

## 寄稿 (7)

## 女子栄養大学で行った私の研究 ～退職までの14年間とそれ以前を振り返って～

女子栄養大学栄養科学研究所 客員教授 堀 江 修 一

## 【はじめに】

私は2005年4月に本学栄養学部に着任し、臨床生化学教室の教授として研究室を開設しました。それ以降の14年間にわたって坂戸校舎で教育・研究生活を送って参りましたが、2019年3月末を以って辞職することにいたしました。定年まで5年を残しての早期退職でしたので、総括に繋がる最終講義を行うことや本学の紀要に投稿するなどの責務もなかったことから、退職後は非常勤講師として大学や大学院の講義に関わったものの、栄養大で過ごした日々を振り返ることもなく、しばらく安穏とした生活を送って参りました。

たまたま昨年末に学内で香川雅春先生にお会いした際に、研究所の30周年記念号への投稿について打診されたことがきっかけになって本稿を書くことになりましたが、実はその一方で退職時に栄養科学研究所の客員教授の肩書を拝命しているにも拘わらず、同研究所への貢献ができていないという負い目もございました。そこで、区切りとして本学で行った私の研究に関する内容を中心にした総説を掲載させていただくことにしました。過去の研究を含めた記載などもありますし、失礼の段、ご容赦願います。

さて、私は薬学部の出身で、本学に所属するまでの研究について先に記載しますと、実験し始めた大学院時代は脂質代謝、特に細胞内脂肪酸代謝の研究をしておりました。従って、現在でもこの領域の研究には親しみを感ず、その後の研究をする上での下地になったように思います。細胞機能の変化と疾患との関連性について、薬物の作用や毒性の面から動物実験で理解する手法や考え方を学びましたが、基礎研究を始めて最初に感じたのは、動物や組織を取り扱う技術が伴わないと良い結果が得られないこと、また優れた研究機材や最先端の技法を利用しないと時代に遅れてしまうということでした。資金の乏しい研究室ではマンパワーでデータを補うしかなく、やはり多くの研究者や学生がそうだったように、大学院や助手の時代は徹夜での作業を重ね、得られたデータに一喜一憂したものです。

1989年に血管内皮細胞を題材とした血液や血栓止血学の研究に興味を抱いて仕事の場を移してからは、さらに

様々な生理現象を分子の世界で明快に説明できる転写調節や遺伝子解析の方向に興味を持つようになりました。因みに血管を裏打ちするこの細胞をすべて繋げると10万km、その内腔面積は約3,000m<sup>2</sup>にも達する体内最大の臓器とも言えるのが血管内皮細胞です。薬学部では、分析機器の利用や各種クロマトグラフィー操作、細胞培養技術を習得すると共に、モノクローナル抗体の作成や無細胞系で合成したタンパク質によるフットプリント法、クロマチン免疫沈降、RNA干渉の手法など、タンパク質と核酸の性質を利用しつつ、また遺伝子を解析する技術も取り入れながら研究を進めてきたつもりです。次第に塩基配列を調べる実験も必要になって、力仕事で何とか行いましたが、今は昔の感です。遺伝子クローニングの手法は製薬会社の研究室でしばらく修行したおかげで、その後プラスミドを構築してレポーターアッセイやブルダウンアッセイもできるようになりました。

当時は白血球や血管内皮細胞自体が産生する炎症性サイトカインによる血管への影響について検討していましたが、次第に他の臓器、例えば脂肪組織や消化管などが産生するサイトカインの働きとその変動の機序について理解したくなりました。現在、新型コロナウイルスSARS-CoV-2による呼吸不全を中心とした病態重症化の機構としてサイトカインストームを介した血管障害が注目を浴びていますが、今でも新型コロナウイルス感染症(COVID-19)の研究チームに参加してその発症機構と対策に取り組みたいと思ったりします。栄養大であれば今回のウイルスによる感染の予防や治療の改善法に関する食の情報発信することは大切でしょうから、この点について本年度(2021年度)の研究所WEB講座シリーズ(コラム)の中で多少触れるつもりでおります。

本稿では、女子栄養大学に着任して以来の14年間で得られた研究成果を中心に、研究のきっかけになった過去のことも含めて以下に記述させていただきます。

## 【栄養大での研究が脂質食を中心とした内容に至った経緯】

私の大学院時代は細胞内小器官ペルオキシソームの脂肪酸酸化系の生理的役割を理解することを目的にして、ラットの肝臓を対象にミトコンドリアとは異なる新たな

$\beta$ 酸化系についての研究をしていました。1974年に細胞生物学者C.de Duveが細胞内小器官（主にリソソーム）の構造と機能の研究でノーベル生理学・医学賞を受賞したことに生物系研究者の注目が集まり、私の大学院指導教授（須賀哲弥先生）が研究対象にしたのも細胞内小器官のペルオキシソームでした。当時はまだ過酸化水素を産生する酵素群とその分解に関わるカタラーゼがこの細胞内の顆粒に存在する程度しか理解されていませんでした。私が研究を始めた1976年になって、この小器官にエネルギー産生には直結しない脂肪酸 $\beta$ 酸化系の存在することが報告されました。そこで、まだ存在意義が不明だったこの $\beta$ 酸化系に興味を持って実験を重ねた結果、げっ歯類のペルオキシソーム $\beta$ 酸化系は、飢餓や糖尿病のような特別な状態のときにミトコンドリアのものよりも（倍率では）顕著に活性上昇すること、高脂肪食を摂取したときや新生児の授乳時に長鎖脂肪酸の分解を促進してミトコンドリアとの協調作用を発揮すること、などがわかり報告しました<sup>1-7)</sup>。このときの実験でラットに摂取させたのは、（常温で液体の）不飽和脂肪酸に水素付加して硬化させた魚油由来の高脂肪食で、この頃から脂肪酸組成の違いによって生体内代謝系の役割分担がなされている事実にとっても関心を持つようになりました。当時はナタネ油に含まれていたエルカ酸（22:1  $\omega$ -9）による心毒性<sup>8)</sup>の実験をし、また、アザラシの肉（ $\omega$ -3系脂肪酸が豊富）を主食にするイヌイットは血中脂質レベルが低くて心疾患が少ないとの報告<sup>9)</sup>に大変に興味を持ちました。そんな背景もあって、留学先はアルキル型脂肪酸が特徴的なエーテル型リン脂質と先天性代謝異常症の関係について研究するミシガン大学医学部（A.K.Hajra教授）のラボで、プラズマローゲン生合成におけるペルオキシソームの役割に関する研究を行いました<sup>10-12)</sup>。ペルオキシソームの機能が低下すると、特別なリン脂質など生体に必須の物質が作られなくなったり、代謝が進まずに蓄積した物質が毒性を現わしたりするので、関連の基礎研究を行うことは難病の解決に繋がるとの思いがありました。

留学後に着任した前任教の薬学部（風間睦美教授）では、前述しましたように血管内皮細胞の血栓性機能を高めたり、また維持したりする薬剤や生理活性物質を探索しましたが、結果的にそれは食品や栄養素による生体への効果について調べる研究分野でもありました。ただ、自分の中では身近な食品を対象にする研究は、栄養について深く理解している栄養学部の先生方が行う領域であるとの思考回路が働き、なかなか実践に移すことができませんでした。しかし、目線を外に向けると、世間では病気への薬剤の利用に先立つ一次予防の重要性が広く認識されていて、私の中でも医食同源の本来あるべき姿が具体性を増してきた頃でした。そして、本学において教育・研究を行う可能性が出てきた際には、「食と健康」の実践・研究を行う女子栄養大学でお世話になることを決意しました。

当時はすでにビタミンA酸（レチノイン酸）や類似の

化合物、リコピンなどの栄養成分が血管壁の抗血栓作用を高めることを明らかにしており<sup>13-15)</sup>、さらにその機構についての検討を進めたいと思っていましたので、多くの研究者が自分の研究対象について考えるように、私も抗血栓性タンパク質トロンボモジュリンの塩基配列、特に転写開始点上流に存在する特別な塩基配列について知りたくなって、転写調節因子や制御因子と相互作用する特異的配列を中心に検索をしました。すると、ちょうど米国で報告された同タンパク質の遺伝子塩基配列の中に、Eボックスと呼ばれる特徴的な核酸6塩基の並びが転写開始点上流に3ヶ所存在することがわかりました。その中で数塩基離れるだけで繰り返し存在する配列は、時計遺伝子産物のクロック/ピーマル二量体が認識する部分と推測できました<sup>16)</sup>。このような研究背景の下で、私は様々なタンパク質の発現制御に関わる転写因子の働きを左右するリガンドとしての栄養素に着目し、本学において比較的低分子の食事由来脂溶性成分による転写調節と概日リズムの基本となる時間栄養学の研究、すなわち食（特に脂質）と健康（疾患）に関わる研究に着手しました。

