

国立大学法人 東京農工大学
農学部附属硬蛋白質利用研究施設報告 第64号 (評価報告)

Report
of
Scleroprotein and Leather Research Institute
No. 64
2021

Scleroprotein and Leather Research Institute,
Faculty of Agriculture
National University Corporation
Tokyo University of Agriculture and Technology
Fuchu, Tokyo, Japan

目次

研究施設報告第 64 号発刊に当たって -----	3
参与研究員 -----	4
令和元年度参与研究員会議について -----	4
1. 第 3 期中期目標・計画 (平成 28 年度～令和 2 年度) に基づく施設活動 ----	5
1.1 硬蛋白質利用研究施設の第 3 期 (平成 28 年度～令和 2 年度) 中期目標・中期計画 -----	6
1.2 令和 2 年度 (第 5 年次) の中期計画と実施状況 -----	6
1.2.1 研究力の維持と発展拡大	
1.2.2 研究分野の発展のための教育研究への協力、社会貢献	
2. 令和元年度の研究実績 -----	11
2.1 令和元年度研究内容の概要 -----	11
2.1.1 基礎研究部門	
2.1.2 皮革研究部門	
2.1.3 研究協力協定に基づく研究	
2.2 令和元年度研究実績等をまとめた研究業績一覧表 -----	17
2.3 令和元年度研究業績 -----	18
2.3.1 基礎研究部門の研究実績一覧	
2.3.2 皮革研究部門の研究業績一覧	
2.3.3 東京都立皮革技術センターの研究協力協定に基づく研究業績	
2.3.4 日本ハム株式会社の研究協力協定に基づく研究業績	
2.3.5 株式会社ニッピの研究協力協定に基づく研究業績	
3. 令和 3 年度以降の計画 -----	32
4.1 基礎研究部門	
4.2 皮革研究部門	
4. 評価・意見と今後の対応 -----	36
5.1 現在の研究内容	
5.2 教育支援・研究支援	
5.3 社会貢献	
5.4 次年度以降の計画	
5.5 その他	
資料-1 令和 2 年度会議議事録 -----	42
別表 硬蛋白質利用研究施設専任研究員、兼任研究員および客員教員 -----	43

研究施設報告第 64 号発行に当たって

第 2 期中期目標・中期計画の最終年度(第 5 年度)である今年度も、第 2 期目標と計画のもと、研究施設としての活動が開始されました。また、引き続き本研究施設の研究内容を補完するために、東京都立皮革技術センター、日本ハム株式会社、株式会社ニッピとの研究協力協定を継続進行して、研究領域の充実・拡大を図ってまいりました。

一昨年の冬から今年の春にかけて始まった新型コロナウイルスによるパンデミック(第 1 波)は一向に収まる気配を見せず、今年の冬からは変異型ウイルスによる本当の意味での第 2 波が始まっています。およそ 100 年前に発生したスペイン風邪も 3 年以上にわたり大きな波を繰り返していたことを考えますと、今回のパンデミックもあと数年は継続するものと予想され、インフルエンザ並に予防接種が普及しない限り出口は見えてこないと思います。このような世情から今年度の参与研究員会議も電子メールによる審議とせざるを得ませんでした。3 週間程度の審議期間を設けましたが、参与研究員の皆様には令和 2 年度の活動状況、研究内容、令和 3 年度以降の研究計画についての評価をいただきました。研究施設としての研究活動についてはおおむね高い評価を頂きましたが、国際交流や社会貢献等の項目についてはやや低い評価となりました。これらにつきましては with コロナ/post コロナを見据えた新たな試みを第 3 期中期目標・中期計画に組み込んでいく必要があるものと痛感しております。このたび大変お忙しい時期にご評価いただきました参与研究員各位には厚く御礼申し上げます。今後とも、学内や連携している諸大学、企業や試験研究機関との連携をより一層進めたいと考えておりますので、今後とも研究施設の活動にご理解いただき、ご支援の程、よろしくお願い申し上げます。

令和 3 年 3 月 3 1 日

東京農工大学農学部附属
硬蛋白質利用研究施設長
新井 克彦

硬蛋白質利用研究施設 参与研究委員

(令和2年4月1日現在)

東 徳洋	宇都宮大学農学部 教授
天野 聡	(株)資生堂インキュベーションセンター バイオ・マテリアル開発グループ
白岩 雅和	茨城大学農学部 教授
関根 正裕	早稲田大学 環境総合研究センター
西山 敏夫	(株)ホーマイオン研究所顧問・本学名誉教授
水野 一乗	(株)ニッピ・バイオマトリックス研究所 所長
村上 博	日本ハム(株)中央研究所 シニアマネージャー
吉村 圭司	(一社)日本皮革産業連合会 事務局長
渡辺 敦夫	食品膜・分離技術研究会 会長
和田義明	(株)タケショー

(敬称略 五十音順)

令和2年度 参与研究員会議実施概要 (メール審議)

審議期間 令和3年3月9日(火)～ 令和2年3月26日(金)

第3期中期目標・計画（令和2年度）に基づく施設活動

以下の内容は、平成28年度の硬蛋白質利用研究施設研究員会議で承認された第3期中期目標・中期計画であり、研究施設のホームページで公開している。

1.1 硬蛋白質利用研究施設の第3期（平成28年度～令和2年度）中期目標・中期計画

第2期（平成22～27年度）において、学内における再編・統合については、種々の議論があったが実現はしなかった。今後、農学部において本研究施設の研究基盤を持って組織再編する状況ができれば積極的に検討することを考えている。しかし、その状況が出来るまでは本研究施設の設置目的を達成するために、現有の力を集積し自己努力をさらに推し進め、外部研究資金の獲得、研究協力協定や客員教員、参与研究員の積極的活用、共同研究等による研究開発領域拡大等を図り、本研究施設の研究力の維持と拡大、それを基盤とした教育研究への積極的な参画、研究成果の継続的な発信による社会貢献を果たし、研究施設としての機能の発展拡大を目指す。

【中期目標・中期計画】（平成28年度～令和2年度）

中期目標：

- (1) 設置目的である「(1) 皮革および関連産業に対する学術的、技術的支援、ならびに人材育成に寄与する研究・教育、(2) 動物生産の副産物の主成分であるコラーゲンを始めとする硬タンパク質資源の総合的高度利用に寄与する研究を行う」ための研究基盤を発展拡大する。
- (2) 研究分野発展のための人材育成の重要性から、学部、大学院の教育、ならびに社会人教育を積極的に推進し、社会への研究成果の報告などの情報発信を強めて教育と研究支援の向上を図る。

中期計画：

- (1) 研究力の維持と発展拡大
 1. 硬タンパク質の高度利用に関する研究を踏まえて基盤研究を中心に行い、応用的研究を企業等の外部研究機関との共同研究を中心に積極的に進める。
 2. 科研費等の競争的研究資金の導入を積極的に行う。また、本研究施設を核とした大型競争的研究資金の獲得に向けた研究施策の策定に努める。
 3. 研究協力協定に基づく研究領域の補完を図り、客員教員、参与研究員等の活用や寄附講座の誘致に努める。

4. 世界トップレベルの外国人研究者と国際共同研究を行い、国際共著論文数を増加させる。

(2) 研究分野の発展のための教育研究への協力、社会への貢献

1. 農学部協力教員及び大学院担当教員として、講義・演習・実験を担当し、動物資源科学および関連分野の教育支援にあたる。また、AIMES等の派遣留学生に対応した講義・実習を支援する。
2. 研究施設が長年に亘り培った硬タンパク質および関連生体分子に関する科学知識ならびに開発技術情報をもとに、社会貢献の一環として硬タンパク質等の利用に関する理解を高めるための啓蒙活動に努める。
3. 本研究施設独自の社会人教育のための教育訓練のプログラムを含む研修制度や研修認定制度の設置に努める。

1. 2 令和2年度（第五年次）の中期計画と実施状況

1. 2. 1 研究力の維持と発展拡大

【計画-1】 硬タンパク質の高度利用をふまえて、基礎から応用にわたる研究領域を企業等外部研究機関との共同研究を中心に積極的に進める。

【令和2年度の目標】

硬タンパク質の基礎研究や応用研究の推進のため、研究機関や企業との共同研究を進め、硬タンパク質研究の拡大を図って行く。

- 1) 大学や公的機関：国公立大学、公設研究機関との間に4件の共同研究を進める。
- 2) 企業との共同研究：企業との共同研究を5件以上締結し、共同研究を進める。
- 3) 学術指導：学術指導を積極的に進める。

