

神奈川工科大学

健康生命科学研究所

研究報告

第 11 号

2020 年度

目次

- ・ コラーゲン由来ペプチドによる細胞外マトリクスリモデリング促進を介したアンチエイジング機構の解明
応用バイオ科学科 井上英樹
- ・ モノクローナル抗体を用いた腸ムチンの分類と機能性評価
応用バイオ科学科 栗原誠
- ・ キノコを用いた放射性セシウムにより汚染された土壌の除染の検討
応用バイオ科学科 仲亀誠司
- ・ マウス白色脂肪細胞における脂肪蓄積と脂肪滴形成への δ -トコフェロールの影響
管理栄養学科 三村（永瀬）摩奈
- ・ 生殖器発達に及ぼす生活リズムとカフェイン摂取の影響-モデルラットを用いる検討-
管理栄養学科 花井美保
- ・ 食行動科学と情報科学に基づく食育モデルの開発のための地域協働型実践研究
管理栄養学科 饗場直美
情報メディア学科 西口磯春
情報メディア学科 福本隆司
ロボット・メカトロニクス学科 高尾秀伸
教職教育センター 田辺基子
管理栄養学科 三宅理江子
- ・ ビタミン E 同族体の「抗肥満・抗炎症」効能を有する新奇サプリメント剤の開発
管理栄養学科 清瀬千佳子
- ・ 認知症予防のスクリーニングを考慮した加齢による五感の変遷に関する基礎的検討
管理栄養学科 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 竹田祐一

コラーゲン由来ペプチドによる細胞外マトリクスリモデリング促進を 介したアンチエイジング機構の解明

応用バイオ科学科 井上英樹

1. 研究の目的

本研究計画は細胞外マトリックス (ECM) リモデリング機構の維持による抗老化機構を明らかにすることを旨とする。ECM は体組織の構築と維持に極めて重要な役割を持っており、コラーゲンをはじめとするその構成分子の合成/分解を介したリモデリングによって保たれる。加齢に伴うリモデリング能の低下によって ECM 機能が低下することにより、皮膚の皺やバリア機能の低下、血管壁の脆化等につながり、老化進行や疾患発症によって生活の質 (QOL) に影響を及ぼす。また、ECM の過剰産生は新型コロナウイルス感染症による重症の肺炎患者における肺の線維化を引き起こす。これらのことから ECM 産生機構のバランスが生物の恒常性に重要な役割を果たしている。

これまでに申請者は、コラーゲンの酸分解物であるコラーゲントリペプチド (CTP) 等の外的因子が、MAPK シグナル経路および TGF- β 経路を介して線虫 (*C. elegans*) の ECM 産生に作用することで老化抑制を導くことを見出した。さらに、ヒトにおいて CTP の線維芽細胞の老化への寄与も明らかにしつつある。しかしながら CTP による老化抑制機構の全体像は明らかとなっていない。そこで本研究は線虫、およびマウスを用いて遺伝学、生化学および生理学的解析手法を用いて CTP による ECM 産生調節機構を明らかにするとともに有効なペプチド、グリシン-プロリン-ヒドロキシプロリンの作用機序を検証する。

2. 研究の必要性及び従来の研究

細胞外マトリックス (ECM) は、多細胞動物体の物理的な保護や支持、細胞の足場として体組織を構築、維持するために働く、コラーゲン等の分泌タンパク質から構成された組織である。ECM は構成分子の合成と破壊によるリモデリングによって維持されるが、そのリモデリング機能は加齢に伴い低下する。

皮膚は表皮と ECM からなる真皮で構成されている。真皮中の線維芽細胞がコラーゲン等を分泌し ECM が維持されているが、加齢に伴うコラーゲン等の発現低下や、コラーゲン分解に関与するメタロプロテアーゼ (MMP) の発現増加によって ECM の機能が低下する。その結果皺やたるみ、皮膚のバリア機能低下や創傷治癒の遅れなどが生じる。また、皮膚は紫外線を含め外部のストレス由来の活性酸素種 (ROS) による障害を受けやすい。ROS は ECM そのもの

も損傷し、皮膚の老化を進行させる。以上のことから、皮膚だけをみても ECM 機能を維持することは老化進行を抑え、QOL を高めるために極めて重要である。

コラーゲンを酸分解することで得られたコラーゲントリペプチド(CTP)は線維芽細胞の増殖や皮膚バリア機能を亢進させるほか、経口投与による動脈硬化改善が示唆されるという報告がなされている(Ohara *et al.*, *J Dermatol.* 37:330 (2010)など)。このため、CTP による外的刺激は ECM の機能改善に有効であることが示唆される。しかしながらどのような細胞内シグナル伝達経路を介して ECM リモデリングが行われているかは明らかではない。

3. 期待される効果

高齢化社会を迎えた現在、高齢者の健康寿命延長による QOL の維持は高齢者自身の健康と社会保障費の削減につながる。健康寿命の延長には単一の要因だけではなく、多方面からのアプローチが必要である。その一つとして体表面を覆う、最大の臓器ともよばれる皮膚の維持がある。真皮を構成する細胞外マトリクス(ECM)は加齢と主に減少し、しわやたるみのほか、バリア機能の低下がもたらされる。また、ECM は体構造自体を構成しているため、老化に伴う ECM の減少によって内出血や循環器系疾患発症にもつながる。逆に、肝臓線維化のような ECM の過形成も疾患のリスクとなっている。これらは ECM の機能正常化により改善できると考えられるため、本研究成果による ECM リモデリングメカニズムの解明は ECM の抗老化作用をもたらす創薬に資することが期待される。さらに、ECM リモデリング維持に寄与するペプチド配列の同定は、肌のアンチエイジングを目指す化粧品業界から注目されることが予想され、今後、発展的な応用研究によって高い産業的価値が得られることが期待される。

4. 研究の経過及び結果・評価

2020 年度は、新型コロナウイルス感染症の広がりに伴う入構制限により、当初予定していた進展が得られなかった。CTP による TGF- β 経路の活性化がこれまでの研究で得られていたが、CTP が直接 TGF- β 経路を活性化するのか、CTP が別のシグナル伝達経路を活性化し TGF- β を産生することによって TGF- β 経路を活性化するのか明らかではなかった。そこで、CTP によって活性化するシグナル伝達経路を阻害することを試みた。その結果、CTP によって活性化する p38 MAPK 経路を阻害しても TGF- β の産生増加は見られなかったが同様に活性化する ERK MAPK 経路の阻害によって TGF- β 産生が抑制されることが明らかとなった(図 1)。また、p38 MAPK 経路は、TGF- β の活性を阻害することでその活性化が抑制された(図 2)。この結果から、p38 MAPK 経路は TGF- β の下流に位置することが考えられる。これまでの結果を含め、CTP がコラーゲンの発現誘導を行う作用機序についての作業仮説が立てられた(図 3)。この成果は、2020 年 9 月に開催された日本生化学会大会において口頭発表した。(発表番号 1Z10-06, Analysis of mechanism of collagen expression by collagen-derived compound, collagen tripeptide. Chieko Kasami, Nana Ube, Yukino Morikiri, Eri

Matsuta, Syoko Ohtani, Hideki Inoue).

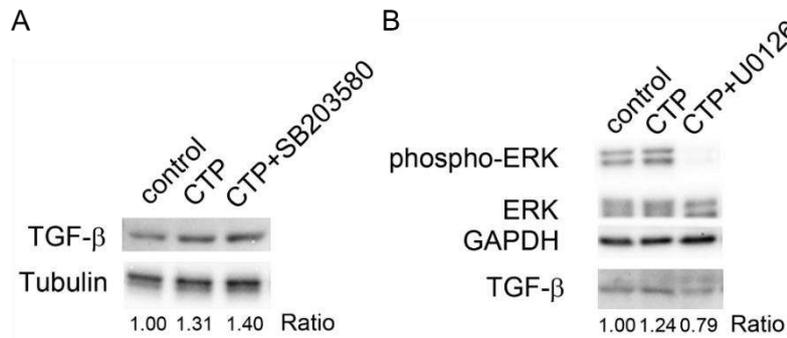


図 1: CTP は ERK MAPK 経路を介して TGF-β を産生誘導する

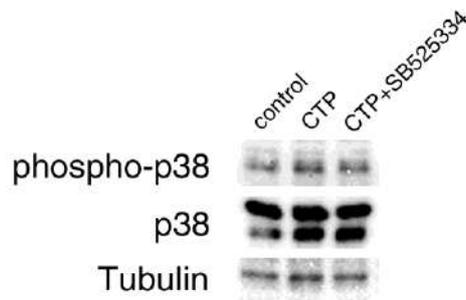


図 2: CTP は TGF-β 受容体の下流で p38 MAPK を活性化させる

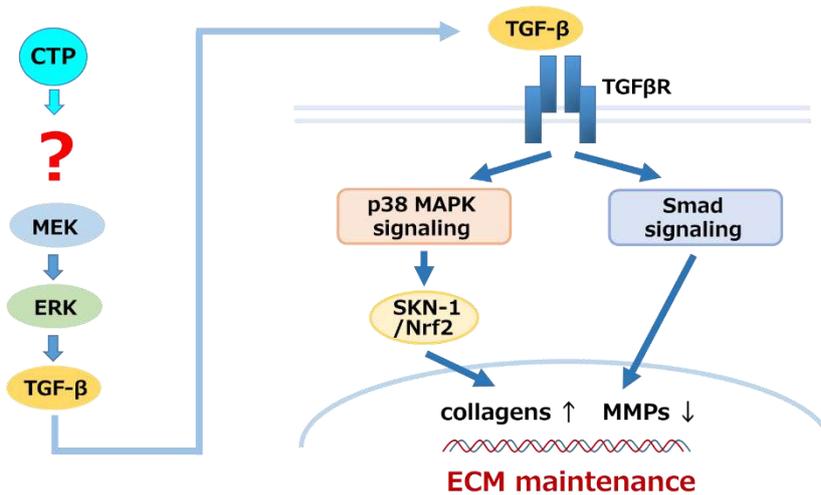


図 3: 本研究結果から考えられる作業仮説

また、CTP によるインスリンシグナルと TGF-β - p38 MAPK 経路の関係については、CTP 刺激によるコラーゲン遺伝子の発現を解析した。野生型線虫、インスリンシグナル経路の中心転写因子 DAF-16/FOXO をコードする *daf-16* 遺伝子および、DAF-16/FOXO をリン酸化し、

その活性を負に調節するホスファチジルイノシトール 3-リン酸キナーゼ (PI-3 キナーゼ) をコードする *age-1* 遺伝子の変異体線虫を用いて解析を行った。その結果、CTP によるコラーゲン遺伝子の発現変化は *daf-16* および *age-1* 変異体では見られなかった。*daf-16* 変異体はインスリンシグナルの常時不活性化状態、*age-1* 変異体はインスリンシグナルの常時活性化状態となっている。このことから、インスリンシグナルの活性は CTP の有無にかかわらずコラーゲン産生を抑制することが示唆された。CTP をはじめとした外部からの刺激によるコラーゲン産生の誘導は ERK MAPK 経路を介した TGF- β の産生によって引き起こされる一方、インスリンシグナルを介した内的なコラーゲン産生の調節が行われているのではないかと考えられる。この経路は TGF- β 経路と関連しており、インスリンシグナル経路の変異体では、CTP 刺激によるコラーゲン産生誘導がみられないことから、コラーゲン産生を制御する転写因子は TGF- β 経路-p38 MAPK 経路からの転写因子 SKN-1 とインスリンシグナルの転写因子 DAF-16 の 2 者によって制御されると考えられる。SKN-1 は DNA 配列の (G/A)TCAT を、DAF-16 は T(G/A)T(T/G)T(G/A) をそれぞれ認識することが報告されている。そこで、これらコラーゲン遺伝子のプロモーター上に、SKN-1 および DAF-16 が結合しうる配列があるかどうかを検索した。その結果、いずれのプロモーター上にも開始コドン上流 1 kb 以内に SKN-1 および DAF-16 結合が予測される配列が見つかった (図 5)。以上の結果から、MAPK シグナルとインスリンシグナルが協調してコラーゲン遺伝子の転写を調節することが示唆された。

