

神奈川工科大学
健康生命科学研究所
研究報告

第8号

2017（平成29年度）

神奈川工科大学
工学教育研究推進機構

健康生命科学研究所 研究報告

目次

食品成分による熟産生型脂肪細胞の分化制御機構の解明・・・・・・・・・・・・・・・・・・1

応用バイオ科学科 田中理恵子

海産動物由来のアレルゲンに関する網羅的研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・4

応用バイオ科学科 小澤秀夫

ストレスを潜在要因とした味覚・嗅覚・痛覚の感覚間相互作用の基礎的検討・・・・・・・・・・7

健康生命科学研究所 澤井明香
情報メディア学科 坂内祐一
基礎・教育研究センター 竹田裕一

高齢者のサルコペニア予防・改善のための新規栄養食品の開発・・・・・・・・・・・・・・・・10

栄養生命科学科 佐々木一

α -アミラーゼ添加がパンの物理的特性と食べやすさに及ぼす影響・・・・・・・・・・15
—パン咀嚼食塊の物理的特性よりの検討—

栄養生命科学科 高橋智子

脂質代謝に対する生活リズムと飼料タンパク質量の関連に関する研究・・・・・・・・・・19
—モデルラットを用いる検討—

栄養生命科学科 花井美保

プロスタサイクリンとアディポサイトカインの相互作用の検討・・・・・・・・・・・・・・・・23

栄養生命科学科 横山知永子

間断のない食育実施のための日本人の食生活の在り方に関する研究・・・・・・・・・・25

栄養生命科学科 饗場直美、楠木伊津美

食品成分による熱産生型脂肪細胞の分化制御機構の解明

応用バイオ科学科 田中 理恵子

1. 研究の目的

褐色脂肪細胞はエネルギーを熱として放出するためのラジエーターとして働く細胞であり、代謝調節や体温の保持に寄与している。2012年に Spiegelman らのグループが白色脂肪細胞と同一の前駆細胞から褐色脂肪様の細胞（ベージュ脂肪細胞）が誘導される事を報告した。ベージュ脂肪細胞は抗肥満研究の新規ターゲットとして近年注目を集めており、最近では多彩な転写因子の関与が明らかとなった。さらにこれらの転写因子の上流に位置し、発現制御を行う microRNA も複数同定されている。当研究室ではこれまでに、食品成分である δ -tocopherol (δ -toc) や Pyrroloquinoline quinone (PQQ) がマウスにおいてベージュ脂肪細胞の分化を促進し体重増加を抑制する可能性を見出しているが、作用機序の解明には至っていない。本研究ではこれらの食品成分が転写因子や microRNA の機能に与える影響を明らかにし、ベージュ脂肪細胞の分化促進効果における作用機序の解明を目指している。

2. 研究の必要性及び従来の研究

現行の肥満治療は食事制限や運動療法を基本とするが、日本人の肥満症患者数はここ 10 年間以上減少していない。肥満に伴う生活習慣病の罹患率も同様であり、国の医療費負担も膨大な額となっている。新規のアプローチとして熱産生型脂肪細胞の活性化は大変魅力的なターゲットであるが、臨床応用には至っていないのが現状である。これまでにベージュ脂肪細胞の分化を促進する薬剤として β 3 アドレナリン作動薬や PPAR γ のアゴニストが同定されているものの、副作用の問題から肥満治療への適応が困難であるとされており、副作用の懸念が少ない薬剤や食品成分の探索が求められている。

3. 期待される効果

褐色脂肪細胞とベージュ脂肪細胞で構成される褐色脂肪組織 (BAT) の体積と体重の間には負の相関があり、BAT 量の増加が肥満解消の鍵となることは明らかである。 δ -toc や PQQ は過剰症が報告されていない食品成分であることから、副作用の懸念も少ない。食品成分による熱産生細胞の分化促進とその作用機序の解明は、効率よく熱産生を行うための「体質改善」をターゲットにした新しい治療薬やサプリメントの開発に繋がると期待される。

4. 研究の経過及び結果

(1) 各種転写因子の遺伝子発現に対する食品成分の影響

2017 年度は δ -toc や PQQ が、細胞レベルにおいて各種転写因子の発現に影響を与えるか検討を行った。その結果、 δ -toc を添加した細胞では転写補因子 PGC-1 α の遺伝子発現量が濃

度依存的に増大した。また、 δ -toc を添加した細胞では熱産生型脂肪細胞の特徴である脂肪滴の多胞化・小型化が観察された (図 1) さらに δ -toc 添加細胞では PGC-1 α の核移行が亢進しており、 δ -toc が PGC-1 α の活性化を促進する可能性が推察される。UCP1 の発現についても、 δ -toc 添加細胞では遺伝子レベル及びタンパク質レベルで有意に増加していた。

δ -toc による UCP 1 の発現増加が、PGC-1 α の発現誘導と活性化に起因するか確認するために、PGC-1 α の siRNA によってこれらの効果がキャンセルされるか検討した。その結果、PGC-1 α を siRNA によってノックダウンした細胞では δ -toc を添加しても UCP1 が誘導されず (図 2)、細胞の形状にも影響を与えなかった。一方で、PQQ の添加は細胞レベルで UCP1 遺伝子発現量を増大させたものの、タンパク質発現量には影響を与えなかった。動物実験でも PQQ の摂取はマウスの体重増加に影響を与えず、以降の検討は δ -toc の効果に重点を置いた。

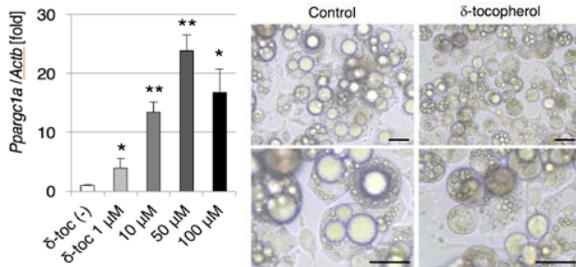


図 1. PGC-1 α の遺伝子発現量と細胞の観察像

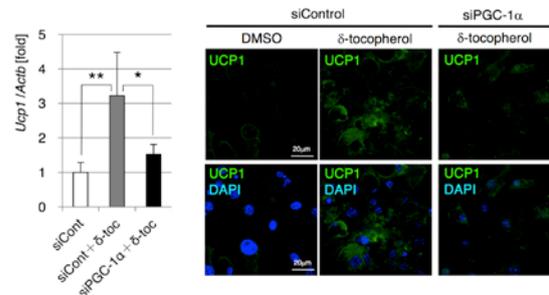


図 2. PGC-1 α ノックダウンが δ -toc の効果に与える影響

(2) δ -tocopherol が PGC-1 α の活性化因子の発現に与える影響

前述の結果から、 δ -toc が PGC-1 α の発現誘導と活性化を介して熱産生関連タンパク質の発現を誘導する事が強く示唆された。そこで次に、PGC-1 α の活性化に寄与するリン酸化酵素 (ERK, p38 MAPK, AMPK, S6K) および脱アセチル化酵素 (SIRT1) の遺伝子発現量を定量した。その結果、PGC-1 α が p38 MAPK の発現を増加させる事が明らかとなり、 δ -toc が p38 MAPK の誘導を介して PGC-1 α のリン酸化を亢進している可能性が示唆された。現在はさらに詳細なメカニズムの解明に向けて検討を進めている。



図 3. PGC-1 α の活性を制御する上流因子

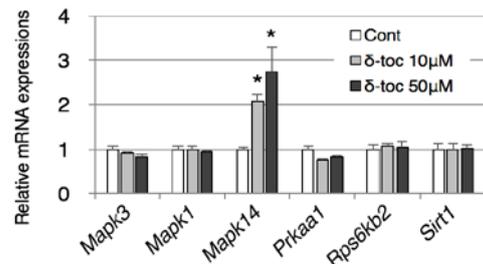


図 4. δ -toc は p38 MAPK 遺伝子 (*Mapk14*) の発現を誘導する

5. 今後の計画

(1) p38 MAPK 阻害剤処理による検討

2017年度の検討から、 δ -tocによるPGC-1 α の活性化機構にp38 MAPKが関与する可能性が示唆された。そこで、p38 MAPKの活性化が亢進しているかウエスタンブロッティングで確認すると共に、p38 MAPK阻害剤処理でPGC-1 α の活性化やUCP1の発現誘導が抑制されるか検討する。

(2) 肥満モデルマウスにおける δ -tocopherol 摂取の効果

通常食、高脂肪食または高脂肪+ δ -toc 高含有食で3ヶ月間飼育したマウスの体重推移を比較すると共に、各種脂肪組織を採取してUCP1やPGC-1 α とその上流因子の遺伝子発現とタンパク質発現を解析する。また、高脂肪食不可によって発症する脂肪肝に対して δ -toc 摂取が抑制効果を呈するか検討する。脂肪肝の進行状態は、血中の肝損傷マーカー (AST, ALT) 及び病理組織学的検査によって評価する。

(3) δ -tocopherol がベージュ脂肪細胞の分化を制御する microRNA の発現に与える影響

microRNAはmRNAに結合する事で翻訳を抑制する低分子RNAである。ベージュ脂肪細胞の分化を制御するmicroRNAとして、これまでにmiR-138、miR-149、miR-155、miR-196a等が報告されている。2017年度の検討で、3T3-L1においてこれらのmicroRNAが発現していることを確認した。今後は δ -tocの添加がこれらのmicroRNAの発現に影響を与えるか培養細胞レベルで検討する。

(4) δ -tocopherol の生体内分布解析

(1) の δ -toc 摂取マウスより静脈血、白色脂肪組織、褐色脂肪組織、肝臓、腎臓、副腎、骨格筋等を採取し、各組織に含まれる δ -toc 量をHPLCで定量することで組織分布を明らかにする。