【令和2年度の実績】

硬タンパク質の基礎研究や応用研究の推進のため、下記の研究機関や企業との共同研究を進め、硬タンパク質研究の拡大を図っている。

- 1) 大学や公的研究機関との共同研究や研究協力（13件）：農林水産省動物医薬品検査所、日本中央競馬会・競走馬総合研究所、（一社）動物再生医療推進協議会、（株）日本ハム中央研究所、（株）ニッピ・バイオマトリックス研究所、信州大学医学部、日本医科大学医学部、兵庫県立工業技術センター皮革工業技術支援センター、東京都立皮革技術センター、名古屋大学生命農学研究科、福島大学農学群食農学類、神戸薬科大学薬学部、名城大学薬学部
- 2) 企業の研究機関との共同研究、受託研究（10件）：
- 3) 研究指導（1件）：都立皮革技術センター

目標値を達成しており、硬タンパク質の高度利用に関する研究を推進している。

【計画-2】 科研費等競争的研究資金の導入を積極的に行う。また、本研究施設を核とした大型競争的研究資金の獲得に向けた研究施策の策定に努める。

【令和2年度の目標】

科研費および農水省関連の競争的資金の申請を積極的に行い、採択に向けた努力を行う。

【令和2年度の実績】

- 1) 科研費（代表）基盤研究（C）2件； 科研費（分担）・基盤研究(S)1件、(B)3件、(C)1件
- 2) 研究力維持と発展拡大のために、以下の共同研究を行った。
 - ・農林水産省：動物用医薬品対策事業を実施している。

概ね目標を達成しており、次年度の応募も積極的に進めている。

【計画－3】研究協力協定に基づく研究領域の補完を図り、客員教員、参与研究員等の活用や寄附講座の誘致に努める。

【令和2年度の目標】

共同研究の枠組みから発展させ、寄附講座の誘致に努める。

【令和2年度の実績】

- 1) 研究協力協定に基づく研究は、3研究機関と連携し（2.1.3）に示すように今年度も研究領域の補完に努めた。
- 2) 研究協力協定に基づく3研究機関から、客員教授3名、客員准教授2名の客員教員を任用した。
- 3) 本年度の参与研究員は10名となった（令和2年4月現在の参与研究員リスト：別表参照）。

概ね目標を達成しており、次年度の応募も積極的に進めている。

【計画－4】世界トップレベルの外国人研究者と国際共同研究を行い、国際共著論文数を増加させる。

【令和2年度の目標】

研究の国際化を図るため積極的に国際共同研究を進め、共著論文を執筆する。

【令和2年度の実績】

特になし

国際共同研究ができておらず、今後の問題である。目標は達成されていない。

1. 2. 2 研究分野の発展のための教育研究への協力、社会への貢献

【計画-1】農学部の協力教員及び大学院担当教員として、講義・演習・実験を担当し、動物資源科学および関連分野の教育支援にあたる。

【令和2年度の目標】

農学部、農学府の講義・実習を担当する。

【令和2年度の実績】

- 1) 農学部（学部）、農学府（修士課程）、連合農学研究科（博士課程）での教育研究支援を行っている。現在、卒業論文研究で農学部・生物生産学科4名、応用生物科学科6名、修士論文研究で農学府・生物生産科学専攻3名、応用生命化学専攻4名、国際環境農学専攻1名および連合農学研究科・生物生産科学専攻1名、応用生命科学専攻2名、生物システム応用科学府食料エネルギー科学専攻1名、共同サステナビリティ専攻1名の合計23名の学生の教育並びに研究指導を行っている（学部10名、修士8名、博士5名）。
- 2) 留学生関連の教育については、新型コロナウイルス感染症によるパンデミックのため、全てのプログラムが中止となった。

農学部、農学府の講義・実習を担当し、計23名の学生の研究指導を行っており、概ね目標は達成した。

【計画-2】研究施設が長年に亘り培った硬タンパク質および関連生体分子に関する科学知識ならびに開発技術情報をもとに、社会貢献の一環として硬タンパク質等の利用に関する理解を高めるための啓蒙活動に努める。

【令和2年度の目標】

硬蛋白質に関連するセミナーを開催し、啓蒙活動に努める。

【令和2年度の実績】

コロナ禍のため、全ての事業が中止になったため、目標は達成できなかった。

【計画-3】本研究施設独自の社会人教育のための教育訓練のプログラムを含む研修制度や研修認定制度の設置に努める。

【令和2年度の目標】

社会人の教育プログラムを開発する。

【令和2年度の実績】

今年度は、社会人を対象とした事業は実施できなかったが、博士課程への社会人入学のための広報活動に努めた。目標は達成できていない。

2. 令和2年度の研究実績

令和2年度の本研究施設の研究に関する研究実績概要 2.1 に示した。硬蛋白質基礎研究部門 (2.1.1) および皮革研究部門 (2.1.2) の現在進めている研究プロジェクトあるはテーマの項目とその概要を記載した。これらの内容は参与研究員会議で報告した。

2.2 に令和2年度の研究実績一覧ならびに外部研究資金を記載した。本年度の学術論文は掲載論文10報であり、前年と比べて大幅に増加した(令和元年度;掲載論文2報)。学会発表は9件であり例年並であり、これらの研究発表が論文化に繋がるよう努力したい。講演・セミナーは6件あり、特許出願は2件であった。研究資金としては、科学研究費補助金の代表2件、分担5件であった。さらに産学連携研究費、奨学寄付金などの外部研究資金については、前年と比較してやや減少した。今後は、大型競争的資金の獲得や共同研究や寄付講座の獲得などをさらに積極的に行っていくことが課題である。

2. 1 令和2年度研究内容の概要

2. 1. 1 基礎研究部門

硬タンパク質とこれに関連する生体高分子の特性と生物機能を、細胞、組織、臓器、個体レベルで分子生物学的、細胞生物学的に解析し、新しい生物機能をもつ有用素材開発や生体機能制御をめざした基礎研究を中心に研究活動を推進している。

一般社団法人動物再生医療推進協議会において、監事並びに「有効性に係わる細胞の品質管理 WG」委員として協議会の運営に参画している。

1) 動物再生医療における基盤整備に関する研究

農林水産省との共同研究並びに科研費により、間葉系幹細胞の同定のための分子マーカーとしてインドールアミン-2,3-ジオキシゲナーゼ-1 (IDO-1) に着目し、その組換えタンパク質の精製とそれに対する3種類のモノクローナル抗体の樹立に成功した。現在、これらの抗体の特性について解析している。

日本中央競馬会との共同研究により、ウマ iPS 細胞の作製を試みた。ウマ胎児由来線維芽細胞に Oct4、Sox2、Klf4、LIN28、L-Myc、dominant negative p53 の6因子を組み込んだエピソーマルベクターをトランスフェクションし、ES細胞マーカーを発現するウマ iPS 細胞を3系統樹立した。このウマ iPS 細胞における三胚葉への分化能と奇形腫形成能を確認した。現在、樹立した iPS 細胞の間葉系幹細胞並びに腱細胞への分化誘導を試みている。

日本ハム・中央研究所との共同研究により、ブタ皮膚由来線維芽細胞3系統に Oct4、Sox2、Klf4、LIN28、L-Myc、dominant negative p53 の6因子を組み込んだエピソー

マルベクターをトランスフェクションし、ES 細胞マーカーを発現するブタ iPS 細胞を 4 系統樹立した。このブタ iPS 細胞における三胚葉への分化能と奇形腫形成能を確認した。現在、樹立した iPS 細胞の間葉系幹細胞並びに筋芽細胞への分化誘導を試みている。

2) 下等動物由来タンパク質の新機能探索に関する研究

クラゲの主要な細胞外マトリックスタンパク質であるメソグレインのプレビパチルス発現系による組換えタンパク質を大量合成系を確立した。このメソグレイン組換えタンパク質のコラーゲンの線維形成に与える影響についての検討を実施している。

2. 1. 2 皮革研究部門

硬タンパク質および関連生体高分子の構造と機能解析を基盤とした有用素材化技術、皮革等動物資源由来および関連物質の製造における新規利用に関する研究を行っている。

日本皮革技術協会の会長およびファンクショナルフィード学会の副会長を務めており、環境対応革に関連する事業、機能性素材の研究および啓蒙活動を行っている。

関係大学、公設試および企業との共同研究を積極的に展開しており、変形性関節症モデルマウスを用いた症状改善効果に関する研究、筋肉減少症モデルにおける筋肉量の改善に関する研究を実施している。また、科研費基盤研究 B「筋拘縮型エーラス・ダンロス症候群の病態解明に基づくデルマトン硫酸の統合的理解」において、ノックアウトマウスの解析および I 型コラーゲンとデコリンの相互作用に関する研究を推進した結果、論文が受理された。

