
目 次

<2023年度 総合研究所学内研究プロジェクト研究成果報告>

●大学院先導的実学研究プロジェクト

1. 血中抗ミューラー管ホルモンを利用した黒毛和種供卵牛および繁殖雌牛選抜技術の開発…… 1
研究代表者 平山 博樹
2. 胚の脱メチル化やテロメア伸張を制御した次世代型体外発育胚の作成…… 5
研究代表者 岩田 尚孝

●総研プロジェクト

1. 農大和牛の作成と肥育を介した新しい農大ブランドの作成…… 9
研究代表者 山本 祐司
2. ゲノム改変による環境適応能力を高めた作物育種への挑戦…… 11
研究代表者 篠澤 章久
3. Society5.0社会におけるレジリエンス農業の確立に向けた多様な人々の能力を発揮する
ロボティック・プロセス・オートメーション (RPA) 実装の加速化 …… 14
研究代表者 町田 怜子
4. 起業家精神を育む教育プログラムの効果に関する研究…… 23
研究代表者 望月 洋孝
5. フィリピン産バナバ（オオバナサルスベリ）の遺伝資源収集、増殖、コロソリン酸抽出
および SSR マーカーを利用した多様性解析に関する共同研究 …… 28
研究代表者 寺田 順紀
6. 公立図書館における高齢者の認知機能に働きかける一斉音読イベントのプロトコール開発… 34
研究代表者 田留 健介
7. 母乳中铁濃度に影響する因子を明らかにするための研究…… 49
研究代表者 若菜 宣明

●大学戦略研究プロジェクト

1. 新たな肉用牛「無角黒毛」の創出—生産性とアニマルウェルフェアの向上を目指して—…… 52
研究代表者 庫本 高志
2. 玄米摂取が非アルコール性脂肪肝に及ぼす影響の分子機序の解析…… 58
研究代表者 山本 祐司
3. 動物個体生産向上を目指した胚の着床能獲得を支持する子宮液内因子の解明…… 63
研究代表者 小川 英彦

4. With/After COVID-19の持続可能な Food Supply Chain に向けたシナリオ分析	68
研究代表者 佐藤 みずほ	
5. アフリカ実用作物を対象としたストライガ防除機構の解明と分子育種.....	74
研究代表者 伊藤 晋作	
6. 植物生育促進・窒素固定細菌の作物生産への利用技術の開発.....	79
研究代表者 志和地 弘信	
7. 未利用資源の付加価値向上を目指した機能性食品成分の探索および農大発・ 未利用資源ライブラリーの構築.....	86
研究代表者 鈴木 司	
8. 新規抽出技術を用いた微細藻類の代替タンパク質資源としての利用.....	91
研究代表者 相根 義昌	
9. <i>Zalaria</i> sp. Him3を用いたオリゴ糖マルチ生産システム構築の基盤となる関与酵素の特定.....	96
研究代表者 吉川 潤	
10. リン酸資源の効率的利用による循環型農業の実現に向けたアーバスキュラー菌根菌 ブレンド資材の開発.....	101
研究代表者 小泉 敬彦	
11. モンスーンアジアにおけるアグロエコロジカルな「連帯」による新たなフードシステムの 構築に関する研究.....	108
研究代表者 宮浦 理恵	
12. 農大研究アイランドホッピングー在来希少作物の実装化、南西諸島を北から南へー.....	127
研究代表者 菊野 日出彦	
●海外協定校との共同研究プロジェクト	
1. 熱帯地域への生物的土壌物理性改良システムの普及に向けた下層土の団粒化機構の解明.....	141
研究代表者 中塚 博子	
2. ケニア農村地域における健康と栄養改善に向けた郷土食材資源の開発.....	150
研究代表者 入江 憲治	
●博士支援テーマ重点化プロジェクト	
1. 体内栄養状態を反映するバイオマーカーとしての抗加齢タンパク質 SMP30の新たな生理的 役割.....	154
研究代表者 上原 万里子	
2. <i>Fgf5</i> の変異を介した長毛化と、その性差を引き起こすメカニズムの解明.....	160
研究代表者 和田 健太	

●持続可能な農業研究プロジェクト

1. 有機栽培における微生物燃料電池技術効果の検証…………… 165
研究代表者 トウ ナロン
2. 機能性付与アメリカザリガニの代替タンパク質創出…………… 173
研究代表者 武田 晃治
3. 農業への関心のきっかけ、ならびに新規就農との因果性に関する深層心理学的研究…………… 182
研究代表者 堀田 和彦

●東京農業大学と東京情報大学との共同研究プロジェクト

1. 酢酸菌の易変異性を利用したファインセルロース生産のための有用復帰変異の取得と
機構解明…………… 184
研究代表者 石川 森夫

●東京農業大学と農研機構との MF 型共同研究プロジェクト

1. ホウレンソウの変異導入技術開発と低シュウ酸化に寄与する遺伝子の変異導入…………… 189
研究代表者 太治 輝昭
2. オオムギの不良環境適応性の向上にむけた根の生理・遺伝学的研究…………… 193
研究代表者 伊藤 博武
3. ソバ産業の未来を拓く：半矮性ソバの効果的な栽培技術開発…………… 197
研究代表者 笠島 真也

●企業とのマッチングファンド型共同研究プロジェクト

1. 近赤外分析によるコムギのビタミン E 含量測定法の開発とその応用による高付加価値国産
食品の展開…………… 201
研究代表者 西尾 善太
2. 水族園飼育下マゼランペンギンに見出された小脳変性症の病理学的解析と遺伝学的解析…… 211
研究代表者 庫本 高志
3. 牛伝染性リンパ腫の発症を簡便かつ迅速に検査できる LAMP 法（簡易 PCR 法）システム
の構築…………… 216
研究代表者 小林 朋子

●東京農業大学と昭和大学との共同研究プロジェクト

1. 農医学連携による社会還元促進を目指した NAFLD/NASH 病態解析と食品栄養学的介入
の検討…………… 220
研究代表者 煙山 紀子
2. 成人における食物アレルギー患者の腸内細菌叢メタゲノム解析により将来的な治療標的の
探索を目指す医農連携研究…………… 227
研究代表者 志波 優

3. 婦人科系疾患に用いる漢方薬のエストロゲン活性に対する影響……………	231
研究代表者 山内 淳	

●若手・女性研究者支援プロジェクト

1. ワサビの農業特性と遺伝的多様性解明に関する研究……………	233
研究代表者 吉田 沙樹	
2. 黒麹菌におけるフェノール酸脱炭酸酵素とオートファジーの関係性……………	238
研究代表者 眞榮田 麻友美	
3. 植物の基礎的抵抗性に関わる細胞死抑制機構の解明……………	242
研究代表者 四井 いずみ	
4. ジビエのフードシステムの安全性デザインに関する研究—食肉処理業者の意識と選択に 着目して—……………	247
研究代表者 長尾 真弓	
5. ハッカ精油蒸留残渣が有する消臭活性に関する研究……………	250
研究代表者 金嶋 泰	
6. 皮膚細胞のトランスグルタミナーゼ2を標的とした新規アンチエイジング機構の探索 ……	254
研究代表者 山本 久美子	

<研究所記事>

●東京農業大学総合研究所研究会 令和5年度事業報告 ……	257
------------------------------	-----

2023年度 東京農業大学 大学院先導的実学研究プロジェクト 研究成果報告書

北方圏農学 専攻

研究代表者 平山 博樹

1. 研究課題名および予算額

研究課題名
血中抗ミューラー管ホルモンを利用した黒毛和種供卵牛および繁殖雌牛選抜技術の開発

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	平山 博樹	生物産業学研究科 北方圏農学専攻・教授	研究統括・材料採取
研究分担者	大久保倫子	生物産業学研究科 北方圏農学専攻・助教	材料採取・イムノプロット
	鈴木 美玲	生物産業学研究科 北方圏農学専攻・修士 2年	育成牛の血中 AMH 濃度解析
	石上 彩葉	生物産業学研究科 北方圏農学専攻・修士 1年	成牛の血中 AMH 濃度解析
	水野 琉瑠	生物産業学研究科 北方圏農学専攻・修士 1年	イムノプロット
	小山 毅	北海道立総合研究機構 畜産試験場・研究 主幹	材料採取・統計解析
	鈴木 洋美	北海道立総合研究機構 畜産試験場・研究 職員	材料採取・早期選抜法開発
	清水 春花	北海道立総合研究機構 畜産試験場・研究 職員	材料採取

3. 研究期間

2023年4月1日～2024年3月31日（3年計画の2年目）

4. 研究の背景（当初）

黒毛和種牛は我が国固有の貴重な遺伝資源であるが、飼養戸数や飼養従事者の減少が進み、生産基盤強化が課題となっている。また、畜産輸出額の60%以上を占める和牛肉は、国内消費だけでなく輸出品目としても増産が求められている。黒毛和種牛増頭の要となる繁殖雌牛頭数は減少を続けてきたが、農場の大規模化が進み繁殖用に仕向けられる育成牛が増加しつつある。その一方で、生産現場では雌牛の

繁殖能力低下が問題となっており、人工授精受胎率は 10 年間で 15% 程度も低下している。このため、従来から重要視されている産肉能力に加えて、性成熟後の妊娠確率の高い育成牛を繁殖雌牛として選畜できれば、効率的な黒毛和種牛の増頭が可能となる。また、受精卵移植技術は、乳用種を借り腹牛として良質な和牛肉を生産する方法などとして急速に利用が拡大している。しかし、移植用の受精卵を生産する能力は供卵牛毎に大きく異なり、効率的な受精卵生産技術の開発が課題となっている。

5. 研究目的

本研究では上記の課題を解決するために、抗ミュラー管ホルモン（AMH）を指標とした黒毛和種繁殖雌牛の選抜技術を確認する。AMH は卵巣内の卵胞から分泌されるため、血中 AMH 濃度は過剰排卵処理によって生産される受精卵数と高い相関を示す。これに加え、近年、血中 AMH 濃度の高い個体は人工授精による受胎率が高く、血中 AMH 濃度の測定によって雌牛の繁殖性を事前に推定できることが明らかになってきた。

昨年度、我々は黒毛和種成牛（1,352 頭）および育成牛（876 頭）の血中 AMH 濃度を測定し、世界初の黒毛和種雌牛における血中 AMH 濃度大規模プロファイリングを行った。研究の 2－3 年目は、これらの個体の繁殖成績を収集し、血中 AMH 濃度を説明変数とした繁殖性推定モデルを作成する。一般生産農場における繁殖データは記録媒体や様式も統一されておらず、収集とその整理は多大な労力を要することから、2023 年度は暫定的に 800 頭（経産牛 500 頭、未經産牛 300 頭）頭を目標に繁殖成績と血中 AMH 濃度の関係を解析する。

黒毛和種の育成雌牛は、遅くとも 8ヶ月齢までには本牛の発育、血統および産肉能力の遺伝的評価値を基準に繁殖用と肥育用を選別される。しかし、8ヶ月齢以前の育成期に性成熟（14ヶ月齢程度）後の繁殖性を推定し評価する手段はない。そこで、本研究では、育成期の血中 AMH 濃度の変化とその特徴を明らかにし、育成段階で性成熟後の血中 AMH 濃度を予測することで繁殖性に優れた個体を選抜する方法を開発する。

さらに、生産現場では血中 AMH 濃度の測定希望が急増しているが、現時点では大学等の研究機関の協力もしくは臨床検査センターへの外注で測定が行われており、測定結果を得るまでに煩雑な手順と時間が必要となっている。そこで、本研究では農場で簡易に血中 AMH レベルを評価できるイムノクロマト試験紙を開発し、生産現場における雌牛選抜における血中 AMH レベル利用拡大を図る。

6. 研究（実験）方法

（1）繁殖能力推定基準値の作成

本年度は、黒毛和種経産牛 588 頭および未經産牛 303 頭、合計 891 頭の血中 AMH 濃度および繁殖データを収集した。これらのデータを精査し、最終的に経産牛 456 頭および未經産牛 246 頭、合計 702 頭のデータを用いて、妊娠、季節、人工授精受胎率との関係を解析した。

（2）繁殖雌牛早期選抜法の開発

本年度は、黒毛和種育成牛 19 頭を用い、出生から性成熟する 14ヶ月齢まで毎月採血し、血中 AMH 濃度を測定した。血中 AMH 濃度は、発育に伴う変化を解析するとともに、各月齢と最終的な 14ヶ月齢との間の相関を分析した。

(3) 血中 AMH レベル簡易判定法の開発

本年度は、金コロイド標識した抗 AMH_c 抗体を用いたハーフストリップ法によるイムノクロマトを実施し、あらかじめ AMH 濃度の判明した血清を用い、イムノクロマトによる AMH レベルの分類を試みた。また、イムノクロマトに用いる血液の処理条件を検討するために、同一牛から採取した血清と3種類の血漿（EDTA-2Na 処理、EDTA-2Na アプロチニン処理、ヘパリン処理）を用いた AMH の検出結果を比較した。

7. 研究成果

(1) 繁殖能力推定基準値の作成

これまでに分娩歴がある経産牛の血中 AMH 濃度は、非妊娠牛に比較して妊娠前期および妊娠中期の妊娠牛で有意に高い値を示した。一方で、未経産牛の血中 AMH 濃度は妊娠によって変化しなかった。さらに、これらの雌牛の血中 AMH 濃度は、冬季と春季に低く、夏季と秋期に高いことが明らかになった。これらの結果は、血中 AMH 濃度を繁殖性マーカーとして利用する際に、対象牛の産歴や採血を行う季節を考慮する必要性を示しており、技術の実用化に向けて重要な知見となる。

人工授精受胎率は、血中 AMH 濃度の上昇に伴い上昇した。さらに、未経産牛では 1,000pg/ml、経産牛では 1,500pg/ml をピークにそれ以上の血中 AMH 濃度では受胎率が低下に転じた。これらの結果から、初年度の暫定解析（1 農場分データ）と同様に、一定レベルまでは血中 AMH 濃度が高繁殖性個体を選抜する基準となり、非常に血中 AMH 濃度の高い個体には反対に繁殖性が低い個体が存在することが確認された。

(2) 繁殖雌牛早期選抜法の開発

育成牛の血中 AMH 濃度は、個体差と発育に伴う変動が非常に大きかった。しかし、欠損値がなく前頭測定できた2ヶ月齢時の血中 AMH 濃度に基づき、Low グループ（300 pg/ml 未満）、Mid グループ（300–600 pg/ml）および High グループ（600pg/ml 以上）に分けると、High グループのみで1–4ヶ月齢の間に一過性の血中 AMH 濃度上昇が認められた。さらに、0–12ヶ月齢までの血中 AMH 濃度は、いずれの月齢も14ヶ月齢との間に有意な正の相関が認められた。このうち、2ヶ月齢の血中 AMH 濃度は14ヶ月齢に対する相関（ $r=0.829$ 、 $P<0.0001$ ）が最も高く、出生後の非常に早い時期に性成熟後の血中 AMH 濃度を予測可能であることが明らかになった。

(3) 血中 AMH レベル簡易判定法の開発

試作したイムノクロマトにより検出されたシグナル強度の評価により、血中 AMH レベルを評価できる可能性が示された。具体的には、黒毛和種雌牛における血中 AMH 濃度の中央値である約 600 pg/ml を境に、血中 AMH 濃度を Low 群と High 群に分類することができた。しかし、現時点では金コロイドによるシグナルの強度が弱く、AMH 濃度の細かな分類もできないことから、抗体の金コロイド標識やイムノクロマト作製の方法を改良し、評価精度を向上させる必要があることが示された。さらに、イムノクロマト用の試料としては血清が適しており、血漿は不適であることが明らかとなり、本技術の実用化に向けて有用な知見を蓄積することができた。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

これまでのところ実用化につながる成果のとりまとめには至っていない。しかし、本研究では繁殖性

の高い雌牛を早期に選抜するための血中 AMH 濃度基準値の設定とその現場応用を目指しており、最終的には畜産の現場で活用される技術として完成させたい。

2ヶ月齢時点の血中 AMH 濃度を用いた超早期繁殖雌牛選抜は、高繁殖性個体の予測選抜技術として新規性があり、特許申請に向けた手続きを進めている。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

「繁殖能力推定基準値の作成」の課題は、膨大な調査頭数の確保とその繁殖成績の整理・解析である。これまでに目標の 1,400 頭を大きく上回る雌牛から血中 AMH 濃度の測定を終えている。一方で、生産現場では繁殖成績の記録方法が統一されておらず、アナログな方法も多く残っている。最終年度は、それらの繁殖成績を少しでも多く収集し、血中 AMH 濃度との関連を解析することに注力する。また、血中 AMH 濃度が一定レベルを超えると、むしろ繁殖性が低下することが明らかとなってきた。この点は血中 AMH 濃度の選抜基準値を作成するために非常に重要なポイントとなることから、重点的な解析が必要であるとともに、その生理的な機構の解明も将来的な研究課題となると考えている。

「繁殖雌牛早期選抜法の開発」は、本年度までにはほぼ目標を達成し、生後 2ヶ月齢という予想を超えた若齢期に性成熟後の血中 AMH 濃度を予測できることを示すことができた。今後は、このような早期に将来の繁殖性を予測した個体が、性成熟後にどのような繁殖成績を示すか検証する必要がある。

「繁殖雌牛早期選抜法の開発」では、イムノクロマトを用いた AMH 検出の基本技術を確認することができた。今後は、その検出感度や濃度分解能を向上させ、フィールドテストに耐えうる試作品の開発を目指すため、専門企業との連携を検討する。

10. 公表した成果一覧

学会発表

- 1) 小山毅・鈴木洋美・平山博樹. 黒毛和種牛における卵巢予備能と繁殖成績の関係および遺伝率の調査. 第 41 回北海道牛受精卵移植研究会定期総会・研究発表会. 2023 年 8 月. 北海道大学
- 2) 水野琉瑠・作本亮介・澤井健・古山敬祐・大久保倫子・相馬幸作・平山博樹. ウシ黄体における抗ミューラー管ホルモン量と発情周期の関係. 第 116 回日本繁殖生物学会大会. 2023 年 9 月. 神戸大学
- 3) 小山毅・平山博樹. 季節繁殖条件下における黒毛和種牛の抗ミューラー管ホルモン濃度と受胎成績の関係. 日本畜産学会第 131 回大会. 2023 年 9 月. 帯広畜産大学

