

2023年6月26日

各位

公益財団法人古泉財団事務局

2022年度助成対象者（自然科学系）成果報告書の公表について

2022年度古泉財団研究費助成金助成対象者の研究成果について、成果報告書を公表いたします。

成果報告書は、助成対象者から提出されたものを加筆修正することなく掲載しております。

研究成果について、ご関心のある方は、研究者が在籍する各大学・研究機関様へご連絡ください。

## 2022 年度古泉財団研究費助成金成果報告書

(敬称略)

氏名	所属	研究題目
板 離子	新潟大学 大学院医歯学総合研究科 口腔生命科学専攻	口腔機能から考える介護食品の評価と安全性
鈴木 浩史	新潟大学 研究推進機構 特任助教	乳酸醗酵酒粕の NASH モデルマウスにおける脂質代謝改善作用の解明
志田 洋介	長岡技術科学大学 技学研究院 助教	農資源最大限活用のための食用油脂生産プロセス開発
萩原 真	新潟県立大学 人間生活学部 助教	キノコに含有する機能成分の作用機構の解析
宮本 真菜	新潟医療福祉大学 大学院医療福祉学研究科 健康栄養学専攻	女性アスリートの月経障害発生リスクの検討および食事療法の開発
岩森 大	新潟医療福祉大学 健康科学部 講師	ゼリー炭酸飲料が随意嚥下活動に及ぼす影響
久保田 真敏	新潟工科大学 工学部 准教授	新規機能性食品素材としてのデンプン分解米胚乳タンパク質の可能性
栗林 喬	新潟食料農業大学 食料産業学部 助手	ユニークな果実用香気を生成する酒類製造用酵母の開発
甲斐 慎一	新潟食料農業大学 食料産業学部 助教	飼料メチオニンによる筋肉アンセリン量強化を通じた、鶏肉の高機能化に関する研究
趙 鉄軍	新潟食料農業大学 食料産業学部 講師	トマト育苗生産中の水疱症発生に関する環境要因の解明

2023 年 5 月 1 日

公益財団法人古泉財団

代表理事 古泉 肇 殿

## 助成対象者

大学・研究機関名 新潟大学大学院

役職名・研究科/学年 医歯学総合研究科口腔生命科学専攻大学院 3 年

氏 名 板 離子



貴財団より助成を受けた研究について、得られた成果を次のとおり報告いたします。

<b>1. 研究課題</b>
口腔機能から考える介護食品の評価と安全性
<b>2. 研究成果</b>
<b>【背景/目的】</b> 加齢による口腔機能の変化に対して求められる食品要件は、その硬さだけではなく、食品の水分値や吸水率なども関与していることが示唆されている。今回は、高齢者の主たる口腔症状である口腔乾燥が、食品条件の違いによって咀嚼運動に与える影響について検証することを目的として、摂食運動中の表面筋電図記録を行った。
<b>【方法】</b> 健常成人 18 名を対象として、硬さと油分が異なる 4 種類の米菓一口大を自由摂取した際の咬筋、舌骨上筋群の表面筋電図記録を行った。使用した米菓は、ハッピーターン(Happy)、ハッピーターンの製造過程の素焼き米菓(Non-oil)、Non-oil に油分を添加した米菓(Oil)、および硬さの低いハイハイン(Haihain)の 4 種類である。 まず、4 種類の米菓の自由摂取時の表面筋電図記録をランダム順に行った後、口腔乾燥を人工的に模擬するために、硫酸アトロピン 1mg を経口投与した。投与 30 分後に再度、米菓自由摂取時の筋電図記録を実施し、初回嚥下までの咀嚼時間、咀嚼回数、1 咀嚼サイクル時間をアトロピン投与前後で比較した。更に、初回嚥下までの咀嚼サイクルを 3 期(前期、中期、後期)に分割し、1 咀嚼サイクルあたりの時間、咬筋・舌骨上筋群活動の積分値を、条件間で比較した。
<b>【結果】</b> アトロピン投与(唾液分泌量低下)により、Happy 以外の 3 種は、咀嚼時間の有意な延長が認められた。咀嚼を 3 期に分割した解析では、Non-oil と Haihain において、アトロピン投与前後で有意な差が認められた。具体的には、Non-oil では咀嚼後期の舌骨上筋群活動量が増加し、Haihain では咀嚼後期の咀嚼サイクル時間の延長および咀嚼中期・後期の舌骨上筋群活動量の増加を認めた。
<b>【考察/今後の課題】</b> 食品要件の違いによって、咀嚼時間、咀嚼サイクル時間、舌骨上筋群活動に、唾液分泌量低下の影響が見られた。これは、油分含有量の少ない食品ほど顕著に認められ、米菓に含まれる油分の違いが咀嚼動態の変化の主な要因として考えられた。高齢者の口腔症状の一つである口腔乾燥により、咀嚼時の食塊形成やその後の嚥下の負荷が増加するが、本研究により、食品に含まれる油分によってその負荷が軽減される可能性が示唆された。「介護食は軟らかく、噛まなくても食べられるものが安全である」という一般的なイメージに対して、本研究の結果は、介護食のバリエーションを広げ、摂食嚥下障害患者の食の QOL 向上に役立つだけでなく、関連する食品産業の更なる活性化に繋がることが期待できる。なお、三次元顎運動記録システムの使用については、設定に時間を要することが課題であり、未だ検討中である。今後は、食品の味の違いによる影響などについても研究を継続する必要があると考えている。また新型コロナウイルス感染症拡大の影響で行えなかった施設入居高齢者を対象とした検証を再開できるものと期待している。

