

バイオサイエンス研究所年報

武庫川女子大学
バイオサイエンス研究所年報

第 23 号
(平成30年度)

第二十三号

Annual Report of
Institute for Biosciences

Volume 23
(2018)

平成
30
年度

Mukogawa Women's University

バイオサイエンス研究所年報 第23号

Annual Report of
Institute for Biosciences Vol. 23 2018

目次

平成30年度活動概況

所長報告

萩中 淳 (1)

研究業務報告

• 個体生命解析学部門

松浦 寿喜 (2)

吉川 紀子 (4)

義澤 克彦 (6)

• 細胞生命解析学部門

伊勢川 裕二 (8)

高 明 (10)

蓬田 健太郎 (12)

• 分子生命解析学部門

高橋 悟 (14)

西川 淳一 (16)

萩中 淳 (18)

村田 成範 (20)

• 生命化学解析学部門

土生 敏行 (22)

森山 賢治 (24)

吉田 徹 (26)

• 助 教

竹山(堀山) 志朱代 (28)

• 教 務 助 手

落合 知美 (30)

研究活動の概要

• 公開セミナー (32)

• 学会発表 (34)

• 誌上発表 (39)

• その他 (43)

バイオサイエンス研究所規程

(45)

所 長 報 告

所 長 萩 中 淳

平成30年度 活動状況

バイオサイエンス研究所は設立後 22 年を迎えました。本年度事業計画にあつて、特別経費事業（統一テーマ：ジェンダーバイオサイエンス）は、下記の部門研究員が専門領域の技術を駆使して分担課題研究を実施し、その研究成果は公開発表会（H31 年 3 月 4 日）や専門学会（誌）において公表しました。また、公開セミナー事業は「性差医療（女性医学）」をテーマに、京都大学大学院医学研究科の江川美保先生には「月経前症候群（PMS）を知り、自分をいたわる ～セルフ・モニタリングのすすめ～」について、医療法人フラウエンこうむら女性クリニックの甲村弘子先生には「女性のからだとホルモンバランス ～女性アスリート外来から～」について、一般の方にも分かりやすくお話しいただきました（H30 年 10 月 20 日）。さらに、継続事業として、「H28 年度私立大学等改革総合支援事業（教育・研究装置）」で採択された『去勢抵抗性前立腺がん（CRPC）の薬物治療、並びにメタボローム解析による CRPC バイオマーカーの探索および予後予測マーカーの探索』および「H28 年度私立大学等教育研究活性化設備整備費補助金」で採択された『遺伝子多型と薬物代謝』の 2 事業を実施しました。さらに、2 事業の研究機器として設置した、超高分解能質量分析装置 1 台（ブルカー・ダルトニクス社、島津株式会社製）および RT-PCR 装置 1 台（QuantStudio™ 12K (life Technologies 社製）は、「共同利用機器管理運営委員会」を設置し、「機器共同利用規程」に従って、研究員をはじめ大学内外の研究者による利用と共同研究の推進を図って居ます。本学の研究環境の向上に寄与できることを期待しています。

本年度の研究所組織を下欄に記載します。

所 長 萩中 淳教授（薬学部）

研 究 員

個体生命解析学部門 松浦寿喜教授（生活環境学部）、義澤克彦教授（生活環境学部）、
吉川紀子准教授（薬学部）

細胞生命解析学部門 伊勢川裕二教授（生活環境学部）、高 明教授（薬学部）、
蓬田健太郎教授（生活環境学部）

分子生命解析学部門 高橋 悟教授（薬学部）、西川淳一教授（薬学部）、
萩中 淳教授（薬学部）、村田成範教授（薬学部）

生命化学解析学部門 森山賢治教授（薬学部）、吉田 徹教授（生活環境学部）、
土生敏行准教授（生活環境学部）

研 究 所 助 教 竹山（堀山）志朱代助教（薬学部）

研 究 所 教 務 助 手 落合知美教務助手

運営委員

委 員 長 萩中 淳教授（薬学部、兼務）

委 員 中林利克教授（薬学部）、木下健司教授（薬学部）

高橋亨子教授（生活環境学部）、松浦寿喜教授（生活環境学部、兼務）

個体生命解析学部門

性差が医薬品および食品中機能性成分の有効性・安全性に与える影響 —タンパク質消化吸収機能低下ラット実験モデルの開発—

研究員 松 浦 寿 喜
共同研究者 中 村 衣 里

1. 研究概要

【背景および目的】

タンパク質の消化吸収機能は、性差、年齢差、運動強度、健康状態によって影響を受けることが知られている。一方、実験動物を用いて消化吸収機能を評価する場合、健常ラットでは消化吸収機能が高いため、その差を見極めることが困難であった。本研究では、ラットの消化吸収機能を低下させることで、タンパク質の消化吸収性の差異を評価できる可能性があるものと考え、すでに小腸粘膜の萎縮や小腸機能の低下が報告されている成分栄養剤を用い、経口投与による消化吸収機能低下ラット実験モデルの作製を試みた。さらに、タンパク質の消化吸収機能について、ラット門脈カテーテル留置法を用いて、血中遊離アミノ酸濃度を指標として健常ラットと比較した。

【方法】

1. 消化吸収機能低下ラット実験モデルの作製

SD系雄性ラットに成分栄養剤（エレンタール、EAファーマ株式会社）を7日間経口的に自由摂取させることで、消化吸収機能低下ラット実験モデルを作製した。

2. 消化吸収機能低下ラット実験モデルにおけるタンパク質消化吸収機能

消化吸収機能低下ラットおよび健常ラットの胃および門脈にカテーテルを留置し、胃カテーテルより8.3%大豆プロテイン懸濁液を単回投与（15mL/kg）した後、15～30分おきに180分まで門脈カテーテルより門脈血0.2mLを採取した。血液は、遠心分離して血漿とし、アミノ酸測定用試料とした。

【結果及び考察】

消化吸収機能低下ラットおよび健常ラットに大豆プロテインを単回投与した時の門脈血中アミノ酸濃度の経時的变化を図1に示した。門脈血中アミノ酸濃度は、バリン、ロイシン、イソロイシンはじめ12種類のアミノ酸で、健常群に比し機能低下群で有意に低値を示した。さらに、最高血中濃度到達時間は、すべてのアミノ酸において健常群に比し、機能低下群で遅延傾向が認められ、特にトリプトファンおよびグルタミンでは有意な遅延が認められた。

以上の結果より、成分栄養剤を7日間経口的に自由摂取させることにより、タンパク質の消化吸収機能を低下させたラット実験モデルを作製できることが明らかとなった。

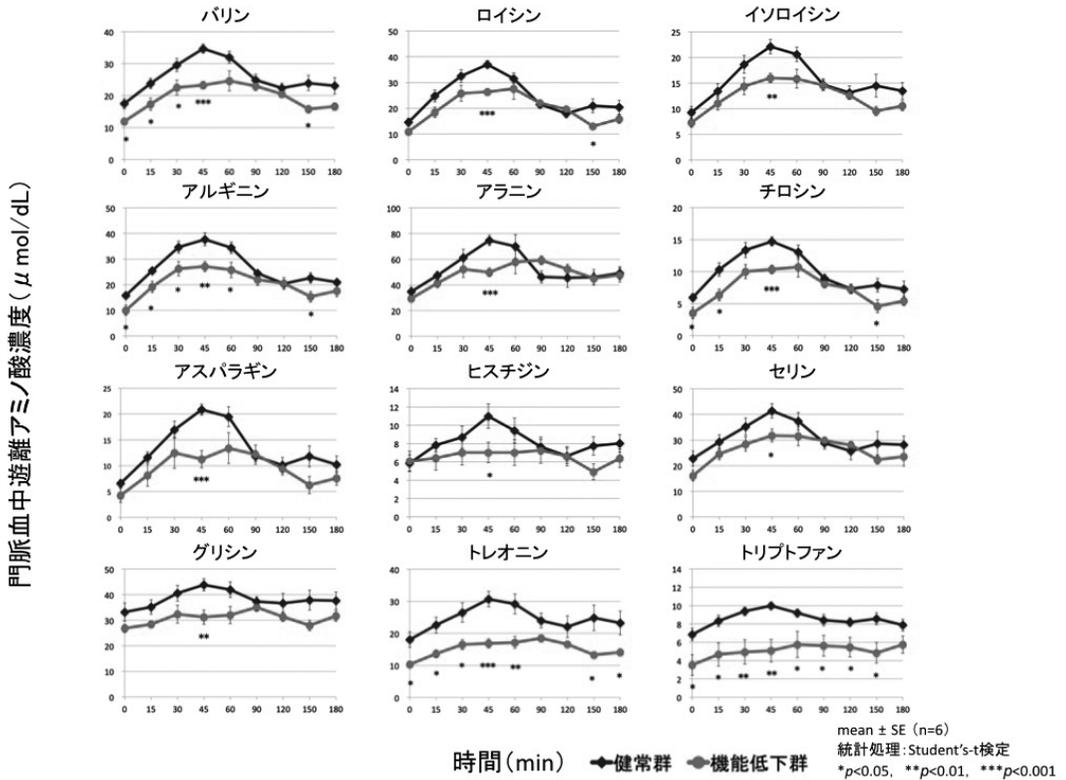


図1 大豆プロテイン単回投与時の門脈血中アミノ酸濃度の経時的変化

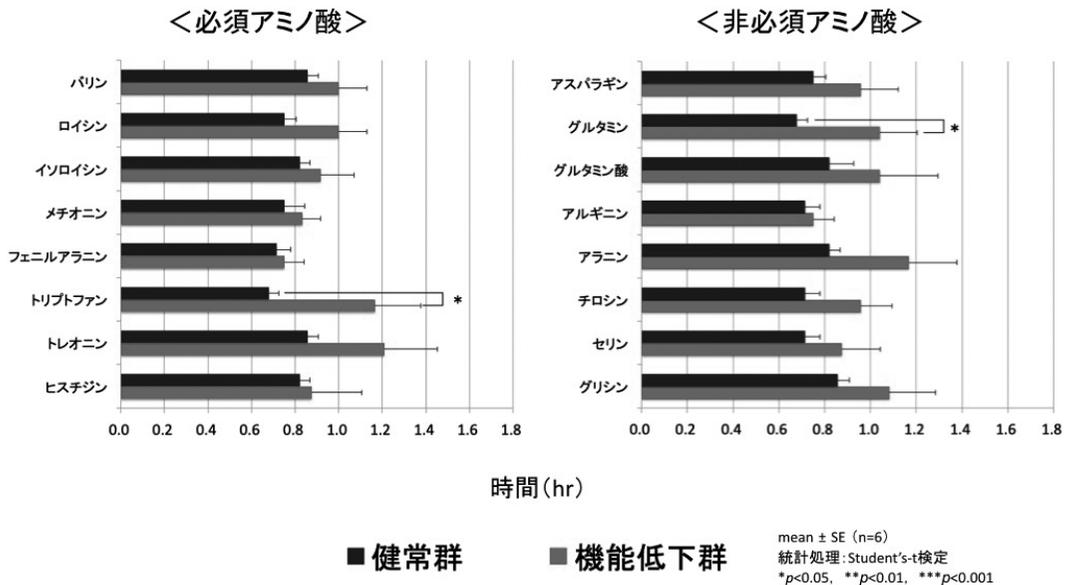


図2 大豆プロテイン単回投与時の最高血中濃度到達時間

個体生命解析学部門

細胞の悪性化に対する がん抑制遺伝子 Programmed cell death 4 の影響

研究員 吉川紀子

1. 研究概要

【研究の背景および目的】

Programmed cell death 4 (Pdc4) は新規がん抑制遺伝子であり、翻訳開始因子である eIF4A と結合する eIF4G とその構造が類似している。そのため、Pdc4 は eIF4G の代わりに eIF4A と結合し、そのヘリカーゼ活性を阻害することにより mRNA からタンパク質への翻訳を阻害して、細胞のがん化を抑制している可能性が報告されているが、未だにその標的分子は明らかとなっていない。さらに、Pdc4 は発現量が減少すると細胞のがん化・悪性化が生じることが報告されており、その発現量は、発がんを促進する miR-21 により負に制御されていることが報告されている。また、臨床研究でも予後の悪い腫瘍で Pdc4 の発現量が減少していることが報告されている。しかし、Pdc4 が細胞のがん化・悪性化を制御している直接的な標的および詳細な作用機序は明らかになっていない。そこで、本研究では Pdc4 が細胞の悪性化を抑制しているメカニズムを解明することを目的とし、正常細胞および悪性度の低いがん細胞の Pdc4 タンパク質発現量をノックダウンし、細胞の機能変化を解析した。

【研究方法】

・ Pdc4 ノックダウン細胞の作製

正常細胞としてマウス線維芽細胞である NIH3T3 細胞および C57BL/6J-emb 細胞、悪性度の低いがん細胞としてマウスメラノーマ細胞である B16-F0 細胞を使用した。DharmaFECT トランスフェクション試薬を用いて、細胞に siRNA を導入し Pdc4 ノックダウン細胞を作製した。

・ *In vitro* アッセイ系を用いたがん細胞遊走能および浸潤能の測定

小孔を有するフィルターを底面に持つチャンバーを装着した 2 層培養槽を使用し、下層に細胞走化性誘引物質としてフィブロネクチンを添加した。がん細胞の遊走能は、培養槽上層からフィルター小孔を通過して下層へ移動したがん細胞を計数することにより評価した。さらに、がん細胞の浸潤能は、フィルター上面に細胞外マトリックス構成成分であるラミニン、コラーゲンおよびエラスチンを含むマトリゲルをコーティングして、培養槽上層からマトリゲルを分解し、フィルター小孔を通過して下層へ移動したがん細胞を計数することにより評価した。

・ *In vivo* 血行性肺転移モデルマウスを用いた転移能の測定

B16-F0 細胞および B16-F0 の Pdc4 ノックダウン細胞を雌性 C57BL/6NCr マウスの尾静脈内に接種した。マウスの生存日数を測定することにより、がん細胞の転移能および悪性度を評価した。

【研究結果】

正常細胞である NIH3T3 細胞および C57BL/6J-emb 細胞、悪性度の低いがん細胞である B16-F0 細胞に siRNA を導入して Pdc4 ノックダウン細胞を作製したところ、全ての細胞において、Pdc4 タンパク質発現量が約 80% 有意に低下した。以下の実験では、これら Pdc4 ノックダウン細胞を用いて検討した。

コールターカウンターを用いて *in vitro* にて、細胞の増殖能を検討したところ、NIH3T3、C57BL/6J-emb および B16-F0 の Pdc4 ノックダウン細胞の増殖能は、それぞれのコントロール細胞と比較して有意な差が認められなかった。一方、Pdc4 をノックダウンした C57BL/6J-emb 細胞の足場非依存的増殖能は、コントロール細胞と比較して増加している可能性が示唆された。

また、*in vitro* にて細胞の遊走能を検討したところ、NIH3T3、C57BL/6J-emb および B16-F0 の Pdc4 ノックダウン細胞のフィルター下面に遊走した細胞数はそれぞれのコントロール細胞と比較して有意に高値を示した。さらに、Pdc4 をノックダウンした B16-F0 細胞においては、*in vitro* 浸潤能、MMP-2 分泌量および Twist1 タンパク質発現量も、コントロール細胞と比較して有意に高値を示した。

In vivo 血行性肺転移モデルマウスを用いて Pdc4 ノックダウン細胞の転移能および悪性度をマウスの生存日数を指標として検討したところ、B16-F0 の Pdc4 ノックダウン細胞接種群では、コントロール群と比較して、生存日数の短縮傾向が認められた。