#### 【食関連研究の3つのプロジェクトとそれ以外の研究】

本学における私の研究の中心は、脂質代謝の異常によって生じる様々な疾患（主に肥満と血栓症）を標的にしたもので、その発症機構を明らかにして、食によるそれらの予防と治療法の確立を目指したものです。研究は相互に関連するので、プロジェクトの枠に括るのは適当ではないかもしれませんが、自分では本学に着任した当初より食に関連する3つの方向性を持った研究を行うつもりでいました。第1のプロジェクトは時間栄養学を視点とした研究、第2は脂質代謝異常への食成分の影響に関する研究、そして第3は食を介したがんの発症や転移についての研究です。それぞれを明確に区別することはできませんが、第1のプロジェクトである時間栄養学の研究は私の中心的な研究テーマで、本学において2018年8月に第5回時間栄養科学研究会（現日本時間栄養学会）も開催しましたし、本学香友会の講演や栄養士会、保健所、企業での勉強会など学外の講演会で、この時間栄養学に関する話を50回ほどしてきました<sup>17-20)</sup>。本プロジェクトは、脳梗塞が午前中に発症しやすいという概日リズムのデータを基に、すでに薬学部において解明した時計遺伝子の機能と血栓症関連タンパク質の発現調節の研究<sup>16, 17, 21)</sup>をさらに食事の面から進展させようとしたものです。実際には、時間栄養学の研究は次の第2、第3のプロジェクトの中の1項目として検討することになりますが、自分の中では別の視点で行う研究と位置付けていました。第2のプロジェクトは薬学部ではなく、栄養学部だからこそ高齢化が進む現代社会において検討すべきだと思っていた食組成と疾患の研究です。そして第3のプロジェクトは、がん細胞が増殖・転移する状況下において血管の細胞は防御システムを稼働させるはずであり、その因

子を特定することで、がんが悪化する1つの機構を明らかにできるのではないかと、さらにはがんの発症や増殖・転移に対する予防や治療に貢献する食成分や食事のあり方を提示できるのではないかと考えたことによります。

他に食とは直接関係しない以下の研究<sup>\*</sup>も行いましたが、本稿では（研究内容を推測できるような）タイトルの記載のみに留めます。

※

- ・脂肪細胞におけるアディポネクチンとPAI-1の分泌に対するフィブラート系薬剤とスタチン系薬剤の改善効果に関する研究
- ・血管内皮細胞に発現するトロンボモジュリンによる癌浸潤抑制作用に関する研究 ～マイクロアレイによる解析～
- ・トロンボモジュリン分子内レクチン様ドメインの新機能に関する研究 ～コレステロールの血管壁への取り込み抑制作用について～
- ・酸化LDL中の特定のリン脂質による外因系凝固経路インヒビター（TFPI）の阻害作用に関する研究（共同研究）
- ・血小板凝集能の概日リズムと時計遺伝子Clockによるその制御に関する研究（共同研究）

#### 【実験にマウスを用いることの利点】

本学で行った実験の一部は培養細胞を使用しましたが、多くは動物棟で飼育したマウスを用いたもので、本学では利用者が少ないことから、以下にマウスを利用する利点を挙げます。

- ・ヒトと類似した遺伝子（相同性で約85%、遺伝形質を決定する類似性を含めると約99%が同じ）を有し、ヒトへの応用が可能な基礎データが得られることから、臨床研究を行う前の様々な問題点を把握できる。
- ・比較的遺伝的背景が整っていて、個体差による影響が少ない。
- ・大きさや繁殖維持などの点で取扱いやすい。
- ・検体数を揃えられるので、有意差検定がしやすい。
- ・遺伝子改変マウスの利用が可能で、特定の遺伝子やタンパク質の機能を明快に理解できる。
- ・実験条件を揃えることができるので、様々な外的要因を除外することができる。

最後の項目はヒトを対象とする研究では本質的に達成不可能でしょう。複雑な要因を含んでいるからこそその臨床研究ではありますが、ヒトの場合では、個人の精神的な影響や体調のこと、服薬や睡眠、家族構成や居住スペースなどを含めた生活様式・環境の違いなど、例えば調べたい食事以外の膨大な配慮すべき事項の関与を見逃す可能性があります。従って、非常に多くの被検者を利用した多面的な解析を行わないと正しい評価に結び付きません。被検者から考慮すべきすべての情報を入手することは不可能であり、また「もしこれを排除して解析した場合は・・・」などと心配しながら統計解析をする

際限がなくなります。目をつぶって「この項目は除外し、これは利用する」ということがあり得るかも？知れませんが。

一方、マウスの管理・維持はそれなりに大変なのですが、以前に学会の講演会で山中伸弥先生（京都大学iPS細胞研究所所長）から、自らマウス500匹の世話をしていたと聞いたことがありました。その話を心の糧にして、週のほぼ半分を自動給水設備のない動物室で何時間もマウスたちの世話をしていたことを昨日のように思い出します。やさしく接しないとマウスもストレスを感じてしまいますし、常に倫理的な問題をクリアできるように努めて対応していました。

なお、本学で行った実験はすべて女子栄養大学動物実験倫理委員会と女子栄養大学遺伝子組換え実験委員会に申請して承認され、飼育や実験の許可を得ています。また、研究倫理教育研修会とAPRIN eラーニングプログラムを受講し、既定の登録を終了しています。以下の研究に関して、開示すべき利益相反状態は存在しません。

#### 【実際に行った食に関わる研究】

（スペースの関係で図表は省力します。）

##### ① 脂肪や脂肪酸の組成と食生活、血栓症に関する研究

私たちが普段摂取する食事の何が不足すると早期から体調不良を起こしやすくなるのかについて理解するために、マウスに組成を変えた餌を与えて、体重や行動について調べた。実際には、普通食標準飼料から特定の栄養素（糖、脂肪、コレステロール、食塩）を半減させた飼料をマウスに摂取させてその行動リズムを赤外線センサー（ACTIMO）で記録し、ソフト（MATLAB/ClockLab）で解析した。その結果、標準食と比較していずれの飼料でも摂取量と数週間後の体重に変化はなかったにも拘わらず、脂肪が少ない餌を摂取したマウスでは通常はあまり行動しない昼の時間帯（明期）に良く動くようになった。逆に脂肪を増やした餌を与えると、昼夜の行動リズムにメリハリが出て、夜（暗期）の動きが多くなったが、それは単に飼料に含まれる脂肪の量よりも質（脂肪酸組成）による影響が大きいことに気付いた。夜間（暗期）に摂食するマウスに明期にだけ餌を与えると血栓症の発症リスクが高まる<sup>16)</sup>ことから、本研究では飼料中の脂肪の組成の違いによる血栓症関連因子への影響について検討した。すなわち、血栓形成を促進する血中の悪玉サイトカイン（プラスミノゲン活性化阻害因子、PAI-1）と逆に血管壁で抗トロンピン作用を発揮する善玉の血栓形成抑制因子（トロンボモジュリン、TM）の発現バランスについて、概日リズムを生み出す中心的な分子時計（ピリオド2、PER2）の変動と比較しながら調べた。

その結果、マウスにラードやショートニングの含量の高い低炭水化物食（各油が重量比で70%の高脂肪食）を摂取させた群では、普通食群（大豆油が重量比で7%）と比較して、血栓形成因子PAI-1の遺伝子（Pai-1）発現

は増加し、逆に抗血栓性因子TMの遺伝子 (Tm) と時計遺伝子 (Per2) の発現はどちらも減少した。一方、ココナッツ油 (ヤシ由来のパーム核油) を摂取させた実験では、Pai-1, Tm, Per2の各発現リズムの位相が前進し、またショートニング群の場合はそれらのリズムがほぼなくなった。すなわち、PAI-1やTMの遺伝子発現は時計遺伝子 (Per2) 発現と同調して変動すること、また脂肪酸組成が適切でない脂質 (飽和脂肪酸 (ラード) や長鎖不飽和脂肪酸を人工的に水素添加して固化化したトランス脂肪酸 (ショートニング)), 中鎖脂肪酸の含量が非常に高い油 (ココナッツ油) を多量に含む低炭水化物食を摂取すると、Pai-1やTmの発現が変化し、またピーク時刻がシフトすることがわかった。得られた結果は、これらを過度に摂取すると、人の生活時間に外挿した場合の午前中において血栓症の発症リスクが高まることを示唆している。近年、厳しい低炭水化物ダイエットを生活に取り入れる人が多くなり、またマスメディアからの適切ではない食情報も氾濫している。過剰な糖分の摂取を控えるのは悪くないものの、本来なら20~30%程度にすべき脂質由来のエネルギーを極端に増やすのは生体にとって好ましい状態ではなく、長期的な影響を含めて慎重に対応する必要がある。現在、消化吸収が早く体内に蓄積し難い中鎖脂肪酸を主成分とするMCTオイルがケトジェニックダイエットとして注目されているが、長期間多量に摂取して本当に大丈夫なのか? 自分の実験結果からは少し心配である。少なくとも本研究は、血栓症の発症を予防するためには、脂質の量に限らずその組成にも注意する食生活を心がけることがとても大切であることを示している。