2023年度 東京農業大学 大学院先導的実学研究プロジェクト 研究成果報告書

動物科学 専攻

研究代表者 岩田 尚孝

1. 研究課題名および予算額

研究課題名
胚の脱メチル化やテロメア伸張を制御した次世代型体外発育胚の作成

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	岩田 尚孝	農学研究科 動物科学専攻・教授	統括
研究分担者	庫本 高志	農学研究科 動物科学専攻・教授	マウス産子の比較
	野口 龍生	農学部・准教授	ウシ体内胚の回収
	青木 漱吾	農学研究科 動物科学専攻・博士 後期課程3年	分画 FF 添加によるウシ胚の作成 siRNA
	井上 裕貴	農学研究科 動物科学専攻・博士 後期課程2年	RNAseq と IPA 解析 脱メチル化分子背景
	原 駿介	農学研究科 動物科学専攻・博士 後期課程1年	増殖因子の添加によるウシブタ胚 の脱メチル化
	山本 太陽	農学研究科 動物科学専攻・博士 後期課程1年	加齢がヒトの精子のテロメアに及 ぼす影響
	油田 奈緒	農学研究科 動物科学専攻・博士 前期課程1年	マウスの胚培養と増殖因子の効果
	濱崎 真緒	農学研究科 動物科学専攻・博士 前期課程1年	FF 添加によるウシ胚の脱メチル化 分子背景
	須崎 兆	農学研究科 動物科学専攻・博士 前期課程2年	マウス胚の移植と産子の成長
	高橋 司	農学研究科 動物科学専攻・博士 前期課程1年	ウシ精子の胚テロメアに及ぼす影 響と仔牛の解析

3. 研究期間

2023年6月7日～2024年3月31日（3年計画の1年目）

4. 研究の背景（当初）

生殖補助において胚の質は受胎の必須要因である。現在、胚の質は形態や発育動態で評価されている。一方で体外受精（IVF）胚に由来する子牛の生時体重が異常に大きくなる事象（過大仔）や IVF 胚由来の産子にリスクが大きい事は胚の DNA メチル化異常に起因するがこれら評価されていない。哺乳動物の卵子や精子の DNA は高メチル化状態にあり受精後 1–2 日の間に急速に脱メチル化される。この初期化（リプログラミング）は胚の決定的な事象であるが、IVF 胚は体内発育胚に比べてゲノム活性化時期（8 細胞期）やその後の胚盤胞期胚において高メチル化状態であり、これを制御する方法はない。また胚のテロメア長（TL）は、胚の質の重大な因子であり、産子の TL や健康寿命と、正の関係がある。TL は胚の受精後 1–2 日の間に伸張するが、マウスでは父親の加齢が胚や産子両方の TL を短縮することを申請者らは示している。一方で父親の加齢による TL 短縮に対する有効な対処方法は知られていない。我々は受精後卵管に流入する卵胞液（FF）に着目し、FF を少量初期発生培地に添加すると、初期胚の脱メチル化が促進され、体内胚のように低メチル状態の胚盤胞ができることを見出した。また FF 添加は体外発育胚の TL を伸張させることもわかった。そのため FF 中の成分に胚の質を決定的に向上させる因子があると考えた。

5. 研究目的

受精後起こるリプログラミングや初期発生で起こる TL 伸張を側面から支持する因子が FF 中に存在すると仮定し、この因子を見つけ、効果を検証する。そして、体外培養系に外挿し、良質な胚生産を介して、受胎率向上、流産防止だけでなく産子の健康寿命を改善する。また加齢に伴う TL や脱メチル化の変化を明らかにしこれに対して見いだした方法が有効に機能するかどうかを明らかにする。

6. 研究（実験）方法

胚の質と脱メチル化状態に影響する因子として最初に卵胞液とその中に内包されるサイトカインや miRNA に着目し、昨年度見いだした結果の実証実験と miRNA の構成に影響する要因を検討した。まず大量の個体の FF を対象に脱メチル化や胚質に関わる miRNA（29b -425 -151 -199 -148）の量を RT-qPCR で測定し多い FF が脱メチル化を促し、胚発生を改善させるのかを検討した。またそれぞれの miRNA の相関関係について検討した。

次に卵胞液中の miRNA と血中 miRNA と卵管 miRNA および培地 miRNA を比較し卵胞液中の miRNA が独自の構成であるのかどうかを検討した。

ウシを用いた体内胚と体外胚の DNA メチル化状態の比較した。FF の添加効果をブタの胚を用いて検討した。測定していなかったヒストンの修飾や TET1 発現量などに FF 添加が与える影響を検討した。

FF 中に含まれるステロイドホルモンとサイトカインが当該 miRNA 量と関係しているのか検討した。

TL の長さに影響する要因の検討として最初に、TL とミトコンドリア DNA コピー数（mt-cn）との相関に着目して TL が mt-cn を制御しているのか確認した。TERT の阻害剤を用いて TL 長の長い短い胚を作成し RNAseq を行い、上流因子を同定した。上流因子の受精後の胚培養培地への添加と TL 伸長効果を検討した。

マウスの生体で産子の TL を比較する予備データの収集として、胚を作成する両親の生理状態が TL と mt-cn に及ぼす影響とその影響を左右する条件を検討した。またマウスにレスベラトロールを飲水させ胚の TL やミトコンドリア数に及ぼす影響について検討した。

7. 研究成果

30頭の個体から採取したFF中のRT-qPCRを用いて当該miRNA(胚の良否はmiR-151-3p miR-425-5p、脱メチル化はmiR-29b, miR-148a, miR-199a-3p)の量の多少を測定し、多い個体と少ない個体のFFを添加すると、多い個体では胚発生を促進し、低メチル化の胚が作成できた。ことからこれらのmiRNAが胚質や低メチル化のマーカーとなりうることが明らかになった。また当該miRNA(miR-151-3p miR-425-5p)の多い個体と少ない個体ではステロイドホルモンの濃度やサイトカインに差が無く卵胞の発育とはリンクしていないことが示唆された。複数個体の血液、FF、卵管液、培養培地のmiRNAプロファイルの比較ではFFは他と相関がほぼ無く、独自の環境であると考えられた。また測定した一部のmiRNA間には明確な相関が観察されたため、生産している細胞において選択的にmiRNAが細胞外小胞に搭載されていると推測している。またウシの体内胚と体外胚の免疫染色でも体外胚のメチル化が高く他の動物の結果と併せて最初の仮設を確認した。FFの脱メチル化効果は他の動物種でも観察された。

脱メチル化はTET3による精子由来のDNAで顕著であるが、受動的な脱メチル化を指示するTET1の発現上昇も見いだされた。

次にFF添加で観察されたTLの伸長について、まずTLと相関の高いmt-cnとの関係を検討した。TLの伸長をsiRNAや阻害剤で抑制するとmt-cnが減ることからTLはミトコンドリア数も規定していることが示された。TL阻害条件ではEGF、AGT、TGFB1、GDF9が上流因子として推測されこれをウシで受精後から8細胞期までの培養液に添加するとTGFB1やAGTでTL伸長が確認された。またTGFB1は卵胞、卵管液の主要な成分であり、これがmiRNAと協調して胚の脱メチル化に関与していることが分かった。TL伸長した胚の子供を検討するに当たり、胚の両親がTLに影響するのかを検討した。ウシでは母親の加齢は卵子のTL長の短縮を起こしたが胚盤胞では差が見られなかった。オスでは、同一個体の凍結精子を使い検討したところ、精子のTLは年上のウシで短く胚でも短くなっていた。マウスでは父親の加齢はTLやmt-cnを減らしたが、オスにレスベラトロールを給与すると胚のTLが伸長増加する事がわかり、胚のTLには受精後の環境だけでなく、受精に関わる配偶子やその形成過程がの影響が無視できない因子であることが明らかになった。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

胚の質(脱メチル化やTL)を改善する条件については知財申請中。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

EVに含まれるmiRNAがどのような機序で取り込まれるのか、成熟、前駆体どちらの形で取り込まれるのか?良好なmiRNAを細胞内小胞に格納して分泌する仕組みを明らかにする。またこのmiRNAの多寡を決める細胞背景を明らかにしその上流因子を同定する。脂肪細胞等の培養とmiRNAのトランスフェクションと分泌、内容物の改変を行い胚への作用効果を検討する。胚の脱メチル化と、テロメア伸長に関係するテロメアーゼ活性やりコンビネーション依存的テロメア伸長との関係を調べる。テロメアに多いグアニン4重鎖などDNAの高次構造とテロメア伸長との関係を検討する。

TL伸長条件下のアクチン重合亢進に着目し、人為的なメカノストレス負荷とTL伸長の関係を明らかにする。脱メチル化やTL伸長の度合いと関係が深い両親の生理状態に着目し、見出した体内因子による介入効果がこれを改善するのか明らかにする。

10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) Teramoto, N., Okada, Y., Aburada, N., Hayashi, M., Ito, J., Shirasuna, K., & Iwata, H. (2024). Resveratrol intake by males increased the mitochondrial DNA copy number and telomere length of blastocysts derived from aged mice. *The Journal of reproduction and development*, 10.1262/jrd.2024-043. Advance online publication.
- 2) Aoki, S., Inoue, Y., Hamazaki, M., Hara, S., Noguchi, T., Shirasuna, K., & Iwata, H. (2024). miRNAs in Follicular and Oviductal Fluids Support Global DNA Demethylation in Early-Stage Embryos. *International journal of molecular sciences*, 25(11), 5872.
- 3) Inoue, Y., Aoki, S., Ito, J., Hara, S., Shirasuna, K., & Iwata, H. (2024). Telomere length determines the mitochondrial copy number in blastocyst-stage embryos. *Mitochondrion*, 77, 101887.
- 4) Aoki, S., Inoue, Y., Hara, S., Itou, J., Shirasuna, K., & Iwata, H. (2024). microRNAs associated with the quality of follicular fluids affect oocyte and early embryonic development. *Reproductive medicine and biology*, 23(1), e12559.
- 5) Aburada, N., Ito, J., Inoue, Y., Yamamoto, T., Hayashi, M., Teramoto, N., Okada, Y., Koshiishi, Y., Shirasuna, K., & Iwata, H. (2024). Effect of paternal aging and vitrification on mitochondrial DNA copy number and telomere length of mouse blastocysts. *The Journal of reproduction and development*, 70(2), 65-71.

学会発表

- 1) 卵子や胚発育に影響する miRNA と加齢の影響 第 68 回日本生殖医学会 金沢 11 月 9 日 招待講演

2023年度 東京農業大学 総合研究所プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 山本 祐司

1. 研究課題名および予算額

研究課題名
農大和牛の作成と肥育を介した新しい農大ブランドの作成

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	山本 祐司	応用生物科学部 農芸化学科・教授	研究総括
研究分担者	岩田 尚孝	農学部 動物科学科・教授	農大和牛作成 育成全般
	堀田 和彦	国際食料情報学部 食料環境経済学科・教授	和牛販売など助言

3. 研究期間

2023年4月1日～2024年3月31日（3年計画の3年目）

4. 研究の背景（当初）

和牛の肥育は、ビタミンAの欠乏を利用して脂肪細胞の分化をはかり、その後高脂質飼料で脂肪交雑（サシ）を形成させるという手順で行われる。日本独自の飼養方法であるが、動物福祉の観点からは批判もある。和牛は日本の重要な畜産物であるが、特定の品種に偏った牛群構成のため近交系の上昇が著しく、仔牛価格の高騰や肥育農家の収益低下、輸入飼料に偏重した飼養体系など構造的な問題がある。さらに近年、穀物多給による牛肉生産が地球温暖化を加速させているとい意見もある。一方でグラスビーフと言った牧草中心の牛肉が、健康志向の高まりにより見直されている。また穀物多給を行わない生産方式は循環型農業構築の上でも有効であり、動物福祉の観点からも評価されうる。

黒毛和種と褐毛和種の交雑によりグラスビーフ和牛を作成したところ（仮称、農大和牛）良好な肉質である事が分かった。引き続き和牛を生産しているがその販売方法と一定数を継続して生産する方法が確立していない。また黒毛和種のグラスビーフに対する価格帯、消費者層などブランドを確立する上で不明な点が残っている。

5. 研究目的

本研究では、研究室での生殖技術の実学として、開発した体外受精卵作成技術を用いて黒毛和種の卵子と褐毛種の精液から胚を作成し、ここから農大和牛を作成する。作成した和牛は牧草食で肥育し、食

肉流通を担っている会社と連携し市場に出す形を模索する。併せて、グラスビーフ生産のメリットを整理しその知名度を向上させる。大学での和牛生産を通して学科や大学のブランド力を向上させる。

6. 研究（実験）方法

神奈川食肉センターの黒毛和種卵巣を用いた胚生産を行う。胚作成方法には大学での研究知見を盛り込んだ胚を用いる。農大和牛生産可能な牧場とのすりあわせを行う。肥育完了した和牛を市場に出す。関東畜産や日本ハムなどの会社との連携の下、肉を販売したときの収益性や価格帯を調査する。

3月に分娩した和牛については育成を行う。適時農大和牛の宣伝を行う。

7. 研究成果

肥育牛を11月に出荷した。枝の評価を叙々苑と試食で行い牧草食として良好な評価が得られた。2月には調理した肉を提携予定の牧場、関係団体とともに試食評価した。蔵王牧場、みらいファームと調整を行ったが、仔牛の生産とグラスフェッドでの飼養に問題があった。一方で静岡の‘いでほく’では、胚移植とグラスフェッド作成の話を進めている。静鉄マートで農大和牛の肉販売を行った。また大分のジャージ牧場に農大和牛を紹介し、肉の試食と評価を行った。胚の作成方法で知財申請し、農大和牛については商標登録を行った。農場でのウシの生産は経費がかからず、肥育牛として学生の農場実習にも活用できている。学祭や高校訪問時に農大和牛の紹介をした。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

胚の作製方法の知財化を行った。農大和牛の商法の登録をした。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

牧草食の牛の飼育は、他大（九州大学）でも行い、飼育方法の知財化をしている。

現在広大な草地を持ちグラスフェッドで農大和牛を生産できる農場が、富士宮周辺にあり、契約を締結後、胚を販売しその後の経過の情報収集する必要がある。販売価格や受胎率、子牛の育成状態など、富士のサイレージ食と比較する必要がある。また現在富士農場にいるウシの活用方法を考える必要がある。

10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) Aoki, S., Inoue, Y., Hamazaki, M., Hara, S., Noguchi, T., Shirasuna, K., & Iwata, H. (2024). miRNAs in Follicular and Oviductal Fluids Support Global DNA Demethylation in Early-Stage Embryos. *International journal of molecular sciences*, 25(11), 5872.
- 2) Inoue, Y., Aoki, S., Ito, J., Hara, S., Shirasuna, K., & Iwata, H. (2024). Telomere length determines the mitochondrial copy number in blastocyst-stage embryos. *Mitochondrion*, 77, 101887.

2023年度 東京農業大学 総合研究所プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 篠澤 章久

1. 研究課題名および予算額

研究課題名
ゲノム改変による環境適応能力を高めた作物育種への挑戦

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	篠澤 章久	生命科学部 バイオサイエンス学科・助教	研究統括・データの取得解析
研究分担者	伊澤かな	生命科学部 バイオサイエンス学科・准教授	ゲノム改変の実施・形質評価
	小松 憲治	農学部 生物資源開発学科・准教授	作物資源の提供・形質評価

3. 研究期間

2023年4月1日～2024年3月31日（3年計画の2年目）

4. 研究の背景（当初）

通常の土壌の隙間には空気が存在するが、排水能力を超える雨が降ると空気は水に置換され、土壌中は低酸素状態となる。この状態の圃場では、作物の根は好気呼吸が出来なくなり生育阻害を受ける。このような降雨による土壌中の過剰水分により引き起こされる根圏の酸素不足に起因し、植物が生育阻害を受ける現象を湿害と言う。近年は特に豪雨等による水害の発生件数も増加しており、湿害による畑作物への被害拡大が懸念されている。そのため、畑作物の耐湿性強化は喫緊の課題である。

アブラナは菜種油の原料となる種子を生産する作物である。国内では様々な植物由来の油が生産されているが、菜種油が最も生産・消費されている。しかし、国内での種子生産を目的としたアブラナの栽培は殆ど行われておらず、アブラナの種子は殆どを輸入に頼っている。要因として、アブラナの栽培が、水を保持しやすい元は水田の転換畑で行われること等があげられる。すなわち、アブラナの耐湿性強化が菜種油原料である種子の生産量増加につながると考えられる。本研究では、アブラナの耐湿性強化を分子育種により行う事を目指し、まず、アブラナ耐湿性メカニズムの調査を行う事とした。

5. 研究目的

本研究では、低酸素水耕系を用いて、アブラナ低酸素耐性機構の探索を行う事を目的としている。水耕系を用いる事で、根圏の栄養分・温度・酸素濃度を均一にすること、加えて、根のサンプリングを容易に行う事が可能となる。これにより、RNA-seq による低酸素に応答する遺伝子群の同定も効率的に行える。最終的には、耐湿性強化に使用可能な遺伝子を選定し CRISPR-Cas9 システムによるゲノム編集を行い、作出した個体の耐湿性評価を次世代育種センターで実施する事でゲノム育種へと繋げてゆく事を目指している。

6. 研究（実験）方法

（1）アブラナの生育条件

種子をバーミキュライトに播種し、室温 25℃、明期 16 時間（6:00～22:00）、暗期 8 時間（22:00～6:00）、光量は 180-250 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ で 2 週間培養する。水分はホグランド溶液（無機栄養を含む植物の水耕栽培溶液の一つ）を与えた。続いて、バーミキュライトを根から取り除き、ホグランド溶液による水耕栽培を 2～3 日行った。

（2）低酸素処理

ホグランド溶液に 0.1%の寒天を加え対流による酸素の拡散を抑制した。加えて、窒素バブリングを行い、溶存酸素量を 0.7mg/L 以下まで減少させた。

（3）RNA-seq 解析

根のサンプルには根全体を用いた。低酸素処理は、葉の萎れが最も顕著に表れる 1 時間とした。生物学的反復は 3 とし、3 個体を同じ一つの容器内で培養および処理した。

7. 研究成果

アブラナ根を低酸素の水耕液で処理すると、徐々に葉が萎れ始め、約 1 時間程度でピークに達した。その後、葉の萎れは時間の経過とともに回復し、約 24 時間後には萎れがほとんど回復した。その後、葉の萎れが回復したアブラナを酸素有の水耕液に戻すと、低酸素処理を施していないコントロールと同程度の生育を示した。一方で、葉の萎れが回復した後も低酸素処理を継続した場合、2～3 日後には葉が黄化し、1 週間後には、葉の枯死を伴う著しい生育阻害が観察された。すなわち、アブラナは萎れた葉を回復させる一時的な低酸素耐性機構を有する事が明らかとなった。そこで次に、この現象に関与する分子メカニズムを低酸素に応答する遺伝子群から推察する事を試みる事とした。1 時間の低酸素処理を行った根全体のサンプルを用いた RNA-seq 解析を実施したところ、低酸素に応答して植物ホルモンであるアブシジン酸（ABA）やエチレンの生合成に関与する遺伝子が根で遺伝子発現量が増加する事が示された。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

本研究によって見出されたアブラナの低酸素耐性機構の分子メカニズムが解明され、耐性獲得において主要な役割を果たす遺伝子が明らかになれば、標的遺伝子を対象とした分子育種を行なう事が可能となる。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本解析の実施により、アブラナの低酸素機構への植物ホルモン関与の可能性が見えてきた。そこで今後は、植物ホルモンの ABA やエチレンの生合成系やシグナル伝達系に関与する遺伝子の欠損株を CRISPR-Cas9 システムにより作出し、各遺伝子のアブラナ低酸素耐性機構への役割を調査して行く予定である。調査結果より、分子育種のターゲットとして適切な遺伝子の選定を引き続き行っていく。