2023 年 5 月 12 日

公益財団法人古泉財団

代表理事 古泉 肇 殿

助成対象者

大学・研究機関名 新潟大学 研究統括機構

役職名・研究科/学年 特任助教

氏 名 鈴木 浩史



貴財団より助成を受けた研究について、得られた成果を次のとおり報告いたします。

1. 研究課題
乳酸醗酵酒粕の NASH モデルマウスにおける脂質代謝改善作用の解明
2. 研究成果
<p>非アルコール性脂肪性肝炎 (nonalcoholic fatty liver disease: NASH) は肥満、糖尿病、脂質代謝異常、インスリン抵抗性などが病因として考えられている生活習慣病の一つであり、脂肪肝を経て肝硬変や肝癌に進行する世界的に重大な疾患である。NASH の発症や進行の予防のために様々な食品を用いた研究が行われているが、臨床的に有効な食品摂取が勧められる状況には至っていないのが現状である。乳酸醗酵酒粕は、酒粕を脱アルコール化して乳酸醗酵を加えた食品であり、酒粕を安全面でも味の面でも、さらに機能性の面でも改善させた既存の商品である。この乳酸醗酵酒粕の摂取により、生活習慣病の発症や進行の抑制効果を証明できれば、国民の健康増進に大きく寄与できるものと考えられる。</p> <p>本研究は、乳酸醗酵酒粕を NASH モデルマウスに摂取させて、対照群と比較して NASH 進行抑制効果がみられるか、また脂質代謝にどのような影響を及ぼすのかを解明することを目的として行われた。</p> <p>具体的な実験方法としては、既知の報告の通り C57BL/6J マウスに生後 2 日後にストレプトゾトシン 200 <math>\mu</math>g を皮下注射し、4 週齢から高脂肪食を摂取させて NASH モデルマウスを作成した。10 週齢より、そのまま高脂肪食を摂取させる群 (NASH 群) と、乳酸醗酵酒粕を高脂肪食に混合した特殊飼料を摂取させる群 (乳酸醗酵酒粕摂取群) に分けて、どちらも 14 週齢で十分な空腹期間を経たうえで解剖を行い、全血液と肝臓を摘出した。コントロール群として、NASH モデルマウスでない通常の C57BL/6J マウスに通常食を摂取させた群 (通常群) を用いた。回収した血液は肝機能や血糖値、脂質の解析に用いて、肝臓は組織学的評価に加えてウェスタンブロットを行い各種炎症マーカーの解析に利用した。</p> <p>結果は、NASH 群では通常群と比較して肝逸脱酵素が上昇し NASH を発症していたが、乳酸醗酵酒粕摂取群では肝逸脱酵素の上昇が抑えられ、肝臓の組織学的にも NASH の進行が抑制されていた。また、NASH 群および乳酸醗酵酒粕摂取群では通常群と比較して有意な血糖上昇が確認されたが、乳酸醗酵酒粕摂取群では NASH 群と比較して血糖上昇が抑制されていた。肝臓の蛋白分析においては、炎症マーカーとして知られる Interferon-<math>\gamma</math> inducible</p>

protein 10 (IP-10)、Interleukin 1 beta (IL-1 $\beta$ )、High-Mobility Group 1 (HMG-1)、phospho-nuclear factor-kappa B (p-NF- $\kappa$ B)、Toll-like receptor 4 (TLR-4) の発現が NASH 群において通常群と比較して上昇していたが、乳酸発酵酒粕摂取群ではその上昇が抑制されていた。なお、血中脂質においては NASH 群および乳酸発酵酒粕摂取群において有意な差は認められなかった。

本研究によって、乳酸発酵酒粕摂取群においては、抗炎症作用と血糖上昇抑制作用によって NASH の進行が抑制されていたものと推測された。ただいま本研究成果を論文としてまとめている段階であり、近日中に欧米の学術誌に投稿予定である。

最後に、2022 年度 of 古泉財団研究費助成を受けて本研究を実施することができたことについて、深く感謝申し上げます。

protein 10 (IP-10)、Interleukin 1 beta (IL-1 $\beta$ )、High-Mobility Group 1 (HMG-1)、phospho-nuclear factor-kappa B (p-NF- $\kappa$ B)、Toll-like receptor 4 (TLR-4) の発現が NASH 群において通常群と比較して上昇していたが、乳酸発酵酒粕摂取群ではその上昇が抑制されていた。なお、血中脂質においては NASH 群および乳酸発酵酒粕摂取群において有意な差は認められなかった。

本研究によって、乳酸発酵酒粕摂取群においては、抗炎症作用と血糖上昇抑制作用によって NASH の進行が抑制されていたものと推測された。ただいま本研究成果を論文としてまとめている段階であり、近日中に欧米の学術誌に投稿予定である。

最後に、2022 年度の古泉財団研究費助成を受けて本研究を実施することができたことについて、深く感謝申し上げます。

2023年 5月 26日

公益財団法人古泉財団

代表理事 古泉 肇 殿

助成対象者

大学・研究機関名 長岡技術科学大学

役職名・研究科/ 技学研究院・准教授

学 年

氏 名 志田 洋介



貴財団より助成を受けた研究について、得られた成果を次のとおり報告いたします。

## 1. 研究課題

農資源最大限活用のための食用油脂生産プロセス開発

## 2. 研究成果

### 緒言

新潟県は、耕地面積が37%を占め、コメの産出額及び輸出額は全国1位である。一方、「コメ産業」は昨今のコメ離れによる需要の減少に応じて取引価格が低下しており、さらに生産の副産物(もみ殻、稲わら、食品残渣等)についてはその有効な活用策が見出せず、廃棄あるいは処分に苦慮しており、一部地域では焼却処分が行われている。このような貴重な農資源を最大限に活用し資源循環を達成することが大きな課題である。植物バイオマスの主要構成成分であるセルロースを糖(グルコース)にまで分解できる糸状菌の酵素を活用し、得られた糖をさらに高付加価値なモノに変換することで廃棄農資源の再資源化が達成される。本研究では、農資源由来の糖からの食用油脂生産プロセスの開発を最終目標としている。我が国において、食用油脂の自給率は3%であり、ほぼ輸入に頼っている。世界的な人口増加、それにとまなう食料需要の高まりから、食用油脂を自国生産することが大きな課題であり、本研究はそれを解決するための足がかりとなる。

本プロセス開発を進める上で、食用油脂に極めて類似した油脂を大量に生産し菌体内に蓄積できる「油脂酵母」を用いる。そのために、油脂酵母の油脂生産性を高めた変異株が必要であり、本研究は油脂生産性が10%以上向上した油脂酵母の取得を目的とした。

### 実験材料と実験方法

#### ・使用菌株、培地、培養条件

本研究で用いた油脂酵母は *Rhodospiridium toruloides* NBRC0880 である。本菌は YPD プレート培地で継代培養した。油脂生産培養として、YPD 培地 30°C、130 rpm で前培養して得られた菌体を LS10 培地(15%グルコースを含む)に OD660=0.1 になるように植菌し、30°C、130 rpm で本培養を行った。

#### ・紫外線による突然変異導入

5 mL YPD 培地を用いて、30°C、130rpm で1日間培養した。その後、0.9% NaCl で菌体洗浄を2回行った。血球計算盤及び顕微鏡を用い細胞数をカウントし、 $10^7$  cells/mL に調整した後、シャーレに10ml 添加して18 sec で紫外線照射を行った。

#### ・セルソーターを用いた変異株スクリーニング

紫外線照射を行った菌体懸濁液1 mL を YPD 培地 5 mL に植菌し、30 °C、130 rpm で2日間前培養を行った。全培養液全量を LS10 培地 50 mL (200 mL バッフルフラスコ) へ植菌し、30°C、130rpm で5日間本培養した。培養液1 mL を回収して T-buffer で菌体洗浄を2回行ったのち、Bodipy (3.8 μM) を2 μL 添加した。この溶液と T-buffer と2×サンプル buffer を1:1かつ、細胞数  $1.0 \times 10^6$  cells/ml 以下になるようにサンプル調節した。また、サンプル調節を行った際の総液量は、110 μl と定めた。その後、FACS (Fluorescence Activated Cell Sorting) 解析を行った。FACS 解析における機器は On-chip Sort (オンチップ・バイオテクノロジーズ、Japan) を使用した。ソーティング終了後、分取した細胞を再度、YPD 培地へ植菌し、LS10 培地で本培養した。この作業を3回繰り返すことで変異株群の濃縮を行った。3回目のソーティング終了後、分取した細胞は YPD 寒天培地へ塗布し、30°C で3日間培養した。

