

神奈川工科大学

# 健康生命科学研究所

研究報告

第 12 号

2021 年度

## 目次

- LPS 腹膜炎モデルにおけるアラキドン酸代謝物トロンボキサンのリンパ管新生増強作用の解析（病態時のリンパ管の可塑性を制御するプロスタグランジンの解析と治療応用のための基盤研究）

臨床工学科 馬嶋正隆  
臨床工学科 松田康広  
臨床工学科 渡邊紳一  
臨床工学科 西村宗修  
管理栄養学科 澤井淳

- 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  
情報メディア学科 服部元史  
基礎・教養教育センター 竹田裕一

- 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

- 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

- 不規則な生活をもたらす精子数の減少の改善を目的とした栄養面からの戦略  
-モデルラットを用いる検討-

管理栄養学科 花井美保

- 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

# LPS 腹膜炎モデルにおけるアラキドン酸代謝物トロンボキサンのリンパ管新生増強作用の解析（病態時のリンパ管の可塑性を制御するプロスタグランジンの解析と治療応用のための基盤研究）

研究者名；馬嶋正隆（臨床工学科）、松田康広（臨床工学科）、渡邊紳一（臨床工学科）、西村宗修（臨床工学科）、澤井 淳（管理栄養学科）

## 1. 研究の目的

リンパ管およびその所属リンパ節を含むリンパ組織は、血管系とともに生体内の恒常性の維持や免疫応答など生理的に重要な役割を担っているだけでなく、浮腫や悪性腫瘍の転移などの病的状態にも関与している重要な器官である。病態時にはリンパ管およびリンパが流入する所属リンパ節において、ダイナミックな構造および機能変化が見られ、神経系が外界の刺激などによって機能的、構造的な変化を起こすのと同様に、リンパ組織においてもいわゆる『可塑性』が認められる。リンパ管の存在は100年以上前から明らかにされていたにもかかわらず、本格的に生体内生成機構や機能調節因子に関する研究が進みはじめたのはここ10数年ほどであり、現在も次々に新しい発見が続くホットな研究領域である。

リンパ管は末梢組織において血管から漏れ出した組織液（間質液）を汲み出して静脈へと還流することで、体液の恒常性維持を担っている。また最近、眼のシュレム管がリンパ管であることが判明し（JCI 2014）、リンパ管機能不全が緑内障の発症因子であることが推定されている。さらにリンパ管は免疫担当細胞の動態を支えているのに加えて、多くのがんにおいてリンパ行性の転経路として重要で、所属リンパ節においては、免疫担当細胞の動員を伴うダイナミックな構造および機能変化が見られ、転移を増長するようなニッチェが形成される。しかし、このようなリンパ節組織の可塑性を制御する機序については、多くは未解明である。また、リンパ管に関わる病態として炎症は重要で、炎症反応に伴って高まった血管透過性亢進により漏れ出した血漿タンパクを回収するためにリンパ管新生が増強することは、想像に難くない。

これまで、内因性生理活性物質であるプロスタグランジン（PG）が、炎症時のリンパ管およびリンパ組織の可塑性を制御する因子であることを明らかにしてきた（P&T 2021）。増殖性の炎症のプロフィールを持つマトリゲル移植モデルにおいて、 $\text{PGE}_2$  が EP3 および EP4 受容体を介してリンパ管新生を増強すること（ATVB 2011）、創傷治癒モデルにおいても創傷部位におけるリンパ管新生が EP3 および EP4 受容体シグナルにより増強すること（PLoSone 2016）を報告してきた。

初年度として、血小板凝集や気道平滑筋収縮に役割を持つアラキドン酸代謝物トロンボキサン（Thromboxane  $\text{A}_2$ ,  $\text{TXA}_2$ ）が炎症時のリンパ管新生を増強するか否か、炎症滲出液の排出に役割を持つ  $\text{TXA}_2$  受容体ノックアウトマウス（TPKO）を開発して検討した。

## 2. 研究の必要性及び従来の研究

医療の高度化が進む現代においてもなお、多数の国民が難治性疾患に苦しんでいる。生命維持の基本は細胞周囲の環境の恒常性の維持にある。この細胞周囲の環境の構成因子であるリンパ管は、体液循環に関与し、リンパ管の機能不全はリンパ浮腫を引き起こす。がん治療時のリンパ節郭清に伴う2次性リンパ浮腫は極めて治療に抵抗性であり浮腫に悩む患者は多い。リンパ浮腫指導管理料、四肢のリンパ浮腫治療のための弾性着衣などに係る療養費が、平成20年度診療報酬改定に伴って保険適用が認められるようになった。多くの患者が存在することを端的に表している。本研究の成果は、多くのリンパ浮腫患者に福音となる。また、眼のシュレム管を標的として、リンパ管新生を促すことが出来れば、治療抵抗性の緑内障の新規治療につながる可能性がある。本研究の波及効果は大きい。

また、本邦で死因の一位である悪性新生物（がん）においてリンパ行性転移は患者の予後の重要な決定因子である。現在のところ、高度リンパ節転移陽性の患者においては集学的治療によっても治療効果はまだまだ満足できる程度とは言えない状況である。本研究成果から、がんのリンパ行性転移を制御できれば患者に対する恩恵は計り知れない。リンパ管に関する研究の歴史はまだ浅く、これまで軽視されたリンパ管の組織機能に焦点をあて、関連する疾患発症に関わるメカニズムを解析、治療標的、治療的介入について基盤研究を進めることは意義が大きい。従来の研究が不足してきた分野であり、必要性は極めて高い。

## 3. 期待される効果

組織・臓器の実質的な循環を議論する微小循環学において、リンパ管研究は長く血管や血管内皮研究の陰に隠れた存在であった。また多くの日本人研究者が研究の先導をしてきた

免疫学においても、研究の軸足はTリンパ球などの免疫担当細胞の機能解析にあり、リンパの流れやリンパ管を介した細胞動態は、興味の対象になってこなかった。

この10年ほどでリンパ学は飛躍的に進展した。リンパ管を同定するマーカーの特定に加え、リンパ管新生を増強するマスター遺伝子(Prox-1)や成長因子(VEGF-C/D)が相次いで海外の研究者によって発見され、これらの機能解析をもとにリンパ管の可塑性と疾患の関連を解析するのが世界の研究の潮流となっている。しかし、本研究では、生理活性脂質の受容体や合成系に注目し、小分子化合物による治療法の開発、細胞治療を目指している。この方向性は新鮮であり、リンパ管新生を討議する Gordon 会議からの講演招聘も多い。生理活性脂質をツールにリンパ組織の可塑性制御によるがんを含めた病態治療を展開する。

本研究は、リンパ管およびその所属リンパ節を含むリンパ組織に焦点を当て、関連する難治性疾患の治療方策を解明するものである。インパクトに富むアプローチと言え、関連疾患に苦しむ多くの患者に対する恩恵は極めて大きく、その波及効果は大きい。

