

東洋大学
ライフイノベーション研究所

平成 29 年度研究報告書

平成 30 年 3 月

東洋大学ライフイノベーション研究所



東洋大学

平成 30 年 3 月
東洋大学ライフイノベーション研究所長
近藤 和雄
(食環境科学部健康栄養学科 教授)

はじめに

日本の平均寿命は、2015 年男性 80.79 歳、女性 87.05 歳、健康寿命も 2013 年男性 71.19 歳、女性 74.21 歳と、年々更新を続けている。しかも、世界の中でここ 10 年以上、心臓病の発症が最も少ない国で、一見すると、日本は長寿国、超高齢社会を満喫している国に見える。

しかし、平均寿命と健康寿命との差、男性 9.6 歳、女性 12.84 歳は、認知症の増加、介護給付金等の社会保障費の増大を引き起こしている。したがって、健康増進と生活習慣病などの慢性疾患予防、介護予防などにより健康寿命の延伸を図り、平均寿命と健康寿命との差を短縮させ、個人の生活の質を上昇させることが今後の日本社会では重要である。

厚生労働省では厚生労働政策の重点を治療から予防にシフトし、平成 12 年度から生活習慣病等の予防（＝一次予防）に重点を置いた対策を強力に推進し、壮年期死亡の減少および健康寿命の延伸等を図っていくことを目的とした国民健康づくり運動「健康日本 21」を実施している。諸外国においても同様の取り組みが行われ、フランスでは 2003 年から国家的プロジェクトとして「上手に年を重ねるプログラム」で栄養、運動、社会参加を推奨し、20 歳以前からの生活習慣病予防対策を推進するとともに、70 歳以上の高齢者には地域ごとに高齢者総合機能評価を導入し、高齢者の介護予防を実施している。しかし、日本と EU 各国の 2010 年と 2060 年の年齢構成を考えた GDP あたりの医療費の伸びは日本が最高であることが予想され、我が国においては特に実効性のある健康寿命延伸政策を構築・実施することが最重要課題となっている。

東洋大学は現在 13 学部 50 学科を擁し、食環境科学部、生命科学部、ライフデザイン学部、理工学部、社会学部の 5 学部の研究領域は、食環境、住環境、運動を主体にして健康寿命延伸に寄与する研究分野と関連している。超高齢社会に突入した我が国においては喫緊の研究課題であり、東洋大学が総合大学の強みを生かして全学的に取り組む課題である。このような課題を解決するため、平成 27 年 4 月に東洋大学ではライフイノベーション研究所を発足させた。

ライフイノベーション研究所ではすでに健康寿命延伸のために必要な研究領域①若年期からの食環境、住環境、運動を含めた健康増進プラン、②高齢期におけるケアプランの強化の 2 分野について、研究を進めている。食環境科学部、生命科学部、理工学部生体医工学科、ライフデザイン学部健康スポーツ学科を中心に、若年期からの食環境、住環境、運動を含めた健康増進プラン実現のための研究を行うとともに、社会学部、ライフデザイン学部生活支援学科に

よる高齢期におけるケアプランの強化や食環境科学部健康栄養学科とライフデザイン学部生活支援学科によるDOHaDの視点にたった胎児期から幼小児期の不適切な栄養管理を改善する研究を行ってきた。若年期からの食環境、住環境、運動を含めた健康増進プラン実現のための研究においては、研究を①生活習慣病予防に有効な抗酸化機能など機能性素材のスクリーニング、②生活習慣病予防の基礎的研究、③生活習慣病発症リスク評価法の研究、④生活習慣病予防のヒト応用研究の4グループに分類し、効率的に研究を進めた。また、高齢期におけるケアプランの強化では、高齢化に伴う機能の低下を遅らせる予防措置が重要な課題となる。このためには①主として活動的な状態にある高齢者の生活機能の維持・向上を図ることで精神・身体・社会のそれぞれにおける活動性の維持・向上を図ること、②要支援・要介護状態に陥るリスクが高い高齢者の早期発見・早期対応により要支援状態となることを遅らせること、③要支援・要介護状態にある高齢者を対象に、要介護状態の改善や重度化を予防するという、3つの視点から研究を進めてきた。昨年度までのこれら2年間の成果を踏まえ、平成29年度は、健康寿命の延伸に役立つ素材の探究、人と食品のクロストーク、運動と代謝(物)からみた健康寿命の延伸、食生活のバランスからみた健康寿命の延伸、健康を維持するために、健康寿命延伸のための福祉サービス、とテーマおよびグループを新たに研究を推進している。

平成27年度は研究所のスタートの年として総合的に問題点を整理するため、厚生労働省の専門家を招聘し、「健康寿命延伸から新しい未来のデザインへ」と題したシンポジウムを開催し、熱心な討論が行われた。又、このシンポジウムの内容は一部のマスコミに取り上げられ記事となって報じられたこととお知らせしておきたい。更に、平成28年度は、健康寿命の延伸として骨に関するテーマを取り上げ、東京慈恵会医科大学准教授の斎藤充氏および女子栄養大学教授の上西一弘氏の2名の専門家による講演を軸としたシンポジウムを、平成29年度は、運動とスポーツを取り上げ、健康・栄養研究所の田中義徳氏、明治安田厚生事業団の甲斐裕子氏に基調講演をいただき、シンポジウムを行った。

本研究所は、来年度は4年目を迎える。これまで本研究所では、健康寿命の延伸を、食と運動、社会制度の面から取り上げて来たが、当初から考えていた住居の面からの必要性を考慮し、今年度より、ライフデザイン学部の柏樹良氏、水村容子氏が加わった。2年目から客員研究員として参加しているスウェーデンハウス社の町田真一氏とともに、新たな展開を望みたい。

本報告書は、上記の様々な取り組みに加え、研究所発足3年目としての報告を各々の分野の概論を含めてまとめたものである。ご一読いただければ幸甚である。

目 次

I. 研究グループ「健康寿命の延伸に役立つ素材の探究」

1. 研究グループ紹介

2. 「健康寿命の延伸に役立つ素材の探究」 研究報告

- ①植物の抗酸化物質クマリン化合物の一斉定量と酸化ストレスの定量化・・・清水 文一・・・10
- ②DPPH ラジカル法を用いた抗酸化物質生産菌の検出・・・・・・・・・・高品 知典・・・11
- ③ブルーベリーの成熟過程における抗酸化能の変化・・・・・・・・・・林 清・・・13
- ④ムクナ豆味噌の調製過程における抗酸化活性に関する研究・・・・・・・・飯島 久美子・・・15
- ⑤マイクロチップ灌流培養システムを用いた血管内皮細胞の **shear stress** に対する応答測定①
・・・・・・・・金子 律子・・・19

II. 研究グループ「人と食品のクロストーク」

1. 研究グループ紹介

2. 「人と食品のクロストーク」 研究報告

- ①腸内細菌におけるカフェインの影響・・・・・・・・・・三浦 健・・・26
- ②日本人の食にかかわる新たな健康リスク要因としての脂溶性ヒ素化合物に関する研究
・・・・・・・・吉永 淳・・・28
- ③動脈硬化予防におけるポリフェノールの役割・・・・・・・・・・近藤 和雄・・・31
- ④微生物由来酵素および代謝物の人の健康への活用・・・・・・・・・・道久 則之・・・34
- ⑤元素レベルで見た健康科学・・・・・・・・・・西牟田 守・・・36
- ⑥ドレブリンによるシナプス機能の可視化の試み・・・・・・・・・・児島 伸彦・・・38

III. 研究グループ「運動と代謝(物)からみた健康寿命の延伸」

1. 研究グループ紹介

2. 「運動と代謝(物)からみた健康寿命の延伸」 研究報告

- ①骨質維持・改善に有効なファイトケミカルのスクリーニング・・・・・・・・矢野 友啓・・・46
- ②酸化ストレスマーカーを用いた活性酸素による健康影響評価・・・・・・・・宮越 雄一・・・48
- ③細胞の成熟に関する検討・・・・・・・・・・川口 英夫・・・50
- ④培養筋細胞系を用いた新規運動効果の探索およびその応用・・・・・・・・根建 拓・・・53
- ⑤異なる回転数の自転車運動が静脈血管伸展性に及ぼす影響・・・・・・・・大上 安奈・・・55
- ⑥女性長距離陸上選手における疲労骨折リスク因子の検討・・・・・・・・太田 昌子・・・57

IV. 研究グループ「食生活のバランスからみた健康寿命の延伸」

1. 研究グループ紹介①

2. 「食生活のバランスからみた健康寿命の延伸」 研究報告

- ①Evaluating relaxation through integrating entertainment with exercise – intervention
through the use of feature and documentary films・・・Uma Maheswari Rajagopalan・・・64
- ②朝型夜型指向性と睡眠および食生活状況との関連・・・・・・・・・・吉崎 貴大・・・67

- ③中高年女性を対象とした複合的な運動が音響的骨評価値（OSI）、敏捷性および心理面に与える影響
・・・高橋 珠実・・・71

V. 研究グループ「健康を維持するために」

1. 研究グループ紹介

2. 「健康を維持するために」 研究報告

- ①健康寿命をのばそうプロジェクト-就労期に「適度な運動」を生活習慣に組み込むための方法検討-・・・岩本紗由美、杉田記代子、神野宏司、大迫正文、鈴木哲郎、寺田信幸・・・78

VI. 研究グループ「健康寿命延伸のための福祉サービス」

1. 研究グループ紹介

2. 「健康寿命延伸のための福祉サービス」 研究報告

- ①介護保険のインセンティブ制度の在り方について～プロセスアプローチによる健康寿命延伸に向けて～
・・・伊奈川 秀和・・・86
- ②つながりが弱い人を包摂する社会を構築するために何をなすべきか～すべての市民の健康寿命の延伸を目指して～
・・・金子 光一・・・90
- ③ICT を活用した高齢者の健康寿命のリスク要因の軽減・・・・・・・・・・・・・・加山 弾・・・93
- ④介護保険制度における介護支援専門員のあり方～地域包括ケアシステム構築と健康寿命延伸に向けた課題・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・高野 龍昭・・・96
- ⑤在宅要介護高齢者の在宅生活継続と健康の延伸にむけた課題―要介護1・2の生活実態を手がかりに―
・・・早坂 聡久・・・99
- ⑥団地に居住する高齢者の生活と健康寿命延伸に関する実態調査～東京都北区 T 団地でのヒアリング調査を事例として～
・・・山本 美香・・・105

VII. 研究グループ「住環境と健康寿命の延伸」

1. 研究グループ紹介

2. 「住環境と健康寿命の延伸」 研究報告

- ①「エイジング・イン・プレイス」の実現に向けた高齢者住宅の在り方に関する研究
・・・水村 容子・・・114
- ②住環境と健康寿命ロボティックスエンバイロメントの研究・・・・・・・・・・・・・・柏樹 良・・・117

VI. 客員・奨励・院生研究員研究報告

- ①悪性胸膜中皮腫に対するトコトリエノール誘導体の有用性に関する研究・・佐藤 綾美・・・120
- ②関節リウマチ新規治療ターゲットとしての Layilin の関節炎への病態関与の解明
・・・土屋 貴大・・・122
- ③不動化モデルラットの大腿骨骨構造に種々の電気刺激が及ぼす影響の比較
・・・中井 真悟・・・126

「健康寿命の延伸に役立つ素材の探究 研究グループ」

グループ紹介

ライフイノベーション研究所 研究員

グループ責任者 高品 知典

「健康寿命の延伸に役立つ素材の探究 研究グループ」では、(1) 健康寿命の延伸に寄与すると考えられる機能性素材のサンプルソースとなる種々の天然物の探索、(2) 機能性素材の検出・定量方法および利用方法の検討、(3) 新たな機能評価法の開発等を研究目的としている。以下に本年度の研究概要を示した。

①清水 文一

研究テーマ名：植物の抗酸化物質クマリン化合物の一斉定量と酸化ストレスの定量化

研究概要：植物細胞および動物細胞における酸化ストレスの評価系の確立を目指して、以下の2点について検討を進めた。1) 膜構成成分である脂肪酸の酸化物の分析定量、2) 植物抗酸化物質の酸化代謝物の探索。1の結果) 植物の脂質酸化物(炭素数16～18)についての分析法を確立した。2の結果) 酸化ストレスを与えた植物体にて、新たに生産される代謝物を多数検出した。これらのうちで抗酸化物質が代謝されたものと思われる成分がみられた。今後これらの構造解析を進める。

②高品 知典

研究テーマ名：DPPH ラジカル法を用いた抗酸化物質生産菌の検出

研究概要：発酵産物や天然物からの新規抗酸化物質および抗酸化物質生産菌の探索を目標とし、そのため寒天平板上での抗酸化物質の検出を行うことが可能かどうかを検討した。供した117種の土壌サンプルのうち54サンプルにクリアゾーンを形成するコロニーが認められた。明確なクリアゾーンを形成していることから、抗酸化物質生産性の候補株を寒天平板上で検出できた可能性が高いと考えられた。また候補株の液体培養液遠心上清からDPPH ラジカル消去活性が検出され、寒天平板で認められたクリアゾーン直径と液体培養液中の酸化活性値には相関が認められた。

③林 清

研究テーマ名：ブルーベリーの成熟過程における抗酸化能の変化

研究概要：ブルーベリーの実全体の抗酸化能は、完熟の紫色ブルーベリーで435 ($\mu\text{molTE/g}$)、熟す途中の赤色ブルーベリーで416 ($\mu\text{molTE/g}$)、熟す前の緑色で241 ($\mu\text{molTE/g}$)であり、熟成により実全体の抗酸化能は2倍程度、上昇した。しかし、皮、実、種といった部位別で見ると、熟すに従い、皮では約7倍抗酸化能が上昇し、実と種は1/6に減少しており、大きな変化が認められた。

④飯島 久美子

研究テーマ名：ムクナ豆味噌の調製過程における抗酸化活性に関する研究

研究概要：L-DOPA を多く含むムクナ豆の利用法として発酵に着目し米麹甘口味噌を調製した。比較として大豆味噌も同条件で調製し、発酵中の一般成分および抗酸化活性を測定した。その結果、ムクナ豆から作られた味噌は大豆味噌に劣らない成分を有し、L-DOPA を含まず、食品として安全であり、さらに抗酸化活性の面で機能性にも優れていることを明らかにした。

⑤金子 律子

研究テーマ名：マイクロチップ灌流培養システムを用いた血管内皮細胞の **shear stress** に対する応答測定①

研究概要：心血管疾患は、現在の日本の死因では「がん」に次いで **2** 位である。血管や心臓の内表面を覆っている血管内皮細胞は、直接血流に触れており、血圧・血流 による **shear stress** の影響を直接受けている。血管内皮細胞は、血液凝固因子を分泌しており、脳梗塞や心筋梗塞などの発生に大きく関与する。灌流状態で血管内皮細胞を培養し、様々なストレス下での血液凝固因子の分泌動態を調べる装置として、マイクロチップ灌流培養システムの開発応用に携わっているので、それについて報告する。

「健康寿命の延伸に役立つ素材の探究」

研究報告

植物の抗酸化物質クマリン化合物の一斉定量と酸化ストレスの定量化

清水 文一（生命科学部生命科学科）

1. 研究の背景

植物は光合成を始めとした高エネルギー反応をその細胞内で利用しているため、さまざまな酸化ストレスが体内で生じている。この酸化ストレスを解消するためさまざまな抗酸化物質を生産していることが知られている。

クマリン化合物は双子葉植物に広く見られる抗酸化活性を示す二次代謝産物で、ニンジンやサツマイモ、ジャガイモ、ダイコン、香料、生薬の原料とされるシナモンなど多くの食用植物に含まれており、¹⁾ さまざまな生理活性を示す。しかしその抗酸化活性の効果に関しては植物体内だけでなく、ヒト体内においても不明である。

2. 調査報告および研究報告

本年度はさまざまな食材に含まれるクマリン化合物の一斉定量法の検討を行った。その結果、シナモン等の香料原料に含まれるクマリンの定量法を確立した。

また、生体に生じた酸化ストレスを定量化するため、脂肪酸組成、酸化脂肪酸誘導体・オキシリピン類の定量法の検討を進めた。植物由来のオキシリピン類（7種類）の定量法を確立した。

3. 今後の研究における課題または問題点

動物細胞におけるオキシリピン類は植物と異なり炭素数 20 を超える脂肪酸から生合成されている。本年度に確立した分析法に、新たに分析対象化合物を加え、一斉分析を進める。

文献

- 1) K. Kai *et al.*, Accumulation of coumarins in *Arabidopsis thaliana*, *Phytochemistry*, 67, 379-386, 2006.
- 2) H. E. Kleiner *et al.*, Effects of naturally occurring coumarins on hepatic drug metabolizing enzymes in mice, *Toxicol Appl Pharmacol.*, 323, 337-350, 2008.

DPPH ラジカル法を用いた抗酸化物質生産菌の検出

高品 知典（生命科学部応用生物科学科）

1. 研究の背景

近年、薬物や金属、ストレスなど種々の引き金によって生成した活性酸素やフリーラジカルが脂質、タンパク質、糖、DNAなどを攻撃し、脂質・糖質の酸化、タンパク質の変性、酵素の不活性化、あるいはDNAの主鎖切断、塩基の修飾を起こすとされている。その結果として生体膜の損傷、遺伝子の傷害などが生じ、発癌をはじめとする種々の疾病、老化を引き起こす。このような身体への悪影響を防ぐものとして抗酸化物質の存在が知られている。

抗酸化物質はフリーラジカルや活性酸素の影響を抑え、体内の酸化を防ぐことができる。このような作用から抗酸化物質は、体内に存在するある種の毒素に対する解毒剤ともいえ、毒素を中和する事で、老化による衰えなどをスローダウンし、健康な身体を保つことができるとされている。

自然界には、抗酸化物質を生産する様々な抗酸化物質生産菌が存在することが明らかになっている¹⁻⁵⁾。これらの抗酸化物質生産菌を広く検出することができれば、抗酸化物質の獲得に役立てることができる。抗酸化活性の検出法としては様々な方法が検討されている⁶⁾。現在市販されている簡易的な抗酸化測定キットは、尿や血漿、ワインなどの液体での使用を主としているものが多い

本研究では、液体試料に用いられる DPPH ラジカル法⁷⁾を寒天平板法による抗酸化物質生産菌の検出に応用できるか、また有効であるか検討する事を目的とした。

2. 調査報告および研究報告

(1) DPPH ラジカル法による M9 寒天培地での抗酸化物質生産菌の検出

117 種の土壌サンプルを生理食塩水に懸濁し、攪拌・静置後、その上層液 10 μ l を M9 寒天培地に塗布した。30℃で 2～3 日間培養しコロニーの形成を確認した。コロニーに DPPH 溶液（360 mM DPPH / MES 緩衝液、pH6.0）5 ml を滴下し、0～30 分後の 5 時点のクリアゾーンを目視で確認した。

その結果、117 種の土壌サンプルのうち 54 サンプルにクリアゾーンを形成するコロニーが認められた（図 1）。明確なクリアゾーンを形成している事から、抗酸化物質生産性を示す候補株を寒天平板上で検出できたと考えられた。

(2) DPPH ラジカル法による M9 液体培地での抗酸化物質生産候補株の抗酸化能測定

上記（1）で検出した抗酸化物質生産性を示す候補株からクリアゾーン直径の大きい順に 10 株を選択し、M9 液体培地で培養した。MilliQ 水で 5 倍希釈した遠心上清 10 μ l に DPPH 溶液（360 mM DPPH / MES 緩衝液、pH6.0）190 μ l を加え 570nm の吸光度を測定した。ポジティブコントロールとしてトロロックス溶液を用いた。DPPH ラジカル活性(%)を以下の式から求めた。

$$\text{DPPH ラジカル消去活性 (\%)} = \left[\frac{\text{ABS}_C - (\text{ABS}_S \cdot \text{ABS}_B)}{\text{ABS}_C} \right] \times 100$$

ABS_S : サンプルの吸光度

ABS_C : ネガティブコントロールの吸光度（未植菌の M9 液体培地）

ABS_B : ブランクの吸光度（蒸留水）

候補株の DPPH ラジカル消去活性を図 2 に示した。候補株 No.9 が 21.8%と最も高い DPPH ラジカル消去活性を示し、そのトロロックス換算値は約 0.18mM 相当であった。また寒天平板で認められたクリアゾーン直径と液体培養液遠心上清から測定された抗酸化活性には相関が認められた。

3. 今後の研究における課題または問題点

検出感度の向上および検出操作の簡便化を図る。広く天然サンプル由来の新たな抗酸化物質生産菌の検出を試みる。

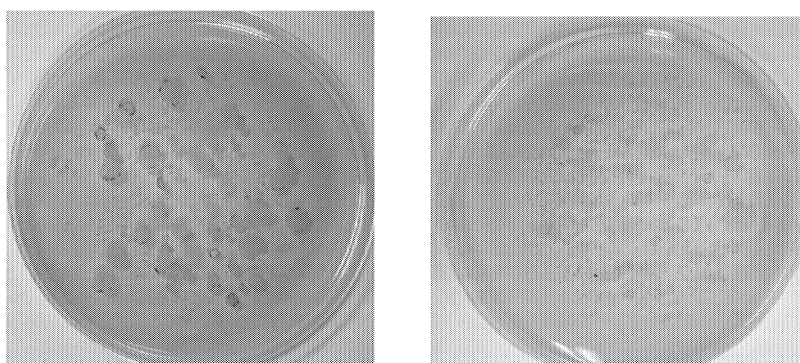


図 1 寒天平板での抗酸化活性の検出例

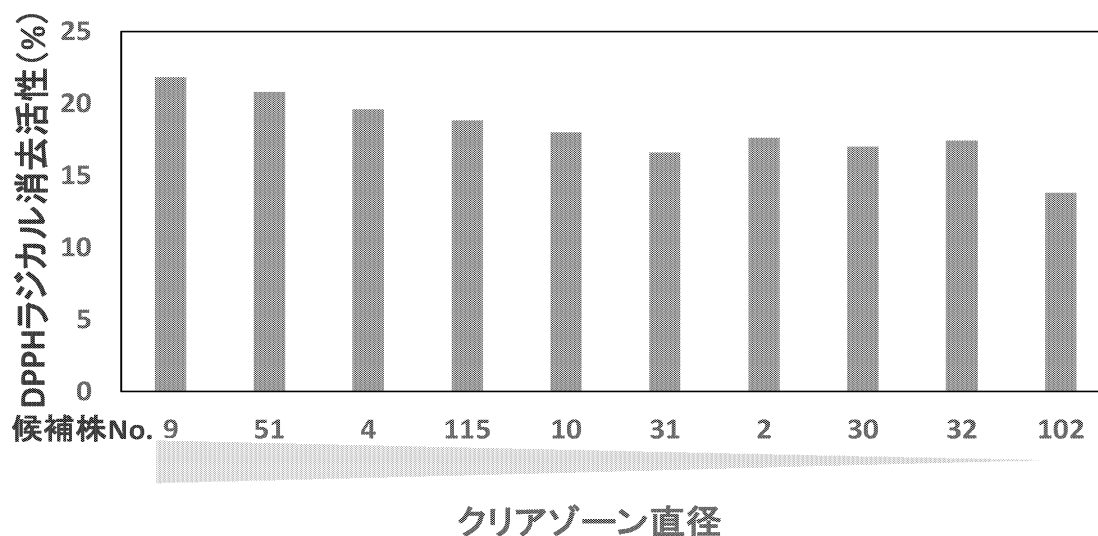


図 2 候補株の DPPH ラジカル消去活性

文献

- 1) 松田茂樹(1998)、日本醸造協会誌、93(4)、263-269
- 2) 江崎秀男ら (2002)、日本食品科学工学会誌、49(7)、476-483
- 3) 宮本陽子ら (2000)、日本食品科学工学会誌、47(3)、214-219
- 4) 加藤富民雄ら (1985)、日本農芸科学会誌、59(9)、901-907
- 5) Yamamoto, Y. *et al.* (2002), J Bacteriol. 184: 2931-2939.
- 6) Dejian Huang, D.J. *et al.* (2005), J. Agric. Food Chem., 53 (6), 1841-1856
- 7) Yamaguchi, T. *et al.* (1998), Biosci. Biotechnol. Biochem. 62, 1201.

ブルーベリーの成熟過程における抗酸化能の変化

林 清（食環境科学部健康栄養学科）

1. 研究の背景

フリーラジカルや活性酸素（スーパーオキシドなど）による酸化ストレスがガンをはじめとする生活習慣病に大きく関与していると言われている。また、健康志向の高まりもあって、食品の持つ抗酸化能（すなわち、フリーラジカルや活性酸素を消去する能力）が注目を集めている。

様々な食品や食品成分の抗酸化能が、これまでも多数報告されている。ところが、一口にフリーラジカルや活性酸素を消去する能力といっても、対象となるラジカル種（または活性酸素種）の差異や測定方法の差異などによって得られる結果が異なり、種々の食品間での抗酸化能の比較は容易ではない点、農産物では皮、実、種といった部位によって抗酸化能が異なる点等が問題となっている。

そこで、微量試料で抗酸化能を迅速に測定する手法を開発し、ブルーベリーを対象に熟す過程ならびに果実の部位での抗酸化能の違いを検討した。なお、本実験では、**1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)** のラジカル種を対象とした。DPPH は安定なラジカルを形成しており、赤紫色である（ $\lambda_{\text{max}} : 520 \text{ nm}$ ）。抗酸化能を有する物質と混合すると DPPH ラジカルはラジカルでは無くなり（農産物の抗酸化物質がラジカルを消去）、無色透明となる。この吸光度値の低下割合からラジカルを消去する能力（抗酸可能）が測定出来る。

2. 調査報告および研究報告

普段、食べているブルーベリーは熟した紫色であるが、熟す過程ならびに果実の部位で抗酸化能に違いはあるのか、また、ブルーベリーは約 50 品種あり、品種により抗酸化能に違いはあるのかについて検討した。用いたブルーベリー品種はチャンドラー、エリザベス、レイトブルーで、各品種の最も若い緑色、熟す途中の赤色、完熟した紫色の果実を試料として用いた。

刻んだ試料約 0.1g を 1.5mL 遠心チューブに入れ、重量の 4 倍の 80% エタノール（約 0.4mL）を加えた（皮のみ抗酸化能が高いため試料 0.05g に 19 倍量のエタノール）。試料を粉砕し、抗酸化物を抽出した。遠心上澄みを調製後、希釈用マイクロプレートを用いて段階希釈液（1~256 倍）を調製した。測定用マイクロプレートに、段階希釈 100 μL をそれぞれ移し、100 μL の 40 $\mu\text{mol/L}$ DPPH（40mmol/L MES 緩衝液、pH6.0、80% エタノール）を加え、室温で 20 分放置後、マイクロプレートリーダーを用いて **520 nm** の吸光度を測定した。エクセルにより吸光度が 50% 減少するときの試料量を計算し、Trolox 当量に換算した（ $\mu\text{molTE/g}$ ）。

①品種（3 品種測定）の違いによる抗酸化能の変化

3 品種の完熟ブルーベリー（紫）の実全体の抗酸化能は、チャンドラー 64.9 ($\mu\text{molTE/g}$)、エリザベス 185 ($\mu\text{molTE/g}$)、レイトブルー 435 ($\mu\text{molTE/g}$) の順に高くなった。一番抗酸化能が高かったレイトブルーの実全体は、チャンドラー実全体の 7 倍であった。

②熟成過程ごとの部位別の抗酸化能（品種はレイトブルー）

実全体の抗酸化能は、完熟の紫色ブルーベリーで 435 ($\mu\text{molTE/g}$)、熟す途中の赤色ブルーベリーで 416

($\mu\text{molTE/g}$)、熟す前の緑色で 241 ($\mu\text{molTE/g}$) であり、熟成により実全体の抗酸化能は 2 倍程度、上昇した。しかし、皮、実、種といった部位別で見ると、熟すに従い、皮では約 7 倍抗酸化能が上昇し、実と種は 1/6 に減少しており、大きな変化が認められた (図 1)。



図1 ブルーベリー(品種レイトブルー)の抗酸化能の変化

3. 今後の研究における課題または問題点

熟成して紫となった皮の抗酸化能が高かったのは、皮には色素成分であるポリフェノール (アントシアニン) が多く含まれているためと考えられる。一方、種と実では、成熟するにつれて抗酸化能が低下したが、その要因については不明である。また、ブルーベリーは品種により抗酸化能が大きく異なる (7 倍程度) ことが分かった。

文献

- 1) 大庭理一郎・五十嵐喜治・津久井亜紀夫 (2010) 「アントシアニン—食品の色と健康—」 p124～p131 建帛社
- 2) 津久井亜紀夫・寺原典彦 (2015) 「アントシアニンと食品—アントシアニン含有食品の加工特性と機能性—」 p 71、p 135～p 139 建帛社
- 3) 中河原俊治 (2013) 「食べ物と健康Ⅱ食品と機能」 p 91～p 96、p 151～152 三供出版

ムクナ豆味噌の調製過程における抗酸化活性に関する研究

飯島 久美子（食環境科学部健康栄養学科）

1. 研究の背景

ムクナ豆は海外ではベルベットビーンとして知られ、日本ではハッシュウマメとも呼ばれている。ムクナ豆の特徴の1つは **L-DOPA** を含むことであり、特に種子には乾燥重量当たり約 **3-9%** と非常に多く含まれている^{1),2)}。**L-DOPA** には雑草抑制効果などのアレロパシー（他感作用）も見られ³⁾、多収穫でもあるため、緑肥としての利用価値も高い。**L-DOPA** は、哺乳動物では神経伝達物質であるドーパミンやアドレナリンの前駆体として重要であるため、パーキンソン病の治療薬として用いられることもある。それに加えてムクナ豆は一般の豆と同様にたんぱく質、でんぷん、食物繊維、ビタミンおよびミネラルを豊富に含有しており、重要な栄養源としての利用の可能性がある。しかし、**L-DOPA** の許容量が **1.5 g/day** といわれ⁴⁾、一般にヒトが過剰摂取すると嘔吐、下痢、心拍数の増加等、引き起こすことがある⁵⁾。したがって、食品として利用する場合は、**L-DOPA** の除去がのぞましい。その方法として、一般には、水抽出による除去が行われ、その他、温度や **pH** 粒子サイズの検討もされている⁶⁾。

これまでムクナ豆の調理性に関する基礎的研究の中で、調理操作による **L-DOPA** の除去や調理品としての利用法を明らかにしてきた⁷⁾。

本研究では健康寿命延伸に効果的とされる抗酸化活性に着目し、ムクナ豆を用いて発酵食品である味噌を調製し、その過程における **L-DOPA** 量および抗酸化活性に関して明らかにすることを目的とした。

2. 研究報告

試料はムクナ豆および大豆を用いた。

味噌の調製方法は、米麹甘口味噌とし、塩分濃度 **9%**、麹歩合は **11**（豆 **10**：麹 **11**）を調製した。

味噌の成分分析は一般分析法に従い⁸⁾、仕込み直後から熟成終了までの期間、経時的に測定した。水分は減圧乾燥法で行った。全窒素および水溶性窒素はケルダール分解法で測定し、全窒素量に対する水溶性窒素の割合をたんぱく質溶解率とした。但し、窒素係数は大豆 **5.71**、ムクナ豆 **5.46** とした。塩分はモール法で測定した。**pH** は **pH** メーター（**D-51**, 電極 **6252-10D**, Horiba Ltd., Kyoto, Japan）を用いて測定した。酸度は試料 **10 g** に脱イオン水 **40 mL** を加え攪拌させながら **0.1N** 水酸化ナトリウムで滴定し、滴定の始点から **pH7.0** までの滴定値を酸度Ⅰ、**pH7.0** から **pH8.3** の滴定値を酸度Ⅱとして表した。

L-DOPA は、高速液体クロマトグラフィ（**HPLC-LC-10AD**, Shimadzu, Tokyo, Japan）により測定した。カラムは **Shodex RsPAK DE-613**（Showa Denko, K.K., Tokyo, Japan）、検出波長は **200 nm** とした。**L-DOPA** 量は味噌湿重量 **100 g** あたりで表した。

ポリフェノール総量はフォーリン・チオカルト法にて測定し、味噌湿重量 **100 g** 当たりのカテキン相当量（**mg**）で表した。

抗酸化活性は、2種のラジカル消去能測定法である **ORAC** 法（**oxygen radical absorbance capacity method**）および **DPPH** 法（**1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl method**）を用いてラジカル

消去活性を評価した。

味噌中の一般成分および L-DOPA 量の経時変化を Table 1 に示す。

Table 1 発酵過程における一般成分および L-DOPA 量の変化

貯蔵期間	ムクナ豆味噌				大豆味噌			
	0	14	28	90	0	14	28	90
水分 (%)	49.3	50.4	51.6	51.4	47.8	49.5	50.8	49.2
食塩濃度 (%)				8.7				9.1
pH	5.8	5.6	5.3	5.0	5.9	5.8	5.6	5.2
酸度 I	0.3	4.3	5.9	7.4	0.2	5.1	7.3	9.9
酸度 II	0.3	4.4	5.9	7.9	0.5	7.0	9.4	11.0
タンパク質溶解率 (%)	22.2	35.4	52.9	53.9	28.3	58.0	57.4	53.0
L-DOPA (%)	0.15	0.11	0.04	0				

発酵開始時の pH は、ムクナ豆味噌は 5.8、大豆味噌は 5.9 であり、熟成に伴って終了時には 5.0、5.2 へと低下した。味噌は発酵過程において、麹菌由来の酵素により澱粉がブドウ糖や麦芽糖に分解され、それらを栄養源とする耐塩性乳酸菌が増殖して乳酸などの有機酸が産生される。また麹菌由来のプロテアーゼによってたんぱく質がペプチド、遊離アミノ酸に分解される。そのために、味噌の pH は発酵が進むにつれて低下する⁹⁾。ムクナ豆味噌も大豆味噌と同様な発酵経過を経たことが推察される。

ムクナ豆味噌は発酵開始時には酸度 I および酸度 II の値が大豆味噌と同様であったが、熟成終了時には酸度 I、酸度 II ともに大豆味噌 (9.9, 11.0) の方がムクナ豆味噌 (7.9, 7.7) より高くなった。酸度 I、II は乳酸、コハク酸、酢酸などの有機酸、無機リン酸、遊離アミノ酸やペプチドの産生に伴って上昇するとされており、発酵中に大豆で有機酸、遊離アミノ酸、ペプチドがムクナ豆味噌より多く産生されたと考えられる。

ムクナ豆味噌のたんぱく質溶解率は、Table 1 に示すように発酵開始時の 22.2% から増加し、熟成終了時には 53.9% に達した。これと同様に大豆味噌でも 28.3% から 53.0% へと増加した。しかし、増加様式は異なっており、大豆味噌では、熟成初期 14 日頃にたんぱく質溶解率が急増し、その後はほぼ横ばいとなったが、ムクナ豆味噌では熟成開始から終了時まで緩やかな増加を呈した。これは大豆とムクナ豆で、含まれるたんぱく質やプロテアーゼが異なると考えられる。

ムクナ豆味噌の L-DOPA 量は発酵開始時、0.15 g であったが、熟成終了時にはほとんど検出されなくなった。これは L-DOPA が発酵過程で重合してメラニンに変化したためであると推察される。

これまでにムクナ豆を使って種々の調理品を開発したが、調理品中の L-DOPA 量は浸漬や煮熟などの調理操作により減少するものの、最小でも生豆の約 25% は残存していた⁷⁾。味噌と同じ発酵食品であるムクナ豆のテンペでも、生豆の約 30% の L-DOPA が残存していたと報告されている¹⁰⁾。しかし、本研究により、味噌に加工すると、ムクナ豆含量に関わらず L-DOPA が検出されなくなった。このことから、ムクナ豆の L-DOPA 除去に味噌加工が極めて有効であることが判明した。

Fig.1 に示すように、ムクナ豆味噌の総ポリフェノール量は発酵開始時の大豆味噌より約 3.7 倍多かった ($p < 0.05$)。熟成に伴い、ポリフェノール量は有意に増加し、発酵終了時には発酵開始時

に比べてムクナ豆味噌は約 1.7 倍に、大豆味噌は 3.7 倍にも増加した ($p<0.05$)。しかし、ムクナ豆味噌のポリフェノール量は、発酵終了時においても大豆味噌より約 1.7 倍多かった ($p<0.05$)。

Fig.2 に示した ORAC 法による抗酸化活性は、大豆味噌、ムクナ豆味噌いずれも有意に上昇した ($p<0.05$)。DPPH 法による抗酸化活性をみると、大豆味噌では有意な上昇がみられたが ($p<0.05$)、ムクナ豆味噌では明瞭な変化がみられなかった。しかし発酵開始時および発酵終了時の抗酸化活性は、ORAC 法、DPPH 法、いずれの測定によっても大豆味噌よりムクナ豆味噌の方が有意に高かった ($p<0.05$)。

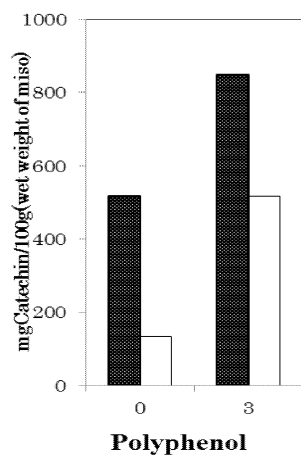


Fig.1 味噌の総ポリフェノール量

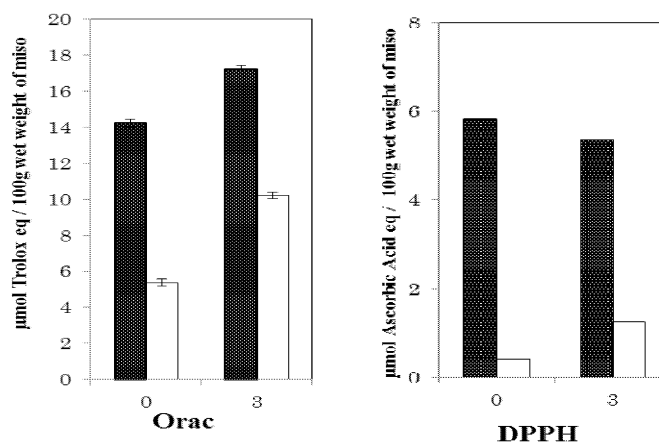


Fig.2 味噌の抗酸化活性

大豆を用いた味噌では、発酵中にタンパク質が分解され、生成したペプチドや遊離アミノ酸が抗酸化活性に寄与することが知られている。また、発酵中に生成するメラノイジンおよびイソフラボン配糖体から生じるダイゼインやゲニステインなどが、抗酸化活性の増加につながるといわれる。これらのことから、本研究でも観察された大豆甘口味噌における抗酸化活性の上昇は、発酵中にペプチドや遊離アミノ酸、メラノイジン、ダイゼイン、ゲニステインなどが生成したことによると推察される。一方、ムクナ豆甘味噌のポリフェノール量および抗酸化活性が大豆甘味噌に比べて高値を示したのは、ムクナ豆が **L-DOPA** を含むこと、さらに味噌の調製過程で **L-DOPA** が重合し、メラノイジンに変化することが大きく関与していると考えられる。

以上より、ムクナ豆の味噌への利用は、**L-DOPA** 量を食品として安全なレベルにまで除去することが可能であり、ムクナ豆味噌は大豆味噌に比べポリフェノール含量および抗酸化能が高いことも明らかになった。

3. 今後の研究における課題または問題点

以上の研究成果より、ムクナ豆味噌は機能性に優れた食品として今後の利用が期待される。しかし、ここまでの研究では、ムクナ豆味噌を利用した調理品の調理条件やおいしさの関係については十分な検討ができなかったため、今後の研究の課題である。

文献

- 1) Bell, E.A., and Janzen, D.H. (1971), Medical and ecological considerations of L-Dopa and 5-HTP in seeds, *Nature*, **229**, 136-137
- 2) Daxenbicheler, M.E., VanEtten, C. H. Hallinan, E. A. and Earle, F.R.(1971), Seeds as sources of L-Dopa, *J.*

- 3) Fujii, Y. (2003), Allelopathy in the natural and agricultural ecosystems and isolation of potent allelochemicals from Velvet bean (*Mucuna pruriens*) and Hairy vetch (*Vicia villosa*), *Biological Sciences in Space*, **17**, 6-13
- 4) J Siddhuraju, P., and Becker, K. (2001), Effect of various Domestic Processing Methods on Antinutrients and in Vitro Protein and Starch Digestibility of two Indigenous Varieties Indian Tribal Pulse, *Mucuna Pruriens* Var. *utilis*, *J. Agriculture Food Chemistry*, **49**, 3058-3067
- 5) Afolabi, O. A., Oshuntogun, B. A., Adewusi, S. R., Fapojuwo, O. O., Ayorinde, F. O., Grissom, F. E. and Oke, O. L. (1985), Preliminary nutritional and chemical evaluation of raw seeds from *Mucuna solanifolia*: An underutilized food source. *J. Agric. Food Chem.*, **33**, 122-124
- 6) Teixeira, A. A., Rich, E. C. and Szabo, N. J. (2003), Water extraction of L-Dopa from Mucuna bean. *Trop. Subtrop. Agroecosyst. T.*, **1**, 159-171
- 7) 飯島久美子, 奥山綾子, 早川和那, 藤井義晴, 香西みどり (2009), ムクナ属マメ調理性に関する研究 (第 1 報) - 煮豆としての浸漬・加熱条件 -, 日本調理科学会誌, **42**, 93-101
- 8) 東和男 編著 (2005), 「発酵と醸造 I」, 光琳, 東京, pp. 323-351
- 9) Blois, M. S. (1958), Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, **181**, 1199-1200.
- 10) 14) 日笠志津, 根岸由紀子, 青柳康夫, 菅原龍幸 (1996), ベルベットビーンを原料とするテンペの製造工程における遊離アミノ酸の変化, 日本食品化学工学会誌, **43**, 188-193

