神奈川工科大学

次世代センシングシステム研究所
研究報告

第11巻

2017（平成29年度）

神奈川工科大学

工学教育研究推進機構

次世代センシングシステム研究所研究報告

目次

アロステリック酵素を用いたエフェクターのフローインジェクション計測・・・・・・・・・・1

応用化学科　佐藤生男

唾液中の微生物のメタゲノム解析による疾病予知診断法の開発及び健康食品中のカテキン類のセンシングシステムの開発　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・6

応用化学科　齊藤貴

医用画像診断支援システムの高度化に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・10

電気電子情報工学科　武尾英哉

疾病検査に関する迅速なセンシング技術の開発・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・14
−癌と糖尿病診断用酵素の探索とセンシングシステムへの応用−

応用バイオ科学科　山村晃

健康な食生活を促す食事診断法の開発を目指した食のケミカルセンシング　・・・・・・・・・18

栄養生命科学科　飯島陽子

アロステリック酵素を用いたエフェクターのフローインジェクション計測

研究者名： 応用化学科　　佐 藤 生 男

1.　研究成果の要約

厚さが5 mmのシート状の炭素繊維をディスク状に打抜き，次いで化学修飾（化学メッキ）して酵素固定化用の担体に用いた．昨年度，塩化パラジウム液をこのディスク状の炭素繊維に一度，浸み込ませた後にパラジウム(II)イオンをパラホルムアルデヒドで還元し，次いで金属パラジウムと金酸とをイオン交換させ，金属状態の金に換える方法を適用した．また、酵素タンパク質を振盪・固定化する際には予め，炭素繊維表面の気泡の除去が不可欠であり，両官能性物質のアミノエタンチオールを炭素数の異なる物質，アミノヘキサメチレンチオールに適用した．さらにまた酵素触媒として，代表的なアロステリック酵素の一つであるグリコーゲンホスホリラーゼ*b*を用いることにより，昨年度，酵素グリコーゲンホスホリラーゼ*b*を72-82%とほぼ定量的に固定化することができた．また金属酵素のアルカリホシファターゼをアポ酵素活性化法により，亜鉛(II)イオンの微量計測で，特に低濃度側での定量を正確に計測することで、より高感度な計測が可能にされた．

2.　研究概要

2.1　計測原理

糖類化合物の代謝系に認められるアロステリック酵素は，その特異な制御作用を発揮することが既知である．酵素タンパク質分子にあって，その活性部位とは空間的に異なる部位（エフェクター部位）に，エフェクターという分子が結合することで，本酵素の触媒活性が調節され，ひいては代謝系の制御がなされていることは既往の事実である．代表的なアロステリック酵素として，グリコーゲンホスホリラーゼ*b*はよく知られ，本酵素のエフェクターであるAMPは，この酵素のエフェクター結合部位に配位（結合）と解離に伴って，触媒活性が制御されている．

特に，このAMP分子のエフェクターとしての作用に注目し，酵素触媒にグリコーゲンホスホリラーゼ*b*を用い，次のグルコース鎖の伸長反応で生成される正リン酸を分光測光法的で活性の計測が果たされる．

$$\text{グリコーゲン}_{(n)} + \text{グルコース 1-リン酸} \xrightarrow{\text{グリコーゲンホスホリラーゼ } b} \text{グリコーゲン}_{(n+1)} + \text{正リン酸}$$

そこで，この反応で生成される正リン酸を一度，リンモリブデン酸塩の誘導体とし，さらにマラカイトグリーンと反応させることで発色，生成されるイオン会合体をモニタリングすることにより，ひいてはこの反応を分光測光法的に，間接的にエフェクターの

フローインジェクシン分析がなされるものとした．医療計測上，血液中の AMP 濃度の計測は，手術後の患者の回復度の指標として，意義を有するものである．

２．２　グリコーゲンホスホリラーゼ *b* の固定化

アロステリック酵素の代表例として，グリコーゲンホスホリラーゼ *b*（略称 GP*b*，EC 2.4.1.1，11.8 U/mg 固体物，ウサギ筋肉起源，Sigma-Aldrich 社製）を用いた．

(a)　炭素繊維の酸処理過程：　まず，ポンチで打ち抜いたディスク状（内径 約 7.0 mm，高さ 5.0 mm）の炭素繊維（日本カーボン(株)製　No.シ 01007-044）15 個をアセトン中で超音波洗浄し（15 分間），脱脂，乾燥した．次に，10 mM 硝酸液中に浸漬し(30 分間，75℃)，吸引ろ過後，洗浄，分離して，110℃で乾燥した．

(b)　金酸液の含浸：　テトラクロロ金(Ⅲ)酸四水和物（0.33 g）を 10 mL の純水中に溶解し（80 mM 液），50 mL 容の三角フラスコに移し，硝酸処理後に，予め乾燥済の炭素繊維を保冷庫内（4 ℃）で，一晩(約 18 時間)ゆっくりと往復振盪（60 rpm，振れ幅 25 mm）した．この金酸液に浸漬，振盪済のディスク状の炭素繊維をろ過吸引，洗浄し，保冷庫内で乾燥した．なお，往復振盪する前に，予め，真空ポンプを用いて、炭素繊維表面に存在する気泡を除去することとした。

(c)　パラジウムによる金酸とのイオン交換法による金属状の金への還元：　化学メッキ法により，金属パラジウムと金イオンとが置換反応により，金属状の金が炭素繊維の表面で被覆されるようにした．先ず初めに，300 mL 容の三角フラスコに飽和塩化パラジウム溶液（100 mL）を加え，次いで硝酸処理済みの炭素繊維を添加し，恒温槽（60℃）中で 2 時間保温し，室温に冷めてから 30 分間減圧状態に置いた．次いで，恒温室（4℃）で約 18 時間以上，振盪（60 rpm;振れ幅　25 mm）させた．

これまでと同様，吸着されたパラジウムを還元する為，予めパラホルムアルデヒド 0.180 g を別の三角フラスコに秤取し，総量として純水 200 mL を少しずつ撹拌しながら加えて，恒温槽中で約 2 時間，溶解させた（60℃）．このパラホルムアルデヒド溶液 200 mL をディスク状の炭素繊維が浸漬したパラジウム溶液中に，さらに恒温槽中（60℃）で 5 分間毎に 10 mL ずつ添加し，4 時間をかけて還元反応させた．室温に戻した後，減圧吸引ろ過を行い，100 mL の純水で洗浄した．吸引ろ過操作で水滴が出なくなるまで乾燥させ，恒温室（4℃）で風乾させた．

さて，テトラクロロ金(Ⅲ)酸四水和物（0.0693 g）を 50 mL 容の三角フラスコで秤量し，さらに触媒用の塩化ニッケル液 21 mL(Ni^{2+}として，5000 ppm に調製)を加え，溶解した．この液にディスク状の炭素繊維を添加し，30 分間減圧下に置き，恒温室（4℃）で約 1 日間振盪させ，金属パラジウムを金酸（Ⅲ）イオンとイオン交換し，金属状の金に置換させることとした．その後，パラジウム液の処理と同様の操作でろ過と乾燥を行った．

(d)　アミノアルキルチオール化：　金属状の金に置換，被覆したディスク状の炭素繊維を 20 mM 6-アミノ，1- ヘキサンチオール(塩酸塩)液（0.05 M リン酸ナトリウム緩衝液中，pH 8.0,

100 mL）に入れ，予め室温で液中の気泡を真空ポンプで除去し，再び4℃の保冷庫内で往復振盪（24時間以上，60 rpm，振れ幅 25 mm）した．その後，吸引ろ過して洗浄（0.05M リン酸ナトリウム緩衝液，pH 8.0）し，さらに4℃の保冷庫内で乾燥させた．

(e) グルタルアルデヒド活性化： 2.5%グルタルアルデヒド溶液（200 mL）で架橋法（0.1M リン酸ナトリウム緩衝液，pH 7.0，60 min）により作用（グルタルアルデヒド活性化）させた後，0.05 M リン酸ナトリウム緩衝液（pH 8.0），次いで純水で洗浄し，グルタルアルデヒドの匂いが消えるまで洗浄し，さらに30分間空引きし，乾燥が十分になるまで吸引ろ過，乾燥した．