#### ・96 ディープウェルプレート培養による変異株二次スクリーニング

YPD 培地 1.5 mL を入れた 96 穴ディープウェルプレートに、YPD 寒天培地から無作為に 54 個の候補株と親株を植菌し、30°C、130rpm で3日間、前培養を行った。全培養液 10 μL を、LS10 培地 1.5 mL を入れた 96 ディープウェルプレートに植菌し、30°C、130 rpm で3日間、本培養を行った。得られた培養液を 100 倍希釈し、96 穴ディープウェルプレートに 200 μL ずつ分注して、プレートリーダーを用いて波長 660nm で濁度測定を行った。また、菌体を 10 μL の Nile red を加え染色した後、蛍光測定を行った。蛍光強度/菌体濁度の値を求め、変異株のスクリーニングを行った。

#### ・前培養、培養、サンプリング、顕微鏡観察

親株、変異株 27、45、48 の YPD 寒天培地上の単コロニーを YPD 培地 5 mL を添加した L 字型試験管へ植菌し、30°C、130 rpm で1日間、前培養を行った。前培養液は、LS10 培地 50 mL (200ml バッフルフラスコ) へ  $OD_{600}=0.1$  になるように植菌し、30°C、130rpm、遮光で8日間、本培養を行った。24時間ごとにサンプリングと顕微鏡観察を行った。

#### ・乾燥菌体重量測定

培養液 1 mL を採取し、滅菌水で2回洗浄した。上清を捨て、得られた菌体を凍結乾燥した後、菌体の重量を測定した。

#### ・残糖量測定

残糖量の測定には、グルコース CII-テストワコー (富士フィルム和光純薬) を用いて、その説明に従って行った。

#### ・油脂量測定

凍結乾燥した菌体に 0.5 g のガラスビーズ（直径 0.5 mm）を入れ、アセトン 300  $\mu$ L を入れ混合した。その後、マルチビーズショッカーを用いて、2500 rpm、ON TIME : 30 sec、OFF TIME : 30 sec、30 CYCLE、4 $^{\circ}$ C の条件で、菌体を破碎した。破碎したサンプルにさらに 700  $\mu$ L のアセトンを添加し、攪拌した。4  $^{\circ}$ C、14000 rpm、10 分間遠心分離を行い、上清 1 mL 分を新しいマイクロチューブに移し、油脂サンプルとした。油脂サンプルは、トリグリセライド E-テストワコー（富士フィルム和光純薬）の説明書に従い、油脂量を測定した。

### ・油脂含有率

油脂含有率は、測定した乾燥菌体重量および油脂量をもとに算出した。乾燥菌体重量あたりの油脂量の値を細胞あたりの油脂含有率とした。

### 結果と考察

油脂酵母 *Rhodosporidium toruloides* について、油脂高蓄積変異株を取得するために紫外線照射による変異導入および変異株のスクリーニングを行った。紫外線を照射した変異株群には、親株と比べて油脂生産性が増加したもの、変わらないもの、低下したものが含まれている。これらをまとめて培養し、セルソーターを用いて細胞の分布を解析した。その結果、親株のみを培養したときの蛍光ヒストグラムと比較して、変異株群の蛍光ヒストグラムは蛍光強度が高い方へとシフトしていた（図 1）。その中でも、蛍光強度が強い細胞を油脂高生産変異株候補として分取した。

得られた変異株候補について 96 穴ディープウェルプレートを用いたスモールスケールでの培養を行い、菌体生育量を測定するとともに、油脂染色試薬である Nile red の蛍光強度を指標に油脂生産性を評価した。その結果、多くの変異株が親株よりも高い油脂生産性（細胞あたりの蛍光強度が高い）を示した（図 2）。

変異株のうち、油脂生産性向上率の高い 45、48 および中程度の向上率を示した 27 を選択し、フラスコ培養を行って詳細な解析を行った。菌体の生育について、変異株 45、48 が親株よりも良い生育を示し、変異株 27 は親株よりも生育が悪かった（図 3 A）。残糖量は、菌体が炭素源として利用した培地中の糖の量を反映する。それゆえ、生育が親株よりも良かった変異株 45、48 は培地中の糖の減少量が親株よりもわずかに速かった（図 3 B）。しかしながら、親株よりも生育が悪かった変異株 27 においては、糖の減少量が最も多いことが明らかになった。