10. 公表した成果一覧

学会発表

- 1) 篠澤 章久, 高橋 宏和, 中園 幹生, 松本 隆, 伊澤 かな, 中村 進一 アブラナの湿害に起因する低酸素耐性機構の解析 日本植物学会第 87 回大会 (2023) 1pAD10
- 2) 篠澤 章久, 高橋 宏和, 中園 幹生, 松本 隆, 伊澤 かな, 中村 進一 アブラナの湿害に起因する低酸素応答の調査 日本育種学会第 144 回講演会 (2023) 510
- 3) 篠澤 章久, 横内 望美, 高橋 宏和, 中園 幹生, 伊澤 かな, 中村 進一 アブラナ根の低酸素処理により引き起こされる葉の萎れと回復における ABA の役割の調査 日本植物学会第 88 回大会 (2024) 1pAE11
- 4) 横内 望美, 篠澤 章久, 高橋 宏和, 中園 幹生, 伊澤 かな, 中村 進一 アブラナの低酸素応答における B3-Raf の機能調査 日本育種学会第 146 回講演会 (2024) P167

2023年度 東京農業大学 総合研究所プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 町田 怜子

1. 研究課題名および予算額

研究課題名
Society5.0社会におけるレジリエンス農業の確立に向けた多様な人々の能力を発揮するロボティック・プロセス・オートメーション（RPA）実装の加速化

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	町田 怜子	地域環境科学部 地域創成科学科・教授	統括・UAVによる農福連携の評価・検証
研究代表者 (東京情報大学)	朴 鍾杰	総合情報学部 総合情報学科 情報システム学系・教授	UAVによる農作物認識と多様な人々の補助 AI 作成
研究分担者	田島 淳	地域環境科学部 生産環境工学科・教授	UGV 製作と知能機械システムの開発
	鈴木 伸治	地域環境科学部 生産環境工学科・教授	UGV に搭載する農地土壌環境データの収集・評価
	大見 嘉弘	東京情報大学 総合情報学部 総合情報学科 情報システム学系・准教授	UGV 製作と IoT との遠距離無線通信確立
	斎藤 卓也	東京情報大学 総合情報学部 総合情報学科 情報システム学系・教授	UGV 製作と Deep Learning による知能機械システム
	高畑 健	農学部 農学科・教授	UAVによる農作物認識の農業技術の評価・検証
	下嶋 聖	地域環境科学部 地域創成科学科・准教授	MMS/3D レーザ測量を用いた超高精細農地基盤の解析
	関山 絢子	地域環境科学部 生産環境工学科・教授	UGV に搭載するハイパースペクトル画像解析

3. 研究期間

2023年4月1日～2024年3月31日（1年計画の1年目）

4. 研究の背景（当初）

Society 5.0 で実現する社会は、IoT によるセンサーをインターネットに接続、データを収集・処理・共有することで、生活やビジネスなど様々な分野で新たな価値を生み出す技術革新である。農業分野でも、AI ロボットや MR（Mixed Reality：複合現実）を援用した農業の担い手不足の解消や、多様な人々の就労支援や負担軽減が期待されている。

本プロジェクトは 2021 年度度東京農業大学と東京情報大学との共同研究に採択され、事例が少なかった農地を対象にした UGV 車体開発の基礎的研究や、機械画像を用いた生育ステージの農業カレンダーを自動的作成可能とするアルゴリズム開発に成功した。これまでの研究成果を社会実装化するためにも UGV の自動走行の研究開発や、行動認識による多様な人々の農作業支援 AI 開発の研究をさらに加速化させることが必要である。

5. 研究目的

本研究では具体的に「1. 農地向けの UGV 開発」、「2. UAV による農作物認識と多様な人々の補助 AI 作成」の研究課題を設けた。

さらに、「農業」、「情報」という生活基盤にある分野に取り組む東京農業大学と東京情報大学が連携することによる東京農業大学と東京情報大学が目指すべき農業ロボットの理念やあり方を社会に発信し、学問による社会解決、社会還元を果たすことも重要と考えた。そこで、「3. 50 年後・100 年後の農業とロボットをテーマに農業ロボットと人間、環境と関係性」について研究メンバーで議論し、社会に広くシンポジウム形式で公開し、研究のアウトリーチ活動に展開することもねらいとした。

（1）農地向けの UGV 開発

（担当メンバー：東京農業大学田島・鈴木・関山・下嶋、東京情報大学大見・斎藤）

UGV の研究では、農地向け UGV は開発があまり進んでおらず、あっても高価なものが多く、研究で利用するには障壁が高いという現状がある。今回は、農地の各所から作物の状況をカメラで撮影することでモニタリングする機能を設けた UGV の開発を行う。従来の UGV では、UGV 本体にカメラが固定された状態のものが多く、カメラの高さ等を変えることができない。しかし、作物は背丈や果実等の対象物の高さがまちまちであり、固定カメラであると撮影すべき高さや向きでは撮影できない場合が多い。

そこで本研究では、農地の各所から作物の状況をカメラで撮影することでモニタリングする機能を設けた UGV の開発を行い、RTK 方式による高精度 GPS を用いた UGV の自律走行を実現に向けた技術開発を目的とした。さらに、UGV に搭載する農地土壌環境データの収集・評価した。

（2）UAV による農作物認識と多様な人々の補助 AI 作成

（担当メンバー：東京農業大学高畑・町田、東京情報大学朴）

障害者等の農業分野での活躍を目指す農業と福祉との連携を図る「農福連携」は、農業の後継者不足や、一人ひとりの個性を生かし支えあう農業分野の社会包括支援が期待されている。一方、視覚障がい者や身体障がい者による農福連携の参画事例を支える技術研究はまだ数少ない。

そこで、本研究は「1. 高解像度衛星データとドローン観測データの融合による農作物個別判別」と「2. 脳波と心拍数による視覚障がい者の異常検知アルゴリズム開発」を明らかにし、IoT と人工知能技術を用いて解決を試みることを目的とした。

(3) 東京農業大学と東京情報大学が目指すべき「農業ロボット」のあり方

集中豪雨や干ばつ異常気象、化石燃料をはじめとするエネルギー問題等、厳しくなる中、この地球で持続的な農業を営むための「50年後・100年後の農業とロボット」とあり方をみつめ、農業ロボットと人との関係性や農業ロボット役割について、高校生、大学生、実務の皆様、研究者とシンポジウム形式で議論を深め、本研究成果を広く社会発信することとした。

6. 研究（実験）方法

(1) 農地向けの UGV 開発

(担当メンバー：東京農業大学田島・鈴木・関山・下嶋、東京情報大学大見・斎藤)

① 農地向け UGV 開発

本研究では、カメラの高さと上下の向き（ティルト）を可変できる機構を設け、それらをリモートで制御できる機能を設ける。高さは地上高で 300～1,000mm、向きは $\pm 45^\circ$ を可変できるようにする予定である。今年度は、CLAS と呼ばれる準天頂衛星からの RTK 補正信号を用いた高精度測位方式（図-1,2）に基いた UGV の自律走行を実現に向けた研究を主要課題とする。自律走行は、あらかじめ設定した複数の位置を順に通っていくウェイポイント方式により実現する。また、回転型のレーザーレンジファインダで前方の障害物を検知し、障害物がある場合は停止する機能を設ける。

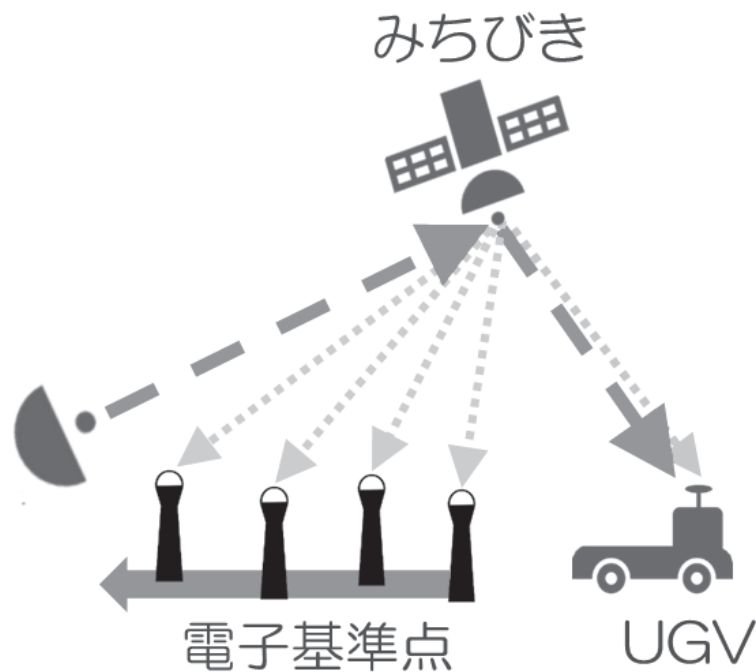


図-1 CLAS の仕組み

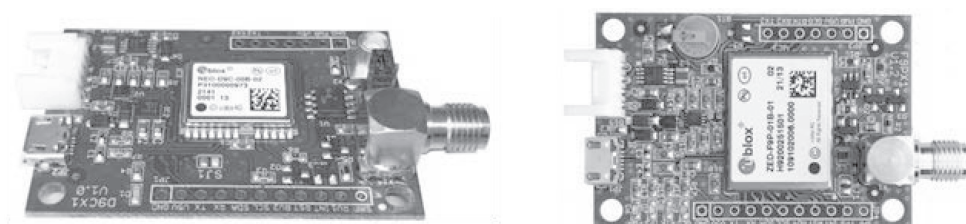


図-2 使用した CLAS 用受信機 (D9C) と RTK 用受信機 (F9P)

② Arsprout Pi を用いた灌水の制御

本研究の農地向け UGV 開発の汎用性を高めるため、Arsprout Pi（アルスプラウト パイ）というシステムを使い、畑の自動灌水装置の作成に取り組んだ。Arsprout Pi とは、Raspberry Pi という汎用性の高いコンピュータで動作する環境計測制御システムであり、wifi（Cloud）を使つてのモニタリングや制御が可能となる。従来の自動灌水システムでは、土壌の種類によって保水性が異なるため、灌水の基準が一定ではなかった。しかし本研究で作成した Arsprout P を用いた水ポテンシャルセンサーで土壌水分を測定し、その情報をもとに灌水制御が可能となる。

(2) UAV による農作物認識と多様な人々の補助 AI 作成

（担当メンバー：東京農業大学高畑・町田、東京情報大学朴）

① 高解像度衛星データとドローン観測データの融合による農作物個別判別

作物ごとの学習した生成モデル適用し超解像度法の画像を生成する。つづけて、マルチスペクトル画像を用いて圃場ごとの作物判別し、判別した圃場作物に対して超解像度法によって解像度のスケールアップする。そして混合解像度モデルによる個別生育ステージ判別する。

② 脳波と心拍数による視覚障がい者の異常検知アルゴリズム開発

視覚障がい者が異常状況に遭遇した場合、脳波と心拍数に変化が生じる。たとえば、視覚障がい者が車両の接近音を聞き、驚きや緊張を感じた場合、脳波の波形が変化と心拍数も上昇することがあります。このように、脳波と心拍数の変化を検知することで、視覚障がい者の異常状況を検知する。異常を検知した場合、システムは自動的にアラートを発し、近くの人や監視担当者にもアラートが送信され、迅速に対応することができる。

(3) 東京農業大学と東京情報大学が目指すべき「農業ロボット」のあり方

（担当メンバー：田島淳、全員）

多くの農業ロボットに関する研究に取り組み豊富な知見を持つ田島教授や研究メンバー同士で研究議論を重ね、東京農業大学と東京情報大学が目指すべき「農業ロボット」のあり方を提示し、これまでの本プロジェクト成果と合わせて研究成果をシンポジウム形式で広く公開した。

7. 研究成果

(1) 農地向けの UGV 開発（大見・鈴木）

UGV の自律走行においては地上の障害物や路面の位置を十分に把握する必要があり、UAV にも増して位置情報の精密さが要求される場合が多い。このため前年度は RTK 基準局を整備した。しかし、RTK 基準局と UGV 間でネットワーク接続をする必要があるため携帯電話網などで通信手段を用意する必要があり手間がかかる。このため、今年度は CLAS による測位の実験を行った。CLAS は準天頂衛星みちびきから送られる補正データに基づいて RTK 測位を行う方式で、ネットワーク接続を必要としない。このため、携帯電話が圏外の場所でも高精度の測位をすることができ、通信料金によるランニングコストが発生しないという利点がある。CLAS を利用した測位の実験結果を表-1 に示す。測位は4階建てのビルに隣接した市街地を想定した場所（地点1）（図-3）と周囲が開けた農地を想定した場所（地点2）（図-4）で行った。周囲が開けた地点2にて RTK の厳密解（Fix 解）になれば、15cm 以内の誤差で測位できることを確認した（ここで言う誤差は標準偏差の2倍（ 2σ ）である）。これは、農地向け UGV で利用するには十分な精度であると考ええる。ただし、本来の精度が出ない Float 解の状態になる場合（頻度は14%）

があり（表-2）、その場合は 50cm 程度の誤差となった。なお、RTK 測位が行えない廉価な GPS 受信機で同様の測定を行うと誤差は 177cm であった。市街地を想定した地点 1 は地点 2 よりも大幅に精度が劣るが、そのような場所を農地とすることは本研究では想定しないものとする。なお、当初予定していたカメラの高さと向きを可変とする機構、および、自律走行の実現には至っておらず、今後の課題とする。



図-3 地点 1（ビルの谷間）



図-4 地点 2（やや開けた場所）

測位方法	地点1(ビル)	地点2(農地)
CLAS(本研究)	49.7cm	11.0cm
DGPS(RTKなし)	141.1cm	27.8cm
廉価GPSレシーバ	297.5cm	177.0cm

表-1 CLAS および他の測位方法による実験結果

地点2で60分間測位	精度	頻度
全体	25.3cm	100%
RTK Fix	14.9cm	86%
RTK Float	51.2cm	14%

表-2 地点 2 での RTK 状態の頻度と精度（測位時間 60 分）

① Arsprout Pi を用いた灌水の制御

本研究の農地向け UGV 開発の汎用性を高めるため、Arsprout Pi（アルスプラウト パイ）というシステムを使い、畑の自動灌水装置の作成に取り組んだ。これにより土壌水分の計測と灌水の制御を可能にした。

(2) UAV による農作物認識と多様な人々の補助 AI 作成

① 高解像度衛星データ（SPOT 衛星解像度：6m、1.5m）とドローン観測データ（解像度：1cm）の融合による農作物個別判別

ドローンリモートセンシングは精密農業に有効であり、圃場から村単位での農作物成長観測には有効である。しかし、市や県などの行政レベルになるとドローン観測による農作物成長観測は不可能に近い。また、高解像度衛星リモートセンシングは圃場単位の農作物判別は有効であるが、作物単位の成長ステー

Arsprout Piを用いた灌水の制御

Raspberry Pi上で
動作する
汎用環境計測制
御システム

モバイル
ルータ



従来の自動灌水システム

- 土壌の種類によって保水性が異なるため、灌水の基準が一定ではなかった



Arsprout
制御ノード

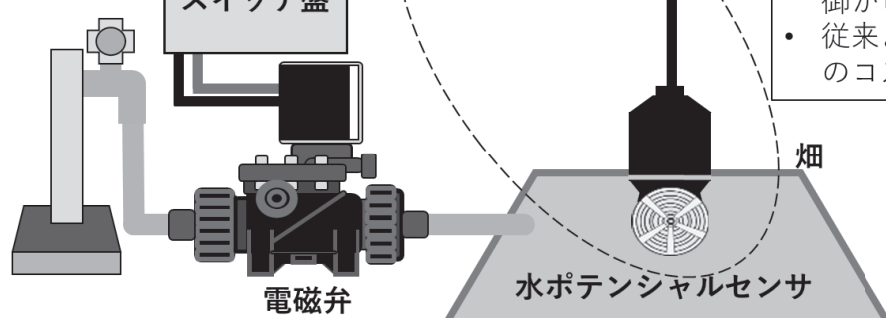
Raspberry Pi

マグネット
スイッチ盤

SDI-12コンバータ

本研究のオリジナリティ

- 水ポテンシャルセンサによる土壌水分の計測と灌水の制御を可能にした
- 土壌の種類によらず、一定の基準で灌水の制御が可能となった
- 従来よりメンテナンスのコストが抑えられる



6

図-5 Arsprout Pi を用いた灌水の制御のシステム

衛星データの超解像度AI

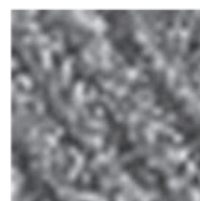
混合解像度モデルによるキャベツ生育ステージ判定



解像度1.5m



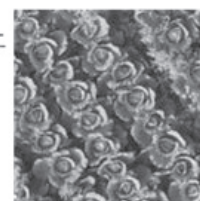
解像度5 cm



解像度5cm



学習モデル向上



解像度0.5 cm

図-6 衛星データの超解像度化と混合解像度モデル

ジ推定は困難である。

本研究は、超解像度生成 AI 技術を用いて解像度 1.5 m の SPOT 衛星画像から見かけ上 5cm の画像を生成する。また、ドローン画像から作成した混合解像度モデルを用いて作物の成長ステージ推定を行うことを目的とする。現在超解像度画像生成モデルによる学習を行った。

② 姿勢情報から安定性と危険性を検知するアルゴリズム開発

農業と福祉の分野が連携し、障がい者などが農業で活躍できるようにする取込である「農福関連」は、農業の後継者不足や、個々の能力を活かして支え合う社会的な農業支援として認識されている。しかし、視覚障がい者や心身障がい者による農福関連事例は少ない。その原因として、障がい者が作業場で働くときに、安全を確保するための管理の難しさがあげられる。そこで、本研究では障がい者の姿勢の安定性を評価し、危険を検知するアルゴリズムの開発を行った。

その結果、AI 姿勢アルゴリズムである MediaPipe の Pose データを用いて姿勢に関する評価を行った。

野球ピッチングフォームの4つの動作

MediaPipeのPose処理



図-7 野球のピッチングフォーム画像と MediaPipe による Pose データセット

表-3 入力データと検出方法を変えた場合の姿勢判断結果

	準備動作	ワインドアップ	コッキング	リリースポイント
原画像によるCNN	14.3	64.3	0	50
姿勢情報+変化特徴量 によるDNN	100	88.2	82.3	81.3
正規化姿勢情報+変化 特徴量によるDNN	100	100	100	93.3

画像データをそのまま解析する CNN (Convolutional Neural Network)、姿勢情報と変化特徴量を用いた DNN (Deep Neural Network)、正規化した姿勢情報と変化特徴量を用いた DNN 法の精度検証を比較した。その結果は表 3 に示す。画像データをそのまま学習した場合の CNN の精度は低く、画像から姿勢情報のみを用いた DNN の方が高い精度を示した。同じ DNN 法でも入力データを正規化することでもっと高い精度を示すことが分かった。

今後の研究としては、時系列画像データを用いて連続的姿勢の判断や行動識別を行う必要がある。そのため、2024 年夏には直接現場に行き、障がい者の行動を動画として記録し解析する予定である。