【考察および展望】

本研究では、Pdc4 が細胞の遊走能および浸潤能を抑制すること、さらに、その標的分子として、MMP-2 および Twist1 を見出した。さらに、*in vivo* 血行性肺転移モデルマウスを用いた検討において、Pdc4 が *in vivo* でもがん細胞の転移能に影響を与えている可能性が示唆された。しかし、*in vivo* 実験では有意な差が認められなかったことから、今後は、他のがん細胞やがん転移モデルマウスを用いて、より詳細に検討する予定にしている。さらに、Pdc4 の正常細胞での機能を解析することにより新たながん治療の標的を提示したいと考えており、正常細胞を用いた Pdc4 の機能解析もさらに進めていく予定にしている。

個体生命解析学部門

食品由来物質による各種疾患モデルでの 予防・治療効果（雌雄差に関する検討）

研究員 義 澤 克 彦
共同研究者 竹之内 明 子

1. 研究概要

【目的】

緑茶抽出物（GTE）誘発による急性肝障害モデルをラットで確立し、その特徴とメカニズムを明らかにする。さらに、このモデルを用いてキトサンオリゴ糖による障害抑制効果について検討する。

【背景】

緑茶は健康によい成分が多く含まれ、抗酸化作用、体脂肪低下作用、癌予防作用など多様な効果が報告されている。一方、諸外国では緑茶カテキン摂取が原因と疑われる肝障害が報告され、欧州の一部では販売禁止措置がとられている。我々はGTEによるラット急性肝障害モデルを確立し、甲殻類の殻に含まれ、我々が日常的に摂取する機会が多いと考えられる抗酸化物質であるキトサンオリゴ糖（COS）を用いて、急性肝障害抑制効果を検討した。

【方法】

実験①： GTE 200 mg/kg（THEA-FLAN 90S、伊藤園）を6週齢雌雄SD系ラットに単回腹腔内投与し、投与 8, 24, 72時間、7日、1ヶ月後に解剖し、血液化学的検査、肝臓の病理学的検査、細胞死（TUNEL染色・活性化Caspase-3免疫染色）、増殖活性（PCNA免疫染色）、酸化障害（脂質酸化マーカーとして血清・肝臓 malondialdehyde [MDA] 分析、MDA免疫染色、DNA酸化マーカーとしてthymidine glycol [TG] 免疫染色）を解析した。さらに、週齢感受性をみるために、18週齢雌ラットに同様に投与し、6週齢投与群と毒性比較した。

実験②： 蒸留水あるいはキトサン水（2%、4%）を、GTE投与1時間前、1時間後、4時間後、20時間後、26時間後、44時間後に2 mLずつ経口投与し（ラット1匹250gとして、160mg/kg、320mg/kgに相当）。GTE投与後24、48時間後に解剖を行い血清及び肝臓を採取した。血液化学的検査に加え、肝臓の病理組織学的検査、アポトーシス（ γ -H2A.X）・低酸素状態（HIF-1）・酸化ストレス（TG）に関する各種マーカーの免疫組織化学的検査を実施し、病変及び単位面積あたりの陽性細胞数を群間比較した。

【結果】

実験①： 6週齢投与では72時間以内に雄12%、雌50%が死亡し、雌で毒性の感受性が高かった。18週齢投与では88%が死亡し、高週齢で感受性が高かった。血液化学的にAST、ALTおよびT-BIL増加が雌雄で8時間から観察された。組織学的に8時間から肝細胞単細胞壊死、TUNEL・Caspase-3陽性細

胞の増加が観察され、時間とともに小葉全域に波及し、肝細胞核肥大・マイトーシス・胆管増生・小葉構造の乱れがみられた。48時間ではPCNA陽性細胞が増加し、肝細胞の増殖活性増加が示唆された。8ないし24時間から血清・肝臓中のMDA値の増加傾向がみられ、免疫組織学的に48時間でMDAおよびTG陽性肝細胞の増加が観察された。

実験②： GTE単独投与群では体重増加量抑制が顕著であったが、2%キトサン水併用群ではその程度が弱かった。4%キトサン水併用群ではGTE投与後48時間でGTE単独投与群と比較して有意な体重減少が観察された。GTE単独投与群ではAST、ALT、T-BILの顕著な増加と肝細胞障害像が観察されたが、2%キトサン水併用群ではその程度が減弱した。特に48時間解剖群でその差が顕著であった。しかし、4%キトサン水併用群では抑制効果はみられなかった。また、GTE単独投与群では γ -H2A.X、HIF-1、TG陽性肝細胞の発現が観察され、GTE投与後48時間でピークを示した。2%キトサン水併用群ではこれらの陽性肝細胞数は減少した。一方、4%キトサン水併用群の陽性細胞数は、2%キトサン水併用群と比較すると減少の程度は小さかった。

【考察】

GTEはラットに急激で重篤な肝臓障害を誘発し、肝細胞の脂質酸化ならびにDNA酸化が関与した可能性が示唆された。さらに、2%キトサン水はDNA酸化抑制並びに低酸素状態抑制による肝臓障害抑制効果を示すことが明らかとなった。4%キトサン水併用群では体重減少が観察され、肝臓障害の抑制はみられなかった。キトサン水によるGTE誘発性肝臓障害の抑制効果は、適切な投与量を用いることが重要であると考えられた。今後、GTEによる障害が雌で感受性が高い理由を明確にし、COSによる病態抑制効果に関する雌雄差の有無についても検証する予定である。

細胞生命解析学部門

感染症を制御・緩和する成分

—MDCK（イヌ腎由来）細胞におけるフラボノイド類の抗インフルエンザ効果—

研究員 伊勢川 裕 二
共同研究員 森 本 亮 祐

1. 研究概要

【目的】

これまでの研究により抗インフルエンザウイルス（以下：IFV）効果を示す食品成分の候補として食品（植物）の二次代謝物であるフラボノイド類が挙げられた。また、一部のフラボノイド類はA/H1N1/PR/8株を感染させたMDCK細胞において、抗IFV効果が確認されたものの、その効果はフラボノイドの構造に依存することを確認した。よって本研究では網羅的にフラボノイド類の抗インフルエンザ効果を検討する事と目的とした。

【結果・考察】

(1) ポリフェノール類の抗インフルエンザウイルス効果の検討

フラボノイドとは、植物体においてマロニルCoAとヒドロキシケイヒ酸から生合成されるジフェニルプロパン（C6-C3-C6）構造を有するポリフェノール類である。またフラボノイド類はC6-C3-C6構造におけるC3部分の構造の違いによりフラボン・イソフラボン・フラバノンなどのサブクラスに分類され、C6-C3-C6構造の修飾基の種類・数によって多様な化合物が存在する。またC6-C3-C6構造はA・C・B環とも認識区別されている。

本研究では機能が報告されている一般的なフラボノイド類の抗IFV効果を検討した。（表1）なお、MDCK細胞において細胞毒性を示さない濃度（ μg or ng/mL ）で実施した。

フラボン類では他のフラボノイドと比較して非常に高い抗IFV効果が確認され、B環5'位のOH基が抗IFV効果を低下させる可能性が示唆された。

イソフラボン類はGenisteinならびにBiochanin Aに抗IFV効果が認められず、A環5位のOH基付加によって抗IFV効果を示さないことが確認された。また抗IFV効果が確認されたDaidzeinとGlyciteinの結果より、A環6位の修飾基の重要性が示唆された。

フラバノン類はPinocembrinのみ抗IFV効果が確認されず、B環が未修飾の場合に抗IFV効果が消失する可能性が示唆された。またB環の修飾基の種類と位置が重要であり、4'位のOH基をOCH₃基に置換すると抗IFV効果が低下し、3'と4'位の隣接する修飾基の組み合わせが関与している傾向が確認された。

フラバン-3-オール類はエピガロカテキンに他のカテキンと比べ、IC₅₀値が約1000倍強い抗IFV効果が確認された。

フラボノール類はフラボン骨格との比較において活性は劣るがC環3位のOH基とB環の修飾基が関

与している傾向が確認された。

フラバノン類のNaringeninはA環の8位や6位がプレニル化されると10倍活性が上昇した。これはA環に対する電子供与が増強したためか、疎水性が増強したためかは定かではないが、単純な構造のみが活性に関与していないことが明らかとなった。

構造の異なるDaidzeinと8-Prenylnaringeninはともにウイルス増殖後期を阻害することも明らかとなった。(図1と2) 両者ともエストロゲン活性を持つことが明らかとなっている。両物質ともエストロゲンレセプターを介してシグナルを入れている可能性が示唆された。

H1N1 PR/8/34

| Subclass | chemical | IC50 (µg/mL) *ng/mL |
|-------------|----------------------|---------------------|
| Flavone | Chrysin | 4 ± 1 |
| | Apigenin | 3 ± 1 |
| | Luteolin | 1 ± 0 |
| | Tricetin | 25 ± 3 |
| Isoflavone | Daidzein | 36 ± 20 |
| | Glycitein | 58 ± 6 * |
| | Genistein | — |
| | BiochaninA | — |
| Flavanone | Pinocebrin | — |
| | Naringenin | 79 ± 4 |
| | Eriodictyol | 221 ± 30 |
| | Isosakuranetin | 252 ± 53 |
| Flavan-3-ol | Hesperetin | 88 ± 6 |
| | (-)-Epicatechin | 1948 ± 19 |
| | (-)-Epigallocatechin | 7 ± 3 |
| | (+)-Catechin | 1806 ± 57 |
| Flanonol | Galangin | 129 ± 11 |
| | Kaempferol | 57 ± 5 |
| | Quercetin | 83 ± 4 |
| | Myricetin | 24 ± 2 |
| | Fisetin | 18 ± 2 |
| | Morin | 135 ± 7 |

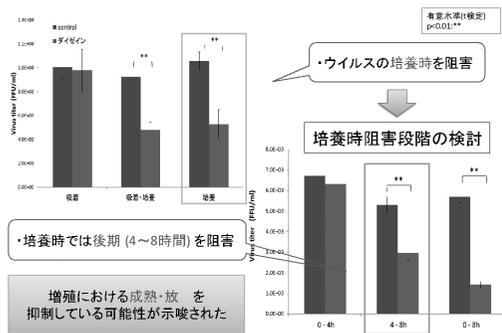


Fig. 1. ダイゼインの増殖阻害段階の検討

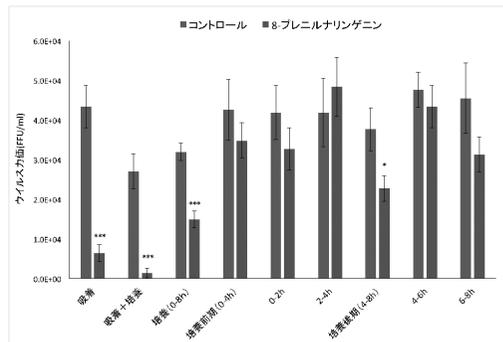


Fig. 2. 8-プレニルナリンゲニンのウイルス増殖阻害段階

細胞生命解析学部門

新規天然薬用植物及びその含有成分の生活習慣病に 対する予防、治療効果と作用メカニズムの解明

研究員 高 明
共同研究者 工 藤 麻 耶

1. 研究概要

【目的】

L-シトルリンはスイカの果汁から単離されたアミノ酸でウリ科の植物に広く含まれている。L-シトルリンは生体内において一酸化窒素の産生促進を介した血管拡張作用による血圧低下作用や抗酸化作用を有することが報告されているが、メタボリックシンドローム等生活習慣病の根本である肥満に対する作用は報告されていない。そこで、本研究では、肥満・高血糖を発現するKK-Ayマウスおよび高脂肪食SDラットの2種類の肥満モデル動物を用いてL-シトルリンが肥満におよぼす影響とそのメカニズムを評価した。

【研究方法】

本動物実験は動物愛護法を順守し、武庫川女子大学動物実験委員会の承認を得て実施した。実験動物には6週齢雄性KK-Ayマウスおよび5週齢雄性SDラットを用いた。KK-Ayマウスは1週間の予備飼育期間後（7週齢）に2群に分け、水道水（Control群：n=7）またはL-シトルリン（1g/kg/day）添加水（L-Cit群：n=8）を9週間自由摂取させた。SDラットは3週間の予備飼育期間後（8週齢）に2群に分け、高脂肪食+水道水（Control群：n=8）または高脂肪食+L-シトルリン（0.5g/kg/day）添加水（L-Cit群：n=8）を11週間自由摂取させた。投与期間中は摂餌量および体重を記録した。終了時には心臓より採血した後、臓器を摘出して秤量した。また、血中関連指標の測定および摂食調節関連因子の解析を行った。

【研究結果及び考察】

（1）KK-Ayマウスの摂餌量、体重、臓器重量、糖代謝、脂質代謝におよぼす影響

KK-AyマウスにL-シトルリンを投与した結果、L-Cit群の摂餌量は7週目以降有意に減少し、体重増加量は5週目および9週目に有意な減少を示し、精巣脂肪重量も有意な減少を示したが、その他の臓器重量に差は見られなかった。また、L-シトルリン投与は随時血糖値に影響しなかったものの、インスリンの有意な低下を示した。脂質代謝におよぼす影響を調べたところ、L-シトルリン投与は中性脂肪に影響しなかったものの、遊離脂肪酸の有意な低下を示した。

（2）高脂肪食SDラットの摂餌量、体重、臓器重量、糖代謝、脂質代謝におよぼす影響

高脂肪食を投与したSDラットにおいて、L-Cit群の摂餌量は2週目以降に有意に減少し、体重の増加を抑制する傾向を示したが、臓器重量への影響は見られなかった。また、L-シトルリン投与は空腹時血糖値に影響しなかったものの、インスリンおよびHOMA-IRの有意な低下を示した。脂質代謝にお

よぼす影響を調べたところ、L-シトルリン投与は中性脂肪、遊離脂肪酸には影響しなかったものの、コレステロールの有意な低下を示した。

(3) 視床下部における摂食調節関連因子の発現量におよぼす影響

高脂肪食SDラットの視床下部を摘出し、摂食調節因子であるPOMCおよびAgrpの発現量におよぼす影響を調べた結果、L-シトルリン投与は摂食促進ペプチドであるAgrp発現量には影響しなかったものの、摂食抑制ペプチドであるPOMC発現量を有意に増加した。

(4) POMC発現量調節機構の解析

視床下部におけるPOMC発現量調節機構であるレプチン経路およびインスリン経路におよぼす影響を調べた結果、L-シトルリン投与はレプチン経路に影響しなかったが、インスリン経路のAktリン酸化発現量の有意な増加を示した。しかし、IR β およびIRS1の各リン酸化ポイントの発現量に差は見られなかった。一方、別の経路であるリン酸化mTORの発現量の有意な増加を示したが、リン酸化S6Kの発現量に差は見られなかった。

【考察】

本研究では2種類の肥満モデル動物であるKK-Ayマウスおよび高脂肪食を投与したSDラットにL-シトルリンを投与したところ、摂食量の減少によって体重の増加を抑制し、肥満を改善する傾向を示した。そのメカニズムとして、L-シトルリンは摂食抑制ペプチドであるPOMCの発現量を増加することで摂食抑制作用を発揮して肥満を改善したと考えられた。