6. 研究成果の発表

学会発表 2件

1. 谷村 幸奈、高橋 知衣、清瀬 千佳子、田中 理恵子： δ -tocopherolによる熱産生型脂肪細胞の機能制御、日本ビタミン学会 第69回大会 (2017)

2. 梅原 由佳、白崎 雅人、高橋 知衣、清瀬 千佳子、田中 理恵子：マウス脂肪細胞及び肝細胞のPGC-1 α 発現に対するビタミンE同族体の影響、第29回 ビタミンE研究会 (2017)

海産動物由来のアレルゲンに関する網羅的研究

研究者名：所属学科 応用バイオ科学科 氏名 小澤 秀夫

1. 研究の目的

海産動物由来の主要なアレルゲンは、無脊椎動物由来のトロポミオシン(TM)と魚類由来のバルブアルブミンである。エビTMは、小腸内では速やかに消化される一方で、胃内では消化されにくいとされているため、TMの胃および小腸における挙動の差異を明らかにすることを本研究の目的とした。また、相模湾において漁獲される魚類のバルブアルブミンについての研究を開始することをもう一つの目的とした。

2. 研究の必要性及び従来の研究

TMは二本の α ヘリックスがより合わさったコイルドコイルを全長形成する。TMのコイルドコイルは高温においてほどけている(Ozawa et al., 2011)ことからわかるように、温度やpHなど周囲の環境はTMの高次構造に影響を与える。一般的に、消化酵素が消化する部位は、基質特異性に合致しており、なおかつ高次構造が乱れているとされている。アレルゲンは一般的に、胃内消化に対する耐性が高く、この消化耐性の高さは特定のタンパク質がアレルゲン化する要因とされている(Astwood et al., 1996)。アレルゲンの小腸内消化耐性についてはばらつきがあり、TMは小腸内で速やかに消化されるとされている。そこで、胃および小腸内でのTMの挙動の差異を確認するため定pH分子動力学シミュレーション(Swails et al., 2014)を用いて本研究を行った。

バルブアルブミンは、筋肉に存在する Ca^{2+} 結合タンパク質である。 Ca^{2+} を結合するEF-ハンドモチーフは、本タンパク質より名づけられたものであり、バルブアルブミンは構造に関する研究が集中的なされてきた。比較的消費量の多いサバやサケのバルブアルブミンについてはアレルゲンとしての研究が盛んなものの、他の魚種についての知見は不足している状況である。そこで、相模湾での漁獲量が多い魚種について、研究を実施する必要があるといえる。

ヒスタミンは魚類由来のアレルギー様の食中毒の原因物質である。本学の山村晃准教授が、ヒスタミン検出キットを開発した。ヒスタミン検出のキットにはヒスタミンオキシダーゼ(HOD)が含まれている。HODの失活によりヒスタミン検出キットの感度は低下する。従って、HODの高安定変異体の作出が必要とされている。

参考文献

- Astwood JD, Leach JN, Fuchs RL (1996) Stability of food allergens to digestion in vitro. *Nat Biotechnol* 14:1269-1273
- Ozawa H, Watabe S, Ochiai Y (2011) Thermodynamic characterization of muscle

tropomyosins from marine invertebrates. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 160:64-71

Swails JM, York DM, Roitberg AE (2014) Constant pH replica exchange molecular dynamics in explicit solvent using discrete protonation states: Implementation, testing, and validation. *J Chem Theory Comput* 10:1341-1352

3. 期待される効果

本研究により、エビ TM の胃および小腸内での挙動の差が明らかになる。それにより、エビ TM の消化耐性の差異を理解する一端になると予想された。パルブアルブミンについて遺伝子およびタンパク質実験が可能な鮮度の高い試料が得られることが確認されれば、研究を通じた地域貢献が期待できる。また、高安定 HOD 変異体を作成することにより、より優れたヒスタミン検出キットの開発に寄与すると予想された

4. 研究の経過及び結果

本研究では、エビ TM の定 pH 分子動力学シミュレーションを実施した。通常の分子動力学シミュレーションを 10 ns 実施後、定 pH 分子動力学シミュレーションを 10 ns 実施した。解析は、定 pH 分子動力学シミュレーションの後半 5 ns とした。胃内の pH である 1.2 ではすべての酸性残基がプロトン化し、小腸内の pH である 7 では全ての酸性残基が脱プロトン化していることが本シミュレーションにより予想された。中性条件および酸性条件では、TM の揺らぎの差は小さかったものの、酸性条件においてのみ IgE が結合するエピトープ部とそれ以外の部位で揺らぎについて差異がみられた(発表 1, 2)。また、アレルゲン性の非常に低いホタテガイ TM は、エビ TM と比較し、酸性条件下においては、より揺らいでいることが判明した(発表 3)。

二宮海岸において地引網を実施した。その結果、シラス(カタクチイワシの稚仔魚)、ワカシ(ブリの幼魚)およびトビウオが漁獲された。カタクチイワシおよびブリのパルブアルブミンのアミノ酸配列は不明であり、今後決定する必要がある。また日本近海にトビウオは複数種生息するが、本研究によって捕獲されたトビウオについて分類学的形態からは同定には至らなかった。シラスおよびブリは、相模湾を代表する魚類である。そのため、地引網は、神奈川県において重要な魚類を採取するのに適した方法であることが確認された。市場で購入するよりも新鮮な試料が得られるため、地引網は mRNA やタンパク質実験に適した試料が得られると期待される。

アレルゲンはタンパク質であるため、SDS-PAGE によって分析される。従来 SDS-PAGE の定量解析に用いられている直線定量法を改良し、正確にタンパク質を SDS-PAGE により定量する方法を開発した(発表 4)。

ヒスタミンは魚類由来のアレルギー様の食中毒の原因物質である。ヒスタミン検出のキットに含まれる HOD の高安定変異体の作成が必要とされている。そこで、本年度は、

HOD の分子動力学シミュレーションを実施した。本分子動力学シミュレーションでは、HOD の不安定な領域が判明したものの、HOD の活性中心にある銅イオンが活性中心より脱離したため、条件の改変が求められた(発表 5)。

5. 今後の計画

今後は、ホタテガイ TM について中性条件下における分子動力学シミュレーションを実施する予定である。また、パルブアルブミンについては、遺伝子およびタンパク質に関する研究を開始する予定である。HOD については、銅イオンについて距離拘束を用いた分子動力学シミュレーションを実施したい。

6. 研究成果の発表

以下の発表は本研究と関連するものである。

トロポミオシン

1. 論文「Structural and dynamical characteristics of tropomyosin epitopes as the major allergens in shrimp」Hideo Ozawa, Koji Umezawa, Mitsunori Takano, shoichiro Ishizaki, Shugo Watabe, Yoshihiro Ochiai, 『Biochem Biophys Res Commun.』 498、pp.119-124、2018
2. 学会発表・プロシーディングス論文「pH-dependence of coiled-coil structural parameters of shrimp tropomyosin studied by molecular dynamics simulation」Ozawa H, Umezawa K, Takano M, Ishizaki S, Watabe S, Ochiai Y. 『Proceedings of Fisheries Science for Future Generation』 10008、pp.1-2、2017
3. 学会発表「ホタテガイ横紋閉殻筋トロポミオシンの酸性条件下における構造」小澤秀夫、梅澤公二、高野光則、石崎松一郎、渡部終五、落合芳博『平成 30 年度日本水産学会春季大会』、2018

パルブアルブミン

4. 紀要 SDS-PAGE におけるタンパク質の定量に関する適切な標準曲線関数の決定」小澤洋子、君島健夫、小澤秀夫『神奈川工科大学研究報告. B, 理工学編』42 巻 pp. 57-59、2018

ヒスタミンオキシダーゼ

5. 学会発表・プロシーディングス「The structural fluctuation of the histamine oxidase by molecular dynamics simulation」Ozawa H, Ochiai Y, Yamamura A. 『Proceedings of Fisheries Science for Future Generation』 10026、pp.1-2、2017

ストレスを潜在要因とした味覚・嗅覚・痛覚の感覚間相互作用の基礎的検討

健康生命科学研究所 澤井 明香
情報メディア学科 坂内 祐一
基礎・教養教育センター 竹田 裕一

1. 研究の目的

味覚、嗅覚および触覚の一部である痛覚は、ヒトの五感でも原始的な感覚であり、我々の生活の質（QOL）を保つ上で重要な役割を担う。一方、精神ストレスは生活習慣病や精神疾患の主因の1つであり、厚労省では平成28年より従業員のストレスの評価を企業に義務付けるなど社会的影響は無視できないものになっている。また、医療現場では患者は病気に伴う痛みやストレスがあるなかで、病気の回復の為に耐えながら治療を継続している。痛みは組織の障害や病気を認識させる重要な感覚であるが、その不快感にとどまらず機能障害をもたらすことが多く、QOLの低下に直結する。

本研究では、学科を横断するヒトの感覚の研究者に統計の専門家を加えたチームにより、ストレスと味覚・嗅覚・痛覚の感覚受容との間の定量的な関係を明らかにし、感覚間相互作用に及ぼすストレス因子の影響を解明することを目的とした。

2. 研究の必要性及び従来の研究

従来の研究では、音楽の聴取やアロマセラピーにより苦痛の緩和やストレス低減を図る試みは多数見られるが、刺激および苦痛・ストレスの度合いについて定量的な関係の報告は殆ど成されていない。またストレスと味覚および舌で感じる辛味（痛覚に分類される）との関係を調べた研究例は極めて少なく、断片的な知見に留まっている。また複数の感覚間相互作用に関する研究では、主に認知心理学の分野で嗅覚刺激による味覚の変化を調べた例は存在するが単純な刺激-反応モデルであり、本研究で想定する長時間にわたる嗅覚刺激による味覚受容の変化を調べる際に、刺激によるストレス変化が潜在的な要因として味覚変化に影響することを考慮した系にはなっていない。以上よりストレスと味覚・嗅覚・痛覚の感覚受容との間の定量的な関係を明らかにし、感覚間相互作用とストレス因子との関わりを追究することは、感覚受容とストレスの関係を解明するうえで重要である。

