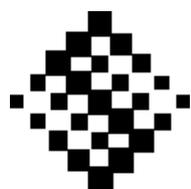

第36回
2023年度助成研究発表会
要旨集(Web)

2024年7月30日

都市センターホテル



公益財団法人
ソルト・サイエンス研究財団

公益財団法人ソルト・サイエンス研究財団

第 3 6 回

2 0 2 3 年 度 助 成 研 究 発 表 会

日 時 2 0 2 4 年 7 月 3 0 日 (火)
9 : 3 0 ~ 1 7 : 4 5

会 場 都市センターホテル
〒102-0093 東京都千代田区平河町 2 - 4 - 1
Tel : 03-3265-8211

第 1 会 場 (6 0 1) 一般公募研究発表 (理工学分野)
プロジェクト研究発表 (理工学分野)

第 2 会 場 (6 0 6) 一般公募研究発表 (食品科学分野)

第 3 会 場 (7 0 6) 一般公募研究発表 (医学分野)
プロジェクト研究発表 (医学分野)



第 36 回 助成研究発表会 座長一覽

理工学分野 (第 1 会場:601)

- 齋藤 恭一 (千葉大学名誉教授): 発表番号 1~3, 22~24
- 滝山 博志 (東京農工大学大学院教授): 発表番号 4~9, 15~18
- 合田 康秀 (日本塩協会技術部会委員): 発表番号 10~14, 19~21

食品科学分野 (第 2 会場:606)

- 松本 美鈴 (元大妻女子大学大学院教授): 発表番号 25~27, 32~35
- 駒井 三千夫 (東北大学名誉教授): 発表番号 28~31
- 日下部 裕子 : 発表番号 36~40
(農業・食品産業技術総合研究機構食品研究部門食品健康機能研究領域長)

医学分野 (第 3 会場:706)

- 富永 真琴 : 発表番号 41~44, 59~62
(名古屋市立大学なごや先端研究開発センター特任教授)
- 深川 雅史 : 発表番号 45~49
(東海大学医学部腎内分泌代謝内科学 客員教授)
- 森田 啓之 (東海学院大学大学院教授): 発表番号 50~54, 55~58

(敬称略)

第1会場（601）理工学分野

発表 番号	時刻	課題名	助成研究者(所属)	
一般公募研究(理工学分野) 座長 斎藤 恭一(千葉大学名誉教授)				
1	9:30 - 9:45	製塩排水から高濃度Mg ²⁺ を回収する非膨潤ビニルポリマー膜の性能調査と薄膜化	大橋 秀伯	(東京農工大学)
2	9:45 - 10:00	イオン交換膜の高性能化に向けたロバスト性と通気性に優れたナノファイバー多孔質薄膜基材の開発	松本 英俊	(東京工業大学)
3	10:00 - 10:15	製塩プロセスにおけるCO ₂ の回収・有効利用技術の構築-供給気泡径と液相組成による炭酸塩の析出領域と結晶品質の体系化-	松本 真和	(日本大学)
プロジェクト研究(理工学分野) 座長 滝山 博志(東京農工大学大学院教授)				
	10:25 - 10:30	プロジェクト研究概要説明	滝山 博志	プロジェクトリーダー
4	10:30 - 10:45	微結晶添加による成長促進現象の夾雑イオン存在下での解析	甘利 俊太郎	(東京農工大学)
5	10:45 - 11:00	高懸濁および夾雑イオン存在下での食塩の凝集現象と粒子群純度低下の定量評価	工藤 翔慈	(千葉工業大学)
6	11:00 - 11:15	連続工業品析操作で得られる結晶粒子群の粒度と純度の関係に関する基礎研究	前田 光治	(兵庫県立大学)
7	11:15 - 11:30	食塩晶析過程における固液界面近傍での夾雑イオン分布と食塩の形態のX線分析	江場 宏美	(東京都市大学)
8	11:30 - 11:45	流体剪断力が食塩蒸発晶析装置での晶析現象に与える影響	三角 隆太	(横浜国立大学)
9	11:45 - 12:00	高懸濁状態における連続晶析装置の最適設計および操作	外輪 健一郎	(京都大学)
一般公募研究(理工学分野) 座長 合田 康秀(日本塩協会技術部会委員)				
10	13:30 - 13:45	超高効率海水淡水化を志向したフッ素化ナノチューブの固相合成法開拓	佐藤 浩平	(関西学院大学)
11	13:45 - 14:00	野菜類を利用した海水淡水化システムの開発	大山 克己	(大阪公立大学)
12	14:00 - 14:15	汽水性動物プランクトンに対する塩分と農薬の共作用的効果に関する研究	占部 城太郎	(東北大学)
13	14:15 - 14:30	気候変動や人間活動に伴うブルーカーボン脆弱性の定量評価	久保 篤史	(静岡大学)
14	14:30 - 14:45	海洋汚染防止のための船舶用油水分離機に搭載する超精密油滴合一材の開発	向井 康人	(名古屋大学)
一般公募研究(理工学分野) 座長 滝山 博志(東京農工大学大学院教授)				
15	14:55 - 15:10	仙台湾の海水を用いたステンレス鋼の酸素発生陽極を用いた電気防食の検討	加藤 善大	(東北工業大学)
16	15:10 - 15:25	ナノファイバーネットワーク構造を有する高耐食自己修復コーティングの開発	矢吹 彰広	(広島大学)
17	15:25 - 15:40	海水中のFe(II)とFe(III)の分別定量～さらなる海の豊かさの評価～	高橋(田中) 美穂	(東京海洋大学)
18	15:40 - 15:55	海水中の硝酸イオン・亜硝酸イオンの簡易で高感度な測定システムの開発	児玉谷 仁	(鹿児島大学)
一般公募研究(理工学分野) 座長 合田 康秀(日本塩協会技術部会委員)				
19	16:05 - 16:20	リン酸化酵母を用いた環境水中からのレアアースの選択的回収	尾島 由紘	(大阪公立大学)
20	16:20 - 16:35	ハロゲン化リチウムの高濃度かつ選択的な溶媒抽出剤の設計と合成	近藤 慎一	(山形大学)
21	16:35 - 16:50	医療用Ac-225製造に向けた海水中ラジウムの回収技術の開発	小栗 香里	(日本原子力研究開発機構)
一般公募研究(理工学分野) 座長 斎藤 恭一(千葉大学名誉教授)				
22	17:00 - 17:15	環境制御型電子顕微鏡法による溶液中でのNaCl結晶成長の観察	箕田 弘喜	(東京農工大学)
23	17:15 - 17:30	3成分間のマイクロ相互作用に着目した逆浸透膜の素材設計	南雲 亮	(名古屋工業大学)
24	17:30 - 17:45	新規凹凸構造イオン交換膜を用いた高効率塩濃度差エネルギー変換システムの開発(II)	比嘉 充	(山口大学)

第2会場（606）食品科学分野

発表 番号	時刻	課題名	助成研究者(所属)	
一般公募研究(食品科学分野) 座長 松本 美鈴 (元大妻女子大学大学院教授)				
25	10:00 - 10:15	野菜への塩味付与に真空包装処理を利用した新規調理法に関する研究	大田原 美保	(大妻女子大学)
26	10:15 - 10:30	加熱調理中の葉茎菜類中への食塩拡散過程のシミュレーション	佐藤 瑤子	(お茶の水女子大学)
27	10:30 - 10:45	アミノ酸ハイブリッド型食塩が発酵食品成分組成・生物活性プロファイルに与える影響に関する研究	中尾 洋一	(早稲田大学)
一般公募研究(食品科学分野) 座長 駒井 三千夫 (東北大学名誉教授)				
28	11:00 - 11:15	バイオマーカーによるマグネシウム摂取不足の評価システム構築	岡田 晋治	(東京大学)
29	11:15 - 11:30	塩味嗜好性と塩味感受性の塩分摂取量への影響	五十嵐 麻希	(女子栄養大学)
30	11:30 - 11:45	マンノース添加塩水栽培による成熟早期にビタミンCを最大蓄積するトマト栽培技術の確立	岩井 宏暁	(筑波大学)
31	11:45 - 12:00	塩ストレスによるトマトの高糖度化における「濃縮効果」にかかわる分子機構の解明	溝井 順哉	(東京大学)
一般公募研究(食品科学分野) 座長 松本 美鈴 (元大妻女子大学大学院教授)				
32	13:30 - 13:45	にがりを用いた新発酵漬物の基盤的解析	黒飛 知香	(広島修道大学)
33	13:45 - 14:00	酵母のHkrlpによる新奇な高塩濃度環境応答の仕組みと高耐塩性酵母の分子育種	笠原 紳	(宮城大学)
34	14:00 - 14:15	構造解析に基づいたコラゲナーゼとキシラナーゼへの耐塩性の付与	保川 清	(京都大学)
35	14:15 - 14:30	食塩水のうがいによって誘導される唾液抗菌性タンパク質の同定	丸山 洋介	(名寄市立大学)
一般公募研究(食品科学分野) 座長 日下部 裕子(農業・食品産業技術総合研究機構 食品研究部門 食品健康機能研究領域長)				
36	14:45 - 15:00	高濃度の塩の受容に関わる味細胞の分化機構の解析	應本 真	(高崎健康福祉大学)
37	15:00 - 15:15	塩による甘味増強作用の検証	近藤 高史	(近畿大学)
38	15:15 - 15:30	苦味受容体の高濃度塩味受容機構解析	中北 智哉	(明治大学)
39	15:30 - 15:45	塩味嗜好学習に関わる神経回路の同定	乾 賢	(北海道大学)
40	15:45 - 16:00	塩味とうま味の相乗作用を生み出す全脳神経回路の解明	小澤 貴明	(大阪大学)

第3会場（706）医学分野

発表 番号	時刻	課題名	助成研究者(所属)	
一般公募研究(医学分野) 座長 富永 真琴 (名古屋市立大学なごや先端研究開発センター特任教授)				
41	9:30 - 9:45	塩の美味しさを高める神経基盤の解明	田中 大介	(東京医科歯科大学)
42	9:45 - 10:00	オートファジー制御分子による血圧調節と臓器老化防御機構の分子基盤の解明	山崎 修	(帝京大学)
43	10:00 - 10:15	塩分摂取のタイミングと概日血圧リズム	木内 謙一郎	(慶應義塾大学)
44	10:15 - 10:30	高血圧における皮膚組織レニン-アンジオテンシン系とナトリウム蓄積の病態生理学的意義	小豆島 健護	(横浜市立大学)
一般公募研究(医学分野) 座長 深川 雅史 (東海大学医学部腎内分泌代謝内科学 客員教授)				
45	10:45 - 11:00	塩分負荷が脾臓を介して急性腎障害に与える影響の解明	田中 真司	(東京大学)
46	11:00 - 11:15	食塩感受性高血圧の腎線維化におけるメカノチャネルPiezo2の役割	長瀬 美樹	(杏林大学)
47	11:15 - 11:30	腎臓尿細管におけるLRBAを介したナトリウム再吸収機構の解明	安藤 史頭	(東京医科歯科大学)
48	11:30 - 11:45	Calciprotein particle (CPP) とメガリンに着目した、マグネシウムによる腎不全進行抑制の機序解明	山本 毅士	(大阪大学)
49	11:45 - 12:00	塩によるDNA損傷誘導と細胞応答機構、その癌化への関与に関する研究	楊 其駿	(東京都医学総合研究所)
プロジェクト研究(医学分野) 座長 森田 啓之 (東海学院大学大学院教授)				
	13:30 - 13:35	プロジェクト研究概要説明	森田 啓之	プロジェクトリーダー
50	13:35 - 13:50	低ナトリウム血症による筋・骨関連フレイル病態に関する研究	梶 博史	(近畿大学)
51	13:50 - 14:05	慢性低ナトリウム血症による精神症状のメカニズムの解明とその治療法の開発	藤沢 治樹	(藤田医科大学)
52	14:05 - 14:20	塩分摂取が神経-免疫系を介する誤嚥性肺炎の軽減効果に与える影響の解明	安部 力	(岐阜大学)
53	14:20 - 14:35	食塩摂取量と口腔常在微生物叢および口腔の健康との関連についての疫学的検討	竹下 徹	(九州大学)
54	14:35 - 14:50	神経系-免疫系を介した塩分感受性高血圧制御メカニズムの解明	井上 剛	(長崎大学)
一般公募研究(医学分野) 座長 森田 啓之 (東海学院大学大学院教授)				
55	15:05 - 15:20	老化による皮膚セラミド産生の低下に対するマグネシウムの改善効果	五十里 彰	(岐阜薬科大学)
56	15:20 - 15:35	高血圧合併2型糖尿病に対する現実的な減塩食事療法の多面的効果の検証	内田 泰介	(宮崎大学)
57	15:35 - 15:50	1回採取尿を利用した子どもの正確な塩分摂取量評価法の開発	加藤 沙耶香	(名古屋市立大学)
58	15:50 - 16:05	食塩摂取量を用いた減塩指導が、血液透析患者の透析間体重増加を抑制し、透析前血圧を低下させ、透析低血圧症の発症を減少させるかの前向き介入研究	大橋 温	(浜松医科大学)
一般公募研究(医学分野) 座長 富永 真琴 (名古屋市立大学なごや先端研究開発センター特任教授)				
59	16:20 - 16:35	K ⁺ チャネル制御因子NCS-1の神経障害時における痛み緩和への役割と関連シグナルの解明	西谷 友重	(和歌山県立医科大学)
60	16:35 - 16:50	がん免疫抑制細胞におけるがん微小環境に応じたカリウムチャネルの機能・発現調節の意義解明	大矢 進	(名古屋市立大学)
61	16:50 - 17:05	塩味閾値および塩味への嗜好に対する唾液成分の影響	吉垣 純子	(日本大学)
62	17:05 - 17:20	受容細胞のトランスクリプトームデータを起点としたナトリウム味の末梢および中枢機構に関する研究	樽野 陽幸	(京都府立医科大学)

第1会場（601） 1 ～ 24 一般公募研究発表（理工学分野）
プロジェクト研究発表（理工学分野）



第1会場

発表番号 1 (助成番号 2302)

製塩排水から高濃度 Mg^{2+} を回収する非膨潤ビニルポリマー膜の性能調査と薄膜化

大橋 秀伯

東京農工大学工学部化学物理工学科

有用資源の一つであり実用金属中で最も軽いマグネシウムの需要は、今後ますます高まっていくことが予想されており、その主要な原材料である $MgCl_2$ 源として有望なのが、電気透析製塩において大量に副生する排水である。 $MgCl_2$ を高濃度で得るためには、多価カチオンである Mg^{2+} と Na^+ の効率的な分離膜が必要である。このためには、固定アニオンを高濃度で含み、カチオンとの相互作用の大きい膜を作製する必要がある。我々は大気圧プラズマグラフト重合法を用いて、「固定アニオンを高密度で持つ膜」の作製を試みた。より具体的には、高い機械的強度を持つポリイミド多孔質膜の細孔中にスルホン酸基(固定アニオン)を持つポリマーをグラフト固定化し(最大で膜重量が 57% 増加)、水浸漬時でも、膨潤せず、固定アニオン濃度が減少しない膜を作製した。

Mg^{2+} と Na^+ を分離するためには、膜が Na^+ を選択的に通す必要がある。海水総合研究所にご協力をお願いして、作製した膜の膜抵抗と $NaCl$ 水溶液の濃縮性能の測定を行った。作製した膜の電気抵抗は $0.2\text{--}0.4 \Omega \cdot \text{cm}^2$ 程度と従来膜より低かった一方で、電気透析実験による $NaCl$ 濃縮性能が低いという結果になった。膜に電圧を印加した際、 Na^+ のみの透過が望ましいところ、同時に Cl^- の透過も生じていることが予想された。この仮説の検証のために、輸率測定装置を作製し、 Na^+ と Cl^- の輸率測定を行った。結果、仮説通り Na^+ の輸率が従来膜に対して低く、膜の細孔を固定アニオンで埋めきるには現時点ではグラフト率が不足していることを表している。今後グラフト率の向上により、 Na^+ の輸率を高め、 Mg^{2+} と Na^+ の高効率な分離につながることを期待される。

一方で、分離膜の処理速度を上げるためには、「分離膜の薄膜化」がもう一つの重要な課題である。従来の膜は数十 μm 程度の厚みを持つが、我々は基材を薄膜化するために、強い引張強度を持つ長尺カーボンナノチューブ(CNT)を多孔質基材化する検討を行った。長尺 CNT を電気化学的酸化手法を用いて効率的に高分散させ、これを濾過により製膜することで、 $2 \mu\text{m}$ 以下の膜厚を持つ自立膜の作製に成功した。本膜は 2400 LMH/bar 程度の透過性を持つことが分かり、多孔質膜として十分な細孔を有することが明らかになった。

(要約)

有用資源であるマグネシウムを、今まで捨てられていた製塩排水から回収するために、東京農工大学の橋らのグループは、大気圧プラズマを用いて負イオンを高濃度で含有する膜の作製を行い、また薄くても機械的強度を保てる膜の作製を行った。その結果、従来膜よりも抵抗が小さい膜および、長尺カーボンナノチューブを用いた従来膜よりも約一桁薄い膜の作製に成功し、将来的なマグネシウム回収につながることを示唆された。

イオン交換膜の高性能化に向けたロバスト性と通気性に優れた ナノファイバー多孔質薄膜基材の開発

松本 英俊

東京工業大学物質理工学院材料系

イオン交換膜は、海水からの食塩製造(製塩)、クロロ・アルカリ製造、水処理、廃液処理、化学品・薬品・食品の製造・精製などに広く利用されており、工業的な分離・精製プロセスに欠かすことのできない材料である。イオン交換膜の高性能化のためのアプローチの一つに薄膜化による電気抵抗の低減がある。現在製塩用途に使用されているイオン交換膜には、補強材としてポリ塩化ビニルなどから作製された厚めの織布基材が利用されている。一方で近年電池用途を中心に、機械的強度に優れた高分子多孔質薄膜を補強基材とするイオン交換膜の開発が活発に進められている。

前年度の研究課題では、高い空孔率を持つシリカナノファイバー基材を利用することで、膜中のイオン交換樹脂量を増やすことができ、その結果、イオン交換容量を向上させ、膜の電気抵抗を低減できることを報告したが、基材として無機多孔質薄膜を用いたことで、膜の機械的強度に課題があることも明らかになった。

本研究課題では、ナノファイバー多孔質基材の機械的特性向上のため、スーパーエンジニアリングプラスチックの一つであるポリベンズイミダゾールを合成し、これを原料としてエレクトロスピニングによって直径 200~800 nm のナノファイバーを作製した。

作製したナノファイバー積層シートにおいてナノファイバー同士の接点での接着強度を向上させるために 180°C, 1 MPa の条件で熱プレス処理を行うことで、多孔質薄膜基材を得た。作製した基材に 4 ビニルピリジンジビニルベンゼン系など汎用的なイオン交換樹脂のモノマー溶液を含浸させ、加熱重合を行った後、イオン交換基の導入を行うことでイオン交換膜を作製した。

作製したイオン交換膜の構造と物理化学的性質を、走査型電子顕微鏡観察、フーリエ変換赤外分光測定、電位差滴定、電気化学インピーダンス(膜抵抗)測定、動的輸率測定、引張試験等によって調査した。熱プレス処理を行ったポリベンズイミダゾールナノファイバー基材から作製したアニオン交換膜は、既存イオン交換膜と比較して低い電気抵抗と良好な輸率を示した。さらに、前年度に検討したシリカナノファイバー基材と比較して、膜の破断強度は約 5 倍向上した。以上の結果から、空孔率が大きく(~80%)、通気度と機械的性質に優れたポリベンズイミダゾールナノファイバー多孔質基材の有用性が示唆された。

(要約)

イオン交換膜の補強基材としてナノファイバーの利用を検討している東京工業大学の松本は、前1回の助成で、シリカナノファイバー基材を用いることで、膜の電気抵抗を低減できることを明らかにした。引き続き、熱プレス処理を行ったポリベンズイミダゾールナノファイバーを基材としてイオン交換膜の作製を検討した。その結果、シリカナノファイバー基材と比較して、破断強度を約5倍向上できることを明らかにした。

製造製塩プロセスにおける CO₂ の回収・有効利用技術の構築 —供給気泡径と液相組成による炭酸塩の析出領域と結晶品質の体系化—

松本 真和, 亀井 真之介

日本大学大学院生産工学研究科

研究では、脱炭素社会に適応し、かつ高効率な製塩プロセスを構築するため、製塩プラントの脱硫・脱硝後のボイラー排ガスを炭酸塩の製造に直接利用することを想定し、CO₂ 分圧の低い模擬ボイラー排ガスを用いた製塩工程液からの炭酸塩の製造を試みた。その際、局所的なイオン濃縮場を創成できるファインバブルの気-液界面を結晶核化が進行する新規な反応場として用い、製塩工程液からの Ca および Mg 炭酸塩の反応晶析に適用した。

pH を 6.8、温度を 298 K に設定した [Mg²⁺]/[Ca²⁺] 比の異なる製塩工程液 (ED かん水、濃縮かん水、または脱 K 苦汁) に、CO₂ および O₂ モル流速が 5.58 mmol/(L·min)、N₂ モル流速が 44.6 mmol/(L·min) のガス供給条件下において供給気泡径 d_{bb1} が 40 μm の CO₂/O₂/N₂ ファインバブルを連続供給し、炭酸塩の製造を行った。比較として、同一のガス供給条件下で d_{bb1} が 200–2000 μm の CO₂/O₂/N₂ 気泡を供給する場合についても検討を行った。

その結果、以下に示す知見が得られた;

- 1) 脱 K 苦汁に d_{bb1} が 40–2000 μm の CO₂/O₂/N₂ 気泡を供給した場合、気泡の微細化にともない CaMg(CO₃)₂ の収量 $C_{\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2}$ および Mg/Ca 比が顕著に増大し、粒径分布が低粒径側に移行する。
- 2) バルク水溶液中の [Mg²⁺]/[Ca²⁺] 比によらず、気泡の微細化は CO₂ 基準の収率の向上、結晶構造・組成の均一化、および微粒化を引き起こす。
- 3) d_{bb1} が 40 μm においてバルク水溶液中の [Mg²⁺]/[Ca²⁺] 比を増大させると、[Mg²⁺]/[Ca²⁺] 比が 2.7 (ED かん水) から 2.9 (濃縮かん水) では準安定な aragonite 型 CaCO₃ が選択的に生成し、[Mg²⁺]/[Ca²⁺] 比が 3.1 (脱 K 苦汁) では calcite 型 CaCO₃ 構造中の Ca²⁺ が Mg²⁺ に置換された複塩構造を有する CaMg(CO₃)₂ が生成する。
- 4) [Mg²⁺]/[Ca²⁺] 比の異なる MgCl₂-CaCl₂ 水溶液を用いた場合との比較より、製塩工程液を用いた炭酸塩化プロセスでは供給気泡径およびバルク水溶液中の [Mg²⁺]/[Ca²⁺] 比が析出炭酸塩の結晶構造と粒径に対して支配的な因子であることが示唆される。

(要約)

日本大学の松本らは、脱炭素社会に適応し、かつ高効率な製塩プロセスの構築を目指して、製塩プラントの脱硫・脱硝後のボイラー排ガスを炭酸塩の製造に直接利用することを想定し、CO₂ 分圧の低い模擬ボイラー排ガスを局所的なイオン濃縮場を創成できるファインバブルとして製塩工程液に導入することで炭酸塩の製造を試みた。製塩工程液 (ED かん水、濃縮かん水、または脱 K 苦汁) にボイラー排煙の脱硫・脱硝後の排ガス組成の CO₂/O₂/N₂ 気泡を連続供給する系において、各炭酸塩の生成速度を供給気泡径 d_{bb1} およびバルク水溶液中の [Mg²⁺]/[Ca²⁺] 比で整理した結果、 d_{bb1} を 40 μm まで減少させると、[Mg²⁺]/[Ca²⁺] 比が 2.7 (ED かん水) および 2.9 (濃縮かん水) では準安定な aragonite 型 CaCO₃ が選択的に生成し、[Mg²⁺]/[Ca²⁺] 比が 3.1 (脱 K 苦汁) では calcite 型 CaCO₃ 構造中の Ca²⁺ が Mg²⁺ に置換された複塩構造を有する CaMg(CO₃)₂ が生成することを明らかにした。さらに、[Mg²⁺]/[Ca²⁺] 比の異なる MgCl₂-CaCl₂ 水溶液を用いた場合との比較より、製塩工程液を用いた炭酸塩化プロセスでは d_{bb1} およびバルク水溶液中の [Mg²⁺]/[Ca²⁺] 比が析出炭酸塩の結晶構造と粒径に対して支配的な因子であることが示唆された。

2023 年度(プロジェクト期間:2021～2023 年度)

プロジェクト研究主題: 微結晶添加・剪断力付与によって食塩の生産速度と品質を 高める晶析技術の基礎研究

プロジェクトリーダー: 滝山 博志 (東京農工大学大学院 教授)

海水を利用した国内製塩プロセスは成熟した技術であると考えられている。しかし、不安定なエネルギー情勢、国際競争の激化などにより、国内の製塩産業は厳しい環境に置かれている。そのため、今後 20 年を見据えて、苦汁などの副生成物の利用を考慮に入れた製塩技術の再構築や、生産のさらなる高効率化が望まれる。いずれにしても食塩の生産速度や品質を高くするためには、製塩晶析工程をさらに高懸濁条件下(例えば、晶析工程の結晶体積率を 15vol% から 35vol%へ)で操作する必要がある。

「食塩-水の単純系」ではなく「夾雑イオン存在下」での研究

高懸濁条件下での運転では、いくつかの解決すべき課題が存在する。例えば、高懸濁を持続させるために結晶の個数密度をどう確保するのか、高懸濁条件下で凝集をいかに防ぐのか、そして、高懸濁条件下で得られる結晶の純度をいかに担保するのかである。既往研究のほとんどが「食塩-水の単純系」であり、Mg, Ca, K など「夾雑イオン存在下」でのこれらの課題についての研究例は少ない。副生成物の利用を考慮すると製塩晶析工程での原料組成の変更も想定され、食塩の成長速度や純度への夾雑イオンの影響を検討することは重要である。