POMCの発現量調節機構にはレプチン経路とインスリン経路の2種類がある。本研究の結果から、L-シトルリンによるPOMC発現量の増加にレプチン経路は関与しないことが示された。一方、インスリン経路ではインスリンがIRに結合するとIRS1およびAktがリン酸化することでPOMCの発現量が増加する。本研究ではL-シトルリンによってAktのリン酸化は増加したものの、その上流であるIR、IRS1の変化は認められなかったことから、別の経路としてmTOR-Akt経路の検討を行った。mTORはAktを活性化する因子の一つであり、mTORC1とmTORC2の2種類の複合体が存在している。mTORC2が活性化された場合、その下流であるAktがリン酸化されることでPOMCの発現量が増加する。一方、mTORC1が活性化された場合、その下流にありタンパク質の合成や新生に関与するといわれているS6Kがリン酸化される。mTOR-S6K経路が活性化されるとIRS1のセリンリン酸化が起り、インスリン経路のネガティブフィードバックが起り、インスリン感受性が減弱する。本研究ではmTORC1活性に関与するS6KおよびIRS1のリン酸化に変化が見られなかったことから、L-シトルリンはmTORC2の活性化を促進したと考えられた。以上の結果から、L-シトルリンは視床下部においてmTORC2-Akt経路の活性化によってPOMCの発現量を増加することで食欲を抑制し、肥満を改善したと考えられた。

細胞生命解析学部門

閉経後骨粗鬆症の発症原因のマウスモデル系による再検討

研究員 蓬 田 健太郎

1. 研究概要

女性の社会における役割はますます重要なものとなっており、偏見による男女差別等の問題の解消が進められる一方で、「ジェンダー（性差）」による生理学的な違いから、罹患する疾病やその病態にも違いあることへの理解は、いまだ十分とはいえない状況にある。昨年度より研究所の研究テーマとして「ジェンダー・バイオサイエンス」が採択されたが、この研究テーマは本研究所のみで完結するものではなく、女子総合大学として各学部、各研究所等との連携を図りつつ大きく育てていくべきものであろう。そこで、本年度は「食」と「運動」が大きくかかわるとされると同時に女性に起こりやすいとされる骨粗鬆症の病態に関する検討を行った。

【背景】

骨粗鬆症の概念が一般に認識されるようになったのは1980年代であり、当時は骨折を生じる病的過程と合併症としての骨折を含めた曖昧としたものであった。その後、骨密度の測定技術の普及により骨量が低下する病態としてとらえられるようになり、1991年骨粗鬆症コンセンサス会議（コペンハーゲン）が開かれ、低骨量と微細構造の異常による骨の脆弱性と、骨折リスクが高まった状態と定義された。その後、2000年NIH会議により、骨強度の低下による骨折リスクの高まった状態という現在に至るまでの定義が確立されている。この骨強度とは、骨密度によるものが70%とされ、残りの30%が骨の微細構造と骨代謝回転による骨質により規定されている。したがって、骨粗鬆症の患者数は、実際に検診や骨折等の発症がないと把握できないため、罹患率に対する年次統計はない。横断的な調査からの推定では、その潜在的な患者数も含め、約1300万人が罹患しているとされている。この調査に基づく年齢ごとの罹患率から、加齢により患者数が増加しており、そのほとんどが高齢女性であることから、その原因はジェンダーによるものとして、閉経後のエストロゲン欠乏が主要なものと考えられてきてきた。このため骨粗鬆症の病態解明のため動物実験のモデル系として卵巣摘除モデルが広く用いられて来ている。しかし、マウスやラットの卵巣摘除モデルでは、発症までに1年以上かかるだけでなく、厳しいカルシウム制限が必要となる。一方、マウスの妊娠授乳期にヒトで想定されるカルシウム不足程度のカルシウム制限では6週間程度で骨密度の低下を惹起することができる。この違いは、閉経よりも加齢や低栄養の寄与の方が大きい可能性があることを示している。

【目的】

本研究では、上述の可能性を検証するため、同じ10週齢の妊孕期のマウスを続発性骨粗鬆症を想定した妊娠授乳モデルと閉経後骨粗鬆症を想定した卵巣摘出モデルに分け、ヒトのカルシウム摂取不足量を想定したレベルのカルシウム制限食を与え、骨強度に対する影響について検討することを目的とした。

【結果】

マウスのCa摂取量として必要量とされているAIN93G (0.5%Ca) 標準食をコントロールとし、ヒトの妊娠期のCa摂取量の60%不足を想定したものとしてAIN93G (0.2%Ca) Ca制限食とし、妊娠1日目の雌ICRマウスを、それぞれの群に分け、離乳時まで骨密度を動物用CTにて追跡したところ、2群間で摂餌量に差はなく、体重変化でも差は見られなかったものの、骨密度はCa制限群で有意に低下が見られた。一方、卵巣摘除による影響を見るため、卵巣摘除群と偽手術群の2群をさらに標準食群とCa制限食群にわけ、妊娠授乳期と同じ6週間にわたり骨密度変化を追跡したところ、4群間で摂餌量に差は見られなかったものの、標準食で飼育した卵巣摘除群の体重が、偽手術群に比べ優位に増加していた。しかし骨密度については4群間に差は見られなかった。

【考察】

原発性骨粗鬆症の原因は、閉経によるエストロゲン低下とされてきたが、動物実験における卵巣摘除モデルでは、卵巣摘除から骨粗鬆症の状態になるまでに1年以上かかるとされている。実際、本実験でも妊娠期での卵巣摘除では6週間程度では骨密度に変化は見られず、加齢や栄養状態による影響が大きいことが示唆された。近年、高齢者の低栄養が問題となっており、高齢男性における骨粗鬆症の背景に低栄養があること指摘されている。戦後、栄養状態の改善により男性のBMIはどの年齢層でも増加しており、男性における生活習慣病の増加の一因となっている可能性がある。一方、女性では1970年代からどの年齢層においてもBMIの低下傾向がみられるようになり、2000年以降20代女性で特に低下が進んでいる。骨粗鬆症が女性に多く見られる原因として、女性の平均寿命が長いことと低栄養が背景にある可能性も否定できない。

今後、この仮説をさらに検証するために、妊娠授乳期にCa制限により生じた骨密度の低下がその後どの程度回復するかについての追跡を行うとともに、卵巣摘除による骨密度への影響と雄マウスに対するCa制限との比較を行い、加齢とCa不足についての検討を進めていきたい。

分子生命解析学部門

血管系に対する女性ホルモン作用の性差比較

研究員 高 橋 悟
共同研究者 金 玉

1. 研究概要

【Object & Introduction】

To investigate the gender differences of estrogen effects on the vascular system, we surveyed international journals and searched related literatures. The gender differences in blood pressure, atherosclerosis and angiogenesis were summarized.

Estrogens are kept in relatively high levels in women of reproductive age, as one of the most important hormones to regulate growth and reproduction of women. In contrast, estrogen levels are low in men. After premenopause in women, estrogen production decreases dramatically, while the prevalence rates of some cardiovascular diseases (CVDs) are increasing close to or higher levels comparing with those of men in the same age groups. This shows the protective effects of estrogen in CVDs.

The actions of estrogens are mediated by the estrogen receptors: ER α , ER β and G protein-coupled receptor 30 (GPR30). ER α and ER β exist in the nucleus and regulate gene expression as transcription factors. GPR30 is membrane-bound estrogen receptor and activates intracellular signaling pathways. These receptors are highly expressed in women in the vasculatures, but the expression is low in men.

【Research results】

1. Blood pressure

Large-sample surveys had revealed that men had a higher prevalence of hypertension than women in young age groups. However, from the age around 50-60, this sex difference was greatly diminished and women had a higher prevalence of hypertension (1). The observed sex-related differences in blood pressure might be largely attributed to estrogens. Post-ischemic dilatation of the brachial artery is greater in premenopausal women compared with that in age-matched men. The dilatory response is decreased in postmenopausal women, and estrogen replacement therapy restores it toward normal one (2). In addition, female endothelial cells (ECs) express higher endothelial nitric oxide synthase (eNOS) mRNA and eNOS protein than male ECs (3); namely, vasodilator nitric oxide (NO) is produced in women in a larger amount than in men. These data indicate that estrogen is responsible for the lower blood pressure in women until menopause.

2. Atherosclerosis

The incidence of coronary and aortic atherosclerosis is more severe in men than in women, and increases with age. In women, estrogen loss after menopause is associated with greater progression and extent of atherosclerosis during the following 20-30 years (4). Estrogens can increase plasma HDL levels and decrease LDL levels, and inhibit their oxidization, leading to reduction in risk of atherosclerosis (5). In addition,

estrogens affect inflammation and endothelial damage after menopause. NO not only maintains in barrier integrity and diameter of blood vessels, but also prevents leukocyte adhesion to the vessel walls and platelet aggregation. Estrogen loss results in a low NO availability, which induces endothelial dysfunction and vascular damage. These changes trigger atherosclerosis and the subsequent CVDs.

3. Angiogenesis

Vascular endothelial growth factor (VEGF) plays a pivotal role in angiogenesis by promoting endothelial cell proliferation, migration and assembly into new vessels. VEGF also increases NO production to enhance angiogenesis. Estrogens increase VEGF expression through cyclooxygenase-2 /PGE2 pathway in ECs under normal condition (6), and under hypoxia condition estrogen with hypoxia-inducible factor-1 α more efficiently stimulates VEGF expression (7). Furthermore, estrogens cause non-endothelial cells around ECS to produce VEGF and other angiogenic factors. These data indicate that estrogens promote angiogenesis (8).

【Conclusion】

The previous studies clearly reveal gender differences of estrogen effects on vascular system. Estrogens significantly protect women before menopause against high blood pressure and atherosclerosis compared with men in the same age groups, while the ability of angiogenesis is higher in women before menopause. In postmenopausal women, both the protective effects of estrogens against hypertension and atherosclerosis, and angiogenesis ability quite disappeared due to estrogen loss.

【References】

(1) *Biol. Sex Differ.* 3, 7, 2012. (2) *Metabolism* 48, 227-32, 1999. (3) *Sci. Rep.* 7, 9612, 2017. (4) *Cell Tissue Res.* 347, 155-75, 2011. (5) *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 142, 16-29, 2014. (6) *Pharmacol. Rev.* 57, 359-83, 2005. (7) *Front. Biosci.* 1, 309-21, 2015. (8) *Hum. Reprod.* 18, 2039-47, 2003.

分子生命解析学部門

疾病に及ぼす性差の影響

研究員 西川 淳一

1. 研究概要

【目的】

男性と女性では、生物学的にも社会的にも多くの側面で異なった特徴を有している。これらの特徴を明らかにし、さらにはその成因を解明し、女性に最適な公衆衛生環境を提供するための方策について検討するための基礎資料を提供することを目的に研究を行った。

【方法】

分析に使用したデータは、性別にみた死因分析については厚生労働省の「人口動態統計」を、悪性新生物の罹患率の性差については国立がん研究センター作成の「全国がん登録報告」を、喫煙状況の性差については厚生労働省の「国民健康・栄養調査」を、性別有病率については厚生労働省の「患者調査」をそれぞれ使用した。また、疾病の要因分析には国際学術誌に掲載されている疫学データ等を使用した。

【結果】

集団の健康水準を総合的に測る指標として最も信頼できるのは、平均寿命である。平均寿命は、毎年の人口統計から作られる生命表を基に算出されるが、その生命表はある時点における年齢別死亡状況を統合したものである。2016年の日本人の平均寿命は女性が87.14歳、男性が80.98歳であり¹⁾、集団としてみると女性の方が男性より健康度が高いと判断できる。この平均寿命に最も影響を与えているのは、現在の日本では死亡原因が最も高い悪性新生物である。

2016年の悪性新生物の年齢調整死亡率（人口10万対）は、男性が161.7、女性が87.3であった¹⁾。部位別での男/女比は、気管、気管支及び肺で3.42、大腸がん（結腸と直腸S状結腸移行部及び直腸）で1.73、胃で2.7、膵で1.55、肝及び肝内胆管で2.98と、主要ながんでは軒並み男性の方が高かった。そこで、次に、悪性新生物の罹りやすさに男女差があるのかを調べた。日本では、2016年に「がん登録等の推進に関する法律」が施行され、がん患者を診察した全ての病院と都道府県指定の診療所に報告を義務づけた「全国がん登録」に基づくデータベースが整備されている。これによると、2016年に新たに悪性新生物と診断された患者数は、総数では大腸がんが最も多く158,127人、胃がん134,650人、肺がん125,454人と続いた。男女別の年齢調整罹患率でみると、男/女比は、気管、気管支及び肺で2.4、大腸がん（結腸と直腸S状結腸移行部及び直腸）で1.64、胃で2.79、膵で1.47、肝及び肝内胆管で2.96と、乳がんと子宮がんを除いた主要な悪性新生物の発生は男性の方が多かった。悪性新生物の発生には、喫煙が大きく関与していることが知られており、2015年の喫煙率は男性で30.1%、女性で7.9%である²⁾。悪性新生物による死亡率や罹患率に男女差が存在する背景には、このような喫煙歴の違いが存在すると考えられているものの、喫煙歴を調整した検討によって性差に基づく生物学的な差異も悪性新生物の発症に寄与している可能性が示唆されている。

肺がんに関する疫学調査は多くあるので、ここでは肺がん発症に及ぼす性差の影響を文献で調査した。非喫煙者について、複数のコホート研究を統合して解析した研究では、40歳から79歳の非喫煙者における肺がん年齢調整死亡率（人口10万人対）は、Multiethnic Cohortで男性13.7に対し女性20.7、Swedish Uppsala/Orebro Lung Cancer Registerで男性4.8に対し女性14.4、National Health and Nutrition Examination Survey Epidemiological Follow-up Studyで男性12.7に対し女性19.3と、いずれのコホートにおいても非喫煙者の肺がん死亡率は女性の方が男性より高かった³⁾。また、2011年から2015年の間に病院で肺がんと診断された患者（喫煙者433人、非喫煙者125人）を調べた研究において、喫煙者群では男性が401人、女性が32人であったのに対し、非喫煙者群では男性が32人、女性が93人であり、さらにAdenocarcinomaの割合が喫煙者群の65%に対し、非喫煙者群では93%であった⁴⁾。これらの結果は、非喫煙者においては、女性の方が肺がん罹患しやすく、そのがんはほとんどがAdenocarcinomaであることを示唆している。また、肺がん患者の過去の喫煙歴を聞き取り調査した症例対照研究において、喫煙の肺がん発症に及ぼすリスクは、オッズ比でみて男性9.60 (95%CI; 5.64-16.3) に対し女性27.9 (95%CI; 14.9-52.0) であった⁵⁾。また、40歳以上で10年以上の喫煙歴を有する男性1,200人、女性1,000人を対象としたCT検診の臨床試験では、年齢や喫煙量を調整した上でも、喫煙女性は喫煙男性の2.7倍の肺がん罹患率であった⁶⁾。これらの結果は、喫煙は女性の方に圧倒的に高いリスクになることを示している。

【考察】

悪性新生物の発症や死亡において、各種統計指標は男性の方が女性より発がんリスクが高いことを示しており、この背景として主に男女間の喫煙状況の違いが考えられた。しかし、喫煙歴を調整した疫学研究においては、女性の方が男性より悪性新生物に罹患しやすく、喫煙の悪影響も女性のほうが受けやすいことを示唆しており、女性の喫煙を減らすための方策が必要である。

【参考文献】

- 1) 厚生労働統計協会編、国民衛生の動向、Vol.65 (9)、2018/2019.
- 2) 医薬基盤・健康・栄養研究所監修、国民健康・栄養の現状、2018年.
- 3) Wakelee HA, *et al*, *J. Clin. Oncol.*, **25**, 472-478 (2007).
- 4) Dias M, Linhas R, Campainha S, conde S, Barroso A, *Acta. Oncologica*, **56**, 931-935 (2017).
- 5) Risch HA, *et al*, *Am. J. Epidemiol*, **138**, 281-293 (1993).
- 6) Henschke CI, Miettinen OS, *Lung Cancer*, **43**, 1-5 (2004).