1) 皮革関連事業

経済産業省「環境対応革」の事業として、都立皮革技術センターおよび兵庫県工業試験所 皮革指導所との共同研究で、皮革副産物の利用に関する研究を行った。また、(株)旭陽化学工業(株)、(株)シュガーレディ化粧品、(株)ドクターウエルネスとの共同研究で基原の異なるコラーゲン加水分解物の摂取効果に関する研究を行った。

2) 機能性食品や化粧品原料の効果・効能研究

機能性食品や化粧品原料の効果・効能を明らかにする目的で、動物モデルおよび細胞を用いて評価した。本年度は、新日本製薬(株)、(株)JIA アグリ社と共同研究を行った。加齢老化皮膚モデルを創製し、その評価を中心に研究を行った。

3) 運動器疾患における機能性食品の効果に関する研究

本年度は、ダイドードリンコ(株)との共同研究で鮭氷頭由来プロテオグリカンの変形性膝関節症の改善効果を補助する素材に関する研究を行った。また、(株)シュガーレディ化粧品、(株)ドクターウエルネス社が提供するコラーゲンの評価を行った。

(株)三菱ケミカルフーズ社との共同研究でオリーブ葉抽出物の筋管細胞の筋管形成能に関する研究を行った。

4) マスト細胞を中心とした疾患に関する研究

科学研究費 基盤 S で採択された研究課題「マスト細胞活性化症候群を基盤とする難治性炎症性病態の比較動物学的再定義」東京農工大学大学院 研究代表者 松田浩珍に参画し、変形性膝関節症モデルを用いた研究を行い、論文投稿した。

5) 神経細胞周囲の細胞外マトリクス構成分子群における老化変性

神経細胞周囲にはペリニューロナルネット (PNN) と呼ばれる特徴的な細胞外マトリクス構造が形成される。PNN はヒアルロン酸 (HA) とコンドロイチン硫酸プロテオグリカン (CSPG) らが凝集して形成する、巨大な分子複合体である。成体 (3 ヶ月齢) および老齢 (18 ヶ月齢) マウスの脳に存在する PNN 構成分子群を溶解度の違いに基づき、水溶性、界面活性剤可溶性、尿素可溶性の 3 画分に分画した。コンドロイチン硫酸 (CS) と HA の化学分析から、これらの PNN 構成分子は老化に伴い溶解度が上昇することが示唆された。HA の溶解度の増加は HA の分解によることが示唆された。また、老齢脳では CSPG の中でアグリカンの分解が亢進していた。よって、老齢脳では HA とアグリカンの分解によって、PNN の凝集性が低下することが示された。この加齢に伴う PNN の劣化が脳機能低下に関与する可能性がある。これらの成果を BBA-General Subjects 誌に投稿し受理された。

6) 大脳皮質の発達における細胞外マトリクス分子の機能解析

本研究では、神経発生におけるヒアルロン酸 (HA) の機能の解明を目指した。マウス脳における HA を定量したところ、胎生後期から生後初期にかけてその量が増加し、その後成長する過程で減少することが分かった。移動中の細胞は、HA 合成酵素 (HAS) のうち、Has2 と Has3 を発現することが示された。また、HA は、初代培養神経細胞の細胞体および神経突起の周囲に粒子状に存在しており、細胞と培養基質との接着面に集積していた。4-メチルウンベリフェロンによって HA の合成を阻害すると、神経突起身長が顕著に阻害されることから、HA が形成する細胞外マトリクスが神経細胞の形態形成に必要であることが明らかとなった。これらの成果を BBA-General Subjects 誌に投稿し受理された。

7) 食餌性ビタミン C の生理機能：ストレス応答における役割の解明

ビタミン C (VC) は、抗酸化作用を有しており、体内の活性酸素種を除去することで老化や生活習慣病、神経変性疾患の原因となる酸化ストレスの蓄積を抑えると考えられている。昨年度までに、ヒトと同様にビタミン C 合成酵素を欠損する ODS ラットを用い、2 週間のビタミン C 欠乏によって副腎からのグルココルチコイド分泌が増加することを示した。今年度は、その分子機構を探るため副腎の RNA-Seq 解析を行った。その結果、VC 欠乏によりグルココルチコイド合成に関わる遺伝子の発現が変動することが示された。つまり、2 週間の VC 欠乏により ACTH 非依存的に血中グルココルチコイド濃度が上昇し、その結果、下流遺伝子の発現が変動することが明らかとなった。過去の研究から VC 欠乏による脳機能の低下には酸化ストレスが関与すると考えられていたが、本研究により脳の酸化ストレスだけでなく、グルココルチコイド応答の異常な活性化が脳機能低下に寄与する可能性が示唆された。

2. 1. 3 研究協力協定に基づく研究

本研究施設の研究目的である「動物の硬タンパク質とこれに関連する生体分子の基礎から応用につながる動物資源利用の研究を総合的に発展させる」ために、研究領域を補完し拡充する目的で研究協力協定を結んでいる3研究機関との研究活動内容について、平成31年度の概要を以下に記す。

(1) 東京都立皮革技術センター：「皮革及び関連高分子利用分野の研究の充実とこの分野の学術及び科学技術の発展」のための研究協力

革産業振興対策補助事業「環境対応革開発実用化事業に関する研究」に関連し、「環境に配慮した製革技術の検討」において、本年度は、節水型及び省資源型処方による製革技術に関する研究を中心に行った。

(2) 日本ハム株式会社：「食肉生産に伴う硬タンパク質資源の高度利用研究の充実とこの分野の学術及び科学技術の発展」のための研究協力

本年度は3頭のブタ由来皮膚よりiPS細胞を計4系統樹立し、その1系統からiPS細胞由来間葉系幹細胞(iMSC)の誘導に成功した。このiMSCは骨、軟骨、脂肪への分化能を有し、MyoDファミリー遺伝子の導入により筋芽細胞マーカーを発現した。

(3) 株式会社ニッピ：「マトリックスタンパク質の機能開発研究のより一層の充実とこの分野の学術及び科学技術の発展」のための研究協力

ウマおよびブタiPSCを樹立するための細胞接着因子としてのiMatrix511(ラミニン-10)の有用性について検討したところ、ウマおよびブタiPSCが効率よく樹立できることが判明した。また、iMatrix221(ラミニン-4)上でブタiMSCに対し筋分化誘導をかけたところ、マトリゲル上と比較して筋分化効率を上昇させることが可能となった。

2. 2 令和 2 年度研究実績等をまとめた研究業績一覧表

(1) 研究施設（基礎研究部門、皮革研究部門）の研究業績一覧

	2 年度	元年度
1, 学術論文（原著論文）	10 報	(2 報)
2, 著書、解説	5 報	(2 報)
3, 特許および特許出願	0 件	(2 件)
4, 学会発表	9 件	(13 件)
5, 講演、セミナーなど	4 件	(6 件)
6, 学会役員、外部機関委員など	10 件	(12 件)
7, 学術論文審査など	11 件	(9 件)

(2) 硬蛋白質利用研究施設の研究資金

	2 年度	元年度
(1) 令和 2 年度 外部研究資金導入実績（間接経費、オーバーヘッドを含む）		
1. 科学研究費補助金	297 万円	(407 万円)
代表・基盤 (C) 2 件、		
分担・基盤(S) 1 件、分担・基盤(B) 1 件、分担・基盤(C) 1 件		
2. 農林水産省	200 万円	(200 万円)
3. 日本中央競馬会	300 万円	(300 万円)
4. 産学連携研究費		
(共同研究費) (9 件)	1890 万円	(1400 万円)
(受託研究費) (0 件)	0 万円	(0 万円)
(学術指導) (0 件)	0 万円	(0 万円)
5. 奨学寄付金 (3 件)	260 万円	(1221 万円)
合計	2947 万円	(3528 万円)

(2) 令和 2 年度 硬蛋白質利用研究施設 研究資金総額

	2 年度	元年度
外部研究資金	2947 万円	(3528 万円)
大学運営基盤経費	392 万円	(355 万円)
合計	3339 万円	(3883 万円)

(右側の括弧内は令和元年度実績)

3. 令和 2 年度研究業績

3. 1 基礎研究部門の研究実績一覧

1. 学術論文（原著論文：掲載論文 3 報）

1. Koshiba R, Oba T, Fuwa A, Arai K, Sasaki N, Kitazawa G, Hattori M, Matsuda H, Yoshida T. Aggravation of food allergy by skin sensitization via systemic Th2 enhancement. *International Archives of Allergy and Immunology*. In press.