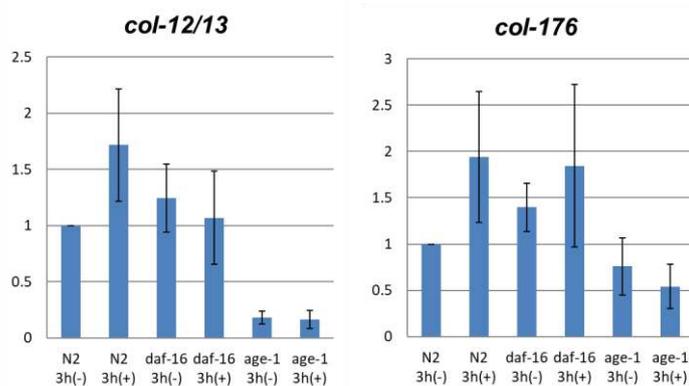


図 4 : インスリンシグナルとコラーゲン産生遺伝子の発現

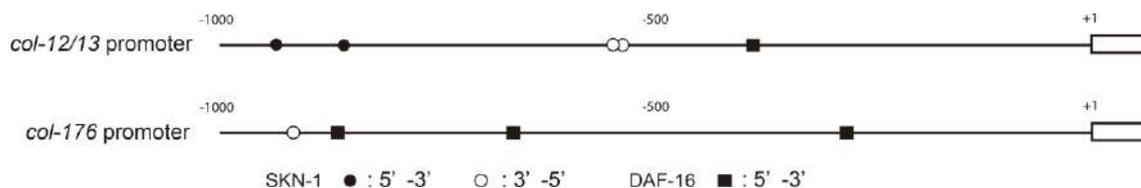


図 5 : *col-12/13* および *col-176* プロモーター上の SKN-1 および DAF-16 の結合が予測される部位

5. 今後の計画

これまでの研究結果をまとめ、国際誌への論文投稿を行う。インスリンシグナルとコラーゲン産生の関与に関してはヒト細胞を用いてインスリンおよびインスリン様ペプチドの投与による生化学的な解析によって検証を行う。改めて研究成果を添えて本研究を発展させたい。

また、本研究がきっかけとなって企業と共同研究を進めている。表皮を構築するセラチンタンパク質を分解したペプチドが ECM の維持や組織の創傷治癒に作用する生理活性をもたらすことを見出した。

6. 研究成果の発表

1. Analysis of mechanism of collagen expression by collagen-derived compound, collagen tripeptide. Chieko Kasami, Nana Ube, Yukino Morikiri, Eri Matsuta, Syoko Ohtani, Hideki Inoue 第93回日本生化学会年会（2020年9月開催）口頭発表（発表番号1Z10-06）およびポスター発表（発表番号P-408）

モノクローナル抗体を用いた腸ムチンの分類と機能性評価

応用バイオ科学科 栗原 誠

1. 研究の目的

腸の粘膜は腸内細菌や毒物などの異物に常に曝されているが、腸粘膜自らが産生・分泌する粘液が粘膜表面に防御バリアを形成するため、腸粘膜は腸管内に存在する様々な異物の攻撃から保護されている。腸の恒常性は、このような攻撃と防御のバランスがうまくとれていることで保たれているが、防御より攻撃が勝ると、炎症や潰瘍がもたらされる。近年、日本では炎症性腸疾患の患者が急増しているが、その背景には攻撃因子の変化、すなわち腸内細菌叢の欧米化が要因の一つとして考えられている。一方、防御因子としての粘液については、その主要な成分であるムチン（高分子量の糖タンパク質）が重要な役割を果たしていると考えられている。腸では主にシアロムチンやスルホムチンといった酸性のムチンが産生・分泌されているが、出生の前後や寄生虫感染等の腸管内環境の変化に伴い、シアロムチンとスルホムチンの構成が変化することが知られている (Deplancke B, Gaskins HR., *Am J Clin Nutr.* 2001 Jun;73(6):1131S-1141S.)。宿主は、腸内環境に応じて防御の仕方を変化させていると推察される。

申請者らはこれまでラット腸ムチンに対するモノクローナル抗体を種々作製し、ラット腸内では糖鎖構造の異なるムチンが存在していることを示した。ムチンの多様性は腸粘膜防御の合目的的な表現型であり、例えばある種のムチンは防御バリアとなるゲルの形成に関与し、また他のムチンは微生物に対する抵抗性に関与する、またはこれら両者に寄与するなどの可能性が考えられるが、その詳細は不明である。本研究では腸粘膜で産生、分泌されるムチンを分離、同定し、ムチンの多様性を証明すると共に、各ムチンの性状を明らかにして、その機能の解明を目指す。

2. 研究の必要性及び従来の研究

腸粘膜におけるムチンの多様性は、もっぱら腸粘膜の粘液組織化学染色による染色領域の違いから推定されてきた。抗ムチンモノクローナル抗体を用いた研究では、粘膜組織切片上で検出されるムチンの局在性の違いがムチンの多様性を示す根拠となっている。一方、異なる抗体が粘膜組織切片上の同じ領域で反応性を示し、染色領域が重なる場合は、ムチンの多様性の判断は困難になる。また、ムチンは一本のペプチド鎖に多種多様な糖鎖が密に結合しているといった特殊な構造を有しているため、認識するエピトープが異な

る抗体を用いた場合でも、ムチンの多様性が同一分子上に存在する糖鎖の多様性によるものか、複数種の独立したムチン分子によるものなのかの判断は容易ではない。ムチンの機能性を解明するためには、まず、ムチン分子を単離・精製し、その性状を明らかにする必要があるが、ムチンが分子量 150 万以上の高分子であることもあって、腸粘膜から抽出したムチン分子を単離する試みは実現していない。

3. 期待される効果

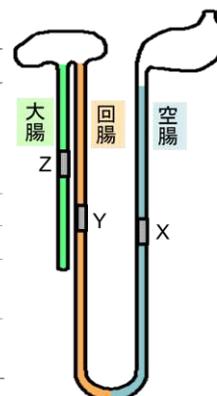
腸粘膜で多様なムチンが産生・分泌されていることは組織化学的に証明されているが、個々のムチンがどのような機能を担っているかは、ムチン分子の分離、同定が困難なため、ほとんど解明されていない。腸粘膜から抽出したムチンの混合物から、特定のムチンを単離することができれば、同一ムチン分子上にどのような糖鎖がどのくらい付いていて、どんな物質と相互作用するのか、さらには、粘膜防御バリアとなるゲルの強度に関与するムチンなのか否かなどを解明できる可能性がある。ムチンは腸粘膜の恒常性の維持に寄与していると推察される。個々のムチンの機能が明らかになれば、炎症等の腸粘膜疾患の病理学的研究の一助になるものと考えている。

4. 研究の経過及び結果

ラット腸粘膜からムチンを抽出・精製し、検討用試料とした。個々のムチン分子を単離するために、モノクローナル抗体固相化カラムを用いたアフィニティー精製を試みた。抗体の選択は、ラット腸ムチンを認識する 10 種のモノクローナル抗体(表 1)の中からムチンと比較的強く反応した抗体を 5

表 1. 抗ムチンモノクローナル抗体のラット腸粘膜に対する反応性

Group	染色領域	反応陽性抗体
1	X Y Z	RSIM3405
		RSIM6601
		RSIM6602
		RCM3601
2	X Y	RSIM3808
3	Y Z	RCM1303
4	Y	RSIM3120
		RSIM3404
5	Z	RCM2135
		RCM3705



種を選び、さらに、ラットへの食物繊維投与実験において、ムチン産生量が変動したムチンを認識した抗体を選定した。以下、実験結果の概要を示す。

① ラット腸ムチンの調製

ラット腸粘膜から水溶性画分を分取し、ゲルろ過により分子量 150 万以上の糖タンパク質画分を得た。同画分を CsCl 密度勾配遠心法によりさらに分画し、密度約 1.4 g/mL

の糖タンパク質画分（ムチン画分）を分取した。

② モノクローナル抗体の調製

ムチンに対する反応性の強さなどから、RSIM6108、RSIM6601、RSIM6602(表1の Group 1)、RCM1303(Group 3)、RCM2135(Group 5)の計5抗体を選抜した。各抗体産生細胞を、ウシ胎児血清由来のグロブリンが混入しないよう、それぞれ無血清培地で培養し、各700 mL以上の培養上清液を確保した。

③ 食物繊維やDSSを投与したラット腸粘膜におけるムチン産生

食物繊維として水溶性大豆多糖類（SSPS）をラットに1週間または3週間自由摂取させた後、大腸炎を誘導するDSS（デキストラン硫酸ナトリウム）を1週間自由摂取させた。実験終了後、小腸を摘出し、小腸粘膜抽出物をゲルろ過にかけ、分子量150万以上の糖タンパク質画分（ムチン画分）を分取した。得られたムチン画分のモノクローナル抗体に対する反応性をELISA法で検討した結果、SSPS単独投与の小腸では、RSIM6601抗原ムチンは1週間投与で増加し、3週間投与で減少するのに対して、RSIM6602抗原ムチンは3週間投与でも増加傾向にあり、RSIM6601抗原ムチンと挙動が異なることが示唆された。一方、DSS投与群ではSSPS投与期間の影響はみられず、コントロール群と同程度ないし若干減少傾向であった。DSSによる炎症病変は主に大腸でみられるが、小腸の粘液（ムチン）産生にも影響を及ぼしていることが示唆された。

④ 抗体カラムの作製とムチンのアフィニティー精製

食物繊維摂取による腸内環境の変化に伴って産生量の変動することが示唆されたムチン抗原の中、RSIM6601抗原ムチンを精製ターゲットとした。抗体のカラムへの固相化は、疎水性クロマトグラフィーの原理を応用した。まず、1.5 M 硫酸アンモニウム存在下でHiTrap Butyl HPカラム（GE Healthcare Bio-Sciences AB）にRSIM6601無血清培地培養上清液を流し、抗体をカラムに固相化させた。次に、調製したラット腸ムチンを同溶離液に溶解させたムチン溶液（試料溶液）を流し、抗原ムチンをカラムに捕捉させた。吸着したムチンの溶出は、酢酸緩衝液でpHを4付近に下げることによって行った。

抗体カラムに添加したラット小腸ムチンと RSIM6601、RSIM3120、RSIM3405、RCM3601 との反応性を Fig.1 に示す。いずれの抗体とも反応性を示すが、抗原性の強さは抗体によって異なるものであった。

