果及び今後の展望 我々は、成人心筋細胞における遺伝子発現調節において、p300-GATA経路が中心的な役割を果たしていることを世界で初めて見出した (<i>J Biol Chem.</i> 2004;279(36):37640-50, <i>Mol Cell Biol.</i>2003;23:3593-606, <i>J Biol Chem.</i>1999 :274: 34096-102)。一方、心不全の発症・進展に心筋細胞のアポトーシスが重要な役割を果たしている。心筋細胞において、p300が抗アポトーシス蛋白であるbcl-2の発現制御に関与することを見出した (<i>Circ Res.</i> 2004;94(11):1492-9.)。抗ガン剤ドキシソルピシンをマウスに投与すると心筋細胞はアポトーシスを生じ、心不全を呈するが、その過程で心筋p300蛋白量の低下を認めた。我々は、外因性のp300を発現させてp300蛋白量の低下を補うと心筋細胞アポトーシスが抑制されることを見出した。(<i>Biochem Biophys Res Commun.</i> 2004;315(3):733-8)。従って、心筋p300の適当な発現量の維持が正常心機能を保つのに重要であることが示された。このp300の発現量の調節にはユビキチン化による分解が関与することを明らかにしてきたが (<i>Circ J.</i> 2008;72(9):1506-11.)、その詳細なメカニズムに関しては不明のままである。 そこで本研究の目的は、<u>1) ドキシソルピシン心筋症発症の心筋細胞内で、p300 がどのようなタンパク質とコンプレックスを形成しているのかを解明し、2) p300 の分解制御を標的とした、心不全発症の抑制方法を確立することである。</u> (1) 心筋 p300 コンプレックスの精製及び同定 心不全発症における p300 の機能的コンプレックス精製を目的として、FLAG-HA タグのついた p300 を心臓に過剰発現するトランスジェニックマウスを作成した。このマウスの心臓から抽出したタンパク質を用いて p300 複合体を精製し、553 個の p300 結合タンパク質を同定した。なかでも、メチル化酵素活性を持つ p300BP1 に着目した。 (2) p300BP1 のノックダウンと過剰発現による心筋細胞肥大および抗アポトーシスに対する効果の検討 同定された蛋白についてその機能抑制を目的として、ラット胎児培養心筋細胞に p300BP1 の siRNA を発現させてノックダウンしたところ、フェニレフリン刺激による肥大反応が消失した。反対に p300BP1 を過剰発現させると心筋細胞肥大がみられた。 以上から p300BP1 をターゲットとした 新しい心不全治療の可能性が示唆された。

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	男女差を考慮した新規心毒性評価系の開発				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	黒川 洵子
	研究分担者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	坂本 多穂
		所属・職名	薬学部・助教	氏名	山口 賢彦
		所属・職名	薬食生命科学総合学府・博士1年	氏名	杉本 真太郎
		所属・職名	薬食生命科学総合学府・修士2年	氏名	長沢 思音
		所属・職名	薬学部・6年	氏名	五十嵐 弦
		所属・職名	薬学部・6年	氏名	稲田 理毅
		所属・職名	薬学部・5年	氏名	杉本 真菜
		所属・職名	薬学部・5年	氏名	國井 渉
		所属・職名	薬学部・5年	氏名	渡邊 倫
		所属・職名	薬学部・4年	氏名	長田 千尋
	発 表 者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	黒川 洵子

講演題目
男女差を考慮した新規心毒性評価系の開発
研究の目的、成果及び今後の展望
本研究は、健康寿命の延伸に貢献することを長期的目標とし、健常男女双生児から樹立したヒトiPS細胞を用いて、男女差を解析できる心毒性評価を開発することを目的として行われた。 女性は、男性より平均寿命は長いが必要介護期間も長い。この背景には生殖器以外の男女差が関与し、疾患の予防・発症・診断・治療の全段階に影響する。60年代のサリドマイド薬害を受け90年代は男性および雄性的データのみにて治験が行われ、その時期の市場撤退品の8割で、有害事象の発症率が女性で有意に高く（2001年）、創薬開発でも注目が集まるようになった。特に、胃薬やアレルギー薬など非心臓薬が誘発する心電図QT延長性不整脈は、思春期以降に女性で起こりやすくなることから、性ホルモンによる転写調節以外のメカニズムとして、申請者は、世界に先駆けて、心臓特異的な性ホルモン受容体非ゲノム経路の存在を発見し、発症性差を説明する分子機構を提唱した（Circulation 2005）。これまで、継代可能な培養ヒト心筋細胞は存在しないため、現行の心毒性評価試験では男女差などの個人差を予測することは困難だとされていたところ、ヒトiPS細胞の誕生により、非臨床心毒性評価を取り巻く事情が変わりつつある。 そこで、不整脈リスクに関連する分子への性ホルモンの作用の研究を進展させるとともに、心毒性の発症と男女差を同時に評価できる新規モデルを構築することを目指している。当該年度は、一組の二卵性双生児の男女をドナーとしてiPS細胞を樹立した。今後は男女差を反映した評価系としてモデルを構築するために、分化誘導した心筋シートが、ドナーから測った心電図の男女差を反映するか調べることを予定している。

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研 究 テーマ	敗血症横紋筋不全における性染色体由来性差の解明				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	坂本 多穂
	研究分担者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	黒川 洵子
		所属・職名	薬学部・助教	氏名	山口 賢彦
		所属・職名		氏名	
	発 表 者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	坂本 多穂

講演題目
敗血症横紋筋不全における性染色体由来性差の解明
研究の目的、成果及び今後の展望
【目的】敗血症は、感染に起因する多臓器不全であり、人類最大の死亡要因である。敗血症は加齢により発症・重症化しやすく、高齢化社会を迎える我が国では罹患者数が増加し続けている。敗血症治療薬の開発は喫緊の課題であり、長年にわたり臨床応用をめざした研究が進められているが、有効性を証明できた治療薬は存在しない。我々は新たな敗血症創薬標的として性差に着目した。敗血症は女性の方が男性よりも生存率が高く、骨格筋の敗血症応答がこの背景にあることが示唆されている。本研究では性転換マウスにおける敗血症応答の差異を解析し、それらにおける遺伝子発現の差異をRNA-Seqで網羅的に解析した。さらに見出された遺伝子について発現調節機構を検討した。 【成果】性転換マウスは性染色体構成と性別が独立する4群のマウス (Four Core Genotypes: XX♂、XX♀、XY♂、XX♀) からなる。この4群を比較すると性差の起源が性染色体によるものか性ホルモンによるものか解析できる。性転換マウスに盲腸穿孔法 (CLP) により多菌性敗血症を発症させたところ、CLP処置24時間後の筋力および敗血症スコアでは4群間で有意な変動はなかった。一方、96時間後の生存率はXX♂が他の3群よりも高かった。この結果は、性染色体構成XXかつ女性ホルモンが存在することが、敗血症生存に有利であることを意味する。この現象をもたらす因子を探索するため、敗血症を発症した性転換マウス4群の骨格筋における遺伝子発現の差異を網羅的遺伝子発現変動解析 (RNA-Seq) により解析した。敗血症生存率の高かったXX♂における特異的発現変動遺伝子として4つの遺伝子が検出された。これらは全て炎症状況下で発現変動する遺伝子であり、うち3つは分泌タンパクをコードし、1つは転写調節因子をコードしていた。次に見出された分泌タンパク遺伝子の発現調節機構を解析した。性染色体構成がXXであるC2C12マウス骨格筋芽細胞を分化させて筋管細胞を作製し、この細胞における3つの遺伝子 (遺伝子M、遺伝子P、遺伝子S) の発現変化を定量PCRで検討した。遺伝子Mと遺伝子Pは、内毒素により発現量が増加し、女性ホルモン17βエストラジオールはこの反応を増強した。一方、男性ホルモンであるテストステロンによるこれらの発現増強効果は認められなかった。この結果は性転換マウスで得られた結果を支持する。 【今後の展望】性転換マウス敗血症モデルにおいて4つの敗血症性差因子の候補遺伝子を見出した。特に遺伝子Pはヒトでも発現し、COVID-19軽症患者にて高発現することが報告されており、敗血症抵抗性因子として有望である。今後は、遺伝子Pノックアウトマウスを作製し、敗血症性差への影響を検討する。さらに遺伝子Pがコードする分泌タンパクPの投与が敗血症治療に有効か検討する。

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	認知症患者における行動・心理症状発現と第2世代治療薬の体内動態との関連				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	賀川 義之
	研究分担者	所属・職名	静岡てんかん・神経医療センター・臨床研究部長	氏名	小尾 智一
		所属・職名	静岡てんかん・神経医療センター・治験管理主任	氏名	山本 吉章
		所属・職名	薬学部・講師	氏名	大澤 隆志
		所属・職名	薬学部・助教	氏名	谷澤 康玄
	発 表 者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	賀川 義之

講演題目
認知症患者における行動・心理症状発現と第2世代治療薬の体内動態との関連
研究の目的、成果及び今後の展望
【目的】認知症は、中核症状の認知障害と周辺症状の行動・心理症状（Behavioral and Psychological Symptoms of Dementia：BPSD）に大別される。BPSD では興奮、幻覚等が現れ、日常生活に支障をきたすだけでなく、介護者の負担を過大にさせる。本研究では、第2世代認知症治療薬の血漿中濃度を測定し、体内動態に関与するタンパク質の遺伝子多型を検出して、体内動態に及ぼす因子を同定する。その上で、BPSD の発現と第2世代認知症治療薬の薬物動態との関係を明らかにすることを目的とした。本研究は静岡てんかん・神経医療センター及び静岡県立大学の研究倫理委員会の承認を受けた上で実施した。 【成果】第2世代認知症治療薬メマンチン（MEM）の血漿中濃度は高速液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計（LC-MS/MS）で測定した。ヒトでの治療濃度域で良好な直線性が得られ、真度及び精度はFDAのガイドラインを満たしていた。MEM服用者77名を対象として検討したところ、MEMの血漿中濃度/投与量比（CD比）と血清シスタチンC値から求めた推定糸球体濾過率（eGFR_{cys}）には有意な負の相関（$R = 0.355$）がみられ、腎排泄型であるMEMの血漿中濃度が腎機能の影響を受けることが明らかになった。MEMの排泄トランスポーター発現への関与が示唆されている <i>NR1I2</i> の遺伝子多型はMEMのCD比に有意な影響を与えなかった。血漿中MEM濃度が200 ng/mL以上の患者では重度のBPSD発現（NPIスコア>20）はみられなかった。一方、血漿中MEM濃度と認知機能の重症度（MMSEスコア）との相関はみられなかった。MEMとドネペジル（DPZ）の併用患者において、DPZ単独投与時の場合と同様、DPZの血漿中濃度が高濃度域にある患者ではBPSDが軽度であった。以上から、MEMの体内動態は腎機能の影響を受けること、血漿中濃度の高値がBPSDの重篤化を惹起することは確認されなかった。ガランタミン（GAL）及びリバスチグミン（RIV）については、LC-MS/MSを用いる測定法を開発しており、患者検体を集積しつつ解析を進めている。 【今後の展望】MEMはNMDA受容体に作用することから、高い血中濃度はBPSDの悪化要因になるのではないかと危惧があった。しかし、本研究結果より、MEMの高血中濃度に起因する有害事象はみられなかったことの臨床的意義は大きい。今後さらに症例を集積して検討していく。 参考文献；Yoshiyuki Kagawa, et al. Impact of Plasma Donepezil Concentration on Behavioral and Psychological Symptoms of Dementia in Patients with Alzheimer's Disease. <i>Dement Geriatr Cogn Disord Extra</i> 2021 Dec;11:264-272.

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	バイオ医薬品治療過程における乾癬患者の角層細胞間脂質の構造および組成の評価				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	内野 智信
	研究分担者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	賀川 義之
		所属・職名	薬学部・准教授	氏名	宮寄 靖則
		所属・職名	静岡県立総合病院・皮膚科主任医長	氏名	八木 宏明
	発 表 者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	内野 智信

講演題目
バイオ医薬品治療過程における乾癬患者の角層細胞間脂質の組成の評価
研究の目的、成果及び今後の展望 【目的】乾癬は、表皮細胞の増殖と分化異常を特徴とする非感染性の炎症性角化症の一つであり、乾癬患者においては皮膚バリア機能の低下、保湿機能の低下などが認められている。皮膚バリア機能の保持のためには、最外層にある角層が重要な役割を果たしている。角層は、角層細胞と細胞間脂質から構成され、さらに細胞間脂質は、セラミド(CER)、脂肪酸(FFA)、コレステロールから構成されている。中でも、CERはFFA 骨格([N]、[A]、[EO])とスフィンゴシン骨格([dS]、[S]、[P]、[H])から成り、その組み合わせにより12種類のサブクラスに分類され、さらにFFA 炭素鎖長の違いによって区別されることから、実際には角層には300種以上のCERが存在している。角層がバリア機能保持の役割を果たすためには、細胞間脂質の組成や三次元的な分子集合体としての構造が重要とされており、アトピー性皮膚炎などの炎症性皮膚疾患では健常人と細胞間脂質成分や構造が異なっていることが報告されている[Biochim Biophys Acta., 2014; 1841: 295-313.、Curr Probl Dermatol., 2016; 49: 8-26.]。 近年、中等度以上の重症度の乾癬患者に生物学的製剤(BP)による治療が行われている。BPを投与すると、多くの症例において臨床状態として寛解期に到達し、バリア機能の改善が認められる傾向がある。しかし、臨床症状が改善されていても角層が分子レベルでどのような状態になっているかは全く情報が無い。そこで、本研究では、BP前後の乾癬患者の病変部の角層を経時的にテープストリッピング法により採取し、角層細胞間脂質の構成成分を解析した。 【成果】本研究は、静岡県立大学および静岡県立総合病院の臨床倫理審査委員会の承認後に実施した。対象患者は、静岡県立総合病院皮膚科を受診し、BPで治療を開始する乾癬患者17名とした。文書による同意取得後、BP投与前(Day 0)および14、28、56、112、140(Day140)日経過後の患者の病変部より角層をテープストリッピング法により採取し、角層中のCER、FFAを超高速液体クロマトグラフィー-飛行時間型質量分析法により解析した。CER[NS]および[AS]レベルについては、Day 0と比較してDay 140ではそれぞれ49.43および48.13%と有意な減少が認められた($p<0.05$)。また、CER[NP]、[AP]レベルはいずれも経時的に増加する傾向が観察された。また、CER[NS]と[NP]、CER[AS]と[AP]の相関関係について検討したところ、いずれにおいても強い逆相関関係が観察された($r=-0.939$、-0.855)。CER、FFAの鎖長については、Day 0と比較してDay 140において、炭素数34(C34)の短鎖長CERレベルの有意な減少($p<0.05$)、C16、C18の短鎖長のFFAレベルの減少傾向が認められ、一方、C26、C28の長鎖長のFFAレベルに有意に増加が見られた($p<0.05$)。以上の結果から、BP投与による乾癬患者の臨床症状の改善はBP投与に伴い乾癬患者のCERおよびFFA合成酵素の活性が是正されたことによって、細胞間脂質の組成が健常人の組成に近づくことに由来しているものと示唆された。 【今後の展望】今後は、症例を重ねるとともに、角層構造の解析も行いたい。

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	化学療法誘発性悪心・嘔吐に対するパロノセトロン、アプレピタント、オランザピンによる3剤併用制吐療法の有効性および安全性を検討する多施設共同第Ⅱ相試験 (PATROL-I 試験)				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	辻 大樹
	研究分担者	所属・職名	静岡県立総合病院	氏名	中垣 繁
		所属・職名	がん研有明病	氏名	横川 貴志
		所属・職名	市立函館病院	氏名	坂田 幸雄
		所属・職名	岩国医療センター	氏名	松本 拓真
		所属・職名	聖隷浜松病院	氏名	山本 圭祐
		所属・職名	和歌山医科大学病院	氏名	西村 知恭
		所属・職名	東広島医療センター	氏名	小暮 友毅
	発表者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	辻 大樹

講演題目
化学療法誘発性悪心・嘔吐に対するパロノセトロン、アプレピタント、オランザピンによる3剤併用制吐療法の有効性および安全性を検討する多施設共同第Ⅱ相試験 (PATROL-I 試験)
研究の目的、成果及び今後の展望
【背景】化学療法誘発悪心・嘔吐 (CINV) は、患者にとって苦痛度の高い代表的な有害事象であり、QOL の低下や治療継続の拒否と関連している。現在の制吐療法ガイドラインでは DEX + 5-HT₃RA + NK1RA の3剤併用がシスプラチン等の高度催吐性レジメンに対する標準的な予防制吐療法として明記され、広く普及している。しかし、標準制吐療法に含まれる DEX は制吐目的での短期間投与であっても不眠、インスリン抵抗性や骨密度の低下等と関連することが報告され、ステロイド特有の副作用が問題点として指摘されている。したがって、ステロイド薬を用いない制吐レジメンの開発は重要な検討課題である。近年では制吐療法に対するオランザピンの有用性が示され、制吐薬としての注目が高まっている。 【目的】本研究ではステロイド薬を用いない制吐レジメンである 5-HT₃RA、NK1RA、オランザピン (OLN) の3剤併用制吐療法の有効性と安全性を多機関共同の第Ⅱ相試験で検討することを目的とした。 【方法】シスプラチン (≥50 mg/m²) を含む初回化学療法を受ける予定の悪性腫瘍患者を対象とし、CDDP 投与開始から 120 時間以内の CINV 発現について評価を行った。本試験では主要評価項目として悪心嘔吐総制御割合 (Total Control: TC) を設定した。また、副次評価項目には嘔吐完全抑制割合 (Complete Response: CR)、悪心嘔吐完全抑制割合 (Complete Control: CC) を設定し、それぞれ急性期、遅発期、全期間に分けて有効性評価を実施した。有害事象評価は医療者による評価に加え、Patient-reported outcome である PRO-CTCAE を用いた評価も実施した。 【結果】国内の 7 施設より 85 症例が登録された。未投与中止例を除く 81 症例が有効性および安全性の解析対象となった。主要評価項目であるシスプラチン投与開始から 120 時間以内の TC 達成割合は 29.6%であった。急性期の TC 達成割合は 59.3%、遅発期の TC 達成割合は 30.9%であった。CR 達成割合は全期間 60.5%、急性期 84.0%、遅発期 64.2%であった。CC 達成割合は全期間 60.5%、急性期 80.2%、遅発期 61.7%であった。医療者評価による grade 3 以上の重篤な有害事象の発現は食欲不振 (3.7%) であった。一方、PRO-CTCAE では 20.7%に grade 3 以上の食欲不振が発現していた。 【結論・考察】主要評価項目である全期間の TC 達成割合は閾値である 47.6%を下回っており、ステロイド薬を含まない 5-HT₃RA、NK1RA、OLN による 3 剤併用制吐レジメンは、従来の標準制吐レジメンに対する有用性を見出すことはできなかった。一方で CR 達成割合は全期間では 60.5%であり、現在の標準的 3 剤併用制吐療法と比較しても遜色ない結果であった。デキサメタゾンを含まない本制吐レジメンは、骨粗鬆症のリスクの高い高齢者や女性、HBs 抗原陽性患者などステロイド投与が積極的な適応とならない患者に対するオプションと成り得ることが示唆された。

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	ステロイド抵抗性機序に立脚した重症喘息患者の治療決定のための血中バイオマーカーの構築				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	平井 啓太
	研究分担者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	伊藤 邦彦
		所属・職名	静岡県立総合病院 呼吸器内科・部長	氏名	白井 敏博
		所属・職名	静岡県立総合病院 呼吸器内科・医長	氏名	赤松 泰介
	発 表 者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	平井 啓太

講演題目
ステロイド抵抗性機序に立脚した重症喘息患者の治療決定のための血中バイオマーカーの構築
研究の目的、成果及び今後の展望
重症喘息は高用量の吸入ステロイドなどの治療によっても症状のコントロールが困難であり、治療に抵抗性を示すなどにより喘息死に至るリスクが高いことが知られている。重症喘息に対し、近年、喘息患者特有の炎症（2 型炎症）をターゲットとした新規分子標的薬が開発されたが、その有効性を予測する指標はなく、ステロイド治療を継続するのか、分子標的薬を導入するのか、その治療方針を決定する指標は臨床において乏しいのが現状である。 我々はこれまでの臨床研究により、2 型炎症を有する重症喘息患者では、T 細胞中においてマイクロ RNA の一つである miR-21 の過剰発現が PI3K 経路を活性化させ、ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC2) の機能低下を介してステロイド反応性を低下させる可能性を示した。さらに、新規分子標的薬（ベンラリズマブ、抗 IL-5 受容体抗体）の投与が PI3K 経路の不活化を引き起こし、HDAC2 の機能改善がベンラリズマブ投与後の呼吸機能の改善と関連することを明らかにした。この知見はベンラリズマブが、ステロイド感受性の改善に寄与すること示した初めての報告であり、ステロイド治療に対する有効性が乏しく、ベンラリズマブを開始すべき患者を特定するために有用なものと考えられる。本研究をさらに発展させることにより、喘息患者の治療選択に有用な新たなバイオマーカーの構築に繋がるものと期待される。 本申請課題ではステロイド治療と 2 型炎症をターゲットとした分子標的薬との使い分けを可能とする血中バイオマーカーを、特にマイクロ RNA に着目して構築することを目的とする。 本年度は、ベンラリズマブ投与患者重症喘息患者 17 名を対象とし、ベンラリズマブ投与前の末梢血単核球より抽出した total RNA および血清より分離したマイクロ RNA を用いた網羅的発現解析を実施し、治療効果およびステロイド感受性分子との関連を解析した。ステロイド感受性および有効性との関連が認められたマイクロ RNA に関して、喘息の病態との関連を明らかにするための臨床研究を計画し、本年度より開始した。対象患者は、軽症、中等症、重症を含む喘息患者 150 名で、マイクロ RNA 測定のための血清採取およびステロイド感受性をより直接的に評価する手法として、患者末梢血単核球を用いたステロイド反応性試験を血液採取時に行った。2022 年 3 月までに目標症例数の 80% の登録を完了した。 本研究により、喘息患者の治療選択に資するバイオマーカーの構築に繋がることが期待される。

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	複製が完了した DNA から PCNA を除去する分子メカニズムの解明に向けた基盤整備				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	橋本 博
	研究分担者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	原 幸大
		所属・職名	薬学部・助教	氏名	菱木 麻美
	発 表 者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	橋本 博

講演題目
PCNA アンローダーATAD5 の調製法の検討
研究の目的、成果及び今後の展望
【背景】PCNAは全ての真核生物で保存されたタンパク質で、孔の開いたドーナツ状の構造をとる。PCNAは中央の孔に二本鎖DNAを結合するとともに、DNA複製・修復・細胞周期に関わる様々なタンパク質と相互作用し、それらがDNA上で働くための足場として機能する。PCNAが二本鎖DNAに適切に結合するためには、ローダーと呼ばれるタンパク質が必要である。また、アンローダーと呼ばれるタンパク質によって、ATP依存的にDNAクランプは二本鎖DNAから除去される。PCNAのローディング機構に関して、これまではローダーであるRFC (RFC1-RFC2-RFC3-RFC4-RFC5複合体) の構造と機能の研究が盛んに行われてきた。近年、アンローダーの発見によってPCNAのアンローディング機構とその生物学的重要性が注目されている (Kubota <i>et al.</i>, <i>Mol Cell</i> 2013; Kubota <i>et al.</i>, <i>Cell Rep</i> 2015; Johnson <i>et al.</i>, <i>Cell Rep</i> 2016; Kang <i>et al.</i> <i>Nature Commun</i> 2019)。PCNAがDNA複製後にDNA上に蓄積するとゲノムが不安定化することから、複製を正常に終了するためにはDNAからPCNAの除去が必要である (Johnson <i>et al.</i>, <i>Cell Rep</i> 2016)。しかし、これまでにアンローダーの構造生物学的研究は報告が無く、PCNAがどのような仕組みで複製が完了した二本鎖DNAから除去されるかは不明である。 【研究の目的】ヒトにおいて、ATAD5-RLC (ATAD5-RFC2-RFC3-RFC4-RFC5複合体) がPCNAのアンローダーである。本研究ではヒトATAD5-RLCを対象としており、その立体構造解析、PCNAやDNAとの複合体の立体構造解析によって、PCNAのアンローディング機構を構造生物学的に解明することを目指している。令和3年度は、X線結晶構造解析やクライオ電子顕微鏡解析による立体構造解析に適したヒトATAD5の組換えタンパク質の調製を検討した。 【成果】ATAD5のATPaseドメインがPCNAとの結合に関与することが報告されている (Kang <i>et al.</i> <i>Nature Commun</i> 2019)。そこで、ATAD5のATPaseドメインに着目し、大腸菌を用いた組換えタンパク質の調製を試みた。アフィニティタグとしてHisタグあるいはGSTタグを付加させる発現ベクターを構築し、組換えタンパク質の発現を検討した。その結果、IPTGによる誘導発現は良好であったが、目的とする組換えタンパク質は不溶性タンパク質として発現していた。そこで、培養温度や誘導条件、フォールディングを助けるシャペロンとの共発現を検討したが、不溶性は改善されなかった。 【今後の展望】ATAD5のATPaseドメイン単独では可溶性タンパク質として発現しなかったため、ATAD5とRFC2-RFC3-RFC4-RFC5との共発現を検討していく。

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	抗がん剤耐性の獲得を防ぐ Shieldin の再構成と構造解析				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	原 幸大
	研究分担者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	橋本 博
		所属・職名	東北大学加齢医学研究所・教授	氏名	田中 耕三
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	原 幸大

講演題目
Shieldin サブ複合体の生産システム構築に向けた検討
研究の目的、成果及び今後の展望 本研究では、抗悪性腫瘍剤の一つであるリムパーザ（ポリ ADP リボースポリメラーゼ阻害剤）に対する耐性獲得を防ぐ Shieldin の組換えタンパク質を再構成し、X 線結晶構造解析とクライオ電顕単粒子解析を併用した次世代構造解析により、Shieldin による防御機構を原子レベルで明らかにする。細胞で DNA 一本鎖切断（SSB）が生じるとポリ ADP リボースポリメラーゼ（PARP）の働きにより塩基除去修復が促進されて傷を直す。SSB が修復されないと複製に伴い、DNA 二本鎖切断（DSB）が生じる。DSB は正常細胞では相同組換え修復（HR）により修復されるが、Breast cancer type 1/2 susceptibility protein (BRCA1/2) に変異を持ち HR が欠損した腫瘍では損傷を修復できずに細胞死を起こす。従って、PARP 阻害剤は悪性腫瘍に特異的に細胞死を誘導する分子標的治療薬となるため、本邦でも 2018 年よりリムパーザが販売されている。最近、Shieldin (SHLD1、SHLD2、SHLD3、REV7 の 4 つのサブユニットで構成されるタンパク質複合体) の変異が PARP 阻害剤に対する薬剤耐性を腫瘍に獲得させることが報告された (Gupta <i>et al.</i>, <i>Cell</i>, 2018; Noordermeer <i>et al.</i>, <i>Nature</i>, 2018)。本研究対象である Shieldin の立体構造を明らかにし、機能を欠損させる変異箇所をリスト化することが出来れば、PARP 阻害剤に対する薬剤耐性を防ぐより効果的ながん治療戦略が可能となる。 本年度は Shieldin の構造解析に向けて、組換えタンパク質の調製に重点を置いた。Shieldin は SHLD2、SHLD3、REV7 からなるサブ複合体と、SHLD2、SHLD1 からなるサブ複合体で構成される。サブユニットの一つである REV7 は、発達障害の原因である CAMP や薬剤耐性獲得に関与する REV3、REV1 とともに複合体を形成するハブタンパク質として知られる。申請者はこれらの複合体の構造解析に成功しており、これらの系を生かして REV7-SHLD3-SHLD2 サブ複合体を大腸菌で発現させるシステムを構築した。構築した発現系を用いて、サブ複合体の調製を試みたが、SHLD2 の過剰発現がみられなかった。原因として、SHLD2 の中央領域に存在する天然変性領域が組換えタンパク質の適切なフォールディングを妨げている可能性が考えられる。SHLD2 の N 末端領域は REV7 との相互作用領域として知られており、C 末端領域は構造未知であるものの DNA 結合能を有する OB フォールドが複数タンデムに並んで存在することがアミノ酸配列から予測される。従って、SHLD2 の分子機能を保持しつつ、安定な組換えタンパク質を調製するために、構造を持たない中央領域を欠損させたインターナルトランケーション変異体を作製することで熱力学的に安定な REV7-SHLD3-SHLD2 サブ複合体の調製を試みる。また、SHLD1 を含むよりインタクトな状態での Shieldin の再構成系の構築についても進めていく。