食品アレルギーの発症メカニズムの解明のため、オボアルブミン特異的 T 細胞受容体を発現するマウスにオボアルブミンを含む食餌を給与したところ、IgE および IL-4 の血中濃度が上昇することを明らかにし、オボアルブミンによるアレルギーは Th2 型免疫応答であることを示した。

2. Kobayashi S, Fukuoka T, Kinoshita C, Sato K, Arai K, Watanabe G. Male-Biased Sex Ratio of Adult-Sized Loggerhead Turtles (*Caretta caretta*) Migrating to High-Latitude Summer-Restricted Foraging Grounds in the Northwest Pacific. *Pacific Science*. 2020. 74(2):147-158

最北端のアカウミガメの夏の営巣地である三陸海岸で 2013～2017 年に捕獲された 164 匹のアカウミガメの血清テストステロン濃度を測ることで性別を調査したところ、ほとんどの成体はオスであったが未熟なカメではオスとメスが見られた。ことことは海水温の高い夏の時期における移動における雌雄差を示唆している。

3. Kobayashi S, Endo D, Kondo S, Kitayama C, Ogawa R, Arai K, Watanabe G, Kawaguchi M. Investigating the effects of nest shading on the green turtle (*Chelonia mydas*) hatchling phenotype in the Ogasawara Islands using a field-based split clutch experiment. *Journal of Experimental Zoology*. 2020. 333(9): 629-636.

アオウミガメは温度依存的な性決定を有し、より暖かい環境温度ではオスよりメスになる。そこで、アオウミガメの集団繁殖地である小笠原諸島において日よけに孵卵環境を変化させたところ、性差並びに甲羅の形状などに差が出ることが明らかとなった。このことは人為的にアオウミガメの雌雄を制御でき、絶滅危惧種の保護に貢献しうる技術となる。

2. 総説、著書、解説（1 報）

1) 新井克彦. (2020) 第 14 章 下等動物由来コラーゲン. *コラーゲン 基礎から応用、硬蛋白質利用研究施設編*、142-148

硬蛋研開設 50 年を記念して出版した「コラーゲン」においてコラーゲンの進化に関して解説した。

3, 特許、その他 (0件)

4, 学会発表 (4件)

- 1) 榎本はるか、渋谷春輝、関晃太郎、新井克彦。「ブタ iPS 細胞の樹立と間葉系幹細胞への誘導」日本畜産学会第 128 回大会。九州大学。2021.3.27 福岡
- 2) 新井克彦、久保田博己、臼井達哉、服部俊治、田村周久、佐藤文夫、笠嶋快周。「ウマ iPS 細胞の樹立とその特性解析」第 33 回日本ウマ科学会学術集会。国際ファッションセンター。2020.11.30。東京
- 3) 久保田博己、榎本はるか、田村周久、佐藤文夫、笠嶋快周、新井克彦。「Nanog 強制発現によるウマ骨髄由来間葉系幹細胞の活性化について」第 33 回日本ウマ科学会学術集会。国際ファッションセンター。2020.11.30。東京
- 4) 佐藤耕太、須藤加澄、串田千帆、新井克彦、能田健。「犬脂肪組織由来間葉系幹細胞に対するバルプロ酸のプライミング効果」第 163 回日本獣医学会学術集会。2020.09.08。山口

5. 学会役員・委員、外部機関の委員など

- 1) 日本獣医学会・評議員 (新井)
- 2) 日本結合組織学会・評議員 (新井)
- 3) 日本再生医療学会。評議員 (新井)
- 4) 動物再生医療推進協議会 WG 委員 (新井)
- 5) 動物再生医療推進協議会・監事 (新井)

6. 学術論文審査 (0件)

3. 2 皮革研究部門の研究実績一覧

1. 学術論文 (原著論文: 掲載論文 7 報)

1. S Shimada, T Yoshizawa, Y Takahashi, Y Nitahara-Kasahara, T Okada, Y Nomura, H Yamada, T. Kosho, K Matsumoto. (2020) Backcrossing to an Appropriate Genetic Background Improves the Birth Rate of *Carbohydrate Sulfotransferase 14* Gene-deleted Mice. *Experimental Animals*, in press.
筋萎縮性エーロス・ダンロス症候群のモデルマウスの創出を行った。本疾患モデルマウスが、胎盤未成熟により出生率が低いことから、他の系統に戻し交配を行う事で出生率を改善する事が出来た。
2. T Hirose, S Mizumoto, A Hashimoto, Y Takahashi, T Yoshizawa, Y NittaharaI-Kasahara⁶⁾, N Takahashi, J Nakayama, K Takehana, T Okada, Y Nomura, S

Yamada, T Koshou¹, and T Watanabe. (2020) Systematic investigation of the skin in *Chst14*^{-/-} mice: a model for skin fragility in musculocontractural Ehlers-Danlos syndrome caused by *CHST14* mutations (mcEDS-*CHST14*). *Glycobiology*, 31, 137-150.

筋萎縮性エーロス・ダンロス症候群モデルマウスのデコリングリコサミノグリカンの糖鎖の構造変化を明らかにした。皮膚の脆弱性が認められ、コラーゲン線維構造およびデコリンの結合様式が変化した可能性が示された。

3. Aniya, Y Nomura, Fuedeng, K S Appiah and Y Fujii. (2020) Evaluation of Allelopathic Activity of Chinese Medicinal Plants and Identification of Shikimic Acid as an Allelochemical from *Illicium verum* Hook. f., *Plants*, 9, 684; doi:10.3390/plants9060684

薬用植物のアレロパシー活性をサンドイッチ法で評価した。スターアニスの主要成分であるシキミ酸が、レタスの幼根と胚軸の成長に対して強い阻害活性を示した。シキミ酸は、スターアニスに含まれるアレロケミカルであり、持続的な雑草管理に有効である。

4. E Tamaru, M Watanabe, Y Nomura. (2020) Dietary immature Citrus unshiu alleviates UVB- induced photoaging by suppressing degradation of basement membrane in hairless mice, *Heliyon* 6 e04218

未熟な温州ミカンの熱水抽出物が光老化モデルの皮膚状態を改善した。表皮細胞の異常増殖を抑制し、基底膜の破壊を抑制したことを明らかにした。

5. Sugitani K, Egorova D, Mizumoto S, Nishio S, Yamada S, Kitagawa H, Oshima K, Nadano D, Matsuda T, Miyata S. (2021) Hyaluronan degradation and release of a hyaluronan-aggreccan complex from perineuronal nets in the aged mouse brain. *Biochim Biophys Acta Gen Subj.* 1865, 129804. doi: 10.1016/j.bbagen.2020.129804. #Corresponding author

高齢マウス脳ではヒアルロン酸とアグリカンの分解によって、ペリニューロナルネットの凝集性が低下することが示された。この加齢に伴うペリニューロナルの劣化が脳機能低下に關与する可能性を提示した。

6. Nadanaka S*, Miyata S*, Yaqiang B, Tamura JI, Habuchi O, Kitagawa H. (2020) Reconsideration of the Semaphorin-3A Binding Motif Found in Chondroitin Sulfate Using Galnac4s-6st-Knockout Mice. *Biomolecules.* 10,1499. doi: 10.3390/biom10111499. *Co-first author

Semaphorin-3A はペリニューロナルネットのコンドロイチン硫酸に結合し神経機能を制御するが、結合に必要なコンドロイチン硫酸の構造は不明であった。本研究では糖鎖

非還元末端の非硫酸化 GalNAc 残基が Semaphorin-3A と結合することを明らかにした。

7. Takechi M, Oshima K, Nadano D, Kitagawa H, Matsuda T, Miyata S. (2020) A pericellular hyaluronan matrix is required for the morphological maturation of cortical neurons. *Biochim Biophys Acta Gen Subj.* 1864, 129679. doi: 10.1016/j.bbagen.2020.129679. #Corresponding author

神経発生におけるヒアルロン酸 (HA) の機能の解明を調べた。4-メチルウンベリフェロンによって HA の合成を阻害すると、神経突起身長が顕著に阻害されることから、HA が形成する細胞外マトリクスが神経細胞の形態形成に必要であることが明らかとなった。

2. 総説、著書、解説 (5報)

1. 渡部睦人、野村義宏 (2020) 第Ⅱ編 関節、第1章 コラーゲン (加水分解コラーゲン・非変性Ⅱ型コラーゲン) . 運動機能・認知機能改善食品の開発 監修 西川正純、シーエムシー出版 49-57

運動機能改善食品としてのコラーゲン加水分解物およびⅡ型コラーゲンの効果に関して解説した。

2. 野村義宏、KL Goh (2020) 第3章 コラーゲンの構造と物性. コラーゲン 基礎から応用、硬蛋白質利用研究施設編、36-42

硬蛋研開設 50 年を記念して出版した「コラーゲン」において構造と物性に関して解説した。特にコラーゲンの物性に関しては、IULTCS2019 での KL Goh の基調講演を基本として解説した。

3. 野村義宏 (2020) 水産動物由来の機能性食品の応用研究 *Food Style* 21, 21(8)40-44

水産物の高付加価値化を目指して研究を行ってきたサメの有効利用について解説した。サメ肉由来のペプチドおよびサメ皮由来のコラーゲン加水分解物の摂取により運動器疾患の改善効果が認められることを示している。

4. 宮田真路. (2020) 第4章 生体での機能. コラーゲン 基礎から応用、硬蛋白質利用研究施設編、43-

硬蛋研開設 50 年を記念して出版した「コラーゲン」において生合成と生体での機能に関して解説した。

5. Miyata S. Structural and functional remodeling of the extracellular matrix during brain development and aging. *Trends in Glycoscience and Glycotechnology* in press.