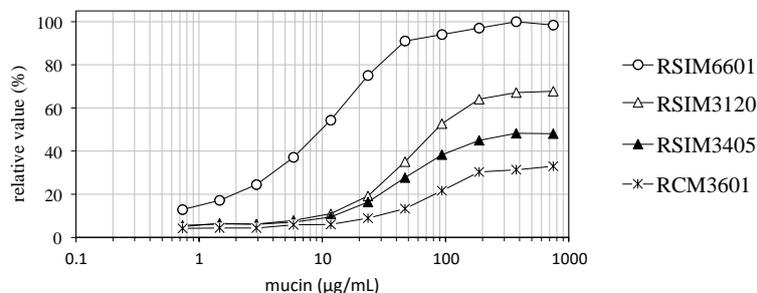


Fig.1 ELISA of rat small intestinal mucin with anti-mucin monoclonal antibodies

ラット小腸ムチンを RSIM6601 固相化カラムに吸着後、酢酸緩衝液 pH4 で溶出させた画分の抗原性を同様に検討した結果を Fig.2 に示す。カラムに吸着したムチンは RSIM6601、RCM3601 と強く反応したが、RSIM3120、RSIM3405 との反応性は弱かった。すなわち、RSIM6601 エピトープを有するムチンは分画前の全ムチンと比較して、RCM3601 エピトープが多く、RSIM3120 エピトープと RSIM3405 エピトープは極めて少ないことが示唆された。

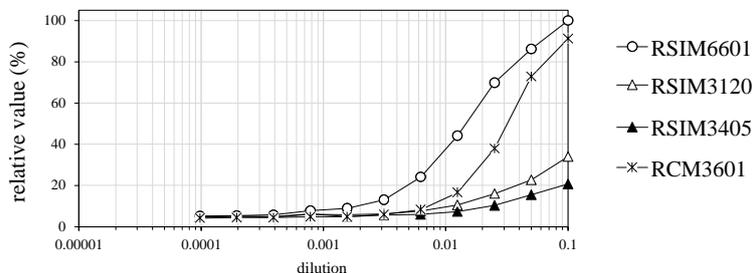


Fig.2 ELISA of the adsorption fractions eluted from the RSIM6601 immobilized column

5. 今後の計画

RSIM6601 エピトープをもたないムチンの分画を試みると共に、同様な手法を用いて RSIM6602 抗原ムチンの分画を試みる。アフィニティーカラムをスケールアップして抗原ムチンを数 mg 集め、化学組成分析等により、ムチンの生化学的性状を明らかにする。

6. 研究成果の発表

第 93 回日本生化学会大会 2020.9/14~16、Web 開催

キノコを用いた放射性セシウムにより汚染された土壌の除染の検討

応用バイオ科学科 氏名 仲亀誠司

1. 研究の目的

福島第一原子力発電所事故による放射性物質の拡散により、国の基準値である追加被ばく線量年間 1 mSv 以上の地域では、空間放射線量を低下させるための除染作業が行われている。空間放射線量の軽減には、放射線量の高い表土の削り取りが効果的であるが、汚染土壌の最終処理法は未だ検討されている状況である。キノコは菌体内へのセシウム (Cs) 移行係数が高く、高濃度 Cs 存在下でも生育可能であるため、放射性 Cs を含む土壌を用いてキノコの子実体を発生させ、子実体内に蓄積した放射性 Cs を採取することで、放射性 Cs を土壌から除去できるという可能性がある。本研究では、キノコを用いた効率的な放射性 Cs 除去プロセスの開発を最終目標として、キノコによる Cs 濃縮メカニズムの解明と、Cs 濃縮能を高めた菌株の育種を目的としている。

2. 研究の必要性及び従来の研究

2011 年の東京電力福島原発事故による放射性セシウム (Cs) の拡散により、空間放射線量が年間 1 mSv 以上の地域では、放射線量を低下させるための除染作業が行われてきている。放射性 Cs により汚染された土壌は、放射線量の高い表土の削り取りにより空間放射線量の軽減ができるが、放射性廃棄物の具体的な最終処分方法については決まっておらず、汚染土壌から放射性 Cs を除去する方法の開発が求められている。

キノコが放射性 Cs を濃縮する性質は、チェルノブイリ原発事故や核実験により拡散した放射性 Cs が、キノコに高濃度で濃縮されたことから明らかになっている¹⁾。福島原発事故においても、事故発生直後から、キノコへの放射性 Cs の濃縮が報告されており、福島原発事故発生から 10 年以上経った現在でも、野生キノコが国の基準値 (100 Bq/kg) を超える放射線量を有するため、青森県から静岡県までの広い範囲で、出荷制限となっている²⁾。

キノコが Cs を高濃度で菌体内に取り込む特性は知られているものの、その詳細なメカニズムは明らかになっていない。今までわかっている事象としては、Cs と同じアルカリ金属の K⁺が培地中に存在すると、キノコの Cs 吸収量が低下することから、K⁺チャネルが Cs 吸収に関与している可能性が高いという報告されている。当研究室においても、キノコの Cs 吸収に対する K⁺の影響を調べるために、ヒラタケ、マイタケ、エノキタケの培養時に K⁺を培地に添加した際に、Cs の吸収量の低下が認められた。これらの結果から、キノコの Cs の取り

込みには K^+ チャネルが関与している可能性が高いと考えられた。当研究室でヒラタケの遺伝子を解析した結果、 K^+ チャネルは 14 種類存在しているが、どの K^+ チャネルが Cs の取り込みに関与しているのかはわかっていない。また、マツタケのような木材と共生する菌根性のキノコの方が、ヒラタケのような木材を分解して成長する腐生性のキノコと比べて、 Cs を高濃度で吸収・濃縮するが、その理由も明らかではない。

3. 期待される効果

キノコは他の生物種と比べて、放射性 Cs の吸収・濃縮能が高いことが知られているが、どのようなメカニズムによって、放射性 Cs を高濃度で濃縮するのかは明らかになっていない。キノコの放射性 Cs の吸収・濃縮能を利用して、放射性 Cs により汚染された土壌から Cs を除去するために、キノコがどのようなメカニズムにより放射性 Cs を高濃度で吸収・濃縮できるのかを明らかにし、 Cs の吸収・濃縮に関連する遺伝子を高発現させることで Cs 吸収・濃縮能を高めたキノコを作製できれば、放射性 Cs に汚染された土壌の除染への利用が期待できる。

4. 研究の経過及び結果・評価

放射性 Cs で汚染された地域から野生キノコを採取後、キノコに含まれる放射性 Cs 量を比較した結果、コムラサキシメジ(学名：*Lepista sordida*)の放射性 Cs の含有量は 4,928(Bq/kg)であり、他のキノコと比べて放射性 Cs 含有量が高かったとの報告があった。本研究室では遺伝子組換え技術が適用できるキノコとして、ヒラタケの形質転換系を保有している。ヒラタケは生育が早く、人工栽培できるため工業的規模で放射性 Cs を汚染土壌から除去できる可能性があるが、福島原発事故で汚染された土壌から採取されたヒラタケの放射性 Cs の含有量は 24(Bq/kg)であり、コムラサキシメジの方が放射性 Cs 含有量が約 200 倍高かった。このため、本研究ではヒラタケを放射性 Cs の除去にそのまま用いるのではなく、コムラサキシメジの Cs の吸収・濃縮に関与する遺伝子をヒラタケに導入して、放射性 Cs の吸収・濃縮能を増強させたヒラタケを作製し、放射性 Cs の除去を行う方法を用いることにした。放射性 Cs の吸収・濃縮に関与している可能性が高い遺伝子としては K^+ チャネル遺伝子が考えられるため、2019 年度は、①コムラサキシメジの K^+ チャネル遺伝子がヒラタケで発現するための塩基配列の最適化、②コムラサキシメジの K^+ チャネル遺伝子がヒラタケで機能するためのベクターの構築、③構築したベクターと薬剤耐性マーカー遺伝子を含むベクターを、ヒラタケのプロプラストにコトランフォーメーションすることで、薬剤耐性を指標としたヒラタケの形質転換を行った。2020 年度は 2019 年度に得られた形質転換

体について解析を進めた。薬剤耐性を有する形質転換体のゲノム DNA を抽出して、PCR 法によりコムラサキシメジ由来の K⁺チャンネル遺伝子が含まれるか調べたところ、薬剤耐性マーカ遺伝子の導入は認められたが、コムラサキシメジ由来の K⁺チャンネル遺伝子の導入は認められなかった。この理由は明らかになっていないため、2021 年度においては遺伝子導入の際のプロモーターを変えたり、形質転換法の見直しを行うことで、引き続きコムラサキシメジ由来の K⁺チャンネル遺伝子をヒラタケに遺伝子導入する方法の検討を行っていく。

5. 今後の計画

2021 年度においては遺伝子導入の際のプロモーターを変えたり、形質転換法の見直しを行うことで、引き続きコムラサキシメジ由来の K⁺チャンネル遺伝子をヒラタケに導入する方法の検討を行っていく。また、コムラサキシメジ由来の K⁺チャンネル遺伝子が導入された形質転換体が得られた場合には培養を行い、どの種類の K⁺チャンネル遺伝子を遺伝子導入した場合にヒラタケの Cs 吸収・濃縮能が高められるかを調べるとともに、形質転換体の選抜を行っていく。

6. 研究成果の発表

2020 年度卒業研究発表会において、2 件の口頭発表を行った。

(参考文献)

- 1) K. Haselwandter et al., “Fungi as bioindicators of radiocesium contamination: pre- and post-Chernobyl activities”. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 90, 171-174 (1988).
- 2) 林野庁ホームページ, 「きのこや山菜の出荷制限等の状況について」, アクセス日 2021 年 5 月 13 日, <http://www.rinya.maff.go.jp/j/tokuyou/kinoko/syukkaseigen.html>

マウス白色脂肪細胞における脂肪蓄積と脂肪滴形成への δ -トコフェロールの影響

研究者名：管理栄養学科 三村（永瀬）摩奈

1. 研究の目的

肥満は余剰なエネルギーが中性脂肪として過剰に蓄積されることで引き起こされる。脂質や糖質の多い食事の摂取過多や運動不足などで、摂取エネルギーが消費エネルギーよりも多くなると余剰なエネルギーが発生する。肥満によって中性脂肪が体内に蓄積すると、インスリン抵抗性や脂質異常症などの代謝異常が引き起こされ、糖尿病や動脈硬化症などの生活習慣病の要因となる。生活習慣病の引き金となることから肥満改善が注目されているが、実際の肥満者数は減少していない。食べ過ぎが問題視されている一方で、肥満にならないようにと食事制限や偏りのある食事などによる無理なダイエット例も多く見られる。過度な食事制限や栄養の偏りは、逆に健康に悪影響を及ぼしてしまう。肥満を予防するだけでなく健康的な生活を維持するため、日々の食生活の中に取り入れやすいように、肥満の抑制や改善効果が期待できるような食品成分を見出し、そのメカニズムについて解明することを目的とする。

2. 研究の必要性及び従来の研究

余剰なエネルギーは細胞内に中性脂肪となって蓄積する。この中性脂肪は脂肪細胞内の脂肪滴に蓄積される。中性脂肪が過剰に蓄積されると脂肪滴が肥大化して体重増加をもたらす。反対に、脂肪滴の中性脂肪がリパーゼによってグリセロールと脂肪酸に分解されるとエネルギーとして利用できるようになる。脂肪滴における中性脂肪の蓄積と分解の調節にはリパーゼだけでなく、様々なタンパク質が関わっていることが知られている (H. Itabe et al; *Lipids in Health and Disease*, **16**, 83-93, 2017)。

我々は以前より、天然の抗酸化剤として広く知られている食品成分としてビタミン E について研究してきている。ビタミン E にはトコフェロールとトコトリエノールがあり、それぞれ α 、 β 、 γ 、 δ 型があり、合計で 8 種類の同族体が存在している。その一つである α -トコフェロールについては、抗酸化作用以外の機能性の報告例も多い。これまでに、研究例の少ない δ -トコフェロールを前駆脂肪細胞である 3T3-L1 細胞に添加して培養したところ、中性脂肪 (TG) 量が減少する傾向を見出している。そこで、ビタミン E 同族体の δ -トコフェロールの肥満抑制に対する機能性について検討することとした。