一方、EPAやDHAなどの $\omega$ -3系長鎖不飽和脂肪酸は全身の概日リズムの同調に良い効果をもたらす<sup>22, 23)</sup> と言われるが、本研究においても血栓症の発症予防に効果があったことを付記したい。

本研究は主に大学院生の梶村佳世さんと一緒に行いました。

## ② コレステロールと食事・運動に関する研究

食生活習慣の欧米化と働き盛り世代の運動不足が常態化する現在では、早くから中高年者の内臓に脂肪が溜まり、血管壁に沈着した脂質に起因するアテローム血栓性の心筋梗塞や脳梗塞、及び肺塞栓症などの発症リスクが高まっている。本研究では、炭水化物や脂肪、あるいはコレステロールを豊富に含む食材によって生じる体内への悪影響と、それに対する運動の効果についてマウスを用いて検討した。

マウスに普通食と比較して高炭水化物 (HC) や高脂肪 (HF) がそれぞれ15~20%多い飼料を摂取させると、1週間後には肝臓に中性脂肪 (TG) が蓄積し、X線CT装置 (ラシータLCT-100) の画像でも脂肪肝 (TG肝) 及び皮下脂肪の明らかな増加を確認できた。しかし、どちらの飼料を5ヶ月間摂取させても、血中のコレステロ-

ル (Cho) は高値になったものの血中TG値は恒常的に上昇する訳ではなく、内臓脂肪もまったく増加しなかった。これに対し、飼料にChoを0.5%含む高炭水化物 (ChoHC) 食、または同高脂肪 (ChoHF) 食を摂取させた群では、飼料中の炭水化物や脂肪の濃度とはほぼ無関係に直後から肝臓にChoが著しく蓄積し、肝TGもCho未添加食群よりさらに増加して脂肪肝 (TG-Cho肝) になった。ところが、逆に血中のTG濃度は明らかに低下し、皮下脂肪もむしろ減少していた。このとき、内臓脂肪は著しく増加したが、血中のCho値は高くなったもののCho未添加群と比較して大きな違いは認められなかった。すなわち、食材にChoが含まれるか否かによって体内の脂質動態に大きな違いが現れ、血中の脂質レベル (TGとChoの値) を測定しただけでは内臓脂肪や肝臓内に溜まるTGとChoの増減を推定できないことがわかった。

一方、この条件下において血中のサイトカインレベルを調べたところ、HF食摂取群と比較してChoHF食摂取群では悪玉サイトカインのMCP-1 (単球走化性因子) が顕著に増加し、内臓脂肪の蓄積と炎症との関連性が深いことを支持する結果だった。さらに、Choの負荷により血栓形成因子PAI-1の抗原量が血中で顕著に増加すること、また血管内皮細胞上で強力な血栓形成抑制作用を発揮するTMの抗原量が減少することもわかった。このようなChoによる生体内への悪影響は摂食する時刻とは無関係だったので、たとえ朝食であっても多目のChoを摂取し続けると、体内にChoが蓄積すると共に、血管では血栓が形成されやすくなると考えられた。一般的に、私たちは脂肪や炭水化物の摂り過ぎに注意を払うことを強く意識しているが、実際にはCho含量に気を付ける食生活を送らないと、内臓脂肪蓄積型の肥満や脂肪肝 (TG-Cho肝) を予防することには繋がらないだけでなく、体内が危険な炎症状態に陥ること、さらに血栓症も発症しやすくなるのが強く示唆された。

次に、食事の仕方 (食組成の質と量や摂食時間) に加えて、運動の効果について理解するために、マウスに対する運動負荷の影響について調べた。強制回転カゴ運動装置を用いて、人が約3kmをジョギングする程度の運動 (120mを15分間かけて走行) を週4日20週間続けた条件において、HF食群の血中と肝臓中のTG値が減少傾向を示した。一方、ChoHF食群では特に朝方 (人の夕方に相当) の20週間のランニングで肝臓中のTG量が少し減り、弱いながらも運動の効果が認められた。しかし、それ以外の血中で増加したTGやChoの増加に対して、また著明に蓄積した肝Choに対してはまったく改善できず、運動の効果は限定的と考えられた。ただし、皮下脂肪が増加して内臓脂肪が減少する良い傾向が認められたことから、もう少し負荷のかかる運動を長期間続けることによって、有意な改善効果が現れる可能性がある。一方、マウスがストレスなしに運動できるように飼育ケージ内にランニングホイールを設置して自由走行させ、その距離をモニタリングして調べた実験でもほぼ同様の結

果となり、良く走ったマウスには運動による効果が多少認められたものの、20週間程度の軽運動では脂質レベルの明らかな改善はなかった。ところが、運動することで早期から効果が認められる因子もあった。すなわち、ChoHF食により増加した血中の悪玉サイトカインMCP-1や血栓性因子PAI-1は、20週間の運動でも明らかに減少し、低下した善玉の抗血栓性因子TMの血管での抗原量も有意に増加する結果が得られた。従って、適度な運動は体内の炎症や特に血管に対して比較的早期から良い効果を及ぼすと考えられ、内臓脂肪が減少傾向にあった結果と関連しているようだった。

日本人の食生活ではChoが不足することは稀で、過剰量の摂取に気を付けることが大切であるが、それだけでなく、低比重リポタンパク質(LDL)中のChoが酸化する(酸化LDLになる)と、血液中の抗血栓性タンパク質(TFPI)の活性が著しく低下することも分かっている<sup>24-27)</sup>。従って、日々の適度な運動に加えて、普段からChoを酸化させないような抗酸化力を有する多様な食材を摂取することにも気を配るべきだろう。

本研究は主に大学院生の紀室悠理さん、中村紗佑里さんと一緒に行いました。

### ③ 血栓症を予防・改善する食材に関する研究

ビタミン、ミネラル、食物繊維が豊富な野菜やそれらをバランスよく含む果物を多く摂取すると、肥満を中心とした様々な疾患の発症予防に繋がり、また死亡リスクの低下に結びつくとの報告も多い。厚生労働省・農林水産省が示す「食事バランスガイド」には、野菜と果物を毎日それぞれ350gと200g摂取するのが望ましいと記載されているが、現在でもその目安量には達していない。野菜や果物以外にも、私たちが普段摂取する食材には健康の維持・増進や疾患の改善に有益な栄養素が含まれており、それらを適度に取り入れることは大切と考えられる。例えば、キノコ類は食事バランスガイドにおいて、野菜、いも、海藻などと同じ副菜の材料に位置付けられているが、四群点数法の第3群中の絵には登場しないことの多い食材で、厚生労働省では野菜とキノコが別に分類されているものの、総務省では生鮮野菜中に組み込まれていて、その効能については一部の評価に留まっている。実際に、キノコ類の脂質低下作用や血栓症予防効果に関する*in vivo*での研究は、シイタケなど一部のキノコによるコレステロール低下作用や血小板凝集抑制作用を除くと、それほど調べられていない。

一方、肥満は多くの疾患の引き金になる最も警戒すべき病態であるにも拘わらず、普段の生活に大きな支障を来すことが少ないことから、肥満との関連性が強い脂質異常症患者の実数も不明である。継続的な治療を受けている220万人(2019年国民健康栄養調査)から推定される脂質異常症の患者数は、少なくとも一千万人~数千万人いるとされるので、脂質異常症の患者を標的とした食生活改善の指導が急務と言える。すでに、上記①と②の

研究で示したように、コレステロール(Cho)を含む高脂肪(ChoHF)食を摂取したマウスでは、短期間で内臓脂肪蓄積型の肥満になって炎症や血栓症が発症しやすくなることから、本研究では過去に詳細が調べられていない身近な食材の緑茶とわさび菜、そして栄養価が高い代表的な低エネルギー食品であるキノコ類を試料にして、ChoHF食摂取マウスにおける脂質異常や血栓形成状態を改善できるのか検討した。

マウスに地元の狭山茶と長野県産のわさび菜を各10%含む粉末飼料を自由に与えたときの餌摂取量及び4週間までの体重変化は、対照の両成分を含まないChoHF食摂取マウスと同等だった。このとき、血中のTGとChoのレベル、肝臓の重量、および肝臓内のTGとChoの量にはいずれも差がなかったが、血中グルコース濃度は狭山茶の摂取で減少する傾向にあった。

