

(平成 31 年度募集) 第 32 回助成研究 ◆中間報告書 (5 件)

[一般発展型] (2) 医療福祉機器関連分野

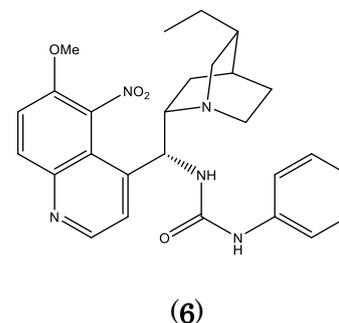
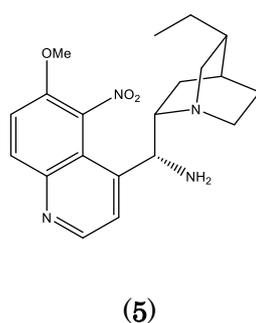
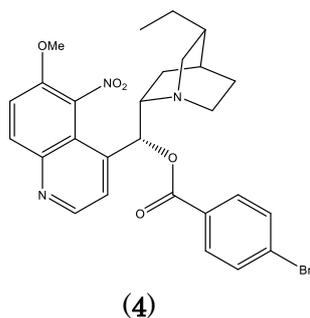
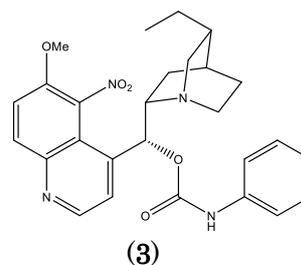
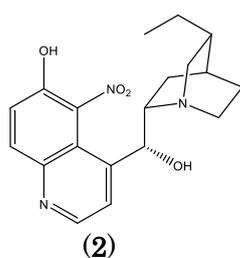
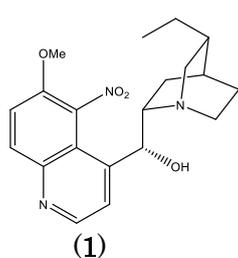
研究テーマ	「藻類を用いた健康食品・化粧品の実用化」		
研究責任者	所属機関名	国立大学法人 豊橋技術科学大学	
		大学院工学研究科 応用化学・生命工学系	
	官職又は役職	助教	
	氏名	広瀬 侑 hirose@chem.tut.ac.jp	
共同研究者	所属機関名	リゾートトラスト株式会社取締役 メディカル本部長	
	官職又は役職	取締役・エイジングケア事業部長	
	氏名	上村 恭子	

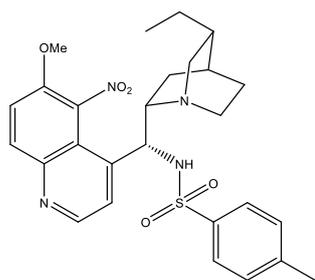
フコキサンチンは、炭素数 40 のイソプレノイド構造を骨格とするテトラテルペン類で、自然界に 600 種類余り存在する天然カロテノイドの一種である。コンブやワカメなどの海藻類に含まれ、強い抗酸化作用、抗肥満作用・抗糖尿病作用、抗腫瘍効果などが国内外の研究で報告され、フコキサンチンを含有する健康食品や化粧品の開発も進み、一部は製品化されている。従来のフコキサンチンの生産方法は、昆布や若布といった大型の褐藻類から抽出精製する方法が用いられてきた。これらの褐藻類に含まれるフコキサンチンの量は微量であり、原料 100kg に対して 1~3g 程度しか生産ができなかった。これにより、フコキサンチンの価格が非常に高価となり、安定的な供給が困難な状況が続いていた。2017 年時点でのフコキサンチンの市場規模は約 100 億円であるが (Index Market Research, Global Fucoxanthin Market Report 2018)、低コストな大量生産を実現できれば、市場を独占できると共に、その市場規模も発展拡大にもつながると考えられている。アドバンスド・メディカル・ケア (AMC) 株式会社は、大型の褐藻類に比べて 100 倍以上の高い含有量を持つ珪藻類に着目した。環境中から高い増殖能を持つ珪藻の無菌培養株を確立し、その大量培養系を確立できれば、フコキサンチンの安定供給が期待できる。研究計画当初は AMC が調達した珪藻株を使用する予定であったが、特許取得の観点から、オリジナルな細胞ラインの確立をおこなうこととした。そこで 2020 年度に浜名湖および三河湾にて複数回のサンプリングを実施し、珪藻株を単離培養し、抗生物質処理によって複数の無菌株の確立に成功した。現在、高速液体クロマトグラフ質量分析装置 (LC-MS) およびガスクロマトグラフ質量分析装置 (GC-MS) を用いた成分の分析を進めている。2021 年度中に最大増殖能を示す株を探索し、マウスへの経口試験までこぎつけ、特許出願へと進めていきたいと考えている。