3. 期待される効果

ストレス要因の探求やストレス刺激による心理状態や行動の解析は、心理学や社会学の分野で広く行われているが、ストレスと五感の感覚受容との直接的な関係を調べた研究は多くない。本研究により、ストレスと感覚受容の定量的な関係を求めたのと同様に、1つのモダリティ刺激と他のモダリティ応答という感覚間の関係も定量的に求めることができる。さらに単純な刺激-応答モデルではなく、刺激と応答の間にストレスなどの潜在的な

要因を考慮したストレス評価が可能になると思われる。

4. 研究の経過及び結果

本研究はストレスが味覚・嗅覚・痛覚それぞれの感覚に及ぼす影響の定量化を試み、ストレスを潜在因子として、味覚・嗅覚・痛覚の感覚間相互作用の実験を行い、その知見を痛み緩和のための基礎データにすることを目的としている。

第1段階では、ストレス負荷による感覚（味覚・嗅覚・痛覚（舌の辛味・皮膚痛覚））受容への影響が定量的に明らかになっていないことから、精密制御可能な嗅覚提示装置、痛覚定量分析装置などを利用して、ストレス負荷前後の、味覚・嗅覚・痛覚受容の変化について定量的に調べ、統計的にその関係を明らかにする。第2段階では、嗅覚による痛覚への影響や味覚による痛覚の影響を、ストレス負荷量をゼロから変化させながら実験を行う。ストレス負荷なしのパス（嗅覚刺激により直接的に痛覚応答するパス）とストレス負荷有りのパス（嗅覚刺激からストレスを経由して痛覚応答するパス）とを統計的分析（パス解析）により解析する。

平成28年度に種々のストレス負荷課題のうち暗算を当研究の負荷課題に決めたため¹⁾、澤井は、本年度は第一段階の実験として、主に暗算ストレスが感覚（味覚・痛覚（舌の辛味、皮膚痛覚））に与える影響について調べた。昨年度の予備実験にて辛味感覚の閾値の広さより、統計解析のバイアスを減らすために、事前調査にて辛味閾値が中程度に該当する男子大学生30名を被験者に絞り選出した。被験者は安静30分以上のちストレス暗算施行後の味覚や辛味感覚の変化を調べ、ストレス負荷指標には心電図の周波数分析より得た交感神経活性を用いた。ろ紙ディスクによる味覚検査の結果は、暗算ストレス後には全ての味覚が鋭敏になり、閾値が有意に低下した²⁾。同じろ紙ディスク法による舌の辛味感覚やPainVisionにて測定した前腕皮膚の痛覚は有意に上昇した。第二段階ではストレスの強度と味覚や辛味感覚および痛覚に関する関係性を調べる予定であるが、予備実験より、実験による負荷ストレスは、その負荷強度には限界がある事や個人差が大きい事がわかったため、現在の暗算ストレスの負荷状況において、交感神経活性を指標とした場合のストレス感受の程度（強弱）による比較を検討した。辛味感覚と皮膚の痛み感覚には有意相関がみられたため、さらに交感神経活性の中央値によりストレス有群と無群に分別すると、ストレス有群は痛覚と皮膚の痛み感覚に極めて有意な相関関係を得た²⁾。味覚もストレス後は閾値が有意に変動するが、辛味感覚のように交感神経で分別した2群比較における有意差はみられなかった。培養味細胞や末梢の痛覚が交感神経の影響を受けるという先行研究をヒト生理実験により補足する結果となり、学術論文にまとめている。また感覚受容の一環として、ストレスの視覚への影響も調べた。ストレスにより課題回答時の眼球運動の制御の悪化が観察されたため当結果も学会に報告した³⁾。

坂内は味覚刺激提示に関して、ろ紙ディスクに代わり圧電素子を用いた味覚ディスプレイを開発して、定量的な味覚提示ができることを確認した⁴⁾。ろ紙ディスク法、ピペットを用

いた滴下法と味覚ディスプレイを用いた場合の味覚認知閾値を計測したところ、ピペットによる滴下法を同等の閾値であり、ろ紙ディスク法より閾値が低いことが判明した。またストレスによる嗅覚感度の変動を調べるにあたって、安定した嗅覚感度測定法を開発する必要がある。坂内らは、嗅覚ディスプレイを用いて2つの香りパルスと比較することにより、香りの弁別閾値を求めてこの値の変動により嗅覚感度の変化を定量化する方法を開発した⁵⁾。このことにより、各種ストレス刺激が与えられた時の嗅覚感度の変化を定量化することができる。

5. 今後の計画

ストレスと味覚・舌の辛味感覚・皮膚の痛覚・視覚の関係を学術論文にまとめ投稿する。当研究にて開発された味覚・嗅覚ディスプレイを用いたストレス検査を、既存のろ紙ディスク法以外の感覚評価法として施行する。また味覚・嗅覚刺激提示のためのディスプレイが利用可能になったので、嗅覚と痛覚の感覚間相互作用およびストレスと嗅覚の相互作用などの実験を行い、第2段階で予定しているストレス負荷なしのパス（嗅覚刺激により直接的に痛覚応答するパス）とストレス負荷有りのパス（嗅覚刺激からストレスを経由して痛覚応答するパス）の統計解析に結び付けていく。

6. 研究成果の発表

- 1) Sawai A, Igarashi R, Saitou M, Enami N, Sawai S, Fujikawa T, Takahashi K, Tochikubo O, Relationship between the risk of metabolic syndrome and the lifestyle index measured by the PULSESENSE wristwatch-type stress-calorie monitor in middle-aged subjects, GMI, in press.
- 2) 澤井明香, 本村拓磨, 大島達弘, 梶久保修. 痛覚定量分析装置を用いた唐辛子の辛味の感受の客観的評価法の検討. 第71回日本栄養食糧学会大会（岡山県立大学）, 2018年5月
- 3) 大島達弘, 八木雄斗, 澤井明香. 欠食及び咀嚼の有無が顔再認試験回答時および視覚的注意の定位時の眼球運動に及ぼす影響の検討, 第28回日本咀嚼学会大会（日本歯科大学）, 2017年9月
- 4) 長草恭斗, 坂内祐一: ピエゾ振動子を用いた味覚ディスプレイによる味覚認知閾値の計測, 日本バーチャルリアリティ学会第21回香り・味と生体情報研究会（神奈川工科大学） 2018年3月
- 5) 有賀安央衣, 坂内祐一: ベクシオンが嗅覚弁別閾値に及ぼす影響について, 日本バーチャルリアリティ学会第21回香り・味と生体情報研究会（神奈川工科大学） 2018年3月

高齢者のサルコペニア予防・改善のための新規栄養食品の開発

栄養生命科学科 佐々木 一

1. 研究の目的

サルコペニアは、高齢者の加齢性筋肉減弱症である (1)。加齢に伴うたんぱく質合成抑制、慢性炎症が、発症と進行に関係すると考えられている (2)。そのため、サルコペニアの予防と進行遅延には炎症抑制およびたんぱく質合成促進が必要である。

乳清たんぱく質は、良質のたんぱく質源であることに加え、我々が発見した炎症抑制作用を示す。本研究の目的は、乳清たんぱく質の特性を活用し高齢者のサルコペニアの予防と進行遅延を目的とした栄養食品開発のために、その科学的基盤を得ることである。

2. 研究の必要性および従来研究

サルコペニアは、高齢者の虚弱（フレイルティ）の原因となる。虚弱の進行は、基礎代謝、身体機能の低下を誘導し、消費エネルギー量の減少、食欲低下をもたらし、さらに栄養不良、サルコペニアを促進させるというフレイルティ・サイクルを形成する (3)。フレイルティ・サイクルは、寝たきりへの過程であり、健康寿命に影響を与える。そのため、サルコペニアの予防、進行の遅延は高齢者社会に必須である。

従来は、高齢者のたんぱく質摂取量とサルコペニア発症との関係についての疫学的調査 (4) や、高齢者にレジスタンス運動を負荷した場合の骨格筋におけるたんぱく質合成促進についての研究 (5, 6) がなされてきた。骨格筋の炎症や運動負荷を与えない場合の骨格筋のたんぱく質合成に対して、特定のたんぱく質の効果についての詳細な検討はなされていない。

3. 研究の経過および結果

これまでの研究（平成 27～28 年度）で、実験的に誘発した骨格筋の損傷および炎症に対して乳清たんぱく質が抑制効果を示すことを明らかにした。

本年度は、乳清たんぱく質を摂取したマウスの骨格筋のたんぱく質合成に対する効果を検証した。以下に、検討結果を詳述する。

材料と方法

飼料組成 ー マウス用飼料 AIN-93G 中のたんぱく質源としてカゼイン分解ペプチドまたは乳清たんぱく質分解ペプチドを 20% (重量) 配合した。それぞれの飼料を、AIN-93G (CP)、AIN-93G (WP) とする。

動物 ー C57BL マウス (雄、6 週齢) を 5 匹/群とし、8 群を構成した。4 群をたんぱく質源としてカゼイン分解ペプチドを配合した AIN-93G (CP) 摂取群とし、他の 4 群を乳清たんぱく質分解ペプチドを配合した AIN-93G (WP) 摂取群とした。飼料および水は、飼育開始か