一方、日ごろから食卓に登場する市販のキノコ9種類(エノキタケ、エリンギ、シイタケ、タモギタケ、ツクリタケ、ナメコ、ブナシメジ、ホンシメジ、マイタケ)と、本学名誉教授の青柳康夫先生より供与された貴重な野生のキノコ11種類<sup>28)</sup>(アマタケ、ウラベニホテイシメジ、オオツガタケ、クリタケ、サクラシメジ、ショウゲンジ、チチタケ、チャナメツムタケ、ハナイグチ、ムキタケ、ヤナギマツタケ)をそれぞれ2%混餌食にして2週間与えて検討したところ、キノコ摂取群の体重変化はすべてで対照群と違いがなかった。このとき、血中のTG濃度が明らかに低下したのは野生のクリタケだけで、その他のキノコでは効果が弱い(サクラシメジ、ショウゲンジ)、または変化しない、あるいは逆に増加する場合もあった。一方、血中Choでは20品目中9品目による低下作用が認められ、比較的多くのキノコ類がCho低下作用を有する結果だったが、クリタケにその効果は見られなかった。プラスミンによる血栓の溶解を阻害する悪玉因子PAI-1の血中濃度を低下させるキノコとしては、普段から家庭で利用される市販品の4種類に特に大きな効果が認められ、すでに血小板凝集抑制作用のあることが知られているシイタケに加えて、エリンギ、タモギタケ、ブナシメジは、血栓症の予防が期待できる優れたキノコであることが示唆された。残念ながらこれら4種のキノコは、本実験においていずれも血中TGを高める結果だったので、健康体を維持する観点からは血中TGを増加させず、血中のChoとPAI-1をある程度減少させる作用のあったホンシメジを推奨したい。野生キノコのアマタケやハナイグチにもPAI-1低下効果は認められたが、Choをやや上昇させる可能性があったことから、その摂取は限定的にするのが適当と考えられた。

食材は栽培方法や採取する時期によっても栄養価に差が出るだろうが、それぞれのキノコが有する機能性を取り入れた食生活を送ることは、個人の目標とする健診結果の数値に到達するための一助になると考えられる。

本研究は主に大学院生の中村紗佑里さん、研究生の細野有希さんと一緒に行いました。

#### ④ 食事と記憶学習能力に関する研究

脂肪やコレステロールの多い食事が肥満や脂肪肝を誘発し、脂肪細胞や血管内皮細胞、筋肉細胞など体内の様々な細胞に悪影響が及んでアディポサイトカインなどの種々サイトカイン類やホルモンの合成・分泌に異常を来すことは広く知られている。これらは上記の研究①～③においても確認できており、食の欧米化は脳細胞にも悪影響を及ぼしていると考えられる。

脳の機能低下により単独で生活するのが難しいと診断された認知症の患者数は2012年時点で462万人、軽度認知障害(MCI)の人も400万人いると発表されたが、さらにその後の久山町研究のデータから2025年の認知症患者は約700万人(675～730万人)に達すると推計されている。特に日本や東南アジアで認知症患者が増加している主な理由は、血管の障害(動脈硬化、高血圧、高血糖、酸化ストレス)とその障害に大きく関わる食事の欧米化であり、さらに運動不足と社会的孤立、及び認知症への理解度が増したことによる外来患者の増加が数値を上げる要因と指摘されている。

食事内容に言及すると、一般に動物性食品は好ましくなく、緑黄色野菜、魚、乳製品、緑茶は認知症の発症予防に貢献する食材とされ、良質な食事は血管の障害を防ぐ観点からも極めて重要である。しかし、普段の食事に含まれる脂質組成の影響については必ずしも明確になっておらず、例えば血中コレステロールレベルと認知症との関係については、相関と逆相関の報告があつて結論が出ていない。本研究では、マウスに高脂肪(HF)とコレステロール含有高脂肪(ChoHF)を摂取させた後の脳機能への影響について、記憶学習能力と脳細胞内の神経栄養成長因子の変動から検討した。

その結果、寿命が1年程度と短めのC3H系マウスは、寿命がそのほぼ倍と比較的長めのICR系マウスと比較して同じ週齢での記憶学習能力(受動的回避試験:明室からマウスが好む暗室に移動すると軽い電気刺激を受けることを何分間覚えておくことができるかについて明室に留まる時間で判定)が劣っており、脳機能と生存期間に関連性のあることが示唆された。高脂肪(HF)食を摂取したマウスでは(C3H系とICR系マウスで共に)、普通食摂取マウスと比較して記憶学習能力が明らかに劣ること、また時計遺伝子クロックが正常に働かないClock変異マウス(*clock*マウス)<sup>29,30)</sup>は、野生型マウスと比較して記憶学習能力が著しく低下しているだけでなく、HF食の摂取でその能力がさらに低下することが明らかになった。性差を比較すると、普通食で飼育した雌雄マウスの記憶学習能力に大きな違いはなかった(*clock*マウスの場合は雌よりも雄の記憶学習能力が少し劣る傾向にあった)が、後述するように脂質の組成によって両性の能力に明確な違いが生じた。すなわち、受動的回避試験で測定した長期記憶能力の成績は、HF食を摂取した雄では普通食摂取マウスと比較して低下する割合が限られたのに対し、雌ではHF群の記憶能力が著しく低下した。

本実験で最も注目されたのはHFにChoが含まれる餌(ChoHF)を与えた場合の八方向迷路試験(放射状に伸びた8本のアームの先端に少量の餌を置き、前日から摂餌制限したマウスが規定時間内に捕獲する餌の数や誤侵入数などを記録して経時的な学習効果(知識習得能力)を測定する。長期記憶よりもむしろ空間認識能力の試験)の成績だった。普通食を摂食しているマウスでは、雌のこの試験による知識習得能力は雄と比較して非常に高く、直ぐにほぼ全部(八方向)の餌を獲得できたが、雄では次第にその能力が高まったものの、18日後でも8つを完食することはできなかった。一方、雌雄のマウスにChoHFを8週間摂取させてから測定したところ、雄では8日目までに獲得できる餌の数は2個程度だったが、その後普通食摂取マウスと同程度に獲得できるまでに能力が高まった。しかし、雌では普通食摂取の場合と全く異なり、10日目までは餌を1個程度しか獲得することができず、18日経っても平均で約2個だけしか獲得することができなかった。つまり、雄ではChoHFを摂食することで知識習得能力が低下してもその後回復できるが、雌ではその能力が非常に低下した状態が続いて回復することもほとんどなく、ChoHFによる脳機能への悪影響が強く現れることがわかった。すなわち、今回の実験により記憶学習(知識習得)能力に影響を与える因子として、高脂肪食(特にコレステロール含有高脂肪食)、Clock時計遺伝子、性ホルモンの3者が考えられた。

次に、記憶に関わるグルタミン酸受容体関連タンパク<sup>31)</sup>(NMDAR-2Aや-2B, KIF17)と神経栄養成長因子(BDNF)<sup>32)</sup>の脳内における遺伝子発現量をRT-PCR法で調べた。その結果、若年マウスの脳において中枢神経系の後シナプス部に存在するグルタミン酸受容体(NMDAR)の輸送に関わるKIF17のmRNA発現量は、本来の夜間摂食時刻でない明期にだけ摂食させると低下すること、またHFやChoHFの摂取によって脳内のNMDAR-2BとBDNFのmRNA発現量が低下することがわかった。脳細胞のシナプス可塑性維持を介した長期記憶の形成(記憶の獲得や維持)には、BDNFの活性化やグルタミン酸受容体の働きが極めて重要であることが指摘されており<sup>32,33)</sup>、本研究結果は食事をするタイミングや脂肪食(Cho食)によって脳の記憶能力に影響が現れることを示している。さらに、HFやChoHF摂取後の高齢マウスにおけるこれら因子の変動に興味をもたれた。

本研究は主に大学院生の島田春奈さんと一緒に行いました。

#### ⑤ 周産期栄養とホルモン、ストレス、および脳神経栄養成長因子に関する研究

食事が脳機能に影響し、認知症の発症にも深く関わっていることは広く認識されており、上記④の研究でも内臓脂肪が増加するコレステロール脂肪食(ChoHF)の摂取によって脳機能にとって好ましくない結果が得られている。その一方で、若い女性の痩せ願望によるBMIの

低下も指摘されている。2019年11月に実施された国民健康・栄養調査（2020年12月の報告書）によると、20代と30代女性のやせ（BMI 18.5未満）の割合はそれぞれ20.7%と16.4%で高く、肥満（BMI 25以上）のそれぞれ8.9%、15.0%と比べても特に20代のやせ型女性は非常に多い。近年では、妊娠中の低栄養状態が成人期や老年期でのメタボリックシンドロームの発症、及びその後の虚血性心疾患の発症に結びつくとの考え方（Barker仮説<sup>34</sup>）やその改良版と言えるDOHaD仮説<sup>35</sup>）が広く受け入れられ、低出生体重児（出生体重2,500g未満）を防ぐための栄養指導も行われている。しかし、胎児期や乳幼児期の食事内容とその後の成長に伴う脳機能に関する研究データは少ない。