「微結晶添加と剪断力付与」を積極利用する研究

医薬品の晶析では、新規な考え方や装置設計法が提案されるようになってきている。ここでの結晶成長速度を向上させる新たな考え方は製塩晶析工程にも応用できる。従来、結晶成長を促進させる場合には、推進力である過飽和度を増加させる手法が選択されてきたが、そこには、副次的に凝集現象も発生する。しかし、微結晶の添加や攪拌の工夫による物質移動速度の改善によって、過飽和度の増加なしに結晶成長速度を増大できる可能性がある。特に核化直後の微結晶を添加する手法の有効利用は品質劣化なく生産性を向上できる可能性がある。

製塩晶析工程では、かん水が濃縮されながら、夾雑イオンの種類や濃度が変化する。その変化によって結晶の核化や成長、イオンの固液分配が影響を受ける。したがって、晶析現象に対する夾雑イオンの種類や濃度の影響を定量的に記述する必要がある。

本プロジェクトでは、「食塩-水の単純系」ではなく「夾雑イオン存在下」での晶析データを取得し、高懸濁条件下での食塩の生産性向上を狙い、「微結晶添加と剪断力付与」を積極利用した製塩晶析技術を提案する。

本プロジェクトには、蒸発晶析装置を用いた実験、夾雑イオンの挙動を解明する実験が含まれる。また、実装置への適用を意識して、微結晶添加や剪断力付与の研究を実施する。さらに、食塩の品質として、純度だけでなく、形状や硬度を評価する。

本プロジェクトでは 5 つのサブテーマを設定した。

- | | |
|-------------------------------------|-------------|
| サブテーマ1: 微結晶添加による成長促進現象の夾雑イオン存在下での解析 | 【発表番号 4】 |
| サブテーマ2: 剪断力が食塩蒸発晶析装置での晶析現象に与える影響 | 【発表番号 8】 |
| サブテーマ3: 結晶成長速度と夾雑イオンの固液分配との関連性の評価 | 【発表番号 7, 6】 |
| サブテーマ4: 凝集現象に起因した純度低下に及ぼす夾雑イオンの影響 | 【発表番号 5】 |
| サブテーマ5: 高懸濁条件下での晶析工程の運転条件の最適化 | 【発表番号 9】 |

発表番号 4 (助成番号 23A1)

微結晶添加による成長促進現象の夾雑イオン存在下での解析

甘利 俊太郎, 滝山 博志

東京農工大学大学院工学研究院

近年, 水不足解消のために, 海水淡水化プロセスの利用が急速に進んでいる。しかし, 淡水化の際に副生成物として生じる濃縮海水を外部へ排出すると海洋環境への影響が大きい。そこで, 濃縮海水の塩濃度を効率的に下げするために, 本研究では, 微結晶による成長促進(GRE)現象を利用して, 塩の結晶粒子群の成長速度を向上させることを検討している。

微結晶による GRE 現象に関する既往研究では, 一粒の親結晶の成長に対する微結晶の影響について主に検討されてきた。一方, 晶析工程では, 多くの場合, 溶液中に複数の親結晶が懸濁し, かつ不純物が存在している。そこで, 微結晶による GRE 現象の工業的な応用に向けて, 懸濁液中の親結晶の成長速度や粒子群特性に対する微結晶の特性や不純物の影響について明らかにすることを本研究の目的とした。

半回分式蒸発晶析中の懸濁液に対して, 高い剪断力を伴う Taylor-Couette 流れを利用して作製した平均粒径が異なる微結晶を添加し, 懸濁液中の結晶粒子群の粒径と粒径分布の経時変化を調べた。その結果, 微結晶の添加後に結晶の粒径が著しく大きくなり, 複数の親結晶が存在する懸濁系でも微結晶を添加することによって GRE 現象が発現することを確認した。また, 添加する微結晶の平均粒径が小さいほど, GRE 現象が効果的に発現することも明らかになった。さらに, 平均粒径が数 μm 程度の微細な微結晶を添加することによって, 結晶粒子群の粒径分布が悪化することなく, GRE 現象を数十倍促進することに成功した。

(要約)

微結晶による成長促進現象を利用して, 製塩プロセスの生産性向上を検討している東京農工大学の甘利俊太郎らは, 前回までの助成で, 添加する微結晶の特性と懸濁液中の結晶粒子群の粒径分布や成長速度の関係を明らかにした。引き続き, 製塩プロセスの原料溶液に含まれることが想定される不純物の影響を検討した結果, 不純物を含まない場合に比べて, 不純物存在下では微結晶による結晶の成長促進が効果的に誘発されることを見出した。

次に, 夾雑イオンの影響を検討するために, 不純物として選定した KCl , MgCl_2 , CaCl_2 を 10wt% 含む飽和食塩水に対して微結晶を添加し, 一粒の親結晶の成長速度を評価した。その結果, 不純物存在下では, 不純物が存在しない場合に比べて, 微結晶による GRE 現象が効果的に発現することを見出した。また, 溶液中の不純物濃度が高くなるにつれて, 親結晶の成長が効果的に促進されることも明らかになった。

以上より, 懸濁系に添加する微結晶の特性や, 溶液中の不純物の有無やその濃度が, 微結晶による GRE 現象や最終的に得られる結晶粒子群の特性に大きく影響していることが明らかになった。したがって, 濃縮海水から塩を高品質な結晶粒子群として効率的に生産するためには, 添加する微結晶の特性や, 原料溶液中に存在する不純物の種類や濃度の制御が重要である。

高懸濁および夾雑イオン存在下での食塩の凝集現象と粒子群純度低下の定量評価

工藤 翔慈, 新井 瑠菜, 宮下 峻, 吉村 駿佑

千葉工業大学工学部応用化学科

製塩プロセスのさらなる高効率化のプロジェクト研究にて、高懸濁密度化した晶析操作を想定した検討を行なった。高懸濁密度下での晶析では、結晶の凝集、凝集に起因する純度低下が想定される。本副題では、高懸濁密度条件下の製塩晶析操作で想定される凝集と、凝集に起因する純度低下の定量評価を、製塩原料であるかん水に含まれる夾雑イオンの影響も考慮しながら検討した。

夾雑イオンの種類や濃度、懸濁密度を変更しながら、高懸濁条件下での凝集現象に起因した純度低下を定量的に解析・評価し、原料かん水組成などの観点から凝集に起因する純度低下を抑えながら高懸濁密度下で高効率に製塩晶析するための指針を示すことを研究期間全体の目的とした。

3年間の研究期間のうちの1年度目は、夾雑イオンとして Mg^{2+} イオンに着目して、懸濁密度ならびに Mg^{2+} イオンの濃度の食塩の凝集および純度への影響を解析した。主に、各条件とも凝集は 0.15 mm 以下の粒径の結晶同士で起りやすいことなどの知見を得た一方で、凝集の評価方法、結晶中の不純物濃度をより正確に分析するために方法の改善・再構築が課題となった。2年度目は、スラリー中の結晶の観察による直接的な凝集の観測を行ない、晶析条件とは別に観察までの過程での結晶の凝集の程度の変化が示唆された。また、凝集晶の粒径と一次粒子の平均径との比を凝集程度の指標として定義することで、条件ごとの凝集の程度の違いを比較できる可能性が示された。

3年度目では、懸濁密度および夾雑イオンとして Mg^{2+} イオン、 K^+ イオンに着目して、初期懸濁密度を $10\sim 30\text{ vol\%}$ 、夾雑イオン濃度を全塩分濃度に対して Mg^{2+} 濃度 $0\sim 6\text{ wt\%}$ 、 K^+ 濃度 $0\sim 5\text{ wt\%}$ 程度まで変更した 0.3 L 規模の半回分晶析実験を行なった。回収後の結晶を、2年度目に提案した方法にて凝集程度を評価し、水分率測定による純度の評価を行なった。設定懸濁密度での Mg^{2+} イオンおよび K^+ イオンの単独での、また両者が共存するときの凝集程度や水分率への影響の違いが分かった。 Mg^{2+} イオンの方が微小結晶の凝集には寄与するが K^+ イオンが共存するとその効果は弱くなること、純度の観点では主に Mg^{2+} イオンの濃度が水分率増加につながる事が分かった。以上より、短時間での半回分式晶析実験で凝集、水分率に着目して凝集初期を評価した本検討では、高懸濁密度下での晶析操作として凝集および純度の観点で原料かん水の Mg^{2+} イオン濃度に留意することが重要であると考えられる。

(要約)

千葉工業大学の工藤らは、製塩蒸発晶析の高効率化の検討のために、 0.3 L 規模の半回分蒸発晶析実験で得られる食塩の凝集および水分率と、懸濁密度ならびに Mg^{2+} イオン、 K^+ イオンの濃度との関係を調べた。前年度までの知見を踏まえ、また考案した凝集評価指標にて、 Mg^{2+} イオンの有無の違いなどの条件ごとの凝集の違いを数値的に比較した。比較の結果、 30% の懸濁密度で Mg^{2+} イオンが K^+ イオンよりも微小結晶の凝集度合いを促進する傾向、また両イオンとも微結晶の付着による結晶成長を促進すること、食塩の水分率への両イオンの影響の違いを示した。

発表番号 6 (助成番号 23A4)

連続工業操作で得られる結晶粒子群の粒度と純度の関係に関する基礎研究

前田 光治

兵庫県立大学大学院工学研究科

本プロジェクトでは、食塩の生産効率化を目指して、いくつかの連続晶析操作を試み、結晶粒子群の粒度と純度(母液混入率)の関係について明らかにすることを目的とした。

まず、3種類の塩(K_2SO_4 , KCl , $Na_2SO_4 \cdot 10H_2O$)を取り上げて、3Lのドラフトチューブ型の攪拌晶析槽のベンチケール工業晶析装置で冷却式連続工業晶析を行い、粒径ごとに母液混入率が異なること、凝集性結晶の母液混入率が大きいこと、硬度の低い結晶粒子群の母液混入率が大きいことを明らかにした。

次に、食塩($NaCl$)の蒸発式連続工業晶析の実験を行うため、上記の晶析装置を改良して、ベンチケール工業晶析装置を試作した。冷却式連続工業晶析と同様に操作条件と粒度の関係、各平均粒子径と母液混入率の関係を明らかにした。

連続工業晶析では単純な粒度分布を表すモデルと母液混入モデルの融合を新たに試みた。 $NaCl$ の連続工業晶析実験では、回分式と連続式の両方において操作条件として不純物濃度($MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 1wt%, 5wt%), 懸濁密度(7wt%, 15wt%, 30wt%), 攪拌速度(600 rpm, 700 rpm, 1200 rpm)を変化させた。特に攪拌速度においては、高い剪断力によって小さな粒子径の結晶が多くみられた。凝集が緩和された結果、母液混入率が小さくなることが明らかになった。

(要約)

兵庫県立大学 前田は、「微結晶添加・剪断力付与によって食塩の生産速度と品質を高める晶析技術の基礎研究」において、「連続工業操作で得られる結晶粒子群の粒度と純度の関係に関する基礎研究」をテーマとして、いろいろな無機塩で連続晶析の実験を試みた。その結果、結晶硬度の小さい無機結晶ほど凝集が激しくなり、母液の取り込みが大きくなることを明らかにした。

さらに、 $NaCl$ の連続式蒸発工業晶析の高効率化を目指して、高懸濁密度と高速攪拌の実験を試みた。懸濁密度が大きくなると結晶粒子群の平均粒子径が小さくなり、また、母液混入率も減少した。攪拌速度が大きくなると結晶粒子群の平均粒子径が小さくなり、また、母液混入率も減少した。

工業晶析において、凝集、成長、摩耗を伴って結晶粒子群が生成しているため、見かけ上の核発生速度と初期粒子のサイズ、成長速度で粒度分布を相関し、初期粒子の凝集コア、成長シェルそれぞれの分配係数で平均粒子径と母液混入率を関係づけた融合モデルで相関した。

高懸濁、高攪拌速度では、 $NaCl$ 結晶粒子群の粒度は小さくなる方向に変化し、その母液混入率も全体に小さくなるが、粒子径が増加するにつれて母液混入率も減少する傾向が見られた。

よって、見かけの核発生サイズを減少させることができれば、高効率でも母液混入率の少ない粒径の小さな $NaCl$ 結晶粒子群が得られることが示唆された。

$NaCl$ の連続工業晶析の高効率化を目指して高懸濁密度と高速攪拌の実験を試みた。懸濁密度が大きくなると結晶粒子群の平均粒子径が小さくなり、また、母液混入率も減少した。攪拌速度が大きくなると結晶粒子群の平均粒子径が小さくなり、また、母液混入率も減少した。

$NaCl$ の結晶粒子群の粒度と母液混入率は、単純な見かけの核発生サイズによって融合したモデルによって相関した。

高懸濁、高攪拌速度では、 $NaCl$ 結晶粒子群の粒度は小さくなる方向に変化し、その母液混入率も全体に小さくなるが、粒子径が増加するにつれて母液混入率も減少する傾向が見られた。よって、見かけの核発生サイズを減少させることができれば、高効率でも母液混入率の少ない粒径の小さな $NaCl$ 結晶粒子群が得られることが示唆された。

食塩晶析過程における固液界面近傍での夾雑イオン分布と食塩の形態の X 線分析

江場 宏美¹, 桜井 健次²

¹ 東京都市大学工学部応用化学科, ² イメージング物理研究所

高品質の食塩を効率的に生産するには、かん水中に含まれる夾雑イオンが食塩の成長速度や純度に与える影響を理解する必要がある。本研究では、夾雑イオンが食塩の結晶格子に組み込まれ、すなわち固溶体を形成する条件を観察するため、夾雑イオンを含む食塩水溶液から晶析させた結晶について X 線回折(XRD)法による格子定数の測定と固溶度の算出、格子歪みの見積もり等を行った。

夾雑イオンとして、 K^+ については再現性よく固溶を確認することができなかったが、 Br^- については、水溶液(かん水)中に含まれる濃度の上昇とともに、ほぼ濃度に比例する量の Br^- が $NaCl$ の結晶格子に固溶体として取り込まれることが確認された。

よって、かん水中の Br^- 濃度が高濃度となる条件で晶析を行うことになる場合は、不純物として容易に取り除けない形態で食塩製品中に含まれ、純度を低下させることになるため注意が必要であることがわかった。

K^+ は Na^+ と比べてイオン半径が大きいこと、塩化物形成時の格子エネルギーが小さいことが固溶体形成には不利であり、一方 Br^- と Cl^- ではイオン半径の差は小さく、 $NaBr$ の格子エネルギーは $NaCl$ と比べると小さいが KCl よりは大きいこと、また固溶体生成における吸熱量は $NaCl-NaBr < NaCl-KCl$ であることなどから、 K^+ と比べて Br^- の $NaCl$ 格子への取り込みが進みやすいことを確認した。

また格子歪みを見積もった結果、固溶度が大きくなるほど歪みは大きくなる傾向が見られ、夾雑イオンの混入によっては化学的な純度だけでなく、原子配列の規則性の点でも食塩の質を低下させることがわかった。格子歪みは、大気圧下よりも減圧下で晶析を行うほうが小さくなり、減圧下では等方的な結晶成長により歪みが小さくなると考察した。さらに食塩水溶液からの晶析過程における夾雑イオンの分布を、透過 X 線イメージングにより観察した。夾雑イオンとして Br^- を含む食塩水溶液からの結晶成長過程を観察した結果、 $NaCl$ 種結晶の表面を覆うように、 $NaBr$ 結晶が成長する様子が確認された。

(要約)

かん水中に含まれる夾雑イオンが食塩の成長速度や純度に与える影響を理解することを目的として、東京都市大学の江場らは、前2回の助成で水溶液中の臭化物イオンの濃度の上昇とともに食塩結晶の格子中に固溶体として取り込まれる濃度も上昇し、また格子歪みも大きくなる傾向を確認した。引き続き、臭化物イオンを含む食塩水溶液から減圧条件下で晶析を行うことで格子歪みが小さくなることを確認し、食塩の化学的純度と、結晶としての物理的な完全性の点で品質を向上させるための技術的な条件が示唆された。

発表番号 8 (助成番号 23A2)

流体剪断力が食塩蒸発晶析装置での晶析現象に与える影響

三角 隆太¹, 池田 椿²¹ 横浜国立大学大学院工学研究院, ² 横浜国立大学大学院理工学府

製塩工業で用いられている蒸発晶析操作の高効率化のためには、結晶懸濁濃度を高くしたうえで、槽内の結晶粒径分布の予測、制御が重要である。そのためには、結晶成長、核発生、凝集現象を定量化し、槽内の結晶個数の収支に基づく Population Balance Model (PBM) 解析が有効である。また、PBM 解析を実行する上では、種晶添加条件や加熱速度などが変化した広い操作条件に適用できるモデルパラメーターを効果的に設定することが重要である。本研究では、ドラフトチューブ付攪拌型晶析装置を用いた高懸濁濃度条件下の半回分式食塩蒸発晶析プロセスを対象に、粒径分布を予測するための PBM の効果的なパラメーター推算手法の検討を目的とした。

ソルト・サイエンス研究財団助成研究 (Nos. 0711, 0813) による実験に合わせた装置条件および解析条件とし、加熱速度 1200, 800, 400 W, 種晶重量 50, 100, 150, 200 g, 種晶粒径 200, 300 μm とした全 16 実験条件を用いた。PBM では成長速度は物資移動と表面集積で表される Mersmann の 2 ステップモデル、二次核発生(摩耗)は Power law モデル、凝集は Mumtaz モデルを用い、モデル実験の結晶重量と粒径分布の実測値に基づいて各モデルのパラメーター推算を行った。解析には gPROMS Formulated Products 2.3.1 (SIEMENS)を用いた。

実験条件ごとの核発生、凝集の程度を評価指標 $I_{op,2}$ を用いて整理した。 $I_{op,2} < 1$ の条件は核発生が過剰、 $I_{op,2} > 1$ の条件は凝集が過剰であることを示す。

加熱速度 1200W の条件をモデル実験として、
(a) 成長、二次核発生、凝集モデルを同時に推算、
(b) $I_{op,2} < 1$ の条件で成長と二次核発生を推算したうえで $I_{op,2} > 1$ の条件で凝集モデルを推算、

の 2 つの手順を比較した。モデル実験とは異なる実験条件で PBM 解析を行った結果、解析値と実験値の誤差が (a)は 8.9%, (b)は 5.6%となり、 $I_{op,2}$ に基づいて現象支配因子で分けたパラメーター推算方法が効果的であることがわかった。 $I_{op,2}$ による分類に加え、全加熱速度の実験条件を用いてモデル実験の組み合わせの異なる全 9 ケースでパラメーター推算を行った。

その結果、成長+二次核発生は各加熱速度で $I_{op,2}$ が小さくかつ種晶量が 50, 10, 150 g と異なる条件、凝集は $I_{op,2}$ が 2 以上と特別大きい条件を除いて各加熱速度で $I_{op,2}$ が一番大きい条件をモデル実験に用いたパラメーター推算において、実験値との誤差が約 6%と一番小さくなることがわかった。さらに、得られたパラメーターを用いて全 16 条件で PBM 解析を行った結果、全体で誤差 11%となり、特に $I_{op,2}$ が大きく単峰性の粒径分布となる実験条件において実験結果を良好に再現することができた。

(要約)

半回分式の食塩蒸発晶析装置内の結晶粒径分布の予測・制御方法の構築を目的として、横浜国立大学の三角らは、高懸濁濃度のドラフトチューブ付き攪拌型晶析装置を対象に、粒径毎の結晶個数の収支と溶質と結晶相の物質収支を連成したポピュレーションバランス解析手法について検討した。モデルパラメータの推算方法について検討した結果、平均誤差11%で粒径分布の経時変化を再現できることを明らかにした。

高懸濁状態における連続晶析装置の最適設計および操作

外輪 健一郎

京都大学大学院工学研究科化学工学専攻

食塩の晶析装置は大型のものが多いが、核発生や成長速度を大きくできればコンパクト化が可能といえる。見かけの核発生速度を大きくするには種晶を添加する方法がある。近年、微結晶の添加によって結晶速度を増大できることが示された。さらに、結晶の懸濁密度を高い状態に保って晶析装置を運転することで、結晶の総表面積が増大し、装置全体の結晶析出速度が増大する。本研究では、これらの効果を活用することによって生産速度がどれほど増大するかをシミュレーションによって明らかにすることを目的とした。

分級の様式が異なる2種の理想的な晶析装置を取り上げ、結晶成長および核発生速度を直接制御できるものと仮定して結晶成長速度および装置内の空隙率が結晶の総析出速度に及ぼす影響を解析した。ここで取り上げた晶析装置の1つは完全混合かつ分級抜出の無いMSMPR (Mixed Suspension Mixed Product Removal) 型のものである。もう一方は、所定の大きさまで成長した粒子のみが選択的にすべて抜き出される仮定したモデルである。解析の結果、製品結晶の平均径、空隙率が与えられると、両者の生産速度が一致するという結果が得られた。また、結晶成長速度、懸濁密度、核発生速度を調整することができれば生産速度を10倍程度増大できる可能性が示された。

結晶成長速度を増大させるために必要な微結晶の添加速度について考察した。結晶の成長促進によって消費される微結晶の量が明らかになっていないことから、成長する結晶1個あたり、1秒に1個の微結晶を消費するという仮定のもとで、必要とされる微結晶の添加速度について考察した。その結果、単位体積・単位時間当たりの添加速度はミリグラムオーダーであることが分かった。1個当たりの消費速度が想定の1000倍であったとしても必要な添加速度は実現可能な範囲であるといえる。

高懸濁条件での晶析装置の安定性について検討した。原料流量、蒸発速度といった値が有限インパルス状に変化すると想定して晶析装置の動特性をシミュレーションした。その結果、外乱が大きいと空隙率や過飽和度が運転可能な範囲を逸脱する可能性があるものの、どのような大きさの外乱を与えても装置の挙動が不安定化することはなかった。

(要約)

京都大学の外輪は、微結晶添加による結晶成長促進効果や高懸濁密度条件での運転などを採用することにより、食塩晶析装置の生産速度を大幅に向上できることを前年までに示した。引き続き、外乱を受けた場合の晶析装置の動的挙動を検討したところ、一時的なフィード流量の低下によって懸濁密度が高くなり運転不能となる場合のあることが確認された。フィード濃度の低下や蒸発速度の低下といった外乱は、懸濁密度を低下させることから、運転に問題を生じる恐れのないことが示唆された。

発表番号 10 (助成番号 2309)

超高効率海水淡水化を志向したフッ素化ナノチューブの固相合成法開拓

佐藤 浩平

関西学院大学理学部化学科

2015 年の国連サミットで採択された『持続可能な開発目標 (SDGs)』の一つに、安全な水の確保に向けた技術開発が取り上げられた。これは、近年の発展途上国における人口の爆発的増加と、経済発展に伴う生活様式の劇的な変化により、飲用水の需要が世界規模で急激に高まっているためである。現在では、地球上のおよそ 40 億もの人々が深刻な飲用水不足に直面しているとされ、この状況は今後さらに悪化すると予想されている。この問題を解決するべく、海水を精製して飲用水に変える技術(海水淡水化技術)が盛んに研究されているが、現在の海水淡水化効率は、世界的な飲用水不足問題を解決するには到底及ばず、水を選択的かつ高速でろ過するための革新的技術の開発が強く望まれている。

これに対して本研究者は、フライパン表面のポリテトラフルオロエチレンと呼ばれる、フッ素原子を多く含んだ高分子化合物が極めて高い撥水性を示す様子から着想を得て、内壁がフッ素原子で密に覆われた人工チャネルである『フッ素化ナノチューブ』を開発することができれば、水がその内部を滑るように高速で透過するのではないかと考えた。そして、内部がフッ素原子で密に覆われた大環状フッ素化ナノリングの一次元状自己集合化によって得られるフッ素化ナノチューブが、天然の水チャネルタンパク質であるアクアポリンの実に 4500 倍にも上る水透過能を示し、一方で塩を全く通さないという、驚愕の性質を明らかにした。

一方で、その合成単離収率はわずか 0.0055%という、目も当てられない数字であったために、フッ素化ナノチューブの大量生産は現時点では非現実的であると言わざるを得ない。そこで本研究では、フッ素化ナノチューブの高効率合成を目指すべく、ペプチド固相合成法に基づいた合成手法を新たに開拓した。

ペプチド固相合成法によるフッ素化ナノチューブの構築を実現するために、本研究者は天然の両親媒性らせん状ペプチドの構造に着目し、そのアミノ酸残基のいくつかをフッ素原子を含んだ人工アミノ酸で置き換えることとした。そして、Fmoc 基で保護された各種アミノ酸を原料とし、固相担体上における脱保護とカップリング反応を繰り返すことで目的の分子を合成することに成功した。合計 47 の工程を経た最終的な単離収率は 2%であり、これは従来法の実に 364 倍の値であった。

(要約)

高効率海水淡水化を実現することを目的に関西学院大学の佐藤浩平らは、内壁がフッ素原子で覆われたナノチューブの高効率合成法の開発を行った。その結果、従来法における合成時の収率が0.0055%に留まっていたのに対し、新たな手法では2%と実に364倍も改善したことが明らかとなり、今後の実用化に向けた重要な進展を実現したと推察された。