中枢神経系の発生と老化における細胞外マトリクスのリモデリングについて解説した。

3. 特許、その他 (0件)

4. 学会発表（5件）

1. 近藤将人、丸山拓馬、野村義宏、石原賢司、竹内卓人、朝山雄太、鈴木健吾
「微細藻類オーランチオキトリウムの口コモチブシンドローム改善効果」
ファンクショナルフード研究会 順天堂大学、東京 2021.01.09
2. 望月萌恵、田丸恵里菜、野村義宏、松本大志、太田涼介
「ビタミンC誘導体はコラーゲンの糖化に影響を与える」
日本農芸化学会 東北大学 2021.03.19
3. Shinji Miyata, Mina Takechi, Kenzi Oshima, Daita Nadano, Chihiro Sato, Ken Kitajima, Tsukasa Matsuda, Hiroshi Kitagawa. Formation of a ternary complex of hyaluronan/neurocan/tenascin-C during mouse embryonic cortical development (第43回日本神経科学大会 2020.7.29-8.1 オンライン開催)
4. Kei Sugitani, Shuji Mizumoto, Shuhei Yamada, Kenzi Oshima, Daita Nadano, Tsukasa Matsuda, Shinji Miyata. Age-related changes in the biochemical properties of perineuronal nets in the mouse brain (第93回日本生化学会大会 2020.9.14-16 オンライン開催)
5. 宮田真路, 橋本綾菜, 野村義広.
Chst14 欠損により糖鎖修飾に異常が生じるプロテオグリカンの探索(科学研究費補助金基盤(B)筋拘縮型エーラス・ダンロス症候群の病態解明に基づくデルマトン硫酸の統合的理 第3回班会議 2020.12.12 オンライン開催)

5. 講演、セミナーなど（4件）

- 1) 野村義宏「コラーゲン」（都立皮革技術センター台東支所 2020.9.24 東京）
- 2) 野村義宏「変形性関節症動物モデルの紹介とその解析法」EbHW 第6回ヘルスケア効果計測技術セミナー 2020.12.11 オンラインセミナー
- 3) 野村義宏「コラーゲンおよび関連物質の光老化皮膚改善効果」機能性食品用ペプチド研究分科会・美容アンチエイジング食品研究分科会 合同大会 2021.2.22
- 4) 宮田真路. コラーゲンの生合成と生体における機能（機能性食品用ペプチド研究分科会・美容アンチエイジング食品研究分科会 合同大会 2021.2.22. 東京）

6. 学会役員・委員、外部機関の委員など

- 1) 日本皮革技術協会・理事長（野村）
- 2) 日本皮革研究所・評議員（野村）
- 3) ファンクショナルフード研究会副会長（野村）
- 4) ヒアルロン酸機能性研究会・副会長（野村）
- 5) 日本学術振興会・特別研究員等審査委員（宮田）

7. 学術論文審査（11件）

Experimental and Therapeutic Medicine 5; Entropy 1; Skin Pharmacology and Physiology 1; JB-21-01-0004, JB-20-10-0404, BAG-2020-001, 643060

3.3 研究協力協定に基づく研究機関の研究実績一覧

3.3.1 東京都立皮革技術センターの研究協力協定に基づく研究業績

1. 学術報告（なし）
2. 総説、著書、解説（なし）
3. 学会発表（0件）
4. 講習会（1件）
 - 1) 寺嶋眞理子、日本エコレザーとは？、NPO 法人日本皮革技術協会 革・革製品の知識講習会
京都会場 2020.10.13、2020.10.14、2020.10.15
東京会場 2020.10.20、2020.10.21、2020.10.22

3.3.2 日本ハム株式会社の研究協力協定に基づく研究業績

1. 学術報告（1件）
 - 1) 仲田里瀬 1、佐藤三佳子 2、友永省三 1（1 京大院農、2 日本ハム中研）
Effects of Dietary Defatted Meat Species on Metabolomic Profiles of Murine Liver, Gastrocnemius Muscle, and Cecal Content., *Metabolites*, 10(12) ,503 (2020); <https://doi.org/10.3390/metabo10120503>
In both humans and animals, meat not only constitutes one of the sources of protein, but also includes various water-soluble bioactive substances such as imidazole peptides (carnosine and anserine) and taurine. Previous studies demonstrated that dietary meat species could differently affect physiological functions; however, the mechanisms of this remain unclear. To explore the physiological effects of dietary defatted meat species, especially on metabolism, we investigated their influence on the metabolomic profiles of the liver, gastrocnemius muscle, and cecal content in mice. Casein (control) or a defatted meat species (beef leg, pork leg, chicken leg, or chicken breast) was supplied as the major protein source in the diet for four weeks, and metabolism-related molecules were measured by gas chromatography–mass spectrometry. We found that various metabolite levels in tissues and cecal content differed according to the types of dietary protein consumed. Specifically, differences in carnosine, 1,5-anhydro-glucitol, inositol, butyric acid, and propionic acid were clearly observed. Among them, the highest

carnosine intake by dietary pork leg was clearly related to the highest carnosine level in the liver. In addition, taurine intake was suggested to be linked to some metabolic pathways including taurine and hypotaurine metabolism in cecal content. These results provide additional knowledge of the effects of different dietary meat species on human and animal health.

2. 総説、著書、解説（1件）

- 1) 佐藤三佳子（日本ハム中研） 食肉由来成分イミダゾールジペプチドの脳機能改善効果とその分子基盤 月間「細胞」, 52(7), 24-25(2020)
食肉由来成分であるイミダゾールジペプチドの脳機能改善メカニズムとして、エクソソームを介した脳腸相関の可能性について紹介した。

3. 学会発表（1件）

- 1) 林 七虹¹、永塚 晴奈¹、佐藤 三佳子²、後藤 一成¹(¹立命館大 スポーツ健康科学研究科、²日本ハム中研), イミダゾールジペプチドの長期摂取が運動に伴うヘプシジンの分泌応答に及ぼす影響に与える影響、第75回日本体力医学会
【背景】イミダゾールジペプチドは抗酸化作用を有する。したがって、運動に伴うヘプシジン分泌をはじめとした鉄代謝に影響を及ぼす可能性が考えられる。
【目的】28日間のイミダゾールジペプチドの摂取が、持久性ランニング後のヘプシジン分泌応答に及ぼす影響を検討した。
【方法】17名の健常男性を、(1)イミダゾールジペプチドを摂取する群(ITG; n=9)と(2)プラセボを摂取する群(PLA; n=8)に分類した。被験者は1日1.5gの量を28日間摂取した。介入前後で最大酸素摂取量70%の強度で80分間のトレッドミルランニングを実施し、運動に伴う鉄代謝を評価した。有意水準は $p < 0.05$ とした。
【結果】安静時の血清フェリチン濃度は、介入前後での有意差はなかった(ITG $p = 0.08$, PLA $p = 0.96$)。両群ともに運動に伴う血清鉄濃度の上昇およびハプトグロビン濃度の低下が認められたが($p < 0.05$)、介入前後での有意差は認められなかった。血清ヘプシジン濃度は、両群ともに運動終了3時間後に有意な上昇が認められた($p < 0.05$)。ITGにおけるヘプシジンの濃度曲線下面積(AUC)は、PLAと比較して有意に低値を示した($p = 0.02$)。
【考察】イミダゾールジペプチドのもつ抗酸化作用が免疫や炎症反応などを介してヘプシジンに影響を及ぼしたことが予想される。
【結論】28日間のイミダゾールジペプチドの摂取は、運動に伴うヘプシジン濃度の上昇を抑制した。

3.3.3 株式会社ニッピの研究協力協定に基づく研究業績

1. 学術報告（3件）

1. Taga, Y., Kusubata, M. & Mizuno K. (2020) Quantitative Analysis of the Positional Distribution of Hydroxyproline in Collagenous Gly-Xaa-Yaa Sequences

by LC-MS with Partial Acid Hydrolysis and Precolumn Derivatization, Analytical chemistry. 92, 8427-8434.