マイクロチップ灌流培養システムを用いた血管内皮細胞の shear stress に対する応答測定①

金子（大谷） 律子（生命科学部生命科学科）

1. 研究の背景

日本人全年齢での死因の上位は、2016 年 3 月に出された「社会保障関係統計年報」（国立社会保障・人口問題研究所）によれば、1 位が「悪性新生物（ガン）」、2 位は「心疾患（高血圧症を除く）」、3 位は「肺炎」、4 位は「脳血管疾患」、5 位は「不慮の事故」となっている（2014 年度の統計結果を 2016 年に発表したもの）。一方、65 歳以上の高齢者の受療率が高い疾病は、入院患者では 1 位が「心血管疾患」（人口 10 万人あたり男性 398、女性は 434）、2 位の悪性新生物（ガン）（同あたり男性 395、女性 203）となっている。また外来患者では、「高血圧性疾患」（同あたり男性 1,373、女性 1,682）、「脊柱障害」（同あたり男性 975、女性 961）となっている。また 65 歳以上の高齢者の死因は、10 万人あたり「悪性新生物（ガン）」が 930 であるのに対して、心疾患が 533、脳血管疾患が 302 となっている（いずれも、平成 29 年度版高齢社会白書、内閣府）。「心疾患」と「脳血管疾患」を合わせた心臓や血管など循環器におこる病気である「心・血管病」は、日本人の高齢者の疾病や死因の約 25～30%を占めている。「心・血管病」は、症状が無いまま病状が進行し、病状に気づくころには重症化していることが多く、「サイレント・キラー」と呼ばれている。「脳出血」や「脳梗塞」「心筋梗塞」に代表されるような脳血管障害や心疾患などの心・血管病は、日本の高齢化と共に増えており、心・血管病の予防や診断あるいは創薬に有用となる技術の開発は、健康寿命の延伸に大きく貢献すると期待されている。

血管内皮細胞は血管や心臓の内表面をすべて覆っている 1 層の扁平な細胞であり、体の中で唯一血液に直接接している細胞である。血管内皮細胞は血管の内表面を覆う役割だけを果たしているのではなく、一酸化窒素（NO）、プロスタグランディン的一种である PGI₂、エンドセリン等の分泌による血管の拡張・収縮調節に関与している。また血管内皮細胞は、「血液凝固線溶系因子」と呼ばれる重要なタンパク質も分泌している。「血液凝固因子」は出血をとめるために血液を凝固させるための因子であり、線溶系因子は固まった血栓を溶かして分解するために分泌される因子であるが、健康体であってもこれらの因子によって血管壁で絶えず血栓の形成と溶解が起きていると考えられている。そしてひとたび凝固系と線溶系因子のバランスが崩れると、血栓の形成過剰や失血、あるいは血栓の一部が剥がれて脳や心臓の血管の塞栓となり重篤な心筋梗塞や脳梗塞に繋がる場合がある。高血圧、動脈硬化、糖尿病発症、ライフスタイルの変化（運動不足、過度の脂質摂取など食生活の変化）、ストレス、喫煙等により、凝固線溶系因子のバランスが変化し、心・血管病のリスクが高まることが示されている¹⁾。高齢者では、長年の間にこれらの要因が複雑に影響しあった結果として、心・血管病を既に発症しているか、発症し易い状況になっている確率が高い。「サイレント・キラー」である心・血管病の予防や診断あるいは創薬に有用な簡易型灌流式細胞培養システムの開発を、私たちのグループは近年手掛けてきた^{2), 3), 4)}。本年度は、本システムを用いて、血圧・血流により血管内皮細胞が受ける shear stress（ずり応力）が、血管内皮細胞からの凝固線溶系因子の分泌や合成にどのように関与しているか調べたので報告する。また本年度は、血液凝固線溶系因子のうち、特に主要な因子とされている tissue-type plasminogen activator (t-PA) 及び plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) の分泌動態や遺伝子発現が shear stress によってどの

ように変化するかについて、マイクロチップ灌流培養システムを用いて調べた。

2. 研究報告

【方法】①細胞：実験では、ヒト臍帯静脈内皮細胞 (Human umbilical vascular endothelial cell (HUVEC)) とがん細胞を融合させ樹立した EA.hy 926 細胞 (ATCC, VA, USA) を使用した。EA.hy 926 細胞は Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (SIGMA-ALDRICH Co., MO, USA) (10% Fetal bovine serum (FBS) (SIGMA-ALDRICH Co., MO, USA)) 培地中に懸濁し、37℃ 5%CO₂ 条件下で培養した。EA.hy 926 細胞を凍結保存する際は、細胞保存液 (10% Dimethyl sulfoxide (Merck Millipore Co., MA, USA) in DMEM) に懸濁し、-80℃で一晩保存した後、液体窒素中で保存した。

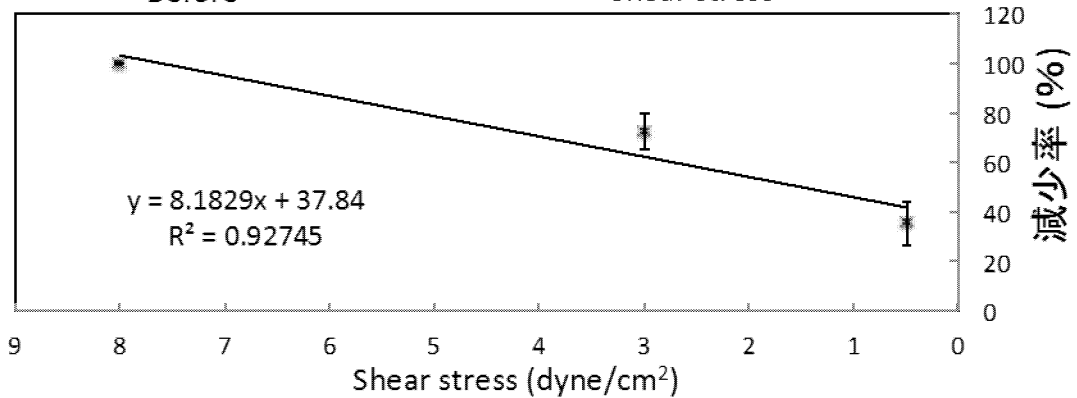
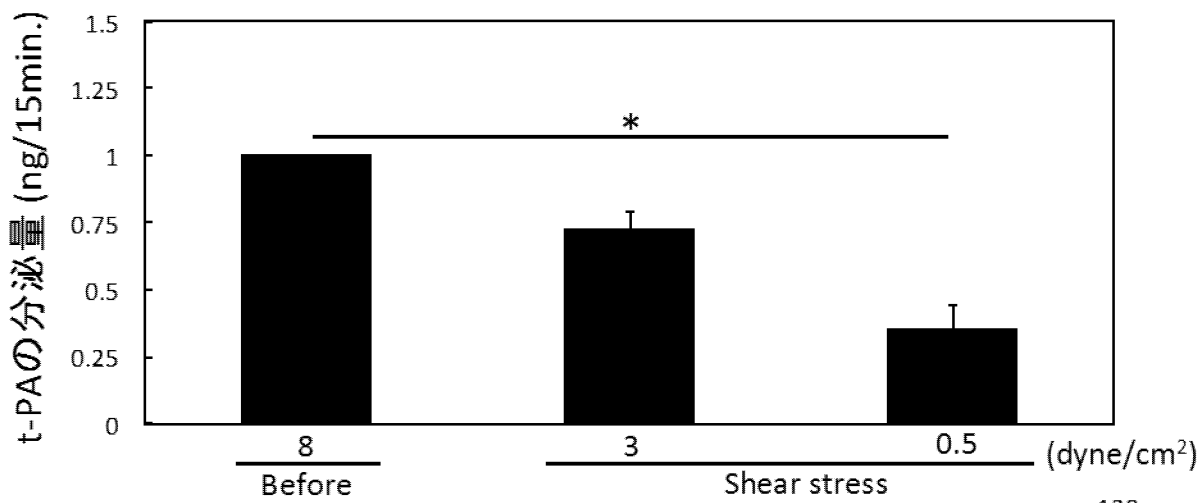
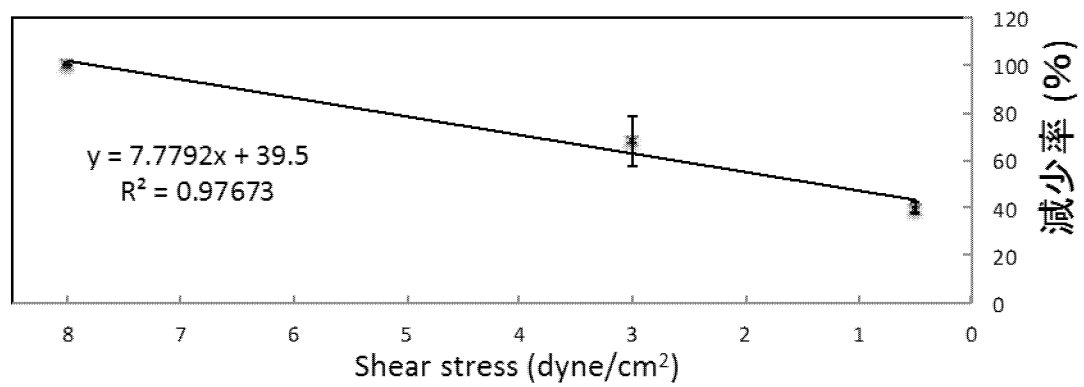
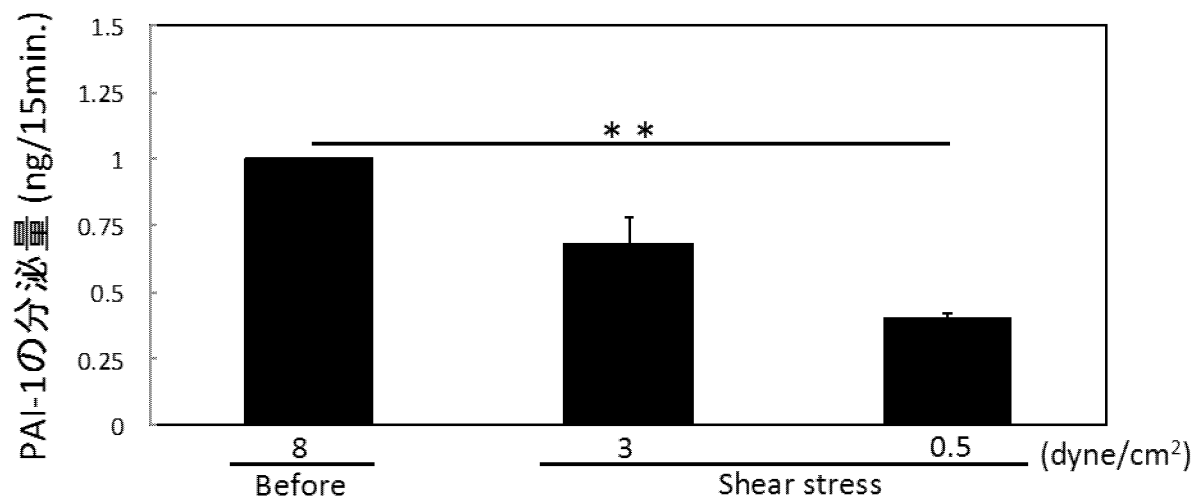
②マイクロチップ灌流培養システムを用いた灌流培養：血管内皮細胞のずり応力 (shear stress) に対する応答を調べるため、これまでにすでに報告したのと同様にマイクロチップ灌流培養システムを用いて実験を行った^{1),2),3)}。マイクロチップの材質及び形状は以下の通りとなっている (材質：ポリスチレン、流路長：6 cm, 幅：300 μm, 深さ：100 μm, Sumitomo Bakelite Co., Ltd.)。DMEM (10% FBS) 培地で 2×10^7 cells/ml の細胞数に調整した EA.hy 926 細胞をあらかじめコーティング処理を施したマイクロチップ流路内に 250 μl のシリンジ (Hamilton Co., CA, USA) を用いて導入した^{1),2),3)}。EA.hy 926 細胞を導入後、温度コントローラー (ITO temperature controller) のヒートプレートに 37.5℃に設定し、2 時間静置培養を行った。2 時間の静置培養後、あらかじめ用意しておいたシリンジポンプ上の 5 ml シリンジ (Hamilton Co., CA, USA) 内にある DMEM (1% FBS) 培地を 0.2 μl/min の流速で流しながら長期灌流培養を行った。灌流培養の時間は実験毎に設定した。灌流培養後の EA.hy 926 細胞は以下に示す実験に用いた。実験に使用した shear stress の値は 0.5 dyne/cm² (static)、3 dyne/cm² (Low shear stress)、8 dyne/cm² (Middle shear stress)、15 dyne/cm² (High shear stress) であり、各 shear stress に相当する流速は $Q = \gamma \cdot a \cdot b^2 / 6$ より算出した。

(Q = 流速 (L/s) , γ = shear rate (s⁻¹) , a = 流路の幅 (cm) , b = 流路の深さ (cm))

③Shear stress 変化による血管内皮細胞の t-PA 及び PAI-1 分泌量の変化：EA.hy 926 をマイクロチップ内に導入し 72 時間の灌流培養を行った後、細胞に shear stress 負荷を与え、培養排出液中の t-PA 及び PAI-1 分泌量を ELISA 法により調べた。

④Shear stress による血管内皮細胞中の t-PA 及び PAI-1 mRNA の発現解析：shear stress 負荷前、負荷後のチップ内の細胞から RNA 回収し、逆転写を行い、その後リアルタイム RT-PCR による t-PA 及び PAI-1 mRNA の発現解析を行った。

【結果及び考察】図 1 に示すように、shear stress は、強度依存的(t-PA については $R^2=0.927$ 、PAI-1 については $R^2=0.977$) に血管内皮細胞 (EA.hy 926 細胞) からの t-PA 及び PAI-1 分泌量を変化させていることが明らかになった。また両因子の遺伝子発現についても調べたが、こちらについては高い相関性は認められなかった。しかし PAI-1 mRNA については、shear stress が 3 dyne/cm² と 0.5 dyne/cm² での発現量の間に有意な差が認められたことから、PAI-1 については遺伝子発現も shear stress の影響を受けることが分かった。これらのことから、血管壁にかかるストレス (ずり応力) が、血液凝固線溶系因子の分泌に (場合によっては合成にも)、極めて短時間で影響を及ぼすことが分かった。



3. 今後の研究における課題または問題点

今回は血管内皮細胞が受ける **shear stress** に注目して、血管内皮細胞が合成・分泌する主要な凝固線溶系因子の **mRNA** や分泌量に対する影響を調べた。これまでに、循環器疾患の発症は、就寝時に少なく早朝に多発することが知られている。また早朝に生じる急激な血圧上昇（モーニングサージ）は、虚血性脳卒中や心筋梗塞などの直接的なトリガーとなると言われている。血圧の変化は血管の伸展張力として血管に影響するのみならず、血流量の変化をもたらし、それによって **shear stress** も変化する。今回の結果は、ずり応力の増大によって血液凝固線溶系因子の合成分泌量が短時間に変化し、それによって、これらの因子のバランスが崩れ、血栓が短時間に形成される可能性も考え得ることを示唆している。今後は、**shear stress** による血液凝固線溶系因子の合成分泌メカニズムを明らかにするとともに、本研究で使用したマイクロチップ灌流培養システムが薬の効果検証やオーダーメイド医療の役に立つか検討する予定である。

文献（本筆者は太文字・下線を施してある）

- 1) 関 秦一郎、細野 崇 (2015)『血液の凝固・線溶とメタボリックシンドローム、生活習慣病』科学と生物 53 巻 p.374-380, 日本農芸化学会
- 2) Tazawa H, Sato K, Tsutiya A, Tokeshi M, **Ohtani-Kaneko R.** (2015) A microfluidic cell culture system for monitoring of sequential changes in endothelial cells after heat stress. *Thromb Res.*136:328-34
- 3) Tazawa H, Sunaoshi S, Tokeshi M, Kitamori T, **Ohtani-Kaneko R.**(2016) An Easy-to-Use Polystyrene Microchip-based Cell Culture System. *Anal Sci.* 32:349-53
- 4) **Ohtani-Kaneko R.**, Sato K, Tsutiya A, Nakagawa Y, Hashizume K, Tazawa H. (2017) Characterisation of human induced pluripotent stem cell-derived endothelial cells under shear stress using an easy-to-use microfluidic cell culture system. *Biomed Microdevices.* 19:91-101.

「人と食品のクロストーク」グループの研究活動

ライフイノベーション研究所 研究員

グループ責任者 児島 伸彦

食生活が人の健康や寿命に深く関わっていることは言うまでもない。我が国の死因の上位になるがん、脳卒中や心筋梗塞の背景には、食生活の偏りによって引き起こされる糖尿病や高血圧症、脂質異常症などのいわゆる生活習慣病がある。また、今後患者数の増加が深刻な社会問題となることが懸念されている認知症にも生活習慣が深く関わっていることが最近の研究から明らかとなっている。したがって、超高齢化社会において健康寿命延伸に向けた取り組みとして、今後科学的根拠に基づいた食育の確立と推進が重要課題といえる（人→食品）。また、摂取した様々な食材が人の体内でどのような作用をもたらすかについての研究（食品→人）も生活習慣病の原因と予防の観点から重要である。近年腸内細菌叢が整腸作用を持つだけでなく、身体的にも精神的にも健康に影響することが明らかとされている。特に腸内細菌叢のバランスを良好に保つことが様々なストレスに対するレジリエンスに大きく貢献することで注目されており、そのような効果を持つ新規プレバイオティクスの探索とその機能評価する研究も重要となろう。

以上のような立場から、本「人と食品のクロストーク」研究グループでは、今年度以下の研究を行った。

- ・「腸内細菌におけるカフェインの影響について」というテーマで、新規カフェイン耐性乳酸菌株のカフェイン耐性能の評価を行った（三浦）。
- ・「日本人の食にかかわる新たな健康リスク要因としての脂溶性ヒ素化合物に関する研究」というテーマで、日本人が摂食する魚介類や海藻類に含まれる炭化水素型ヒ素脂質の1日摂取量と健康リスクの推計を行った（吉永）。
- ・「動脈硬化予防におけるポリフェノールの役割」というテーマで、様々な食品中のポリフェノール量と抗酸化作用の測定を行い、動脈硬化予防に適した食材の検討を行った（近藤）。
- ・「微生物由来酵素および代謝物の人の健康への活用」というテーマで、高脂血症の診断に用いることのできる有機溶媒耐性のコレステロールオキシダーゼの開発とプレバイオティクス効果のある代謝物の大腸菌による生産を試みた（道久）。
- ・「元素レベルで見た健康科学」というテーマで、ホルモンによる体内のミネラル代謝の相互関連への影響を調べた（西牟田）。
- ・「ドレ布林によるシナプス機能の可視化の試み」というテーマで、ドレ布林のシナプス局在をハイスループット解析する系を用いて、認知症改善効果のあるサプリメント「フェルガード」のシナプス機能への効果を評価した（児島）。

「人と食品のクロストーク」

研究報告

腸内細菌におけるカフェインの影響

三浦 健（生命科学部応用生物科学科）

1. 研究の背景

カフェインは植物に広く分布する塩基性のアルカロイドであり、中枢興奮作用や筋肉の収縮増強などの作用が認められ医薬品として利用されてきた。しかし、カフェインは微生物にとって悪影響を及ぼす。カフェインによる微生物の細胞死は細胞性粘菌 *Dictyostelium discoideum* による実験によって解明された。モデル生物の細胞性粘菌に対して遺伝子組み換え技術を用いて、「アラキドン酸合成酵素遺伝子破壊株」を作製したが、高濃度のカフェイン中に同株を浸しても、細胞が死なないことが発見された。さらに野生株においては、カフェインによってアラキドン酸が産生されること、アラキドン酸を外部から添加した場合には細胞死が促進されることを明らかにし、細胞性粘菌においてアラキドン酸がカフェインによる細胞死を促進していることを解明した。ただし、細胞性粘菌には「カスパーゼ」によるアポトーシス機構がないことから、この経路はカスパーゼ非依存的な細胞死であることが予想された。人でも同様の結果を得たため、この細胞死は腸内フローラを整える乳酸菌にも生じることが考えられる。

昨年度の報告において、我々は、カフェイン耐性乳酸菌 YSAK1 株と YKP4 株の取得に成功していたことを報告した。これらの株は、カフェイン 1% で生存、pH3 において生存率 80% 以上、人工腸液で増殖可能である。さらに 2 株ともに *Lactobacillus paracasei* であると同定された。そこで、腸内細菌におけるカフェイン耐性能の検討、さらに、YSAK1 株、YKP4 株のカフェイン分解能の検討を目的とした。

2. 調査報告および研究報告

① 嫌気条件下での腸内細菌、カフェイン耐性乳酸菌におけるカフェイン耐性能の検討

YSAK1 株、YKP4 株および（独）製品評価技術基盤機構（Nite）からの分譲菌株（18 株）を 20 時間前培養（130 rpm、30℃）した。その後、カフェイン（0、1、1.5、2%）添加寒天培地に培養液を段階的に希釈した希釈液を 10 μ l スポットし、20 時間後、各濃度でコロニー形成能を比較した（スポット法）。本研究で用いた株は *Lactobacillus* 属、*Lactococcus* 属、*Streptococcus* 属、*Enterococcus* 属を用いた。この際、各菌株における推奨培地を用いた。嫌気培養は、アネロパック（三菱ガス化学株式会社）を用いて寒天培地で行った。

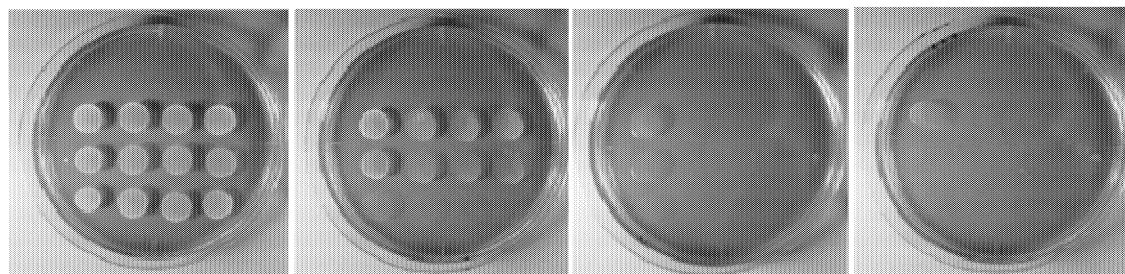


図 YSAK1 株、YKP4 株、対照菌株におけるスポット

（上から左から YSAK1 株、YKP4 株、対照菌株、カフェイン 0%、1%、1.5%、2%）

その結果、腸内細菌 18 株中 15 株において、カフェイン 1.5% 存在下で顕著にコロニー数が減少した。しかし、YSAK1 株は 1.5%、YKP4 株は 2%、善玉菌 *L. fermentum* NBRC100933 はカフェイン 2%、でもコロニー数の減少がみられなかった。一方、対照菌株 *Lactobacillus paracasei* NBRC15889^T は、明らかに

0.5%存在下で生育に影響がみられた。この結果より、腸内細菌の多くは、カフェインによって負の影響を受けていることが考えられた。この結果は、昨年度報告した好気条件下でも同様な結果がみられた。

② YSAK1 株、YKP4 株と対照菌株のカフェイン耐性能の比較

YSAK1 株、YKP4 株および対照菌株 *Lactobacillus paracasei* NBRC15889^T をカフェイン (0、1、2%) 添加 MRS 液体培地で 20 時間培養した。その後、カフェイン無添加寒天培地に培養液を段階的に希釈した希釈液を 10 μ l スポットし、20 時間後、各濃度でコロニー形成能を比較した。さらにカフェイン 1% 添加 MRS 液体培地で 3 時間毎に吸光度測定 (OD₆₆₀) とコロニーカウントを行い、増殖曲線と増殖率を算定した。

その結果、YSAK1 株、YKP4 株においては、各カフェイン濃度での液体培養後、カフェイン無添加培地でのコロニー数に差がみられなかった。一方、カフェイン 1% 存在下での液体培養では、対照菌株よりも明らかな吸光度の増加がみられた。顕微鏡観察を行った結果、菌体の形状に大きな差は見られなかった。

さらに、対照菌株において、多少の吸光度の増加がみられたにも関わらず、コロニー数の増加がみられなかったことより、カフェインがコロニー形成能に影響を与えている可能性が考えられた。

③ カフェイン分解能の検討

YSAK1 株、YKP4 株、対照菌株をカフェイン 1% 添加 MRS 液体培地で 20 時間培養後、その培養上清と当量のジクロロメタンを加えてカフェインの抽出を行った。その抽出液を TLC 分析 (展開溶媒: クロロホルム: メタノール=10:1) により解析した。検出は UV 照射で行った。

その結果、TLC によるカフェインのスポットの濃度は、対照菌株と比較して差はみられず、YSAK1 株、YKP4 株のカフェイン分解能は観察できなかった。この結果より、YSAK1 株、YKP4 株は、カフェインを菌体内に取り込み、形を変えず排出する、または取り込まないことで耐性を有している可能性が考えられた。

3. 今後の研究における課題または問題点

現在、YSAK1 株、YKP4 株のカフェイン耐性機構として、1 つ目として「細胞内に入ったカフェインを細胞外に排出する強力なポンプを有しているか、あるいは、2 つ目として、微生物において、コロニー形成をする際、「バリアのように特殊なタンパク質などで覆われているか」と考えている。

そこで、今後、耐性機構を明らかにするため、プロテオーム解析による膜タンパク脂質の比較、走査型電子顕微鏡 (SEM) を用いての細胞表面の観察、TLC を用いた細胞膜脂質の比較などを行う予定である。

文献

- 1) Summers RM, Louie TM, Yu CL, Subramanian M. (2011) Characterization of a broad-specificity non-haem iron N-demethylase from *Pseudomonas putida* CBB5 capable of utilizing several purine alkaloids as sole carbon and nitrogen source., *Microbiology*, 157 (Pt 2) : 583-92.
- 2) 2014 年度 卒業論文「カフェイン耐性能を有する乳酸菌の探索」 木村友祐
- 3) 2016 年度 卒業論文「腸内細菌におけるカフェインの影響」 大野恵理

日本人の食にかかわる新たな健康リスク要因としての脂溶性ヒ素化合物に関する研究

吉永 淳（生命科学部応用生物科学科）

食物の中にはさまざまなヒ素化合物が存在していることが以前よりよく知られていたが、ヒトの健康にとって有害なものは無機ヒ素だけで、その他の有機ヒ素化合物の毒性はきわめて低いと認識されてきた。日本人が多食する魚介類や海藻類にはそれぞれアルセノベタイン、ヒ素糖という水溶性有機ヒ素化合物が高濃度に存在し、そのためこれら食材を介する日本人のヒ素摂取量はきわめて高レベルとなるが、これら有機ヒ素化合物の毒性はほとんどないために、ヒトの健康リスクはほとんどない。しかしながらごく最近になって魚介類や海藻中に存在する有機ヒ素化合物の一種として検出される脂質性のヒ素化合物のなかに、きわめて強い細胞毒性を持つものが見いだされた（Meyer et al., 2014）。図 1 に脂溶性ヒ素化合物の一種である炭化水素型ヒ素脂質（AsHC）の例を示す。このうち AsHC332 と AsHC360 に細胞毒性が見いだされている。そこで本研究では、マーケットバスケット試料を用いて、脂溶性ヒ素化合物の定量を行い、日本人の一日摂取量とその食品群ごとの内訳を明らかにするとともに、Meyer et al. (2014) の細胞毒性データから、日本人における AsHC の健康リスクの推定を行った。

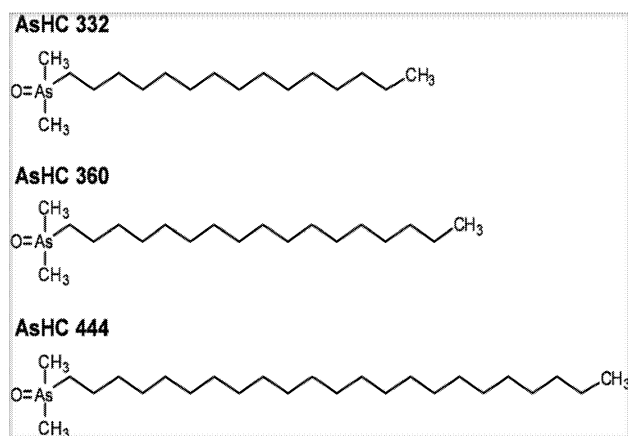


図 1 炭化水素型ヒ素脂質の構造

AsHC の分析対象としたのは、2015

年 12 月に静岡市内で購入した 152 食品を 17 食品群に分類し、食品群内の食品を混合して調製した 17 種のコンポジットである。凍結乾燥したコンポジットをメタノール/ジクロロメタンと振とうし、AsHC を抽出した。精製後、液体クロマトグラフからの溶出液を二分して ICP 質量分析装置とエレクトロスプレーイオン化タンデム質量分析装置の両方に導入する HPLC-ICP-MS/ESI-MS/MS 法によって分離定量を行った（オーストリア・Graz 大学との共同研究）。

AsHC が検出されたのは「魚介類」と「海藻類」の食品群コンポジットのみで、その他の 15 食品群コンポジットには検出されなかった。AsHC は海産物のみに検出されることが明らかとなった。表 1 に AsHC 濃度を示した。濃度は各 AsHC 分子中の As 濃度としてあらわした。AsHC444 は不検出であった。

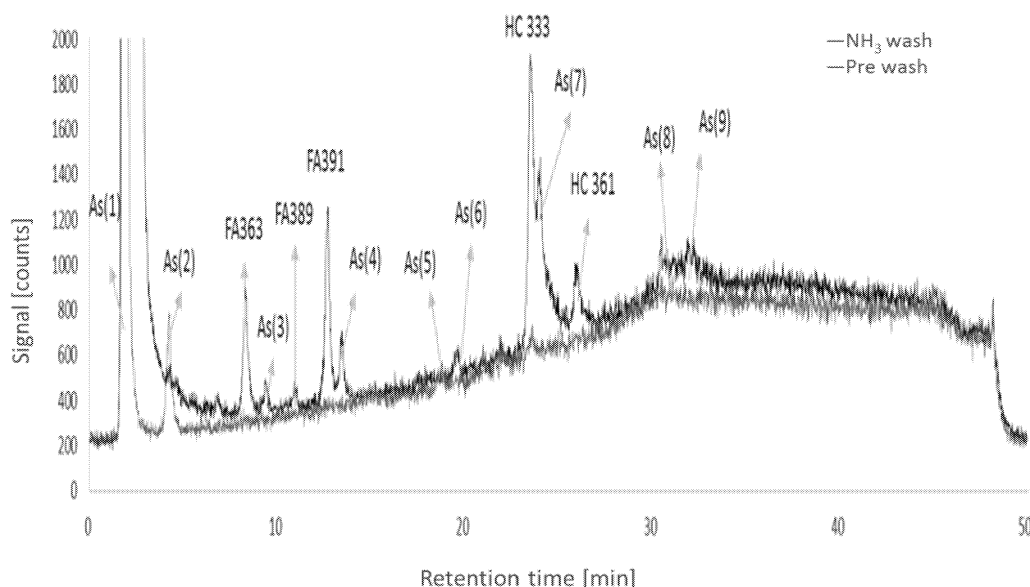


図 2 魚介類の HPLC-ICP-MS クロマトグラム

これに日本人の魚介類、藻類の一日摂取量（それぞれ 66.3 g/日、10.9 g/日：国民健康栄養調査結果より）をかけて求めた魚介類、藻類からの AsHC332、AsHC360 の一日摂取量も表 1 に示した。細胞毒性のある AsHC332,360 の一日摂取量は魚介類、藻類の合計で、それぞれ 1.57 µg As/日、0.42 µg As/日と推定された。

Meyer et al. (2014)で AsHC332、360 のヒト肝臓細胞及び膀胱細胞への毒性は IC₅₀ 値（培養液中濃度）で表されている。表 1 に示した日本人の AsHC 摂取量推定値から推定される体液中 AsHC 濃度と IC₅₀ 値との比率を求めた。体液中濃度の推定には、①食物中 AsHC は消化管内で分解することなく、②100%が吸収され、③体内で代謝を受けずに、④血流にのって速やかに体内に均等に分布する、という 4 つの仮定を設けた。なおヒト血液量は 5 L と仮定した。

表 1 AsHCs の濃度と一日摂取量

	AsHC 濃度 (ng As/g fresh)			AsHC 摂取量 (µg As/day)		
	AsHC332	AsHC360	AsHC444	AsHC332	AsHC360	AsHC444
魚介類	23	4.6	<0.8	1.53	0.31	0
藻類	3.7	10.3	<0.8	0.04	0.11	0
合計	—	—	—	1.57	0.42	0

推定された体液中 AsHC332、AsHC360 濃度はそれぞれ 0.004、0.001 µM となり、それぞれの IC₅₀ 値である 9.2、4.8 µM (Meyer et al., 2014) との比を取ると、2300 (9.2/0.004)、4800 (4.8/0.001) となった。一般に化学物質の健康リスク評価において、最小毒性量／曝露量が 100 を下回るとリスクあり、と判定される。AsHC について最小毒性量はまだ得られていないため、本研究では IC₅₀ を用いているが、通常 IC₅₀>>最小毒性量であると考えられ、今回の試算では 2300、4800 と大きいマージンがあったが、実際はもっと小さい可能性がある。しかも、今回の試算は AsHC 一日摂取量の点推定値である。実際の日本人の AsHC 一日摂取量は、魚種や海藻の種類ごとの濃度の違いと魚介類や海藻類選択の嗜好や摂食

量の個人差などによって大きな個人間変動があると考えられる。本来は一日摂取量の分布を推定し、**95**パーセンタイル値に対する最小毒性量との比率をもって集団レベルの健康リスクを判定すべきである。地球規模で見ても、最も海産物を接触する民族のひとつである日本人は、**AsHC** 摂取による健康リスクを最も懸念すべき民族でもある。**AsHC** 一日摂取量の分布の推定は、今回リスクの推定をするにあたって設けた上記の仮定①～④の検証と併せて、今後取り組むべき重要課題であると考えられる。

文献

Meyer, S., Matissek, M., Müller, S.M., Taleshi, M.S., Ebert, F., Francesconi, K.A., Schwerdtle, T., 2014. In vitro toxicological characterization of three arsenic-containing hydrocarbons. *Metallomics* 6: 1023–1033.

動脈硬化予防におけるポリフェノールの役割

近藤 和雄（食環境科学部健康栄養学科）

1. 研究の背景

動脈硬化は日本人の死因の約四分の一を占める心疾患、脳血管疾患の起因とされ、その発症には食生活が大きく関わっている。我々は、食生活の中に抗酸化能を有する食品因子を効果的に取り入れることが、動脈硬化予防において重要であると考え、主にポリフェノールについて検討を重ねてきた。

ポリフェノールとは、フェノール性の水酸基を複数もつ化合物のことで、そのため、ポリフェノールは植物性の食品に広く含まれている。特にコーヒーや茶類、野菜、果実等に多い。ポリフェノールは構造上の特徴から、いくつかのサブクラスに分けられるが、最も多いものがフラボノイド類で、その他には、フェノール酸類、リグナン類、スチルベン類などがある。ポリフェノールの生理活性としては、フェノール性水酸基による電子供与性、いわゆる抗酸化作用を中心に論じられてきた。

ポリフェノールと動脈硬化との関連が議論され始めたのは、フランスでは脂肪摂取量が多いにも関わらず冠動脈疾患の死亡率が少ないという事象が、フレンチパラドックスとして話題となり、赤ワインに注目が集まったことに端を発する。本格的な研究は、オランダの Zutphen elderly study が先駆けであり、フラボノイドの摂取量が多い群で冠動脈疾患での死亡率が有意に低いことが示された¹⁾。その後、Seven countries study では、フラボノイドの摂取量と冠動脈疾患死亡率の間に負の相関が認められ、地中海式食事が注目される端緒となり²⁾、フィンランドの研究においても、フラボノイドの摂取が動脈硬化に予防的に働くことを示す結果が報告された³⁾。このような 1990 年代の疫学研究の成果を受け、ポリフェノールの機能性に関する研究が急速に進むこととなった。

動脈硬化進展において、LDL コレステロール濃度が高いことだけでなく、LDL の酸化変性が鍵であることが提唱され⁴⁾、抗酸化物質の効果が注目されて久しい。LDL が増加し、血中での滞留時間が長くなると、LDL は血管壁の内皮下に進入し、フリーラジカルなど酸化ストレスにより酸化変性を受ける。酸化 LDL は LDL レセプターでは処理できないため、単球をマクロファージ化し、スカベンジャーレセプターを介して処理されるが、やがて泡沫細胞となり動脈壁内に堆積し、動脈硬化巣を形成する。ポリフェノールの抗動脈硬化作用は、この LDL の酸化を抑制することに起因するのではないかとの考えから、研究が行われてきた。

2. 調査報告および研究報告

今年度は、昨年度に続いて、ポリフェノールを含むことが期待されるいくつかの食品の抗酸化作用について検討したので、その成果を概説する。

（1）食品に含まれるポリフェノール量と抗酸化作用の検討

緑茶について今年度は、抽出時間の条件を変えて比較検討を行った。抽出時間 30 秒抽出・60 秒抽出・120 秒抽出をそれぞれ放置日数 0 日・1 日・2 日とし 9 種類をサンプルとして用いた。緑茶の抽出時間の変化では、60 秒抽出、120 秒抽出では 30 秒と比較しポリフェノール量、抗酸化能ともに高く放置時間の変化ではポリフェノール量、抗酸化能ともに大きな変化は見られなかった。

コーヒーについては今回、コーヒー豆のグアテマラの深煎りと浅入り、マンデリンの深煎りと浅入りの 4 種を用いて検討したが、産地及び煎り方の違いにおける抗酸化能の有意差は認められなかった。

浅煎りは深煎りよりもポリフェノール含有量が多く、またグアテマラはマンデリンよりも量が多い結果であった。

紅茶については、ダーズリン、アールグレイ、アッサムの3種（すべて㈱キャメル珈琲 ST）とし、それぞれ1分、3分、5分で抽出したものを用いた。ダーズリン・アールグレイ・アッサムは、いずれもポリフェノールを含み、抗酸化能を示したが、抗酸化能とポリフェノール量の値が高かったのは、アールグレイであった。

（2）青汁における抗酸化能の検討

各種青汁には、大麦若葉（九州産）、ケール（愛媛、長野、鹿児島）、明日葉（インドネシア）の粉末されている原材料100%のものを用い、DPPH ラジカル捕捉能では、大麦若葉 0.46 ± 0.01 、ケール 0.38 ± 0.05 、明日葉 0.67 ± 0.05 とラジカル捕捉能が認められた。Follin-Ciocalteu 法では大麦若葉 0.84 ± 0.03 、ケール 0.66 ± 0.05 、明日葉 0.57 ± 0.04 のポリフェノール量が認められた。サンプルの原材料を比較すると DPPH ラジカル捕捉能では、明日葉が一番高く、ポリフェノール量では大麦若葉が有意な差が見られた。特に大麦若葉にはポリフェノールが多く含まれており、強い抗酸化能を示すことが考えられた。

（3）ぶどうジュースと赤ワインにおける抗酸化能の検討

サンプルの品種は、カルベネ・ソーヴィニヨン、メルローの2品種とした。DPPH ラジカル捕捉能においては、カルベネ・ソーヴィニヨンワイン 0.93mg/ml 、メルローワイン 0.92mg/ml 、カルベネ・ソーヴィニヨンジュース 0.88mg/ml 、メルロージュース 0.84mg/ml という順で値を示した。続いて、総ポリフェノール量においては、カルベネ・ソーヴィニヨンワイン 3.11mg/ml 、メルローワイン 2.83mg/ml 、カルベネ・ソーヴィニヨンジュース 2.15mg/ml 、メルロージュースが 1.51mg/ml という値を示した。

（4）果物ジュースおよびいちごにおける抗酸化能の検討

グレープフルーツジュース、リンゴジュース、プルーンジュースの3種を試料とし、DPPH ラジカル捕捉能は、グレープフルーツジュースが $0.18 \pm 0.01\text{mg}$ 、リンゴジュースが $0.48 \pm 0.007\text{mg}$ 、プルーンジュースが $0.82 \pm 0.005\text{mg}$ ポリフェノール量は、グレープフルーツジュースでは $0.49 \pm 0.086\text{mg}$ 、リンゴジュースでは $0.49 \pm 0.002\text{mg}$ 、プルーンジュースでは $2.01 \pm 0.086\text{mg}$ であった。グレープフルーツとリンゴ、プルーンを比較した結果、ポリフェノール量、DPPH ラジカル捕捉能ともに2種間で大きな差は見られなかった。

いちごでは、スカイベリー（栃木県産）、木熟いちご（栃木県産）、ロイヤルクイーン（栃木県産）、きらび香（静岡県産）、紅ほっぺ（静岡県産）、淡雪（熊本県産）、さがほのか（佐賀県産）の7種類を用意した。DPPH ラジカル捕捉能は、木熟いちごは $1.01 \pm 0.03\text{mg/g}$ 、きらび香は $0.94 \pm 0.03\text{mg/g}$ 、ロイヤルクイーンは $0.86 \pm 0.04\text{mg/g}$ 、さがほのかは $0.67 \pm 0.02\text{mg/g}$ 、紅ほっぺは $0.66 \pm 0.01\text{mg/g}$ 、スカイベリーは $0.64 \pm 0.01\text{mg/g}$ 、淡雪は $0.64 \pm 0.03\text{mg/g}$ 、総ポリフェノール量は、木熟いちごは $0.68 \pm 0.00\text{mg/g}$ 、きらび香は $0.66 \pm 0.01\text{mg/g}$ 、ロイヤルクイーンは $0.54 \pm 0.04\text{mg/g}$ 、さがほのかは $0.47 \pm 0.05\text{mg/g}$ 、紅ほっぺは $0.43 \pm 0.03\text{mg/g}$ 、スカイベリーは $0.21 \pm 0.01\text{mg/g}$ 、淡雪は $0.19 \pm 0.01\text{mg/g}$ となった。DPPH ラジカル捕捉能の高い順に木熟いちご、きらび香、は、ロイヤルクイーン、さがほのか、紅ほっぺ、スカイベリー、淡雪、総ポリフェノール量高い順に木熟いちご、きらび香、ロイヤルクイーン、さがほのか、紅ほっぺ、スカイベリー、淡雪となった。