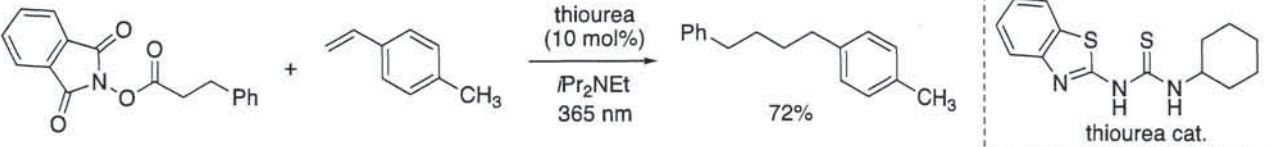
研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	2つの経路で腫瘍細胞の増殖を維持するユビキチンリガーゼの構造解析				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	菱木 麻美
	研究分担者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	橋本 博
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	菱木 麻美

講演題目
異性化酵素 PIN1 による TRIM59 の認識機構の解明に向けた結晶化
研究の目的、成果及び今後の展望 がんをはじめとする多くの疾患は、シグナル伝達の制御破綻に起因している。本研究対象の TRIM59 は、固形がんの 70% で活性化している STAT3 の活性維持に関与する。STAT3 はリン酸化修飾を受けて活性化する転写因子であり、細胞増殖に関与する Cyclin D1 や細胞死抵抗性を示す Bcl-2 などの遺伝子の転写を促進する。そのため、がん細胞における STAT3 の活性化は、腫瘍の増大、浸潤、転移などを引き起こす。TRIM59 は、RING、B-box、コイルドコイルの 3 つのドメインで構成されるが、①コイルドコイルドメインは STAT3 と相互作用して STAT3 の脱リン酸化を阻害し、②RING ドメインは転写を抑制するヒストンバリエント macroH2A をポリユビキチン化して分解に導く。TRIM59 はこれら 2 つの経路で直接的および間接的に STAT3 による転写活性を維持している。TRIM59 が STAT3 の活性を維持するために、TRIM59 は、Ser308 がリン酸化され、PIN1 により異性化されて核内に移行する必要がある。TRIM59 による STAT3 の活性維持を回避することは、がん治療の新しいアプローチであり、TRIM59 の構造基盤を解明することは新規抗がん薬の開発に資する。これまでに TRIM59 は、部分構造も含めて構造報告例は全く無い。本研究では、異性化酵素 PIN1 による TRIM59 の原子レベルでの認識機構を明らかにすることを目的に、PIN1 と TRIM59 の相互作用解析と結晶化を行った。 GST タグを融合した PIN1 タンパク質を大腸菌で発現させ、アフィニティーカラム、イオン交換カラム、ゲル濾過カラムを用いて高純度に精製した。TRIM59 は GST タグ、His タグを融合した様々な領域の発現ベクターを構築し、調製した。精製した PIN1 と TRIM59 を用いてプルダウンアッセイで相互作用を確認したところ、特異的な結合を検出することはできなかった。そのため、条件の再検討が必要である。次に、精製した PIN1 タンパク質と、リン酸化 Ser308 を含む TRIM59 のペプチドとの共結晶化スクリーニングを行い、粗結晶を得た。今後は得られた結晶化条件を最適化する。また、浸漬法による PIN1 と TRIM59 ペプチドとの複合体の結晶を調製するため、PIN1 単体の結晶化を行っている。こちらも結晶化条件を最適化し、浸漬条件を検討する予定である。

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	光励起性還元剤の探索と有用分子変換反応への応用				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	濱島 義隆
	研究分担者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	江上 寛通
		所属・職名	薬学部・助教	氏名	山下 賢二
		所属・職名	東京大学薬学部・准教授	氏名	滝田 良
		所属・職名	University of Regensburg, Assistant Professor	氏名	Joshua Barham
	発 表 者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	濱島 義隆

講演題目
チオウレアの光励起性還元触媒作用の発見と Giese 反応への応用
研究の目的、成果及び今後の展望 近年、光エネルギーを駆動力とする環境調和型反応の開発が大きな注目を集め、光レドックス触媒を用いる様々な分子変換反応が開発されている。これまでのところ、高価な遷移金属錯体を光レドックス触媒とする方法がほとんどであるが、触媒量とはいえ、より安価な光触媒への代替が望ましい。我々は、構造修飾により酸化還元電位をチューニングしやすい有機分子光触媒に注目した研究を行っている。最近、チオ安息香酸 (TBA) が光励起還元性水素引き抜き触媒として機能することを見出し、この現象を利用してアミンの Cα-H (ヘテロ) アリール化反応を新規に開発した。詳細なメカニズムは現在解析中であるが、チオカルボニル構造の寄与が考えられたため、本研究ではチオカルボニル構造を有する分子の光励起還元活性を探索した。 種々検討した中で、チオウレア触媒、最終還元剤として3級アミン存在下、光照射するとアルデヒドの還元的二量化が高収率で進行する条件を見出した。年度計画に従ってチオウレア触媒の置換基効果を検討したところ、可視光領域で触媒活性を示すにはベンゾチアゾール環を有する触媒 (図) が有効であることが分かった。また、チオウレアのもう一方の置換基はアルキル基でも触媒活性に大きな影響を与えず、ジクロロメタンなどの低極性溶媒にも溶解した。さらにチオウレアの <i>N</i>-(モノ)メチル体を用いたところ反応が全く進行しなかったことから、水素結合による基質の活性化が重要であることが示唆された。今後、活性向上を目指しチオウレア以外のチオカルボニル化合物を詳細に検討する予定である。 次に電子アクセプターとしてフタルイミドエステルを検討した。チオウレア触媒と3級アミン存在下、光照射するとフタルイミドエステルが還元され炭素ラジカル種を与えることが分かった。本反応系では通常発生しにくい第1級炭素ラジカルが生成し、アルケンに対し Giese 反応を起こす。通常の Giese 反応は電子不足アルケンが必要とするが、本反応はスチレン類に効率的に付加することが特徴である。以上の成果は、新たな有機分子光触媒の開拓とクリーンな医薬品合成の実現に貢献すると期待される。


研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	アルケンのフッ素化を基盤とする含フッ素糖類の選択的合成法の開発				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	江上 寛通
	研究分担者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	濱島 義隆
		所属・職名	薬学部・助教	氏名	山下 賢二
		所属・職名		氏名	
	発 表 者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	江上 寛通

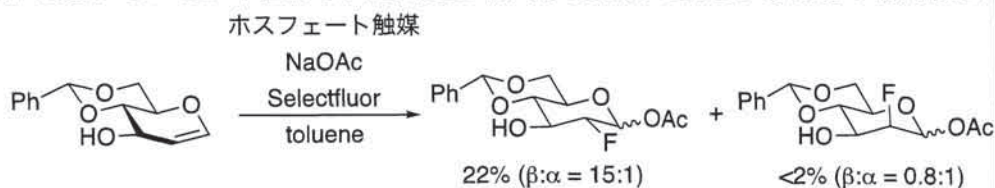
講演題目	グルカール類の立体選択的フッ素化反応
------	--------------------

研究の目的、成果及び今後の展望

フッ素を有機分子の適切な位置に導入することで、その特異な性質により親分子の物性をチューニングでき生物活性の増強が期待されるため、生命科学研究においてフッ素は関心の高い元素である。生体内がホモキラルな環境であり、低分子創薬において三次元構造をもつ分子が注目されていることを考慮すると、フッ素の立体選択的な導入法の開発は重要な研究課題である。一方、フッ素を含む糖類は医薬品の部分構造にも見られる骨格であり、その様々な合成法が検討されている。グルカールなどのジヒドロピラン類のフッ素官能基化は最も直接的な手法であるが、一般的にその立体選択性は低く、複数のジアステレオマーを同時に生成してしまうことが問題であった。

我々の研究グループでは近年、アルケンに十分な反応性をもつジカチオン性フッ素化剤である Selectfluor に着目し、キラルなアニオン性相間移動触媒を創製することで様々な基質でのエナンチオ選択的フッ素化を達成してきた。そこで本研究では、相間移動触媒を用いて立体選択的なグルカール類のフッ素官能基化反応を開発することを目的とした。

まず常法に従いグルコースから 3,4,6 位の水酸基をアセチル保護したグルカールを合成し、相間移動触媒条件に付したが、予期に反してフッ素化が全く進行しなかった。これはアセチル保護基により基質の反応性が低下したものと考えられたため、4,6 位をベンジリデンアセタール保護したグルカールを合成し、フッ素化の検討を行った。この基質ではフッ素化の進行が確認されたものの、我々が開発したジカルボキシラート触媒も求核剤として働き、アノマー位に付加することで触媒が失活することが明らかとなった。そこで、カルボキシラートより求核力が低いと考えられるホスフェート触媒を用いたところ、収率に改善の余地は残されているものの、優れた選択性でβ-グルコース型のフッ素化生成物を与えることが明らかとなった（下図）。そこで様々な保護基の検討を行った結果、現在までに①電子求引性の保護基の導入は反応を阻害すること、②3 位のアルコールをマスクすると反応性が低下することが明らかとなっている。今回得られた知見は相間移動条件によるフッ素化の有用性を示しており、継続的に基礎知見を蓄積することで、含フッ素糖類合成の新たな基盤を整備していく。



研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

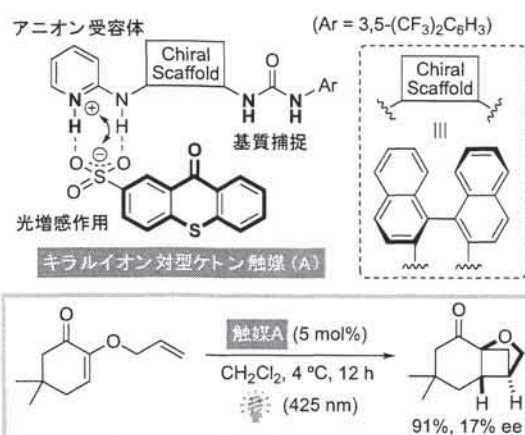
研究テーマ	光化学反応の不斉触媒化を指向したキラルイオン対会合型ケトン触媒の開発				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	山下 賢二
	研究分担者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	濱島 義隆
		所属・職名	薬学部・准教授	氏名	江上 寛通
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	山下 賢二

講演題目	光化学反応の不斉触媒化を指向したキラルイオン対会合型ケトン触媒の開発
------	------------------------------------

研究の目的、成果及び今後の展望

【研究の目的】ケトンは、エネルギー移動や水素原子引抜きなど多様な触媒作用を示す光触媒として知られており、その汎用性の高さからこれまでに多くの光反応に用いられてきた。一方で、位置や立体の制御を伴う反応に適用された例は殆どない。そのような中、Bach らは基質認識部位と光増感部位(ケトン)を共有結合により連結させた先駆的なキラルケトン触媒を報告した(*Nature* 2005, 436, 1139.)。その後も幾つかのキラルケトン触媒が開発されているが、その全てが共有結合により各部位を連結させる同様の触媒設計である。本設計に基づけば堅牢な不斉場が構築できるが、触媒構造のスクリーニングが困難であり、適用できる反応も限定されてしまう。そこで、本研究では従来の設計指針を刷新し、新たな触媒設計原理を導出することを目的とした。すなわち、基質捕捉と光増感を担う各ユニットをイオン性相互作用により会合させる新たな設計戦略に基づいて、多機能性キラルケトン触媒を創製し、これまで選択性制御が困難とされてきた光化学反応の不斉触媒化を目指した。

【研究成果と展望】今年度はまず、異なる分子構造を有する種々のイオン対型ケトン触媒の光化学的特性を、分光学的および実験的手法を用いて系統的に調べた。さらにそこで得られた知見に基づいて、2-アミノピリジン構造とウレア構造をもつ新たなイオン対型ケトン触媒(A)を創製した(図上)。プロトン化された2-アミノピリジン部位がアニオン受容体として機能し、水素結合と静電的相互作用によりスルホネートを適切な不斉空間に配置するとともに、ウレア部位が基質を捕捉・活性化することで立体選択的な光反応が高効率に進行することを期待した。実際に本触媒の機能評価を行なったところ、従来の有機光触媒では達成されていない様々な光反応に適用可能であることがわかった。特に、分子内[2+2]光環化反応においては、改善の余地が残されているものの、初めてイオン対型ケトン触媒で不斉誘導が可能であることを示すことができた(図下)。今後は、触媒のX線結晶構造解析や構造活性相関を調べることで構造の最適化を図り、歪みが大きく構築が困難な縮環化合物を高立体選択的に得ることを目指す。



研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	SGLT2 変異モデルによる高糖質摂取と運動のエネルギー代謝に対する影響				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	井口 和明
	研究分担者	所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	井口 和明

講演題目
SGLT2 変異モデルによる高糖質摂取と運動のエネルギー代謝に対する影響
研究の目的、成果及び今後の展望
糖尿病治療薬である SGLT2 阻害薬は著しい血糖降下効果を示す。老化促進モデルマウス SAM のなかで、P10 系統（以下、P10）は、本学の海野らにより遺伝子解析され、腎 SGLT2 遺伝子の変異が見つかり、グルコース再吸収が十分でなく、糖尿および低血糖傾向であることが分かった。P10 は短命で、加齢による脳萎縮もみられる。このことは、低血糖に基づくエネルギー代謝が脳機能や脳萎縮、寿命等に影響する可能性が考えられた。本研究では、P10 マウスの糖質代謝およびエネルギー代謝について、エネルギー代謝関連の基礎的解析を遺伝子レベルで解析し、その因果関係を明らかにすることを目的とした。SGLT2 変異のない SAMR1 系統マウス（以下、R1）を対照群として、10 週間の高糖質摂取による代謝変化を比較検討した。P10 は 6 週令時点ですでに R1 より約 10% 低体重であり、10 週後の 16 週令では R1 より 17% 低体重の 31g 前後であった。10% グルコースを飲水に混ぜて摂取させる群（高糖質摂取群）では、SAMP10 の体重は 16 週令で約 37g と、R1 とほぼ同じレベルに伸びた。このことは、P10 では標準の餌だけでは、糖質が十分でないことが示唆された。なお、R1 の高糖質摂取群では体重変化は水摂取群と全く変わらなかった。10 週間の摂餌量は P10 と R1 で全く変わらず、高糖質摂取では、R1 で約 30%、P10 で約 55% 低下した。10 週間の摂水量は、R1 に比し P10 では約 50% 増加しており、グルコース再吸収能の低下に伴う浸透圧調節等の変化が起きていることが示唆された。なお、腎における水再吸収の遺伝子発現が著しく低下していた。また、高糖質摂取により、R1、P10 ともに摂水量が約 3.6 倍に増加した。カロリーベースで比較すると、水摂取では R1 と P10 の差異はなかったが、高糖質摂取により R1 で約 20% 減、P10 で約 40% 減であった。16 週令の精巣上体脂肪量は、R1 では高糖質摂取により増減はなかったが、P10 では約 2 倍になった。血糖値は 16 週令で P10 が R1 とほぼ同じレベルであった。糖質摂取により R1 では 15% 程度増加し、P10 ではむしろ低下していた。肝の糖新生関連の遺伝子発現は、R1 に比し P10 で約 3 倍高かったが、高糖質摂取により R1 と同等のレベルまで低下していた。また、血中ケトン体は高糖質摂取でいずれも 10% 程度増加していた。肝および脂肪組織の脂肪合成関連の遺伝子発現は高糖質摂取により著しく増加していた。以上から、総エネルギー摂取量が低下し高糖質に偏っても、正常マウス R1 では体重では変化がなく、SGLT2 変異 P10 では、体重は増加するものの脂肪蓄積が顕著であった。回転輪のついたケージでの自由運動飼育環境においても同様に検討したが、通常ケージでのそれとの顕著な差異は認めなかった。今後、本条件下での長期摂取による脳の機能変化を詳細に検討する。

研究区分	教員特別研究推進 国際共同研究・国際交流の推進
------	-------------------------

研究テーマ	マラヤ大学との大学間協定締結を志向した機能性食品の共同開発				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	南 彰
	研究分担者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	紅林 佑希
		所属・職名	薬学部・准教授	氏名	高橋 忠伸
		所属・職名	薬学部・教授	氏名	竹内 英之
		所属・職名	マラヤ大学マッシュルームリサーチセンター・センター長	氏名	Vikineswary Sabaratnam
		所属・職名	Department of Pharmaceutical Life Sciences, Faculty of Pharmacy, University of Malaya	氏名	Phan Chia Wei
	発 表 者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	南 彰

講演題目
マレーシアマラヤ大学との大学間協定締結を志向した機能性食品の共同開発
研究の目的、成果及び今後の展望 当分野では、マレーシアのマラヤ大学マッシュルームリサーチセンター長 Vikineswary Sabaratnam 教授との共同研究によって、マレーシア産機能性食品の共同開発を行ってきた。これまでに同センターからの研究支援を受け、ヤマブシダケが更年期の骨代謝低下を改善することや、エリンギが更年期の認知機能低下やうつ症状を改善することを見出してきた（N. Morita, et al., Clinical and Experimental Obstetrics & Gynecology, 2020; A. Minami, et al., Biological and Pharmaceutical Bulletin, 2013）。これらの研究実績を基盤に、本学とマラヤ大学との部局間協定を締結した（2019 年締結）。現在、共同研究を加速させることにより、マラヤ大学との協定を部局間から大学間に展開し、新たな大学間協定の締結を目指している。このような背景などから、新たなマレーシア産機能性食品の共同開発を開始することとなった。ここでは、マレーシア発祥で伝統的に免疫賦活化薬として活用されているタイガーミルクマッシュルームを利用して、更年期の神経症状を改善する機能性食品の開発を行った。卵巣機能の低下に伴うエストロゲン欠乏は、閉経後骨量減少の他に抑うつや物忘れなどの精神神経症状を引き起こし、生活の質を著しく低下させる。更年期障害の治療にはホルモン補充療法が広く使用されているが、精神症状や認知機能の低下に対しては十分な効果が期待されていない。そこで本研究では、更年期障害モデルラットが示す抑うつや記憶能低下に対するタイガーミルクマッシュルームの作用を検討した。 モリス水迷路によって評価した海馬依存性の記憶能は、卵巣摘出から3か月経過したラットで低下していた。この記憶能の低下はタイガーミルクマッシュルームの摂取によって改善しなかった。また、卵巣摘出ラットは強制水泳試験によって評価したうつ様行動を示した。このうつ様行動はタイガーミルクマッシュルームの摂取によって改善しなかった。また、認知症発症の原因の1つと考えられるシアル酸分子種 N-グリコリルノイラミン酸の脳内蓄積を分析したところ、タイガーミルクマッシュルームの摂取は脳に含まれる N-グリコリルノイラミン酸量に影響しなかった。以上より、今回評価した更年期症状について、タイガーミルクマッシュルームによる改善効果は認められなかった。現在、共同研究者とともに、更年期症状を改善することのできる東南アジア由来の天然素材を探索している。

研究区分	教員特別研究推進 国際共同研究・国際交流の推進
------	-------------------------

研究テーマ	国際共同研究を通じたインドネシア・バンドン工科大学との交流プロジェクト				
研究組織	代 表 者	所 属・職 名	薬学部・教授	氏 名	森本 達也
	研究分担者	薬学部・特任教授	山田 静雄	薬学研究院・博士4年	清水 聡史
		薬学部・講師	伊藤 由彦	薬学研究院・博士3年	清水 聡史
		薬学部・講師	刀坂 泰史	薬学研究院・博士2年	清水 圭貴
		薬学部・助教	砂川 陽一	Bandung Institute of Technology・Rector	Kadarsyah Suryadi
		薬学部・助教	宮崎 雄輔	Bandung Institute of Technology・Head	Elfahmi Yaman
		薬学部・研究補助員	船本 雅文	自治医科大学・博士後研究員	Nurmila Sari
	発 表 者	所 属・職 名	薬学部・教授	氏 名	森本 達也

講演題目
国際共同研究を通じたインドネシア・バンドン工科大学との交流プロジェクト
研究の目的、成果及び今後の展望
バンドン工科大学（Institut Teknologi Bandung, ITB）はインドネシアにある理工系の国立大学で、今日、<u>インドネシアにおける最も優れた理工系大学と評価されるようになっている</u>。薬学科、生物学科、化学科、工業工学科、情報学科、化学工学などの学科をもち、研究も盛んにおこなわれている。海外との共同研究も行っており、日本では東京大学、東京工科大学、東北大学などが提携校となっている。 学術研究の発展に必要な国際共同研究を実施することにより、<u>独創的、先駆的な研究を格段に発展させることが可能</u>となる。国際共同研究を実施し、我が国の研究者が国際的なネットワークの中で中核的な役割を担うことにより、国際共同研究の基盤の構築や更なる強化に資することにもつながる。さらに、若手研究者が参画することにより、国際的に活躍できる研究者の養成にも資するとともに、国際共同研究の基盤の中長期的な維持・発展につながる。 そこで本研究の目的は、<u>バンドン工科大学と国際共同研究を行い、国際交流の促進を行うこと</u>である。本研究により、バンドン工科大学との多様な取組を活用することで、本学の国際的な教育研究の交流を推進するだけでなく、多様で分野横断的な交流が推進し、本学の卓越した教育研究活動をさらに国際的に展開し、<u>本学の国際的なプレゼンスの強化につながる</u>ことが期待される。 ①<u>インドネシアの民間薬「JAMU」成分を用いた日本における生活習慣病改善効果に関する研究</u> インドネシアで伝統的に用いられている「JAMU」には様々な天然成分が含まれている。バンドン工科大学のElfahmi博士は多くの天然物ライブラリーを保持しており、それを分与していただく。それらを静岡県立大学の様々な研究グループの疾病モデルでの効果を検討した。我々は、Zerumbone (<i>Phytomedicine</i>. 2021 Nov;92:153744) や α-Mangostin (<i>Biol Pharm Bull</i>. 2021;44(10):1465-1472.) が心不全改善効果を持つことを見出した。 ②<u>日本特有の天然物を用いた脳卒中発症抑制効果に関する研究</u> 静岡県立大学の保有する天然物ライブラリーをバンドン工科大学の研究グループに分与し、効果を検討していただいた。特にインドネシアの死亡原因の1位である脳卒中に関する効果を動物モデルで検討していただいた。 ③<u>本学の教員と学生をバンドン工科大学に派遣して、情報交換を行う</u> コロナの影響のため本年度は開催されなかった。 ④<u>バンドン工科大学の研究者を本学へ招聘し、学術交流など活発な国際交流を進める</u> ZOOM を用いた国際交流「第2回バンドン・静岡カンファレンス」を開催し、83名の参加を得た。

研究区分	教員特別研究推進 国際共同研究・国際交流の推進
------	-------------------------

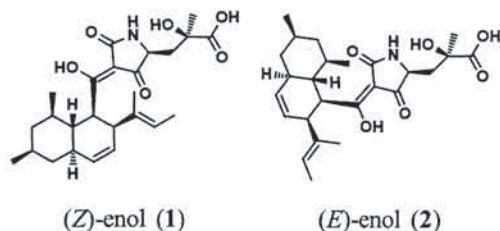
研究テーマ	「健康長寿」に関する COIL 教育を通じたカリフォルニア大学デービス校との国際連携の新規開拓事業				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	黒川 洵子
	研究分担者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	森本 達也
		所属・職名	薬学部・准教授	氏名	坂本 多穂
		所属・職名	薬学部・講師	氏名	山崎 泰広
		所属・職名	薬学部・講師	氏名	刀坂 泰史
		所属・職名	薬学部・講師	氏名	砂川 陽一
		所属・職名	薬学部・助教	氏名	山口 賢彦
		所属・職名	薬学部・客員教授	氏名	渡邊 泰秀
		所属・職名	カリフォルニア大学デービス校・助教授	氏名	Igor Vorobyov
		所属・職名	カリフォルニア大学デービス校・教授	氏名	Colleen E Clancy
		所属・職名	カリフォルニア大学デービス校・助教授	氏名	佐藤 大輔
	発 表 者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	黒川 洵子

講演題目
カリフォルニア大学デービス校との COIL 型教育に基づく 健康長寿社会実現のための AI 応用の新規開拓事業
研究の目的、成果及び今後の展望
本研究の目的は、本学が上智大学・お茶の水女子大学とともに進めている文部科学省「大学の世界展開力強化(COIL)事業」を通じて、米国側指定校カリフォルニア大学デービス校と本学との国際連携をより実質的で強固にして世界への発信力を高めるために、静岡県重要な産業である「茶」に関する国際共同研究を新規に開拓そして展開することである。 QS世界ランキング農林部門1位を誇るカリフォルニア大学デービス校とは、グローバルCOEプログラムの海外連携教育研究拠点としての交流を経て、2011年に大学間連携協定が締結されて以来、毎年数名の学生・研究者が行き来し、グローバル人材の養成に貢献してきた。今回、COIL型教育でオンラインを活用することにより、さらに国際交流を発展させることを目指した。今年度はこれまでのCOIL教育の経験を踏まえて、「健康長寿」の鍵となる循環器パラメータのビッグデータを扱う専門性が高い人材の育成を目指したAI教育を実施した。下記に、本研究チームの主な活動成果を記述する。 1) COIL型教育の実施: 大学院講義において、カリフォルニア大学デービス校の講師によるCOIL型授業を行った。今年度は、学生が自分自身の研究テーマを英語で説明する動画をあらかじめ授業内のホームページ(澤崎先生のセミナーで勉強したpadletを使用)にアップして、グループワークによる能動的なコミュニケーション力の醸成を図った。 2) 研究教育への活用: 共同研究の打ち合わせにオンラインシステムを用いた。原著論文1編を発表した。 Aghasafari P, Yang PC, Kernik DC, Sakamoto K, Kanda Y, Kurokawa J, Vorobyov I, Clancy CE. eLife, 10, e68335 (2021)

研究区分	教員特別研究推進 プロジェクト支援
------	-------------------

研究テーマ	日本学術振興会 国際交流事業 研究拠点形成事業				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	渡辺 賢二
	研究分担者	所属・職名	米国カリフォルニア大学ロサンゼルス校・教授	氏名	Kendall Houk
		所属・職名	米国カリフォルニア大学ロサンゼルス校・教授	氏名	Yi Tang
		所属・職名	米国スタンフォード大学・教授	氏名	Chaitan Khosla
	発表者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	渡辺 賢二

講演題目
Diels-Alderase CghA の反応メカニズムの解析
研究の目的、成果及び今後の展望
【背景・目的】糸状菌 <i>Chaetomium globosum</i> 由来の二次代謝物 Sch210972 (Sch) のオクタリン骨格は Diels-Alderase である CghA によって立体選択的に合成されている¹。これまでに我々は CghA の触媒メカニズムに関する研究を展開しており、前年度大会にて CghA の結晶構造と合成基質を活用した CghA の立体選択性制御機構の解明を報告した²。CghA の触媒メカニズムにおいて未解明だったのは生成物阻害回避機構である。Diels-Alder 反応では反応の遷移状態と生成物の構造が非常によく似ているため、何らかの制御がなければ生成物が反応を阻害してしまうと考えられている。実際に Diels-Alder 反応の遷移状態をハプテンとした抗体触媒は、Diels-Alder 反応を触媒するものの生成物が抗体内に留まるため反応速度が著しく小さい³。一方、CghA は抗体触媒よりも反応速度が明らかに大きく、生成物阻害を回避するメカニズムがあると考えられたため、これを明らかにするべく研究を行った。 【方法・結果】CghA と Sch の共結晶構造を精査することで CghA 中の Sch の立体配置を調べた。すると、Sch 単独の結晶ではテトラミン酸が <i>Z</i> 体の enol (1) として存在しているのに対して、CghA 中で Sch のテトラミン酸は <i>E</i> 体の enol (2) として存在していた。そこでこの二つの立体配置での基質のエネルギー差を計算したところ、<i>E</i> 体は <i>Z</i> 体よりも 2.8 kcal/mol エネルギーが高いことが明らかとなった。このことから CghA は酵素的に基質を <i>E</i> 体に異性化させていることが示唆されたため、テトラミン酸周辺のアミノ酸残基に変異を導入して酵素活性の変化を調べた。ケトンのカルボニル酸素に配位している Asn364 の変異で野生型の 10%程度まで活性が低下し、アミドのカルボニル酸素に配位している Ser65 の変異と Ser65 に水二分子を介して水素結合している Asn82 の変異ではそれぞれ野生型の 0.5%、2.5%とさらに顕著に活性が低下していた。 【考察】エネルギー計算の結果と変異体酵素の活性の変化から、CghA は Asn82 と Ser65 を介して基質を <i>E</i> 体へと誘導していることが示唆された。この結果と反応遷移状態のエネルギー計算から導き出した CghA の生成物阻害回避機構を含む触媒メカニズムの全容については本発表にて紹介する。 【参考文献】 1. Sato M. <i>et al.</i> <i>ChemBioChem</i> 2015, 16, 2294-2295. 2. 佐藤道大, 渡辺賢二, 化学, 2021年2月号, vol. 76, 72-73, 化学同人. 3. Sato M. <i>et al.</i> <i>Nature Catalysis</i> 2021, 4, 223-232.