すでに著者らは、普通食を摂取したマウスから生まれた仔に離乳後からChoHFを食べさせると記憶学習能力が低下することや、同餌を摂取した親は仔に乳を与えず、また仔に密着して世話をするなどの養育を放棄する割合が高くなる実験結果を得ている。本研究では、このような状態下にある親と仔マウスにとって関わりの深いホルモンと脳内神経栄養成長因子の増減について調べると共に、離乳後の成長期にある仔が親と同居、あるいは別居している条件下において、それらが変化するのかについてもストレスとの関係を考慮しながら検討した。

その結果、ChoHFを摂取した雌仔の神経栄養成長因子BDNF<sup>32</sup>の遺伝子発現量は普通食群よりむしろ高めだったが、母親と離れた状態が続くとその発現が低下した。このとき、ストレス性ホルモンのコルチコステロン<sup>36</sup>（ヒトのコルチゾールに相当）値は調べた餌や環境の違いで差を生じなかった。一方、血中のオキシトシン<sup>37</sup>（抗ストレス性ホルモンで愛情ホルモンや幸せホルモンと言われる）も親仔の同居・別居、あるいは摂取する餌の違いによる有意差は見られなかったものの、普通食で育った親から生まれた仔が離乳後にChoHFを食べると、特に雄仔においてその値が顕著に低下した。すなわち、普通食を摂取したマウスの母乳中にはそれほど多くない脂肪（10%程度）やコレステロール（0.02%程度）を離乳後のマウスが多量に摂取すると、オキシトシンの血中レベルが低下することがわかり、母マウスと乳幼児期マウスの摂取する餌の組成がその後の仔の成長過程におけるホルモンバランスや精神活動に影響を及ぼす可能性が考えられた。

そこで、親と仔に普通食とChoHFを妊娠前から食べさせて、さらにその仔をそれぞれ2群に分けて出産後や離乳後に両餌を与える実験を行った。その結果、母親が摂取していた組成と同じ餌を仔が摂取した（授乳中を含む）場合と比較して、異なる組成の餌を摂取した場合、特に普通食を摂取していた親から生まれた仔が離乳後にChoHFを摂取すると、オキシトシンだけでなく脳内のBDNFやグルタミン酸受容体関連タンパクNMDAR-2Bの遺伝子発現が顕著に低下することがわかった。すなわち、離乳後の仔が周産期の母と明らかに異なる組成の餌

を摂取するのは好ましくなく、加齢に伴って様々な生体内機能に影響が及ぶと考えられた。

胎児期の低栄養環境が出生後に改善すると相対的な過栄養状況になるとするBarker仮説<sup>34</sup>、そして低栄養は遺伝子そのものの配列よりも遺伝子発現の調節（エピジェネティック制御）に影響が及ぶとするDOHaD仮説<sup>35</sup>が注目され、さらに近年の研究<sup>38</sup>でも、低出生体重児はその後の成長や中年期以降における虚血性心疾患の発症と明らかに関連性があると指摘されている。それに加えて、本研究は妊娠時と離乳期を通しての親子の食事内容（組成）の急激な変化に注意すべきであると主張するものであり、腸内環境との関連性の面からも重要な知見を含んでいる。

さらに本研究では、摂食行動の制御因子であり、睡眠や情動、報酬系にも大きく関与するオレキシン<sup>39</sup>とその受容体<sup>39, 40</sup>の発現変動についても、高脂肪（HF）食摂取による影響の点から調べた。その結果、HF摂取マウスではオレキシンとオレキシン1受容体の発現が減少すること、また時計遺伝子*Clock*の変異マウスではオレキシン発現量が低いことが明らかになった。オレキシン1受容体は脳幹の特に青斑核に強く発現する<sup>40</sup>ことから、その低下はノルアドレナリン介在性ニューロンを介した脳全体の機能調節にも影響が及んでいると考えられる。すなわち、時計遺伝子の発現異常を引き起こす朝食の欠食や過度の高脂肪食摂取という悪い食生活を続けることによって、オレキシン経路を介した脳の広範な機能が低下し、睡眠にも影響が及ぶ可能性が考えられる。

ここで得られた研究結果は必ずしも人に外挿できる訳ではないが、本研究は脂質異常症の患者が増えている現代人の食生活様式の中で、加齢に伴う記憶力の低下や様々な生活習慣病の発症に対して脂質の摂取をどうすべきか考えるための参考になると思われる。脳を活性化して認知症を含む生活習慣病を予防し、健康寿命の延伸を図るためには、周産期の栄養やストレスを軽減する環境を早期から整える必要があることを改めて強調したい。

本研究は主に大学院生の中村紗佑里さん、島田春奈さんと一緒に行いました。

## ⑥ PPARを中心とした核内転写因子に対する食事の影響に関する研究

近年では、食事に含まれる栄養素（個々の脂質成分やペプチド、ビタミン、ホルモン、ミネラルなど）がリガンドとして、あるいは補助的な活性化因子として、細胞内転写調節に大きく関与することがわかってきている。遺伝子発現はそれを制御する因子について理解することが必須で、脂質代謝においても脂肪酸自体やアラキドン酸由来のプロスタグランジン、ロイコトリエン、またコレステロールや胆汁酸などによるリガンドとしての転写因子への影響を考えなければならない。これまでの上記研究①～⑤に記載した食による脂質代謝の変動と血管や脳機能への影響に関する実験では、関連する遺伝子の転写

開始点上流に位置する応答配列と転写因子の相互作用による制御機構について触れてこなかった。著者らの一連の研究は主に脂質代謝に関係しているので、核内の転写因子の中では後述するPPAR<sup>41)</sup>について意識する必要があり、またPPARが体内時計タンパクの転写調節に関与しているのも事実<sup>42)</sup>であることから、当初より実験結果を明確にできるPPAR $\alpha$ ノックアウト (KO) マウス<sup>43, 44)</sup>を入手して利用してきた。なお、本研究では脂質代謝に関連するその他の核内転写因子 (PPAR $\gamma$ , PGC-1 $\alpha$ , SREBP-1, SREBP-2, RXRなど) の発現変動についても調べたが、ここでは割愛させていただく。

最初にPPARについて少し解説したい。PPAR (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor: ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体) は細胞内のペルオキシソーム (私が大学院で初めて研究した細胞内小器官) の増生を誘導する受容体で、糖・脂質代謝や細胞の分化と密接に関係している遺伝子群の発現を調節する核内受容体型転写因子 (核内レセプタースーパーファミリー) のメンバーである。 $\alpha$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  ( $\beta$ ) の3種サブタイプが確認されていて、PPARの名称の由来は最初に発見されたPPAR $\alpha$ がペルオキシソーム増殖剤のフィブラート系薬剤 (脂肪酸 $\beta$ 酸化の促進作用などを有する中性脂肪低下薬) で活性化されたことによる。PPAR $\alpha$ は褐色脂肪組織や腎臓、心臓、骨格筋や脳にも存在しているが、最も強く発現する肝臓の細胞内で、生理的リガンドの脂肪酸により活性化されてレチノイドX受容体 (RXR) とヘテロ2量体を形成し、遺伝子の特定の配列 (PPAR応答配列 (PPRE)) への結合を介して転写調節を行う。因みに、別のサブタイプPPAR $\gamma$ の外因性リガンド (チアゾリジン系薬剤, ピオグリタゾン (商品名アクトス) は新型コロナウイルスの感染症治療薬の候補) は、脂肪細胞の機能の正常化を介してインスリン感受性を高める糖尿病治療薬である<sup>45)</sup>。

PPAR $\alpha$  KOマウスを利用することで得られた結果を以下にまとめる。上記の研究①と②の関連では、wildマウスで確認されたコレステロール含有高脂肪 (ChoHF) 食摂取後の血中PAI-1 (血栓の溶解を抑制する悪玉因子) の著しい上昇はPPAR $\alpha$  KOマウスでは認められず、この餌によって引き起こされるPAI-1増加はPPAR $\alpha$ を介した現象であること、また高脂肪 (HF) 食との比較から、Choは肝臓のPPAR $\alpha$ を増やすわけではなく、その活性化を介して代謝異常 (例えばデータからは炎症性サイトカインの誘導) を引き起こすと考えられた。両高脂肪食 (HFとChoHF) はどちらもPPAR $\alpha$ との関連性があるにもかかわらず、異なる機構によって血中の悪玉PAI-1レベルの上昇を引き起こすことがわかり、Choを含む餌 (ChoHF) の場合に見られる著明なPAI-1増加がHFとは別の理由によるのは納得のいく結果だった。

研究④の記憶学習能力との関連では、HFやChoHFを摂取したPPAR $\alpha$  KOマウスでは、雌雄どちらでもwildマウスと比較して受動的回避試験や八方迷路試験で測定し

