

把握し、調整することが可能となった。

以上により、各リーダーの強力なリーダーシップの基、コア研究室を中心として、県内の産学官が有する研究開発ポテンシャルを有機的に連結させ、共同研究を効果的に推進することができた。

2) 全体的な進捗状況

サブテーマ1 ウイルス発がんの機序解明と予防・治療法の創出

■小テーマ1-1

ウイルス肝炎からの肝発がん機構・進展因子の解明とその予防・治療法の開発

ウイルス肝炎からの肝発がん機構・病態進展因子の解明とその予防・治療法の開発を目指して、病態進展マーカーを同定や肝疾患に対する新規生理活性物質の探索を行い、予防・治療法の開発において基盤となる知見を得ることを目的としている。また、ドラッグデリバリーシステム（DDS）の確立を目指し、膜乳化技術に基づくエマルジョン・キャリアを開発した。

コホートサンプルを活用することにより、肝疾患進展に関わる宿主因子として、HCV 自然排除や肝障害と関連する HLA 型や SNP を発見することができた。また、HCV 感染者における肝がんの発生率は ALT 値と強く関連し、ALT 値は血清フェリチンやチオレドキシシンと関連することを明らかにするなど、肝がん発症に関連する様々な因子を解明するに至った。

予防・治療の観点からは、早期診断が重要である。この観点から診断法の開発を行った結果、HCV 肝疾患患者血清のプロテオーム解析から、感度・特異度が 80%以上の肝がん診断法を確立した。さらに、この診断法によれば、発がん 1 年前に 90%の確率で肝がんを予測できた。

NAFLD や NASH の診断マーカーとしてキニノーゲン、MnSOD を同定した。これまでは、肝炎診断には肝生検が必要であり、リスクを伴ったが、このマーカーが実用化されれば、簡易診断が可能となり、市場ニーズは非常に高い。本診断薬については、製薬メーカーとの共同研究が推進されている。

DDS エマルジョン開発においては、滴径を 50~500nm でコントロールし、in vivo で血中滞留性に優れ、肝臓への特異的送達が可能であるエマルジョンの作成に成功した。ラットへの静脈投与試験を行った結果、血中濃度および臓器分布に良好な結果を得、DDS 開発のための基盤技術の確立に至った。

そのほか、肝疾患の進展を抑制する遺伝子オステオアクチビンの発見・作用機構解析やインターフェロン・リバビリン併用療法の著効群・無効群を判別できるマーカーの発見・臨床評価など、ウイルス肝炎からの肝がんに至る発症機構・病態進展因子の解明およびその予防・治療法について、一連の技術開発が成しえたと考える。

■小テーマ1-2

ATL 発症機構の解明と発症前診断及び予防・治療法の開発

ATL は、難治性の白血病であることから、予防・治療の観点から発症危険度予知や発症早期診断が重要である。コホート研究を活用することにより、ウイルスキャリアが ATL 発症に至る因子を解明するとともに、網羅的な遺伝子蛋白質発現解析により発症機構を解明することを目指した。さらに、ATL 発症危険因子群を活用した診断法、発症因子を標的とした治療法を開発により、ATL に対する新たな予防・診断・治療法の提案することを目的とする。

約2,000名のコホート参加者情報について、コ

ンピュータ上のデータベース、家系図解析法を作成できた。これを基盤として、研究を推進することができた。

発症リスク因子の解明については、上記データベースや網羅的な解析の結果から、HTLV-1 感染背景因子、ウイルス因子、腫瘍因子、免疫学的因子に文献的に報告されている因子を加味したスコアリングシステムのプロトタイプの作成に至った。特に、感染細胞数や母児感染が重要な因子であることがわかり、これらについては、簡易測定系の開発を進めているところである。

ATL 特異的マーカーの同定においては、ゲノム異常解析、プロテオーム解析、トランスクリプトーム解析などにより、それぞれマーカーの同定に至った。

DNA マイクロアレイによりバイオマーカー候補 4 件、プロテインチップ解析により新規マーカー候補 4 件を同定した。

ゲノム異常解析については、異常集中領域 3 カ所を特定し、それぞれの箇所異常発現している遺伝子 (TCF8、GeneX、BCL11B) を同定した。

これらについては、フェーズⅡにおいて、臨床応用を目指した研究開発を加速した。ATL 関連遺伝子 TSLC1 については、ケイジーエス社との共同研究により、簡易検出キットの開発を行った。これについては、発症前診断の可能性も含めて今後も研究を継続することとしている。