3. 期待される効果

脂肪細胞において、トコフェロールの添加によって中性脂肪の蓄積を減少させるメカニズムが解明できれば、蓄積させないように予防するだけでなく、すでに蓄積している中性脂肪を減少させる効果が期待できる。

4. 研究の経過及び結果・評価

マウス由来の前駆脂肪細胞である 3T3-L1 細胞を培養し、トコフェロール非添加のコントロール群 (cont) と α -トコフェロール (α) と δ -トコフェロール (δ) をそれぞれ終濃度が $10\mu\text{M}$ 、また $50\mu\text{M}$ となるように添加した 5 群とした。脂肪細胞への分化は分化誘導剤の添加によって誘導し、トコフェロールは分化誘導剤と同時に添加して培養期間は 10 日間とした。細胞回収後、中性脂肪 (TG) の定量、ウェスタンブロッティング法によるタンパク質発現の測定を行った。

細胞より脂質を抽出して、タンパク質 1 mg 当たりの TG 量を測定した。前回、 δ -トコフェロール $50\mu\text{M}$ 添加 (δ -50) 群で TG 量が減少する傾向が見られたが、今回は有意な減少が見られた (図 1)。

細胞内の脂肪の蓄積と分解はリパーゼだけでなく、その他のタンパク質も関わっている。代表的なものにペリリピン (peri) があり、リン酸化されることで脂肪滴における脂肪分解を促進させることが知られている。これまでにペリリピンや中性脂肪を加水分解するリパーゼである脂肪細胞トリグリセリドリパーゼ (ATGL) やホルモン感受性リパーゼ (HSL) のタンパク発現量を測定したが、いずれも有意な差は見られなかった。本研究では、さらにリン酸化ペリリピンのタンパク発現量を測定した。全タンパク質量中のリン酸化タンパク質の発現にはコントロール群との有意な差は見られず (図 2)、ペリリピンの全タンパク質、リン酸化タンパク質それぞれの発現量にもコントロール群との有意差は見られなかった。これまでの結果より、トコフェロール添加によるペリリピンや ATGL、HSL などのリパーゼのリン酸化タンパク質を含めたタンパク発現への影響は確認できなかった。これらのタンパク質は脂肪滴膜上で脂肪蓄積や分解に関わるタンパク質である

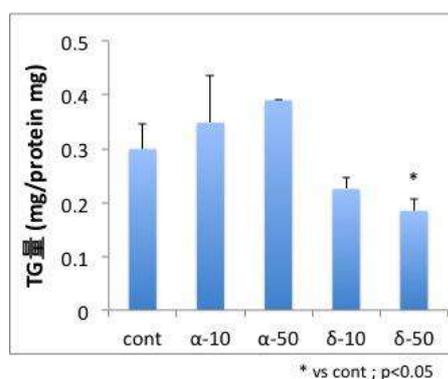


図 1. 3T3-L1 細胞におけるタンパク質 1 mg 当たりの TG 量

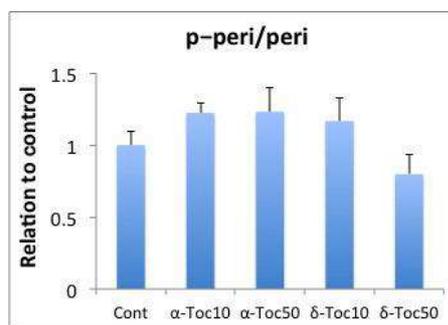


図 2. リン酸化ペリリピンのタンパク発現

ことから、トコフェロールの添加の脂肪滴関連タンパクへの影響はほとんどないと考えられる。

また、 δ -50 添加群のみ TG 量の有意な減少が見られたことから、3T3-L1 細胞が白色脂肪細胞へ分化していない可能性も考えた。そこで、脂肪細胞への分化の指標である FABP4 のタンパク発現量を測定したが、コントロール群に対する有意な差は見られなかった (図 3)。白色脂肪細胞への分化は抑制されていないと思われる。

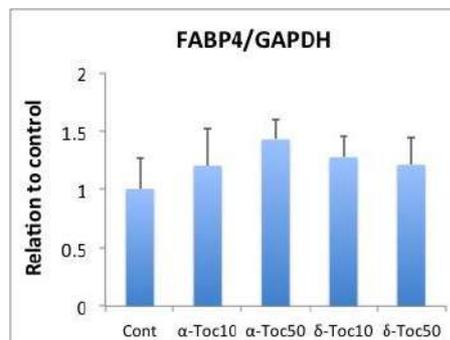


図 3. FABP4 のタンパク発現

以上より、 δ -50 添加群における TG 量の減少には白色脂肪細胞の分化や脂肪滴関連タンパクに対する抑制効果は見られなかったことから、分化後の中性脂肪の合成が抑制されている可能性があることが示された。

5. 今後の計画

ビタミン E 同族体中のトコトリエノールでは、3T3-L1 細胞において中性脂肪の蓄積が減少するという報告がある (Burdeos, G.C et al; *Food Funct*, **5**, 2221-2227, 2014)。この中で脂肪酸合成酵素 (FAS) やアセチル CoA カルボキシラーゼ (ACC) などの脂質合成関連のタンパク質の発現を抑制効果がトコトリエノールにあることが報告されていた。そこで、 δ -トコフェロールにおける脂質合成への効果を検討していくこととする。

6. 研究成果の発表

本研究の成果は第 60 回日本油化学会年会 (2021 年 9 月 6 (月) ~9 月 11 日 (土) 開催) にて発表予定である。

生殖器発達に及ぼす生活リズムとカフェイン摂取の影響-モデルラットを用いる検討-

研究者名：管理栄養学科 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、生殖器発達に対するカフェインおよび含硫アミノ酸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

この数十年間でヒトの精子数が激減したとの報告がなされ、男性不妊が問題視されている。この原因として、生活リズムの乱れや食生活の影響などがあげられている。生殖器の発達は思春期にピークとなり青年期初期で完了する。それゆえ、生殖器の発達が完了するまでの生活環境は生殖器の発達に多大なる影響を与え、成人後の生殖機能を左右すると考えられる。成人の精子数の減少が問題となっている現在、生殖器の発達段階における種々の因子の影響を解明することは重要課題である。

コーヒーなどに含まれるカフェインは、成人だけでなく成長期の子供も緑茶、ほうじ茶、コーヒー乳飲料などから日常的に摂取している。また、思春期の子供では眠気覚まし、一時的な体力強化のためカフェインを含んだエナジードリンクを摂取する機会が増加しており、生体に与える影響が危惧されている。

カフェインが男性生殖器に与える影響に関する研究では、カフェインは男性ホルモンであるテストステロンの分泌を高めるとの報告がある一方で、低下させるとの報告もあり、結果は一致していない。また、これらの研究は、24 時間周期の規則正しい生活リズムの下で実施されたものである。カフェインは、不規則な生活を送っている場合に摂取することも多いと想定されるため、24 時間周期の生活リズムでない場合のカフェイン摂取の影響についても検討する必要があると考える。

これまで、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、生体に与える影響を検討してきた。連続暗黒飼育は、光による体内時計のリセットがなされないため、自身のもつ約 24 時間周期の体内時計に従って行動するフリーラン状態となる。ラットを連続暗黒飼育すると生殖器の発達抑制が起こること、また、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は報告済みである (JNSV2011, 2012, 2013, 2016 など)。

昨年度、カフェインを摂取させた連続暗黒飼育ラットでは、精巣の発達抑制が認められ、正常明暗飼育ラットでは、同量のカフェイン摂取でも精巣の発達抑制は認められないという研究結果を得た。この結果は、連続暗黒飼育という特殊な環境下では、カフェインの悪

影響が現れやすいことを示している。連続暗黒飼育による生殖器官の発達抑制は、高タンパク質食によって軽減されるというこれまで得てきた結果から、今年度は、連続暗黒飼育・カフェイン摂取による生殖器官の発達抑制が、含硫アミノ酸であるシスチンを摂取させることで解除できるか否か検討することとした。

3. 期待される効果

連続暗黒飼育・カフェイン摂取の悪影響が、シスチンにより解除できること示されれば、様々な生活スタイルの人々へのカフェインの有効な摂取方法について説くことができる。

4. 研究の経過及び結果

4-1. 研究方法

3週齢 Fischer 系 (F344) 雄ラット (日本チャールス・リバー (株)) 36匹を3日間、AIN-93G 飼料で予備飼育後、明暗飼育条件の違い、飼料の違いにより6群(1群6匹)に群別した。明暗飼育条件は、正常明暗飼育(明期:7:00~19:00、暗期:19:00~7:00、N群)または連続暗黒飼育(D群)とした。実験飼料は標準食(AIN-93G 飼料、C 飼料)、カフェイン添加食(0.02%) (CF 飼料)、カフェイン(0.02%)とシスチン(0.6%)添加食(CFCys 飼料)の3種類とした。6群はそれぞれ、正常明暗・標準食群(NC 群)、正常明暗・カフェイン添加食群(NCF 群)、正常明暗・カフェイン・シスチン添加食群(NCFCys 群)、連続暗黒・標準食群(DC 群)、連続暗黒・カフェイン添加食群(DCF 群)、連続暗黒・カフェイン・シスチン添加食群(DCFCys 群)とする。

連続暗黒飼育群の給餌、給水および体重測定などに際しては、光同調による生体リズムの位相変異を引き起こさない写真用暗室赤色ランプを2日に一度、約2時間使用した。室温は $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度は $55\pm 5\%$ の環境下で飼育し、飼料、飲料水(イオン交換水)は自由摂取させた。3週間飼育後、イソフルラン麻酔下で解剖し、生殖器(精巣、精巣上体、精囊および前立腺)を採取した。

4-2. 最終体重、総飼料摂取量および飼料効率について

最終体重は、正常明暗飼育群では、NCFCys 群($123.3\pm 4.0\text{g}$)は、NCF 群($125.5\pm 4.5\text{g}$)と有意な差はみられなかったが、NC 群($129.9\pm 4.6\text{g}$)に比較して有意に低値を示した。連続暗黒飼育群の最終体重については、DCFCys 群($117.2\pm 3.5\text{g}$)は、DCF 群($113.8\pm 5.6\text{g}$)と有意な差はみられなかったが、DC 群($112.6\pm 3.0\text{g}$)に比較して有意に高値を示した。

総飼料摂取量については、正常明暗飼育群、連続暗黒飼育群ともに、飼料群間に有意な差はみられなかった。

飼料効率については、正常明暗飼育群では、NCFCys 群(0.3721 ± 0.0152)は、NCF 群(0.3915 ± 0.0194)と有意な差はみられなかったが、NC 群(0.4085 ± 0.0147)に比較して

有意に低値を示した。一方、連続暗黒飼育群では、飼料群間に有意な差はみられなかった。

正常明暗飼育群において、カフェイン・シスチンの添加飼料は、標準飼料に比較し、最終体重の低下がみられたが、これは、飼料効率の低下によるものであることが示された。一方、連続暗黒飼育群では、カフェイン・シスチンの添加飼料は、標準飼料に比較し、最終体重の増加がみられたが、これは飼料摂取量や飼料効率以外の原因によるものと考えられた。また、正常明暗飼育群、連続暗黒飼育群ともに、最終体重、飼料摂取量、飼料効率にカフェイン添加飼料とカフェイン・シスチン添加飼料間に有意差は認められなかったことから、カフェイン摂取に対するシスチンの効果はみられないことが示された。