(3) 材料関連分野

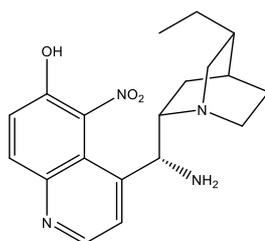
研究テーマ	「抗がん剤合成触媒：ニトロ化ジヒドロキニン高分子の開発」		
研究責任者	所属機関名	豊橋技術科学大学	
	官職又は役職	助手	
	氏名	藤澤 郁英	メールアドレス ifujisawa@chem.tut.ac.jp
共同研究者	所属機関名	豊橋技術科学大学 (2021/4/1 より岐阜高専に異動)	
	官職又は役職	教授 (2021/4/1 より校長)	
	氏名	伊津野 真一	
	所属機関名	黒金化成株式会社	
	官職又は役職	研究部長	
	氏名	小黒 聡	

抗がん剤合成触媒の元となる新規化合物の合成を行った。どの化合物が目的の反応の新規触媒になり得るか、確実な予測は難しいため、シンコナアルカロイドを基にして置換基を様々に変更した。助成金申請時に既にニトロ化ジヒドロキニン(1)の合成とその構造は確認できていたため、そこからさらに6'位のメトキシ基を水酸基(2)に、9位の水酸基をウレタン(3)やエステル(4)に変化させた。また、9位の水酸基をアミノ基に変換し(5)、ウレア(6)やスルホンアミド(7)構造を導入した。また、6'位のメトキシ基を水酸基(8)に変換し、様々な新規化合物の合成を行った。他にも、5位のニトロ基を還元し、アミノ基(9)に変換した。触媒にZnを使用した方法では収率や純度が低かったが、鉄粉を使用し、回収にセライトを使用したところ、収率や純度が向上した。ただし、副生成物が残っているため、さらに精製を行う必要がある。

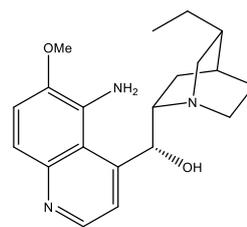




(7)

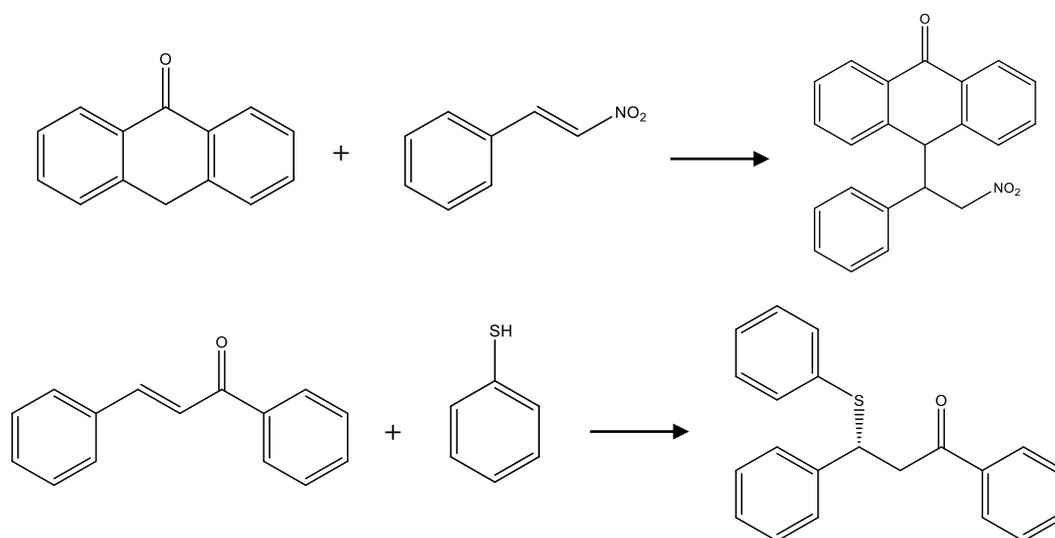


(8)