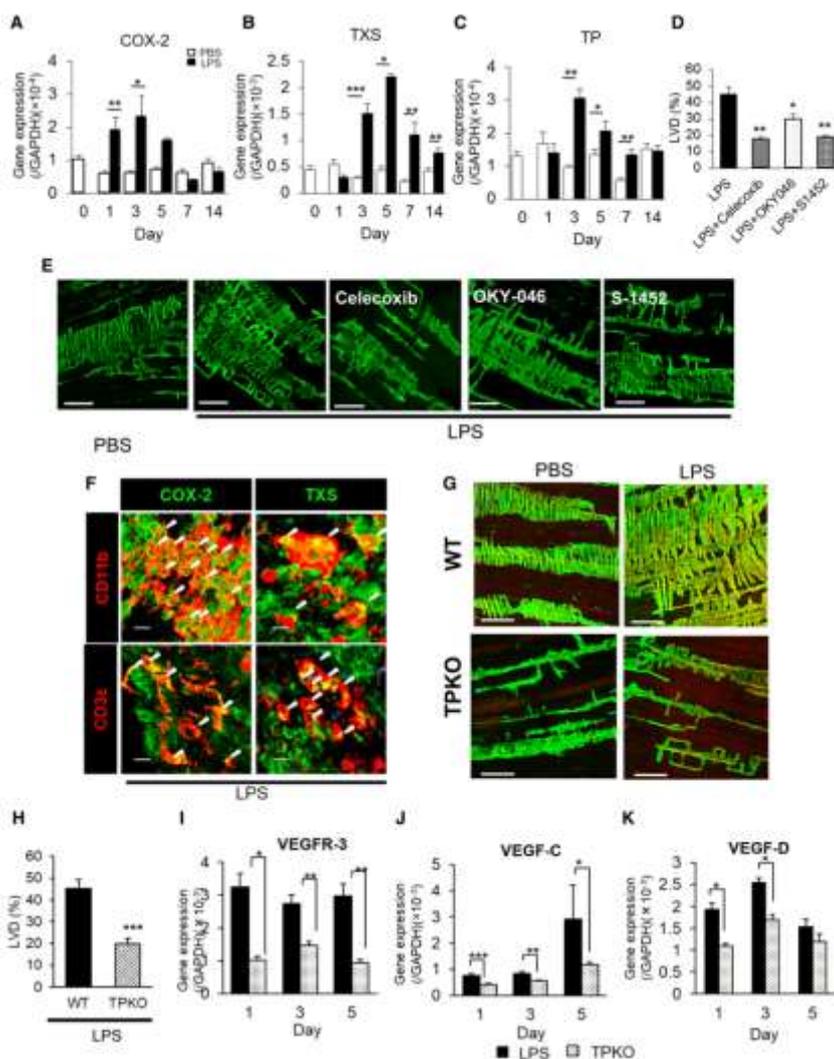
#### 4. 研究の経過及び結果・評価

複数のモデル(2次性リンパ浮腫、腸管脂質吸収、がんリンパ節転移、子宮内膜症、炎症性腸疾患モデル等)で検討を進めているが、中でも多くの成果が得られた炎症モデルでのTXA<sub>2</sub>の解析結果の概要を報告する。

##### 1) LPS 誘発腹膜炎モデルにおけるトロンボキサンのリンパ管新生増強作用

TXA<sub>2</sub> 受容体 (TP) ノックアウトマウス (TPKO) をネオマイシン耐性遺伝子を用いて常法に従い作成した。10週齢の雄性 C57BL/6 野生型マウス (WT) と TPKO マウスの腹腔内に、LPS (*E. coli*, 1μg/g BW) を隔日投与すると、持続的な炎症反応が惹起され、腹腔内にマクロファージの浸潤を伴う腹水の貯留が認められた。WT から横隔膜組織を採取し、real time PCR で mRNA レベルを評価すると、LPS 投与により vehicle 投与例に比べ、投与後1、3日で PG 産生酵素 COX-2 の有意な増大が認められた(右図 A)。それに遅れて TXA<sub>2</sub> 合成酵素 (TXS) および TP 受容体の mRNA 発現の有意な増大が認められた(右図 B、C)。横隔膜ホルマウント標本でリンパ管内皮を Lyve-1 抗体で染色すると、

LPS 投与により横隔膜下に新生リンパ管の増加が認められた(上図 E、投与後7日の結果)。TXA<sub>2</sub> のリンパ管新生における役割を評価するために、選択的 COX-2 阻害薬 (Celecoxib)、TXS 阻害薬 (OKY046)、TP 受容体拮抗薬 (S1452) を投与(6~100mg/kg/day)すると、リンパ管



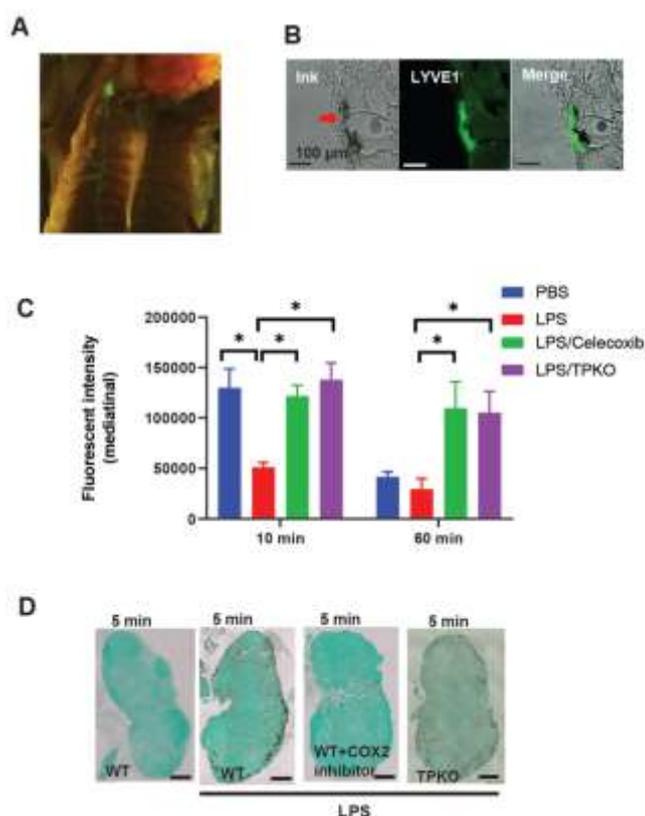
新生(7日目)が有意に抑制された(前頁図D,E)、COX-2およびTXS発現細胞のプロフィールを二重染色で調べると(WT、3日目)、多くはCD11b、CD3ε陽性のマクロファージ、リンパ球であった(前頁図F)。さらに、TPKOを用いてTXA<sub>2</sub>、TP受容体のリンパ管新生増強作用を検討した。横隔膜下のリンパ管をLyve-1抗体で染色すると、WTではLPSにより新生リンパ管が増加するのに対し、TPKOでその増加が殆ど見られなかった(前頁図G、7日目)。リンパ管密度を測定しても、WTに比べTPKOで有意な抑制が見られた(前頁図H、7日目)。リンパ管内皮には、VEGF3型受容体(VEGFR-3)が発現している。WTとTPKOの横隔膜組織でのVEGFR-3 mRNAレベルを経時的に測定した(前頁図I)。LPS投与後1~5日において、TPKOではVEGFR-3の発現が有意に低値を示した。代表的なリンパ管新生因子にVEGF-CおよびVEGF-Dがある。LPS投与後の横隔膜組織における両因子の発現の経時的变化を調べた(前頁図J、K)。LPS投与後1~5日において、TPKOではVEGF-Cの発現が有意に低値を示した。一方、LPS投与後1、3日において、TPKOではVEGF-Dの発現が有意に低値を示した。

以上の成績から、LPS誘発の炎症において、TXAがTPシグナルを介してリンパ管新生を増強していることが明らかになった。TPを発現するマクロファージ、Tリンパ球が関与することが推測された。TPシグナルを介したリンパ管新生増強が腹水治療になることが推定される。