野菜類を利用した海水淡水化システムの開発

大山 克己

大阪公立大学現代システム科学研究科

人口増加, 経済活動の活発化および食生活の変化(動物性食品の増加など)により, 世界的に淡水需要が増加している。それに起因して, 多くの地域で淡水が不足している。地球の表面積の 70.8%は水で占められているものの, 塩分を含むために利用が困難である。具体的には, 海水が地球上の水の 97%, 氷河が 2%を占めており, 人間が利用できる淡水は地球上の約 1%しかない。海水から淡水を得ることができれば, 淡水不足に関する問題は解消または緩和されると考えられる。そのために, 海水を淡水化し, 人類が利用できる淡水の量を増やすことを目的として, さまざまな海水淡水化技術が開発され, 利用されてきた。本研究では, 太陽熱を利用した海水淡水化技術であるベイズン法を改良して, 野菜を栽培した際のシステムにおける水輸送実態を把握した。

この実験では, モデル植物としてレタス(*Lactuca sativa* L.)を用いた。海水淡水化システムとして, レタス 6 株, 海水, コンテナにより構成されるレタス植物群落, 白色 LED 光源, 断熱された箱 (0.85 m (W) × 0.42 m (L) × 0.42 m (W), 換気回数 7.1 h⁻¹), ペルチェ素子による冷却システム, CO₂ ガスボンベにより構成されるシステムを利用した。

その結果, 規定濃度の 20%以下の人工海水を使用した場合, 海水淡水化システム内のレタス群落を通じて, 電気伝導度(EC)の低い淡水を回収することができた。また, 海水淡水化システムでは, 従来法と比較して, 淡水の回収量が大幅に増加した。レタス植物群落の光合成により海水淡水化システム内の CO₂ 濃度を低下させた場合, 淡水の生成量が増加したことから, 淡水の生成を主目的とする淡水化システムにおいては, CO₂ 濃度を低下させることで淡水の生成効率を向上できることが示唆された。一方, 海水淡水化システムで水と植物の両方を得るためには, レタス植物群落の光合成を維持するために海水淡水化システム内の CO₂ 濃度を大気基準(c.a. 500 μmol mol⁻¹)に維持する必要があるとも考えた。今後は, 海水淡水化システムにおけるエネルギー削減や, 海水淡水化に適した植物の探索にも取り組んでいきたい。

(要約)

野菜類を利用した海水淡水化システムの開発を目指している大阪公立大学の大山らは, レタスをモデル植物として閉鎖空間における海水淡水化時の水輸送実態を把握した。その結果, 低濃度の海水を淡水化することができた。また, 植物の光合成により閉鎖空間内のCO₂濃度を低下させることによって, 淡水生成量を増大させられることを示した。ただし, 植物と淡水をともに得る場合には, CO₂濃度を大気濃度程度まで高める必要があるとも考察した。

発表番号 12 (助成番号 2301)

汽水性動物プランクトンに対する塩分と農薬の共役的効果に関する研究

占部 城太郎, 鈴木 碩通

東北大学大学院生命科学研究科

ネオニコチノイド系農薬は世界中で広く使用されているが、非標的生物にも悪影響を及ぼすことが指摘されている。これらの農薬は水田に散布された後、河川に流出し、最終的には河口域に到達する。しかし、これまでの研究の多くは淡水の生物を対象としており、河口など汽水域の生物に対する農薬の影響を調べた研究はほとんどない。

汽水域の生態系では、動物プランクトンが一次生産者を消費し、魚の餌となって生態系を支えている。そこで本研究では、汽水域の主要な動物プランクトンであるカイアシ類 *Sinocalanus tenellus* に対する塩分変化の影響と、ネオニコチノイドの中でもよく使用されているイミダクロプリドとの共役的影響を、急性毒性試験により調べた。

その結果、イミダクロプリド曝露と塩分濃度変化の影響は加算的で、ともに *S. tenellus* の生存率を有意に低下させることが明らかとなった。しかし、両者の影響を比較すると、塩分濃度変化の影響のほうがイミダクロプリド曝露の影響よりもはるかに大きかった。実際、自然界で測定されたイミダクロプリド濃度では、塩分濃度にかかわらず、*S. tenellus* の生存率への影響は軽微であった。

これら結果は、汽水域の生態系におけるイミダクロプリドの悪影響を強調した先行研究を必ずしも支持していない。むしろ本研究は、塩分濃度の変化のほうが汽水域の生態系により大きな変化をもたらす可能性を示唆している。ただし、本研究は短期でのイミダクロプリドの影響しか評価していない。*S. tenellus* のような動物プランクトン種がイミダクロプリドなどの農薬に長期間曝露した場合の影響については、今後調べて行く必要がある。

(要約)

汽水性動物プランクトンであるキシイヒゲナガケンミジンコ (*Sinocalanus tenellus*) に対する塩分変化の影響と、ネオニコチノイド農薬であるイミダクロプリド曝露の影響を調べるため、東北大学の占部らは急性毒性試験を行った。その結果、イミダクロプリド曝露と塩分変化の影響は加算的で、ともに *S. tenellus* の生存率を低下させるが、塩分変化の影響のほうがイミダクロプリド曝露の影響よりもはるかに大きいことが分かった。

発表番号 13 (助成番号 2306)

気候変動や人間活動に伴うブルーカーボン脆弱性の定量評価

久保 篤史

静岡大学理学部地球科学科

水生植物場は二酸化炭素の重要な吸収域として注目されている。海中の二酸化炭素は水生植物の光合成によって取り込まれ有機炭素となり、生成した有機炭素の一部は堆積物へと蓄積する。しかし、近年人間活動による沿岸開発、漁業や船舶の停泊などによって堆積物の攪乱が引き起されている。攪乱が起こると、有機物の一部は再懸濁を起し水柱へと回帰し分解が促進されて、再び二酸化炭素へと回帰する可能性がある。そこで、本研究では堆積物中の有機炭素の分解実験を行い、過去に蓄積した有機炭素の脆弱性を定量的に評価することを目的として研究を行った。

分解実験は、アマモ場が広がる北海道紋別市のコムケ湖と二酸化炭素の吸収域となっている都市内湾の東京湾

の堆積物を用いて行った。分解実験開始前の有機炭素量に対する7日の有機炭素残存率はコムケ湖・東京湾でそれぞれ平均 $83.5 \pm 5.1\%$, $84.1 \pm 4.9\%$ であった。有機炭素残存率は大部分で80%以上であり、難分解有機炭素が大部分を占めていた。コムケ湖における堆積物中の有機炭素貯留量と易分解性有機炭素の割合から、環境攪乱により分解する可能性がある有機炭素量を推定すると 2.8×10^9 gCとなり、これらは溶存無機炭素として再び水中へと排出される可能性があることが明らかとなった。またコムケ湖でのアマモ場における有機炭素の堆積速度は $2.7 \pm 1.0 \times 10^5$ gC ha⁻¹ year⁻¹であり、この溶存無機炭素放出量は約22年分の炭素貯留量に匹敵することが明らかとなった。

(要約)

ブルーカーボンが人間活動などによる堆積物の攪乱を受けた時に、どの程度分解される可能性があるかを明らかにするため、静岡大学の久保は、攪乱がおこった条件での堆積物中の有機炭素分解実験を行った。その結果、有機炭素の大部分は難分解性であるものの、易分解性有機炭素の分解に伴い過去20年間で蓄積した有機炭素をキャンセルする可能性があることを明らかにした。

発表番号 14 (助成番号 2317)

海洋汚染防止のための船舶用油水分離機に搭載する超精密油滴合一材の開発

向井 康人, 岳 云鵬

名古屋大学大学院工学研究科

船舶内で発生する汚水には通常多量の油分が含まれる。液体で存在する油は比重差により簡単に水と分離することができるが、多くは輸送・貯液過程で乳化され、油滴粒子が水中に分散するO/W エマルジョンの状態で存在している。海洋への排出基準を満たすためには、O/W エマルジョン排水の高度な油水分離処理が必要不可欠である。

本研究では、比表面積が大きい、濡れ性の調整が容易、細孔構造の制御が容易などの特徴をもつナノファイバー不織布に着目した。ナノファイバー不織布は通常、O/W エマルジョンを油滴粒子と水に分離するフィルターとして適用されている。しかしながら、不織布表面が次第に油滴で汚染されるようになり、その結果、分離性能が著しく低下するため、長期間安定的な分離操作の継続が困難になるという点が大きな課題になっている。さらに、分離された油滴粒子は次第に濃縮され、高濃度のエマルジョンとなるため、環境負荷を軽減するためのさらなる処理が必要となる点も課題の一つである。

そこで本研究では、簡便かつ省エネルギー的に油水分離でき、さらに油分のリサイクルも実現できる、油滴合一方式のコアレスサー型油水分離機に着目し、油水分離機に搭載するコアレスサー材としてナノファイバー不織布を使用することとした。エレクトロスピンニング法より作製したポリアクリロニトリル (PAN) ナノファイバー不織布の表面上にゼオライト型イミダゾレート骨格-8 (ZIF-8) を構築し、*in situ* 成長させることで合一機能の向上を図った。*In situ* 成長プロセスは、前処理として PAN 不織布を活性化させて亜鉛イオンのアンカーサイトを形成し、その後、ZIF-8 粒子の前駆体に浸漬することで実施した。ZIF-8 の導入により親水・親油性と表面粗さが向上し、さらに PAN 不織布に正電荷が付与されることで、負電荷をもつ油滴を効果的に解乳化・合一させることができた。ZIF-8/PAN ナノファイバー不織布の適用により、界面活性剤を含まないエマルジョンに対して 99.9%、界面活性剤で安定化されたエマルジョンに対して 97.1% の高い分離率を実現した。また、連続分離プロセスにおいて、それぞれ $21200 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ および $14100 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ の高い透過流束を達成した。

(要約)

水中油滴型エマルジョンの効果的な合一分離方法を検討するため、名古屋大学の向井康人、岳云鵬は、エレクトロスピンニング法により製造したポリアクリロニトリル (PAN) ナノファイバー不織布の表面上にゼオライト型イミダゾレート骨格-8 (ZIF-8) を構築し、*in situ* 成長させて ZIF-8/PAN 膜を作製した。これを用いて油滴粒子を解乳化し合一させた結果、極めて高い分離率と透過流束を示したことから、本研究で開発した ZIF-8/PAN 膜は超精密で高効率な油滴合一材であることが示唆された。

仙台湾の海水を用いたステンレス鋼の酸素発生陽極を用いた電気防食の検討

加藤 善大

東北工業大学工学部

製塩工業において、イオン交換膜電気透析法により通常の海水の 5-6 倍の濃度に濃縮した海水を釜で煮詰める工程を煎ごうと言う。この煎ごう釜は高温高濃度という条件で稼働するため、鉄、ステンレスクラッド鋼、チタンクラッド鋼など腐食に耐えるために進化してきている。しかし、これらの材料でも腐食は避けられず、一定期間の使用後に交換が求められる。

被覆防食、電気防食および防食剤による防食がある。なかでも、電気防食は、水中や土壌中の金属に電流を流し、電位を操作することで腐食を防ぐ方法である。電気防食には、卑な金属を電氣的に接触させる犠牲陽極法と、外部電源を用いる外部電源法がある。鉄にマイナスの電流を流すことで鉄の溶解を抑制できる可能性がある。

通常、外部電源法に用いる陽極は、アノード分極において安定な Pt などの不溶性酸化物電極が用いられる。外部電源法を煎ごう釜に用いることにより、使用される材料の腐食を抑制することが可能と考えられる。しかし、通常の不溶性電極を用いると、有害な塩素が生成してしまう。

これまで、私たちは電解中に塩素を発生させず酸素のみを生成する酸素発生陽極を創製しており、この電極を白金の代わりに電気防食の陽極として用いることにより、塩素を発生させず、ステンレス鋼および鉄の腐食を起こさず、2.5 M NaCl 模擬海水中で電気防食が可能であることを見出してきている。

本研究では、マグネシウムイオン、カルシウムイオンが含まれる実海水中での本方式の有効性を検討するため、仙台湾で採取した実海水中での本方式の有効性を調べ、今後の実用化に向けての改善点を探ることを目的とした。この結果、Fe は $100 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ 以上の電流を印加したさい腐食を抑制できる。しかしながら、過剰な電流の印加は海水中の金属を析出させるため、電位 (vs. Ag/AgCl) を -0.7 V となるような電流値での電位制御が必要になることがわかった。同様に、SUS304 では、 $20 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ 以上の電流密度を印加した際、腐食を抑制できることが明らかとなった。この場合も同様に過剰な電流密度の増大は、マグネシウムおよびカルシウムの水酸化物の析出が生じるため電位制御が極めて重要である。

(要約)

煎ごう釜に用いられるステンレスおよび鉄を仙台湾で採取した実海水中に浸漬することにより、腐食減耗が見られた。ステンレスおよび鉄に $\text{Mn}_{1-x-y}\text{Mo}_x\text{Sn}_y\text{O}_{2+x}$ 複酸化物酸素発生陽極を用いてカソード電気防食を適用することにより、防食を施さないものに比べて格段に腐食を抑制することができるとともに塩素を発生させることなく防食が可能となった。

発表番号 16 (助成番号 2318)

ナノファイバーネットワーク構造を有する高耐食自己修復コーティングの開発

矢吹 彰広

広島大学大学院先進理工系科学研究科

製塩プラントにおいては海水配管に炭素鋼が用いられているが、腐食が生じるため、塗装や被覆による防食対策が行われる。通常、塗膜には腐食を防止するため、腐食抑制剤である防錆顔料が添加される。ところが、塗膜に欠陥が生じた場合、腐食が生じる。この欠陥による腐食の進行を防止する方法として、欠陥部に自然に保護皮膜が形成する自己修復性防食処理が有効である。これまで、塗膜中に腐食抑制剤およびセルロースナノファイバーを添加することで、セルロースナノファイバーが腐食抑制剤の放出経路となり、迅速に多量の腐食抑制剤が放出され、高い自己修復性を示すことを明らかにした。

本研究では、セルロースナノファイバーを用いた防食ポリマーコーティングにおけるネットワーク構造に関する検討を行った。ファイバーによるネットワーク構造の利点を深く理解するために、粒子ネットワークを比較材料として用いた。実験においては、粒子状の腐食抑制剤を低濃度で添加したコーティングを基準にし、これに腐食抑制剤粒子

を多量に添加した粒子ネットワーク、セルロースナノファイバーを添加させたファイバーネットワークについて腐食抑制剤の放出および電気化学測定による自己修復性能の確認を行い、それらを総合的に判断することでナノファイバーを用いた高耐食性自己修復コーティングの開発を目指すこととした。

試験の結果、腐食抑制剤であるリン酸マグネシウムを30wt%添加したコーティングで粒子ネットワーク構造を形成し、高い分極抵抗を示した。リン酸マグネシウム5wt%にセルロースナノファイバーを1wt%添加したコーティングにおいてファイバーネットワーク構造を形成し、高い分極抵抗を示した。これらのコーティングからのリン酸マグネシウムの放出量の測定を行ったところ、ネットワーク構造により持続的な放出が生じていることがわかった。さらにコスト比較により、コーティング中へのセルロースナノファイバーの添加は単価が高価であるものの、添加量が少なくコストメリットがあることがわかった。

(要約)

海水配管に用いられる炭素鋼の外面腐食を防止できる塗膜の開発のため、広島大学の矢吹は腐食抑制剤粒子およびセルロースナノファイバーを添加したコーティングを作製し、腐食抑制剤の放出および電気化学測定による自己修復性能の評価を行った。その結果、腐食抑制剤による粒子ネットワーク、セルロースナノファイバーによるファイバーネットワークからなるコーティングでは高い分極抵抗を示し、これは持続的な腐食抑制剤の放出によることを示した。

海水中の Fe(II)と Fe(III)の分別定量～さらなる海の豊かさの評価～

高橋 (田中) 美穂

東京海洋大学学術研究院海洋環境科学部門

海水中では鉄濃度は極めて低く、2 価鉄(Fe(II))と 3 価鉄(Fe(III))の分離定量法は難しい。これらの定量方法の確立、測定之感度などまだ解決すべき問題がある。海水中の Fe(II)と Fe(III)が定量できれば、海洋などの環境試料の測定のみならず、生体試料の機能の役割の分析にも役に立つと考えられる。海の豊かさを Fe(II)の濃度の高さで評価できれば、海水中の生物に対する活性も評価できると考えた。

そこで、本研究の特徴は、採水した場から、これらの錯体を形成させ、Fe(II)と有機錯体を錯形成させ、そのまま錯体をイオン化させて有機化合物測定用の質量分析計で感度を得ることを考えた。Fe(II)の酸化を防ぐため、安定な Fe(II)-1, 10-フェナントロリン錯体を形成するように錯体化した。地下水中の Fe(II)は ESI-MS で測定されたが、海水中の Fe(II)の定量は塩類濃度が高いため困難である。Fe(II)の酸化を防ぐため、安定な Fe(II)-phen 錯体を形成するように錯体化した。

その結果、海水中の Fe(II)の定量は塩類濃度が高いため困難である。得られた汽水中(塩分 1%)の Fe(II)濃度は $0.184 \pm 0.05 \mu\text{M}$ であり、ICP-MS による全 Fe 濃度(total Fe)は $0.70 \pm 0.05 \mu\text{M}$ 、Fe(II)/total Fe は汽水中の全 Fe の 26%であった。地下水中の Fe(II)濃度は

$0.146 \pm 0.002 \mu\text{M}$ 、total Fe は $0.23 \pm 0.02 \mu\text{M}$ で、Fe(II)/total Fe は 63%であった。一方、多摩川では、Fe(II)濃度は $0.230 \pm 0.013 \mu\text{M}$ 、ICP-MS による total Fe は $0.59 \pm 0.06 \mu\text{M}$ 、Fe(II)/total Fe は 39%が得られた。

植物プランクトンにとって微量栄養素である微量の Fe(II)の存在が不可欠(あるいは必要)であり、一方、Fe(III)は植物プランクトンにとって有毒である。生物への栄養素となる Fe(II)は、海水の豊かさを示す重要なパラメーターとなる。Fe(II)の濃度が予想外に高い結果は、自然の河川水や海水の持続可能な環境がよく維持されていることを示している。

本研究では、HR-ESI-MS の様々な角度から ESI-MS による Fe(II)の定量の高感度化を目指した。実際に塩を含む天然水試料の測定で同じ汽水域の水の Fe(II)の溶媒抽出の濃縮率を 1:1 と 1:2 とすることで $0.1763 \pm 0.0176 \mu\text{M}$ の誤差、および 1:1 と 1:3 とすることで $0.2544 \pm 0.025 \mu\text{M}$ という誤差範囲で再現性の確保も可能になった。今後、3.4%を超える塩濃度の高い海水中の極微量鉄の測定をする上では Fe の状態変化や夾雑物の影響を考えた前処理法の改良を行い、定量法の精度をより高いものにしていく必要がある。

(要約)

東京海洋大学の高橋(田中)美穂らは、海水中の Fe(II)の濃度を求めるために、Fe(II)を 1, 10-フェナントロリン錯体で固定し有機質量分析計で錯体ごと定量した。東京湾の汽水(塩分 1%)の Fe(II)濃度は $0.184 \pm 0.05 \mu\text{M}$ であり全 Fe 濃度は $0.70 \pm 0.05 \mu\text{M}$ 、Fe(II)/total Fe は汽水中の全 Fe の 26%であった。多摩川では、Fe(II)濃度は $0.230 \pm 0.13 \mu\text{M}$ であり、ICP-MS による全 Fe 濃度は $0.59 \pm 0.06 \mu\text{M}$ 、Fe(II)/total Fe は 39%が得られ、Fe(II)の濃度が高いことがわかった。

発表番号 18 (助成番号 2307)

海水中の硝酸イオン・亜硝酸イオンの簡易で高感度な測定システムの開発

児玉谷 仁, 富安 卓滋

鹿児島大学大学院理工学研究科・理学部

海水中の硝酸イオンおよび亜硝酸イオン濃度は、海洋環境を把握するために重要な測定項目である。最近、報告者らは、塩基性水溶液条件下 222 nm の紫外線を硝酸イオン、亜硝酸イオンに照射することで、これらイオンを効率よく強い酸化力を持つペルオキシナイトライトに変換できることを見出した。ペルオキシナイトライトはルミノールと強い発光反応を起こすことが知られている。よって、これらの反応を利用し、両イオンをイオンクロマトグラフィーで分離した後、オンラインで紫外線を照射して光化学反応 (PR) を行い、そしてルミノール溶液との混合により化学発光 (CL) を起こさせる検出法 (以下、PR-CL 法) で、海水中の硝酸イオン、亜硝酸イオンを測定可能とした。しかし、この確立した測定法は、既存のイオンクロマトグラフィー分離に新たな検出法 (PR-CL 法) を組み合わせただけのものであり、PR-CL 法のパフォーマンスを活かせていない状況であった。

そこで本研究では、少量試料しか注入できないことがデメリットである内径の小さなカラム (セミマイクロカラム) を分離カラムに採用し、セミマイクロカラムのメリットである検出感度の向上、溶離液流量の低下 (長時間運転、低ランニングコスト) を活かし、さらに低流量となったことで、PR や CL の反応効率の向上などを達成できると考え、PR-CL 法による硝酸イオン・亜硝酸イオンの簡易で高速な測定法の確立を進めた。PR-CL 法が塩基性水溶液条件下でのみ利用できるという制限から、化学的・物理的に安定であるグラファイトカーボン固定相として持つセミマイクロカラム (内径 2 mm, 外径 30mm) を採用した。このカラムにセチルトリメチルアンモニウムをコーティングすることで陰イオン交換カラムとして硝酸イオン、亜硝酸イオンの分離を検討した。

結果として、溶離液の流量 0.4 mL/min で 3 分以内に亜硝酸イオンと硝酸イオンを分離できた。またセミマイクロカラムの利用のため、内径の細い流路を使う必要があり、光化学反応器について最適化を進めた。加えてイオンクロマトグラフィーを利用した方法で、鹿児島湾奥の海底熱水噴気孔の活動と、硝酸イオン、亜硝酸イオンの濃度変動の関係についてデータを得つつ、開発中の測定法を評価するための試料およびデータとして利用した。

(要約)

海水中の硝酸・亜硝酸イオンの簡易で迅速な測定法を開発している鹿児島大学の児玉谷らは、イオンペアクロマトグラフィーによる分離後、222 nm 紫外線による光化学反応、ルミノール化学発光検出を利用した測定法の検討を進めた。結果、3分以内で nM レベルの硝酸・亜硝酸イオンの測定を可能にした。しかし、海水成分の妨害を受けており、海水中の定量には至っていない。原因は塩化物イオンとの分離不足と考えている。

リン酸化酵母を用いた環境水中からのレアアースの選択的回収

尾島 由紘

大阪公立大学大学院工学研究科

研究代表者は、先行研究において元来優れた金属イオン吸着材である酵母をさらにリン酸化することで金属吸着効率を向上させ、金属イオン混合溶液からのレアアースイオンの選択的回収を達成した。そこで本研究では、このリン酸化酵母の実用性を検証するために、海水や温泉水などの環境水中に含まれる微量のレアアースイオンの選択的な濃縮と回収について検討した。

まずは市販のパン酵母を食品添加物であるトリメタリン酸ナトリウムと反応させることでリン酸化酵母を作製した。合成海水を用いた吸着実験においては、海水の陽イオン組成を模して調製した溶液 (Na^+ 10000 ppm, Mg^{2+} 1000 ppm, K^+ と Ca^{2+} 500 ppm) に、レアアースであるジスプロシウムイオン Dy^{3+} を 5 ppm 添加した合成海水から Dy^{3+} の選択的回収を試みた。合成海水に 0.01 M となるように塩酸を添加すると他のイオンは吸着せず、 Dy^{3+} が優先的にリン酸化酵母に吸着する条件となることを明らかにした。さらに添加するリン酸化酵母の量を増やすとほぼ 100% の効率で、合成海水中から低濃度の Dy^{3+} を選択的に回収することができた。

続いて、玉川温泉の実温泉水に含まれるレアアースイオンを吸着対象とした。大噴と呼ばれる源泉から得られた温泉水には、モル濃度に換算するとレアアースの約 20000 倍以上のアルミニウムイオン Al^{3+} や鉄イオン Fe^{2+} が含まれている。この実温泉水からのレアアースイオンの選択的濃縮と回収を試みた。玉川温泉水は強酸性であるため、まずは水酸化ナトリウムを 0.1 M となるように添加すると、レアアースイオンは溶けたままだが、 Al^{3+} や Fe^{2+} が水酸化物の沈殿となり除去できることが分かった。特に Al^{3+} はレアアースイオンと同じ 3 価であり、リン酸化酵母を用いて吸着する際に最も競合することから、pH 調整は有効な前処理と考えられた。前処理を行った温泉水に対して、リン酸化酵母を用いて吸着を行ったところ Dy^{3+} や La^{3+} などのレアアースの他に、残存していた Al^{3+} なども同時に吸着された。そこで、吸着した酵母から塩酸を用いて金属イオンの脱離を行ったところ、レアアースイオンのみが高効率に脱離したため、脱離後の溶液中にレアアースを選択的に 10 倍以上濃縮することに成功した。

(要約)

大阪公立大学の尾島らは、リン酸化した酵母細胞を用いて合成海水や実温泉水などの環境水中に含まれる微量のレアアースイオンの選択的な吸着を試みた。その結果、どちらの環境水においても、前処理として pH 調整を行うことで、レアアースイオンの優先的な濃縮ならびに回収に成功した。pH 調整による典型元素の効率的な除去がリン酸化酵母の活用に有効であると示唆された。

発表番号 20 (助成番号 2308)

ハロゲン化リチウムの高濃度かつ選択的な溶媒抽出剤の設計と合成

近藤 慎一

山形大学理学部理学科

カーボンニュートラルを目指す上で、リチウムイオンバッテリー (LIB) の需要は益々高まっている。一方で、その原材料は国際的に偏在している。LIB の主原料であるリチウムを天然資源や廃棄 LIB から抽出、精製する技術開発は現在も盛んに検討されている。我々はこれまでに、市販の原料から1段階で合成可能な、比較的柔軟な構造を有するレセプター1 がハロゲン化物イオンとリチウムイオンを同時に捕捉可能な、いわゆる二官能性レセプターとして機能し、ハロゲン化リチウム、特に塩化リチウムを数 mol/L と非常に高濃度に有機溶媒に溶解させることが可能であることを見出した。しかしながらレセプター1 はリチウム/マグネシウム選択性はまだ十分とは言えないことも明らかとなった。そこで本研究においては、多様な含リチウム資源からハロゲン化リチウムをより高選択的に抽出するレセプター分子を設計し、その合成と評価を行うことを目的とした。リンもまた全量を輸入に頼っており、近年リン酸鉄リチウムが LIB の正極に利用されていることからこの回収技術も重要である。