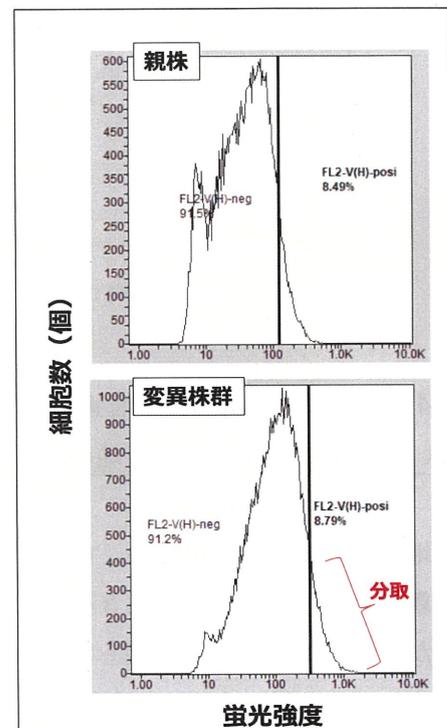


図 1 親株および変異株群の蛍光ヒストグラム

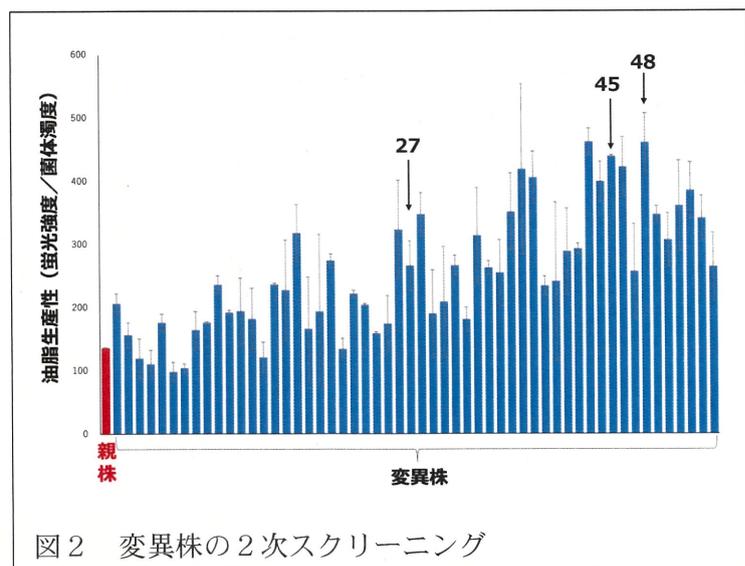


図 2 変異株の 2 次スクリーニング

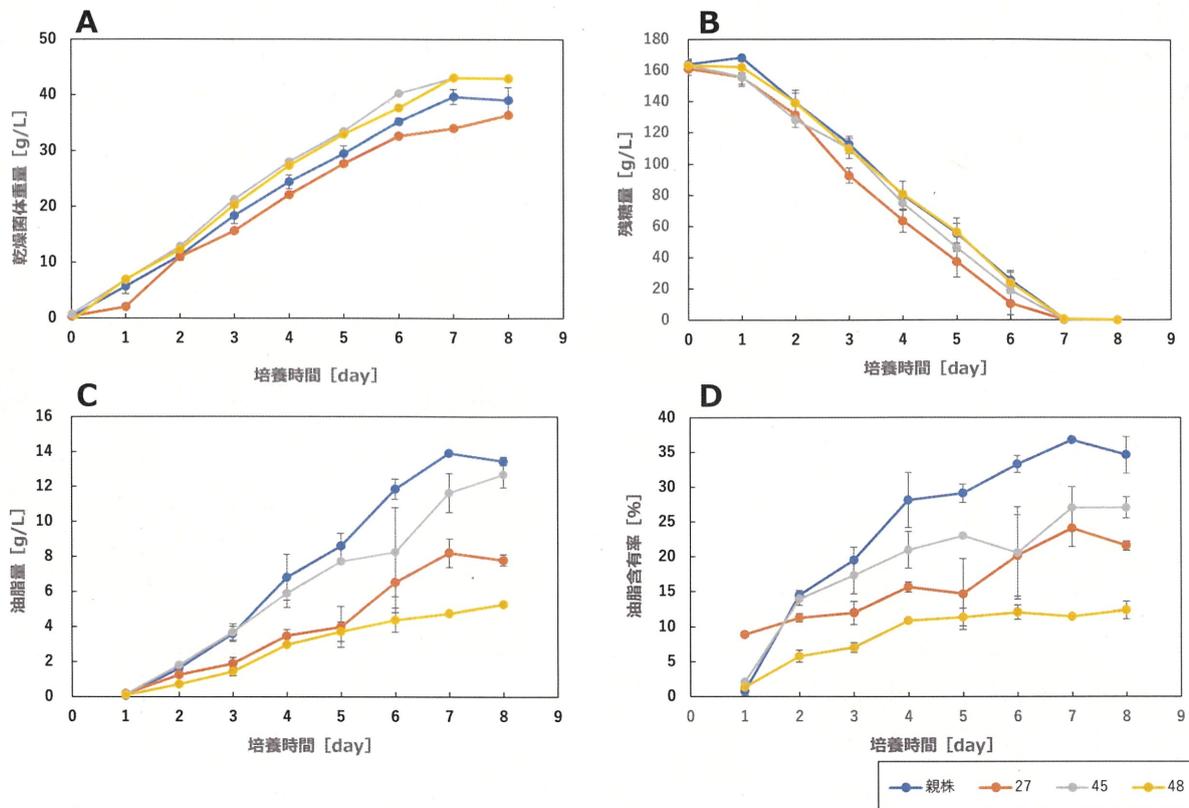


図3 油脂酵母変異株の培養における経時変化

A: 乾燥菌体重量、B: 培地の残糖量、C: 培地あたりの油脂生産量、D: 菌体の油脂含有率

培地あたりの油脂生産量は、すべての変異株において親株よりも低かった。同様に、菌体の油脂含有率も親株よりも低かった (図3 C、D)。以上の結果から、選択した変異株候補株は親株よりも油脂生産性が低下していることが明らかとなった。これは、スモールスケールでの2次スクリーニング評価を反映していないことから、今後は2次スクリーニングの精度向上が必要である。油脂酵母において、油脂は培地中の炭素源(糖)を代謝することによって蓄積される。そのため、生育が親株よりも低いものの糖消費量が多い変異株27は油脂を多く蓄積していることが期待されたが、結果としてはそうではなかった。これは、油脂以外の代謝産物の生産が強化されている可能性を示している。また、油脂が菌体外に漏出している可能性もあるので、さらなる検討が必要である。

得られた変異株について、油脂生産がピークに達している培養7日目の菌体の顕微鏡観察を行った。その結果、変異株45、48は親株と同等の形態を示したが、変異株27については菌体が丸く膨れ、多くの脂肪球を菌体内に有しているという特異な形態を示した(図4)。

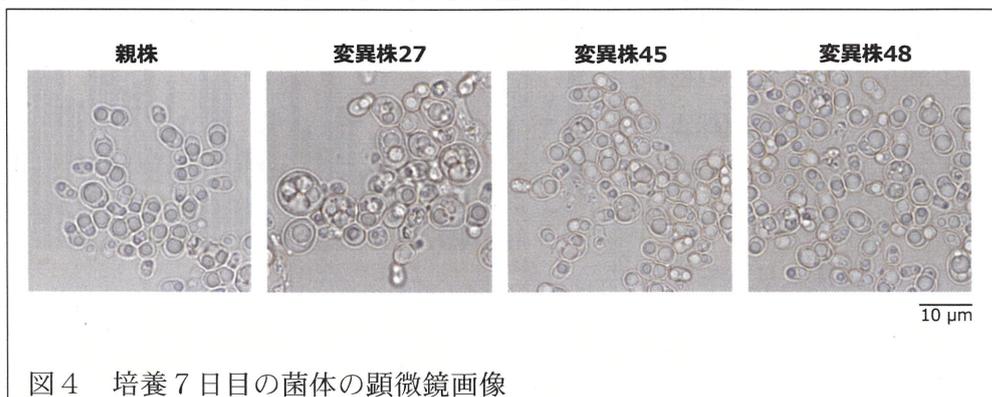


図4 培養7日目の菌体の顕微鏡画像

## 総括

本研究の目的は油脂高生産株を育種することであったが、現時点ではその目的に達していない。油脂高生産株を取得するには、2次スクリーニングの精度を向上させるとともに、さらなる検体を解析する必要がある。本研究の結果得られた変異株は、総じて油脂生産量が減少していた。これはゲノム上の油脂生産に関連する遺伝子に変異が生じ、油脂生産性が低下しているものだと考えられる。このことから、油脂低蓄積株であってもそのゲノム解析を行うことによって油脂生産に重要な遺伝子を明らかにすることができる。食料油脂に用いるためには、我が国では遺伝子組換え微生物は認められていないが、油脂酵母の油脂生産メカニズムを理解するための遺伝子組換え実験を行うためにも本研究で得られた変異株は貴重な研究材料である。