研究区分	教員特別研究推進 教育推進
------	---------------

研究テーマ	食品栄養科学部に適した理数、データサイエンスおよびAIを教育するための専門教育科目「応用統計学」と「情報科学」の改善				
研究組織	代表者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	栗木 清典
	研究分担者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	牧野 正和
		所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	伊藤 創平
		所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	中野 祥吾
	発表者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	栗木 清典

講演題目
食品栄養科学部に適した理数、データサイエンスおよびAIを教育するための「情報科学」の改善
研究の目的、成果及び今後の展望
【背景】デジタル社会の「読み・書き・そろばん」である『数理・データサイエンス (DS)・AI』の基礎を習得して、あらゆる分野で人材が活躍できるよう、内閣府はSociety5.0や、AI戦略2019による「教育改革」を決定した。文部科学省は、小学校から大学・高専までのすべての教育機関に応じた対応を（共通テストで「情報Ⅰ」が開始される頃までを目安に）要請・指導した。具体的には、平成31年（2019年）の文部科学省の計画どおり、令和3年3月17日に、すべての大学・高専の学生を対象とした『理数・DS・AI教育プログラム』の「リテラシー・レベル編」が認定制度として開始された。令和4年3月15日に、AI応用力（各自の専門分野と、AIのダブルメジャー）の習得を推進するため、大学・高専の半数の学生を対象とした「応用基礎レベル編」が認定制度として開始された。 申請には、『理数・DS・AI教育プログラム』のカリキュラム、最低1年間の履修者率の実績、履修者率向上のための改善策とその工程表、自己点検・評価・公表の作業行程表などを作成し、その作成した教育プログラムを本学HPに掲載することが要件となっているが、何ら準備は進んでいない。当学部の現状の「情報科学」のWord、Excel、PowerPointの使い方を教える内容では申請要件を満たさないため、2つのレベルの申請に向けたワーキング・グループ（WG）が立ち上げられた。 【目的】本研究は、申請要件を満たす学部に適したカリキュラムを作成・変更することを目的とした。 【成果】1年次を対象にした「リテラシー・レベル編」では、理系や文系の学部の区別なく、全学的に受講できる「理数・DS・AI教育プログラム」の作成について、全学的な意見交換の機会と場のない状況であった。本学部だけでは取り組むことができないことから、全学で協議することの必要性を訴え続けた。年度末が近づいた頃、各部の部局長の協力を得て、『理数・DS・AI教育プログラム』の認定制度への申請を進めるワーキング・グループ（WG）が立ち上げられ、メンバーが決定した。 本学部の3年次を対象にした「応用基礎レベル編」では、食品生命科学科の食品製造等の技術者、栄養生命科学科の管理栄養士、環境生命科学科の環境計量士等、各学科における専門家育成の教育とAIのダブルメジャーを目指し、順に、「食品生命情報科学」（令和5年度：当初のカリキュラム内容を変更）、「DS・AI」（令和4年度：卒業認定要件でない自由選択科目として開講（注：認定制度の要件を満たさない）、「科目名：未定」（令和6年度：開講予定）が承認された。理数科目の2年次・後期の「応用統計学」より、3年次・前期のそれら各科目の履修を終える1年間、学習効果が高く、実用的な技術力が習得できるオンデマンド教材（期限：1年間）を購入することとなった。現在、興味・関心の高い学生は発展的に学習しており、苦手とする学生は何度も視聴して理解度を深めている。 【今後の展望】 本学部、全学ともに、『数理・DS・AI教育プログラム』の「リテラシー・レベル編」と「応用基礎レベル編」の申請に向けた準備は、漸く、各WGを介して始まるところである。既に認定されている他大学からの遅れは否めないため、本学部、本学の独自性、地域性、専門性の高い『数理・DS・AI教育プログラム』を作成することが今後の検討課題である。

究区分	教員特別研究推進 教育推進
-----	---------------

研究テーマ	専門職(管理栄養士)のキャリア形成を促す 臨床栄養師実践演習プログラムの拡充および事業の整備				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	新井 英一
	研究分担者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	桑野 稔子
		所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	市川 陽子
		所属・職名	食品栄養科学部・講師	氏名	串田 修
		所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	川上 由香
		所属・職名	聖隷浜松病院・客員教授	氏名	渡邊 卓哉
		所属・職名	藤枝市立総合病院・臨床教授	氏名	篠原 由美子
		所属・職名	静岡県立総合病院・栄養管理室長	氏名	高橋 玲子
		所属・職名	静岡県立こども病院・栄養管理室長	氏名	鈴木 恭子
		所属・職名	静岡市立静岡病院・栄養科長	氏名	久保田 美保子
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	新井 英一

講演題目
臨床栄養師実践演習プログラムの拡充と事業の整備
研究の目的、成果及び今後の展望
これまで本学の管理栄養士養成施設における教育は、高度な専門知識を習得できるカリキュラムに加えて、実践的な技術を習得するために、優れた実践指導者（臨床栄養師）を招聘し専門実践技術である栄養ケア・マネジメントの活用実践例を具体的な事例を通して学ぶ実践演習プログラムを構築してきた。しかしながら、専門職としてのキャリア形成の基盤へとつなげるための実践的な技術を習得するためには多くの時間を必要とする。限られた履修時間の中で、実践演習プログラムをより効果的なものにするためには、優れた実践指導者とともに新しい演習法の開発、教育環境の整備が必要である。そこで、本研究では、本学教員と実践指導者間で、これまでの演習のリフレクションを行うとともに、課題に対する新しい試みを演習に活かし、その効果を検証することとした。さらに、本学で独自に開発した管理栄養士大学院研修プログラムである、特別インターンシップ（大学院博士前期課程）に必要な教育環境の維持・整備のために、栄養専門職のキャリア形成における臨床研修の在り方についても、臨床研修担当者と協議を行った。①実践指導者によるキャリア形成の基盤整備：栄養ケア・マネジメントの実践研究者でもある「臨床栄養師」による栄養ケア・マネジメント演習プログラムを、栄養生命科学科3年生に対して実施した。本プログラムの担当を、本学大学院修了生で臨床栄養師である大谷千晴氏（金沢西病院 管理栄養士）、竹内尚恵氏（福井県済生会病院 NST 専従管理栄養士）、竹内沙紀氏（しのぎき医院 管理栄養士、元藤枝市立総合病院 NST 専従管理栄養士）に依頼した。具体的な事例を用いたグループワークでは、討議内容のズレ、進捗の差、専門職の卵としての意識の温度差などが大きな問題であることが課題として明らかになった。この解決策の1つとして、各グループにプリセプター、ファシリテーターを必ず配置することや、臨場感などを体験する環境を整備する必要が生じた。今年度はコロナ禍ということもあり、対面での対応が難しいことから、次年度以降の課題として継続的に検証を行うこととした。②特別インターンシッププログラム拡充の整備：大学院生で本プログラムを修了した栄養専門職（1名）は、次世代の栄養専門職に対して啓発を強く促す力量を備えることが明らかになった。また、臨床栄養師研修プログラムを拡充できるかについて、県内他の3施設の臨床実務担当者と協議を行った。課題として、臨床現場における指導者不足、期間、費用や院内の処遇整備などが挙げられた、今後継続的に協議を行い、教育環境整備の推進を図る。

研究区分	教員特別研究推進 教育推進
------	---------------

研究テーマ	総合食品学講座による実学的教育				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授 (総合食品学講座 事業推進委員)	氏名	伊藤 創平
	研究分担者	所属・職名	食品栄養科学部・教授 (総合食品学講座 事業推進委員)	氏名	三浦 進司
		所属・職名	食品栄養科学部・教授 (総合食品学講座 事業推進委員)	氏名	新井 英一
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授 (総合食品学講座 事業推進委員)	氏名	伊藤 創平

講演題目
総合食品学講座による実学的教育
研究の目的、成果及び今後の展望
平成20年度に産学人材育成パートナーシップ事業として始まった総合食品学講座は、静岡県内の食品会社の中核人材の育成が目的であったが、講義会場を静岡県立大学食品栄養科学部に移動したことを契機に、学生にも門戸を開放している。本講座は食品の加工・製造技術をはじめ、衛生管理手法や消費者対応、マーケティングに至るまでの、食品業界に関する実務的・実践的内容の構成であり、講師は第一線の実務者である。大学や大学院では聴講する機会がない実践的な内容が多く、県大のみならず食品系の学部学生、大学院生の教育への活用が期待できる。本年度の総合食品学講座は、例年通り、7月下旬から10月下旬まで、静岡県立大学を中心に、県工業技術研究所での実習を交え、3ヶ月にわたって開催された。特に、集中講義期間に、食品栄養科学部3学科の学生の興味が強い、マーケティング、病院食、食品の安全性等の講義を設定、述べ人数で140名弱の学生が受講した。所定の基準を満たした社会人受講生に、フーズ・サイエンスセンター長より修了証書が授与された。アンケート調査による受講生の講座への満足度は総じて高く、学生の受講生からも、講義内容に感銘を受ける声が寄せられ、食品工業に関する実践的知識への関心が高い事が伺えた。来年度も、学科の教育方針に沿った講座をピックアップし、集中講義期間に行う事で、学生が参加しやすい時期で開催する予定である。また、地域貢献の面からも、実学的教育推進の面からも、大学として存続させる価値のある講座である。

研究区分	教員特別研究推進 教育推進
------	---------------

研究テーマ	情報科学と食品生命科学の融合による新規バイオ素材創出に向けた配列デザイン法の開発と応用				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	中野 祥吾
	研究分担者	所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	中野 祥吾

講演題目
情報科学と食品生命科学の融合による新規バイオ素材創出に向けた配列デザイン法の開発と応用
研究の目的、成果及び今後の展望
近年の情報科学技術の進歩は、我々の生活をより豊かにしてきた。同時に尽きることなく大量生産される膨大なデータを解析し、有用情報を抽出・応用するためのデータマイニングツールの開発が求められている。生命科学分野においても数十億を超えるタンパク質配列データが手付かずの状態データベース上に登録されているなど、これらデータの有効利用法の開発が強く求められている。そこで本研究では、膨大な数のタンパク質配列データを分類・解析することで、データベースから産業応用研究に展開可能な新規バイオ素材（人工タンパク質）創出を可能とする配列デザイン法の開発と応用を行こととした。 本研究では新規バイオ素材として応用可能性のあるタンパク質・酵素をさらに高機能化させる方法の開発を実施することとした。タンパク質を高機能化する際には数十点の変異を目的タンパク質に導入する必要があるが生じることがあるが、変異組み合わせを全て実験的に検証することは不可能である。そこでコンピュータ上で変異組み合わせを最適化するための新たなインシリコ変異導入法、GAOptimizer を開発した。GAOptimizer はタンパク質立体構造を利用しつつ、遺伝的アルゴリズムを採用することで変異組み合わせの最適化を達成する手法である。本手法を複数の酵素に適用したところ、活性値を犠牲にすることなく、耐熱性・耐久性・可溶性を著しく向上させることに成功した。 現在はGAOptimizer の公開に向けてマニュアルの作成や、そのほかのタンパク質・酵素への適用を続けている。

研究区分	教員特別研究推進 教育推進
------	---------------

研究テーマ	管理栄養士養成課程における「調理科学実験」の充実				
研究組織	代表者	所属・職名	食品栄養科学部・講師	氏名	江口 智美
	研究分担者	所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	食品栄養科学部・講師	氏名	江口 智美

講演題目
管理栄養士養成課程における「調理科学実験」の充実
研究の目的、成果及び今後の展望
【目的】 「管理栄養士養成のための栄養学教育モデル・コア・カリキュラム」では、「D. 食べ物をベースとした栄養管理の実践」「2. 食事と調理の科学の理解」の学修目標において、「③ 食べ物の化学的・物理的要因に関する客観的評価方法（機器測定）について説明でき、評価できる。」こと、「④ 官能評価方法について説明でき、評価できる。」こと、「⑤ 評価結果を対象者の食事計画に活用できる。」ことなどが示されている（日本栄養改善学会『平成 30 年度管理栄養士専門分野別人材育成事業「教育養成領域での人材育成」報告書』2019, p. 33）。 管理栄養士養成課程である栄養生命学科において担当している「調理科学実験」を通して、学生を上記の学修目標に十分到達させたい。しかし、調理科学実験は調理と食味を伴うため、安全性等の観点から、学生実験室ではなく調理学実習室で授業を行っており、他の学生実験と共通の機器や器具を多く用いることは難しい。したがって、調理科学分野の客観的評価および主観的評価に必要な機器類・器具類の充実を図ることで教育環境を整え、管理栄養士養成教育を推進する一助とすることを目的とした。 【成果】 生物顕微鏡、手持屈折糖度計など、客観的評価に必要な機器類を充実させることができた。また、ミキサー、豆腐型、クッキー型、ガラス器具類など、実験の試料調製や実験操作に必要な器具類を充実させることができた。さらに、主観的評価（官能評価）に必要な白皿各種を充実させることができた。 【今後の展望】 来年度以降の調理科学実験で、十分にこれらの機器類・器具類を活用し、客観的評価および主観的評価の理解・習得を促すとともに、客観的評価と主観的評価との関連についても考察させ、教育内容を充実させていきたい。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	殺虫効力増強剤(S-421)による複合的神経伝達攪乱能に関する研究				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	牧野 正和
	研究分担者	所属・職名	常葉大学社会環境学部・講師	氏名	山田 建太
		所属・職名	静岡県立大学大学院・客員共同研究員	氏名	定塚 和彦
		所属・職名	薬食生命科学総合学府・環境科学専攻 修士2年	氏名	船水 純那
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	牧野 正和

講演題目
殺虫効力増強剤(S-421)による複合的神経伝達攪乱能に関する研究
研究の目的、成果及び今後の展望
【目的・成果】有機リン系殺虫剤の共力剤として配合されているBis (2, 3, 3, 3-tetrachloropropyl) ether (以下 S-421) を対象として、「S-421による複合的神経伝達攪乱能」の解明 を目的として本研究を進めた。結果および成果は以下の通り。S-421は、殺虫剤有効成分がシトクロムP450により代謝される過程を阻害することにより、有効成分の体内残留濃度を高めAChE阻害に起因する殺虫作用を増強させると考えられているが、他のシグナルパスウェイを攪乱する可能性を考慮し、以下の5種 (i) ヒトエストロゲン受容体 α (hERα;PDBID=3erd)、(ii) ヒトアリルヒドロカーボン受容体 (hAhR;PDBID=3h7w)、(iii) ヒト甲状腺ホルモン受容体 (hTR;PDBID=2h77)、(iv) アセチルコリンエステラーゼ (TcAChE;PDBID=1qti)、(v) ヒトブチリルコリンエステラーゼ (hBChE;PDBID=1p0i) を受容体として、以下6種 (i) E2、(ii) BNF, THS017、(iii) T3, T4、(iv) と (v) ガランタミンを各受容体の陽性コントロール (PC) としてDocking計算を実施した。なお、S-421は二種類の光学異性体を有するため、これらをS-421 (RS) とS-421 (RR-SS) と表記する。まず、Dockingに伴う安定エネルギー (ΔG_s) を計算した結果 (単位 [kcal/mol])、(i)~(iv) の受容体では、-6.1~-6.5であり、このうち、(iii) の受容体に対してS-421 (RS) のdockingが最も安定している (ΔG_s=-6.5) という結果となった。加えて、PCのみの ΔG_s を比較した場合、(iii) の受容体に対してT3は (-8.4) と他の結果 (例：(i) で用いたE2 (-11.2)) と比較して安定度が小さいことが分かった。つまり、$\Delta G_s (PC) - \Delta G_s (Ligand)$ の値が最も小さいこととなるため、シグナルパスウェイを攪乱する可能性は、(iii) に対するS-421 (RS) の可能性が最も高いと予想された。次に、S-421 (RS) とS-421 (RR-SS) の ΔG_s を比較したところ、上述の(iii) の受容体のみS-421 (RS) の安定度が大きく、その他の受容体に対しては、S-421 (RR-SS) の安定度が大きい、同じ値 (-5.4; (v) の受容体の場合) であることが分かった。このため、S-421 (RS) の光学異性に関する置換基の配置は、甲状腺に関するシグナルを攪乱する可能性が示唆される結果となった。S-421が光学異性体を有することは分子構造的に明らかであるが、市場に流通しているS-421はラセミ体であるため、光学異性体間における活性の違いを数値化できた点は、大きな成果と考えられる。 【今後の展望】室内環境より検出例が報告されている共力剤 S-421 の非意図的生体作用能について、上記 (i) ~ (v) を受容体とする Docking 計算により評価し、これらに基づく生体リスクに関する情報を提示することができた。室内環境の保全において、殺虫剤に代表される不快害虫駆除剤は、欠くことのできない薬剤といえる。一方、これらの薬剤は心理的な不安感が相乗的に作用することで実体以上のリスク因子として捉えられる傾向にある。今後も、上記の非意図的な生体および生態作用能に関する情報を提供することにより、生活環境の保全に役立っている薬剤に関する正しいリスク評価に役立てたいと考えている。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	ハッサク果皮抽出物粉末は、転写調節因子 PGC-1 α の活性化を介して骨格筋のミトコンドリア生合成、筋線維タイプ変化を引き起こすか				
研究組織	代表者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	三浦 進司
	研究分担者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	佐藤 友紀
		所属・職名	京都府立大学・教授	氏名	亀井 康富
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	三浦 進司

講演題目
ハッサク果皮抽出物粉末は、転写調節因子 PGC-1 α の活性化を介して骨格筋のミトコンドリア生合成、筋線維タイプ変化を引き起こすか
研究の目的、成果及び今後の展望
【研究の目的】ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体γ コアクチベーター1α (PGC-1α) は持久運動により骨格筋での発現量が増加し、ミトコンドリア生合成や酸化型筋線維を増加させる。運動習慣による生活習慣病の発症予防には、骨格筋 PGC-1α による糖・脂質代謝、インスリン感受性、血管内皮機能などの改善が関与すると報告されている。ブドウに含まれる resveratrol などの骨格筋 PGC-1α を標的とする栄養補助食品は、運動習慣と同様の効果が期待できることから、ヒトの健康維持、疾病予防に資する代替医療の一つとして注目を集めている。一方、柑橘類果皮に含まれる auraptene は脂質代謝を促進することが報告されており、その作用機序に PGC-1α を介したミトコンドリア機能の向上が関与する可能性がある。そこで本研究では auraptene を高濃度に含む柑橘類ハッサク果皮抽出物粉末 (CHEP) が PGC-1α の活性化を介して骨格筋におけるミトコンドリア生合成を促進し、筋線維タイプ変化を引き起こすか検討し、その作用機序について明らかにすることを目的とした。 【方法】C2C12 筋管細胞を CHEP 存在下で 24 時間培養後、PGC-1α タンパク質量、ミトコンドリア量を測定した。また C57BL/6J マウスに CHEP 含有餌を 5 週間与え、骨格筋中の PGC-1α タンパク質量、ミトコンドリア量を測定し、さらに骨格筋を構成する筋線維タイプを同定した。加えて作用機序を解明するため PGC-1α の発現を制御する Sirtuin 3 (SIRT3)、phospho-AMP-activated protein kinase (pAMPK) 量を測定した。またレポータージーンアッセイにより CHEP の PGC-1α 転写活性化能を検証した。 【成果および今後の展望】筋管細胞、骨格筋において CHEP 群の PGC-1α タンパク質量とミトコンドリア量が増加し、骨格筋では酸化型筋線維数も増加した。これらは CHEP を介した PGC-1α の発現増加がミトコンドリアの生合成と酸化型筋線維への変換を誘導したことを示唆した。加えて CHEP は SIRT3 や pAMPK のタンパク質量、および PGC-1α の転写活性化能を増加させたことから、CHEP は SIRT3 や AMPK のリン酸化を介して PGC-1α タンパク質量を増加させることが示唆された。以上、CHEP は骨格筋 PGC-1α を標的とし、運動と同等の効果をもたらすことが期待される。本研究結果は、廃棄物である果皮の抽出物、CHEP について機能性を見出し、環境負担の少ない持続可能な生産消費形態の実現に貢献することが期待される。 【論文発表】Akashi, S., Morita, A., Mochizuki, Y., Shibuya, F., Kamei, Y., and Miura, S.: Citrus hassaku extract powder increases mitochondrial content and oxidative muscle fibers by upregulation of PGC-1α in skeletal muscle. <i>Nutrients</i>, 13, 497 (2021).