4-3. 生殖器重量について

正常明暗飼育群の精巣、精巣上体および前立腺については、絶対重量(g)、体重 100g 重量いずれも、飼料群間に差はみられなかった。精囊については、NCFcys 群 (0.0386 ± 0.0128 g、 0.0311 ± 0.0095 g/100g 体重) は、NCF 群 (0.0445 ± 0.0085 g、 0.0353 ± 0.0062 g/100g 体重) と有意な差はみられなかったが、NC 群 (0.0574 ± 0.0127 g、 0.0440 ± 0.0088 g/100g 体重) に比較して有意に低値を示した。

連続暗黒飼育群の精巣、精巣上体、精囊、前立腺、いずれも飼料群間に差はみられなかった。

また、連続群暗黒飼育群の生殖器重量は、すべての飼料において正常明暗飼育群の生殖器重量より有意に低値を示した。

正常明暗飼育群、連続暗黒飼育群ともに、生殖器重量にカフェイン添加飼料とカフェイン・シスチン添加飼料間に差はみられなかったことから、カフェイン摂取に対するシスチンの効果はみられないことが示された。

4-4. 昨年度と今年度の結果の比較

昨年度は、連続暗黒飼育群において、カフェイン摂取群 (DCF 群) の精巣重量 (0.908 ± 0.278 g/100g 体重) は、正常明暗飼育群 (NC 群、 1.262 ± 0.149 g/100g 体重) より有意に低値を示したが、カフェインを摂取しない群 (DC 群、 1.091 ± 0.270 g/100g 体重) は、正常明暗飼育群 (NC 群) と有意な差はみられなかった。しかし、今年度は、C 飼料と CF 飼料の飼料組成は、昨年度と同様であり、飼育期間も同様であるにも関わらず、DCF 群 (0.804 ± 0.283 g/100g 体重)、DC 群 (0.612 ± 0.245 g/100g 体重) いずれも、NC 群 (1.337 ± 0.073 g/100g 体重) より有意に低値を示し、再現性が得られなかった。最終体重が、今年度 (NC 群 129.9 ± 4.6 g、NCF 群 125.5 ± 4.4 g、DC 群 112.6 ± 3.0 g、DCF 群 113.8 ± 5.6 g) は、昨年度 (NC 群 140.8 ± 6.6 g、NCF 群 140.2 ± 8.5 g、DC 群 135.2 ± 5.9 g、DCF 群 129.9 ± 7.1 g) より 15g 程度低下していること、体重増加に直結する総飼料摂取量が、今年度

(NC 群 $184.7 \pm 4.8\text{g}$ 、NCF 群 $184.5 \pm 7.2\text{g}$ 、DC 群 $180.8 \pm 5.8\text{g}$ 、DCF 群 $175.2 \pm 12.1\text{g}$)は、昨年度(NC 群 $218.2 \pm 7.4\text{g}$ 、NCF 群 $225.7 \pm 13.0\text{g}$ 、DC 群 $221.1 \pm 7.1\text{g}$ 、DCF 群 $218.9 \pm 11.2\text{g}$)に比較して 40g 程度低下していることから、飼料給餌量など飼育状況に何らかの問題があった可能性が考えられる。

4-6. まとめ

カフェインを 0.02%添加した飼料に、さらにシスチンを添加して、生殖器発達に対する影響を検討したところ、シスチンの影響は特に認められなかった。ただし、連続暗黒飼育群において、カフェインの影響が昨年度と異なる結果であったため、再度、実験し確認する必要がある。

5. 今後の計画

飼育条件に留意し、再実験を行う予定である。

6. 研究成果の発表

再実験を行い、データの確認を行った後、詳細な研究結果を蓄積し、関連学会誌に投稿予定である。

食行動科学と情報科学に基づく食育モデルの開発のための地域協働型実践研究

研究代表者：管理栄養学科	饗場直美
研究分担者：情報メディア学科	西口磯春
情報メディア学科	福本隆司
ロボット・メカトロニクス学科	高尾秀伸
教職教育センター	田辺基子
管理栄養学科	三宅 理江子

1. 研究の目的

これまで申請者らは、生涯間断のない食育の実現することを目指して、様々な年代や健康人から障害者にいたる幅広いフィールドで疫学調査を実施し、各世代で様々な人の食の課題やニーズを疫学的手法で検討してきた。

本研究では、人の食生活を健全に保ち、生涯を心豊かに生活することができるような人の育成を目指した食育を実現する為に、これまで申請者らが実施してきた各世代を対象とした食生活や食行動についてのフィールド調査をもとに、それぞれの世代での食と健康課題を疫学的観点から課題やニーズを掘り起こし、その課題に関連する要因分析を実施し、科学的根拠に基づいた効果的な食育実践の方法論を様々な情報科学理論を踏まえて検討し、実際の食育の現場に向けた新たな食育展開法を地域と協働で確立することを目的とする。

脳科学的な食の理解と疫学的な環境要因をふまえた人の食生活や食行動を変えるような食行動科学的アプローチを検討し、人が生涯を通じて継続的な食育を受けられるような、多面的な食育情報の提供の仕方について情報科学的観点から検討し、各世代のニーズに対応した多面的食育媒体を作成し、人の食習慣や食行動を変えられる食育のあり方について地域と協働で検証することで、神奈川工科大学及びそれぞれの地域発信の食育法を共同で確立するものである。本手法は工学系の大学である本学の中に食に関する学科があることによってはじめて達成できるものであり、その検証の場として東京都及び神奈川県で実際に検証し、官学協働で新たな食育展開モデル創造するものである。

人間工学的な食の理解と疫学的な環境要因をふまえた人の食生活や食行動を変えるようなアプローチを検討し、人が生涯を通じて継続的な食育を受けられるような、多面的な食育情報の提供の仕方について情報科学的観点から検討し、各世代のニーズに対応した多面的食育媒体を作成し、人の食習慣や食行動を変えられる食育のあり方について検討し、神奈川工科大学発信の食育法の確立を目指す。

2. 研究の必要性及び従来の研究

我が国は世界の中でも長寿であるが、疾病構造はほかの先進諸国と同じ非感染性疾患(生活習慣病)による死因が約6割を占めており、これら疾患が要介護の要因の一つとなってい

る。生活習慣病予防の食生活の改善を目指して 2007 年に食育基本法が制定され、全ての世代で間断のない食育の展開を目指している。また、2013 年に施行された第 2 次健康日本 21 でも、「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」を目指し、健康寿命の延伸と健康格差の縮小をするために、食生活改善を大きな柱とする健康づくりの取組を全世代に実施するための目標が世代ごとに設定された。間断のない食育を年齢に応じて継続的に生涯通じて受けることで国民すべてが健康的な食事を自ら選択して摂取できるようになり、生活習慣病の予防がひいては介護予防につながり、超高齢化社会を迎えた我が国において高齢者の QOL を維持し、最後まで自立した生活の実現が近づくことが期待される。

食習慣は、生得的な食行動としての行動に加えて後天的に獲得された食行動があいまって長期間の積み重ねの結果として形成されてくる。したがって、食習慣変容のための食育のアプローチは人が誕生してから死するまでの食行動を実践する期間、すなわち生きている間継続的に実施される必要があるが、特に食習慣確立の基礎作りの時期の幼児期、学童期の食育は基礎作りとして重要な意味があり、学童期での食育の重要性は明らかであるが、教育の一環として食育が実践されている国は少なく、したがってそのデータも多くない。

また、食育基本法が施行され、食育推進基本計画に基づいて食育が全国展開されているが、残念ながら明確な食育効果としてはとらえられていない。その理由として、全世代に適応した食育における教育法や評価法が必ずしも確立されておらず、各自治体での具体的なアプローチが戦略的に行われていない為、食育効果自体が表れていないと考えられる。

また、間断のない食育を実践する上において、世代によって課題やニーズが異なっており、また、世代間、地域間等において格差が生じており一律的なアプローチでは効果が得られないという問題がある。対象者の特性を把握し、その世代に必要な教育をその特性に合わせた食育を継続し、人の生涯を通じての様々なアプローチでの食育を実施し、食育によって食行動や食習慣を変容させ、人を確実に変えられることが求められている。そのためには、食行動についての心理的および行動科学的研究を食育、栄養教育と結びつけることが必要であるが、現時点では食の心理学的、食行動学的研究と結びついた食育が実践されているとは言い難く、現在の食育の効果がなかなかあらわれない理由として考えられる。人の食行動を心理と行動を理解したうえで、各世代にあった多面的な食育アプローチ法の確立が喫緊の課題である。また、各世代で様々なアプローチがなされているにもかかわらず、それらが国民の中に定着しえない現状があり、食育効果としても、食行動の変容として明らかな効果を得ることができていないのが現状である。特に各自治体においては、それぞれの自治体の現状に合わせた的確な食育が行われているとは必ずしも言えず、それが食育の評価に反映された形になっており、第三次食育推進基本計画に設定されているように、より確実な行動変容に向けた食育展開法の確立と現場への展開が喫緊の課題となっている。

3. 期待される効果

これまで申請者らは、すべての世代の人を対象に食育を実践するためには、2つの面からの研究が必要と考え研究を構築してきた。日本人を対象として日本人の食生活や食教育実施についての課題やニーズを疫学的手法において抽出する疫学的研究と、ヒトの食行動から食生活や食習慣を検討し、食行動を脳機能及び心理学的、行動科学的な観点から検討し、新たな情報技術を取り入れた食育媒体の開発である。

これまでの研究では、人の食生活を健全に保ち、生涯を心豊かに生活することができる人の育成のための食育を確立する為に、これまで申請者らが実施してきた各世代を対象とした食生活や食行動についてのフィールド調査から、それぞれの世代での食と健康課題を疫学的観点から更なる課題やニーズを掘り起こし、その課題に関連する要因分析を実施し、科学的根拠に基づいた効果的な食育実践の方法論を様々な情報科学理論を踏まえて検討したうえで、食育媒体を開発してきた。

本研究には、行動認知の専門家、情報工学の専門家、特に情報提供においてPVメディア作成の専門家と食の専門家がそれぞれの専門を生かして、新たな食育媒体を共同開発し、より効果的な食育展開法の確立が可能である。それぞれの研究者の間には密な連携がすでに出来上がっており、研究実施においてもこれまでの成果にも見られるように共同研究が進められており、今後もより発展的に活動できる状態になっている。

また、本申請者は、東京都と神奈川県自治体において実際に食育計画作成から実践に携わっており、自治体との協働関係が確立されている。したがって、地域のニーズに合わせた食育媒体の作成と展開ができる基盤が確立できており、地域のニーズに合わせた食育媒体の作成と確立した食育を地域での実践研究として実施する基盤が出来上がっており、新たな食育媒体の作成とそれらを用いた官学共同での食育実践の基盤を構築することが可能と考える。

4. 研究の経過及び結果・評価

本研究は、健康寿命を延伸させるための、各世代の特性に合わせた間断ない食育を地域特性に対応して展開するための多面的食育ツールの開発を目指している。したがって、本研究では、食生活変容のための課題やニーズを疫学的アプローチから明確にし、人の生涯において間断のない食育を展開するために、地域からえられた課題やニーズに応じて、地域及び対象者の特性に合った食育ツールの展開を情報科学的理論に基づいて試みる。そのために本研究は以下の3つの柱を立て、多面的な取り組みを行い、コロナ禍にも変わらず、おおむねフィールド調査を実施し、その成果を得ることができた。

(1)フィールド調査に基づいた栄養疫学研究による各世代の課題、ニーズ抽出に関する研究
①小学校での給食献立の変遷と食育教材としての給食活用の在り方について検討を行った。給食を使用した食育教材としての給食活用について、特に学校で指導が行われている咀嚼に