分子生命解析学部門

薬物代謝における性差に関する研究：新規分析法の開発

研究員 萩 中 淳

1. 研究概要

【目的】

ワルファリン (WF) とその置換体に対する分子インプリントポリマー (MIP) を多段階膨潤重合法 (multi-step swelling and polymerization) により調製し、その分子認識機構を明らかにする。次に、WF 置換体に対するMIPを前処理カラムとして用いるカラムスイッチングLC-UV法による、血清中のWFの定量法を開発するとともにWFの代謝における性差について検討する。

【方法】

1) WFおよびその置換体に対するMIPの調製と評価

1-1) MIPの調製

ポリスチレン種粒子はソープフリー重合法を用いて調製した。得られたポリスチレン種粒子の粒子径は約 $1\ \mu\text{m}$ であった。まず、膨潤助剤である dibutyl phthalate 0.048 mL, sodium dodecyl sulfate 0.02 g および水 10 mL を超音波振とうにより微分散液滴とし、これをポリスチレン種粒子懸濁液 (0.497 g/mL) 0.02 mL に加え、一次膨潤を行なった。この膨潤は室温で回転数約 125 rpmで行ない、微分散液滴が消失するまで攪拌した (約 15 時間)。なお、微分散液滴の消失は光学顕微鏡により確認した。次に、重合開始剤である V-65 0.1875 g、希釈剤である toluene 2.5 mL、水 12.5 mL および懸濁安定剤である 4.8 % polyvinyl alcohol 溶液 10 mL を超音波振とうにより微分散液滴とし、これを一次膨潤液に加え、二次膨潤を行なった。この膨潤は室温で回転数約 125 rpmで行ない、微分散液滴が消失するまで攪拌した (約 2 時間)。次に、鋳型分子である WF およびその置換体、機能性モノマーである 4-vinylpyridine、架橋剤である ethylene glycole dimethacrylate 2.5 mL、水 12.5 mL および 4.8 % polyvinyl alcohol 溶液 10 mL を超音波振とうにより微分散液滴とし、これを二次膨潤液に加え、三次膨潤を行なった。この膨潤は室温で回転数約 125 rpmで行ない、微分散液滴が消失するまで攪拌した (約 2 時間)。次に、この膨潤液を回転数約 160 rpm で攪拌しながら、アルゴン雰囲気下で 50°C で 24 時間重合を行なった。鋳型分子を用いないで同一条件下で調製したノンインプリントポリマー (NIP) も調製した。得られたポリマーを methanol、水および tetrahydrofuran で洗浄後、ガラスフィルターを用いてろ過し、乾燥した。

得られたポリマーをスラリー溶媒である methanol - 2-propanol (2:1, v/v) 混液中に加え、超音波を用いて分散させた後、充填溶媒に methanol および水の混液を用いて、 $100\ \text{kg}/\text{cm}^2$ の定圧でステンレス製カラム (50 mm \times 4.6 mm ID あるいは 10 mm \times 2.0 mm ID) に充填した。

1-2) MIPの評価

移動相にリン酸緩衝液とアセトニトリルの混合溶媒を用いて、MIPの保持能および分子認識能をLCにより評価した。なお、MIPの分子認識能の評価には、保持係数 (k) の比で定義したインプリント係数 ($IF = k_{\text{nip}}/k_{\text{nip}}$) を用いた。

2) カラムスイッチング LC-UV法による血清中のWFの分析

前処理用カラムに MIPbwf (10 mm×2.0 mm ID)、前処理用移動相に 5 mM ギ酸アンモニウムを含む水/アセトニトリル、分析用カラムに Cosmosil 5C18-AR-II (150 mm×2.0 mm ID)、分析用移動相に 0.1 vol% ギ酸を含む水/アセトニトリルを用い、ヒト血清中の WF の分析を検討した。

【結果および考察】

1) WFおよびその置換体に対するMIPの評価

WFとその置換体である4'-chlorowarfarin (4'-chlorowarfarin, CWF)、4'-bromowarfarin (BWF)、4'-methylwarfarin (MWF) および4'-nitrowarfarin (NWF) に対する分子鑄型ポリマー (それぞれ MIPwf、MIPcwf、MIPbwf、MIPnwf および MIPnmf) を調製した。調製した MIP は酸性の移動相 (pH 2.5) 中に比し、中性の移動相 (pH 6.1) 中において WF およびその置換体に対して、高い保持能および分子認識能を示した。MIPcwf を除いて、いずれの MIP においても 5 つの溶質のうちで NWF が最も大きな保持を与えた。また、WF に対する IF は、MIPwf より他の MIP において高値を示した。鑄型分子として用いた溶質のそれぞれの MIP における保持 $[\log(k_{mip} - k_{nip})]$ を $\log P$ およびハメットの置換基定数 (σ_p) をディスクリプターとして重回帰分析を行ったところ、良好な相関 (決定係数 $R^2 = 0.99$, $F < 0.05$) が得られた。これらの結果は、MIP における WF、CWF、BWF、MWF および NWF の保持および分子認識には、形状認識に加え、水素結合あるいはイオン相互作用、疎水性相互作用および π - π 相互作用が重要な役割を果たしていることを示唆している。

2) カラムスイッチング LC-UV法による血清中のWFの分析

前処理用カラムに MIPbwf を用いることにより、鑄型分子の漏出による定量への妨害を回避できた。次に、カラムスイッチング LC-UV 法によるヒト血清中の WF の分析法バリデーションを行った。WF 濃度 0.020~10 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で作成した検量線 (重み、 $1/x$) は、 $y = 16254x - 89.206$ ($R^2 = 0.9993$) であった。WF 濃度 0.060, 5.0, 7.5 $\mu\text{g/mL}$ における回収率を評価したところ、回収率は 88.9~99.5% であり、相対標準偏差は 0.83~3.6% であった。また、WF 濃度 0.020, 0.060, 5.0, 7.5 $\mu\text{g/mL}$ における真度および精度を評価したところ、日内および日間の真度はそれぞれ 87.6~112% および 91.1~112% であり、精度はそれぞれ 0.40~12% および 5.7~11% であった。今後、WF 投与後の血清中濃度の定量を検討する予定である。

【結語】

多段階膨潤重合により WF とその置換体に対する MIP の調製が可能であり、前処理用カラムに MIPbwf を用いることによりカラムスイッチング LC-UV 法によるヒト血清中の WF の定量が可能であった。

分子生命解析学部門

遺伝子変異に基づく女性特有症状・疾患を改善するための教育研究

研究員 村田 成 範

1. 研究概要

【目的】

我々の研究室では10年ほど前から遺伝子検査普及に向けた簡便かつ安価な遺伝子検査技術の開発を続けてきた。昨年度までに開発した幾つかの教育ツールを用いて、若年層への教育プログラムを実施してきているが、医療・健康のための遺伝子情報利用を一般市民に対して普及できるのは、医者でも看護師でも臨床検査技師でもなく、薬学の使命であると信じている。

本年度は、「ジェンダー・バイオサイエンス」に基づく遺伝子教育を新たに開発することとした。所属研究室では既に女性スポーツ選手における障害と遺伝子タイプに関する研究・教育実績があるが、一般女性に向けて情報発信できる教育ツールの必要性を感じていた。その折に、*Japanese GWAS identifies variants for bust-size, dysmenorrhea, and menstrual fever that are eQTLs for relevant protein-coding or long non-coding RNAs. T.Hirata et. al., Scientific Reports 2018, 8:8502.* という報告があった。この論文により、日本人女性に特有な症状をゲノムワイド解析から抽出することが可能となったため、幾つかの症状の中から、自分自身あるいは身の回りの人の体質に関係するような、身近なテーマを選出した。教育効果としては、遺伝子検査を実生活に活かすための予備知識を得ることと、その過程で科学的な考察力を養い、生活の改善に向けた行動力を喚起すること、の2点があると考えた。選出した候補遺伝子は、1番染色体のNGF遺伝子近傍(rs12030576)および2番染色体のIL-1A遺伝子近傍(rs80111889)であり、月経痛の重症度に影響する。NGFは月経痛の痛みの強さと関連している。IL-1Aは炎症性サイトカインをコードし、プロスタグランジンの生産を促すことが知られている。プロスタグランジンは月経痛の主な原因であり、子宮を収縮させ陣痛を引き起こすホルモンである。更に、IL-1Aは子宮内膜症との関連が強いことも報告されており、自身の一塩基多型を知ることで子宮内膜症の予防にも繋がる可能性がある。

ただし、上記論文以前の研究で関連性を探索された変異とは異なる、近傍の部位が候補として挙がってきており、論文の中では遺伝子変異と表現型の関係性には言及しないため、検出用キットなどは今のところ販売されていないようである。本研究ではまず、月経痛とSNPsの相関性について検証することを目的とし、健康な女性を対象に実証研究を実施した。

【方法】

匿名の被検者20名から採取した唾液（ヒト口腔粘膜細胞を含む）検体は、水溶紙（120MDP, 日本製紙パピリア株式会社）に塗布したのち、十分に乾燥させたものを使用した。水溶紙を直径 2mm にパンチしたものを直接PCRチューブに投入し、反応液を調整した。PCR増幅産物を確認後、制限酵素処理を行い、アガロースゲル電気泳動により解析した。また、月経痛に関するアンケートを実施し、

遺伝子解析との相関関係を解析した。各サンプルとアンケートは番号のみで管理し、個人情報を取り扱っていない。

【結果と考察】

1. 遺伝子解析の結果

IL-1A遺伝子近傍のSNPについてRFLP解析を実施した。20サンプル中16サンプルで明瞭な結果を得ることができた(図1)。高校などでの出前実験でも、サンプルからの遺伝子解析実験が可能になった。NGF遺伝子近傍のSNPについては、PCR増幅産物の確認段階で、ラダー状のバンドが多数検出されたため、RFLP実験まで至らなかった(図2)。プライマー近傍の配列解析をしたところSNP下流すぐにAlu配列が存在していた。特異的なプライマーを設計できる領域を選定し、かつRFLPで分離解析可能

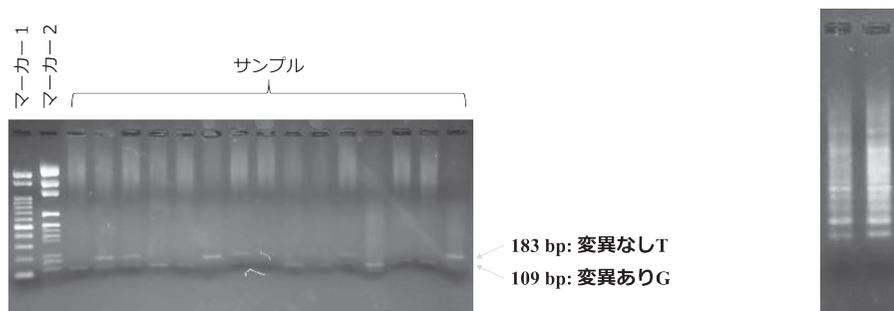


図1 IL-1A遺伝子近傍SNPのRFLP解析結果 図2 NGF遺伝子近傍SNPのPCR増幅後

な実験系を模索中である。

2. アンケートとの相関関係

アンケート項目は、月経期間、痛みの程度および時期に関して設定したが、今回は痛みの程度の強

| アンケート結果と χ^2 検定結果 | | | |
|--|----------|----------|------|
| 変異有無/遺伝子型 | 痛みを感じにくい | 痛みを感じやすい | 計(人) |
| 変異あり/GG | 3 | 4 | 7 |
| 変異なし/TT | 5 | 1 | 6 |
| ヘテロ/TG | 1 | 2 | 3 |
| 不明瞭なバンド | 4 | 0 | 4 |
| 計(人) | 13 | 7 | 20 |
| χ^2 検定の結果 $\chi^2=2.9388$, $df=2$, $p>0.05$ より関連性は見られなかった | | | |

弱のみを表現型として分類した。

生理痛に関するアンケートと遺伝子タイプの関連性は統計的に有意にはならなかったが、一定の傾向は見られた。サンプル数が明らかに少なすぎるため、今後倫理委員会の審査を経て、数百人規模での解析を実施したい。本年度の公開セミナーでも紹介されていたが、生理痛などの月経に関わる諸症状を一人で抱え込むことなく、専門家に相談することで対処できる例が増えている。本遺伝子検査を端緒として、自身の体調管理に役立つ教育ツールとして活用していく予定である。

生命化学解析学部門

アスコルビン酸の新規機能探索

研究員 土 生 敏 行

1. 研究概要

【目的】

ヒトを含む霊長類等ではアスコルビン酸合成に関わる酵素Gulonolactone oxidase (*Gulo*) は類似した対立遺伝子の非存在下で進化的に欠落し、その代償として食物より摂取することになったと考えられている。その欠落形態より、RNAのスプライシング部位に高度に変異が入ることでRNAの成熟が不完全になりGuloタンパク質の合成を妨げていることも明らかになっている。

アスコルビン酸は、抗酸化作用を示し、コラーゲンの生合成過程におけるヒドロキシル化によるその成熟に関わっていると考えられ、それが壊血病の主原因になっていると考えられている。近年の研究により、エピジェネチック制御に関わるヒストンやDNA脱メチル化反応における酸化された鉄分子の還元反応にアスコルビン酸が関わっており、効率的な反応維持促進に関わっていると考えられている。その他にも酸素付加酵素群で酸化される補因子である鉄分子の還元反応に重要であると考えられ、生体内におけるその必要性が注目されつつある。

本研究では、アスコルビン酸生合成可能なマウス個体での、Gulo酵素の発現に注目し、その発現部位を明らかにすること、また遺伝子編集によりgulo遺伝子破壊マウス作成によるその表現型解析より、アスコルビン酸を要求する組織部位を明確にし、その機能探索を行うことを目的とした。

【方法】

1. アスコルビン酸合成酵素Gulo酵素タンパク質に対する抗体作成

マウスGulo cDNAをマウスNIH3T3細胞由来total RNAより合成し、GST及びHis tagを付加したplasmidを作成し、大腸菌で組換えタンパク質を合成した。不溶化タンパク質をアクリルアミドゲルより回収精製し、これを抗原としてウサギに免疫し、抗Guloウサギポリクローナル抗体を得た。抗血清をproteinAカラムにより精製後、PBSに対して透析し、これを抗Guloポリクローナル抗体として使用した。抗体の評価には、マウスNIH3T3細胞全タンパク質及び、Flag-tagged Guloを発現したNIH3T3細胞抽出液を用いて特異性及び抗体力価を測定した。

2. マウス組織染色

抗マウスGuloポリクローナル抗体を用いてマウス臓器をパラフィン包埋により検討し、成体マウス各種臓器及び胎児発生段階マウスを用い標準的免疫染色を行った。

3. gulo欠損マウスの作成

マウスgulo遺伝子座第三エクソン領域に相補な21ntのguide RNAはIDT社に受託合成により作成した。またCRISPRタンパク質 (Thermo社) とguide RNAを混合後、C57BL/6NcrSic由来受精卵に打ち込み、偽妊娠マウスに戻すことで仔マウスを得た。得られたマウスの遺伝型をgulo遺伝子座領域の配列決定により行った。得られた数種のマウスのうち、第三エクソン領域を部分的に欠損したマウスを交配に用い、生殖系列での伝播を確認した。これをfounderとし、その後発現解析により部分欠損型gulo遺

伝子発現を確認した。4世代の野生型C57BL/6NCrSic (SLC社) との交配により、off-target効果による非特異的な変化を消去した。これをguloヘテロ接合体欠損マウス (*gulo*^{+/-}) として、交配によりホモ接合体欠損マウス (*gulo*^{-/-}) を得た。