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	静岡県に生息するニホンジカの食資源化に向けた、シカ肉特性の地域比較および新たなシカ肉製品の開発・評価				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	市川 陽子
	研究分担者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	大槻 尚子
		所属・職名	常葉大学健康プロデュース学部・准教授	氏名	寺島 健彦
		所属・職名	静岡県工業技術研究所食品科・上席研究員	氏名	渡瀬 隆也
		所属・職名	静岡県立農林環境専門職大学短大・教授	氏名	小林 信一
		所属・職名	伊豆市役所 産業部農林水産課・副主任	氏名	森田 一穂
		所属・職名	静岡県畜産技術研究所中小家畜研究センター・養豚・養鶏科長	氏名	柴田 昌利
		所属・職名	静岡県くらし・環境部自然保護課・主査	氏名	大橋 正孝
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	市川 陽子

講演題目
静岡県内に生息するニホンジカ肉の食資源化に関する研究 ～捕獲地域の異なるシカ肉の食肉特性の比較～
研究の目的、成果及び今後の展望
静岡県内のニホンジカによる農林産物への被害総額は年間約1.4億円(R元年度)にのぼる。県の特定鳥獣管理計画(ニホンジカ)がH29年から第4期に入り、ピークであったH21年度の53%まで低減できたが、森林生態系の観点からもニホンジカの低密度化は未だ県の重点課題である。ニホンジカの捕獲、低密度化を進めるためには、食肉として無駄なく活用できる野生鳥獣肉加工施設の設置やシステム作りとともに、シカ肉の消費活動を促進・継続するための工夫が必要である。静岡県は西部から伊豆の全地域でシカ食害対策としての管理捕獲が行われているが、その食肉特性が地域によって異なることがしばしば伝えられている。そこで本研究では、県西部、中部、東部、伊豆の4つの地域で捕獲されるシカ肉の食肉特性についてデータを収集し、比較検討することを目的とした。 シカ肉試料は、浜松(天竜)、静岡(奥静、川根)、富士宮(東富士、朝霧高原)、伊豆(天城)の4地域でくり罠捕獲された雌のニホンジカのロース肉とモモ肉を用いた。測定項目は、ロースト肉の保水性(ドリップロス、クッキングロス、遠心保水性)、テクスチャー特性のかたさ応力、凝集性、付着性(レオナーRE-3305S: 株式会社山電製)、色彩のL*値、a*値、b*値(CR-400: 株式会社コニカミノルタ製)、生肉の遊離アミノ酸関連物質含有量(LC-20A アミノ酸分析システム、島津製作所&AcquityArc システム、Waters)、脂肪の融点測定(微量融点測定装置、Yanaco)とした。また、静岡県立大学学生(18～24歳)40名をパネルとして嗜好型官能評価を行った。評価項目は、分析型項目: 明るさ、赤の色味、かたさ、ジューシーさ、におい、嗜好型項目: 全体的な好ましさの計6項目とした。保水性、テクスチャー特性、色彩、融点測定、官能評価では、比較対照試料として豪州産牛肉についても測定・評価を行った。 浜松ロースは、かたさ応力で他地域よりも有意に($p<0.05$)低値を示し、浜松モモは遠心保水性で有意に($p<0.05$)高値を示した。静岡ロース・モモ肉は、ともにa*値が有意に($p<0.05$)低く、苦味を呈するアミノ酸の総量が他地域より少なかった。また、官能評価でかたく、噛み応えがあると評価された。富士宮ロース・モモ肉は、ともに血中コレステロール低下等の機能性があるタウリンが他地域より多く、官能評価では赤の色味が強いとされた。伊豆ロース・モモ肉は、ともにL*値が有意に($p<0.05$)高く、うま味の呈味成分であるGluが他地域より多く含まれ、特にモモは官能評価で色の赤みが強くジューシーであると評価された。熟成前pHは、浜松ロースが比較的高値であった。 静岡県内各地域に生息するシカ肉にはそれぞれ異なる特徴があり、明確に地域差があることが明らかとなった。現在、各地域のシカ肉の食肉特性をマッピングに示し、肉質の違いの可視化を試みている。それぞれに適した調理・加工方法等の情報とともに、売り手と買い手に発信することで、シカ肉に対するイメージをより身近なものに変え、シカ肉を売りやすく、また手に取りやすい環境を整備していく必要がある。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	糖尿病患者の継続的咀嚼が血糖コントロール及び体重に及ぼす影響の検討				
研究組織	代表者	所属・職名	食品栄養科学部臨床栄養学研究室・教授	氏名	保坂 利男
	研究分担者	所属・職名	食品栄養科学部臨床栄養学研究室・博士前期1年生	氏名	豊永 咲
		所属・職名	食品栄養科学部臨床栄養学研究室・4年生	氏名	芳村 菜月
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	食品栄養科学部臨床栄養学研究室・教授	氏名	保坂 利男

講演題目
咀嚼は、食後の GLP-1 分泌を増加させ、血糖コントロール悪化抑制に寄与する
研究の目的、成果及び今後の展望
【目的】 インスリン分泌は主に血糖値の上昇が刺激となって起こるが、その他アミノ酸も含めた栄養素や消化管ホルモン、自律神経系など様々な因子が関与するといわれている。近年、咀嚼のインスリン分泌に与える影響についていくつかの研究が健常人でなされており、そのメカニズムは未だ不明であるが、咀嚼がインスリン分泌を含めた糖代謝の亢進に寄与することが考えられている。しかし、糖尿病患者の血糖コントロールに対して咀嚼が与える効果について詳細に検討がなされている研究はほとんどない。本研究では、清水病院通院中の2型糖尿病患者を対象にシュガーレスガムを朝食前の15分間に噛むことを2ヶ月毎に相互変換として、計6ヶ月のクロスオーバー試験として血糖コントロール、食欲、体重などに対して咀嚼が与える効果について明らかにし、多様化した糖尿病患者への食事療法・栄養指導に寄与したいと考える。 【成果及び今後の展望】 同時並行で施行した健常人における糖質負荷試験では、ガム咀嚼時間に応じて、血糖値、インスリン、GLP-1の実測値ならびに変化量には有意な差は見られなかった。負荷後120分間におけるGLP-1の曲線下面積が、ガム咀嚼時間無しのコントロールと比較して15分、30分と増えるに応じて有意な増加がみられた。糖尿病患者における検討では、現時点で13名の研究が終了しており、その解析では「咀嚼なしから咀嚼2ヵ月」また、その逆に切り替えた場合と比較して、エネルギー摂取量には、有意な変化は見られなかった。体重、HbA1cにおいては、「咀嚼なしから咀嚼2ヵ月」で増減なく、維持できていたものの、逆に切り替えることで、体重は増える傾向、HbA1cは、有意に増加した。これらの結果から、咀嚼は、GLP-1分泌を刺激することで、生体内糖代謝に影響を及ぼすことで体重、血糖コントロール維持、改善に働くことが推測され、多様化した糖尿病患者に対する食事指導の1つとして有用であると思われる。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	微生物の酸化還元プロセスを利用した微量有害無機元素除去による水質改善				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	谷 幸則
	研究分担者	所属・職名	秋田県立大学・教授	氏名	宮田 直幸
		所属・職名	日本原研開発機構・研究副主幹	氏名	田中 万也
		所属・職名	常葉大学・講師	氏名	黒田 真史
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	谷 幸則

講演題目
Mn 酸化真菌による Co (II) および Ni (II) 含有 Mn 酸化物の形成を利用したレアメタル回収
研究の目的、成果及び今後の展望
【研究の目的】 世界の産業発展により多種多様な無機元素類が環境中へと放出され、食品・飲料水を通じた健康被害の拡大が危惧される。このような背景から、様々な無機元素を低コスト・低エネルギーで回収できる微生物システムの開発が望まれている。微生物が形成するバイオ Mn 酸化物(BMO)は、様々な無機元素イオンの回収媒体としての有用性が期待されている。本研究では、真菌 <i>Acremonium strictum</i> KR21-2 に由来する Mn(II)酵素活性を保持した BMO(以下、「活性 BMO」と表記)による Mn^{2+} と Co^{2+} および Mn^{2+} と Ni^{2+} の共存系での同時回収能力について評価し、その回収機構を調べた。 【成果】 活性 BMO (Mn として 1 mM) による、1 mM Mn^{2+} と 1 mM Co^{2+} (pH 7.0)の混合系で 24 時間毎に溶液を交換して 3 回処理したところ、Mn^{2+} (積算回収率 $95.0 \pm 1.9\%$) と Co^{2+} (積算回収率 $70.8 \pm 4.0\%$) が高い効率で同時に回収ができた。反応終了後の固体相を XRD 分析したところ、$\sim 9.6 \text{ \AA}$ と $\sim 4.8 \text{ \AA}$ に特異的なピークが出現し、Co を含有した Mn 酸化物鉱物の一種である asbolane 鉱が形成した。一方、不活化 BMO の場合には、asbolane 鉱に由来する XRD ピークは観察されなかった。これらの結果から、Co(II)-Mn(II)共存溶液処理において、活性 BMO 中に保持された Mn(II)酸化酵素による Mn(II)酸化反応により、asbolane 鉱の形成を介した Mn^{2+} と Co^{2+} の同時回収が進行したと結論した。活性 BMO (Mn として 1 mM) を、1 mM Ni(II)-1 mM Mn(II)共存溶液中で処理した場合、Mn^{2+} (積算回収率 $98.3 \pm 1.0\%$) と Ni^{2+} (積算回収率 $40.8 \pm 2.0\%$) が同時に回収できた。この時、固体相の XRD は、$\sim 4.6 \text{ \AA}$ にメインピークを示し、feitknechtite 鉱 ($\beta\text{-Mn}^{\text{III}}\text{OOH}$)に類似していた。また、収着 Ni^{2+} の $96.4 \pm 1.0\%$ は、非イオン交換態として抽出されたことから、Ni^{2+} 置換型 feitknechtite 鉱の形成が示唆された。 【今後の展望】 今後、内燃エンジンから電気自動車等の移行により、バッテリー材料である Co-Ni-Mn の使用量の大幅な増大が予想されている。これらの元素資源利用性を持続可能にするために、微生物の Mn(II)酸化能を利用した低エネルギー型のリサイクル処理が可能であることが本研究成果によって示された。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	昆虫を活用した新たな水産養殖用飼料の開発				
研究組織	代表者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	小林 公子
	研究分担者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	大原 裕也
		所属・職名	愛媛大学大学院農学研究科・教授	氏名	三浦 猛
		所属・職名	(有)服部エスエスティ・取締役社長	氏名	服部 守男
	発表者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	小林 公子

講演題目
昆虫を活用した新たな水産養殖用飼料の開発
研究の目的、成果及び今後の展望
スッポン（英名：Soft-shelled turtle）には、滋養強壮や疲労回復作用を持つ成分が含まれているといわれ、古くから漢方薬の材料として利用されてきた。また、近年では高級食材としてのニーズも増え、養殖が盛んな浜名湖周辺では、地域活性化への貢献が期待される特産品の一つである。しかし、スッポンの生育には時間がかかり、商品として出荷できるまでには3～4年、産卵可能な親まで育てるには6年以上の期間が必要である。養殖場では、餌として鱈などの魚粉に穀類やミネラルを加えた配合飼料が用いられているが、生育に適した餌についての情報が乏しいのが現状である。 そこで、本研究では共同研究者である愛媛大学の三浦らが、養殖魚の成長促進や耐病性の向上に効果があることを報告しているシルクロース®(カイコのサナギ粉末より抽出した多糖類)を稚鰐に与え、成長速度ならびに耐病性の指標となる炎症関連因子および抗酸化酵素の遺伝子発現への影響を明らかにすることを目的とした。 共同研究機関である(有)服部エスエスティより、稚鰐8匹を譲り受け、28℃の恒温室にて3カ月飼育した。4匹には0.1%シルクロース®を含む餌(スッポンマッシュ)を4匹には通常餌(スッポンマッシュ)を与えて1週間ごとの体重変化を記録するとともに、3カ月後に肝臓、筋肉、脂肪組織を摘出しmRNAを抽出し、炎症関連因子(TLR4、IRF7、IL6、NFKB1)および抗酸化酵素(SOD、CAT、GPX4、GSTP1)の遺伝子発現量を比較した。その結果、体重変化については、個体差が大きく、シルクロース®による影響は検出できなかった。また、炎症関連因子についても遺伝子発現量に差は認められなかった。一方、抗酸化酵素については、シルクロース®摂取群の肝臓において遺伝子発現量に増加傾向がみられた。特に <i>GSTP1</i> 遺伝子の発現量はシルクロース®摂取群で有意に増加しており (P=0.018)、抗酸化力が高まっている可能性が示唆された。スッポンの成長や耐病性の向上に対するシルクロース®の効果を明らかにするためには、さらに分析対象とするスッポンの個体数や給餌期間を延ばして分析する必要がある。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	成分分析に基づく静岡県産抹茶の特徴付け				
研究組織	代 表 者	所 属 ・ 職 名	食品栄養科学部・教授	氏名	熊澤 茂則
	研究分担者	所 属 ・ 職 名	食品栄養環境科学研究所 茶学総合研究センター・特任教授	氏名	中村 順行
		所 属 ・ 職 名	静岡県農林技術研究所 茶業研究センター・上席研究員	氏名	土屋 雅人
		所 属 ・ 職 名		氏名	
	発 表 者	所 属 ・ 職 名	食品栄養科学部・教授	氏名	熊澤 茂則

講演題目
成分分析に基づく静岡県産抹茶の特徴付け
研究の目的、成果及び今後の展望
1. 研究の目的 現在、抹茶は世界的に需要が伸びており、日本からの輸出量も毎年増加している。そのため、近年、静岡県内でも抹茶の生産量は急増している。静岡県産抹茶のブランド化を図るためには差別化が重要であるが、他県産の抹茶と比較した静岡県産抹茶のデータは少ない。そこで、本研究では、まず静岡県内で生産された一番茶（5月頃摘採）、二番茶（6月頃摘採）、秋冬番茶（9～10月頃摘採）の抹茶についてカテキン類やアミノ酸等の成分分析を行い、市販されている他県産抹茶と比較した。さらに、抹茶の品質に大きく影響を与える被覆条件とアミノ酸量との関連性を考察した。 2. 研究成果 (1) 抹茶の成分分析 国内で市販されている抹茶 62 種類と静岡県産の抹茶 25 種類について、一番茶、二番茶、秋冬番茶に分けてカテキン類、カフェイン、アミノ酸の定量分析を行った。その結果、静岡県産の一番茶抹茶のアミノ酸量は、14.9～52.1 mg/g であり、他県産と比較すると、やや低い傾向であった。 (2) 被覆条件とアミノ酸量との関連性 被覆条件を変えて栽培した碾茶についてアミノ酸量を定量したところ、被覆資材や被覆日数では大きな違いは見られなかった。一方、遮光率 98%の碾茶ではアミノ酸量は 18.7 mg/g、遮光率 85%の碾茶のアミノ酸量は 9.6 mg/g と約 2 倍の違いが認められた。 3. 今後の展望 静岡県産抹茶は、他県産抹茶と比較してアミノ酸量が低い傾向が見られた。今後、静岡県産抹茶の高品質化を図るためには、さらに遮光性の高い被覆資材を用いる等の工夫が必要であることが判明した。静岡県産抹茶のほとんどが「やぶきた」を原料としているため、茶の品種についても検討をすることで、さらなる差別化を図ることにつながると思われる。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	現場に適用できる小型ワサビ高速栽培に関する環境制御プロトコルの開発 －苗生産を促進する環境条件の追及－				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	谷 晃
	研究分担者	所属・職名	静岡県農林技術研究所伊豆農業研究センター わさび生産技術科	氏名	久松 奨
		所属・職名	静岡県農林技術研究所次世代栽培システム科・上席研究員	氏名	貫井 秀樹
		所属・職名	静岡県立大学大学院薬食生命科学総合学府環境科学専攻・修士1年生	氏名	風岡 菜月
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	谷 晃

講演題目
ワサビ苗の光合成を促進する光強度と二酸化炭素濃度の栽培プロトコル
研究の目的、成果及び今後の展望
本県特産品であるワサビの苗不足を解消するため、制御環境下での効率的な苗生産法の確立が喫緊の課題である。そこで、本研究では、人工環境下で低コスト苗生産の可能性を見据え、静岡県で育種されている2系統を用いて、二酸化炭素濃度、光強度および培養液濃度がワサビ苗の生育に及ぼす影響を調査した。 ワサビは静系19号および伊づまを使用した。各品種の特徴として伊づまは根茎の肥大が良好で、生育12ヶ月で収穫でき、静系19号は伊づまの特性に加え高温耐性があると期待されている。ワサビ稚苗は葉数が約3枚の個体を使用した。静系19号は41日間、伊づまは42日間栽培した。明期を12時間とし気温20℃、暗期を12時間とし気温15℃とした。また、飽差が4.1 hPaになるように湿度環境を調節した。光強度は、強光区(Sと表記)では光合成有効光量子束密度(PPFD)が200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$、弱光区(Wと表記)では120 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$であった。CO₂施用については、CO₂無施用区(-と表記)と1000 ppmに維持するCO₂施用区(+と表記)を設けた。大塚A処方(8倍希釈した区(1/8と表記)、4倍希釈した区(1/4と表記)を設けた。 両品種とも全乾燥重は、光強度およびCO₂施用が同じ場合、1/4倍の培養液濃度で1/8倍で生長させた処理区と比べて有意に高くなったことから、培養液を高濃度にする事で生長量の増加が期待できる。また、静系19号は培養液濃度が同じ場合、CO₂施用と光強度の相乗効果が認められた。三元配置分散分析の結果、伊づまはCO₂施用による有意差は見られたが光強度による有意差がなく、強光とCO₂施用の交互作用は静系19号でのみ認められた。強光区と弱光区の純光合成速度の比が静系19号では栽培期間を通して1より大きいことから、強光区で光合成促進効果が持続した。伊づまでは栽培中期以降この比が1より小さくなり強光区で光合成促進効果が消失した。これは、高温抵抗性の品種間差異によるものかもしれない。光強度とCO₂施用の効果は栽培品種により差がありかつ高コストな手法である。他方、培養液濃度の調整は最も低コストで効果的な生育促進法であると考えられた。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	不登校生徒の教育介入による精神的健康状態、家族機能、QOL の評価				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	桑野 稔子
	研究分担者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	亀山 詞子
		所属・職名	京都女子大学・講師	氏名	橋本 彩子
		所属・職名	東洋大学・教授	氏名	井上 広子
		所属・職名	フリースクール元気学園・校長	氏名	小林 高子
		所属・職名	岐阜大学医学部	氏名	杉山 三知代
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	桑野 稔子

講演題目
不登校生徒の教育介入による精神的健康状態、家族機能、QOL の評価
研究の目的、成果及び今後の展望
【背景・目的】 現在の日本において、児童生徒の不登校は大きな社会問題の一つである。文部科学省の調査によると、日本における不登校児童生徒は、2020 年度において、196,127 人であり毎年増加している。文部科学省や関係機関などで様々な対策が講じられてきているが、増加を食い止めることはできておらず、解決に結びつくエビデンスが不足している。 一方、不登校の児童生徒は、調査をすることが難しく、不登校児童生徒の支援に必要なデータが不足している。そのため、日本における児童生徒の不登校の原因と解決のための詳細なデータが極めて乏しい現状にある。 そこで、本研究では、不登校生徒に対する有効な支援方法を検討するための基礎資料を構築することを目的として、不登校生徒でフリースクール入学者を対象に、精神的健康状態、家族機能、QOL の実態を把握するとともに、フリースクールにおける 6 ヶ月間の教育介入の影響について検討した。 【方法】 本研究倫理審査委員会の承認後、S 県 S 市内のフリースクール入学者（12～15 歳の中学生：男子 8 名、女子 7 名）を研究対象とした。 生徒の調査項目は、抑うつ状態、不安状態、QOL、幸福度、家族機能とした。各指標について、相談会時、入学時、入学後 1 ヶ月、入学後 6 ヶ月の 4 群間の解析、各調査時期における男子と女子の 2 群間の解析を行った。 統計解析は SPSS 25.0 J for Windows にて行い、有意確率は全て 5%未満とした。 【結果・今後の展望】 不登校生徒のフリースクールにおける 6 ヶ月間の教育介入による影響は、抑うつ状態、QOL、幸福度の改善が見られ、適切な教育介入により、精神的健康状態が改善されることが明らかとなった。 家族機能は、女子では改善したが、男子では、入学後 6 ヶ月時においても家族機能低下が継続し、有意な変化は見られなかった。 本研究結果より、不登校生徒の 6 か月間の教育介入による影響を明らかにすることができ、不登校生徒に対する有効な支援方法の検討のための基礎資料の一つとして、貢献できると考える。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	内外因性アルデヒド類による皮膚老化に関する研究 ー健康長寿を維持する食・住環境の重要性				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	伊吹 裕子
	研究分担者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	小牧 裕佳子
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	伊吹 裕子

講演題目
外因性アルデヒド類による皮膚細胞の老化とヒストン量の変化
研究の目的、成果及び今後の展望 皮膚老化の最大要因は皮膚の酸化である。コラーゲン、エラスチンなどの細胞外マトリックスの変性、分解がおこりしわの原因となるとともに、DNA を損傷し皮膚がんを増加させる。皮膚内では紫外線などの暴露により活性酸素種が生成し、脂質を酸化、内因性のアルデヒドが生成する。一方、近代社会では外因性アルデヒドに暴露される機会も多い。気密性の高い住宅における人工建材から揮発する化学物質にはアルデヒド類が数多く含まれる。また、たばこ副流煙の中にも多種類のアルデヒド類が含まれ、皮膚はそれらに常時暴露される。アルデヒド類はヒストンとの反応性が高く、内因性アルデヒドによる老化促進には、ヒストンの量的変化が関わっていることが最近報告されている。そこで、本研究ではたばこ副流煙抽出物ならびにホルムアルデヒドによる皮膚の老化とその際に引き起こされるヒストン量の変化について検討を行った。 始めに、ヒト皮膚正常二倍体線維芽細胞 ASF-4-1 に、たばこ副流煙またはホルムアルデヒドを連続暴露した。たばこ副流煙は、たばこ 5 本分の燃烧煙を 100 mL の E-MEM にバブリングにてトラップし、それを 100% とし、4% を最大濃度として使用した。24 時間ごとに 5～7 日間連続作用後、各種老化指標を用いて老化度を測定した。副流煙、ホルムアルデヒドどちらにおいても、β ガラクトシダーゼ活性の上昇、p16 量の増加やヒストン H3S10 リン酸化の減少が認められ、老化が誘導されていることが示された。たばこ煙、特に副流煙中には、主流煙に比べ約 10～20 倍量のカルボニル類（ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、アクロレインなど）が含まれることが知られている。ホルムアルデヒド作用を行うと、たばこ煙と同様の老化の誘導が示されたことから、たばこ煙による老化は、たばこ煙に含まれるカルボニル類が寄与していると考えられた。次に、たばこ副流煙またはホルムアルデヒドを連続暴露後のヒストン H2AX 量をウェスタンブロット法で検討した。H2AX は H2A のバリエーションであり、DNA 損傷応答において重要な分子とされている。副流煙とホルムアルデヒド、どちらの場合も H2AX は低濃度暴露でわずかに増加し、高濃度暴露で減少した。また、H2AX mRNA 発現量を RT-qPCR により検討すると、同様に 2% 副流煙で発現が上昇し、それ以上の濃度では有意に低下した。ヒストン量の低下は、アルデヒドの結合による分解が一因と考えられるが、mRNA 発現量の低下も原因の一つと思われる。これまでの研究において、たばこ煙暴露による H2AX のリン酸化が観察されていることから、H2AX の量的変化は、DNA 損傷応答に影響することが予想される。 以上、本研究により、外因性アルデヒドが老化を促進すること、ヒストン H2AX 量を変化させることが示された。今後、ヒストン H2AX をノックダウンし、その量の違いが老化や DNA 損傷修復応答に及ぼす影響について検討を行う予定である。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	静岡県内におけるマダニ媒介感染症の起因病原体に関する研究 V (静岡県環境衛生科学研究所との共同研究)				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	大橋 典男
	研究分担者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	蘇 泓如 (ソ・オウジョ)
		所属・職名	静岡県環境衛生科学研究所・部長	氏名	長岡 宏美
		所属・職名		氏名	
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	大橋 典男

講演題目
宿主マダニと共生細菌の共種分化関係および病原リケッチア保有マダニの 集団遺伝学的多様性に関する研究
研究の目的、成果及び今後の展望
<i>Haemaphysalis</i> 属マダニには、内在性共生細菌 <i>Coxiella</i>-like endosymbiont (CLE)が存在し、宿主マダニに「ビタミン類」などの栄養素を提供している。一方で、日本紅斑熱 (JSF) を引き起こす細菌の <i>Rickettsia japonica</i> (Rj) が内在する <i>Haemaphysalis</i> 属マダニ種存在する。CLE は、<i>Haemaphysalis</i> 属のほぼすべてのマダニ個体が保持しているが、Rj は主にヤマアラシチマダニ (Hh) などの一部のマダニ種の個体 (保有率 10%程度) が保有している (静岡県にも Hh マダニは生息しており、県内で JSF が発生している)。これら CLE と Rj は、いずれもマダニ体内で経卵伝播され、次世代へと受け継がれる。マダニでは、ミトコンドリア (ATP 供給) を第 1 共生体とすると、ビタミン類などを供給する CLE は第 2 共生細菌となる。では、Rj は宿主側にとって、どのようなメリットがあるのだろうか？この謎については未だ解明されていない。本研究では、このようなマダニとその内在性細菌群の複雑な共生関係や Rj 感染による JSF 発生リスクとの関連性を解明するため、各種 <i>Haemaphysalis</i> 属マダニとその共生細菌 CLE 種における共種分化関係およびその進化パターンを分析し、さらに Rj を保有できる Hh マダニの集団遺伝学的多様性 (遺伝学的・分化学的特性) について解析した。 まず、各種 <i>Haemaphysalis</i> 属マダニからミトコンドリア (mt) と CLE の 16S rDNA 配列を得た。この系統樹解析と分岐年代の分析を行ったところ、系統樹解析ではマダニの mt と CLE の系統樹が酷似していることから、これらは共種分化していることが確認でき、また、それぞれの分岐年代を算出したところ、<i>Haemaphysalis</i> 属マダニ種の先祖型の分岐年代は CLE 種の先祖型よりもおよそ 1 億年以上前であることが判った。つまり、<i>Haemaphysalis</i> 属マダニ種と CLE 種の進化過程では、「<i>Haemaphysalis</i> 属マダニ種が先に分岐した後に、それぞれが保有していた同一の先祖型 CLE が独自の進化を遂げた」、もしくは「<i>Haemaphysalis</i> 属マダニ種が先に分岐した後に、それぞれの体内の環境に適応した CLE 種のみが生き残った」のいずれかであると考えられた。さらに、Hh マダニにおける集団遺伝学的多様性に関する解析では、調べた Hh マダニの 37 個体は 24 種のハプロタイプ (Hap) に分類されることが判った。そのうち、Hap 6、Hap 7、Hap 15 と Hap 17 の 4 種は、病原性 <i>R. japonica</i> を保有できるタイプであることも判明した。また、Hap 7 は、静岡県を含む西日本地域の日本紅斑熱多発地域で広範囲に生息していることから、この Hap 7 タイプを有する Hh マダニが、Rj をヒトに感染させる主要な媒介マダニである可能性が極めて高いと考える。以上、本研究で得られた成果は、今後、国内のマダニ媒介性感染症の実態解明に大きく貢献するものと期待される。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	ニホンウナギ完全増養殖の高度化を可能とする育種のための生殖幹細胞の基盤情報整備				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	小林 亨
	研究分担者	所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	小林 亨

講演題目
ニホンウナギの生殖幹細胞の特性
研究の目的、成果及び今後の展望 養鰻業は静岡県が全国に誇る基幹産業の一つである。養鰻とはマリアナ諸島沖で生まれ、海流で運ばれながら成長したニホンウナギ (<i>Anguilla japonica</i>) のシラスウナギ期のものを採捕し、餌を与えながら育成したものである。シラスウナギの捕獲量は年によって大きく変動するだけでなく、近年では世界的に減少しており、この数十年間続く、慢性的な種苗の供給不足による種苗価格の高騰、養鰻の単価利益の減少等により養鰻経営は圧迫されている。シラスウナギ安定供給の手段として完全増養殖技術が確立されているが、これによるウナギ生産には、その効率、コスト等、解決すべき点は多い。 ニホンウナギでは、受精卵へのゲノム編集、遺伝子改変作業は容易ではないが、試験管内における配偶子形成の誘導は可能となっていることから、生産の効率化に大きく寄与する高度育種技術の確立には、育種の高度化を可能とさせるゲノム編集の標的となる生殖幹細胞の情報は不可欠である。本研究では、生殖幹細胞の分子基盤の情報整備を目的として検討を行った結果、以下のことを明らかとした： 1) 養殖環境下のウナギのほとんどは、未成熟オスであり、生殖腺刺激ホルモンの一回投与によって、生殖幹細胞から精子形成開始の誘導ができる。これまでに、ホルモン処理によってサイクリン E2 の発現が誘導されることにより、幹細胞から精原細胞への分化のシフトが起こることが示唆されている。生殖幹細胞の特性を明らかにするために、生殖幹細胞においてドミナントに発現・局在する分子を特異的に認識する GSA-1 抗体の認識する抗原分子をウナギ生殖幹細胞リッチ集団から作成した cDNA ライブラリーを用いてイムノスクリーニングした。現在までに 16 個の候補 cDNA 断片を得た。これらから in situ hybridization (ISH) のための標識プローブを作成し、ISH スクリーニングにより、その分子同定を進めている。 2) 精子形成型精原細胞 (B 型精原細胞) の増殖には、B 型サイクリン (B1, B2, B3) の発現および、サイクリン B/Cdk1 の活性化が相関するが、その活性は B3/Cdk1 が最も高いこと、B3 は精原細胞増殖期の精原細胞に特異的な発現を示す。生殖幹細胞から分化したシスト型生殖幹細胞 (B 型精原細胞の分化前のステージ) における G2-M サイクリンの動態を検討したところ、B3-cdk1 は関与していない。このことは、生殖幹細胞から配偶子形成方向への分化に伴って、B 型サイクリンの機能するサブタイプが変化することを強く示唆する。 今後、これらの結果を踏まえて生殖幹細胞や精原細胞を標的としたゲノム編集による新規育種技術による有用ウナギ系統の開発が期待される。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	多文化共生社会を目指した地域社会及び学校教育の変容に関する調査研究				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	角替 弘規
	研究分担者	所属・職名	静岡大学・名誉教授	氏名	馬居 政幸
		所属・職名	静岡産業大学・教授	氏名	松永 由弥子
		所属・職名	国際関係学部・教授	氏名	高畑 幸
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	角替 弘規