ついて給食を使用した食育の効果について検討を行った。その結果、学校給食を使用した食指導を給食時間に行う際には、学級担任との連携が不可欠であることが明らかになった。

②佐久健康長寿前向きコホートをを用いた食品摂取ビッグデータから見た健康と食事との関連性について検討を行った。その結果、朝食で主食としてパンを摂取するものとごはんを摂取するものにおいて、BMIを比較すると、女性においてパンを摂取するものの方が、BMIが低いことが明らかとなった。パンを食べることは、乳製品の摂取につながるが、その一方で主菜である魚介類、卵類、大豆製品類や副菜である野菜類、イモ類、キノコ類、海藻類の摂取不足に関連していることが明らかになった。特に、食品摂取と栄養摂取との関連性を検討し、高齢者の健康維持に必要な栄養摂取と健康的な日本型食事の提案を試みる。

(2) 人間工学的アプローチからの食育媒体の確立と食育効果に関する研究

①小学校を研究プラットフォームとして、現在の児童の大きな課題である咀嚼機能の改善に有効な教育媒体を作成し、学校給食における食育を行うことによって、その食育媒体の効果を評価した。食育推進計画においても目標とされている「よく噛んで食べる」習慣を定着させ、正しい咀嚼習慣を確立するために、給食時間に咀嚼を促す音楽媒体の効果評価を行う。これまで我々は、給食時間において児童が正しいリズムで咀嚼できるように、給食時間に流す音楽媒体を人間工学的観点から作成してきた。

完成した音楽媒体を使って、給食時間に食育を実施し、その効果を評価し、給食時間に流す環境音楽としての食育効果について、咀嚼機能や食嗜好性の観点から経時的に検証した。1年間の年間を通して、和食献立の給食を教材とした食育や音楽をBGMとして流し、様々な機会を通して咀嚼教育を行った結果、咀嚼状況が改善し、和食に対する嗜好性や健康的な食事での意識付けを行うことが可能であることが明らかになった。本研究におけるBGMの作成が、食育媒体としての効果について評価できた。

2020年から蔓延しているCOVID-19によって、学校給食の状況は一変し、給食時の共食が不可能な状況になっている。児童は前を向いて個人で食事をしており、給食時に本研究によって作成した「カムカムソング」を教室に流すことによって、よく噛んで食べることに集中して食べる姿が見られるようになった。

(3) 地域協働型食育媒体の開発と情報提供の在り方についての研究

①野菜摂取に向けたポピュレーションアプローチとしてのメディアを用いて広く情報発信するため市内のビジョン、東京都内の駅外ビジョンでの、デジタルサイネージを使った野菜摂取推進のための情報媒体を作成することに継続的に取り組んだ。特に食心理学的観点から、認知的情報及び情緒的情報の両面からの情報媒体の作成を試みる。作成した媒体は、東京都に提供する予定である。

また、新たな情報提供としてLINEを使った食に関する情報提供について、パイロット的な検証を学内で実施し、その効果を検証した。その結果SNS等を使って継続的な食の情

報提供によって、食知識に対する興味関心を向上することが明らかになった。

② I市と協働で各世代に対する食育媒体の作成と自治体での食育を実践し、食育モデルを開発するための、媒体作成及び住民の食生活の実態及び食環境について評価を実施し、住民の食生活課題を明らかにし、環境整備の準備を行うことができた。

②-1：I市で現在進めている、食育コンテストとしての料理コンテストの中で、中学生及び高校生の作成した献立の栄養バランスを検証し、そこから見える中高生での食育の課題を抽出し、食育媒体を作成した。2020年は、小中高校生の食育コンテストの献立を栄養計算し、献立の栄養バランスを検証した結果、献立を児童生徒が立てる際に、調味料をあまりとらえて調理していることが明らかになった。小中学校での給食で、一食2.0～2.5gの塩分量で減塩教育を行い、家庭科の教科でも献立作成で塩分量を計量して調理することが指導されていても、その教育が身につけていないことが明らかになった。

②-2：「よく噛む」ことに対する教育媒体を幼児～学童期に向けて作成し、市に提供することによって食育媒体の効果を、市の職員と一緒に検討し、食育媒体を協働で作成する準備を行った。

②-3：高齢者に向けてフレイル予防の食育媒体を作成し、市内老人会の活動において食育を展開する。地域老人会（10か所）において、体組成計を配布し、老人会の場をフレイル予防のための地域啓発の拠点として位置づけ、集会所において常に体重および体組成をチェックする場としてモニタリングする予定であったが、コロナ感染蔓延のため地域への介入研究は実施できなかった。そのため、今年度は高齢者を対象とした媒体として、「こまごはやさしいにたにた」というキャッチフレーズを元に、1年間の食育媒体を作成した。また、高齢者に対する、コロナ禍における食生活変化の調査を自記式アンケートで実施した。その結果、I市の在宅高齢者は、食事や運動をすることによって、体重変化を予防する生活を工夫していることが明らかになった。

③パネルシアター等の様々な媒体を用いた教育媒体としての情報の在り方について検討を行った。

④間断のない食育実践を目指して、年代や特性に合った食育媒体を作成し、その食情報の発信の仕方について検討した。体験型教育媒体やパネルシアターでの食育媒体を作成し、新たな食育媒体として本学から発信する準備を行った。また、メディアを用いた食育情報発信媒体を作成し、本学のHP内に専用サイトを立ち上げ、本学からの食育情報発信を行う予定である。

5. 今後の計画

2021年度は、2020年度から蔓延しているCOVID-19の影響により、地域でのフィールド調査や介入試験が困難になっていることから、地域協働として、自治体との協働調査と

して実施する。大学では、基礎的な研究を中心的に行い、咀嚼に関する基礎的研究及び咀嚼によるおいしさの感覚的研究に取り組む。

(1) フィールド調査に基づいた栄養疫学研究による各世代の課題、ニーズ抽出に関する研究（饗場、三宅）

① 小学校での給食献立の変遷と食育教材としての給食活用の在り方について明らかにする。様々な県での給食献立を統合し、わが国の給食の課題として塩分量を中心に解析を行う。また、給食を使った食育展開をするための要因を明らかにする。

② 佐久健康長寿前向きコホートをを用いた食品摂取ビッグデータから見た健康と食事との関連性について明らかにする。人間ドック受診者を対象とした健康長寿コホート（4500人）を用いた健康指標と食品摂取パターンについて解析し、健康長寿につながる健康的食事の在り方について検討する。

これまで研究者が取り組んできたコホート登録者から得られた摂取食品のデータ入力をさらに行い、摂取食品のビッグデータベースの構築を継続させ、簡易食事摂取歴法（BDHQ）で得られた栄養素摂取量とのデータ統合を行う。

(2) 人間工学的アプローチからの食育媒体の確立と食育効果に関する研究（高尾、西口、饗場）

① 小学校を研究プラットフォームとして、現在の児童の大きな課題である咀嚼機能の改善に有効な教育媒体を作成し、学校給食における食育を行うことによって、その食育媒体の効果を評価する。食育推進計画においても目標とされている「よく噛んで食べる」習慣を定着させ、正しい咀嚼習慣を確立するために、給食時間に咀嚼を促す音楽媒体の効果評価を行う。これまで我々は、給食時間において児童が正しいリズムで咀嚼ができるように、給食時間に流す音楽媒体を人間工学的観点から作成してきた。その音楽媒体を使って、給食時間に食育を実施し、その効果を評価し、給食時間に流す環境音楽としての食育効果について、咀嚼機能や食嗜好性の観点から経時的に検証する。

2021年度においても、給食時間に「カムカムソング」を提供することによって、児童生徒の咀嚼状況がどのように改善するのか、観察研究を行うことによって、音楽の効果について評価を実施する。また、コロナ禍においてフィールド調査がむつかしくなっていることから、咀嚼と音楽の効果について、大学内において、音楽のリズムと音楽のおいしさの効果について咀嚼によるおいしさに対する効果について基礎的な研究を実施する。

(3) 地域協働型食育媒体の開発と情報提供の在り方についての研究（福本、饗場、三宅、田辺）

① 野菜摂取に向けたポピュレーションアプローチとしてのメディアを用いて広く情報発信するための食情報媒体の作成とその情報発信の仕方について検討する。T 保健所と協働で、

地域でのビジョン、東京都都内駅構外ビジョンでの、デジタルサイネージを使った野菜摂取推進のための情報媒体を作成する。特に食心理学的観点から、認知的情報及び情緒的情報の両面からの情報媒体の作成を試みる。作成した媒体は、東京都に提供する。

2020年度に実施した新たな情報提供としてLINEを使った情報提供について、パイロット的な検証を学内で実施し、その効果を検証した結果、継続的な食情報の暴露は、情報受信者の食の意識を上げることが明らかになった。このことから、継続的な食情報を受け取れる環境整備が健康的な食事摂取への行動変容をするための意識の向上に有効であることから、これからも、継続的な食の情報提供のためのデジタルサイネージの作成を行い、東京都に提供する。

また2021年度から、新たにM市に協力して、M市の食育キャラクターの作成や及び健康的な食時摂取のための情報提供につながるようなデジタルサイネージ作成の準備にとりかかる。

②I市と協働で各世代に対する食育媒体の作成と自治体での食育を実践し、食育モデルを開発する。

②-1：I市で現在進めている、食育コンテストとしての料理コンテストの中で、中学生及び高校生の作成した献立の栄養バランスを検証し、そこから見える中高生での食育の課題を抽出し、食育媒体を作成し、中高等学校にその媒体を提供し、食育を展開する。その効果評価として、毎年の食育コンテストにおけるメニューの改善を検証し、特に継続がむづかしいとされる高等学校での食育展開を目指し、間断のない食育展開のモデルとして検証する。

我が国における減塩教育を進めるにあたり、調味料のとらえ方への再教育が必要であり、2021年度においては、学校での家庭科教育における減塩教育法について検討し、その成果を自治体にフィードバックする。

②-2：「よく噛む」ことに対しての教育媒体を幼児～学童期に向けて作成し、市に提供することによって食育媒体の効果を、市の職員と一緒に検討し、食育媒体を協働で作成する。保護者への支援をするために、保護者に対して、幼児のコロナ禍における食の実態調査を行う。

②-3：高齢者に向けてフレイル予防の食育媒体を作成し、市内老人会の活動において食育を展開する。2021年度も2020年度と同様に、本学の学生及びスタッフの地域介入は困難であると考えられることから、2021年度は、2020年度に作成した食育媒体を年間カレンダーとして製作し、高齢者に配布し、高齢者への食教育環境を整備する。

③パネルシアター等の様々な媒体を用いた教育媒体としての情報の在り方について検討する。間断のない食育実践を目指して、年代や特性に合った食育媒体を作成し、その食情報の発信の仕方について検討する。体験型教育媒体やパネルシアターでの食育媒体を作成し、新たな食育媒体として本学から発信する。また、メディアを用いた食育情報発信媒体を作成し、本学のHP内に専用サイトを立ち上げ、本学からの食育情報発信を行う。