（5）梅酒の熟成期間によるポリフェノール含量及び抗酸化能の比較

平成24年、平成25年、平成26年、平成27年、平成28年に製成された梅酒を用い、梅を漬け込む

酒には、平成 24 年、25 年の梅酒は純米酒、26 年、27 年の梅酒は普通酒、28 年の梅酒は特別本醸造酒を使用していた。DPPH ラジカル捕捉能は、平成 24 年製の梅酒は $0.09 \pm 0.01 \text{ mg/ml}$ 、平成 25 年製の梅酒は $0.09 \pm 0.01 \text{ mg/ml}$ 、平成 26 年製の梅酒は $0.09 \pm 0.01 \text{ mg/ml}$ 、平成 27 年製の梅酒は $0.07 \pm 0.00 \text{ mg/ml}$ 、平成 28 年製の梅酒は $0.10 \pm 0.00 \text{ mg/ml}$ のラジカル捕捉能が認められた。100ml 中に含まれるポリフェノール量は、平成 24 年製の梅酒は $39.5 \pm 2.06 \text{ mg}$ 、平成 25 年製の梅酒は $38.0 \pm 1.33 \text{ mg}$ 、平成 26 年製の梅酒は $39.0 \pm 1.89 \text{ mg}$ 、平成 27 年製の梅酒は $31.6 \pm 1.43 \text{ mg}$ 、平成 28 年製の梅酒は $35.6 \pm 2.15 \text{ mg}$ のポリフェノールが認められた。

(6) なす、きゅうりの加熱による抗酸化能の検討

野菜には、抗酸化能があることが知られており、日本人の野菜摂取量調査において、上位に位置する野菜になす、きゅうりが挙げられる。そこで、日常でなすを摂取する際に行う調理工程の加熱によって抗酸化能がどのように変化しているかを検討した。DPPH ラジカル捕捉能は、生ナスでは 0.4 mg/ml 、焼きナスでは 0.80 mg/ml 、茹でナスでは 0.74 mg/ml であり、焼きナス、茹でナスは生ナスと比べ優位に高いラジカル捕捉を有することが示された ($p < 0.01$)。きゅうりについては、全てにおいて有意な差は認められなかった。総ポリフェノール量は、生ナス 0.24 mg/ml 、焼きナス 0.45 mg/ml 、茹でナス 0.39 mg/ml であり、焼きナス、茹でナスは生ナスと比べ、優位に高いポリフェノール量を有することが示された ($p < 0.01$)。きゅうりについては、全てにおいて有意な差は認められなかった。

3. 今後の研究における課題または問題点

抗酸化作用から注目を集めたポリフェノールであるが、研究が発展し、最も注目される食品の機能性成分の一つとなっている。日本人は伝統的に緑茶や大豆、野菜などを中心とした食生活を送っており、これらはポリフェノールを豊富に含んでいる。世界の最長寿国であり、先進諸国の中でも動脈硬化性疾患の少ないわが国の食生活について、研究を進めていく必要がある。今後、さらに食品のポリフェノール量、抗酸化作用の測定を行うとともに、抗炎症作用の検討や、ポリフェノール摂取量の調査、バイオマーカーとの関連検討等を行い、動脈硬化予防におけるポリフェノールの役割を明らかにしたい。

文献

- 1) Hertog, M.G.; Feskens, E.J.; Kromhout, D. (1997) Antioxidant flavonols and coronary heart disease risk. **Lancet** 349, p. 699
- 2) Hertog, M.G.; Kromhout, D.; Aravanis, C.; Blackburn, H.; Buzina, R.; Fidanza, F.; Giampaoli, S.; Jansen, A.; Menotti, A.; Nedeljkovic, S., et al. (1995) Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. **Arch Intern Med** 155, p. 381-386
- 3) Knekt, P.; Jarvinen, R.; Reunanen, A.; Maatela, J. (1996) Flavonoid intake and coronary mortality in finland: A cohort study. **BMJ** 312, p. 478-481
- 4) Steinberg, D.; Parthasarathy, S.; Carew, T.E.; Khoo, J.C.; Witztum, J.L. (1989) Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. **N Engl J Med** 320, p. 915-924

微生物由来酵素および代謝物の人の健康への活用

道久 則之（生命科学部 応用生物科学科）

1. 研究の背景

人の健康を促進するため、微生物の生産する酵素や代謝物が活用されている。本研究では、(1) 高脂血症の診断に用いることができる微生物由来の酵素であるコレステロールオキシダーゼ(以下、COXと略す)と、(2) プレバイオティクス効果のある代謝物の生産について実験を行った。

(1) 高脂血症の診断に用いることができる微生物由来の COX

コレステロール値が高いと動脈硬化が起き、心筋梗塞や脳卒中のリスクが高まることが知られている。微生物由来の COX は、このような疾患の臨床検査のため、血中の総コレステロールの定量に広く使用されている。COX の基質となるコレステロールは非水溶性であるため、臨床検査の測定液にはコレステロールを溶解するために界面活性剤が添加される。また、コレステロール以外のステロイド化合物の変換反応やコレステロールに類似した構造のアルコールの光学分割に COX を応用する研究が報告されており、医薬品原料等の生産への応用が注目されている。このような反応には、基質を溶解するため反応液に有機溶媒が添加されており、有機溶媒耐性の COX が望まれている¹⁻⁵⁾。本研究では、臨床検査で効率的に使用できる酵素の開発を目的として、コレステロール値を測定する際に使用できる安定な COX の開発を行った。

(2) プレバイオティクス効果のある代謝物の大腸菌による生産

1, 4-ジヒドロキシ-2-ナフトエ酸(DHNA)は、ビフィズス菌株の増殖を顕著に促進する効果(プレバイオティクス効果)があることが知られており、プロピオン酸菌によって生産されることが報告されている。我々の研究室では、大腸菌の *menA* 遺伝子欠失株による DHNA の生産を検討している。*menA* は 1,4-ジヒドロキシ-2-ナフトエ酸オクタプレニル転移酵素をコードしており、*menA* を欠失させると MenA の基質である下 DHNA が蓄積することが予想される。また、我々の研究室では、DHNA を培地に加えると大腸菌の有機溶媒耐性が高まることを見出した。DHNA はストレス下における微生物の生育を高めることがあると考えられることから、そのメカニズムについても調べていくこととした。

2. 研究報告

(1) 高脂血症の診断に用いることができる微生物由来の COX

Rhodococcus equi 由来の COX (*R. equi* COX) の立体構造は、安定性が高いことで知られる *Chromobacterium* sp. DS-1 由来の COX (DS-1 COX) と類似しているが、*R. equi* COX には比較的大きなループ構造が存在する点が大きく異なる(図 1)。本研究では *R. equi* COX のループ構造を取り除いた改変酵素を作製し、その性質を明らかにすることにした。既に構築していたループ構造の欠損した *R. equi* COX (COX L-) 発現用プラスミド pET-COX L- を構築した。pET-COX L- を大腸菌 Rosetta 株に導入し、得られた形質転換

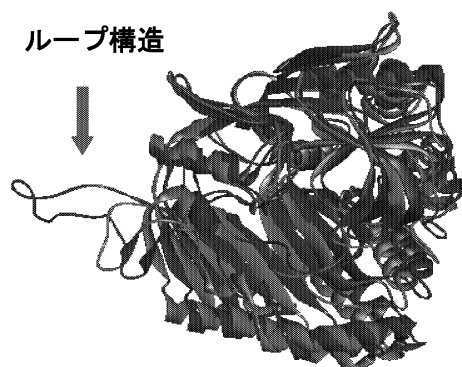


図 1 *R. equi* COX と DS-1 COX の構造比較
赤 : DS-1 COX、緑 : *R. equi* COX

体を TB 液体培地で培養した。その後、IPTG を添加して培養した後、菌体を回収し、超音波破碎した。遠心分離で未破碎菌体を除き、ニッケルカラムや陰イオン交換カラムを用いて精製した。発現させた酵素 COX L は DEAE-カラムで単一バンドになるまで精製した。また、酵素の至適温度、温度安定性、至適 pH、pH 安定性などについても調べた。温度安定性を調べた結果、野生型 *R. equi* COX は 50℃ まで安定であるのに対して、COX L は 55℃ まで安定であることが分かった。また、pH 安定性を調べた結果、*R. equi* COX は pH 6.0 から pH 10.0 で安定であったが、COX L は、pH 5.5 から pH 11.0 で安定であった。以上の結果から、ループ構造を除去することで熱および pH に対する安定性が向上することが明らかになった。

(2) プレバイオティクス効果のある代謝物の大腸菌による生産

大腸菌 BW25113 株やその *menA* 遺伝子欠失株を用いて、DHNA を培地に添加した際の生育頻度を調べた。図 2 には、有機溶媒存在下(ストレス下)における生育を示した。*menA* 遺伝子欠失株は親株である BW25113 株と比べて有機溶媒耐性(ストレス耐性)が向上することが示された。また、DHNA を添加することで有機溶媒耐性(ストレス耐性)が向上することが見いだされた。

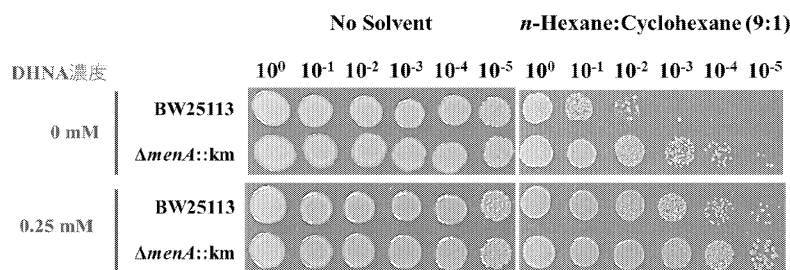


図 2. DHNA の有機溶媒存在下における生育への影響

3. 今後の研究における課題または問題点

本酵素の生産性は他の COX に比べてやや低いため、酵素生産効率化のため、さらに、酵素生産条件の検討を行い、酵素の生産性を高める。また、同時に精製方法についても検討し、酵素の回収率の向上を図る予定である。

文献

- 1) 道久則之 (2008) 『熱・界面活性剤・有機溶媒耐性のコレステロールオキシダーゼ』 p. 667-670, バイオサイエンスとインダストリー
- 2) Doukyu, N., Shibata, K., Ogino, H., Sagermann, M. (2008) 『Purification and characterization of *Chromobacterium* sp. DS-1 cholesterol oxidase with thermal, organic solvent, and detergent tolerance.』 80, 59-70, Appl. Microbiol. Biotechnol.
- 3) Doukyu, N. (2009) 『Characteristics and biotechnological applications of microbial cholesterol oxidases』 83, 825-837, Appl. Microbiol. Biotechnol.
- 4) Doukyu, N., Shibata, K., Ogino, H., Sagermann, M. (2009) 『Cloning, sequence analysis, and expression of a gene encoding *Chromobacterium* sp. DS-1 cholesterol oxidase.』 82, 479-490, Appl. Microbiol. Biotechnol.
- 5) Sagermann, M., Ohtaki, A., Newton, K., Doukyu, N. (2010) 『Structural characterization of the organic solvent-stable cholesterol oxidase from *Chromobacterium* sp. DS-1.』 170, 32-40, J. Struct. Biol.
- 6) Doukyu N, Nihei S. (2015) 『Cholesterol oxidase with high catalytic activity from *Pseudomonas aeruginosa*: Screening, molecular genetic analysis, expression and characterization.』 120, 24-30, J Biosci Bioeng.

元素レベルで見た健康科学

西牟田 守（食環境科学部健康栄養学科）

1. 研究の背景

ナトリウム(Na)の摂取量がカルシウム(Ca)とマグネシウム(Mg)の代謝（出納）に及ぼす影響が明らかになった。しかし、液性の調節因子（ホルモン）の作用では、**Aldosterone** など、Na を調節するホルモンが **Ca** の調節因子であったり、**Calcitonin** など、**Ca** を調節するホルモンが Na の調節因子であったりする報告は見当たらない。そこで、Na を制限した代謝出納実験を実施し、この点を検討した。

2. 調査報告および研究報告

方 法

本検討は、2004 年に国立健康・栄養研究所にて実施された低 Na 食による代謝出納実験のデータを用いた。本実験はヘルシンキ宣言に則り実施し、国立健康・栄養研究所の倫理委員会にて承認を受けた。

被験者は健康な 19～23 歳の女性 11 名であった。実験は、出納期と予備期で構成され、実験期間は 20 泊 21 日である。実験は被験者を同一施設に宿泊させ実施した。

被験者は実験開始前に、低 Na 食 (NaCl: 6 g/d) を摂取する低 Na 食群 (n = 5) と Control 食 (NaCl: 12 g/d) を摂取する Control 食群 (n = 6) との 2 群に、身体構成が等しくなるように考慮し、分けられた。

採血は実験期間中早朝空腹時に 5 回実施し、**Aldosterone**, **Calcitonin**, **PTH**, **Triiodo-thyronine (T3)**, **Thyroxine (T4)** などを測定するとともに、同時に採取した早朝第二尿 (EMU) 中のミネラル (Na, K, Ca, Mg, P, Zn) 排泄量との関係を求めた。

結 果

- 1) 血清 **Aldosterone** 濃度は、低 Na 食群で Control 群に比較して有意に高い値を示した ($p < 0.001$)。また、両群を併せて Na 摂取量との回帰直線を求めた結果、両者に有意な負の相関が認められた ($p < 0.001$)。

血清 **Aldosterone** 濃度と EMU- (Na, Mg, Zn) 排泄量との間では、Na だけではなく、Mg および Zn 排泄量との間にも有意な負の相関が認められた (全て $p < 0.05$)。

- 2) 血清 **Calcitonin** 濃度は、低 Na 食群で Control 群に比較して有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。また、両群を併せて Na 摂取量との回帰直線を求めた結果、両者に有意な負の相関が認められた ($p < 0.05$)。

血清 **Calcitonin** 濃度と EMU-K との間で有意な正相関が認められた ($p < 0.05$)。

- 3) 血清 **PTH** 濃度は、低 Na 食群と Control 群との間に有意差はなかった。さらに両群を併せて Na 摂取量との回帰直線を求めた結果、両者に有意な相関は認められなかった。

血清 **PTH** 濃度と EMU- (K, P) との間でいずれも有意な負の相関が認められた (いずれも $p < 0.05$)。

- 4) 血清 T3 濃度では低 Na 食群で Control 群に比較して有意に低い値を示した ($p<0.05$)。また、両群を併せて Na 摂取量との回帰直線を求めた結果、両者に有意な正相関が認められた ($p<0.01$)。血清 T3 濃度と EMU-(Ca, P, Zn) との間では有意な正相関が認められた ($p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.05$)。
- 5) 血清 T4 濃度は低 Na 食群で Control 群に比較して有意に低い値を示した ($p<0.01$)。また、両群を併せて Na 摂取量との回帰直線を求めた結果、両者に有意な正相関が認められた ($p<0.01$)。血清 T4 濃度と EMU-(Na, K, Ca, Mg, P, Zn) との間では、有意な正相関 ($p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.001$, $p<0.001$) がそれぞれ認められた。

考 察

血中のホルモンは、ある特定の物質やエネルギー代謝と関連して変化すると考えられている。しかし、我々はすでに、体内のミネラル代謝は相互に関連していることを見出した。そこで、特定のミネラルの状態と関連して変動する一つのホルモンが、その他のミネラル代謝にも影響を及ぼすと考え、早朝第二尿を用いて総合的に検討した。

その結果、血中のホルモンは、様々なミネラルの早朝第二尿レベルと相関し、また、T3, T4 はエネルギー代謝以外に尿中ミネラル排泄と関連することが明らかになった。今後はエネルギーやミネラルの代謝とホルモンレベルとの関係をさらに明らかにする必要があると考える。

とくに、Na の不足状態では、骨に貯蔵されている Na が放出されると考えるが、その際、骨中の貯蔵されている Ca, Mg, P, Zn などの代謝に大きな影響を与えると考えられるので、その時のホルモン状態を詳細に検討し、生体におけるミネラル代謝の全貌を明らかにする必要があると考える。

3. 今後の研究における課題または問題点

ミネラル代謝を理解するためには、ミネラルの代謝を制御しているホルモンなどの役割を明らかにする必要がある。今回の検討は、ミネラル代謝におけるホルモン動態を多角的に捉えた第一歩であり、今後の発展が望まれる。過去に検討した、ホルモンと特定のミネラルとの関係を、特定のホルモンとミネラル全般との関係に拡張し、再検討することが今後の課題である。

(共同研究者：児玉直子、吉武裕、島田美恵子、芹澤奈保)

文献

- 1) 西牟田守 (2017) 微量元素(Fe, Zn, Cu, Mn)の体内動態と平衡維持摂取量. 臨床検査 **61** : 158-163.
- 2) Masanori Iwasaki, Mamoru Nishimuta, Hideo Miyazaki, et al (24 September 2017) Dentition status and frailty in community-dwelling older adults: A 5-year prospective cohort study. *Geriatr Gerontol Int* 2017; ...
- 3) Mamoru Nishimuta, Naoko Kodama, Yutaka Yoshitake, Mieko Shimada, Naho Serizawa (2018) Dietary salt (sodium chloride) requirement and adverse effects of salt restriction in humans. *J Nutr Sci Vitaminol* **64**: (in press)

ドレブリンによるシナプス機能の可視化の試み

児島 伸彦(生命科学部生命科学科)

ヒトの高次脳機能は、脳内に存在する多数のニューロンが互いにシナプス結合を介して構築されたネットワークのはたらきにより実現している。認知機能を担う大脳皮質のニューロンの数は 140 億個ともいわれており、一個のニューロンに数万個のシナプスが入力しているとする、大脳皮質には数百兆個ものシナプスがひしめいていることになる。脳内の興奮性シナプスの受け手のほとんどは、ニューロンの樹状突起上の小突起構造「樹状突起スパイン」に存在する。樹状突起スパインは直径 $1\mu\text{m}$ にも満たない微細構造であるが、その中にはシナプス伝達に必要な各種伝達物質受容体やチャネル、それらをシナプス膜に局在させるための足場タンパク、各種細胞内シグナル伝達系に関わる分子、アクチン細胞骨格系タンパクなど数多くの分子が集積している⁽¹⁾。特にアクチン細胞骨格系タンパク質は、スパインの形態形成、維持および形態変化に重要な役割を演じている⁽²⁾。我々は、その中でも主要なアクチン線維結合タンパク質であるドレブリンというタンパク質に着目して研究を行っている。

ドレブリンとシナプス機能

ドレブリンは、ニワトリ脳で発生過程を通じて発現量が特徴的に変動するタンパク質として見出されたタンパク質で、Developmentally regulated brain protein の頭文字を合成して命名されたタンパク質であるが、その脳機能における役割はアルツハイマー病患者の死後脳で初めて示された⁽³⁾。アルツハイマー病の死後脳におけるドレブリンの発現と分布を免疫組織化学により調べる研究により、ドレブリンがニューロンの細胞死に先立ってシナプス後部から消失することが報告されている⁽³⁾。またドレブリンの消失は大脳皮質で広範に起きており、健常人でも加齢により減少すること、その減少度は認知機能障害の程度と高い相関を示すことも報告されている⁽⁴⁾。このことは、加齢やアルツハイマー病にみられる認知障害が、ニューロンの細胞死以前に起こるシナプス機能不全による可能性を示している。

そこで我々は、「シナプス状態と樹状突起スパイン内のドレブリン量は密接に関連しており、スパイン内のドレブリンを定量することでシナプス機能の低下を可視化することができる」との仮説を提唱するに至った。それを検証するため、X 線照射によって生ずる記憶障害と脳内のドレブリン量との相関をみる実験を行った⁽⁵⁾。

X 線照射による記憶障害とドレブリン染色輝度の低下

まず、麻酔したマウスを X 線発生装置（島津 TITAN-225S）の直下にセットし、10 Gy の X 線をその頭部に限定照射することによって生ずる記憶障害を恐怖条件づけ後のフリージングによって評価した。麻酔下のマウスの頭部に音と床からの電気ショックの組み合わせ刺激による恐怖条件づけをした直後（30 分以内）に 10 Gy の X 線を照射すると、24 時間後にテストした条件刺激（ショック箱に再び入れられるという文脈）に対する恐怖反応（フリージング）が低下した。X 線照射を条件づけの 7 時間前に行っても、24 時間後に調べた恐怖反応は低下した。しかし、X 線照射を条件づけの 24 時間前に行うと、恐怖

反応は低下しなかった（図 1 右側の○×参照）。したがって、条件づけの 7 時間前から 30 分後の間に起こる X 線照射の影響が記憶の低下につながると考えられる。文脈依存的な恐怖記憶には、海馬の活動が必須であることが知られている。そこで、X 線照射による恐怖条件づけ記憶にドレブリンが関係するかどうかを知るために、X 線照射後の海馬でドレブリン量を経時的（2 時間後、8 時間後、24 時間後）に調べた。マウスの頭部の

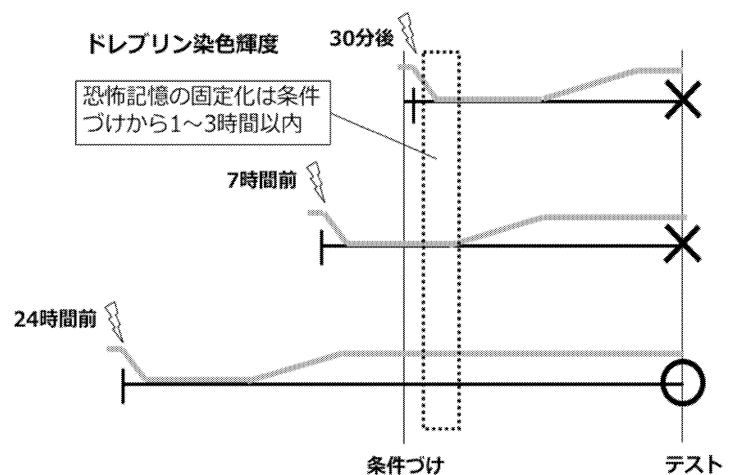


図 1 X 線照射による学習障害とドレブリン染色の低下

の正中線から左半分を鉛板で遮蔽し、同一動物で右側（非遮蔽側）を照射側、左側（遮蔽側）を非照射側として、抗ドレブリン抗体による免疫染色を行った。その結果、照射の 2 時間後と 8 時間後で照射側海馬のドレブリン陽性シグナル輝度が対照側に比べて有意に減少することがわかった。一方、照射の 24 時間後には両側で有意差はなかった（図 1 中のグレイの線で示すグラフ参照）。恐怖記憶の固定化は、条件づけの 1-3 時間の間に起こることが行動薬理学的に示されているので、X 線照射によるドレブリンタンパク質の減少がみられる時間（2-8 時間）は、照射の 24 時間前では条件づけの 1-3 時間に被ることはないが、照射の 7 時間前でも直後（30 分以内）でも条件づけの 1-3 時間に被ってしまう（図 1）。このことから、海馬におけるドレブリンタンパク質の一過性の減少は、X 線照射による恐怖記憶障害の要因の一つと考えられる。以上の結果は、ドレブリンのスパイン局在をみることでシナプス機能を可視化できるという仮説を支持している。さらに、もしスパイン内のドレブリン量を保つことができれば認知症予防に寄与する可能性も示唆される。そこで、われわれはシナプス状態をハイスループットで解析する方法の開発に着手した。

シナプス状態のハイスループット解析法の確立

IN Cell Analyzer 2200 (GE ヘルスケア) を用いて、培養細胞におけるドレブリンの樹状突起スパイン局在を多サンプルの自動的により計測する系を以下のように確立した。ラット胎仔の海馬より採取したニューロンを 96 ウェルマイクロプレートに $3 \sim 4.5 \times 10^4$ 細胞/cm² の密度で播種し、4 日目に AraC 添加後、21 日目まで 37℃、5%CO₂ 条件下で培養した。この間にニューロンは突起を伸長し、ニューロン間でシナプスを形成する。その後、細胞を 4%ホルムアルデヒドで固定し、DAPI（青）、抗ドレブリン抗体（緑）および抗 MAP-2 抗体（赤）による三重染色を行った。DAPI は細胞の核を、ドレブリンは樹状突起スパインを、MAP-2 はニューロンの細胞体と樹状突起を染色する。IN Cell Analyzer によって、ウェル内の細胞数、全樹状突起数、全樹状突起長、樹状突起スパイン数とその密度を自動計測するためのアルゴリズムを作成した。この解析系が適正に稼働するかどうかについては、ニューロンへのグルタミン酸刺激によって、ドレブリンが樹状突起スパインから消失する”出スパイン (Exodus)”⁽⁶⁾ が検出できるかどうかにより評価した。培養 21 日目のニューロンに、1 から 100 μM のグルタミン酸を 10 分間作用させてドレブリンの蛍光強度の変化を解析したところ、濃度依存的に減少することが確かめられた。一方、

MAP-2 染色で描写される樹状突起長には影響なかった。したがって、この系はドレブリンのスパイン局在を適切に可視化していると判断された。この系を利用すれば、各種薬物のシナプス状態への効果を定量的に評価することができると期待される。

この解析系を用いて、われわれは次にフェルガード（グロービア社）のシナプス機能への効果を検討した。

シナプス機能に対するフェルガードの効果

フェルガードは、米ぬかから精製された天然ポリフェノールであるフェルラ酸とハーブの一種ガーデンアンゼリカを混合（例えば 5:1 の割合）したサプリメントで、アルツハイマー型認知症患者が長期的に服用することで認知機能や抑うつ行動を改善するはたらきがあるとの臨床データがある。しかしながら、フェルガードがどのように認知症の脳に作用するのかについては未だよくわかっていないのが現状である。

そこで本研究では、前項のシナプス機能のハイスループット解析系を用いて、ラット海馬ニューロンに対するフェルガードの効果を調べた。前項で記載したように、ラット胎仔の海馬ニューロンを 96 ウェルマイクロプレートに 4.5×10^4 細胞/cm² の密度で 40 ウェルに播種し、21 日目まで 37℃、5%CO₂ 条件下で培養した。20 日目に 40 ウェル中の 20 ウェルに 2.5 mM フェルラ酸相当のフェルガード（0.1% DMSO を含む）を、残りの 20 ウェルに対照として 0.1% DMSO を添加し、24 時間後に前項と同様のグルタミン酸刺激を行って、1 時間後に細胞を固定した。前項の DAPI、ドレブリン、MAP-2 の三重染色を行って解析したところ、30 μ M と 100 μ M グルタミン酸刺激によるドレブリン蛍光輝度の減少は フェルガード群と対照群で有意差がなかったものの、無刺激（0 μ M）と 1 μ M グルタミン酸刺激においては、フェルガード投与群のほうが有意にドレブリンの蛍光輝度が高かった（図 2）。一方、MAP-2 染色に両群で有意な

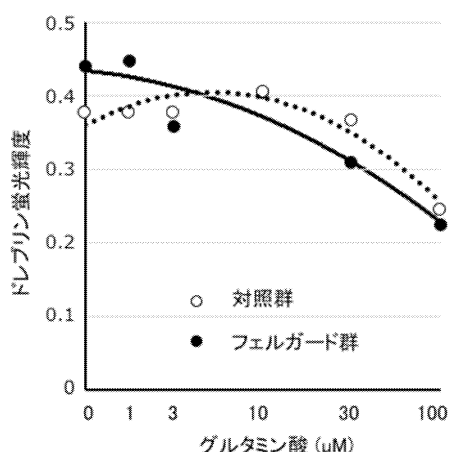


図 2 フェルガードの海馬スパインにおけるドレブリンスパイン局在への効果

差は見出されなかった。したがって、フェルガードには少なくともこの条件では、高濃度のグルタミン酸によるドレブリンのスパインからの消失には効果がないが、無刺激および低濃度グルタミン酸刺激では、ドレブリンのスパイン局在を強化するて働くと考えられる。この効果が、フェルガードのアルツハイマー病認知症の症状改善効果に部分的に寄与しているかもしれない。フェルガードの主成分であるフェルラ酸は抗酸化作用をもつことが知られており、今後アルツハイマー病認知症脳でドレブリン量が低下するメカニズムを解明する手がかりになることが期待される。

謝辞

本研究は、筆者と群馬大学大学院医学系研究科神経薬理学 白尾研究室との共同で実施されたものである。この場をお借りして白尾智明教授並びに白尾研究室員一同に深謝します。また、フェルガードに関する研究は（株）グロービアとの共同研究として実施したものである。

文献

1. Calabrese B, Wilson MS, Halpain S Development and Regulation of Dendritic Spine Synapses. *Physiology* 21:38-47, 2006.
2. Matus A Actin-based plasticity in dendritic spines. *Science*. 290: 754-8, 2000.
3. Harigaya Y, Shoji M, Shirao T, Hirai S Disappearance of actin-binding protein, drebrin, from hippocampal synapses in Alzheimer's disease. *J Neurosci Res* 43:87-92, 1996.
4. Counts, SE, Nadeem, M, Lad, SP, Wu, J, Mufson, EJ Differential expression of synaptic proteins in the frontal and temporal cortex of elderly subjects with mild cognitive impairment. *J Neuropathol Exp Neurol* 65:592-601, 2006.
5. Puspitasari A, Koganezawa N, Ishizuka Y, Kojima N, Tanaka N, Nakano T, Shirao T X irradiation induces acute cognitive decline via transient synaptic dysfunction. *Radiation Res* 185:423-430, 2016.
6. Mizui T, Sekino Y, Yamazaki H, Takahashi H, Kojima N, Kojima M, Shirao T Myosin II ATPase activity mediates the long-term potentiation-induced exodus of stable F-actin bound by drebrin A from dendritic spines. *PLoS One*. 22; e85367, 2014.

＜運動と代謝(物)からみた健康寿命の延伸＞

【概要】

健康寿命の延伸のためには、生活習慣病の発症の第1次予防である運動の重要性は極めて高いことが広く報告されている。そこで、本研究グループでは、運動と代謝物に着目して、「運動と代謝(物)からみた健康寿命の延伸」を行うこととした。

【研究報告】

①骨質維持・改善に有効なファイトケミカルのスクリーニング (矢野 友啓)

ヒトの骨質維持・改善には骨のコラーゲンの善玉架橋形成に必須の主要酵素であるリジロキシダーゼ(LOX)活性が重要とされている。オリーブポリフェノール類の中で、ハイドロキシチロソールに LOXmRNA 発現回復作用があり、その作用点として、LOXmRNA の主要転写因子とされる Fil1 の活性低下が推測された。

②酸化ストレスマーカーを用いた活性酸素による健康影響評価 (宮越 雄一)

8-OHdG 生成の陽性対照物質である p-aminophenol を用いて、ELISA 法で測定した 8-OHdG 濃度と HPLC-ECD-UV 法で測定した 8-OHdG 濃度の比(ELISA/HPLC)を測定したところ、ELISA 法で測定した 8-OHdG 濃度は HPLC-ECD-UV 法で測定した 8-OHdG 濃度よりも高い値となった。

③細胞の成熟に関する検討 (川口 英夫)

マウス DRG との共培養では、iPS 由来の神経幹細胞の分化に影響を及ぼすことが示唆された。しかし、NeuN および β III-tubulin 遺伝子の発現量は共培養 6 日目以降では極端に少ないことがわかった。このため、共培養 6 日目ではすでに多くの細胞が神経細胞に分化した後なのではないかと考える。また、フルオロ・イメージアナライザーでは、細胞が成長し大きくなるに従い測定される蛍光量が増加する。そのため、培養 6 日目以降でもタンパクの発現が、見かけ上変化がなかったと考える。

④培養筋細胞系を用いた新規運動効果の探索およびその応用 (根建 拓)

我々は、収縮依存的に分泌増加するマイオカインのみならず、収縮によって分泌減少する新規マイオカインである CCL5 (RANTES)および CXCL10 (IP-10)を同定することに成功した。また、マウスヒラメ筋での CXCL10 遺伝子発現が、運動によって有意に抑制されることが明らかとなった。さらに、運動依存的な CXCL10 分泌減少メカニズムを解析し他ところ、Ca²⁺依存性細胞内シグナル伝達経路およびストレス応答性 MAP キナーゼのひとつである p38 が分泌減少に関与することが分かった。また電気刺激を負荷した C2C12 細胞の培養上清 (EPS-CM)には MSS31 細胞の生存能を亢進させる活性が確認されたが、外来性 CXCL10 の補償添加によってこの効果は消失した。すなわち、運動によって骨格筋からの CXCL10 の分泌が減少し、周囲の血管新生を促進することが示唆された。

⑤異なる回転数の自転車運動が静脈血管伸展性に及ぼす影響 (大上 安奈)

座位姿勢にて 60%HRreserve に相当する 32 分間の一定負荷自転車運動を 60 回転/分(60rpm)または 80 回転/分(80rpm)で実施した。心拍数および血圧の変化には回転数の違いは見られなかった。下腿部静脈血管伸展性は、60rpm の運動前後で変化しなかったが、80rpm では運動前と比較して運動後に低下し、60rpm よりも 80rpm で低値を示した。容量反応はいずれの回転数とも運動前後で変化しなかった。最大静脈還流量は静脈血管伸展性と類似した変化を示した。60rpm と比較して

80rpm において、回転数の増加に伴い増大した筋血流量によって静脈血管が受動的に拡張された結果、静脈血管 **tone** が上昇し、伸展性が低下したと考えられる。

⑥女性長距離陸上選手における疲労骨折リスク因子の検討（太田 昌子）

疲労骨折の可能性が高い女性長距離陸上選手においては、骨および疲労骨折に関連する因子の中で **MTHFR** の **SNP** 型が重要な影響力を有することが示された。その **SNP** 型を基準としたとき、ヘテロおよびホモ型の血漿ペントシジン濃度が高く、また、疲労骨折経験を有するという有意な傾向がみられた。さらに、血漿ホモシステインとペントシジン間に有意な強い正の相関関係がみられた。

【今後の活動計画】

①骨質維持・改善に有効なファイトケミカルのスクリーニング（矢野 友啓）

In vitro で骨質維持・改善作用を持つ可能性が示されたハイドロキシチロソールについて、ヒト介入試験を介して、その安全性、有効性を確認することが必要であり、その摂取濃度や期間等を詳しく検討し、将来の臨床応用を期待したい。

②酸化ストレスマーカーを用いた活性酸素による健康影響評価（宮越 雄一）

ELISA 法により測定した **8-OHdG** 濃度は、**HPLC-ECD-UV** 法で測定した **8-OHdG** 濃度よりも高い値となる可能性があるため、尿や血清などの生体試料中の **8-OHdG** 濃度を測定する場合は、**HPLC-ECD-UV** 法で測定した方がより正確であることが示唆された。

③細胞の成熟に関する検討（川口 英夫）

先行研究および本研究の結果から、**iPS** 細胞はその分化成熟過程で、周囲の生体細胞から受ける因子で目的細胞への分化誘導が変化する可能性が示唆された。これは移植する **iPS** 細胞の分化段階を精査する必要性や、各移植部位において移植細胞が受ける影響を予め調査する必要があることを示す。これは再生医療の臨床応用において重要な知見であると考えられる。

④培養筋細胞系を用いた新規運動効果の探索およびその応用（根建 拓）

今後も新規マイオカインの探索を継続する予定としている。培養細胞を用いた擬似的運動負荷モデルを使ったマイオカイン同定を進めるとともに、複数のマウス走行モデルを用いて確認を継続する予定としている。運動依存的な生理変化を仲介する可能性が高いと考えられたマイオカインについては、部位特異的遺伝子改変マウスなどを使った研究を推進していく予定としている。これらの研究が進めば、これまで不明であった運動によって生じる骨格筋以外の遠隔組織・臓器・器官での生理変化の詳細が明らかになることが期待される。

⑤異なる回転数の自転車運動が静脈血管伸展性に及ぼす影響（大上 安奈）

継続的な運動習慣を有することで静脈血管伸展性が増大することは、多くの研究において明らかにされている。今後は、静脈血管伸展性が増大する機序およびその生理学的意義について検討していく必要がある。

⑥女性長距離陸上選手における疲労骨折リスク因子の検討（太田 昌子）

疲労骨折早期予防のためのリスク評価には、従来の方法である **BMD** のみではなく、**MTHFR** の **SNP** 型を判定することも重要であることが示唆された。

ライフイノベーション研究所 研究員
食環境科学部健康栄養学科 宮越 雄一

「運動と代謝(物)からみた健康寿命の延伸」

研究報告

骨質維持・改善に有効なファイトケミカルのスクリーニング

矢野 友啓(食環境科学部食環境科学科)

1. 研究の背景・目的

超高齢社会を迎えた日本の解決すべき課題として、健康寿命延伸があげられるが、健康寿命を阻害する大きな原因の一つとして骨粗鬆症がある。骨粗鬆症の予防において、骨強度に重要な骨密度や骨量を十分に増加させることが重要といわれている。しかし最近では、骨強度の改善だけでは骨粗鬆症の予防・治療には不十分であることから、私たちはもう一つの骨強度因子である「骨質」に着目した。骨密度や骨量の研究に比べて骨質をターゲットとした研究は少なく、骨粗鬆症の予防法の構築に向けて必要不可欠であると考えられる。

そこで本研究では、骨質を指標とした新たな予防法の確立を目指し、骨質維持・改善に有効なファイトケミカルのスクリーニングを行うことを目的に、本年度の研究を進めた。具体的には、日本と並んで、欧米諸国の中では健康寿命が長い地中海沿岸国の主食素材であるオリーブに含まれるポリフェノールに注目して、ヒト骨芽細胞培養モデルを用いて、骨質維持・改善効果が期待されるポリフェノール類を絞り込んだ。

2. 調査報告および研究報告

研究方法・結果:

(1) ヒト骨芽細胞培養モデルとして、**MG63** 細胞培養モデルを用い、オリーブポリフェノール (オレウロペイン、ヒドロキシチロソール、チロソール) 処理条件について、**WST-1** 法 (細胞生存活性評価) を用いて、検討した。その結果、細胞に対して毒性を示さない処理条件として、処理時間が **72h**、オリーブポリフェノール処理濃度が **10 μ M** と決定した。

(2) ヒトの骨質維持・改善には骨のコラーゲンの善玉架橋形成に必須の主要酵素であるリジロキシダーゼ(**LOX**)活性が重要とされている。そこで、(1) で決定したオリーブポリフェノール処理条件で処理した **MG63** 細胞における **LOXmRNA** レベルに対する各ポリフェノール類の効果を検証した。その結果、図に示したように、ヒドロキシチロソールにのみ、**LOXmRNA** 発現回復作用が認められた。

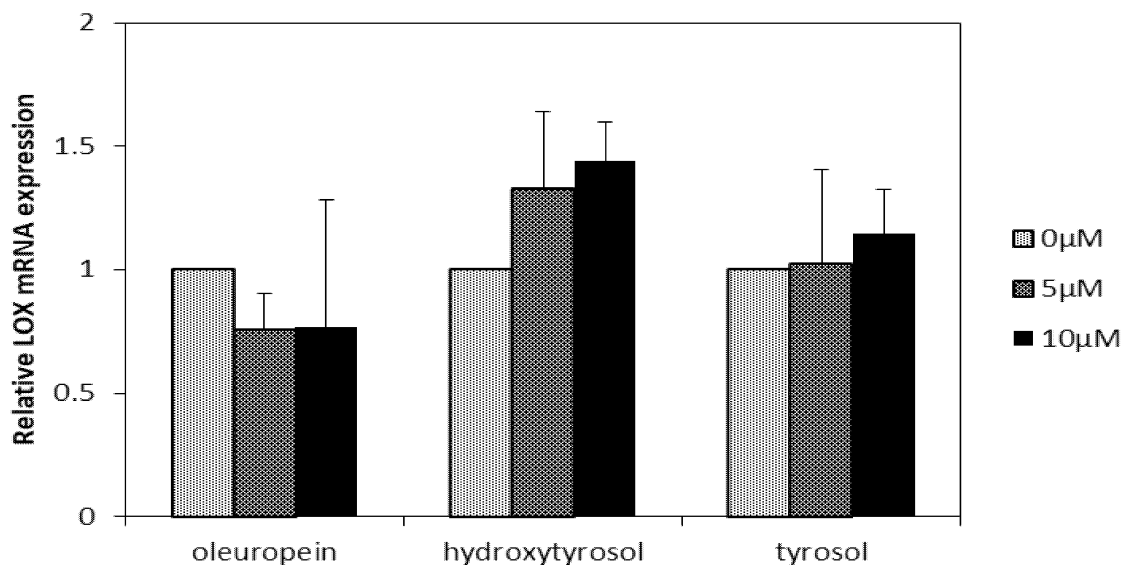


図1 各オリーブポリフェノール類の MG63 細胞の LOXmRNA レベルに及ぼす影響

(3)(2)でLOXmRNA発現回復作用が認められたヒドロキシチロソールの作用機序の解析を行った。LOXmRNA発現調節に関与する上流の主要シグナル分子として報告されているFli1/DNMTs系に対する影響を検討した。その結果、DNMTs転写因子であるFli1 mRNA発現において減少傾向を示した(図2)。また、それと関連してDNMT1、DNMT3A、DNMT3Bの3種類のmRNA発現を解析したところ、DNMT1、DNMT3Aにおいて有意に減少した。DNMT3B mRNA発現においては、減少傾向が見られた。

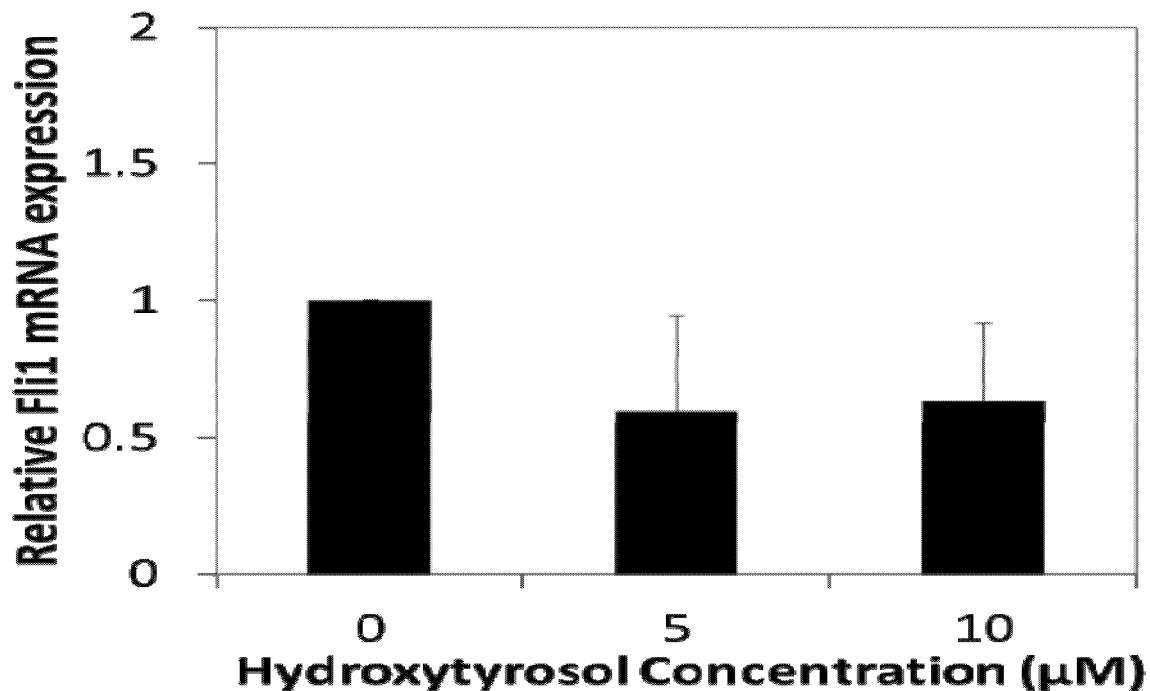


図2 ハイドロキシチロソールのMG63細胞におけるFli1mRNAレベルに及ぼす影響

(4)(1)－(3)の結果から、オリーブポリフェノール類の中で、ヒドロキシチロソールにLOXmRNA発現回復作用があり、その作用点として、LOXmRNAの主要転写因子とされるFli1の活性低下が推測された。

3. 今後の研究における課題

*In vitro*で骨質維持・改善作用を持つ可能性が示されたヒドロキシチロソールについて、ヒト介入試験を介して、その安全性、有効性を確認することが必要であり、その摂取濃度や期間等を詳しく検討し、将来の臨床応用を期待したい。

文献

- 1) Fernandez-Real JM, et al. A mediterranean diet enriched with olive oil is associated with higher serum total osteocalcin levels in elderly men at high cardiovascular risk. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012; 97:3792-3798.
- 2) Thaler R, Agsten M, Spitzer S, Paschalis EP, Karlic H, Klaushofer K, Varga F. Homo cysteine suppresses the expression of the collagen cross-linker lysyl oxidase involving IL-6, Fli1, and epigenetic DNA methylation. *J Biol Chem.* 2011;286:5578-5588.
- 3) Saito M, Marumo K. Collagen cross-links as a determinant of bone quality: a possible explanation for bone fragility in aging, osteoporosis, and diabetes mellitus. *Osteoporos Int.* 2010;21:195-214.