ら解剖までの期間自由摂取とした。

骨格筋採取 -- マウスを上記飼料で3日または7日間飼育後、イソフルラン飽和雰囲気中で全身麻酔し、左右の腓腹筋を採取した。採取した腓腹筋は、RNALater 溶液中に浸漬し、RNA 抽出まで-20℃で保存した。

骨格筋のたんぱく質合成制御の指標 -- mTOR (mammalian target of rapamycin) は、細胞のたんぱく質合成や細胞質の機能維持の中心的制御因子である。mTOR 複合体はサブユニット構成が異なる2種類が存在し、mTOR Complex 1 (mTORC1) と mTOR Complex 2 (mTORC2) と呼ばれる。

mTORC1 は、たんぱく質合成を制御し、Raptor (regulatory-associated protein of mTOR) を特異的サブユニットとして構成される。mTORC2 は、細胞機能や代謝を制御し、Rictor (rapamycin-insensitive companion of mTOR) を特異的サブユニットとして構成される。mTORC1 の検出には、Raptor を、mTORC2 の検出には Rictor を指標とした。

リアルタイム PCR -- 腓腹筋・肝臓から RNA を抽出、逆転写反応にて cDNA を合成、その後リアルタイム PCR 法にて各遺伝子の発現量を測定した。18S rRNA をリファレンス遺伝子とし、相対発現量で表した。

ウエスタンブロッティング -- 腓腹筋 (5mg) からたんぱく質を抽出し、遠心分離 (4℃、15,000rpm、10分) により得られた上清を SDS 電気泳動緩衝液で 1mg/mL 濃度に調整し、冷凍保存した。10 μg/10 μL のたんぱく質を電気泳動後、SDS-PAGE 中のたんぱく質を PVDF 膜にセミドライ法により転写した。転写後、抗 mTOR 抗体、抗リン酸化 mTOR 抗体を用いて、mTOR およびリン酸化 mTOR を検出した。検出した mTOR、リン酸化 mTOR の相対的たんぱく質量を、画像解析ソフトウェア (Image-J) を用いて測定した。

結果

体重 -- 飼育7日後のマウス平均体重に有意な差は見られなかった。飼料摂取量と摂取エネルギー量に有意な差が見られた。AIN-93G (CP) 群と比較し、AIN-93G (WP) 群は、有意に少ない飼料摂取量 (エネルギー量) であった (表1)。乳清たんぱく質は、カゼインよりもエネルギー効率が低いと考えられる。

表 1. マウスの体重と飼料摂取量

	AIN-93G (CP) 摂取群	AIN-93G (WP) 摂取群
体重平均値 (g)	21.7 ± 0.37	22.0 ± 0.25
飼料摂取量 (g/日/匹)	4.3 ± 0.29	3.1 ± 0.17**
摂取エネルギー量 (kcal/日/匹)	17.1 ± 1.17	12.3 ± 0.68**

平均 ± SE **p<0.01

mTOR 遺伝子発現 -- AIN-93G (CP) 群と比較し、AIN-93G (WP) 群では、腓腹筋の mTOR 本体の遺伝子発現レベルは、有意に高い結果であった (図 1a)。Raptor (mTORC1 のサブユニット) の遺伝子発現レベルは、AIN-93G (CP) 群と比較し、AIN-93G (WP) 群で高い結果であった (図 1b)。一方、Rictor (mTORC2 特異的サブユニット) の遺伝子発現レベルは、AIN-93G (CP) 群と AIN-93G (WP) 群との間で、差は認められなかった (図 1c)。

すなわち、乳清たんぱく質を摂取したマウスの骨格筋では、mTORC1 の発現が高まり、た

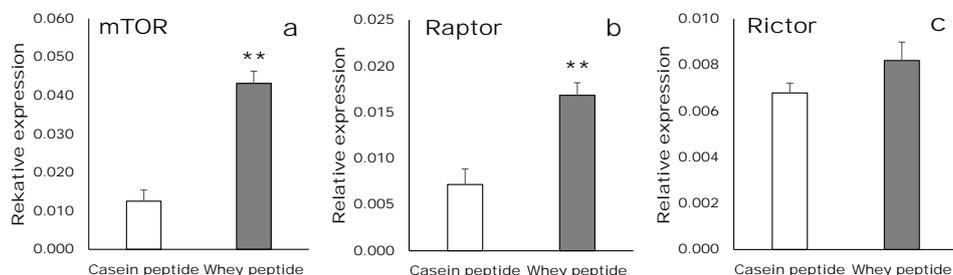


図 1a、b、c. mTOR、mTORC1 (Raptor)、mTORC2 (Rictor) の発現量の比較 (**: p<0.01)

んぱく質合成が促進されていると考えられる。

ウエスタンブロッティング法によるたんぱく質の検出 -- mTORおよびリン酸化mTORの相対的たんぱく質量を、それぞれのたんぱく質に特異的な抗体を用い検出した。検出した mTOR の相対的たんぱく質量を比較した結果、AIN-93G (CP) 群と比較し、AIN-93G (WP) 群の mTOR 検出量が有意に高かった (図 2a)。また、AIN-93G (CP) 群と比較し、AIN-93G (WP) 群のリン酸化 mTOR の検出量も高かった (図 2b)。

たんぱく質合成能と飼料摂取期間との関係 - 飼料摂取期間 3 日と 7 日後の mTOR 遺伝子発現量をした結果、乳清たんぱく質の効果が現れるには、7 日間の給餌が必要であった。3 日間の給餌では、乳清たんぱく質による腓腹筋の mTOR 遺伝子の発現促進効果は現れなかった (図 3)。

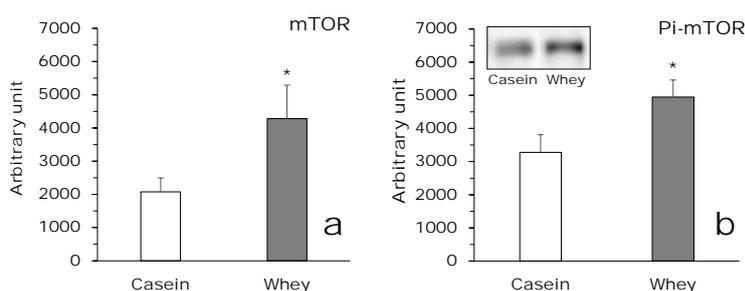


図 2a、b. mTOR、リン酸化 mTOR (Pi-mTOR) のたんぱく質量の比較 (*: p<0.05)

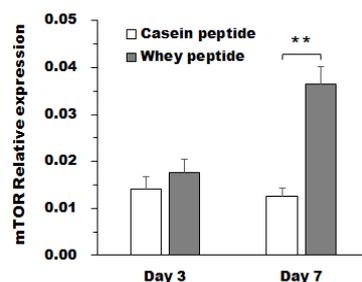


図 3. 飼料摂取期間の相違による mTOR 発現量の変化 (**: p<0.01)

結論

骨格筋の mTOR、Raptor の遺伝子発現量は、WP 摂取群において有意に高い値を示した。また、mTOR たんぱく質量も WP 摂取群において高い値を示し、リン酸化 mTOR たんぱく質量も

WP 摂取群において高い値を示した。すなわち、WP 摂取群のマウスの骨格筋では、mTORC1 を介してたんぱく質合成が促進されていると考えられる。

従来は、レジスタンス運動後の乳清たんぱく質摂取により、運動により促進された骨格筋たんぱく質合成がさらに促進されることが報告されてきた (5、6)。レジスタンス運動負荷後の投与は、単回投与によるもので、一時的なたんぱく質合成促進効果 (急性効果) である。今回の実験結果は、乳清たんぱく質の一定期間 (7 日) の摂取により、レジスタンス運動などの負荷を受けていない骨格筋において、たんぱく質合成が促進された状態に変化することを示している。すなわち、乳清たんぱく質が、たんぱく質合成を促進する体質に変化させる効果を持つと考えられる。

4. 今後の計画

以上の結果は、目的としたサルコペニアの予防・進行遅延に対応した栄養食品の開発の基盤を提供する。今後、サルコペニア対応の栄養食品の開発に移行する。

5. 研究成果の発表

論文 -- 現在準備中

特許 -- 下記を出願済み

発明の名称： サルコペニアの予防改善用栄養組成物

発明者： 佐々木 一

出願日： 平成 30 年 1 月 30 日

特許出願番号： 特願 2018-013702

文献

1. Rosenberg IH. Summary comments. *Am J Clin Nutr.* 50:1231—1233, 1989.
2. Schaap LA, Pluijm SM, Deeg DJ, Visser M. Inflammatory markers and loss of muscle mass (sarcopenia) and strength. *Am J Med.* 119:526. e9-17, 2006.
3. Xue QL, Bandeen-Roche K, Varadhan R, Zhou J, Fried LP. Initial manifestations of frailty criteria and the development of frailty phenotype in the Women's Health and Aging Study II. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 63:984-990, 2008.
4. 下方 浩史, 安藤 富士子. 疫学研究からのサルコペニアとそのリスク — 特に栄養との関連. *日本老年医学会雑誌* 49, 721-725, 2012
5. Kumar V, Selby A, Rankin D, Patel R, Atherton P, Hildebrandt W, Williams J, Smith K, Seynnes O, Hiscock N, Rennie MJ. Age-related differences in the dose-response relationship of muscle protein synthesis to resistance exercise in young and old men. *J Physiol.* 587:211-217, 2009.
6. Colonetti T, Grande AJ, Milton K, Foster C, Alexandre MC, Uggioni ML, Rosa MI. Effects of whey protein supplement in the elderly submitted to resistance

training: systematic review and meta-analysis. *Int J Food Sci Nutr.* M 68:257-264, 2017.