(e) 酵素とのカップリング： この乾燥済みのディスク状の炭素繊維に対し，100 mg の重さのGP*b*を予め最終濃度が0.1Mになるように調整したリン酸ナトリウム緩衝液（pH 7.0）10 mL 中に溶解し，8.0 mL を固定化に適用した．48時間以上，4℃の保冷庫内で振盪後，0.1 M リン酸ナトリウム，緩衝液0.5 M塩化ナトリウム，純水の順で各1L ずつ洗浄し，定量的に酵素固定化物を得た．このようにして本酵素を固定化した．なお，Schiff 塩基の残存を考慮し，念のため，水素化ホウ素ナトリウム液で還元処理後，酵素固定化炭素繊維（3個のディスク）をポリアセタール製のリアクタに詰め，さらにアクリル製の恒温ホルダーに取り付け，計測システムに組み込んだ．

２．３ 酵素触媒反応のモニタリング

マラカイトグリーンを用いた正リン酸の分光測光法に基づいたフローインジェクション分析の改善を既に行った．酵素触媒反応に適した中性付近の pH で，安定した計測条件を検討し，最適計測条件として，キャリヤーの組成が 50 μM グリセロリン酸と 15 mM メルカプトエタノールとからなる緩衝液(pH 6.2)の適用が最適であったことを再確認した．一方，発色試薬としては 0.11 M モリブデン酸液 − 0.22 mM マラカイトグリーンの組成からなる混合液を用いることとした．

３． 結果

先ず，炭素繊維上にメッキ法により金を固定化し、定量的に酵素を固定化できることが確認された．また，6-アミノヘキサンチオールを用いることで，原点を通る検量線が得られ、2.0 mM 以下のＡＭＰを一昨年度よりも高い勾配の直線で計測することができた．

４． 今後の展望

炭素繊維を担体とする新たなグリコーゲンホスホリラーゼ *b*の分光測光法によるエフェクターのフローインジェクション分析法を提唱し，定量的な固定化法（化学メッキ法を適用）を見出した．パラジウムで予め被覆した炭素繊維を金酸液に含浸（振盪・攪拌）し，金属状の金に置換した標品を酵素固定化用の担体に適用でき．また，気泡を炭素繊維表面から予め，徹底的に除去しておく必要があった．真空ポンプを

適用することで，グリコーゲンホスホリラーゼ *b* を定量的に固定化でき，固定化率の飛躍的改善も示すことができた。またアポ酵素活性化法にアルカリホスファターゼを用いることで，10 nM～10 mM の亜鉛(II)イオンを計測することが可能であった。

謝辞

本研究課題を通じて，炭素繊維の化学的利用を創案することができた。特に、従来の微細孔性ガラス（Controlled-pore Glass ; CPG と略す）に匹敵する担体材料の開発に成功し，フローインジェクション分析では，CPG をしのぐ流動特性や，アポ酵素活性化法におけるアポ酵素リアクターの物理的変換に顕著な成果を上げることができた。本研究に数々の支援をいただいた関係各位や教員経費を重点配分された本学に感謝する.

研究発表リスト

印刷物発表

(1) Ikuo SATOH, Yu TAKAHASHI, and Yasushi KANZAKI: "Flow measurement using alkaline phospatase Immobilized onto carbon fibers chemically modified", *Proceedings of the 61st Chemical Sensors Symposium*, **34**, Supplement A, pp.46 – 48, Tokyo, March 9, 2018.

(2) Ikuo SATOH, Yuuki HIROTA and Yasushi KANZAKI : "A measurement system and its characteristics using packings with fragments from cucumber's peels immobilized onto carbon fibers", *Proceedings of the 62nd Chemical Sensors Symposium*, **33**, Supplement B, pp.72 - 74, Nagasaki, September 10-11, 2017.

口頭発表

(1) 佐藤生男，高橋　佑，神崎愷：「化学修飾した炭素繊維に固定化したアルカリホスファターゼを用いる亜鉛（II）イオンのフロー計測」，公益社団法人電気化学会，化学センサ研究発表会，第 63 回講演会，No.15，東京，3 月 9 日，2018 年.

(2) 佐藤生男，廣田優希，神崎愷：「きゅうりの皮の細片を炭素繊維に固定化した充填物を用いた計測システムとその特性」，公益社団法人電気化学会，化学センサ研究発表会，第 62 回講演会，No.24，長崎，9 月 10 日，2017 年.

唾液中の微生物のメタゲノム解析による疾病予知診断法の開発及び健康食品中のカテキン類のセンシングシステムの開発

研究者名：工学部応用化学科　　齋藤　貴

１．研究の目的

(1)目的：近年、少子高齢化が急速に進み、これに伴い人々の健康意識の高まりも大きくなっている。これを背景に、個人の自己管理の促進の面や多検体試料の分析を迅速に処理できるシステムの需要が増え続けていくものと予想される。本研究は、次の2点からアプローチし、研究を行った。

・疾病の予期診断、早期診断を目指し、ヒトの口腔内に生息する微生物(病原菌や疾病につながる細菌など)を明らかにすること、さらにその細菌を疾病に関わる主要マーカーとして、予期診断につながる可能性のある微生物を提案することにある。

・近年、健康意識の高まりにより飲料水や食品に健康に関わる成分として、特保食品でも注目されている(+)-カテキンについて、簡易迅速な多検体の分析法の開発を行う。

(2)研究期間内(平成29年度)に明らかにする事項：ヒトの口腔内の唾液に含まれる微生物について、メタゲノム解析により網羅的に微生物群を明らかにすること、さらに疾病につながる可能性のある微生物種を見出すこと、また健康志向の代名詞である飲料水中の(+)-カテキンの分析用センサの開発を行う。

２．研究の必要性及び従来の研究

(1) 唾液中の微生物のメタゲノム解析による疾病予知診断法の開発

近年、高齢化社会を迎え、人々の医療に関わる時間が今後ますます増加することが予想され、これに反し従来より医療費削減の背景も同時進行し、相反する社会的課題となっている。医療に関わる時間と経費の削減には、病気にかからない、もしくは疾病の早期診断を円滑に行うことも解決に至る一手法である。この際、ヒトの体内動態を観察し疾病を発症する可能性を前もって予測できれば、予防対策や生じた疾病の軽減にもつながる。そこで、ヒトの口腔内に存在する微生物群を網羅的に知ることで、疾病につながる可能性の高い病原菌などの存在から初期対応が可能となる。強いては、医療費の軽減にもつながる手法に発展する可能性がある。

(2) 健康食品中のカテキン類のセンシングシステムの開発

健康食品の代名詞にもなっているカテキン類は、特保食品の増加も一つの例として、近年注目されている活性成分である。このカテキン類の分析には、紫外検出液体クロマトグラフィーが広く利用されているが、飲料水中の多種多様な共存物により分離能の低下、それに伴う定量精度の低下などの課題が残り、正確な分析値への足かせとなっている。

本法は、カテキン類の一つとして(+)-カテキンを取り上げ、高選択的・高感度なセンサを開発し、簡単な前処理のみで、高感度センサにより多検体を迅速に分析できるセンシングシステムを開発することにある。製造現場や工場での品質管理などの面で有用となりえる。

３．期待される効果

研究の特色・独創的な点と予想される結果と意義

(1) 唾液中の微生物のメタゲノム解析による疾病予知診断法の開発

ヒトの唾液から口腔微生物種を幅広く把握し、その口腔微生物と関連する疾患の早期診断が可能となり、強いては事前に知ることで疾病の予防につながる手法に展開できる可能性もある。

(2) 健康食品中のカテキン類のセンシングシステムの開発

カテキン類は生理活性の高い天然物質であり、種々の飲料製品中に含まれ、流通している。本法は、(+)-カテキンのみを特異的に検出し応答するセンサを開発することにある。複雑な前処理を必要とせず、多検体を迅速に分析できる手法を開発することは、今後の健康志向のさらなる高まりにも有効な分析法の一つとなることが期待できる。

4．研究の経過及び結果

今年度は、次の流れの計画に基づいて研究を進めた。

(1) 唾液中の微生物のメタゲノム解析による疾病予知診断法の開発

1)概要

近年、口腔微生物(口内細菌)が全身疾患を引き起こす要因ともなることが示唆されている。全身疾患には動脈硬化なども含まれ、死に直結する可能性も危惧される。そこで、ヒトの唾液から口腔微生物種を幅広く把握し、その口腔微生物と関連する全身疾患の早期診断が可能となり、強いては事前に知ることで疾病の予防につながる手法に展開できる可能性がある。本研究は、その基礎検討として、唾液中に含まれる微生物をメタゲノム解析により分析し、唾液中の微生物種の生物学的なデータの収集及びそれらの微生物の性質の評価を行うことを目的とした。

2)実験

疾患の自覚症状を持たず、健常と思われる20歳代前半17名(21～23歳、男性11名、女性6名)の唾液についてメタゲノム解析を行い、唾液中の微生物群を調査し、評価を行った。