4. *gulo*欠損マウスの表現型解析

ホモ接合体欠損マウス (*gulo*^{-/-}) をアスコルビン酸不含エサを20日間投与により、体重変化率30%を基準にし、脱毛等の外的変化に基づいてアスコルビン酸欠損とし、各種臓器の変化を観察した。

【結果及び考察】

全身の各組織を組織免疫染色により、その発現を調べた結果、肝臓や腎臓で一様に染色され、発現が高いことが分かった。一方、他の組織では、上皮系細胞でその発現が確認でき、皮膚は上皮系細胞群が層状に高い発現を示すことが分かった。その他、精巣、卵巣に含まれる生殖細胞群、脳海馬の細胞群、皮膚毛乳細胞群などの上皮系以外の細胞群でも発現を確認できた。

皮膚上皮での発現に着目し、解析した結果、3層からなる最外上皮層の細胞群で高発現しており、上皮系の分化マーカーであるケラチン15タンパク質発現と同様な発現様式であることが分かった。また毛乳頭細胞群で高発現しており、毛の発生に関与している可能性が示唆された。一方、一昨年角膜上皮細胞の制御に関わると考え、その発現様式を報告したが、詳細な条件検討により、その発現は発現があっても非常に低い、もしくはバックグラウンドレベルで、その発現の意義を解析できるものではないと判断した。

これらを基に*gulo* KOマウスの表現型を観察したところ、肝臓での特異的組織サイズの低下、さらにそのサイズの低下がオートファジー誘発であることが明らかとなった。アスコルビン酸不足に伴うオートファジーの誘発の機構は明らかではないが、HIF遺伝子もしくはタンパク質発現の誘導が観察され、アスコルビン酸が関与する酸素付加酵素群の鉄補因子還元反応との関連性が示唆された。皮膚上皮系では、3層からなる最外上皮層の細胞群の細胞数の低下、最終的には3層から単層へ変化していること、さらに分化マーカーであるケラチン15タンパク質の発現の消失が観察された。このことより、毛母細胞から毛乳頭細胞への分化もしくは、上皮細胞の毛包細胞への分化にアスコルビン酸機能が重要であることを示唆している。

生命化学解析学部門

糖質コルチコイドのエネルギー代謝作用に関する基礎的検討

研究員 森 山 賢 治
共同研究者 二 若 久 美

1. 研究概要

【目的】

糖質コルチコイド (Glucocorticoid) は、抗炎症作用や免疫抑制作用を有していることはよく知られた事実である。一方、慢性的な糖質コルチコイドの摂取により、クッシング症候群などの肥満を助長することなどより、成人において重要なエネルギーの代謝調節を行っている。これとは逆に、成人で糖質コルチコイドが不足すると、タンパク代謝や電解質代謝をはじめ各種代謝に影響が及び、副腎クリーゼなどの重篤な症状を惹起することが報告されている。糖質コルチコイドのこれらの作用は、核外作用も報告されているものの、その多くは糖質コルチコイド受容体 (Glucocorticoid receptor : GR) を介した作用が一般的によく知られている。糖質コルチコイドには、上記の通り免疫抑制作用が知られており、この作用の多くは遺伝子の発現抑制であるとされている。遺伝子の発現抑制には、negative glucocorticoid response elementが関与しているとされている^{1,2)}。これらの作用は、エネルギー代謝にも直接作用している可能性が示唆される。既報では、糖質コルチコイドを投与したマウスの骨格筋や脂肪組織において、エネルギー代謝調節に関与する遺伝子として知られているミトコンドリア脱共役タンパク質 (Uncoupling protein : UCP) の発現量が低下すると報告されているが、詳しいシグナル伝達経路や分子メカニズムは明らかになっていない。UCPにはUCP1~5のアイソフォームが存在し、それぞれ部位特異的に発現している。その中でも、UCP1~3はエネルギー代謝に直接寄与していると示唆される。そこで本年度の研究では、エネルギー代謝の中心的な役割を担っているUCP1~3の糖質コルチコイドによる発現調節に注目して検討を行った。

【方法】

In vitro : GRによる転写活性を検討するため、ヒト胎児腎細胞 (TSA201細胞) にUCPsレポータープラスミド、GR発現プラスミド、内在性コントロールプラスミドを遺伝子導入し、ルシフェラーゼアッセイを行った。次に、UCP1-promoter cut constructsを用いて、同様の方法でGRのコンセンサス配列の検討を行った。グルココルチコイドとしてはデキサメタゾン (Dex) を用いた。濃度は、薬理量とした。

In vivo : 医薬品として汎用される糖質コルチコイド成分の1つであるDexを強制経口投与し、体重や血糖値、脂質濃度、呼吸商の変化を測定することでエネルギー代謝に及ぼす影響を検討した。対象は、7週齢のC57BL/6雄性マウス (1週間馴化) に、コントロールとして標準飼育用飼料、あるいはD12451 (45kcal%Fat含有 高脂肪飼料) で10週間飼育した。デキサメタゾンは、コーンオイルに混じて強制経口投与 (投与量は、先行実験・既報を参考に8.0mg/kg/dayと設定した³⁾)。10週間の飼育期間中は、自由摂取させ、毎週体重、ならびに摂餌量、酸素消費量と二酸化炭素排出量を10分間もしくはそれ以下の時間帯で、気密性のある容器で個別飼育用ケージ全体を密封して酸素と二酸化炭素を検知管により測定した。10週間飼育後、イソフルラン麻酔下で下行大動脈より全採血し安楽死させる。直

ちに肝臓、褐色脂肪、腹部内臓脂肪、下腿骨格筋などの採材を行った。

【結果】

デキサメサゾンとは、濃度依存的にUCP1、UCP2の転写活性を抑制したが、UCP3は抑制しなかった。今回は、まずUCP1で検討を開始した。プロモーターのカットコンストラクトを2268bp、1270bp、724bp、503bpで作成して検討したところ、いずれのコンストラクトにおいても転写活性が抑制された。したがって、UCP1の503bpのcut constructsでそれ以降の検討を行った。503bpの中には、コンセンサ配列の候補が15カ所認められた。現時点で、その内、deletionの導入が可能であった9カ所で検討したところ、303bp他、3カ所で10%程度の活性の回復が認められた。

動物の酸素消費量と二酸化炭素排出量を計測したところ、Dex投与群において酸素消費量には変化を認めないものの、活動期である夜間の二酸化炭素排出量では、低下傾向を認めた。

【考察】

GRがUCP1、2遺伝子の発現を負に制御している可能性が示唆された。また、ルシフェラーゼアッセイの結果から、UCP1 cut constructsの303bpにコンセンサ配列の存在が示唆された。糖質コルチコイドの影響は、発生や免疫調節機能を調整、薬理量では抑制されることが明らかになっている⁴⁾。Dexは、核内においてGRの二量体としてnGREに結合することが判っている。nGREは、免疫に関連する遺伝子のプロモーター上では詳細、且つ網羅的にスクリーニングが進められている^{1,2)}。一方、今回、Dexがエネルギー代謝にも関与していることからUCPとの関係を検討した。糖質コルチコイドはUCP1を介してバッファローハンブと、UCP2を介して代謝性の中心性肥満の惹起と何らかの関係を有していることが示唆された。代謝領域におけるnegative regulationについては不詳な箇所が多い。今回、まずはnGREをスクリーニングしてそのコアコンセンサ配列を明らかにしたいと思っている^{3,4)}。

現在までのところ、肥満動物モデルにおいても、それらの変化を検証している。現時点までで有意な結果は得られていない。

以上、本研究のこれまでの結果より、Dexは白色脂肪細胞・組織にUCP1の発現を抑制することで、褐色脂肪に質的、量的な変化を来している可能性が示唆された。

【参考文献】

- 1) Gjerstad JK., et al., *Stress*. 21 (5) :403-416. 2018.
- 2) Santos GM., et al., *Trends Endocrinol Metab*. 22 (3) :87-93. 2010.
- 3) Li J, et al., *Acta Pharmacol Sin*. 9:472-481. 2018.
- 4) Viengchareun S., et al., *Am J Physiol Endocrinol Metab* 280 (4) ; 640-9, 2001.

生命化学解析学部門

アルテミア（雌雄）水和乾燥卵の乾燥耐性と 内在性トレハロース含量の推移

研究員 吉 田 徹

1. 研究概要

【背景及び目的】

本研究は、バイオサイエンス研究所の特定研究「ジェンダー・バイオサイエンス」の分担研究テーマとして、「水生節足動物アルテミアの性差とその乾燥耐性メカニズム」を取り上げ、この生物が有するユニークな生物学的特徴を構成する要因について探求していく。具体的には、極限環境生物の一種であるアルテミアの乾燥耐久卵が、様々な外界ストレスに極めて強い耐性を示すことから、その耐性メカニズムの仕組みを、熱分析手法によって解明していくことを主な目的とする。また、アルテミアの性差による生物学的特徴についても調査していく。

自然界には、高温高圧や超低温、あるいは強い電離放射線などの極限環境ストレスに対して、クリプトビオシス（休眠状態）に入ることによって、著しい耐性を示すことが出来る極限環境生物が知られている。こうしたクリプトビオシスを示す生体内部は、常温ガラス化状態にあることが示唆されており、極限環境生物がどのようにして常温ガラス化状態を導入するのか、またそのために必要な分子の同定が試みられている。一般に溶液状態にある細胞が、凍結や乾燥によって脱水されると、細胞内部に残留する溶液成分が結晶化してしまうことが多い。細胞溶液が結晶状態になると、生体分子の有機的配置を保持出来ず、細胞は大きなダメージを受ける。冷凍された食材食品が解凍によって起こるドリップ現象や、スルメのような乾燥食品で経験する味や品質低下は、まさにこのような状況を示している。一方、本研究が目指している常温ガラス化は、いわばゴムが固まったように、液体状態の分子配列を保ったままの状態を保存しており、細胞内部の微細構造を破壊させずに固化させることが原理的に可能となる。しかしながら、極限環境生物による耐性メカニズムの研究は、まだ端緒に終わったばかりであり、日本における研究者人口が少ない上、分子的な解明が非常に遅れている。本研究は、このような先駆的分野のバイオサイエンスを展開していくため、アルテミアの乾燥耐久卵を段階的に水和させ、乾燥ストレスに感受性をもった一連の水和卵をモデル系として作出した。こうした水和卵を対象に、各種方法によって乾燥後の実効孵化率を評価することによって、常温ガラス化の至適条件を調べ、持続可能な食糧資源あるいは生物資源の新しい保存方法を開拓していく。

【方法】

本研究では、まずアルテミアの乾燥耐久卵を海水で0時間から最大24時間予め水和させておき、3日間の減圧常温乾燥またはシリカゲル送風乾燥による乾燥ストレスに被曝させた後、アルテミアの孵化数を調査した。乾燥耐久卵は直径が0.2mmであり、特注のシードスプーンの凹み部分を利用して、再現性よく220個程度を計量している。乾燥後の孵化率測定については、念のため標準孵化時間の2

倍にあたる48時間後に計測を行った。内在性のトレハロース、各種糖質、グリセロール含量の測定は、アルテミアの乾燥耐久卵 1gを海水で0時間から24時間水和させた後、80%エタノール中で破碎し、その上清をエバポレートしたものを蒸留水に再溶解させ、カラム精製後に0.6ml/minでHPLCによる分析を行った。

【結果及び考察】

まず、アルテミアの乾燥耐久卵の実験で、一般に使用されるマイクロチューブのような閉鎖管を使った水和実験を行ったところ、水和時間の延長に伴い、緩やかに乾燥後の孵化率が減少していく結果が得られた。特に、水和6時間以上でも孵化率が50%程度を維持したことが特筆に値する。しかしながら、標準的な孵化時間にあたる水和24時間でも一定の孵化率が得られたことは、アルテミアの発生自体が遅延している可能性が示唆された。このため、孵化瓶などの開放管を使って水和実験を改めて実施した。その結果、アルテミアの孵化率は、水和3時間で約25%前後に急減し、その後は急激に減少し、水和6時間で孵化率は約5%、水和24時間後の孵化率は確認されなかった。この開放管による孵化率の結果は、アルテミアの標準的な生活史に矛盾しないものである。一方、HPLCによる水和乾燥卵内部のトレハロースや、各種糖類、グリセロールなどの含有量を測定した結果と比較したところ、水和3時間前後で内在性トレハロース含量の大きな低下が認められ、その後のアルテミア水和乾燥卵の乾燥耐性維持と、内在性トレハロース含量の相関関係が示された。従って、HPLCによる内在性トレハロース含量の変化は、閉鎖管による孵化率データではなく、開放管による孵化率データの動きとよく一致していることが判明した。以上より、水和時期のアルテミア胚発生が、開放管では良好に進んでいるものの、閉鎖管ではエアレーションや他の揮発性因子の存在によって遅延している可能性があり、トレハロース加水分解酵素などの発現が遅れたことが影響していると考えられる。今後は、アルテミア水和乾燥の孵化率減少とトレハロース含量と関連づけを受けて、示差走査熱量測定による詳しい熱分析を行い、孵化率が維持できた個体のガラス化状態の有無について詳しく調べていきたい。また、アルテミアの性差特徴についても合わせて探求していく方針である。これらの知見を総合的に加味した上で、食品資源や生物資源に対する常温ガラス化保存技術に応用したいと考えている。

研究所 助教

Methoxymethyl基を有するベンゼン化合物のFAB条件下における $[M-H]^+$ の生成機構

竹山（堀山）志朱代

1. 研究概要

【目的】

質量分析法におけるイオン化法のうち、ソフトなイオン化法の一つであるFast atom bombardment (FAB) 法は、主に試料イオンのシグナルとしてプロトン付加によるプロトン付加分子： $[M+H]^+$ が出現する。しかし、試料の構造に応じて正イオンにおいて M^+ や $[M-H]^+$ が得られる¹⁻³⁾。

著者は、ある種の官能基で誘導体化された単糖(化合物A)の正イオンFAB測定において出現した $[M-H]^+$ の生成メカニズムの解明を目的とし、前回、化合物AのOH基がアセチル化された化合物Bおよびアグリコンの1-methoxy-4-methoxymethyl benzene (MMB) についてFAB測定を行い、 $[M-H]^+$ 生成には、MMBが寄与することを明らかにした。

今回は、MMBの構造を基に、 $[M-H]^+$ の生成経路を検証するため、MMBの重水素化体を合成し、詳細解明を試みた。

【方法】

測定：FAB; JMS-700 (JEOL) 質量分析装置, 衝突ガス; Xe, FAB電圧; 5 keV, 加速電圧; 10 kV. マトリックス; glycerol.

試料：1-methoxy-4-methoxymethyl benzene (MMB); $C_9H_{12}O_2$, M_r 152. deuterated MMB; $C_9H_{10}D_2O_2$, M_r 154.