た脳機能の成績が良くなっており、特にChoHFを摂取した雌では、PPAR $\alpha$ が欠損していると明らかに記憶力の回復が高まった。すなわち、雌ではPPAR $\alpha$ が機能を発揮する正常時においてChoHFを摂取すると、前述したように、グルタミン酸受容体関連タンパクNMDAR-2Bの発現が低下して海馬の細胞内シグナル伝達を介する記憶学習に悪影響が及ぶ可能性が考えられたが、PPAR $\alpha$  KOマウスでは (NMDAR-2Bの遺伝子発現が低下しているものの)、HFあるいはChoHFを摂取すると逆にその発現が高まることが判明した。脳内におけるPPAR $\alpha$ の発現はマウスが高齢になると減少していたことから、記憶力を維持する観点からは加齢に伴って食生活における脂質の摂取量を変える (むしろ少し多めに) 必要があることを示唆する結果と言える。

さらに、研究⑤の周産期栄養やストレス、ホルモンと関連する実験で、PPAR $\alpha$  KOマウスはwildマウスと比較して明らかに子育てを放棄する割合が高く、特にChoHFを摂取させた場合にそれがより顕著になることが判明した。このマウスの血中オキシトシン値を測定したところ明らかに低値であり、高脂肪・高コレステロール食の脳機能への影響がPPAR $\alpha$ 発現レベルと密接に関連していることも推測された。PPARは核内における様々な転写調節の鍵を握る中心的な転写因子<sup>41, 42)</sup>であり、特に食と健康を脂質代謝から理解するためには、その発現状態について注意しなければならない。ストレスの多い社会で暮らす私たちは、海馬のPPAR $\alpha$ を維持できる食材についても研究することが大切であろう。

本研究は主に大学院生の紀室悠理さん、中村紗佑里さん、島田春奈さんと一緒に行いました。

#### ⑦ 食事とがんの転移、サイトカイン産生に関する研究

がん治療は遺伝子パネル検査によりがんの特徴を把握し、最適な分子標的薬や免疫チェックポイント阻害薬を選択できる時代になったが、私のがんの研究ができる卒論研究室を選びたいと思った当時は、まだ克服すべき課題の多い不治の病だった。それでも未だ日本人の3人に1人はがんで亡くなっていて、多くの研究者が革新的診断・治療技術の向上や優れた薬剤の開発を中心に日夜検討を続けている。がんは原発巣に留まっていればほとんどは手術による除去が可能で、また予後も多くの場合は良好だが、リンパ節に転移して拡散したり、特に血液を介して血管が豊富で血流の多い肺や腎臓、脳、そして骨などに血行性の遠隔転移をした場合には大変な事態に陥ってしまう。しかし、血管壁でがん細胞の接着や侵入を防ぐことができれば、時間・空間的に免疫細胞によって処理される可能性が高まることから、私は以前より血管壁でその存在が予想されるがん細胞侵入抑制因子 (防御因子) を探っていた。培養血管内皮細胞に種々のがん細胞を添加した際に増減する成分を標的にして、RNA由来のcDNAを用いたディファレンシャルディスプレイ法で検討を続けたところ、いくつかの新たな知見が得られ

た。1つ目は血管内皮細胞においてMnSODなどの活性酸素消去系の酵素群が変動すること、2つ目は血管内皮細胞のセレクチンなどの糖鎖受容体やICAM-1, VCAM-1などの接着分子、クローディン<sup>46)</sup>などのタイトジャンクション系分子、さらにメタロプロテアーゼ (MMP)<sup>47)</sup>の数種の発現が増減すること、そして3つ目は私の研究対象であったトロンボモジュリン (TM) の発現状態によってがん細胞の浸潤に違いが生じることだった。

女子栄養大では、上記2つ目の結果に着目し、脂質食摂取後や摂取時刻による各因子の変動を中心に検討した。本学におけるこの実験は研究所専任講師である共同研究者の平石さゆり先生に検討していただいた結果、マウスに高脂肪 (HF)、あるいはコレステロール含有高脂肪 (ChoHF) を摂取させると、尾静脈から投与したメラノーマがん細胞の肺への転移が亢進することがわかり、さらにそれは肺の血管内皮細胞に存在する接着関連分子 (E-セレクチンやICAM-1) の発現が高まることと関連していると推測された。両脂肪食摂取後に肺の接着分子の発現が高まる理由としては、HFの場合は血中でレプチンが増加するため、またChoHFの場合は血中に炎症性サイトカイン (TNF- $\alpha$ , IL-6) が増加するため、という異なる機序が考えられた。

一方、時間栄養学の視点から、昼夜交替勤務の方の食事内容や食事時間とがんの発症との関連性について検討するために、マウスの餌摂取時刻を通常の日ではなく昼に限定した制限給餌や、摂取時刻を不定期 (昼給餌4日と夜給餌3日を毎週繰り返す) にした人のモデル実験を行い、メラノーマがん細胞の肺転移と摂食時刻との関係や、体内分子時計 (BMAL1とPER2, それぞれの遺伝子 Bmal1とPer2) の概日リズムへの影響を調べた。

その結果、本来の摂取時刻ではない昼に餌を食べたマウスでは、メラノーマがん細胞の肺への転移が増加し、またE-セレクチンの遺伝子発現が増加すると共に、P-セレクチンとVCAM-1の遺伝子発現ピーク時刻がシフトした。このとき、Bmal1とPer2の発現ピークは給餌開始3日目から明らかに早くなり、共に6時間かそれ以上に前進した。さらに、概日リズムのサイクルを形成するためのフィードバックループの鍵を握る他の体内時計タンパク (CLOCKとCRY) の遺伝子 (ClockとCry) 発現も同様で、共に発現の位相がシフトしていた。一方、餌の不定期摂取群では、これら時計遺伝子や接着関連分子の発現がバラバラでピークを示さない状態だった。

以上により、HFやChoHFの摂取だけでなく、餌を摂取するタイミングによっても、時計遺伝子の発現リズムが乱れ、また接着に関わる分子の発現も乱れて、がん細胞の血行性転移が高まることがわかった。現在、シフトワーカーは乳がん<sup>48)</sup>や前立腺がん<sup>49)</sup>の発症頻度が高いとのメタ解析結果が注目されている。本研究は、食事の内容や摂取時間によってメラノーマがん細胞が血管の豊富な肺に転移しやすくなる1つの機構を明らかにし、またがん転移の危険性を低くするために適切な食事時刻や

食事組成の食生活を送ることの重要性を示した点で大変に意義があると考えられる。

#### 【院生の研究への提言】

研究室で研究成果を挙げるのに絶大な力を発揮してくれるのが大学院生です。彼女たちや彼らの柔軟な発想と機動力が研究室を支えていると言えます。指導教員を始めとしたスタッフらの意見には、特に最初は圧倒されることも多いでしょうが、食欲に知識や技術を吸収し、考え方を学びながら自分の研究に対する方向性を構築して未来を切り開いていってほしいと思います。

本学に着任して大学院研究科メンバーになった当初から、私はセミナーなどの発表の場で必ず質問することを自分に課していました。質問は一般的なものではなく、なるべく発表した内容に対するものとし、その場で答えられなければ恥ずかしいと思うので嫌われたかも知れませんが、本人のレベルアップに繋がると考えました。実際のところ、基礎研究に限らず調査系の研究でも自分が関わっている調査対象の詳細を理解していない人がいるのに驚いたことも少なくありません。測定や調査を他の関係者に依頼して主なデータだけを入手し、それを整理して発表するだけでは、最初の研究の発想に着手した部分にはオリジナリティがあるものの、多くの場合で自分の研究とは言えないように思います。本質を正しく理解していないと、知らずに間違ったデータを公表することに相成ります。以下は基礎研究の場合ですが、最新で適切な実験手技を用いて最適な条件下で測定することを心掛けないと、信頼できるデータを得られない具体例です。例) 組織からの特定成分の抽出法 (塩やpHの違いで結果は全く異なる) や測定前処理法の違い、試料中の共存物質の影響や保存方法、採血時の抗凝固薬の選択の仕方 (血小板の影響)、試料 (特にRNA) の安定性 (新型コロナワクチンで有名になった)、利用する抗体の特異性、測定方法の選択など。繰り返しになりますが、外注して回収した調査や測定したデータをそのまま信用するのではなく、検証することが大事です。また、得られたデータに相関性が認められると因果関係があるかのように論じることに大きな違和感を持ちました。一部の院生はこの部分が少し弱いように感じました。加えて、フェイクニュースやエセ科学による誤情報を見抜く力量も身に付けてください。納豆を食べると血栓が溶けやすいのはナットウキナーゼによる血栓溶解効果だと偉い先生方も言っています (食した高分子タンパク質 (酵素) がそのまま血中で作用を発揮することになります) が、本当でしょうか? 私は大学院講義の中で様々な倫理的問題を話題にしてきましたが、世の中には気が付かないだけで犯罪的行為にされてしまうことだってあります。今回の新型コロナの蔓延で今まで考えることのなかった事象が次々と浮かび上がっており、改めて社会問題について考えてみるチャンスでもあります。