## 2) リンパ管の排液機能を増強するトロンボキサンとの役割

さらに、LPS腹腔内投与時の貯留腹水の排液にTP依存性に新生したリンパ管が役割をもつかLPS投与後7日目で検討した。大きな分子量をもつdextranに蛍光色素を結合させたFITC (fluorescein isothiocyanate)-dextranを腹腔内に投与し、リンパ節への移行経路の確認と腹腔内残留量を定量化を実施した。別の実験では、腹腔内にIndian ink(墨汁)を投与し、横隔膜の排液部位を特定した。あわせてLyve-1抗体によるリンパ管の染色も行った。

LPSを投与したWTマウスに、FITC-dextranを腹腔内に投与すると、投与後10分では、横隔膜から吸収されたFITC-dextranが胸腔内リンパ管を通過し所属リンパ節に到達することが判明した(右図A)。腹腔内にIndian inkを投与し5分後に横隔膜を見ると、Indian inkが強く吸着する部位が存在した。同部位は、Lyve-1抗体染色で陽性を示す(緑色)リンパ管とよく一致した(右図B, merge像)。これより、腹腔内に投与されたマーカー分子は、迅速に新生リンパ管を



ってリンパ節に移動することが判明した。WTにvehicleを投与、WTにLPSを投与、WTにLPSとCOX-2阻害薬を投与、TPKOにLPSを投与したマウス(投与7日目)を用意し、一定量のFITC-dextranを腹腔内に投与し、所定の時間後に腹腔内残留FITC-dextran量を測定した(上図C)。WTにvehicleを投与した時に比べ、WTにLPSを投与した場合、腹腔内残留FITC-dextran量は有意に減少し(10分後のデータ)、WTにLPSとCOX-2阻害薬を投与した場合は、有意に腹腔内に残留したFITC-dextran量は増加した。TPKOにLPSを投与した場合でも、同様に残留したFITC-dextran量は増加した。60分後では、WTのvehicle投与例でも、多くの色素の排出が排出される時点になるが、それでもWTにLPSとCOX-2阻害薬を投与した場合、TPKOにLPSを投与した場合のいずれでも、有意に多いFITC-dextranが残留していることが判明した。Indian inkをLPSを投与したWTマウスの腹腔内に投与した場合、5分後には所属リンパ節にIndian inkが到達する(上図D)。輸入リンパ管が接続するsubcapsular regionにIndian inkが沈着した。WTにLPSとCOX-2阻害薬を投与した場合は、所属リンパ節に到達したIndian ink量の減少がみられた。TPKOにLPSを投与した場合

でも、同様に到達した Indian ink 量の減少がみられた。

以上の成果より、LPS で誘発した腹膜炎において、内因性の TXA<sub>2</sub> が TP シグナルを介してリンパ管新生を増強し、それが横隔膜を介した腹水の排出に重要な役割を持っていることが明らかになった。TP シグナルが、リンパ管新生増強を介した腹水治療の target になることが推定された。

## 5. 今後の計画

当初、最初の 1 年間でリンパ管、リンパ組織の可塑性の変調が基盤に存在する疾患モデル；① 2 次性リンパ浮腫モデル/LPS 腹膜炎モデル/緑内障モデル、② 腫瘍リンパ節転移モデル、③ 乳糜管機能解析モデルを対象に、1) 内因性脂質生成系および受容体の機能解析、2) 病態の評価をおこない、リンパ管・リンパ組織可塑性の生理活性脂質による制御が治療展開できるか分子基盤を解明する予定であった。実施に難航する場合は、既に確立済みの脂質メディエーターの生成酵素（例えば mPGES-1）および受容体 (BLT1、LPA 受容体など) を不活化した遺伝子改変マウスを用い、リンパ組織可塑性が病態の基盤に存在するその他の疾患モデルでも検討する予定としていた。必要に応じ、神経ペプチドなどの因子との関連性を解析する予定であった。あとの 2 年間で、基盤研究を継続するとともに、病態時のリンパ管・リンパ組織の可塑性を増強あるいは抑制する治療介入を検討する。病態モデルで、① 脂質安定化アナログによる脂質機能シグナルの遮断あるいは増強、② 生成酵素や可溶性受容体を過剰発現する細胞を用いた細胞治療をおこない、新規治療法のための基盤研究を展開する予定であった。

本年度は、TP シグナルが炎症性のリンパ管新生を増強し、腹腔内の貯留液の排出増大に寄与していることを、TPKO を用いて示すことが出来た。細胞特異的な TP の KO を行うために TP flox マウスも作成できているので、さらに詳細な解析を行う予定である。ここで、大学の研究方針の転換があり、当該研究が 1 年間のものとなった。炎症以外の分野、例えば、リンパ浮腫、脂質の吸収と肥満、がんのリンパ節転移、子宮内膜症などにおけるリンパ管、リンパ組織の可塑性と病態制御のパイロットスタディも進めており、ポジティブな結果も得られている。今後、別の研究の枠組みで継続の予定である。

## 6. 研究成果の発表（紙面の都合で欧文発表論文のみ記載。全て査読あり）

1. Matsuda H, Ito Y, Hosono K, Tsuru S, Inoue T, Nakamoto S, Kurashige C, Hirashima M, Narumiva S, Okamoto H, Maiima M. Roles of Thromboxane Receptor Signaling in Enhancement of Lipopolysaccharide-Induced Lymphangiogenesis and Lymphatic Drainage Function in Diaphragm. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2021 Apr;41(4):1390-1407. doi: 10.1161/ATVBAHA.120.315507. Epub 2021 Feb 11. PMID: 33567865.
2. Otaka F, Ito Y, Nakamoto S, Nishizawa N, Hvido T, Hosono K, Maiima M, Koizumi W, Amano H. Macrophages contribute to liver repair after monocrotaline-induced liver injury via SDF-1/CXCR4. *Exp Ther Med.* 2021 Jul;22(1):668. doi: 10.3892/etm.2021.10100. Epub 2021 Apr 22. PMID: 33986833; PMCID: PMC8112113.
3. Otaka F, Ito Y, Nakamoto S, Nishizawa N, Hvido T, Hosono K, Maiima M, Koizumi W, Amano H. Macrophages contribute to liver repair after monocrotaline-induced liver injury via SDF-1/CXCR4. *Exp Ther Med.* 2021 Jul;22(1):668. doi: 10.3892/etm.2021.10100. Epub 2021 Apr 22. PMID: 33986833; PMCID: PMC8112113.
4. Yamane S, Amano H, Ito Y, Betto T, Matsui Y, Koizumi W, Narumiva S, Maiima M. The role of thromboxane prostanoic acid receptor signaling in gastric ulcer healing. *Int J Exp Pathol.* 2022 Feb;103(1):4-12. doi: 10.1111/iep.12410. Epub 2021 Oct 16. PMID: 34655121; PMCID: PMC8781669.
5. Maiima M, Hosono K, Ito Y, Amano H. Biologically active lipids in the regulation of lymphangiogenesis in disease states. *Pharmacol Ther.* 2022 Apr;232:108011. doi: 10.1016/j.pharmthera.2021.108011. Epub 2021 Oct 3. PMID: 34614423.
6. Satoh M, Iizuka M, Maiima M, Ohwa C, Hattori A, Van Kaer L, Iwabuchi K. Adipose invariant NKT cells interact with CD1d-expressing macrophages to regulate obesity-related inflammation. *Immunology.* 2022 Apr;165(4):414-427. doi: 10.1111/imm.13447. Epub 2022 Feb 28. PMID: 35137411.