酸化ストレスマーカーを用いた活性酸素による健康影響評価

宮越 雄一（食環境科学部健康栄養学科）

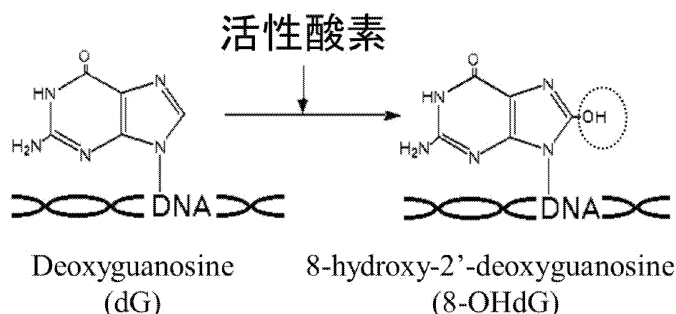
1. 研究の背景

わが国の平成 28 年の死因を粗死亡率で見ると、第 1 位は悪性新生物（がん）、第 2 位は心疾患、第 3 位は肺炎、第 4 位は脳血管疾患であり、生活習慣病のがん、心疾患、脳血管疾患の死亡数を合計すると、全死亡数の半数を超える 62.0% を占めている。また平成 25 年の平均寿命は男性 80.21 歳・女性 86.61 歳、健康寿命は男性 71.19 歳・女性 74.21 歳であり、平均寿命と健康寿命の差は、男性 9.02 年、女性 12.40 年である。平成 25 年の国民生活基礎調査によると介護が必要となった原因は、第 1 位が生活習慣病である脳血管疾患、第 2 位が認知症となっている。健康日本 21（第二次）では、平成 34 年度までに平均寿命の増加分を上回る健康寿命の増加を目標としており、都道府県の格差の縮小も目標としている。

一方、生活習慣病の原因の一つとして、活性酸素の関与が考えられている。生体内で過剰に活性酸素が生成された場合には、様々な生体分子を攻撃し、細胞を傷害するが、それに対して活性酸素による酸化ストレスに対する抗酸化酵素（カタラーゼ・superoxide dismutase SOD など）や抗酸化物質（ビタミン C・ビタミン E など）により生体は制御されている。この活性酸素と抗酸化酵素・抗酸化物質のバランスが崩れ、酸化ストレスの方に傾くと、核酸、たんぱく質、脂質などの生体内の重要な構成成分を傷害し、がん、心疾患、脳血管疾患、糖尿病、動脈硬化などの生活習慣病や老化促進、神経変性疾患などを引き起こすことが報告されている。

このような様々な病態に活性酸素が密接に関与することから、活性酸素による酸化ストレス状態を早期に把握するバイオマーカーを用いることが病態把握のためにも重要である。その中でも、発がんや老化に関する酸化ストレスマーカーとして、活性酸素による DNA 損傷（酸化的 DNA 損傷）の 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) が広く利用されている。

そこで酸化ストレスマーカーである 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) を用いて活性酸素による健康影響を評価することにより、生活習慣病の予防・悪化防止さらに健康寿命の延伸に寄与することが期待できる。



2. 調査報告および研究報告

8-OHdG は、活性酸素により DNA のグアニン塩基の 8 位に水酸基（-OH）が付加され生じる。8-OHdG の測定には、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）、電気化学的検出器（ECD）、紫外線分光検出器（UV）を用いた測定や ELISA 法（enzyme-linked immunosorbent assay 酵素免疫測定法）が広く利用されている。

本研究では、HPLC-ECD-UV 法と ELISA 法による測定値の違いについて検討した。

8-OHdG を生成する陽性対照物質として、*p*-aminophenol を用いた。*p*-aminophenol と DNA を反応後、nuclease、alkaline phosphatase で処理した後、HPLC-ECD-UV 法を用いて 8-OHdG および dG (deoxyguanosine) を測定し、あわせて ELISA 法も用いて 8-OHdG を測定した。

HPLC-ECD-UV 法による 8-OHdG 測定機器として、エイコム社の ECD を用いた。移動相として、6% MeOH / 100mM phosphate buffer (pH6.0) (5mg EDTA-2Na/L)、分離カラムとして SC-5 ODS (3.0×150mm) を用いた。

ELISA 法による 8-OHdG 測定試薬として、高感度 8-OHdG Check (日本老化制御研究所) を用いた。8-OHdG を固相化しているマイクロプレートに、試料または 8-OHdG 標準液と 8-OHdG と特異的に反応するモノクローナル抗体を加え、競合的に反応させた。酵素標識抗体を加え、モノクローナル抗体に結合させた。発色剤である 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine を加え、酵素標識抗体の酵素活性により青色に呈色させた。反応停止液を加え、発色反応を停止し、吸光度 (450nm) を測定した。

p-aminophenol の濃度が 0 μ M の時は、ELISA 法で測定した 8-OHdG 濃度と HPLC-ECD-UV 法で測定した 8-OHdG 濃度の比 (ELISA/HPLC) は 1.0 であったが、*p*-aminophenol の濃度が 50、100 および 200 μ M の時の ELISA/HPLC は各々、3.7、3.3 および 3.1 であった。ELISA 法で測定した 8-OHdG 濃度は HPLC-ECD-UV 法で測定した 8-OHdG 濃度よりも高い値となった。

Table 1. HPLC 法と ELISA 法による 8-OHdG 濃度の比較

<i>p</i> -aminophenol (μ M)	HPLC 8-OHdG (ng/mL)	ELISA 8-OHdG (ng/mL)	ELISA/HPLC 8-OHdG
0	0.48	0.46	1.0
50	4.69	17.28	3.7
100	5.06	16.86	3.3
200	5.07	15.93	3.1

3. 今後の研究における課題または問題点

ELISA 法により測定した 8-OHdG 濃度は、HPLC-ECD-UV 法で測定した 8-OHdG 濃度よりも高い値となる可能性があるため、尿や血清などの生体試料中の 8-OHdG 濃度を測定する場合は、HPLC-ECD-UV 法で測定した方がより正確であることが示唆された。

文献

- 1) Kasai H. et al. (1984) 『Detection and identification of mutagens and carcinogens as their adducts with guanosine derivatives.』 12 (4), p.2127-2136, Nuclei Acids Res.
- 2) Miyakoshi Y. et al. (1998) 『Mutagenicity of *p*-aminophenol in *E.coli* WP2uvrA

KM101 and its relevance to oxidative DNA damage.』 415, 139-50, Mutation Research
- 3) Saito S. et al. (2000) 『Quantative determination of urinary 8-hydroxyguanosine (8-OHdG) by using ELISA』 107, p.39-44, Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.
- 4) Kasai H. et al. (2001) 『Analysis of 8-hydroxydeoxyguanosine as a marker of oxidative stress.』 194, p.10-16, Foods Food Ingredients J.

細胞の成熟に関する検討

川口 英夫（生命科学部生命科学科）

1. はじめに

マウス人工多能性幹細胞（induced pluripotent stem cell : iPS 細胞）は 2006 年に山中らによりマウス繊維芽細胞に Oct3/4、Sox2、Klf4、c-Myc の 4 つの遺伝子をウイルスベクターを用いて組み込むことで樹立された。さらに、2007 年に同様に山中らによりヒト iPS 細胞が樹立された。iPS 細胞は ES 細胞と同様の自己複製能および多分化能を有している。また、体細胞から作製できるため、患者由来の iPS 細胞を用いることができ、倫理的な問題や拒絶反応を回避することができる。再生医療に iPS 細胞を適用する際、損傷組織の代替品として生体外で作製した組織を生体内に移植する方法と、損傷組織を補修する役割として移植する方法が考えられるが、いずれの場合も移植細胞は生体内に既に存在する組織からの影響を受ける。特に iPS 細胞を生体内に移植する際はある程度まで分化誘導した細胞を移植し、生体内で周囲の組織と相互作用しながら生着させるため、生体内における iPS 細胞の分化成熟過程への周囲の細胞の影響を調べる必要がある。また、従来の iPS 細胞の神経細胞への分化方法では長期の作製期間が必要で、機能的に不十分な場合が多いという問題がある。共培養はこれらの問題を打破する方法となる可能性があると考えられる。しかしながら、我々は先行研究¹⁾で、マウス後根神経節（DRG）と iPS 細胞を共培養すると、培養初期において iPS 細胞の神経細胞への分化が抑制されることを見出した。そこで本研究では、iPS 細胞を神経幹細胞まで分化させ、DRG と共培養することで神経細胞への分化に与える影響を検討した。

2. 方法

iPS 細胞が神経幹細胞に分化する日数を調べるため、96 ウェルプレートに iPS 細胞を播種し、12, 18, 24, 30 日間培養した。培養後、神経幹細胞マーカーである nestin 遺伝子の発現量をリアルタイム RT-PCR で測定した。さらに、抗 nestin 抗体を用いて蛍光免疫染色し、フルオロ・イメージアナライザーで nestin タンパクの発現量を測定した。次に、iPS 細胞を 24 ウェルプレートに播種し、18 日間単独培養したものを、生後 3 日目のマウス（C57BL/6L）から採取した DRG と、セルカルチャーインサートを用いて 6, 12, 18, 24 日間共培養した。共培養後、神経細胞マーカーである β III-tubulin、および成熟神経細胞マーカーである NeuN についてタンパクおよび遺伝子の発現量を同様の方法で解析した。

これらのデータは、共培養とコントロール間では t 検定、経時変化では一元配置分散分析することで、統計的に解析した。

なお、本研究は東洋大学動物倫理委員会で認可されたプロトコルに従い実施した。

3. 結果と考察

予備検討として、nestin の遺伝子発現およびタンパク発現の経時変化を調べたところ、いずれも培養 18 日目での発現が最も多く、培養 30 日目との間で有意差がみられた ($p < 0.05$)。

図 1 に示す通り、NeuN 遺伝子の発現について、培養 6, 12, 18 日目ではコントロールに比べ有意差はみられなかった。また、 β III-tubulin 遺伝子でも、同様に有意差はみられなかった。さらに、NeuN 遺伝子、 β III-tubulin 遺伝子ともに、共培養、コントロールの両方でその経時変化に有意差はみられなかった。

図 2 に示す通り、**βIII-tublin** タンパクの発現量について、培養 24 日目でコントロールに比べ有意に少なかった。一方、**NeuN** タンパク質では、コントロールに比べ有意差はみられなかった。さらに、**βIII-tublin** タンパク質、**NeuN** タンパク質ともに、共培養、コントロールの両方でのその経時変化に有意差はみられなかった。

以上の結果から、マウス **DRG** との共培養では、**iPS** 由来の神経幹細胞の分化に影響を及ぼすことが示唆された。しかし、**NeuN** および **βIII-tublin** 遺伝子の発現量は共培養 6 日目以降では極端に少ないことがわかった。このため、共培養 6 日目ではすでに多くの細胞が神経細胞に分化した後なのではないかと考える。また、フルオロ・イメージアナライザーでは、細胞が成長し大きくなるに従い測定される蛍光量が増加する。そのため、培養 6 日目以降でもタンパクの発現が、見かけ上変化がなかったと考える。

4. まとめ

我々は先行研究¹⁾および本研究の結果から、**iPS** 細胞はその分化成熟過程で、周囲の生体細胞から受ける因子で目的細胞への分化誘導が変化する可能性が示唆された。これは移植する **iPS** 細胞の分化段階を精査する必要性や、各移植部位において移植細胞が受ける影響を予め調査する必要があることを示す。これは再生医療の臨床応用において重要な知見であると考ええる。

文 献

- 1) 八代侑己, 川口英夫: 共培養系において初代培養細胞が **iPS** 細胞の分化成熟に与える影響, 日本農芸化学会 2016 年度大会, 札幌 (2016)

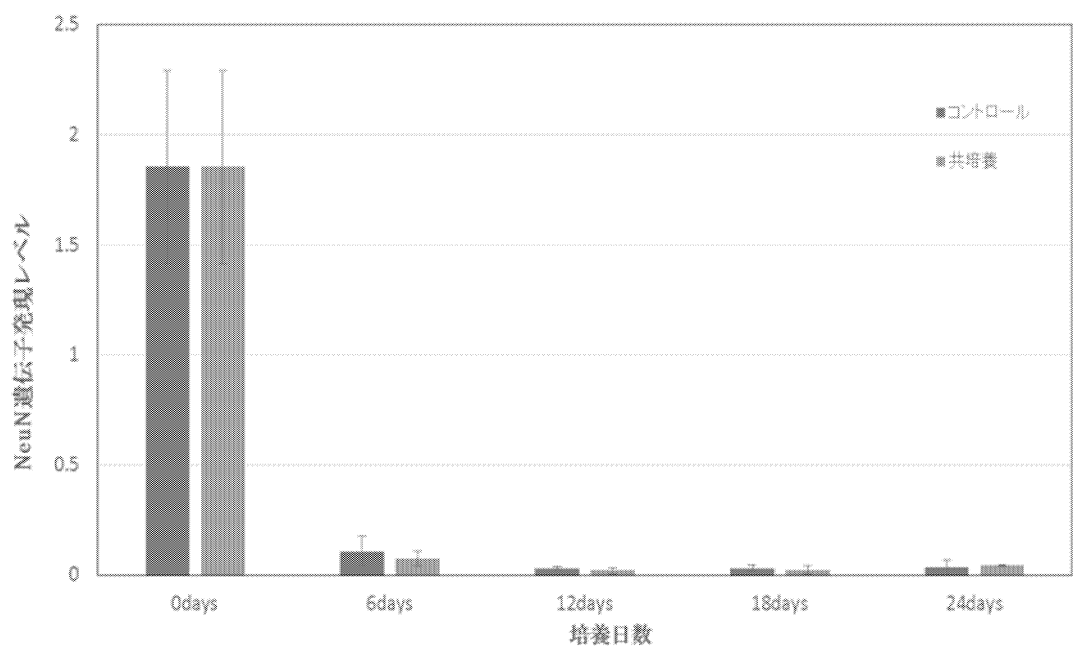


図1.NeuN遺伝子発現割合

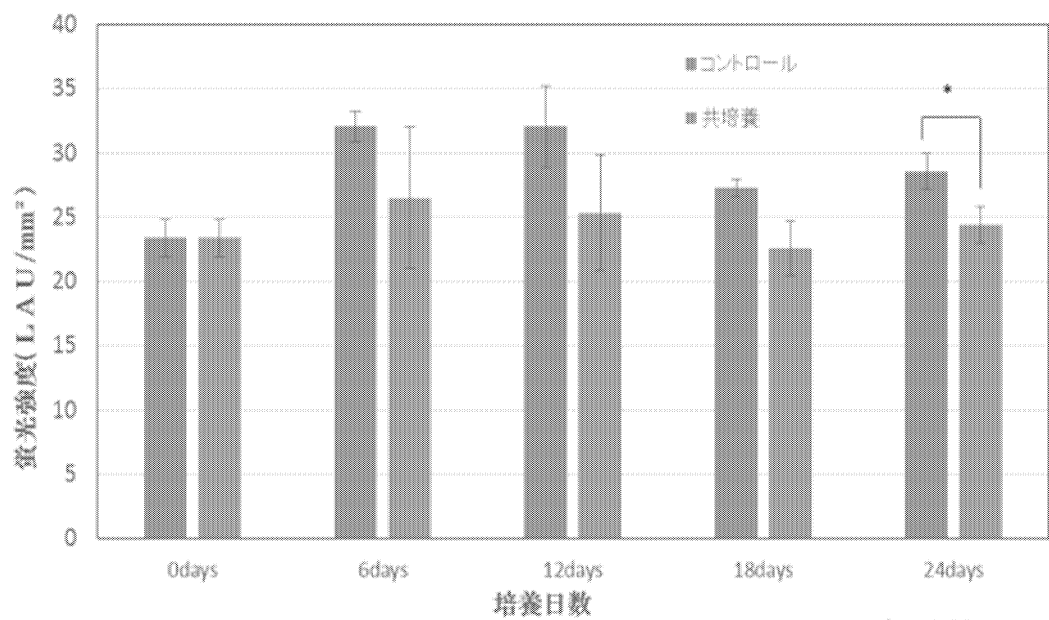


図2. β III-tubulinタンパク質発現量 * : $p < 0.05$

培養筋細胞系を用いた新規運動効果の探索およびその応用

根建 拓 (生命科学部応用生物科学科)

1. 研究の背景

適切な運動習慣は、健康寿命の延伸に極めて重要である。運動は、骨格筋での代謝を直接亢進させるとともに筋発達を促進して体全体での基礎代謝量を上昇させることが広く知られている。このような運動依存的な代謝変化は、特に近年社会問題化しているメタボリックシンドロームの予防あるいは治療の一助となることが期待されており、実際に一定の効果を上げてきている。しかし、運動は代謝改善にとどまらず、体全体に様々な影響を与え得ることが示唆されてきており、健康寿命を延伸するための効果的運動方法については、未だ研究が必要な状態である。

これまでにこのような運動効果の研究のボトルネックとなっていたのが、適切な運動研究のツールの不足であった。すなわち、運動生理学的に有用であるヒトや動物を対象とした運動研究については、ヒトを対象とした場合は侵襲的な研究方法をとることが容易ではなく、また、走行モデル動物実験では運動量のコントロールが困難であることなど、様々な問題が存在していた。特に運動効果発現の分子メカニズムに迫るためには、培養骨格筋細胞を通して運動研究を行う必要があった。我々は、生体外で運動研究が可能な「培養骨格筋細胞系」の構築に取り組み、世界で初めて、完全なサルコメア構造を保持する培養筋細胞系の開発に成功し、新規運動効果を探索するための研究を展開している (1-3)。

マウス骨格筋由来細胞 **C2C12** は、確立された骨格筋細胞株の中では極めて高い分化能を持つため、筋分化研究の有用なモデルとして多くの研究室で使用されている。一方、この細胞内には収縮に必要なサルコメア構造がほとんど確認されないため、運動効果を解析するツールとしては使用できないものであった。しかし、我々は **C2C12** 筋細胞の分化時の培養条件の詳細な検討を積み重ねることで、サルコメア構造を保持する高度発達型培養筋細胞系の開発に世界に先駆けて成功した。さらに開発した高度発達型筋細胞に対して電気パルス刺激を加えることで、人為的に収縮をコントロールできる *in vitro* 擬似的運動刺激系の開発にも成功した。この系の特長は、収縮刺激に電気パルスを使用することで、様々な収縮パターンを再現できること、さらには骨格筋細胞のみから構成される系であるため、他組織や臓器の影響を受けずに骨格筋で生じている現象を観察できることにある。我々は、本モデルによる骨格筋細胞への電気パルスが既知の運動効果を再現することを確かめた上で、これまで明らかとなっていない新規運動効果の探索を行い、健康寿命の延伸に寄与するための研究を推進している。

2. 調査報告および研究報告

近年、運動は骨格筋以外の組織に対しても影響を及ぼすことが明らかにされてきた。例えば、運動による免疫機能の調節、脂肪組織における脂肪分解の促進、脳神経系における神経新生の促進などが挙げられる。このような骨格筋で生じた運動が、他臓器・組織に対してどのようにその情報を伝達するのかについては、長らく不明な状態が続いていた。しかし、2000年、Pedersenらは、運動依存的に血中インターロイキン6 (IL-6) および骨格筋内の IL-6 mRNA が増加することを報告し、骨格筋で生じる収縮シグナルは、IL-6 のような運動依存性分泌タンパク質 (運動因子) を仲介することで、他細胞に伝達されるというマイオカイン仮説を提唱した (4)(Jonsdottir et al., 2000)。

我々は、収縮刺激を行った **C2C12** 筋管細胞の培養上清を回収し、抗体アレイ法を用いて含まれるサイトカイン・ケモカイン群の網羅的同定を試みた。その結果、収縮依存的に分泌増加するマイオカインのみならず、収縮によって分泌減少する新規マイオカインである **CCL5 (RANTES)** および **CXCL10 (IP-10)** を同定することに成功した。特に後者の **CXCL10** は血管新生を抑制することが知られており、運動依存的な毛細血管網再構成のために重要な変化ではないかと考えられた。そこで、**Running wheel** を用いたマウス自発走行運動モデルおよび **Treadmill** を用いたマウス強制運動走行モデルを用いて、**CXCL10** 遺伝子発現の変化を解析した。その結果、マウスヒラメ筋での **CXCL10** 遺伝子発現が、運動によって有意に抑制されることが明らかとなった。さらに、運動依存的な **CXCL10** 分泌減少メカニズムを解析し他ところ、 Ca^{2+} 依存性細胞内シグナル伝達経路およびストレス応答性 **MAP** キナーゼのひとつである **p38** が分泌減少に関与することが分かった。

我々は、さらに収縮依存的に発現変動するマイオカインの生理的意義についても解析を行なった。先述した通り、これまでに **CXCL10** は血管新生を制御する可能性が示されている。そこで、電気刺激を負荷した **C2C12** 細胞の培養上清 (**EPS-CM**) を回収し、マウス脾臓内皮細胞由来 **MSS31** 細胞の生存能への影響を解析した。その結果、**EPS-CM** には **MSS31** 細胞の生存能を亢進させる活性が確認されたが、外来性 **CXCL10** の補償添加によってこの効果は消失した。すなわち、運動によって骨格筋からの **CXCL10** の分泌が減少し、周囲の血管新生を促進することが示唆された (Ishiuchi et al., 2017)。今後、**CCL5** および **CXCL10** が免疫系にどのような役割を果たしているかについても研究を進める予定である。

3. 今後の研究における課題または問題点

今後も新規マイオカインの探索を継続する予定としている。培養細胞を用いた擬似的運動負荷モデルを使ったマイオカイン同定を進めるとともに、複数のマウス走行モデルを用いて確認を継続する予定としている。運動依存的な生理変化を仲介する可能性が高いと考えられたマイオカインについては、部位特異的遺伝子改変マウスなどを使った研究を推進していく予定としている。これらの研究が進めば、これまで不明であった運動によって生じる骨格筋以外の遠隔組織・臓器・器官での生理変化の詳細が明らかになることが期待される。

文献

- 1) Nedachi T, Fujita H, Kanzaki M. (2008) Contractile C2C12 myotube model for studying exercise-inducible responses in skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 295(5):E1191-204.
- 2) Nedachi T, Hatakeyama H, Kono T, Sato M, Kanzaki M. (2009) Characterization of contraction-inducible CXC chemokines and their roles in C2C12 myocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 297(4):E866-78.
- 3) Farmawati A, Kitajima Y, Nedachi T, Sato M, Kanzaki M, Nagatomi R. (2013) Characterization of contraction-induced IL-6 up-regulation using contractile C2C12 myotubes. *Endocr J.* 60(2):137-47.
- 4) Jonsdottir IH, Schjerling P, Ostrowski K, Asp S, Richter EA, Pedersen BK. (2000) Muscle contractions induce interleukin-6 mRNA production in rat skeletal muscles. *J Physiol.* 528 Pt 1:157-63.
- 5) Ishiuchi Y, Sato H, Tsujimura K, Kawaguchi H, Matsuwaki T, Yamanouchi K, Nishihara M, Nedachi T. (2017) Skeletal muscle cell contraction reduces a novel myokine, chemokine (C-X-C motif) ligand 10 (CXCL10): potential roles in exercise-regulated angiogenesis. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2017 Dec 13:1-9. [Epub ahead of print]

異なる回転数の自転車運動が静脈血管伸展性に及ぼす影響

大上 安奈（食環境科学部食環境科学科）

1. 研究の背景

加齢に伴う安静時血圧の上昇は、様々な要因によって生じることが示されており、そのうちのひとつとして静脈血管の硬化(静脈血管伸展性の低下)が挙げられる¹⁾²⁾。このような加齢に伴う静脈血管伸展性の低下は、継続的な持久的運動により抑制されることが明らかとなっている³⁾。また、血管の硬化が生じていない若年者においても、運動トレーニングにより静脈血管伸展性が高まることも示されている³⁾。我々の研究室において、若年者を対象に一定負荷と間欠負荷を用いた2種類の持久性運動トレーニングを8週間行ったところ、間欠負荷運動時のみ静脈血管伸展性が増大する傾向が認められた⁴⁾⁵⁾。運動負荷により異なる結果が生じた理由として、筋ポンプ作用の程度が異なっていたことが考えられた。筋ポンプ作用とは、骨格筋の収縮と弁の働きによって、静脈血管内の血液を心臓に還す作用を指す。実際に、静脈容量(静脈血管内に血液を保持する能力)はいずれの運動パターンともトレーニングにより増大していたが、最大静脈還流量(静脈血管から心臓に血液を還す能力)は間欠負荷運動でのみ増加傾向が認められた⁵⁾。このことから、筋ポンプ作用の利用頻度が高いほど、静脈血管伸展性が増加するのではないかという仮説が考えられる。

自転車運動時において、ペダルを漕ぐ回数が増えれば増えるほど、下肢骨格筋の利用頻度、つまり、筋の収縮頻度も増加し、それに伴い筋ポンプ作用の利用頻度も高まるとされている⁶⁾。そこで本研究では、上記の仮説を検討するために、異なる回転数の自転車運動時における静脈血管伸展性の変化の違いを明らかにすることを目的とした。

2. 調査報告および研究報告

(1) 被験者

健康な若年者 16 名(男性: 13 名, 女性: 3 名)が本研究に参加した(21.0 ± 0.2 歳, 171.3 ± 2.4 cm, 61.9 ± 2.3 kg)。女性被験者は性周期を考慮し、月経開始から 10 日以内に測定を実施した。

(2) 実験手順

被験者は室温 $24.3 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$ に設定された実験室に入室後、仰臥位姿勢にて 20 分間以上安静を保ち、運動前の体肢容積変化を測定した。その後、座位姿勢にて 60%HRreserve に相当する 32 分間の一定負荷自転車運動を 60 回転/分(60rpm)または 80 回転/分(80rpm)で実施した。運動終了後、ただちに仰臥位姿勢をとり、運動後 10 分目、30 分目および 60 分目の下腿部体肢容積変化を測定した。なお、60rpm と 80rpm は日を変えてランダム順で実施した。

(3) 測定項目

運動前、運動後 10 分目、30 分目および 60 分目に、自動血圧計にて心拍数と血圧を測定した。また、下腿部の体肢容積変化から、静脈血管伸展性、容量反応および最大静脈還流量を算出した。

(4) 結果と考察

心拍数および血圧の変化には回転数の違いは見られなかった。下腿部静脈血管伸展性は、60rpm の運動前後で変化しなかったが、80rpm では運動前と比較して運動後に低下し、60rpm よりも 80rpm で低値を示した(Fig. 1-A)。容量反応はいずれの回転数とも運動前後で変化しなかった(Fig.

1-B)。最大静脈還流量は静脈血管伸展性と類似した変化を示した (Fig. 1-C)。

仮説とは異なり、回転数が高い方が静脈血管伸展性が低下した。回転数の増加に伴い骨格筋における乳酸産生が増えるが、一方で、乳酸を除去するために筋血流量も増大する⁷⁾⁸⁾。さらに、血管が受動的に伸展した場合、平滑筋の硬度が増すことが示されている⁹⁾¹⁰⁾。これらの先行研究を踏まえると、60rpmと比較して80rpmにおいて、回転数の増加に伴い増大した筋血流量によって静脈血管が受動的に拡張された結果、静脈血管 tone が上昇し、伸展性が低下したと考えられる。

3. 今後の研究における課題または問題点

継続的な運動習慣を有することで静脈血管伸展性が増大することは、多くの研究において明らかにされている。今後は、静脈血管伸展性が増大する機序およびその生理学的意義について検討していく必要がある。

文献

- 1) Fink GD, Johnson RJ, Galligan JJ. (2000) Mechanisms of increased venous smooth muscle tone in desoxycorticosterone acetate-salt hypertension. *Hypertension* 35: 464-469.
- 2) Xu H, Fink GD, Galligan JJ. (2007) Increased sympathetic venoconstriction and reactivity to norepinephrine in mesenteric veins in anesthetized DOCA-salt hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 293: H160-H168.
- 3) Monahan KD, Dinunno FA, Seals DR, Halliwill JR. (2001) Smaller age-associated reductions in leg venous compliance in endurance exercise-trained men. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 281: H1267-H1273.
- 4) Saito M, Shimoda K, Ota M, Oue A. (2016) Effect of 8-wk endurance training on venous function in young subjects. *The Journal of Physical Fitness and Sports Medicine* 5: 451.
- 5) Oue A, Saito M, Iimura Y. (2017) Effect of short-term endurance interval training on venous compliance in humans. *Environmental Ergonomics* 17: 62.
- 6) Gotshall RW, Bauer TA, Fahrner SL. (1996) Cycling cadence alters exercise hemodynamics. *Int J Sports Med* 17: 17-21.
- 7) Cox MH, Miles DS, Verde TJ, Nesselthaler G. (1994) Influence of pedal frequency on the lactate threshold of elite cyclists. *Med Sci Sport Exerc* 26: S67.
- 8) Hagberg JM, Mullin JP, Giese MD, Spitznagel E. (1981) Effect of pedaling rate on submaximal exercise responses of competitive cyclists. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol* 51: 447-451.
- 9) Holman ME, Kasby CB, Suthers MB, Wilson JA. (1968) Some properties of the smooth muscle of rabbit portal vein. *J Physiol* 196: 111-132.
- 10) Johansson B, Mellander S. (1975) Static and dynamic components in the vascular myogenic response to passive changes in length as revealed by electrical and mechanical recordings from the rat portal vein. *Circ Res* 36: 76-83.

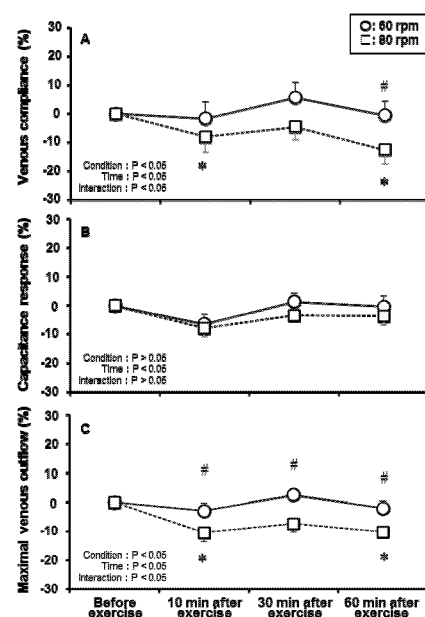


Figure 1 Changes in venous responses of the calf before and after cycling exercise in 60rpm and 80rpm. *: $P < 0.05$, vs. Before exercise; #: $P < 0.05$, 60rpm vs. 80rpm

女性長距離陸上選手における疲労骨折リスク因子の検討

太田 昌子(食環境科学部健康栄養学科)

【目的】

女性アスリートが陥りやすい健康障害として、アメリカスポーツ医学協会により **Low Energy Availability**、機能性視床下部性無月経および骨粗鬆症の 3 つの構成要素からなる「女性アスリートの三主徴」¹⁾が定義されている。骨粗鬆症は、骨強度の低下を特徴とし、骨折リスクが増大した骨格疾患と定義されており、骨折を生じるにいたる病的過程とされ、疲労骨折は合併症の一つである。女性アスリートの中でも、長距離陸上選手は骨密度が低い傾向にあり、さらに疲労骨折の発生頻度も非常に高い²⁾ことが分かっている。

近年、疲労骨折の予測手段として、骨密度だけではなく骨質が注目されている。この骨質を規定するのはコラーゲン架橋であり、分子を秩序正しくつなぎとめることで骨強度の増大にかかわる生理的架橋、分子を無秩序につなぐことで過剰に硬く脆くし、骨強度の低下をもたらす非生理的架橋に分類される³⁾。

骨密度に依存しない骨質劣化の危険因子として、血中ホモシステインおよびペントシジン濃度の高値^{3,4)}、さらに、ホモシステイン代謝の関連酵素である **Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR ; メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素)** の **Single nucleotide polymorphism (SNP ; 一塩基多型)**⁵⁾が挙げられ、これらは疲労骨折との関連が多数報告されている。しかし、これらの因子を包括的に扱い、寄与度を示した報告はない。そこで本研究は、女性長距離陸上選手を対象として、主成分分析を用いた、骨強度および疲労骨折に関連する因子の寄与度を調査することを目的とした。さらに、先天的な因子である **MTHFR C677T** 一塩基多型と各指標との関連も調査した。

【実験方法】

本研究は、東洋大学ヒト試験倫理委員会の承認を得て実施した（承認番号 **TU2016-012**）。

対象者：実業団に所属する女性長距離陸上選手 7 名

調査・測定項目：調査開始時に疲労骨折兆候がないことを医師の所見により確認したのち 1 か月以内に、**MTHFR SNP** 型、身体計測、骨密度測定および月間走行距離調査を行ったのち、3 年間の疲労骨折歴を調査した。静脈血採血は早朝空腹時に行い、**EDTA** 採血管を用いて血漿を分離した後、直ちに **-80℃** にて分析時まで凍結保存を行った。血漿は血中ホモシステインおよびペントシジンの定量に用いた。

統計解析：主成分分析には先行研究において骨強度および疲労骨折に関連すると考えられる、年齢、血漿ホモシステインおよびペントシジン濃度、月間走行距離、過去の疲労骨折経験、競技歴、**YAM**、月経の有無、**MTHFR** の **SNP**、頭部を除いた各部位の **BMD**、頭部を除いた **Subtotal BMD** を変数として投入した。各指標の比較には **Mann-Whitney** の **U** 検定を用いた。**MTHFR C677T** の **SNP** 型は、野生型と **SNP** 保有者に分類し、血漿ペントシジン濃度はカットオフ値を **0.035 µg/mL** として、それ以上 (**High**) の群と未満 (**Low**) に分け、**Goodman-Kruskal** の **γ** 係数を用いて、**SNP** 型によるペントシジン濃度および疲労骨折歴の傾向を調査した。また、血漿ホモシステインとペントシジンの相関解析には **Pearson** の相関係数を算出した。いずれも統計的な有意水準は **5%** 未満とした。本研究で得られたデータの統計処理は **SPSS (Statistical Package for the Social Sciences Ver. 23)** を用いた。

【結果および考察】

主成分分析の結果、第 1 主成分において最も大きい寄与率を有していたのは **MTHFR C677T SNP** 型であった。それに続いて、左右の肋骨および脚の **BMD**、そして過去の疲労骨折経験となった。第 2 主成分には、血漿ホモシステインおよびペントシジン濃度が含まれた。これらの因子を第 1,2 主成分を軸としてプロットした (図 1) とき、**BMD** の変数が第 1 主成分に対して正の方向に位置し、**MTHFR SNP**、

血漿ホモシステインおよびペントシジン濃度、過去の疲労骨折経験が負の方向に位置していた。この結果から、負の方向に位置していたこれらの変数は、骨強度に対して BMD とは異なる影響を有している可能性が示唆され、その中でも MTHFR SNP 型は大きな影響を有することが分かった。

MTHFR C677T の SNP 型、ペントシジン濃度、および過去の疲労骨折経験にて Goodman-Kruskal の γ 係数を算出し傾向性を調査したところ、SNP 保有者は野生型よりも疲労骨折経験を有する有意な傾向がみられ (p for trend = 0.001)、また、ペントシジン High 群が多いという有意な傾向もみられた (p for trend = 0.001)。さらに、全対象者における血漿ホモシステインとペントシジン濃度において、有意に強い正の相関関係がみられた ($r = 0.858$, $p < 0.05$)。

本研究の結果および先行研究により、MTHFR C677T SNP は大きな寄与率を有し、その保有者は血漿ホモシステイン濃度が上昇しやすい。そして、上昇した血漿ホモシステイン濃度は、ペントシジン濃度を反映している。ホモシステインおよびペントシジンの高値が骨質劣化を招くことで疲労骨折を生じる、という流れが明確になった。骨質を評価するうえで指標となる血漿ホモシステインおよびペントシジンを測定するためには、採血を行う必要があり、侵襲を伴う。しかし、MTHFR の SNP 判定は、唾液からの DNA によって判定することができるため侵襲を伴わない。本研究の結果と被験者の負担を考慮すると、疲労骨折予防のための SNP 型の判定は汎用性が高いと考えられる。

【まとめ】

疲労骨折の可能性が高い女性長距離陸上選手においては、骨および疲労骨折に関連する因子の中で MTHFR の SNP 型が重要な影響力を有することが示された。その SNP 型を基準としたとき、ヘテロおよびホモ型の血漿ペントシジン濃度が高く、また、疲労骨折経験を有するという有意な傾向がみられた。さらに、血漿ホモシステインとペントシジン間に有意な強い正の相関関係がみられた。

疲労骨折早期予防のためのリスク評価には、従来の方法である BMD のみではなく、MTHFR の SNP 型を判定することも重要であることが示唆された。

【参考文献】

- 1) Nattiv A, et al. American College of Sports Medicine position stand. The female athlete triad. *Med Sci Sports Exerc* 2007, 39(10): 1867-1882.
- 2) Hame SL, et al. Fractures in the collegiate athlete. *Am J Sports Med* 2004, 32(2): 446-451.
- 3) Saito M, et al. Collagen cross-links as a determinant of bone quality: a possible explanation for bone fragility in aging, osteoporosis, and diabetes mellitus. *Osteoporos Int* 2010, 21: 195-214
- 4) Yang J, et al. Homocysteine level and risk of fracture: A meta-analysis and systematic review. *Bone* 2012, 51: 376-382.
- 5) 橋本ら. ホモシステイン代謝. *薬学雑誌* 2007, 127(10): 1579-1592.

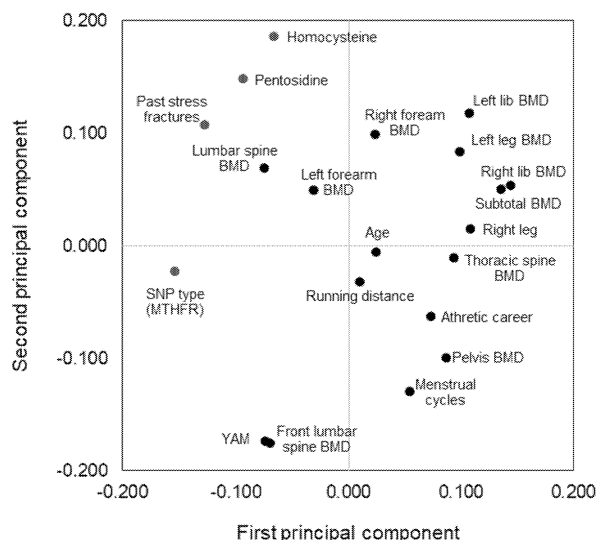


図 1. 第 1,2 主成分による変数プロット

「食生活のバランスからみた健康寿命の延伸」研究グループ紹介

ライフイノベーション研究所 研究員

グループ責任者 高橋 珠実

本研究グループは、各分担者が食生活や心身の健康に関する研究を行い、現状把握や課題・問題点を明らかにしていくことを目的に、研究が進められた。平成 29 年度の研究タイトルおよび研究メンバー、概要は以下の通りである。

1) 研究タイトル : Evaluating relaxation through integrating entertainment with exercise – intervention through the use of feature and documentary films

研究メンバー : Uma Maheswari Rajagopalan (食環境科学部)

研究概要 :

60 歳を超えるシニア世代の他文化交流による生涯学習は、シニア世代の健康や生活に影響を与え、地域社会の発展に寄与すると考えている。将来、他文化交流の勉強会で、軽度の運動中にビデオ鑑賞を行い、シニア対象者のモチベーションを調べる研究を計画している。今回はその予備実験として、大学生 (N=9) を対象に、**light cycling exercise** を用いてビデオありとなしの条件で実験を行った。鑑賞するビデオは、映画や祭りなどのビデオを用いた。運動後の **relaxation** を **saliva** を用いて、**Amylase** 試験で検討した。その結果、半分以上の学生に対して、ビデオ鑑賞後の **relax** 効果が確認された。

2) 研究タイトル : 朝型夜型指向性と睡眠および食生活状況との関連

研究メンバー : 吉崎 貴大 (食環境科学部)

研究概要 :

社会生活の 24 時間化にともない、日勤と夜勤を繰り返す交代制勤務者をはじめ、夜型の生活リズム (睡眠や食生活) を持つ者が増加している。日常生活の夜型化はバランスの悪い食生活だけでなく、うつ症状といった心身の健康と関連することも報告されている。さらに、概日リズムの位相後退を伴う夜型指向性は肥満要因の一つである。しかしながら、夜型指向性を持つ者の毎日の食事摂取状況については十分に明らかにされていない。そこで、本研究は日常生活下における食事記録によって、朝型夜型指向性と 1 日の食事摂取割合との関連を明らかにすることを目的とした。その結果、夜型指向性を持つ者は睡眠の質が低く、疲労感を持っている可能性が明らかとなった。また、食事日誌からは、夜型指向性を持つ者は、特に 1 日に占める朝食時のエネルギー摂取割合が低く、平日における 1 日に占める夕食時のエネルギー摂取割合が高値を示すことが明らかとなった。

3) 研究タイトル : 中高年女性を対象とした複合的な運動が音響的骨評価値 (OSI)、敏捷性および心理面に与える影響

研究メンバー : 高橋 珠実 (食環境科学部)

研究概要 : 転倒予防を目的とし、中高年女性を対象とした 8 週間の運動教室を実施し、その運動教室の効果について検討することを目的とした。今回は、骨評価測定値 (OSI) および敏捷性、お

よび参加者の心理面に与える影響を中心に検討した。運動教室には 40 代から 70 代の女性 45 名(40 代 3 名、50 代 1 名、60 代 33 名、70 代 8 名)が参加した。OSI の運動教室前後の比較においては有意差が認められなかった。ステップング測定を用いた敏捷性測定の結果において、運動教室開始時と終了時の比較に有意差は認められなかった。しかし、65 歳未満群と 65 歳以上群別に検討すると、65 歳未満群では運動教室の効果が現れ始めているところが結果より示唆された。運動教室終了後のアンケートからは、運動教室が参加者の気分、生活や体調等に大きく影響を与えたことが明らかになった。

「食生活のバランスからみた健康寿命の延伸」

研究報告

Evaluating relaxation through integrating entertainment with exercise – intervention through the use of feature and documentary films

Uma Maheswari Rajagopalan (食環境科学部食環境科学科)

1. Introduction

With increasing population of senior citizens of age over 60, it is necessary that such citizens enjoy making full use of their life through interaction with the community and also lead a good quality of life (QoL). One way to achieve good QoL is through maintaining good physical and sound mental health. Having such mentally and physically fit senior citizens will not only benefit the individual but it would definitely benefit the society. This is because senior citizens leading a good QoL would result in reduction of people having less medical problems thus reducing the budgetary constraints of the society as a whole.