そこで、本研究ではハロゲン化リチウムを選択的に溶媒抽出可能なように、レセプター1 を3次元的に拡張した三脚型レセプターを設計し、この合成と基本的な性質の解明を試みた。トリメチロールエタンを出発原料として、脂肪族ならびに芳香族エーテルリンカーをそれぞれ有するレセプター4, 5 の合成では4については生成物を得ることができなかったが、5 の合成は達成できた。さらにエステルリンカーを有する6, 7について合成を達成した。紫外-可視吸収スペクトルを用いて、比較的有機溶媒に対する溶解度の高かったレセプター5b と6a についてアニオンに対する会合能を検討したところ、5b は高い会合能を示し、6a はその構造に起因する比較的低い会合能を示した。さらに柔軟な構造を有するレセプター6a について LiCl を固-液抽出可能であることを明らかとした。

また、エーテルリンカーをカチオン認識部位に、ロイシンとアミノピリジンを連結した部位をリン酸二水素アニオンの認識部位に有するように設計した二官能性レセプター8を設計、合成した。NMR 滴定から強いリン酸二水素アニオンの認識を確認した。さらに LiH_2PO_4 をクロロホルムにより固-液抽出が可能であることも明らかとした。

(要約)

山形大学の近藤は、前1回の助成で柔軟な二官能性レセプターを用いて塩化リチウムの有機溶媒への可溶化と選択的な固-液抽出について明らかとした。引き続きリチウム/マグネシウムの選択性の向上を目的に、3次元的に拡張した三脚型二官能性レセプターの構築とその性質について明らかとした。さらにリチウムとリン酸とを同時に認識可能なレセプターの構築を行い、リン酸リチウムの有機溶媒への固-液抽出に成功した。

発表番号 21 (助成番号 2310)

医療用 Ac-225 製造に向けた海水中ラジウムの回収技術の研究

小栗 香里¹, 荒井 陽一¹, 渡部 創¹, 瀬古 典明², 保科 宏行²

¹ 日本原子力研究開発機構, ² 量子科学技術研究開発機構

特許関係に配慮し、今年度は非公開とさせていただきます。

発表番号 22 (助成番号 2316)

環境制御型電子顕微鏡法による溶液中での NaCl 結晶成長の観察

箕田 弘喜, 清水 俊樹

東京農工大学工学部

原子や分子の結晶化は科学技術, 生物学, 環境などのさまざまな分野で利用されており, その微細なメカニズムを解明することが重要である。近年, 分子動力学シミュレーションを用いて液体中の結晶核生成を原子レベルで解明する研究が進み, 液体中の結晶核生成と結晶化は, 濃度変動による高濃度領域の生成と, その後の高濃度領域の生成という 2 段階で構成されることが報告されている。空間的な順序付け。しかし, 液体中での結晶成長をその場で, 高空間分解能で観察することは困難であり, 二段階プロセスでの高濃度領域の直接観察は実現されていない。本研究では, この二段階プロセスを確認することを大きな目標としてまずは, NaCl の結晶成長過程をナノメートルスケールで可視化することを目的として研究を行った。電子顕微鏡内で溶液サンプルを保持するために液体セルを使用した。

観察された数ナノメートルの結晶は, 表面での反応により常に形状を変化させていたが, 約 $4 \times 10^4 \text{ e}^-/\text{nm}^2 \cdot \text{s}$ の電子線量で 150 秒間電子照射を行った後でも, 構造は大き

く破壊されることはなかった。これは, NaCl 結晶がこの観察条件下で平衡状態にあることを示している。観察された格子縞は(200)または(220)格子面であった。局所的な構造変動により結晶の成長や消失が観察されたが, 比較的大きな結晶粒の縁では(200)の格子縞が長く成長し, 比較的小きな結晶粒の縁では(200)格子面の層数を増加させる成長が観察された。この結果は, NaCl がステップ成長に比べてキンク成長が容易に起こりやすいことを示唆している。

本研究では画像のコントラストを向上させるため, 6 枚の画像の強度を平均した積層画像を用いて解析を行った。いくつかの視野で重ね合わせた画像の枚数を減らして解析を試みたところ, 結晶領域が変化している可能性があることが分かった。今回の解析では結晶領域の面積や境界位置を手作業で求めたが, ノイズが大きく, より客観的な判断が必要であった。したがって, 結晶領域を自動的に特定する自動解析手法の導入が今後の課題である。

(要約)

東京農工大学の箕田らは独自に開発した液体セルを用いて, 液体中のNaCl結晶成長をナノメートルスケールで電子顕微鏡による可視化を目的に研究を行った。液中で核生成したNaCl結晶の観察に成功し, (200), および(220)格子面のみが観察された。比較的大きな結晶粒では, (200)格子面の長さが伸びるように成長がすすみ, 比較的小きな結晶粒では, (200)格子面の層数が増えていく方向に結晶成長が進む様子が観察された。この結果は, NaClがステップ成長に比べてキンク成長が容易に起こりやすいことを示唆している。

3 成分間のマイクロ相互作用に着目した逆浸透膜の素材設計

南雲 亮

名古屋工業大学大学院工学研究科工学専攻

海水を淡水化するプロセスとして逆浸透膜を利用した処理法が社会実装されているが、プロセスの効率化に向けては膜ファウリングを低減する取り組みが欠かせない。ファウラントとなる浮遊物としてはイオン分のほか、タンパク質や糖類などの生体高分子、種々の有機成分などの存在が指摘されている。こうした背景から、膜ファウリングのメカニズム究明に向けては、膜材料の表面、その近傍を浮遊するファウラント、そしてファウラントを取り囲む無数の水分子の3成分が形成するマイクロ相互作用を精緻に解析する取り組みが欠かせない。

そこで我々の研究グループでは、種々の材料表面を対象に、耐ファウリング性能の発現メカニズムを分子動力学(MD)法によってマイクロな視点から解析する取り組みを進めてきた。近年、我々が注目しているのが、親疎水性や荷電特性などの表面物性と耐ファウリング性能の関係である。たとえば双性イオンを有するベタイン系素材は、優れた耐ファウリング性能を発揮することが報告されており、既に幅広く実用されている。そしてノニオン系のポリ(2-メトキシエチルアクリレート)(PMEA)もまた、高分子バイオマテリアルとして社会実装されている。PMEAの表面は必ずしも親水的であるとは言えないが、高い耐ファウリング性能を発揮する。この事実は、「親水的な表面ほど水分子のバリア機能によりファウラントの付着を防ぐ」という従来の考え方が普遍的なものではないことを示唆している。

こうした背景から、本研究は、主たる研究項目として以下の2点を設定した。第一は、ベタイン系素材の側鎖を構成する荷電基と耐ファウリング性能の相関をMD法で解析する取り組みである。これにより、ベタイン系素材の耐ファウリング性能発現メカニズムを解析できる理論的アプローチを提案した。そして第二は、ノニオン系素材の親疎水性をMD法で簡便に解析するアプローチを構築する取り組みである。具体的には、温度応答性マテリアルとして代表的なポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)を対象に、親疎水性を理論予測するための方法論を提案した。

(要約)

名古屋工業大学の南雲は、海水淡水化に適用できる逆浸透膜のファウリング現象を詳細に検証すべく、ポリマー分子鎖近傍における有機ファウラントや水分子のマイクロ相互作用を分子動力学計算によって解析した。特に、分子鎖近傍の水和構造および会合状態を評価するための動径分布関数と、系の分散・凝集状態を評価するための第2ビリアル係数を解析し、材料の親疎水性や荷電特性と耐ファウリング性能の相関関係を考察した。

発表番号 24 (助成番号 2313)

新規凹凸構造イオン交換膜を用いた 高効率塩濃度差エネルギー変換システムの開発(Ⅱ)

比嘉 充^{1,2}, 通阪 栄一^{1,2}, 垣花 百合子^{1,2}, 比嘉 南斗^{1,2}¹ 山口大学大学院創成科学研究科, ² 山口大学ブルーエネルギーセンター

現在, 陽イオン交換膜(CEM), 高濃度側流路, 陰イオン交換膜(AEM), 低濃度側流路で構成されたスタックを用いた逆電気透析(RED)では塩濃度の異なる塩水間の塩分濃度差エネルギー(SGE)を電力に変換する。このSGE変換プロセスを高効率に行うために, 本研究はCEMとAEMに凹凸構造を形成することで膜と流路の電気抵抗の低減という利点を有するプロファイル(PF)膜を作製する。市販膜を原膜としてPF膜を作製し, 平膜とPF膜でスタックを構築する。そしてこのスタックの特性を評価することで高効率SGE変換システムの開発を行う。

平膜CEMとしてFKS-50, 平膜AEMとしてFAS-50を使用した。この平膜の表面に熱プレス法により凹凸形状を賦形したPF膜を作製し, 平膜とPF膜を用いてそれぞれ対数5対, 膜間距離200[μm]のスタックを作製した。発電試験においてRED発電装置に供給する高濃度溶液(HS)と低濃度溶液(LS)には, 模擬海水(50[mS/cm] NaCl溶液)及び濃縮海水相当(95.5[mS/cm] 1M NaCl溶液), 高濃度塩水相当(185.5[mS/cm] 3M NaCl溶液)と模擬河川水(0.3[mS/cm] NaCl溶液)を使用して測定した電流-電圧(I - V)曲線より, 開回路電圧(V_{OC}), スタック内部抵抗(R_{INT}), 単位膜面積当たりの最大RED発電出力を示す最大出力密度(PD_{gross})を算出した。

模擬海水, 模擬河川水を供給した場合におけるPF膜の R_{INT} は平膜の69%の値となり, 平膜より44%高い PD_{gross} が得られた。これはPF膜の凹凸構造により, スペーサー網が不要になることで, LS側流路の電気抵抗が低減されたためであると考えられる。次に濃縮海水, 高濃度塩水をHSとして使用した場合では, HS濃度が増加してもPF膜及び平膜を用いたスタックは両方共に V_{OC} はほぼ同じ値を示したが R_{INT} が減少し, PD_{gross} は増加した。そして3種のHSにおいてPF膜の方が平膜よりも約4割高い PD_{gross} を示した。模擬海水に対して, 6倍塩濃度が高い高濃度塩水で平膜とPF膜は共に約2倍高い PD_{gross} を示し, また平膜はPF膜よりも40%高い PD_{gross} を得たことから, 高濃度塩水においても本研究で作製したPF膜の優位性が確認された。

(要約)

塩分濃度差エネルギー(SGE)を電力に変換する逆電気透析(RED)で高SGE変換を得るために, 平膜状の陽イオン交換膜と陰イオン交換膜に凹凸構造を形成したプロファイル(PF)膜を開発した。PF膜と平膜でスタックを作製し, RED性能を比較した結果, PF膜スタックは種々の塩水(0.5 M, 1.0 M, 3.0 M NaCl)においても平膜スタックより約41%高い出力密度を示し, PF膜の優位性を持つことが示された。

第2会場（606） 25 ～ 40 一般公募研究発表（食品科学分野）



第2会場

発表番号 25 (助成番号 2339)

野菜への塩味付与に真空包装処理を利用した新規調理法に関する研究

大田原 美保¹, 熊谷 美智世²¹ 大妻女子大学家政学部食物学科, ² 東京聖栄大学

調味液と食材を専用袋に入れてチャンバー式真空包装機で包装(以下, 真空包装処理)をすると, 減圧の際に食材内部の空隙から気体が放出され, 常圧に戻る際の圧力勾配によって調味液が食材内部に浸入する。本研究では調味液を伴う真空包装処理による野菜内部への塩味付与効果と処理後の野菜の性状を明らかにし, 従来の細胞膜の半透性消失によらずに生野菜に塩味を付与する新規調理法の検討を行った。

成型した試料を NaCl 水溶液とともに専用袋に入れて真空包装処理を行った。対照はポリエチレン製袋に試料と NaCl 水溶液を入れたもの(以下, 常圧包装処理)とした。包装処理後, 経時的に試料を取り出し測定に用いた。測定は包装処理前後の試料の質量, 一軸圧縮試験による力学物性(レオメーター), NaCl 濃度(電位差滴定装置), 有効空隙率(調味液浸入に有効な試料内部の空隙の割合)とし, 共焦点レーザー顕微鏡および X 線 CT スキャンにより組織観察を行った。

ダイコン試料を野菜細胞液の低張から高張に相当する NaCl 水溶液(0.5~1.5%)で包装処理した際の質量変化は, 常圧包装処理ではいずれの溶液でもわずかであったが, 真空包装処理では顕著に増加しており, 細胞間隙に溶液が浸入したことが顕微鏡観察により確認された。NaCl 水溶液浸入に伴い試料の NaCl 濃度は真空包装処理の方が常圧包装処理よりも高く, 生野菜への塩味付与効果が期待できた。

浅漬けを想定してダイコン試料を 3%NaCl 水溶液とともに真空包装処理すると試料の NaCl 濃度は浅漬けとして適度な値(1.1~1.4%)に処理後 3 時間で達したが, 常圧包装処理では 0.8%であり, 真空包装処理による調味時間短縮効果が明らかとなった。さらに真空包装処理試料は, 処理前に対する質量減少が常圧処理の約 1/4 と少なく, 溶液浸入による脱水抑制が認められた。力学物性測定によって真空包装処理試料は処理直後では脱気によりやや張りを失うが, 処理後もその状態を維持し, 処理後 3 時間ではむしろ常圧包装処理試料よりも張りのあるテクスチャーであると考えられた。ナス, カブ, キュウリへも真空包装処理を適用したところ, 試料の塩分濃度はナスが高くキュウリは低く, 有効空隙率がナス 40%, キュウリ 6%という違いに対応した。試料内部の空隙の割合や状態が真空包装処理の有効性に重要であることが明らかとなった。以上より, 細胞膜の半透性消失を伴うことなく生野菜への塩味付与の手段として真空包装処理は有用であり, 調味液浸入によって張りのあるテクスチャーを保持しつつ浅漬けができるという新規調理が可能といえる。

(要約)

大妻女子大学の田原らは, 生野菜に塩味を付与する新規調理法の開発を目的として, 各種野菜を調味液とともにチャンバー式真空包装機で真空包装処理を行い, 野菜内部への塩味付与効果と塩味が付与された野菜の性状について検討した。その結果, 真空包装処理により短時間で塩味付与が可能で従来の浅漬けとは異なり張りのある新しいテクスチャーを有する浅漬け様食品を創出できる可能性が示された。また, 塩味付与効果は野菜により異なり, 野菜内部の空隙割合が要因の一つであることが X 線 CT スキャン画像等によって示された。

加熱調理中の葉茎菜類中への食塩拡散過程のシミュレーション

佐藤 瑤子

お茶の水女子大学

煮物や汁物の調理やその後の保管中には、汁から食材へ食塩が拡散すること、水分が蒸発することなどによって汁と食材の食塩濃度は刻々と変化する。そのため、このような調理品の食塩濃度の変化を把握した上で、調味条件を設定することが重要である。ハクサイは醤油を含む煮汁中で加熱すると切断面の色が濃くなることが観察でき、醤油の色素成分は主に切断面から拡散していると考えられるが、ハクサイの表面と切断面の拡散の差異に関する報告はない。本研究はハクサイの調理過程における食塩拡散過程のシミュレーションを目的に、計算に必要な拡散係数(D)、表面及び切断面の物質移動係数(h_u , h_c)を測定した。

最初にハクサイの白色芯部を5~80°Cの0.2 M NaCl水溶液中に浸漬し、試料を外側5 mmとその内側に分けて食塩濃度を測定した。食塩の拡散過程は三次元拡散方程式で解析し、実測値にフィッティングするように、 D , h_u および h_c を算出した。次にハクサイを沸騰した0.17 M (1%相当) NaCl水溶液で10分間加熱した後、65°Cで2時間保温して、食塩水とハクサイの食塩濃度変化を測定した。さらに得られた D , h_u および h_c を用いてハクサイおよび食塩水の食塩濃度変化をシミュレーションし、実測値と比較した。全ての計算には有限要素法ベースのソフトウェア COMSOL Multiphysics を用いた。

最初に表面と切断面それぞれの物質移動係数を用いた場合と、用いない場合で実験値にフィッティングするように拡散係数を求めて、予測値と実測値を比較した。その結果、物質移動係数を用いない場合には、ハクサイの内側の食塩濃度が計算値よりも低く、表面と切断面それぞれに物質移動係数を設定する必要性を確認した。得られた h_u は h_c の約 10^{-11} 倍と非常に小さく、食塩は主に切断面からハクサイ中へ拡散することが明らかになった。 D 及び h_c の温度依存性はアレニウスの式で表すことができた。一方、 h_u は温度による一定の傾向は認められなかった。最後に得られた D , h_u および h_c を用いて加熱中及び保温中の汁およびハクサイの食塩濃度変化をシミュレーションしたところ、予測値と実測値で概ね一致し、温度変化を伴う調理時のハクサイ中の食塩拡散過程のシミュレーションが可能であることを確認した。

(要約)

品質一定の調理品生産のための調理条件の最適化を目指しているお茶の水女子大学の佐藤は、ハクサイ中の食塩濃度変化をシミュレーションするために必要な拡散係数および物質移動係数を測定した。その結果、ハクサイの切断面に比べて表面からは食塩は非常に拡散しにくいことが明らかになった。さらに得られた値を用いることで、加熱調理およびその後の保管中のハクサイおよび汁中の食塩濃度変化のシミュレーションが可能であることを確認した。

発表番号 27 (助成番号 2346)

アミノ酸ハイブリッド型食塩が発酵食品成分組成・生物活性プロファイル に与える影響に関する研究

中尾 洋一¹, 町田 光史¹, 神平 梨絵², 中村 文彬¹¹ 早稲田大学理工学術院, ² 早稲田大学先進理工学部

潜在患者を含めると約 4000 万人の高血圧患者がいるとも推計されるわが国において、塩分の取りすぎは健康リスクに直結する健康上の大きな不安要素となっている。『日本人は塩分を取りすぎなので減塩すべき』という認識が広く社会一般に浸透するにつれ、健康を気にする多くの家庭では塩分濃度が高い発酵食品が食卓から避けられる傾向も生じており、発酵食品業界全体の将来にかかわる大きな問題ともなっている。

一方、減塩は味の薄さにもつながることから、行き過ぎた減塩は食事の楽しみである美味しさと矛盾することにもつながる。このような背景下、われわれは海底湧海水を使って、おいしく 25% NaCl をカットできるアミノ酸ハイブリッド型食塩を開発した。われわれはおいしく減塩が可能な本アミノ酸ハイブリッド型食塩を、様々な発酵食品の材料として適用することで、塩分摂取量が気になる人も安心して摂取することができる発酵食品開発に役立てたいと考えている。そこで本研究では、アミノ酸ハイブリッド型食塩が発酵食品におよぼす影響を、代謝物・生物活性プロファイル評価によって明らかにし、塩分を気にしないで摂取可能な発酵食品開発につながる知見を得ることを目的とした。

本研究では、精製塩、本塩、精製塩+本塩を用いて味噌の製造を行い、得られた各味噌に含まれる代謝物のメタボローム解析結果を比較して、先行研究で得られた知見である、用いる塩によって味噌の代謝物プロファイルが大きく異なる(精製塩+本塩では中間のプロファイルになる)ことを確認した。また、これまでの研究で見出している、味噌に含まれる抗ストレス成分およびアンジオテンシン変換酵素(ACE:高血圧の原因酵素)阻害活性成分についても、メタボローム解析を行ってそれらの含有量変化について検討した。

一方、上記のように製造した味噌について、その機能性に関する知見を得るべく、それぞれの抽出物の分画し、各画分に対して遺伝子スイッチとしても知られるヒストン修飾(最大24種類)についても同時並行的に変化のプロファイルを調べて、特徴的な変化が認められるかどうかについて検討を行った。

以上の結果から、用いる食塩を変えることで味噌に含まれる成分プロファイルや活性プロファイルに変化が生じることが示唆された。今後はこれらの変化を引き起こす成分の精製・同定を進め、味噌の新たな機能性について解明を試みたいと考えている。

(要約)

早稲田大学の中尾らは、おいしく減塩が可能なアミノ酸ハイブリッド型食塩が発酵食品の機能性・成分組成におよぼす影響を明らかにすることを目的に、代謝物プロファイルおよび生物活性の評価を行った。この結果、本塩によって味噌の代謝物プロファイルが大きく異なるものの、特定の機能性成分の含量に大きな変化は認められなかった。また、新たな機能性を見出すために遺伝子スイッチとしても知られるヒストン修飾プロファイルに与える影響を評価した。

バイオマーカーによるマグネシウム摂取不足の評価システム構築

岡田 晋治

東京大学大学院農学生命科学研究科

近年、食生活の変化、偏った食事や加工食品の利用、化学肥料の使用による土壌の変質などによって、微量栄養素であるミネラルの摂取不足が引き起こされている。日本では、カルシウム、マグネシウム、鉄(女性)、亜鉛などの平均摂取量は、日本人の食事摂取基準に定められた推定平均必要量や推奨量に達していない。世界各国でも同様に様々なミネラルの摂取不足である。ミネラル摂取不足は、例えば、カルシウム摂取不足が骨粗鬆症のリスクを高めるなど、健康や QOL 維持の障害となる。一方、各個人がミネラル摂取不足を認知する機会は乏しい。例えば、健康診断における血液検査で調べるのは Na, K, Cl 程度である。また、生体の恒常性維持機構によって、血液中のミネラルバランスは重度の欠乏・過剰でない限り変動しない。食による健康維持・QOL 向上のために、ミネラル摂取不足を簡便かつ精度高く検出する検査方法の社会実装が必要である。

生体の状態を反映したバイオマーカーとして、近年、血液循環マイクロ RNA (miRNA) が注目されている。ミネラル摂取不足に関して血液循環 miRNA の研究事例はわずかに存在するが、未だ十分とは言えない。本申請研究では、ヒトにおける血液循環 miRNA を指標としたミネラル摂取不足の評価システム構築を最終目的とし、まず、動物モデルにおいて軽度マグネシウム摂取不足に応答して変動する血液循環 miRNA の同定を実施した。

本研究では、マウスに 70% Mg 充足食 (7MD) を摂餌し、14 日間の飼育を行うことで軽度 Mg 摂取不足モデルを作出した。対照群として、通常食 (Ctl, 100% Mg 充足) を摂餌したマウスを設定し、軽度 Mg 摂取不足が血中 miRNA 量に与える影響をしらべた。血中 miRNA を miRNA-seq に供し、解析を行った結果、全 miRNA 種の約 25% が検出された。2 回の繰り返し実験を行ったところ、それぞれ Ctl 群と 7MD 群の群間比較で変動する miRNA 種として 9 種、7 種が同定された。2 回の繰り返し実験の再現性のある変化として、*mmu-miR-144-5p* の存在量の増加が検出された。血中 *mmu-miR-144-5p* の存在量の増加は軽度 Mg 摂取不足のバイオマーカーとなる可能性が提示された。

今後、再現性のさらなる確認、頑強性のチェック、複数の miRNAs の組み合わせによるバイオマーカー探索研究などを実施することで、軽度マグネシウム摂取不足のバイオマーカーとしての miRNAs の有用性が示されると期待される。

(要約)

軽度マグネシウム摂取不足のバイオマーカーを検討するため東京大学の岡田は、70% マグネシウム充足食を摂餌したマウスの血中 miRNA (マイクロRNA) プロファイルについて miRNA-seq 法によって網羅的解析を行った。その結果、*mmu-miR-144-5p* の再現的な存在量変動を確認し、これが軽度マグネシウム摂取不足のバイオマーカー候補であることが示唆された。

発表番号 29 (助成番号 2335)

塩味嗜好性と塩味感受性の塩分摂取量への影響

五十嵐 麻希¹, 目加田 優子², 小久保 友貴³, 煙山 紀子⁴, 宇田川 陽秀², 高柳 尚貴⁵, 長幡 友実⁶

¹ 女子栄養大学栄養科学研究所, ² 文教大学健康栄養学部, ³ 愛知淑徳大学健康医療科学部,
⁴ 東京農業大学応用生物科学部, ⁵ 東海学園大学健康栄養学部, ⁶ 京都府立大学大学院生命環境科学研究科

塩分の慢性的な摂取過剰は、高血圧や動脈硬化の発症に起因し、その結果として脳卒中や心筋梗塞などの循環器疾患の罹患リスクを上げる。和食は比較的塩分の高い調味料や食材を用いることから、日本人における食塩摂取量は先進国でも高く、摂取目標を上回っている。特に、長期間の食生活が疾患発症へと繋がるため、若者への効果的な減塩指導が健康維持・増進に重要である。われわれは、効果的な減塩指導のために、2021年度に食塩摂取を規定する要因として塩味嗜好性および塩味感受性との関連性を調べ、塩味嗜好性および塩味感受性が食塩摂取と関連しない可能性を見出している。本研究では、異なる2つの食事調査と方法を用いて、研究成果の再現性を確認することを目的とした。

2020年度と2023年度に実施した大学生を対象にした2つの食事調査を解析に用いた。2020年度はスマートフォンアプリケーションを用いた画像法により、2023年度は簡易型自記式食事歴質問票(BDHQ)により食事調査を実施した。

(要約)