(9)

得られた化合物を下記のような不斉反応に触媒として使用し、その触媒能を調べたが、現在のところ不斉触媒性能の改善には至っていない。



今後は5位のアミノ基を利用したポリマー化や他の部位への置換基導入により、合成できる化合物の幅を広げる予定である。また同時に現在までに合成できた化合物を用いて、基質を変えた他の不斉反応に応用し、どの反応で利用できるかを探索する予定である。

(5) 生産技術関連分野

研究テーマ	「 水耕栽培を利用した高機能性サボテン生産技術の確立 」		
研究責任者	所属機関名	中部大学応用生物学部	
	官職又は役職	講師	
	氏 名	堀部貴紀	メールアドレス t-horibe@isc.chubu.ac.jp
共同研究者	所属機関名	ジェイ・エヌ・エヌ株式会社	
	官職又は役職	取締役	
	氏 名	出口美紀	

【目的】：今年度は水耕液の組成を制御することで、亜鉛・鉄・カルシウム・マグネシウムなどの含量を高めた高機能性サボテンの生産技術を確立することを目的とした実験を行った。

【方法】：食用サボテンの葉状茎を亜鉛(50、200 ppm)、キレート鉄(50、200 ppm)、カルシウム(500、2000 ppm)、マグネシウム(500、2000 ppm)を含む培養液にて約3カ月水耕栽培し(3回繰り返し)、娘茎節の発生や生育速度に与える影響を調べた。また収穫したウチワサボテンを乾燥させ湿式分解を行った後、原子吸光度計を用いて、植物体内に蓄積したミネラル含量を測定した。

【結果】：植物体の各部位におけるミネラル含量を測定すると、いずれの処理区でも水耕液にミネラルを添加することで植物体の含量も増加する傾向が観察された。根における亜鉛と鉄の蓄積濃度はハイパーアキュムレーターの定義(亜鉛：3,000 mg/kgDW、鉄：10,000 mg/kgDW)を大きく上回っていた。この結果は食用サボテンが高いミネラル蓄積能力を有すること示している。可食部での蓄積量に関しては、水耕液組成の変更によりコントロール区と比較して**亜鉛は約12倍(約12.5 mg/100 gFW)**、**鉄は約15倍(約5.1 mg/100 gFW)**、**カルシウムは約1.5倍(約280 mg/100 gFW)**に増加させることに成功した。特に亜鉛の蓄積量は他の食品と比較しても非常に高く、**最も亜鉛含量の多い植物性食品の1つであるソラマメ(約1.9 mg/100gFW 食品成分表より)の約6倍**の値であった。研究成果の一部は学会でも発表され、日本生物環境工学会オンライン合同支部大会にて**発表賞(協和ハイポニカ賞)を受賞**した。現在も植物体へのミネラル蓄積量の解析を進めており、2021年度は生産効率の向上や加工品開発にも取り組む予定である。

(6) 生産技術関連分野

研究テーマ	「 超音波顕微鏡の臨床診断への応用 」		
研究責任者	所属機関名	浜松医科大学	
	官職又は役職	教授	
	氏名	三浦 克敏	メールアドレス kmiura@hama-med.ac.jp
共同研究者	所属機関名	本多電子株式会社	
	官職又は役職	研究部 部長	
	氏名	小林 和人	
	所属機関名	浜松医科大学	
	官職又は役職	助教	
	氏名	田村 和輝	

1. 実施内容および成果ならびに今後予想される効果の概要

本研究は超音波を用いて人体組織計測を行う新たな画像診断法の確立を目指し、臨床診断に応用できる高性能な超音波顕微鏡の開発を目標とした。以下に本助成により得られた成果と今後予想される効果を示す。

はじめに、臨床診断に応用可能な高性能超音波顕微鏡に必要な超音波振動子の条件を割り出すために、現行型超音波顕微鏡を用いて、人体組織標本の計測、特に腎動脈及び肺組織の加齢性変化を観察した。一般的に加齢により動脈は硬化し、血圧の上昇をもたらす。動脈硬化とは動脈内壁に脂質が溜まり、粥腫の形成、線維化、石灰化が現れる病態である。解剖例の腎動脈を計測し、動脈の主要な部分である中膜の構造変化に伴って中膜平滑筋の弾性が低下していくことを証明した。機能の変化は構造の改変と結びつき、腎動脈の外方への拡張や内膜の肥厚と相関した。