In order to maintain good QoL, one approach is through making senior citizens engage in exercises with mental to have more social interaction and lifelong learning and physical to maintain physical fitness. However, exercise alone could be a little demotivating. To increase senior's increase in motivation toward exercise and their satisfaction with their lifestyle, in this study we propose combining exercise with entertainment. One of the entertainments could be exposure to other novel cultures which could be either realized through direct interaction with people of other cultures or combining with videos of other cultures.

In the proposed study, light cycling exercise was combined with the videos of feature or documentary films. As an initial study, university students participated in the study. The research question addressed here is that after performing an exercise routine, what kind of relaxation routine would give the best relaxation and what kind of relaxation would be suitable for non-athlete subjects. Research so far has been focused on the effects of exercise from the point of health factors. To the author's knowledge, studies that address the mental effects after exercise have been almost none. In such a context, it is worth considering the optimal relaxation after a physical exercise which would make a non-athlete more motivated to participate in the exercise without interruption.

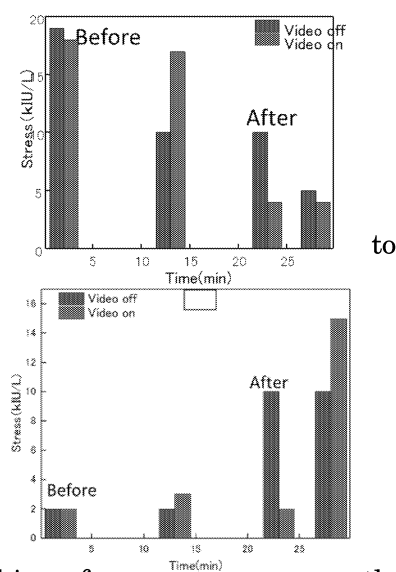
As a way to analytically evaluate relaxation, amylase test amylase test collected with the saliva of the participants was used. Saliva was collected before and after the exercise. The hypothesis here is that those who do not have regular routing of exercise or who do not like much doing exercise, the video group will have greater relaxation than the non-video group. However, the opposite could be true too. Being idle without any activity may result in lesser stress.

2. Methods

A total of 10 participants with two females and eight males aged between 20 and 22 (non-athlete students) participated in the study. The same participants participated in the study twice, one performing exercise under the absence of video and the other under the presence of video. The exercise used as cycling for 20 min. While doing the exercise, subject's saliva was collected at regular intervals, first at the beginning of starting the exercise, after 10 min., and at the end of 20 min. when finishing the exercise. One more stress test was done at the end of the experiment. The amylase test was used as it could reveal the stress level of the participants. It was found that the amylase testing of the saliva would not interfere with the cycling exercise as such and the participant could collect their saliva easily while doing the exercise. Prior to starting of the experiment, subjects were given explanation about the procedure and their consents were obtained. They were also informed the possibility of withdrawing at any time from the experiment.

3. Results

Results of histogram of the stress test obtained for two different subjects under two different conditions of video off and on are given in red and blue respectively. At the start of the experiment, both subjects is given in the Figure. Comparing stress level at the beginning during the starting of the exercise with that at the finishing of the exercise, a significant reduction in the stress level could be seen. Out of 9 subjects, such a tendency could be seen in 5 subjects. There are deviations in the tendency as well as the reduction percentages. Therefore, the analysis has been restricted qualitative analysis.



In addition to the amylase test, a survey on the subjects' habits with respect to exercise routine, the frequency of the exercise, the amount of time spent per week was done. The survey revealed the existence of correlation between those who do not like doing exercise and there was decrease in stress level. This could imply that watching video had some relaxation afterward with the finishing of the exercise. On the other hand, for those who like doing exercise, there appears to be increase in stress level with watching video at the end of the exercise. This could indicate that those who like exercise prefer to concentrate on exercise and not to be distracted by video entertainment. This could be expected to some extent.

4. Summary

The present study focused on the effect of entertainment on stress level after doing a light cycling exercise for 20min. The findings suggest for the existence of correlation between stress level and entertainment and the level of liking of exercise. However, the number of sample size is too small and a definitive conclusion could not be reached. Expansion of the current study to

include more subjects is needed to make definitive conclusions about the effect of entertainment and stress level.

朝型夜型指向性と睡眠および食生活状況との関連

吉崎 貴大（食環境科学部食環境科学科）

1. 研究の背景

社会生活の 24 時間化にともない、日勤と夜勤を繰り返す交代制勤務者をはじめ、夜型の生活リズム（睡眠や食生活）を持つ者が増加している。日常生活の夜型化はバランスの悪い食生活だけでなく(Sato-Mito et al. 2011a; Sato-Mito et al. 2011b; Yoshizaki et al. 2016)、うつ症状といった心身の健康と関連することも報告されている(Hasler et al. 2010; Levandovski et al. 2011; Togo et al. 2017)。さらに、概日リズムの位相後退を伴う夜型指向性は肥満要因の一つである。しかしながら、夜型指向性を持つ者の毎日の食事摂取状況については十分に明らかにされていない。

そこで、本研究は日常生活下における食事記録によって、朝型夜型指向性と 1 日の食事摂取割合との関連を明らかにすることを目的とした。

1-1 【方法】

対象は関東近郊の大学に属する健康な成人 44 名とし、睡眠相後退症候群といった睡眠障害を持たないことを適格条件とした。参加者の募集には学内の掲示板を用いた。なお、研究実施にあたって倫理面や個人情報保護への配慮を記載した計画書を作成し、東洋大学倫理審査委員会による承認を得た。また、参加者にインフォームドコンセントを実施し、予め研究の目的と手順について十分な説明を行った上で書面による同意を得た。

1-2 【研究デザイン】

研究デザインは横断研究とする。対象者には 1 週間にわたって、食事日誌へ飲食した全てのものを記録するよう依頼した。自記式質問票のうち、総合健康調査票では性、年齢、身長、体重、食事、飲酒、喫煙、居住状況、アルバイト、現病歴、既往歴、健康状態に関する自覚症状（25 項目）、普段の屋外での活動時間に関する一般的特性を含む調査票を作成し、全参加者から回答を得た。Body mass index は、自己申告によって得られた身長と体重の値から算出（体重(kg)/身長(m)²）した。生活習慣に関する調査項目では、朝型夜型指向性（MEQ スコア）、抑うつ（CES-D スコア）、睡眠の質（PSQI スコア）および疲労感（チャルダース疲労尺度）について評価した。

1-3 【データ処理・解析】

1 週間の食事記録から、5~10 時、11~15 時および 17~22 時におけるエネルギー摂取割合を算出した。さらに、平日と週末別に、エネルギー摂取割合、エネルギーに占めるたんぱく質、脂質および炭水化物の割合（PFC 比率）を算出した。解析では、MEQ スコアを 3 分位に分け、5~10 時、11~15 時、17~22 時における 1 日に占めるエネルギー摂取割合、PFC 比率を比較した。検定手法は、線形傾向の確認には重回帰分析を用い、カテゴリー変数の比較には χ^2 検定を用いた。なお、解析には SPSS ver 23.0 を用い、統計的有意水準は 5%（両側検定）とした。

2. 調査報告および研究報告

本研究における対象者特性を Table 1 に示した。Low 群、Middle 群および High 群の MEQ スコアは、それぞれ 41.1 ± 2.6 点、 47.9 ± 2.5 点、 58.4 ± 4.6 点であった。また、MEQ スコアが高い者ほど PSQI スコアおよびチャルダー疲労尺度が有意に低値を示し、夜型指向性を持つ者ほど睡眠の質が低く、疲労感が高いことが明らかとなった ($p < 0.05$)。また、夜型指向性を持つ者では、自身の食生活に対する評価が低い者の割合が有意に高値を示した ($p < 0.05$)。

表 2 では、MEQ スコアの 3 分位による食事・睡眠日誌から得られた値を示した。得られた値の 1 週間の平均では、MEQ スコアが高い者ほど起床・就寝時刻、朝食時刻が有意に早いことが明らかになった。さらに MEQ スコアが高い者ほど、1 日に占める朝食の割合が、MEQ スコアが低い者に比べて有意に高値を示した。これらの結果は、平日の平均、あるいは週末の平均においても同様であった。なお、平日の平均においてのみ、MEQ スコアが高値を示す者ほど、1 日に占める 17~22 時に摂取するエネルギーの割合が有意に低値を示した。

Table.1 Demographic characteristics according to tertile of MEQ score

		MEQ score			p values
		Low (36-44) n=15	Middle (44-52) n=15	High (53-67) n=14	
MEQ score	(points)	41.1 $\pm$ 2.6	47.9 $\pm$ 2.5	58.4 $\pm$ 4.6	-
Age	(yr)	20.9 $\pm$ 1.0	21.1 $\pm$ 1.2	21.1 $\pm$ 1.2	0.466
Sex	Male	8 (53)	9 (60)	7 (50)	0.858
	Female	7 (47)	6 (40)	7 (50)	
Height	(cm)	166.6 $\pm$ 8.7	165.8 $\pm$ 8.1	164.3 $\pm$ 7.6	0.672
Weight	(kg)	60.6 $\pm$ 9.0	58.2 $\pm$ 8.9	60.8 $\pm$ 21.2	0.783
BMI	(kg/m ²)	21.8 $\pm$ 2.0	21.1 $\pm$ 2.5	22.3 $\pm$ 6.1	0.634
Residential status	Living alone	10 (67)	7 (47)	6 (43)	0.381
	Other	5 (33)	8 (53)	8 (57)	
Drinking habit	Yes	7 (47)	10 (67)	7 (50)	0.501
	No	8 (53)	5 (33)	7 (50)	
CES-D	(points)	14.7 $\pm$ 4.9	14.4 $\pm$ 6.2	12.1 $\pm$ 6.9	0.130
PSQI	(points)	7.3 $\pm$ 2.2	6.9 $\pm$ 2.8	4.5 $\pm$ 1.5	0.004
Chalder fatigue scale	(points)	21.0 $\pm$ 7.7	17.9 $\pm$ 4.1	16.4 $\pm$ 5.5	0.010
Self-evaluation of eating habits	Good	0 (0)	1 (7)	4 (29)	0.037
	Normal	0 (0)	3 (20)	2 (14)	
	Bad	15 (100)	11 (73)	8 (57)	

Values are expressed as mean $\pm$ standard deviation.

Participants in each group were separated into three tertiles (T1 to T3) according to the MEQ score.

[†]Trend was determined using linear regression analysis for continuous variables for proportional variables.

[‡] χ^2 test

Table.2 Dietary intake assessed by dietary record according to tertile of MEQ score

		MEQ score			p values [†]
		Low (36-44)	Middle (45-52)	High (53-67)	
		n=15	n=15	n=14	
Average week					
Awakening	(min)	533 ± 18	509 ± 16	422 ± 17	< 0.001
Retiring	(min)	1567 ± 18	1546 ± 16	1466 ± 16	< 0.001
Breakfast time	(min)	508 ± 15	519 ± 14	458 ± 14	0.008
Lunch time	(min)	771 ± 6	770 ± 6	757 ± 6	0.095
Dinner time	(min)	1150 ± 10	1168 ± 10	1151 ± 11	0.699
Total energy intake	(kcal)	1950 ± 73	1987 ± 72	1979 ± 75	0.912
Protein E%	(%)	13.9 ± 0.5	13.1 ± 0.5	13.6 ± 0.5	0.515
Fat E%	(%)	32.6 ± 1.1	31.5 ± 1.0	30.9 ± 1.1	0.110
Carbohydrate E%	(%)	50.7 ± 1.1	52.8 ± 1.1	53.9 ± 1.1	0.151
Ratio of energy intake					
05:00~10:00	(%)	5.9 ± 2.2	11.7 ± 2.1	21.0 ± 2.2	< 0.001
11:00~15:00	(%)	32.4 ± 2.0	30.0 ± 2.0	30.0 ± 2.1	0.511
17:00~22:00	(%)	41.1 ± 3.2	37.3 ± 3.1	34.1 ± 3.3	0.201
Other	(%)	20.6 ± 3.1	21.0 ± 3.1	14.9 ± 3.2	0.121
Average weekday					
Awakening	(min)	519 ± 18	479 ± 16	406 ± 16	< 0.001
Retiring	(min)	1565 ± 17	1536 ± 15	1461 ± 16	< 0.001
Breakfast time	(min)	516 ± 14	510 ± 13	456 ± 13	0.001
Lunch time	(min)	765 ± 7	764 ± 7	753 ± 8	0.179
Dinner time	(min)	1153 ± 11	1168 ± 11	1155 ± 11	0.679
Total energy intake	(kcal)	1959 ± 71	1973 ± 70	1942 ± 73	0.667
Protein E%	(%)	14.2 ± 0.4	13.4 ± 0.4	13.8 ± 0.4	0.908
Fat E%	(%)	32.4 ± 1.1	31.6 ± 1.1	30.7 ± 1.1	0.125
Carbohydrate E%	(%)	51.1 ± 1.1	53.2 ± 1.1	54.2 ± 1.1	0.103
Ratio of energy intake					
05:00~10:00	(%)	7.4 ± 2.1	12.3 ± 2.1	21.8 ± 2.2	< 0.001
11:00~15:00	(%)	32.6 ± 2.4	32.3 ± 2.3	32.2 ± 2.4	0.661
17:00~22:00	(%)	44.5 ± 3.0	37.8 ± 3.0	32.8 ± 3.1	0.035
Other	(%)	15.5 ± 2.9	17.6 ± 2.9	13.2 ± 3.0	0.162
Average weekend					
Awakening	(min)	569 ± 28	584 ± 25	461 ± 26	0.003
Retiring	(min)	1572 ± 26	1569 ± 23	1476 ± 24	0.002
Breakfast time	(min)	543 ± 31	537 ± 24	462 ± 22	0.043
Lunch time	(min)	797 ± 13	788 ± 13	775 ± 14	0.365
Dinner time	(min)	1127 ± 23	1160 ± 20	1141 ± 20	0.766
Total energy intake	(kcal)	1930 ± 130	2034 ± 129	2105 ± 135	0.334
Protein E%	(%)	13.3 ± 0.8	12.3 ± 0.8	13.4 ± 0.8	0.203
Fat E%	(%)	33.1 ± 1.9	31.5 ± 1.9	31.6 ± 2.0	0.405
Carbohydrate E%	(%)	50.0 ± 2.1	51.8 ± 2.1	52.9 ± 2.2	0.641
Ratio of energy intake					
05:00~10:00	(%)	2.2 ± 3.5	10.2 ± 3.4	19.2 ± 3.6	0.001
11:00~15:00	(%)	31.7 ± 4.5	24.1 ± 4.5	24.2 ± 4.7	0.110
17:00~22:00	(%)	32.8 ± 5.5	36.1 ± 5.5	37.4 ± 5.7	0.666
Other	(%)	33.3 ± 6.2	29.6 ± 6.1	19.2 ± 6.4	0.271

Values are expressed as mean ± standard deviation.

Participants in each group were separated into three tertiles (T1 to T3) according to the MEQ score.

[†]Trend was determined using linear regression analysis for continuous variables.

[‡]Adjusted by sex, age, body mass index, and residential status.

MEQ, moreningness-eveningness questionnaire

3. 今後の研究における課題または問題点

本研究によって、夜型指向性を持つ者は睡眠の質が低く、疲労感を持っている可能性が明らかとなった。また、食事日誌からは、夜型指向性を持つ者は、特に 1 日に占める朝食時のエネルギー摂取割合が低く、平日における 1 日に占める夕食時のエネルギー摂取割合が高値を示すことが明らかとなった。

文献

- Hasler BP, Buysse DJ, Kupfer DJ, Germain A. (2010). Phase relationships between core body temperature, melatonin, and sleep are associated with depression severity: further evidence for circadian misalignment in non-seasonal depression. *Psychiatry Res.* 178:205-7.
- Levandovski R, Dantas G, Fernandes LC, Caumo W, Torres I, Roenneberg T, Hidalgo MP, Allebrandt KV. (2011). Depression scores associate with chronotype and social jetlag in a rural population. *Chronobiol Int.* 28:771-8.
- Sato-Mito N, Sasaki S, Murakami K, Okubo H, Takahashi Y, Shibata S, Yamada K, Sato K. (2011a). The midpoint of sleep is associated with dietary intake and dietary behavior among young Japanese women. *Sleep Med.* 12:289-94.
- Sato-Mito N, Shibata S, Sasaki S, Sato K. (2011b). Dietary intake is associated with human chronotype as assessed by both morningness-eveningness score and preferred midpoint of sleep in young Japanese women. *Int J Food Sci Nutr.* 62:525-32.
- Togo F, Yoshizaki T, Komatsu T. (2017). Association between depressive symptoms and morningness-eveningness, sleep duration, and rotating shift work in Japanese nurses. *Chronobiol Int.* (In press).
- Yoshizaki T, Kawano Y, Noguchi O, Onishi J, Teramoto R, Sunami A, Yokoyama Y, Tada Y, Hida A, Togo F. (2016). Association of eating behaviours with diurnal preference and rotating shift work in Japanese female nurses: a cross-sectional study. *BMJ Open.* 6:e011987.

中高年女性を対象とした複合的な運動が音響的骨評価値（OSI）、 敏捷性および心理面に与える影響

高橋 珠実（食環境科学部食環境科学科）

1. 研究の背景

高齢者になると転倒の頻度は増加し、骨折の危険性が高まることが問題視されている。平成 25 年国民生活基礎調査¹⁾によると、介護が必要となった主な原因の第 4 位が「転倒・骨折」であり、高齢者の転倒・骨折予防は大きな課題の一つとなっている。女性では、転倒・骨折は認知症に次ぐ第 2 位の原因となっている。骨折の直接原因の多くは転倒であるが、あわせて骨の脆弱性が進むことがその基礎にある。特に女性では閉経が起これば、エストロゲンが欠乏することにより、骨量が低下し、骨折しやすくなる。したがって、骨量低下を防ぎ、骨粗鬆症を予防することや転倒予防は高齢者の骨折対策として極めて重要である。

転倒の危険因子は反応時間の遅延、筋力低下、バランス機能の低下、歩行機能の低下などが挙げられ、転倒予防に関する先行研究では、転倒予防には筋力トレーニングを含む複合的な運動が有効²⁾、敏捷性トレーニングが転倒予防に有効³⁾ など多くの研究報告がなされている。

骨量低下を防ぎ、骨粗鬆症を予防することや転倒予防は高齢期の骨折対策として極めて重要である。平成 27 年国民健康・栄養調査結果⁴⁾によると、女性の運動習慣のある者（1 回 30 分以上の運動を週 2 回以上実施し、1 年以上継続している者）の割合は 20 代 8.3%、30 代 14.3%、40 代 17.6%、50 代 21.3%と若い年代の運動習慣を持つ割合は低く、60 代以降に増える傾向にある（60 代 35.9%、70 代以上 37.5%）。骨量を増加や転倒予防対策として定期的な運動は挙げられ、若い頃からの定期的な運動の重要性が考えられているが、若いころから運動習慣を持つ人はまだまだ少ないのが現状である。

本研究では、若い頃からの運動習慣の重要性を考え、35 歳以上の女性を対象とした転倒・骨折予防のための運動教室を実施し、その運動教室の効果について検討することを目的とした。今回の運動教室の特徴は、敏捷性の向上を目指したラダートレーニングを毎回取り入れ、また、ストレッチ、ウォーキング、筋力トレーニング、およびさまざまな種類の軽スポーツ・ニュースポーツを複合的に取り入れた内容である。本研究はその運動教室の効果を、骨評価測定値（OSI）および敏捷性、および参加者の心理面に与える影響について検討した。

2. 調査報告および研究報告

研究方法

1) 対象者

群馬県板倉町保健センターの協力により、35 歳以上の板倉町住民の女性を対象に運動教室「うえるすぽ」(以下運動教室)のお知らせを配布した。対象者は、東洋大学板倉キャンパスで行われた運動教室に参加し、研究の趣旨を説明後、インフォームドコンセントが得られた 40 代から 70 代の女性であった。

2) 実験期間および実験の流れ

運動教室開催期間は2016年9月～12月で、週1回の運動教室を8回開催し、その運動教室前後で様々な測定・調査を行った。表1に今回行った測定・調査項目を示した。

表1. 測定・調査項目

測定調査項目	内容	測定機器
身長・体組成	身長、体重 (kg)、BMI、体脂肪率 (%)、筋肉量 (kg)、基礎代謝量 (kcal)	インナースキャン BC-622 タニタ社製
血圧・脈拍	最高血圧、最低血圧、脈拍	HEM-7134 オムロン社製
骨評価測定	超音波骨評価値	超音波骨密度測定装置 AOS-100SA アロカ社製
敏捷性測定	ステッピング測定	ステッピング測定器 竹井機器工業社製
POMS	緊張、抑うつ、怒り、元気、疲労、混乱	日本語版 POMS 金子書房
アンケート	開始時：生活習慣について、終了時：体調等の変化について	

運動教室および測定・調査は東洋大学 板倉キャンパスの体育館および陸上グラウンドで行った。運動教室（約 90 分）の内容は、約 10 分をかけた準備運動から始まり、正しいフォームでのウォーキングジョギング（約 20 分）、ラダートレーニング（約 10 分）、そして毎回異なる軽スポーツ、レクリエーションスポーツ・ニュースポーツ（約 30 分）、バランスボールを用いた筋力トレーニング（約 10 分）、最後にストレッチ（約 10 分）を行った。

3) 解析方法

統計解析は、運動教室前・後の体組成、血圧、OSI、敏捷性測定の結果の比較には対応のある t 検定を用いて行った。POMS の結果の運動教室前・後の比較にはウィルコクソンの符号順位和検定を用いて行った。また、65 歳未満群と 65 歳以上群に分けて解析する際、運動教室前・後の体組成、血圧、OSI、敏捷性測定の結果の比較には対応のある t 検定を用いて行った。なお、データの集計および解析は統計ソフト エクセル統計 2012 を用い、有意水準は $p<0.05$ とした。

3. 結果および考察

1) 対象者プロフィール

運動教室には 40 代から 70 代の女性 45 名（40 代 3 名、50 代 1 名、60 代 33 名、70 代 8 名）が参加した。運動教室参加者について、35 歳以上の女性を募集したにも関わらず、参加者は 30 代 0 名（0%）、40 代 3 名（6%）、50 代 1 名（2.2%）、60 代 33 名（73.3%）、70 代 8 名（17.8%）と、30 代から 50 代の参加者が合計で 1 割に満たない状況であった。

運動教室の効果を検討するにあたり、インフォームドコンセントが得られた 45 名のうち、すべてのデータが得られた 35 名（41～76 歳、平均年齢 64.1 ± 7.5 ）の結果を用いて検討した。35 名の運動教室参加状況をみると、8 回中 4 回参加は 2 名、5 回は 3 名、6 回は 9 名、7 回は 11 名、8 回全てに参加した人は 10 名で、参加率は $83.6 \pm 14.5\%$ であった。

2) 体組成および血圧等の結果

運動教室開始時と終了時の体組成および血圧等の比較を表 2 に示した。運動教室前後の比較において、最高血圧および最低血圧で有意差が認められ、運動教室終了時に有意な血圧の低下が認められた ($p<0.05$)。このことから、週 1 回の 8 週間の運動教室でも血圧に影響を与えることが明らかになった。

OSI の運動教室前後の比較においては有意差が認められなかった。このことから、今回の運動教室は OSI に影響は与えなかったことが明らかになった。OSI に影響を与えるには、さらに長期にわたる運動が必要となることが示唆された。

表 2. 体組成および血圧等の比較

	運動教室開始時			運動教室終了時		
		±			±	
身長(cm)	154.2	±	4.0			
体重(kg)	54.6	±	7.6	54.9	±	7.6
BMI	23.0	±	2.8	23.0	±	2.8
体脂肪率(%)	30.3	±	6.0	30.8	±	6.1
筋肉量(kg)	35.6	±	2.9	35.5	±	2.8
基礎代謝量(kcal)	1089.8	±	105.0	1087.2	±	104.7
最高血圧(mmHg)	136.0	±	18.3	132.6	±	18.1
最低血圧(mmHg)	84.1	±	8.9	82.0	±	9.6
心拍数(拍/分)	76.8	±	10.6	75.3	±	9.4
音響的骨評価値 (OSI)	2.37	±	0.20	2.36	±	0.21

* P<0.05, ** P<0.01

3) 敏捷性測定の結果

運動教室では敏捷性の向上を目標とし、ラダートレーニングを毎回取り入れた。初回のラダートレーニングでは苦勞した場面も多く見られたが、毎回のラダートレーニングにより、最終回には各参加者の上達が目に見える形で現れていた。しかし、ステッピング測定を用いた敏捷性測定の結果において、運動教室開始時と終了時の比較に有意差は認められなかった。

ステッピング測定の結果を 65 歳未満群 (n=10) と 65 歳以上群 (n=25) とに分けて検討すると、65 歳未満群の結果では、ステッピング測定の左足の結果に有意差が認められた (p<0.05) (図 2)。また、有意差は認められなかったが、合計回数と後半 5 秒間のステッピング回数が増加傾向にあった。この結果より、65 歳未満群では 8 週間のラダートレーニングの効果が現れ始めていることが示唆されたが、65 歳以上群ではさらに長期にわたるトレーニングの必要性が考えられた。

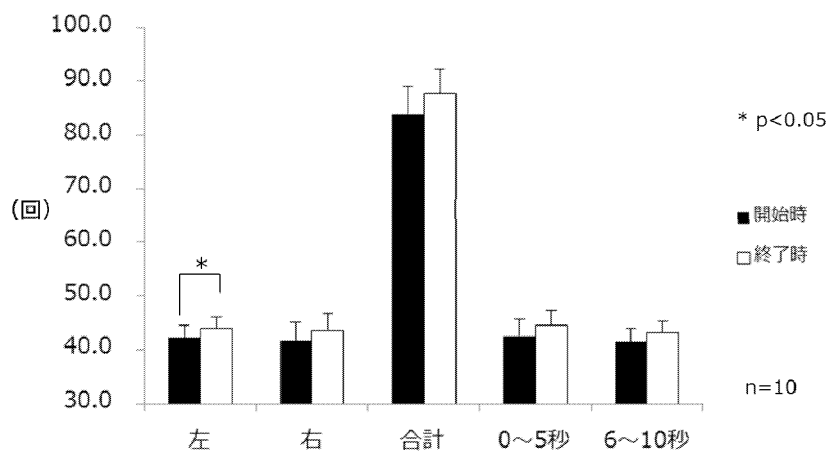


図 2. 運動教室開始時と終了時のステッピング回数の比較 (65 歳未満群)

左：左足のステッピング回数、右：右足のステッピング回数、合計：左右のステッピング回数の合計

0~5 秒：前半の 5 秒間のステッピング回数、6~10 秒：後半の 5 秒間のステッピング回数

4) 心理調査 (POMS) の結果

8 週間の運動教室が心理面に与える影響について、心理調査用紙 (POMS) を用いて検討した。その結果、心理面では大きな変化がみられた (図 3)。6 つの気分尺度のうち、D:「抑うつー落ち込み」、A-H:「怒りー敵意」、F:「疲労」得点が運動教室終了時に有意に低くなった ($p<0.01$)。また、V:「活気」得点が運動教室終了時に有意に高くなった ($p<0.05$)。この結果から、8 週間の運動教室は参加者の心理面に好影響を与えたことが明らかになった。

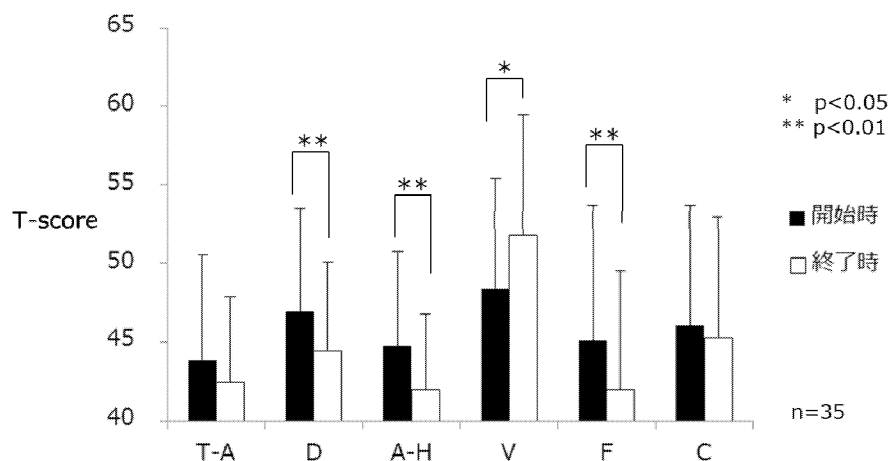


図 3. 運動教室開始時と終了時の心理検査 (POMS) 結果の比較

T-A: 緊張ー不安、D: 抑うつー落ち込み、A-H: 怒りー敵意、V: 活気、F: 疲労、C: 混乱

5) 運動教室終了後のアンケート結果

アンケートへの回答があった運動教室参加者 40 名分の結果をまとめた。アンケートでは運動教室期間中、体調や生活習慣に何か変化があったか聞いた。40 名中 37 名 (92.5%) が「変化あり」と回答した。どのような変化があったか？に対する回答は、「気持ちが明るくなった」(54.1%) が最も多く、次に「体調が良くなった」(43.2%)、「友達との交流が増えた」(43.2%)、「体力が付き、生活しやすくなった」(27.0%) と続いた。運動教室が参加者の気分、生活や体調等に大きく影響を与えたことが明らかになった。

3. 今後の研究における課題または問題点

本研究の限界は、コントロール群を設定せずに運動教室参加者のみを対象とし、検討した結果であるという点であることから、今後、コントロール群に対する測定・調査を追加して行く必要性が挙げられる。また、今後の運動教室の運動内容を再検討し、より効果的で、また特徴ある運動教室を作り上げていく必要がある。さらに、将来的にはより若い世代へのアプローチが必要となることから、その可能性を検討していく。

文献

1) 厚生労働省. 『平成 25 年 国民生活基礎調査の概況』.

<http://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/k-tyosa/k-tyosa13/>

2) Province MA, Hadley EC, Hornbrook MC, Lipsitz LA, Miller JP, Mulrow CD, Ory MG, Sattin RW, Tinetti ME,

Wolf SL. (1995). 『The effects of exercise on falls in elderly patients. A preplanned meta-analysis of the FICSIT Trials. Frailty and Injuries: Cooperative Studies of Intervention Techniques』. 273(17): 1341-7. JAMA.

3) Liu-Ambrose T, Khan KM, Eng JJ, Janssen PA, Lord SR, McKay HA. J Am Geriatr. (2004). 『Resistance and agility training reduce fall risk in women aged 75 to 85 with low bone mass: a 6-month randomized, controlled trial』. 52(5):657-65. J Am Geriatr Soc.

4) 厚生労働省. 『平成 27 年国民健康・栄養調査結果』.

<http://www.mhlw.go.jp/file/04-Houdouhappyou-10904750-Kenkoukyoku-Gantaisakukenkouzoushinka/kekkagaiyou.pdf>.

生活習慣病予防ヒト応用研究「健康を維持するために」

朝霞・川越研究グループ紹介

ライフイノベーション研究所 研究員
グループ責任者 岩本 紗由美

生活習慣病予防ヒト応用研究「健康を維持するために」朝霞・川越研究グループの 2017 年度は 1 つのテーマに焦点を絞り活動している。研究タイトルおよび研究メンバー、概要は以下のとおりである。

- 1) 研究タイトル：健康寿命をのばそうプロジェクト-就労期に「適度な運動」を生活習慣に組み込むための方法検討-

研究メンバー：岩本紗由美、杉田記代子、神野宏司、大迫正文、鈴木哲郎（朝霞校舎：ライフデザイン学部 健康スポーツ学科）、寺田信幸（川越校舎：理工学部 生体医工学科）

研究概要：本研究は「適度な運動」に着目し、就労期の年齢層を対象に「適度な運動」を生活習慣に組み込むための方法を検討することを目的としている。人生の就労期において「運動」を生活習慣として取り入れるのが難しい。そこで、就労期の年齢層を対象に「適度な運動」を生活習慣に組み込むための方法として、日常歩行に着目した。

日常歩行の現状と、その歩行をどのように捉えているか、また、歩行動作を認識しているかなどの調査を実施し、日常歩行をエクササイズ歩行に変化させるための運動指導介入を個別に行なった。その結果、意識的に歩行動作を変えることで自身の動きに変化が出ることを体感し、日常歩行時に活用しようという回答を得た。就労期で運動時間の確保が難しい年代には特別に運動時間を設けなくとも生活の中に組み込める方法の提案が就労期の人々に対しての「運動習慣」の現実的な提案になることが示唆された。

朝霞・川越研究グループの特徴は、就労期であり、特に事務職であり、運動時間を確保しにくい方々に研究を依頼し、協力いただいている実践研究である。

「健康を維持するために」

研究報告

健康寿命をのばそうプロジェクト

— 就労期に「適度な運動」を生活習慣に組み込むための方法検討 —

岩本 紗由美（ライフデザイン学部健康スポーツ学科）

杉田 記代子（ライフデザイン学部健康スポーツ学科）

神野 宏司（ライフデザイン学部健康スポーツ学科）

大迫 正文（ライフデザイン学部健康スポーツ学科）

鈴木 哲郎（ライフデザイン学部健康スポーツ学科）

寺田 信幸（理工学部生体医工学科）

1. 研究の背景

我々の昨年度の研究より、勤務形態が事務業務である人々の身体活動や運動の習慣化は運動時間の確保が難しいため具体的な方法の提示を課題として残した¹⁾。そこで本研究では日常歩行に着目して、意識的にエクササイズ歩行動作に変化させることで通勤や日常生活を変えることなく身体活動量を増加させることができるのではないかと考えた。本研究は、勤務形態が事務業務である人々に対して日常歩行についての意識の現状とエクササイズ歩行のための運動指導介入した後の意識について明らかにすることを目的とした。

2. 研究報告

【方法】

A. 対象者：事務作業が基本的な業務となる小規模事務所に勤務している **26 歳から 62 歳**までの就労者 **9 名**（男性：3 名、女性：6 名）を対象とし、研究の主旨について紙面にて説明し調査協力を依頼した。調査期間は平成 **29 年 11 月**であった。回答者の基礎データおよび年齢構成を表 1 に示す。

表 1. 回答者の年齢構成

年齢	(歳) (人)	25～29	30～34	35～39	40～44	45～49	50～54	55～59	60～64
		2	1	0	2	1	0	2	1

B：手順

日常歩行について事前にアンケート調査を行い、スピードは任意（主観的通常歩行スピード）で設定したトレッドミル上での歩行動作を矢上面および全額面（後面）から動画として記録（iPad）した。歩行前にはアスレティックトレーナー（AT）^{注1)}による下肢のスタティックアライメント評価を行い、動画記録と同じタイミングで AT も通常歩行動作の観察評価を実施した。

動画記録した歩行動作の自己評価と AT からの観察評価のフィードバックから、現状の日常歩行動作を確認した。その後、日常歩行動作からエクササイズとしての歩行動作に変更するため、AT から介入指導を受けながらトレッドミル上でエクササイズとしての歩行を行った。

エクササイズとしての歩行動作に慣れてもらった後（約 2 分間）再度、矢上面および全額面（後面）

からエクササイズとしての歩行を動画として記録し、その後、自己評価をおこなってもらい、歩行指導後のアンケート調査を行った。

1) 日常歩行についての事前アンケート調査項目

①運動の実施状況。②歩行実施状況。③立位姿勢について。④歩行姿勢について。⑤歩行について改善したい事柄があるか。

2) エクササイズ歩行指導後のアンケート調査項目

①歩行の評価から得たものはあるか。②トレーニングとしての歩行を指導されて気がついた点はあるか。③歩行指導後の動画を見て、自身が変化したと思うか。④今後の日常歩行に役立てたいことはあるか。

【結果】

1) 日常歩行について事前にアンケート調査

①運動の実施状況

「A：運動をしていない」「B：定期的ではないが運動をしている」「C：定期的に運動をしている」の3項目から選択してもらった結果を図1に示す。56%（5/9名）は「A」、22%（2/9名）は「B」、22%（2/9名）は「C」であった。

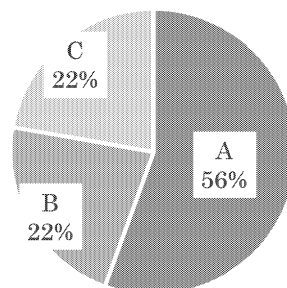


図1. 運動の実施状況

A：運動をしていない、B：定期的ではないが運動をしている、C：定期的に運動をしている

②歩行の実施状況

「A：毎日どれぐらいの歩行をしているか関心がない」「B：毎日どれぐらいの歩行をしているか関心はあるが実際には知らない」「C：毎日の歩数を把握している」の3項目から選択してもらった結果を図2に示す。67%（6/9名）は「B」、22%（2/9名）は「C」、11%（1/9名）は「A」であった。

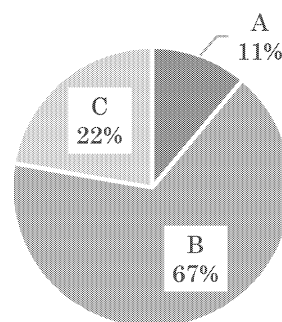


図2. 歩行の実施状況

A：毎日どれぐらいの歩行をしているか関心がない、B：毎日どれぐらいの歩行をしているか関心はあるが実際には知らない、C：毎日の歩数を把握している

③立位姿勢について

「A：どのような立位姿勢であるか関心がない」「B：どのような立位姿勢であるか関心はあるが実際にはよくわからない」「C：どのような立位姿勢であるか関心はあり、自分の姿勢について把握している」の3項目から選択してもらった結果を図3に示す。89%（8/9名）9名中8名は「B」、11%（1/9名）「A」であった。

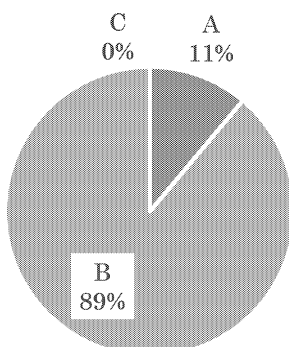


図3. 立位姿勢

A：どのような立位姿勢であるか関心がない、B：どのような立位姿勢であるか関心はあるが実際にはよくわからない、C：どのような立位姿勢であるか関心はあり、自分の姿勢について把握している

④歩行姿勢について

「A: どのような姿勢で歩行をしているか関心がない」「B: どのような姿勢で歩行しているか関心はあるが実際には何の対応をしていない」「C: どのような姿勢で歩行しているか関心はあり、何かしら工夫はしている」の3項目は選択してもらった結果を図4に示す。56%(5/9名)は「B」、33%(3/9名)3名は「C」、11%(1/9名)は「A」であった。

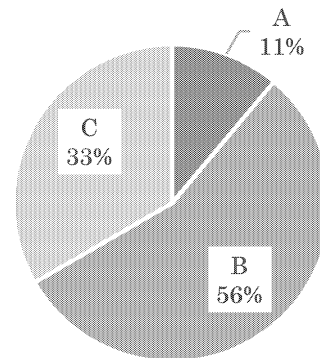


図4. 歩行姿勢

A: どのような姿勢で歩行をしているか関心がない、
B: どのような姿勢で歩行しているか関心はあるが実際には何の対応をしていない、C: どのような姿勢で歩行しているか関心はあり、何かしら工夫はしている

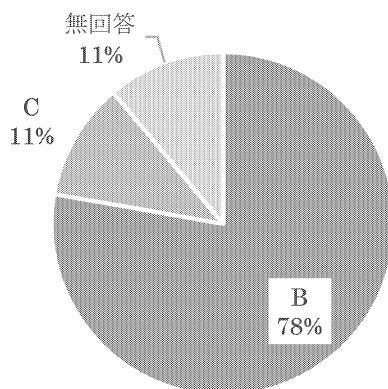


図5. 歩行改善

A: 特に改善したいという事柄はない、B: 改善したいと思うが具体的な事柄は思い浮かばない、C: 改善したいと思う具体的な事柄はある

⑤歩行について改善したいと思う事柄があるか

「A: 特に改善したいという事柄はない」「B: 改善したいと思うが具体的な事柄は思い浮かばない」「C: 改善したいと思う具体的な事柄はある」の3項目から選択してもらった結果を図5に示す。78%(7/9名)は「B」を選択し、11%(1/9名)は「C」を選択し、11%(1/9名)は無回答であった。