女子栄養大学の五十嵐らは、前1回の助成で食塩摂取量が、塩味嗜好性や塩味感受性とは関連しない可能性を示し、引き続き、異なる対象者での食事調査および調査方法にて、その再現性の検証を行った。その結果、異なる対象者や食事調査方法を用いても、塩味嗜好性と塩味感受性は食塩摂取量と関連しないことから、塩味感受性および塩味嗜好性の情報を若年層の減塩指導に活用することには、一考を要することを示唆した。

両調査においても、食塩摂取量は密度法によるエネルギー調整を行い、中央値(2020年度 4.7 g/1000 kcal, 2023年度 5.5 g/1000 kcal)を境として2群に分けた。塩味感受性は食塩含浸濾紙を用いて測定し、感受性の高い群(スコア1)、中程度の群(スコア2と3)の2群に分けた。塩味嗜好性は、Webアンケート調査により、塩加減が濃い味について「大嫌い、嫌い」を1、「普通」を2、「好き、大好き」を3に変換した。食塩摂取量、塩味感受性、塩味嗜好性は、それぞれ Wilcoxon signed-rank 検定にて関連の有無を検定した。統計的有意水準は、 $P < 0.05$ とした。さらにパス解析にて、食塩摂取量、塩味感受性、塩味嗜好性の関連を推定した。その結果、食塩摂取量、塩味感受性、塩味嗜好性のすべての組み合わせにおいて、統計学的有意差のある関連は認められなかった。さらに、食塩摂取量に塩味感受性と塩味嗜好性が関連すると仮定したパス解析においても、有意な関連は認められなかった。

本研究にて、塩味感受性および塩味嗜好性は、食塩摂取と関連しないことが再現された。したがって、塩味嗜好性や塩味感受性の結果を若年層の減塩指導に活用することには一考を要することが示唆される。

マンノース添加塩水栽培による成熟早期にビタミン C を最大蓄積するトマト栽培技術

岩井 宏暁

筑波大学生命環境系

果実に含まれる成分は、主要な園芸作物において、食味や消費者の嗜好性を左右する重要な差異形質の一つである。塩ストレスは浸透圧ストレスやイオン毒性を引き起こし、植物の生育や代謝に支障をきたす場合が多いとされるが、塩ストレス条件下の塩水栽培におけるトマトでは、グルコースやフルクトースなどの糖類、プロリン、 γ アミノ酪酸などのアミノ酸、そしてビタミン C であるアスコルビン酸が蓄積し、商品価値の高い果実が生産されることが知られている。また、ビタミン C を含む高機能成分がどのようにして蓄積するのかについては、ほとんど研究報告がない。トマト果実のサイズ決定および成熟過程では、多糖類や糖類の合成や分解、果実の硬度およびサイズ変化が変化することがわかっている。

本研究では、塩水栽培においてビタミン C が硬度に蓄積され、それに伴い果皮や種子のマンナン量が減少することが示された。ビタミン C はマンナン合成経路と共通部分を持っており、互いに基質であるマンノースを取り合うトレードオフが行われていると考えられる。つまり、塩水栽培では、ビタミン C とマンナンの材料であるマンノース不足に陥っていると考えられる。そこで、マンノース添加を塩水栽培と併せて行う栽培系を構築し、実験したところ、果皮で、緑色の未熟なステージにおいて、完熟に近い赤色の果実とほぼ同量のビタミン C 含量となったことで、早期成熟ステージでビタミン C の合成が進行し最大値レベルまで蓄積することが示された。

(要約)

筑波大学の岩井は、マンノース添加を塩水栽培と併せて行う栽培を行ったところ、果肉となる果皮で、緑色の未熟なステージにおいて、完熟に近い赤色の果実とほぼ同量のビタミン C 含量となった。トマトは熟さない状態で出荷されることから、未熟果実で熟した果実と同レベルの高蓄積ビタミン C トマトが得られることはメリットがある。塩水とマンノース添加を組み合わせた本栽培系は、非常に有用な新しい農業技術となる可能性が高い。

合成メカニズムの確認のため、ビタミン C 合成酵素遺伝子である GME の発現解析を行ったところ、塩ストレス条件下では早期成熟段階で発現が増加していたことが分かった。また、マンノースも増加しており、マンナンの合成と分解に関わるエンド β マンナーゼ (LeMan4) やマンナン合成酵素遺伝子 (CSLA) の発現も成熟の中期ステージにおいて大きく増加していた。トマトは未熟な状態で出荷されることから、未熟果実でも熟した果実と同じレベルのビタミン C 含量のトマトが得られる塩水とマンナンを組み合わせた栽培系は、農業技術に転用できる有効な手段であると考えられる。

発表番号 31 (助成番号 2349)

塩ストレスによるトマトの高糖度化における「濃縮効果」にかかわる分子機構の解明

溝井 順哉

東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命化学専攻

高糖度トマトの生産法の一つとして、塩による浸透圧ストレスを与える方法がある。塩ストレス下では、果実が小型化するため、光合成産物が濃縮されて、糖度が上がるとされる(「濃縮効果」説)。この果実の小型化は、浸透圧による膨圧の低下が原因だと言われてきたが、近年、乾燥などの水分ストレスを受けた植物では膨圧の低下が起きる前に、遺伝子レベルでの積極的な生育抑制が起きることが明らかになってきた。そこで本研究では、塩ストレス下によるトマト果実の小型化過程でも、遺伝子レベルでの積極的な生育抑制が起きている可能性を検証し、塩ストレスによる「濃縮効果」の分子機構に迫ることを目的とした。

水耕栽培の系を用い、通常養液と食塩を加えた養液でトマトを栽培し、果実の成長や重量、糖度を分析した。また、組織切片を作り、細胞サイズを比較した。さらに、果実サイズが増大する時期を挟んで、定量的 RT-PCR およびトランスクリプトーム解析を行い、遺伝子発現の変化を解析した。

その結果、塩ストレスの有無による果実サイズの違いは、発達初期の受粉後 10 日目近辺を境に顕著になった。組織切片の観察から、塩ストレス下での果実サイズの減少は、細胞サイズの減少を伴っていることが確かめられた。受粉後 5 日と 15 日の遺伝子発現について、定量的 RT-PCR およびトランスクリプトーム解析を行った結果、塩ストレス下では、細胞伸長に関する遺伝子の発現が低下することが認められた。また、オーキシシンやジベレリンなどのいくつかの植物ホルモンについて、合成や応答に関わる遺伝子の発現が塩ストレスによって変化していた。一方、以前から指摘されていたようにデンプン合成の遺伝子発現が上昇したが、同時に光合成関連の遺伝子の発現も全体的に上昇していることが明らかになった。

塩ストレスによって、細胞伸長を促進する遺伝子の発現が低下していたことから、果実の小型化が遺伝子レベルで制御されていることが示唆された。また、複数の植物ホルモンの合成や応答に関する遺伝子の発現変化は、塩ストレスが果実の生理に広範な影響を及ぼしていることを示唆している。一方、塩ストレスによる果実発達初期の光合成系遺伝子の発現上昇は、果実内での光合成の活性化が糖蓄積に寄与する可能性を示唆しており、塩ストレスによる果実の高糖度化における、濃縮効果以外のメカニズムの候補として考えられる。

(要約)

東京大学の溝井は、トマトの水耕栽培において、養液に食塩を加えてストレスを与えると、果実の糖度が上がるという現象に着目し、植物のストレス応答という立場から、この現象について遺伝子レベルでの説明ができないか検討を行った。その結果、塩ストレスは、植物ホルモンや細胞サイズの制御に関わる遺伝子の発現に広範に影響するだけでなく、果実での光合成を促進することによって糖度を上昇させる可能性が示唆された。

にがりを応用した新発酵漬物の基盤的解析

黒飛 知香¹, 多山 賢二²

¹ 広島修道大学健康科学部, ² 県立広島大学地域創生学部

食品は近年の健康志向に伴い、減塩化が進んでいる。しかし、長寿の視点からは 1975 年型のような塩分のある漬物や出汁の量が多い食事が好ましいとの報告も存在する。本研究では、保存性が高い減塩発酵漬物の簡便な調製方法について検討した。まず、細菌の増殖抑制については、32 mM MgCl₂ (にがり)を培地に添加した結果、pH 3 下にて増殖可能な細菌 *Komagataeibacter xylinus* の増殖誘導期を顕著に遅らせ、この阻害効果は同モル濃度で NaCl や KCl を上回っていた。次に、3 mM グルタミン酸ナトリウム (GluNa) が呈する旨味は、7.4 mM MgCl₂ の添加によって増強された。また、この両物質が共存した場合は、51 mM (0.30%) NaCl の味強度を高めた。さらに、これら三者共存の場合は、0.05%の乳酸や酢酸の添加によって、全体の呈味強度が高まった。そこで、これらの各成分・各味の濃度順位が本漬液において維持できるよう検討し、「にがり添加発酵漬物」の試作に着手した。

葉物野菜には、小松菜および白菜を用いた。本漬液は、様々な乳酸菌源の他に GluNa 源や乳酸菌の増殖促進栄養源を検討し、少量の食酢(防腐)を添加した。試作方法は、5% NaCl(菜の 2 倍重量)に菜を 3 日間浸漬した(下漬け)。次に、本漬液は菜の 1 倍重量の本漬液(MgCl₂ や乳酸菌源など含有)中に菜を入れ、4 日間・30°Cで発酵させた(重石なし)。

本漬後の種々の分析結果より、(1)雑菌対策は菜の前処理(65°C・20 分)が好ましい、(2)乳酸菌源は市販乳酸菌飲料(Y 社)が最適、(3)GluNa 源と乳酸菌栄養源にはコンソメ使用が簡便、(4)乳酸菌が 2 x 10⁷ ~ 3 x 10⁸ CFU/mL まで増殖、(5)菜中のナトリウムイオン濃度 1.0~1.3 x 10⁴ ppm であり、低塩化を実現、(6)本漬け終了時の液は、pH 3.4~4.4、食塩換算濃度 3~4%、L-乳酸と酢酸の合計 0.3~0.4% (Glu は 0.1~0.3% 含まれ、MgCl₂・6H₂O は 0.75%となるよう添加)であることが確認された。以上より、試作漬物はいずれも食中毒細菌の増殖が困難であると判断できた。さらに、官能評価より、試作漬物が充分喫食可能な風味であることを明らかにした。その他、本漬液に寒天を添加した場合には、酸味の増強が確認された。しかし、この液は微細寒天粒子懸濁液であり、現状の物性測定では解析が困難であった。

以上より、本研究では白菜をはじめとした葉物野菜を用いた減塩タイプの長期保存が可能な発酵漬物を 1 週間で簡便に試作できる方法を確立し、基盤技術として示した。

(要約)

近年、伝統食品である漬物は、賞味期限が短い浅漬けが主流となっている。広島修道大学の黒飛らは、保存性の高い乳酸発酵漬物を対象とし、さらに簡便な漬物の試作方法について検討した。予備検討より、にがりには酸耐性細菌の増殖抑制および旨味や塩味の増強作用があることを確認した。そこで、本漬液には乳酸発酵に適した乳酸菌とその栄養源に加えて、にがりを添加した。その結果、本方法によって1週間で乳酸漬物を試作することができた。試作漬物は、pHおよび有機酸濃度から食中毒細菌の増殖は不可能であり、菜中の塩分濃度も低減することができた。

発表番号 33 (助成番号 2342)

酵母の Hkr1p による新奇な高塩濃度環境応答の仕組みと高耐塩性酵母の分子育種

笠原 紳

宮城大学食産業学群

本研究の対象である *HKRI* は、キラー酵母 *Lindnera mrakii* (旧名 *Hansenula mrakii*) が産生する HM-1 キラー トキシンへの耐性を付与する遺伝子として、*Saccharomyces cerevisiae* のゲノムから単離されたものである。*HKRI* はムチン様のマルチドメインから成る膜タンパク質 Hkr1p をコードする、5.4 kb の ORF をもつイントロンのない遺伝子である。Hkr1p は、細胞内領域にカルシウム結合モチーフである EF ハンドや、DNA 結合性のロインジッパーのコンセンサス配列を有しており、また HOG MAP キナーゼ経路における浸透圧センサーとしても知られている。

本研究では、*HKRI* のエキソン内に第2のプロモーターが隠れて存在しており、5'末端上流領域にある本来のプロモーターとは別に、5'末端から 3330 番目のヌクレオチド (nt. #3330) 付近からも転写が開始されることを見出した。さらにこのエキソン内在プロモーターの転写活性は、*HKRI* の同一エキソン内の上流配列によって抑制されていることも確認した。また本研究では、蛍光タンパク質や β -ガラクトシダーゼのレポーターアッセイ系を用いて、塩化ナトリウム添加による浸透圧変化などの外部刺激によりエキソン内在プロモーターの抑制された転写活性が回復することを確認した。さらに、エキソン内在プロモーターの領域長を様々に変えてレポーター遺伝子を連結し、*S. cerevisiae* の細胞に導入して、得られた形質転換体の蛍光強度や β -ガラクトシダーゼの活性を測定することでエキソン内在プロモーターの活性変化を評価した。

(要約)

酵母の遺伝子 *HKRI* は、酵母細胞が高浸透圧環境に適応する際に機能する。宮城大学の笠原らは、同遺伝子が極めて新規な発現調節機構をもつことを見出し、検証してきた。本来は遺伝子冒頭部にしかないはずのプロモーター (遺伝子のスイッチ) が、隠れた形で遺伝子内部にも存在しているというものである。そして、この隠れたプロモーターは通常はオフの状態であり、細胞が高塩濃度環境下に置かれた際にオンとなって機能することを発見した。

HKRI エキソン内在プロモーターの最大転写活性は、内在の翻訳開始点と考えられ #3409ATG ~ (Met1137 に対応) の上流 410 bp の配列を含む領域により示されることがレポーターアッセイによる実験から確認された。一方で、レポーター遺伝子を nt. #2600 ~ #3409ATG の領域の直下に連結した場合には、明らかに低いプロモーター活性を示すにとどまった。

これらの結果より、nt. #3000 ~ #3330 の領域が *HKRI* のエキソン内在プロモーターのコアとなる領域であり、さらにその上流配列はサイレンサーとして機能していることが示唆された。さらに興味深いことに、形質転換体を塩化ナトリウム添加による高浸透圧条件下で培養すると、抑制されたエキソン内在プロモーターの活性が回復することも認められた。こうした研究結果は、1 つの遺伝子が有する複数のプロモーターによる遺伝子制御機構の可能性を示唆するものであり、そのうちの 1 つは驚くべきことにエクソン内部に存在し、特定の条件の下で活性化されて当該タンパク質の C 末端側の部分配列を発現するのである。この現象は、限られた数の遺伝子がより複雑な生命現象を生み出す可能性を示すものとして注目すべき事例となりうる。

構造解析に基づいたコラゲナーゼとキシラナーゼへの耐塩性の付与

保川 清, 滝田 禎亮

京都大学大学院農学研究科

【研究目的】 我々はコラゲナーゼとキシラナーゼの産業応用の拡大には、酵素の活性と安定性だけでなく、高い耐塩性が求められると考えた。本研究の目的は、*Grimontia hollisae* 由来コラゲナーゼ (Ghcol) と *Bacillus* 由来 GH10 キシラナーゼである XynR の立体構造を決定し、その知見に基づき、Ghcol と XynR に好塩性を付与することである。

【方法】 Ghcol を *Brevibacillus* で発現させ、培養上清から精製した。XynR は大腸菌で発現させ、菌体から精製した。結晶化はともにシッティングドロップ法により行った。SPring-8 (兵庫県播磨市) のビームライン BL26B1 でシンクロトロン放射光を用いて回折データを取得した。分子置換を行った後、COOT でモデルを構築した後、PHENIX の phenix refine で立体構造を精密化した。Ghcol の活性測定には基質として FITC-コラーゲン、ゼラチン、合成ペプチド 2 種 (MOCAC-KPLGL(Dpa)-AR, FALGPA) を用いた。XynR の活性測定にはブナ材キシランを用いた。

【結果】 Ghcol と Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Hyp (GPOGPO) の複合体の構造を決定した。水分子が活性部位の亜鉛イオンの近傍に存在した。この水分子は、Ghcol と GPO の複合体には存在しなかったことから、Ghcol と GPO の複合体の構造はミカエリス複合体を反映していると考えられた。活性部位の構造と部位特異的変異導入の結果から、Glu493 と Tyr564 が活性に重要な残基であることが示された。我々はさらに、Ghcol のプレビバチルスと大腸菌のシャトル発現ベクターを構築した。

XynR の 315 位の 19 種の変異体の活性の pH プロファイルはいずれも野生型 (WT) と同じくベル型曲線であった。T315H, T315N, T315Q, T315S は pH 9.0 と 10.0 で WT よりも活性が高かった。T315Q の結晶構造では、WT で 315 位近傍に見られた Ca^{2+} が存在しなかった。T315H, T315N, T315Q, T315S の耐アルカリ性と耐熱性は WT よりも低かった。

【考察】 Glu493 は酸および塩基触媒としてはたらき、Tyr564 は遷移状態の正四面体構造を安定化させていると考えられた。T315Q の好アルカリ性は、 Ca^{2+} を欠くことによる柔軟性が増加することによる活性の向上と安定性の低下と考えられた。現在、Ghcol と XynR の全アミノ酸スクリーニングライブラリーから、好塩性、高活性、耐熱性に優れた変異体の取得を進めている。

(要約)

京都大学の保川清らは、前回の助成で、*Grimontia hollisae* 由来コラゲナーゼ (Ghcol) と *Bacillus* 由来 GH10 キシラナーゼである XynR の耐塩性を立体構造に基づいて向上させることを目的に、X線結晶構造解析を行った。引き続き、検討した結果、Ghcol では Glu493 は酸および塩基触媒としてはたらき、Tyr564 は遷移状態の正四面体構造を安定化させていると考えられた。XynR の T315Q の好アルカリ性は、 Ca^{2+} を欠くことによる柔軟性が増加することによる活性の向上と安定性の低下によるものと考えられた。

発表番号 35 (助成番号 2348)

食塩水のうがいによって誘導される唾液抗菌性タンパク質の同定

丸山 洋介

名寄市立大学保健福祉学部栄養学科

【研究の目的】本研究の目的は、食塩水を用いたうがいによって誘導される唾液の抗菌性タンパクを明らかにする事である。うがいは上気道感染症を予防する方法として効果がある。簡易的なうがいは飲料水を用いて行われるが、抗菌剤や抗菌作用のある物質を水に加えて行われる事もある。食塩を水に加えてうがいをを行うと、インフルエンザや上気道感染症に対して水うがいよりも効果がある事が示唆されている。食塩水のうがいの効果は抗菌作用や洗浄機能など報告されているが、唾液のタンパクについてはほとんど報告がない。最近では、食塩の感受性に関する研究で低濃度の食塩水を口に含んだ直後から、IgA や cystatin などの抗菌性タンパクが増加する事が報告されている事から、食塩水のうがいでも唾液の抗菌性タンパクが誘導されると仮説を立て、仮説を検証する研究を行った。

【方法】名寄市立大学の18歳から22歳の男女20名に対し、食塩水と水道水を用いたうがいを実施した。食塩水は2%の濃度で、コントロールは水道水を使用した。短期効果の検証として、うがい後3時間以内に数回唾液をサンプリングした。中期効果の検証として、1週間にわたり毎朝と毎晩うがいを行い、1日目、3日目、5日目、7日目の昼食前に唾液をサンプリングした。唾液サンプルを用いてプロテオーム解析を行い、食塩水うがいによる唾液タンパク質の変化を同定した。

(要約)

食塩水のうがいによって誘導される唾液抗菌性タンパク質の同定する事を目的に名寄市立大学の丸山らは、食塩水を用いたうがい前後の唾液を用いてプロテオーム解析を行った。その結果、うがい直後の1時間から唾液中では免疫応答関連タンパク質や消炎作用に関与するタンパク質が調節された。これらの結果は、食塩水でうがいを行う事で唾液の抗菌作用が活性化する事が示唆された。

【結果】食塩水うがい直後1時間で唾液分泌量が有意に増加し、タンパク量は2~3時間後に増加した。水道水うがいではこれらの変化は見られなかった。プロテオーム解析の結果、うがい後1時間のサンプルから全てのサンプルにおいて免疫応答や免疫グロブリンの構成に関与する因子が多数調節されていた。中期的なうがいによっても同様の調節が確認された。さらに、うがい後3時間から7日目までのサンプルで鎮痛作用に関与する因子が増加していた。

【考察】本研究の結果から、食塩水うがいが非特異的な免疫応答を誘導することが示唆された。さらに、食塩水うがいの鎮痛作用に関与する候補因子も同定することができた。今後、分泌唾液を用いた抗菌活性の測定や食塩濃度の検討を行い、食塩水うがいの効果を詳細に検証したい。

高濃度の塩の受容に関わる味細胞の分化機構の解析

應本 真

高崎健康福祉大学健康福祉学部健康栄養学科

食物摂取の際に生じる味覚は、食品中に含まれる呈味物質が口腔内に存在する味蕾と呼ばれる組織中の味細胞により受容されることにより生じる感覚である。ヒトが容易に認識、識別できる味として、甘味、うま味、苦味、酸味、塩味の5基本味がある。甘味、うま味、苦味、酸味はそれぞれ異なる味細胞で受容される。塩味に関しては、2つ(低濃度のナトリウムの味、および、高濃度の塩の味)の受容経路があり、前者は、甘味、うま味、苦味、酸味を受容する味細胞とは異なる味細胞により、後者は苦味細胞および酸味細胞により受容されることが明らかになっている。こうした味細胞種の多様性を生み出す分子機構については、Skn-1a (Pou2f3)という転写因子が、甘味、うま味、苦味細胞および低濃度のナトリウムの味受容細胞に発現し、それらの細胞の発生に必須の因子であることが示されている。本研究では、苦味細胞(つまり、苦味や高濃度の塩を受容する味細胞)および未分化の味蕾細胞に発現する転写因子であるEya1に着目し、苦味や高濃度の塩を受容する味細胞の発生・分化におけるEya1の関与を解析することを目的とした。

味蕾におけるEya1の機能を解析するために、味蕾の幹細胞において薬剤誘導型CreリコンビナーゼであるCreERT2を発現するノックインマウス系統(Krt5-CreERT2)およびEya1-flox系統のマウスを用いて、味蕾特異的にEya1を欠損したマウス(Eya1 cKOマウス)を作製した。

Eya1 cKOマウスの有郭乳頭の味蕾における味覚関連遺伝子の発現を調べた結果、苦味受容体のシグナル頻度は、コントロールマウスに比べ大きく減少していた。一方、甘味・うま味受容体のシグナル頻度は、コントロールマウスに比べ、Eya1 cKOマウスでは増加していた。味蕾における味覚関連遺伝子の発現細胞数を計数し、コントロールマウスとEya1 cKOマウスを比較した結果、甘味、うま味、苦味細胞に共通して発現するTrpm5のシグナル陽性細胞数はコントロールマウスおよびEya1 cKOマウスにおいて有意な差は観察されなかったものの、苦味受容体Tas2rsのシグナル陽性細胞数はEya1 cKOマウスにおいて有意に減少し、また、甘味・うま味受容体Tas1r3のシグナル陽性細胞数はEya1 cKOマウスにおいて有意に増大していた。これらのことから、Eya1 cKOマウスの味蕾において苦味および高濃度の塩味の受容に関与する味細胞が減少し、甘味・うま味受容細胞が増加することが示され、Eya1が苦味および高濃度の塩味の受容細胞の発生・分化に必要な因子であることが明らかとなった。

(要約)

高濃度の塩味の受容細胞の分化機構の解明を目的に、高崎健康福祉大学の應本は、前回の助成で味蕾特異的に転写因子Eya1を欠損したマウスを作製した。引き続きEya1欠損マウスの味蕾における遺伝子発現解析を行った結果、苦味や高濃度の塩を受容する味細胞の数が減少し、代わりに甘味・うま味受容細胞数が増大していることから、Eya1が苦味や高濃度の塩を受容する味細胞の分化に関与することが示唆された。

発表番号 37 (助成番号 2344)

塩による甘味増強作用の検証

近藤 高史

近畿大学農学部食品栄養学科

お汁粉やスイカに少量の食塩を添加すると甘味が増加する。この現象は、これまで甘味と塩味の「対比効果」である(おそらく脳内で生じる味覚の統合作用による)と教科書などに記載されてきた。しかし、ごく最近、マウスを用いた実験により、舌の甘味細胞に発現する Na^+ -グルコース共輸送体(SGLT)が関与することが報告された。SGLTは Na^+ 存在下でグルコースを共輸送するグルコース輸送体であり、1型から6型まで存在する。小腸では1型(SGLT1)がグルコース吸収を担っている。

そこで、本研究ではヒトにおいてもマウスと同様に SGLT (とくに SGLT1)の関与で説明できるか検証した。

15名の健康な女子大学生(21~22歳)を官能評価に使用した。試験したすべての天然糖(グルコース、ガラクトース、スクロース、フルクトース)および人工甘味料(スクラロース)の甘味強度は、0.1%(17 mM) NaCl 添加により有意に増加した。しかし、この増加はグルコースで最も大きく観察された。NaCl の効果は0.1%で最大に達し、濃度依存性が認められた。この増加は、フロリジン(SGLT1-6の非選択的阻害剤)およびミザグリフロジン(SGLT1 選択的阻害剤)によって同程度まで減少した。NaCl 以外の Na 塩/Cl 塩の甘味増加作用が弱かったことから、甘味増加には Na^+ と Cl^- の両方が必要であることが示唆された。なお、口中にスクロースを3分間保持してもグルコースは生成されなかった。これらの結果は、ヒトにおける甘味増加が、SGLT/SGLT1だけでなく、他の未知なメカニズムも関与することを示唆する。

(要約)

NaClの甘味増加作用に Na^+ -グルコース共輸送体(SGLT)が関与する可能性を検証するため、近畿大学の近藤は健康な女子大学生を対象に官能評価試験を行った。その結果、グルコースだけでなくSGLTで輸送されない甘味物質でも甘味増加が生じ、この増加はSGLT阻害剤により一部抑制された。したがって、ヒトではSGLTに加えて他の未知メカニズムも関与することが示唆された。

