

<p>サブテーマ 2 : 食の機能性活用のための基盤技術の開発 小テーマ 2-1: がん予防を目指した食品機能性評価法の開発 c) 細胞系における各種生理機能評価法の確立と高機能性食品の評価</p>
<p>サブテーマリーダー 宮崎大学農学部：教授 水光正仁 研究従事者 宮崎大学農学部：准教授 西山和夫、准教授 江藤望、准教授 榊原陽一、助教 山崎正夫、 宮崎県産業支援財団：研究員 岩田喬子、研究員 内田飛香、研究員 永濱清子</p>
<p>研究の概要、新規性及び目標 ①研究の概要 ハイスループット評価法（HTS）の確立には、推定できる生理機能項目の充実とそのデータの正確性が必須である。本研究においては、がん予防に関連する種々の生理機能について、まず既存の測定法にて食品成分を試料としてデータの収集を行った。また、より生体の反応に近い生理機能を予測可能とするために細胞応答を利用した新規生理機能測定項目の開発を行い、既存法と同様にデータを収集し、データベースを構築した。 ②研究の独自性・新規性 本研究は培養細胞を用いて行うマーカータンパク質の測定結果をより正確に反映できるように、各種生理機能測定においても主に細胞応答を基本とした測定法を用いて測定した。また既存の無細胞系の測定系に代わる細胞を用いた測定系を新規に構築した。 ③研究の目標</p> <ul style="list-style-type: none"> ・フェーズⅠ：C型肝炎ウイルス（HCV）複製抑制活性以外の既存法による生理機能測定2件（がん細胞増殖抑制活性・HCV セリンプロテアーゼ阻害活性）を実施し、データを収集する。また新規測定法2件について評価系を確立する。被験食品成分30種類の測定を終了する。 ・フェーズⅡ：総合的に発がん予防に効果のある食品成分をスクリーニングするために、引き続き、新たな生理機能評価項目を設定する。また、評価法の精度を向上させるために、食品成分以外にも食品の生理機能のデータを量的にも充実させる。さらに HTS の検証作業を進めるために外部から提供されたサンプルについても評価を行う。 ・フェーズⅢ：発がん予防効果に加え、生活習慣病に関連する生理機能項目の測定系について検討し、データを収集し、様々な疾患予防に有効であることを立証していく。
<p>研究の進め方及び進捗状況</p> <ul style="list-style-type: none"> ・既存法による各種生理機能測定（達成率100%） 被験食品成分30種類について、譲渡を受けた細胞株を用いて、1）HCV複製抑制活性をレプリコンアッセイにて測定した。また市販のキットを用いて、2）がん細胞増殖抑制活性（MTTアッセイ）、3）HCVセリンプロテアーゼ阻害活性、4）抗がん転移活性（細胞遊走阻害活性測定）、5）血管新生抑制活性（ELISAによる血管内皮増殖因子（VEGF）産生抑制活性）を測定した。さらに市販の細胞株を用いて6）抗炎症活性：NF-kB活性抑制をレポーターアッセイにて測定した。 ・新規生理機能測定項目の開発（達成率100%） 細胞応答を利用した、5）血管新生抑制活性（レポーターアッセイによる低酸素応答配列（HRE）転写抑制活性測定）、7）抗酸化ストレス活性（レポーターアッセイによる抗酸化酵素誘導活性測定）について検討し、アッセイ用の各転写調節部位を導入した安定発現細胞株を樹立した。8）ナチュラルキラー（NK）細胞賦活活性について、従来法では大規模な実験が出来なかったが、新たにヒトNK細胞株から産生されるIFN-γを測定する方法を完成させ、大規模な実験を可能とした。9）インターフェロン産生促進活性については、ウイルス感染時のみにIFN-βの産生を誘導する食品成分をスクリーニング可能な実験系を作成した。以上の全測定項目において、食品成分30種類の測定を終了した。 ・宮崎県産農産品抽出物による各種生理機能測定（達成率80%） 各評価法の精度向上とHTSの検証のため、宮崎県産農産品抽出物21種類を用いて上記1）～7）の生理機能測定項目においてデータを収集した。
<p>主な成果 具体的な成果内容：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1）HCV複製抑制活性：譲渡を受けた細胞株を用いてレプリコンアッセイにて、食品成分、農産品抽出物をサンプルとしてアッセイを行い、活性を有する数サンプルを見出した。 2）がん細胞増殖抑制活性：MTTアッセイにて活性を有する数サンプルを見出した。 3）HCVセリンプロテアーゼ阻害活性：市販のキットを用いて測定を行い、活性を持つサンプルを見出した。 4）抗がん転移活性：細胞遊走阻害活性を市販キットを用いて測定を行い、活性を持つサンプルを見出した。 5）血管新生抑制活性：VEGF産生抑制活性をELISA法により測定した。さらにHRE転写抑制活性測定のために転写調節部位HREを肝がん細胞HepG2に導入した安定発現細胞株を樹立し、測定を行った。各測定により活性を持つサンプルを見出した。 6）抗炎症活性：市販のNF-kB認識配列を導入した細胞株を用いてレポーターアッセイにて測定、活性を持つサンプルを見出した。 7）抗酸化ストレス活性：転写調節部位AREを肝がん細胞HepG2に導入した安定発現細胞株を樹立し測定を行った。また既存のラジカル消去活性測定（DPPH法、ORAC法）と比較検討し、従来とは異なる抗酸化物質（抗酸化酵素生成誘導活性のある物質）を見出した。 8）NK細胞賦活活性：ヒトNK細胞株を用いてNK活性測定法を検討し、ELISAによるIFN-γ産生量測定法を完成させ、活性のある食品成分を見出した。