3)結果及び検討

20歳代前半17名の唾液についてメタゲノム解析を行ったところ、16属43種の微生物が検出された。図1に、メタゲノム解析により検出された20歳代前半の唾液中の微生物群の検出数の割合を示した。各微生物の大分類(属)と小分類(種)の検出数を比較した結果、大分類における上位5属は、*Streptococcus* sp.、*Prevotella* sp.、*Neisseria* sp.、*Gemella* sp.、*Granulicatella* sp.となった。また、小分類における検出数の上位3種には、大分類における上位5属のうち、*Streptococcus* sp.、*Granulicatella* sp.の菌種が認められた。上位5属は舌や歯垢、歯肉など口腔に広く存在している例や、主に心内膜炎など血管障害の全身疾患への関与が報告されている。そのため、これらの微生物が、免疫機能の低下などの身体の状況にあわせて影響を及ぼし、疾患を誘発する可能性もあり得るものと考えられる。また、図2,3に、男性および女性から解析された唾液中の微生物群の検出数の割合を示した。男女別に微生物の大分類(属)および小分類(種)の検出数を比較した結果、大分類の上位2属までは男女共に*Streptococcus* sp.、*Prevotella* sp.となった。一方、大分類の上位3~5属は男女で異なり、男性が*Neisseria* sp.、*Granulicatella* sp.、*Haemophilus* sp.となり、女性が*Gemella* sp.、*Porphyromonas* sp.、*Fusobacterium* sp.となった。また、小分類では、男女ともに*Streptococcus mitis*が共通して最も多くの被験者から検出された。一方で、男女別に異なる頻出の小分類菌種としては、約半数の男性被験者から*Granulicatella adiacens* が検出され、約半数の女性被験者から、*Gemella sanguinis*、*Porphyromonas pasteri*、*Streptococcus infantis*、*Streptococcus parasanguinis* が検出された。男性から検出された*Granulicatella adiacens* は、肺炎球菌感染症の恐れの報告から肺炎の指標となり、女性から検出された*Gemella sanguinis* は、心内膜の起炎の報告から心内膜炎の指標となりうると推測される。それゆえ、これらの唾液中の指標微生物種から、男女別に引き起こす可能性のある全身疾患が示唆された。

さらに、今回解析した20歳代前半全体の微生物の構成と、他の研究報告のデータによる健常者(全身疾患がなく、口腔内にも疾患がない8名)における唾液中の微生物の構成の比較を行った。

その結果、健常な20歳代前半全体と研究報告データの健常者全体の双方において、菌属の優占位(優先的に検出される属の順位)は*Streptococcus* sp.、*Neisseria* sp.、*Gemella* sp.、*Granulicatella* sp.の順になることが認められた。

以上のことから、全身疾患のないヒトの唾液中では、上記4属が優先的に検出される傾向があることが認められた。

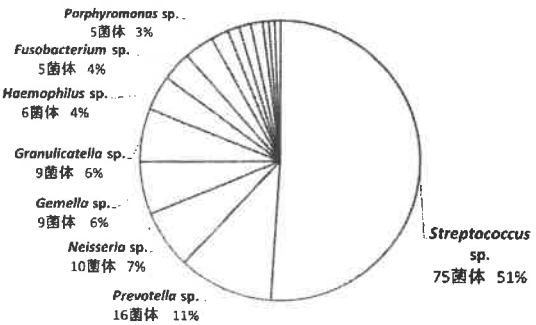


図1　20歳代前半の唾液中の微生物種の割合

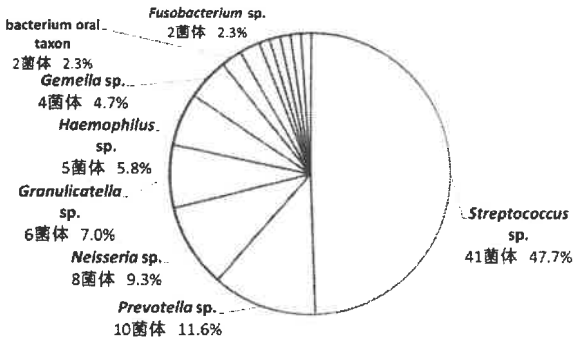


図2　男性の唾液中の微生物種の割合

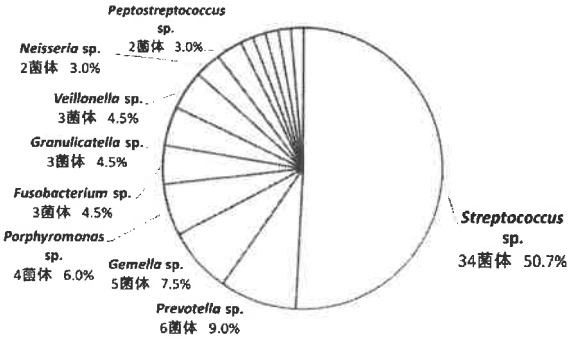


図3　女性の唾液中の微生物種の割合

(2)健康食品中のカテキン類のセンシングシステムの開発

1)概要

近年、健康志向の高まりにより老化防止作用・血圧上昇の抑制など様々な生理活性を持つカテキン類が注目され、カテキン類を豊富に含む飲料水が市販されている。これらの背景より食品中のカテキン類を分析する上でより迅速に高選択で高感度な分析方法が望まれる。そこで本研究では、モレキュラーインプリント法に基づいた(+)-カテキン分子の鋳型薄膜((+)-カテキンIP)を作製し、これを水晶振動子に被覆したQuartz crystal microbalance (QCM)センシングシステムへの応用を行った。

2)実験

ギ酸にnylon 6と(+)-カテキンを加え、3時間攪拌した。溶解したnylon 6-ギ酸溶液をデュアルチャンネル型水晶振動子(ATカット、30 MHz)の金電極部位の1chへキャスティングした。乾燥後、作製したQCMをフローセルに装着し、シリンジポンプ-周波数モニター系に組み込んだ。そして、メタノール水溶液を移動相として通液し、(+)-カテキンテンプレート分子を脱離させ、(+)-カテキン分子の鋳型サイトを有するnylon 6薄膜((+)-カテキンIP)を金電極面上に作製した。このQCMシステムにより(+)-カテキンの応答能を評価し、さらに飲料水中に共存する物質や類似した分子構造を持つゲスト分子の検出能の比較評価を行った。またゲスト分子の検出能の評価に非鋳型薄膜を被覆したQCMを組み込んだ同システムについても測定し、比較評価した。

3)結果及び検討

a)(+)-カテキン濃度に対する周波数減少及び水晶振動子への吸着量の関係

(+)-カテキンIP－QCMを用いて、濃度の異なる(+)-カテキンを測定し、その応答を調べた結果を 図4 に示した。(+)-カテキン濃度が3 mg/Lから100 mg/Lの範囲での周波数の減少量は5.5 Hzから175.4 Hzに比例的に増加した。

その際、0.19 ngから6.14 ngの(+)-カテキン分子の吸着が認められた。このことより(+)-カテキンは、濃度に依存して定量的にQCM上の鋳型薄膜に捕捉されることが分かった。

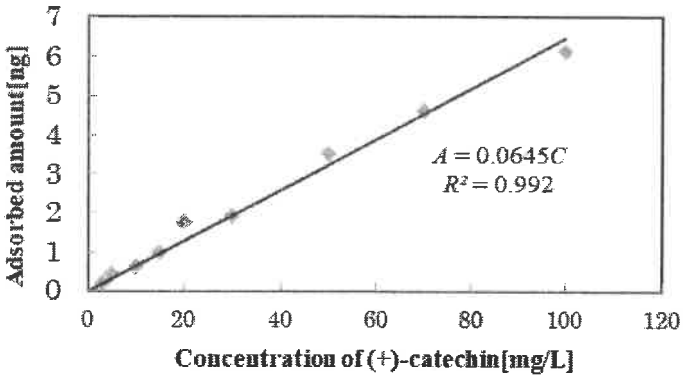


図4　(+)-カテキンの濃度とQCMへの吸着量との関係

b) (+)-カテキン IPの検出における選択性の評価

(+)-カテキンIP－QCMを用いたQCMセンシングで(+)-カテキン、ゲスト分子としてダイゼイン、フェノール、カテコール、ゲニステイン、L-アスコルビン酸、エピガロカテキンガレート、カフェイン、エピカテキンについて、(+)-カテキンIPへの分子の吸着選択性を Fig.5 に示した。