Collagen is extensively modified by various enzymes, including prolyl hydroxylases. Pro residues at the Yaa position of repeating Gly-Xaa-Yaa amino acid sequences are mostly hydroxylated to 4-hydroxyproline (4Hyp), which is essential for the thermal stability of collagen triple helix. In contrast, Pro residues at the Xaa position are rarely modified to 3Hyp and 4Hyp, the biological function of which is poorly understood. Overall estimation of prolyl hydroxylation with discrimination of the position (Xaa or Yaa) and hydroxylation type (4Hyp or 3Hyp) has been difficult to perform using traditional methods. In the present study, we developed a novel position-specific analytical method featuring LC-MS detection of collagenous Gly-containing dipeptides, including Gly-Pro, Pro-Gly, Gly-4Hyp, Gly-3Hyp, and 4Hyp-Gly, after partial acid hydrolysis and precolumn derivatization using 3-aminopyridyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate (APDS). We performed acid hydrolysis at 55 °C with HCl/trifluoroacetic acid/water (2:1:1, v/v) to avoid peptide inversion and imbalanced peptide generation observed for collagenous model peptides. The positional distribution of Pro, 4Hyp, and 3Hyp can be calculated from the relative concentrations of the APDS-derivatized dipeptides, and in combination with amino acid analysis, we can determine their absolute contents at the Xaa and Yaa positions. Bovine type I, III, and V collagens were analyzed by the established method, and the amount of 4Hyp was higher than that of 3Hyp at the Xaa position in type I and III collagens. In addition, we clearly showed that collagen extracted from earthworm cuticles has an extremely high content of Xaa position 4Hyp, reaching over 10% of the total amino acids.

2. Liu, X., Long, X., Gao Y., Liu, W., Hayashi, T., Mizuno, K., Hattori S., Fujisaki H., Ogura, T., Onodera, S., Wang, D. & Ikejima, T. (2020) Type I collagen inhibits adipogenic differentiation via YAP activation in vitro, *Journal of cellular physiology*. 235, 1821-1837.

Extracellular matrix (ECM) has a marked influence on adipose tissue development. Adipose tissue formation is initiated with proliferation of preadipocytes and migration before undergoing further differentiation into mature adipocytes. Previous studies showed that collagen I (col I) provides a good substratum for 3T3-L1 preadipocytes to grow and migrate. However, it remains unclear whether and how col I regulates adipogenic differentiation of preadipocytes. This study reports that lipid accumulation, representing in vitro adipogenesis of the 3T3-L1 preadipocytes or the mouse primary adipocyte

precursor cells derived from subcutaneous adipose tissue in the inguinal region is inhibited by the culture on col I, owing to downregulation of adipogenic factors. Previous study shows that col I enhances 3T3-L1 cell migration via stimulating the nuclear translocation of yes-associated protein (YAP). In this study, we report that downregulation of YAP is associated with in vitro adipogenesis of preadipocytes as well as with in vivo adipose tissue of high-fat diet fed mice. Increased expression of YAP in the cells cultured on col I-coated dishes is correlated with repression of adipogenic differentiation processes. The inactivation of YAP using YAP inhibitor, verteporfin, or YAP small-interfering RNA enhanced adipogenic differentiation and reversed the inhibitory effect of col I. Activation of YAP either by the transfection of YAP plasmid or the silence of large tumor suppressor 1 (LATS1), an inhibitory kinase of YAP, inhibited adipogenic differentiation. The results indicate that col I inhibits adipogenic differentiation via YAP activation in vitro.

3. Si, L., Fu, J., Liu, W., Hayashi, T., Nie, Y., Mizuno, K., Hattori, S., Fujisaki, H., Onodera, S. & Ikejima, T. (2020) Silibinin inhibits migration and invasion of breast cancer MDA-MB-231 cells through induction of mitochondrial fusion, *Molecular and cellular biochemistry*. 463, 189-201.

Human triple negative breast cancer cells, MDA-MB-231, show typical epithelial to mesenchymal transition associated with cancer progression. Mitochondria play a major role in cancer progression, including metastasis. Changes in mitochondrial architecture affect cellular migration, autophagy and apoptosis. Silibinin is reported to have anti-breast cancer effect. We here report that silibinin at lower concentrations (30-90 μ M) inhibits epithelial to mesenchymal transition (EMT) of MDA-MB-231, by increasing the expression of epithelial marker, E-cadherin, and decreasing the expression of mesenchymal markers, N-cadherin and vimentin. Besides, silibinin inhibition of cell migration is associated with reduction in the protein expression of matrix metalloproteinases 2 and 9 (MMP2 and MMP9) and paxillin. In addition, silibinin treatment increases mitochondrial fusion through down-regulating the expression of mitochondrial fission-associated protein dynamin-related protein 1 (DRP1) and up-regulating the expression of mitochondrial fusion-associated proteins, optic atrophy 1, mitofusin 1 and mitofusin 2. Silibinin perturbed mitochondrial biogenesis via down-regulating the levels of mitochondrial biogenesis regulators including mitochondrial transcription factor A (TFAM), peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator (PGC1) and nuclear respiratory factor (NRF2). Moreover, DRP1 knockdown or silibinin

inhibited cell migration, and MFN1&2 knockdown restored it. Mitochondrial fusion contributes to silibinin's negative effect on cell migration. Silibinin decreased reactive oxygen species (ROS) generation, leading to inhibition of the NLRP3 inflammasome activation. In addition, knockdown of mitofusin 1&2 (MFN 1&2) relieved silibinin-induced inhibition of NLRP3 inflammasome activation. Repression of ROS contributes to the inhibition of the expression of NLRP3, caspase-1 and IL- β proteins as well as of cell migration. Taken together, our study provides evidence that silibinin impairs mitochondrial dynamics and biogenesis, resulting in reduced migration and invasion of the MDA-MB-231 breast cancer cells.

2. 総説、著書、解説（3件）

コラーゲン 基礎から応用 東京農工大学硬蛋白質利用研究施設編 インプレス社
「コラーゲンファミリー」水野一乗
「生合成（2）：翻訳後修飾」多賀祐喜
「哺乳動物由来コラーゲン」田中啓友、服部俊治

3. 学会発表（2件）

藤崎ひとみ、二木杉子、山田雅司、関口清俊、林利彦、服部俊治「I型コラーゲングル上培養によりヒト肺ガン細胞株 A549 に誘導される上皮間葉転換(EMT)様変化と、TGF- β 1 処理により誘導される EMT の比較」 第 72 回細胞生物学会大会、Web 2020.06.09-10

上皮間葉転換（以下 EMT）誘導は、ガン細胞の浸潤を促進すると言われている。I 型コラーゲン（以下 Col.I）を分子状で細胞培養に用いると、株化ガン細胞を含む多くの細胞の移動を促進し、かつ一部の上皮細胞には EMT を誘導することが報告されている。Col.I は、ゲル状の線維（Col.I ゲル）の再構成が可能で培養系に用いられているが、Col.I ゲル上培養における EMT 誘導機序に関してはほとんど知見がない。我々は、以前本大会で、ヒト肺ガン細胞株 A549 細胞の Col.I ゲル上培養では、2次元コート培養皿上培養よりも明瞭に EMT の指標の 1 つ、カドヘリンスイッチが誘導されることを報告した。一方、ゲル上培養でもコート培養でも、vimentin 発現量に変化がないなど、TGF- β 1 処理で誘導される典型的な EMT とは異なる特徴があることを見出し、Col.I ゲル上培養で誘導される変化に焦点をあてて検討してきた。Col.I ゲル上で培養した A549 細胞と、TGF- β 1 を添加して培養した細胞とを比較すると、この 2 つの培養条件の細胞にはカドヘリンスイッチが誘導されるが、N-カドヘリンの局在は異なった。TGF- β 1 処理細胞には細胞間接着はほとんど見られず、N-カドヘリン集積もほとんどないのに対し、Col.I ゲル上培養細胞では密接な細胞間接着が形成され、細胞間に N-カドヘリンが集積していた。タイムラプス観察により細胞移動距離および速度を定量する

と、Col.I ゲル上では TGF- β 1 処理細胞に比べて、ともに抑制されていた。これらの結果から、Col.I ゲル上培養により、A549 細胞は、単独遊走を抑制されたため、Col.I ゲル線維への接着により発現が増加した N-カドヘリンを介して、近接の細胞間で細胞間接着が形成されたことが示唆される。この現象は、Col.I が会合体形成状態に依存して、ガン細胞の浸潤を調節している可能性を示唆している。

2. 村澤裕介、八木志乃海、熊澤雄基、陽暁艶、水野一乗「コラーゲン、ラミニン、ヒアルロン酸を用いた新規 3 次元細胞培養基材の開発と培養検討」 第 52 回日本結合組織学会学術大会 web 2020.06.19-20