α-アミラーゼ添加がパンの物理的特性と食べやすさに及ぼす影響 -パン咀嚼食塊の物理的特性よりの検討-

応用バイオ科学部栄養生命科学科 高橋 智子

1. 研究の目的

α-アミラーゼのようなでんぷん分解酵素をドウに添加することによる、焼成後のパンの食べやすさの変化を、咀嚼中、および嚥下直前のパン食塊より検討した報告はこれまでみあたらない。本研究では食べやすさの評価を、パンによる窒息事故原因と推測される咀嚼中のパン食塊の物理的特性の変化を中心に検討することとした。パンの咀嚼食塊の物理的特性を変化させている大きな要因として考えられるのは、食塊中に含まれる唾液含有率であると推測される。そこで、パン食塊中に含まれる唾液含有率とα-アミラーゼ添加の関係について検討することとした。

2. 研究の必要性及び従来の研究

これまでパンと同様に唾液を吸いやすいことで食べにくいとされている多孔質食品として、平成27年度にはグルテン含量の異なる小麦粉を用いたクッキーの力学的特性と食べやすさの関係を検討した。その結果、硬さの異なるクッキーでは、咀嚼回数を調節することで食塊中の水分および食塊のテクスチャー特性を調節していることが示唆された。官能評価結果より、口腔内でのほりつき感で、高齢者においては有意差が認められるものの、若年者では有意差が認められなかった。これは加齢により唾液量が減少し、また唾液の粘度も上昇しているため、口腔内でのほりつき感をより強く感じたと考えられる。また、高齢者は咀嚼力や歯の欠損のため、食塊を形成するまでの咀嚼回数を多く要することより、口腔内での食塊の滞留時間が長いことも影響していることが示された。これらの結果をふまえ、多孔質性食品であるパンについて、α-アミラーゼを添加することで物理的特性と食べやすさの関係がどのように変化するかについて検討した。

3. 期待される効果

本研究より得られた結果は、高齢者が食べやすい（咀嚼しやすい）パンの開発を試みている食品会社と検討し、商品開発に役立ててもらおう。また、高齢者施設の管理栄養士により、実際の調理現場で活用してもらおう。

4. 研究の経過及び結果

本研究では、基本パン試料であるパン試料A、基本パン配合にショートニングを添加した油脂添加パン試料B、油脂添加パン試料Bにα-アミラーゼを添加したα-アミラーゼ添加パン試料Cを試料とした。いずれも調製より1日、および5日保存したものを

パン試料とし、その糊化度、物理的特性、および食べやすさを検討した。油脂が含まれるパン試料 B、C はパン試料 A に比べ、比容積は有意に大きいことが認められたが、パン試料 B、C 間に有意差は認められなかった。テクスチャー特性の硬さは、パン試料 C が有意に軟らかく、ついでパン試料 B、さらにパン試料 A は最も硬いことが認められた。パン試料 A、B は 5 日保存試料が 1 日保存試料に比べ、有意に硬いことが認められたが、 α -アミラーゼを添加したパン試料 C の 1 日保存試料と 5 日保存試料の硬さの間に、有意差は認められなかった。パン試料に含まれるでんぷんの糊化度と硬さの間に高い負の相関関係が認められた (図 1)。このことより、 α -アミラーゼ添加パン試料 C が A、B 試料よりも軟らかいのは、パン生地に含まれる小麦でんぷんが低分子化することで、でんぷんの糊化が促進し、また保存による老化が抑制されたためと考えられる。

咀嚼筋電位測定の結果、咀嚼回数と咀嚼終了までの総筋活動時間において試料間に有意差が認められ、いずれもパン試料 C がパン試料 A、B に比べ、少ないことがわかった。糊化度と咀嚼回数、総筋活動時間の関係より、パン生地中に含まれる小麦でんぷんの糊化度が大きくなるに従い、嚥下開始までの咀嚼回数は少なく、咀嚼時咬筋の総筋活動時間が短くなることが示された。咀嚼回数と食塊の硬さの関係 (図 2) より、咀嚼前の試料よりも 5 回咀嚼食塊の硬さが硬くなった。ことに、水分率の低い 5 日保存パン試料では、咀嚼回数が少ない 5、10 回で、 α -アミラーゼを添加したパン試料 C の食塊の硬さが他の 2 試料に比べ、軟らかいことがわかった。咀嚼回数 5 回以後、パン食塊は唾液を含むことで軟らかくなり、1 日保存、5 日保存のパン試料の嚥下直前食塊の硬さは同程度となった。このことより、健常若年者は気泡の分散状態や硬さが異なるパン試料に対して、安全に嚥下できる軟らかい食塊になるまで咀嚼していることが推測される。

嚥下直前のパン試料食塊の嚥下唾液含有率より、安全に嚥下可能な食塊形成するためには、水分率が少ない 5 日保存試料のほうが 1 日保存試料よりも、唾液量を多く要することが示された。また、5 日保存において、 α -アミラーゼ添加パン試料 C の嚥下直前食塊の唾液含有率が他の 2 試料に比べ、有意に少ないことがわかった。消費期限の製造後 5 日間保存することで水分率が低下したパンは、 α -アミラーゼを添加することにより、添加していないパンに比べ、少ない咀嚼回数、少ない唾液含有率でも嚥下可能な食塊形成ができることがわかった。

本研究は、咀嚼筋電位測定、食塊の性状の検討は若年健常者を被験者として用いた基礎的研究である。唾液分泌量が低下し咀嚼障害を有する高齢者、認知機能が低下した高齢者では、安全に嚥下できるパン食塊の性状まで咀嚼しないで嚥下する可能性がある。本研究の結果より、パンのような多孔質性食品は、少ない咀嚼回数で十分に唾液を含んだ状態ではない食塊で嚥下すると、パン食塊は硬い塊となり、窒息の原因になることが推測される。

以上の結果より、 α -アミラーゼを添加することでパン生地に含まれるでんぷんの糊化を促進し、保存により生じる老化を抑制することで、調製後 5 日間保存しても軟らか

い状態を保持できることがわかった。

5. 今後の計画

本研究では、トーストなどの再加熱を行わない状態でのパンの食べやすさについて検討したものである。再加熱によるパンの性状と食べやすさの変化については、さらなる検討が必要になる課題となる。

6. 研究成果の発表

平成 30 年度日本バイオレオロジー学会（名古屋大学）、平成 30 年度日本摂食嚥下リハビリテーション学会（仙台）学術大会にて発表予定である。「咀嚼筋電位および食塊の性状による α -アミラーゼ添加パンの食べやすさの評価 ―糊化度および物性からの検討―」として、平成 30 年 4 月に日本摂食嚥下リハビリテーション学会誌投稿済みである。