また、非鋳型薄膜を被覆したQCMを用いる同様のQCMセンシングにおける吸着選択性を、図5 に示した。図5 よりテンプレート分子である(+)-カテキン分子の応答が顕著に見られた。一方、(+)-カテキン以外のゲスト分子の応答はいずれも生じなかった。このことより、(+)-カテキンIPは特異的に(+)-カテキンを捕捉していることが明らかとなった。

これに対して、図6のように鋳型サイトを持たない非鋳型薄膜－QCMでは(+)-カテキン以外のゲスト分子においても応答が認められた。このことより、鋳型サイトの存在により(+)-カテキン以外の分子では分子の形状が適合しないため鋳型サイトへの吸着阻害が生じ、一方、非鋳型薄膜では鋳型サイト内のアミド基に由来しないフリーなアミド基への吸着に起因することで、(+)-カテキンIPと非鋳型薄膜では選択性に差が生じるものと推測された。

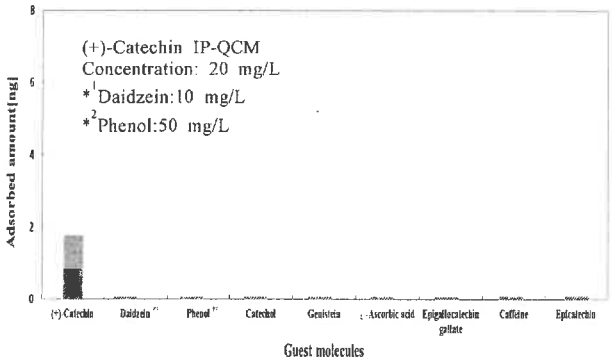


図5 ゲスト分子と鋳型薄膜QCMセンサへの吸着量の関係

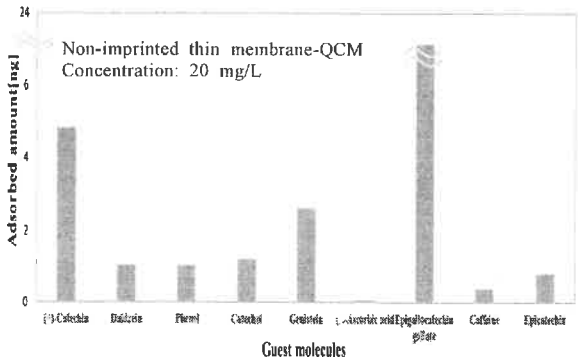


図6 ゲスト分子と非鋳型薄膜QCMセンサへの吸着量の関係

c)緑茶中の(+)－カテキン濃度の測定と評価

市販されている緑茶飲料(5種)を用いて、(+)-カテキンIP-QCMセンサで測定した。

実試料のうち低濃度では44 mg/Lであり、一方、高濃度のものは1124mg/Lであった。実試料中の(+)-カテキンの濃度を高速液体クロマトグラフィーと(+)-カテキンIP-QCMセンサにより定量し相関を調べた結果を、図7に示した。その結果、高速液体クロマトグラフィーと(+)-カテキンIP-QCMによる定量法において、(+)-カテキン濃度の定量値は高い相関を持っており、精度良く測定できることが明らかとなった。

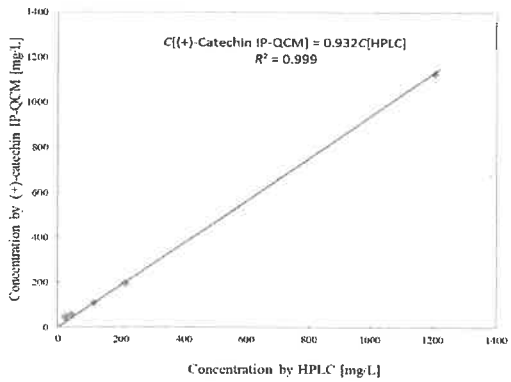


図7　鋳型薄膜QCMセンサ分析とHPLC分析における飲料水中の(+)-カテキン濃度の相関

5. 研究成果の発表

研究成果の主な公表に関しては次の通りである。(+)-カテキンに関する研究成果について、現在論文を作成中で投稿準備中(投稿先予定：分析化学)である。

1) 学術論文：斎藤貴、日本材料科学会、53巻、No. 1、p. 1-5、2016年(平成27年度)
2) 口頭発表論文：14件(平成29年度)
3) 特許：特願2015-150237「高分子化合物膜で被覆された基材、その用途及び製造方法」(2015年7月30日)
特願2015-150267「温度応答性ポリロタキサンゲル及び薬物保持体」(2015年7月30日)

医用画像診断支援システムの高度化に関する研究

研究者名：電気電子情報工学科　武尾 英哉

１．研究の目的と概要

コンピュータ支援画像診断（CAD: Computer Aided Diagnosis ）システムの開発における症例画像の不足を補うことを目的に，病変の存在しない画像に腫瘍などの病変を埋め込み，人工的に症例画像を作成する取り組みが行われている．筆者は，人工症例を含む学習データを用いて設計した判別器による検証から，肝腫瘍 CAD への有用性の一例を示した．本研究では，様々なバリエーションの人工症例データベース（DB）を作成し，実運用を視野に入れ，CAD の未知データへの判別性能向上が見込める最適な組み合わせ法や生成方法を提案する．サイズの大小やコントラストの濃淡を様々に変化させることにより，埋め込む病変を強調した人工症例を学習データとして作成，設計した判別器の未知データに対する性能から最適な学習データ構築法を検討し，その有効性を確認した．さらに本手法の汎化性を確認するために，他部位への応用として，乳がん腫瘤 CAD にも適用し，有効性があることを確認した．

また, CAD の他部位への適用として, 眼底画像を用いた糖尿病網膜症の診断支援システムの開発も進めた．医師のインタビューにより眼底の黄斑部周辺における点状出血の状況が病状に密接に関係していることがわかり，そこで黄斑部の自動抽出と黄斑部周辺の３種類の点状出血の検出とカウントを用いた回帰分析により視力を推定し，推定した視力が実際の視力と相関があることを確認した．

２．研究の必要性及び従来の研究

これまで国内外の研究機関では，X 線画像や CT 画像を用いて，乳がん，肺がん，胃がん，肝臓がんなど一部の部位を対象とした CAD が開発されてきたが，これらは人体の疾病（病変）の一部にすぎない．そこで，将来的には全身のあらゆる病変を対象とした CAD システムを開発するために，本研究では，以下の部位とモダリティを対象とした CAD の適応領域の拡大を目指す．

（A）CT 画像による胸部疾患の診断支援技術の確立と更なる高精度化

（B）CAD システム開発の効率化および他部位も含めた汎用性の確認

（C）他部位への診断支援技術の適用拡大の可能性検討

本年度は，上記のうち，（B）の CAD システム開発の効率化と他部位も含めた汎用性の確認に関して，基礎技術の確立と高精度化を乳がん腫瘤および乳がん石灰化の２部位について研究を進めた．また，（C）の他部位への診断支援技術の適用拡大の可能性検討に関して，眼底画像を用いた眼科領域へ発展させて研究を進めた．本研究の進め方の特徴は，これまで乳がんを中心に 20 年間以上研究を進めて築いてきた CAD の基盤技術を，広く他部位やマルチモダリティに展開するとともに，臨床の現場と連携を図りながら実用化（役に立つシステムの運用の実現）を目指していく点にある．

３．期待される効果

本研究は，医療分野のある単一のモダリティにとどまらず，X 線撮影，CT，MRI，さらには細胞画像（明視野もしくは顕微鏡画像）にまで至っている．また，検診～診断，さらには治療や新薬研究に至るまでの分野にわたっている．このように，CAD の応用領域の拡大化を図っており，医学・臨床（医療・治療）の発展に大きく寄与している．

なお，本研究を進める上で，市場サイドの声を反映するために，より一層，臨床サイド（医療機関）との連携を強めた．本学に加え，新村病院（黒木放射線科医），国際医療福祉大学病院（縄野放射線科医），国立

がん研究センター東病院病院（永井臨床放射線技師），佐伯眼科クリニック（佐伯眼科医）高橋眼科クリニック（高橋眼科医）と共同研究および共同開発を進めた．

４．研究の経過及び結果

本研究の特徴は，これまで各種疾患（がんなど）を対象に 20 年間以上研究を進めて築いてきた CAD 技術を，広く多部位や他モダリティに展開するとともに，臨床の現場と連携と図りながら実用化（役に立つシステムの開発）を目指していく点にある．そして，その研究成果は CARS2017 国際会議[1]で発表するとともに，日本医用画像工学会(JAMIT）論文誌（MIT 誌）にも掲載された[3]．