# 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：情報メディア学科・教授 坂内祐一  
研究分担者：情報メディア学科・教授 服部元史  
研究分担者：基礎・教養教育センター・教授 竹田裕一

## 1. 研究の目的

軽度認知症(認知症予備軍)の兆候を的確に把握し、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。なお、五感(とりわけ本研究で重点を置く味覚や嗅覚)の測定に関しては、その前提として測定条件を整える必要があるため、併せて検討を行う。

## 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考える。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

本年度も 2020 年度に引き続き、新型コロナウイルスの流行のため、県内の高齢者福祉施設は部外者の入構が不可で大学への招聘も難しかったが、本年度は新たに特任教授などの学内の高齢教職員の協力が叶い測定は再開できた。これにより、最終的には男子大学生 31 名と男性高齢者(65 歳以上)24 名で比較を行えた。認知機能(長谷川式・MoCA-J 式)と運動機能(握力・脚力・片足立・最大歩幅)の検査後に、濾紙ディスク法により味覚(塩・甘・酸・渋)と辛味を測定し、痛覚は、前腕皮膚にて定量分析を行った。

統計解析は、t 検定を行い、認知機能と味覚・辛味・痛覚との関係性は、スピアマンの検定を行った。有意水準は危険率 5%とした。

#### (1) 加齢と五感の関係について

若年者と高齢者、各々 25 名程度の人数の被験者に増え、両群の比較ができ、統計学的解析に耐えうる人数となった。結果はこれまでに中間報告した内容を裏付けたものであり、高齢者は、t 検定にて学生よりも運動機能(脚力・片足立・最大歩幅)、認知機能が有意に低値し、酸味は有意に鈍化、甘味は鈍化傾向にあった( $p=0.07$ ) (結果①)。

#### (2) 五感と認知機能や運動機能との関係性について

被験者全体では、相関分析の結果は、認知機能の低下に伴い塩味が鈍化し、運動機能も有意低下した。また運動機能の低下に伴い、痛覚(最大電流値)や辛味感受が有意に鋭敏化した。高齢者のみの分析でも同様であり、それに加え、運動機能の低下は、体組成の低下と有意相関した。学生は認知機能がほぼ満点であり他指標と比較できなかった。

高齢者のうち MoCA-J 式の認知機能検査により、結果で認知症の疑いが有る者(13 名)とない者(11 名)に分けて比較した。Shapiro-Wilk 検定で正規性を確認したため、これも t 検定を行った。疑群は、正常群よりも運動機能(握力・脚力・最大歩幅)が有意に低値を示した。一方、感覚(触覚や辛味対応電流値)は有意に鋭敏化した。相関分析では、疑群のみでは、辛味対応電流や基底心拍が認知機能との間に有意な正相関がみられた。正常群のみでは、認知機能とは無相関であった(結果②)。

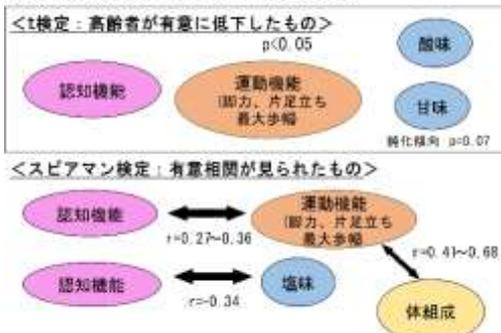
なお、認知機能の得点に関して、高齢者の正常群と学生では互角であった群を比較すると、高齢者は、学生よりも運動機能(握力・脚力・片足立・最大歩幅)が有意に低く、味覚(塩・酸)、触覚、辛味対応電流も有意に鈍かった。また、認知症疑群と学生の比較

では、上記運動機能の他に、味覚(甘・酸)が有意に鈍かった。以上より、

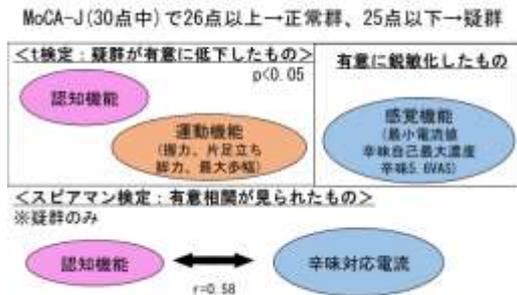
- 1) 加齢で認知や運動機能の低下に加えて、酸味、塩味の感受が有意に鈍くなること
- 2) 認知機能が正常でも、運動機能や甘味や触覚・痛覚・苦味が有意に鈍くなること
- 3) 認知症が疑いの場合は、運動機能の他に甘味や酸味が有意に鈍くなるのがわかった。

なお、長谷川式の認知機能検査では、認知症の疑いがある者はいなかったが、長谷川式の得点で2等分した場合も、MoCA-Jと同様の結果であった。認知症疑群は、正常群に比べ筋肉量及び体脂肪量が減少傾向にあるため、痛覚や触覚は、加齢に伴う筋肉量や体脂肪量の変化と関係性を持つと考えられる。今後は、この関係性を明らかにすることで、高齢者における認知症の予防及び早期治療に役立てたい。なお、上記の一部は2021年度の臨床栄養学会にて報告した。さらに2022年度に報告を予定している。

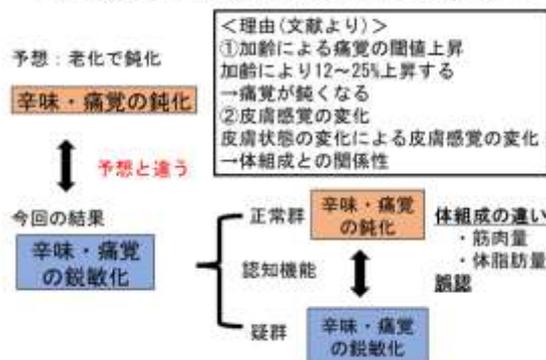
### 結果①高齢者と学生の比較



### 結果②正常群と疑群の比較



### ～辛味感覚や痛覚と加齢指標との関係～



### (3) 味覚の測定条件について

味覚や辛味の測定では、測定条件の安定のために、精神や健康状態での変動の調の必要性が生じこれらを調べた。ストレスの影響は、ストレスの程度(時間、強度)で、塩味、苦味、辛味が鈍化と、長期ストレスでその鈍化が激しいことを発見し2021年9月に学会発表を終えたため、今後は英文投稿する。健康状態の影響は、調査で使用する特注の味覚試験紙は、一部はデータをまとめ英文雑誌にアクセプトされ、出版を待っている(業績1)が、その継続調査は、2021年9月に試験紙に配布し2022年3月に回

取し解析を終え、2022年10月に臨床栄養学会で発表を予定している。

#### (4) 開発装置に関して

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。図1はFragranceJet Vib改良型で、従来型よりユーザ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るようにした。



図1

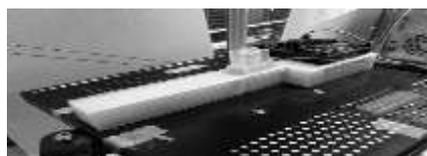
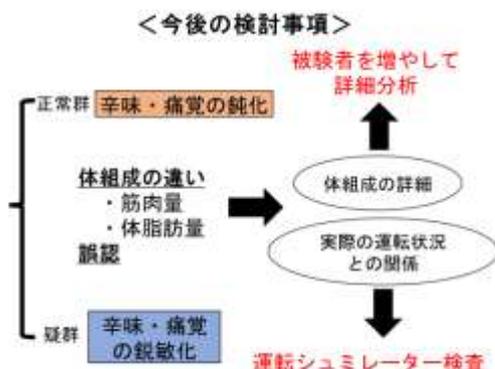