一方、現代はデータ量が飛躍的に増大し、アルゴリズム

ムの高度化が進む中で必然的にAIを活用しなければ太刀打ちできない状況になっています。情報の格差を意識して、技術の革新化についていかなければ研究や教育も手遅れになる時代に突入したと言えるでしょう。近年は健康を維持するためにスマートフォンからの情報を積極的に利用する時代になり、高齢になっても栄養や運動のサポートを気軽に入手できるようになりました。企業誘導型の「習慣化アプリ」や「継続支援アプリ」なども普及していますが、そんな現代社会において特に関心を持たれ、また真摯に取り組んで行かなければならないのが、地球環境の保全です。第4次食育推進基本計画において、社会のデジタル化への対応や持続可能な開発目標(SDGs)へのコミットメントが取り上げられていますが、企業に限らず大学においても経営や成長の戦略の中でESG(環境・社会・ガバナンス)という3つの観点での取り組みが極めて重要になり、その行動によって世界的に持続可能な社会を目指していくことに繋がるのは明白です。大学院生の皆さんは、これからの日本の栄養学を支えていく人材として、「地球に優しい食事(例えば、畜産(養殖)と抗生剤利用のこと、農産と農薬使用のこと、フードロス(食格差)の問題など)」を意識しながら研究を進めていかなければならないでしょう。女子栄養大学出身の栄養や教育、医療に携わる人たちが、地球環境を大切にしつつ、広く健康と世界平和に貢献されることを願ってやみません。

#### 【おわりに】

本学に着任してから自然に食事のあるべき姿について学んできました。厚生労働省が紹介する国民健康・栄養調査の情報や食事摂取基準、健康日本21の報告を見れば、現在の日本人の栄養状態や課題、高齢者の対策策などもわかります。また、栄養バランスガイドや四群点数法を活用すればより健全な食生活を送れることも確かです。それでも、もし私が健康的な食事の仕方について一言で説明しろと言われたら、「バランスのよい食事を楽しく食べる」と答えます。在任中に何度か取材を受けたことがあります。そう説明するとインタビューの様子が変わり、面白くないという表情になります。日本におけるゲノム編集食品の規制はEUではなく米国に倣って緩い基準になっており、市場にはGABAの豊富なトマトが最初に登場する見込みです。「良い食材とは何なのか」を考えると、特別な成分がリッチであることを意味しないように思います。確かに、不足を補う点では摂取を推奨すべき栄養素や疾患の発症予防・病態回復にとって必要になる食材もあるでしょう。しかし、やはり普段からいろいろな食品をバランスよく食べることは、結果的にPFCエネルギーバランスもよくなって健康の基本になると考えます。大学生のときに学んだ生化学の教科書の青色の表紙には、サブタイトルとして「動的代謝の平衡」と記載されていました。栄養不足が身体に良くないのは当然ですが、特定の栄養素を過剰に摂取する

と生体の代謝に異常を来すことは普通に考えれば誰でもわかる事実です。しかし、世の中では健康食品や単一成分の効能を掲げた食材が目立って身近に出回っています。特に目にするのが抗酸化性食品です。酸素呼吸をする生物であれば、紫外線の影響などで生成する活性酸素類による酸化から身を守るために体内の抗酸化力が必要ですから、効力に強弱はあってもすべての食物に抗酸化性物質が含まれています。従って、酸化ストレスを軽減するためには幅広い種々食材の摂取を心掛けるのが大切です。例えば赤ワインのポリフェノール<sup>50)</sup>(トランス型レスベラトロール)だけを多量に服用するのは、「天然素材で安全な長寿物質」と謳われていても適当ではなく、医食同源の観点からも偏りのない多様な食材を食する生活を送るべきです。ただし、個々の抗酸化性化合物などの栄養素がエピジェネティック制御により固有の作用を発揮する可能性を否定するものではありません。

私の研究は基礎科学ですので、最初に仮説を立てるものの、結果に対しては常に疑いの目を持って接することが大切だと意識しながら実験を重ねてきました。得られた結果を基に主張したい考え方があっても、他の研究者から見れば根拠に乏しいと言われ、別の考え方をすべきだと指摘されるかも知れません。学説はその後の発見や科学の進歩によって覆されることはよくあることですが、結局は投稿した論文を審査する人の知識や考え方(一般に言われる評価の高い雑誌では審査が厳しい)によって受理・不受理の判定を受けることとなりますので、研究成果をどの雑誌に投稿するかは決定は、「自らの研究プライオリティに対する思い」と「最終的にどこかの雑誌に受理されるまでの時間」との関係で妥協点を見つける作業とも言えます。私が本学に着任したのは51歳で体力的な衰えを感じ始めた頃でしたから、研究中心の生活から教育に力を注ぐようにシフトすることを考え始めたタイミングでもありました。残念ながら、論文作成についてはレイジーな私だったことは間違いありません。ただし、振り返ってみると、科学専攻の臨床検査技師コースの学生さん全員が国家試験に合格できるように授業や国試対策には相当のエネルギーを費やし、また卒論を通して想像力の大切さと基礎研究の面白さを教授することを命題に日々努めてきたように思います。検査技師課程の学生さんだけでなく、初年次教育で接した科学専攻の皆さん、いや全学生さんにどのくらい私の教育や研究に対する思いが伝わったのか心許ないところですが、自分では学生さんが女子栄養大学の出身者であるとの矜持を持てるように、身近なところから自信や向上心を培うための努力を続けてきた14年間でした。

最後に、「取り敢えずやってみよう」という純粋に興味ある研究ができたのは本学の皆さまのお力添えをいただいたおかげです。歴代の学長、理事長、学部長、大学院研究科長、研究室委員長には研究面で多大なご支援を賜り、ここに篤く御礼申し上げます。特に、赴任時の環境整備や基礎研究についてご理解くださった香川芳子前

学長（現学園長）、佐久間慶子元研究室委員長、香川靖雄医化学研究室教授（栄養科学研究所長）には重ねて感謝申し上げます。そして、実際の実験に前向きに参加してくださった卒論配属の学生さん、大学院生、研究室スタッフや研究生、共同研究者の先生方、さらに、研究室アルバイトと職員の皆さまにご尽力いただければ多くの研究成果を得ることはできませんでした。紙面を頂戴して心より感謝の意を表明させていただきます。また、研究を遂行するためには栄養科学研究所の奨励研究助成が本当に役立ちました。衷心より御礼申し上げます。未筆ではございますが、投稿の機会をくださり、アドバイスもいただきました栄養科学研究所副所長の香川雅春先生に深謝いたします。