さらに現在は，本研究成果をより発展させて，AI 技術，特に Deep Learning（深層学習）を用いたさらなる高性能化の検討を行っており，その研究成果は平成 30 年度中に海外を中心とする学会で発表する予定である（現在，CARS2018 国際会議,，IWBI2018 国際会議,および MIT 誌へ投稿中）．

（１）乳がんを対象とした新しい人工石灰化陰影の作成法と実症例を全く用いない CAD 開発手法の有効性検証[1]-[4]

本研究では，肝腫瘍の症例画像について様々なバリエーションの人工症例データベースを作成し，さらに学習用データベースとして CAD 開発に利用した場合，判別性能に最適なな組み合わせ方法や生成方法を検討した．さらに本手法の汎用性を確認するために，乳がん腫瘤影 CAD にも適用し有効性を確認した．

【方法】

(1)　人工症例画像および判別器の開発

肝腫瘍の人工症例画像の作成は，腫瘍の存在する症例 CT 画像と正常 CT 画像を素材として用いる．ポアソンブレンディングを用いた画像合成を行い，正常 CT 画像に腫瘍画像を埋め込むことによって人工症例画像を作成する．

(2)　肝腫瘍 CAD に対する最適な学習用データベース構築法の検討

学習データとして用いるに最適な人工症例画像の検討のため，サイズやコントラストを意図的に強調した人工症例画像を作成する．元となる実症例画像から腫瘍の大きさ，濃度，コントラスト等を変化させた画像を作成し様々な学習用データベースを構築した．

(3)　多部位への適用

人工症例画像の他部位への適用の検討として，マンモグラムを用いた乳がん腫瘤影 CAD の開発に応用した．肝腫瘍の人工症例作成法と同様に腫瘤影が存在する症例から病変を切り取り，正常なマンモグラムに埋め込むことにより人工症例画像を作成する．

【結果】

肝腫瘍の特徴を強調した画像群をもとに設計した各種の判別器の性能評価を行った．各判別器は，学習用 DB として人工症例と実症例をちょうど半分づつ用いて設計した．判別性能を表す ROC カーブを図 1 に，ROC カーブの下面積で示す Az および FP 率 15%が時の TP 率を表 1 に示す．表中の A と B は大きさの変化，C と D は腫瘍の濃度による違いである．E は，あらかじめ調べた未知データの分布に合わせて混合させた場合，F は A～D を均等に混合した場合である．なお，X は実症例のみを用いた場合である．Az の値から，A および F の判別器が高く X とほぼ同等であった．また，FP 率 15%が時の TP 率は，D および F の判別器が高く X とほぼ同等であった．このことから，F の均一に混合する手法が最適であるということが言える．作成した乳がん腫瘤影の人工症例画像をもとに設計した判別器を用いて性能評価を行った．ROC カーブを図 2 に，Az および FP 率 15%が時の TP 率を表 2 に示す．表中の Y は実症例のみを用いた場合，Z は腫瘤影の大きさ濃度の分布をほぼ均一にして作成した人工症例画像を学習データとして設計した判別器である．Az の値から，Y，Z の性能

はほぼ同等であった．また，P 率 15%が時の TP 率もほぼ同等の結果となった．このことから，本開発手法は従来開発手法と比較して同等の性能が得られることがわかる．

表１　肝腫瘍 CAD における各種学習用データベースを用いて設計された判別器の性能評価（FP 率は一律 15%）

	TP 率[%]	Az
判別器 A（サイズ 15mm 以上）	81	0.886
判別器 B（サイズ 15mm 以下）	75	0.873
判別器 C（CT 値 40HU 以上）	60	0.854
判別器 D（CT 値 40HU 以下）	84	0.883
判別器 E（未知データの分布で混合）	73	0.872
判別器 F（A~D を均等に混合）	86	0.890
判別器 X（実症例のみ）	86	0.893

表２　乳がん腫瘤影 CAD における工症例画像を用いて設計された判別器の性能評価（FP 率は一律 15%）

	TP 率[%]	Az
判別器 Y（実症例のみで作成）	71	0.872
判別器 Z（人工症例を用いて作成）	68	0.868

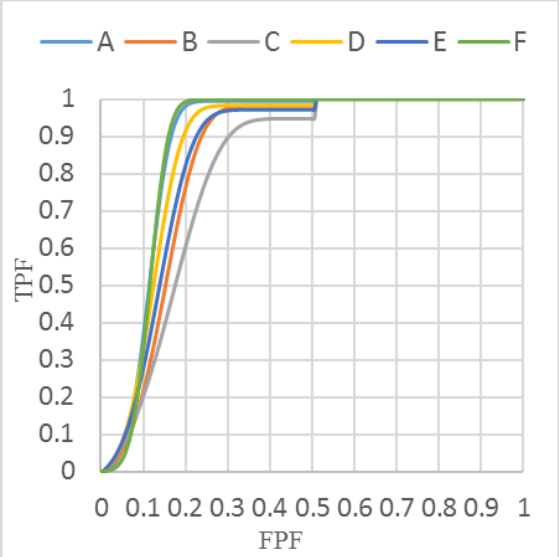


図１ 各種学習用 DB を用いて設計された判別器の ROC

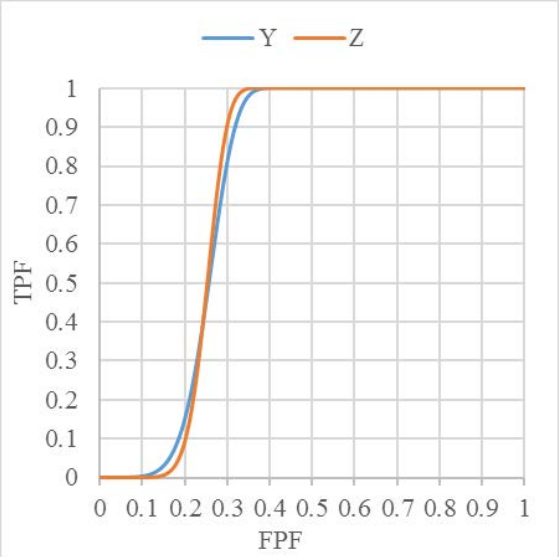


図２　乳がん腫瘤影 CAD の ROC

【結論】

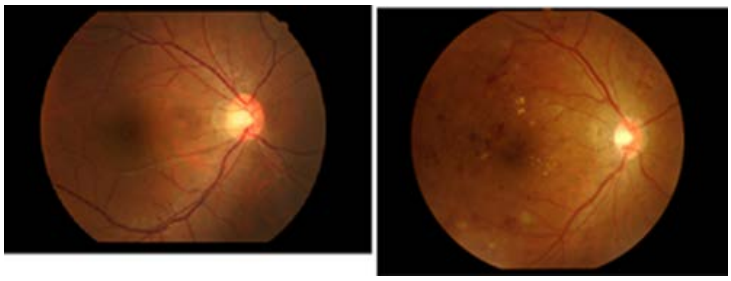
本研究では，様々な種類の肝腫瘍の人工症例画像を作成し，CAD の判別性能に最適な学習用データベースの生成法の検討を行った．その結果，画像バリエーションを均一に混合させて構築した学習用データベースを用いることにより実症例のみの開発と比較して同等の性能が得られることが確認できた．また，同様な開発手法が，マンモグラムを用いた乳がん腫瘤影 CAD においても確認でき，提案した本開発手法が多部位へ適用できることが示唆された．

（２）黄斑部を重視した網膜症の診断支援処理の開発[]

患者の初診時および経過観察時の２つの眼底画像（図１）を比較することで，網膜症の病状の程度を定量的に表現する手法の開発を行ってきた．２つの画像を比較する上で，画像の差分を計算するためには，まずは高精度な位置合わせが必要である．そこで，本研究では，血管等が交差するポイントを複数検出し，パターンマッチングで２つの画像の対応点を見つけ，複数の対応点ペアから最小二乗法によって画像の線形変換を行うためのアフィン係数を自動的にみつける方法を開発した．この係数によってアフィン変換をすれば高精度に画像の位置合わせができることがわかった．そして，位置合わせされた２つの画像の差分

画像を作成し，差分画像の差分値の二乗の総和を計算することで病状の変化を表す定量値とした．シミュレーションにより，この定量値と視力変化との関係があることがわかった．