2023年 4月 3日

公益財団法人古泉財団

代表理事 古泉 肇 殿

## 助成対象者

大学・研究機関名 新潟県立大学

役職名・研究科/学年 助教

氏 名 萩原 真



貴財団より助成を受けた研究について、得られた成果を次のとおり報告いたします。

1. 研究課題
キノコに含有する機能成分の作用機構の解析
2. 研究成果
<p>新潟県における地域活性化のためには、新潟県産の農産物に付加価値をつけ、全国にアピールすることが必要不可欠である。新潟県は、国内有数のキノコ生産地域であることから、キノコに含まれる免疫力活性化成分に着目し、科学的にキノコの機能性を証明する。</p> <p>オルニチンは、シメジなどキノコに含有量が多いことが知られている。細胞内ではオルニチン→シトルリン→アルギノコハク酸→アルギニンを経て一酸化窒素合成酵素の作用によって一酸化窒素 (NO) が産生する代謝経路が存在する。一方、マクロファージ内においては、低分子量Gタンパク質 Rab5 が活性化すると貪食 (ファゴサイトーシス) 能が上昇することが知られている。申請者は、薬剤を用いて NO を発生させるとマクロファージ様細胞において、ファゴサイトーシスが促進することを明らかにしているが、NO を細胞内で発生させファゴサイトーシスを促進する食品成分については明らかにできていない。そこで、本研究では、培養細胞にオルニチンを添加し、ファゴサイトーシスの分子メカニズムを解析する。特に、体の中で、オルニチンから産生される NO と細胞内に存在する免疫機能に重要なタンパク質である Rab5 との関連性について明らかにする。</p> <p>まず、オルニチンが細胞内で NO の産生に影響することを明らかにするために、オルニチンをマクロファージ様細胞である J774A.1 細胞に添加し、一酸化窒素測定試薬 DAF2-DA (diaminofluorescein-2 diacetate) を用いて、細胞内における NO の産生について解析した。その結果、オルニチン無添加の J774A.1 細胞と比較して、オルニチンを添加した J774A.1 細胞では細胞内における NO の産生量が上昇していた。次に、オルニチンが Rab5 の活性に影響することを明らかにするために、オルニチンを J774A.1 細胞に添加し、GST-R5BD プルダウン法を用いて、細胞内における活性型 Rab5 について解析した。その結果、オルニチン無添加の J774A.1 細胞と比較して、オルニチンを添加した J774A.1 細胞では Rab5 の活性が上昇していた。そして、オルニチンの細胞内への分子に及ぼす影響を明らかにするために、Rab5 と活性型 Rab5 と相互作用することが知られている EEA1 の細胞内局在性を蛍光顕微鏡で観察し、その写真を画像解析ソフトで解析した。その結果、オルニチン無添加の J774A.1 細胞と比較して、オルニチンを添加した J774A.1 細胞では Rab5 と EEA1 の共局在が有意に上昇していることが明らかとなった。さらに、オルニチンが免疫力の活性化に及ぼす影響を明らかにするために、オルニチンを J774A.1 細胞に添加し、貪食 (ファゴサイトーシス) について解析した。その結果、オルニチン無添加の J774A.1 細胞と比較して、オルニチンを添加した J774A.1 細胞では貪食 (ファゴサイトーシス) 能が上昇していた。</p> <p>これらの結果より、シメジなどのキノコに含まれるオルニチンは、細胞内で一酸化窒素の産生を増やすことによって Rab5 を活性化し、免疫力を上昇させる可能性が明らかとなった。</p>

2023年 5月 18日

公益財団法人古泉財団

代表理事 古泉 肇 殿

## 助成対象者

大学・研究機関名 新潟医療福祉大学

役職名・研究科/学年 健康栄養学科助手

氏 名 宮本 真菜



貴財団より助成を受けた研究について、得られた成果を次のとおり報告いたします。

<b>1. 研究課題</b>
女性アスリートの月経障害発生リスクの検討および食事療法の開発
<b>2. 研究成果</b>
<b>研究の背景</b> 月経機能は、生殖機能を維持するために重要であり、かつ、女性アスリートにおいても月経機能の異常が社会問題化している。それにも関わらず、女性アスリートの月経に関する研究は世界的にも非常に少なく、特に、心的不安が月経機能に及ぼす影響については検証されていない。 心的不安を含む鬱や月経前心的症候群に関しては、ビタミンD摂取が有効であると考えられている。また、月経不順は心的不安と強く関連していることも知られている。そこで本研究では、国際レベルで活動するトップレベルの女子アスリートを対象に、心的不安とビタミンD摂取量が月経不順に及ぼす影響について検証することを目的とした。
<b>方法</b> インターカレッジレベル、及び、国際レベルの女子アスリート（107名：15～24歳）を対象に、栄養摂取量、身長、体重、体脂肪率、心的不安、月経不順について調査を行った。調査結果を、一般化線形モデルを用い、ビタミンD摂取量を含む栄養摂取量、及び、心的不安が月経不順に与える影響について検証を行った。一般化線形モデルにおける変数の決定には赤池情報指数（AIC）を用いた。
<b>結果と考察</b> 一般化線形モデルによる解析の結果、月経不順に対しては心的不安（状態不安）が統計的に有意に関わっていることが明らかになった（ $p = 0.009$ , odds ratio = 2.687）。ビタミンD摂取量による月経不順への影響は有意でなかった（ $p = 0.913$ , odds ratio = 0.968）。しかし、ビタミンD摂取により、心的不安を軽減させ、それにより月経不順の発生確率を低下させる傾向については統計的に有意であった（ $p = 0.049$ , odds ratio = 0.423）。これらのことから、ビタミンD摂取量の増加は、心的不安を軽減させ、月経不順を低下させることが示唆された。