2) エクササイズ歩行指導後のアンケート調査項目

①「歩行の評価から何か得るものはありましたか」の質問に対して「ある: 9名」「なし: 0名」であった。自由回答の欄は下記の通りである。

被験者	性別	具体例
A	F	腹筋が弱いことを意識することが大事なこと
B	F	運動になる歩行を知ることができた
C	F	自分の歩き方がどうなっているのか知ることができた
D	M	自分が想像していた以上に首が前につこんだ歩き方になっていた
E	F	歩くだけでも運動になることが分かった
F	F	自分の歩行の悪さを再確認できました
G	M	歩行時に自身が使っている部位について明確に理解できた
H	F	結構いい運動になり爽快感がありました
I	M	理想的な歩行をイメージすることができた

②「トレーニングとしての歩行を指導されて何か気がついた点はありませんか」の質問に対して「ある：9名」「なし：0名」であった。自由回答の欄は下記の通りである。

被験者	性別	具体例
A	F	おしりの筋肉を使っていなかった
B	F	おなかの力が普段入っていないことに気が付いた
C	F	普段腹筋を全く使っていないことが分かった
D	M	背中の筋肉をきちんとつかえていると感じた
E	F	元氣なく歩いていたこと 指導により生き生きとした歩行になったように思います
F	F	足のつま先で最後蹴るという歩行がいいと分かりました
G	M	省力的な歩き方をしており全身を使った歩行に転換できること
H	F	自分の後ろ姿を初めて見た気がします 右肩があがることは以前から指摘されており気を付けたいと思います
I	M	足裏の重心のかかり方が非常に重要である

③「歩行指導をされた後の動画を見て、自身が変化したと思いますか」の質問に対して「思う：9名」「思わない：0名」であった。自由回答の欄は下記の通りである。

被験者	性別	具体例
A	F	記入なし
B	F	肘を引きながら歩いたほうが歩幅が大きくなると感じた
C	F	背中の動きができて足以外の部分も少し動いていたように思う
D	M	骨盤がうまく使えるようになっていた 足の接地が明らかに変わった
E	F	歩く姿勢に動作的な要素が加わったように思います
F	F	膝が少し前に行くようになりました
G	M	特に上半身を使った歩き方に変化できた
H	F	姿勢がよくなったと思います
I	M	歩く姿勢や歩幅が少し改善できたような気がします

④「今後の日常歩行に役立てたいことはありましたか」の質問に対して「思う：9名」「思わない：0名」であった。自由回答の欄は下記の通りである。

被験者	性別	具体例
A	F	腹筋を使って歩くこと
B	F	教わった歩行をして少しでも体を使う歩き方をしたいと思います
C	F	運動をする機会がないので日常歩行から歩き方を意識して 体を動かすようにしたいと思いました
D	M	重心を少し後ろにすることでいい姿勢を保つ
E	F	意識的に筋肉を使って少しでもカロリーを消費したいです
F	F	膝のためにもいい歩行で長く歩いていきたいと思いました
G	M	足をつく場所を意識し上半身を大きく動かしたい
H	F	日頃運動を全くしないので少しでも運動したいと思っており 通勤で役立てます
I	M	特に通勤時間を有効に活用して定期的な運動として健康を維持したい

3. 今後の研究における課題または問題点

健康寿命延伸のためには高齢者になってからの運動習慣ではなく、いかなる年代においても運動習慣を途絶えさせないことが重要な課題である²⁾。昨年から継続している就労期の身体活動や運動の現状調

査においては、運動を実施しようと思っているにも関わらず、運動時間の確保が難しいという結果を得ている。そのため、対象者は「10分以上続けて歩くこと」については積極的に取り組んでいるという結果も得ている¹⁾。

そこで、本年度は「歩行」についてどのように取り組んでいるかと歩行動作の観察評価を行なった。その結果、「歩行」を積極的に行なおうと思っているにもかかわらず、自身がどれくらい歩行しているか、どのような歩行をしているかについては把握していないという結果が明らかとなった。

日常歩行をエクササイズとしてとらえることの有効性は既に報告されており^{3,4)}、エクササイズとしての歩行にする場合、特に、姿勢を維持し⁵⁾、体幹、下肢後面をいかに動員できるかがポイントとなるが、その具体的な方法はあまり一般的に指導されていない。本研究では動作観察の専門家であるアスレティックトレーナー^{注1}からの評価をもとに日常歩行動作からエクササイズ歩行に変化させるための運動指導介入を行い、エクササイズ歩行を体験してもらい、その動作確認も実施した。その結果、自身の歩行動作が変化したと全員が体感し、今後の日常に役立てたいとの回答を得た。

運動習慣を確保できにくい就労期の方々には特別な運動時間を確保するような提案より、日常生活の動作をどのように変化させればよいかを提案することがいかなる年代においても運動習慣を途絶えさせないことに貢献できるのではないかと考える。

注1) アスレティックトレーナー：運動動作、スポーツ動作などの観察を評価することを日常の業務とする日本体育協会公認アスレティックトレーナー

文献

- 1) 岩本紗由美, 杉田紀代子, 神野宏司, 大迫正文, 寺田信幸 東洋大学ライフイノベーション研究所平成28年度研究報告書p93-96
- 2) U.S. Department of Health & Human Services *the Surgeon General's Report on Physical Activity and Health*. <https://www.cdc.gov/nccdphp/sgr/contents.htm> 2017 年 1 月 6 日
- 3) 熊原 秀晃, Schutz Yves, 吉岡 真由美, 吉武 裕, 進藤 宗洋, 田中 宏暁, 健康づくりのための運動基準に則した日常身体活動量評価における歩数の妥当性 福岡大学スポーツ科学研究 39 (1) p101-111 (2009)
- 4) 大島 秀武, 引原 有輝, 大河原 一憲, 高田 和子, 三宅 理江子, 海老根 直之, 田畑 泉, 田中 茂穂, 加速度計で求めた「健康づくりのための運動基準 2006」における身体活動の目標値(23 メッツ・時/週)に相当する歩数. 体力科学 61(2) p193-199 (2012)
- 5) 藤谷 亮, 治郎丸 卓三, 大西 均, 伊坂 忠夫 不良姿勢が歩行に与える影響 脊柱-骨盤の筋活動比較から 第 50 回日本理学療法学会大会 抄録 P1-B-0139 (2015)

「健康寿命延伸のための福祉サービス」研究グループ紹介

ライフイノベーション研究所 研究員

グループ責任者 山本 美香

本研究グループは、研究員の全員が「社会福祉学」を基盤としている。したがって、研究は、「社会福祉学のアプローチからの健康寿命延伸」の視点で進められている。

伊奈川研究員は、「介護保険のインセンティブ制度の在り方について～プロセスアプローチによる健康寿命延伸に向けて」のテーマで研究を行った。地域包括ケアなどマクロ・メゾレベルで展開する地域づくりの分野では、行政計画は存在するが、プロセスアプローチによる分析はなく未開拓なまま残されているという現実を背景に、既存の外部評価・認証制度を検討し、地域包括ケア実現に向けた地域づくり領域への応用の可能性について検討した。

金子研究員は、「つながりが弱い人を包摂する社会を構築するために何をなすべきか～すべての市民の健康寿命の延伸を目指して」をテーマとしている。研究では、すべての市民の健康寿命を延伸することを目的として、社会的なつながりが弱い人を包摂するために国や地方自治体が果たすべき役割は何か、地域住民や関係機関は何をすべきなのかを明らかにすることを行った。

加山研究員は、「ICT を活用した高齢者の健康寿命のリスク要因の軽減」をテーマとした。本研究では、文京区の富坂地区を対象としながら、在宅高齢者に対する地域見守り・支援の媒体として、多職種がリアルタイムに情報発信・共有できる ICT システムに着目し、試行的運用をしながらデータ収集・分析を行って、その活用可能性・効果や課題の導出を試みた。

高野研究員は、「介護保険制度における介護支援専門員のあり方～地域包括ケアシステム構築と健康寿命延伸に向けた課題」をテーマとした。高齢期の健康寿命延伸にケアマネジャーは重要な役割を担っている。また、地域包括ケアシステム構築にも大きな役割を果たす。研究では、このケアマネジャーに対して介護保険制度改正において指摘された課題をもとに、今後のありかたについて検討を行った。

早坂研究員は、「在宅要介護高齢者の在宅生活継続と健康の延伸にむけた課題—介護サービス利用状況の分類から—」として研究を行った。研究では、「介護離職ゼロ」の政策目標における主要な受け皿となる特別養護老人ホームの利用対象から外された要介護1・2の在宅要介護高齢者を対象とし、生活状況及び介護サービスの利用状況を明らかとする調査を行った。

山本研究員は、「団地に居住する高齢者の生活と健康寿命延伸に関する実態調査～東京都北区 T 団地でのヒアリング調査を事例として」とする研究を行った。研究は、昨年度に引き続き、東京都 UR T 団地の自治会加入高齢者を対象にして、生活・健康にかかわる実態や、イベントやコミュニティカフェなどへの参加意向などを聞き取った。本年度は、さらに高齢者の「食」に関する実態や意識についても新しい質問項目として付け加えた。

「健康寿命延伸のための福祉サービス」

研究報告

介護保険のインセンティブ制度の在り方について

— プロセスアプローチによる健康寿命延伸に向けて —

伊奈川 秀和（社会学部社会福祉学科）

1. 研究の背景

介護保険にとって、医療・介護を通じた地域包括ケアシステムの構築が喫緊の課題となっている。今後の健康寿命の伸長には、地域包括ケアも含め、介護保険制度に内在的なインセンティブを働かせる仕組みが必要との認識から、昨年度は、医療保険制度との比較により、介護保険制度の理論研究を行った。

本年度は、地域包括ケア等の地域づくり及びそのための **PDCA** による政策形成の側面からインセンティブの在り方の研究を深めることとした。背景は、以下のとおりである。

まず、医療分野において、健康寿命の延伸に向けて、マクロ（全国）レベルでの **KPI**（重要業績評価指標）、メゾ（保険者、市町村・都道府県）レベルでの目標・指標（プロセス、アウトプット、アウトカム）、ミクロ（個人、事業者）レベルでの事業・活動が一体なって取組が展開されるようになっている。介護分野においても、要介護状態の予防、地域での自立した生活の支援等を目指して、市町村の地域支援事業の強化が図られている。これら取組や活動は、医療・介護政策の価値を高めるものであるが、そのための装置としてエビデンスに基づく目標設定が必要となる。それと同時に、これらの活動が中長期的な時間軸を前提とする以上、**PDCA** なしには継続的な実施が困難である。

しかも、この分野は、地域特性を踏まえた地域及び個人の取組が不可欠であることから、全国画一的な対応はあり得ない。つまり、予め用意された答えがない中であって、関係者が連携しながら、手探りで地域レベルの事業や活動を模索する必要がある。

その際、ヒントとなるのが、既にサービス提供や環境分野で導入されているプロセスアプローチによる **PDCA** である。かかる手法は、医療機関や福祉施設の経営というミクロレベルでは、**ISO** 等の規格に基づく認証制度とセットで導入されている。これに対して、マクロ・メゾレベルで展開する地域づくりの分野では、介護保険事業計画等の行政計画は存在するものの、プロセスアプローチとはいえず、依然として未開拓な分野であるⁱ。

そこで、本年度は、既存の外部評価及び認証制度等を検討し、そこから得られる知見を踏まえ、地域包括ケア実現に向けた地域づくり分野への応用の可能性について、主として検討することとした。

2. 調査報告および研究報告

プロセスアプローチは、**ISO9001**（サービスマネジメント）、**ISO4001**（環境マネジメント）等の国際規格（及びそれを受けた **JIS**）により、医療・福祉の事業者においても導入されている。また、この分野においては、病院機能評価、福祉サービス第三者評価等の分野独自の評価制度も導入されている。これらは、サービス提供主体レベルでのプロセスアプローチと言える。

これに対して、政策策定・実施というマクロ・メゾレベルでは、医療計画、地域医療構想、地域

福祉計画等の行政計画がプロセスアプローチの観点から重要な役割を果たしてきた。しかしながら、行政計画は、医療保険、介護保険等との関係もあり、施設整備や財政問題の視点で捉えられることが多く、地域づくりという持続的・循環的なプロセスの視点は弱かった。また、昨今話題となるCCRC（生涯活躍のまち）を実現するうえでも、それ単体というより、開発事業者も含めた様々なサービスやステークホルダーを巻き込んだ地域づくりの視点がなければ、持続可能なものとならないであろう。

そこで、本年は、これまでの国際規格等のプロセスアプローチを踏まえ、その地域づくり等の政策レベルへの応用（政策マネジメント）について、主として理論面からの研究を行うこととした。

まず、ISO等はそれぞれに内容的な違いはあるものの、プロセスアプローチとして分野・中身を越えた共通構造を有している。そこで、各種マネジメントシステムから抽出される共通項をまとめると、政策マネジメントへの示唆として浮かび上がる以下の点が重要である。

- ① 目に見えないサービスは（政策も同様）物の製造と異なり、ブラックボックス化されやすく、ヒト・モノ・カネのルール化が重要である。
- ② この点で、アウトプット、パフォーマンス等の評価が困難であり、プロセスの構成要素のエビデンス、トレーサビリティ等を確保することが求められる。
- ③ ここからプロセスの妥当性・適合性を評価するプロセスアプローチがサービス（政策）の良し悪しにも関わることになる。
- ④ ただ、プロセスアプローチに裏打ちされた第三者評価等は、やって終わりではなく、それを如何に活かし、改善に繋げるかの方が重要となる。
- ⑤ つまり、プロセスアプローチは、改善に向けた必要条件であっても、十分条件ではなく、それ故にPDCAが必須となってくる。

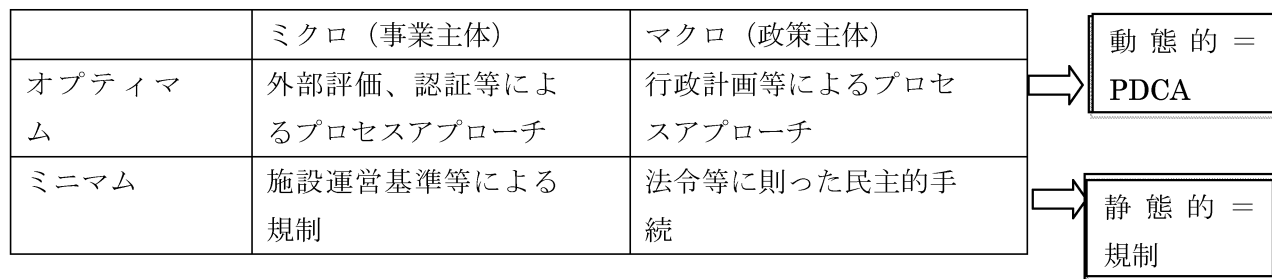
このように一見すると、政策形成と無縁なプロセスマネジメントであるが、サービスの運営を担う事業者と行政との間には、対象の無形性、サービスの個別性、情報の非対称性等の特徴、ゴーイングコンサーンとしての継続性といった点では、共通項も多い。そこでプロセスアプローチに照らしてみると、これまでの医療・福祉政策が採ってきた伝統的手法が潜在的であっても有していた課題として、以下の点が浮かび上がることになる。

- ① 行政計画がサービス・施設等の整備の推進のため多用されているものの、その実現を継続的に管理し、改善に繋げていくための仕組みに乏しいこと。
- ② サービス・施設整備等の拡大局面においては、補助金、融資等の金銭的インセンティブにより、計画が有効に機能する。それに対して、サービス・施設等の過剰への対応を典型として、ダウンサイジングの局面では、計画は必ずしも有効に機能しないこと。
- ③ 伝統的な手法である許認可等からめた総量規制のような規制行政による需給調整は、営業の自由等の関係で問題を含む。このため、ダウンサイジングの局面で需給調整を行う政策手段を欠くことになること。
- ④ つまり、現状では、政策の形成のみならず実施も含めて、そのプロセスを管理する仕組みとともに、それを実現する政策手段が常に存在するわけでないことになること。
- ⑤ このことの問題は、サービスの拡大局面では大きな問題とならなかったかもしれないが、人口減少、財政逼迫等の状況下でダウンサイジングが必要な時代にあっては、重要課題として浮上ることになること。

かかるプロセスアプローチとの比較で認識すべき政策形成上の課題（下図参照）としては、

- ① 動的なプロセスアプローチによる PDCA を政策形成のみならず、その実施・実現過程に如何に内在化させるかという点
- ② ダウンサイジングの局面において、適法性というミニマムではなく、オプティマムなサービス供給を実現するための需給調整の仕組みを如何に確立するかという点
- ③ これらの政策形成及び需給調整を進めるためのインセンティブを如何に与えるかという点が重要である。

図 プロセスアプローチの位置付け



このうち①については、現時点での研究成果として、以下の方向性を提示しておきたい。なお、②については、別途研究を進めているところである。

- ① 法令等により適法性等が重視され、画一的になりがちな規制的手法は、ミニマムを超えたオプティマムな水準での政策形成を目指すときには、必ずしも有効ではない。その上、ダウンサイジングの時代において、様々な地域特性を反映させる必要がある介護等の医療・福祉分野においては、多様な政策形成及び内容を許容する必要がある。
- ② その点では、事業実施レベルで行われてきたプロセスアプローチの手法を地域づくり等の政策マネジメントにも応用することが考えられる。
- ③ 具体的には、地域づくりに関する規格による政策形成・実施に関する標準化を進め、それとセットで認証機関による認証制度を設けることである。これにより、地域包括ケア等の実現に向けた地域づくりに意欲のある行政及びまちづくり事業者が認証を取得することにより、PDCAによる継続的な改善を進めていくインセンティブを付与することになる。

3. 今後の研究における課題または問題点

今後は地域包括ケア実現に結びつくような政策プロセスアプローチの理論面の検討とともに具体的な仕組みの検討を行う必要がある。検討課題等としては、以下の点が挙げられる。

- ① プロセスアプローチの前提となる地域づくりに関する規格・標準に盛り込むべき事項
- ② 医療・福祉の側からの地域づくりと国土整備、都市計画等の枠組みとの関係性
- ③ 政策におけるプロセスアプローチのインセンティブ
- ④ 地域包括ケアの観点からみたダウンサイジングの中でのオプティマムの内容

また、需給調整の実現手段に関しては、職業選択の自由との関係での規範的な検討が必要である。

文献

- 1) 中條武志他（2015）『ISO9001：2015（JISQ9001:2015）要求事項の解説』日本規格協会
- 2) 中條武志（2010）『ISO9000 の知識』日本経済新聞社
- 3) 鈴木敏央（2016）『新・よくわかる ISO 環境法』ダイヤモンド社
- 4) 全国社会福祉協議会（2017）『福祉サービスの第三者評価 受け方・活かし方 障害者・児童福祉サービス版』

- 5) P・F・ドラッカー／G/J/スターン（2000）『非営利組織の成果重視マネジメント』ダイヤモンド社
- 6) P・F・ドラッカー（2007）『ドラッカー名著集④非営利組織の経営』ダイヤモンド社

ⁱ 薬価算定のようなミクロレベルでは、**QALY**を基本とする費用効果評価が導入されつつあるが、地域づくり等のメゾ・マクロレベルでは、未開拓である。この点も、今後の課題となろう。

つながりが弱い人を包摂する社会を構築するために何をすべきか

— すべての市民の健康寿命の延伸を目指して —

金子 光一（社会学部社会福祉学科）

1. 研究の背景

2016年7月に厚生労働省から出された『我が事・丸ごと』地域共生社会実現本部について」および2017年2月に出された『地域共生社会』の実現に向けて（当面の改革工程）」では、制度・分野ごとの『縦割り』や「支え手」「受け手」という関係を超えて、地域住民や地域の多様な主体が『我が事』として参画し、人と人、人と資源が世代や分野を超えて『丸ごと』つながることで、「地域共生社会」が実現できるとしている。

しかしながら、所得格差の是正を目指す再分配政策、育児・介護におけるジェンダー不平等の問題、虐待や差別などの人権に関わる課題など、国家等でしか是正できない社会問題は、未だに解決されずに残されており、私たちの地域社会を分断している。そのような状況で、住民が「我が事」と思うような「地域共生社会」を実現することはできるのでしょうか。換言すれば、政府のプランは、シティズンシップの確立が未整備ななかで、新たな地域のつながりに過度に期待し、それらに解決困難な課題を押し付けているような印象すら受ける。

また、『地域共生社会』の実現に向けて（当面の改革工程）」のなかには、過去の日本の「地域の相互扶助や家族同士の助け合い」（「我が事・丸ごと」2017：1）など、日本固有の「共生の論理」に基づく言及がなされているが、このような同質性を基盤にした関係に支えられた地域と、その一方で言及している「多様性を尊重し包摂する地域」（「我が事・丸ごと」2017：3）とは必ずしも直接結びつくものではない。いうまでもなく「多様性の尊重」は、シティズンシップを前提として初めて実現できるものであり、「包摂する地域」は、社会が排除的な状態のままで、いくら声高に主張しても、結果として「排除のための包摂」にしかならない。

本研究は、このような現状を鑑み、社会的なつながりが弱い人を包摂するために国や地方自治体が果たすべき役割は何か、地域住民や関係機関は何をすべきなのかを明らかにするものである。また、本研究は、すべての人が健康で文化的な生活をおくること、そしてその生活を長く続けること、すなわち、すべての市民の健康寿命の延伸を目的として行われたものである。

2. 調査報告および研究報告

（1）国・地方自治体が果たすべき役割

社会的なつながりが弱い人を包摂するためには、「相互承認」や「連帯」が必要である。人々が互いに認め認められる関係を取り結ぶことができれば「相互承認」はそれ自体が価値になる。また、「相互承認」を経て構築された再分配は、「連帯」を象徴するものである。再分配における移転者も被移転者も同じ地域社会の構成員であり、相互に助け合わなければならないという考えを前提にしていることから、「連帯」も社会を支える重要な価値として捉えることができる。それらの価値を重視し、社会的なつながりが弱い人に対する支援を考えた場合、国や地方自治体の役割は極めて大きい。

①社会保障制度の改善

近年、つなぐための試みや再分配が、逆に貧困化を深刻なものとし、それが孤立を招き、排除を強化する結果になっている。そのような逆機能は、財政の所得再分配機能が継続的に弱体化し、不平等度が上昇し続けている現状からも見て取れる。所得再分配は所得格差を是正するための国の政策の中核であり、社会保障制度の基盤である。その意味で、所得再分配機能の劣化は早急に防止しなければならない。また、現在の社会保険制度では対応が難しい課題（引きこもりやニートなど）を抱えている若年層を支援するために、社会保障制度そのものの拡充も今後検討すべきである。

②「歪められた承認」(misrecognition) の是正と「合理的配慮」(reasonable accommodation) の推進

基本的人権の保障は、市民間の対等性の確認であり、これによって市民間の相互承認の可能性が開かれた。しかしながら、基本的人権の保障が制度上確立されても、市民のなかに「歪められた承認」が生じてしまうことがある。そこで国は、差別禁止立法などを法制化することによってそれを是正するための措置を講ずる必要がある。また、障害者差別解消法（「障害を理由とする差別の解消の推進に関する法律」）に盛り込まれた「合理的配慮」は、人々が市場だけに依拠することなく、相互に人格と個性を尊重し合う共生社会の実現に向けて提起されたものであるもので、その対象を普遍化し、今後一層推進することによって「歪められた承認」を是正することが期待できる。

③市町村における福祉予算の運用の柔軟化

現在、多くの市町村の福祉予算は、高齢者福祉、障害者福祉、子ども福祉など分野ごとに組まれている。そのため、社会的つながりが弱い人に対する事業を実施する際、財源に裏づけがない場合が多い。地域で支え合う福祉の推進のための費用を市町村の実情に応じて増額するなど、福祉関連予算の運用を市町村が柔軟に行えるような仕組みづくりを行うことが望まれる。

④「社会サービス法」(仮称) への転換

近年の福祉のサービスは、地域において対象を超えた横断的・総合的なサービスが展開されているが、対象者の属性分野別の法体系のもとで行っているため、資源供給の面などでさまざまな弊害が生じている。スウェーデンは、民主主義と社会連帯を基本的価値として、人々の経済的・社会的安定、平等な生活条件、すべての人の社会参加の実現を目的として、児童福祉法、アルコール・薬物乱用者ケア法、公的扶助法などを統合した「社会サービス法」を 1980 年に制定した。縦割り行政の弊害を解消し、新たなサービス体系を構築するためには、わが国においても将来的に、社会サービス法(仮称) への転換が必要である。

(2) 地域住民や関係機関がやるべきこと

帰属的価値を代表する家族と個人の分離が進んだ今日の社会状況では、家族に代わって個人を支える人や組織が必要になっている。そのため社会的なつながりが弱い人と同じ地域で暮らしている住民や関係機関の役割は重要である。

①監視ではない見守り

東京都では、地域住民による「緩やかな見守り」を推奨している。「緩やかな見守り」とは、地域住民や民間事業者が日常生活、日常業務の中で、いつもと違う、何かおかしいと感じる人がいたら、専門の相談機関に相談するなど、地域で緩やかに行う見守り活動である。個人のプライバシーと自由に生きる権利を尊重しながら、地域住民が監視ではない「緩やかな見守り」を日常生活圏域で行うことで、社会的なつながりが弱い多くの人たちを支えることができる。共生社会を構築するためには、市民教育やボランティア学習などを通じて、相互が負担する義務（＝「相互負担義務」）を理解し、それを身につけた地域住民の力が必要である。

②参加を促進するための合理的配慮

社会的なつながりが弱い人であっても、人間としての尊厳は保持されなければならない。一人ひとりの命の重さは少しも変わることはなく、誰でも社会的なつながりを求める権利がある。この当たり前の価値観を社会全体で共有することが重要である。障害分野で法制化された合理的配慮は、社会参加のために配慮を必要としている人との建設的な対話による相互理解を促すものである。合理的配慮の対象を普遍化することは、社会的なつながりが弱い人が地域の相互承認の場とつながる機会を増やし、地域社会への参加を促進させることにつながると考えられる。

③見知らぬ他者を排除しない共生社会の構築

地域の関係機関には、地域相談センター、地域団体、サービス事業者、地域活動団体（PTA等）などがある。地域の関係機関は、地域住民に対する教育・啓蒙機能、通報や相談のための窓口機能、発見のためのアウトリーチ機能、比較的参加しやすい場のインリーチ機能、保護機能などをもつことが求められている。しかしながら、一つの機関がすべての機能をもつことはできないので、機関相互のネットワークでつながりが弱い人に対する支援を連携して行わなければならない。すなわち「支え合う機能」としてのネットワーク構築を目指す必要がある。

多様な帰属や交流の場の構築を目指す取り組みは、各地で展開されている。

例えば、秋田県藤里町の「こみっと」は、引きこもりや不就労・障害者の社会復帰のための福祉の拠点となっている。高齢者の自宅訪問中に仕事のない引きこもりの息子と住んでいる高齢者が非常に多くいることを知った社会福祉協議会の Kさんは、引きこもっている若者に伴走型の支援を展開し、就活と地域での活動をつなぐ居場所づくりを行っている。

また、見知らぬ他者を排除しないための取り組みも徐々に発展してきている。

例えば、群馬大学と群馬県は 1998 年度より連携して、多文化共生社会の構築に向けた教育・研究・まちづくり事業を推進している。具体的には、地域から多文化共生を推進する人材育成の要請が高まり、「多文化共生推進士」養成ユニットを形成し、地域再生を図る取り組みを展開している。群馬県は、地域に暮らすさまざまな文化的背景をもつ外国人が主体的に参加できる仕組みづくりを積極的に行っている。

3. 今後の研究における課題または問題点

今後は、研究の焦点を第三セクターに移し、社会福祉政策の視点から社会的排除にかかわる問題に取り組むと考えている。特に、構成員の参加的運営をガバナンスとする欧州型の社会的企業を歴史的に探究し、その有効性を検証することにより、すべての市民の健康寿命を延伸する社会づくりに資する研究に発展させたいと考えている。

文献

- 1) 「我が事・丸ごと」地域共生社会実現本部（2017）『『地域共生社会』の実現に向けて（当面の改革工程）』p.1, p.3, 厚生労働省
- 2) 金澤史男（2008）「現代財政と公私分担の再編」『公私分担と公共政策』pp.1-52, 日本経済評論社
- 3) 菊池まゆみ（2016）『地域福祉の弱みと強み ～「藤里方式」が強みに変える～』全国社会福祉協議会
- 4) 内閣府「障害を理由とする差別の解消の推進に関する基本方針」
<http://www8.cao.go.jp/shougai/suishin/sabekai/kihonhoushin/honbun.html>（閲覧日：2017/09/15）
- 5) 群馬県「多文化共生推進士」<http://www.pref.gunma.jp/04/c1500243.html>（閲覧日：2017/09/15）

ICT を活用した高齢者の健康寿命のリスク要因の軽減

加山 弾（社会学部社会福祉学科）

1. 研究の背景

本研究では、在宅高齢者に対する地域見守り・支援の媒体として、多職種がリアルタイムに情報発信・共有のできる ICT システムに着目し、試行的運用をしながらデータ収集・分析を行い、その活用可能性・効果や課題の導出を試みている。東京都文京区の富坂地区において住民が開設したコミュニティ・カフェを拠点に取り組んでおり、本年度はそのデータをまとめた。調査対象は、同カフェ利用者（常連客）の中で、「専門的サービスを常時受けているわけではないが、孤立によるリスクと隣りあわせの在宅高齢者」（本研究では「見守り対象者」と称している）であり、本人からの同意を得ている。

2. 調査報告および研究報告

2016 年 1 月から 2018 年 3 月までの予定で、クラウドシステム「TRITRUS」によって見守り対象者 8 名（60 代から 90 代まで）への日常的な見守りの実践的研究を行った。TRITRUS は多職種による情報発信・共有のためのもので、地域包括ケアシステム向けに開発された。個々の利用者（患者）の医療・健康・介護情報などがデータベースが随時更新でき、ライセンスをもつ複数の人がアクセスできる。

8 名は在宅で、独居または高齢夫婦のみの世帯である。在宅福祉サービスなどの利用のある人もいるが、いずれも自立生活を維持しており、健康を自認している。しかし、調査期間中でも、健康悪化（骨折、入退院など）、環境変化（見守り・支援者の転出・発病など）、災害（自宅火災）といったインシデントが起きており、このような層であっても、健康寿命延伸を阻むリスクと常に隣り合わせであることが明らかとなった。

具体的には以下の研究経過であった。本システムでは、研究者以外にカフェの代表（このカフェでは民生委員や町会、地域包括支援センターなどからの情報も集まってくる）、地域医療を行う医師、社会福祉協議会で困難ケースの支援などを行う地域福祉コーディネーターがライセンスをもち、見守り対象者の状況変化に対してそれぞれの立場から情報発信や討議をシステム上で行い、必要な時には関係機関に知らせるなどの対応を行った。その際、見守り対象者の状態を緊急度別に「安定」「注意」「懸念」「緊急」の 4 段階（表 1）に分けて記録し、その推移を数値化した（表 2）。

表 1 緊急度のレベルと定義

安定 (1)	以下(2)～(4)に非該当
注意 (2)	体調・表情等の不調、キーパーソンの制約、姿が見えない等の不安要因の現出
懸念 (3)	(2)の不安要因の進行・重篤化、通報・連絡を検討
緊急 (4)	怪我・骨折・重篤な体調悪化、入院、キーパーソン不在等の重篤・切迫化、通報・連絡が必要

表2 見守り対象者の緊急度(4段階)の推移

対象者	平均	2016/ 1			2			3			4			5			6		
		I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
1.0	1.0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2.0	2.6	1	1	2	2	2	2	3	3	2	2	1	3	3	4	4	4	4	4
3.0	1.7	1	3	3	3	4	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
4.0	2.2	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
5.0	1.3	2	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1
6.0	2.2	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
7.0	2.5	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2
8.0	1.9	2	3	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	2	2	2	2	2	2

※対象者は、独居家族を個々に把握する時にも識別を容易にするため、小数点を付している。

表3は、見守り状況別（「状況確認（日常的見守り）」「安否確認（緊急対応）」に、どのようなタイプのコメントがシステム上で交わされたかを分類・集計したものである。数値は、コメント数を表す。たとえば、①カフェからある見守り対象者の様子がおかしいなどのコメントが発信されると、②医師がそれに対し可能性のある病状や注意点などを書き込み、③地域福祉コーディネーターがサロンへの参加を促すことなどを提案した場合、コメントは「3つ」とカウントされる。

見られるように、緊急状態でない「状況確認」においては、「本人の心身・生活状況」についての話題、特に「健康状態・元気さ」に関わる情報が交わされる機会が多い。「店での様子」として、常連客同士で支えあいがあること、カフェで自分の役割を得ているといった情報が多数見られる。

一方、緊急的な問題が起きた状態での「安否確認」では、「心身・生活状況」でも「入退院」「疾病」といった専門性の高い情報や「ADL 確認」（〇〇ができる・できないなど）といったこと、また「店での様子」では「来店店の仕方変化」（来店が途絶えた・再開した、店での様子がおかしいなど）といった、より逼迫した内容のものが多い。

表3 見守りに関するコメントのタイプ別集計結果(2016年1月～2017年10月)

1. 状況確認(日常的見守り)		1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	合計
本人の心身・生活状況	健康状態・元気さ	1	8	2	8	3			6	28
	病後の様子	1	1							2
	緊急通報体制				1					1
	家族による支え				1		1			2
	本人による介護負担							1		1
	生活状況確認	1								1
	生活情報			1						1
	生活支援サービス		1					4		5
地域・社会生活状況	地域での様子	1		1			1	1		4
	交友・交流									0
	社会活動				2					2
	フォーマル・インフォーマルの連携							1		1
店での様子	来店店の仕方変化		1						1	2
	店から様子伺い							1	1	2
	常連同士の支えあい			6	1	1			1	9
	役割獲得	2		3				2		7

2. 安否確認(緊急対応)		1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	
本人の心身・生活状況	疾病	1		1	3	1			1	7
	ケガ		1					1		2
	介護ニーズ		1							1
	認知機能低下					5				5
	孤独・不安					2				2
	入所					1				1
	行方不明		1							1
	診療	1				1				2
	入退院			2			1			3
	健康状態・元気さ		3			4	1		1	9
	様子の变化	2	1			1				4
	ADL確認	12			1	1				14
	体調安定	1								1
	家族による支え		1			1		3		5
	家族の負担							1		1
	家族の状況変化						1	4		5
	本人による介護負担					2	1	1		4
	火災							4		4
地域・社会生活状況	外出支援		2							2
	地域での様子		1			2				3
	KPの変化・体調悪化		3			1				4
	生活支援サービス		1		1	2				4
	他機関(フォーマル)との連携							1		1
店での様子	フォーマル・インフォーマルの連携		1			4				5
	来店の仕方変化	1		1		3	1	1	3	10
	店から様子伺い									0
	常連同士の支えあい		1						1	2
	役割獲得							1		1
	役割喪失	1								1

3. 今後の研究における課題または問題点

本研究は、限られたサンプルへの試行的調査という限界があるものの、立場を越えた見守りの必要性については一定程度示されたと考えられる。繰り返しとなるが、比較的に自立・安定的に生活が維持されていると思われる高齢者であっても、調査期間中にかなり緊急性の高い問題も頻繁に確認された。このように多角的に問題や改善の見通しなどを予測しながら見守ることは、問題の早期発見・対応、リスク回避につながるものであり、健康寿命を延ばすためにきわめて重要といえる。

今後の課題として、調査地や対象者を増やすなどしながら研究を継続し、より精度の高い、また客観性をもったデータを収集することが挙げられる。

文献

- (1) 柏市保健福祉部福祉政策室「柏市における長寿社会のまちづくり」
- (2) 倉持香苗 (2014) 『コミュニティカフェと地域社会—支え合う関係を構築するソーシャルワーク実践』明石書店
- (3) 小林良二 (2011) 「虚弱な高齢者に対する地域住民の『見守り』について」東洋大学福祉社会開発研究センター編『地域におけるつながり・見守りのかたち』p.300-325, 中央法規出版
- (4) 内閣府『平成 24 年版 高齢社会白書』
- (5) 東京都福祉保健局 (2016) 『高齢者等の見守りガイドブック (第 2 版)』
- (6) 筒井孝子 (2014) 『地域包括ケアシステム構築のためのマネジメント戦略—integrated care の理論とその応用—』中央法規出版

介護保険制度における介護支援専門員のあり方

～地域包括ケアシステム構築と健康寿命延伸に向けた課題～

高野 龍昭（ライフデザイン学部生活支援学科）

1. 研究の背景

介護支援専門員（以下「ケアマネジャー」）は、介護保険制度下で要介護高齢者等が介護サービス等を利用していくうえで「要」となる人材¹⁾とされ、**65歳以上人口のおよそ18%・75歳以上人口の約33%**を占める要介護（要支援）認定者²⁾のケアプラン作成を担っている。この意味で、高齢期に至ってからの健康寿命の延伸にケアマネジャーは重要な役割を担う。また、健康寿命の延伸に影響を及ぼす地域包括ケアシステム構築への積極的な関わりも重要視されている³⁾。

本研究では、こうした問題意識から、ケアマネジャーに対して介護保険制度改正において指摘されてきた課題をもとに、その今後のあり方を検討した。

2. 調査報告および研究報告

（1）地域包括ケアシステムに関する議論

地域包括ケアシステムは、**1970年代後半**からの広島県（旧）御調町での取り組みを源流とし、厚生労働省内が**2008年**に「地域包括ケア研究会」を設けてその検討を深めることによって注目されてきた。近年の高齢者分野での医療・介護の制度改革や介護支援専門員の資質向上に際しては、この構築・深化に資する方向性が明確化されてきている。

ここで言う地域包括ケアシステムの意味するところは次の4点に整理できる。

①「自助」「互助」「共助」「公助」の有機的な連動・役割分担

自助（セルフケア・市場サービス購入など）・互助（地域住民の自発的な取り組み・非営利法人の活動など）・共助（社会保険制度による医療・介護サービスなど）・公助（税財源による社会福祉サービス）を地域内でバランスよく整備し、それを包括的に活用することで、高齢者が地域生活を継続できる体制を言う。

②医療・介護の連携

急性期医療・回復期医療・慢性期医療と介護サービスが連動し、心身の状態に応じた適時適切な治療や介護が受けられる体制を指し、いわゆる「病病連携」「病診連携」「医療介護連携」等が円滑に展開されることを指す。

③地域共生社会の実現

いわゆる「丸ごと」（制度別・縦割りの支援でなく、制度横断的で包括的に支援が提供される体制）・「我がごと」（地域における住民間の互助の取り組みなど）の取り組みが広がることを指し、インクルーシブな社会が拡大していくことを意図したものを言う。

④「ゼロ次予防」・地域での「つながり」の構築

介護予防が従来は「一次予防」（社会参加の促進）・「二次予防」（虚弱・フレイルに陥るリスク

の早期発見と早期対応)・「三次予防」(要介護・要支援状態に陥った際の悪化防止)の3点を強調してきたのに対し、それに加えて「ゼロ次予防」、すなわち活動的な生活を維持・拡大できるための「地域内での『つながり』」の創出をすることで、健康寿命の延伸を図ることができる体制を言う。

(2) 介護支援専門員(ケアマネジャー)の現状と課題

こうした地域包括ケアシステム構築に向けた「地域マネジメント」は市町村の責任とされると同時に、そこへのケアマネジャーの関与も強く求められている⁴⁾。

しかしながら、ケアマネジャーに対しては、介護保険制度改正において多くの課題の指摘があることが把握できた。その一部を以下に示す。

① ケアプラン作成におけるアセスメントが不十分

「アセスメントやケアカンファレンスが十分に行われておらず、ケアマネジメントが効果を発揮していないのではないか」などの指摘⁵⁾があり、実際に「認知症や廃用症候群の事例における利用者の状態像に応じた参考となるケアプランの情報が不足」「収集した情報の分析と課題解決の優先順位付けが不十分」などというケアプラン作成のスキル不足が課題とされている⁶⁾。

② 知識・技術が標準化されていない

専門職・資格職であればその知識・技術等は一定程度の標準化(体系的で一定の水準が共通に確保されているスキルの担保)がされているものであるが、それが不十分であるという指摘がある⁷⁾。

③ 地域をターゲットとしていない

ケアマネジメントが個別の利用者・事例に対する支援に矮小化され、「地域全体をターゲットとした支援」が不十分であるという指摘がなされている(これは、対象者を要支援者等に矮小化しているという意味と、活用する支援策が介護保険の保険給付や地域支援事業という制度内のもののみに留まっているという意味であると思われる)⁸⁾。

これに加えて、医療機関からの退院時の支援のスキルが不十分で、医療的なニーズへの対応に課題があるとも指摘されている⁹⁾。

3. 今後の研究における課題または問題点

地域包括ケアシステムの構築およびそこでの健康寿命の延伸に際し、上記の2.で述べたようにケアマネジャーの関わりが不十分であるとされてきたことについて、筆者は各地でヒアリングや研修体系の調査を行い、その課題の詳細と効果的なスキル向上に資する対応の方向性について検証・検討を続けている。現時点で課題として把握できたことの概要は次のとおりである。

一つめには、ケアマネジャーの養成・教育(現任教育を含む)が、ケアマネジメント・ケアプラン作成のプロセス(アセスメント・ケアプラン原案作成・サービスの実行・モニタリング・評価・再アセスメントなどの過程)を徹底することのみに偏っており、その過程での具体的なスキルの涵養が不足しているということである。

これに関しては、とりわけアセスメントの「情報収集」の方法と利用者が抱える問題の「原因分析」の方法を再検討することで、前述2.の(1)と(2)の課題に対応できると推測できた。この点の検討(スキルの標準化の方策)を今後の継続的な研究課題としていきたいと考えている。

二つめは、介護報酬体系のうえでケアマネジャーの業務の評価が個別の高齢者支援のみにとどま

っており、それ以外の業務（たとえば地域に目を向け、不足している社会資源の創出や「地域でのつながり」を拡大するような活動など）に事実上踏み出せないということである。

これについては、ケアマネジャーによってその業務が行われることの効果を推し測り、それを明確化することがまずは必要と思われた。この点も今後の研究課題としていきたいと考えている。