9) IFN 産生促進活性：IFN β の産生増強活性測定法について検討を行い、MG63 の亜株を選抜し、スーパーイ
ンダクション法についての測定系を作製し、活性のある食品成分を見出した。

特許件数：

論文数： 15

口頭発表件数： 23

研究成果に関する評価

1 国内外における水準との対比

本研究は培養細胞を用いて行うマーカータンパク質の測定結果をより正確に反映できるように、各種生理機能測定においても主に細胞応答を基本とした測定法構築することを目指した。単一または少数の機能性成分や農水産物の機能性評価のために細胞応答を基本とした測定法が用いられることがあるが、本研究のように多種多様な試料を網羅的に分析するという目的で測定を行うことはほとんど行われていない。

2 実用化に向けた波及効果

各生理機能測定により得られた食品成分や薬剤 30 種類と農産品約 20 種類の各 3 水準の全データは発がん予防のための本 HTS の基盤となるデータベースであるが、各測定系の個々のデータは発がん予防以外にも様々な疾患予防に関与する可能性がある。これらデータや新規開発した測定系について、外部機関との協力により評価を行い、信頼性・有効性を確認する。各要素技術に分けた部分での技術移転の可能性についても検討する。また、競争的資金の獲得により、市場ニーズが高いと思われる、生活習慣病予防に関係する生理機能の評価や新たな技術の確立へ向けて取組んでいきたいと考えている。

残された課題と対応方針について

- ・種々の生理機能評価において得られた、食品成分の生理機能に関するデータを論文として公開していく必要がある。
- ・宮崎県農産物抽出物のデータが揃った生理機能について、検証作業を進め、ニューラルネットワーク構築により良い食品成分データの組合せ条件の検討を進める。
- ・今後も各生理機能測定を行い、さらにデータベースを充実させていく。

	JST 負担分 (千円)							地域負担分 (千円)							合 計
	15 年 度	16 年 度	17 年 度	18 年 度	19 年 度	20 年 度	小 計	15 年 度	16 年 度	17 年 度	18 年 度	19 年 度	20 年 度	小 計	
人件費	0	0	0	5,328	7,264	4,828	17,420	0	0	0	0	0	0	0	17,420
設備費	0	0	0	2,500	0	0	2,500	0	0	0	0	0	0	0	2,500
その他研究費 (消耗品費、 材料費等)	0	0	0	2,000	4,250	1,500	7,750	0	0	0	0	0	0	0	7,750
旅費	0	0	0	194	254	64	512	0	0	0	0	0	0	0	512
その他	0	0	0	404	527	310	1241	0	0	0	0	0	0	0	1241
小 計	0	0	0	10,426	12,295	6,702	29,423	0	0	0	0	0	0	0	29,423

代表的な設備名と仕様 [既存 (事業開始前) の設備含む]

JST 負担による設備：

地域負担による設備：