## 2022年度古泉財団研究費助成金成果報告書

5年 5月 24日

公益財団法人古泉財団

代表理事 古泉 肇 殿

## 助成対象者

大学・研究機関名 新潟医療福祉大学

役職名・研究科/学年 健康栄養学科

氏 名 岩森 大



貴財団より助成を受けた研究について、得られた成果を次のとおり報告いたします。

<b>1. 研究課題</b>
ゼリー炭酸飲料が随意嚥下活動に及ぼす影響
<b>2. 研究成果</b>
<b>【概要】</b> 嚥下運動を変調させる口腔咽頭の感覚刺激の一つとして炭酸刺激が知られている。炭酸刺激による嚥下運動の変調効果では、溶液摂取時の誤嚥、咽頭残留を減少させ、咽頭通過時間が短くなることや、一度の飲み込み量を減らし、EMG活動を増加させるという報告がある。炭酸刺激が嚥下運動を変調するという基礎的な研究はなされているが、異なるテクスチャ特性を有する飲料が嚥下運動へ及ぼす基礎生理学的な検討は、未だ報告されていない。 本研究は、炭酸刺激と飲料の性状によるテクスチャの違いが、自発嚥下運動ならびに口腔内評価にどのように影響するか検証した。仮説として「ゼリー炭酸飲料は、従来の炭酸飲料や非炭酸飲料に比べ、嚥下筋活動量は増大し嗜好性は高くなる」ことを想定した。
<b>【方法】</b> 本研究には、健常成人31名(女性22名、20～43歳、平均25.7歳)が参加した。被験飲料として、①ゼリー炭酸飲料：マッチゼリー(株)大塚食品、②炭酸飲料：マッチ(株)大塚食品、③とろみ炭酸飲料：マッチ(株)大塚食品 + とろみスマイル(株)ヘルシーフード、④非炭酸飲料：クリスタルカイザー(株)大塚食品を用いた。調整作業は測定日前日に行い、5℃の恒温層にて一晩静置した。測定直前に開封し、カップへ速やかに20ml分注した。 手順として、被験者へ電極を舌骨上筋群(suprahyoid muscles, S-Hyo)である顎二腹筋相当部に装着し、表面筋電位EMGを記録した。同時に鼻腔よりVEを挿入し嚥下運動を評価した。次に、20mlの被験飲料を一度に全て口に含んでもらい、電気信号が配信された直後に飲み込むように指示された。各飲料を飲み込んだ直後に、「残留感」「飲み込みやすさ」「おいしさ」について視覚的アナログ評価(VAS)を用い評価した。試行間には1分間の休憩時間を設けた。 データ処理について、口腔内への取り込みから初回嚥下(S-Hyo活動開始)までの嚥下開始時間、活動からピークまでの上昇時間、筋活動時間、最大値、及び全波整流波形の積分値で示される筋活動量を計測した。VE画像における嚥下中のホワイトアウト時間を算出した。

## 【結果】

テクスチャの影響は、嚥下活動開始時間、Falling time を含む筋活動時間、ホワイトアウト時間、および VAS スケールで観察された。ことにホワイトアウト時間や VAS スケールにゼリー状の影響は大きく、筋活動に関しては、とろみ状の影響が大きかった。これは、舌骨上筋群筋活動への影響は、テクスチャのみならず炭酸刺激や味刺激によっても変動することを意味する。嚥下活動開始までの潜時は、いずれの液体においてもとろみ付けによって延長し、味刺激による違いは認められなかった。VAS スケールの結果は、とろみによって飲み込みやすさや味覚が低下したのに対し、ゼリーでは影響がなかった。

## 【考察】

ゼリー炭酸飲料において、筋活動時間が延長されなかったのは、とろみ状に比べゼリー状はテクスチャの嗜好性が高いこと、また溶液への味覚は不快感を抑制し、嚥下を促す効果があると考えられる。飲料へのとろみ付与により、嚥下開始時間、筋活動時間が延長した。とろみは口腔移送時間を延長することが知られており、粘性の変化が筋活動で示される筋活動時間を延長させたことで、筋活動量を増加させたと考えられる。

炭酸の要因について、最も注目すべきは、水に比べ炭酸飲料の筋活動時間が短縮した点であり、これは飲料の口腔咽頭通過を早めていた可能性がある。今回の研究におけるゼリー炭酸飲料は、炭酸強度としては逆に嚥下時の努力性を増加させるほどの効果はなかった。しかし、とろみ炭酸飲料がもたらすテクスチャの不快感は、炭酸により軽減させる効果があったものと考えられる。ゼリー炭酸飲料摂取時にはホワイトアウト時間が増加していた。炭酸は水に比べて嚥下時の咽頭位収縮が高くなると報告されており、咽頭収縮時間が延長することも報告されている。咽頭収縮時間の増加は嚥下機能低下と取られる反面、嚥下筋活動を抑えている事実から、ゼリー炭酸飲料は嚥下困難者へ適応しやすい事が唆された。なお、炭酸の要因について、飲料のガス圧や pH が評価できていないことは、今後の研究課題といえる。

以上より、ゼリー炭酸飲料がもたらす影響について「筋活動量への直接の増大が見られなかったが、口腔内感覚及び嗜好性は向上」した。更に、炭酸による嚥下の促進効果も見られ、今後の嚥下困難者への適応が期待される。

## 【学会報告】

1. **岩森大**, 真柄仁, 板離子, 小貫和佳奈, 辻村恭憲, 井上誠, 炭酸飲料における刺激とテクスチャの違いが随意嚥下活動に及ぼす影響, 新潟歯学会 (新潟市), 2022. 11 月.
2. **岩森大**, 真柄仁, 板離子, 小貫和佳奈, 辻村恭憲, 井上誠, 炭酸飲料へのとろみ付与がもたらす随意嚥下運動の変調, 日本嚥下歯学会 (名古屋市), 2023. 3 月.
3. 板離子, 真柄仁, **岩森大**, 小貫和佳奈, 辻村恭憲, 井上誠, 炭酸がもたらす溶液嚥下の変調, 日本顎口腔機能学会 (松戸市), 2023. 4 月.

令和5年3月31日

公益財団法人古泉財団

代表理事 古泉 肇 殿

## 助成対象者

大学・研究機関名 新潟工科大学

役職名・研究科/学年 工学部工学科・准教授

氏 名 久保田 真敏



貴財団より助成を受けた研究について、得られた成果を次のとおり報告いたします。

## 1. 研究課題

新規機能性食品素材としてのデンプン分解米胚乳タンパク質の可能性

## 2. 研究成果

米は日本人の主食であり、エネルギー供給源として重要な食品であるだけでなく、重要なタンパク質供給源でもある。このようなタンパク質供給源としての重要性から、米タンパク質の機能性に注目した研究が行われて始めており、脂質代謝改善作用や抗糖尿病作用などいくつかの機能性が報告されている。しかし、このような機能性に関する報告のほとんどは、アルカリ抽出米胚乳タンパク質 (AE-REP) を用いたものであり、もう1つのデンプン分解米胚乳タンパク質 (SD-REP) ではこのような機能性に関する報告は非常に限られている。そこで本研究ではこの SD-REP に注目し、糖尿病および糖尿病性腎症に与える影響について明らかにすることを目的とした。また AE-REP と SD-REP では一部タンパク質の消化性に大きな違いがみられ、SD-REP は難消化性タンパク質を含んでいることが明らかとなっている。食物繊維をはじめとした難消化性成分は、腸内細菌叢パターンに影響を与え、さまざまな機能性を発揮することが期待されている。SD-REP の難消化性タンパク質にもこのような作用がある可能性を想定し、腸内細菌叢パターンへ与える影響についても明らかにすることを目的とした。