図2

図2にFragranceJet Vib Mobileの外観を示す。この射出方式は、卓上型のFragranceJet 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。味覚は、同時に2種類の味覚液が射出できるようにディスプレイを2つ装着させ、これをコントロールできるようにソフトも作成し、試運転した。当装置の改良により例えば甘味と辛味の両方を同時に射出した場合、どちらがより感じやすいのか、加齢による変化などの詳細分析が可能となる。

## 5. 今後の計画

本研究は継続研究としての単独研究での審査は2022年度は不採用であったため、今後は単独テーマとして研究継続を行うことはできない。しかし、本研究はその計画の一部に関しては、引き続き研究継続が採択されたため、今後は、同一被験者に運転シュミレーターの実験を新たに行い、その運転シュミレーターの成績と感覚機能と認知機能の新たな関係性を検討することにより、高齢ドライバーの感覚評価に新たな知見を得ることが可能と考える。2022年度は、運転経験を持つ被験者に対して、運転シュミレーターの実験を実施して、結果を照合し、高齢者の認知機能を維持し、運転事故を未然に防ぐための、運転喚起を促す感覚刺激を発する等の検討を行う計画である。



[学術論文]

1. Asuka Sawai et al., 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.
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, 2021, 12.
3. 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 19-S02.

[学会発表]

1. 澤井明香, 坂内祐一, 竹田裕一, 朽久保修. 高齢者と大学生の認知・運動・感覚機能(味覚・痛覚)の比較による認知症予防スクリーニング指標の基礎的検討, 第43回日本臨床栄養学会大会, 2021年10月. オンライン.
2. 澤井明香, 志村綾音, 澤井真也, 朽久保修, 異なる種類の精神ストレスが味覚や辛味感覚に与える影響の検討. 第75回日本栄養・食糧学会大会 2021年7月4日.
3. 坂内祐一: 嗅覚ディスプレイとその応用, 香料 No. 293, pp. 37-43, 日本香料協会 2022年3月. ISSN0368-6558.
4. 坂内祐一: バーチャル・リアリティから見た味と香り, 健康都市大学 やまとみらいカレッジ「バーチャル・リアリティが未来を切り開く!!」第5回, 大和市文化創造拠点シリウス, 2021年12月4日.
5. 坂内祐一: 味覚・嗅覚ディスプレイのパルス刺激提示と知覚について, 日本バーチャルリアリティ学会第14回香りと味に関する産学フォーラム, オンライン, 2021年11月24日.
6. 坂内祐一: VRにおける味覚・嗅覚について, 第9回非線形解析プログラム研究会(NARPA II), オンライン, 2021年10月7日.
7. 瀬田陽平, 森直澄, 牧野光則, 坂内祐一, 服部元史: 液滴噴霧型嗅覚ディスプレイにおける流路内格子の整流効果の比較, 情報処理学会第84回全国大会 2F-05, 愛媛大学, オンラインハイブリッド開催, 2022年3月3日
8. 瀬田陽平, 牧野光則, 坂内祐一, 服部元史: 流体挙動を考慮した圧電素子型嗅覚ディスプレイ流路構造の提案, 日本バーチャルリアリティ学会研究報告 Vol. 27, No. SBR-1, pp. 7-12, 日本バーチャルリアリティ学会第28回香り・味と生体情報研究会, 2022年3月1日(オンライン開催).

# 「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」

研究者氏名：管理栄養学科 清瀬千佳子

## 1. 研究の目的

これまでの国民健康・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。では、なぜ肥満が様々な生活習慣病を引き起こすのだろうか。1つの作用機序だけでは説明できないが、少なくとも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大きな要因の1つであると言われている。肥満状態が長期に続くと、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が産

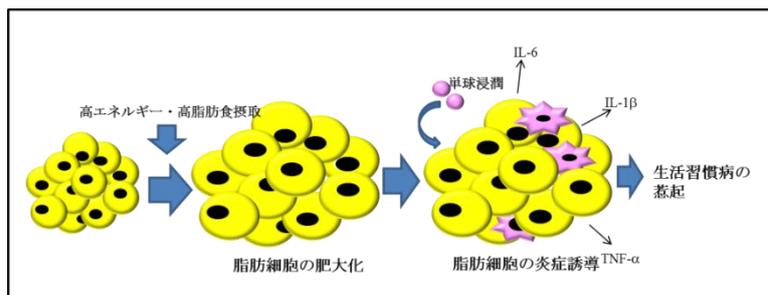


図1. 肥満からの生活習慣病の惹起

生され、それが血中へ分泌し、様々な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(図1)。従って、報告者は脂肪細胞の肥大化とそこから繋がる炎症誘導を抑制する事が生活習慣病発症予防につながるのではないかと

考えた。一方、ビタミンEは脂溶性ビタミンの1つで、クロマン環のメチル基の数と位置の違いで、 $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -、 $\delta$ -、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 $\gamma$ -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 $\alpha$ -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、 $\alpha$ -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、 $\alpha$ -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、肥満全体に対しての効果の報告はない。また、 $\delta$ -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 $\delta$ -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。本研究課題の核心とのつながりとして、生活習慣病の根本的な発症抑制の一つに脂肪組織に対する抗炎症作用であり、それを食品成分が担えるかという所が新しい着眼点である。

## 2. 研究の必要性及び従来の研究

本来、肥満を改善するには食事療法ならびに運動療法を併用するのが一般的な方法であるが、なかなかうまくはいかないのが現状である。その証拠として、目的の最初に述べたように日本人における肥満者の数は低下しない事である。長期に渡って食事療法と運動療法を続けていくのは難しい事から「抗肥満」や「ダイエット」をうたったサプリメントの開発は後を絶たない。しかし、重要なのは肥満を改善するだけではなく、肥満が引き金になる「炎症誘導」を抑制する事が大切で、そこに焦点をあてた研究はほとんどない。本研究は生活習慣病予防を肥満から来る炎症抑制する事で成り立たせるという新奇な提案である事からその必要性は高いと思われる。

最近、我々はビタミンE同族体の抗肥満効果に関する研究について、いくつか研究報告を行っている。1つは $\alpha$ -トコフェロールで、マウスの前駆脂肪細胞である3T3-L1細胞を分化誘導する際に $\alpha$ -トコフェロールを添加した所、成熟脂肪細胞へと分化を誘導する転写因子であるPPAR $\gamma$ の遺伝子発現を有意に増大し、それに伴いコアクチベーターであるPGC-1 $\alpha$ の遺伝子発現も増大、さらには、ミトコンドリアに存在する脱共役タンパク質1(UCP1)の遺伝子発現も上昇させ、白色脂肪細胞を熱産生するベージュ化へと誘導する働きがある事を報告した。これは高脂肪食を摂取させたラットの脂肪組織に対しても同様の効果を認めており、 $\alpha$ -トコフェロールの抗肥満効果の可能性を示唆した。しかし、この効果について $\gamma$ -トコフェロールには見られなかった(R. Tanaka-Yachi, C. Kiyose, et al., *J. Oleo Sci.*, **66**, 171-179, 2017)。さらに、脂肪細胞を用いて上記と同様の実験を行った所、 $\delta$ -トコフェロールは $\alpha$ -トコフェロールよりも強い効果を持ち、そのシグナル伝達はp38 MAPK経路を介している可能性を示唆した(R. Tanaka-Yachi, C. Kiyose, et al. *B. B. R. C.*, **17**, 53-59, 2018)。一方で、PGC-1 $\alpha$ の遺伝子発現の増大は抗炎症効果へと導くという報告(M. Waldman, et al., *Cardiovasc. Diabetol.*, **17**, 111-122, 2018)もある事から、 $\delta$ -トコフェロールが抗肥満と伴に抗炎症効果を有する可能性が高いと判断して、本研究を遂行する事に至った。