TCF8、GeneX などについても、ATL 発症との関連性を検証した結果、ATL 治療効果に関する成果も見出している。これについても、企業との共同研究が進んでいる。

以上により、発症リスク診断、発症前診断ともに、非常に高度な研究成果が創出されたと考える。実用化へ向けても企業との研究が加速しており、今後も期待できる。

■小テーマ 1-3

ウイルス発がん予防のための高機能性食品の探索及び有用性の解明

283 品種、約 2000 部位におよぶ宮崎県産農作物サンプルライブラリーについて、ウイルス発がん予防に貢献すると考えられる様々な生理機能を評価することにより、高機能性農作物をスクリーニングすることができた。これらについて、モデル動物を用いた有効性確認試験や有効成分の同定および作用機序の解明を行う。動物試験により有効性が確認された場合は、臨床的検討を行い、科学的エビデンスに裏付けされた機能性食品開発を目指す。

本テーマにおいては、特に、ブルーベリー葉について、抗酸化活性、発がん抑制効果、血圧上昇抑制効果、脂肪肝抑制効果などについて、非常に高い機能を有することが明らかとなり、集中的に研究開発を進めた。HCV レプリコンアッセイを用いた評価により、抗 HCV 活性を見出し、その活性成分としてプロアントシアニジン (PAC) を同定したことは、本事業の代表的な成果の 1 つと言える。活性成分が同定されたことにより、体内動態解析や作用メカニズム解析なども加速して行い、PAC の標的分子候補として複数のマーカーを選抜している。また、ブルーベリー葉のヒトによる有効性を検証するために臨床試験の準備を進めており、健常人を対象としたヒト安全性試験・過剰摂取試験において安全性が確認されたことから、21 年には、C 型肝炎患者を対象とした有効性試験を実施することとなっている。

その他、HGF 産生誘導活性を有する農作物として、赤ピーマン、冬虫夏草およびニガウリ胎座を見出し、動物による有効性確認を行うなど、一連の研究開発により、食品による肝がん予防の可能性について、多くの研究成果が蓄積された。

また、ATL 予防食品については、ATL 細胞株を用いた、がん細胞増殖抑制活性の評価により、ブルーベリー葉、ニガウリ種子、5 種のハーブ類、大豆イソフラボンを ATL 予防に貢献する可能性のある高機能性農作物としてスクリーニングすることができた。

ハーブのうち、ローズマリーについては、カルノソールを活性成分として同定し、アポトーシス誘導効果があることを見出した。

ニガウリ種子については、momordin-I が細胞増殖抑制活性に寄与していることが示唆された。

また、高度免疫不全マウス（NOG マウス）を用いた HTLV-1 キャリアモデルマウスや ATL モデルマウスの作出に成功した。

ATL モデルマウスを用いて、大豆イソフラボンであるゲニステインの効果を検証したところ、ATL 細胞に対して抗腫瘍効果を有することを明らかにした。

ブルーベリー葉を HTLV-1 キャリアモデルマウスに摂食させたところ、プロウイルスコピー数が減少する傾向があり、ATL 予防効果が示唆された。今後、効果の検証を行った上で、ヒト臨床試験を実施する方針である。

サブテーマ 2 食の機能性活用のための基盤技術開発

■小テーマ 2-1

ハイスループット食品機能性評価法の開発

従来、食品が持つ生理機能の評価するためには、評価したい生理機能項目ごとに特定の評価系を用いて測定する必要があり、時間やコストがかかった。

本事業により開発するハイスループット機能性評価法は、食品がヒト細胞のタンパク質・遺伝子発現に与える影響を解析することで、食品

が持つ様々な生理機能を網羅的かつ迅速に評価可能なシステムである。全く新たな技術の開発であるが、5 ヶ年間の事業期間において、実用化を目指した研究開発を行った。

システム構築に必要なバイオマーカー14種を決定し、作成した抗体や市販抗体を組み合わせることにより、バイオマーカーを検出する ELISA を構築した。これを用い、食品成分、薬剤について、マーカー発現データを収集し、データベース化した。