(3) 東京農業大学と東京情報大学が目指すべき農業ロボット（田島淳）

無人の農作業車両には、正確な位置決め機能も必要ではあるが、農地の大きさは限られていること、種子や肥料、農薬などの資材の搬入、収穫物の搬出が必要である、といった単体の車両では行えない複数の車両が連系した機能が重要である。現在の有人の農業機械システムは、ほとんどの車両が、公道を走り農地で作業を行い、資材の搬送、収穫物の運搬などを行う前提で作られており、また、耕うんに大きな動力が必要なことから、車両に要求されるサイズや速度、その結果必要とされる出力が決められている。そして考えなければならないのは、トラクタを中心とした現在の農業機械システムは化石燃料を使い、人が運転する前提で作られ、100 年という時間を掛けて現在の姿になったということ。脱炭素社会で働く無人の農作業システムでは、このすべてが合理性を欠く可能性がある。そうした観点から、50 年先を見据えて開発するロボットは、栽培方法を含む作業体系を一から見直し、そのすべてを改変することも意識したものとすべきであり、その仕事は農大と情報大とのコラボでなければできない仕事であるとする。

農作業ロボットの可能性

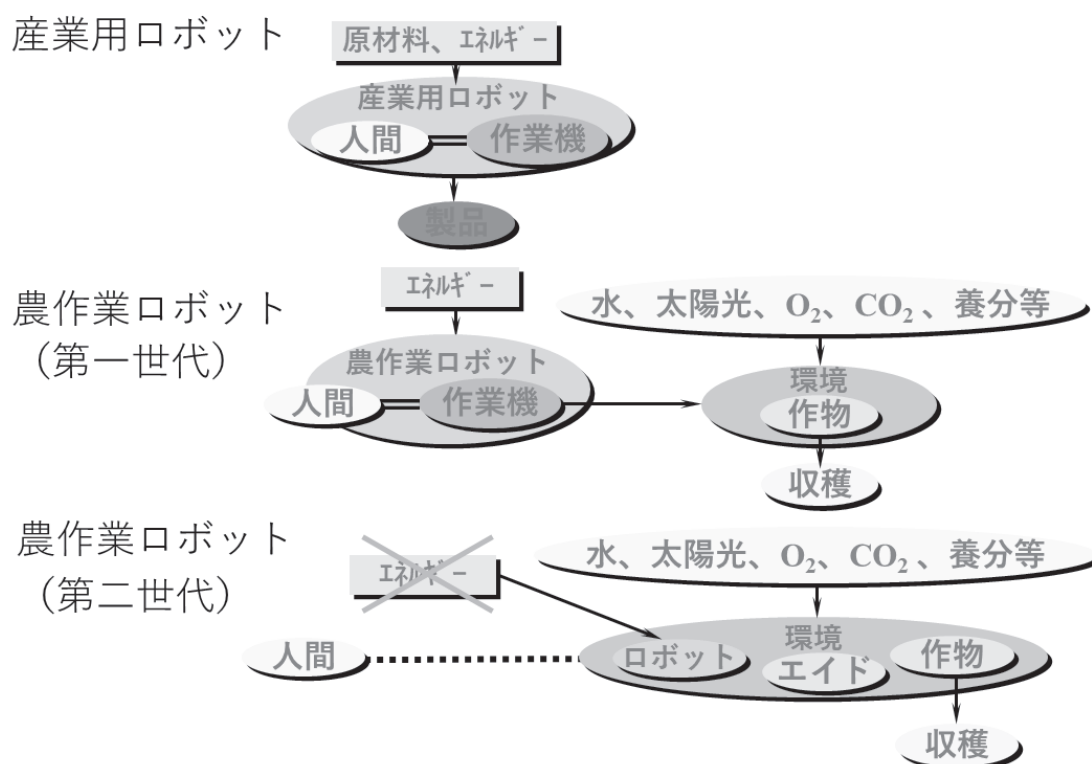


図-8 東京農業大学と東京情報大学が目指すべき農業ロボットのありかた

(4) これまでの本プロジェクトの成果発表

フォーラム「農業とロボット 50年後・100年後の未来」の開催（全員）

2023年12月25日に、東京農業大学×東京情報大学 共同研究 シンポジウム 「農業とロボット 50年後・100年後の未来」を東京農業大学国際センターで開催した（主催：東京農業大学・東京情報大学共同研究プロジェクト（総合研究所プロジェクト）共催：東京農業大学総合研究所研究会 食と農の環境工学研究部会）。

開催形式は対面とオンラインとのハイブリット開催とし、企業、東京農業大学、東京情報大学、東京農業大学の様々な学科の学生達、そして、全国の高校の教員・高校生ら100名以上が参加した。

開催にあたり、東京農業大学副学長 東京農業大学総合研究所 所長矢嶋俊介教授より2021年から始まった東京農業大学と東京情報大学の共同プロジェクトの紹介、両者が知恵を出し合い社会課題解決を導く研究の意義、さらに、総合研究所研究会との共催により、企業とも協働した社会実装への期待についてお話いただいた。

東京農業大学生産環境工学科 田島淳教授による基調講演「農業とロボット」では、環境問題や化石燃料をはじめとするエネルギー問題等が深刻となる中、①農業ロボットの可能性、②未来の耕うん、③人の幸せとロボットの観点から、土・水・生態系と共に過ごすロボットと農業のあり方、そして私たち人間の関わり方を提示していただいた。

農業 UGV 開発・スマート農業の最新研究の紹介では、農研機構農村工学研究部門 農地基盤情報研究領域農地整備グループ 岩田幸良氏から「農研機構におけるロボット研究の取り組み：ロボットが活躍できる環境整備とスマート農業」をご紹介いただいた。

本プロジェクトの成果として、東京情報大学・総合情報学部総合情報学科情報システム学系大見嘉弘准教授による「低コストの農地向け UGV（無人走行車両）開発を目指した技術研究」、東京情報大学・総合情報学部総合情報学科情報システム学系鍾杰教授による「UAV（ドローン）による農作物認識と多様な人々の補助 AI 作成」の研究を発表した。

パネルディスカッション「農業とロボット 50 年後・100 年後の未来」では、生産環境工学科鈴木伸治教授のコーディネートのもと、本プロジェクトメンバーが登壇した。ゲスト登壇者・本学農学科卒業生合同会社めえもんけえ吉田農園 代表 吉田 忠弘氏からは農業現場が抱えている生産・流通の課題解決に向けたスマート農業への期待が寄せられた。本プロジェクトチームのメンバーからは、人工知能や画像認識技術の急速な進歩による最先端の研究動向、ICT 技術による障害へのサポートによる農福連携技術の革新が紹介された。そして、50 年後・100 年後の農業とロボットとして、ロボットや AI を活用した環境に配慮した持続型農業の推進、傾斜のある中山間地域に小型農業ロボットが参入することによる社会解決の可能性など、柔軟性ある農業ロボット開発のあり方が議論された。

最後に、東京農業大学総合研究所研究会食と農の環境工学部会中村好男部会長よりジンポジウムの総括と、農業ロボットが農業収益の貢献に加えて外来種問題や治水等、農業が持つ総合的な課題解決にも対応できる姿を示していただいた。

情報交換会では参加者の皆様と交流を深め、東京情報大学総合情報学部長圓岡偉男教授より、東京農業大学と東京情報大学の「農業」、「情報」という私たちの生活基盤にある大学が連携した学問による社会還元の重要性についてコメントを頂いた。

なお本フォーラムは学外からの反響が大きく、フォーラム報告書を作成し関係者に配布した。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特になし

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本研究で開発したスマート農業の社会実装を図る上で研究課題も残され、その展開に向けた研究データの蓄積と研究推進方策が今後の課題となった。

10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) 朴 鍾杰 (2024) ドローン観測によるキャベツの生育ステージ推定学習モデルの提案 東京情報大学研究論集 Vol.17, No.2, pp1-10

学会発表

- 1) JongGeol Park, (2023) Growth stage Determination of Cabbage by Deep Learning International Symposium on Remote Sensing, Jeju, Korea

2023年度 東京農業大学 総合研究所プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 望月 洋孝

1. 研究課題名および予算額

研究課題名
起業家精神を育む教育プログラムの効果に関する研究

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	望月 洋孝	国際食料情報学部 国際食農科学科・准教授	研究統括 調査・報告書作成責任者
研究分担者	大浦 裕二	国際食料情報学部 食料環境経済学科・教授	教育プログラムの設計・実査 教育効果の計量的分析
	原 温久	国際食料情報学部 国際食農科学科・准教授	教育効果の計量的分析
	草野葵実子	国際食料農業科学研究科 農業経済学専攻・博士前期課程2年	調査および分析
	滝川 善貴	総合研究所・客員研究員	教育プログラムの設計・実査
	玉木 志穂	総合研究所・客員研究員	調査および分析

3. 研究期間

2023年6月7日～2024年3月31日（1年計画の1年目）

4. 研究の背景（当初）

我が国の実質 GDP 成長率は、1990 年代以降、平均すると 1% に満たない低成長となっており、このような状況を打破するためには経済活動を営む企業の存在が必要不可欠である。ただし、企業に寿命がある以上、新しい企業が生まれなければ、経済活動の担い手である企業数は減少する。また、産業にも栄枯盛衰があり、成長分野の一定割合が新規企業によって担われるとするならば、創業が少ないことは成長分野の担い手が不足することにつながる。このような場合、仮に豊富な事業機会があっても、その実現が危ぶまれるのである。

しかし、わが国の起業活動は、世界各国と比較して高水準にあるとはいえ、起業家精神の高揚が重要な課題となっている。米国や欧州と比べると、日本の開業率は低い水準で推移している。「起業」を望

ましい職業選択と考える人の割合は、中国は 79%、米国は 68%であるのに対し、日本は 25%となっており、これは先進国・主要国の中で最も低い水準にある。また、日本国内の大学（学部・修士）におけるアントレプレナーシップ（起業家精神）に関する受講者は 3 万人となっており、対象学生である 300 万人のうち 1% の学生にしか提供がされていない状態である。そして、起業家 133 社が日本で起業が少ないと考える原因として、失敗に対する危惧（37.6%）、身近に起業家がない（19.5%）、学校教育（15%）と回答をしている。

東京農業大学内では、「グローバルで食料生産向上に挑戦する高度人材養成包括的プロジェクト」による課題解決力の醸成ワークショップや、うつせみテクノをはじめ、Agnavi、HAYAMI などのプロダクト開発より起業が少しずつ増え始めている。一方で、大学発のスタートアップ創出を「1 大学につき、50 社の起業、1 社はエクジットを目指そう」という運動を日本政府が掲げており、まだまだ起業家数及び起業をする文化の醸成が未発達な状況である。

5. 研究目的

そこで、本研究では、起業家精神の向上の程度を計測し、効果の内容と今後の教育プログラム内容に関する課題を明確にすることを目的とする。

6. 研究（実験）方法

企業家精神を育成する農業教育プログラムの効果を検証するために、a. 農業教育、b. 農業実習、c. 販売実習の 3 つを組み込んだ農業教育プログラムを設定した。同プログラムに参加する前にアンケート調査によって起業家精神等の意識の程度を把握し、同プログラム参加後に同じ質問をして、それぞれの変化を確認した（図 1）。

a. 農業教育では地域農業への理解、b. 農業実習では就農に対する起業家精神、c. 販売実習では販売実習ではフードシステムへの理解の意識が高まることを想定し、既存研究を参考にしながらそれぞれの変化を把握するための質問項目を設定した。

また、それらとは別に（農業に限定しない）起業家精神の変化を把握する質問と総合的な就農に対する意欲に関する質問を設定した。

なお、参加する学生は東京農業大学の学生を対象に募集を募り、5 人の学生でプログラムの検証が行われた。

7. 研究成果

本研究の成果を検討するために「回答者の属性」、「就農に対する意欲」、「農業への理解」、「就農に対する起業家精神」、「フードシステムへの理解」、「起業家精神」に注目し、プログラム体験者に対して、参加前、参加後に表 1 から表 7 のような項目を設定してアンケート調査を行った。

また、表 8 は、農業研修による変化について、プログラム体験者の自由回答記述となっている。その結果を踏まえ、研究成果について述べる。

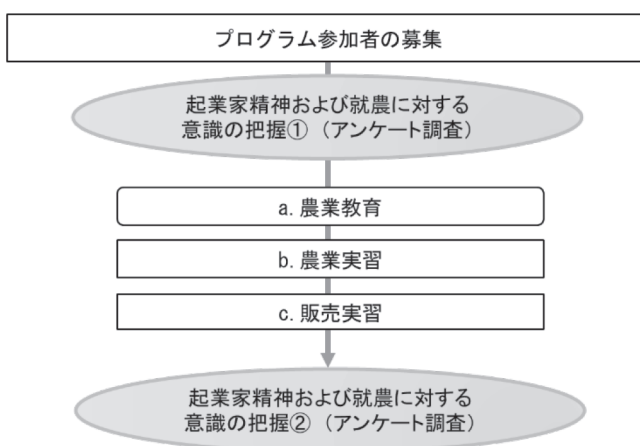


図 1 本調査の流れ

表1 回答者の属性

	A	B	C	D	E
年齢	20歳	21歳	20歳	20歳	21歳
性別	男性	男性	女性	女性	女性
これまでの農業研修への参加経験 (およその日数で質問)	8～30日	1～7日	1～7日	8～30日	1～7日
家族に農業従事者はいるか？	いない	いる	いない	いない	いる
家族に事業経営者はいるか？ (農業を含む)	いない	いない	いない	いない	いる
新規独立での就農を検討したことがあるか？	ない	ある	ない	ない	ない

表2 就農モチベーション

	参加前	参加後	絶対値0.8以上の 変化があった 項目に↑or↓
(1) 大学卒業後、農業所得で生活し、職業としての農業を目指したいと思う	2.0	1.6	
(2) 新規就農した経営者に会ったり、体験談を直接聞いてみたいと思う	3.0	3.2	

1「全くそう思わない」～ 4「とてもそう思う」の4件法で回答を求めた

表3 6次化事業遂行セルフ・エフィカシー

	参加前	参加後	絶対値0.8以上の 変化があった 項目に↑or↓
(1) もし、大学卒業後、農家というキャリアを歩んだ場合、農業で生活していくこと	1.4	1.8	
(2) 農業の知識を学ぶこと	3.2	3.2	

1点「全く自信がない」～ 4点「非常に自信がある」の4件法で回答を求めた

表4 地域農業への貢献意識

	参加前	参加後	絶対値0.8以上の 変化があった項目に ↑or↓
(1) 地域雇用の創出	3.8	3.6	
(2) 地域の認知度・評価の向上	4.4	4.0	
(3) 地域ブランドの創出	3.8	4.4	
(4) 地域農家の刺激となる	3.6	3.4	
(5) 地域の農地集積	3.8	3.4	
(6) 地域経済活性化(自社売上拡大による)	4.4	4.4	
(7) 高付加価値化等、地域の新たな農業事業創出	4.0	4.0	
(8) 地域の耕作放棄地の解消	4.2	4.2	
(9) 地域内でのネットワークの形成	3.4	3.2	
(10) 地産地消の推進	4.0	4.0	
(11) 地域活動(イベント等)の活性化	4.4	3.6	↓
(12) 地域の生産技術等ノウハウの集積と向上	4.0	3.4	
(13) 地域の農業資材・食品等、農業関連産業の売上向上	4.4	4.4	
(14) 地域農畜産物の消費・利用拡大	4.0	4.0	
(15) 地域経済活性化(自社以外の売上拡大の波及効果による)	4.6	3.8	↓
(16) 地域農家の販路開拓	4.4	3.6	↓
(17) 地域への来訪客の増加(直売所・グリーンツーリズム等)	4.6	4.2	
(18) 地域バイオマス資源の利用(食品残さや堆肥等)	3.8	4.2	

1点「貢献したいと思わない」～ 5点「貢献したいと思わない」の5件法で回答を求めた

表 5 潜在的経営志向

	参加前	参加後	絶対値0.8以上の変化があった項目に ↑ or ↓
(1) 社会情勢の変化を予測する能力	4.6	4.2	
(2) あらゆる情報を収集する能力	4.0	4.8	↑
(3) 計画を作り着実に実行する	3.6	3.8	
(4) 効率性や合理性を考えて行動する	4.6	4.4	
(5) 計算や統計表、グラフを読む能力	3.6	4.8	↑
(6) 状況を分析して次の行動に応用	5.0	4.8	
(7) 顧客や取引先への適切なマナー	4.8	5.0	
(8) 優れた農業技術	3.8	3.6	
(9) 農業に対する強い志と信念	4.6	5.0	
(10) 社会に対する強い使命感と責任感	3.6	3.2	
(11) 経営発展に貢献する目標の設定	4.2	4.6	
(12) チャンスに挑戦する姿勢	4.4	4.4	
(13) 自分からリスクをとる姿勢	3.0	3.4	
(14) 統率力・リーダーシップ	3.0	2.8	
(15) ときには他者と競争する	3.4	3.8	
(16) 社会の変化を先取りした行動力	3.8	4.6	↑
(17) 農業や農業以外への強い好奇心	4.4	4.6	

表 6 販売することに対する意識

	参加前	参加後	絶対値0.8以上の変化があった項目に ↑ or ↓
(1) 野菜などの農産物を加工して、新しい商品を開発すること	2.6	2.6	
(2) 農産物を使った新しい商品開発のために必要な知識や情報を、加工業者などの方々から得ること	3.8	3.8	
(3) もし、自分で農産物を使った新しい商品を開発した場合、それを販売して利益を得ること	3.2	2.8	
(4) もし、自分で農産物を使った新しい商品を開発した場合、それを販売するために必要な知識や情報を、流通業者などの方々から得ること	3.2	3.0	

1 点「全く自信がない」～ 4 点「非常に自信がある」の 4 件法で回答を求めた

表 7 起業家精神

	参加前	参加後	絶対値0.8以上の変化があった項目に ↑ or ↓
(1) 今後6 ヶ月以内に、自分が住む地域に起業に有利なチャンスが訪れる	1.6	1.2	
(2) あなたは新しいビジネスを始めるために必要な知識、能力、経験を持っている	1.4	1.6	
(3) あなたは失敗することに対する怖れがあり、起業を躊躇している	3.6	4.4	↑
(4) 日本でビジネスを始めるのは簡単である	1.6	2.0	
(5) あなたは、あなたにとって経験豊かで詳しい分野であっても、そこに事業機会やビジネスチャンスを見出したりはしない	2.4	3.0	
(6) あなたは、利益が得られる事業機会やビジネスチャンスを見ても、それを利用したり活用したりすることはほとんどしない	2.8	3.2	
(7) あなたの周りにいる人たちは、あなたが非常に創造的な人であると考えている	2.2	1.8	
(8) あなたはあなた自身の長期のキャリアプランを考えた上で、すべての決断を行っている	2.0	2.4	