文献

- 1) 介護支援専門員テキスト編集委員会（2015）『七訂介護支援専門員基本テキスト第 1 巻介護保険制度と介護支援』p333, 長寿社会開発センター
- 2) 次の報告をもとに筆者にて算出
厚生労働省（2017）『平成 27 年度介護保険事業状況報告』
- 3) 地域包括ケア研究会（2017）『地域包括ケア研究会報告書－2040 年に向けた挑戦－』pp14-17, 三菱 UFJ リサーチ&コンサルティング
- 4) 同書, pp28-38
- 5) 地域包括ケア研究会（2010）『地域包括ケア研究会報告書』p24, 三菱 UFJ リサーチ&コンサルティング
- 6) 日本総合研究所（2012）『介護支援専門員の資質向上と今後のあり方に関する調査研究－ケアプラン詳細分析結果報告書』pp17-36
- 7) 社会保障審議会介護保険部会（2016）『介護保険制度の見直しに関する意見』pp14-15, 厚生労働省
- 8) 同書, p8-9,
- 9) 同書, p8-15

在宅要介護高齢者の在宅生活継続と健康の延伸にむけた課題

— 要介護1・2の生活実態を手がかりに —

早坂 聡久（ライフデザイン学部生活支援学科）

1. 研究の背景

（1）医療連携に重度化防止に舵を切った介護保険制度

2018（平成30）年度介護報酬改定の方針が定まった。今回の改正では、介護保険制度の在り方を大きく転換する内容が示された点に着目する必要があるだろう。それは、6年に一度の診療報酬改定とのダブル改定の主旨にも通じる。

もともと、医療制度改革サイドからの地域包括ケアシステム構築は、「効率かつ質の高い医療提供体制の構築」とセットで論じられるものであり、2013年時点の総病床数135万床から高度急性期・急性期・回復期・慢性期へと病床を再編し、2025年には約115-119万床へと整理する病床再編の一環として地域包括ケアシステムを位置づけている。

そこでは、2013年に比べ約16万床の病床減少（慢性期病床は約7万床減少）の受け皿として、介護保険施設やサ高住等の高齢者住宅を含め、在宅医療等で新たに29.7-33.7万人程度の対応する役割を期待している。この数値こそ、地域包括ケアシステムが果たすべき数値目標の一端であり、平均入院日数を短くすることで医療費を抑制する仕組みとして地域包括ケアシステムを位置づけているのである。

■図1 平成30年度介護報酬改定に関する審議会報告

平成30年度介護報酬改定に関する審議報告の概要		社保審一介護給付費分科会 第157回(H30.1.17) 参考資料2
団塊の世代が75歳以上となる2025年に向けて、国民1人1人が状態に応じた適切なサービスを受けられるよう、「地域包括ケアシステムの推進」、「自立支援・重度化防止に資する質の高い介護サービスの実現」、「多様な人材の確保と生産性の向上」、「介護サービスの適正化・重点化を通じた制度の安定性・持続可能性の確保」を図る。		
I 地域包括ケアシステムの推進		II 自立支援・重度化防止に資する質の高い介護サービスの実現
■ 中重度の要介護者も含め、どこに住んでいても適切な医療・介護サービスを切れ目なく受けることができる体制を整備		■ 介護保険の理念や目的を踏まえ、安心・安全で、自立支援・重度化防止に資する質の高い介護サービスを実現
【主な事項】 ○ 中重度の在宅要介護者や、居住系サービス利用者、特別養護老人ホーム入所者の医療ニーズへの対応 ○ 医療・介護の役割分担と連携の一層の推進 ○ 医療と介護の複合的ニーズに対応する介護医療院の創設 ○ ケアマネジメントの質の向上と公正中立性の確保 ○ 認知症の人への対応の強化 ○ 地域共生社会の実現に向けた取組の推進		【主な事項】 ○ リハビリテーションに関する医師の関与の強化 ○ リハビリテーションにおけるアウトカム評価の拡充 ○ 外部のリハビリ専門職等との連携の推進を含む訪問介護等の自立支援・重度化防止の推進 ○ 通所介護における心身機能の維持に係るアウトカム評価の導入 ○ 褥瘡の発生予防のための管理や排泄に介護を要する利用者への支援に対する評価の新設 ○ 身体的拘束等の適正化の推進
III 多様な人材の確保と生産性の向上		IV 介護サービスの適正化・重点化を通じた制度の安定性・持続可能性の確保
■ 人材の有効活用・機能分化、ロボット技術等を用いた負担軽減、各種基準の緩和等を通じた効率化を推進		■ 介護サービスの適正化・重点化を図ることにより、制度の安定性・持続可能性を確保
【主な事項】 ○ 生活援助の担い手の拡大 ○ 介護ロボットの活用の促進 ○ 定期巡回型サービスのオペレーターの専任要件の緩和 ○ ICTを活用したリハビリテーション会議への参加 ○ 地域密着型サービスの運営推進会議等の開催方法・開催頻度の見直し		【主な事項】 ○ 福祉用具貸与の価格の上限設定等 ○ 集合住宅居住者への訪問介護等に関する減算及び区分支給限度基準額の計算方法の見直し等 ○ サービス提供内容を踏まえた訪問看護の報酬体系の見直し ○ 通所介護の基本報酬のサービス提供時間区分の見直し等 ○ 長時間の通所リハビリの基本報酬の見直し

出典：社会保障審議会介護給付費分科会 第157回（2018年1月17日）資料

そして、2018（平成 30）年度介護報酬改定において、鮮明に医療制度改革の一環として地域包括ケアシステム構築を方向づけたことは、今後、大きな議論を呼ぶこととなろう。

改定の詳細は別に譲るものであるが、2018（平成 30）年度介護報酬改定のポイントとしては、平成 30 年度介護報酬改定に関する審議会報告の「Ⅰ地域包括ケアシステムの推進」で示された医療連携推進と「Ⅱ自立支援・重度化防止に資する質の高い介護サービスの実現」に示された自立支援・重度化防止に注目があつめられている（図 1）。

何よりも、財政制度等審議からの度重なるマイナス改定要求を退けた「介護離職ゼロ」という政治判断で導かれたプラス 0.54%改定が、驚きをもって報道されたことは記憶に新しい。勿論、薬価調整により社会保障費の伸びを 5000 億円程度に抑え、介護報酬については、マイナス 0.5%程度の適正化を行いつつ、新規加算等で調整しトータルで 0.54%のプラス改定となることから、「自立支援・重度化防止に資する質の高いサービス等の評価等」として導かれる 1%分の加算等の扱いを含む、ビジネス・モデル構築が急ピッチで模索されていくことであろう。

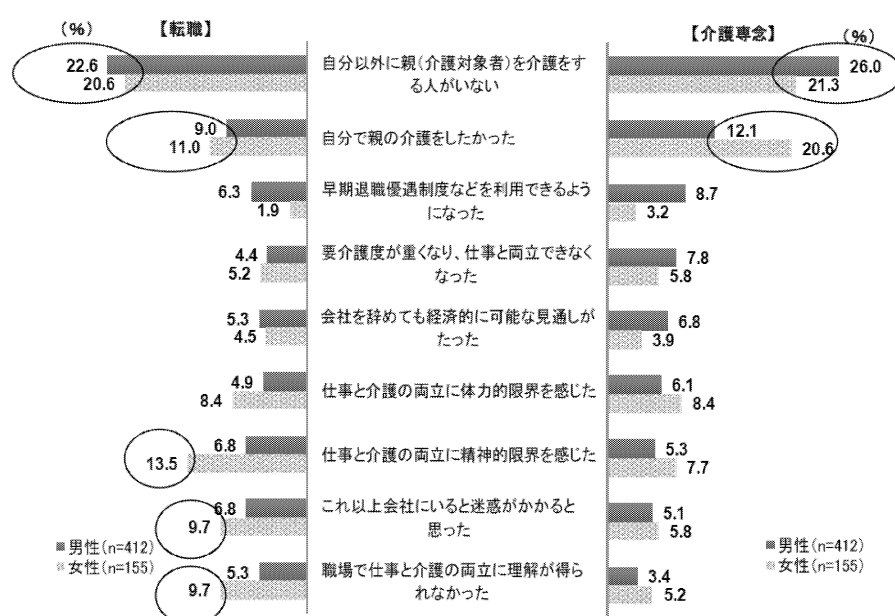
（2）在宅要介護高齢者の生活実態にみた課題

他方、今般の介護報酬改定の政治判断に導いた「介護離職ゼロ」という金看板に対応する具体的な方策は打ち出されたのであろうか。

現政権の目玉政策として打ち出された「介護離職ゼロ」であったが、特別養護老人ホームの整備促進を図るために計上された「地域医療介護総合確保基金」（2015 年度補正予算）の約 1,406 億円のうち、2017 年度までの 2 年間に執行されたのは、約 16%の計約 221 億円にとどまっていることを読売新聞が明らかにした。基金の利用が低調な理由は、「（経営が厳しいなどの理由で）事業者があつまらない」「介護人材不足」が 47 都道府県で 5 割弱というⁱ。

そういった状況において、「介護離職ゼロ」のためにプラス 0.54%改定を行うことで、果たして効果があるのか疑問を持たざるをえない。

■図 2 介護離職の直接のきっかけ



出典：力石啓史「仕事と介護の両立と介護離職に関する調査結果」『生活福祉研究』通巻 89 号, 2015

介護離職の実態については、明治安田生命福祉研究所とダイヤ高齢社会研究財団が実施した調査により、介護のために転職した者も介護専念のために離職した者も「自分以外に親を介護する人がいない」が男女とも最多となっていた。なお、女性の場合は、「自分で親の介護をしたかった」と答えており、一定程度、望んで介護専念を選択することも明らかとなっている。

また、介護を契機に転職した群では、「仕事と介護の両立に精神的限界を感じた」「これ以上会社にいると迷惑がかかると思った」「職場で仕事と介護の両立に理解が得られなかった」等、職場で理解を得られずに追い詰められていく様相も明らかとなっているⁱⁱ。

この実態は、在宅で老親を介護する子世代を支援するはずの在宅サービスが十分に機能していないことを裏付けており、今後一層家族介護力が減退していく中で「介護離職ゼロ」へむけた有効な手立てとして在宅サービスの充実や、職場の理解を含む雇用環境・労働政策がなければ望まれる効果は見いだせないのではないかと考えられる。

2. 調査報告および研究報告

(1) 調査概要

筆者が昨年実施した調査「特別養護老人ホーム待機者にみる在宅生活継続阻害要因の分析」により、特養入所要件の厳格化がなされた2015（平成27）年度以降、要介護4・5での特別養護老人ホーム入所待機者が大きく減少している様相が明らかになった。その一方で、要介護高齢者の在宅生活継続を阻害する要因については、要介護度のみならず家族介護者の有無（日中独居、通い介護を含む）や他家族員に要援護者がいる場合等、高齢者本人をとりまく介護支障要件による影響が大きいことが明らかとなった。

その様相は、実質的に特養利用から締め出された要介護1・2の利用者でも当てはまっており、さらに、介護支障要件がみられないケースにおいてもほとんどのケースで認知症状を有していることが明らかになったⁱⁱⁱ。

そこで、本年度は「介護離職ゼロ」とう政策目標における主要な受け皿となる特別養護老人ホームの利用対象から外された要介護1・2の在宅要介護高齢者を対象とした生活状況及び介護サービスの利用状況を明らかにするため、以下の調査を行った。本報告においては、本年度実施した調査の中間報告を行うものである。

「調査概要」

宮城県A郡B町にあるD居宅介護支援事業所が給付管理を行う要介護高齢者のフェースシート（性別、年齢、要介護度、ADL、利用サービス、家族介護者の支障状況）を基礎資料とし、各々のケースの介護支障要件について担当ケアマネジャーへヒアリングを行い介護支障状況の分類を行った。

分析に用いるデータは以下の項目とする。

・要介護高齢者本人

性別、年齢、要介護度、ADL、認知症の状況、利用しているサービス

・家族介護者等

家族構成・続き柄・性別・年齢・介護支障状況・特記事項

・介護支障要件については、客観的把握ができる介護者（家族員）の状況を分類し集計する。項目は「介護者がいない」、「介護者が病弱か障害を有している」、「家族員に他の要援護者（要介護者・乳児・複数の幼児・妊婦等）がいる」、「介護者就業による日中独居及」及び「介護者の別居」とした。

- ・調査期間（第一次調査）：平成 29 年 12 月～平成 30 年 1 月（4 日間）
- ・調査対象ケース数：D 居宅介護支援事業所の 2017 年 12 月 1 日現在の給付管理者数 148 名のうち要介護 1（26 名）及び要介護 2（40 名）を対象とした（表 1）。

■表 1 D 居宅介護支援事業所の利用者状況

	要支援 1・2	要介護 1	要介護 2	要介護 3	要介護 4	要介護 5
4 月	18	18	29	28	13	12
8 月	18	26	38	34	22	11
12 月	19	26	40	27	21	14

（2）第一次調査の概要（要介護 1・2 の利用者）

調査対象とした D 居宅介護支援事業所の 2017 年 12 月 1 日現在の給付管理者 148 名のうち要介護 1 は 26 名、要介護 2 は 40 名であり、このうち第一次調査の対象とした 19 ケースについては、表 2 にまとめられる。

調査対象の介護支障状況については、家族介護者が「いない」もしくは日中独居等の常時家族介護が得られない状況にあるのは、C-01、C-08、C-10、C-14、C-15、C-17、C-19 の 7 ケースと多く、要介護度が 1 や 2 といった軽度であっても、在宅生活継続において常時介護が得られない状況は、転倒危険性や安否の確認などで大きな不安がある。とりわけ、C-01、C-10、C-14、C-17 では、認知症を有しており、「C-01：アルツハイマー型認知症（作話、物忘れ）、両下肢筋力低下、物忘れに落ち込む」「C-10：認知症有（記憶曖昧、じっとしてられない）話の内容を理解することが難しく会話がかみあわない」「C-14：軽度の認知症（何度も同じ話をする）」「C-17：軽度の認知症状（物忘れ、火不始末）。」と症状にばらつきがあるものの、認知症高齢者において単独での生活時間が長いことで、本人の不安や混乱、意欲の減退等が心配される。

世帯状況では、孫・ひ孫を含む三世帯世帯は 5 ケース（C-02、C-03、C-05、C-12、C-16）であり、息子・娘世代との二世帯同居の 4 ケース（C-04、C-06、C-07、C-13）を含めて、主介護者と介護補助者を有する世帯が最も多い 9 ケースとなっていた。その一方で、C-01、C-11、C-15、C-17 の 4 ケースが単身世帯であり、C-08 と C-10 は就労する娘・息子との二人世帯となっており、高齢夫婦世帯も C-9、C-14、C-18、C-19 と 4 ケースとなっていた。

前述のとおり、家族介護者が「いない」もしくは日中独居等で常時介護得られない状況であり、かつ認知症状を有しているケースは、在宅生活継続が困難になる可能性が高く、また、通いで介護する 5 ケース（C-01、C-11、C-14、C-15、C-17）は何れも介護離職の可能性が高いことが推察される。

現況において、これら 5 ケースの介護離職の危険性が高いケースを有効に支える手立てを見出すことは難しい。特に、要介護 1・2 では、特養入所の対象から外れていることから、金銭的条件を含む諸条件をクリアした形でグループホームやサービス付き高齢者向け住宅等の居住系施設を利用するしかなく、いわゆる「自助」に対応が帰されている。

なお、第一次調査の全 19 ケースのうち、特別養護老人ホームへの入所希望を明確にしているのは C-08 であり“介護者の急死により単身の娘との同居に至っている。介護者である娘はフルタイムで就労しており日中独居の状態である。歩行不安定（転倒危険有）、自力排泄も間に合わないときあり、賃貸住宅の浴槽では敷居が高く自宅浴槽での入浴は難しく、デイサービスの入浴”となっ

ている。

その一方で、日中独居や現況要介護2でありかつ、認知症状がみられず日中独居状態とはいえ生活が成り立っているケースであることから、特養入所に至る特定要件に該当しないと思われる^{iv)}。換言すれば、特養入所の特例要件に合致するケースは極めて稀といえよう。

■表2 要介護1・2の利用者の状況

ケース	性別	年齢	要介護度	認知症	世帯	介護者	介護の状況
C-01	女	80代	要介護1	有	単身世帯	息子の嫁が通いで	単身（15年前に夫死後単身生活）、アルツハイマー型認知症（作話、物忘れ）、両下肢筋力低下、物忘れに落ち込む。家事等に支障がでてきている。別居する息子の嫁が通いで世話をする。
C-02	男	80代	要介護2	有	三世帯同居	妻	多発性脳梗塞、心筋梗塞、転倒膝痛（骨粗鬆症と診断）、軽度認知症（Ⅰ）、歩行器移動、ポータブルトイレ。物忘れ・頑固・大声で怒ることがある。
C-03	女	80代	要介護2	有	三世帯同居	息子の嫁	両膝変形（変形性膝関節症）ゆっくり歩行可能（転倒繰り返し）、ズボン上げ下げできず要介助、自宅浴槽出入困難。認知症があり、会話が成立しないときがある。昼夜逆転、昔話を繰り返す。温厚な性格。
C-04	女	80代	要介護1	有	夫と息子と同居	夫	難聴でコミュニケーションは難航。自立歩行可、トイレ自立排泄、食事自立。軽度認知症にて家事・調理不可。短期記憶難しくすぐに忘れてしまい、同じ話を繰り返す。明るい性格。
C-05	女	80代	要介護2	有	三世帯同居	息子	骨粗鬆症、腰部脊柱管狭窄症、軽度認知症（作話、繰り返し）。歩行器利用（転倒危険有）、トイレ排泄（汚すが可）、入浴はデイスービスのみ。夫死後うつ状態。
C-06	女	80代	要介護1	有	息子世帯と同居	息子	アルツハイマー型認知症（Ⅱb）、難聴（要筆談）、ひどい物忘れ、同居息子（介護者）への被害妄想強く攻撃的で関わり拒否。自宅伝い歩き、屋外杖、昼間トイレ・夜間ポータブル、入浴はデイスービスのみ。火の不始末あり。
C-07	男	80代	要介護2	有	娘世帯と同居	妻	脳梗塞（2回）、軽度の認知症、なんとか歩くが転倒多い、排泄自立も尿もれあり、自宅入浴可、服薬管理難しくなってきた。シルバーカーで出かけることもある（家族は心配）。
C-08	女	80代	要介護2	無	娘と同居	娘（日中独居）	介護者であった娘急死にて別の子と同居に至る。歩行不安定（転倒危険有）、自力排泄も間に合わないときあり、自宅浴槽で入浴不可でデイスービスで入浴。日中独居（施設入所希望）
C-09	男	80代	要介護2	有	高齢夫婦世帯	妻	アルツハイマー型（Ⅰ）で物忘れはげしい。膝痛で転倒回数増えている。昼間はトイレ自立、夜はおむつ着用、入浴は3日に1度シャワー浴。穏やかな性格。
C-10	男	70代	要介護2	有	息子と同居	息子（日中独居）	脳梗塞（左麻痺）、認知症有（記憶曖昧、じっとしていられない）話の内容を理解することが難しく会話が噛み合わない。歩行伝い歩行、昼トイレ・夜間ポータブル、デイクアで入浴、食事可。
C-11	女	90代	要介護1	無	単身世帯	長女・次女	数年前に肩を複雑骨折（転倒）。骨折後配偶者急死。現在子ども達が交代で泊まり込み介護。室内シルバーカー、屋外4点杖で移動（転倒危険有）、トイレ排泄紙パンツ、自宅で一部介助浴。
C-12	女	90代	要介護2	有	三世帯同居	息子の嫁	関節リウマチ、軽度認知症有（作話あるも、服薬管理可能）、リウマチの影響で更衣一部介助、移動は杖歩行、排泄自立、自宅で介助浴。
C-13	女	90代	要介護2	有	息子世帯と同居	息子の嫁	認知症（短期記憶保持不可）、歩行器使用で移動（長距離は車椅子）、大便是トイレで小はポータブル使用、入浴は自宅風呂で介助浴。家にいるときはベッドに横になってすごしている。穏やかな性格。
C-14	女	80代	要介護2	有	高齢夫婦世帯	別居の娘が通いで	くも膜下出血・脳梗塞既往歴あるも麻痺なし。軽度の認知症（何度も同じ話をする）、屋内外杖歩行、排泄はトイレで介助。風呂はデイスービスのみ。老人クラブ仲間等との交流あり。
C-15	女	90代	要介護2	無	単身世帯	別居の娘が通いで	物忘れはあるが認知症無。両下肢に麻痺あり4点杖で移動、トイレ排泄パット使用、デイスービスと自宅で入浴（介助浴）、デイスービスに行かない日は茶の間の椅子にすわりTVを観て過ごす。
C-16	女	90代	要介護1	有	三世帯同居	息子	レビー小体型認知症（物忘れ・被害妄想、作話、記憶障害、家族の認識難）、両下肢筋力低下にて屋内伝い歩き屋外杖歩行、トイレ排泄、自宅浴。デイスービスを楽しみにしている。
C-17	女	90代	要介護1	有	単身世帯	別居の娘が通いで	急な体調不良（低栄養状態）にて要介護認定。軽度の認知症状（物忘れ、火の不始末）。自力歩行可（排泄入浴可）、リウマチにて両手指曲がっており調理不可、足腰の痛みあり。
C-18	男	80代	要介護1	有	高齢夫婦世帯	妻	認知症（徘徊、免許返納も車で外出しようとする）、下肢筋力低下でふらつき。トイレ自力排泄、自宅にて介助浴。日中は居間に座り過ごしている。
C-19	女	70代	要介護2	無	高齢夫婦世帯	夫（日中独居）	脳梗塞（左麻痺）5年前の転倒を機に引きこもりがち。自宅内は伝い歩き（転倒多い）、トイレ排泄も紙パンツ着用、デイスービスでの入浴のみ。夫の仕事が不定期で日中独居。

3. 今後の研究における課題または問題点

本研究は、特定の市町村の1施設（事業所）の利用者という、限定された対象者への調査であるものの、要介護高齢者の生活実態の一側面と在宅生活継続を支えるための支援の課題について、いくつかの知見が得られた。

例えば、要介護1・2の利用者のうち、介護離職予備群となるケースが1／4強存在していることや、要介護1・2のケース（日中独居に堪えられる程度のADLの維持）によりなんとか介護生活が破綻せずにいるケースの存在や、単身世帯・通い介護世帯が一定程度有ることなどの知見を得ることができたと思われる。

2018年度介護報酬改定が導こうとする医療連携・重度化防止が、政策目標となっている「介護

離職ゼロ」や本研究の課題の一つとする在宅生活継続や健康の延伸に有効なものか否かは、今般の法改正の成果の是非として見守って行く必要があろう。

今後には、第二次調査において残りのケースの分析を行いつつ、利用する居宅サービスの状況把握することで、サービスの効果や意義といった点についても踏み込みたい。

とりわり、多くの居宅サービスで求められることとなった生活機能向上連携加算の実施状況やその可能性・課題について検証したい。さらに、社会福祉法人に課せられた地域における公益的取組等の関連を含むそれらの課題を次年度における研究課題としていきたい。

脚注

i 読売 ONLINE「介護施設整備基金が低調、利用者 16%・・・人材不足で」2018 年 1 月 22 日

ii 力石啓史「仕事と介護の両立と介護離職に関する調査結果」『生活福祉研究』通巻 89 号, 2015 p20.

iii 早坂聡久「在宅生活阻害要因について」ライフイノベーション研究所平成 28 年度研究報告書, 2017

iv 特例入所の要件は、①「認知症で、日常生活に支障を来すような症状等が頻繁に見られること」、②「知的障害・精神障害等を伴い、日常生活に支障を来すような症状等が頻繁に見られること」、③「深刻な虐待が疑われること等により、心身の安全・安心の確保が困難な状態であること」、④「単身世帯等家族等の支援が期待できず、地域での介護サービス等の供給が不十分であること」等の要件に該当する場合に特例入所を満たすものとされる。

団地に居住する高齢者の生活と健康寿命延伸に関する実態調査～東京都北区 T 団地でのヒアリング調査を事例として

山本 美香（ライフデザイン学部生活支援学科）

1. 研究の背景

都心部の集合団地における「限界集落」化は、中山間地のそれとはまた別の問題を呈する。地域の紐帯が希薄であり、住民間の共同意識・共同作業が少ないことから、互助による援助活動が望めないのだ¹⁾。こうした「特殊性」について、都心部の団地（集合住宅）の高齢者に関する実態や今後の課題を明らかにする必要がある²⁾。

高齢者の孤立化は、近年、「孤独死」に顕著にみられるように「無縁社会」とも名付けられて大きな社会問題となっている³⁾。もともとの性格によって孤立しやすいタイプの人というのは考えられるが、それ以外でも身体的・精神的健康状態や経済状態によっても人は孤立しやすく、独居か同居世帯かにはあまり関係がないことが先行研究でも明らかにされている⁴⁾。

また、今回の調査では、「食」についてもヒアリング項目として付け加えた。これは、高齢になるにつれて、買い物に行ったり、食事を作ったりすることが困難になることが多いからである。また独居高齢者の場合は、ともに食べる相手がいないと次第に食がおろそかになることも考えられる。この点について高齢者の主観的な評価ではあるが、明らかにしたいと考えた。

今回の調査研究の対象は、昨年度に引き続き東京都北区である。北区は東京都下で最も高齢化率が高く、また都営住宅や UR 都市機構の大規模団地が多い。北区や UR にとっても高齢化と団地の問題は不可避な課題となっている。

東京都北区 UR の T 団地（以下、T 団地とする）において、東洋大学ライフデザイン学部生活支援学科生活支援学専攻の山本ゼミに所属する 3 年生 9 名が、訪問聞き取り調査を実施した。

2. 調査報告

（1）調査対象

2014 年に自治会が実施した「T 団地における 70 歳以上高齢自治会員に対する実態調査」において、「今後、自治会役員の声かけ・見守りを希望する」と回答した住民（自治会会員）で、6 号棟居住者に訪問調査を実施した。前回調査「第 1 回ヒアリング調査（2016 年 8 月～12 月実施）」と同一の対象者も今回では含まれている。

「訪問調査」を行う学生は、この「自治会調査」および「第 1 回ヒアリング調査結果」を事前に勉強し、T 団地における高齢者の特性を理解してから調査に臨んだ。

（2）調査方法

調査票を用いた半構造化面接を実施。学生が 2 人～3 人組になって、自治会役員と一緒に、高齢者の自宅を訪問し、聞き取り調査を行う。一戸あたりの調査時間は 30 分～1 時間。ヒアリングの内容は、調査員が詳細にメモをとるようにして、調査後、すぐにまとめを行うようにした。本調査は、高齢者の

見守りの目的も含まれているため、前回調査と同一の対象者も含まれている。

(3) 調査時期

2017年8月～2017年12月

(4) 調査項目

対象者の属性（生別、年齢、家族形態、子どもの有無と居住場所、経済状況）、日常生活の過ごし方、食事について、イベントへの参加状況、交流の場と機会への参加希望、生活上の課題、将来、介護が必要になった際の対応について

(5) 調査結果

調査は、第1回目に引き続いて行われたものであるが、今回は、第2回目の調査結果について報告する。

【表1】訪問調査の対象者一覧

別紙<表1>参照

① 対象者の基本属性

「男性」が2人、「女性」が9人である。調査対象は、70歳代が6人、80歳代が5人である。家族形態としては、「夫婦世帯」9人、「独居」1人、「夫と子どもと同居」1人となっている。

② 経済状況

「経済状況」については、多くのケースで年金の有無や種類などのヒアリングができなかった。ただ、女性の場合、配偶者の職業が「会社員」だった場合、厚生年金であることが推測される。事例7のみ、「困っていること」として「お金がないこと」をあげた。事例11は88歳であるが、現在でもアルバイトを行っている。

③ 日常生活

外出頻度は比較的高く、「毎日」とする者も多い。電車やバスを使つての外出も行われており、趣味の会や友人との交流などもある。今回の調査も、全体的な傾向としては、引きこもりなどの問題を抱えている者は少なかった。

しかし、骨折などの疾病が加わると外出していても、近所のスーパーか病院のみと行動範囲が狭まっている。

また、配偶者が車いす利用、病気のため自宅から出られないなどの条件の場合も、外出制限が加わってくる。夫婦世帯の場合、どちらも健康でないと、二人そろって閉じこもりがちになっていくことが推測される。

④ 健康状態

「問題なし」としたのは2名のみであった。あとは、「難病」「帯状疱疹による痛み」「骨粗鬆症」「圧

迫骨折」「腰痛」「心臓病」「膝痛」などがあり、思うように歩行ができなかったり外出できない者が多い。「今は寝ていることのほうが多い」と回答したものもいる（事例2）。回答者の配偶者も健康状態が良くないものもあり、「夫」が「寝たきり」「車いす」とした者が1名ずつあった。「妻」が精神的疾患も1名いる。

⑤ 子どもの有無と交流

子どもは1人～2人おり、「いない」とした人は3名であった（うち、一人は途中で亡くしている）。「同居」が1名、「同じ団地内に居住」が3名いる。近隣または近隣市に在住の人が多く、子どもとの交流が多くみられた。

⑥ 食事について

食事については多くの場合、「困っていない」と回答した。これはT団地の中にスーパーなどの店が多くあり、買い物の便が良いことが影響していると思われる。しかし、事例6は「食事作りが面倒くさいと感じることがある」とし、事例10は、自分の疾病のため「食事作りに時間がかかりすぎて、他のことができない」と回答した。事例7は80歳であるが、毎日、同居の子どものために弁当作りをしていた。

⑦ イベントへの参加

今回の調査では、「参加しない」と明言した人は1名であった。不参加の理由としては「やっている側に『やっている感』があるから」とのことである。しかし、あとは、「参加したいが（うまく歩けないため）足手まといになるかも」、「夫を置いていけない」、「参加する気力がない」、「最近まで仕事をしていたので、参加できなかった」など、声かけやきっかけがあるとイベントにも参加すると考えられる者が多かった。

⑧ 近隣との交流

交流がある者となない者と半数ずつの結果となっている。居住年数が長いこともあって、近隣住民が友人である場合もあった。「困ったときは自治会に相談する」も2事例あり、「挨拶はしないが、顔を見ると嬉しい」とする人もいて、自治会メンバーの存在が大きな安心感を与えていることがわかる。

⑨ 生活の課題

「特になし」と回答した人が多かった。具体的にあげられたのは、「足や腰が痛い」、「神経痛が困る」、「お金がない」などである。しかし、実情は、本人および配偶者も精神疾患があったり、車いすを使っている、外出ができないなど、健康上の問題を抱えている人も少なくなかった。それを「問題がある」として表現しなかったものと思われる。

調査員の感想を見ると、「独居なので何かあったときに気づかれないことがあるのではないかと心配になった」、「友達も不要と言ひ、何かあったときには孤立しないか心配」、「家族関係は良いが、他者との交流がない」、「近所の人とは交流がないようだった。人との交流に消極的か?」、「何かあったときにために、身近なコミュニティがあるとよい」など、近隣との関係が希薄なため、不測の事態に対応できないという点に不安があるとする意見が多かった。

（６）訪問調査のまとめ

現在は、買い物のためであっても「毎日、外出している」と回答する人が多く、ADL の理由で閉じこもりになっている人はいなかった。ただし、骨折や腰・膝痛、足の痛み、神経痛、がんなど、年齢による疾病があり、徐々に外出が困難になっていることもうかがえた。夫が疾病等のため外出が困難となっている世帯が 2 世帯あったが、それによって、妻の外出も制限がかかってきていた。

高齢になると食の問題が出てくると想定したが、現時点では、予想よりも食に関する問題は出されなかった。疾病がありつつも、まだ家事をする能力があること、対象者に女性が多く、もともとの家事能力が高いこと、団地内に大きなスーパーや小売店があつてアクセスに問題がないことなどから、今回の調査では、食についての課題がでなかったのではないだろうか。大橋ら（2017）は、店舗への距離と健康状態が関連していることを検証している 5）。

しかし、2 事例は、食事作りに時間がかかることに負担を感じていた。また、1 事例は、80 歳という高齢でありながら、毎朝、子どもための弁当作りをしており、そのことの負担感は聞かれなかったものの、子どもとの同居は「母親業」の継続を意味している場合もあることがわかる。

イベントについては、積極的な働きかけがあれば参加する人も少なくないと思われる。ただし、自分や配偶者の健康状態によっては参加を見送ることもあることから、「強い働きかけ」や会場までのアクセスの保障がないと、夫婦ともに引きこもってしまうリスクが高いことが推測される。問題は、そうした点について課題であると本人らが気づいていないということだ。調査員からは、世帯の孤立性についての不安の気づきがあったが、それに関する認識はなされていない。夫婦そろってさらなる ADL の低下などがみられるようになった場合、どのように生活していくのか、また団地全体でそうした高齢者が大多数になった場合、どう対応するかが今後の大きな課題である。

健康寿命の延伸のためには、社会との接点があること、夫婦や子どもだけではなく第三者との交流があることが必要だ。しかし、高齢であることや、心身の状態のため遠方まで出かけて行くことは困難であり、実際に徐々に行動範囲が狭まってきている事例もある。そのためにも、団地内での居場所づくりは必要であるといえる。団地を舞台にしたこうした活動は決して事例のないことではない。団地では女性たちを中心にした活動が展開されてきた経緯がある 6）。また近年では、大学との協働による居場所づくりも進められている 7）。本学も、2018 年 3 月よりライフデザイン学部生活支援学専攻では、T 団地自治会、UR と協働して住民の健康増進また交流の場としての居場所づくりを進める予定である。

3. 今後の研究における課題または問題点

研究の問題点は、調査の問題点ともいえる。すなわち、ヒアリングに抜けがある点だ。経済的要素は、対象者の実態把握の中でも重要と思われるが、調査員が学生であることもあつてそこに触れることができていない。また、調査員によって調査項目を聞いたり、聞いてなかったりするばらつきがみられ調査の質を下げている点も問題点としてあげられる。

調査の意図を理解し、調査技術を高めることで、さらに詳細な実態把握ができるようにすることが、今後の課題である。

文献

- 1) 加山弾（2011）「自治会・町内会と NPO—福祉 NPO の創出・連携の事例をもとに」『地域におけるつながり・

見守りのかたち』東洋大学福祉社会開発研究センター編集 p.112 中央法規出版

2) 山本美香 (2016) 「都市部の団地 (集合住宅) における課題と支援」『月刊 福祉』p.36-39 全国社会福祉協議会

3) NHK (2012) 「無縁社会」文春文庫

4) 斎藤雅茂、藤原佳典、小林江理香、深谷太郎、西真理子、新開省二 (2010) 「首都圏ベッドタウンにおける世帯構成別にみた孤立高齢者の発現率と特徴」『日本公衛誌』第 57 巻第 9 号 pp.785-794

5) 大橋めぐみ、高橋克也、菊島良介、山口美輪、薬師寺哲郎 (2017) 「高齢女性の食料品アクセスが食生活と健康におよぼす影響の分析—地方都市中心市街地における食品スーパー開店後の住民調査より」『フードシステム研究』第 24 巻 2 号 p.63 日本フードシステム学会

6) 松本真澄「女性高齢者の地域参加を展望する」(2016)『住宅』Vol.65 p.12~14 日本住宅協会

7) 関西大学戦略的研究基盤 団地再編叢書「団地再編専門家養成セミナー・テキスト」(団地原論シリーズ・団地再編シリーズ) Vol. 11 2015 p. 193~196 関西大学先端科学技術推進機構地域再生センター

表1 訪問調査の対象者・（訪問期間：2017年8月～12月）

[illegible]

「住環境と健康寿命の延伸」グループの研究活動

ライフイノベーション研究所長

近藤 和雄

ライフイノベーション研究所はこれまで、健康寿命の延伸をテーマに、食・運動・社会制度についての研究を推進してきたが、住居の面から健康寿命の延伸を捉える必要性を常々感じていた。例えば高齢者の入浴事故のように、ときには人命に直結するような問題もあれば、空気、採光、振動や音、階段の上り下りやドアの開閉といった居所における身体活動への負荷等、日常的かつ継続的な健康への影響という観点もあり、住環境の良し悪しが健康寿命に与える影響は少なくない。こうした考えのもと、平成 29 年度から、ライフデザイン学部の水村容子教授、柏樹良准教授の両氏に、新たに研究員として加わって頂き、「住環境と健康寿命の延伸」グループを立ち上げた。

今年度の両氏の研究は次の通りである。

水村氏は、「エイジング・イン・プレイス」の実現に向けた高齢者住宅の在り方に関する研究、と題して、高齢者の生活を広範に捉えた「エイジング・イン・プレイス」という概念を用いて住みなれた住まいでの居住継続を図る「地域包括ケア」の実現方法の検討や住宅の必要条件の明確化について研究、考察を行っている。平成 29 年度はサービス付き高齢者住宅の在宅者へのアンケート調査を行い、在宅者の共用空間の利用状況と住民活動の実態について報告している。

柏樹氏は、住環境と健康寿命ロボティックスエンバイロメントの研究、と題して、家具や日用品にセンサーを取り付け、そこから得られるデータに基づいた身体機能や認知機能の評価をするというシステムの構築に取り組んでいる。現在構築済みのシステムを更に発展させ、機械学習（ディープラーニング）機能を付したシステムの構築を射程にいれ、研究を推進している。

いずれの研究も更なる研究の推進、展開に大きく関心が寄せられるところであり、ライフイノベーション研究所の新たな研究グループの先陣を担うものとして、今後の成果に期待したい。

「住環境と健康寿命の延伸」

研究報告

「エイジング・イン・プレイス」の実現に向けた

高齢者住宅の在り方に関する研究

水村 容子（ライフデザイン学部人間環境デザイン学科）

1. 研究の背景

超高齢社会を迎えたわが国では、後期高齢期・要介護期に置いても、長年住み慣れた住宅および地域で居住継続を図る方向性が「地域包括ケア」として打ち出されている。しかしながらこの言葉は、特に在宅における介護・医療サービス供給のあり方に重点が置かれたものであり、高齢者の生活を広範に捉えた場合には「エイジング・イン・プレイス」という概念を採用する方が適切である。

本研究は、「エイジング・イン・プレイス」の構成要素をコミュニティと居住の場と捉え、実際の制度に於ける具現化の手法および住宅の必要条件の明確化を目的とするものである。

2. 調査報告および研究報告

平成 29 年度においては、まず高齢者の居住実態を把握するために、サービス付き高齢者住宅を研究対象として調査を実施した。高齢化率の上昇にもかかわらず、従来から欧米諸国として比して高齢者向きの住宅の供給量が低調である状況を鑑み、平成 23 年 6 月の「高齢者の居住の安定確保に関する法律（略称：高齢者住まい法）」の改正に伴い、制度化・供給が開始された住宅が、サービス付き高齢者住宅である。現在供給量は右肩上がりの一途を辿っており、平成 29 年 9 月末の時点で国内では約 22 万戸が供給されている。

2-1. サービス付き高齢者住宅の概要

サービス付き高齢者住宅とは、上述の通り高齢者住まい法を根拠とした 60 歳以上もしくは要介護・要支援認定を受けた者を対象とした住宅であり、具体的には以下の登録基準を満たしたものである。

① 規模・設備面の基準

- ・各専用部分の面積は原則として 25 m²であること。ただし、居間、食堂、台所等を高齢者が共同して利用するため十分な面積を有する場合は 18 m²以上。
- ・各専用部分に、台所、水洗便所、収納設備、洗面設備、浴室を備えたものであること。
- ・バリアフリー構造であること。

② サービス面の基準

- ・安否確認サービス、生活相談サービスの提供。
- ・ケアの専門家が少なくとも日中に住宅の敷地、又は隣接若しくは近接する土地に存する建物に常駐し、サービスを提供。
- ・常駐しない時間帯での緊急時対応サービスの提供

③ 契約関係

- ・書面による契約であること。
- ・専用部分が明示された契約であること。
- ・敷金、家賃、サービス費以外の金銭を受領しない契約であること。
- ・入居者の同意を得ずに専用部分の変更や契約解除を行わないこと。

- ・工事完了前に前払金を受領しないこと。
- ・家賃等の前払金を受領する場合は、一定の条件を満たした対応を講ずること。

2-2. アンケート調査の概要

大都市圏および地方圏での状況を把握・比較検討を行うため、東京都、大阪府、新潟県、岡山県を選定し、平成 29 年 4 月 1 日時点において登録されているサービス付き高齢者住宅に郵送によるアンケート調査を実施した。詳細な内容は表 1 に示した通りである。

表 1 アンケート調査の概要

調査対象	(社)高齢者住宅推進機構が管理するサービス付き高齢者向け住宅情報提供システムに平成29年4月1日時点で登録している東京都、大阪府、新潟県、岡山県に所在する1,011件の住宅の管理事業者若しくは住宅責任者		
調査方法	郵送による配布および回収		
調査期間	平成29年4月20日～5月31日		
配布状況	配布総数: 1,011件、解答数: 229件(有効解答率: 22.7%)		
解答内訳 (有効回答数 /配布数)	東京都	70/277	(25.3%)
	大阪府	102/540	(18.9%)
	新潟県	28/87	(32.2%)
	岡山県	29/107	(27.1%)
調査内容	①基本情報(運営主体、住民詳細、建物詳細など) ②住民・住戸の環境(共用空間、併設施設、看取りの状況など) ③コミュニティ活動(イベント、地域住民との交流など) ④管理問題(管理体制、家賃回収などの問題の把握)		

2-3. 調査結果

本報告では、特に健康寿命の延伸という観点から、サービス付き高齢者住宅における共用空間の利用状況と住民活動について調査結果を報告する。

まず、サービス付き高齢者住宅の建物の状況は、図 1 に示した通りである。各都府県とも、80%以上が新築住宅であり、登録基準を満たすよう建設された住宅である。用途変更されたものも多くが、高有賃や高専賃といった旧制度による高齢者宅であった。

共用空間において、特に娯楽や健康増進を目的とした専用状況を示したものが図 2 である。岡山県では、4 割を超えた住宅では、こうした共用空間を備えていたが、東京都および大阪府は 20%強、新潟県においては 10%強という状況であった。

サービス付き高齢者住宅に一般的に設置されている共用空間は食堂であるが、そこではどのような活動が展開されているか示したものが図 3 である。最も多い活動は、当初目的の通り「食事」となる。次いで「家族・来客と団らん」「談話団欒」といった他者との会話を行う場として利用されている。また、レクリエーションや趣味活動といった住民グループでのアクティビティにも利用されている。また「ひとり」での利用者も数多く見受けられた。「地域交流」や「健康増進」を目的とした利用も一定数存在している。「機能訓練」としての利用はデイサービスが併設されていない