【背景】近年、細胞臓器の生体外培養に必須である 3 次元細胞培養基材（3D 培養 ECM）のニーズが高まっている。3D 培養 ECM の現在世界標準として、幅広いシェアを持つのが、マトリゲルである。マトリゲルは使い勝手の良い、汎用性のある優れた 3D 培養 ECM ではあるが、欠点も多い。故に、マトリゲルの欠点を補い、同等以上の能力を持つ 3D 培養 ECM 製品を開発すれば、マトリゲルに代わる世界標準として大きな利益を生むと予想される。

【目的】本研究では、マトリゲル代替となる新規細胞培養基材の開発を目的とし、コラーゲンをメインな材料として、細胞培養に有用、かつ、ヒトに対して安全な三次元培養基材の構築と、培養検討を課題とした。

【方法】材料として、ヒアルロン酸、ラミニン 511E8、ラミニン 111E8、I 型コラーゲン、ゼラチン、エラスチン、ポリアクリルアミド、架橋剤としてゲニピン、EDC/NHS を使用、検討、有望な培養基材のレシピを作成した。試作ゲルを用いて培養検討を行った（比較対照として、マトリゲルを用いた）。

【結果と考察】使い勝手の良い製品（4℃で液状、37℃でゲル化する基材）、細胞培養で有用な製品、この二つを目的に濃度、混合比を検討した結果、有望試作レシピとして固定化したのは、ヒアルロン酸とラミニン 511E8 のゲニピン架橋物と低エンドトキシンコラーゲン（I+III コラーゲン）とゼラチンを混合したレシピであった。本試作品を今後、CHL511（Collagen-Hyaluronan-Laminin511）と呼称する。マウス発生期腎形成を用い、試作ゲルの検討を行った結果、CHL511 ゲルは、培養 7 日後 E12.5 発生期腎組織培養において、生体内に近い尿管芽分枝と伸張、腎胞形成（糸球体前駆）を誘導した。又、尿管芽の分岐数、伸長ともに試作ゲルを使用した方がマトリゲルより優れていた。糸球体前駆組織の数を比較したところ、マトリゲルを用いた培養に比べ、培養 7 日目および 10 日目に統計的有意差が検出された。また、発生期腎由来の細胞を用い、試作ゲル中で培養、組織化検討を行った。細胞由来の構築物がゲル中で形成、内部では血管構造および糸球体構造が新設されることが確認された。ゲル内培養において、マウス発生期肝臓細胞培養、ヒト大腸がん幹細胞を用いたスフェロイド形成では、マトリゲルと同様の組織化が観察され、CHL511 ゲルは、マトリゲルの代替品たる培養足場材として有望と考えられる。

3. 令和3年度以降の研究計画

令和2年度の研究業績の概略に記載した研究内容を継続し、応用展開も視野に入れ、基礎研究部門と皮革研究部門との連携を密にして研究を進展させる。

(1) 基礎研究部門

1) 動物再生医療における基盤整備に関する研究

様々な動物由来 iPS 細胞の作出技術並びにフィーダーレス培養法および iPS 細胞由来間葉系幹細胞の誘導法を確立する。また、間葉系幹細胞に特異的な細胞表面マーカーに対するモノクローナル抗体を用いてフローサイトメトリーやセルソーティングにより純度の高い間葉系幹細胞を得る技術を確立する。

2) 下等動物由来タンパク質の新機能探索に関する研究

ミズクラゲ由来細胞接着関連因子並びに細胞外マトリックスタンパク質の高度利用に関する研究開発を進める。

(2) 皮革研究部門

1) 皮革関連事業

経済産業省「環境対応革」の事業として、都立皮革技術センターおよび兵庫県工業試験所皮革指導所との共同研究で、皮革副産物の利用に関する研究を行う。また、(株)旭陽化学工業(株)および(株)ドクターウエルネスとの共同研究において、基原の異なるコラーゲン加水分解物の摂取効果に関する研究を行う。

2) 機能性食品や化粧品原料の効果・効能研究

機能性食品や化粧品原料の効果・効能を明らかにする目的で、動物モデルおよび細胞を用いて評価する。本年度は、加齢老化皮膚モデルを用いて、機能性素材の評価を中心に研究を進める。

3) 運動器疾患における機能性食品の効果に関する研究

本年度で3年目となるガイドードリンコ(株)との共同研究において、鮭氷頭由来プロテオグリカンの変形性膝関節症の改善効果を補助する素材に関する研究に関して特許申請ならびに研究報告を行う。

(株)三菱ケミカルフーズ社との共同研究でオリーブ葉抽出物の評価に関する研究論文を投稿する予定である。

4) 神経細胞周囲の細胞外マトリックス構成分子群における老化変性

加齢に伴い蓄積する HA とアグリカンの分解断片が神経細胞の機能に与える影響を解析する。

5) 大脳皮質の発達における細胞外マトリックス分子の機能解析

HA を含む細胞外マトリックスの神経細胞移動における機能を解析する。そのために、発生期の脳で HA に会合する分子を探索し、HA や HA 結合分子の欠損が in vivo において神経発生にあたえる影響を調べる。

6) 食餌性ビタミン C の新たな生理機能：脳でのストレス応答における役割の解明

副腎皮質由来細胞株を用いて、ビタミン C 欠乏によるグルココルチコイド合成の活性化機構を解析する。ビタミン C 欠乏によるグルココルチコイド受容体の活性化と神経細胞新生との関連を明らかにする。

4. 参与研究員の評価・意見とその対応

参与研究員 8 名の方から、硬蛋白質利用研究施設の事業評価をしていただいた結果・意見および今後の対応について以下にまとめた。

5.1 現在の研究活動

a. 非常に良い	b. 良い	c. 普通	d. 悪い	e. 非常に悪い
5	3	1	0	0

[ご意見・ご指摘など]

- ・コロナで大変な 1 年であった中で、適切な成果を出していると思います。
- ・基礎研究部門、皮革研究部門ともに研究の発展が見られ、その結果が投稿論文数の大幅な増加に反映しているところが大いに評価されます。加えて、コロナ禍で学会や講演会等が開催されにくい状況において、これらの回数も昨年度と比較してさほど減少していないことも評価されます。
- ・困難な環境の中でも、学術論文数が多く評価できます。
- ・動物 iPS 細胞樹立⇒iMSC 誘導⇒再生医療に向けての ECM 研究にも期待します。
- ・運動器疾患や老化改善予防の新規機能性食品応用開発への進展を期待します。
- ・更なる高齢化社会に向けて脳の老化、痴呆、神経難病等の治療、予防改善への発展を期待します。
- ・新型コロナウイルスの影響で、研究活動に支障があった状況の中で、前年度より多くの論文が出版されており、素晴らしいと思います。
- ・限られた予算と人員で一定水準の研究を遂行されていると思いました。
- ・積極的な研究活動と認められ、高く評価できるものと考えます。
- ・国際研究は大事ですが、現在の国際状況では良い相手国を選ばないとマイナス効果になってしまうので注意して下さい。

[対応]

- ・専任研究員の研究対象は、運動器系（骨、軟骨、靭帯・腱など）や神経系における細胞外マトリックスに関わる機能制御や再生医療にまわってきている印象を思っております。今後はこれらの分野における学術的研究に精進したいと考えております。

5.2 教育支援・研究支援

a. 非常に良い	b. 良い	c. 普通	d. 悪い	e. 非常に悪い
5	2	2	0	0

[ご意見・ご指摘など]

・コロナですべてが大きく変わったと思います。これから、ポストコロナに向け、今までとは異なる教育、研究の支援の方法の模索もあると、より良くなると思います。

・スタッフ3名で施設の運営に加えて、学部生10名、修士課程学生8名、博士課程学生5名の研究論文指導、それから農学部、農学府の講義・実習を担当するのは大変なご苦労があったのではないのでしょうか。施設以外の教員と研究指導学生の人数や担当講義の数とかはどのようになっているのでしょうか。3人の先生方の負担が少なくて当然かと思えますし、それでも大変なことかと思えます。

・コロナ禍で通常教育・研究支援が難しい中で色々工夫が必要だったと思えますが、講義・実習を担当し、さらに3名で色々な学科、専攻の23名の研究指導されたことを評価します。

・カラーゲンに関する教科書の出版は、大きな教育的価値があると思えます。

・新型コロナウイルスの影響で留学生関連の支援ができなかったのは残念でした。

・教育支援・研究支援共に十分な活動であり、高く評価できるものと考えます。

・多くの学生・院生を教育しており高く評価したいと思えます。特に博士課程の院生が増えていることは良いと思えます。社会人ドクターの受け入れ頑張ってください。

[対応]