講演題目
ポストコロナ時代における社会教育の意義と役割
研究の目的、成果及び今後の展望
【研究の目的】 本研究の目的は、在留外国人の増加に伴う及び地域社会及び学校教育の変容について、静岡県静岡市内のフィールドを中心にそのプロセスを比較検討することにある。静岡県は外国人比率が約 2%と全国的にも高水準にあり、改正入国管理法の施行によって、今後一層外国人の比率が高まることが予想されている。将来的には在留外国人の子どもたちやかれらと結婚した日本人との間に生まれた子どもなども増加することが予想され、急速にこれまで以上の多文化状況が出現するものと思われる。従来静岡県西部地域においては外国人集住地域の存在が注目され多文化状況に対する様々な対応も見られているが、静岡市を中心とした中部地域においては多文化状況への対応と貧困対策が依然として喫緊の課題として検討する必要があると思われる。一方で 2020 年初頭より拡大した新型コロナウイルス感染症は社会経済に大きな変化を与え、これらの影響を抜きにして今後の社会のあり方を検討することはできない。特に注目したいのは、自然災害にも等しいコロナ禍が社会的な分断を促進する傾向が見られる点である。この点に着目しながら、日本社会における外国にルーツを持つ人々に対する教育支援のあり方を検討する。 【本研究の成果及び今後の展望】 いわゆるコロナ禍が拡大する以前より、日本社会は次のような構造的な課題を抱えていた。一つは急速な高齢化の進展と少子化の進行を背景とした社会保障費の増大と長期的な労働力不足、二つ目には高齢者、女性、外国人、障がい者などの新たな労働力として今後一層の活躍が期待される人々に対する社会的公平さを担保する仕組みの脆弱さ、三つ目はあらゆる市民を網羅する公教育の機会保障の脆弱さである。これらを前提として時に、ポストコロナ時代における社会教育のあり方は、家庭教育や学校教育においてそのニーズを満たすことが困難な状況に置かれた人々を対象として、かれら自身が自らの社会的意義を自覚し、就業を含めた社会参加の機会を得られるよう支援していくことにあると思われる。これは国連が提唱する「持続可能な開発目標」の一つである「質の高い教育みんなに」とも合致する。これは「すべての人に包摂的かつ公平で質の高い教育を提供し、生涯学習の機会を促進する」とされ社会教育の目指すものと一致する。本研究ではその一例として 2020 年から活動が始まった「しずおか自主夜間教室」を取り上げ、その活動経緯と社会的意義を考察した。今後もこの教室の活動に関与しながら、今後の日本社会における社会教育のあり方について研究を進める。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研 究 テーマ	食品系における濃厚エマルジョンを希釈した際の分散状態の評価				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	下山田 真
	研究分担者	所属・職名	静岡県工業技術研究所・ 上席研究員	氏名	松野 正幸
		所属・職名	大阪市立大学・講師	氏名	増田 勇人
		所属・職名		氏名	
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	下山田 真

講演題目
濃縮豆乳の濃厚エマルジョンの粒子径評価及びフレーバーリリースについて
研究の目的、成果及び今後の展望
食品は多くの場合、水溶性成分と脂溶性成分からなっており、両成分が混じりあってエマルジョンと呼ばれる分散形態をとっている。エマルジョンの評価にはエマルジョン粒子の大きさが重要であるが、濃縮豆乳のような濃厚エマルジョンの場合、その測定は難しい。レーザー式測定装置の場合希釈が必須となるが、希釈の方法によって測定結果は変化してしまう。そこで、実験室で濃縮した豆乳を水あるいは SDS 溶液で希釈し、得られた希釈液の粒子径分布を測定することで濃縮豆乳の粒子成分の評価について検討した。また合わせて濃縮操作が豆乳嗜好性に及ぼす影響について検討するために、におい成分の分析を行い、濃縮豆乳のフレーバーリリースについて検討した。 湯浴の温度を 55℃と 75℃として約 2.5 倍に濃縮した豆乳を粒子径分布測定に供した。その結果、55℃で濃縮した豆乳を水で希釈した場合 0.3 μm 付近にエマルジョン単体の粒子径に相当するピークがみられ、さらに 1.2 μm 付近にエマルジョン粒子の凝集体とみられるピークが観察された。希釈に用いた SDS 溶液の濃度を 0.1、1.0%と上昇させると凝集体のピークは小さくなった。一方、75℃で濃縮した豆乳では水や 0.1% SDS 溶液で希釈するとエマルジョン粒子単体は検出されず 6~100 μm 付近にエマルジョンが凝集したと思われるピークが観察された。さらに 1% SDS 溶液で希釈することで単体粒子のピークがメインとなり、55℃で濃縮した豆乳のパターンに類似した結果となった。測定時の超音波処理についてはエマルジョン凝集体のごく一部に単量体への解離がみられたが全体から見るとわずかであった。こうした挙動より 55℃で濃縮した豆乳ではエマルジョン間の相互作用は比較的弱く、水でも容易に分散できたが、75℃で濃縮した豆乳では水や 0.1% SDS 溶液では解離しない数十 μm 程度の凝集体が生成していることが分かり、蛍光顕微鏡観察からも確認された。この濃縮豆乳は流動性を失い、凝固したような外観であったが、実際にはこの凝集体粒子が単位となってお互いが緩く相互作用することで全体の流動性が失われているものと推測された。凝集体内部の相互作用も界面活性剤で解離できる程度の強さの疎水的相互作用を主体としていることが示された。また比較のためにマヨネーズ、生クリームについても希釈を行ったところ SDS と超音波の影響は濃縮豆乳とは異なり、試料によって希釈方法を変える必要のあることが示された。 フレーバーリリースとして豆臭の本体の一つと考えられているヘキサナールの量についてヘッドスペース法で、GC-MS を用いて分析した。その結果、豆乳を濃縮することによってヘキサナールの濃度は大きく減少し、特に 75℃で濃縮した豆乳において顕著であった。この結果から豆乳を濃縮することは物性変化のみならず嗜好性の改善という意味でも有効であると考えられた。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	β-Damascenone 類縁体について網羅的合成法及び風味増強効果の検討				
研究組織	代表者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	江木 正浩
	研究分担者	所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	江木 正浩

講演題目
β-Damascenone 類縁体について網羅的合成法及び風味増強効果の検討
研究の目的、成果及び今後の展望
【目的】緑茶の健康効果は、世界中から注目を集めている。輸出が拡大しつつあるが、制約事項として残留農薬の問題がある。当研究室では残留農薬を分解・除去する技術を開発しており、処理の際に緑茶成分が変化して風味の劣化を引き起こすことが懸念される。香り成分を合成して、残留農薬処理した茶葉や茶の風味を持たせた加工食品に添加すれば、製造過程で失われた香りを補うことができると考えた。本研究では、主要な香り成分の1つである β-damascenone 類縁体を標的とした。 【結果】入手容易な 1 をメチル化して 2 とした後、加水分解、続く脱炭酸により 3 を得た。3 から3段階を経て 4 に変換後、TIPS 保護アセチリドの求核攻撃により 5 を合成した。脱 TIPS 化、続くアリルアルコール転位により 6a とした。Mo, Au, Ag 触媒を用いて 6a のプロパルギルアルコールを転位させたところ、天然成分 4-hydroxy-β-damascenone を中程度の収率で得た。反応性を制御するため、二重結合を形成した後にプロパルギルアルコールを転位することにした。5 から 6b へと変換した後、脱離反応および脱 TIPS 化により 7 を得た。最後に 7 の転位を行ったところ、β-damascenone を収率良く合成することができた。合成した香り成分を緑茶に添加して官能評価を行い、甘い香りが引き立つ傾向が見られた。また、本研究を通じて新たな香り成分を見出しており、構造決定ならびに機能性解明に現在取り組んでいる。 Reaction scheme details: 1 (ethyl cyclohexanecarboxylate) $\xrightarrow[\Delta]{\text{NaH, MeI}}$ 2 (methyl ester) 2 $\xrightarrow[\Delta]{\text{KOH}}$ 3 (methyl ketone) 3 $\xrightarrow[\text{LiBr}]{\text{1) TMSOTf, 2) NBS, 3) Li}_2\text{CO}_3}$ 4 (methyl ketone with TIPS-protected alkyne) 4 $\xrightarrow[\text{Et}_2\text{O}]{\text{Li}}$ 5 (TIPS-protected alkyne with OH) 5 $\xrightarrow[\text{or V-MPS}]{\text{1) TBAF, 2) 2% HCl}}$ 6a (R = H, 64%) or 6b (R = TIPS, 81%) 6a/b $\xrightarrow[\text{2) TBAF}]{\text{1) Burgess reagent}}$ 7 (OH) 7 $\xrightarrow[\text{Ph}_3\text{PAuNTf}_2]{\text{MoO}_2(\text{acac})_2}$ β-damascenone (68%)

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	静岡県の特産品「自然薯」の有効成分ジオスゲニン高生産				
研究組織	代表者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	三好 規之
	研究分担者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	恒松 雄太
		所属・職名	薬学部・講師	氏名	佐藤 道大
		所属・職名	薬学部・教授	氏名	渡辺 賢二
		所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	田村 謙太郎
	発表者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	三好 規之

講演題目
静岡県の特産品「自然薯」の有効成分ジオスゲニン高生産
研究の目的、成果及び今後の展望
自然薯 (<i>Dioscorea japonica</i>) 有効成分ジオスゲニンは、抗炎症作用、抗がん作用、抗糖尿病作用、抗高脂血症作用、抗認知機能低下作用、抗フレイル作用など、高齢者の QOL 改善を含めた様々な薬理作用がヒト・動物試験で報告されているステロイドサポゲニンである。しかし、自然薯のジオスゲニン含量は 0.001~0.01% 以下と低含有である。一方、Weng らの報告より、cholesterol を基質として 2 段階の反応でジオスゲニンを生成する CYP 系の酵素 (<i>PpCYP90G4</i> など) がツクバネソウ属 (<i>Paris</i>) の一種である <i>P. polyphylla</i> で同定された。<i>P. polyphylla</i> は、乾燥重量当たりのジオスゲニン含量が 1% 以上の超高含有素材である。我々はこれまでに、静岡県産自然薯原種 60 号のゲノム解析より、<i>PpCYP90G4</i> のアミノ酸配列に高い相同性を示す自然薯ホモログ <i>DjCYP90</i> を同定した。さらに、<i>DjCYP90</i> と <i>PpCYP90G4</i> の配列比較より、基質結合部位で重要な 9 つのアミノ酸残基のうち 1 つにアミノ酸置換が認められた。 そこで本研究では、<i>DjCYP90</i> 酵素活性の確認と、アミノ酸置換による酵素活性への影響を明らかにすることを目的に、酵母を用いた <i>DjCYP90</i> 酵素活性測定系の構築を行った。<i>DjCYP90</i> を酵母発現ベクターにクローニングし、コレステロールを生合成する酵母 (RH6829) に形質転換した。<i>DjCYP90</i> 発現誘導後の RH6829 より可溶画分を抽出し、LC-MS を用いた <i>DjCYP90</i> 代謝産物 (16,22-dihydroxycholesyerol) の解析を行った。その結果、<i>DjCYP90</i> の基質である cholesterol は明瞭なピークとして検出されたが、代謝産物である 16,22-dihydroxycholesyerol は、検出限界以下であった。現在、<i>DjCYP90</i> のコドン最適化や抽出方法の最適化などを行い、<i>DjCYP90</i> の酵素活性の確認と、アミノ酸置換による酵素活性への影響を検討している。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	都市鉱山資源からの複数のレアメタル同時分離法の開発				
研究組織	代表者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	永井 大介
	研究分担者	所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	永井 大介

講演題目
都市鉱山資源からの複数のレアメタル同時分離法の開発

研究の目的、成果及び今後の展望

各国の自動車メーカーが相次いで“脱ガソリン車”を掲げ、自動車の電動化が加速されている。その一方で、数年後には整備段階で交換される電池、また約 10 数年後には使用済み自動車からの電池が数多く廃棄されることが予想される。電気自動車のバッテリーであるリチウムイオン二次電池の正極材に使用されているコバルト (Co)・ニッケル (Ni)・マンガン (Mn) はレアメタルであり、今後の電池需要の増加に伴って価格の上昇や供給不足が懸念されている。国内の鉱山は既に枯渇している一方で、自動車用のリチウムイオン二次電池に含まれるレアメタルの量は莫大であり貴重な都市鉱山資源である。しかしながら、Co・Ni・Mn は化学的・物理的性質が類似しているために、コストに見合う分離技術が確立されていない。

申請者はこれまで、金属配位ユニットとして硫黄原子を持つ金属配位ポリマーを合成し、ポリマーの硫黄原子上での金属核を中心とした結晶成長により、白金族同士 (Pt, Ru, Rh, Pd, Os, Ir) の分離に成功している。例えば、白金の核を硫黄原子上に固定したポリマーを白金族混合溶液に加え、還元剤による結晶成長を行うことで、白金原子が核に集積され選択分離できることを見出している。更に、ポリマー上の核を白金からパラジウムに変えて同様の分離実験を行ったところ、白金族混合溶液から目的の金属を分離できることを明らかにした。つまり、核を選択することにより、白金族混合溶液から目的の金属を分離できることを明らかにした。¹⁾

参考資料 1)

- ・ Nagai, D. et al., *Separation and Purification Technology* **2021**, 119265.
- ・ 永井 大介「金属配位親水性ポリマー上での種核成長法を利用した金属混合溶液からの金属の分離方法」特願 2018-019574/特開 2019-137876.

本研究では、使用済みリチウムイオン二次電池からのレアメタル回収を目指し、Co/Mn/Ni の分離挙動を検討し、これらの同時分離法を検討した。その結果、特許に申請する結果を得ることができた。そのため詳細については、本報告書では割愛させていただく。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研 究 テーマ	静岡県産バイオマスからのファインケミカルの発酵生産				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	原 清敬
	研究分担者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	菊川 寛史
		所属・職名	静岡県工業技術研究所 環境エネルギー科・科長	氏名	宮原 鐘一
		所属・職名	静岡県工業技術研究所 環境エネルギー科・上席研究員	氏名	室伏 敬太
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	原 清敬

講演題目
コーヒー粕抽出液を用いたアスタキサンチンの発酵生産
研究の目的、成果及び今後の展望 いずれ枯渇する化石資源に頼り石油から様々な化合物を生産している現代のオイルリファイナリー社会の転換を目的に、持続可能なバイオマスから様々な有用化合物を生産することを目指すバイオリファイナリー分野の研究が近年盛んに進められている。本研究分野では、バイオエタノール等のバイオ燃料の生産研究が先行しているが、バイオリファイナリー社会を実現させるためには、バイオ燃料などの低価格だが市場の大きいものと、バイオファインケミカルのように市場は小さいが高価であるものを共通のバイオマス原料から生産し、市場とコスト競争力を共に確保することが重要である。静岡県には多くの食品加工工場が立地し、多くの食品加工残渣の処理が問題となっている。そこで本研究では、飲料抽出残渣や食品加工残渣など静岡県で多く産生されるバイオマスを適切に前処理し、酵母などにより発酵させることで、燃料や堆肥よりも付加価値の高いファインケミカル（食品添加物・飼料添加物・植物活性化剤など）を生産し、静岡県産バイオマスを高付加価値化することを目的としている。例えば、近年、コーヒーの消費量は増加しており、大量のコーヒー抽出残渣（コーヒー粕）が排出されている。コーヒー粕の一部は肥料化や燃料化が行われているが、製造コストに見合わず、大半は廃棄されている。そこで、本研究では、コーヒー粕を資化可能な微生物（酵母）を利用し、コーヒー粕の肥料化や燃料化の前段階として、コーヒー粕成分を酵母による高付加価値品の生産に利用することを目的とした。今回は、具体的な有用物質として、高い抗酸化作用を有するアスタキサンチン（ASX）をターゲットとした。ASXは、養殖魚の色揚げ剤や栄養補助飼料として利用されている物質である。また、強い抗酸化作用を有することから医療・食品・化粧品等に広く使用されている。主な工業生産方法には、化学合成法とバイオ生産が用いられており、化学合成法では、石油資源を利用するため、低コストで生産できる一方で、石油資源の枯渇や食品用途への応用が困難であることが問題として挙げられている。そこで本研究では、赤色酵母（<i>Xanthophyllomyces dendrorhous</i>）を用いてコーヒー粕抽出残渣からASXを生産させるための各種培養試験を行った。その結果、コーヒー粕に含まれる抗菌成分のカフェインは、<i>X. dendrorhous</i> に対して、増殖遅延およびASX生産性向上をもたらすことが明らかとなったが、フェノールに対してはASX生産性を減少させた。総じて、カフェインは、<i>X. dendrorhous</i> に対してASXの生産性向上作用、フェノールは阻害作用を示した。このことから、コーヒー粕に含まれるフェノール類を減少させることが <i>X. dendrorhous</i> による ASX 生産に効果的であると考えられた。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	FIZZ を用いた時系列感覚評価による銘柄緑茶フレーバーの「見える化」				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	伊藤 圭祐
	研究分担者	所属・職名	茶学総合研究センター・特任教授	氏名	中村 順行
		所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	寺田 祐子
		所属・職名		氏名	
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	伊藤 圭祐

講演題目
時間軸を考慮した官能評価と機器分析による緑茶のおいしさの「見える化」分析
研究の目的、成果及び今後の展望 緑茶は嗜好品であるため、その風味を消費者に分かりやすく提示することは、低迷が続く緑茶（リーフ茶）の消費拡大および茶産業の活性化に役立つと期待できる。これまで、緑茶の品質評価は主に官能評価によって行われてきたが、近年では様々な機器分析によって得られたデータを用いておいしさを訴求することも少なくない。しかし、風味に関して官能評価と機器分析のデータの関連性を総合的に評価した報告は必ずしも多くなく、緑茶の風味の分析方法、提示方法の検討はいまだ十分ではない。そこで本研究では、官能評価と味覚センサー分析により各種緑茶の風味を調べ、得られたデータを比較した。 全国茶品評会を含め、これまで、緑茶の風味・おいしさは官能評価によって評価されてきた。しかしそれらのほとんどはエンドポイントでの質と強度に関する評価であり、時間軸を考慮した官能評価を行った報告はほとんどない。そこで本研究ではまず初めに、茶種、品種、淹れ方、産地が異なる 17 種類のモデルサンプル緑茶について、緑茶の官能評価に習熟した日本茶インストラクターの協力の下、時間軸を考慮した官能評価を行った。その結果、例えばやぶきた品種の場合、先味としてパネルの 60%が旨味、40%が甘味を感じ、後味として 80%が清涼感を感じたと回答した。そのように、緑茶の種類ごとに、時間軸を考慮した場合の官能特性は異なることが示された。続いて機器分析の例として、味覚センサーを用いて、官能評価と同じモデルサンプル緑茶の風味（味）を分析した。味覚センサーは、味物質と人工脂質膜との物理化学的相互作用によって生じる電位差を測定する装置である。ヒトの官能に近い「味」を簡便に測定できるとされており、緑茶の味の評価に用いられた報告もある。結果として、各モデルサンプル緑茶は固有の味シグナルパターンを示した。しかし、例えば抽出時間の長いサンプルは官能評価においてはパネルの 80%が苦渋味を感じたと回答したのに対し、味覚センサーでは抽出時間の短いサンプルよりも苦渋味シグナルが弱かったなど、本研究で検討した範囲内では、官能評価の結果との相関性はみられなかった。味覚センサーによる分析は、緑茶の複合的な味を表現することには向かない可能性が示唆された。 本研究により、緑茶の風味の評価には現時点では官能評価の実施が重要であり、特に、従来行われてきたエンドポイントでの質と強度の評価データに加えて、時間軸を考慮した評価データを取り入れることで、各種緑茶の特徴をより詳細に提示できる可能性が示された。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	内臓神経を介した脂肪機能調節機構の解明並びに健康増進への応用				
研究組織	代 表 者	所 属 ・ 職 名	食品栄養科学部・准教授	氏 名	内田 邦敏
	研究分担者	所 属 ・ 職 名	食品栄養科学部・研究等補助員	氏 名	内田 あずさ
		所 属 ・ 職 名		氏 名	
		所 属 ・ 職 名		氏 名	
	発 表 者	所 属 ・ 職 名	食品栄養科学部・准教授	氏 名	内田 邦敏

講演題目
褐色脂肪組織における TRP チャネル・Piezo チャネルの役割
研究の目的、成果及び今後の展望
【目的】 脂肪組織は大きく、熱産生能を持ちエネルギーを消費する褐色脂肪と大きな脂肪滴を有しエネルギーを貯蔵する白色脂肪に大別される。このエネルギーバランスの崩壊は肥満症を引き起こす原因の一つであり、脂肪組織は肥満治療のターゲットの一つと考えられる。TRPチャネルは非選択的な陽イオンチャネルであり、温度、機械刺激などの物理刺激、辛み物質、ステロイド、酸化ストレス、細胞膜脂質など多くの外因性及び内因性の刺激に応答する多刺激受容体という性質を持つ。また、Piezoチャネルは機械刺激によって活性化される非選択的陽イオンチャネルである。これらチャネルの生理的役割の一つは細胞内外の環境変化を感知する“センサー”としての役割である。本研究は褐色脂肪組織におけるこれら環境センサーとして機能するイオンチャネルの生理的役割を明らかにすることを目的とした。 【成果】 1. 脂肪組織、初代培養脂肪細胞におけるPiezoチャネルの役割 マウス褐色脂肪組織並びに褐色脂肪細胞におけるPiezoチャネル遺伝子の発現をRT-PCR法を用いて検討した結果、Piezo1が発現していた。Piezo1タンパク質の発現を免疫組織染色法で検討した結果、褐色脂肪組織にPiezo1の発現が観察された。Piezo1の機能的発現を褐色脂肪細胞にCa²⁺-イメージング法を適用して確認した結果、Piezo1作動薬処置に伴う細胞内カルシウム濃度上昇が観察された。まず分化誘導時にPiezo1作動薬を処置した結果、褐色脂肪細胞の分化は抑制された。この抑制はPiezo1遺伝子の欠損並びにカルシニューリン阻害薬によって回復した。 2. 脂肪組織に分布する神経を介した臓器連関の解析 褐色脂肪組織の重要な役割は体温上昇のための熱産生であることから、褐色脂肪組織温度上昇が深部体温や他臓器温度に与える影響を検討するため、マウスの複数臓器温度の同時計測系を確立した。β受容体作動薬により褐色脂肪組織の熱産生刺激によって褐色脂肪組織並びに深部体温の上昇を確認した。現在、感覚神経に発現するTRPチャネル作動薬処置による各臓器温度変化を検討している。 【今後の展望】 今後は、Piezo1の褐色脂肪組織における生理的役割を明らかにするとともに、褐色脂肪組織と他臓器とのホルモンや情報伝達物質分泌を介した情報伝達機構について解析する予定である。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	チャ（茶）のゲノム情報を活用したテアニン高生産株の育種				
研究組織	代表者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	田村 謙太郎
	研究分担者	所属・職名	茶学総合研究センター・助教	氏名	斎藤 貴江子
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	田村 謙太郎

講演題目
チャ（茶）のゲノム情報を活用したテアニン高生産株の育種
研究の目的、成果及び今後の展望 チャ（茶）は水について全世界で最も多く消費されている飲料物である。チャに特異的に含まれる旨味成分テアニンは、チャ自身の品質を決定すると同時にヒトにとって様々な健康増進効果をもたらす（Xia et al. 2017）。チャのゲノムおよび転写産物データベース（Xia et al. 2019）を利用した <i>in silico</i> スクリーニングにより、私達がこれまでに複数同定したテアニン生産の鍵酵アラニン脱炭酸酵素を用いた分子育種の基盤整備を目的とした。 テアニン合成はエチルアミンの供給が律速となっているエチルアミンはアラニンが脱炭酸することで生成される。そこで、アミノ酸脱炭酸酵素に共通してみられるアミノ酸のモチーフ検索および、エチルアミン合成の場である根組織で発現量の高い遺伝子を複数同定し、これらをモデル植物シロイヌナズナにおいて過剰発現する形質転換体を作出した。蛍光タンパク質を用いた細胞内局在の解析では、酵素によって細胞内局在が異なることが分かった。このことは、その生理機能に応じて細胞内の異なるオルガネラでテアニン代謝が行われている可能性を示唆されている。得られた形質転換体（酵素過剰発現株）では、系統によって著しい生育不良を示す個体を得られた。このことはテアニン代謝系を持たないアブラナ科植物シロイヌナズナにおいて高生産されたテアニンが個体の成長に影響を及ぼす可能性を示している。今後、組織や時期特異的なプロモーターを組み合わせることで、個体成長に影響を及ぼさず、かつ特異的な細胞で高効率にテアニンを蓄積できる株を得る必要がある。本研究の特色は、最近明らかになったチャのゲノム情報とツールの揃ったモデル植物（シロイヌナズナ）を組み合わせた分子育種である。チャはその生活環（生育速度が遅く、広い培養スペースが必要等）からこれまで育種に膨大な時間が必要であった。今後、本研究で得られた成果をベースにしてテアニンの生合成系を明らかにすることで、より多くのテアニンを蓄積できる新しいチャの創出を目指す。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研 究 テーマ	廃棄される静岡産原木栽培シイタケの有効活用・有用酵素の発現誘導と利用				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	河原崎 泰昌
	研究分担者	所属・職名	食品栄養科学部・助教 現・東京農工大農学研究科・准教授	氏名	田中 瑞己
		所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	伊藤 圭祐
		所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	三好 規之
		所属・職名	静岡県東部農林事務所農山村整備部・主査	氏名	大石 英史
		所属・職名	静岡県東部農林事務所森林整備課・主任	氏名	山本 正晃
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	河原崎 泰昌

講演題目
廃椎茸に含まれる有用酵素の増量法・簡易精製法の開発改善と 食品加工への利用に向けた精製法最適化
研究の目的、成果及び今後の展望
原木を用いた椎茸栽培は江戸期に伊豆で開発された。東部・伊豆地区に加え、近年は西部天竜地区でも原木栽培が広がっており、原木栽培生椎茸の出荷額は静岡県の首位が続いている。本研究は、生椎茸褐変化の原因酵素であるラッカーゼ（とくに LeLcc4）の発現誘導促進機構を解明し、廃棄生椎茸にこれを応用して廃棄量を減らし、かつ有用酵素ラッカーゼの簡便な調製法を確立することを第一の目的とし、あわせてラッカーゼの効果的な利用法の開発を行うことを第二目的として展開している。 以前の検討により、廃椎茸を使用した簡便なラッカーゼ発現誘導法・定量的評価法を確立しており、本年度はラッカーゼの簡便な精製法の技術的改善を図った。有機酸・界面活性剤抽出を軸とした従来の抽出・精製法では、椎茸特有の菌臭が精製酵素溶液（最終産物）に高度に残存したが、アセトン沈殿を行うことで効果的に脱臭できることが分かった。さらに、疎水クロマトグラフィーの条件を検討し、短時間でラッカーゼを濃縮、分離できる条件を見出した。ただし食品に添加できない界面活性剤を利用する必要があり、代替となる可溶化剤を検討する必要があった。 上記と並行して、シイタケの他のラッカーゼ（染色体上に全 14 種類のフェノールオキシダーゼを含むラッカーゼ様配列が確認されている）の出芽酵母を用いた組換え分泌発現系・評価系の構築を行い、独自に見出した培養後期に活性化する遅発性プロモーターを利用することで、発現に伴う細胞毒性のため難生産性を示す LeLcc1 の効率的な生産・評価系を確立できた。今後はこの遅発性プロモーターを利用して、他のラッカーゼアイソザイムのクローニング・発現系の構築を行い、各ラッカーゼの酵素学的諸性質を明らかにしたい。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	放線菌の潜在能力の覚醒による新規 β ケトアジピン酸経路の発掘				
研究組織	代 表 者	所 属 ・ 職 名	食品栄養科学部・准教授	氏 名	鮒 信学
	研究分担者	所 属 ・ 職 名	東京大学大学院・農学生命科学研究科・特任准教授	氏 名	原 啓文
		所 属 ・ 職 名		氏 名	
		所 属 ・ 職 名		氏 名	
	発 表 者	所 属 ・ 職 名	食品栄養科学部・准教授	氏 名	鮒 信学