そう思わない1点～そう思う5点として回答を求めた

表 8 農業研修による変化

Aさん	過去の経験にプラスし先進的な機械導入をした農業にふれることで、さらに農作業へと駆り立てる気持ちが高まった
Bさん	デメリットをうまく活用している発想に感化され、無駄になってしまうものを有効活用できないかと考えるようになり、ビジネス的に模索するようになった
Cさん	基準を厳しくし高品質を保つことは大事だが、その厳しい基準の中でも基準に見合うものをたくさん作る方法の模索や基準に当てはまらなかったものをいかに販売していくかなどビジネス的な発想や経営に対する効率化を意識するようになった
Dさん	生産だけでなく販売時の状況を知ることにより、収穫や袋詰めの見栄えなども考えることができるより、消費者により購入してもらおう工夫をするなどビジネスの発想が生まれた
Eさん	新しい技術や農法、それに関わる工夫のしがいがある点から農業の楽しさと可能性を感じ、農業経営や農業との関わりについて改めて考えることにつながった

本調査の結果、総合的な就農に対する意欲に大きな変化はみられなかった。しかし、就農に対する起業家精神の項目では、就農することに対して「あらゆる情報を収集する能力」「計算や統計表、グラフを読む能力」「社会の変化を先取りした行動力」を重要だと思う意識について上昇がみられ、社会の情報を収集する能力を習得しようとする意識が高まったといえる。

一方で、表7において、起業家精神を把握する「あなたは失敗することに対する怖れがあり、起業を躊躇している」という項目が上昇し、先述の通り、総合的な就農に対する意欲に大きな変化はみられなかったことを踏まえると、就農に対する意識が必ずしも高まるとは言えず、同プログラムの効果は限定的であったといえる。

ただし、起業を躊躇する気持ちが高まり、社会の情報を収集しようとする意識が高まったことから、社会教育プログラムとしての効果が部分的にみられたとも解釈できる。

また、農家と学生を繋げるプラットフォームである「Farm Contact」の基本設計を行うとともに、基本的な機能についてソフトウェア化した。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特になし

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

起業に対する意識として躊躇する意識が高まったことから、（農業とは関わらず）起業家精神を育成する実習（ベンチャーカフェ）をプログラム内に組み込む。

また、今年度の調査は5人の学生を対象に行った成果であることから、多くの学生に適用されるとは言い難い。次年度では参加者数を確保し、参加者を2～3群に分けて、RCT（ランダム化比較試験）を実施することが本プログラムの効果を検討するうえで必要不可欠といえる。サンプルサイズを大きくしたうえでのプログラムの検証は今後の課題としたい。

10. 公表した成果一覧

学術論文：特になし

学会発表：特になし

2023年度 東京農業大学 総合研究所プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 寺田 順紀

1. 研究課題名および予算額

研究課題名
フィリピン産バナバ（オオバナサルスベリ）の遺伝資源収集、増殖、コロソリン酸抽出および SSR マーカーを利用した多様性解析に関する共同研究

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	寺田 順紀	国際食料情報学部 国際農業開発学科・助教	現地調査・全体取りまとめ
研究分担者	矢島 新	生命科学部 分子生命化学科・教授	配糖体の構造解析
	下口 ニナ	国際食料情報学部 アグリビジネス学科・准教授	バナバの普及・雇用創出
	小塩 海平	国際食料情報学部 国際農業開発学科・教授	有用成分の抽出・精製
	細田 浩司	生命科学部 分子微生物学科・准教授	糖尿病抑制効果の検証

3. 研究期間

2023年7月13日～2024年3月31日（1年計画の1年目）

4. 研究の背景（当初）

タガログ名：バナバ（オオバナサルスベリ、*Lagerstroemia speciosa* L.）はフィリピンにおいて千年以上もの永きにわたって伝統的に栽培され、民間薬として活用されてきた。その効用は糖尿病をはじめ、肥満、便秘、皮膚病など広範囲にわたっており、とくに2型の糖尿病に対して有効的であることが知られている。2型糖尿病は先進国だけでなく途上国においても急増する傾向にあり、2010年から2030年にかけて、成人の場合、先進国では20%、途上国では69%の増加が予想されている。フィリピンの場合、現在の成人の糖尿病患者数は3000万人に及んでいる。慢性疾患であるがゆえに、合併症を含めた治療に要する医療費は長期間に亘って高額になり、経済的な対策は焦眉の急を要する課題である。高度な先端医療などに要するコストを削減しつつ、健康で文化的な生活を維持するためには、医食同源の言葉の通り、天然物由来の安全かつ有効な機能性食品の開発が有効である。

糖尿病に対する有効成分は、葉に含まれるトリテルペンのコロソリン酸であることが知られているが、フィリピン国内に在来するバナバのコロソリン酸含量を指標とした品種の多様性に関する知見は皆無である。また2型糖尿病を抑える関連製品の開発が期待でき、糖尿病という社会問題解決の可能性を有す

るにも拘わらず、増殖方法やコロソリン酸の効率的な抽出方法など産業化に向けて解決すべき課題が認められ、フィリピンの人々が有効的に利用できる体制が整っていない現状がある。

5. 研究目的

本研究は東京農業大学と協定校であるフィリピン大学ロスバニョス校（University of the Philippines Los Baños：UPLB）との共同研究によって、フィリピン第4地域（Cavite, Laguna, Batangas, Rizal および Quezon 地域）におけるバナバの遺伝資源収集および SSR（Simple Sequence Repeat）マーカーによる多様性解析を行い、コロソリン酸含量の多い品種をスクリーニングかつ増殖し、効率的かつ環境にやさしい方法でコロソリン酸を抽出し、日本・フィリピン両国をはじめ、広く世界中の糖尿病患者に資する技術を創出するためのものである。

今回、UPLB キャンパス内および周辺地域を対象に、遺伝資源の現地調査を行うとともに、UPLB キャンパス内圃場でのバナバコレクション創出のための協力体制を整える。さらに現地で採取したバナバのコロソリン酸分析体制を UPLB キャンパス内に構築することを目的とした。

6. 研究（実験）方法

（1）フィリピン産バナバの遺伝資源調査（担当：寺田）

本年度 UPLB が保有する HPLC を使用し、コロソリン酸をフィリピンで定量できる環境を構築し、UPLB 側とのスムーズな共同研究体制の確立を試みた。また UPLB が保有する異なる系統のバナバおよび UPLB 周辺にてバナバの遺伝資源調査を行った。また収集したサンプルについて分子植物育種研究室の教授アントニオ・ラルシン氏および助手のセシリア・アルモンテロ氏とともに SSR に基づく遺伝子マーカーによるバナバの多様性解析および分類を行う方法の確立を試みた。

（2）バナバからのコロソリン酸の抽出および精製方法の改善（担当：小塩、寺田）

熱帯園芸学研究室が保有する沖縄県産のバナバ葉内のコロソリン酸含有量の位置別の含量および日内変動の調査を行い、有効成分が最も多い場所および蓄積が最大となる時間帯と最も低くなる時間帯を明らかにし、最も効果的にコロソリン酸が得られる収穫時間の検討およびコロソリン酸配糖体含有量が最も高い時間帯の予測を試みた。

（3）バナバ抽出液添加食品やバナバ茶の製造、販売などによる現地女性の雇用創出の検討（担当：寺田、下口）

バナバ抽出液添加食品やバナバ茶の製造、販売を通じて地元女性の雇用創出をどのように進めるべきかの方向性を得るためにバナバの現地における利用状況と栽培状況を調査した。バナバが自生または栽培されている地域を訪れ、現地の栽培方法や収穫の実情を調査するとともに、地元の栽培者がバナバをどのように利用しているかについての概況を調査した。また地元市場やスーパーでバナバ製品の販売状況を調査し、バナバ製品に対する需要についても調査した。

7. 研究成果

（1）フィリピン産バナバの遺伝資源調査（担当：寺田）

2023 年 9 月 14 日から 9 月 25 日までフィリピンに渡航し現地調査を行った。対象地域は UPLB のキャンパス内および周辺部、バナハウ山東側ルクバン周辺、バナハウ山西側サンアントニオ周辺、バナハウ

山南側カンデラリア周辺とし、バナバの位置情報と形態的特徴を記録した（図1）。

その結果街路樹として積極的に植栽されているバナバと樹齢数十年以上の大木として存在するバナバに大別され、それぞれの花および果実の大きさ、葉の大きさ色が異なることが明らかとなった（図2、図3）。またバナバ UPLB の農学部 Ornamental Crops Nursery (OCN) のサンチェス氏によると街路樹として植えられるバナバは鑑賞用花色がピンクで花付きがよく、矮性のものが OCN によって選抜され普及、植栽されているとの情報を得た（図2）。



図1 2023年9月14日から9月25日におけるバナバの調査地



図2 街路樹として植栽されているバナバ（左）と樹齢数十年のバナバの大木（右）
UPLB キャンパス内で撮影



図3 葉の先端が赤くなるバナバ系統

これらの地域で採取した葉は UPLB 内の実験室で凍結乾燥し、保存し、現在分子植物育種研究室の助手のセシリア・アルモンテロ氏によって多様性解析および分類を行う方法の確立を試みている。

また UPLB キャンパス内で採取した葉を用いて分子植物育種研究室が保有する HPLC を使用し、現地でコロソリン酸の定量できる環境の構築を行なった。さらに今後の共同研究の協力体制および UPLB キャンパス内圃場でのバナバコレクション創出のため、UPLB 副学長ロナルド氏、農業食料大学学部長のア

ゲビスト氏、OCN サンチェス氏、作物研究所ディレクターオカンポ氏、植物育種研究所クエバ氏などと会談を行なった。

(2) バナバからのコロソリン酸の抽出および精製方法の改善（担当：小塩、寺田）

保有する沖縄県産のバナバを用い葉位によってコロソリン酸含量の違いおよび一枚の葉の中におけるコロソリン酸の分布を明らかにした。またコロソリン酸含量の日時変動を調査した。

(3) バナバ抽出液添加食品やバナバ茶の製造、販売などによる現地女性の雇用創出の検討（担当：寺田、下口）

今回の調査地で共同研究者の紹介のもと現地におけるバナバの利用に関する聞き取り調査の結果、バナバは主に葉ではなく樹皮を煮出して、下痢・吐き下しに対する民間薬として多く利用されることが明らかとなった（図7、図8）。またホームガーデンにあるバナバの木においても樹皮が採取されている痕跡を複数確認した。



図7 ホームガーデンとして栽培されているバナバの調査の様子



図8 バナバの樹皮を採取した痕跡

一方で比較的大型のスーパーや健康食品店ではバナバ茶やバナバパウダーなどの商品が他の商品と一緒に陳列されていることを確認した（図9、図10）。



図9 フィリピンのスーパーマーケットで売られているバナバ茶



図10 フィリピンの健康食品店で売られているバナバ葉パウダー

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

(1) 2023 年度 さくら招へいプログラム 共同研究活動コース

「フィリピンの民間薬バナバを有効利用した糖尿病軽減に関する日本・フィリピン共同研究」

受付番号：S2023F0500497 招へい期間：1 月 21 日～2 月 9 日

本研究に関わる若手研究者・教員計 10 名を日本に招聘し、本プロジェクトの成果と、今後の共同研究および技術開発をよりスムーズに進めるための意見交換および分析技術の共有を通じた交流を行なった。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

(1) フィリピン産バナバの遺伝資源調査（担当：寺田）

今後は UPLB の作物学研究所と協力し、引き続きフィリピン第 4 地域においてバナバの遺伝資源収集を行う。また収集した遺伝資源についてコロソリン酸のルーティン分析、および SSR に基づく遺伝子マーカーによるバナバの多様性解析および分類を行う方法の確立を試みる。SSR マーカーによる多様性解析を行い、遺伝資源データベースを構築する。増殖法については国際農業開発学科熱帯園芸学研究室が MOU を結んでいる植物育種研究所（IPB-CAFS）からミッシェル・ライカ氏に組織培養による大量増殖法の検討について協力を得る。

(2) バナバからのコロソリン酸の抽出および精製方法の改善（担当：小塩、寺田）

コロソリン酸は水に溶けないため、これまでコロソリン酸の生産は大量の有機溶媒を用いて抽出されていたが、配糖体の存在を明らかにすることができれば、熱水での抽出やグルコシダーゼやナリングナーゼ処理などによって、より環境に優しく、効率的な抽出・精製方法が確立できる。

今年度の実験によって得られた結果をもとに、原産国であるフィリピンにてバナバ葉内のコロソリン酸含有量および β -グルコシダーゼの日内変動について調査し、コロソリン酸の蓄積が最大となる時間帯と、配糖体が存在しうる時間帯を明らかにし、最適な収穫時間を検討する。日内変動は 1 時間ごとにサンプリングし 24 時間通して行う。

(3) バナバから抽出したコロソリン酸配糖体の同定および構造解析（担当：寺田、矢島）

2. の実験の後に、コロソリン酸配糖体含有量が最も高い時間帯と予測された時間に収穫した葉を用いて、高極性溶媒もしくは熱水抽出物を逆相カラムで分画したのちに、それぞれの画分について酸による加水分解処理を行い、コロソリン酸が生成する画分を特定する。コロソリン酸が得られた画分は HPLC を用いてさらに分取精製を行い、NMR（Nuclear Magnetic Resonance）を用いて構造解析を行うことでコロソリン酸配糖体の構造を明らかにし、コロソリン酸の効率的な生産に繋げる。

(4) バナバから抽出したコロソリン酸および配糖体の 2 型糖尿病への効果（担当：細田）

バナバのコロソリン酸および配糖体を免疫系のマクロファージ細胞株や脂肪細胞株に投与し、抗炎症効果を明らかにする。またお茶として摂取した場合の有効性とコロソリン酸および配糖体の含有量の関係を明らかにし、バナバの糖尿病軽減効果について、多面的に検討する。

(5) バナバ抽出液添加食品やバナバ茶の製造、販売などによる現地女性の雇用創出の検討（担当：下口）

バナバ抽出液を利用した血糖値の上がりにくい食品やバナバ茶をつくることにより、先進国をはじめ、

フィリピンをはじめとする途上国に存在する糖尿病患者およびその予備軍と見なされる人々に、安全・安心な製品を提供する方法を模索する。現地女性の雇用を生み出し、UPLB や東京農大の研究者の交流を通して、顔の見える国際協力体制の確立を目指す。

10. 公表した成果一覧

学術論文：特になし

学会発表：特になし

2023年度 東京農業大学 総合研究所プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 田留 健介

1. 研究課題名および予算額

研究課題名
公立図書館における高齢者の認知機能に働きかける一斉音読イベントのプロトコール開発

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	田留 健介	学術情報課程・准教授	全工程を統括する役割
研究代表者 (東京情報大学)	高柳千賀子	看護学部・准教授	東京情報大学看護学部を統括。音読会に参加し、音読会導入コンテンツ案の作成
研究分担者	村上篤太郎	学術情報課程・嘱託教授	音読会に参加。音読会参加図書館と連絡調整し、当該図書館員へのヒアリング
	棚橋 佳子	学術情報課程・嘱託教授	文献調査。音読会に参加し、図書館員へのヒアリング
	金子 仁子	東京情報大学 看護学部・教授	音読会に参加し、図書館員へのヒアリングと、音読会導入コンテンツ案作成
	石井 優香	東京情報大学 看護学部・助教	音読会導入コンテンツ案作成
	児玉 悠希	東京情報大学 看護学部・助教	図書館員へのヒアリング項目作成
	芳賀 邦子	東京情報大学 看護学部・助教	音読会導入コンテンツ案作成

3. 研究期間

2023年6月29日～2024年3月31日（1年計画の1年目）

4. 研究の背景（当初）

我が国の総人口約1億2,550万人（2020年10月1日現在）に占める高齢者（65歳以上）人口は3,621万人である。総人口に占める高齢者の割合（高齢化率）は約28.9%¹⁾で、これは世界で最も高い水準である²⁾。

他方で、我が国の認知症高齢者数は、2012年で462万人と推計、2025年には約700万人、65歳以上

の高齢者の約 5 人に 1 人に達することが見込まれている。今や認知症は誰もが関わる可能性のある身近な病気でもある³⁾。

このように高齢者に多く見受けられる認知症に対して、厚生労働省による「認知症施策推進総合戦略（新オレンジプラン）」（2015）において、次のような具体的な施策が、掲げられていた³⁾。

- I 認知症への理解を深めるための普及・啓発の推進
- II 認知症の容態に応じた適時・適切な医療・介護等の提供
- III 若年性認知症施策の強化
- IV 認知症の人の介護者への支援
- V 認知症の人を含む高齢者にやさしい地域づくりの推進
- VI 認知症の予防法、診断法、治療法、リハビリテーションモデル、介護モデル等の研究開発及びその成果の普及の推進
- VII 認知症の人やその家族の視点の重視

同戦略には、「図書館」の記載は無いが、特に、「V 認知症の人を含む高齢者にやさしい地域づくりの推進」において、現在、「地域の情報拠点」として、地域づくりには欠かせない公立図書館を公共施設として含めるべきである。現に、公立図書館では、認知症に関する様々な取組（認知症図書展示コーナーの設置、ブックリスト、相談機関を掲載したリーフレットやパスファインダー、チラシ等を配付、認知症の人を支える家族会の刊行物の配付、音読会など）が行われている。

2018 年には認知症施策推進関係閣僚会議が設置され、2019 年には「認知症施策推進大綱」を閣議決定した。同大綱の具体的な施策における普及啓発・本人発信支援において、認知症に関する理解促進として、図書館についての記述として、「認知症に関する情報を発信する場として図書館も積極的に活用する。認知症コーナーを設置する等の先進事例を普及する。」とある⁴⁾。政府が策定した認知症施策の枠組みの中に図書館の活用が記載された効果は大で、これによって、認知症の関連機関から図書館が連携・協力するパートナーとして認識されるようになったと考えられる。

他方で、高齢化の中で人口減少が進行している我が国では、福祉ニーズも多様化・複雑化してきており、人口減による担い手不足や、血縁、地縁、社縁といったつながりが弱まっている現状を踏まえ、人と人、人と社会がつながり支え合う取組が生まれやすいような環境を整える新たなアプローチが求められている。このことが、「地域共生社会」の実現を目指すものである。「地域共生社会」とは、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参画し、人と人、人と資源が世代や分野を超えてつながることで、住民一人ひとり（子供・高齢者・障害者など全ての人々）の暮らしと生きがい、地域をともに創っていく社会である⁵⁾。

「社会福祉法」、「介護保険法」等の既存の法律を基盤にしながら、地域住民の多様で複雑な支援ニーズに対応する包括的な支援体制を整備する新しい事業に資金支援を行い、関係法律の整備を進めるため、「地域共生社会の実現のための社会福祉法等の一部を改正する法律」が 2020 年に公布された。その改正の趣旨は、地域共生社会の実現を図るため、①地域住民の複雑化・複合化した支援ニーズに対応する市町村の包括的な支援体制の構築の支援、②地域の特性に応じた認知症施策や介護サービス提供体制整備の推進⁶⁾、等であった。

また、団塊の世代が 75 歳以上となる 2025 年以降は、国民の医療や介護の需要が、さらに増加することが見込まれている。このため、厚生労働省においては、2025 年を目途に、高齢者の尊厳の保持と自立生活の支援の目的のもとで、可能な限り住み慣れた地域で、自分らしい暮らしを人生の最期まで続けることができるよう、地域の包括的な支援・サービス提供体制（「地域包括ケアシステム」）の構築を推進