## 3. 期待される効果

ビタミンEは栄養素であり、またサプリメント剤としてもすでに販売されており、その安全性は担保出来ている。しかし、 $\delta$ -トコフェロールのサプリメントは販売されておらず、また、新たな用途という事で「抗肥満・抗炎症効果」が期待できるサプリメントも現在販売されていない。生活習慣病発症に対する一次予防を視野においたサプリメントは今後注目を集める事が予想され非常に期待が大きい。

## 4. 研究の経過及び結果・評価

<2020年度の成果>

肥満による炎症に対してビタミンE同族体に効果が期待できるのか、また効果があった場合そのメカニズムを追求する事がトクホやサプリメント剤開発には常道である。それには培養細胞を

用いた *in vitro* の実験と生体を使った *in vivo* の実験での評価が必要になる。そこで肥満からの炎症誘導のモデルを作製する事とした。高脂肪・高シヨ糖食摂取を 16 週間負荷して肥満を誘発すると同時に、 $\alpha$ -トコフェロールを添加した群(800mg/kg diet)と $\delta$ -トコフェロールを添加した群(800mg/kg diet) 事で、特に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た。その結果、睾丸周囲脂肪中の MCP-1 (図 2) 並びに TNF- $\alpha$  (図 3) の遺伝子発現量を real-time PCR 法で検討した所、対照群に比べて高脂肪・高シヨ糖食群で有意な増加が見られ、今回用いた高脂肪・高シヨ糖食を 16 週間負荷した場合、脂肪組織が炎症誘導される事が明らかとなり、食餌内容の偏りによって自然に脂肪組織に炎症誘導できるモデルを確立する事に成功した。しかし、 $\alpha$ -トコフェロールならびに $\delta$ -トコフェロールを摂取させても有意な低下は見られなかった。

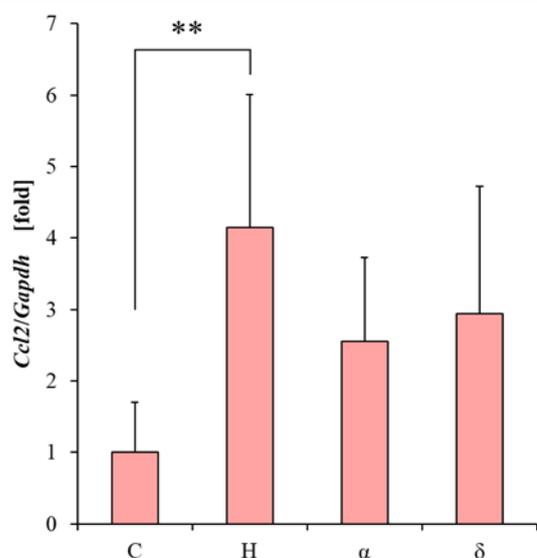


図 2. マウス睾丸周囲脂肪中の MCP-1 の遺伝子発現量の比較

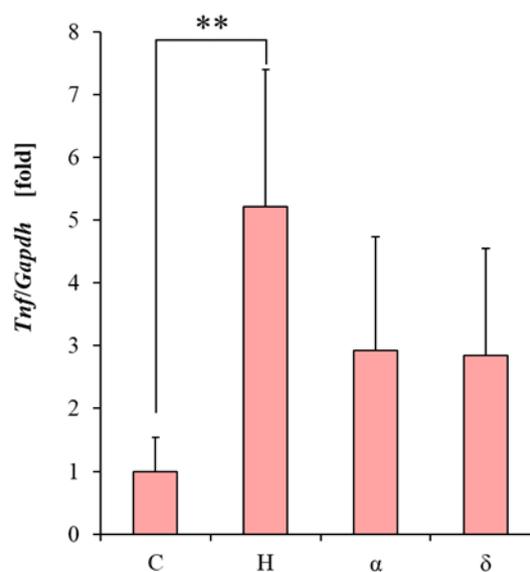


図 3. マウス睾丸周囲脂肪中の TNF- $\alpha$  の遺伝子発現量の比較  
(両図ともに\*\*; $p < 0.01$ )

#### <2021 年度の成果>

2020 年の結果より、脂肪組織に対する炎症誘導に対してビタミン E 同族体に抗炎症作用が本当にあるのかどうかについて検討する事にした。目的で述べたように、肥満により肥大化した脂肪組織から放出された MCP-1 により単球が脂肪細胞内へ走化しマクロファージ化する事で炎症が惹起されると考えられている。そこで、脂肪細胞自体の炎症誘導と単球マクロファージ自体の炎症誘導とそれぞれに対してビタミン E 同族体に抗炎症効果があるのか、培養細胞を用いて検討した。脂肪細胞はマウス前駆脂肪細胞である 3T3-L1 細胞を、また単球マクロファージ細胞はマウスの RAW264.7 細胞をそれぞれ用いて、炎症誘導には一般的に用いられているリポポリ多糖 ((LPS) を使用する事にした。3T3-L1 マウス前駆脂肪細胞ならびに RAW264.7 細胞とも既報に従って培養し、各ビタミン E 同族体を添加 24 時間後に LPS を終濃度 100ng/mL 添加し、さらに 4 時間培養を行った後に細胞を回収した。その結果、マウスマクロファージ細胞では、C 群に比べて LPS のみ添加した群で炎症性サイトカインである IL6 の遺伝子発現量が有意に上昇したが、 $\delta$ -トコフェロールを添加する事で有意に抑制した。しかし、 $\alpha$ -トコフェロールにはその効果は見られなかった (図 4)。一方、

脂肪細胞に対しては、やはり C 群に対して LPS 群で IL6 の遺伝子発現量が有意に上昇したが、 $\alpha$ -トコフェロール添加で有意に抑制したが、 $\delta$ -トコフェロールにはそのような効果は見られなかった。以上の結果より、組織によってビタミン E 同族体の効き方に違いが見られ、それは細胞内への取り込み量の違いによる可能性が示唆された。今回は細胞中へのビタミン E 同族体の取り込み量について検討をおこなっていないので今後はその点についても検討を進める予定である。まとめると、ビタミン E 同族体、特に $\alpha$ -トコフェロールおよび $\delta$ -トコフェロールには細胞に対する抗炎症効果がある事が明らかになったが、*in vivo*においての証明は現段階では出来なかった。