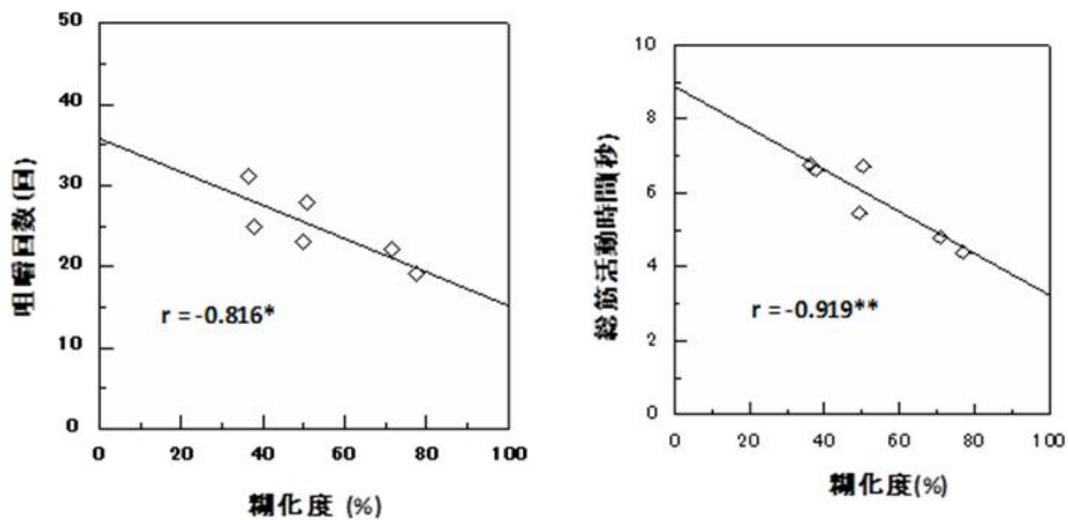


図1 クラムの糊化度と咀嚼回数・総筋活動時間の関係

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$,

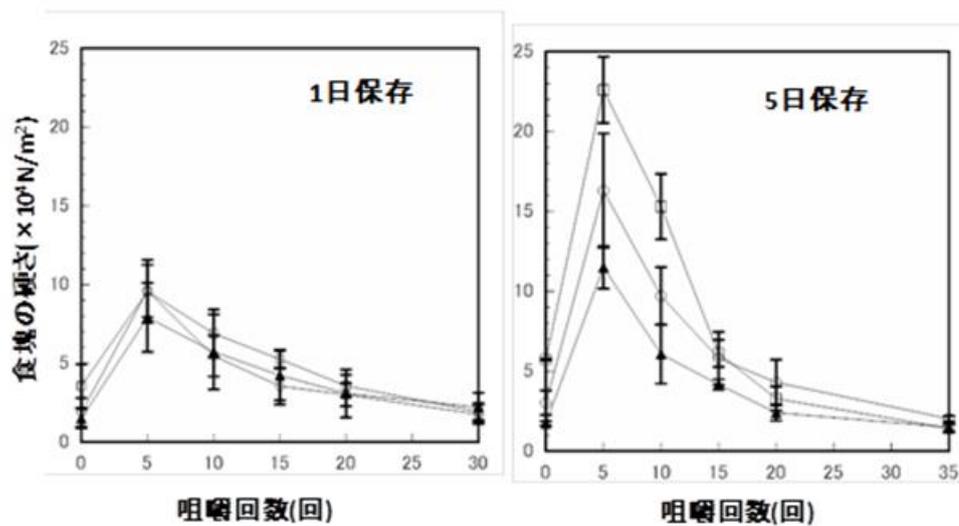


図2 咀嚼回数と食塊の硬さの関係

□A: 基本配合パン試料, ○B: 基本配合+ショートニング添加パン試料,
 ▲C: 基本配合+ショートニング+耐熱性 α -アミラーゼ添加パン試料

脂質代謝に対する生活リズムと飼料タンパク質量の関連に関する研究 -モデルラットを用いる検討-

研究者名：栄養生命科学科 花井美保

1. 研究の目的

本研究では、生活リズムが24時間周期でないモデルとして連続暗黒下で飼育したラットを用い、脂質代謝に対する摂取タンパク質量の影響を明らかにすることを目的とした。

2. 研究の必要性及び従来の研究

生活活動の多様化により24時間周期の規則正しい生活を送っていない人々が増加しており、これらの人々は生活習慣病に罹患しやすいことが報告されている。また、若年女性は、節約志向、食事の簡素化により炭水化物主体の食事(低タンパク質食)をする傾向にあり、実際60代女性より、20代女性のほうがタンパク質摂取量は低い(28年度国民健康・栄養調査報告)。低タンパク質食は、脂肪肝をはじめとする脂質代謝異常を引き起こすことはすでに報告されている。しかし、これらの代謝異常が生活リズムの不規則な場合により強く現れるか否かに関する研究はされていない。生活リズムが不規則な場合に脂質代謝に及ぼす低タンパク質食の影響を明らかにすることは、適切な栄養指導をする際の科学的根拠の1つとなり、栄養政策を進める上で必須である。本研究は、栄養政策実施のための基礎実験に位置する。

申請者はこれまで、生活リズムが乱れたモデルとして連続暗黒下で飼育したラットを用いている(学術論文として発表済、JNSV2011, 2012, 2013, 2017など)。連続暗黒飼育により生殖器の発達抑制、カルシウム吸収の低下が起こるが、その影響は低タンパク質食により悪化、高タンパク質食により軽減されることを報告している。しかし、脂質代謝に対する連続暗黒飼育と飼料タンパク質の関連については検討していない。

3. 期待される効果

連続暗黒飼育が雌ラットの脂質代謝に影響を与え、その影響がタンパク質摂取量により異なることが示されれば、生活リズムが24時間周期でない若年女性に対する栄養指導をする際の基礎データとしての利用が期待できる。

4. 研究の経過及び結果

4-1. 研究方法

3週齢のフィッシャー系雌ラット24匹を1週間の予備飼育後、明暗飼育条件の違い(連続暗黒飼育(D群)または正常明暗飼育(12時間明期、12時間暗期、(N群))、飼料タンパ

ク質量の違い(2水準)より4群に群別し、4週齢から8週齢まで4週間飼育した。実験は2回実施し、実験1のタンパク質量は、カゼイン量として10%と20%、実験2では、5%と20%とした。それぞれの群は、実験1では、連続暗黒飼育・10%カゼイン食群(D10%群)、連続暗黒飼育・20%カゼイン食群(D20%群)、正常明暗飼育・10%カゼイン食群(N10%群)、正常明暗飼育・20%カゼイン食群(N20%群)、実験2では、連続暗黒飼育・5%カゼイン食群(D5%群)、連続暗黒飼育・20%カゼイン食群(D20%群)、正常明暗飼育・5%カゼイン食群(N5%群)、正常明暗飼育・20%カゼイン食群(N20%群)である。実験飼料は、AIN-93G飼料組成をもとにタンパク質源であるカゼインの添加量を5%、10%または20%と変化させ、他の組成はAIN-93G飼料組成と同様とした。AIN-93G飼料の標準カゼインレベルは20%であり、5%カゼイン食は標準の1/4量、10%カゼイン食は標準の1/2量の低タンパク質食となる。飲料水には純水を与え、飼料・飲料水は自由摂取とした。4週間飼育後、血液および肝臓を採取し、実験に供した。

4-2. 体重増加量および肝臓重量について

体重増加量は、実験1では明暗飼育条件の影響がみられたが、飼料タンパク質量の影響はみられなかった。一方、実験2では、体重増加に明暗飼育条件の影響はみられず飼料タンパク質量の影響がみられた。実験1の飼料中のカゼイン量は10%または20%であり、10%飼料群は、摂食量を増加させることで体重増加を維持したと考えられる。しかし、実験2の飼料中カゼイン量は5%または20%であり、5%飼料群は、飼料摂取量を増加させたものの体重を維持するまでには達しなかったと考えられる。体重増加は実験1ではD群で有意に低く、実験2では、D群とN群間に差はみられなかった。体重増加に対する明暗飼育条件の影響が、実験1と実験2で異なった原因の1つとして、実験2では実験開始1週目、2週目においてのD群での飼料摂取量がN群と比較して有意に高かったためであると考えられるが、摂取量が増加した要因については不明である。

肝臓重量(g/100g体重)は、実験1では、明暗飼育条件の影響のみがみられ、実験2では、明暗飼育条件の影響と飼料タンパク質量の影響、および明暗飼育条件と飼料タンパク質量の交互作用がみられた。肝臓重量はD群ではN群より低値を示し、連続暗黒飼育は肝臓の発育を抑制することが示された。特に5%飼料群では、連続暗黒飼育による肝臓の発育の抑制が顕著であった。

4-3. 肝臓中トリグリセロール量について

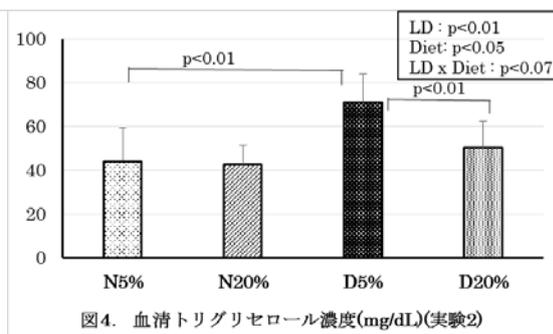
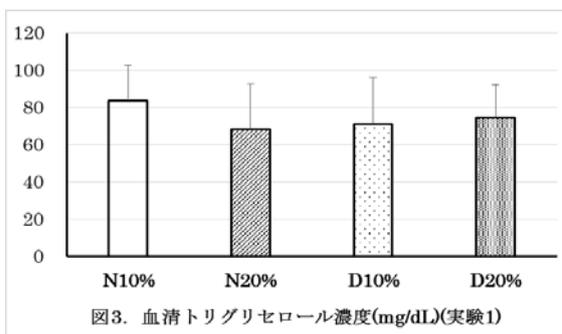
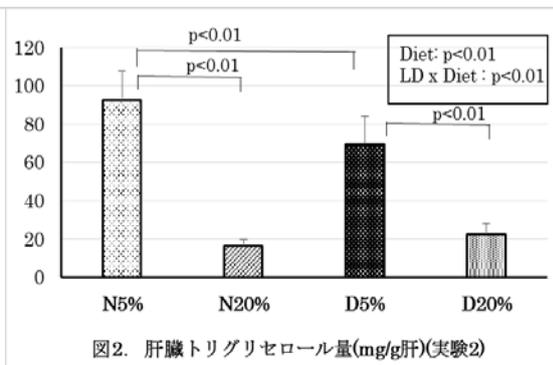
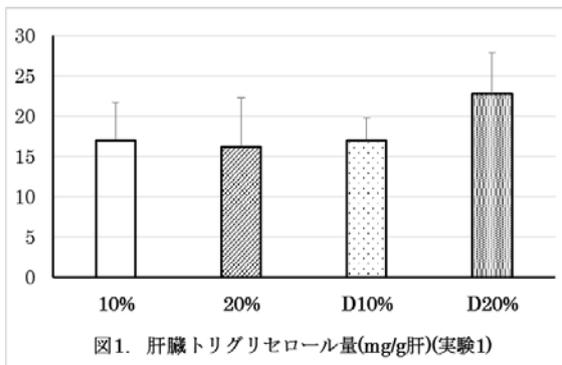
肝臓中トリグリセロール量は、実験1では明暗飼育の影響および飼料タンパク質量の影響はみられなかったが、実験2では飼料タンパク質量の影響および明暗飼育条件と飼料タンパク質量の交互作用がみられた。20%飼料ではN20%群とD20%群に差はみられなかったが、5%飼料では、N5%群はD5%群に比較し有意に高値を示した。

4-4. 血中トリグリセロール量について

血中トリグリセロール量は、実験 1 では明暗飼育の影響および飼料タンパク質量の影響はみられなかったが、実験 2 では明暗飼育条件、飼料タンパク質量の影響がみられ、明暗飼育条件と飼料タンパク質量の交互作用の影響がみられる傾向があった。20%飼料では N20%群と D20%群に差はみられなかったが、5%飼料では、D5%群は N5%群に比較し有意に高値を示した。また、D 群内でも D5%群は D20%群に比較し有意に高値を示した。

4-5. 後部腹壁脂肪について

実験 2 において、後腹壁脂肪量は連続暗黒飼育により高値を示す傾向 ($p < 0.10$)、5%飼料で高値を示す傾向 ($p < 0.06$) がみられた。



4-6. まとめ

低タンパク質食は脂肪肝を誘発することはすでに知られており、本実験においても5%カゼイン食給餌により肝臓のトリグリセロール量が増加した。10%カゼイン食は脂肪肝を誘発する程の低タンパク質食ではないことが確認できた。また、連続暗黒飼育により肝臓のトリグリセロール蓄積量が低下し、血中のトリグリセロール量が増加、体脂肪である後部腹壁脂肪量が増加する傾向がみられた。