している。今後、認知症高齢者の増加が見込まれることから、認知症高齢者の地域での生活を支えるためにも、地域包括ケアシステムの構築は重要である。地域包括ケアシステムは、おおむね 30 分以内に必要なサービスが提供される日常生活圏域（具体的には中学校区）を単位として想定している⁷⁾。

「地域共生社会」「地域包括ケアシステム」によって、訪問看護等、看護職が活躍する場は、地域において拡大している現状である。そこで、地域共生社会に向けて、看護職が活躍する場のひとつとして、認知症に関する様々な取組が行われている公立図書館が考えられ、図書館職と看護職との接点として、認知機能を高める効果がある音読の取り組みに着目した。

なお、本研究課題名には、「一斉音読イベント」という呼称を使用した。本研究遂行にあたり、公立図書館では、「音読会」という名称の方が普及していたことが判明したため、以降では、音読会という呼称を使用することとする。ここで言う「音読会」とは、主として高齢者を対象とした数人から 30 人ほどの規模で、図書館が用意した参加人数分に対する同じ図書、あるいは出力したプリントを使って、図書館職員の掛け声のもと、参加者全員でゆっくりとしたペースで、音読するイベントのことである。

参考文献

- 1) 内閣府. 令和 4 年版高齢社会白書（全体版）. 第 1 節 高齢化の状況（1）
https://www8.cao.go.jp/kourei/whitepaper/w-2022/html/zenbun/s1_1_1.html（参照 2024-01-15）
- 2) 内閣府. 令和 4 年版高齢社会白書（全体版）. 第 1 節 高齢化の状況（2）
https://www8.cao.go.jp/kourei/whitepaper/w-2022/html/zenbun/s1_1_2.html（参照 2024-02-15）
- 3) 厚生労働省ほか. 認知症施策推進総合戦略（新オレンジプラン）～認知症高齢者等にやさしい地域づくりに向けて～（概要）. はじめに
<chrome-extension://efaidnbmninnibpcapjpcglclefindmkaj/https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-12300000-Roukenkyoku/nop101.pdf>（参照 2024-01-15）
- 4) 認知症施策推進関係閣僚会議. 認知症施策推進大綱. 第 2 具体的な施策. 1. 普及啓発・本人発信支援.（1）認知症に関する理解促進. p.5 <https://www.mhlw.go.jp/content/000522832.pdf>（参照 2024-02-03）
- 5) 厚生労働省. 地域共生社会のポータルサイト <https://www.mhlw.go.jp/kyouseisyakaiportal/>（参照 2024-01-15）
- 6) 厚生労働省. 地域共生社会の実現のための社会福祉法等の一部を改正する法律（令和 2 年法律第 52 号）の概要 <chrome-extension://efaidnbmninnibpcapjpcglclefindmkaj/https://www.mhlw.go.jp/content/000640392.pdf>（参照 2024-01-15）
- 7) 厚生労働省. 地域包括ケアシステム
https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/hukushi_kaigo/kaigo_koureisha/chiiki-houkatsu/（参照 2024-01-15）

5. 研究目的

本研究の目的は、我が国の公立図書館で実施されている音読会が、高齢者の認知機能の向上に寄与する取り組みであることを確認し、効果的に実施するためのプロトコルを開発することである。これによって、今後、音読会を新たに企画立案・実施予定している、あるいは既に音読会を実施している公立図書館等にとって、参考となる実用的な音読会のガイドラインを提供することを目指すものである。

6. 研究（実験）方法

本研究では、初めに文献調査及び Web 調査を実施し、音読会を定期的に行われている公立図書館を特定した。次に、これらの図書館の中から、研究チームの誰かが参加可能な音読会の日時を確認し、かつ、さまざまな規模の図書館から選定することで、音読会の運営方法における規模の影響を評価できるように企画した。結果として、以下の 5 つの図書館で合計 6 回の音読会に参加した。

- ・ 足立区江北図書館 2023 年 6 月 13 日（火）
- ・ 豊橋市まちなか図書館 2023 年 9 月 15 日（金）
- ・ 滋賀県愛荘町立秦荘図書館 2023 年 9 月 19 日（火）
- ・ 横浜市都筑図書館 2023 年 9 月 29 日（金）
- ・ 足立区江北図書館 2023 年 10 月 10 日（火）
- ・ 名古屋市鶴舞中央図書館 2023 年 12 月 26 日（火）

これら 5 つの図書館で実施された音読会を比較考察するために、最初に、これらの図書館の規模比較を、専任職員数、蔵書冊数、受入冊数を指標に用いて、小規模、中規模、大規模図書館と分類した。その規模別において、音読会に参加した観察結果と、担当職員へのヒアリング結果とをマージさせた。

各音読会の観察では、まず音読会の運営方法、参加者の人数・属性（年齢層、性別比など）、使用された作品、会場の設備（設置場所、机の配置など）を記録した。音読会の進行（イントロダクション、音読セッション、休憩、ディスカッション、クロージング）とその所要時間を、細かく時系列で追跡した。また、参加者の反応（表情、質問事項、互いの交流など）も可能な限り観察した。

音読会の終了後、担当職員に実施したヒアリングでは、事前に用意した質問項目として、音読会の開催実績、参加者の性別比、選書基準、参加者の要望への対応、過去に使用された図書リスト、担当職員の選定方法などを送り、当日、スムーズに進めるようにした。

音読会の観察結果と担当職員からのフィードバックから得られた情報を基に、音読会の効果的な実施方法に関する知見を、図書館の規模別からも分析できるように考察した。

7. 研究成果

（1）定期的音読会を実施している図書館調査結果

文献調査及び Web 調査を通じて、全国各地で音読会を定期的に行っている公立図書館を以下のように特定した。

- ・ 宇都宮市立図書館 「シニア世代応援 音読教室」
- ・ 千葉県立図書館東部図書館 「はつらつ音読教室」
- ・ 東京都足立区立江北図書館 「音読広場」
- ・ 横浜市都筑図書館 「いきいき音読教室」
- ・ 富山県立図書館 「方言で読もう 富山のむかし話」
- ・ 名古屋市立鶴舞中央図書館 「音読広場」
- ・ 半田市立亀崎図書館 「オタッシャ音読教室 and 折り紙 2023 皐月」
- ・ 豊橋市まちなか図書館 「音読とおしゃべり」
- ・ 津市図書館 「大人のための音読会」
- ・ 滋賀県愛荘町立秦荘図書館 「あたまいいきいき音読教室」

- ・綾部市図書館 「脳イキイキ！音読の会」
- ・大阪府熊取図書館 「あたまイキイキ音読教室」
- ・池田市図書館 「大人のための音読会」
- ・鳥取県立図書館 「あたまイキイキ音読教室」
- ・鳥取県日吉津村図書館 「あたまイキイキ音読教室」
- ・オーテピア高知図書館 「いきいき音読倶楽部」
- ・長崎県ミライ ON 図書館 「あたまイキイキ音読教室」
- ・宮崎県立図書館 「声に出して言葉を楽しもう会」
- ・鹿児島県立奄美図書館 「心も体もイキイキ！音読教室」

これらの結果から、音読会を定期的実施している公立図書館は、特定の地域、自治体の規模に限定しているわけではなく、音読会の名称は「いきいき」と「音読教室」が多く使用されていることがわかる。

(2) 予備的調査からの研究結果

文献調査及び Web 調査から抽出した図書館の中から、足立区江北図書館、滋賀県愛荘町立秦荘図書館、豊橋市まちなか図書館、横浜市都筑図書館、名古屋市鶴舞中央図書館の 5 館で実施された音読会に参加し、観察を行った。最初に、これらの参加した図書館の規模比較を、専任職員数、蔵書冊数、受入冊数、個人貸出点数を指標に用いたのは、規模を推察するにあたり、イメージしやすい指標であり、出典（日本図書館協会の『日本の図書館：統計と名簿 2022』をもとに、参加図書館からの修正情報）から、いずれの図書館でも該当する項目の値を把握できたためである。比較する項目の第一優先は、専任職員数とした。これは、音読会を企画立案・広報・実施・評価・改善するためには、中心となる職員が必須であり、意思決定できるのは、通常、専任職員であるからである。しかしながら、指定管理者制度を導入している場合には、必ずしも専任職員という観点だけでは比較できないため、蔵書冊数の多寡も加えた。その際に、新規の図書の割合を示す受入冊数が多いほど、通常は購入する資料費も多いと考えられたため、これらを規模別の判断項目とした。なお、ここでの受入冊数は、寄贈による受入も含まれている。また、個人貸出点数は、規模別の判断項目とは、順序は異なる図書館も存在するが、各図書館の設置場所・サービス内容等の要因があるものと推察されるので、ここでは参考程度とした。これによって、参加した音読会を実施している 5 館を、小規模図書館 2 館（A と B）、中規模図書館 2 館（C と D）、大規模図書館 1 館（E）と分類した。

図書館名	A	B	C	D	E
図書館職員数	委託派遣 18	専任 4、 非常勤 3	専任 9、 非常勤 4、 委託派遣 17	専任 11、 非常勤 1	専任 55、 非常勤 12、 委託派遣 11
蔵書冊数	66,000	175,000	65,000	163,000	1,501,000
受入冊数	3,540	4,447	31,771	11,991	36,173
個人貸出点数	191,000	78,000	161,000	1,007,000	2,625,000

この分類によって、図書館の規模に応じた音読会の運営や参加者の動向に関する有益な洞察が得られるように、上記 5 館における図書館の音読会について、主な項目別にまとめたのが次表である。

規模別	小規模図書館 A	小規模図書館 B	中規模図書館 C	中規模図書館 D	大規模図書館 E
主催	図書館単独	図書館単独	図書館単独	図書館単独	他機関との連携
目的	健康づくり	健康づくり	交流	読書推進活動	健康づくり
参加者数	16	4	7	6	30
対応職員数	1.5	1	2	2	4
開催頻度	4 か月ごと	月例	月例	年 4 回	年 3,4 回
募集形態	一回ごと	申込不要	申込不要	窓口・電話	半年における各種健康講座への「はつらつクラブ」として募集（音読会はこの一環）
対象者資格	おおむね 60 歳以上	どなたでも可	どなたでも可	どなたでも可	市内在住の 65 歳以上
会場	図書館を含む複合施設内の図書館外の仕切られた空間	図書館内の仕切られた空間	図書館内のオープンスペース	他機関の仕切られた空間	図書館内の仕切られた空間
会場内での机の配置	教室型	参加者は壁向きで図書館職員とは横向き	椅子のみの対面型	教室型（会場のスペースと動線の制約上から）	教室型
所要時間	60 分	45 分	30 分	90 分	120 分
音読作品例	『よだかの星』（童話）、詩 1 点（6 月）、『檸檬』（小説）（10 月）	『虫 干 し』（随筆）、『かくれんぼ』（児童文学）、詩 3 編	『十五夜お月さん』（児童文学）、『月が出る』（童話）、俳句 4 句、古典『竹取物語』	わらべうた 2 点、早口言葉、詩 8 点、昔話『まのいいりょうし』、古典『奥の細道』	地域資料 1 点、詩 4 点
会場内での音読作品展示	会場の最後列に関連図書も含めて展示	会場の入り口手前に関連図書も含めて展示	会場の職員前に展示	会場内ではなく、当該図書館内に展示	会場内には貸出登録の案内のみ展示
PC・プロジェクター使用	使用	未使用	未使用	未使用	未使用
写真撮影の許諾	許諾書あり	許諾書なし	許諾書なし	許諾書なし	許諾書なし
その他	短編小説の読み切りを目標	手遊びも実施	毎回、テーマがあり		図書館バックヤード見学（2 名職員追加動員）

（3）研究成果：「音読の効果」プレゼンテーション用コンテンツの開発

予備的調査として参加した音読会の観察結果と、担当職員へのヒアリング結果から、図書館の規模に関係なく、音読の効果に関する十分に説明されていないことが判明した。また、音読の効果を示すコンパクトなコンテンツへの需要があり、出典情報を含んだ原稿とともに利用できる汎用的なツールとして存在すれば、公立図書館を含む様々な機関での利用可能性が高いことが示唆された。

これらの結果を踏まえて、「音読の効果」に焦点を当てたプレゼンテーション用のパワーポイントを開発することとした。本コンテンツは、「話すことと認知機能の関係」、「認知機能と話すことの親密な関係」、「神経細胞の働き」、「自分らしい生活に欠かせない話すこと」、「脳の回復力（可塑性）」、「音読とは」、「音読による脳の活性化の部位」、「音読の効果」、という順序・構成としており、音読の科学的根拠をわかりやすく解説し、音読会の導入部分で利用できるように設計している。音声と音楽が吹き込まれた約6分の尺である（その他1）。

（4）研究成果：音読会の実施ガイドライン案提案

予備的調査として参加した音読会の観察結果と、担当職員へのヒアリング結果を統合して分析したことから、音読会を新規に計画・実施している図書館、あるいは既に実績のある図書館に対して、実用的なガイドライン案を提案するものである。このガイドライン案における項目は20項目であり、次のとおりである。

主催、参加者数、対応職員数、開催頻度、募集形態、対象者資格、会場の選定、会場内での机の配置、所要時間、音読会の目的、参加者の持ち物、音読作品の展示、予算、技術機器の使用、写真撮影の許諾、時間配分、音読する速さ、音読する作品のメディア、音読する作品の選書基準、参加者同士の交流

以下に、これらの項目について考察を行った。

①主催

図書館単独で実施するパターンは、最初の取り掛かりとしては容易である。当然ながら、図書館内での合意形成など、意思決定は容易にできる可能性がある。しかしながら、図書館職員の考え方から、脱却できない可能性もあることは認識しておく必要がある。

他方で、他機関（例：地域包括支援センター、社会福祉協議会、高齢者福祉課など）と連携して実施するパターンは、組織間の壁もあり、意思決定するには時間がかかる場合もあるが、より広く活動案内を普及させることができること、図書館職員の考えが及ばない発見もあること、などが魅力として挙げられる。例えば、連携先組織が参加者についての情報を認識していれば、難聴者の参加者は前列に座ってもらうように誘導すること、あるいは難聴者の隣に職員が座ってサポートしてあげること、などが配慮として可能となる。また、保健師と連携して、認知症予防の効能などの講演をした後で図書館職員が音読を実施するなど、同時に、健康に関心のある参加者からの質問に対して、保健師に答えてもらうことも可能となる。例えば、「正面を向いて音読したほうが、喉にはいいのですか」、「音読をしていると、だんだんと胸が痛くなってくるのはどうしてですか」等の類の質問が寄せられるからである。

②参加者数

音読会は、全員で一斉に音読することから、参加者数としては、最大でも30人以内が運営しやすい。参加者数が多くなるほど、会場の確保が困難になる。また、参加者数分の音読をするための図書も準備する必要がある。例えば、鳥取県立図書館では、音読会用の図書を25冊から30冊ほどを確保しており、これらを当該自治体内の市町村図書館でも利用できるようにしている。なお、参加者数が多くなるほど、当日対応する図書館職員も増やす必要が生じる可能性がある。

他方で、小規模の参加者数で実施する場合、会場の確保、音読作品をする図書の参加者数分の確保、

当日の図書館職員要員の確保は、比較的対応しやすい。しかしながら、参加者の多くはリピーターが多いため、参加者数が少数ゆえ、新規参加者が加わる可能性が少なくなってしまうことも考慮する必要がある。

③対応職員数

他機関と連携して実施する場合は、当該図書館と当該連携先機関から要員派遣をしてもらうことで、図書館職員は小規模図書館が対応する場合と同様、2人ほどで対応できる。大規模図書館では、担当する職員は、特定の系の業務の一環となっている場合があることから、同係内でのローテーションで担当を決めている場合もある。

他方で、図書館単独開催の場合は、もともと職員数が少ない制約もあるので、1～2人で対応することになるので、音読会では、音読することに専念せざるを得ず、参加者に寄り添ってのケアまでは対応できない。図書館によっては、専任職員全員を音読担当者として、二人一組（メインとサブという役割）でローテーションを組み、それぞれ年に1回ずつ担当するぐらいの負荷としている。

④開催頻度

音読会は継続して実施する方が効果はあり、かつ、参加者からは人気のあるイベントにもなっていることから、定例化する方が宣伝効果もより多くある。開催頻度を決める要因としては、担当職員の負荷の観点と、会場の確保の観点が考えられる。これらのことから、1年に4回、2か月に1回、月例という頻度の実施例がある。

他方で、音読会をこれまで一度も実施したことがない図書館にとっては、チャレンジ事業となるが、初めての実施ということで、まずは定例化をせず、試しに単発のイベントとして、実施することもできる。この場合、実施後に必ず、アンケートなどによる参加者からの評価と、当該図書館による自己評価を実施することで、改善点を見出すなど、次回につなげる必要がある。

⑤募集形態

他機関と連携して実施する場合、半年ほどの一定期間すべての企画を対象とした一括募集形態がある。この場合、連携先機関で受け付けする場合が主である。一定期間内において、さまざまなイベントを用意し、その中の数回を、図書館と連携して、音読会を投入するというものである。対象期間がある程度長いことから、参加者同士が各イベントで顔をあわせる機会が増え、交流がしやすくなるというメリットがある。一方で、参加申し込み時期を逸してしまうと、次の募集期間までの期間が半年ほど先になるため、それを待たないといけないデメリットも存在する。なお、図書館としては、毎回の受付事務量は軽減されるメリットはあるが、音読会以外のイベントも用意されているため、音読会のイベントを増やすことは難しい場合もある。

他方で、図書館単独で主催する場合、一回ごとに募集するパターンも多い。現時点では、図書館への電話、図書館カウンターなどでの受付先着順がほとんどである。参加者からすれば、一回ごとの募集では、各自の体調や予定などにあわせて、こまめに参加できるというメリットはあるが、図書館での受付事務量は継続されるため、今後はインターネットを使つての申込対応も促進していく必要がある。

さらには、小規模・中規模図書館では、申し込み不要というパターンも存在する。参加者にとっては申し込みの手続きがなくなり、図書館も受付事務量が軽減できる。しかしながら、図書館では参加者数の予測が立たないことから、音読をする図書の参加者数分の冊数を準備すること、あるいは参加者数分に

配布するプリントの枚数など、実態と合わないことで、ロスが生じてしまう可能性がある。

⑥対象者資格

小規模・中規模図書館では、どなたでも可というパターンは多い。音読会は、認知症予防を兼ねて認知機能を高めることも目的としているため、高齢者を対象としたいところであるが、音読会の開催が平日の日中とすれば、主体は高齢者が中心となるということも事実である。また、公立図書館は、だれに対しても公平にサービスをしている公の施設であることから、対象者を高齢者に限定していないことをアピールすることもでき、同時に参加希望者を高齢者以外からも募る方法としてお勧めである。

他方で、抽象的ではあるが、より高齢者を対象とした表現として、「大人」「中高年」「シニア」が使われている。さらに正確な表現として、「60歳以上」、あるいは「65歳以上」という年齢の基点を指定した表現もある。今後、高齢社会ゆえ、この基点がさらに上乗せされた年齢になる可能性は十分にあることが想定できる。