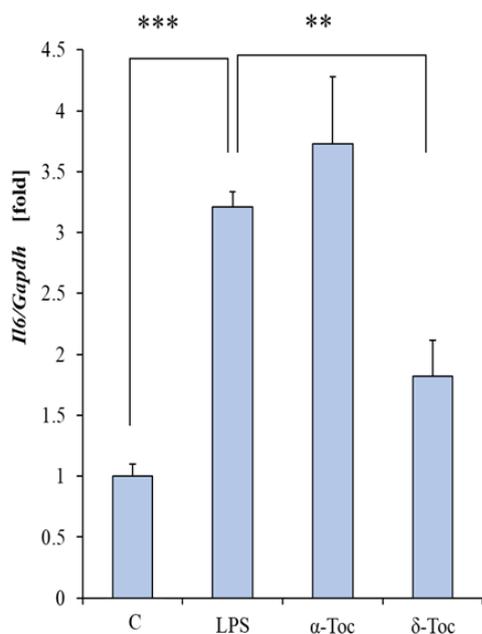


図 4. マウスマクロファージ中の IL6 遺伝子発現量の比較

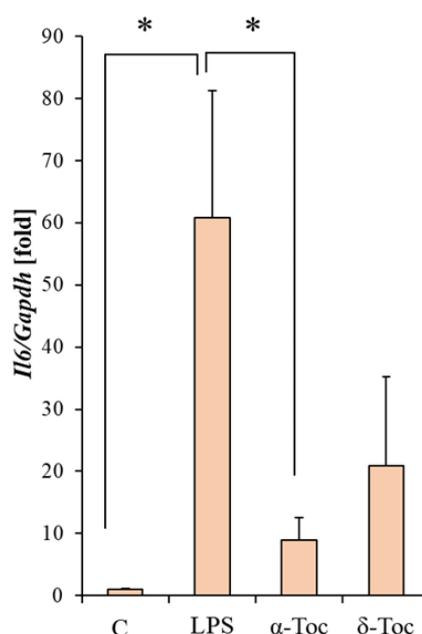


図 5. マウス脂肪細胞中の IL6 遺伝子発現量の比較

(両図とも\*; $p < 0.05$ , \*\*; $p < 0.01$ , \*\*\*; $p < 0.001$ )

## 5. 今後の計画

ビタミン E 同族体の抗炎症効果について、*in vitro*では証明できたものの、*in vivo*での効果は得られなかった。再度、条件を検討して *in vivo*で証明したいと考えている。その結果出れば、ヒトへの介入研究へと進める可能性が示唆できる。

## 6. 研究成果の発表

●2021 年度に行った研究については一部を下記の学会にて発表した。

→矢部芳美、大津玲奈、永瀬摩奈、田中理恵子、高橋知衣、清瀬千佳子、「炎症誘導したマクロファージ細胞におけるビタミン E 同族体の効果」第 59 回日本油化学会年会(Web 開催)

## 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、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に基づき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について地域と協働で検証することで、神奈川工科大学とそれぞれの地域発信の食育を共同で確立・発信するものである。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の実地による官学協働で新たな食育展開モデル創造するものである。調査研究は自治体と協働で実施し、得られた知見は自治体にフィードバックすることで、地域に研究の成果を共有する。

### 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。

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ることや、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、その世代に適切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することで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。人の食行動を心理学と行動学から理解したうえで、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。

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メディア製作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の食育計画作成から実践まで携わっており、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媒体の開発を目指している。特に、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媒体の展開を試みた。

(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（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した。

特に、コロナ禍にある給食の現状について、アンケート調査を行い、給食の実施状況と児童生徒のとらえ方について明らかにし、学会で発表した。

(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、田辺）

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なった。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、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。その結果、音楽を流し、担任による食育をすることにより、児童の咀嚼リズムの改善や、咀嚼リズムが一定のリズムに収束していることを明らかにし、論文発表及び国際・国内学会での発表をおこなった。

② 視覚障害者への調理支援の一つとして、音による料理レシピを作成のための基礎的調査を行った。視覚障害者が調理を行う際の注目点や困難についてインタビュー及びアンケート調査を実施し、視覚障害者は、調理の際の出来上がり具合を音や時間で把握していることを明らかにした。また、現在出版されている多くのレシピ本やWEB上に掲載されているレシピに音の表記の有無について調査した結果、調理音を記載しているレシピは少なく、視覚障害者が調理の判断基準とする音や時間等を記載したレシピの開発及び音声によるレシピ作成の開発の必要性を明らかにし、国内学会で発表した。

③ 学校教育の中における教育カリキュラムの在り方について検討を行った。中高等学校の総合学習を豊かに展開することにより、技術・工学教育の内容や経験を補完できることを実証的に明らかにし、学会及び論文を発表した。

(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（福本、饗場）

- 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、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製作とその情報発信の仕方について検討した。立川保健所と協働で、立川駅伊勢丹ビジョン及びアレアレア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製作した。作成した媒体は、東京都に提供する予定である。
- ②2021年度から新たに町田市に協力して、町田市の食育キャラクターを作成し、そのキャラクターを使った健康的な食事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を製作し、町田市に提供した。今後町田駅周辺の大画面にて放映される予定である。
- ③伊勢原市との協働による各世代に対する食育媒体を作成した。伊勢原市が食育として推進している「こまごはやさしいにたにた」のキャッチコピーを普及させるために、幼児～高齢期に向けて年間の教育媒体を作成し、伊勢原市に提供した。教育媒体作成にあたり、伊勢原市の特産をモデルとした食育キャラクターを作成し、キャラクターを使用した食育リーフレットを作成し提供した。

## 5. 今後の計画

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。様々な形態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、音のレシピを製作し、視覚障害者の料理の音支援の基盤を構築する。

## 6. 研究成果の発表

### <論文発表>

1. Sakuma N, Kurokawa M, Takao H, Katayama R, Aiba N. Effects of original background music (BGM) on the mastication and swallow movements of elementary school lunch period. *Journal of Ergonomic Technology*, 21(1) 40-45 2021.
2. 佐久間直緒美, 饗場直美, 高尾秀伸, 片山遼介 小学校の食育年間指導計画に基づく和食に関連付けた咀嚼教育の効果 *日本栄養士会雑誌*, 65 2022 (印刷中)
3. Tanabe M. Historical examination of the possibility of Japanese comprehensive learning curriculum as technical education. *Proceedings of the International Conference on Business and Technology Transfer Technology and Society (ICBTT/TS 2021)* 25-26, 2021, 年 11 月.

### <国際学会発表>

1. Sakuma N, Kurokawa M, Takao H, Katayama R, Aiba N. Effects of Background Music During School Lunch on Mastication and Swallowing Education at Elementary School. *The 8th International Conference on Nutrition and Growth* 2021 年 8 月.

<国内学会発表>

1. 佐久間直緒美, 黒川真毅, 高尾秀伸, 片山遼介, 饗場直美 咀嚼嚥下行動の誘発を目的とした学校給食用背景音楽 (BGM) の心理的評価構造 第 68 回日本栄養改善学会 2021 年 10 月.
2. 饗場直美, 上田麻理, 油井あまね, 寺 勇輔. 視覚障害者の調理における音支援の検討その 1~「音のレシピ」作成に向けた調理実態調査~ 日本音響学会 2021 年秋季研究発表会 2021 年 9 月.
3. 寺門勇輔, 油井あまね, 饗 直美, 長谷川英之, 中村健太郎, 田中哲雄, 上田麻理. 視覚障害者の調理における音支援の検討その 2 -音から液体の量を知る- 日本音響学会 2021 年秋季研究発表会 2021 年 9 月.
4. 油井あまね, 寺門勇輔, 饗場直美, 上田麻理. 視覚障害者の調理における音支援の検討 - 「音のレシピ」作成に向けた Web 料理レシピの音表現分析- 日本音響学会 2022 年春季研究発表会 2022 年 3 月.
5. 春澤恒輝, 寺門勇輔, 油井あまね, 榎並幸廣, 西口磯春, 饗場直美, 上田麻理. 視覚障害者の調理における音支援の検討その 3-液体を注ぐ音の音響特性 日本音響学会 2022 年春季研究発表会 2022 年 3 月.
6. 清川ひろみ, 中村有加里, 田中範子, 谷口可奈子, 尾崎由美, 近藤智美, 越桐由紀子, 松原啓子, 北村夕子, 青木智美, 水嶋真由美, 金田雅代, 饗場直美. コロナ禍における給食時間の児童生徒の意識について 第 68 回日本栄養改善学会 2021 年 10 月.
7. 田辺基子. 小学校の総合学習カリキュラムにおける技術教育実践の可能性 日本機械学会 2021 年度年次大会 2021 年 9 月.
8. 三宅理江子. 大学生における SNS 利用状況と学業・健康行動との関連 第 4 回神奈川県栄養士会実践・研究大会、2022 年 3 月