肺についても手術標本を用いて加齢性変化を検討した。気管支、血管、肺胞の音速を年齢別に比較し、加齢と共に気管支、動脈壁、肺胞の音速が低下することを証明した。この変化は気管支や肺胞の拡張、細動脈硬化の亢進と相関することを明らかにした。

次により高い空間分解能が要求される細胞の計測を行った。材料として培養癌細胞や臨床で実際に採取された液状癌細胞を用いた。培養細胞への抗がん剤の投与では濃度が高くなるにつれ、また培養期間が長くなるにつれて、音速は上昇、減衰と厚みは低下することを証明し、これらの変化がアポトーシスや分裂再生に関連することが示唆された。また臨床で採取された癌細胞に対して障害作用を持つタンニン酸や酢酸への浸漬、マイクロウェーブ照射をして超音波顕微鏡で障害を受ける細胞像の変化を追跡した。酸やマイクロウェーブの照射により、音速と減衰が上昇し、厚さは低下することを発見した。

上記の現行型超音波顕微鏡を用いた多数の組織・細胞を計測した知見をもとに計測上の問題点を整理し、超音波顕微鏡の心臓部とも言える超音波振動子の改良品の試作を行った。この改良試作品を用いた解析では、これまでの音速に基づいた細胞観察ではなく、インピダンスを計測することでがん細胞を生きた状態で経時的に観察可能であることが確認できた。

以上の研究から改良型振動子を用いた超音波顕微鏡が癌細胞に対する抗がん剤や温熱化学療法の効果を正確に予測でき、さらに疾患の病態解明や予防法の開発にも利用できることがわかり、論文として発表をおこなった (PLOS ONE 2020 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234759>、

Atherosclerosis open access 2021, 6:2)。

現在、超音波顕微鏡のさらなる解像度や操作性の向上を図り、臨床への実用化を進めている。

研究テーマ	「発酵産業への応用を志向した静岡由来微生物資源からの新規抗菌物質の探索」		
研究責任者	所属機関名	静岡大学	
	官職又は役職	准教授	
	氏名	小谷真也	メールアドレス kodani.shinya@shizuoka.ac.jp
共同研究者	所属機関名	静岡県工業技術研究所沼津工業技術支援センターバイオ科	
	官職又は役職	研究員	
	氏名	鈴木雅博	

研究内容説明

令和2年度は、静岡県の環境中からの細菌の分離を行った。主に、発酵食品の糠漬け、静岡の海洋環境からの菌株の単離を行った。150株の微生物を分離し、抗菌活性スクリーニングおよびHPLCによる分析を行ったところ、3株の細菌が抗菌物質を生産していることが明らかとなった。糠漬けから単離した菌株は、16S rDNAのDNA配列の解析の結果、Microbacterium属に属する放線菌であることが分かった。さらにESI-MSの分析の結果から、生産される抗菌物質は既知のランチペプチドのmicrovioninであることが明らかとなった。また抗菌物質の未解析の2株に関しては、令和3年度にゲノムシーケンスの解析と抗菌物質の単離構造決定を行っていく予定である。同時に、静岡県工業技術研究所沼津工業技術支援センターから76株の乳酸菌を中心とする細菌株の提供を受けた。その結果、Bacillus属に属する細菌SUG-0056に顕著な抗菌活性が見られた。細菌SUG-0056をLB寒天培地で培養後、菌体をアセトンで抽出し、ODSカラムを用いたHPLCで分取を行った。ESI-MSを測定したところ、 $[M+H]^+$ m/z 906.4にイオンピークが観察された。また、重DMSO中において、 1H NMRの測定を行ったところ、ペプチド性のプロトンのシグナルが得られた。DQF-COSYの測定を行ったところ、プロトン間の相関が得られた。分子量と、これらのNMRで得られた情報をもとにデータベースで検索をかけたところ、SUG-0056の生産する化合物は、既知の抗菌物質kurstakin 4であることが明らかとなった。現在、さらに、静岡県の海洋環境から微生物の単離を行っており、すでに複数種の菌株で抗菌活性を検出しており、それらの菌株の抗菌物質の分離も行う予定である。