#### 【参考文献】

- 1) Ishii, H., Horie, S., and Suga, T.: Physiological Role of Peroxisomal  $\beta$ -Oxidation in Liver of Fasted Rats, *J. Biochem.*, **87**, 1855-1858 (1980)
- 2) Ishii, H., Fukumori, N., Horie, S., *et al.*: Effects of Fat Content in the Diet on Hepatic Peroxisomes of the Rat, *Biochim. Biophys. Acta*, **617**, 1-11 (1980)
- 3) Horie, S., Ishii, H., and Suga, T.: Changes in Peroxisomal Fatty Acid Oxidation in the Diabetic Rat Liver, *J. Biochem.*, **90**, 1691-1696 (1981)
- 4) Horie, S., Ishii, H., and Suga, T.: Developmental Changes in the Characteristics of Peroxisomal Fatty Acid Oxidation System in Rat Liver, *Life Sci.*, **29**, 1649-1656 (1981)
- 5) Suga, T., Horie, S., and Ishii, H.: Changes in Peroxisomal Enzymes of Rat Liver under Various Physiological and Pathological Conditions, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **386**, 430-432 (1982)
- 6) Horie, S., and Suga, T.: Turnover of Fatty Acyl-CoA Oxidase in the Liver of Rat Fed on a Partially Hydrogenated Marine Oil, *Lipid*, **24**, 890-894 (1989)
- 7) Horie, S., and Suga, T.: Different Regulation of Hepatic Peroxisomal  $\beta$ -Oxidation Activity in Rats Treated with Clofibrate and Partially Hydrogenated Marine Oil, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **166**, 780-786 (1990)
- 8) Christophersen, B.O., and Bremer, J.: Erucic acid -- an inhibitor of fatty acid oxidation in the heart, *Biochim. Biophys. Acta*, **280**, 506-514 (1972)
- 9) Bang, H.O., and Dyerberg, J.: Plasma lipids and lipoproteins in Greenlandic west coast Eskimos, *Acta Med. Scand.*, **92**, 85-94 (1972)
- 10) Hajra, A.K., Horie, S., and Webber, K.O.: The Role of Peroxisomes in Glycerol Ether Lipid Metabolism, *Prog. Clin. Biol. Res.*, **282**, 99-116 (1988)
- 11) Das, A.K., Horie, S., and Hajra, A.K.: Biosynthesis of Glycerolipid Precursors in Rat Liver Peroxisomes and Their Transport and Conversion to Phosphatidate in the Endoplasmic Reticulum, *J. Biol. Chem.*, **276**, 9724-9730 (1992)
- 12) Horie, S., Das, A.K., and Hajra, A.K.: Alkyl dihydroxyacetylphosphate Synthase from Guinea Pig Liver Peroxisomes, *Methods in Enzymology*, **209**, 385-390 (1992)
- 13) Horie, S., Kizaki, K., Ishii, H., *et al.*: Retinoic Acid Stimulates Expression of Thrombomodulin, a Cell Surface Anti-coagulant Glycoprotein, on Human Endothelial Cells: Difference between Up-regulation of Thrombomodulin by Retinoic Acid and cAMP, *Biochem. J.*, **281**, 149-154 (1992)
- 14) Ishii, H., Horie, S., Kizaki, K., *et al.*: Retinoic Acid Counteracts Both the Down-regulation of Thrombomodulin and the Induction of Tissue Factor in Cultured Human Endothelial Cells Exposed to Tumor Necrosis Factor, *Blood*, **80**, 2556-2562 (1992)
- 15) Horie, S., Ishii, H., Matsumoto, E., *et al.*: Acceleration of Thrombomodulin Gene Transcription by Retinoic Acid: Retinoic Acid Receptors and Sp1 Regulate the Promoter Activity Through Interactions with Two Different Sequences in the 5' -Flanking Region of Human Gene, *J. Biol. Chem.*, **276**, 2440-2450 (2001)
- 16) Takeda, N., Maemura, K., Horie, S., *et al.*: Thrombomodulin is a clock-controlled gene in vascular endothelial cells, *J. Biol. Chem.*, **282**, 32561-32567 (2007)
- 17) 堀江修一：時間栄養学～時計遺伝子と食事のリズム～脳卒中・血栓症の時間栄養学（香川靖雄 編著），p109-136, 女子栄養大学出版（2009）
- 18) 堀江修一：時間栄養学（連載第1回 栄養学と時間生物学のコラボレーション），日本栄養士会雑誌 **54**（4），32-35（2011）
- 19) 堀江修一：時間栄養学（連載第2回 食事で体内時計を制御する1：肥満症の時間栄養学），日本栄養士会雑誌 **54**（5），33-36（2011）
- 20) 堀江修一：時間栄養学（連載第3回 食事で体内時計を制御する2：血栓症の時間栄養学），日本栄養士会雑誌 **54**（6），36-39（2011）
- 21) Oishi, K., Miyazaki, K., Horie, S., *et al.*: Genome-wide Expression Analysis of Mouse Liver Reveals CLOCK-regulated Circadian Output Genes, *J. Biol. Chem.*, **278**, 41519-41527 (2003)
- 22) 柴田重信, 古谷彰子：時間栄養学とn-3系脂肪酸, 日本薬理学雑誌, **151**, 34-40 (2018)
- 23) Oishi, K., Konishi, T., Hashimoto, C., *et al.*: Dietary fish oil differentially ameliorates high-fructose diet-induced hepatic steatosis and hyperlipidemia in mice depending on time of feeding, *J. Nutr. Biochem.*, **52**, 45-53 (2018)
- 24) Horie, S., Hiraishi, S., Hirata, Y., *et al.*: Oxidized Low-density Lipoprotein Impairs the Anti-coagulant Function of Tissue Factor Pathway Inhibitor Through Oxidative Modification by Its High Association and Accelerated Degradation in Cultured Human Endothelial Cells, *Biochem. J.*, **352**, 277-285 (2000)

- 25) Horie, S., Hiraishi, S., Hamuro, T., *et al.*: Oxidized-low Density Lipoprotein Associates Strongly with Carboxy-terminal Domain of Tissue Factor Pathway Inhibitor and Reduces the Catalytic Activity of the Protein, *Thromb. Haemost.*, **87**, 80-85 (2002)
- 26) Hiraishi, S., Horie, S., and Seyama, Y.: Oxidized Products of Phospholipid Containing  $\delta$ -9 Fatty Acids Specifically Impair the Activity of Tissue Factor Pathway Inhibitor, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **298**, 468-473 (2002)
- 27) Ohkura, N., Hiraishi, S., Horie, S., *et al.*: Oxidized Phospholipids in Oxidized Low-Density Lipoprotein Reduce the Activity of Tissue Factor Pathway Inhibitor Through Association with Its Carboxy-Terminal Region, *Antioxid. Redox Signal.*, **6**, 705-712 (2004)
- 28) 大内和美, 青柳康夫:  $\alpha$ -アマラーゼおよび $\alpha$ -グルコシダーゼに対するキノコ抽出物の阻害活性, 日本食品科学工学会誌, **57**, 532-538 (2010)
- 29) Sei, H., Oishi, K., Morita, Y., *et al.*: Mouse model for morningness/eveningness, *Neuroreport*, **12**, 1461-1464 (2001)
- 30) Oishi, K., Uchida, D., Horie, S., *et al.*: Ketogenic diet disrupts the circadian clock and increases hypofibrinolytic risk by inducing expression of plasminogen activator inhibitor-1, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **29**, 1571-1577 (2009)
- 31) 武井陽介, 當銘幸貴, 佐々木哲也: NMDA型グルタミン酸受容体の細胞内輸送と統合失調症, 日本生物学的精神医学会誌, **30**, 101-104 (2019)
- 32) Park, H., and Poo, M.M.: Neurotrophin regulation of neural circuit development and function, *Nat. Rev. Neurosci.*, **14**, 7-23 (2013)
- 33) 福地 守: 神経可塑性の分子基盤を担う遺伝子発現制御系の解明, 薬学雑誌, **137**, 1103-1115 (2017)
- 34) Barker, D.J., and Osmond, C.: Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales, *Lancet*, **10**, 1077-1081 (1986)
- 35) Gluckman, P.D., and Hanson, M.A.: Living with the past: evolution, development, and patterns of disease, *Science*. **305**, 1733-1736 (2004)
- 36) Goymann, W., Mostl, E., and Gwinner, E.: Corticosterone Metabolites can be Measured Noninvasively in Excreta of European Stonechats (*Saxicola torquata rubicola*), *The Auk*, **119**, 1167-1173 (2002)
- 37) Kosfeld, M., Heinrichs, M., Fehr, E., *et al.*: Oxytocin increases trust in humans, *Nature*, **435**, 673-676 (2005)
- 38) 福岡秀興, 佐田文宏: 発達期環境に起因する疾患素因の形成機構—DOHaDの視点から—, 日本衛生学雑誌, **71**, 185-187 (2016)
- 39) Sakurai, T., Amemiya, A., Yanagisawa, M., *et al.*: Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior, *Cell*, **92**, 573-585 (1998)
- 40) Marcus, J.N., Aschkenasi, C.J., Elmquist, J.K., *et al.*: Differential expression of orexin receptors 1 and 2 in the rat brain, *J. Compar. Neurol.*, **435**, 6-25 (2001)
- 41) Desvergne, B., and Wahli, W.: Peroxisome proliferator-activated receptor: nuclear control of metabolism, *Endocr. Rev.*, **20**, 649-688 (1999)
- 42) 井上郁夫: 脂肪酸とPPARと時計遺伝子, 脂質栄養学, **21**, 7-15 (2012)
- 43) Lee, S.S., Pineau, T., Gonzalez, F.J., *et al.*: Targeted disruption of the alpha isoform of the peroxisome proliferator-activated receptor gene in mice results in abolishment of the pleiotropic effects of peroxisome proliferators, *Mol. Cell Biol.*, **15**, 3012-3022 (1995)
- 44) Oishi, K., Uchida, D., Horie, S., *et al.*: PPAR  $\alpha$  deficiency augments a ketogenic diet-induced circadian PAI-1 expression possibly through PPAR  $\gamma$  activation in the liver, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **401**, 313-318 (2010)
- 45) Okuno, A., Tamemoto, H., Kadowaki, T., *et al.*: Troglitazone increases the number of small adipocytes without the change of white adipose tissue mass in obese Zucker rats, *J. Clin. Invest.*, **101**, 1354-1361 (1998)
- 46) Tsukita, S., Furuse, M., and Itoh, M.: Multifunctional strands in tight junctions, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **2**, 285-293 (2001)
- 47) 梁 幾勇, 清木元治: マトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) 研究の歴史と最先端, 日本消化器病学会雑誌, **100**, 144-151 (2003)
- 48) Jia, Y., Lu, Y., Zhu, M., *et al.*: Does night work increase the risk of breast cancer? A systematic review and meta-analysis of epidemiological studies, *Cancer Epidemiol.*, **37**, 197-206 (2013)
- 49) Rao, D., Yu, H., Xie, L., *et al.*: Does night-shift work increase the risk of prostate cancer? A systematic review and meta-analysis, *Oncol. Targets Ther.*, **8**, 2817-2826 (2015)
- 50) Orgogozo, J.M., Dartigues, J.F., Lafont, S., *et al.*: Wine consumption and dementia in the elderly: a prospective community study in the Bordeaux area, *Rev. Neurol. (Paris)*, **153**, 185-192 (1997)