苦味受容体の高濃度塩味受容機構解析

中北 智哉

明治大学農学部

研究では苦味受容体が高濃度塩に対して応答する機構を理解することを目的としている。苦味受容体 T2R は G タンパク質共役型受容体(GPCR)であり、ヒトでは 25 種存在する。これらは 7 回膜貫通型構造という GPCR の特徴は有しているものの、一般的な GPCR(class A GPCR)とは配列的特徴が異なることから、class T に分類されている。class A GPCR においては generic GPCR numbering に基づく 2.50 とよばれるポジションの残基は負電荷の Asp であり、対となる形で Na⁺イオンを構造内に保持していることが知られている。ところが、T2R の 2.50 ポジションの残基は正電荷の Arg であり、class A GPCR とは逆になっている。このことから、T2R は Cl⁻イオンと相互作用することが可能であると推測された。一方、マウス舌における電気生理学的実験から、高濃度塩(150 mM 以上)に対する忌避味は酸味細胞と苦味細胞に由来する複合味であり、苦味受容体のシグナル伝達因子をノックアウトした個体では高濃度塩に対するシグナルも半減(酸味細胞側刺激は残る)するとされている(Oka et al., *Nature*, 2013)。

以上の知見を踏まえ、申請者は高濃度塩の忌避シグナルの一方は Cl⁻イオンを苦味受容体が受容することでもたらされていると仮定して研究を行った。

培養細胞による測定を試みたものの、浸透圧の関係で高濃度塩の応答を取得することが困難であった。様々な条件検討の結果、N-methyl-D-glucamine とグルコン酸をベースに、唾液と同程度のミネラルを含有するバッファーを作製することで苦味受容体特異的な細胞応答を取得することに成功した。

このバッファーを用いて 25 種類の苦味受容体の 100 mM NaCl に対する応答を測定したところ、よく応答するもの、応答が認められないものなど様々であった。

本研究では測定系の構築に時間がかかってしまったため、高濃度塩に対する様々な応答が得られたものの、これらの違いについては解明するに至らなかった。既に明らかにされている T2R46 の構造や、ごく最近報告された T2R14 の構造をもとに、引き続きこれらの応答の違いがどのようにもたらされるのか、MD シミュレーションなどを用いて検証していく予定である。

(要約)

明治大学の中北は、高濃度塩味が酸味細胞と苦味細胞からもたらされる複合味であるとの知見のもと(Oka et al., 2013, *Nature*)、苦味受容体T2Rが高濃度塩の受容に関わっているのかを明らかにするために培養細胞を用いたアッセイ系の構築を行った。バッファー中NaCl濃度を低下させるためにN-methyl-D-glucamineとグルコン酸を用いたバッファー条件の下、苦味受容体特異的な高濃度塩に対する応答を取得することに成功した。

発表番号 39 (助成番号 2336)

塩味嗜好学習に関わる神経回路の同定

乾 賢¹, 高橋 茂²¹ 北海道大学大学院歯学研究院口腔生理学教室, ² 北海道大学大学院歯学研究院口腔機能解剖学教室

塩味が食べ物の美味しさを高めることは経験的に知られているが、そのメカニズムは十分には明らかにされていない。ラットにナトリウム欠乏を繰り返し経験させると、通常は嫌う高張食塩水を好んで摂取するようになることが分かっている。これはナトリウム欠乏による不快感が高張食塩水によって解消されることで、強い塩味に対する嗜好学習が成立するためと考えられている。塩味刺激に反応するニューロンが扁桃体基底外側核(basolateral amygdala, BLA)に存在することから、塩味嗜好学習に関与する BLA への入力経路を同定することを目的とした。

神経活動のマーカーである Fos 蛋白質とともに eGFP を発現する遺伝子改変ラット(Fos-eGFP ラット)の BLA に逆行性神経トレーサーFluoro-Gold (FG)を注入した。行動実験において実験群には利尿降圧剤であるフロセミド(FRO)を投与し、24時間後に高張食塩水(3% NaCl 溶液)を30分間呈示した。対照群には FRO の代わりに生理食塩水(SAL)を投与した。この試行を2回行い(テスト1, 2回目), 2回目の3% NaCl 溶液呈示終了から90分後に灌流固定した。採取した脳について FG 標識細胞と GFP 発現細胞を探索した。

FRO を投与された実験群は対照群より多くの 3% NaCl 溶液を摂取した。また、テスト 2 回目の摂取量は顕著ではないものの 1 回目より多かった。組織学的実験によって、BLA への FG 注入によって標識されるニューロンが視床室傍核(paraventricular thalamus, PVT)に多く存在することが分かった。そこで PVT での GFP 発現細胞数を調べたところ、実験群の発現数は対照群より有意に多かった。

ナトリウム欠乏を繰り返し経験した実験群では 3% NaCl 溶液の摂取量が増加する傾向にあった。このことからナトリウム欠乏と高張食塩水摂取の経験は塩味に対する嗜好を上昇させることが示唆された。また、PVT で FG 標識細胞が多く観察され、PVT での GFP 発現細胞数が実験群で有意に多いことが分かった。これらのことから、PVT から BLA へ投射するニューロンが高張食塩水の摂取によって活動することが示された。したがって、PVT→BLA 投射ニューロンが塩味嗜好学習の神経基盤の一部である可能性がある。

(要約)

塩分喪失後に食塩を繰り返し摂取すると塩味をより好むようになることが知られている。その脳の仕組みを明らかにするために北海道大学の乾らはラットを用いた研究を行った。その結果、塩味を好むようになると視床室傍核から扁桃体基底外側核への神経連絡が強く活動するようになることがわかった。このことから、この神経連絡が塩分喪失と食塩摂取の繰り返しによる塩味に対する好みの増強に関わっていることが示唆された。

塩味とうま味の相乗作を生み出す全脳神経回路の解明

小澤 貴明

大阪大学蛋白質研究所

塩は私たちの健康維持に必須の成分であるのみならず、塩のもたらす「塩味」の持つ食の促進効果は人類の食生活において最も基本的かつ重要な要素である。興味深いことに、別の味覚的要素である「うま味」は塩味の持つ食の嗜好性を増強させる効果があり、この効果は「おいしさを損なわない減塩」を実現する上で注目されている。しかしながら、この「塩味」と「うま味」の相乗作用は主にヒトにおける官能評価に基づいており、神経・生理学的裏付けが不足している。我々はこれまで、動物モデルにおける、ヒトと類似した塩味とうま味の相乗効果の存在と、それに対するドーパミン放出の関連性を示した。一方で、味覚物質の受容器官である舌(味細胞)において基本的に分離している味覚情報が脳内でどのように統合されているのか、その具体的なメカニズムは依然として明らかになっていない。

本研究では、神経活動ラベリング技術を用いることで、味覚に係わる複数の脳領域に渡って「塩味応答神経」と「うま味応答神経」を標識し、その分離と重複を解析することで、味覚の相乗作用において積極的な役割を果たす脳領域の特定を試みた。

「①神経活動マーカー遺伝子 *cfos* のプロモーター配列を用いた神経活動依存的な遺伝子発現法」、 「②Tet-OFFシステムを用いた遺伝子発現操作法」を組み合わせることで、全脳における「塩味応答神経細胞」と「うま味応答神経細胞」を、異なる色の蛍光タンパクで標識した。そして、味覚関連脳領域として知られる孤束核、腕傍核、一次味覚野尾側部、一次味覚野吻側部、二次味覚野(眼窩前頭皮質)における各味覚応答神経の数を定量した。

その結果、どの味覚領域においても塩味とうま味の両方に応答する神経の割合はおおよそ 10-20%に収まった。この結果から、塩味とうま味の情報統合は、特定の脳領域によって担われているというより、複数の味覚領域にまたがる分散した神経メカニズムによって担われている可能性が考えられる。

(要約)

ヒトにおいてうま味は塩味の持つ食のおいしさを増強させる効果があることが報告されている。大阪大学の小澤は、前2回の助成で、このうま味の効果がモデル動物のマウスでも観察されることを明らかにし、脳内メカニズムとして、前頭前皮質およびドーパミン神経系の関与を明らかにした。本年度は、同一マウス個体において神経活動依存的に異なる色の蛍光タンパクを発現させることで、塩味およびうま味応答神経を別々に標識し、その分離と重複について検討した。その結果、複数の味覚関連脳領域における単一味覚応答神経と複数味覚応答神経の割合に大きな違いはなかった。この結果から、塩味とうま味の情報統合は、特定の脳領域によって担われているというより、複数の味覚領域にまたがる分散した神経メカニズムによって担われている可能性が考えられる。

第3会場（706） 41 ～ 62 一般公募研究発表（医学分野）
プロジェクト研究発表（医学分野）



第3会場

塩の美味しさを高める神経基盤の解明

田中 大介¹, 野中 茂紀²¹ 東京医科歯科大学認知神経生物学分野, ² 基礎生物学研究所イメージングサイエンス

塩は、体内のナトリウムイオンが欠乏している時ほどより美味しく感じられる。しかしこれまでのところ、体内のナトリウム欠乏が、塩をより美味しく感じさせる神経メカニズムの全容は明らかになっていない。マウスやラットなどの齧歯類が食塩水を美味しいと感じているかどうかは、口腔顔面および前脚の動きを検出する味覚反応テストにおける「快反応」で定量的に見積もることができる。また、絶塩時に活動する神経細胞（絶塩細胞）は、塩を美味しく感じさせる神経回路を理解する上で、その始点となる重要な細胞であると考えられる。

本研究では、塩の摂取を増加させることが知られている脳弓下器官(SFO)から分界条床核腹側部(vBNST)に投射する神経細胞(SFO → vBNST 細胞)の活動により、塩摂取時の快反応が誘導されるかを明らかにすること、および絶塩細胞の分布を全半球に亘って網羅的に調べ、絶塩細胞が分布する新たな脳領域を同定することを目的とした。

SFO → vBNST 細胞を特異的に活性化するためには化学遺伝学的手法を用いた。絶塩細胞を網羅的に同定するためには TRAP2;Ai14 マウスと脳の透明化技術、および光シート顕微鏡観察法を組み合わせた。結果、SFO → vBNST 細胞の活性化操作をすると、食塩水の摂取量は増加する傾向があった一方で、食塩水に対する快反応は誘導されなかった。また、絶塩細胞の網羅的探索の結果、視床において絶塩細胞が分布する新たな脳領域が見つかった。今後、本研究と同様の実験、もしくは一部条件を改善した実験を繰り返すことで、結果の再現性を確認することがまずは最も重要である。新たな絶塩細胞の存在が示唆された視床の核は、これまで塩の生体反応との関連についての報告がほとんどなく、塩の情報処理に果たしている役割は不明であり、新規性という点で大変興味深い。今後再現性が確かめられた際には、既知の絶塩細胞との関連や差異など、塩の脳内処理を理解する上で新たな視点を提供してくれることが期待される。

オートファジー制御分子による血圧調節と臓器老化防御機構の分子基盤の解明 (腎尿細管ナトリウム(Na)輸送体の構造に着目した血圧調節と分子基盤の解明)

山崎 修

帝京大学医学部内科学講座腎臓グループ

【目的】 高血圧は日本全国に2000万人以上患者が存在する国民病である。高血圧は加齢とともに患者数が加速度的に増加し、食塩感受性も増加する。更には食塩感受性と加齢とは相互に増悪する可能性を秘めている。申請者は腎尿細管 Na 輸送体 NBCe1 に焦点をあて、種々の機能解析法を用いて Na 輸送のメカニズムを詳細に研究してきた。また所属する研究室では遠位尿細管～集合管の Na 輸送を制御するミネラルコルチコイド受容体 (Mineralocorticoid Receptor:MR) の作用する高血圧の制御メカニズムを精力的に研究している。本研究の目的は、腎臓における Na 輸送系の統合制御機構、および加齢に伴う高血圧の病態への関与を解明することである。

【方法】 1) NBCe1 の一塩基ヴァリエント(single nucleotide variant: SNV)機能解析:近位尿細管 Na 輸送体 NBCe1 の構造および過去の患者報告例から Na 輸送機能制御部位を調査した。更に Polyphen-2 予測ツールを用いて、同部位の中から機能変化を起こしうる候補 SNV を検索した。

2) MR の SNV 解析:腎集合管に分布し強力な Na 再吸収作用を惹起する MR の SNV 検索を行った。

3) オートファジー障害マウスにおける膜輸送体発現検索:オートファジー制御因子 ULK1 のノックアウト(Knock Out:KO)マウスを用いて腎 Na 膜輸送体を Western blotting 法で検索した。

【結果】 1)NBCe1 の機能低下型変異体 R881S を新規に同定した。この変異体は、蛋白発現量の低下・細胞膜発現欠損を示すのみならず、グリコシル化障害を併せ持ち、2 量体の形成障害を来す変異体であった。Two-electrode voltage clamp 法を用いた機能解析では、R881S の機能はほぼ欠損していた。以上から、R881S の患者が機能低下に伴う重篤な血圧調節破綻を起こすことが想定された。

2) MR の C 末端に位置する Ligand Binding Domain (LBD) が Aldo の結合部位であることから、同部位の SNV が機能変化を生じると想定された。候補 SNV をおおよそ 50 箇所同定した。

3) ULK1KO マウスでは加齢により ULK1 蛋白量が減少し、ULK1 が加齢制御に関わる重要な因子であることが想定された。

【考察】 上記所見は、腎尿細管 Na 輸送体を介した高血圧惹起メカニズムの一端を解明するものである。一方で、高血圧は老化によっても加速的に増悪することから、今後上記変異体群と老化との関連性についても検討していきたい。

(要約)

帝京大学の山崎らは、高血圧と加齢との相互増悪に腎ナトリウム(Na)輸送体を介した再吸収システムが関与していると考え、主要なNa輸送体の遺伝子変異報告を検索した。その結果、Na重炭酸共輸送体NBCe1のR881S変異体が細胞内局在および機能活性低下を示していることがわかり、血圧調節に遺伝子異常が関与すると推察された。

発表番号 43 (助成番号 2326)

塩分摂取のタイミングと概日血圧リズム

木内 謙一郎¹, 鳥光 拓人²¹ 慶應義塾大学医学部腎臓内分泌代謝内科, ² 慶應義塾大学予防医療センター

塩分吸収に関わる遺伝子の概日リズムが鉱質コルチコイド受容体(MR)と時計遺伝子 *Bmal1* によってどのように制御されているのかを検討するため, 8~12 週齢の雄腸管特異的 *Bmal1* 欠損マウス, 雄腸管特異的 MR 欠損マウス, ならびに雄対照群マウスの大腸組織, 血清を 4 時間毎 24 時間(ZT0, 4, 8, 12, 16, 20, ZT:Zeitgeber Time, ZT0 は明期の始まり, ZT12 は暗期の始まり)にわたり採取した。

大腸に時計遺伝子が発現し, 肝臓などの他臓器と同様の位相で概日リズムがあることが分かった。*Bmal1* 標的遺伝子発現に概日リズムが観察され, 腸管特異的 *Bmal1* 欠損マウスではリズムが消失あるいは減弱していた。更に, MR 標的遺伝子発現が, 腸管特異的 *Bmal1* 欠損マウスではリズムの減弱や発現の低下が認められたことから, MR 標的遺伝子の一部は *Bmal1* によっても調節されている可能性が示唆されている。一方で, 腸管特異的 MR 欠損マウスでは時計遺伝子発現の変化はほとんど見られず, MR 標的遺伝子発現のリズムが消失あるいは減弱していた。

血清中のアルドステロン濃度やコルチコステロン濃度には日内変動が見られたが, MR タンパク質発現の日内変動は観察されなかった。以上のことから, MR 標的遺伝子の日内変動は, アルドステロンの日内変動や大腸上皮細胞局所の末梢時計によって駆動されている可能性が示唆された。現在, 腸管特異的 *Bmal1* 欠損, 腸管特異的 MR 欠損, 対照群マウスの腸管上皮細胞の RNA を用いて RNA-seq を行い, 腸管 *Bmal1* および MR が駆動する腸管遺伝子発現リズムを JTK Cycle 解析(統計学的に振動を解析する手法)を用いて, 網羅的に解析を行っている。*Bmal1* と MR による協調的な転写調節が, 光と塩分摂取のタイミングによってどのように制御されているのかを明らかにするため, 8~12 週齢の雄野生型マウス(C57BL/6)に対して高食塩食と低食塩食を用いて, night time feeding(暗期のみ食餌を与える)と day time feeding(明期のみ食餌を与える)を今後行う予定である。

(要約)

塩分摂取のタイミングと血圧の日内変動を検討するため慶應義塾大学医学部腎臓内分泌代謝内科の木内謙一郎らは, 腸管特異的時計遺伝子欠損マウス, 腸管特異的鉱質コルチコイド受容体(MR)欠損マウス, ならびに対照群マウスの大腸組織, 血清を4時間毎24時間にわたり採取した。その結果, MR標的遺伝子の日内変動は, アルドステロンの日内変動や大腸上皮細胞局所の末梢時計によって駆動されている可能性が示唆された。

高血圧における皮膚組織レニン・アンジオテンシン系と ナトリウム蓄積の病態生理学的意義

小豆島 健護¹, 田口 慎也¹, 森田 隆太郎¹, 山下 暁朗², 涌井 広道¹, 田村 功一¹

¹ 横浜市立大学医学部循環器・腎臓・高血圧内科学, ² 琉球大学大学院医学研究科先進医療創成科学

皮膚局所における血管収縮やナトリウム貯留が高血圧と密接に関連することが報告され、血圧制御における皮膚組織の重要性が注目を集めている。レニン・アンジオテンシン系(RAS)は代表的な血圧調節機構であり皮膚にもその存在が知られるが、皮膚組織 RAS の血圧調節機構における役割は不明である。我々は、アンジオテンシン II (Ang II) I 型受容体(AT1 受容体)関連タンパク(ATRAP)が、AT1 受容体の内在化を介して組織 RAS 活性を抑制することを報告してきた。

本研究は高血圧の進展における皮膚組織 RAS の病態生理学的意義の検討を目的とした。遺伝子組換え実験系 Cre/loxP システムを用いて ATRAP を皮膚ケラチノサイト特異的に欠損するマウス(KO:K14^{Cre};ATRAP^{fllox})を作製し、Ang II 誘導高血圧モデルで表現型を解析した。対照群と比較し、KO 群で Ang II 誘導高血圧が増悪するとともに、心肥大の増悪も認めた。KO 群では、Ang II 負荷時の皮膚におけるアンジオテンシノーゲンと AT1 受容体の発現が対照群と比較し上昇しており、皮膚組織 RAS 活性亢進が示唆された。

Ang II 誘導高血圧増悪の機序解明のため、灰化-炎光光度法を用いた皮膚および全身のナトリウム・水分量を評価したが、両群で同等であった。一方で、KO 群では、Ang II 負荷時の経皮水分蒸散(TEWL)および皮膚血流量の有意な減少を認め、皮膚血管収縮の亢進が示唆された。

以上の結果より、皮膚組織 RAS の活性化は皮膚局所における血管収縮の亢進を介して Ang II 誘導高血圧の増悪に寄与する可能性が示唆された。したがって、皮膚組織 RAS が、高血圧予防・治療法開発の新規標的となる可能性があるものと考えられる。

(要約)

高血圧における皮膚組織レニン・アンジオテンシン系(RAS)の病態生理学的意義を検討するため横浜市立大学の小豆島健護らは、皮膚特異的RAS活性化マウスを作製しアンジオテンシン II 誘導高血圧における表現型の解析を行った。その結果、皮膚特異的RAS活性化マウスでは高血圧が増悪するとともに、皮膚血管の過剰収縮が認められた。一方で、皮膚ナトリウム蓄積に関しては明らかな変化が認められず、皮膚RAS活性化は皮膚血管収縮を介して高血圧の増悪に寄与すると推察された。

発表番号 45 (助成番号 2327)

塩分負荷が脾臓を介して急性腎障害に与える影響の解明

田中 真司¹, 安部 力²¹ 東京大学医学部附属病院腎臓・内分泌内科, ² 岐阜大学医学部生理学

急性腎障害は急激な腎機能低下を特徴とする症候群で、多種多様な臨床場面において生じ得る臓器障害であり、炎症が病態形成・進展に重要な役割を果たしているが、薬剤など根本的な治療法はまだまだ存在せず、新たな治療戦略が求められている。

多臓器連関、特に神経-免疫連関は、近年様々な疾患に対する新規治療戦略として非常に注目を集めている。助成研究者らはこれまで、迷走神経感覚性線維刺激や拘束ストレスが、延髄にある C1 ニューロンを活性化し、交感神経→脾神経→脾臓→腎臓という遠心路を介して、脾細胞のフェノタイプを抗炎症性に変えることにより急性腎障害に対して保護的に働くことを見出してきた。一方、食塩の過剰摂取や高張食塩水投与により血液中の Na⁺濃度が上昇すると、脳内の Na⁺濃度センサーである Nax がこれを感知し、終板脈管器官(OVLT)→視床下部室傍核(PVN)→C1 neurons→交感神経という経路が活性化され、血圧上昇につながる事が近年報告された。

以上から、助成研究者は「食塩の過剰摂取や高張食塩水投与による体内 Na⁺濃度の上昇は、脳内の Nax に感知されることにより、OVLT→PVN→C1 neurons→交感神経→脾神経→脾臓→腎臓という経路を活性化し、脾細胞のフェノタイプを抗炎症性に変えることにより急性腎障害において保護的に働く」という仮説を立てた。

(要約)

東京大学の田中らは、高張食塩水投与による血中 Na⁺濃度上昇が、C1 neurons→交感神経→脾神経→脾臓→腎臓という腎保護経路を活性化させるという仮説を立て、本年度は脾臓→腎臓の missing link を解明することを目的とした。脾細胞トレースのため、photoconversion 技術を利用した。83%の効率を達成し、死細胞の割合も増えなかったが、脾臓の深いところでは効率が低く、さらなる工夫が必要と考えられた。

本研究はこの経路のうち、脾臓→腎臓の missing link を解明することを目的とした。具体的な方法としては、photoconversion の技術を用い、KikGR (Kikume Green-Red) を全身で発現するマウスの脾細胞をトレースすることとした。365 nm の紫外光を用いて photoconversion の最適化を試みた。脾細胞の変換効率は 83% が達成され、照射により死細胞の割合は上昇しなかったが、組織切片を解析したところ、脾臓表面近くでは強く photoconversion が起こしているものの、深いところでは photoconversion が十分に起こせていないことが示唆された。深度による photoconversion の効率の違いは脾細胞のトレースに大きな影響を与えてしまうため、今後はより長波長の光を用いることを検討しており、プロトコルの最適化をさらに進めていく予定である。

食塩感受性高血圧の腎線維化におけるメカノチャネル Piezo2 の役割

長瀬 美樹

杏林大学医学部

高血圧による臓器障害には、圧力・伸展力・ずり応力などの機械的刺激の過剰負荷が重要である。申請者は、メカノセンサー分子 Piezo2 が正常マウス腎臓では糸球体のメサンギウム細胞とレニン産生細胞に限局して発現すること、食塩感受性高血圧による腎硬化症モデル(食塩負荷 Dahl-S ラットや脳卒中易発症自然発症高血圧ラット)では、正常での発現部位に加え、腎内小動脈周囲の α SMA 陰性・Col1 陽性線維芽細胞に強発現することを報告した。本研究では腎線維化、特に食塩過剰摂取による線維化における Piezo2 の役割を検討することを目的とする。

腎線維化モデルとして頻用される片側尿管閉塞 (UUO) マウスと、食塩感受性高血圧に伴う腎硬化症モデルとして左腎摘+アルドステロン皮下投与+高食塩食モデルを作製した。細胞特異的 Piezo2 KO マウスは *Pdgfrb-CreER^{T2}±* マウスと *Piezo2^{FL/FL}* マウスを交配して *Pdgfrb-CreER^{T2}* 陽性 *Piezo2^{FL/FL}* (*Piezo2* KO) マウスと *Pdgfrb-CreER^{T2}* 陰性 *Piezo2^{FL/FL}* (*Piezo2* WT) マウスを産出し、Tamoxifen を腹腔内投与して作製した。*Piezo2* 発現量は qPCR と Immunoblotting にて評価した。*Piezo2* 発現細胞は RNAscope in situ hybridization で細胞マーカーとの二重染色にて同定した。

野生型マウスで作製した UUO モデルでは *Piezo2* 発現量の著明な増加が認められた。増加した *Piezo2* は尿細管細胞にはほとんど検出されず、主に間質細胞に発現していた。二重染色では、*Piezo2* シグナルは *Coll1a1* や *Pdgfrb*, *Meflin* と共局在しており、*Acta2* とはほとんど共局在しなかった。当初 KO マウス樹立のための交配がうまくいかず、別系統のマウスを購入したところ産仔が得られ、Tamoxifen 投与により細胞特異的 *Piezo2* KO マウスを作製し、腎表現型の解析を進めている。

Meflin 陽性線維芽細胞は筋線維芽細胞に分化せず腎保護的に働く細胞集団と考えられており、*Piezo2* 陽性線維芽細胞のもたらす線維化が病的な線維化に対して保護的に働く可能性が示唆された。*Piezo2* KO マウスの解析よりこの作業仮説を検証したいと考えている。

(要約)

杏林大学の長瀬は、腎線維化、特に食塩感受性高血圧に伴う血管周囲や間質の線維化におけるメカノ感受性イオンチャネル Piezo2 の役割を検討するため、細胞特異的 Piezo2 ノックアウトマウスと野生型マウスにおいて腎線維化モデルを作製して、Piezo2 発現細胞を同定するとともに、ノックアウトマウスでの腎表現型の変化を解析した。その結果、Piezo2 は特定の線維芽細胞に発現しており、腎線維化への関与が推察された。

発表番号 47 (助成番号 2320)