密度汎関数法：calculation system; Material studio 2018 (BIOVIA), density functional theory (DFT) calculation; DMol³ Module

【結果・考察】

Paul らは、cyclic acetal構造を有する2-phenyl-1,3-dioxolanesの $[M-H]^+$ の出現についてFAB法以外のEI法、CI法を用いてメカニズムの検討をおこない¹⁾、Takayamaは、tetrahydrofuranなどの脂肪族ヘテロ環化合物が $[M-H]^+$ を与えやすい構造であることを明らかにしている²⁾。我々は、MMBの正イオンFAB測定を行い、そのマススペクトル (Fig.1a) に $[M-H]^+$ m/z 151が出現したことから、この生成経路は、MMBのエーテル酸素への H^+ 付加と、それに続く H_2 脱離から生じたイオンであると推察した。そこで、エーテル酸素に隣接する CH_2 の重水素化体を合成し、正イオンFAB測定を行ったところ、 m/z 152が得られた (Fig.1b)。ベンジル位の重水素 (D) を含むHD脱離が示唆されたことから、 d_2 -MMBの m/z 152の生成経路推定した (Fig.2)。次に、その妥当性の評価のため、密度汎関数理論に基づいて電子状態を計算できる密度汎関数法を用いて、MMBにプロトンが近づいた状態からの計算を行った。プロトンがベンジル位のHを引き抜き、 H_2 脱離することで、より低エネルギーの共鳴構造をとること、

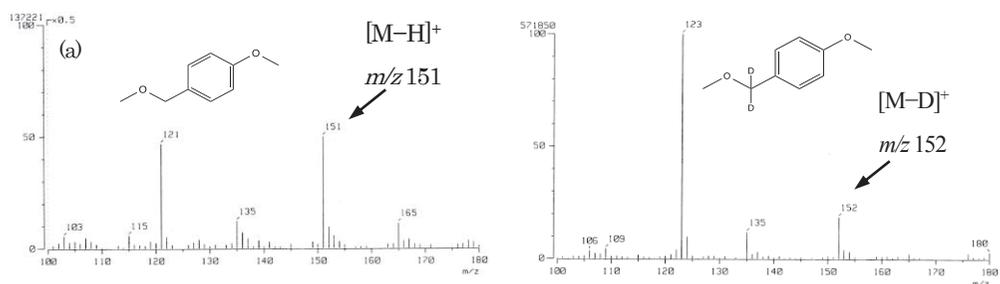


Fig. 1 FAB mass spectra of MMB and d_2 -MMB

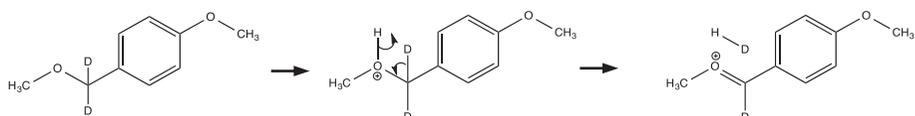


Fig. 2 Estimated production process of $[M-H]^+$

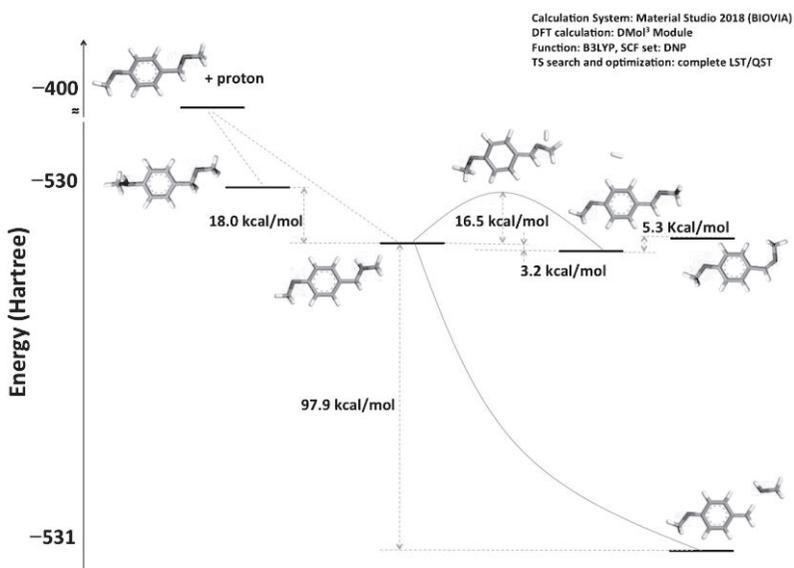


Fig. 3 DFT calculations for the mechanism of dehydrogenation molecule ion formation of MMB

さらにアルコールが脱離する、別の安定な脱離過程が存在することも示唆された。今後は、MMBのメチル基の重水素化を行い、全ての開裂イオンを特定し、 $[M-H]^+$ の生成過程の詳細を検討する。

【参考文献】

- 1) G. J. C. Paul et al., *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **4**, 493-503 (1993).
- 2) H. Nakata and K. Tanaka, *Org. Mass Spectrom.*, **29**, 283-288 (1994).
- 3) M. Takayama, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **44**, 501-530 (1996).

研究所教務助手

飼育サル類やネコにおける 環境エンリッチメントの提案とその応用

落合知美

1. 研究概要

【目的及び方法】

世界中には多くの動物種が生息しているが、それぞれの動物種はその生息地の環境に長い時間をかけて適応し、進化してきている。そのため、生息地とはさまざまな要素が異なる人間社会の中で飼育すると、異常行動や体調不良などさまざまな問題が引き起こされることが明らかになっている。野生から導入され、まだ数代しか経ていない動物園の野生動物種はもちろんのこと、長年の間、人為選択などを経てヒトの環境に適応させてきた家畜や愛玩動物においても、環境に必要な要素が不足するために、疾病や問題を引き起こすことが知られている。

環境エンリッチメント (environmental enrichment) とは、「動物福祉の立場から、飼育動物の“幸福な暮らし”を実現するための具体的な方策」のことである。人間社会の中で作られた飼育環境は、動物たちが長年かけて適応してきた本来の生息地の環境と比較すると、どうしても狭く、単純で、変化が少ないものになりがちである。そこで、こうした飼育環境に工夫を加えることで、環境 (environmental) を豊かで充実 (enrich) したものにすることを試みが必要となる。環境エンリッチメントの思想のもととなるのは「動物福祉」であるため、動物飼育を否定するものではない。動物の生活の質 (QOL) に配慮し、環境に工夫を加え、科学的評価をおこないながら、その修正を加えていく。生息地や野生本来の行動、動物種としての形態や行動的特徴などについて情報を収集し、環境エンリッチメントの提案をおこない、その結果を科学的に評価することで、よりよい飼育環境作りをおこなう。

本研究では、近年「完全室内飼育」が推奨されるようになったイエネコを対象として、ネコカフェやネコを室内飼育する家庭での行動調査をおこなった。また、動物園関係者と協力して、宇部市ときわ動物園で飼育されているトクモンキーとシシオザルを対象に、下痢、痩身、採食量の偏りなどの問題に関わるデータの分析をおこなった。また、動物園での環境エンリッチメントの実情を調査し、その教育効果を探るため、大阪市天王寺動物園において来園者が記録した動画の収集を試み、動物園で実施されたエンリッチメントの行動目録作りを目指した。

【結果及び考察】

室内ネコの行動観察を実施した結果、ネコが安心できる高い場所 (プラットフォームなど)、行き来できる動線 (キャットステップなど)、変化があり動くもの (おもちゃなど) が足りていないことが明らかになった。完全室内飼育の場合、飼い主のヒトと多くの空間を共有することとなる。ネコはその生態から、見晴らしの良い高い場所、身をひそめる隠れる場所、狩りをするひらけた場所を必要とするが、それぞれの空間がヒトの「物を落とす」「隠れて出てこない」「いたずらをする」などの理由で利用できなくなっていることが多かった。またネコカフェにおいては、キャットタワー設置が確認

されたが、飼育頭数に対して個数はじゅうぶんと言えず、優位な個体がお気に入りの場所を独占する傾向が見られた。日本において、ネコの完全室内飼育が推奨されるようになったのはこの10年ほどのことなので、動物福祉の視点での対策がじゅうぶんでないことが明らかになった。

動物園で飼育されているトクモンキーとシシオザルについての調査においては、採食内容の変化と採食方法の変更により、体重の個体差が減少し、糞便の状態が良くなるなどの変化が観察された。これらについては学会発表をおこなったが、今後より科学的な分析をおこない論文にまとめていく予定である。

動物園での環境エンリッチメントの実情調査では、週に1から5回の頻度で訪問する来園者などの協力を得ることができた。これらの来園者は、その動物のその日の飼育担当者や環境エンリッチメントのスケジュールや今後の予定などを把握しており、記録としてエンリッチメント後の動物の写真や動画を撮影していた。それらは貴重な資料になると推測されるが、テーマや条件を絞って収集する必要があるため、今後、どのようにそれらの動画を収集、管理していくかが問題となっている。

本研究は、平成29年度「NAS（ネットワークHDD）を利用したエンリッチメント目録の作成」として京都大学野生動物研究センター共同利用・共同研究（2017-自由A-34）および、平成30年度「飼育下霊長類における採食エンリッチメントの分析と検討」として京都大学霊長類研究所共同利用・共同研究（H31-B71）の助成を受けた。

作成および更新しているホームページは以下の通り。

バイオサイエンス研究所のホームページ <http://www.mukogawa-u.ac.jp/~bsk/>

動物実験委員会のホームページ <http://www.mukogawa-u.ac.jp/~animal/>

武庫川女子大学 バイオサイエンス研究所 公開セミナー

特定研究「ジェンダーバイオサイエンス」に基づき、今回「性差医療(女性医学)」をテーマとして、講演会を開催します。

参加無料
申込不要

2018年

10月20日 土 13:00-15:00

武庫川女子大学 中央キャンパス L2-23教室

(兵庫県西宮市池開町6-46)

江川美保先生 京都大学大学院医学研究科 助教

「月経前症候群(PMS)を知り、自分をいたわる ～セルフ・モニタリングのすすめ～」

月経前症候群は月経前の数日間にさまざまな心と体の症状が繰り返し現れる病態ですが、月経のあるどの年代でも比較的高頻度に認められ、学業、仕事や対人関係に支障をもたらすこともあります。その対策の第一歩は「知る」こと、「気づく」こと。PMSへの正しい理解を通して、自分を大切にすることを一緒に考えてみましょう。



甲村弘子先生 医療法人 フラウエン こうむら女性クリニック 院長

「女性のからだとホルモンバランス ～女性アスリート外来から～」

近年女性アスリートの活躍には、目を見張るものがあります。しかし激しい運動が生殖機能に様々な影響を及ぼすことが明らかになってきました。スポーツの成績を上げることも大切ですが、将来の妊娠出産のことも配慮して早めの対応が必要です。ホルモンバランスを整えて、月経痛を取り除き、月経不順を乗り越え、快適な日常を過ごすコツをお話しします。



お問い合わせ

主催：武庫川女子大学 バイオサイエンス研究所

yakuz@mukogawa-u.ac.jp

TEL: 0798-45-9931 (薬学部事務室)

バイオサイエンス研究所 研究発表会

平成30年度 バイオサイエンス研究所研究発表会を下記のとおり開催いたします。
多数ご参加下さいますよう、お願い申し上げます。

- ◇ 日時：2019年 3月4日 (月) 14:00~16:40
- ◇ 場所：薬学部 総合薬学教育研究棟 1階 P5-141教室

プログラム

*発表順、発表時間 12分 (質疑応答含む)

■ 個体生命解析学部門

- 松浦 寿喜 : 性差が医薬品および食品中機能性成分の有効性・安全性に与える影響：
タンパク質消化吸收機能低下ラット実験モデルの開発
- 吉川 紀子 : 細胞の悪性化に対するがん抑制遺伝子 Programmed cell death 4 の
影響
- 義澤 克彦 : 食品由来物質による各種疾患モデルでの予防・治療効果：雌雄差に関する
検討

■ 細胞生命解析学部門

- 伊勢川 裕二 : 感染症を制御・緩和する食品とその成分：MDCK (イヌ腎由来) 細胞に
おけるフラボノイド類の抗インフルエンザ効果
- 高明 : 新規天然薬用植物及びその含有成分の生活習慣病に対する予防、治療
効果と作用メカニズムの解明
- 蓬田 健太郎 : 閉経後骨粗鬆症の発症原因のマウスモデル系による再検討

■ 分子生命解析学部門

- 高橋 悟 : 血管系に対する女性ホルモン作用の性差比較
- 西川 淳一 : 疾病に及ぼす性差の影響
- 萩中 淳 : 薬物代謝における性差に関する研究：新規分析法の開発
- 村田 成範 : 遺伝子変異に基づく女性特有症状・疾患を改善するための教育研究

■ 生命化学解析学部門

- 土生 敏行 : アスコルビン酸の新規生理機能探索へ向けて
- 森山 賢治 : 糖質コルチコイドのエネルギー代謝作用に関する基礎的検討
- 吉田 徹 : アルテミア (雌雄) 水和乾燥卵の乾燥耐性と内在性トレハロース含量の
推移

■ 総括 萩中 淳

主催：武庫川女子大学 バイオサイエンス研究所
お問い合わせ先：武庫川女子大学 薬学部事務室
ダイヤルイン：0798-45-9931 内線：72-421, 423

緑茶のタンパク質消化吸収への影響

中村衣里, 武田瑞季, 松浦寿喜
第57回日本栄養・食糧学会 近畿支部大会, 奈良, 2018.12.8.

ラット門脈血中アミノ酸濃度を指標としたタンパク質消化吸収評価法の開発

武田瑞季, 中村衣里, 松浦寿喜
第57回日本栄養・食糧学会 近畿支部大会, 奈良, 2018.12.8.

マウスメラノーマ細胞に対するがん抑制遺伝子 Pdc4 ノックダウンの影響

木下恵理子, 吉川紀子, 畑井麻友子, 籠田智美, 篠塚和正, 中村一基
日本薬学会第138年会, 金沢, 2018. 3.25-28.

抗がん剤耐性を獲得したマウスメラノーマ細胞における Pdc4 発現量の比較

西風香那, 後藤美紀, 吉川紀子, 木下恵理子, 畑井麻友子, 籠田智美, 篠塚和正, 中村一基
日本薬学会第138年会, 金沢, 2018. 3.25-28.

Tumor suppressor Pdc4 attenuates delta Np73 translation in human breast cancer cells

Yoshikawa N, Kinoshita E, Hatai M, Kagota S, Shinozuka K, Nakamura K
18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (Kyoto, Japan), 2018. 7.1-6.

Effect of *alpha*, *beta*-unsaturated carbonyl compounds in cigarette smoke extract on the growth of mouse Colon-26 cancer cells

Hatai M, Yoshikawa N, Horiyama S, Kinoshita E, Kagota S, Shinozuka K, Nakamura K
18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (Kyoto, Japan), 2018. 7.1-6.

The effect of tumor suppressor Pdc4 knockdown

on the malignancy of mouse melanoma cells

Kinoshita E, Yoshikawa N, Hatai M, Kagota S, Shinozuka K, Nakamura K
18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (Kyoto, Japan), 2018. 7.1-6.

Characteristics of effects of perivascular adipose tissue on vasodilation in metabolic syndrome rats

Kagota S, Shimari M, Maruyama K, Iwata S, Yoshikawa N, Nakamura K, Shinozuka K
18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (Kyoto, Japan), 2018. 7.1-6.

がん抑制遺伝子 Pdc4 がマウス線維芽細胞の遊走能に及ぼす影響

木下恵理子, 吉川紀子, 畑井麻友子, 籠田智美, 篠塚和正, 中村一基
第68回日本薬学会近畿支部総会・大会, 姫路, 2018. 10.13.

緑茶抽出物誘発ラット肝臓障害モデルにおけるミード酸の抑制効果

竹之内明子, 榎本祐子, 木下勇一, 浜崎景, 螺良愛郎, 義澤克彦.
第34回日本毒性病理学会学術集会, 那覇, 2018.1.25.