さらに，臨床評価予定先の眼科医に複数回にわたってインタビューをした結果，眼の病状は黄斑部における損傷の影響に非常に強く，また眼内におけるさまざまな出血の程度が見え方や視力，病状に極めて大きいことがわかった．そこで，前記の差分画像およびそれに基づく定量値に加えて，黄斑部を中心とした各種の出血の程度に基づく定量化を試みた．具体的には，眼底画像から黄斑部を自動的に検出し，黄斑部の内部および周辺における点状出血の数をカウントした．ここで点状出血とは，単純点状出血，斑状出血，軟性白斑の３種類である．これらを眼底画像から自動的にカウントし，回帰分析を用いてひとつの定量値を算出した．その結果，回帰分析の係数を求めるために用いた眼底画像とは別の眼底画像のおいて，各種の点状出血の数から推定した視力は実際の患者の視力にほぼ近い値を算出できることを確認した（図４）．



(a) 初診時(正常状態)　　(b)経時(糖尿病性網膜症)

図３　眼底画像

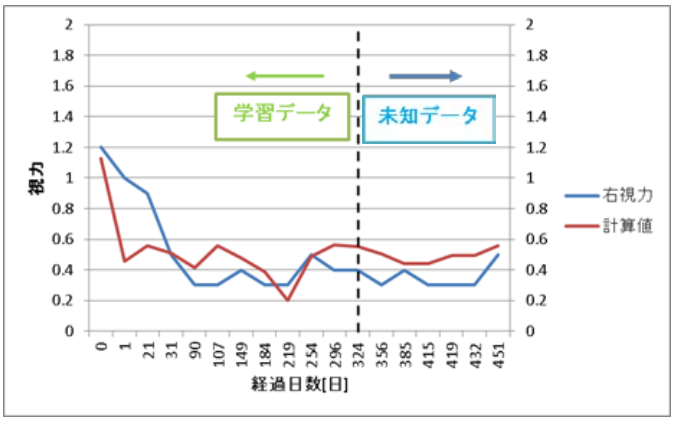


図４　時間経過で変化する計算値と視力の推移

５．今後の計画

本研究成果で得た CAD 技術を発展させて，今後も多部位展開（最終的には全身 CAD の開発を夢見ている），を進め，CAD システムの普及に貢献したい．また，本技術を HEMS やホームヘルスケア分野にも応用していきたい．

６．研究成果の発表

[1] Study of a method for building a learning database for use in the development of CAD systems that use artificially created case images, Computer Assisted Radiology and Surgery 31rd International Congress and Exhibition,CARS2017, pp.S276-S278, 2017 June, Barcelona, K. Abe, H. Takeo, Y. Kuroki, S. Nawano

[2] 乳がんを対象とした新しい人工石灰化陰影の作成法と実症例を全く用いない CAD 開発手法の有効性検証,第 36 回日本医用画像工学会大会(JAMIT2017),OP3-2,July.2017,安倍和弥,武尾英哉,永井優一,黒木嘉典,縄野繁.

[3] 乳がんを対象とした新しい人工石灰化陰影の作成と実症例を全く用いない CAD 開発手法の有効性検証,Medical Imaging Technology, Vol.35,No.5,pp.268-272,2017,安倍和弥,武尾英哉,永井優一,黒木嘉典,縄野繁

[4] 乳がんを対象とした人工石灰化陰影の開発,信学技報,vol.117, no.518,MI2017-70,pp.27-28,2018 年 3 月,平野元章,武尾英哉,安倍和弥,縄野繁,永井優一,黒木嘉典

[5] 黄斑部を重視した網膜症の診断支援処理の開発,信学技報,vol.117,no.518,MI2017-69,pp.25-26,2018 年 3 月,松尾洸希,武尾英哉,安倍和弥

疾病検査に関する迅速なセンシング技術の開発

-癌と糖尿病診断用酵素の探索とセンシングシステムへの応用-

研究者名：　応用バイオ科学科　准教授　山村　晃

１．研究目的

現代人は、糖尿病や癌などの疾病のリスクを抱えている。これらの症状が軽度のうちに診断できれば、治療が開始できれば治療費などが軽減できる。本研究では、糖尿病マーカーや癌マーカーなどを酵素法によって簡便に計測できるシステムを構築することを目的とする。

また、前年度までに研究を重ねてきたプトレッシンオキシダーゼやヒスタミンオキシダーゼについても酵素化学特性の改善を行い産業界や消費者に提供する。

２．研究の必要性

様々なバイオマーカーを簡便に入手できる尿や唾液などを試料としてモニタリングすることで、ストレスや疾病のリスクを監視して、疾病の早期発見に貢献できる。

３．研究の経過および結果

（１）糖尿病診断用酵素のスクリーニング

①1,5-アンヒドログリシトール(1,5-AG)酸化還元酵素のスクリーニング

1,5-AG は、食物中にあるブドウ糖によく似た構造の糖である。高血糖の時には，血液中のブドウ糖である血糖が尿糖として排泄されるが，その時血液中の 1,5-AG も同時に尿の中に排泄される。そのため，高血糖状態では血液中の 1,5-AG が減少する。この 1,5-AG に反応するが、グルコースとは反応しない酵素をスクリーニングした。

その結果、グルコースとは反応せず 1,5-AG とのみ反応するオキシダーゼを産生する D-12、D-13、E-4、E-5、E-6、E-7 を探索することができた。

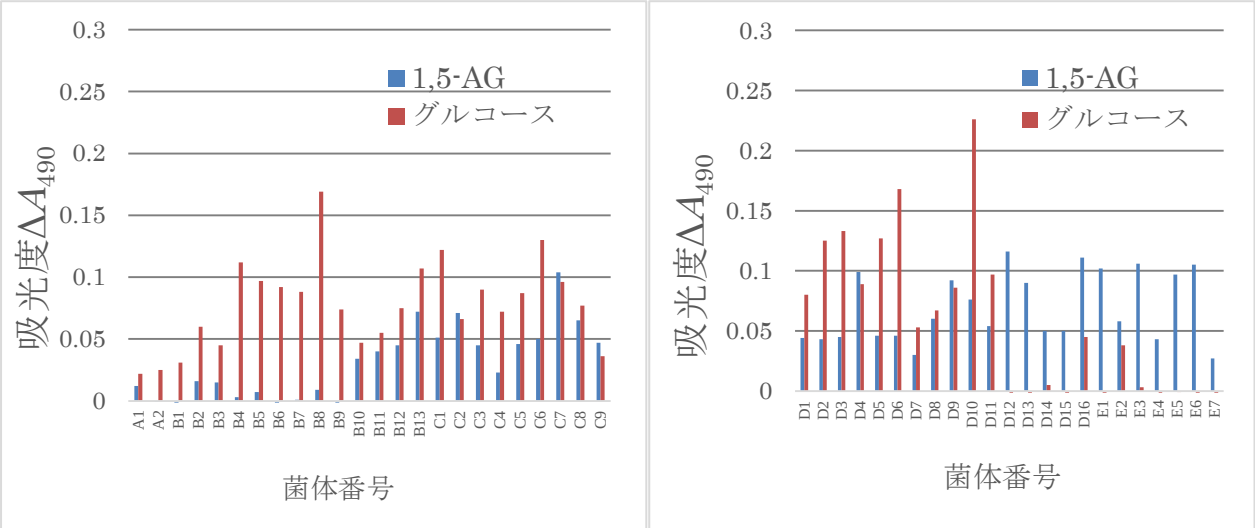


図１　1,5-AG オキシダーゼの探索

②フルクトシルバリン酸化還元酵素のスクリーニング

ヘモグロビン A(HbA)は成人血液中の主成分を占め、HbA_{1a1},A_{1a2},A_{1b},A_{1c} に分けられる。これらは同じ一次構造を持つが β鎖の N 末端バリンのアミノ基が糖あるいはその誘導体でブロックされている。そのうち HbA_{1c} はグルコースが結合したもので、健常者では総ヘモグロビンの 6%以下を占めるが、糖尿病患者では 2～3 倍に増加する。さらに赤血球寿命中に分解されることはなく、1～2 ヵ月前の血糖値を反映するものとして糖尿病診断における重要な指標となっている。HbA_{1c} をプロテアーゼで切断して遊離させ、生成したフルクトシル-L-バリンを特異的に酸化還元する酵素によって検出する分析手法を確立する。

バリン (V) とは反応せず、フルクトシル-L-バリン (FV) と反応するオキシダーゼを探索した。その結果、No.16 にフルクトシル-L-バリンオキシダーゼ活性が見られた。本菌は、分生子柄の形状から *Aspergillus* 属の微生物であることが明らかになった。