・学生の在学中での筆頭著者論文の投稿に加えて、社会人ドクターの受け入れも推進したいと思えます。

5.3 社会貢献

a. 非常に良い	b. 良い	c. 普通	d. 悪い	e. 非常に悪い
3	4	1	1	0

[ご意見・ご指摘など]

- ・ポストコロナでデジタル化、CO₂削減、等の変化が起こる中で、新たな貢献の可能性を考えてみることも次への発展として必要なと思います。
- ・施設における研究活動内容の啓蒙活動の目標が達成できなかったということですが、本年度はコロナ禍ということで仕方ないと思います。それから、社会人教育のための研修制度や研修認定制度の設置の目標未達成も同様に評価いたしました。
- ・コロナ禍での社会貢献としてのセミナーや社会人教育などを実施するのは難しかったと思います。今年度は評価対象にならないと思いますので、評価点をつけません。
- ・コロナの影響で、社会貢献が難しかった一年だと察します。
- ・新型コロナウイルスの影響で中止となった事業が多かったのが残念。
- ・研究成果は産業界にとって有用なものであり、社会貢献として高く評価できるものと考えます。
- ・社会的にも良く貢献されていると思います。コラーゲンー基礎から応用ーの出版は、将来に残る大きな社会的貢献だと思います。

[対応]

- ・今後は、with コロナ/ post コロナを見据えた新しい社会貢献の試みを、第3期中期計画・中期目標に盛り込んでいくべきと考えております。

5.4 次年度以降の計画

a. 非常に良い	b. 良い	c. 普通	d. 悪い	e. 非常に悪い
4	4	1	0	0

[ご意見・ご指摘]

- ・未来型農業モデル研究センター構想は興味があります。硬蛋白質の研究がどうフィットするかよく理解していないところもありますが、新たな視点で硬蛋白質研究を切り開いていっていただきたいと思います。
- ・研究（研究指導を通しての学生の教育も含めて）に関しては今年度の成果を踏まえた上の適切な計画になっていると思います。今年度コロナ禍で目標が達成できなかった社会貢献活動をどのように行うのかが課題かと思います。
- ・メソグレインなどクラゲ由来 ECM の高度利用にはどのような可能性がありますか。
- ・コラーゲンペプチドの摂取効果は最近は多くの学術的報告がありますが、今後の研究課題としてどのようなことが考えられますか。
- ・ビタミンC欠乏はグルココルチコイド分泌を増加することのこと。ヒトでコルチゾールは心身ストレスホルモンとして知られているが、ビタミンCと心身ストレスとの関係は？
- ・研究施設として3人で共同できる新たな研究課題があるとよいと思います。
- ・未来型農業モデル研究センターの構想に期待します。
- ・「将来構想」ですが、未来の農業というより、すでに取り組み始めているもののように思えました。大学の取り組みとしては最先端の技術開発などを期待したいところですが、そういうものがあるとなれば、どれが該当するのでしょうか。
- ・未来型農業研究センター構想は期待できるものと考えます。
- ・高齢化社会の影響を受け硬タンパクの評価が高まっているので、このチャンスを利用して寄付講座等を増やせると良いと思います。

[対応]

- ・メソグレインはクラゲの傘の成分になりますので、コラーゲン線維の形成や保水性に関わると考え、解析を進めたいと考えております。
- ・コラーゲンペプチドに関する今後の研究課題につきまして回答いたします。一括りにコラーゲン加水分解物でも、コラーゲンの起原により調製される加水分解物も異なってい

ます。その摂取効果も違っていることが当研究室で行ってきた研究からもわかってきました。そこで、コラーゲン加水分解物を摂取後の血液中で確認できているペプチドの違いを中心に調査し、機能性の差別化を明確にしてゆく予定です。

・ビタミンCと心身ストレスとの関係ですが、ビタミンCが不足した状態では心身ストレスが負荷された際に過剰にストレスホルモンを分泌する可能性があり、今後解析を進めたいと考えております。

5.5 その他

・今の大学の置かれている立場からすれば仕方ないのかもしれませんが、全ての評価課題に対して同じ水準で対応しなくてはならないのかと思っています。例えば、研究において国際共同研究ができていないという報告がありましたが、国際的な投稿論文も出しおられますので、それでよろしいのではないのでしょうか。

・未来型農業モデル研究センター（仮称）の資料を見ると硬蛋研の教員ポジションの4席を中心に、残りは招聘や特任ですが、このセンター構想に硬蛋研が主体となる理由がよくわかりません。農学部研究センターとしては重要なテーマかもしれませんが、「動物資源の利用、医療、健康等への活用」という硬蛋研の目的や研究の特徴とあまり一致していないと思えます。現在所属されている3名の教員の方々がどのように関係するのか、色々と議論されていると思いますが、皆さんの今後の研究の方向性がどのようになるのか不透明に思えます。特徴ある研究に向けて議論を重ねて、将来性のある発展を目指してください。

・硬蛋白質研の益々のコラーゲンを中心とした細胞外マトリックス科学研究の発展を願っております。

・各研究部門が一体となって目指すべき時代に合った共通のビジョンを明確にさせていただくと良いと思いました。

・ウイルス感染の影響が大学での教育研究に大きな影響を与えているであろうと予測できますが、その中で大きな成果を上げておられそのご努力に敬意を表します。

・コラーゲン―基礎から応用―は多くの方々の協力で作られた本です。執筆された方々はもちろんとして、これをまとめ上げられた硬タンパク研の方々のご努力に敬意を表します。

・2年続きで成果報告を聞けませんでした。やはり、実際に研究を行った方の説明を聞くことが理解を深めるのに役立つと思いますので、来年度も対面での会議ができない場合は、オンラインでも良いので直接説明いただけるようにご考慮下さい。

[対応]

・次期の参与研究員会議については、感染状況によりオンラインでの開催も検討したい
と思います。

資料

令和元年度 施設会議概要

令和2年4月2日	2-1 農学部・農学府運営委員会報告
令和2年4月30日	2-2 農学部・農学府運営委員会報告
令和2年6月2日	2-3 農学部・農学府運営委員会報告
令和2年6月30日	2-4 農学部・農学府運営委員会報告
令和2年8月3日	2-5 農学部・農学府運営委員会報告
令和2年9月1日	2-6 農学部・農学府運営委員会報告
令和2年9月16日	2-7 農学部・農学府運営委員会報告
令和2年10月6日	2-8 農学部・農学府運営委員会報告
令和2年11月4日	2-9 農学部・農学府運営委員会報告
令和2年12月1日	2-10 農学部・農学府運営委員会報告
令和3年1月5日	2-11 農学部・農学府運営委員会報告
令和3年1月26日	2-12 農学部・農学府運営委員会報告
令和3年2月24日	2-13 農学部・農学府運営委員会報告
令和3年3月19日	2-14 農学部・農学府運営委員会報告

フロンティア農学教育研究機構・運営委員会

令和2年7月10日	2-1 フロンティア農学教育研究機構運営委員会
令和2年9月11日	2-2 フロンティア農学教育研究機構運営委員会
令和2年9月25日	2-3 フロンティア農学教育研究機構運営委員会
令和2年10月9日	2-4 フロンティア農学教育研究機構運営委員会
令和3年1月20日	2-5 フロンティア農学教育研究機構運営委員会
令和3年1月25日	2-6 フロンティア農学教育研究機構運営委員会 (メール審議)
令和3年2月22日～	第2回フロンティア農学教育研究機構運営諮問会議 (メール審議)

別表

硬蛋白質利用研究施設専任研究員、兼任研究員および客員教員

施設長	教授	新井 克彦	硬蛋白質基礎研究部門
専任研究員	教授	新井 克彦	硬蛋白質基礎研究部門
	教授	野村 義宏	皮革研究部門
	准教授	宮田真路	皮革研究部門
	教授	千年 篤	生物生産学科
	教授	西河 淳	応用生物科学科
	教授	伊豆田 猛	環境資源科学科
	准教授	小池 伸介	地域生態システム学科
兼任研究員	教授	竹原 一明	共同獣医学科
			(五十音順)
客員教員	客員教授	服部 俊治	(株)ニッピ・顧問
	客員教授	水野 一乗	(株)ニッピ・バイオマトリックス研究所・所長
	客員教授	吉村 圭司	(一社)日本皮革産業連合会・事務局長
	客員准教授	寺嶋 眞理子	東京都立皮革技術センター・所長
			(令和3年3月31日現在)

国立大学法人 東京農工大学
農学部附属硬蛋白質利用研究施設報告 第 64 号 (評価報告)
令和 3 年 3 月 31 日 発行
東京農工大学農学部附属硬蛋白質利用研究施設
発行代表者 新井 克彦
東京都府中市幸町 3-5-8