# 不規則な生活をもたらす精子数の減少の改善を目的とした栄養面からの戦略 -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

コロナ禍にある現在、リモートワークやリモート授業などの導入により、生活リズムが乱れやすい環境にある。生活リズムの乱れは、生活習慣病やがんなどの罹患リスクを高めること、男性では精子数が減少することが報告されている。これまで、若齢ラットを明暗周期のない連続暗黒下で低タンパク食を給餌して飼育すると生殖器重量および男性ホルモン(テストステロン)濃度の低下がみられること、そして、含硫アミノ酸であるシスチンは、これらの低下を改善することを明らかにしてきた。しかし、この連続暗黒飼育モデルは、自身のもつ約24時間周期の体内時計にもとづいて行動するフリーランモデルであり、不規則な生活による生活リズムの乱れとは乖離している。そこで、本研究では、まず、生活リズムの乱れを引き起こすモデルを構築することを目的とし、1週間に2回昼夜逆転した明暗周期でラットを飼育し、生殖器への影響がみられるか否か、また、シスチン添加の効果がみられるか否か検討することとした。

## 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。

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。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、高タンパク質食で改善されること、また、含硫アミノ酸であるシスチンが発達抑制に効果があることは報告済みである(JNSV2011, 2012, 2013, 2016, 2020など)。しかし、連続暗黒飼育モデルは、光のオンオフがないため、自身の体内時計に従って活動している状態(24+ $\alpha$ 時間周期のフリーラン状態)であり、生活リズムの乱れ(攪乱)とは乖離していると考えられる。

そこで、「生活リズム攪乱モデルラット」を構築し、連続暗黒飼育でみられた生殖器の発達抑制がみられる否か、シスチン摂取による発達抑制の緩和が確認できるか否か、検討する必要があると考え、本実験を実施した。

### 3. 期待される効果

生活リズム攪乱モデルにおいて生殖器への影響が確認でき、摂取栄養素による改善が可能となれば、生活リズムが乱れたヒトに対する外挿可能なデータとなり、生活リズムの乱れによる生殖機能低下の改善へと導く一助となる。

## 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)) 24 匹を 3 日間、AIN-93G 飼料で予備飼育後、明暗飼育条件の違い、シスチン添加の有無により 4 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)、または週に 2 回の明暗逆転飼育 (D 群) とした (図 1)。実験飼料は AIN-93G 飼料組成を基本にカゼイン量を 9% とした 9% カゼイン食 (9% 飼料)、9% カゼイン食にシスチンを 0.135% 添加したシスチン添加食 (Cys 飼料) の 2 種類とした。4 群はそれぞれ、正常明暗・9% カゼイン食群 (N9% 群)、正常明暗・シスチン添加食群 (NCys 群)、明暗逆転・9% カゼイン食群 (D9% 群)、明暗逆転・シスチン添加食群 (DCys 群) とする。

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。6 週間飼育後、イソフルラン麻酔下で解剖し、血液と生殖器 (精巣、精巣上体、精囊および前立腺) を採取した。解剖は、すべての群で明期にあたる時間帯に行った。得られた血液は遠心分離 (3,500rpm、15 分間) をして血清を得、テストステロン濃度を測定した。

		← 1週間 →													
		1日目		2日目		3日目		4日目		5日目		6日目		7日目	
		7:00	19:00	7:00	19:00	7:00	19:00	7:00	19:00	7:00	19:00	7:00	19:00	7:00	19:00
正常明暗群 (N群) :															
昼夜逆転群 (D群) :															

図 1. 明暗飼育条件

### 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、総飼料摂取量および飼料効率は、N 群、D 群、いずれもシスチン添加により有意に高値を示したが、明暗飼育条件 (N 群 vs D 群) の影響はみられなかった。

#### 4-3. 生殖器重量について

精巣、精巣上体、精嚢および前立腺の絶対重量(g)、体重 100g あたりの相対重量(g/100g 体重)に、明暗飼育条件(N 群 vs D 群)の影響はみられなかった。

精巣の絶対重量(g)、相対重量(g/100g 体重)は、N 群、D 群いずれもシスチン添加の影響がみられ、絶対重量(g)はシスチン添加により有意に高値を示し、相対重量(g/100g 体重)は、シスチン添加により低値を示した。

精巣上体の絶対重量(g)は、D 群のみでシスチン添加により有意に高値を示し、相対重量(g/100g 体重)は、N 群のみでシスチン添加により有意に低値を示した。

精嚢の絶対重量(g)は、N 群のみでシスチン添加により有意に高値を示し、D 群では、シスチン添加の影響はみられなかった。また、精嚢の相対重量(g/100g 体重)は、N 群、D 群いずれもシスチン添加の影響はみられなかった。

前立腺の絶対重量(g)、相対重量(g/100g 体重)は、N 群、D 群いずれもシスチン添加の影響はみられなかった。

#### 4-4. 血清テストステロン濃度について

血清テストステロン濃度に明暗飼育条件(N 群 vs D 群)の影響、シスチン添加の影響はみられなかった。

#### 4-5. まとめ

成長期雄ラットを 1 週間に 2 回昼夜逆転した明暗周期で 6 週間飼育し、生殖器への影響がみられるか否か、また、シスチン添加の効果がみられるか否か検討したところ、シスチン添加により生殖器の発達は促進したが、昼夜逆転飼育の影響はみられなかった。

### 5. 今後の計画

明暗飼育環境の条件を再検討し、実験を行う予定である。

今回の飼育条件で生殖器への影響がみられなかった場合、4 日毎に 8 時間ずつ暗期の開始時刻を進めるモデルで実験する予定であると実験計画を立て申請していたため、この計画に従う。

### 6. 研究成果の発表

再実験を行い、生活リズム攪乱モデル環境を確立後、研究結果を蓄積し、関連学会誌に投稿予定である。

# 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<sup>1)</sup>。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<sup>2)</sup>。

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<sup>+</sup>チャンネル遺伝子が含まれるか調べたところ、薬剤耐性マーカー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<sup>+</sup>チャンネル遺伝子の導入は認められなかった。2021 年度は形質転換法の見直しの一環として、形質転換に用いるプロトプラスト作製条件の最適化を試みた。プロトプラストの調製に用いるセルラーゼなどの酵素や浸透圧調整剤の組合せの中から、プロトプラストの生成量が最も高い条件を選び、得られたプロトプラストを用いて形質転換体を作製した。この結果、コムラサキシメジ由来の K<sup>+</sup>チャンネル遺伝子がヒラタケに遺伝子導入された形質転換体を得ることができた。

## 5. 今後の計画

2021 年度においては、コムラサキシメジ由来の K<sup>+</sup>チャンネル遺伝子がヒラタケに導入された形質転換体を作製することができた。今後、形質転換によりヒラタケの Cs 吸収・濃縮能が高められたかを調べていく。

## 6. 研究成果の発表

2021 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 2022 年 5 月 2 日, <http://www.rinya.maff.go.jp/j/tokuyou/kinoko/syukkaseigen.html>