6. 研究成果の発表

<論文発表>

1. Makiko Nakade, Yuya Shiozawa, Naomi Aiba : Vegetable intake at breakfast and associated factors among young adults in Japan. J Nutr Sci Vitaminol 66(Supplement) S406 - S411 2020年
2. 饗場 直美:食育における調理科学の観点 日本調理科学会誌 53(2) 136 - 141 2020年4月
3. 織本智香, 山田五月, 饗場直美:介護・看護関連事業所及び専門職から見た療養高齢者の栄養・食生活支援における課題と必要な取り組み 日本栄養士会雑誌 63(6) 322 - 327 2020年6月
4. Sakuma, N, Aiba, N, Kawamura, M, Katayama, R, Takao, H. : THE CURRENT SITUATION OF MASTICATORY BEHAVIOR OF FIRST GRADER AT ELEMENTARY SCHOOL: A RELATIONSHIP BETWEEN MASTICATORY ABILITY AND STUDENTS' LIKES AND DISLIKES International Journal of Social Science 6(2) 193 - 207 2020年7月
5. Ishikawa-Takata, Shigeho Tanaka, Jonghoon Park, Motohiko Miyachi, Akemi Morita, Naomi Aiba, Shaw Watanabe : Energy Expenditure in Free-Living Japanese People with Obesity and Type 2 Diabetes, Measured Using the Doubly-Labeled Water Method Kazuko J Nutr Sci Vitaminol 66 319 - 324 2020年8月
6. 阿壽賀由紀, 武田香織, 三上真由美, 時光奈苗, 井上博子, 明見伸子, 堀恵美子, 堀田佐知子, 川本佳奈美, 西尾佳代子, 金田雅代, 饗場直美:主食の残食率から考えられる塩分減少の方法 栄養教諭食育研究会誌 4 49 - 42 2020年9月
7. 今熊香奈, 吉田三千代, 児玉むつみ, 鎌田理恵, 宮崎律子, 永山恵, 土元麻未, 中西智美, 大堤香織理, 池田良子, 中馬和代, 榊順子, 金田雅代, 饗場直美:小学生における嘔むことに関する給食指導の効果 栄養教諭食育研究会誌 4 59 - 66 2020年9月
8. Akemi Morita, Naomi Aiba, Motohiko Miyachi, Shaw Watanabe, for the, Saku Cohor, Study Group : The associations of eating behavior and dietary intake with metabolic syndrome in Japanese: Saku cohort baseline study Journal of Physiological Anthropology 39(40) 2020年12月

<国内学会発表>

1. 中西 智美, 土元 麻未, 吉田 三千代, 今熊 香菜, 宮崎 律子, 児玉 むつみ, 鎌田 理恵, 大堤 香緒里, 永山 恵, 池田 良子, 中馬 和代, 榊 順子, 金田 雅代, 饗場 直美:給食の時間に行う嘔むことの指導による学級担任の意識と行動の変容第67回日本栄養改善学会学術総会 2020年9月3日

2. 大西 卓子, 安岡 あゆみ, 宮武 千津子, 大平 美佳, 藪内 咲希, 赤松 美雪, 村井 栄子, 金田 雅代, 饗場 直美:小学校における学校給食献立の食塩量の実態について第67回日本栄養改善学会学術総会 2020年9月3日
3. 佐久間奈緒美、饗場直美、高尾秀伸、片山遼介:小学校の食育年間計画に関連付けた咀嚼教育と和食教育の効果 日本食生活学会第61回大会 2020年11月28日
4. 佐久間奈緒美、饗場直美、高尾秀伸、片山遼介:小学校における学校給食の残食0%と配膳方法の関連性 第3回神奈川県栄養士会実践・研究大会 2021年3月13日

ビタミンE同族体の「抗肥満・抗炎症」効能を有する 新奇サプリメント剤の開発

所属学科：管理栄養学科 氏名：清瀬 千佳子

1. 研究の目的

ビタミンEは脂溶性ビタミンの1つである。クロマン環のメチル基の数と位置の違いで、 α -、 β -、 γ -、 δ -、さらに側鎖が飽和型であるトコフェロール、不飽和型であるトコトリエノールの、合計8つの同族体が存在する。食品では主に植物油や種実類に多く含有しており、植物油の中でも、その同族体の分布が異なる。例えば、ごま油などは γ -トコフェロールのみ、また、トコトリエノール類は米ぬか油、パーム油等一部の食品しか存在しない。ビタミンEの体内動態は肝臓内にある α -トコフェロール輸送タンパク質との親和性の違いが大きく影響すると言われ、8つの同族体のうち、 α -トコフェロールが最も親和性が高いので、リポタンパク質を介する体内循環へと優先的に分泌される。それゆえ各組織への移行量が多く、様々な機能を発揮しやすいと推察されている。しかし近年、 α -トコフェロール以外の同族体についても新たな機能がいくつか報告されている。特に、トコトリエノール類は肝臓中の脂質代謝を改善する働きがある事が明らかになっている。しかし、肥満に対しての効果の報告は少ない。また、 δ -トコフェロールについては我々が *in vitro* において、脂肪細胞の分化の際にベージュ化へと誘導し、エネルギー産生に関わる UCP1 の発現を誘導する事を見出し、抗肥満効果がある事を示唆したが、抗炎症効果の詳細については明らかになっていない。そこで、本研究では、トコトリエノール類と δ -トコフェロールに着目し、脂肪細胞の肥大化への分化誘導と肥満から発症する炎症誘導に対して改善効果があるかどうかについて検討し、その作用機序、特にシグナル伝達経路にどのように影響を及ぼしているかに焦点を充てて検討したいと考えている。

2. 研究の必要性及び従来の研究

平成28年度の国民健康・栄養調査の結果によると、Body Mass Index (BMI)が25以上の肥満者の割合は男性で31.3%、女性で20.6%であり、この10年間で有意な増減は見られないものの、男性に至っては、3人に1人が肥満者である。肥満とは、体内に白色脂肪が過剰に蓄積した状態を指し、疾病を意味するものではない。しかし、BMIと総死亡リスクの間にはU字型の相関が見られ、BMIが23~25の範囲が最もリスクが低く、痩せ過ぎ、もしくは太り過ぎでは総死亡リスクが高まると報告されている。実際には、肥

満が2型糖尿病や脂質異常症、心疾患のみならず、各種ガンの発症に関連しているとも示唆されている。従って、肥満を改善する事は、それに起因する様々な生活習慣病の発症も抑える事が出来るのではないかと推察できる。その作用機序の1つとして肥満状態における慢性的な炎症反応の誘起がその引き金になっている事が要因であると言われている。肥満状態が長期に続くと、ケモカインである MCP-1 の発現が誘導され、脂肪組織に単球が輸送され、脂肪細胞内でマクロファージ化し、炎症性サイトカインや遊離脂肪酸等のいわゆるアディポサイトカインを産生する。それが血中を介して様々組織に輸送される事で、インスリン抵抗性や脂肪肝等の生活習慣病の引き金になると考えられている。従って、肥満を予防するためのサプリメント開発は生活習慣病の一次予防につながり、また、その必要性は非常に高いと思われる。これまで、食品成分の抗肥満効果のある成分としては唐辛子のカプサイシンなどいくつか見出されている。従来、食品成分の抗肥満効果を検討し、最終的にサプリメント剤にするには、物質の同定とその安全性評価は必須となる。しかし、ビタミンEの場合は栄養素として広く認識されていると同時に、サプリメントとして高用量を摂取しても副作用がない(今までほとんど報告がない)。従って、もし抗肥満・抗炎症作用が明らかになったらサプリメントとしての開発が非常に近づくと思われる。

3. 期待される効果

一連の研究結果が得られた場合、「抗肥満・抗炎症作用」としての効能をうたったサプリメント剤として、一般消費者へと売り出す事が可能になる。もちろん、再度、安全性評価は必要であるが、他の食品成分に比べて安全性が高い事がある程度証明されている事から、実験データをさらに積み重ねる事で商品開発への期待が高まる。

2. 研究の経過及び結果・評価

2020年度は、緊急事態宣言下のため、予定していた動物実験を遂行する事が出来なかった。そこで、検討を広げて行う事にした。一つは前年度に行った高脂肪・高シヨ糖食摂取を4ヶ月負荷したと同時に、 α -トコフェロールを添加した群(800mg/kg diet)と δ -トコフェロールを添加した群(800mg/kg diet)事で、抗肥満や脂肪組織に対する抗炎症効果があるかどうかについて検討している事と、もう一つは、先ほども述べたように、脂肪細胞内へ単球が浸潤し、マクロファージ化する事が炎症の初発段階だと考えられている。以前、マウス脂肪前駆細胞である 3T3-L1 細胞とマウスマクロファージ細胞である RAW264.7 細胞を共培養し、炎症誘導をした所、前もって δ -トコフェロールを添加しておく、炎症性サイトカインの遺伝子発現を有意に低下させる事を明らかにしたが、脂肪細胞内へビタミンEを取り込ませているのがいいのか、また、単球自身にビタミンEを取り込ませた方がいいのか、現時点ではわからない。そこで、マウスマクロファージ細胞を用いて、リポポリサッカライド(LPS)にて炎症誘導した際の α -トコフェロール及び δ トコフェロールの抗炎症作

用について検討を行った。その結果、LPS 添加 4 時間後では、TNF- α および IL-6 の mRNA 発現量は LPS 群に対し、 δ -toc 25 μ M で有意に減少し、TNF- α の mRNA 発現量では δ -toc 50 μ M (δ 50) においても有意に減少した。8 時間後では、IL-6 の mRNA 発現量は δ 50 で有意に減少した。以上の結果より、 α -toc はこの条件下で炎症は抑制できないものの、 δ -toc はマクロファージの炎症を抑制する可能性が示唆され、 α -トコフェロールよりも δ -トコフェロールの方が効果が強い可能性が示唆された。

5. 今後の計画

上記で示したように、炎症誘導したマクロファージ細胞に対して、 δ -トコフェロールに抗炎症作用がある事が推察された。そこで、今年度は、高脂肪・高ショ糖食を負荷（1 ヶ月）したラットにリポ多糖(LPS)を腹腔内投与して強制的に炎症誘導するモデルを用いて α -トコフェロール(800mg/kg diet)、 δ -トコフェロール(800mg/kg diet)のそれぞれの効果について検討する事を予定している。ビタミン E の摂取は短期間となるが、1 か月飼育で体内へのビタミン E 蓄積は十分であると考えられ、また高脂肪・高ショ糖食を 1 か月負荷する事で十分に肥満状態となるので、*in vivo*におけるビタミン E 同族体の抗炎症効果について検討可能だと考えた。LPS 投与後、4 時間で解剖し、血液、肝臓、各脂肪組織を採取し、様々な分析を行う予定である。特に脂肪組織については、IL-1 β 、IL-6 や MCP-1 の炎症性サイトカイン、ケモカインの遺伝子発現への影響や、脂肪組織の凍結切片を作成後、免疫染色にてマクロファージに浸潤に対する影響についても検討予定である。

6. 研究成果の発表

【口頭発表】

1. 矢部芳美、大津玲奈、永瀬摩奈、高橋知衣、田中理恵子、清瀬千佳子 「炎症誘導したマクロファージ細胞に対するビタミン E 同族体の効果」：第 59 回日本油化学会年会、2020 年 11 月（Web 開催によるオンデマンドでの口頭発表）

認知症予防のスクリーニングを考慮した加齢による
五感の変遷に関する基礎的検討

研究者名： 研究代表者：管理栄養学科・准教授 澤井明香
研究分担者：情報システム学科・教授 坂内祐一
研究分担者：基礎教育センター・准教授 竹田祐一

1. 研究の目的

軽度認知症(認知症予備軍)の症状を的確に把握し、認知症を予防することは重要である。現在、認知症は、脳の高次機能(複雑性注意、遂行機能、学習および記憶、言語、知覚-運動、社会的認知)や身体機能の低下等が評価されている。認知機能は五感知覚の受容の上に成り立つため、これらの機能低下の前に五感が衰退している可能性があり、この段階でスクリーニングを経て適切な対策を行えば、早期段階から認知症等の予防に繋がる可能性がある。しかし現状では、五感知覚(「感覚機能」)は、認知や運動機能との関連を調べた研究が乏しい。本研究は「機器測定で得た五感(特に味覚や嗅覚)の加齢変化を捉えること」「軽度の認知機能スコアに五感の評価を加え、より詳しく評価すること」を目的とする。