供試動物として、肥満2型糖尿病モデル SDT Fatty ラット (7週齢, 雄性)、非糖尿病の健常ラットとして SD ラット (7週齢, 雄性) を用いた。試験はタンパク質源としてカゼインあるいは SD-REP を用い、CP 20%に調製した飼料を8週間給与した。試験群として、カゼイン飼料摂取 SDT Fatty ラット (C) 群、SD-REP 飼料摂取 SDT Fatty ラット (R) 群、カゼイン飼料摂取 SD ラット (SD) 群の計3群を設けた。なお試験飼料は SDT Fatty ラット群間で摂取量が同一となるようにペアフィーディングとし、水は自由摂取とした。試験期間中は体重および飼料摂取量の測定を行い、さらに18時間絶食後の空腹時血糖値 (毎週) を測定し、糖尿病の進行を評価した。また、試験開始前、2、4、6、8週目に代謝ケージを用いて24時間の蓄尿を行い、回収した尿は糖尿病性腎症の早期診断マーカーである尿中アルブミン排泄の測定に供した。さらに試験終了直前には糞の回収を行い、腸内細菌叢解析に供した。試験終了時には下大静脈より採血を行った後、各種臓器の回収および重量の測定を行った。回収した血液は一部をヘモグロビン A1c (HbA1c) の測定に供し、残りは速やかに遠心処理を行い、血漿を回収した。回収した血漿は血液生化学分析に供した。

空腹時血糖値の結果より、C群と比較してR群では有意な空腹時血糖値の低下はみられず、HcA1cにおいても有意な変動がみられなかった。以上の結果より、SD-REP は明確な血糖値調節の改善作用を有していない可能性が示された。また尿中アルブミン排泄は、試験開始4週目においてC群と比較してR群で有意に低値を示し、6および8週目においても有意な低下はみられないもののR群で減少する傾向がみられた。以上の結果より、SD-REP は糖尿病性腎症の進行を遅延させる機能を有している可能性が示された。また腸内細菌叢の解析結果より、C群と比較してR群で *Firmicutes* 門の割合が有意に低値を示し、*Bacteroidetes* 門の割合が有意に高値を示した。また鋼および属レベルの解析結果でもR群で *Bacteroides* の割合が有意に高値を示した。肥満マウスでは *Firmicutes* 門に属する細菌が多く、*Bacteroidetes* 門に属する細菌が少ないということが報告されており、今回の腸内細菌叢の動きはこのような報告とは反対の動きであった。このようなことから SD-REP 摂取による細菌叢の変化は、糖尿病の重要な危険因子である肥満や脂肪蓄積に影響を与えている可能性が期待された。本研究の検討により、SD-REP は明確な血糖値改善作用を示さないものの、糖尿病性腎症の進行を遅延させ、腸内細菌叢パターンを変動させる作用を有していることが示された。

2023年 3月 31日

公益財団法人古泉財団  
代表理事 古泉 肇 殿

## 助成対象者

大学・研究機関名 新潟食料農業大学  
役職名・研究科/学年 講師・食料産業学部  
氏 名 栗林 喬

貴財団より助成を受けた研究について、得られた成果を次のとおり報告いたします。

1. 研究課題
ユニークな果実用香気を生成する酒類製造用酵母の開発
2. 研究成果
<p>酒類製造において、酵母はその品質を左右する上で重要な香り成分を生成する。特に、脂肪酸合成阻害剤であるセルレニンに耐性を示し、カプロン酸エチル(リンゴ様香)を高生産するセルレニン耐性変異株が広く用いられているが、市場では酒類製品の画一化が進んでおり、需要低迷の一因ともなっている。</p> <p>本研究では、新潟県内で酒類製造業を営む吉乃川株式会社とともに、新規果実用香気を醸し出すユニークな醸造用酵母を開発し、酒類(清酒・焼酎・ビール)への実用化を目指すべく醸造酵母の開発およびその遺伝子解析を行った。</p> <p>まず、吉乃川株式会社のビール製品よりビール酵母を単離し、この単離株を親株として、セルレニン耐性変異株の分離を行った。スクリーニングを行った結果、得られたセルレニン耐性株よりFAS2遺伝子の新規変異(FAS2-A1304V)を有する変異株の単離に成功した。FAS2遺伝子は、酵母の脂肪酸合成酵素の<math>\alpha</math>サブユニットをコードし、本遺伝子の変異によって変異株の脂肪酸生成能の向上や生育培地中の遊離脂肪酸組成の変化が引き起こされる場合がある。現在、本酵母の脂肪酸生成能を解析するとともに、ビール小仕込試験における香り成分分析の条件設定を進めており、将来的に、従来にない新しい味や風味を有するビールを国内外の市場に提供できると期待される。</p> <p>さらに、県内の清酒製造場より、新たに蔵付き酵母の単離に成功し、本清酒酵母を親株として、セルレニン耐性株のスクリーニングを行った。その結果、カプロン酸エチル高生産性が付与されるFAS2-G1250S変異を有する変異株が分離された。我々が知る限り、新潟県内の清酒製造場固有の蔵付き酵母より、カプロン酸エチル高生産性酵母が初めて単離されたことから、既存酵母である「きょうかい酵母」系の清酒酵母とは異なる香味が清酒に付与される可能性がある。そこで、次世代シーケンサーを用いて、本蔵付き酵母の全ゲノムの取得を実施し、精密なシーケンズデータを入手した。現在、このデータと既存清酒酵母のデータを比較解析しており、既存清酒酵母は異なる遺伝子配列が明らかになりつつあることから、今後、これまでにないユニークな香りプロファイルを生成する清酒酵母の開発への応用が期待される。</p>