なお、他機関との連携において、例えば、市立図書館の場合、前述した年齢の基点を指定した上で、「市内在住」という二重の制限をかける場合もある。公立図書館としては、当該地域の住民に対するサービスが最も重要であるため、行政としてのアピールポイントも含まれている。

⑦会場

図書館の規模に関係なく、図書館内に仕切られた空間があり、そこで音読会を実施できることがベストである。仕切られた空間であれば、参加者は集中しやすい上に、他の利用者への迷惑を考慮する必要がなくなるので、図書館職員にとっても運営しやすい。

他方で、図書館内のオープンスペースを利用して実施する場合、参加者は集中しにくい可能性があるが、まわりから音読会が見えるという「見える化」現象は、他の利用者からの新規勧誘にもつながる可能性を有している。

また、図書館内に音読会を開催するスペースが不在の場合は、アウトリーチ型として、図書館外に求めざるを得ない。アウトリーチとは、これまでの図書館サービスが及ばなかった人々に対して、サービスを拡大していく活動のことである。したがって、図書館という館を離れて、図書館外で開催することになるが、種類は2種類が考えられる。一つは、図書館が含まれている同一複合施設内にある仕切られた施設が使用できれば、天気にも左右されることもなく、図書などの移動もしやすく、参加者も音読会終了後に図書館に立ち寄って貸出をすることも容易にできるというメリットがある。二つ目は、図書館とは異なる建物内にある会場を利用する場合、当該図書館の近隣にある公的施設になる可能性が高いが、図書館からの距離にもよるが、図書館職員の移動に伴う負荷、参加者が音読後に貸出をする機会は少なくなる可能性があるというデメリットがある。

なお、これらは対面における音読会を対象としているが、コロナ禍を経験した現在、オンデマンド方式で音読会を実施している図書館も存在する。対面方式とオンデマンド方式とでは、メリット・デメリット、一長一短ではあるが、双方の方式で補完していることは事実である。本研究では、対面方式での音読会を対象としているため、オンデマンド方式については言及しないこととする。

⑧会場内での机の配置

黒板等の前に、それを背後にして図書館職員が座り、参加者と正面で対応する「教室型」が最も多いパターンである。教室型は秩序ある学校教育の展開を想像できるが、参加者同士の交流を促進するため

には、教室型ではなく、自由なレイアウトの方が望ましい。すなわち、机と椅子を自由に稼働できる方式である。この場合、椅子だけというパターンもあるが、ある程度の時間数を展開する音読会の場合、特に、図書を置く机は重要なアイテムである。その他、コの字型、コの字型の配置もある。

他方で、コロナ禍だった影響から、飛沫を避けるためにも、図書館職員は黒板等の前に座り、参加者は正面を向き合わず、横向き対応（正面には壁）となるパターンある。音読会でのマスク着用は自由ではあるが、飛沫のことを考えればマスク着用を推奨すれば、このパターンでは、参加者が図書館職員を見るためには首を回転させる必要が生じることから、参加者には負担が伴う可能性がある。

⑨所要時間

所要時間として、短い場合は30分、次に45分、60分、さらには90分、最長は120分という実施事例がある。短い時間設定は、集中力が切れないため、気楽に参加してほしいため、図書館の駐車券が1時間まで無料なため、職員の負担軽減のため、が挙げられる。他方で、参加者にとっては、もっと音読をしたいという要望には十分に対処できていない面もある。

次に、45分から60分、あるいは90分は、集中力・体力を考慮した上の配慮からである。いずれも途中で水分休憩を取ることが必須であり、トイレ休憩も含める場合もあり、多くの音読会で実施されている時間帯である。

最長の120分は、音読会だけではなく、会場となっている図書館のバックヤード見学も30分ほど含めている場合もあるので、それを除けば、音読会としては90分の時間ということになる。バックヤードは普段は立ち入り禁止区域になるため、そのような場所を見学できることで、図書館をさらに広く理解してもらい、図書館来館への喚起付け、さらには読書推進に連動する契機となるような期待を込めていることが考えられる。

⑩音読会の目的

音読会の目的には、2種類ある。一つ目は、音読会は読書推進活動事業の一環である。音読会をすることで、これまで知らなかった作品との出会い、あるいは既に忘れていた作品との再会もあり、それらを契機として読書への誘導を図るというものである。

二つ目は、音読会は健康づくり、認知症予防の観点からである。しかしながら、図書館職員は人文・社会科学系出身者がほとんどであるため、音読の効果について参加者に説明する際、科学的に説明することは困難なため、簡単な説明のみに留まっているのが実情である。このための支援策として、本研究による成果物「音読の効果」を、音読会の冒頭で使用していただくことを勧めたい。なお、これら2種類の目的を掲げる場合も存在している。

⑪参加者の持ち物

参加者の持ち物として、必須なのは、蓋がついたペットボトルの水、お茶等である。音読会の途中で、水分補給をする必要があるからである。また、蓋がしてあることで、例えば、テーブル上で、万が一倒した場合でも、そこに置いてある図書やプリントには被害が及ばないからである。紙にとって、水は天敵である。

季節、あるいは音読会の開催時間数にもよるが、汗をかくことがあるため、汗を拭くハンドタオル、あるいはハンカチも必要である。

また、音読をするためには、図書やプリントの文字を読む必要があるため、普段に参加者が使ってい

る眼鏡、老眼鏡などを持参してもらう必要がある。この際に、ルーペ、虫眼鏡なども威力を発揮するが、音読会では通常、両手を使って図書を持つパターンが多いため、片手でルーペや虫眼鏡を持ち、もう一方の手で図書を持つことは疲れる原因になるので、両手を離れた状態で使える眼鏡の類が望ましい。その他、音読会の際中に、例えば、読めない漢字があった場合などに、フリガナを書く場合に、あるいは音読会の最後に、アンケートの記載などが考えられることから、筆記用具は持参したほうが望ましい。なお、筆記用具は図書館側で予め準備しておく必要がある。

⑫会場内での音読図書展示

音読した図書等を展示する場所を確保する際、教室型の会場では、最後列に机を設置して、そこに図書を並べるパターンがある。音読会の中で展示のPRもすることで、音読会終了後に、展示図書に立ち寄ることになる。展示スペースがとれる場合には、同じ著者の他の作品、版違いの作品など、関連図書も含めて展示をすることで、読書推進活動の一環として、貸出行為へつなげる効果がある。

図書の展示場所が、会場のテーブル数の制約から、前列の図書館職員近くに設定する場合もある。音読会が終了した後で、それらの展示図書を一人でじっくり見たいと思っても、図書館職員が傍にいて、憚ってしまうというリスクがある。他方で、会場が仕切られた空間を使用している場合、その会場の入り口手前の図書館オープンスペースでの展示も実施例としてあった。この場合は、展示図書の傍に図書館職員が居ないので、落ち着いて閲覧することが可能であり、さらには音読会参加者以外の利用者也閲覧できるというメリットがある。

アウトリーチ型で音読会の会場を借用している場合など、図書の展示場所を確保できるかという物理的制約からの観点と、会場の借用時間制限との時間的制約からの観点から、展示することができない場合も存在する。そのような場合には、当該会場内では展示場所を設定せず、当該図書館内に展示場所を確保し、そこに展示図書を並べるということを通常は実施しているので、そのことを音読会の中でPRしておく必要がある。

⑬予算

音読会開催にあたっては、通常、予算はそれほどかからない。図書館内に適切な会場が無い場合、アウトリーチ型の施設を借用する際の料金が考えられるが、公共施設などであれば無料の場合もある。

音読作品を参加者人数分揃えるために、当該自治体の他の図書館から取り寄せる運搬費用が考えられるが、通常は定期便の自動車があるので、音読会のためだけに費用がかかることはない。他方で、音読作品を、参加者人数分の冊数を購入する場合は、資料費と納品後の整理・装備代が必要になる。

資料作成印刷、ポスター・チラシ作成、当日の会場までのサイン案内等を作成・出力するため、PC・プリンターの電気代、コピー代（紙代、インク代）が考えられるが、これらは音読会だけに特化した算出は難しい。会場の空調、照明の電気代も、同様である。

企画立案から開催実施までの人件費が一番高価ではあるが、これは業務の一環ということになるので、音読会に対する人件費を算出することは通常はしない。

これらのことから、総じて、必要予算は少額で済む。ゆえに音読会の効果を認識することで、費用対効果の高い事業となるものである。

⑭PC・プロジェクター・スクリーンの使用

音読会を実施する会場において、PC、プロジェクターを使用する場合、電源を確保する必要がある。

コンセントまでの距離が長い場合には、延長コードを準備する必要がある。一定の時間内であれば、通常、PC は内臓のバッテリーで対応可能であるが、音読会実施中にバッテリーが消耗してしまう可能性もあるので、コンセントにつなげて電源を確保することが望ましい。PC、プロジェクター、スクリーンは、会場に備え付けられていなくても、携帯用の機器で対応可能である。この場合、プロジェクターにおける投影する高さ調整など、事前に設定する時間を取る必要がある。なお、スクリーンは、壁、あるいはホワイトボード等であっても視聴は可能である。

PC、プロジェクター、スクリーンを使用せず、音読会を実施している図書館も存在しているが、本研究での成果物である「音読の効果」は、PC、プロジェクターを使用してもらうことになるため、これらの機器を準備・使用するようにしてほしい。

⑮写真撮影の許諾

音読会の実施を PR するための動画、静止画撮影は、図書館にとっては必須である。そのため、音読会冒頭で、撮影の許諾依頼書を配布して、参加者に被写体となっていただくことが可能か否か、その意思を確認することは重要である。顔が写りたくないという参加者に対しては、後方から撮影をする、あるいは撮影をしないようにする配慮が必要である。なお、撮影許諾依頼書を配布せず、後ろ姿からに限定して撮影する場合もあるが、会場によっては教室型でない場合などは、必ずしも参加者が後ろ姿ばかりを向いていないこと、PR 用としてのアングルは後ろ姿以外も欲しいため、事前に撮影許諾依頼書を配布することを勧めたい。そのための依頼書については、どの図書館でも共通に使用できるフォーマットを、別途作成して提案する。

⑯時間配分

音読会の時間配分は、おおむね次のようになっている。

開会挨拶などのイントロダクション（写真撮影許諾依頼も含む；3 分ほど）



音読の効果説明（5 分）※ここで本研究の成果であるコンテンツを上映してもらう



ウォーミングアップ（約 5 分）

深呼吸（腹式呼吸）、舌の運動、首の運動（前後・左右に 5 回ずつ & 回転）。肩の運動（上げ下げまわし）、母音の発声、早口言葉



音読（約 20 分。1 ページ読んでは、休憩し、補足説明を入れる）

音読する作品の著者や作品について解説を最初に入れる。



休憩（全体が 30 分の場合は設定しない。60 分以上の場合は、30～40 分ほど経過した時点で、約 10 分間の水飲み・トイレ休憩をとる）



音読（約 15 分 + α （90 分開催用）。1 ページ読んでは、休憩し、補足説明を入れる）

音読は、一つの作品では集中力が続かない場合も考慮し、「手遊び」等を入れる。詩は 1 点ずつが短いので、それを多く取り入れることで、後半は特にそれでメリハリを入れる。



質疑応答・クロージング（約3分）

アンケート記入のお願い。展示図書・貸出可能であることの紹介。次回の音読会開催案内。※時間があれば、参加者との懇談も可。

⑰音読する速さ

音読する速さは、ゆっくりとしたペースで低い声で、参加者全員がお互いにペースをあわせるように努力をする。そのため、音読の出足を図書館職員が「サンハイ」という掛け声をかけて、音読のスタートを合せることが必要である。また、一度に音読を続ける分量は、図書1ページ、あるいは見開き2ページ、あるいはプリント1枚とし、こまめに休憩をはさむことで、次に音読を開始するタイミングを合わせることで、再び参加者が音読する速さを調整することをしやすくする。

⑱音読する作品のメディア

音読する作品のメディアとしては、現物の図書と、出力したプリントに大別される。現物の図書は、参加者一人につき一冊を準備する必要がある。冊数分が不足の場合は、通常は当該自治体内の他館から取り寄せて補完する。音読会を実施している図書館で、取り上げている作品の主なリストを、参考までに別途作成する。

音読作品を、プリントで配布する場合には、著作権保護期間が満了となっているかどうかで対応が異なってくる。著作権保護期間が満了となっている作品の場合、パブリックドメインの状態であるため、例えば「青空文庫」に該当作品が登録されていれば、そこからダウンロードして、原稿として文字サイズを18フォントサイズとし、漢字にフリガナを付与し、作品や著者の解説をつけて作成する。出力は、A4サイズ横向きが主流であり、参加者数分の複製は自由にできる。

他方で、著作権保護期間中の作品を複製して配布したい場合には、当該著作者から複製と配布の許諾を事前に取得する必要がある。例えば、当該地域における主要新聞紙の1面に掲載されているコラムを、当該新聞社から原紙拡大の複製と配布の許諾を得てから使用する場合がある。新聞紙のコラムは、音読会で利用したいという内容のものも多いと思われる。なお、この場合は、原紙拡大の複製をするため、A3サイズ横向き・上下2段組とし、漢字へのフリガナはつけず、その代わりコラムに記載されている固有名詞などを、音読する前に、読み方なども併せて解説してから実施することで、スムーズに音読できるようになる。

⑲音読する作品選書・運用基準

音読する作品の選書基準としては、次の通りである。

- ・難しい言い回しが多いものは避ける（児童文学を選定する場合も多い）。
- ・音読に慣れていない人でも読みやすい名作、昔話、詩、わらべ歌などを選書する。
- ・参加者を飽きさせない、かつ興味のある内容を選定する。
- ・音読に耐えうるだけの文字の大きさや行間に加え、ルビを必要とする。
- ・季節に合った内容を入れる。
- ・毎回、異なる作品を選定する。
- ・プリントとして音読作品を配布するには、著作権保護期間が満了したものとする。
- ・身近な地域の資料は、参加者の関心と呼び、休憩時間などの会話のネタになったり（回想法を発揮する）ため、場になごみが生じたり、場の活性化につながることもある。

- ・複数の作品を音読する場合、最後の音読作品は、読んでいて心地良いものをもって来る。
- ・古典などの音読作品は、現代口語訳がついている解説本を調査して、内容を説明できるようにする。
- ・音読会を毎回、テーマを設定して、それに関連する著作として、絵本、民話、短編小説、古文、論語、唱歌、詩など、知恵を駆使してプログラムを編成する方法もある。
- ・著名な短編文学作品の一点全てを、全開催時間を使用して音読するよりは、複数作品を音読するように構成する。短編文学作品の一点全てを時間内に読み終えることを意識しすぎると、同作品に対する興味関心も個人差があるため、参加者の集中力が途中で切れてしまう可能性がある。そのため、例えば、前半部分のみ音読をして、後半部分はプリントだけ配布することで、各自で続きを読みたくなった場合の対応策をとっておき、同時に、同作品の貸出にも誘導することを勧めたい。なお、音読時間の多くを同一作品で占める場合、後半の複数作品としては、数分で音読が可能な詩、俳句、短歌などを取り込むことで、音読会全体として、メリハリがつくようになる。

②参加者同士の交流

参加者同士の交流については、大規模図書館で採用している他機関との連携で一定期間の事業として募集している場合など、参加者同士がイベントで会う回数が増えるにつれ、交流は深まっていく。

他方で、一回ごとの募集、あるいは申込不要の形態である音読会では、リピーターが多いこともあるため、リピーター間での交流は一定程度活発ではある。しかし、一回ごとの参加募集のため、リピーターでない場合など、音読会における交流の時間も多くは配慮されてないため、参加者同士の交流は活発ではない。そのため、例えば、リピーターの協力を得て、参加者同士で積極的に音読会後の雑談をしていただくことが重要である。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

現段階では直接の実用化例は無いが、公立図書館をはじめとする関連施設において、本研究成果のアウトプットである「音読の効果」の利用・応用が期待されている。このことによって、高齢者サービスの質の向上に貢献することが期待されている。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本研究の限界として、参加者からのフィードバックや、定量的な効果データを得られていない問題が存在する。したがって、今後はこれらの問題を順次解決するため、以下のような方策を検討している。

①ガイドライン 20 項目に、高齢者看護学の視点を含み、「音読会プロトコール」案をさらに高齢者の認知機能向上を目的とする指標を考案する。

②認知機能測定（テスト）の導入

プロトコール案に基づく音読会が、参加する高齢者の認知機能に及ぼす影響を客観的に測定するためのテストを選定する。音読会の実施時に短い時間で実施可能であり、高齢者の心身への負担がより少ない方法を前提とし、ニューロサイエンス看護学の観点から候補を挙げ、研究者間で協議し選定する。合わせて、比較対照群の設定等を含め、実施可能な方法を検討し計画を立てる。

③予備的調査対象図書館からのフィードバックの収集

予備的調査として、ヒアリングをさせていただいた図書館に対して本研究結果を報告し、評価をしてもらうことで改善点を見い出す必要がある。

④公立図書館と保健・福祉機関の連携を促進する

地域包括支援センター、社会福祉協議会、高齢者福祉課などに本研究成果を公表し、図書館員と看護職や介護職との協働を促進する。「地域共生社会」をめざした取り組みの一環として、「音読会」の意義と効果を広く周知する。

⑤音読会実態調査と導入コンテンツ（パワーポイント）とガイドライン案の評価

全国の公立図書館における音読会実施の実態調査は現時点では存在していない。そのため、音読会実施状況を調べる質問紙法による項目を作成し、プレテストを実施して項目を確定した後で、全国の公立図書館（約 3,300 館）に対して実施する。その際、本研究成果として作成した導入コンテンツ等とガイドライン案をダウンロードできるように案内し、その評価を受けて改善点を見い出すこととする。

⑥倫理委員会の許可を得た参加者へのアンケート調査

倫理委員会の許可を得た上で、公立図書館等における音読会参加者に対してアンケート調査を、プレテスト後に実施する。参加者の主観的な意見を収集して、音読の効果に関する分析に反映させる。

⑦音読会のオンライン方式、オンデマンド方式のプロトコール開発

対面式の音読会とは異なる点を確認し、効果的なプロトコールを開発し、対面式と併用できるようにする。

⑧欧米の公立図書館における音読状況の調査

欧米の公立図書館における音読状況を文献調査し、国際的な比較調査を通じて、音読会のベストプラクティスを確立するように、音読会の質を向上させる。

⑨音読の効果をまとめた雑誌論文、図書の刊行

成果報告として、雑誌論文として刊行する。その後、現時点では、音読の効果に特化して、音読会のことをまとめた日本語の図書は、存在しないため、成果物としてまとめて刊行する。これにより、公立図書館等における高齢者サービスの必須アイテムとしての位置づけを目指すものであり、音読会の普及に寄与することとする。

以上、これらの方策を進めることで、音読会の効果的な普及に寄与し、音読会を通して、公立図書館等で高齢者に向けたサービスをさらに向上させる基盤を築くことが期待されている。