腎臓尿細管における LRBA を介したナトリウム再吸収機構の解明

安藤 史頭

東京医科歯科大学腎臓内科学

ゾプレシン/cAMP/Protein Kinase A (PKA) シグナルは、腎臓において体内の水恒常性維持を担う AQP2 水チャネルを活性化し、尿を濃縮する。PKA の細胞内局在は、PKA のアンカータンパクである AKAP により決定されているが、50 種類以上の AKAP のうち、LRBA が AQP2 のリン酸化に必須であることを同定した。LRBA は T 細胞において CTLA4 受容体の膜輸送に関わる。LRBA が欠損すると CTLA4 の vesicle recycling 機構が破綻し、CTLA4 がライソゾームで分解されるため、T 細胞の活性を調節できなくなり自己免疫性腸炎・自己免疫性血球減少・低ガンマグロブリン血症・リンパ増殖症などを引き起こす。免疫学分野における LRBA 研究の進展を困難にしている要因として、*Lrba* ノックアウトマウスにはヒトと異なり免疫不全の表現型が存在せず、生体内の LRBA 機能を詳細に解析できない現状がある。CTLA4 も AQP2 水チャネルも vesicle recycling によって活性の制御を受けており、尿濃縮と免疫不全症に LRBA を介した共通の制御機構が存在すると考えられた。本研究では、LRBA の解析を腎臓で行うことで水と塩の恒常性維持機構を明らかにする。

腎臓のサンプルを密度勾配超遠心法・構造化照明超解像顕微鏡法を組み合わせることで、AQP2 と LRBA の細胞内局在を定量的かつ超高分解像度で解析した。LRBA-PKA 複合体は細胞膜直下のリサイクリングエンドソームにおいて、ゾプレシンの刺激を受け取り、AQP2 をリン酸化していることが明らかになった。リン酸化された AQP2 は瞬時に細胞膜へ輸送されることで、尿から水を再吸収し体内の水恒常性を維持していると考えられた。

通常、AQP2 活性化障害による水利尿がおこると高 Na 血症を認めるが、*Lrba* ノックアウトマウスでは血清 Na の上昇がないことから塩利尿もおきていると考えられた。*Lrba* ノックアウトマウスの血清 Na・Cl は低塩食負荷において最も低下し血圧も低下した。利尿剤試験ではサイアザイドを投与しても尿中塩排泄が増加せず、Na-Cl 共輸送体 (NCC) の機能不全が明らかになった。そこで、WNK-SPAK-NCC シグナルの解析を行った。*Lrba* ノックアウトマウスの SPAK 発現量は低下し、代償的に WNK1 の発現量が増加していた。LRBA と SPAK は細胞内小胞において共局在し、SPAK のライソゾームにおける分解を LRBA が抑制していた。

LRBA が水と塩の恒常性を同時に制御していることを明らかにした。現在、LRBA 欠損症患者に関する国際共同レジストリ研究を進めている。今後、ヒトにおいてもこれらの表現型が認められるかを検証する。

(要約)

腎臓尿細管における LRBA を介した塩の再吸収機構を明らかにするために、東京医科歯科大学の安藤史頭は *Lrba* ノックアウトマウスの解析を行った。LRBA は SPAK キナーゼの vesicle recycling に必須であり、SPAK を細胞膜へ輸送し、Na-Cl 共輸送体による塩の再吸収を活性化する役割があることを明らかにした。LRBA 欠損症患者においても同様の表現型があることが推察されレジストリ研究を開始した。

Calciprotein particle (CPP)とメガリンに着目した、マグネシウムによる腎不全進行抑制の機序解明

山本 毅士

大阪大学大学院医学系研究科腎臓内科学

超高齢化や生活習慣病長期化に伴い、慢性腎臓病 (CKD) および透析患者数は年々増加し、医療的にも社会的にもその対策が急務である。高リン(P)血症は血管石灰化の促進因子であり、その健康被害は CKD 患者において長年問題視されてきた。2021 年、高 P 食負荷で腎尿細管からの P 排泄を増加させると、腎尿細管内に微細なリン酸カルシウム結晶 (Calciprotein particle (CPP)) が生じ、尿細管を障害することが報告され大きな注目を浴びている (黒尾誠ら「CPP 病原体説」JCI 2021)。一方、マグネシウム (Mg) 摂取が CKD や心疾患リスクを下げるという疫学調査があるが、その機序は明確ではない。

申請者は老化・生活習慣病が細胞内の恒常性維持機構オートファジーに与える影響とその役割を研究し、特に高 P 負荷では尿細管のオートファジーがミトコンドリア品質管理を介して腎を保護する一方、オートファジー後期段階の障害を起こし、その保護作用を打ち消すことを見出した。一方、メガリンは近位尿細管腔側膜に発現するエンドサイトーシス受容体であり、糸球体を濾過する多種類のタンパク質や薬物の再吸収・代謝及び細胞内シグナリングに関わっている。

本研究では「Mg は、①病原体 CPP の形成抑制と②入り口としてのメガリン機能調節により高 P 腎毒性を解除できる」という仮説をたて、P-Mg バランスや Fetuin-A 蛋白局在が CPP 形成やメガリン機能に及ぼす影響を解明し、CPP 形成抑制因子 (Mg と Fetuin-A) やメガリン阻害・拮抗する薬剤 (シラスタチンが候補) を模索・検証し、最終的には、食 (Mg) を通じて腎保護・健康維持につなげることを目的とした。その結果、①高 P 低 Mg 食負荷群の腎尿細管障害は Mg 補充によって改善すること、電顕にて尿細管腔内や細胞内に CPP 様物質が観察されること、高 P 低 Mg 食負荷群でインフラマソーム活性化が観察されること、②タモキシフェン誘導性近位尿細管特異的メガリン KO マウス (iMegKO) のアルブミンの取り込みは Megalin 欠損により著減すること、③高 P 負荷低 Mg 食負荷により iMegKO マウスは生存率・体重減少が悪化すること、④高 P 負荷低 Mg 食負荷時、iMegKO マウスの腎障害と腎線維化は、コントロールマウスと明らかな差は認めないことを見出した。

本研究は、CPP と Megalin を中心に捉え高 P 毒性 (老化腎・CKD・炎症を加速させる) を解明し、それに基づき Mg の有効性の確立・提唱まで視野に入れた「食生活と健康」に直結した課題であり、急務である CKD 対策に新たな視点と可能性を提供する。

(要約)

大阪大学の山本毅士らは、これまで腎オートファジー研究を行い、マグネシウムはRubicon抑制を介したオートファジー活性化により高リン腎毒性を軽減することを示してきたが、今回『マグネシウムはCPP毒性・炎症の低下を介して高リン腎毒性を抑制する』ことを明らかにした。今後、さらにメガリンに着目した機序が解明されることで、慢性腎臓病患者の予後改善、超高齢化社会における健康長寿に寄与することが期待される。

発表番号 49 (助成番号 2333)

塩による DNA 損傷誘導と細胞応答機構, その癌化への関与に関する研究

楊 其駿, 正井 久雄

東京都医学総合研究所ゲノム動態プロジェクト

複製ストレスはがん細胞の特徴の一つであり, がん遺伝子活性化, 熱, 浸透圧, 酸化ストレス, 低酸素など様々な生物学的ストレスによって誘発される。これらのストレスは, 複製チェックポイントにおいて中心的な役割を担うキナーゼである Chk1 を活性化する。Chk1 の活性化には, DNA 複製制御因子として知られる Claspin が関与する。

本研究は, Claspin が細胞ストレス応答において新たな役割を果たすことを明らかにした。Claspin は様々なストレスに応答して Chk1 の活性化を媒介するが, そのメカニズムは DNA 複製阻害を伴う場合と伴わない場合がある。

DNA 複製が活発な S 期における Chk1 の活性化は, Claspin に強く依存する一方, G1 期における活性化は Claspin 非依存的である。この結果は, Claspin が主に DNA 複製と関連した Chk1 活性化経路において機能することを示唆する。興味深いことに, 熱ストレスは Claspin の過剰リン酸化を引き起こす。eIF2 α キナーゼ (PERK, GCN2, PKR, HRI) 欠損細胞を用いた実験から, GCN2 と HRI が Claspin-Chk1 活性化と細胞の熱ストレス応答に必須であることが明らかになった。

質量分析により, 熱ストレス下でリン酸化される Claspin の C 末端領域に 5 つのリン酸化部位が同定された。生化学的解析により, GCN2 と HRI がこのリン酸化に関与することが確認された。これらのリン酸化部位に変異を持つ細胞株は, 熱ストレス下でチェックポイント活性化や DNA 複製停止ができず, DNA 損傷の蓄積と生存率の低下を示した。このことから, eIF2 α キナーゼを介した Claspin のリン酸化が, 熱ストレス下での細胞生存に極めて重要であることが示された。

本研究は, 複製ストレスチェックポイントと様々な生物学的ストレスとの新たな関連性を提示し, Claspin の多面的機能を明らかにした。Claspin は DNA 複製制御だけでなく, ストレス応答経路にも関与しており, Chk1 活性化と細胞ストレス応答の複雑なメカニズム解明に貢献する。これらの知見は, がん研究や治療法開発に新たな視点をもたらす可能性がある。

(要約)

東京都医学総合研究所の楊らは, 複製ストレスチェックポイントと様々な生物学的ストレスとの新たな関連性を提示し, Claspin の多面的機能を明らかにした。Claspin は DNA 複製制御だけでなく, ストレス応答経路にも関与し, Chk1 活性化と細胞ストレス応答の複雑なメカニズム解明に貢献し, がん研究や治療法開発に新たな視点をもたらす可能性がある。

2023 年度(プロジェクト期間:2022~2024 年度)

プロジェクト研究主題: 適切な塩分摂取で挑む超高齢社会

プロジェクトリーダー:森田 啓之 (東海学院大学 教授)

我が国の男女平均寿命は 85 歳, 推計高齢者人口は 28.7%で, ともに世界 1 位の超高齢社会である(国連人口基金 2020 年)。一方, 自立した生活を送れない期間を指す「平均寿命と健康寿命の差」は 9.4 年であり, 超高齢社会のわが国において, 健康寿命を延ばし, この差をいかにして縮めるかが大きな課題となっている。

健康寿命を延ばすために克服しなければならない疾患・病態として, フレイル, 認知症, 心不全, 脳卒中, 生活習慣病, 慢性腎臓病, 嚥下障害・誤嚥性肺炎, 歯・口腔疾患・・・などがあげられ, そのうちいくつかは, 食塩摂取との関連性が示唆されている。特に, 高血圧をはじめとする生活習慣病と食塩摂取の関係はよく研究されており, これまで本財団の助成研究でも数多く取り上げられてきた。また最近, 塩分摂取とフレイルや食欲・嚥下機能などに関する知見も散見される。

いうまでもなく, 塩分は体液維持や興奮性調節に関与する人体に必須の栄養素である。自力で栄養を摂取し, 身体活動を維持し, 自立した生活を送るうえで, 塩分を制限するだけでなく, 塩分を適切に摂取することは, 健康寿命延長のためにも重要であると思われる。本プロジェクトは健康寿命延長に貢献する「適切な塩分摂取」を提言するための基礎的エビデンス構築を目的とした。

本プロジェクトでは3つのサブテーマを設定した。

- サブテーマ1: 塩分バランスの変化とフレイルに関する研究 【発表番号 50, 51】
- サブテーマ2: 塩分摂取と歯・口腔内の健康および摂食・嚥下機能に関する研究 【発表番号 52, 53】
- サブテーマ3: 塩分摂取と自律神経制御・腎機能に関する研究 【発表番号 54】

発表番号 50 (助成番号 23C1)

低ナトリウム血症による筋・骨関連フレイル病態に関する研究

梶 博史, 河尾直之

近畿大学医学部再生機能医学教室

低ナトリウム(Na)血症は、骨粗鬆症、サルコペニア、フレイルと関連するが、その分子機序は不明である。近年、サルコペニアと骨粗鬆症の関連から、筋・骨連関が注目されている。しかしながら、低 Na 血症が骨格筋、骨および筋・骨連関におよぼす影響は不明である。今回、利尿剤であるフロセミドをマウスに投与し、骨格筋と骨代謝の指標および骨代謝に影響をおよぼすマイオカイン発現と、低 Na 血症の筋と骨への負の作用に対する塩分投与の効果を検討した。さらに、低 Na 血症による骨量、筋量、筋力の低下に寄与する新規因子の探索を RNA シークエンス解析により行った。

フロセミド溶液はマウス皮下に 250 mg/kg の用量で 1 週間あたり 5 回の頻度で 8 週間投与した。塩分投与群は 1% NaCl 溶液を飲水させて飼育した。

フロセミド投与は、血中 Na 濃度と体重を有意に減少させた。マウス大腿骨のマイクロ CT 解析において、フロセミド投与は骨量(BV/TV)、海綿骨骨密度、海綿骨幅、皮質骨骨密度、皮質骨幅、皮質骨面を有意に減少させ、さらに、

骨梁間隙を有意に増加させた。一方、マウス骨格筋の解析において、フロセミド投与は、腓腹筋、ヒラメ筋、前脛骨筋重量、握力を有意に減少させた。骨に影響をおよぼすマイオカインの検討では、フロセミドを投与したマウスの腓腹筋およびヒラメ筋で、インスリン様成長因子-1(IGF-1)発現が有意に減少した。フロセミド投与による体重、握力、全身および下腿筋量、腓腹筋、ヒラメ筋および前脛骨筋重量の低下は、塩分投与によって有意に回復した。腓腹筋とヒラメ筋の RNA シークエンス解析により、低 Na 血症によって腓腹筋で発現が 2 倍以上増加する体液性因子として P-セレクトインが、減少する体液性因子として Edil3 が抽出された。

以上の結果より、マウスにおいて、骨格筋での IGF-1 発現低下が、低 Na 血症による骨量減少に寄与する可能性が示唆された。さらに、塩分バランスの異常が筋量および筋力低下を引き起こし、適切な塩分摂取が低 Na 血症によるサルコペニアやフレイルの予防に有効である可能性が示唆された。

(要約)

塩分バランス異常の、フレイル、サルコペニア、骨粗鬆症に共通する病態機序への寄与、および塩分摂取による治療効果の検討を目的として、近畿大学の梶らは、前1回の助成でマウスを用いて、低ナトリウム(Na)血症による骨量減少に骨格筋IGF-1発現低下が寄与することを明らかにした。引き続き、マウスを用いて検討した結果、低Na血症による筋量と筋力の低下が塩分投与によって回復したことから、適切な塩分摂取が低Na血症によるサルコペニアやフレイルの予防に有効である可能性が示唆された。

慢性低ナトリウム血症による精神症状のメカニズムの解明とその治療法の開発

藤沢 治樹¹, 梶村 益久¹, 鈴木 敦詞¹, 宮川 剛², 毛利 彰宏³, 藤沢 知里⁴

¹ 藤田医科大学医学部内分泌・代謝・糖尿病内科学,

² 藤田医科大学医科学研究センターシステム医科学研究部門,

³ 藤田医科大学大学院保健学研究科レギュラトリーサイエンス分野,

⁴ 名古屋大学大学院医学系研究科地域在宅医療学・老年科学

低 Na 血症は最も頻度の高い電解質異常症である。慢性低 Na 血症は精神神経症状を来すこと、また、低 Na 血症を補正することにより、精神神経症状が改善することが報告されている。このため、慢性低 Na 血症の補正が重要であることが明らかとなっている。しかしながら、慢性低 Na 血症の治療時に、急激に血清 Na 濃度が上昇すると中枢神経系の脱髄を生じ、意識障害、四肢麻痺、偽性球麻痺、呼吸障害等の一部は不可逆的な症状を呈し、しばしば致命的となる浸透圧性脱髄症候群(ODS)を発症することがある。

我々は、ODS の発症に中枢神経系内のマクロファージ様の免疫細胞であるミクログリアの活性化が重要であることを明らかにしてきた。しかしながら、ODS で認められるミクログリアの活性化が急激な血清 Na 濃度上昇の直接的な影響によるのか、組織障害等による二次的なものであるかはわかっていない。さらに、慢性低 Na 血症のミクログリアへの影響も不明である。そこで、我々は、ミクログリア細胞株 BV-2 と 6-3 細胞を用いて低 Na 濃度およびその急速補正のミクログリアへの影響を評価した。

10 日間程度の低 Na 濃度環境(36 mEq/L の低下)では、NOS2 依存性の NO 産生が有意に低下した。また、Na 濃度の急速補正時、低 Na 濃度環境下と比較して、NOS2 依存性 NO 産生は有意に上昇し、Na 濃度の急速補正の直接的なミクログリア活性化への影響は、ODS の病態に部分的であるが関与する可能性が示唆された。また、低 Na 濃度環境下では、浸透圧変化に対する適応に重要な転写因子である NFAT5 のミクログリアでの発現および核内移行が有意に低下していた。さらに、BV-2 において NFAT5 を過剰発現させると、低 Na 濃度環境下で有意に NOS2 依存性 NO 産生が増加した。

これらの結果から、慢性低 Na 血症は NFAT5 依存性にミクログリアの機能を変化させていることが明らかとなった。また、ミクログリアはシナプス可塑性の調節を介して、学習・記憶機能にも関与することが知られており、本研究で認められたミクログリアの変化が、慢性低 Na 血症による精神神経症状にも関与している可能性が考えられる。

(要約)

藤田医科大学の藤沢らは、前回の助成で、慢性低Na血症の精神症状への影響を明らかにし、引き続き、慢性低Na血症の脳内免疫担当細胞であるミクログリアへの影響について検討を行った。その結果、慢性の低Na濃度が、ミクログリアの一酸化窒素の産生を抑制することを明らかにし、慢性低Na血症がミクログリアの機能に影響を与えると推察された。

発表番号 52 (助成番号 23C3)

塩分摂取が神経-免疫系を介する誤嚥性肺炎の軽減効果に与える影響の解明

安部 力

岐阜大学大学院医学系研究科

我々はこれまで、LPS 気道内投与による誤嚥性肺炎モデルマウスを用いて実験を行ってきた。しかし、このモデルでは、1) 生きた微生物を用いていないこと、2) 急性肺炎は生じるものの、症状が慢性化しないこと、3) どの週令にも関わらず肺炎が同程度生じてしまうこと、の問題点がある。2022 年度は、上記問題点を解決した病態モデルマウスの作製に成功した。また、この新規モデルマウスでは、食塩負荷により誤嚥性肺炎の症状が増悪することを明らかにした。

そこで 2023 年度は、新規モデルマウスを用いて、延髄 C1 ニューロン刺激による誤嚥性肺炎症状への影響を調べた。さらに食塩負荷性誤嚥性肺炎増悪に対する延髄 C1 ニューロン刺激の効果も調べた。

8 週令マウスでは延髄 C1 ニューロン刺激により LPS 気道内投与による肺炎が軽減したものの、20 週令以上のマ

ウスではこの効果が消失した。これには、加齢に伴う免疫機能の低下が示唆された。一方、口腔内微生物気道内投与による肺炎は延髄 C1 ニューロン刺激でも軽減しないことがわかり、獲得免疫を含む免疫系の時間的変化が延髄 C1 ニューロン刺激の効果を消失している可能性が考えられた。さらに、食塩感受性高血圧による誤嚥性肺炎症状の悪化は延髄 C1 ニューロン刺激で軽減できないことがわかり、免疫細胞の応答性低下が関与している可能性が考えられた。

本研究にて、新規誤嚥性肺炎モデルマウスでは延髄 C1 ニューロン刺激による抗炎症効果が見られなかったことから、2024 年度はこの原因の解明を目指したいと考えている。また、併せて、塩分摂取による誤嚥性肺炎の増悪原因についても、自律神経や免疫細胞の機能変化の観点から調べていきたい。

(要約)

食塩感受性高血圧による誤嚥性肺炎の増悪に対し神経-免疫系による制御を目指している岐阜大学の安部は、延髄C1ニューロン刺激による誤嚥性肺炎症状への影響を検討した。この結果、食塩感受性高血圧による誤嚥性肺炎の増悪に対し、神経-免疫系の活性化では抗炎症効果が現れないことがわかった。

食塩摂取量と口腔常在微生物叢および口腔の健康との関連についての疫学的検討

竹下 徹¹, 古田 美智子¹, 内田 和宏², 二宮 利治³

¹九州大学大学院歯学研究院口腔保健推進学講座口腔予防医学分野,²中村学園大学栄養学部栄養学科,

³九州大学大学院医学研究院衛生・公衆衛生学分野

食事は消化管に生息する微生物の栄養源でもあり、常在微生物叢構成に関わりうる環境要因の一つである。なかでも塩分は、塩濃度が温度やpHとともに微生物の増殖における重要な物理的要因であることを考えれば、大きな役割を担っていることが推察される。にもかかわらず塩分摂取が口腔常在微生物叢、さらには口腔の健康に及ぼす影響についてはほとんど知見がないのが現状である。

そこで本研究では地域住民の食塩摂取と口腔常在微生物叢の細菌構成および口腔保健状態の情報を重ね合わせ、両者の関連について検討することとした。このなかで本年度は各対象者の唾液中に認める口腔常在微生物叢の総細菌量および細菌構成のデータセットの構築を完了し、食塩摂取量と口腔常在微生物叢の状態との関連について探索した。唾液中の総細菌量および細菌構成の分析には過去に健診調査の際に取得した唾液検体から抽出した微生物群集DNAを用いた。

各対象者の唾液中の総細菌量および細菌構成をそれぞれ16S rRNA遺伝子のV5領域をターゲットとした定量PCR法とV1-V2領域の塩基配列解読に基づく網羅的細菌群集解析法を用いて決定した。単位エネルギー量あたりの食塩相当量に基づく四分位群において男性、女性それぞれについて微生物叢の状態を比較した。唾液中の総細菌量は男性、女性のいずれにおいても四分位群間に差異を認めなかった。一方で、男性においては食塩相当量の多い群で口腔状態が良好な者で高い構成比率を占めることが報告されているグループ2常在細菌群の構成比率の低下を認めた。女性においては細菌構成にも注目すべき差異を認めなかった。今年度の分析により食塩摂取量の多い男性における口腔常在微生物叢の構成バランスの悪化との関連が示唆された。次年度は過去に口腔の健康状態との関連が指摘されている菌種群以外の細菌と食塩摂取量の関連についても詳細に解析し、良好な口腔常在微生物叢および口腔保健状態の維持を目指すうえで適切な食塩摂取の理解を目指す。

(要約)

九州大学の竹下らは前1回の助成で男性では食塩相当量が多い群ほど現在歯数が少ないことを明らかにし、引き続き口腔常在微生物叢との関連について検討を行った。その結果、男性では食塩相当量が多い群で口腔常在微生物叢の構成バランスの悪化を認めることを明らかにした。食塩摂取が男性において口腔保健状態に加え口腔常在微生物叢の構成変化とも関わっている可能性が示された。

発表番号 54 (助成番号 23C5)

神経系—免疫系を介した塩分感受性高血圧制御メカニズムの解明

井上 剛¹, 安部 力²¹ 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科内蔵機能生理学, ² 岐阜大学大学院医学系研究科

【目的】高血圧発症への免疫細胞の関与は以前より少しずつ報告されていたが、近年そのメカニズムの解明が進むとともに、免疫細胞による血圧制御機構の存在が少しずつ明らかになってきている。そこで、神経系—免疫系という新しい切り口から、塩分感受性高血圧発症のメカニズム解明を目指すことを目的とする。

【方法】動物は 8-12 週齢の雄野生型マウス(C57BL/6J)を使用し、塩分感受性高血圧を誘導するために、マウスで一般的に使用されているアンジオテンシン II 誘導高血圧モデルを使用した。非観血的血圧測定および観血的血圧測定、脾臓および腎臓における免疫細胞の動態評価(フローサイトメトリーおよび免疫染色)、腎臓線維化の評価(Trichrome 染色, リアルタイム PCR, 免疫染色)を行った。マクロファージ除去はクロドロン酸を 5 日に1回投与することで行った。

【結果】ポンプの埋め込みおよび食塩水摂取開始から約 1 週間後より、アンジオテンシン II 投与+食塩水飲水グループでは、血圧が上昇し始め、マウス塩分感受性高血圧症モデルを確立した。

高血圧を誘導後に脾臓および腎臓における免疫細胞の割合および数の変化を比較したところ、脾臓において

は、血圧正常群ならびに高血圧群における免疫細胞の割合の変化は認めなかったものの、腎臓においては、高血圧誘導マウスではマクロファージの増加を認めた。高血圧群では腎臓の線維化が進展していることも確認した。また、高血圧誘導時に、マクロファージを除去することで、高血圧の誘導が抑制され、腎臓線維化も抑制されることを見出した。さらに、神経系—免疫系を介した血圧制御メカニズムを解明するために、マクロファージ特異的に自律神経伝達物質受容体 X を欠損させたマウスを用いた検討を行ったところ、これらのマウスにおいては高血圧誘導が抑制されることを見出した。

【考察】塩分感受性高血圧モデルにおいてマクロファージが重要であることを見出すことができた。

一方、①マクロファージがどこで自律神経のシグナルや Na 刺激を受け取っているのか。②マクロファージの形質が自律神経や Na 刺激を受け取った後にどのように変化するのか。③形質が変わったマクロファージがどのようにして血圧を制御するのか。に関してはほとんど分かっておらず、今後これらの解析を進めていく。

(要約)

長崎大学の井上剛らは、神経系—免疫系という新しい切り口から、塩分感受性高血圧発症のメカニズム解明を目指し、検討を行った。その結果、塩分感受性高血圧誘導時には腎臓内でマクロファージ数が増加すること、腎臓の線維化が誘導されることを見出した。また、塩分感受性高血圧誘導時に薬剤を用いてマクロファージを除去すると、高血圧誘導および腎臓線維化が抑制されることが確認できた。これにより、神経系—免疫系が血圧制御に関与していることが示唆された。