INHAND: International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic Criteria for Lesions - An Update - 2018

Global Executive Steering Committee: Charlotte M. Keenan, John L. Vahle, Dawn G. Goodman, Emily Meseck, Ronald Herbert, Alys E. Bradley, Ma tthew Jacobsen, Christine Ruehl-Fehlert, Rupert Kellner, Thomas Nolte, Susanne Rittinghausen, Shim-mo Hayashi, Takanori Harada, and Katsuhiko Yoshizawa.
Society of Toxicologic Pathology, 37th Annual Symposium (San Diego, USA), 2018.6.15.

**緑茶抽出物誘発ラット肝臓障害モデルにおける
キトサンオリゴ糖の抑制効果**

竹之内明子, 義澤克彦, 榎本祐子, 木下勇一,
結城美智子, 塚貴司, 岡本芳晴
第45回日本毒性学会学術年会, 大阪, 2018.7.18.

**キトサンオリゴ糖を用いたN-メチル-N-ニトロ
ソ尿素誘発ラット網膜変性症の抑制効果**

義澤克彦, 竹之内明子, 榎本祐子, 木下勇一,
結城美智子, 塚貴司, 岡本芳晴
第45回日本毒性学会学術年会, 大阪, 2018.7.19.

**新規農薬の毒性病理学的評価のトピック—農薬
評価における毒性病理学専門家の役割**

義澤克彦
第45回日本毒性学会学術年会, 毒性病理学会から
のトピック—レギュラトリーサイエンス—
(日本毒性病理学会合同シンポジウム), 大阪,
2018.7.20.

**Inhibitory effects of chitosan oligosaccharide in
green tea extract-induced rat liver injury model**

Takenouchi A, Yoshizawa K, Emoto Y, Kinoshita Y,
Yuki M, Yuri T, Okamoto Y.
14th International Chitin and Chitosan Conference
& 12th Asia-Pacific Chitin and Chitosan
Symposium (Joint with 32nd Japanese Society for
Chitin and Chitosan Conference) (Suita, Japan),
2018.8.26-29.

沖縄県食品の抗インフルエンザウイルス効果

森本亮祐, 隅谷栄伸, 伊勢川裕二
日本栄養・食糧学会第72回大会, 岡山,
2018.5.11-13.

ハト麦茶の抗インフルエンザ効果

永井栄美子, 中山美有, 伊勢川裕二, 榎本俊樹
日本栄養・食糧学会第72回大会, 岡山,
2018.5.11-13.

サクナに含まれる抗インフルエンザウイルス作

用を示す有効成分の検索

金澤良子, 伊勢川裕二, 森本亮祐
日本栄養・食糧学会近畿支部第57回大会, 奈良,
2018.12.8.

**大豆中成分の抗ウイルス作用による過酸化脂質
産生機構の解明**

堀尾侑加, 吉岡花恵, 森本亮祐, 七里元督, 伊
勢川裕二
日本栄養・食糧学会近畿支部第57回大会, 奈良,
2018.12.8.

**カラハリスイカ由来成分の抗インフルエンザ作
用**

吉岡花恵, 堀尾侑加, 森本亮祐, 横田明穂, 中
島綾香, 鈴木健吾, 伊勢川裕二
日本栄養・食糧学会近畿支部第57回大会, 奈良,
2018.12.8.

**L-シトルリンのインスリン経路増強作用を介し
た抗肥満効果**

工藤麻耶, 吉富久恵, 桃尾麻岐, 勝呂栞, 山岸
淑恵, 高明
第32回日糖尿病・肥満動物学会年次学術集会,
名古屋, 2018. 2. 23-24.

**Evaluation of the Effects and Mechanism of
L-Citrilline on Anti-obesity by Appetite
Suppression in Obese/diabetic KK-Ay Mice and
High-fat Diet fed SD Rats**

工藤麻耶, 吉富久恵, 高明
留日中国人生命科学協会2018年度学術大会, 大
阪, 2018. 10.21.

**女子学生の体組成および体型認識の現状-第2報-
巽都香紗, 岡本彩希, 石井美憂, 大平耕司, 蓬
田健太郎**

第72回日本栄養・食糧学会, 岡山, 2018,5.11-
13.

雄性生殖細胞のアルキル化剤感受性における癌抑制遺伝子p-53の役割

梅内菜々子, 石井美憂, 國谷かおり, 野村佳奈, 蓬田健太郎

第41回日本分子生物学会, 横浜, 2018.11.28-30.

凍結保護剤を使用しない細胞凍結保存法の検討

石井美憂, 梅内菜々子, 小酒美紅, 仲西のぞみ, 奥田華奈, 河内愛子, 蓬田健太郎

第41回日本分子生物学会, 横浜, 2018.11.28-30.

血管内皮細胞の細胞凝集におけるCRIM1の役割

新屋智寛, 高橋悟

日本薬学会第138年会, 金沢, 2018.3.25~28.

Niemann-Pick病Type Cの病態モデル, NPC1欠損細胞の6-O- α -maltosyl- β cyclodextrinによる遊離コレステロールとコレステロールエステルのレベル変化.

岡田安代, 黒岩沙也子, 能井綾花, 近藤悠希, 石塚洋一, 入江徹美, 東大志, 本山敬一, 有馬英俊, 松尾宗明, 檜垣克美, 大野耕策, 西川淳一, 市川厚

日本薬学会第138年会, 金沢, 2018. 3.25-28.

PM2.5中のアンモニウムイオンの効果的除去(第2報).

片岡裕美, 田鶴谷(村山) 恵子, 山下沢, 西川淳一

日本薬学会第138年会, 金沢, 2018. 3.25-28.

医薬品分析のための高選択的検出法および高機能分離法の開発と応用

萩中 淳

日本薬学会第138年会, 金沢, 2018.3. 27. (受賞講演, 招待講演)

ワルファリンおよびそのハロゲン置換体に対する分子インプリントポリマーの調製と評価

久保有沙, 松永久美, 萩中 淳

日本薬学会第138年会, 金沢, 2018.3. 27.

修正沈殿重合法によるルチンに対する分子インプリントポリマーの調製と応用

神路浩美, 升本志津香, 松永久美, 萩中 淳
日本薬学会第138年会, 金沢, 2018.3. 27.

安息香酸およびその置換体に対する分子インプリントポリマーの調製と評価: 分子認識能に及ぼす置換基の影響

中野梨乃, 松永久美, 萩中 淳

日本薬学会第138年会, 金沢, 2018.3. 27.

ワルファリンおよびそのハロゲン置換体に対する分子インプリントポリマーの調製と応用

久保有沙, 松谷千紘, 萩中 淳

第25回クロマトグラフィーシンポジウム, 弘前, 2018.6.14.

Molecularly imprinted polymers for a target compound and its halogenated derivatives and their imprinting effects

Haginaka J

12th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPs12) (Ankara, Turkey), 2018.6.28. (招待講演)

Molecularly imprinted polymers for warfarin, chlorowarfarin and bromowarfarin and their imprinting effects

Haginaka J

2018 Sino-Japanese Symposium on Separation Science (Dalian, China), 2018.7.11. (招待講演)

プロマジンおよびその誘導体に対する分子インプリントポリマーの調製と評価

西村奏咲, 萩中 淳

第31回バイオメディカル分析科学シンポジウム (BMAS2018), 福岡, 2018.8.28.

(S)-および(R)-クマクロールに対する分子

インプリントポリマーの調製とワルファリン誘導体の光学分割への応用

久保有沙, 萩中 淳
近畿支部創設65周年記念講演会, 大阪,
2018.11.2.

ワルファリンおよびその置換体に対する分子鋳型ポリマーおける保持および分子認識機構

久保有沙, 萩中 淳
第29回クロマトグラフィ科学会議, 豊橋,
2018.11.7.

ハイスループットSNPタイピング法の開発

Development and Validation of High-throughput Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Genotyping Method
坂口友唯, 競和佳, 今井美穂, 森次美和子, 村田成範, 木下健司
日本薬学会第138年会, 石川, 2018.3.25-28.

カフェイン含有飲料とCYP1A2遺伝子多型における相関性

坂口友唯, 競和佳, 今井美穂, 山森元博, 村田成範, 木下健司
日本薬学会第138年会, 石川, 2018.3.25-28.

定量的リアルタイムPCRを用いたCYP2D6のコピー数多型解析法の確立

今井美穂, 競和佳, 森次美和子, 坂口友唯, 村田成範, 木下健司
日本薬学会第138年会, 石川, 2018.3.25-28.

Development of high-throughput TaqMan PCR-based CYP2D6 SNP and CNV genotyping without DNA purification

Madoka Kiso, Miho Imai, Miwako Moritsugu, Shigenori Murata & Kenji Kinoshita
78th FIP World Congress of Pharmacy and Pharmaceutical Science 2018 (Glasgow, Scotland), 2018.9.2-6.

薬学生が広げる地域医療の輪 –はまこう団地活性化プロジェクト–

小川優莉奈, 工藤千佳, 原美月, 山内萌枝, 競和佳, 今井美穂, 村田成範, 木下健司
第68回日本薬学会近畿支部総会・大会, 兵庫,
2018.10.13.

GATAファミリーによるミトコンドリア脱共役タンパク質の転写と調節.

辻本雪乃, 二若久美, 松下翠, 林美沙, 山本優季, 村上佳奈, 田上哲也, 森山賢治
第68回日本薬学会近畿支部総会・大会,
2017.10.13.

HMG-CoA還元酵素の発現と調節.

山本優季, 二若久美, 松下翠, 林美沙, 辻本雪乃, 村上佳奈, 田上哲也, 森山賢治
第68回日本薬学会近畿支部総会・大会,
2017.10.13.

ミトコンドリア脱共役タンパク質の発現と調節.

松下翠, 二若久美, 林美沙, 平尾明日香, 福田佑紀, 小山理恵, 范悦, 村上佳奈, 田上哲也, 森山賢治
第68回日本薬学会近畿支部総会・大会,
2017.10.13.

成長ホルモンの直接作用によるUncoupling proteinを介したエネルギー代謝調節.

林美沙, 二若久美, 光谷真奈, 松下翠, 平尾明日香, 田上哲也, 森山賢治
第91回日本内分泌学会学術総会. 第91回日本内分泌学会学術総会. (宮崎) 2018.4.25-29.

エネルギー代謝調節因子としてのGATAファミリー.

綿本有希子, 二若久美, 林美沙, 光谷真奈, 松下翠, 平尾明日香, 片岡和二郎, 田上哲也, 森山賢治
第91回日本内分泌学会学術総会. (宮崎) 2018.4.25-29.

ミトコンドリア脱共役タンパク質を介したエネルギー代謝に関する基礎的検討.

松下翠, 二若久美, 林美沙, 平尾明日香, 光谷真奈, 小無理恵, 福田佑紀, 綿本有希子, 田上哲也, 森山賢治

第91回日本内分泌学会学術総会, 宮崎, 2018.4.25-29.

トレハロースとLEAペプチド添加によるうずら卵白ゲルモデルの常温乾燥ガラス化に及ぼす影響

阪上綾, 矢野めぐむ, 横路三有紀, 福尾恵介, 吉田徹

日本栄養食糧学会第72回大会, 岡山, 2018.5.11-13.

Methoxymethyl基を有するベンゼン化合物のFAB条件下における $[M-H]^+$ の生成機構

堀山志朱代, 市川厚, 静間基博, 藤田せつこ, 高山光男, 中山登, 中田尚男

Mass Spectrometry and Proteomics 2018 (MSP2018), 大阪, 2018. 5.15-18.

群れ飼育のトクモンキー (*Macaca sinica*) における採食エンリッチメントの効果: 糞便と体重から

川出比香里, 木村嘉孝, 宮下実, 落合知美

第21回SAGAシンポジウム, 熊本, 2018. 11. 17-18.

単独飼育のシシオザル (*Macaca silenus*) における採食エンリッチメントの効果: 被毛評価と体重から

川出比香里, 木村嘉孝, 宮下実, 落合知美

第21回SAGAシンポジウム, 熊本, 2018. 11. 17-18.

誌 上 発 表

Composition and functionality of “matcha” of different qualities

Eri Nakamura, Isao Tomita, Toshiki Matsuura
Jpn.J.Food.Chem.Safety, Vol.25 (1) , 7-14 (2018).

Invasion-inhibiting effects of gaseous components in cigarette smoke on mouse rectal carcinoma colon-26 cells.

Hatai M, Yoshikawa N, Kinoshita E, Horiyama S, Kagota S, Shinozuka K, Nakamura K.
In Vivo, **32** (3), 493-497 (2018).

たばこ煙水抽出液は、マウス大腸がん細胞 (colon-26) を用いた経脾肝転移モデルマウスの肝転移を抑制する可能性を示唆した。さらに、その有効成分としてメチルピニルケトン (MVK) を同定し、MVK が colon-26 細胞の浸潤能を低下させることも明らかにした。

Report of the Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group on Pesticide Residues, Geneva, Switzerland, 12-21 September 2017

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, WORLD HEALTH ORGANIZATION

2017年にジュネーブで開催されたFAO/WHO合同残留農薬専門家会議 (JMPR) の公式文書であり、これをもとにコーデックスでの残留農薬基準が設定される。この会議で評価された一部の農薬の毒性評価を義澤が担当・執筆した。

Morphological analysis of liver and kidney in high fat fed C57BL/6J mice with bis (hinokitiolato) Zn complex

Naito Y, Yoshikawa Y, Yoshizawa K, Takenouchi A, Yasui H.
In Vivo, **31**, 1145-1151 (2017).

高脂肪食糖尿病マウスを用いて、亜鉛化合物の

肝臓および腎臓の保護効果について臨床病理学的・病理形態学的に検証した。

Review - Nonproliferative and Proliferative Lesions of the Rat and Mouse Special Sense Organs (Ocular [eye and glands] , Olfactory and Otic)

Meg Ferrell Ramos, Julia Baker, Elke-Astrid Atzpodien, Ute Bach, Jacqueline Brassard, James Cartwright, Cynthia Farman, Cindy Fishman, Matt Jacobsen, Ursula Junker-Walker, Fricke Kuper, Maria Cecilia Rey Moreno, Susanne Rittinghausen, Ken Schafer, Kohji Tanaka, Leandro Teixeira, Katsuhiko Yoshizawa, Hui Zhang.

J Toxicol Pathol, **31** (3 Suppl) , 97S-214S (2018).

齧歯類の感覚器における病理変化について、日米欧の所見・診断基準の統一を図るためのテキストを執筆した。この用語は医薬品の毒性試験用語として使用される。

The Effects of Morinda citrifolia (Noni) Fruit Juice on the Prevention of Stroke by Promoting Production of Nitric Oxide through the Brain of the Spontaneously Hypertensive Stroke Prone (SHRSP) Rats.

Maya Kudoa, Hisae Yoshitomia, Toshiaki Nishigaki and Ming Gao.

Journal of Nutritional Therapeutics, Vol. 7, No.1, 1-12 (2018).

本研究は脳卒中易発症高血圧自然発症動物モデルであるSHRSPラットを用いてノニ果実ジュースの脳卒中発症予防効果を証明した。また、その作用メカニズムについてはノニ果実の脳組織中NO産生促進に関与すると認められた。

Asiatic acid promotes liver fatty acid metabolism in diabetic models.

Guangyuan Xu, Wen Sun, Xuan Guo, Lili Wu, Yi Hou, Xuesheng Ma, Lingling Qin, Ming Gao,

Tonghua Liu.

Int J Clin Exp Med 11 (11) :11837-11845 (2018).
本研究は動物モデルと細胞モデルを用いて Asiatic acid (AA) の肝臓において脂肪酸合成抑制と酸化促進を通して脂肪酸代謝改善作用を証明した。

Novel hybrids of brefeldin A and nitrogen mustards with improved antiproliferative selectivity: Design, synthesis and antitumor biological evaluation.