公益財団法人古泉財団

代表理事 古泉 肇 殿

助成対象者

大学・研究機関名 新潟食料農業大学

役職名・研究科/学年 助教・食料産業学部

氏 名 甲斐 慎一



貴財団より助成を受けた研究について、得られた成果を次のとおり報告いたします。

<p><b>1. 研究課題</b></p> <p>飼料メチオニンによる筋肉アンセリン量強化を通じた、鶏肉の高機能化に関する研究</p>																		
<p><b>2. 研究成果</b></p> <p>アンセリン(Ans)は、ニワトリ筋肉に多く含まれる機能性ペプチドである。Ansはβ-アラニン(β-Ala)とヒスチジン(His)からなるカルノシン(Car)のメチル化修飾により生合成されるが、その際にメチル基を供与するS-adenosylmethionine(AdoMet)は、アミノ酸の1種であるメチオニン(Met)に由来している。この代謝を利用し、ニワトリ筋肉のAns量をさらに効率的に増加出来れば、Ans増加による食肉の高機能化を通じたヒトの健康維持・増進への寄与が期待される。しかしながら、Met給与によるAns量への影響は未解明のままである。</p> <p>そこで本研究では、Metの給与によりニワトリ筋肉のAns量を増加させ、Ansの機能性を付与することによる食肉の高機能化、同時にその調節メカニズムの解析によるAns量の増加に寄与する代謝調節点を明らかにする事を試みた。</p> <p>供試動物は3週齢のチャンキー系ブロイラー(メス)合計12羽とし、試験区あたり6羽になるよう2試験区に割り当てた。Control飼料は、トウモロコシを主体とする一般的な飼料組成であり、Metを0.47%含有した。Met飼料は、そのControl飼料に対しMetをさらに0.47%添加し、Metを計0.94%含有した。これら飼料および水を10日間自由に摂取させた。10日間の給与後、ニワトリから浅胸筋を採取し、遊離アミノ酸、CarおよびAns量をHPLCにより測定した。</p> <p>その結果を図に示す。筋肉遊離MetはControlおよびMet区でそれぞれ<math>5.4 \pm 0.6 \mu\text{g/g}</math>および<math>75.1 \pm 17.7 \mu\text{g/g}</math>であり、Met給与による有意な増加が確認された(<math>P &lt; 0.01</math>)。一方で、筋肉Ansは同様に<math>6082.5 \pm 400.7 \mu\text{g/g}</math>および<math>7275.6 \pm 435.3 \mu\text{g/g}</math>であり、増加傾向こそ見られたものの(<math>P = 0.07</math>)、有意な差はみられなかった。</p> <p>また、MetをAdoMetへ代謝すMethionine adenosyltransferase 1Aおよび2A(図・反応①)、β-AlaとHisからCarを生合成するCarnosine synthase(反応②)およびCarのメチル化によりAnsを生合成するCarnosine N-methyltransferase(図・反応③)の筋肉におけるmRNA発現量を、リアルタイムPCRによって定量した。しかし、全ての遺伝子においてControl区とMet区に有意な差はみられなかった。</p> <p>本研究により、高Met給与(飼料中0.94%)はニワトリ筋肉遊離Metを有意に増加させるものの、筋肉Ans量を増加させるまでには至らず、また関連代謝遺伝子のmRNA発現量にも影響を与えない可能性が示唆された。今後は、本研究とは異なる飼料Met量による検討など、筋肉Ans量増加のための異なるアプローチが必要である。</p> <div data-bbox="507 1400 1449 1848"> <p>Figure 1: Effect of dietary Met on muscle free amino acids, Car, and Ans. The figure consists of five bar charts and a metabolic pathway diagram. The bar charts show the concentration of Met, β-Ala, His, Car, and Ans in muscle tissue (μg/g) for Control and Met groups. The metabolic pathway diagram shows the conversion of Met to AdoMet (reaction 1), the synthesis of Car from β-Ala and His (reaction 2), and the methylation of Car to Ans (reaction 3). Error bars represent standard error (SE), N=6, and A, B indicate significant differences (P &lt; 0.01).</p> <table border="1"> <caption>Figure 1 Data (Approximate values from charts)</caption> <thead> <tr> <th>Item</th> <th>Control (μg/g)</th> <th>Met (μg/g)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Met</td> <td>~5.4</td> <td>~75.1</td> </tr> <tr> <td>β-Ala</td> <td>~10</td> <td>~15</td> </tr> <tr> <td>His</td> <td>~30</td> <td>~25</td> </tr> <tr> <td>Car</td> <td>~1500</td> <td>~2000</td> </tr> <tr> <td>Ans</td> <td>~6000</td> <td>~7000</td> </tr> </tbody> </table> </div> <p>図 飼料Metによる筋肉遊離アミノ酸、CarおよびAnsへの影響</p>	Item	Control (μg/g)	Met (μg/g)	Met	~5.4	~75.1	β-Ala	~10	~15	His	~30	~25	Car	~1500	~2000	Ans	~6000	~7000
Item	Control (μg/g)	Met (μg/g)																
Met	~5.4	~75.1																
β-Ala	~10	~15																
His	~30	~25																
Car	~1500	~2000																
Ans	~6000	~7000																

2023年5月24日

公益財団法人古泉財団

代表理事 古泉 肇 殿

## 助成対象者

大学・研究機関名 新潟食料農業大学

役職名・研究科/学年 准教授・食料産業学科

氏 名 趙 鉄軍



貴財団より助成を受けた研究について、得られた成果を次のとおり報告いたします。

## 1. 研究課題

トマト育苗生産中の水疱症発生に関する環境要因の解明

## 2. 研究成果

## 【背景と目的】

『苗半作』と言われるように、苗質はその後の生育に大きく影響する。近年、短期間で良質なトマト苗を生産できる蛍光灯人工光育苗装置が普及している。しかし、トマトの人工光育苗生産中に水疱症という生理障害が多く発生しているが(特にLED光源場合が多い)、その原因は今もわかっていない。本研究の目的はトマト育苗生産中の水疱症発生に関する環境要因の解明と発生予測であった。環境条件を精密制御できるLED育苗ユニットを用いて、どのような環境条件下が、トマト苗の生育中に発生する水疱症と関係するかを調べることにより、水疱症発生要因の解明を目指した。

## 【材料および方法】

本研究は新潟食料農業大学の温室内で実施した。

## (1) 供試品種

大玉品種の‘りんか409’ (サカタのタネ)、『CF桃太郎ヨーク (タキイ種苗)』、中玉品種の‘フルティカ’ (タキイ種苗)、ミニ品種の‘千果’ (タキイ種苗)人気の4品種とした。

## (2) 育苗環境

育苗に要するCO<sub>2</sub>濃度、光条件(光質)、培地(湿度)を含む環境要因について、以下の処理区を設定した。

① CO<sub>2</sub>条件2水準(対照1処理「1000ppm」と検討1処理「500ppm」)を設置した。

② 光条件(光質)2処理(対照1処理「汎用照射」、検討1処理「青光2倍照射」)を設置した。

③ 培地(湿度)条件3処理(対照1処理「たね培土1号」、検討2処理「鹿沼土混合」と「カラット混合」)を設置した。

## (3) 苗質調査

異なる育苗条件下で育苗したトマト苗の品質調査を実施した。調査項目は、草丈、茎太さ、根量、新鮮重、乾物重、展開葉数、水疱症発生度と発生率とした。

## 【結果および考察】

調査の結果、①汎用環境条件下で、トマト水疱症の発生度または発生率は品種間の差異を認められ、その順番は「‘りんか409’ > ‘フルティカ’ > ‘千果’ > ‘CF桃太郎ヨーク」となった。さらに、トマト水疱症の発生度または発生率は、根の生育量と負の相関関係が認められた。②青光の照射強度や施用時間の調整により、‘りんか409’育苗前期のトマト苗の水疱症の発生率を抑えられることが確認できたが、育苗後期生育との関係は認められなかった(図略)。③生育初期に低濃度CO<sub>2</sub>で処理することにより、トマト‘りんか409’水疱症の発生度または発生率に抑制効果があると観察された。④培地を混合することにより培地湿度を調整でき、トマト‘りんか409’水疱症の発生度または発生率(LED処理区では、たね培地1号:100%、鹿沼土混合:83%、カラット混合:33%)に抑制効果が認められた。

また、根の生育状況から、水疱症の発生要因の閾値を求めかつ発生の予測が可能であることが示唆された。さらに、より良い根の成長環境づくりによってトマト水疱症の発生を低減できると考えられた。