講演題目
放線菌の潜在能力の覚醒による新規 β ケトアジピン酸経路の発掘
研究の目的、成果及び今後の展望
【目的】 土壌放線菌 <i>Rhodococcus jostii</i> RHA1 はβ-ケトアジピン酸経路により芳香族化合物を異化するため、バイオレメディエーションに利用されている。CatABC はβ-ケトアジピン酸経路の酵素であり、CatA は catechol を muconate (1) に、CatB は 1 を (S)-muconolactone (2) に、CatC は 2 を β-ketoadipate enol-lactone (3) にそれぞれ変換する。$\Delta catC$ 株は、benzoate を炭素源とする培養において、2$\rightarrow$3 が遮断されているため生育しない。しかしながら、継続・継代培養した$\Delta catC$株(覚醒株)は benzoate (catechol の前駆体) を唯一の炭素源として生育できることを見いだしている。本研究では、覚醒株における 2 から分岐する新規異化経路の発見、また、それを担う酵素遺伝子を探索する。本研究課題の目的は、<i>R. jostii</i> RHA1 に潜在的に備わっている 2$\rightarrow\gamma$-hydroxymaleyl acetate (4) $\rightarrow$ maleyl acetate (5) $\rightarrow$ β-ketoadipate (6) の経路を特殊な培養により覚醒させ、4 および 5 の生産の基盤を構築することである。 【方法および結果】 覚醒株は、<i>R. jostii</i> を benzoate を炭素源とする液体培養により取得した。我々は$\Delta catC$株を再取得し、本実験の再現性を試験した。その結果、$\Delta catC$株の培養 10 日目から再現性良く覚醒株が出現することが判明した。また、覚醒株の継代培養により、生育が安定した株(順化株)を育種することに成功した。順化株は、<i>R. jostii</i> 親株と比べ、遜色なく生育した。 覚醒株の培養上清を LC-MS にて分析したところ、4 および 5 を見出した。また、親株からは 4、5 が検出されないことを確認した。以上より、覚醒株/順化株では、新規分岐経路 2$\rightarrow$4$\rightarrow$5$\rightarrow$6 が発現していることが示唆された。さらに、順化株と親株の細胞抽出液を SDS 分析したところ、親株では発現していない、順化株にしか存在しない蛋白質が発現していることを確認した。そこで、順化株の細胞抽出液を分画し、2 の異化能を試験したところ、一部の画分で 2 が消失することが判明した。なお、親株の画分からはこの反応は検出されない。 【今後の展望】 今後、順化株の画分の、2 を異化する因子が 2$\rightarrow$4 の反応に関与することを、反応生成物の構造決定により証明する。また、SDS 上の順化株に特異的なバンドのトリプシン消化を行い、LC-HRMS、Mascot を用いて、同定を行うことで、2$\rightarrow$4 の反応を触媒する酵素を同定し、新規分岐経路 2$\rightarrow$4$\rightarrow$5$\rightarrow$6 の存在を明らかにする。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	自治体の飲食店等における食環境整備制度の実施状況や店舗の登録基準に関連する要因の検討				
研究組織	代表者	所属・職名	食品栄養科学部・講師	氏名	串田 修
	研究分担者	所属・職名	食品栄養科学部・4年	氏名	望月 泉美
		所属・職名	お茶の水女子大学・教授	氏名	赤松 利恵
		所属・職名	新潟県立大学・教授	氏名	村山 伸子
	発表者	所属・職名	食品栄養科学部・講師	氏名	串田 修

講演題目
都道府県と保健所設置市及び特別区における飲食店等を通じた食環境整備のマネジメント実施状況
研究の目的、成果及び今後の展望
【目的】 日本の栄養政策では、都道府県と保健所設置市及び特別区（以下、政令市等）における飲食店等を通じた食環境整備が重視されている。しかし、飲食店等を通じた食環境整備のマネジメント実施状況の実態は把握されていない。また、都道府県は1自治体で複数保健所を有するのに対し、政令市等はほとんどが1自治体に1保健所であり、実施状況は異なることが予想される。そこで、本研究では、都道府県と政令市等でのマネジメント実施状況の実態を明らかにすることを目的とした。 【成果】 全国の都道府県 47、政令市等 106 の自治体を対象として 2020 年 10 月に郵送調査を実施したデータを使用した。食環境整備のマネジメント実施状況として、栄養・食生活の実態把握、組織体制、目標設定有無、飲食店等を対象とした食環境整備制度（以下、制度）有無を尋ね、制度実施自治体には制度の対象・普及取組・プロセス評価・改善について尋ねた。 回答が得られた自治体のうち、都道府県 39/42（92.9%）、政令市等 57/82（69.5%）の制度実施自治体を対象とした。実態把握として、過去 5 年以内の地域住民の栄養素等摂取量の把握割合は、都道府県 84.6%、政令市等 14.0%であった。組織体制として、管理栄養士・栄養士人数の中央値は、本庁の食環境整備担当部署で都道府県 2 名、政令市等 2 名であった。食環境整備の目標設定割合は、都道府県 69.2%、政令市等 54.4%であった。制度の対象の食事は、外食が都道府県 94.9%、政令市等 100.0%、中食が都道府県 87.2%、政令市等 93.0%であった。制度の普及取組は、自治体内や他自治体との連携割合が都道府県 69.2%、政令市等 66.7%、外部組織への普及委託割合が都道府県 15.4%、政令市等 15.8%であった。制度のプロセス評価は、登録店舗・事業者数の把握割合が都道府県 87.2%、政令市等 89.5%、管内全体の飲食店等数の把握割合が都道府県 17.6%、政令市等 21.6%であった。制度の改善は、更新制度の設定割合が都道府県 33.3%、政令市等 40.4%、制度の見直し割合が都道府県 71.8%、政令市等 33.3%であった。 【今後の展望】 多くの自治体のさらなる制度普及につなげるため、外部組織と連携している自治体の連携方法や利点を明らかにしていく必要がある。食環境整備の目標や更新制度の設定自治体も多くなかったため、有効な目標設定や評価の手法も検討していく必要がある。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	カーシートに含有する新規代替難燃剤の網羅的分析と経皮曝露評価				
研究組織	代表者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	三宅 祐一
	研究分担者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	雨谷 敬史
		所属・職名	株式会社いすゞ中央研究所	氏名	達 晃一
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	三宅 祐一

講演題目
カーシートに含有する新規代替難燃剤の網羅的分析と経皮曝露評価
研究の目的、成果及び今後の展望
室内で使用されている化学物質は多種多様であり、ヒトへの安全性の懸念はあるが規制対象外の化学物質の使用が多く報告されている。特に、電気電子製品やカーテンなどの難燃化のために使用されていたデカブロモジフェニルエーテル（DeBDE）やヘキサブロモシクロデカン（HBCD）等が使用禁止されることとなり、その代替物質が使用され始めている。代替物質としては、リン酸エステル類や臭素系化合物が考えられるが、現在市場においてどのような物質が主に使用されているかは明らかになっていない。また、近年の報告では、これら難燃剤を高濃度で含む製品と直接接触することで、経皮曝露量がハウスダストを介した経口曝露量に匹敵またはそれ以上であることが示唆されている。 そこで本研究では、長時間の製品接触が想定されるカーシートに着目し、現在使用されている難燃剤の一斉分析法を開発することで、カーシートに使用されている DeBDE や HBCD の代替難燃剤を調査した。また、未同定の難燃剤が存在する場合は、GC-MS や高分解能 LC-MS/MS により定性分析を行った。さらに、カーシート中の難燃剤含有量の調査結果から、ヒトへの移動量および経皮曝露量を推算し、ヒト健康に対する初期リスク評価を行った。 本研究では対象物質を 46 種類とし、106 台のカーシートを分析することでカーシート中難燃剤の網羅的調査を行った。その結果、TCPP、TCEP、TDCPP、DEG-BDCIPP、TPhP、CsDPhP、DecaBDE、HBCDs および TDBP-TAZTO の 9 種類の物質が主要難燃剤としてカーシートに使用されていると考えられ、これらの物質の直接経皮曝露評価が今後重要になることが分かった。また、カーシートの製造年代およびメーカーによって、難燃剤組成が変化しており、今後経皮曝露評価を行うべき物質が上記の物質以外に検出される可能性が考えられる。 また、人工皮膚（EPISKIN）を用いて算出した製品からの難燃剤皮膚透過率を基に、難燃剤の直接経皮曝露量を推算した結果、TCPP および DEG-BDCIPP に関しては、直接経皮曝露量がダストを介した経口曝露量を上回ることが分かった。本研究では曝露マージン（MOE）を用いて、難燃剤のヒトへの直接経皮曝露に関する簡易的なリスク評価を行った。その結果、本研究で算出された MOE の中央値はすべて十分に高い値を示した。しかし、TCPP および TCEP の直接経皮曝露における MOE の最小値は、それぞれ 75、1,040 と非常に低い値を示した。これらの値は、経口曝露における MOE の最小値（TCPP：6,000、TCEP：12,000）と比較して、1桁～2桁程度低い値であった。今後、難燃剤のリスク評価を行う際には、ハウスダストを介した曝露経路だけでなく、直接経皮曝露経路も重要視するべきである。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	駿河湾深海に棲息する微生物の探索と希少カロテノイド生産				
研究組織	代表者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	菊川 寛史
	研究分担者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	原 清敬
		所属・職名	静岡県工業技術研究所・環境エネルギー科・科長	氏名	宮原 鐘一
		所属・職名	静岡県工業技術研究所・上席研究員	氏名	室伏 敬太
		所属・職名	静岡県工業技術研究所・研究統括監	氏名	岡本 一利
	発表者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	菊川 寛史

講演題目
駿河湾深海からの有色性微生物の単離と黄色カロテノイド生産
研究の目的、成果及び今後の展望 静岡県は太平洋に広く面しており、海産資源が豊富な地域である。なかでも特筆すべきは、日本で最も深い湾である駿河湾である。駿河湾は、その急勾配と富士山からの海底湧水、流入河川の多様さにより、生物多様性・未知性の高い海域となっている。一方、カロテノイドは黄色～赤橙色を呈するイソプレン化合物であり、色味・安全性から食品着色料等として用いられる。近年、高い抗酸化活性が目ざされ、医薬品や健康サプリメント、化粧品としての需要が高まっている化合物である。 本研究では、海洋研究開発機構（JAMSTEC）より分譲された駿河湾深海の海底堆積物サンプルから有色微生物を単離し、新規・希少カロテノイドを生産する微生物の探索を試みた。 まず、10 地点の駿河湾海底堆積物サンプルを寒天培地に塗布したところ、鮮やかな黄色や赤橙色を呈するコロニーを数株単離した。液体クロマトグラフィー分析により、これら微生物由来のアセトン抽出物を分離・解析したところ、有色微生物のうち 1 株にカロテノイドと推定される高純度のピークを検出した。この株の菌株を同定結果から、<i>Sphingomonas</i> sp. SG73 と名付けた。さらに、この株が蓄積する高純度のピークを LC/MS/MS 解析に供した結果、黄色を呈するカロテノイドであるノストキサンチンであると構造決定した。ノストキサンチンはこれまで有望な高生産資源の報告がなく、生理活性等詳細な情報は少ないものの、その構造から高い抗酸化活性・生理活性を有するゼアキサンチンなどの有用カロテノイドに近い性質をもつと推測される。 次に、本株の代謝工学・培養工学により、ノストキサンチン高生産が期待されるため、本株におけるノストキサンチン高生産条件を探索した。本菌は海洋から単離されたことに着目し、海塩濃度による菌体生育とノストキサンチン生産性を評価した結果、海塩濃度 1.8%において菌体生育およびノストキサンチン生産が最も高く、細胞濃度あたりでも、海塩濃度 1.8%と 5.4%が高いノストキサンチン生産性を示した。この研究成果は、英語学術誌に報告した (Mar. Drugs 2021, 19 (5), 274)。 本研究の更なる展開により、静岡県オリジナルなカロテノイドの産業生産・応用利用へと発展するものと期待される。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	スチームコンベクションオープンを用いた粥のクックチル炊飯条件の検討と調理・生産現場における効果的な活用に関する研究				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	大槻 尚子
	研究分担者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	市川 陽子
		所属・職名	静岡県工業技術研究所 食品科・上席研究員	氏名	渡瀬 隆也
		所属・職名		氏名	
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	大槻 尚子

講演題目
スチームコンベクションオープンを用いた全粥のクックチル提供の可能性
研究の目的、成果及び今後の展望 特定給食施設における人手不足等の問題の解決には、運営の合理化、作業の効率化・平準化が重要であり、現場の課題に対応し、適切な栄養管理業務の運営に繋がる給食の生産・提供システムの検討が求められる。そこで本研究では、医療施設、高齢者施設等において高頻度に提供される「粥」調理の効率化・平準化に着目し、特定給食施設等で活用できるスチームコンベクションオープン（スチコン）を用いた全粥のクックチル提供の可能性について検証することを目的とした。 3種の全粥：米からスチコン炊飯した「米かゆサーブ」、米からスチコン炊飯を行ったのちクックチルにて提供した「米かゆチル」、白飯をスチコン炊飯し、急速冷却・冷蔵保存後に適量の水を加え、スチコンで再加熱した「チル米飯かゆ」について、重量変化、温度履歴、テクスチャー特性および嗜好型官能評価等から性状や食味を比較し、総合的な評価を行った。 その結果、全粥のテクスチャー特性や食味に対するクックチル操作の影響は大きく、かたさ応力では3試料間で有意な差がみられ（$p<0.05$）、低値から順に、チル米飯かゆ（$0.54\pm0.06\times10^4$ Pa）、米かゆチル（$0.95\pm0.89\times10^4$ Pa）、米かゆサーブ（$1.03\pm0.18\times10^4$ Pa）であった。また、官能評価では、米かゆチルは米かゆサーブと比べ、「軟らかく」、「粘り（べたつき）があり」、「飲み込みやすさは同等」で、「甘味がなく」、「全体的には好ましくない」と評価された（$p<0.05$）。 米からスチコン炊飯を行い、これをクックチルで提供した「米かゆチル」は、今回の条件では嗜好的に全粥の提供に向かないことが明らかになった。しかし、再加熱に要する時間が平均5.9分と極めて短時間だったことは、調理に時間がかかるとされる粥の提供において大きな利点であると考えられた。また、白飯をスチコン炊飯し、急速冷却・冷蔵保存後に適量の水を加え、スチコンで再加熱した「チル米飯かゆ」は、クックチル（炊飯後、急速冷却・冷蔵保存）の白飯を有効利用できると同時に、必要の都度の少量炊飯、スチコンを使い分けた米飯・粥の同時炊飯等、クックチル米飯の汎用性をさらに広げられると考えられる。 本研究の成果は、特定給食施設等における課題解決に繋がる、新たな主食の調理・生産システムとして有益な知見になると考えられる。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	乳酸菌培養上清に含まれるメイラード反応抑制物質の同定および糖化による皮膚の老化抑制効果の検討				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	島村 裕子
	研究分担者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	増田 修一
		所属・職名	食品栄養科学部・客員教授	氏名	中村 好志
		所属・職名	有限会社ラヴィアンサンテ	氏名	小林 文男
		所属・職名	東洋大学・准教授	氏名	細谷 孝博
		所属・職名	東海大学・教授	氏名	永井 竜児
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	島村 裕子

講演題目
乳酸菌培養上清に含まれるメイラード反応抑制物質の同定および糖化による皮膚の老化抑制効果の検討
研究の目的、成果及び今後の展望
【目的】食品の加工や貯蔵過程で生じるメイラード反応は、食品の品質に影響を与えるだけでなく、生体においても老化やその関連疾患の発症に関与すると考えられており、この反応を制御する方法が求められている。そこで、本研究では、メイラード反応（褐変）の抑制効果を有する微生物（以下、YK 株）を用いて、YK 株培養上清の褐変抑制物質の性状を明らかにするとともに、糖化表皮角化細胞における糖化抑制効果について検討した。 【方法】糖とアミノ酸からなるメイラード反応モデル溶液に YK 株の培養液または培養上清（菌体なし）を添加し、37℃で3日間反応させた後、吸光度を測定して褐変抑制効果を検討した。また、培養上清に含まれる活性物質の性状（熱、pH 安定性、プロテアーゼ耐性）を解析し、液-液分配、限外濾過により分画した。さらに、グリオキサール（GO）により糖化させた表皮角化細胞（糖化 HaCaT 細胞）を用いて、表皮の分化誘導関連遺伝子の発現および糖化による創傷治癒の低下に対する YK 株培養上清およびその分画物の効果について、real-time RT-PCR およびスクラッチアッセイを用いて検討した。 【成果】培養上清に褐変抑制効果が認められたことから、活性物質が菌体外に存在することを確認した。培養上清を加熱（100℃）処理および各種 pH 条件下で反応させ、褐変抑制試験を実施したところ、活性物質は熱、酸に安定であるが、pH8 以上の塩基性条件下では活性が減弱する傾向が認められた。培養上清を液-液分配に供したところ、酢酸エチルおよびブタノール画分に強い褐変抑制効果が認められ、1 kDa 以上 3 kDa 以下の画分で同程度の褐変抑制効果を示した。これらの画分は、プロテアーゼ処理により褐変抑制効果が消失しなかったことから、活性物質は、タンパク質性の物質ではないことが示唆された。また、糖化 HaCaT 細胞に YK 株培養上清および酢酸エチル画分を添加したところ、糖化に起因した FLG、SPTLC2 および TGM1 遺伝子の発現低下が有意に抑制された。さらに、糖化 HaCaT 細胞を用いてスクラッチアッセイを行ったところ、YK 株培養上清、ブタノールおよび酢酸エチル画分において、有意な創傷治癒促進効果が認められた。これらの結果より、YK 株培養上清には、GO 誘発性の表皮における糖化ストレスを抑制する物質が含まれていることが示唆された。 【今後の展望】今後、YK 株培養上清がメイラード反応および糖化を抑制する作用機序を明らかにすることで、将来的には、メイラード反応が関与する食品への活用および糖化ストレスによる老化や疾患の予防に向けた YK 株代謝物の実用化が期待される。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	高効率な排水中抗菌剤除去技術の開発とその費用対効果解析				
研究組織	代表者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	徳村 雅弘
	研究分担者	所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	徳村 雅弘

講演題目
促進酸化法を用いた残留抗菌剤の分解除去性能の比較
研究の目的、成果及び今後の展望
【目的】抗菌剤は人に対する病気の治療だけでなく、牛や豚の動物に加え、魚類に対する病気の治療や予防にも使用されている。そのため、安定した食の供給には欠かせない重要な医薬品成分の一つである。人または家畜、水産動物に投与された抗菌剤は、排泄物として体外へ排出され、下水処理場を経て、水環境中へと排出されている。しかし、現在最も一般的に使用されている排水処理法である活性汚泥法は、微生物を用いた生物学的な手法であるため、その処理は難しい。実際、我が国においても、河川などの水環境中からリスクが懸念される濃度レベルの抗菌剤が多数検出されている。これら残留抗菌剤により、薬剤耐性菌の発生が懸念されている。薬剤耐性菌による被害としては、我が国においても年間 8000 人、世界では年間 70 万人以上が死亡しており、2050 年には世界で年間 1000 万人と、がんを抜いて人の死因の 1 位となることが予想されている。 本研究では、国内外でリスクが特に高いと懸念されている抗菌剤を対象に、効果的な除去法を開発を行う。本稿では特に使用量の多い、オキシテトラサイクリン（OTC）の結果について報告する。 【成果】OTC は、本研究で対象としたすべての酸化法（オゾン処理法、オゾン/過酸化水素法、フォトフェントン反応、フェントン反応）にて、実験開始 30 分以内に 99%以上除去された。また、OTC の分解反応は、擬一次反応速度式に従った。オゾン処理法およびオゾン/過酸化水素法の場合、実排水中で OTC の除去が促進された。一方、フェントン反応およびフォトフェントン反応は、実排水中で阻害された。一般的に、実排水に含まれる夾雑物質によって分解が抑制される傾向があるが（スカベンジャー効果など）、実排水での分解促進は、金属イオンの存在により、オゾンによる OH ラジカルなどの酸化種が発生しやすくなるためだと考えられる。 全有機炭素（TOC）の除去率は、フォトフェントン反応で最も高い値を示した。一般に、酸化分解が進むにつれ、汚染物質は徐々に酸化分解しにくい中間生成物（例えば有機酸など）となり、溶液中に蓄積する。しかし、フォトフェントン反応の場合は、それらの中間生成物と鉄イオンが錯体を形成することで、酸化分解が難しい中間生成物を光分解することから、TOC の除去率が高くなったと考えられる。 【今後の展望】より多くの抗菌剤に対して、処理性能を評価・比較していく。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研 究 テーマ	昆虫は持続的な脂質・栄養の供給源となるか？ ～ミールワーム、イエバエ、カイコを用いた検討～				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	大原 裕也
	研究分担者	所属・職名	愛媛大学大学院 農学研究科・ 特任准教授	氏名	井戸 篤史
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	大原 裕也

講演題目
昆虫は持続的な栄養供給源となるか？ ～ミールワーム、ミズアブ、カイコを用いた検討～
研究の目的、成果及び今後の展望
【背景および目的】近年、人口増加を背景とする食料不足が懸念される中、人々の健康を支える新たな食料・飼料資源の確立が求められており、その候補として昆虫が注目されている。昆虫は地球上の主要なバイオマスであり、ミールワーム、イエバエ、ミズアブなどの雑食性の昆虫は食品残渣や未利用資源を栄養源として養殖できることから、昆虫を核とした持続可能な食料供給システムを構築できると期待されている。また、養蚕業の副産物であるカイコのサナギは主にアジア圏で食料として利用されており、養殖魚の飼料としても活用されてきた実績がある。これまでに、昆虫の栄養組成に注目した研究が行われ、昆虫におけるタンパク質および脂質の含有率は乾燥重量あたりそれぞれ 40%および 30%に達することが明らかにされてきた。その一方で、昆虫配合飼料が養殖魚等の発育効率に与える影響については科学的知見が乏しく、昆虫摂取により免疫・炎症応答がどのように変動するのかについても不明である。そこで本研究では、モデル魚類であるゼブラフィッシュを対象に、ミールワーム、ミズアブ、カイコ配合飼料を投与し、昆虫の摂取が肥育効率と免疫・炎症応答経路に与える影響を明らかにすることを目的とした。 【成果および今後の展望】生後 2 か月のゼブラフィッシュ幼魚を対象に、コントロール餌（魚粉約 50%）および昆虫配合餌（昆虫約 25%、魚粉約 25%）を投与し、体長の変化を経時的に測定した。その結果、配合する昆虫によらず、昆虫配合餌摂取群はコントロール群と同等の成長効率を示した。この結果は、魚粉の約半分を昆虫に置き換えた場合であってもゼブラフィッシュの発育は阻害されないことを強く示唆している。次に、コントロール群および昆虫配合餌摂取群におけるプロスタグランジン等の炎症関連因子のレベルを液体クロマトグラフィー質量分析器（LC-MS）により一斉分析したところ、リゾルビン D5 のレベルがミズアブ配合餌摂取群において低下していた。リゾルビン D5 はドコサヘキサエン酸（DHA）を基質として産生される脂肪酸誘導体であり、抗炎症作用を有するシグナル伝達物質として機能する。このことから、ミズアブ配合餌の摂取によりリゾルビン D5 を介した抗炎症シグナル伝達経路が低下する可能性が示唆される。 今後、様々な養殖魚を対象に同様の実験を行い、それぞれの種に最適な昆虫配合率を見出して行く予定である。また、ミズアブ配合飼料によるリゾルビン D5 生合成経路の制御機構等を明らかにしていくことで、昆虫配合飼料による炎症・免疫応答経路の調節機構を解明していきたいと考えている。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	微生物の違いによる新規発酵茶の成分特性と生体機能性に関する研究				
研究組織	代表者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	斎藤 貴江子
	研究分担者	所属・職名	茶学総合研究センター・特任教授	氏名	中村 順行
		所属・職名	茶学総合研究センター・客員教授	氏名	佐野 満昭
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	斎藤 貴江子

講演題目	細胞外多糖産生乳酸菌による後発酵茶の成分安定性
------	-------------------------

研究の目的、成果及び今後の展望

研究の目的

我が国の高齢化社会において健康を維持してきた要因の一つは食生活であり、その中には伝統的な味噌や醤油などの発酵食品がある。世界でも健康長寿であるコーカサス地方の人々は牛乳を乳酸菌で発酵させたヨーグルトを多く摂取していることが知られており、乳酸菌の花粉症予防、アレルギー抑制作用、免疫力増強効果等が明らかになっていることから、これら乳酸菌や種々の微生物を用いた発酵茶が近年注目されている。しかしながら、発酵の過程で有効成分の分解が生じること、また、経験的な製法によって伝承されていることなどにより、生体機能性についての評価は未知の部分が多い。そこで本研究では、細胞外多糖産生乳酸菌、*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* を使用して安定した条件下で茶葉を発酵させ、主要成分を保持した新規発酵茶を開発することを目的とする。

成果

発酵に特徴的な pH の急激な減少は見られなかったが、乳酸発酵の指標となる茶葉中の葉酸とアスコルビン酸含有量の減少が確認されたことから、*Cremoris* 菌によってゆっくりと発酵が進行していることが確認された。また、カテキン、テアニン、カフェイン、アミノ酸含有量ともに、有意な変化が認められなかったことから、主要成分が分解されていないことが示唆された。今までの後発酵茶は、発酵の過程で主要成分が分解されることが懸念されていたが、本研究において作製された後発酵茶の主要成分は減少することなく維持された（表 1）。また、抗酸化作用の評価においても、発酵による影響を受けず、強い活性を維持していた（図 1）。これらの結果から、本研究で作製した後発酵茶は、これまでの発酵茶とは異なる特性と *L. cremoris* が産生する細胞外多糖の機能を合わせ持つ新規の発酵茶であることが示唆された。

今後の展望

さらに成分分析を詳細に行い、新規機能性成分の探索と加齢により増加する骨粗鬆症の予防効果への効果を検討する。

表 1 発酵中のカテキン含有量の変化

Catechin (mg/100g)	Day of fermentation			
	0	2	7	14
(-) Epigallocatechin gallate	3070	2640	3550	2930
(-) Epigallocatechin	1650	1350	1750	1570
(-) Gallocatechin	1110	920	1100	950
(-) Gallocatechin gallate	910	630	830	630
(-) Epicatechin gallate	620	480	710	550
(-) Epicatechin	500	420	540	470
(-) Catechin	160	110	120	110
(-) Catechin gallate	80	50	50	50