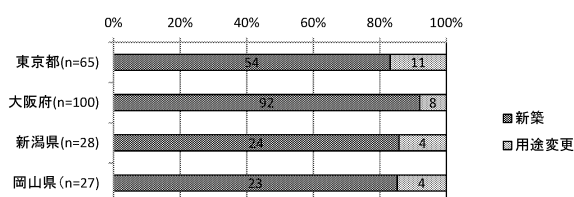


図1 サービス付き高齢者住宅の建物の状況

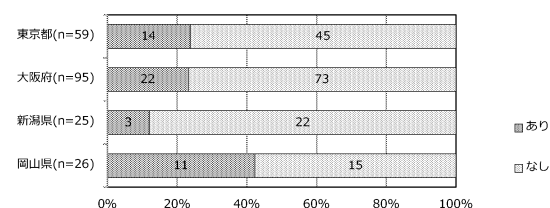


図2 娯楽・健康増進を目的とした専用室の有無

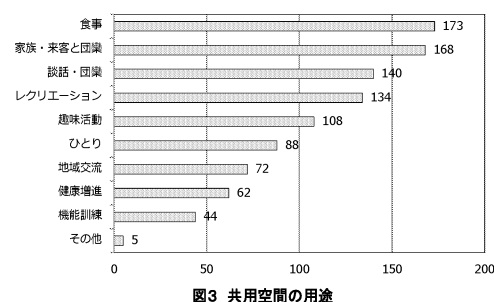


図3 共用空間の用途

かあるいはその補完としての利用が想定される。

住宅内での活動に関しては、住民主権のイベントの有無について質問した。図4に示した通り、いずれの都府県においても住民主権活動を行っている住宅は4割り未満であり、様々な活動は住宅運営者主導で展開されていることが伺える。

共用空間の利用において「地域交流」が上げられていたが、住宅内での地域住民に利用が可能なスペースの有無について質問した結果が図5である。スペースを持つ住宅はいずれの都府県においても4割強である。またどのような空間が用意されているのかについては図6に示した。最も多いのがコミュニティスペースであり、次いでホール、カフェ・レストランがあげられていた。

2・4. 考察

今回のアンケート調査の結果から以下の傾向が明らかになった。

- ① 共用空間は主として食堂として設けられており、娯楽や健康増進を目的とした空間は用意されていない。
- ② 食堂を中心とした共用空間の利用目的は主として食事および談話である。また趣味活動やレクリエーションなども行われている。
- ③ 住宅内で展開される諸活動は、住民主体のものよりも、住宅運営者側が設定したものが主流である。
- ④ 住宅内に地域に開放されたスペースを用意している住宅は4割強であり、主としてコミュニティスペースとして用意されている。

3. 今後の研究における課題または問題点

本報告には記載していないが、今回の調査から多くのサービス付き高齢者住宅において終末期対応や看取り対応が行われている、すなわちこの住宅が終の棲家として機能している状況が明らかになった。しかしながら、上述の通り、住宅内で展開されるコミュニティ活動は住民主体のものではなく、事業者側のプログラムによるものが主体である。今後、居住年数の長期化が予想され、そうした場合の住民主体の活動展開およびそれに資する共用空間の必要性を検討する必要があると考える。

文献

- 1) 都市住宅学 2016 春『特集サービス付き高齢者向け住宅の意義と課題』p.4-78, (社)都市住宅学会
- 2) 東京都、『高齢者の居住安定確保プラン』2015.3, 東京都
- 2) 東京都、『サービス付き高齢者向け住宅の供給促進』2017.4, 東京都

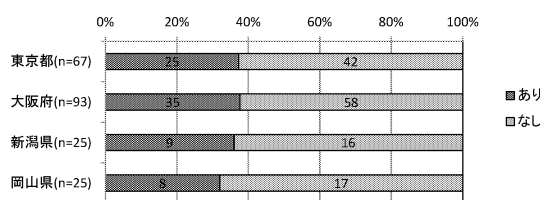


図4 住民主権イベントの有無

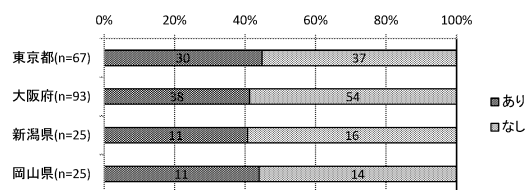


図5 地域住民に利用可能なスペースの有無

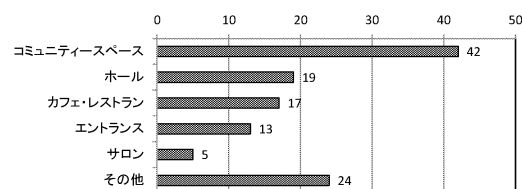


図6 地域住民に利用可能なスペース

住環境と健康寿命

ロボティックスエンバイロメントの研究

柏樹 良（ライフデザイン学部人間環境デザイン学科）

1. 研究の背景

以前から進めてきたロボティックスエンバイロメントの研究を更に進め、普段から使用している家具や日用品にセンサーを設け、日常生活における身体動作を観測する事が、身体機能や認知機能の低下の予兆を検出したり、使用者の行動目的を予測しそれに合った環境の提供に繋がり、それが健康寿命の延伸に寄与できるのではないかと仮説から、その基本的なシステムを構築しようというのが今回の研究である。

普段から使い慣れた家具や日用品の使用動作には、使用者の状況や目的によって微妙な差が生じることから、これらを検出することで使用者の状況や目的をベイジアンネットワーク（予測確率演算）によって予測し、それに見合った環境を提供するところまで、基本的なシステムの構築は達成できている。

今後はこのシステムを更に発展させ、今後発展が期待される機械学習（ディープラーニング）によって、より精密な状況把握に繋げていきたい。

2. 調査報告および研究報告

これまでは家具に埋め込んだ「静電容量センサー」「圧力センサー」「赤外線センサー」などで検出したデータを **Arduono** という小型コンピュータを介して収集、それを **Macintosh** コンピュータなどで処理していた。また、非接触センシングでは部屋の壁に設置した「**Kinect 2**」を使用し **Windows** コンピュータで処理をしていた。

しかし、「**Kinect 2**」の今後の開発が期待できなくなったことや、今後の機械学習（ディープラーニング）への展開を考えた際に、「**Arduino**」ではなく「**Raspberry pie**」へ移行すべきとの判断から、今年度は新たなシステムの構築に取り掛かっている。

現在、基本的な動作キットの作製準備に入っているが、今後の機械学習（ディープラーニング）への発展のために、この動作キットをディープラーニング用の教師データ生成のための基礎研究に使えるよう、センサーの種類や「**Raspberry pie**」への接続方法などを検討中である。

3. 今後の研究における課題または問題点

基本的な動作キットをもとに、多数の人に使ってもらいながら教師データとなる要素がどのような範囲のデータなのかを特定する必要がある。日常生活の基本的な身体動作に関して、家具や日用品の使い方からデータ化され整理された研究は例がなく、全て一からの試行錯誤が必要と思われる。

従来の人間工学的なアプローチではなく、行動学的な切り口と家具や日用品の構造との関係をセンサーのデータでモデル化し整理していきたい。

また、家具や日用品の場合、そこに埋め込むセンサーへの電源供給が大きな課題となる。これについてもバッテリーの容量、データの転送頻度、有線供給の可否などを引き続き検討する。

客員・奨励・院生研究員
研究報告

悪性胸膜中皮腫に対するトコトリエノール誘導体の有用性に関する研究

千葉大学大学院医学薬学府（先端創薬科学専攻）

佐藤 綾美（客員研究員）

1. 研究の背景

悪性胸膜中皮腫（以降、中皮腫）は、難治性の高いがんであり、近年、中皮腫による罹患・死亡者数が増加している。中皮腫は既存の抗がん剤に抵抗性を示し、診断からの平均生存期間は約 1 年半と短いのが現状である¹⁾。よって、新たな実効性のある中皮腫治療成分の開発が望まれる。

ビタミン E 同族体であるトコトリエノール (T3) は、抗がん活性を有することが報告されている。T3 は、食経験があり安全性が高いと評価され、生体内動態がある程度明らかにされている機能性成分であり、抗酸化活性が強いことで知られている。しかしながら、T3 は強い抗酸化活性に基づいた不安定性等により生体利用性が低く、生体内で抗がん活性を発揮することが難しいことが臨床応用上の問題である。一方で、T3 の抗がん活性は、抗酸化活性に依存しない可能性が考えられる²⁾。したがって、T3 の抗酸化活性をブロックして酸化還元不活性型に誘導体化することにより、生体利用性の向上とともに抗がん活性の強化が可能になると推測される。そこで、我々の研究グループは α 型の T3 を用い、水酸基部分にコハク酸をエーテル結合させることで抗酸化活性をブロックした新規 T3 コハク酸誘導体 (T3E) を合成し、これまでに培養細胞を用いた *in vitro* 評価系における T3E の抗中皮腫作用の評価及びその作用機序の解析を進めてきた³⁾。マウスを用いた *in vivo* における T3E の有用性に関する検討については、経口投与により T3E が T3 の約 2 倍の血中濃度・時間曲線下面積 (AUC) を示すことを明らかにできたが、抗腫瘍効果については検討していない。

よって本研究では、マウス中皮腫移植モデルを作製し、T3E の抗腫瘍効果を検討することにより、T3E の新規中皮腫治療成分としての有用性を明らかにすることを目的とする。

2. 調査報告および研究報告

研究方法・結果:

(1) 中皮腫同所移植モデル⁴⁾を作製するため、免疫不全 SCID マウスを用い、PBS 懸濁したヒト中皮腫細胞 MSTO-211H を麻酔下で胸腔に注入し、移植細胞数 ($\sim 1 \times 10^7$ cells/mouse) や期間の検討を行った。結果、生着は確認されず、同所移植モデルの確立には至らなかった。

(2) 中皮腫皮下移植モデル⁵⁾⁶⁾を作製するため、免疫不全 BALB/c-nu マウスを用い、PBS 懸濁した MSTO-211H またはマトリゲルと混合 (1:1) したヒト中皮腫細胞 H2052 を皮下注入し腫瘍形成能を比較した。結果、H2052 の生着及び増殖が確認された。

(3) T3E の抗腫瘍効果を評価するため、(2) で確立されたマウス中皮腫移植モデルとして、BALB/c-nu マウスを用い、マトリゲルと混合 (1:1) した H2052 を皮下注入 (5×10^6 cells/mouse) して 7 日後から、1 日おきに 10 日間 T3E (150 mg/kg) を経口投与した。コントロール及び T3E の溶媒にはビタミン E 非含有コーン油を用いた。定期的に体重及び腫瘍体積を測定し、エンドポイントでは腫瘍重量を測定した。結果、体重に影響はみられなかった一方で、T3E 投与群において腫瘍体積の減少 (図 1) 及び腫瘍重量の減少傾向がみられた。

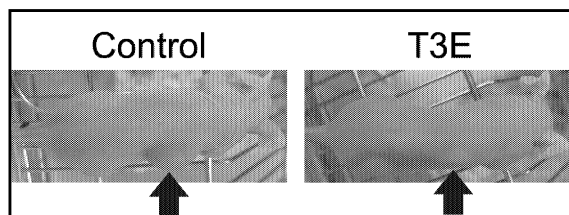


図 1. T3E の抗腫瘍効果

なお、本研究は千葉大学動物実験委員会の承認を受けている。

3. 今後の研究における課題または問題点

T3E は *in vivo* 試験においても抗腫瘍効果を示す可能性が示唆された。一方で、今回の投与条件では **T3E** による副作用はみられないことが示唆された。よって、**T3E** は新規中皮腫治療成分の一つとして期待できると考えられる。しかし、今回用いた皮下移植モデルでは、**T3E** はその高い脂溶性により皮下では効果を発揮しやすいことが考えられ⁷⁾、胸腔における中皮腫への影響と一致するとはいえない。よって、抗中皮腫作用の評価を行うためには、安定した中皮腫同所移植モデルの確立が望まれる。また、**T3E** の抗中皮腫成分としての有用性を明らかにするためには、薬物動態や安全性試験を含むさらなる検討が課題と考えられ、その上で、ドラッグデリバリーシステム等の課題を解決していくことが必要とされるだろう。

さらに、がんや他生活習慣病の予防の観点から考えた場合、それらの基盤病態に関わる免疫系や慢性炎症メディエーターに対する評価等が望まれ⁸⁾、**T3E** のような食由来の機能性成分を応用した化合物の有用性及び有効な標的因子の探索を継続して研究を進めることは、将来的な健康寿命延伸に向けた基礎的研究として意義があると考えられる。

文献

- 1) Milano MT, Zhang H, Malignant Pleural Mesothelioma: A Population-Based Study of Survival. *Journal of Thoracic Oncology*, 5: 1841-1848, 2010
- 2) Yano T, Sato A, et al., Redox-inactive analogue of tocotrienol as a potential anti-cancer agent. *Anti-Cancer Agents in Medical Chemistry*, 13(3): 496-501, 2013
- 3) Sato A, Sekine Y, et al., The evidence to date: a redox-inactive analogue of tocotrienol as a new anti-mesothelioma agent. *Journal of Rare Diseases Research and Treatment*, 2(1): 38-42, 2016
- 4) Li Q, Ogino H, et al., The therapeutic efficacy of anti-vascular endothelial growth factor antibody, bevacizumab, and pemetrexed against orthotopically implanted human pleural mesothelioma cells in severe combined immunodeficient mice. *Clinical Cancer Research*, 13(19):5918-25, 2007
- 5) Nishikawa S, Tanaka A, et al., A molecular targeting against nuclear factor- κ B, as a chemotherapeutic approach for human malignant mesothelioma. *Cancer Med.*, 3(2):416-25, 2014
- 6) Tedeschi PM, Kathari YK, et al., Leucovorin rescue allows effective high-dose pralatrexate treatment and an increase in therapeutic index in mesothelioma xenografts. *Cancer Chemother Pharmacol.*, 74(5):1029-32, 2014
- 7) Uchida T, Abe C, et al., Tissue distribution of α - and γ -tocotrienol and γ -tocopherol in rats and interference with their accumulation by α -tocopherol. *Lipids*, 47(2):129-39, 2012
- 8) Mantovani A, Allavena P, et al., Cancer-related inflammation. *Nature*. 454(7203):436-44, 2008

関節リウマチ新規治療ターゲットとしての

Layilin の関節炎への病態関与の解明

土屋 貴大 (ライフイノベーション研究所)

1. 研究の背景

関節リウマチ (RA) は自己の免疫が主に手足の関節を侵し、これにより関節痛、関節の変形が生じる膠原病の 1 つで、炎症性自己免疫疾患である。RA が進行すると、骨や軟骨が破壊されて関節が動かせなくなり、日常生活が大きく制限され、生活の質 (QOL) が低下する。近年では腫瘍壊死因子 (TNF- α) やインターロイキン-6 (IL-6) などの炎症性サイトカインを制御する生物学的製剤の有効性が実証されてきているものの、劇的な効果が見られる患者群がいる一方で無効例も存在しており、病因については未だに不明な点が多い。RA の発症機序の解明は、関節リウマチの予防、診断、より良い治療法の確立に重要であり、健康寿命の延命に大きく貢献すると期待されている。

多関節破壊をもたらす RA の病態の 2 大特徴として、炎症と滑膜表層細胞の増殖がある。前者については炎症性サイトカイン (特に TNF- α) が主導していると考えられている。一方、後者に関しては、健常では単層の滑膜表層細胞が RA ではあたかも腫瘍のように増殖し、一部は細胞塊 (パンヌス) を形成し骨に浸潤していくことが知られている。過去の研究により、RA における滑膜表層細胞の異常増殖と浸潤能は、滑膜表層細胞が上皮間葉移行 (EMT) 様変化 (上皮細胞が細胞極性を失うなど間葉系細胞様に変化する現象) を起こすことにより獲得されるという経路が考えられているが、詳細は不明であった。

EMT は実験的には TNF- α などの炎症性サイトカインによって誘導される。当研究室では、腎臓がん細胞を使った研究で、TNF- α によってライリン (Layilin) というタンパク質の発現が増加し、かつ EMT 様形態変化や EMT マーカーの変化を引き起こすことを見出した¹⁾。そしてさらに重要なことには、TNF- α 誘導性 EMT がライリンのノックダウンにより起こらなくなることを明らかにした²⁾。すなわち TNF- α 誘導性 EMT にライリンが必須であることが示された。さらに、ライリンのノックダウンにより、様々な EMT 関連タンパク質の発現変化が引き起こされることも明らかになった²⁾。これらの結果から、関節リウマチにおける高 TNF- α 状態がライリンを介して、本来単層の滑膜表層細胞に EMT 様変化を起こし、これらが増殖能・浸潤能を獲得することによってパンヌス形成へと進む、という経路が示唆された。

一方で、これまでライリンについて報告する論文数は少なく [2018 年 1 月 24 日現在で 17 報 (このうち 3 報は当研究室によるものである)]、その本来機能は明らかになっていない。ライリンは構造的には細胞外ドメインとされる N 末端に C 型レクチン様モチーフを持つ膜貫通型タンパク質で、ヒアルロン酸の受容体とされている³⁾。また、タリン等の細胞骨格関連タンパク質と結合し⁴⁾、細胞接着や癌細胞の浸潤・転移に関与することが報告されている⁵⁾。最近ではライリンが、がん組織における T 細胞疲弊に関与することが報告された⁶⁾。これらの報告から、ライリンが多様な機能を持ち病態に関わっていると考えられるが、その分子機序は不明である。また、ライリンの生理的機能も分かっていない。さらに、ライリンはヒアルロン酸受容体であるとされているものの、ライリンの細胞における局在を視覚的に示した報告はない。これらを踏まえ、本研究では、①細胞にお

けるライリンの局在を調べる、②ライリンと相互作用するタンパク質を網羅的に解析する、という2つの実験を行った。①の実験では、ヒアルロン酸受容体とされるライリンの細胞における局在を調べた。また②の実験では、ライリンと相互作用するタンパク質を網羅的に検出同定し、それらの分子的関連からライリンの機能の追求を目指した。これらの研究で得られる結果から、関節リウマチを含む様々な病態へのライリンの関わりを今後調べるうえでの足がかりを得たい。

2. 調査報告および研究報告

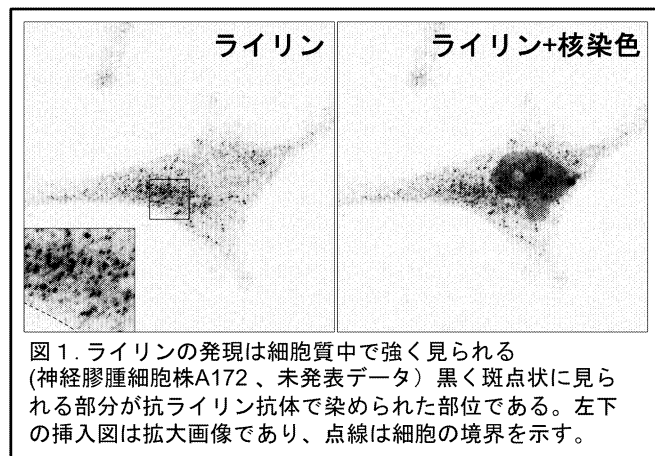
①細胞におけるライリンの局在を調べる

【方法】神経膠腫細胞株 A172 や T98G、尿細管上皮細胞株 KMRC-1、ヒト子宮頸がん由来細胞株 HeLa、ヒト胎児由来腎臓上皮細胞 293T を培地中に懸濁し、37°C、5%CO₂ 条件下で培養した。培養開始 24 時間後、培地をチャコール処理した培地に交換し、さらに 24 時間後に TNF- α または TGF- β を培地中に終濃度 10ng/mL になるように加えた。さらに 24 時間培養した後、4%PFA/4%スクロースで固定を行った。固定した細胞は抗-ライリン抗体による免疫染色を施し、共焦点レーザー顕微鏡にて撮影を行った。

さらに詳しくライリンの局在を調べるために、ライリンの細胞外ドメインを認識する抗体と、細胞内ドメインを認識する抗体の両方を用いた二重免疫染色を行った。A172 細胞、および T98G 細胞を用い、培養 48 時間後に細胞を固定した。その後、上述した 2 種の抗ライリン抗体を用いた免疫染色を行い、共焦点レーザー顕微鏡による細胞の撮影を行った。

次に、ライリンの持つ膜貫通領域が機能しているのか（膜貫通領域としての機能を持ち、それが細胞内の局在に影響しているのか）を明らかにするために、全長ライリン-3XFLAG および、ライリンの細胞内領域のみ（ライリン 258-382）を発現するライリン 258-382-3XFLAG プラスミドベクターの構築を行った。全長ライリンおよびライリン 258-382 のインサートは A127 細胞由来トータル RNA の逆転写により得た cDNA を鋳型とした PCR により作製した。これらのインサートは p3XFLAG-CMV-14 (Sigma) のマルチクローニングサイトに挿入した。作製した全長ライリン-3XFLAG およびライリン 258-382-3XFLAG プラスミドベクターは、293T 細胞にトランスフェクションし、24 時間後にタンパク質サンプルを回収した。タンパク質サンプルはその後、ウエスタンブロッティングに用い、トランスフェクションしたベクターの発現の確認を行った。また 293T 細胞へのトランスフェクション後 24 時間後に細胞固定を行い、免疫染色でそれらの発現および細胞内の局在解析を行った（現在解析中）。

【結果】ライリンの発現を観察した結果、ライリンは細胞膜上よりも、むしろ細胞質中に多く局在することが明らかになった（図1）。また、細胞質中の核の周辺にライリンが集積している像が多く観察された（特に T98G 細胞株）。一方で TNF- α や TGF- β などの炎症性サイトカインによるライリンの局在への影響は観察されなかった。ライリンの細胞外ドメインおよび細胞内ドメインを認識する抗体の両方を用いた二重免疫染色の結果、それらのシグナルほとんどは細胞質中

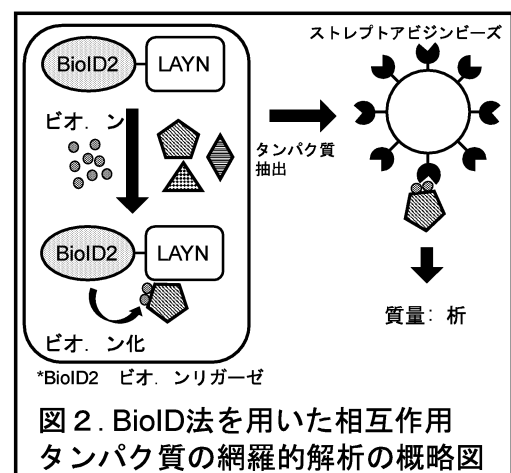


に見られ、また共局在していることが明らかになった。これらの結果から、ヒアルロン酸受容体とされていたライリンが、少なくとも通常の培養条件下においては細胞膜上よりもむしろ細胞質中に局在しており、かつそれらのほとんどは切断を受けずに存在することが、様々な細胞株で示された。これらのことから、ライリンのヒアルロン酸受容体として以外の、細胞質中における役割が示唆された。さらに、ライリンの持つ膜貫通領域が機能しているのか、といった疑問が新たに生まれた。この疑問を解決するために、ライリンの細胞内ドメインのみ（ライリン²⁵⁸⁻³⁸²）の発現ベクターと全長ライリン発現ベクターの構築を行った。すでにベクターの構築とウエスタンブロットによる発現の確認、シーケンス等を完了した。現在 293T 細胞にこれらのベクターを強制発現させ、全長ライリン-3XFLAG およびライリン²⁵⁸⁻³⁸²-3XFLAG の局在を調べ、両者を比較する実験を行っている。

②ライリンと相互作用するタンパク質を網羅的に解析する

本研究では、ライリンと相互作用するタンパク質の網羅的解析に BioID 法という新しい技術（図2）を用いる。この技術ではライリンと相互作用するタンパク質を、BioID2（近年改良されたビオチンリガーゼ）によりビオチン標識し、標識されたタンパク質を質量分析で同定する。ごく短時間の一時的な結合でも捉えることができ、従来の免疫沈降を大きく超える感度を持つ。

本年度は BioID 法を実施するためのベクターの構築を行った。本研究ではライリンと細胞質中で相互作用するタンパク質を網羅的にスクリーニングすることを目的とし、ライリンの細胞内ドメイン（ライリン²⁵⁸⁻³⁸²）を発現する BioID 専用ベクター（Myc-BioID2-ライリン²⁵⁸⁻³⁸²）の構築を行った。ライリン²⁵⁸⁻³⁸² のインサートは A127 細胞由来のトータル RNA の逆転写により得た cDNA を鋳型とした PCR により作製した。これらのインサートは Myc-BioID2-MCS (Addgene) のマルチクローニングサイトに挿入した。このベクターの作製はすでに完了し、現在ウエスタンブロットによる発現確認を行っている段階である。



3. 今後の研究における課題または問題点

今回の研究により、これまでヒアルロン酸受容体とされていたライリンが、細胞膜上よりもむしろ細胞質中に多く局在することが初めて明らかになり、ライリンの細胞質中における機能が示唆された。一方、肝細胞がん組織由来 T 細胞のシングルセルシーケンスの結果を報告した最近論文では、ライリンの細胞膜上での発現が、細胞障害性 T 細胞と比較して疲弊した T 細胞において顕著に増加していることが示されており 6)、何らかの刺激や細胞の状況に応じてライリンが細胞膜上に移動するという可能性もある。これに関しては今後の研究で明らかにしていきたい。

ライリンと相互作用するタンパク質の網羅的解析については、現在ベクターの構築を進めており、Myc-BioID2-ライリン²⁵⁸⁻³⁸²の構築が完了した（現在ウエスタンブロットによる発現確認中）。今後この Myc-BioID2-ライリン²⁵⁸⁻³⁸²ベクターから BioID2-ライリン²⁵⁸⁻³⁸²の部分のみを PCR により増幅し、pTRE3G ベクター（Tet-ON システム専用のプラスミドベクター）に挿入して pTRE3G-BioID2-ライリン²⁵⁸⁻³⁸²ベクターを構築する。このベクターは次に、Tet-ON システム用の細胞株（HEK293T Tet-ON-3G Cell Line）にトランスフェクションで導入し、安定導入株を作製する。pTRE3G-BioID2-ライリン²⁵⁸⁻³⁸²安定導入株の作製が完了次第、この細胞を培養する培地中にドキシサイクリンとビオチンを添加し、BioID2-ライリン²⁵⁸⁻³⁸²発現誘導および、ビオチンによるライリン⁵⁸⁻³⁸²と相互作用するタンパク質の標識を行う。標識されたタンパク質はストレプトアビジンビーズによる回収ののち、質量分析で網羅的に解析・同定したい。

文献

- 1) Adachi T, Arito M, Suematsu N, Kamijo-Ikemori A, Omoteyama K, Sato T, Kurokawa MS, Okamoto K, Kimura K, Shibagaki Y, Kato T. Roles of layilin in TNF- α -induced epithelial-mesenchymal transformation of renal tubular epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2015 Nov 6;467(1):63-9. doi: 10.1016/j.bbrc.2015.09.121.
- 2) Shimazaki et al., *Integrative Molecular Medicine*, In press.
- 3) Bono P, Rubin K, Higgins JM, Hynes RO. Layilin, a novel integral membrane protein, is a hyaluronan receptor. *Mol Biol Cell.* 2001 Apr;12(4):891-900.
- 4) Borowsky ML, Hynes RO. Layilin, a novel talin-binding transmembrane protein homologous with C-type lectins, is localized in membrane ruffles. *J Cell Biol.* 1998 Oct 19;143(2):429-42.
- 5) Zhuo W, Wang Y, Chen Z. [Inhibitory effects of shRNA targeting layilin on adhesion and invasion behavior of human lung adenocarcinoma A549 cells induced by hyaluronan in vitro]. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi.* 2006 Jun 20;9(3):236-40.
- 6) Zheng C, Zheng L, Yoo JK, Guo H, Zhang Y, Guo X, Kang B, Hu R, Huang JY, Zhang Q, Liu Z, Dong M, Hu X, Ouyang W, Peng J, Zhang Z. Landscape of Infiltrating T Cells in Liver Cancer Revealed by Single-Cell Sequencing. *Cell.* 2017 Jun 15;169(7):1342-1356.e16. doi: 10.1016/j.cell.2017.05.035.

不動化モデルラットの大腿骨骨構造に種々の

電気刺激が及ぼす影響の比較

ライフイノベーション研究所 院生研究員

中井 真悟

1. 研究の背景

加齢や長期臥床などの不活動状態に伴う骨強度の低下は、比較的軽度な外力に対して易骨折性を示す¹⁾。このことは、骨形成量の低下と骨吸収量の増加によって骨量の低下が起こるためであるが、加重低減による骨量減少後に鍼通電刺激を行うことにより、骨強度の回復が促進されることが示されている²⁾。

それに対して、筆者ら³⁾は Lam&Qin⁴⁾の報告とは異なり、後肢不動中に鍼通電刺激を施し、大腿骨での骨吸収が抑制されることをすでに認めている。生体への通電刺激の方法には表面電極を用いることが一般的であるが、骨への影響については比較、検討されていない。本研究では鍼または経皮による通電刺激の方法上の差異に着目し、不動期間と同時に通電刺激を行うことによって、それらが皮質骨に与える影響について検討することを目的とした。また、非通電型の置鍼の影響についても比較、検討を行った。

2. 研究報告

2-1. 材料および方法

7 週齢のウィスター系雄性ラット 45 匹を用い、無作為に不動群(IM)、不動・置鍼群(IMA)、不動・経皮通電刺激群(IMTE)、不動・鍼通電刺激群(IMEA)および対照群(CO)の 5 群に分けた。IM は後肢不動化を図り、IMA は不動中にステンレス鍼を刺入し、また、IMTE は不動と同時に経皮的通電を行った。さらに、IMEA は不動中に刺入した鍼に電気を流し、CO はケージ内にて正常飼育した。

ジャケット型不動装置を用い、股関節および膝関節を伸展位で固定し、股関節の内転および外転を制限した(図 1-A)。IMA および IMEA の刺鍼部位は大腿前面の中央および遠位部をポピドンヨードにて消毒した後に、通法⁵⁾に従って骨膜まで鍼を刺入した。IMTE は同部位の皮膚表面に電極を添付した(図 1-B)。連続的交流電は 250 μ sec、50Hz、0.24mA(500 Ω 負荷時)の条件で、鍼または経皮通電を 10 分/日、毎日行った。実験期間終了後、各群から大腿骨を摘出して、左脚の骨幹中央部を用いて組織学的および形態計測学的に観察、計測した。また、右脚の同部位を骨強度試験にて計測した。

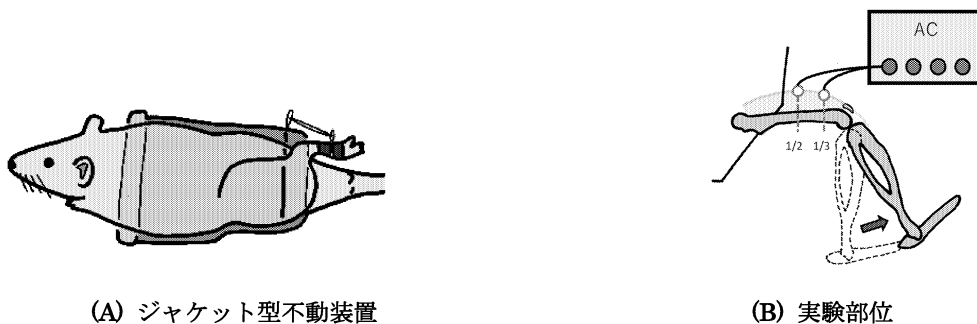


図 1. 実験条件

形態計測や強度試験によって得られたデータは平均値と標準偏差を求めた後、SPSS ソフト(IBM 社)を用いて各パラメータの一元配置分散分析を行い、有意差が認められた場合は Turkey-HSD 法によって各群間での多重比較を行った。

2-2. 結果および考察

本研究ではラット後肢を2週間不動状態に置き、大腿前面における置鍼や通電刺激を施した群を設けた。不動化の影響は前内側部より後外側部に骨吸収の影響が強く現れ、骨髓腔が形成されていた(図2)。第三転子に相当するこの部位は、通常発育によって増大が図られるが、IM では骨内膜面側に大きな骨髓腔が存在しており、他の群に比べて皮質骨が最も薄かったことから、IM では骨膜面側での骨形成が抑制されると同時に骨内膜面側での吸収が著しく促進されたと考えられる。置鍼または通電刺激された群においても、骨内膜面側に大きな骨髓腔が出現していることから、不動化に伴う骨内膜面側からの吸収は抑制されていなかった。

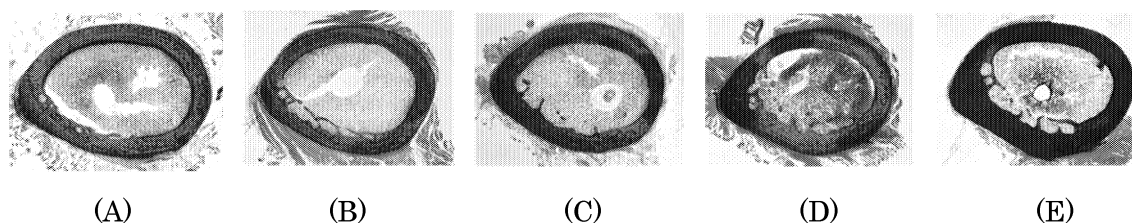


図2.大腿骨骨幹部横断面の弱拡大像

(A)CO, (B)IM, (C)IMA, (D)IMTE, (E)IMEA

また、皮質骨の厚さはIMに比べて処置群はいずれも厚かったが、その中でもIMAが最も薄く、IMEAが最も厚さが維持されていた(図3)。以上のことから、不動化に伴うこの部位の骨膜側の骨形成の抑制は、その皮質骨の厚さが示すようにIMAよりIMTE、そしてさらにIMEAという順で、大きな効果をもたらされていたことが理解された(図3)。

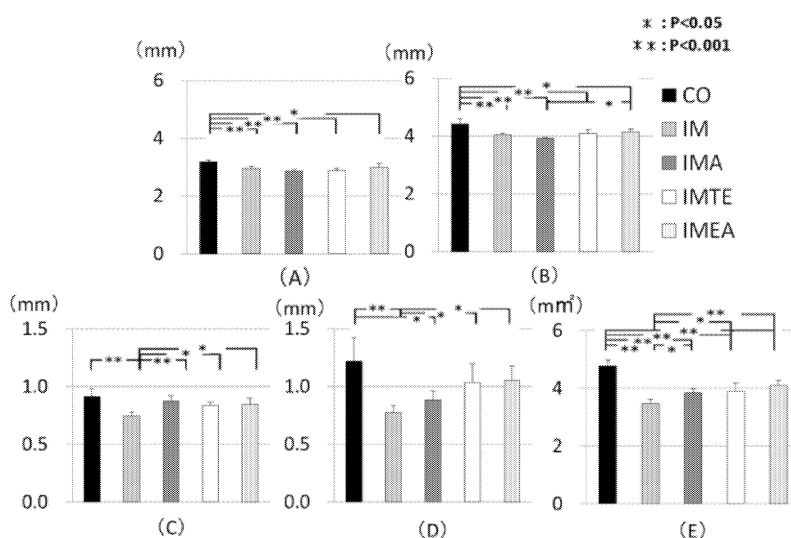


図3. 骨形態計測パラメータ

(A) 前後径, (B) 内外径, (C) 前後厚, (D) 内外厚, (E) 横断面積.

著者ら³⁾は、これまでにラット大腿骨骨幹中央および遠位部の構造に関する発育変化について検討しており、本研究で用いたラットと同週齢のものでは、骨幹中央部の中でも前内側部に層板構造が形成されているが、後外側には層板構造を形成しない骨が厚く形成されることを認めた。層板構造の有無と、基質線維の密度および配列状態から骨の形成速度や組織の分化度について検討した報告⁶⁾では、典型的な層板構造が形成される骨は分化度が高く、形成にも長い時間を要すると述べられている。この報告にラット大腿骨の前内側部と後外側部の構造上の違いを当てはめて考えると、前者の骨は緩やかに形成される分化度の高い骨であり、後者は比較的短時間のうちに形成される骨である。皮質骨内に層板構造が占める割合は、CO と IMEA でほぼ同値であり、皮質骨の厚さ、成熟度ともに CO と IMEA は類似していた(図4)。

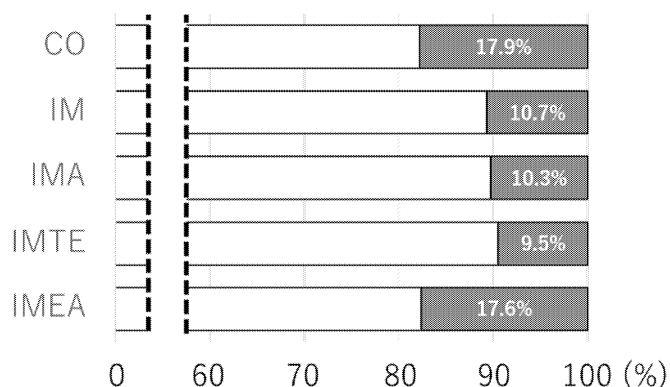


図4.皮質骨に層板構造が占める割合の比較

類骨は石灰化によって骨基質となると、骨細胞の細胞体および突起は、それぞれ骨小腔、骨細管とよばれる骨基質で囲まれるようになる。埋入された骨細胞は成熟の度合いによって形態や細胞内小器官の量などの差異が生じ、骨形成能は休止すると考えられている⁷⁾。不動化による皮質骨の厚さの変化が少なかった大腿前面の骨小腔の大きさを群間で比較すると、IM、IMA および IMTE では CO より有意に大きい値を示したが、IMEA と CO との間には有意な差を示さなかった(図5)。

骨粗鬆症では骨小腔や骨細管壁から無機質が溶け出すことによって、その壁が開大することが知られているが、これを骨細胞性骨溶解と呼ぶ^{8,9)}。本研究の骨小腔や骨細管の開大はそれと同様な状態にあることを意味し、このことから不動化によって骨溶解が進められるが、IMTE および IMEA では、それが抑制されていたと考えられる。

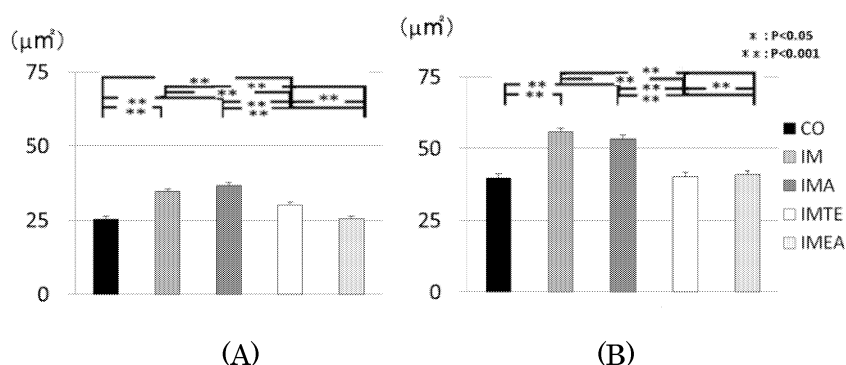


図5.骨小腔の大きさ

(A)平均値 (B)最大値

一方、IMEA の **Strength** は CO と IM の中間値であった。この結果は、硬さとしなやかさの積である **Strength** に、層板構造の占める割合や、骨小腔の大きさが関わることが推測される。

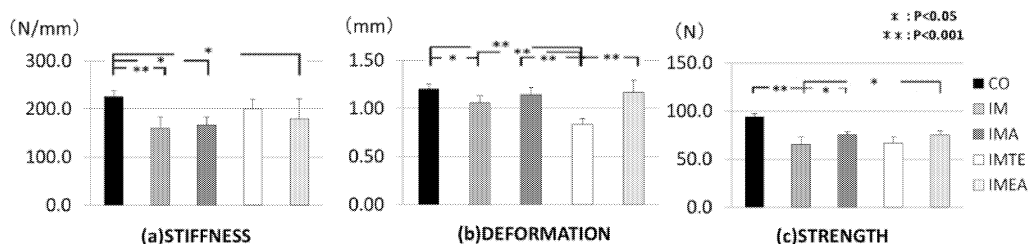


図 6.骨強度試験パラメータの比較

2-3. 結論

骨膜への鍼および経皮的な電気刺激は、不動化によって引き起こされる骨量減少を抑制する効果があることが理解された。

3. 今後の研究における課題

本報告は、骨形成促進および吸収抑制がどのような代謝系のもとで行われているかについては検討するに至っていない。今後は代謝系のサイトカインを免疫染色によって特定し、その機序について検討していく。現在、一連の実験結果を社会に還元するため、医療機器メーカーとの共同研究を計画している。このことは高齢化社会における骨の健康増進に大きく寄与するものと考えられる。

参考文献

- 1) Saito M. : High bone density is not necessary tough bone. Oral Therapeutics and Pharmacology 32 : 109–121, 2013.
- 2) Wei fan., et al. : Structural and celluler difference between metaphyseal and diaphyseal periosteum in different aged rats. Bone 42 : 81–89, 2008.
- 3) Nakai S., et al. : Study on site differences in structures of femoral bone matrix and periosteum in rats. Bulletin of the Graduate School, Toyo University 51 : 203–217, 2014.
- 4) Hoyan Lam. and Xian Qin. : The Effects of Frequency-Dependent Dynamic Muscle Stimulation on Inhibition of Trabecular Bone Loss in a Disuse Model. Bone 43 : 1093–1100, 2008.
- 5) Nakai S., et al. : Effects of Electrical Acupuncture Stimulations on Bone Volume of Rat's Femur Under Different Unloading Conditions. Bulletin of the Graduate School, Toyo University 53 : 213–230, 2016.
- 6) Ohsako M. : Histological Studies on Growth and Function of Condylar Process in Rat Mandible. The Journal of The Ochanomizu Medico-dental Society 60 : 47–96,1995.
- 7) Oguti K. and Egawa K. : Changes in Three Dimensional Ultrastructure of Surface Matrix of the Cortical Bone Associated with Aging. The journal of Showa University Dental Society 8 : 457–465, 1988.
- 8) Kitamura S. : Three Dimensional Ultrastructures of the Osteocytes and the Walls of Osteocyte Lacunae in Immature Bone. The journal of Showa University Dental Society 7 : 87–103, 1987.
- 9) Yamashita Y., et al. : Aging of Surface Matrix of the Mature Bone by High Resolution Scanning Electron Microscope. The journal of Showa University Dental Society 8 : 146–151, 1988.

平成 30 年 3 月発行

編集・発行

東洋大学ライフイノベーション研究所

〒374-0193 群馬県邑楽郡板倉町泉野 1-1-1

TEL : 0276-82-9105

FAX : 0276-82-9801

URL : <http://www.toyo.ac.jp/site/lii/>