老化による皮膚セラミド産生の低下に対するマグネシウムの改善効果

五十里 彰, 吉野 雄太

岐阜薬科大学生命薬学大講座生化学研究室

【目的】世界的な超高齢社会の到来とともに、医療・介護費の高騰が大きな社会問題になっている。高齢者の7割以上が肌トラブルを抱えているといわれ、皮膚疾患患者の増加が懸念される。皮膚の表皮は角質層、顆粒層、有棘層、基底層の4層で形成され、外部からの異物の侵入や体内からの水分の蒸散を防ぐバリアとしての機能を有する。このバリア機能の形成には、角質層におけるヒアルロン酸、セラミド、コラーゲンといった保湿因子と顆粒層における細胞間密着結合が重要な役割を果たす。老化や紫外線・酸化ストレスへの暴露により、角質層における保湿因子の産生量や皮脂の分泌量が減少し、バリア機能が低下する。そのため、保湿因子の産生を亢進する因子は、高齢者における皮膚バリア機能の増強作用が期待できる。また、皮膚バリア機能の維持には、物理的創傷に対する修復機構も重要な役割を果たす。マグネシウムには、皮膚創傷治癒の促進作用があることが報告されているが、その詳細な機序は不明なままである。本研究では、老化によるマグネシウムチャンネルの発現低下機構、およびマグネシウムとセラミド産生の関係を検討することにより、皮膚バリア機能の維持におけるマグネシウムの役割を分子レベルで検討した。さらに、老化による *NIPAL4* の発現低下に対し、改善作用をもつ食品素材を探索した。また、マグネシウムが創傷治癒の促進に関与することが報告されているため、その作用機序を検討した。

【方法】実験にはヒト表皮ケラチノサイト由来の HaCaT 細胞および NHEK 細胞を使用した。遺伝子とタンパク質発現は、それぞれリアルタイム PCR 法とウエスタンブロット法で解析した。細胞内遊離マグネシウム濃度 ($[Mg^{2+}]_i$) は、蛍光指示薬の mag-fura 2 を用いて測定した。*NIPAL4* の転写活性は、ルシフェラーゼ活性を指標として測定した。

創傷治癒アッセイでは、ピペットチップによる創傷領域を測定し、その閉鎖率を比較した。

【結果】HaCaT 細胞に老化促進剤を処理したところ、老化因子である p53 のアセチル化量が増加し、*NIPAL4* mRNA 量が減少した。また、老化促進剤処理により静止状態の $[Mg^{2+}]_i$ が減少した。さらに、細胞外マグネシウム濃度の低下や siRNA を用いた *NIPAL4* のノックダウンにより、 $[Mg^{2+}]_i$ の低下が観察された。以上の結果から、ケラチノサイトが老化刺激を受けると、*NIPAL4* の発現低下を介して、 $[Mg^{2+}]_i$ が低下することが示唆された。老化促進剤処理や細胞外マグネシウム濃度の低下により、スフィンゴミエリンの産生に関与する酵素の発現量が減少した。また、セラミド合成の材料となるスフィンゴミエリンの濃度が減少した。化合物ライブラリーを用いて *NIPAL4* の転写活性化作用をもつ食品素材を探索し、レスベラトロールを同定した。レスベラトロールは老化促進剤によるセラミド合成酵素の発現低下とスフィンゴミエリンの濃度低下を改善した。次に、創傷治癒におけるマグネシウムの役割を検討し、matrix metalloproteinases 7 (MMP7) の発現増加作用を見出した。マグネシウムによる MMP7 の発現増加は、MEK/ERK 経路阻害剤の U0126 の共処理により阻害されたため、本シグナル伝達経路の関与が示唆された。

【考察】老化刺激により *NIPAL4* マグネシウムチャンネルの mRNA 発現が低下し、セラミド合成酵素の発現量が減少したため、老化による皮膚バリア機能の低下に、マグネシウム代謝異常の関与が示唆された。*NIPAL4* のプロモーター領域に老化関連因子である p53 の推定上の結合部位が存在するため、p53 は転写活性の抑制作用をもつことが示唆された。レスベラトロールが老化促進剤の効果を改善したため、抗老化食品としての利用に向けた研究が期待される。

(要約)

皮膚におけるマグネシウムの新機能を検討している岐阜薬科大学の五十里らは、セラミド産生と細胞遊走に対する検討を行った。その結果、老化によるマグネシウムチャンネルの発現低下がセラミド合成酵素の発現量を減少させ、マグネシウム添加により細胞遊走能が亢進したため、マグネシウムは表皮細胞のセラミド産生や細胞遊走の調節に関与すると示唆された。

発表番号 56 (助成番号 2322)

高血圧合併2型糖尿病に対する現実的な減塩食事療法の多面的効果の検証

内田 泰介, 上野 浩晶

宮崎大学医学部内科学講座血液・糖尿病・内分泌内科学分野

本研究は、高血圧合併糖尿病患者が現実的に実行しやすい減塩の方法を、さまざまな減塩調味料を用いて降圧効果と共に副次的な多面的効果を検証することを目的としている。本研究最大の特徴は、「減塩調味料の提供」を介入としており、減塩調味料の使用を強制しておらずあくまで患者の自主性に委ねている点である。本研究では「減塩調味料の提供」という介入が、どの程度減塩調味料の使用に繋がり、またそれによりどの程度降圧効果が得られることを評価することで「現実的に遂行可能な」減塩療法を模索した。

宮崎大学医学部附属病院内分泌・代謝・糖尿病内科に外来通院中の高血圧症合併2型糖尿病患者(年齢は20歳~75歳)を対象とし、3か月間、無償提供する減塩調味料(減塩の塩、醤油、ソース、ケチャップ、マヨネーズ、ドレッシング、味噌、だしつゆ、ゆずポン酢、中華だし、しょうが焼きのたれ、塩不使用の梅干しやふりかけなど)を調理や食事の際に自由に使用してもらい、提供前後の各パラメータについて解析した。

対象患者は31人(2024年4月時点における中間解析結果 $n = 15$ 以下に示す)で、平均年齢は 68.1 ± 7.8 歳で男性が9(60.0%)、BMI 26.6 ± 4.8 kg/m²、HbA1c $6.85 \pm 0.91\%$ であった。アンケート調査では減塩調味料

の使用頻度は毎日:6(40.0%)、週4日以上:3(20.0%)、週2日以上:4(13.3%)、週1日以下:2(6.7%)であった。

提供前→提供3ヵ月時点で、推定塩分摂取量は平均10.34 g/日→9.10 g/日 ($P = 0.002$)と減少し、24時間自由行動下血圧測定における平均収縮期血圧は平均143.1 mmHg→136.1 mmHg ($P = 0.006$)と改善した。減塩調味料の提供という介入手法でその使用を患者に委ねたとしても減塩療法は可能と考えられた。提供3ヵ月目時点で提供前と比較し、食事の楽しみが減ったと回答した患者は1名のみであった。

本研究では、「減塩調味料の提供」という比較的緩い介入においても、減塩が十分可能であり、またそれによる降圧効果が確認することができた。また、アンケート調査の結果から患者の食欲や食事の楽しみを減少させることなく減塩を達成できたことは「現実的に」遂行可能な減塩療法を行う上で重要な意味を持つ。本報告書のデータはあくまで中間解析の結果であり、残りの症例も含めさらに詳細な解析を進めていきたいと考えている。3か月間の介入による効果を実証されれば、更に長期間この方法を継続することにより動脈硬化性疾患の発症抑制や生命予後改善も期待できるため、新たな臨床研究を行う意義が高まる。

(要約)

高血圧合併2型糖尿病に対する現実的な減塩食事療法の提案を目指す宮崎大学の内田らは、対象患者に減塩調味料を提供し、患者自身に自由に使用してもらい、提供前と提供後3か月時点での各パラメータを比較した。その結果、推定塩分摂取量は平均10.34 g/日→9.10 g/日 ($P = 0.002$)と減少し、24時間自由行動下血圧測定における平均収縮期血圧は平均143.1 mmHg→136.1 mmHg ($P = 0.006$)と改善した。減塩調味料の提供という介入手法でその使用を患者に委ねたとしても減塩療法は可能と考えられた。

1 回採取尿を利用した子どもの正確な塩分摂取量評価法の開発

加藤 沙耶香, 中川 朝子, 伊藤 由起, 上島 通浩

名古屋市立大学大学院医学研究科環境労働衛生学

【目的】 小児期の食塩摂取量と塩味の嗜好性との間には正の相関関係があると考えられており、小児の塩分摂取量を推定することは、将来の適切な塩分摂取量管理の鍵となる。1日塩分摂取量は随時採取尿のクレアチニン(Cr)濃度、24時間尿中Cr排泄量およびナトリウム(Na)濃度から推定され、成人では24時間尿中Cr排泄量(24UCr)を算出する際に性別、身長、体重を用いたり、尿中クレアチニン(Cr)排泄量が1日当たり約1gであることを利用したりしている。しかし、小児ではこの式の一部である24UCrの算出法が確立していないため、これを明らかにすることが小児の1日塩分摂取量を推定するために必要である。

【方法】 愛知県在住の6-12歳の204人の男女を対象とした。夜尿のある者、筋疾患、腎疾患、神経疾患などCr排泄に影響を与える可能性のある者は除外した。1日分の個々の尿検体を回収し、尿中Cr、Na濃度、比重および身長、体重、筋肉量、脂肪量を測定し、既存のCr算出法と比較するためにBland-Altmanプロットを用いた。さらにテストデータと検証データを4:1に分けて機械学習を行い、重回帰分析を用いて、24UCrを推定する式を確立し、この結果を用いて1日塩分摂取量の推定とその評価を行った。

【結果】 平均年齢は8.6歳(SD, 1.5)、月齢は109.5ヶ月(SD, 17.3)であった。身長、体重、体格指数(BMI)、体表面積に男女差はなかったが、男児の筋肉率の平均値は女児より有意に高かった。Cr濃度、Na濃度、比重、尿量に男女差はなかった。1日尿から得られた推定塩分摂取量は4.6gであった。Bland-Altmanプロットでは、比較した10手法のうち9手法で固定誤差、比例誤差、またはその両方が見られた。機械学習による最良のモデルをもとに重回帰分析による推定式を作成した。また、この結果を用いた1日塩分摂取量の予測方法においては比例誤差があった。

【考察】 本研究の結果から得られた推定1日塩分推定摂取量は過去の報告や令和元年国民栄養調査における報告よりも低かった。24UCrの推定式から推定した1日塩分摂取量の評価方法には誤差があり、さらなる改善が必要であると考えられた。

【今後の課題】 本研究では、10歳以上の子どもの参加者の割合が少なく、対象者を増やす必要がある。今後、さらに精度の高い塩分摂取量の推定式を完成させるためには、Na排泄量とCr排泄量の関係についてさらなる検討が必要である。

(要約)

1回採取尿で1日塩分摂取量の推定式の作成を目指している名古屋市立大学の加藤らは、学童期の子どもたちの1日分の尿を採取し、尿中のクレアチニンやナトリウムの排泄量を測定した。そして1回採取尿による塩分摂取量推定のために必要である1日クレアチニン排泄量の推定式を作成した。1日尿から算出された推定1日塩分摂取量は4.6gであった。

発表番号 58 (助成番号 2323)

食塩摂取票を用いた減塩指導が、血液透析患者の透析間体重増加を抑制し、透析前血圧を低下させ、透析低血圧症の発症を減少させるかの前向き介入研究

大橋 温¹, 青木 太郎², 石垣 さやか³, 磯部 伸介²¹ 浜松医科大学卒業教育センター, ² 浜松医科大学第一内科, ³ 浜松医科大学血液浄化療法部

研究の背景と目的: 心不全は血液透析患者の主な死因であり、体液過剰が最も多い原因である。したがって、血液透析患者にとって食塩摂取量を減らすことは重要である。自らの食塩摂取量を知ることが出来れば、減塩への意欲が高まり減塩の実現が期待出来る。食塩摂取量の評価法として、24 時間蓄尿や随時尿によるナトリウム排泄量測定は排尿がない血液透析患者には適応出来ない。更に、食物摂取頻度調査から推定する方法は推定値の精度の検討の不十分さなどから十分に利用されていなかった。最近、我々は精度が高く簡便な自己記入式の食塩摂取に関する調査票を開発した。以上から、この食塩調査票を用いて血液透析患者に減塩を指導した場合、食塩摂取量が減少し、血液透析間体重増加が減少するかを明らかにすることを研究目的とした。

方法: 維持血液透析施設の外来患者 78 名を対象に、食塩調査票を用いて食塩摂取量の評価と指導を行った。食事指導 1 か月後、食塩摂取量を、食塩質問票を用いて再度評価した。

結果: 患者の平均年齢は 72.2 ± 11.9 歳、男性 47 名、女性 31 名、原疾患は、糖尿病性腎症 23 名、慢性腎炎 22 名、腎硬化症 11 名、それ以外 22 名であった。血液透析の罹病期間の中央値は 74 ヶ月であった。食塩摂取量は、食塩調査票介入前の 8.41 ± 2.43 g/日から介入後は 7.67 ± 2.60 g/日まで有意に減少した ($p = 0.010$)。食塩摂取量の変化と血液透析終了から 2 日経過した月曜日、もしくは火曜日(中 2 日)のドライウエイトに対する透析間体重増加の変化の間には有意な正の相関を認めた ($r = 0.24, p = 0.037$)。更に、食塩摂取量の変化は、年齢、性別、ドライウエイトで調整した後も体重増加の変化と有意に正の相関を認めた。 ($\beta = 0.23, p = 0.044$)

結論: 食塩調査票は、血液透析期間中の食塩摂取量を減らし、体重増加を抑制するための有効な手段となり得る可能性が示唆された。

(要約)

心不全は血液透析(HD)患者の主な死因で体液過剰が最大の原因であるため、HD患者に食塩摂取量の減少は重要だが食塩摂取量を評価する方法がなかったが、浜松医科大学の大橋らは精度が高く簡便な食塩調査票を開発した。維持HD患者78名に、食塩調査票の介入で食塩摂取量は介入前 8.41 ± 2.43 g/日から介入後 7.67 ± 2.60 g/日まで有意に減少すること、食塩摂取量の変化は、年齢、性別、ドライウエイトで補正後も体重増加の変化と有意に正の相関を認めた。以上から、食塩調査票はHD患者の食塩摂取量を減らし、体重増加を抑制する可能性が示唆された。

K⁺チャネル制御因子 NCS-1 の神経障害時における痛み緩和への役割と 関連シグナルの解明

西谷 友重¹, 木口 倫一², 納富 拓也¹, 陳 以珊¹, 安田 純平¹

¹ 和歌山県立医科大学医学部, ² 和歌山県立医科大学薬学部

【研究の目的】「痛み」は生物にとって防衛機構であるが、重度の痛みは苦痛であり、その克服は極めて重要である。痛み受容の機構については、TRP や電位依存性 Na⁺チャネルなど多くのイオンチャネルが関与している。一方、生体内には痛み緩和経路も存在しており、I_{SA} 電流を構成する電位依存性 Kv4 K⁺チャネルはその一つである。実際、Kv4 チャネルを減少させると、痛み刺激に過敏になることが報告されている。申請者らは以前、Kv4 チャネルの制御因子として Ca²⁺センサーNCS-1 (Neuronal Ca²⁺ sensor-1) を見出した。NCS-1は脳においてKv4 チャネルと結合・共局在し、Kv4 チャネル電流を増加させる。しかし、NCS-1 が健常時および神経障害時において、Kv4 チャネル電流を介して痛み緩和に寄与するのかは全く不明である。

本研究の目的は、NCS-1 が健常時および神経障害時に痛み緩和に寄与するの、痛みの種類によって作用に差はあるか等を明らかにすることである。

【方法および結果】 まずマウス脊髄後根神経節 (DRG) における Kv4.3 および NCS-1 の発現を免疫蛍光法により確認したところ、両タンパク質は共に高発現し、共局在している細胞も認められた。また、NCS-1 の欠損 (KO) マウスを用いて痛み刺激に関する感受性を野生型 (WT) マウスと較べたところ、オス・メス両方において KO マウスで機械刺激に対する感受性が増加していることがわかった。

一方、熱刺激に関しては WT と KO で感受性の差は認められなかった。現在、神経障害時の痛みに対しても NCS-1 に鎮痛効果があるか確認するため、坐骨神経部分結紮による神経障害性疼痛モデルマウスを作製し、WT と KO で感受性が異なるか検討中である。また、NCS-1 は脳神経系に高発現していることから、部位特異的 KO マウスを作製するため、NCS-1 の flox マウスを Crispr/Cas9 システムにより作製した。

【考察】 上記の結果より、NCS-1 は痛み緩和に寄与していることが明らかとなった。さらに、NCS-1 の flox マウスと Nav1.8 Cre マウスと掛け合わせて、侵害受容細胞特異的に NCS-1 を KO したマウスを作製して、同様の効果を確認する予定である。

(要約)

和歌山県立医科大学の西谷らは、電位依存性K⁺チャネルKv4の制御因子であるNCS-1の痛み緩和への役割について遺伝子欠損マウスを用いて検討した。その結果、Kv4チャネルとNCS-1はマウスDRGに共局在し、KOマウスは熱刺激ではなく機械刺激による痛みの緩和に寄与することが示唆された。現在、神経障害性疼痛モデルを用いて病態下でのNCS-1の役割を検討中である。また細胞特異的KOマウスも作成中である。

発表番号 60 (助成番号 2324)

がん免疫抑制細胞におけるがん微小環境に応じたカリウムチャネルの機能・発現調節の意義解明

大矢 進

名古屋市立大学大学院医学研究科

【研究目的】 がん微小環境 (Tumor microenvironment, TME) では, がん関連マクロファージ (Tumor-Associated Macrophage: TAM), 骨髄性抑制細胞, 制御性 T 細胞などの免疫抑制細胞群が腫瘍内に浸潤してがん免疫監視機構を抑制する。がん悪性化には, がん浸潤性免疫抑制細胞群の浸潤・集積が関与しており, 臨床的には, がん浸潤性免疫抑制細胞群の浸潤・集積密度が高い症例ほどがん悪性度が高く, 予後が不良である。したがって, がん悪性化の原因となる TME ネットワークを形成する非がん細胞の特性や相互作用を解明することが重要である。現在, TME に高密度に集積して免疫監視機構を抑制するがん促進系のがん免疫抑制細胞群が, がん創薬戦略のターゲットとして期待されている。

本研究の目的は, 免疫抑制細胞におけ K^+ チャネル作用薬のがん免疫賦活薬の標的としての潜在性を明らかにすることである。

【研究方法】 ヒト急性単球白血病細胞株 THP-1 を分化調整薬 PMA で 24 時間刺激して M_0 マクロファージに分化させた後, IL-4/IL-13 添加培地で 72 時間培養することにより TAM 様 M_2 マクロファージに分化させた。遺伝子発現は real-time PCR, タンパク発現はウェスタンブロッティング, サイトカイン発現は ELISA 法により解析した。

【結果】 THP-1 由来 M_2 マクロファージにおいて, Ca^{2+} 活性化 K^+ チャネル $K_{Ca3.1}$ 活性化薬 SKA-121 の腫瘍化促進性サイトカインの発現への影響を検討したところ, SKA-121 により IL-8 と IL-10 の転写が有意に低下した。また, TME の細胞外 K^+ レベルを模倣した *in vitro* 実験条件下において, IL-8 と IL-10 の転写および産生はともに有意に上昇し, 転写活性化は SKA-121 処置により抑制された。さらに, IL-8 と IL-10 の転写活性は, ERK 阻害剤や JNK 阻害剤の処理により有意に抑制され, SKA-121 は, ERK や JNK のリン酸化を有意に減少させた。

【考察】 $K_{Ca3.1}$ 活性化薬は, ERK-CREB および JNK-c-Jun カスケードを介して IL-8 および IL-10 の転写および産生を阻害することにより, IL-10 誘導性の腫瘍免疫監視逃避および IL-8 誘導性の腫瘍化およびがん転移を抑制する可能性が示された。

(要約)

がん微小環境においてがん細胞に集積してがん免疫監視機構を脆弱化するがん浸潤性免疫抑制細胞におけるイオンチャネルの病態生理学的役割を明らかにするために, 名古屋市立大学大学院医学研究科の大矢らは, 研究を行った。その結果, イオンチャネル作用薬が免疫抑制細胞におけるサイトカイン発現調節に重要な役割を果たすことを明らかにし, イオンチャネル作用薬のがん免疫賦活薬として有効であることを示唆した。

塩味閾値および塩味への嗜好に対する唾液成分の影響

吉垣 純子, 横山 愛, 浜野 亜紀子

日本大学松戸歯学部生理学講座

食塩の過剰摂取は高血圧や腎臓病につながるため、塩分の適切な摂取量が定められている。日本人の食塩摂取量は年々減少傾向にあるとはいえ、現在でも WHO の推奨値を大幅に超過している。日本の高血圧患者は 4000 万人以上と言われており、そのリスクファクターである塩分摂取量をコントロールすることが、日本人の健康管理、医療費削減において重要であると考えられる。一方で塩分摂取は生命維持に重要な役割を果たしている。ナトリウムは細胞外液の浸透圧調節における重要な因子であり、適切な量の塩分を摂取することが必要である。塩分摂取量は、塩味とわかる最低濃度としての認知閾値と、食物として美味しく感じる食塩濃度(塩味嗜好濃度)の両方に影響されることが予想されるが、ともに個人差が大きく、その決定要因は明らかではない。

唾液成分と味覚には関連があることが報告されており、唾液のイオン組成が塩味嗜好に対する原因の1つであることが予想される。塩味嗜好濃度および日常的な塩味に対する嗜好度を測定し、これらがどのように決定されているかを明らかにすることができれば、塩分摂取量のコントロール法につながると予想される。そこで本研究では、成人の塩味閾値、塩味嗜好濃度、安静時唾液および刺激時

唾液中のイオン濃度を測定し、その関連性を解析した。更に、被験者の塩味に対する日常的な嗜好度と摂取頻度のアンケートを実施し、唾液中のイオン濃度の影響について検討を行った。

塩味閾値の測定の結果から中間値を求め、それ以下の被験者を低閾値グループ、それよりも高い被験者を高閾値グループとした。低閾値グループの安静時唾液中のナトリウムイオン濃度は高閾値グループよりも低く、逆にカリウムイオン濃度は高閾値グループと比較して高かった。したがって、安静時唾液中のイオン濃度が塩味閾値に影響を与えることが明らかになった。アンケートより、塩味の強い食品群に対する嗜好度と摂取頻度の平均を求め、各被験者の塩味嗜好度と塩味摂取頻度とした。各データ間の相関係数を求め、関連を解析した。その結果、安静時唾液中のナトリウムイオン濃度と塩味嗜好濃度、また、安静時唾液中のナトリウムイオン濃度と塩味嗜好度の間には正の相関が観察された。このことから、塩味に対する嗜好が安静時唾液中ナトリウムイオン濃度を上昇させ、唾液中ナトリウムイオン濃度の上昇がより高い塩濃度を求める可能性が示された。

(要約)

食塩の適切な摂取量をコントロールすることを目標として、日本大学の吉垣純子らは、食塩摂取量を決めると考えられる塩味に対する感受性や好みに対して、唾液成分が与える影響を検討した。その結果、塩味感受性が高い被験者は安静時唾液(食事時間以外に常に少量分泌されている唾液)に含まれるナトリウムイオン濃度が高く、逆にカリウムイオン濃度は低いことが示された。塩味感受性および好みに唾液中イオン濃度が影響を及ぼすことが示唆された。

発表番号 62 (助成番号 2328)

受容細胞のトランスクリプトームデータを起点とした ナトリウム味の末梢および中枢機構に関する研究

樽野 陽幸

京都府立医科大学大学院医学研究科細胞生理学

本研究は、塩分摂取過多による高血圧などの生活習慣病を背景に、塩味受容・認識のメカニズムを解明することを目的としている。特にナトリウム味として知られる塩味の感覚を司るナトリウム味細胞の研究が焦点である。これまでにナトリウム味細胞の細胞内情報伝達機構の一部が明らかになっている。しかし、ナトリウム味のメカニズム、特にナトリウムセンサー分子のサブユニット構成やナトリウム味細胞の分化や維持に関わる分子機序、体液バランスの異常がナトリウム味への嗜好性に与える中枢機序は未解明のままである。

本研究ではシングルセルトランスクリプトームを起点としたナトリウム味細胞での ENaC (上皮性ナトリウムチャネル) サブユニット発現の解析、および、ナトリウム味細胞の分化機構の解明を主な目標とした。

研究手法としては、マウスの茸状乳頭味蕾細胞の単一細胞 RNA シーケンス、バイオインフォマティクス解析、免疫組織化学染色、オプトジェネティクス、インターセクショナルターゲティング、コンディショナルノックアウトマウスの作出などが含まれる。

研究結果として、ナトリウム味細胞の ENaC サブユニットの発現パターンが明らかとなり、さらに、ナトリウム味細胞に特異的に発現する転写因子のコンディショナルノックアウトの解析から、ナトリウム味細胞の分化・維持に関わる分子機序の一端が明らかとなった。

今後、それぞれの ENaC サブユニットがナトリウム味の受容にどのように寄与しているか解析する必要がある。さらに、今回作出したツールを駆使したナトリウム味の嗜好性制御機構などの中枢機序の研究の進展が期待される。

(要約)

塩分摂取過多による生活習慣病を背景に、塩味の受容・認識メカニズムを解明することを目指す京都府立医科大学の樽野は、トランスクリプトーム解析による塩味受容細胞の詳細な解析を行った。その結果、塩味センサー分子のサブユニット構成や塩味細胞の分化や維持に関わる分子機序に関する重要な知見が得られた。

〒106-0032

東京都港区六本木7-15-14塩業ビル3階
公益財団法人ソルト・サイエンス研究財団
第36回助成研究発表会要旨集(Web)

Tel : 03(3497)5711 Fax : 03(3497)5712

URL : <https://www.saltscience.or.jp>

E-mail : saltscience@saltscience.or.jp