一方、マーカーデータに対応した、食品成分、薬剤について生理機能10種類（がん細胞増殖抑制活性、抗ウイルス活性、抗酸化ストレス活性、抗炎症活性、血管新生抑制活性（2種類）、がん転移抑制活性、NK活性、IFN産生促進活性、HCVプロテアーゼ阻害活性）のデータを収集し、データベース化した。

上記のマーカー発現データおよび生理機能データの2つのデータセットを Neural network により関係性を見出し、ハイスループット食品機能性評価法を構築した。

農産品抽出物を用いて、評価システムによる推定値と実測値とを比較することにより検証したところ、高い確率で推定可能であることを検証できた。

さらに、本システムで検出したバイオマーカー発現量と生理機能値を検証した結果、これまでに見出されていなかった生理機能とバイオマーカーの関連性を示唆した。

本事業において、全く新たな生理機能評価システムを開発することができた。特許取得にも至っており、実用化へ向けた弾みがついている。汎用性を高めるために、抗体アレイによる検出形の構築を進めている。また、本事業で確立した技術を基盤として、がん予防効果のみならず、生活習慣病予防効果を評価できるシステムへと発展させることとしている。

■小テーマ2-2

高機能性発現のための育種・栽培技術・加工技術の開発

高い機能性が確認されているモデル作物（キンカン、ダイズ、ブルーベリー果実）を材料として、高い機能性を発現するための栽培法確立、新品種の育成を目的とした。

フェーズⅡ以降は、特に優れた生理機能を保持する農作物資源として選抜したブルーベリー葉について、集中して研究開発を行った。

また、食品の各種加工工程が生理活性機能に及ぼす影響を明らかにするとともに、サブテーマ1との連携により、ウイルス発がんを抑制する高機能性食品を開発することを目的としている。

栽培環境ストレスについては、土壌水分、光（日射量、紫外線放射量）及び低夜温等栽培条件の検討を行った結果、栽培条件によって最大2.9倍に高まることを見いだした。特に、日射量やUV量が、ブルーベリーや大豆の高機能性発現に寄与することが確認された。ただし、収量なども加味すると、新品種作出と比較して、ストレス付加による生理機能向上では大きな効果を得ることができないとの判断に至った。

新品種育種については、キンカンについて、倍数性周縁キメラ育種法を開発し、果皮が厚くサイズが大きい品種の開発に成功した。また、ニガウリでは白色果系統が高いことを明らかにし、品種登録を行った。

ブルーベリー葉については、本県などの暖地に適するラビットアイ系が、抗酸化活性、HCV産生抑制活性、がん細胞増殖抑制活性のいずれも高いことを明らかにした。ブルーベリーの「葉」を目的とした栽培法として、密植栽培技術を確立した。また、収穫用機械についても基本技術の確立に至った。さらに、マイクロプロパゲーション法の確立により、高機能性

品種の迅速な増殖が可能となった。ブルーベリー葉について、特に生理機能の高い品種として「ラビットアイ」を選抜した。活性成分としては、プロアントシアニジンと同定した。この成分を指標とし、さらに生理機能の高い系統を選抜し、品種登録を行った。

ブルーベリー葉の実用化については、県内を中心として、勉強会を開催することで、栽培希望者を募り、栽培普及を進めている。新規農作物の普及には、非常に時間がかかると言われているが、5年間の本事業の成果を事業期間中に実用化へと導くことができたのは、関係者の努力の賜物と言える。

また、ブルーベリー葉を素材とした高機能性飲料の開発については、実用化段階に入った。

そのほか、ブルーベリー葉と同様に抗HCV活性を見出したサトイモ皮については、食品素材としての活用を目指して、基礎データが集積された。

甘藷乳酸発酵食品については、がん細胞増殖抑制活性、抗変異原性、インターフェロン分泌促進機能が確認された。プラント試験を実施中であり、大規模生産へ向けて企業が準備を進めている。

3) 研究テーマの推移

テーマの編成と推移について、概要を図2-3-2に示す。

フェーズⅠにおいては、疾病関連因子の探索、ウイルス発がん予防高機能性食品の探索、ハイスループット食品機能性評価法の基本条件の確立、高機能性農作物の選抜と栽培・育種法の開発など、基礎研究を推進した。これにより様々な研究シーズが創出された。特に、ウイルス発がん予防高機能性食品の探索については、抗HCV効果を有する農作物がスクリーニングさ