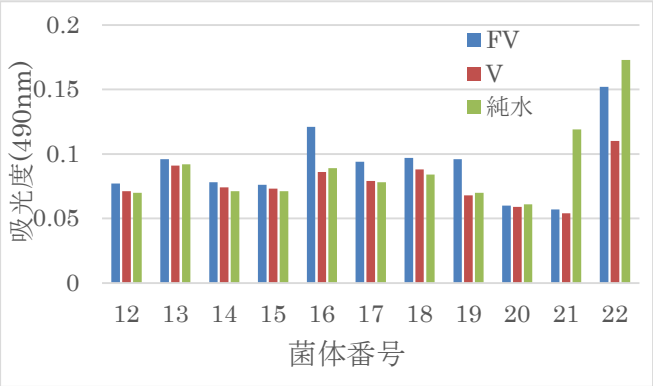


図 2 フルクトシル-L-バリンオキシダーゼの探索

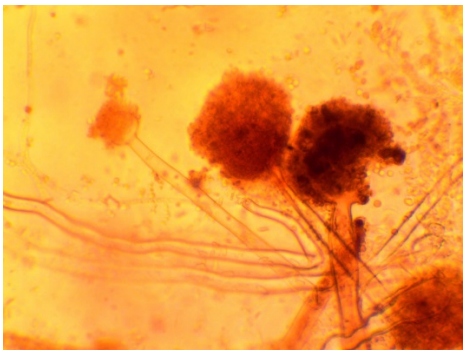


図 3. No.16 の分生子柄

（２）癌マーカーN^1, N^{12}–ジアセチルスペルミンオキシダーゼのスクリーニング

ヒトの体内にはプトレッシン、カダヘリン、スペルミジン、スペルミンの 4 種類のポリアミンとそのモノアセチル体及びジアセチル体が存在する。近年、N^1,N^{12}-ジアセチルスペルミンが、がん患者の尿中に排出されていることが見出された。この成分が健常者の 15～70 倍検出され、既存の腫瘍マーカーよりも真陽性率が高いことから、新たな腫瘍のバイオマーカーとして注目を集めている。

N^1, N^{12}–ジアセチルスペルミンを唯一の炭素源・窒素源として含有する培地で資化菌を培養して、オキシダーゼ活性を測定した結果、No. 9 のみに活性が確認できた。

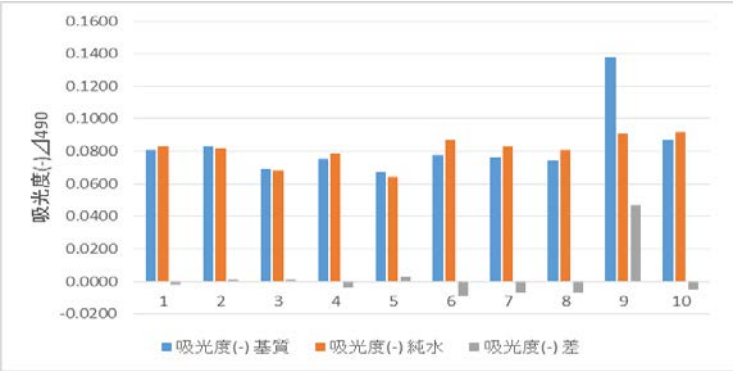


図 4 N^1, N^{12}–ジアセチルスペルミン**オキシダーゼ活性**

（３）癌および炭疽菌のための代謝拮抗剤の探索のためのイノシン酸デヒドロゲナーゼの作製

イノシン酸はエネルギー物質 ATP の代謝産物であり、これを酸化するイノシン酸デヒドロゲナーゼ（IMPDH）は、核酸合成のキー酵素である。この酵素を阻害すると核酸合成ができず、生存ができなくなるため、このキー酵素を利用して核酸合成している癌や微生物の増殖速度は遅くなる。通常の細胞は、サルベージ回路によって核酸を合成できることから、IMPDH 阻害剤は有力な制癌剤や抗生物質が効かない微生物の代謝拮抗剤として利用できる。この代謝拮抗剤を探索するためには、安定な IMPDH が必要である。

本研究では、炭疽菌と同じ *Bacillus* 属で好熱菌（50℃で最大増殖速度）*Bacillus smithii* 由来の IMPDH の熱安定性を評価した。その結果、40℃以上で失活してしまうことが分かった。

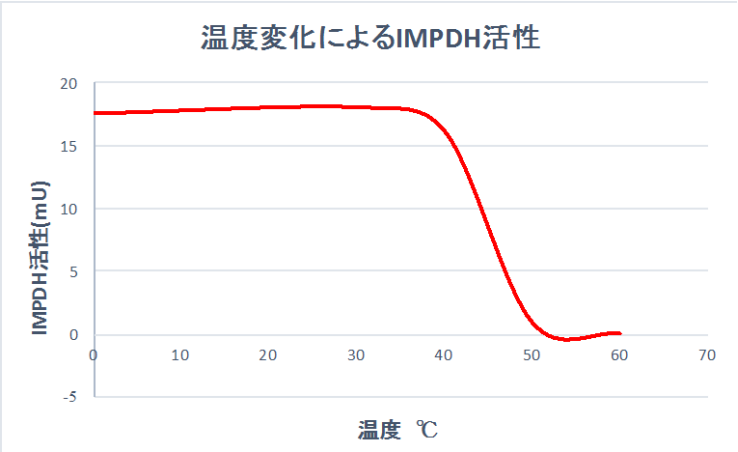


図 5　*B.smithii* 由来 IMPDH の熱安定性

（４）酵素化学的特性の改善・解明

①プトレッシンオキシダーゼの酵素化学的特性の改善

プトレッシンは L-オルニチンがオルニチンデカルボキシラーゼによって脱炭酸されて生合成されるポリアミンの前駆体である。プトレッシンオキシダーゼ(PUO)遺伝子をクローニングし大量発現系を構築できているが、安定性と基質特異性が低いため分析用酵素には応用できていない。

本研究では、基質の入口である Q327 をグリシン(G)、アラニン(A)、アスパラギン酸(D)、グルタミン酸(E)に置換して酵素の反応性を評価した。

表 1. PUO とアミノ酸置換体の K_m と V_{max}

	PUO	Q327G	Q327A	Q327D	Q327E
K_m(mM)	0.404	4.93	0.861	0.0420	0.305
V_{max}(U/mg)	1.82	2.41	1.08	0.0100	0.0820
V_{max}/K_m	4.50	0.489	1.25	0.238	0.269

基質の入口 Q327 を負電荷の D と E に置換したものは *K*m が小さくなり、親和性が高くなったが、生成物の放出がうまく行かないためか反応速度 *V*max が大きく低下した。一方、小さなアミノ酸である G に置換したものは反応速度 *V*max が大きくなったが、*K*m は大きくなり、親和性は低くなった。*V*max/*K*m が大きいほど優れているが、どの変異も天然の PUO を越えることができなかった。

②ヒスタミンオキシダーゼの生産性の向上

ヒスタミンは主に魚に含まれるヒスチジンが脱炭酸する事によって生じるアミンでアレルギー様食中毒を引き起こすためモニタリングする必要がある。ヒスタミンオキシダーゼ(HOD)はヒスタミンを定量することができる酵素のうちの一つである。

本研究では、生産効率を向上させるため、大腸菌による菌体外酵素の生産条件を検討した。酵素遺伝子の N 末端側に pelB を発現させることによって、ペリプラズム分画にヒスタミンオキシダーゼを溶出させるように設計した。酵素活性は、IPTG 誘導後 37℃で培養するより 15℃で培養した方が酵素の生産性が高かった。これは、低温にすることで発現速度が低下することで封入体形成を防ぐことができたものと考察できる。また、培地に銅イオンで添加すると菌体外にヒスタミンオキシダーゼを生産できた。

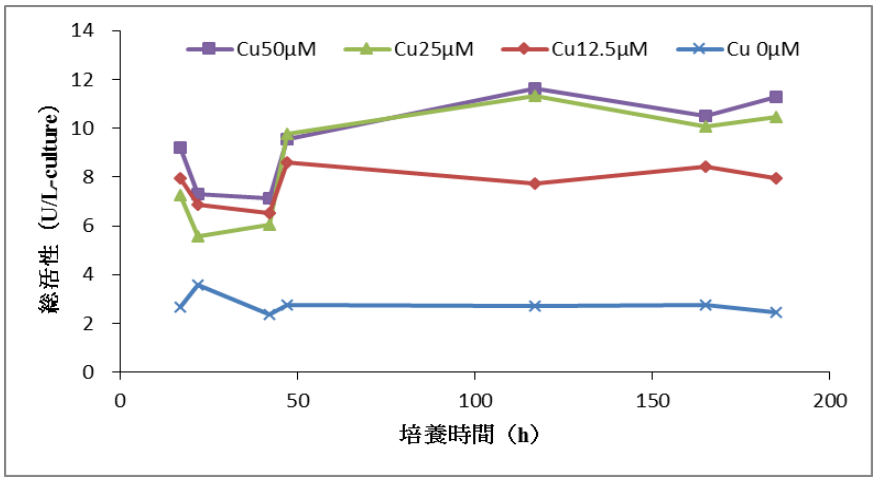


図 6　培地上清のヒスタミンオキシダーゼ活性

４．今後の計画

遺伝子の改変とスクリーニングによる優れた酵素の取得の両方を行い、より優れた分子認識素子の確立を目指す。商品価値の高いものをターゲットに研究を進める。

５．産業への利用

フジデノロ株式会社と共同研究によりコーミル・フォー・ヒスタミンを発売した。ヒスタミンが 4 分で計測でき、日本食の輸出品の迅速測定を可能にした（HACCP 対策）。