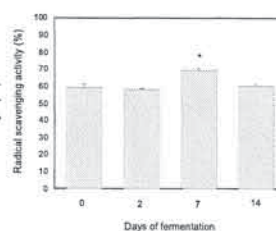


図 1 抗酸化活性

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	生活習慣病予防のための食生活の意識および実践状況と食事摂取状況の関連				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	亀山 詞子
	研究分担者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	桑野 稔子
		所属・職名	東洋大学・教授	氏名	井上 広子
		所属・職名	静岡市健康づくり推進課・課長	氏名	渡邊 昌代
		所属・職名	静岡市健康づくり推進課・参事兼課長補佐	氏名	深澤 倫乃
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	亀山 詞子

講演題目
生活習慣病予防のための食生活の意識および実践状況と食事摂取状況の関連
研究の目的、成果及び今後の展望
【目的】生活習慣病予防は、健康寿命の延伸の観点から喫緊の課題であり、効果的な対策に取り組む必要がある。食生活習慣改善を目指した栄養教育を展開するためには、対象者の食事摂取状況の実態把握が必要不可欠である。健康的な食生活に対する意識は食事摂取量に影響を与えと考えられるが、これらの関係については十分に検討されていない。そこで、本研究では、食生活の意識および実践状況と食事摂取状況の関連を明らかにすることを目的とした。 【方法】20歳～69歳の静岡市民8,000名を対象とし、郵送法により、簡易型自記式食事歴法質問票（BDHQ）による食物摂取状況調査と健康的な食生活の実践に関する意識、既往歴等の調査を行った。回答者3,066名（回収率38.3%）のうち、BDHQの回答が有効であった2,907名を解析対象者とした。自記式質問票により調査した既往歴、服薬状況、血液検査値により糖尿病、高血圧症、脂質異常症の有病者を判定し、有病者割合が最も高かった脂質異常症である702名について解析を行った。健康的な食生活の実践意識は、エネルギー摂取量の調整、脂肪の量・質の調整、糖分の過剰摂取の抑制、減塩、野菜の十分な摂取、果物の摂取について実践している者（実践者）と実践していない者（非実践者）の2群に分類した。実践意識別の食品および栄養素等摂取量について、性、年齢を調整因子とした共分散分析を行い、有意水準は5%未満とした。 【結果】対象者の平均年齢は57.2歳だった。栄養素摂取量は、脂質の量・質の調整の実践者と非実践者では、脂肪エネルギー比率、飽和脂肪酸エネルギー比率、コレステロール摂取量に差はなかった。また、エネルギー摂取量の調整と減塩についての実践意識別でも、関連する栄養素摂取量に差はなかった。しかし、食品摂取量については、脂質の量・質の調整の実践者は非実践者と比べて油脂類摂取量は少なく（$p<0.05$）、野菜と果物については十分な量の摂取の実践者は非実践者に比べて野菜（$p<0.001$）および果物（$p<0.001$）の摂取量が多いことが示された。 【今後の展望】以上の結果から、脂質異常症患者において、生活習慣病の予防や改善のための食生活を実践する意識について、食品レベルでの実践意識は食品摂取量に反映されていたが、栄養素レベルでは反映されていないことが明らかになった。対象者の食生活の実践意識と栄養素摂取量の実態の乖離を考慮したうえで、栄養教育を行う必要があり、効果的な栄養教育方法を検討していく予定である。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	静岡ガス(株)ビオトープ内に生息するマシジミの増養殖のための完全養殖法の確立				
研究組織	代表者	所属・職名	食品栄養科学部 生態発生遺伝学研究室・助教	氏名	明正 大純
	研究分担者	所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	食品栄養科学部 生態発生遺伝学研究室・助教	氏名	明正 大純

講演題目
静岡ガス(株)ビオトープ内に生息するマシジミの増養殖のためのビオトープの生息環境の最適化
研究の目的、成果及び今後の展望
日本には、汽水生のヤマトシジミ、淡水生のマシジミとセタシジミの3種が生息する。食用として多く流通するのはヤマトシジミであり、豊富なアミノ酸、機能性成分であるオルニチン、新規のアコルピンなど、近年注目が集まっている。本研究のマシジミは、秋から冬にかけて旬を迎え「寒シジミ」として古くは江戸時代から珍重されていた。また、その美味しさで知られていた長野県の諏訪湖のシジミも本種である。近年は、漁獲量の減少、外来種のタイワンシジミによる遺伝的攪乱の影響で、食用の流通だけでなく、レッドデータブックに絶滅危惧II類として掲載されるなど種の存続が危ぶまれている。2017年度から開始した当研究室と静岡ガスとのその敷地内のビオトープを対象とした共同研究において、mtDNAの分子系統解析により、ビオトープに多数生息する二枚貝がマシジミであること、稚貝から3cm以上の大きな成貝までの個体が生息することから、本ビオトープが希少な本種の繁殖・成育に最適な生育環境が整っていると推定される。しかし、成長に伴う生息地の砂礫による殻頂付近の浸食が斃死の大きな要因であることも推定された。 本研究では、マシジミの保全と増養殖方法の確立の第一歩として、本ビオトープ内のマシジミの詳細な個体数調査によって、生物量の正確な把握とその増大のための手がかりを探った。生息地を上流・中流・下流に3分割してそれぞれ100個体程度の体サイズと斃死の有無を観察した。その結果、砂礫の粒径が小さい上流では小さな個体が多く・斃死個体は少なかった。その一方で、砂礫の粒径が大きい下流では、体サイズが大きくなり・ほとんどの個体が斃死していた。また、中流では上流と下流の中間の結果となった。これまでに殻頂付近の浸食によって大きな成貝の斃死は観察されていたが、想定以上にその割合が大きいことが判明し、本ビオトープにおける生物量の大きな制限要因であることが推定された。現在は、浸食が斃死の主な要因であることを確かめるために、それらを防ぐための設置した金属かごにおける稚貝の飼育を行っている。また、斃死個体の低減のために、中流・下流における粒径の大きい砂礫の除去後の経過観察を行っている。これらの結果によって、今後は確かな保全とより効率的な増養殖に繋がることが期待できる。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	未利用資源マグロの頭部から抽出したエラスチン、プロテオグリカンによる皮膚コラーゲン増加効果の作用メカニズムの解明				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	寺田 祐子
	研究分担者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	伊藤 圭祐
		所属・職名	静岡県工業技術研究所・科長	氏名	山下 里恵
		所属・職名	静岡県工業技術研究所 ・上席研究員	氏名	三宅 健司
		所属・職名	株式会社 Dr. シーバ・専務	氏名	鈴木 宏二
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	寺田 祐子

講演題目
未利用資源マグロの頭部から抽出したエラスチン、プロテオグリカンの皮膚繊維芽細胞における機能性の解析
研究の目的、成果及び今後の展望
【目的】 静岡県はマグロの水揚げ量が全国一位であり、重要な特産品の一つである。しかし、マグロの頭部は、多くが未利用のまま大量に廃棄されており、その活用法が求められている。これまでに私たちは、静岡県工業技術研究所の山下氏、三宅氏、焼津市の化粧品素材メーカー 株式会社 Dr. シーバの鈴木氏と共に、マグロの頭部からエラスチンとプロテオグリカンの抽出物を作製する技術を開発した。本研究では、エラスチン、プロテオグリカンの抽出物を、皮膚アンチエイジング化粧品・食品の機能性素材として活用することを目指し、ヒト皮膚線維芽細胞における機能性を解析することを目的とした。 【方法・成果】 38歳日本人女性由来のヒト皮膚線維芽細胞に、マグロの頭部から作製したエラスチン、プロテオグリカンの抽出物をそれぞれ投与し、I型コラーゲン遺伝子 COL1A1 の発現量の変化を、リアルタイム RT-PCR 法により解析した。その結果、COL1A1 mRNA の発現量は、エラスチンで8倍、プロテオグリカンで17倍に増加した。老化に伴うコラーゲンの減少はシワやたるみの原因となることから、皮膚老化の抑制においてコラーゲンを増加させることが重要である。マグロエラスチン、プロテオグリカンは、コラーゲン発現量を増加させたことから、皮膚アンチエイジング素材として有望である可能性が示唆された。 【今後の展望】 本研究により、マグロ頭部から作製したエラスチン、プロテオグリカンの抽出物が、ヒト皮膚線維芽細胞においてコラーゲン発現を促進させることが明らかになった。本成果は、現在、多くが未利用のまま廃棄されているマグロの頭部について、静岡県独自の皮膚アンチエイジング素材として活用の道を拓くものと期待される。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	消毒副生成物ヨード酢酸による塩基除去修復阻害の検討				
研究組織	代表者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	小牧 裕佳子
	研究分担者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	伊吹 裕子
		所属・職名			
		所属・職名			
	発表者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	小牧 裕佳子

講演題目
消毒副生成物ヨード酢酸による塩基除去修復阻害の検討
研究の目的、成果及び今後の展望
微生物感染リスク低減のための消毒過程は近代における水系感染症の抑制に多大な威力を発揮してきたが、消毒剤は原水中の有機物と反応し、消毒副生成物とよばれる物質群を副次的に生成してしまう。消毒副生成物のうちヨード酢酸は、生成量は低いものの、細胞毒性、遺伝毒性が極めて高いため、その毒性影響が懸念される。しかし、本研究室でのこれまでの研究において、DNA 損傷の高感度マーカーである γ-H2AX ではシグナル増加が検出できず、むしろシグナル抑制が複数の培養細胞で観察された。γ-H2AX は、ヒストン H2A のバリエーションである H2AX の、C 末端の SQEY モチーフ内の 139 番目セリン残基のリン酸化を指し、DNA 鎖切断や酸化損傷、DNA 付加体など様々な DNA 損傷に応答する高感度なマーカーとして知られる。直接 DNA 鎖切断を生成しない損傷では、損傷修復過程での切り出しによって 2 次的に生じる鎖切断が γ-H2AX 生成につながる。ヨード酢酸により γ-H2AX の誘導抑制が起こる事象に対し、DNA 損傷修復機構での切り出し過程が阻害されているのではないかと仮説を立てた。そこで、紫外線を損傷誘導剤として用い、紫外線損傷であるピリミジンダイマーの修復における切り出し過程にヨード酢酸が与える影響について検討した。 ヒト表皮角化細胞 HaCaT にヨード酢酸を 4 時間作用し、紫外線を照射した後 24 時間培養後の細胞生存率を測定したところ、単体曝露に比べ、複合曝露では相乗的な細胞生存率低下が見られた。紫外線によって生じるピリミジンダイマーの生成と修復を ELISA ならびに紫外線局所照射法により測定したところ、ヨード酢酸作用の有無にかかわらずピリミジンダイマーの生成は同程度であったが、修復はヨード酢酸濃度依存的に阻害された。また、ピリミジンダイマーの主な修復経路であるヌクレオチド除去修復において、二本鎖の巻き戻しを担う TFIIH と切り取りを担う XPG の DNA 損傷部位への集積がヨード酢酸によって阻害された。つまり、ヨード酢酸による紫外線損傷修復過程における切り出しの阻害が示唆された。 ヨード酢酸の毒性は活性酸素種の過剰産生と関連付けられており、活性酸素種によって誘導される DNA 損傷は塩基除去修復によって修復される。ヌクレオチド除去修復、塩基除去修復どちらにおいても損傷部位の切り取り過程は重要であるが、切り出される DNA 断片が大きく、評価をしやすいということでヌクレオチド除去修復へのヨード酢酸の影響を今年度は検討した。今後、塩基除去修復に対するヨード酢酸の影響についての検討を進めていく予定である。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	無症候性高尿酸血症の患者特性による栄養指導効果の差異の検討および身体活動量や骨格筋量を指標とした個別化栄養教育法の構築				
研究組織	代 表 者	所 属 ・ 職 名	食品栄養科学部・助教	氏 名	川上 由香
	研究分担者	所 属 ・ 職 名	食品栄養科学部・教授	氏 名	新井 英一
		所 属 ・ 職 名	浅井内科医院・医師	氏 名	浅井 寿彦
		所 属 ・ 職 名	浅井内科医院・管理栄養士	氏 名	近藤 理帆
		所 属 ・ 職 名	薬食生命科学総合学府・修士2年	氏 名	小池 吏砂
		所 属 ・ 職 名	薬食生命科学総合学府・修士2年	氏 名	佐藤 めぐみ
	発 表 者	所 属 ・ 職 名	食品栄養科学部・助教	氏 名	川上 由香

講演題目
無症候性高尿酸血症の患者特性による栄養指導効果の差異の検討および身体活動量や骨格筋量を指標とした個別化栄養教育法の構築
研究の目的、成果及び今後の展望
【背景・目的】高尿酸血症は、メタボリックシンドロームと関連が深く、腎機能障害や心血管疾患の原因となる。本研究は、無症候性高尿酸血症の栄養指導に関するエビデンスの構築を目的として、ガイドラインに記載のある推奨項目（適正なエネルギーの摂取、プリン体の過剰摂取の回避、果糖の過剰摂取の回避、アルコール摂取制限、腎機能に応じた適切な飲水）に沿った栄養指導の有効性を評価した。 【方法】対象者は、薬物治療を開始していない無症候性高尿酸血症患者 35 名（男性 25 名、女性 10 名）とし、6 ヶ月間の栄養指導の効果について検討した。管理栄養士による栄養指導を毎月実施し、プリン体含有量が多い食品、果物、清涼飲料水、アルコールの摂取量および飲水量の摂取量を算出した。栄養指導介入前、介入 6 ヶ月後において、身体測定、血圧測定、採血および簡易型自記式食事歴法質問票を用いた食事調査を実施した。また、栄養指導介入前および介入 6 ヶ月後において 24 時間蓄尿を実施した。 【結果・考察】血清尿酸値は介入前 7.7 ± 0.4 mg/dL から介入 6 ヶ月後 7.1 ± 0.9 mg/dL に有意に低下した。35 名中 16 名が介入 6 ヶ月後に血清尿酸値 7.0 mg/dL 以下を達成した。栄養指導介入前に比して介入 6 ヶ月後に、尿量と尿酸排泄効率は有意に増加し、尿中尿酸濃度は有意に低下した。肥満を有する対象者において、体重、BMI および腹囲が介入 6 ヶ月後に有意に低下した。また、飲酒習慣がある対象者において、アルコール摂取量は介入 6 ヶ月後に有意に低下した。年齢層別化解析を行ったところ、70 歳未満および 70 歳以上の両群で介入後に血清尿酸値は有意に低下した。肥満を呈する対象者の多かった 70 歳未満の群では介入後に体重・腹囲の改善がみられたが、70 歳以上の群では体重は保たれており、不必要な減量やエネルギー摂取量の減少は防ぐことができたと考えられる。したがって、本研究により無症候性高尿酸血症患者に対する栄養指導は血清尿酸値を改善させることが示唆された。さらに、介入 6 ヶ月間における血清尿酸値の変化量と腎機能に関する指標の変化量との間に有意な関連がみられた。無症候性高尿酸血症患者に対する栄養指導は、血清尿酸値の低下を介して、腎保護効果をもたらす可能性が考えられる。 薬物療法を行う前に栄養指導などの生活指導を行うことで、服薬することなく血清尿酸値を低下させることができれば、合併症の予防につながると考えられる。本研究は、高尿酸血症に対する栄養指導が有用であることを示すエビデンスの一つとなると考えられる。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	食・環境・健康の研究推進と情報発信による地域貢献				
研究組織	代表者	所属・職名	食品栄養環境科学研究所・食品環境研究センター・センター長／特任教授	氏名	若林 敬二
	研究分担者	所属・職名	食品栄養環境科学研究所・教授	氏名	三浦 進司
		所属・職名	食品栄養環境科学研究所・教授	氏名	雨谷 敬史
		所属・職名	食品栄養環境科学研究所・教授	氏名	市川 陽子
	発表者	所属・職名	食品栄養環境科学研究所・食品環境研究センター・センター長／特任教授	氏名	若林 敬二

講演題目
食・環境・健康の研究推進と情報発信による地域貢献
研究の目的、成果及び今後の展望 【目的】食品環境研究センターは、地域における健康と福祉の向上、および地域産業の推進を目指して、「食と健康」や「環境と健康」に関連した研究とともに地域の人達への教育・啓発活動を行っている。 【成果】令和3年度に実施した主要な事業及び成果を以下に示す。 ■ 研究活動 1. 地域における健康に資する食品および環境に関する情報提供、及び教育、啓発活動 静岡県特産の農水産物、加工食品等の機能性についてシステマティックレビューを行い、それらの成果を整理して消費者庁に届出を行い、地域の食品産業の活性化に寄与した。尚、茶カテキン、DHA・EPA、GABA、イヌリン、スルフォラファン、グルコシノレート等を含む30数件の機能性表示食品について既に消費者庁のHPに公開されている。更に、これら機能性表示食品の資料は、健康食イノベーション推進事業の支援のもとで作成した機能性食品素材データベースにまとめられ、本学が中心となり研究を進めている、その他の食品の機能性素材情報と共に本学健康食イノベーション推進事業HP上に公開されている。又、公開講座、講演会等を行い、地域における健康福祉の向上に資する教育・啓発活動を実施した。 2. 2021年度 発表論文10報、学会発表4回 ■ 公開講座・講演会 ・ 若林敬二：機能性表示食品のシステマティックレビュー（SR）について、公益財団法人静岡県産業振興財団 総合食品学講座、静岡県立大学、2021年7月15日 ・ 若林敬二：食の健康に関わるエビデンスについて、健康イノベーション教育プログラム、オンライン講義、2021年10月9日 ・ 若林敬二：機能性表示食品の現状と課題および健康食創出について、健康イノベーション教育プログラム、オンライン講義、2021年10月9日 ・ 若林敬二：「がんに関する正しい知識で早期発見・早期治療ーがん検診の受診率向上ー」、がん予防講演会紙上発表、小山町・静岡県対がん協会共催、2022年1月28日 ・ 若林敬二：「がんに関する知識の普及・啓発ーがん検診の重要性ー」、がん予防講演会紙上発表、長泉町・静岡県対がん協会共催、2022年2月28日 ■ 教育・啓発活動 各研究室又はグループが中心になり行った活動 ・ 静岡県立大学食品栄養科学部2021キッズ・ラボ 「食塩水で虹を作ろう!」、ディスカバリーパーク焼津天文科学館、2021年7月25日 【今後の展望】センターの事業は、地域における健康と福祉の向上、および地域産業の推進に一定の貢献をしたものと考えられる。本県の農林水産物は極めて豊富であり、数・量ともに食材の宝庫、いわゆる「食材の王国」である。これらの食材には健康長寿への貢献が期待され、産業の進展および地域における健康福祉の向上の両観点から、更なる研究の推進と知識の普及が求められている。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	コロナ禍に対応した抗ストレス茶の開発と学生に美味しいお茶を!!プロジェクトの推進				
研究組織	代表者	所属・職名	食品栄養環境科学研究所 茶学総合研究センター・特任教授	氏名	中村 順行
	研究分担者	所属・職名	静岡県茶業研究センター研究員	氏名	鈴木 康孝
		所属・職名	県茶業会議所 専務理事	氏名	伊藤 智尚
		所属・職名	県茶業振興課 課長	氏名	小林 栄人
		所属・職名	JA 経済連 茶業部長	氏名	真田 泰伸
		所属・職名	食品栄養環境科学部 助教	氏名	斉藤 貴江子
	発表者	所属・職名	食品栄養環境科学研究所 茶学総合研究センター・特任教授	氏名	中村 順行

講演題目
お茶で学生生活を活性化!!!!
研究の目的、成果及び今後の展望
コロナ禍により社会は大きく変化し、学内においてもオンライン授業が主となり、孤独感の強まりやコミュニケーション・コラボレーション不足により不安感やストレスを感じる人が急増している。そのようななか、お茶はホッと一息つける嗜好飲料でもあり、巣ごもり生活のなかに定着した一面も持つ。お茶を飲むだけでなくお茶の楽しみ方、飲み方、健康効果など幅広く情報発信するなかで、コロナ禍のストレスを解消するとともに、静岡茶を介して県立大学へのアイデンティティを高め、実りある学生生活につなげることを目的に、「学生に美味しい静岡茶を」プロジェクトをとおり、日常茶飯事にお茶を愉しむことで、少しでも充実した学生生活が送れることを期待し、「①お茶の機能性情報の発信、②美味しいお茶を楽しむ方」の発信を行った。 お茶の機能性情報の発信では、コロナ禍のため受講生を半減させた茶学入門、大学コンソーシアムの「ふじのくに学（茶学）」、さらには静岡市が主催するお茶の学校などでお茶の健康効果、お茶の持つ機能性成分の概要などを発信するとともに、お茶とコロナ情報についても各種セミナーやシンポジウムで情報提供してきた。 さらに、美味しいお茶の楽しみ方においては、本大学において多彩なお茶を飲む機会や学ぶ機会を提供することで、茶の持つ幅広く、奥深い魅力や静岡の風土の素晴らしさについての理解を深め、お茶の愛飲者になってもらうために、下上の両食堂にティバッグ数種類を準備し食事時に自由にお茶を愉しんでいただいた。しかしながら、夏には下食堂が閉鎖され、上食堂だけとなったが月1回はFree Tea Caféの日を決め、月替わりにその季節に合ったお茶を提供し続けた。また、上食にはティーサーバー用の粉末茶も提供し、自由にお茶を楽しんでいただけるようにした。さらに、お茶と同時に、季節を感じながらお茶の幅広さを楽しんでいただくよう「茶と暦」（4ページ）パンフレットを「みなくる」で月1回刊行・配布した。 Covid-19が少し落ち着いた12月には「お茶とお菓子のマリアージュ」と題し、食品栄養環境科学部栄養生命科学科の学生とともに世界の銘茶と学生出身県の銘菓を持ち寄りお茶とお菓子の深い関係を学ぶとともに、両者の相性を楽しんだ。また、同様な企画を藤枝ジュニアお茶大使・博士に対し藤枝茶の歴史と藤枝の銘菓で行い、お茶への興味を深めた。 現在、コロナ禍のためなかなか幅広い呈茶が行えないが、地道に活動するとともに、アフターコロナではもう少し規模を拡大し、学生が主体となれるFree Tea Caféなども再開したり、新しく開設された国際学生寮でのお茶を通じた留学生との交流促進などを行いたいと考えている。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	地（知）の拠点としての「ふじのくに発イノベーション推進機構」体制の整備				
研究組織	代 表 者	所属・職名	ふじのくにみらい共育センター長・特任教授	氏名	合田 敏尚
	研究分担者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	賀川 義之
		所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	三浦 進司
		所属・職名	国際関係学部・教授	氏名	高畑 幸
		所属・職名	経営情報学部・教授	氏名	岩崎 邦彦
		所属・職名	看護学部・教授	氏名	山田 紋子
		所属・職名	短期大学部・教授	氏名	佐々木 隆志
		所属・職名	経営情報学部・特任教授	氏名	西野 勝明
		所属・職名	薬学部・教授	氏名	森本 達也
		所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	新井 英一
		所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	伊藤 創平
		所属・職名	国際関係学部・講師	氏名	宮崎 晋生
		所属・職名	経営情報学部・教授	氏名	武藤 伸明
		所属・職名	経営情報学部・教授	氏名	東野 定律
		所属・職名	経営情報学部・教授	氏名	上野 雄史
		所属・職名	看護学部・教授	氏名	富安 眞理
		所属・職名	看護学部・准教授	氏名	杉山 眞澄
		所属・職名	経営情報学部・教授	氏名	渡邊 貴之
		所属・職名	国際関係学部・教授	氏名	細川 光洋
		所属・職名	国際関係学部・教授	氏名	津富 宏
		所属・職名	国際関係学部・教授	氏名	湖中 伸哉
		所属・職名	経営情報学部・准教授	氏名	岸 明雄
		所属・職名	茶学総合研究センター長・特任教授	氏名	中村 順行
		所属・職名	食品環境研究センター長・特任教授	氏名	若林 敬二
		所属・職名	薬食研究推進センター長・特任教授	氏名	山田 静雄
	発 表 者	所属・職名	ふじのくにみらい共育センター長・特任教授	氏名	合田 敏尚

講演題目
地（知）の拠点としての「ふじのくに発イノベーション推進機構」体制の整備
研究の目的、成果及び今後の展望
現代のわが国には、超高齢・人口減少社会への対応、持続可能地域社会の創生など、緊急的な課題があり、大学は教育、研究、社会貢献を通してその課題に取り組む責務がある。本学では、文部科学省「地（知）の拠点」整備事業「ふじのくに「からだ・こころ・地域」の健康を担う人材育成拠点」の地域志向研究の枠組みの中で、文理融合・学部横断の研究体制が整備され、地域社会の課題の根本的な解決に向け「未来を創るイノベーション」のシナリオを作成する基盤が整いつつある。そこで、本研究では、文理融合・学部横断の教育・研究体制を持つ本学の「地（知）の拠点」の強みを活かし、静岡県、静岡市等の行政機関や産業界と連携して、「未来を創るイノベーション」のシナリオの社会実装のための学術基盤を整備するとともに、産学連携および地域連携活動を推進した。 「ふじのくに発イノベーション推進機構」の地域連携実務機関である「ふじのくに」みらい共育センター（COCセンター）が中心となり、すべての部局の研究者が情報を共有することのできるプロジェクト支援体制、すなわち、薬、食品、栄養、環境、経営、情報、社会、文化、看護、介護の要素を自在に組み合わせた研究者チームの編成が可能な協力体制を整備した上で、静岡県や産業界と連携して、内閣府地方創生交付金事業「健康食イノベーション推進事業」を推進し、健康長寿に恵まれた地域社会づくりと、それを支える新たな健康・食関連のビジネスモデルの考案と社会実装に取り組んだ。健康長寿ブランド日本食材としての緑茶、水産加工品の有効性と有用性を基礎研究によって明らかにし、健康寿命延伸、地域健康経営の視点から、品質と機能を明確にした農水産物、緑茶、水産加工品を組み合わせた「静岡ブランド健康食」を開発し、「健康な食事」実践の啓発・普及、観光への活用をはかるために IT 技術を活用した。今後は、本学が組織的に地域連携を推進するために必要な地域課題情報を学内で共有し、静岡県をはじめとした行政機関や国内外の学術機関との共同研究プロジェクトの具現化が加速されることが期待される。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	非アルコール性脂肪性肝炎の病態形成に関わる新規アディポカインの同定				
研究組織	代表者	所属・職名	食品栄養科学部 栄養生理学研究室・准教授	氏名	細岡 哲也
	研究分担者	所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	食品栄養科学部 栄養生理学研究室・准教授	氏名	細岡 哲也