Tong Han, Kangtao Tian, Huaqi Pan, Yongxiang Liu, Fanxing Xu, Zhanlin Li, Takahiro Uchita, Ming Gao, Huiming Hua, Dahong Li.

European Journal of Medicinal Chemistry Volume 150, 25 April 53-63 (2018).

本研究は多種培養がん細胞を利用して Brefeldin A のサブタイプ (11ac, 12ac and 13ac) の構造変化により抗がん効果と毒性について調べた結果、11ac の抗がん作用は選択性が高く、毒性が少ないことがわかった。

Trans-cinnamaldehyde promotes nitric oxide release via the protein kinase-B/v-Akt/murine thymomaviral oncogene-endothelial nitric oxide synthase pathway to alleviate hypertension in SHR. Cg-Leprecp/NDmerrats.

Zhang Lu, Wu Lili, Liu Ximing, Yoshitomi Hisae, Ikeda Katsumi, Negishi Hiroko, Pan Yajing, Sun Wen, Qin Lingling, Li Juan-E, Xu Tunhai, Liu Tonghua, Gao Ming

J Tradit Chin Med 15;38 (4) : 548-555 (2018) .
本研究はメタボリックシンドローム動物モデルラットを用いて生薬成分である Trans-cinnamaldehyde (tCA) は NO 産生促進により血圧上昇抑制効果を発揮することを証明した。

Silibinin decreases hepatic glucose production through the activation of gut-brain-liver axis in diabetic rats.

Fanxing Xu, Jing Yang, Hiroko Negishi, Yue Sun,

Dahong Li, Xianxian Zhang, Toshihiko Hayashi, Ming Gao, Katsumi Ikeda and Takashi Ikejima.

Food Funct. Sep 19;9 (9) :4926-4935. doi: 10.1039/c8fo00565f. (2018).

本研究は糖尿病モデルラットにおいて Silibinin が胃腸-脳-肝軸を活性化することにより肝臓の糖新生を抑制することを証明した。

Inhibitory effect of Buah Merah Oil on melanogenesis via degradation of tyrosinase.

Mayuko Hatai, Hisae Yoshitomi, Toshiaki Nishigaki, Ming Gao.

Journal of Agro-based Industry Vol.35. No.1 53-59 (2018).

本研究は、植物抽出物である Buah Merah Oil のメラノサイトにおけるメラニン分泌抑制作用を有することを証明した。

自然発症肥満糖尿病モデル KK-Ay マウス および高脂肪食誘導 SD ラットにおける L-シトルリンの摂食抑制を介した抗肥満作用とメカニズムの評価.

山岸淑恵, 工藤麻耶, 吉富久恵, 桃尾麻岐, 勝呂栞, 高明

アミノ酸研究. Vol. 12. No.1. 41-47 (2018) .

本研究は2種類動物モデルにおいて L-シトルリンの抗肥満効果を証明し、さらにその作用メカニズムを解明した。

Reduction of membrane protein CRIM1 decreases E-cadherin and increases claudin-1 and MMPs, enhancing the migration and invasion of renal carcinoma cells.

Ogasawara N, Kudo T, Sato M, Kawasaki Y, Yonezawa S, Takahashi S, Miyagi Y, Natori Y, Sugiyama A.

Biol. Pharm. Bull. 41, 604-611 (2018) .

腎上皮がん細胞において、CRIM1 は上皮-間葉系転換関連因子の発現調節に関与し、CRIM1 発現の低下は細胞の遊走や浸潤を促進することを見出した。

Synthesis of novel resveratrol-phthalide hybrid compounds and evaluation of their inhibitory activities of nitric oxide production.

Kimachi T, Ogata T, Doe M, Sakanaka M, Nishiuchi A, Aomatsu M, Tanaka M, Shimizu M, Yoshioka N, Kubota K, Teraoka Y, Nakajima C, Takahashi S. *Heterocycles* DOI:10.3989/COM-18-S (F) 51 (2018) .

種々のレスベラトロールとフタライドの新規ハイブリッド化合物を合成し、LSP刺激マクロファージのNO産生に対する効果を検討した。レスベラトロールよりNO産生抑制活性の強い化合物を見出した。

Role of 6-O-a-maltosyl-b-cyclodextrin in lysosomal cholesterol deprivation in Npc1-deficient Chinese hamster ovary cells.

Okada Y, Ueda E, Kondo Y, Ishitsuka Y, Irie T, Higashi T, Motoyama K, Arima H, Matsuo M, Higaki K, Ohno K, Nishikawa J, Ichikawa A. *Carbohydr Res*, **455**, 54-61 (2018) .

Nimann-Pick病C型の病態モデル細胞を用いて、マルトシル- β シクロデキストリのリソソームからのコレステロール除去作用を明らかにした。

Pharmacogenetics-based area-under-curve model can predict efficacy and adverse events from axitinib in individual patients with advanced renal cell carcinoma

Yamamoto Y, Tsunedomi R, Fujita Y, Otori T, Ohba M, Kawai Y, Haginaka J, Hamamoto Y, Matsuyama K, Hazama S, Nagano H, Matsuyama, H. *Oncotarget*, **9**, 17160-17170 (2018) .

薬理遺伝学に基づく曲線下面積モデルで、進行性転移性腎細胞癌患者に対するアキシチニブの有効性および有害事象を予測することを明らかにした。

**アスコルビン酸の新たな機能探索による効果的がん抑制と放射線防護
土生敏行**

広島大学原爆放射線医科学研究所報告書 (2018) .

放射線応答とアスコルビン酸機能との関連性にかんする報告書である

Cigarette Smoke Extract Disrupts Transcriptional Activities Mediated by Thyroid Hormones and Its Receptors.

Hayashi M, Futawaka K, Matsushita M, Hatai M, Yoshikawa N, Nakamura K, Tagami T, Moriyama K. *Biol Pharm Bull.* **41**, 383-393 (2018) .

タールを除去したタバコの主流煙成分をリン酸緩衝生理食塩水に抽出したタバコ煙水抽出液 (CSE) が、甲状腺ホルモンと甲状腺ホルモン受容体 (TR) への結合に関して相加効果を発揮することを示し、生理機能にも影響を及ぼすことを示唆する所見を示した。

GH directly stimulates UCP3 expression.

Hayashi M, Futawaka K, Matsushita M, Koyama R, Fun Y, Fukuda Y, Nushida A, Nezu S, Tagami T, Moriyama K. *Growth Horm IGF Res.* **40**, 44-54 (2018) .

临床上、成長ホルモンが抗肥満効果を有していることは以前から知られていた。その臨床効果はuncoupling proteinを発現亢進することで果たされているというメカニズムを分子レベルで示した。さらに成長ホルモンが骨格筋細胞のUCP3を介してエネルギー代謝に深く関与していることを示した。

Detoxification Mechanism of α , β -Unsaturated Carbonyl Compounds in Cigarette Smoke Observed in Sheep Erythrocytes

Horiyama S, Hatai M, Ichikawa A, Yoshikawa N, Nakamura K, Kunitomo M. *Chem. Pharm. Bull.* **66**, 721-726 (2018) .

ニコチンタール除去タバコ煙水抽出液 (CSE) に含まれる反応性の高い α , β 不飽和カルボニル化合物について、生体内での代謝経路を明らかにするため、ヒツジ保存血液にCSEを暴露さ

せた後、LC/MSを用いて代謝化合物を分析した。CSEを暴露した培養癌細胞で検出された代謝物と同じ化合物が、赤血球内および血漿に検出され、これらの不飽和カルボニル化合物は、生体内でも、培養がん細胞と同じ代謝経路で細胞外に排泄される可能性を示唆した。

建築知識2月号20歳までネコが元気に長生きできる住まい

荒堀みのり，落合知美，白岩千鶴子，山本宗伸
監修

建築知識，60（2018）.

完全室内飼いを推奨されるようになったネコの飼育方法について、ネコが心身ともに健康で豊かな生活を送れるよう様々な「環境エンリッチメント」を提案

そ の 他

上手につきあう！健康食品

松浦寿喜
西脇市（西脇市生涯学習まちづくりセンターマ
ナビータ・プラザ）
2018.2.17.

上手につきあう！健康食品

松浦寿喜
加西市（アスティアかさい）
2018.5.28.

ジェネリックについて

松浦寿喜
西宮東高等学校・木曜講座（なるお文化ホール）
2018.6.7.

上手につきあう！健康食品

松浦寿喜
高槻市消費者のひろば展実行委員会（総合市民
交流センター）
2018.9.28.

健康食品について

松浦寿喜
寝屋川市立消費生活センター（寝屋川市立消費
生活センター）
2018.11.9.

健康食品について

松浦寿喜
兵庫県淡路県民局（洲本総合庁舎）
2018.11.19.

健康食品についてー利用する前に正しい知識を 学ぼうー

松浦寿喜
かわちながの消費者協会（ノバティホール）
2018.11.26.

mTORシグナル変化による嚢胞腎および腎癌の モデル作成と発症機序の解明

塚口康弘, 義澤克彦, 松田達志
平成29年度文部科学省新学術領域研究 学術研
究支援基盤形成 先端モデル動物支援プラット
フォーム成果発表会, 大津, 2018.1.23-24.

網膜毒性発症の分子学的メカニズム

義澤克彦
第38回比較眼科学会基礎部会研究会（特別講
演）, 名古屋, 2018.12.8.

ウイルスとはどういうもので、何が問題か？— ウイルス感染症の撲滅を目指して—

伊勢川裕二
市民向けセミナー講演
オープンセミナー「食のちから」
公益財団法人 東洋食品研究所 会議室
川西市・宝塚市民 2018.6.2.

遺伝子検査

村田成範
ゲノム機能解析学研究室における、1年間の遺
伝子検査概数
・武庫川女子大学・他大学の大学生対象・初年
時アルコール健康教育 約2,000人
・卒業生等・一般対象、アルコール遺伝子検査
約1,000人
・企業連携・アルコール健康教育 約2,000人
2018. 1-12.

遺伝および遺伝子教育

村田成範
出前授業 尼崎市立小園小学校 尼崎市立立花
北小学校 小豆島町立池田小学校（アルコール
パッチテスト含む）計約100人
2018. 1-12.

第15回日本未病システム学会栄養部会講演会

森山賢治

「サプリメント、薬からみた未病」

会場：大阪樟蔭女子大学 円形ホール

2018.10.21.

健康運動科学研究所 主催 第8回シンポジウム

森山賢治

「水の管理」アスリートにとって水分とは？

会場：武庫川女子大学

～水電解質代謝について「溢水（いっすい）」
の立場から～

2018.10.13.

武庫川女子大学・武庫川女子大学短期大学部

FD推進委員会主催 勉強会

森山賢治

「学生の主体的な学びを促し、理解を深めるための現状と課題」

会場：武庫川女子大学

2018.3.1.

第3回関西MSG勉強会

堀山志朱代

質量分析関係の勉強会

「業務における、一般的な条件検討について、
問題点をどのように回避したのか」

シオノギテクノアドバンスリサーチ（株） 橘
美保氏

「創薬定量業務における、問題となる化合物の
現象の紹介、最近の業務の紹介」

日本たばこ産業（株） 山下知子氏

参加者22名，西宮，2018.3.24.

第4回関西MSG勉強会

堀山志朱代

質量分析関係の勉強会

「オゾン水やオゾンガスの抗菌力評価系の構築」
マクセル株式会社 若林寿枝氏

「NEXT VISIONの現状ご紹介」

NEXT VISION 高厚厚子氏

「SFC/LC-QTOF測定の現状報告」

武庫川女子大学 堀山志朱代

参加者7名，西宮，2018.12.22.

天王寺動物園教育ポリシー策定に関するアドバイザー会議への参加

落合知美

有識者として天王寺動物園における教育普及活動の基本方針となる天王寺動物園教育ポリシー策定に関して、専門的見地による意見又は助言をおこなう

・専門家4名

2018.1.24 第1回会議

2018.2.21 第2回会議

天王寺動物園教育プログラム作成業務委託の選定委員

落合知美

有識者による選定委員会のメンバーとして、天王寺動物園の社会教育機能の向上を目的とした大人向け教育プログラムについてプロポーザル方式により受託者を選定した

2018.8.10 第1回会議

2018.10.5 第2回会議

大阪市天王寺動物園「動物の仕事アレ？コレ！～こんなお仕事してますよ！～」での講演

落合知美

天王寺動物園が職業観の醸成やキャリア教育の手伝いとなることを目指して開催。テーマ「動物と働く人をバックアップ」で外部講師として講演。

・中学生以上の学生（専門学校生含む）とその保護者約40人

2018.12.22.

武庫川女子大学バイオサイエンス研究所規程

(設置)

第1条 武庫川女子大学（以下「本学」という。）に武庫川女子大学バイオサイエンス研究所（以下「研究所」という。）を置く。

(目的)

第2条 研究所は、天然資源の保全、太陽と緑のエネルギーの循環再利用並びに新しい医薬品・食品等の開発、生産を計るために、動物や植物等の生命活動の仕組みを取り入れて、基礎的並びに人間生活に直接役立つ応用的な研究を行い、本学の先端科学教育の振興に寄与することを目的とする。

(所掌業務)

第3条 研究所は、前条の目的を達成するため、次の業務を行う。

- 1 生命科学分野における基礎的な研究と調査
- 2 応用的な研究による成果の公表と利用
- 3 研究及び調査の受託並びに嘱託研究員の受け入れ
- 4 その他第2条に定める目的達成のために必要な事項

(組織)

第4条 研究所は、所掌業務を達成するため、研究分野別の研究部門を置くことができる。

(所長)

第5条 研究所に所長を置く。

- 2 所長は、理事長が教授のうちから任命する。ただし、非常勤教員をもって充てることもできる。
- 3 所長の任期は2年とし、再任を妨げない。
- 4 所長は、学長の命を受け、所掌の業務を処理し所属職員を指導監督する。

(研究員)

第6条 研究所に所要の研究員を置く。

- 2 研究員は、教授、准教授又は講師をもって充てる。
- 3 研究員は、所長の指導監督の下に研究業務に従事する。

(嘱託研究員)

第7条 研究所には、嘱託研究員を置くことができる。

- 2 嘱託研究員は、必要により所長が推薦し学長が委嘱する。
- 3 嘱託研究員は、特定又は共同研究の業務に従事する。

(助手)

第8条 研究所には、所要の助教若しくは助手を置く。

- 2 助手は、研究員の命を受け、その業務を助ける。

(事務職員)

第9条 研究所に所要の事務職員を置くことができる。

2 事務職員は、事務局長の指揮監督のもと、所長の指示を受けて研究所の事務を処理する。

(運営委員会)

第10条 研究所の運営に関する具体的業務を審議するため、本学に「武庫川女子大学バイオサイエンス研究所運営委員会」(以下「運営委員会」という。)を置く。

2 運営委員は若干名とし、学長が委嘱する。

3 委員長は、所長をもって充てる。

4 委員の任期は2年とし、再任を妨げない。ただし、欠員が生じた場合の委員の任期は前任者の残任期間とする。

5 運営委員会に関する細則は別に定める。

(補則)

第11条 この規程に定めるもののほか、研究所の管理運営に関し必要な事項は、所長が別に定める。

附 則

この規程は平成8年4月1日から施行する。

武庫川女子大学バイオサイエンス研究所年報
第23号（平成30年度）

編 集 武庫川女子大学バイオサイエンス研究所
発 行 者 学校法人 武庫川学院
〒663-8558 兵庫県西宮市池開町6番46号
PHONE 0798-47-1212（代表）
発 行 日 2019年3月31日
印 刷 大和出版印刷株式会社