以上のことから、連続暗黒飼育は低タンパク質食による肝臓での脂肪酸合成の亢進を

抑制させる可能性、肝臓での血中リポタンパク質からの脂質の受け取りを抑制させる可能性、あるいは肝臓からのリポタンパク質の排出を促進させる可能性があることが考えられた。

5. 今後の計画

肝臓における脂肪酸合成、リポタンパク質の取り込みおよびリポタンパク質の排泄に関連する遺伝子発現について検討し、連続暗黒飼育・低タンパク質食により血中トリグリセロール濃度が高値になるメカニズムを明らかにする予定である。

6. 研究成果の発表

本研究の結果は、2017年9月、第64回日本栄養改善学会学術総会で発表した。さらに研究結果を蓄積し、関連学会誌に投稿予定である。

プロスタサイクリンとアディポサイトカインの相互作用の検討

研究者名：所属学科 栄養生命科学科 氏名 横山知永子

1. 研究の目的

生活習慣病による動脈硬化の予防・治療のため、血管機能維持に重要な PGI₂ の作用機序を、遺伝子改変マウスの組織や PGI₂ 欠損細胞を用いた動脈硬化の *in vitro* モデル実験系を確立して明らかにすることを目的に、アディポサイトカインのなかで唯一血管保護に作用していると考えられているアディポネクチンと PGI₂ との関連性を明らかにする。

2. 研究の必要性及び従来の研究

近年我が国では平均寿命が延長しているが、必ずしも健康に過ごせる期間(健康寿命)が延びているわけではない。実際、生活習慣病が原因となる脳・心血管系の疾患による死亡率は、年々増加している。生活習慣病である肥満、糖尿病、脂質異常症、高血圧、そしてそれらが複数組み合わせられたメタボリックシンドロームは、いずれも動脈硬化が生じて虚血性心疾患や脳梗塞などに進展するが、同時に慢性腎臓病や糖尿病性腎症などの腎障害を併発するリスクを非常に高め、透析治療を余儀なくされる患者数の上昇が大きな問題になっている。我々はこれまでに、PGI₂ 合成酵素遺伝子を欠失させ、血管系の恒常性維持に重要な PGI₂ を産生できない遺伝子改変マウス(PGI₂ 欠損マウス)を作製し、このマウスが加齢に伴い慢性腎臓病様の病変を生じることを見出した。また、PGI₂ 合成酵素欠損マウスにおいて、生後 28 日までに腎臓に炎症が惹起されていること、さらに、この時に血管由来の炎症関連遺伝子の発現が変動していることを見出している。一方、血液中には脂肪細胞で合成されるアディポネクチンと呼ばれるたんぱく質が多く存在しており、その生理作用としてインスリン感受性の維持だけでなく血管壁の保護作用が考えられている。しかしながら、血管機能維持に重要な PGI₂ と血管保護作用を有するアディポネクチンの関連性の有無については明らかではない。

3. 期待される効果

生体内での PGI₂ とアディポネクチンの関係性を明らかにすることにより、より生体内に近い動脈硬化モデル細胞実験系の確立と詳細な細胞レベルでの作用機序の解明につながる。また、得られた結果は、再び動物実験に還元され、さらに臨床研究のもとになるものとする。

4. 研究の経過及び結果

PGI₂ は血管内皮細胞や血管平滑筋細胞でアラキドン酸から産生され、血管壁を保護

している。血管壁に何らかの刺激が加わると血管平滑筋細胞ではアラキドン酸からトロンボキサン(TX)A₂が産生されて血管が収縮する。PGI₂とTXA₂はどちらもPGH₂からそれぞれの合成酵素により産生されるため、PGI₂合成酵素が欠損するとTXA₂の生成量が高くなってより強く血管が収縮するとともに、血小板や白血球などからもTXA₂が産生されて炎症反応が亢進する。一方、PGI₂の特異的膜受容体であるIP受容体を介したPGI₂の作用には炎症を促進する作用が、核内受容体の1つであるPPAR-deltaを介した作用では炎症抑制作用が観察され、PGI₂は炎症と複雑に関わっている。

ところで、血清中には脂肪細胞から産生されるアディポサイトカインの1つであるアディポネクチンが高濃度に存在しており、このタンパク質に血管保護作用があることが明らかにされつつある。炎症刺激で細胞障害や線維化を起こす細胞培養系を探索するうえで、脂肪細胞に分化し、その過程でアディポネクチンを発現する3T3-L1細胞を用いて、アラキドン酸とエイコサペンタエン酸の影響について検討した結果、エイコサペンタエン酸処理細胞と比べアラキドン酸処理細胞では明らかな炎症惹起関連遺伝子の発現レベルの上昇が観察された。さらに、脂肪細胞へ分化させた後に長期間培養すると分化した脂肪細胞は肥大化し、アディポネクチンの発現レベルは低下するが、エイコサペンタエン酸添加培地で培養した細胞では、アディポネクチンの発現レベルの低下に遅延の傾向が観察された。さらに詳細な検討が必要である。

5. 今後の計画

遺伝子発現レベルの変動と併せて、生成物の測定が必要である。ただし、生成物の測定限界により測定が困難な場合も予測されるため、培養細胞を組み合わせた実験系で生成物の生理作用を観察する系を確立し、血管壁の恒常性維持に対するPGI₂とアディポサイトカインの関連を調べる。

間断のない食育実施のための日本人の食生活の在り方に関する研究

研究者名：栄養生命科学科 饗場直美、楠木伊津美

1. 研究の目的

2013年から施行されている健康日本21第2次は、「すべての国民がともに支え合い、健やかで心豊かに生活できる活力ある社会の実現」をめざし、健康寿命の延伸と健康格差の縮小をするために、健康づくりのポピュレーションアプローチと同時に社会環境の改善の二面から取組が行われようとしている。健康寿命の延伸のために、特に高齢者の要介護状態を予防するための取り組みが健康寿命延伸に重要な取組とされている。高齢者の健康を保持し、要介護状態を予防すること、あるいは先送りにするためには、良好な栄養状態に保ち、身体、心理、社会的機能を維持することが不可欠である。しかしながら高齢者は老化に伴って様々な身体的機能は低下することは免れないことから、低下してくる身体機能に対応しながら適切な栄養摂取ができるような食支援が必要である。

これまで申請者らは、自立できている高齢者から要介護にいたる高齢者に対して、最後まで口から食べられるような食環境整備の在り方について検討するために、高齢者の食生活や健康状況について疫学的手法を用いて調査検討を行ってきた。人の食習慣は小さいころからの食事の積み重ねであり、その積み重ねが高齢期の食べる能力を維持することに繋がってくる。

本研究は、日本人の食生活について、様々なライフステージの特性に合わせながら、継続できる食支援の構築をめざしており、日本人にとっての長寿であるための食のありかたを各ライフステージの局面から検討し、人が生涯を通じてどのような食育を受ければ「健康寿命延伸」が可能になるのかについて各世代で検討し、日本人の食生活の在り方について検討する。

2. 研究の必要性及び従来の研究

健康寿命を延伸させるためには、高齢者の健康を保持することに加えて、高齢者が健康に「老いる」ことが可能な食生活習慣を根付かせる必要がある。このためには、幼児・学童からの食習慣確立の時期からの生涯を通じた食育が不可欠であるが、各世代間の食育のありかたについて、人の一生を通じた食育としてつながった食育が構築されていないのが現状である。

申請者らは、学校における食育のありかたについては、饗場が主任研究者として女子栄養大学金田教授との共同研究(文部科研究費基盤C)において、給食を活用した食育のありかたについて研究を実施してきており、学校給食が子どもを通じて家族の食生活に影響を与えることを明らかにしてきた。

また、高齢者の食支援について、企業（株式会社明治、ヤクルト本社株式会社）との共同研究や他大学や国立健康・栄養研究所との共同研究に高齢者の食生活や栄養状態につい

での実態調査を実施し、その課題の掘り起しを行ってきた。自立生活のできている高齢者の栄養状態について5000人のコホートを使って調査し、食行動や心的状況、栄養状態、食生活状況について基礎的データを取得し、肥満に関連する食行動を明らかにしてきた。また在宅および高齢者施設での要支援、要介護の高齢者の食生活の課題や食環境についても調査を行い、自立できている高齢者から介護の必要な高齢者について、幅広く高齢者の栄養について調査研究を行い、在宅支援を受けている高齢者の食生活状況をみると、摂食嚥下状況が低下するとともに、食生活に対してのQOLが低下してきていることを明らかにし、高齢者が抱える食の課題について明らかにしてきた。

3. 期待される効果

(1) 自立できている高齢者の食生活状況の課題の把握

高齢者の食状況の課題について検討し、5000人のコホートデータをもとに健康長寿につながる食生活を明らかにし、介護度が上がらないような生活支援のあり方を明らかにすることができる。

(2) 高齢者施設及びデイサービスを利用する高齢者の健康保持に関する研究

高齢者施設のデイサービスを利用している高齢者や在宅での介護サービスを受けている高齢者を対象に食事摂取状況及び健康状況、身体状況等について基礎的データを取得し、低栄養を予防し、生活活動動作(ADL)を保持できるような、栄養、運動、口腔機能の介入を行い、高齢者が低栄養にならないような食支援の在り方を明らかにすることができる。