講演題目
非アルコール性脂肪性肝炎の病態形成に関わる新規アディポカインの同定
研究の目的、成果及び今後の展望
【背景・目的】 非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）は、肝硬変や肝臓に進展しうる予後不良な慢性肝疾患であり、本邦のみならず世界的に大きな問題となっている。しかしながら、その病態機序は不明であり、特異的な治療法も現在まで開発されていない。代表者は、脂肪細胞特異的遺伝子欠損マウスを用いた解析により、インスリン作用の鍵キナーゼPDK1と下流の転写因子FoxO1経路の異常がNASHの原因となることを明らかとした。本研究では脂肪細胞のPDK1-FoxO1経路とNASHを繋ぐメカニズムの解明を目指した。【成果】 脂肪組織を用いたマイクロアレイ解析により、NASHを示す脂肪細胞特異的PDK1欠損（A-PDK1KO）マウスにおいて発現が増加し、NASHの改善を示す脂肪細胞特異的PDK1/FoxO1ダブル欠損マウスにおいてその変化が正常化する因子としてTSP-1を見出した。全身性TSP-1欠損マウスとA-PDK1KOマウスとの交配によりTSP-1を欠損する脂肪細胞特異的PDK1欠損（A-PDK1/TSP-1DKO）マウスを作成し、NASHの病態形成におけるTSP-1欠損効果を検討した。20週間の高脂肪食摂取によりA-PDK1KOマウスの肝重量は著しく増加し、組織学的に明瞭な線維化を示したが、A-PDK1/TSP-1DKOマウスにおいて肝重量の有意な低下と肝線維化の顕著な改善が認められた。TSP-1は線維化形成に重要な役割を担うTGF-βを活性化することが知られているが、TSP-1はTGF-β依存的な肝星細胞の活性化を増強した。さらに、代表者は、マウスの単離脂肪細胞を用いた解析において、TSP-1が脂肪細胞から培養上清中に分泌されること、またインスリンがこの分泌を著明に抑制することを見出した。以上の研究成果により、NASHにおける肝線維化形成にTSP-1が重要な役割を担うことが明らかとなった。TSP-1は脂肪細胞のインスリン抵抗性とNASHとを繋ぐ新規アディポカインと考えられる。【今後の展望】 本研究により、NASHの病態に関わる脂肪組織と肝臓との新たな臓器連関メカニズムが明らかになるとともに、新規アディポカインTSP-1がNASHに対する新たな治療標的となる可能性が示された。今後は、薬理学的あるいは栄養学的にTSP-1の発現・作用を抑制する化合物・栄養成分を探索し、NASHに対する有効性を評価するとともに臨床応用に向けた研究を進めたい。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	骨格筋の萎縮を抑制する食品栄養成分の探索				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	吉岡 泰淳
	研究分担者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	三好 規之
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	吉岡 泰淳

講演題目
骨格筋の萎縮を抑制する食品栄養成分の探索
研究の目的、成果及び今後の展望 近年の超高齢社会を背景に、加齢による身体機能の衰え、すなわち運動器の障害は、社会的な問題となっている。ロコモティブシンドロームとは、「運動器の障害」により「要介護になる」リスクの高い状態にあることであり、「健康寿命の短縮」、「ねたきりや要介護状態」の要因になっている。ロコモティブシンドロームの予防方策の一つが、「筋肉量の維持」である。筋肉量を維持することは健康寿命の延伸につながるため、安全の担保された食品における骨格筋萎縮を抑制する効果が期待されている。静岡県は、全国トップクラスの健康寿命を誇り、その要因として、温暖な気候からくる穏やかな県民性はもちろんのこと、お茶の摂取量が多いことや地場の食材が豊富で食生活が豊かなことが挙げられる。このように、地域の豊富な食材摂取には健康寿命への寄与が期待されていることから、運動器に着目した科学的根拠を提出することは、地域の健康増進および産業の発展につながる。低栄養状態になると糖新生の亢進に伴い、血中のグルココルチコイド濃度が上昇し、骨格筋のタンパク質分解を亢進する。そこで本研究では、グルココルチコイドの誘導する筋タンパク質の分解を抑制する食品栄養成分の探索および作用機序解明を目的とした。 マウス筋管細胞 C2C12 細胞を用いて、合成グルココルチコイドであるデキサメタゾンの誘導するタンパク質分解を抑制する食品因子を探索したところ、自然薯 <i>Dioscorea japonica</i> の成分であるジオスゲニンを見出した。ジオスゲニンの処理は、デキサメタゾンによる筋管細胞の直径の短縮を抑制した。また、デキサメタゾンによるミオシン重鎖の発現量の減少も抑制した。デキサメタゾンは、細胞質内でグルココルチコイドレセプターと複合体を形成することで核内に移行し、ユビキチンリガーゼの発現上昇を介してタンパク質の分解を誘導することが知られている。C2C12 細胞にジオスゲニンを前処理すると、デキサメタゾンの誘導するユビキチンリガーゼの発現上昇が有意に抑制された。また、グルココルチコイドレセプターの核内移行も顕著に抑制された。さらに、デキサメタゾンにより誘導される酸化ストレスに対するジオスゲニンの効果を検討した結果、MAP キナーゼ p38 および転写因子 FoxO3a のリン酸化を抑制することが明らかとなった。これらの結果から、ジオスゲニンは低栄養による筋萎縮に対して抑制効果を有することが示唆された。加齢により低栄養のリスクは上昇し、運動器の障害に陥りやすい。ジオスゲニンの摂取が運動器の障害を防止することができれば、健康寿命の延伸に寄与することが期待される。今後は、生体におけるジオスゲニンの効果を動物実験により検証する予定である。

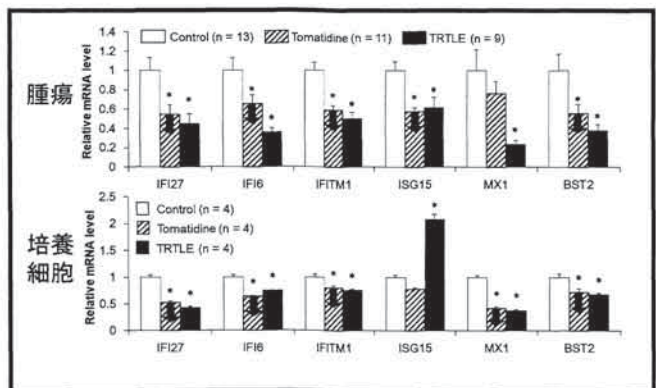
研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	トマト未利用資源由来トマト葉抽出エキスの抗がん効果および作用機序の探索				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	佐藤 友紀
	研究分担者	所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	佐藤 友紀

講演題目	トマト未利用資源由来トマト葉抽出エキスの抗がん効果および作用機序の探索
------	-------------------------------------

研究の目的、成果及び今後の展望

ステロイド系アルカロイドであるトマチジンはトマトの葉や未成熟のグリーントマトに多く含まれる α -トマチンのアグリコンであり、*in vitro*の実験系において、トマチジンがガン細胞の増殖を抑制することが報告されている。一方で*in vivo*の実験系による報告はなく、トマチジンのガン抑制効果には不明な点が残る。本研究では、*in vivo*におけるトマチジンのガン抑制効果を明らかにすると同時に、未利用資源であるトマト葉より抽出したトマチジン高含有エキスの効能を明らかにすることを目的とした。ヒト胃がん由来細胞 85As2 細胞をマウスに皮下移植した担癌モデルマウスにトマチジンおよびトマチジン高含有エキスを3週間飼料として与え、移植したガン細胞の肥大化を検討したところ、どちらにおいても対照群(トマチジンおよびトマチジン高含有エキスを含まない飼料摂取群)に比して、ガン細胞の肥大化が抑制された。*In vitro*培養下の85As2細胞にトマチジンおよびトマチジン高含有エキスを添加したところ、細胞増殖の抑制も確認された。続いて、どのような分子シグナルがガン肥大抑制に関与しているかを調べるために、担癌モデルマウスのガン細胞を採取し、マイクロアレイ解析より網羅的に遺伝子の発現を測定した。測定結果を用いてgene ontology解析を行ったところ、トマチジンおよびトマチジン高含有エキスを飼料として与えたマウスのガン細胞ではtype-1 interferon signal pathwayに属する遺伝子群の発現量が減少していることが明らかになった。そこで顕著に変化のあった分子であるinterferon α -inducible protein 27 (IFI27)をsiRNAでノックダウンしたところ、*in vitro*培養下の85As2細胞の増殖を抑制した。これら結果より、トマチジンがtype-1 Interferon signal pathwayの抑制を介してガン抑制効果、特にガン細胞の肥大化および増殖を抑制することが明らかになった(*Nutrients*, 14 (5) : 1023, 2022)。今後は、トマチジンによるガン抑制効果の分子メカニズムを明らかにするために、type-1 interferon signal pathwayの上流因子のたんぱく質発現量や活性化状態をウェスタンブロッティングで明らかにする。また、IFI27の標的分子を明らかにすることで、トマチジンがガン抑制効果を誘導する一連の分子シグナルを明らかにする。



研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	静岡県の日本紅斑熱およびその関連感染症における疫学的解析を中心とした実態解明に関する研究				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	蘇 泓如
	研究分担者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	大橋 典男
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	蘇 泓如

講演題目
静岡県の日本紅斑熱患者検体中における病原体 <i>Rickettsia japonica</i> の定量的解析に関する研究
研究の目的、成果及び今後の展望
マダニ媒介性新興細菌感染症としては、日本紅斑熱、アナプラズマ症、エーリキア症などが知られており、いずれもマダニの刺咬により、ヒトに病原体が伝播される。特に、日本国内では、日本紅斑熱が多発しており、近年、患者数も年々増加し、深刻な問題となっている。日本紅斑熱の病原細菌は、「<i>Rickettsia japonica</i>」である。本症は、1984年に徳島県で初めて発見され、静岡県においても、2000年から2021年末までに41名の患者の発生が認められ、そのうち、6名が亡くなっている。その死亡率は14.6%にもおよぶ。現在、日本紅斑熱患者の遺伝子検査は、行政により、定性的な解析がなされているが、患者検体（血液や刺し口皮膚など）の定量的解析はなされていない。そこで本研究では、静岡県の日本紅斑熱患者の検体について、我々が開発したリアルタイムPCR (qPCR) による<i>R. japonica</i>の絶対定量法と次世代シーケンサーを用いたメタ16S解析の相対定量を試み、患者検体中の<i>R. japonica</i>量を明らかにすることを目的とした。 qPCRの絶対定量による解析では、患者の血液中と皮膚検体（マダニの刺し口）中の<i>R. japonica</i>コピー数を測定した結果、日本紅斑熱により亡くなられた患者の検体は、回復した患者の<i>R. japonica</i>コピー数と比較して、有意に高いことが認められた。また、次世代シーケンサーを用いたメタ16S解析の相対定量では、血液検体において、亡くなられた患者の<i>R. japonica</i>の存在割合が回復した患者の割合に比べ、有意に高いことが判った。しかし、皮膚検体においては、亡くなられた患者と回復した患者の<i>R. japonica</i>の存在割合は有意な差が見られなかった。一方で、メタ16S解析により、亡くなられた1名の患者の血液検体から<i>Staphylococcus saccharolyticus</i>が検出され、もう1名の亡くなられた患者の血液検体から<i>Enterobacter cloacae</i>が検出された。<i>S. saccharolyticus</i>は、皮膚および粘膜に常在し、脊椎椎間板炎、感染性心内膜炎の発症の報告がある。また、<i>E. cloacae</i>は腸管内常在菌で、日和見感染症の主な原因菌の一つとして知られており、敗血症性関節炎、骨髄炎、感染性心内膜炎と菌血症などを引き起こし、死亡例も報告されている。つまり、この2名の日本紅斑熱患者においては、<i>R. japonica</i>感染による重症化に、<i>S. saccharolyticus</i>や<i>E. cloacae</i>が関与した可能性が考えられた。日本紅斑熱の治療には、第一選択薬として、テトラサイクリン系抗生剤 (TC) が使用されているが、一般に常在菌などはTC耐性菌が極めて多い。したがって、日本紅斑熱の診断・治療の遅れによる重症化には、TC耐性日和見感染細菌の混合感染が関与している可能性が示唆された。 以上、本研究では、日本紅斑熱患者の検体中における病原体 <i>R. japonica</i> の定量に成功し、さらに、日本紅斑熱の重症化に、日和見感染菌の関与も示唆した。 よって、得られた知見は、国内の日本紅斑熱の治療における薬剤選択において、極めて重要な知見を提供するものと考えられる。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研 究 テーマ	豆乳の物性制御による製品価値の更なる向上に向けたタンパク熱変性予測モデルの探索				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	村上 和弥
	研究分担者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	下山田 真
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	村上 和弥

講演題目
ジュール加熱を用いた豆乳構成タンパク質の熱変性シミュレーション
研究の目的、成果及び今後の展望 【研究目的】豆乳は、日本を含め東アジアや東南アジアで古くから親しまれている大豆を原料とした飲料である。近年、豆乳の健康効果に注目が集まっており、欧州をはじめとして海外でも消費量が増加傾向にある。豆乳市場は今後も拡大が続けることが予測され、様々なユーザーニーズに応えるべく、より多種多様な豆乳製品の開発・提供が望まれる。豆乳中に含まれるタンパク質は、酵素失活や殺菌処理時の加熱により変性するが、この時の変性方法の違いにより粘度などの物性が変化することが報告されている。よって構成タンパク質の変性の制御により、狙いの物性の豆乳、即ちユーザー嗜好にマッチした豆乳開発が実現できると考えられるが、変性率と熱処理の関係については精緻に解明できていない。そこで本研究では、豆乳物性のコントロールに向けたタンパク質の熱変性モデルの確立を目指し、熱処理条件(加熱温度・処理時間)の違いによるタンパク質熱変性シミュレーションモデルの開発を行った。対象のタンパク質は、大豆構成タンパク質の 8 割以上を占める β-conglycinin (7S)と glycinin (11S)とし、更に豆乳の青臭さの原因となる酵素の Lipoxigenase (LOX)についてもシミュレーションを行った。熱処理は、均一かつ迅速な昇温が可能なジュール加熱を用いて行った。 【成果及び今後の展望】市販の大豆(フクユタカ)より調製した生豆乳(固形分：8.7%)について示差走査熱量(DSC)測定を行い、7S, 11S それぞれの熱変性時の速度パラメータ(活性化エネルギー、頻度因子)およびエンタルピー変化(ΔH)を求めた。次に、生豆乳を 100 mL 計量し 70, 85℃でジュール加熱を行い、各処理時間におけるサンプルについても同様に DSC 測定を行うことで、各タンパク質の ΔH を求め、生豆乳測定時の ΔH と比較することでタンパク質の変性率を算出した。ここで、タンパク質の変性速度は変性率を α、加熱時間を t、速度定数を k、反応次数を n として微分方程式 $da/dt = k(1-\alpha)^n$ と表される。この式に DSC 測定より求められた速度パラメータを適用しシミュレーションを作成し、ジュール加熱処理後のそれぞれのタンパク質の変性率とシミュレーション結果より反応次数 n について最小二乗法を用いてフィッティングを行ったところ、7S では $n=3.25$、11S は $n=1.94$ と求められた。次に 65, 70, 72.5℃でジュール加熱処理を行ったサンプルについて、リノール酸を用いた酸化反応速度を紫外可視分光光度計により求めることで LOX の残存率を算出し、変性率として評価した。各処理温度における変性速度より速度パラメータを求めシミュレーションに適用したところ、反応次数 $n=1$ で実測値と良好な一致を示した。今後はこのシミュレーションを元に、タンパク質の変性速度や変性率を条件として豆乳の物性評価を行い、熱処理が及ぼす豆乳物性への影響を明らかにする。

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	硫黄不均化細菌を用いた重金属イオン除去の検討				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	梅澤 和寛
	研究分担者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	谷 幸則
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	梅澤 和寛

講演題目
硫黄不均化細菌による重金属イオン除去を評価するための条件検討
研究の目的、成果及び今後の展望
日本には数多くの休廃止鉱山があり、鉱山廃液中の重金属イオンを長期に渡り低コストで除去する方法が模索されている。硫化水素は重金属と難溶性の塩を形成しやすいため、重金属イオンの除去に硫酸還元細菌が利用されている。しかし、硫酸還元細菌を用いた廃水処理では過剰な硫化水素の生成や、生育に必要な有機物を産出する発酵細菌がバイオフィルムを生成し透水性の低下を引き起こすなどの問題がある。硫黄不均化細菌を利用することで上記の問題を解決できる可能性がある。硫黄不均化細菌は、単体硫黄やチオ硫酸などの単一の硫黄化合物から硫化物と硫酸を生成する硫黄不均化反応によりエネルギーを獲得する。硫化水素濃度が高いと熱力学的に硫黄不均化反応が進行しづらいため、硫黄不均化細菌による廃水処理では硫化水素の過剰生成を抑制されることが期待される。さらに、独立栄養微生物であり有機物の添加が不要で、単体硫黄を添加するだけで硫黄不均化反応が進行すると考えられる。したがって、硫黄不均化細菌は重金属イオン除去を自己制御できる可能性があり、持続可能な鉱山廃水処理につながると期待できる。最初の段階として、重金属イオン除去を評価するための条件検討を行った。硫黄不均化細菌は、<i>Dissulfurispira thermophila</i> T55J 株を用いた。T55J 株の生育に用いる培地は全て無機化合物から構成された合成培地であり、重金属と難溶性の塩を作成する炭酸水素ナトリウム（バッファーおよび炭素源）やリン酸二水素カリウム（リン源）を含んでいる。T55J 株を含む多くの独立栄養硫黄不均化細菌は有機物を利用できないため、炭酸水素ナトリウムを他の炭素源に代替することが困難である。そのため、生育用培地とは異なる硫黄不均化反応溶液を利用する必要があり、重金属塩を形成しづらい HEPES バッファーを反応溶液に用いることにした。炭酸水素ナトリウムを 10 倍希釈した生育用培地に HEPES (10mM) を加えた条件下でも 55J 株は生育したため、HEPES が硫黄不均化反応を阻害しないことを確認した。また、培地には硫黄不均化反応で生成する硫化水素をトラップして硫黄不均化反応を進行させるために酸化鉄を加えている。硫黄不均化細菌を介して生成した硫化鉄は、化学合成された硫化鉄に比べて粒子が小さいため、添加した重金属と反応しやすい可能性がある。そこで、N₂/CO₂ 混合ガスをバブリングし硫化水素を気体として排出しながら培養を行いたい。そして、硫化鉄を含まない菌液と重金属イオンを HEPES 溶液に加えて、硫黄不均化細菌による重金属イオン除去を評価したい。また、これまで好酸性の硫黄不均化細菌の培養例は報告されていないが、同位体を用いた実験により酸性環境で微生物による硫黄不均化が生じていることが明らかとなっている。酸性下では重金属イオンが沈殿しづらく重金属イオン除去の評価に適しているため、湖沼などの環境から好酸性硫黄不均化細菌の培養も試みたい。

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	カロリー制限が動脈硬化性疾患の発症を予防するメカニズム ～転写因子 FOXO1 発現による骨格筋性状変化を介した新規メカニズム～				
研究組織	代 表 者	所 属 ・ 職 名	食品栄養科学部・教授	氏 名	三浦 進司
	研究分担者	所 属 ・ 職 名	食品栄養科学部・助教	氏 名	佐藤 友紀
		所 属 ・ 職 名	食品栄養科学部・客員共同研究員	氏 名	榛葉 有希
		所 属 ・ 職 名	京都府立大学・教授	氏 名	亀井 康富
		所 属 ・ 職 名	常葉大学・教授	氏 名	池田 雅彦
	発 表 者	所 属 ・ 職 名	食品栄養科学部・教授	氏 名	三浦 進司

講演題目
カロリー制限が動脈硬化性疾患の発症を予防するメカニズム ～転写因子 FOXO1 発現による骨格筋性状変化を介した新規メカニズム～
研究の目的、成果及び今後の展望
【研究の目的】カロリー制限 (CR) は動脈硬化を予防する。近年、骨格筋から分泌される生理活性物質 (マイオカイン) が多臓器機能に影響することが報告されており、これまでに演者は骨格筋の遅筋化因子 PGC-1α の発現増加と、それに伴うマイオカイン分泌が動脈硬化進展を抑制する可能性を示してきた。そこで本研究では、CR によって骨格筋で発現量が増加する転写因子 FOXO-1 が動脈硬化の予防に関与するか否かを明らかにすることを目的とした。 【方法】動脈硬化易発症モデル ApoE-KO マウスと、骨格筋特異的 FOXO-1 過剰発現 (FOXO-1Tg) マウスを交配させた、ApoE-KO/FOXO-1Tg マウスを作出し、実験に用いた。また、TNFα によって炎症を惹起させた血管内皮細胞 (HUVEC) を用い、FOXO-1Tg マウス由来血清、マイクロアレイ解析から見出された FOXO-1 依存的マイオカイン候補 X の抗炎症作用を評価した。 【成果および今後の展望】ApoE-KO/FOXO-1Tg マウスの動脈硬化巣面積は ApoE-KO マウスと比較して有意に減少しており、動脈硬化巣中の VCAM-1、Mac-2 タンパク質量も有意に減少していた。HUVEC への FOXO-1Tg マウス由来血清、あるいは FOXO-1 依存的マイオカイン候補 X の添加は、HUVEC での VCAM-1 mRNA 発現増加を抑制した。本研究により、骨格筋における FOXO-1 の発現増加が、動脈硬化の進展を抑制することが明らかになり、それには血管内皮における VCAM-1、MCP-1 の発現抑制が関与することが示唆された。加えて、この機序には、骨格筋での FOXO-1 の発現増加に伴い分泌増加するマイオカインが関与する可能性を見出した。今後、マイオカイン候補 X が、マイオカインとして動脈硬化の進展を抑制するか否かを検証する必要がある。 【論文発表】Shimba, Y., Senda, R., Katayama, K., Morita, A., Ikeda, M., Kamei, Y., and Miura, S.: Skeletal muscle-specific forkhead box protein-1 overexpression suppresses atherosclerosis progression in apolipoprotein E-knockout mice. <i>Biochem Biophys Res Commun</i>, 540, 61-66 (2021).

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研 究 テーマ	概日リズム・時計遺伝子と健康				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	小林 公子
	研究分担者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	大原 裕也
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	小林 公子

講演題目
概日リズム・時計遺伝子と健康
研究の目的、成果及び今後の展望
地球上にすむすべての生き物は、地球の自転にあわせて 24 時間周期のリズムを刻む時計遺伝子と概日リズムを保有している。しかしながら、社会構造やライフスタイルの変化に伴い、夜も明るい 24 時間社会が作られ、私たちは概日リズムに反した生活を余儀なくされている。また概日リズムの乱れは、様々な疾患を引き起こす原因となることも知られている。本研究では、7 種類の主要時計遺伝子（<i>CLOCK</i>、<i>BMAL1</i>、<i>PER1</i>、<i>PER2</i>、<i>PER3</i>、<i>CRY1</i>、<i>CRY2</i>）の遺伝型と生活習慣（運動習慣、睡眠時間）の組み合わせが生活習慣病発症リスクの指標となる臨床検査値に与える影響を明らかにすることを目的とした。 健康診断を受診した成人男性 575 人を対象とした分析により、<i>PER3</i> の遺伝型と HbA1c 値および HDL-C 値、<i>CRY1</i> の遺伝型と LDL-C 値の間に関連がみられた。すなわち、時計遺伝子の個体差が糖代謝および脂質代謝に影響を与えていることが示唆された。 運動習慣の有無もしくは睡眠時間は、それ単独では糖代謝や脂質代謝に与える影響は検出できなかったが、時計遺伝子の遺伝型と組み合わせで交互作用を解析したところ、運動習慣の有無と <i>CRY1</i> 遺伝型が血糖値と HbA1c 値の決定に、運動習慣の有無と <i>CLOCK</i> 遺伝型との組み合わせが HbA1c 値の決定に影響を与えており、運動習慣のない群では遺伝型の影響が強くなることがわかった。さらに睡眠時間と <i>CRY2</i> 遺伝型との組み合わせが HDL-C 値の決定に影響を与えており、睡眠時間の短い群で遺伝型の影響が強くなることがわかった。本研究では、運動習慣の有無や睡眠時間が、時計遺伝子の発現や機能にどのような影響を及ぼすのかについては分析ができていないので、今後さらなる解析が必要であるが、適切な運動習慣や睡眠時間は、概日リズムの乱れや生活習慣病の予防に効果があることが示唆された。

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	変異・発がん物質グリシドールのヘモグロビンアダクト生成に関与する影響因子の解明				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	増田 修一
	研究分担者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	島村 裕子
		所属・職名	食品栄養科学部・客員教授	氏名	中村 好志
		所属・職名	食品栄養科学部・客員教授	氏名	下位 香代子
		所属・職名	東洋大学・准教授	氏名	細谷 孝博
		所属・職名	東海大学農学部・教授	氏名	永井 竜児
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	増田 修一

講演題目
変異・発がん物質グリシドールのヘモグロビンアダクト生成に関与する影響因子の解明
研究の目的、成果及び今後の展望
【目的】食品中に存在するグリシドール脂肪酸エステル (GEs) は、生体内でリパーゼの作用により、発がん物質であるグリシドールに分解された後、血中ヘモグロビン (Hb) の N 末端バリンと結合し、Hb アダクトである diHOPrVal を生成する。近年、グリシドール以外の化学物質についても diHOPrVal を生成する可能性が示唆されており、Hb アダクトの生成には様々な因子が影響すると考えられる。そこで、本研究では、グリシドール Hb アダクト生成に関与する各種影響因子について検討することを目的に、グリシドール関連化合物と Hb との相互作用および diHOPrVal 生成について検討した。さらに、diHOPrVal 生成に対する肥満状態の影響について検討した。 【方法】サーマルシフトアッセイおよび紫外・可視分光法を用いて、Hb とグリシドール関連化合物の相互作用を解析した。<i>in vitro</i> 試験では、関連化合物とヒト Hb を 1~20 日間反応させ、diHOPrVal および各化合物由来の Hb アダクトについて、改変エドマン分解を用いた LC-MS/MS により測定した。<i>in vivo</i> 試験では、ICR マウス (♂、5 週齢) に関連化合物を単回、または 14 日間反復投与し、血中 diHOPrVal 量を改変エドマン分解を用いた LC-MS/MS により測定した。さらに、肥満モデルマウスに GEs を経口投与し、血中 diHOPrVal 生成量およびリパーゼ活性を測定した。 【成果】サーマルシフトアッセイおよび紫外・可視分光法を用いて、関連化合物と Hb の相互作用を解析したところ、各物質は Hb と相互作用を示し、Hb のヘムグループへの作用および Hb 構造内の疎水性の変化などが認められた。<i>in vitro</i> 試験において、Hb とグリシドール関連化合物を反応させたところ、3-MCPD、エピクロロヒドリンおよびアリルアルコールから diHOPrVal が生成し、各化合物由来の Hb アダクトが生成した。<i>in vivo</i> 試験における ICR マウスへの単回投与では、グリシドールおよびエピクロロヒドリン投与群、14 日間反復投与では、両物質に加えて、3-MCPD、グリセルアルデヒドおよびアリルアルコール投与群から diHOPrVal が生成した。リパーゼ活性の低下が認められた肥満モデルマウスに GEs を投与したところ、正常マウスに比べ、diHOPrVal 量が減少したことから、リパーゼ活性は、GEs からのグリシドールの脱離に関与していることが推察された。 【今後の展望】今後、diHOPrVal 等の Hb アダクトの生成に対する化学物質の体内動態や Hb の状態などの影響因子を明らかにすることで、バイオマーカーとしての Hb アダクトを用いた化学物質の網羅的リスク評価の確立が期待される。