健康な食生活を促す食事診断法の開発を目指した食のケミカルセンシング

研究者名：応用バイオ科学部栄養生命科学科（次世代センシングシステム研究所第一研究室）　　飯島　陽子

１．研究の目的

本研究では、質量分析計を用いたケミカルセンシング技術を活用し、健康な食事摂取情報に寄与する診断のための基礎的データの提供を目指す。食事、食材から網羅的に成分抽出し、成分プロファイルの解析の迅速化、包括的に俯瞰できる解析技術の開発を目的としている。特に成分バラエティが豊富な植物性食品の摂取を指標にし、加熱調理の影響や食材混合系における食品成分の成分間反応について着目している。また香りと味の官能的な相互作用について、官能評価と機器分析の相関解析によって解明を目指している。

２．研究の必要性及び従来の研究

現在、食事の質的判断は、各食材の食品成分表における数値に基づく栄養表示を主としている。しかし食品は成分多様系であり、とくに野菜などはその栽培方法や品種、産地、鮮度、また調理法など様々な要素によって成分変動が生じることが推測できる。本研究では、成分を一斉に分析が可能なメタボローム技術を食品に応用し、栄養表示＋αの食事の質的評価を診断できないかという新しい食事評価法を開発することとした。また、食事では様々な食品の成分が含まれているが、個々の成分のみならず、“相互作用”が特に嗜好性において関与することが最近知られるようになった。特に香気成分の食品の味との相互作用は大きい。食事摂取において、食塩や砂糖には制限があるため、これらの味覚増強効果がある香気成分があれば、有効に応用が可能である。しかし特に塩味増強に寄与する香気成分はほとんど見つかっていないのが現状である。

３．期待される効果

本研究では、食品に含まれる低分子成分の解析をターゲットとしている。低分子成分には、呈味成分や香気成分、健康維持に関与する機能性成分など多くの食品を特徴づける成分が含まれる。食事において、このような成分の組成を簡易的に調べ、調理の有無による安定性などを知ることができれば、従来の栄養表示に加え、嗜好性や機能性予測が可能であるといえる。近年、“健康な食生活”を維持するには、栄養成分の制限のみならず、いかにおいしく食することができるか？という点も着目され、食品業界でも課題となっている。よって、本研究の成果は、新しい食評価として応用可能で

あると考えている。

４．研究の経過及び結果

（１）食材の加熱による成分組成の変動と食材特徴的な成分のスクリーニング

食事において食材を生で食するか、加熱して食するかで風味や機能性成分の組成が異なる。栄養成分などについては、熱安定性が調べられているが、ほとんどの成分の安定性についてはよく分かっていない。そこで、トマト、キャベツ、タマネギについて、新鮮なものと加熱したものについて、一斉成分分析でその違いについて検討した。スーパーで購入したトマト、キャベツ、タマネギについて細かく刻み、生鮮なもの、水を加えて 2 時間加熱したものを調製し、凍結乾燥してサンプルとした(各 5 連)。粉砕したサンプル 10mg に抽出溶媒 1ml、内部標準として、2-Isopropylmalic acid (20mg/ml)40μL を加え、粉砕、撹拌後、蒸留水を加え遠心分離を行い、上清を抽出液とした。抽出液 50μL を遠心分離乾燥させた後、20mg/ml メトキシアミン/ピリジン溶液 50μL を加えメトキシ化を行った。インキュベーション後、MSTFA 50μL を加え誘導体化を行った後、GC-MS 分析を行った。GC-MS 分析により得られた生データを、MetAlign 及び AIoutput ソフトウェアを用いて化合物の同定を行った。また、AIoutput により作成したデータ配列を用いて PCA 解析を行い、サンプルごとに異なる寄与成分と保存による影響について検討した。GC-MS 分析により得られた生データから、変動した成分についてスクリーニングを行い、多くの成分での変化が見られた。特に、タマネギの含硫アミノ酸類、キャベツのグルコシノレート類が加熱により減少することが分かった。トマトについては、大きな違いがみられなかったが、別途 LC-MS 分析により、変化がある成分がみられた。

（２）　食材 A の香気成分の塩味増強効果について

前年度の結果から、食材 A の香気濃縮物にトマトジュースの塩味増強効果があることが分かった。そのため、その成分のスクリーニングを行っているが現在、効果を示す成分が 1 種類ではないことが予想されており、検討を進めている。また、トマトジュースだけでなく、味噌汁やスープなどへの塩味増強効果について官能評価で調べた。その結果、味噌汁の塩味を増強作用が期待できた。

（３）マイタケの鮮度による香気組成の変化について

キノコ類は、低カロリーで水溶性食物繊維が多いことから健康食材とされるが、その成分について鮮度の影響については分かりにくい。本研究では、特に香気組成に着目し、保存による変化について調べた。収穫直後のもの(0 日)、3 日 4℃・10℃・20℃、7 日 4℃・10℃・20℃、10 日 4℃・10℃・20℃で保存した 10 種類を凍結粉砕したものをサンプルとした(3 連)（雪国まいたけより提供)。サンプル 1g をバイアル瓶に測りとり、塩化カルシウム 1.5g、超純水 1mL、内部標準として 1-heptanol(1.25□g/mL)50□L を加え 3 分間超音波処理

後、SPME 法により GC-MS 分析を行った。マイタケの保存温度及び期間の違いによる香気組成の変化については、PCA 解析を行った。その結果、温度に着目すると、どの温度でも 0 から 3 日までの変化が大きく、マイタケの保存日数の目安が 2~3 日と言われるのはこのためだと考えられる。特に、低温度であるほど変化が小さい傾向にあった。10℃では 10 日に香気組成の大きい変化が見られ、20℃では 3 日以降に香気組成が大きく変化することが示された。こうした違いに寄与する成分についてローディングプロットから調べると、octanol、1-octen-3-ol、1-octen-3-one、2-octen-1-nol、3-octanone、3-none-2-one の減少や ethanol、1,2-propanediol の増加が見られた。よって、マイタケの香気組成はオクタノールやオクタノンなど C8 化合物を主としているが、その減少が風味の変化に大きく影響していると考えられた。

５．　今後の計画

今年度が 3 年計画の最終年度となるため、計画はないが、（２）の塩味増強効果については、引き続き研究を進める予定である。

６．　研究成果の発表

〈印刷物〉

(1) 飯島陽子, 櫻井望 " メタボロミクスによる食品の質的評価技術の進展"　食品と開発, 52, 4-7 (2017)

(2) 飯島陽子　”和食のサイエンス―フードメタボロミクスによる展開”　化学と生物, 55, 593-594 (2017)

<学会発表>

（１）Yoko Iijima, Tsuzumi Itamiya, Yumi Iwasaki, Flavor characteristics of various colored tomato fruits. 19th Biennial international congress ARAHE (2017 年 8 月)

（２）飯島陽子, 加藤智弘, 田中宏和, 細川貴央, 荒谷健吾　紅茶茶葉保存中の脱酸素剤（エージレス）封入による香りの変化について, 日本食品科学工学会第６４回大会 (2017 年 8 月)

（３）飯島陽子　植物食材における品質特性に関わる二次代謝成分の食品分析学的研究, 食品分析学会シンポジウム（2017 年 9 月）

（４）岩崎由美, 飯島陽子 品種および収穫時期によるトマト果実香気のバリエーション, 第６１回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会（2017 年 9 月）

（５）加藤智弘, 田中宏和, 細川貴央, 荒谷健吾, 飯島陽子紅茶茶葉保存における脱酸素剤（エージレス）封入の茶葉香気に対する影響　第１１回メタボロームシンポジウム（2017 年 11 月）

（６）岩崎由美・安藤聡・中野明正・飯島陽子　トマト果実の香気成分組成に及ぼす品種および収穫時期の影響第１１回メタボロームシンポジウム（2017 年 11 月）