(3) 若年成人の朝食欠食の要因についての研究

本学学生を対象としたアンケート結果をもとに、若年成人の朝食欠食の要因について明らかにし、朝食摂食のための支援法を明らかにすることができる。

(4) 学童期における学校での給食を通じた食育のあり方

学校での給食を教材として活用した食育実施のための給食の献立の在り方と食育のあり方について明らかにすることができる。

(5) 視覚障害者への食育のあり方

視覚障害者の食生活の課題を明らかにし、食支援の方法を明らかにすることができる。

4. 研究の経過及び結果

(1) 自立できている高齢者の食生活状況の課題の把握

長野県S市の総合病院の人間ドックに登録している高齢者5000人を対象として確立されたコホートに登録されている高齢者から、食事調査及び食意識等のアンケート調査を実施し、基本データを収集している。本研究においては、3日間の食事調査のデータベース化を進めている。これまで約1500名の食事内容のデータベースを作成してきており、今後もデータベース完成に向けて作業を継続する。

またこれまで得られた食事内容について食事と血圧との関連性を検討した結果、湯食に

おける嗜好飲料類の摂取が血圧と関連していることを明らかにした。

また、ウェストヒップ比と食動機が関連していることを明らかにし、国際学会及び *Diabetes Res Open J* にて論文発表した。

(2) 高齢者施設及びデイサービスを利用する高齢者の健康保持に関する研究

これまでのデイサービスを利用している要支援・要介護の在宅高齢者の食事調査、身体状況（筋肉量、血液検査等）、安静時代謝量のエネルギー測定を行った結果、介護度が低いにもかかわらず栄養摂取状況が悪く、筋肉量もサルコペニアのリスクが高い状況であることが明らかになったことから、デイサービスを利用している高齢者に栄養と運動、口腔機能訓練の3か月の介入試験を実施した。運動支援は期間中担当者の変更等により、最後まで遂行できなかったが、栄養補給と口腔機能訓練によって、炎症像の低下の傾向が認められた。本結果をもとに、高齢者の慢性炎症改善用祖セ物として新たに特許を取得した。

(3) 若年成人の朝食欠食の要因についての研究

大学生の朝食摂食と野菜摂取の要因を検討する為に、計画的行動理論に基づいて、本学学生を対象にアンケート調査を実施した。これまで、食環境に影響を受けることが従来の報告と同様に得られ、また、行動の意図が朝食摂取に関連していることを明らかにし、報告してきたが、ほかの要因について検討を行った。

(4) 学童期における学校での食育のあり方

栄養教諭が導入された平成17年度からの10年間で給食がどのように変化したのかについて平成17年度、21年度、26年度の学校給食について8地域（福島、石川、富山、岐阜、滋賀、香川、鹿児島、広島）の各1年間の給食の食材のデータベースを作成し、各県で解析を行い、その成果を日本栄養改善学会及び栄養教諭食育研究会にて発表し、その成果を論文化し、栄養教諭食育研究会雑誌で発表した。

(5) 視覚障害者への食育のあり方

高齢視覚障害者の食生活や身体状況、口腔状況について調査を行い、視覚障害を有する高齢者の食の課題を明らかにし、学会にて発表した。

5. 今後の計画

全世代を通じて食育をシームレスに実践するための、各世代が抱える課題を明確にし、世代にあった食支援と食環境づくりについて検討を行っていく。特に、コホート研究及び学校給食の研究においては、食事データ及び給食献立データの継続的な入力により、データベースの充実を図る。またこれらまでに得られた結果を論文化する。

6. 研究成果の発表

<論文発表>

- (1) Nakade M., Aiba N., Morita A., Miyachi M., Deura K., Soyano F., Watanabe S. for Saku Cohort Group. Associations of Waist-to-Height Ratio with Various Emotional

and Irregular Eating, and Making Environment to Promote Eating in Japanese Adults: The Saku Cohort Study. *Diabetes Res Open J.* 2017; 3(2): 20-30. doi: 10.17140/DR0J-3-132.

- (2) 横田みえ子, 酒井良枝, 井間眞理子, 小泉弘子, 近内千由里, 斎藤明美, 川本輝子, 金田雅代, 饗場直美. 学校給食における脂肪エネルギー比率と食塩摂取量の現状とこれから. 栄養教諭食育研究会誌 2017, 1;15-22.
- (3) 高見智恵, 伏見はるか, 臼田典子, 土川ちと紗, 川原昌士, 伊藤裕子, 金田雅代, 饗場直美. 学校給食における献立変化と栄養教諭の意識変化. 栄養教諭食育研究会誌 2017, 1;23-28.
- (4) 臼田典子, 齋藤七絵, 松原恵子, 青豆佳美, 藤田浩子, 伊藤裕子, 遠山致得子, 金田雅代, 饗場直美. 教職員の食育に関する意識と実態について. 栄養教諭食育研究会誌 2017, 1;29-34.
- (5) 廣田美佐子, 南井里美, 日高佐緒里, 林美帆子, 中山隆子, 松村陽子, 猪田志奈, 辰己唯, 杉本裕理, 金田雅代, 饗場直美. 栄養教諭導入前後における献立内容の変化. 栄養教諭食育研究会誌 2017, 1;35-38.
- (6) 赤松美雪, 安岡あゆみ, 宮武千津子, 大平美佳, 大西卓子, 藪内咲希, 村井栄子, 金田雅代, 饗場直美. 栄養教諭制度導入後の学校給食献立の食品にかかわる変容について. 栄養教諭食育研究会誌 2017, 1;39-46.
- (7) 中馬和代, 榊順子, 福田恵子, 児玉むつみ, 吉田三千代, 中西智美, 鮫島久子, 成相律子, 鎌田理恵, 宮崎律子, 西野間かおり, 山本愛, 金田雅代, 饗場直美. 鹿児島県での栄養教諭導入による10年間の学校給食における地場産物の活用. 栄養教諭食育研究会誌 2017, 1;47-52.
- (8) 亀ヶ谷昭子, 山岸紗央里, 串岡美智子, 金田雅代, 饗場直美. 米飯給食とパン給食における使用食品群の出現頻度と使用量の違い. . 栄養教諭食育研究会誌 2017, 1;53-56.
- (9) 西尾佳代子, 武田香織, 三上真由美, 時光奈苗, 阿壽賀由紀, 明見伸子, 井上博子, 堀恵美子, 北原千紘, 金田雅代, 饗場直美. 栄養教諭導入による学校給食の変化と食育展開の波及効果～学校給食における地場産物の活用～. 栄養教諭食育研究会誌 2017, 1; 57-63.

<国際学会発表>

- (1) Nakade M., Aiba N., Morita A., Miyachi M., Deura K., Watanabe S. Associations of waist-to-height ratio with emotional eating, irregularity of eating, eating fast, eating until full, external eating and making environment for promoting eating in Japanese adults. International Congress of Nutrition. Buenos Aires, Argentina, 15-20th, 2017.

<国内学会発表>

- (1) 石井聡美、饗場直美、古屋純一、小川安希子、遠藤慶子. 視覚障害を有する高齢者の栄養摂取状況について. 第 21 回日本病態栄養学会年次学術総会、2018 年 1 月 京都.
- (2) 宮崎律子, 中馬和代, 榎順子, 福田恵子, 児玉むつみ, 吉田三千代, 中西智美, 鮫島久子, 成相律子, 鎌田理恵, 大堤香緒理 1, 金田雅代, 饗場直美. 栄養教諭制度導入 10 年後の鹿児島県における生きた教材としての学校給食献立に関する内容分析. 第 64 回日本栄養改善学会学術総会 2017 年 8 月, 徳島.
- (3) 堀恵美子, 武田香織, 三上真由美, 時光奈苗, 阿壽賀由紀, 明見伸子, 井上博子, 北原千紘, 西尾佳代子, 金田雅代, 饗場直美, 栄養教諭導入による学校給食の変化と食育展開の波及効果 (2) ~伝統食材を視点においた献立作成の工夫~第 64 回日本栄養改善学会学術総会 2017 年 8 月, 徳島.
- (4) 赤松美雪, 安岡あゆみ, 宮武千津子, 大平美佳, 大西卓子, 藪内咲希, 村井栄子, 金田雅代, 饗場直美 食育基本法制定後の学校給食献立の変容について (第 2 報) 第 64 回日本栄養改善学会学術総会 2017 年 8 月, 徳島.
- (5) 高橋澄子, 黒沢秀子, 田中ゆり子, 手塚和美, 関口和実, 井上由佳, 西山千恵, 磯咲子, 金田雅代, 饗場直美. 10 年前の学校給食の献立と現在の献立内容の比較 第 64 回日本栄養改善学会学術総会 2017 年 8 月, 徳島.
- (6) 横田みえ子, 酒井良枝, 井間真理子, 小泉弘子, 近内千由里, 斎藤明美, 川本輝子, 金田雅代, 饗場直美. 福島県の栄養教諭制度導入からの学校給食献立の変容. 第 64 回日本栄養改善学会学術総会 2017 年 8 月, 徳島.
- (7) 廣田美佐子, 南井里美, 日高佐緒里, 林美帆子, 中山隆子, 松村陽子, 猪田志奈, 辰己唯, 金田雅代, 饗場直美. 栄養教諭導入前後における献立内容の変化と調理設備との関連. 第 64 回日本栄養改善学会学術総会 2017 年 8 月, 徳島.
- (8) 齋藤七絵, 藤田浩子, 土川ちと紗, 川原昌士, 松原恵子, 白田典子, 伊藤裕子, 高見智恵, 遠山致得子, 金田雅代, 饗場直美. 学校給食における献立内容の検証と今後の課題. 第 64 回日本栄養改善学会学術総会 2017 年 8 月, 徳島.
- (9) 串岡美智子, 亀ヶ谷昭子, 山岸紗央里, 金田雅代, 饗場直美. 平成 17 年度と 26 年度の学校給食の献立内容の変化と食品群別出現数の比較について第 64 回日本栄養改善学会学術総会 2017 年 8 月, 徳島.