2. 研究の必要性及び従来の研究

わが国では高齢者が急増すると共に認知症も多くなり大きな社会問題である。また認知症とは診断されないが、軽度認知症に分類される認知症予備軍が認知症の数倍存在する。この軽度認知症にあたる層の症状を的確に把握し、健常高齢者と共に、認知症の罹患を予防することは極めて大切である。現在、認知症の診断基準は認知領域の低下であるが、これは主に脳の高次機能に相当する。また身体機能の低下も社会生活に支障をきたすため、厚生労働省の介護予防の評価基準も設けられている。認知機能は五感の受容の上に成り立つため、「高度認知機能」や「運動機能」の低下の前に、五感が衰退している可能性があり、この段階でスクリーニングを経て適切な対策を行えば、早期の段階から認知症等の予防に繋がる可能性がある。しかし、五感は、加齢や認知や運動の機能変化との関連を示す基礎データが乏しい。また、基本味の味覚の年齢毎の測定や既に認知症を患った者の報告はあるが、健常者や認知症予備軍の測定値を認知や運動機能と関連づけた研究は国内外に殆どない。

3. 期待される効果

本研究により、主に機器測定により得られた加齢に伴い変化する五感（特に味覚や嗅覚）の変化を今後、アンケートに軽度の認知機能スコアに加えることで、より詳しく把握できることが期待できるとともに、軽度認知症を悪化させないための味覚・嗅覚刺激を用いた感覚機能回復方法の開発に結び付けることが、意義であり、最終的な目標となる。

4. 研究の経過及び結果・評価

本研究は3年計画であり、本年度は2年目である。新型コロナウイルスの流行により、県内の高齢者福祉施設は年間を通じて部外者の入構が不可となり、さらに安全面からも大学へ高齢者を招聘することは難しいため、今年度の高齢者の測定は見送った。大学も前期期間は入構禁止、後期も入構日が極めて限られたが、若年者のみ、可能な範囲で測定を継続した。さらに味覚や認知機能、健康に関して、貯蔵サンプルの分析を進めた。また、郵送調査も開始した。

味覚は、若年者のデータが15名追加でき、合計26名となった。結果は昨年度と変わらず、甘味や塩味は加齢により影響を受け易く、苦味や酸味は加齢の影響を受けづらいため、生存本能（毒物や腐敗物の分別）に直結する感覚の維持とそれ以外の鈍化が推察された。辛味感覚も加齢での鈍化が、認知機能試験の点数の低値者でみられ、加齢による皮膚の痛覚の影響が推察された。また昨年度実験から、味覚や辛味では測定条件を安定させるために、精神や健康状態での変動を調べる必要が生じ、関連研究として、ストレスや体調不良での変化を調べた。ストレスの程度（時間、強度）で、塩味、苦味、辛味が鈍化することがわかり、これを学会発表後（2021年9月に日本栄養食糧学会にて発表予定）、英文投稿を予定している。特に定期試験のような長期ストレスの影響を受け易いため、今後の測定条件に生かす。健康状態の影響に関する試験紙による味覚調査は、一部データをまとめ、文雑誌に採用され、出版を待っている（業績3）。当調査は夏季までの調査のため、今後はデータ回収後に再評価を行う。

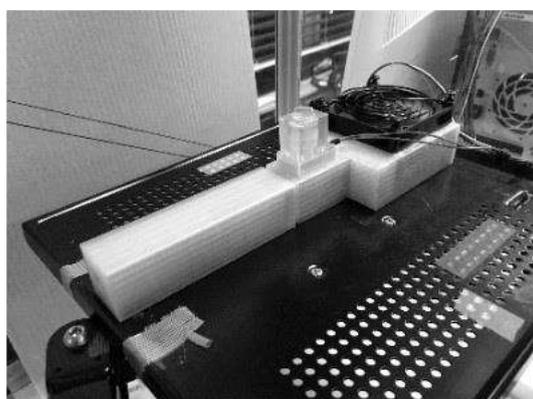


図1 FragranceJet Vib

嗅覚検査実験で使用してきた嗅覚ディスプレイが開発から長時間が経過し、部品交換やメンテナンスに支障が出てきたため、新たなタイプである圧電素子を利用した試作機を開発した。2020年度は卓上型のFragranceJet Vibの改良と、ウェアラブル型のFragranceJet Vib Mobileの試作機、およびこれらの試作機をPCから駆動するためのソフトウェアを完成させた。図1はFragranceJet Vib改良型で、従来型よりユーザーへの香気射出口を絞りこんで、射出口の断面のどの領域でも香気濃度が一定にな

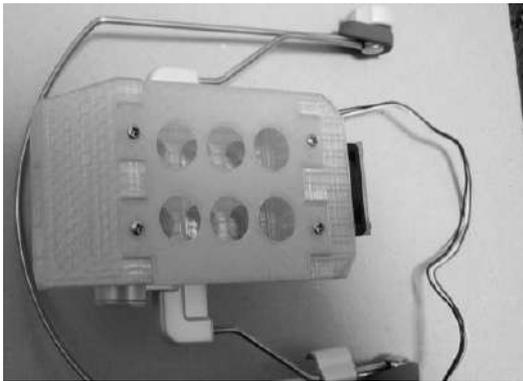


図 2 FragranceJet Vib Mobile

筐体を完成させ、基本動作を確認することができた。

るようにした。

図 2 に FragranceJet Vib Mobile の外観を示す。この射出方式は、卓上型の Fragrance Jet Vib と同様であるが、ウェアラブルで利用できるようにタンクを小さくして、ユーザが筐体を首にかけて使用できるようになっている。FragranceJet Vib Mobile を利用することで、ユーザがより自由な姿勢で嗅覚刺激を与えられるほか、移動・運動中でも利用できるメリットがある。2020 年度は試作機の筐

5. 今後の計画

< 研究計画：第 3 年度（2021 年度） >

2020 年度に引き続き、本実験を実施する。若年者は予定人数の測定を終えたため、今後は高齢者のデータを増やす。実験の詳細は、以下である。

- ① 味覚：味覚実験で標準テストディスクの 4 味（塩味、甘味、酸味、苦味）と辛味の 5 種類の濃度の味覚溶液を味覚ディスプレイから射出して味の種類がわかる認知閾値を求める。
- ② 嗅覚：2019 年度の実験で、香りによる差が大きかったため、嗅覚実験で標準的に用いられている T&T オルファクトメータの 5 種類（バラ臭、ごけ臭、古靴下臭、桃臭、糞便臭）のにおい溶液を参考に決定する。嗅覚ディスプレイから問題なく射出できていることを確認の上、ランダムに濃度変化させた 0.3 秒程度の香りパルスと無臭のパルスを一対にて比較させることで、検知閾値を計測する。
- ③ 運動機能：円陣内での足踏み、2.5km/歩行、4.0km/h 歩行は高齢者も取り組めたが、4.0km/h 歩行は個人により不安定な者もみられた。脚力、握力、歩幅（2STEP 法）の測定を行う。
- ④ 認知機能：改定長谷川式、MoCA-J (Montreal Cognitive Assessment) を行う。
- ⑤ 味覚や嗅覚の変遷と意識に関する調査票（オリジナル）の実施。

調査票から得たデータの集計法は、まず機能間のデータの相関係数を計算し、主成分分析により相関の高い項目を集約して幾つかの主成分を抽出する。最終的には年齢（加齢）軸 vs 機能軸（主成分ごとの要因）を描き回帰曲線で傾向をみる。全データの解析について：著しく計測スコアが低い被験者をピックアップして、ヒアリングなどを行う。まず各機能の担当者がデータをまとめ、全員でレビューし解析方法を検討して、加齢（年齢軸）を横に、機能軸を縦にとり、加齢による機能スコアの辺かを見る。また機能間のデータの相関関係を調べ、相関の高い機能を統計的にまとめた主成

分を抽出し、加齢の指標づくりを目指す。

高齢者で平均値をかなり下回った被験者がいた場合には個別のヒアリングを行い、必要であれば、再実験および軽度認知障害のテストを受け、特に味覚・嗅覚機能スコアと認知スコアの相関を求め、加齢軽度認知障害スクリーニングスコアの作成を目指す。また認知症の予防となる訓練法についての仮説をたてて、次の研究に結び付ける。指標の妥当性を検討し、軽度認知障害のスクリーニングとして利用できるかを検討する。

また 2020 年度に完成した嗅覚ディスプレイの試作機 (FragranceJet Vib と FragranceJet Vib Mobile) を用いた嗅覚機能計測実験を行いデータを収集して、従来型の嗅覚ディスプレイとの比較を行い、試作機の利用可能性を検討していく。

5. 研究成果の発表

[図書]

1. 坂内祐一:「圧電素子を用いた嗅覚ディスプレイ」, においのセンシング、分析とその可視化、数値化, pp. 518-529, 技術情報協会 2020 年 10 月.

[学術論文]

1. Asuka Sawai, Naoyo Nie, Shinya Sawai, Kayoko Tsuzuki, Osamu Tochikubo. Effect of skipping breakfast on cerebral blood flow and cardiovascular function under a mental load in healthy female students. *Progress in Nutrition* 22(2) 1 - 9 2020.
2. Asuka Sawai, M Endo et al., Relationship between the evaluation of lifestyle factors of elderly people as measured by the Health Wrist Watch and the health index. GMI, in press.
3. Relationship between Measurement Salt Taste Threshold and Salt Intake in Japanese Primary School Students, Parents and High School Students Using Test Papers of Low Concentration Taste Threshold
Progress in Nutrition, in press.
4. 瀬田陽平, 牧野光則, 坂内祐一, 服部元史: 粒子法シミュレーションによる嗅覚ディスプレイ性能評価のための芳香気体挙動の可視化, ゲーム学会和文論文誌 Vol.14, No.1 掲載予定, 論文採録通知 19-S02

[学会発表]

- 1 竹田瑞希 澤井明香. 朝食の種類及び摂取時間の経過が課題時の脳血流に及ぼす影響
第 31 回 日本咀嚼学会学術大会 2020 年 10 月
2. 篠原宙, 澤井明香. 朝食の有無および摂取時間の経過が課題回答時の自律神経に及ぼす影響. 第 31 回 日本咀嚼学会学術大会 2020 年 10 月

3. 小野みゆき, 澤井明香. 朝食と咀嚼の有無が顔再認試験回答時の眼球運動に及ぼす影響. 第31回 日本咀嚼学会学術大会 2020年10月
4. 澤井明香, 奈良航成, 内田有美, 土田美沙. 朝食の有無が精神活動時の自律神経に及ぼす影響と脳血流との関係. 第74回 日本栄養・食糧学会大会 2020年5月
5. 長草恭斗, 澤井明香, 坂内祐一. 2本の液滴噴霧型味覚ディスプレイを用いた味覚閾値計測. 第25回 香り・味と生体情報研究会 2020年3月2日
6. 有賀安央衣, 榊優弥, 安田拓径, 澤井明香, 坂内祐一. 加齢による嗅覚の変化と認知・運動機能との関係に関する考察. 第25回 香り・味と生体情報研究会 2020年3月2日
7. 浦野颯爽, 澤井明香, 坂内祐一. 自動液体噴霧器を用いた味覚及び痛覚の評価
第2回 神奈川県栄養士会実践・研究大会 2020年3月.