10. 公表した成果一覧

学術論文：特になし

学会発表：特になし

その他

1) YouTube 公開 「音読の効果」東京農業大学と東京情報大学の共同研究

<https://www.youtube.com/watch?v=eGoTUKHKx80>（参照 2024-07-01）

843 回視聴（2024-07-25 現在）

足立区立江北図書館主催の「音読広場」で上映（2024-05-07）

2) 「図書館界ニュース」JLA メールマガジン 第 1183 号、2024/5/22 発信 東京農業大学学術情報課程と東京情報大学看護学部、2023 年度の共同研究の一環として、動画「音読の効果」を製作

2023年度 東京農業大学 総合研究所プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 若菜 宣明

1. 研究課題名および予算額

研究課題名
母乳中铁濃度に影響する因子を明らかにするための研究

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	若菜 宣明	応用生物科学部 栄養科学科・准教授	研究統括、解析
	水野 克己	昭和大学 小児科学講座 小児内科学 部門・教授	研究統括、対象者の健康管理 解析
研究分担者	勝間田真一	応用生物科学部 栄養科学科・教授	測定
	本間 和宏	応用生物科学部 栄養科学科・教授	測定
	福山 直人	応用生物科学部 栄養科学科・教授	データ管理

3. 研究期間

2023年10月1日～2024年3月31日（1年計画の1年目）

4. 研究の背景（当初）

小児ならびに成人女性における鉄欠乏は発展途上国のみならず先進国においても問題視されている。特に妊娠を考える女性においては妊娠前・妊娠中・出産後に鉄摂取を意識することは重要であり、妊婦の鉄欠乏は、早産やうつ、胎児死亡のほか、出生する児のその後の行動、認知、学力に関係する。一方で、乳児期、特に乳児期後半は急激な身体の成長に伴い鉄欠乏症に陥りやすいが、胎児期に鉄の蓄積が少ないとさらに問題となる。母乳栄養児や低出生体重児にくわえて、周産期に失血がみられる場合や、早期からの牛乳の摂取、鉄分の少ないもしくは強化されていない離乳食を摂取している場合には鉄欠乏のリスクはさらに高まることが報告されている。

乳児に対する栄養法には、母乳もしくは人工乳か、もしくはそれら両方が用いられている。母乳は乳児の最適な栄養源とされているが、人工乳に比較して少ない栄養素として鉄などが挙げられる。現在、日本で市販されている人工乳に含まれる鉄分はおおよそ7.8mg/Lであるのに対して母乳中の鉄分は0.43mg/Lである。基準哺乳量を0.78L/日とすると人工乳での鉄の摂取量は6mg/日であり、母乳では0.34mg/日（日本人の食事摂取基準（2020年版））である。人工乳に含まれている鉄のbioavailabilityが10%程度で

あるのに対して、母乳中の鉄の bioavailability は 50% 前後と高いことを考慮しても、母乳は人工乳に比較して鉄の供給量が圧倒的に少ないために母乳栄養法のみでは鉄の摂取不足が起こる可能性は高い。

一方で、授乳婦における鉄の摂取状況に関しては、妊娠初期から授乳期に至るまでの鉄の摂取量は差がないことや、授乳婦の鉄の摂取量は日本人の食事摂取基準で示されている推奨量を下回ることなどが報告されている。我々が行った 60 名の授乳婦を対象とした食事調査でも 9 割の授乳婦において食事からの鉄の摂取量が推奨量を満たしていなかった。授乳婦の血清ヘモグロビン濃度については、日本人の授乳婦の貧血の割合は 12.2% であるのに対して、海外では 20~40% と報告されている。これらより、授乳婦における鉄の摂取量は日本人の食事摂取基準の推奨量を満たすことができていないが、貧血の割合としては海外よりも少ない傾向にあると考えられる。

母乳中の鉄含量に関する先行研究では、授乳婦に対する食事からの鉄の摂取量を増やしても母乳中の鉄含量は増えないとされている一方で、食事内容やサプリメントの摂取と関連するとの報告もみられる。しかしながら、鉄の摂取に着眼した授乳婦の食生活状況や鉄剤のサプリメント摂取など授乳婦の鉄の摂取に関するバックグラウンドが母乳中の鉄含量にどのように影響したかを検討した報告は見られない。母乳中の鉄の含量を規定するファクターが特定できれば、母乳哺育児に対して鉄の摂取量を充足させる方法を検討することなどができ、鉄欠乏性貧血の発症予防が期待できることから授乳婦の健康維持および児の健やかな成長のために大変重要であると考えられる。

5. 研究目的

本研究では、母乳中の鉄含量を規定するファクターを検討することを目的とする。

6. 研究（実験）方法

（1）サンプルについて

授乳婦および提供される母乳の組み合わせとしてのサンプルサイズについては、危険水準（ α ）0.05、検出力（ $1-\beta$ ）0.80、先行研究をもとに母乳中铁濃度と総エネルギー摂取量との相関係数（ $r=0.30$ ）から、最小のサンプル数を 85 名とした。解析対象の母乳サンプルの提供を受けるにあたって、サンプル数が確保できることに加えて、解析前に低温殺菌処理などが行われることから、水野克己教授が理事長を務めている日本財団母乳バンク（以下、母乳バンクとする）と新たに共同研究契約を締結した。

（2）食事調査法の検討

授乳婦を対象とした食事調査法を検討した。授乳婦は育児を行いながら様々な家事をするなど時間的制約があることから、労力や時間的負担を可能な限り最小限にした食事調査法を検討する必要がある。さらに、ドナーとなる授乳婦は母乳バンクから送付された母乳提供用の資材を使用して母乳バンクに提供している。そのため、授乳婦とは直接面談することができない。これらのことから、授乳婦の負担を最小限にし、かつ、遠隔でも実施可能な食事調査法について先行研究で用いられた食事調査法をもとに検討した。

（3）母乳中铁濃度の測定について

母乳中の鉄濃度の解析に要するサンプル量など測定条件等を検討している。

7. 研究成果

母乳バンクには、1年あたり434名の授乳婦がドナーとして登録した（2022年度実績）。そのため、本研究の実施に必要なとされる授乳婦および提供される母乳の組み合わせとしてのサンプルサイズは充足できる可能性があると考えられた。母乳バンクでは母乳を受領したのち、62.5℃で30分間の低温殺菌処理が行われる。これらのことから、本研究では、母乳バンクと共同研究契約の締結を行った。なお、今年度の総合研究所プロジェクトの申請書に共同研究先として母乳バンクを記載していなかったため、サンプルの提供は受けられなかった。

授乳婦を対象とした食事調査法を検討するため、先行研究を検討したところ、食事調査票などアンケート調査法が主に行われていた。具体的には、食事記録表の配布や、24時間思い出し法のほか、半定量的な食物摂取頻度調査票であるFFQPOPなどが採用されていた。これらの先行研究では食事調査法は回答者に負担がかかるため、管理栄養士の資格を有する研究分担者が授乳婦からの質問等に回答できるような体制を構築していた。本研究では、当初、対象者に直接関与できることを想定してFFQg（食物摂取頻度調査票：建帛社）の使用も検討したが、母乳バンクのドナーである授乳婦の作業や時間的負担を考慮すると、既存の食事調査法含めて新たな調査法の検討も必要であると考えられた。さらに、食事と総エネルギー摂取量との間に有意な正の相関関係が認められたとするホンジュラスの授乳婦を対象とした先行研究があることから、授乳婦の摂取エネルギー量を評価できる食事調査法を検討する必要があると考えられた。

本研究での母乳中の鉄濃度の測定法として原子吸光法を想定している。先行研究では、母乳中の鉄濃度が0.05mg/L～0.35mg/Lと報告されている。これにより5～20mLの母乳サンプルがあれば母乳中の鉄濃度の測定は可能であると考えられたが、泌乳量は泌乳期に影響されることから泌乳期ごとに母乳中の鉄含有量を規定する因子についても詳細に検討する必要があると考えられた。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特になし

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本研究の問題点として、サンプル提供先の変更が生じたため、授乳婦を対象とした食事調査法として既存の方法が採用できなかったこと、サンプル入手ができずに実際の母乳中の鉄含有量を解析するに至らず、結果として、母乳中の鉄含有量を規定する因子を検討できなかったことが挙げられる。

そのため、今後の研究推進方策としては、①研究体制の見直し、②東京農業大学、昭和大、母乳バンクの3者間での共同研究契約の締結、③母乳のドナーである授乳婦を対象とした遠隔でも実施可能な食事調査法の確立、④東京農業大学総合研究所プロジェクト含めた外部資金の獲得による研究資金の獲得、⑤母乳中の鉄含有量を規定する因子の探索を検討する。

10. 公表した成果一覧

学術論文：特になし

学会発表：特になし

2023年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 庫本 高志

1. 研究課題名および予算額

研究課題名	研究領域 (キーワード)
新たな肉用牛「無角黒毛」の創出 —生産性とアニマルウェルフェアの向上を目指して—	アニマルウェルフェア

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	庫本 高志	農学部 動物科学科・教授	統括、牛の飼育管理、子牛の育成、ゲノム検査
研究分担者	岩田 尚孝	農学部 動物科学科・教授	人工授精、体外受精、体外培養
	野口 龍生	農学部 富士農場・准教授	胚採取、胚移植、育成

3. 研究期間

2023年4月1日～2024年3月31日（3年計画の3年目）

4. 研究の背景（当初）

黒毛和種の肥育現場では、飼養管理の効率化のために、除角という人にも牛にも多大なストレスのかかる作業が行われている。本研究では、美味しいお肉の生産性の向上とアニマルウェルフェア（快適性に配慮した家畜の飼養管理）の向上を目指し、遺伝的に角のない黒毛和種「無角黒毛」を創り出すことを目的とする。そのために、先天的に角を欠く無角和種に注目し、その無角遺伝子（Celtic Polled, PC）を、交配により黒毛和種に導入する。

本研究の成果は、「無角黒毛」という新たな和牛の創出につながる。「無角黒毛」は、角を先天的に欠くので、除角の必要がなく、生産性やアニマルウェルフェアの向上につながる。

5. 研究目的

黒毛和種の肥育現場では、飼養管理の効率化のために、除角という人にも牛にも多大なストレスのかかる作業が行われている。本研究では、美味しいお肉の生産性の向上とアニマルウェルフェア（快適性に配慮した家畜の飼養管理）の向上を目指し、遺伝的に角のない黒毛和種「無角黒毛」を創り出すことを目的とする。具体的には、無角和種が持つ無角遺伝子を交配により黒毛和種に導入する。

1年目の2021年度は、無角和種の導入、並びに、黒毛和種と無角和種のF1交雑胚の採取と移植を行っ

た。2年目の2022年度は、F1交雑子の分娩と育成、N2胚選抜のための技術の開発を行った。3年目の本年度は、2022年度に誕生したF1交雑子からの精子採取、追加のF1交雑子の作製、N2産子のゲノム検査のためのSNPマーカー開発を行った。また、収穫祭において、無角黒毛の展示を行い、来場者に本プロジェクトについてのアンケートを行った。

6. 研究（実験）方法

F1 クラノスケの育成と精子採取

無角黒毛和種の創出には、F1を黒毛和種に戻し交配しN2世代を得ることが必要である。しかし、昨年度得られたF1クラノスケは雄であり、今後の飼育を考えると生後8ヶ月までには去勢をしなければならない。そこで、2023年6月10日に去勢を行った。鎮静剤を投与後、横臥させ、陰嚢を消毒した。メスを用いて陰嚢を切開し、精巣を取り出し、精巣の基部を精管とともに切除した。精巣上体尾部を分離し、培養液中でハサミを用いて細断した。培養液中に漏出した精子を実体顕微鏡で観察し、精子の運動性を評価した。

追加のF1産子の作製

8ヶ月齢での精子は未成熟である可能性が高く、クラノスケの精子を用いた戻し交配は困難が予測された。そのため、雌のF1を得るために体外受精胚の移植を行うこととした。食肉センター由来の黒毛和種の卵巣から採取した卵子と無角和種イクウタの凍結精子を用いて体外受精を行った。得られた胚を体外培養し、胚盤胞まで発生させた。凍結保存したF1胚盤胞の移植は、群馬県昭和村の古川牧場株式会社にて行った。

N2産子のゲノム検査のためのSNPマーカー開発

2022年度に検出した黒毛和種と無角和種間の一塩基多型（SNP）を1749個について、およそ20Mbごとに1か所のSNPを選択し、合計400個のSNPを選び出した。黒毛和種サクラカゲフジ、無角和種イクウタ、F1産子クラノスケのゲノムDNAを用いてPCRを行い、単一バンドがでるか検証を行った。単一バンドが得られたSNPについては、シーケンスを行いF1クラノスケでヘテロになっているSNPを抽出した。

収穫祭におけるF1産子の展示

無角黒毛の創出は、学内プロジェクトとして推進されている。本プロジェクトを学外の方に広く知ってもらうために、令和5年度収穫祭で無角黒毛F1クラノスケを展示した。2023年11月3日に富士農場から厚木キャンパスへ搬送し、11月4日と5日の2日間仮設の飼育ペンで展示した。

収穫祭来場者へのアンケート

無角黒毛創出の最終目標は、アニマルウェルフェアに配慮した食肉生産である。しかし、現在の消費者に、アニマルウェルフェアという概念が浸透しているとはいえない。また、アニマルウェルに配慮し生産された食肉をどの程度の価格で求めるかもわからない。そこで、無角黒毛の展示会場の来場者を対象に、食肉生産におけるアニマルウェルフェアについてアンケートを行った。

7. 研究成果

F1 クラノスケの育成と精子採取

F1 クラノスケの体重の推移を表 1 に示す。

去勢の際に採取した精巣上体から精子の採取を試みた。しかしながら、運動している精子は観察されなかった。F1 クラノスケの精子は未成熟で体外受精には使用できないと判断した。

表 1 F1 クラノスケの体重

年	月	体重
2022年	10月	41kg
2022年	11月	56.0kg
2022年	12月	82.5kg
2023年	1月	118kg
2023年	2月	151kg
2023年	3月	183kg
2023年	4月	218kg
2023年	5月	253kg
2023年	6月	308kg
2023年	7月	342kg
2023年	8月	372kg
2023年	9月	376kg
2023年	10月	394kg
2023年	11月	398kg

追加の F1 産子の作製

2023 年 4 月に F1 体外受精卵を富士農場のホルスタイン種に移植した。2024 年 2 月 19 日に雄の F1 が誕生し、イワノスケと名付けた。

2023 年 5 月から 6 月にかけて、F1 体外受精卵 8 個を古川牧場株式会社のホルスタイン種 8 頭に受精卵を移植した。獣医師の妊娠鑑定により 2 頭の受胎が確認された。そのうち 1 頭からは雄が、もう 1 頭からは雄と雌の双子が出生した。これにより、F1 はクラノスケと併せて、雄 4 頭、雌 1 頭となった。いずれも富士農場にて飼育中である。



図 1 誕生時のイワノスケ

N2 産子のゲノム検査のための SNP マーカー開発

400 個の SNP のうち、167 個について単一バンドが得られた。シーケンスの結果、F1 クラノスケでヘテロ接合であり、今後のスクリーニングに利用できる 25 個の SNP が得られた（表 2）。

表 2 本研究で開発した SNP マーカー

Marker name	Chromosome	Region	イクウタ	クラノスケ	カコ	Forward primer	Reverse primer	Size (bp)
D3TUA3	3	105,430,333	AA	AG	GG	AAGACAGGAGTCAGGGGGTT	GGTGCACAGGTAGCTAGGAC	298
D4TUA4	4	106,162,987	GG	AG	AA	TCTTCACAAAAGTCTCTCAAGGC	ATGAAACTCCTCAGGACGCA	299
D5TUA4	5	110,605,487	GG	AG	AG	ACCTCTCCTCTGCCTAGTGG	TTCCAGAGCCCCTGCTATCT	372
D6TUA1	6	60,222,021	TT	TG	GG	CCCTTTTCCTCTGCTTGCCA	GCTTTGGAGTCAGACAGGCT	506
D7TUA2	7	20,756,070	AC	AC	AT	TTTCTTGATGGCAATAGGGAACC	GTGTGTACAAAGAGGCTTTGCG	425
D8TUA2	8	81,540,662	AA	AG	AG	GAAGTGAAATGACCCAGGATGC	TTAACGAGTGTGAGTGGTCTCT	227
D8TUA3	8	102,331,003	AA	AC	AC	CCCAGGTGCTGTGAATTCCT	GGGAGTCCCCAAGAAACAG	460
D10TUA1	10	20,745,800	AA	AG	AG	CTGTCAATTTGTGCCCTGCC	AAATGCCACTCTTCCAGGGG	461
D11TUA1	11	189,271	CT	CT	CT	GTAACACCCCCAAACCGTTC	TGACTTCGACCTAGCTCCT	363
D11TUA2	11	81,787,303	CC	CT	TT	TAGGGTCCAGGACTGATGGG	GCAAGCTCTTGGACCTCCTT	423
D11TUA3	11	100,087,635	CC	CT	TT	CCACAAGCCCTCTCAAGGAG	CTCTGATTCCTCCCTCCA	264
D11TUA4	11	2,724,998	TT	AT	AT	GCCAAGCGAGAACAGTGTC	AATGAGCAACAACGGGCTGA	520
D12TUA1	12	82,291,532	CC	CT	TT	TAGTGCTACATCCTCTCTCCA	TGACTTGGGGTGACGCTTTTA	349
D13TUA1	13	335,554	CT	CT	CT	GCTGAGCGATTTCTCTTTGGC	CCTCGTGGCTTGTAGACCT	452
D15TUA1	15	30,283,718	CT	CT	CC	GGAGACAGTGTCCACTAAGG	CTGCGGACTTCAGCAAGAAA	247
D15TUA3	15	31,112,733	GG	AG	AG	GTGCCAGTTGGCAATGAGG	GCTCACCCCCACTCTTAC	389
D17TUA1	17	10,403,922	AA	AG	GG	CTGTCTGCTCAGCCTCACA	CGGGTCTTGCTCGTGATCC	242
D18TUA3	18	34,044,760	AG	AG	GG	GCTGGGGACAGATCAATCTCATA	TGAACAGGGGGCTTACACATT	271
D19TUA4	19	11,056,573	CC	AC	AC	GGGTTCTCGCAGAGAGATGA	CCCGGCAATTGACAGTACCA	542
D20TUA5	20	70,668,157	GG	CG	CG	GGAGATCAACACCTTCGTGA	TGTGCTTTCACAACAACAGC	225
D24TUA2	24	53,645,818	CT	CT	CC	TTGTAGGCAGACAACCGACG	CCTCCTTGAGGAATGGGTGAC	443
D25TUA2	25	22,677,736	AA	AC	CC	CCGACTCCGCTGAATCCTTT	TTCGAAGCCTCTCAATCTCTG	269
D26TUA4	26	35,230,189	N.A.	CG	CG	TTTTGTCCCGAGCGAGC	TCCAGGAAGAAAAGTCCGC	343
D26TUA5	26	44,283,011	N.A.	AG	AG	GGAAAGGAGTGGACACGTCA	AAGAAACGGCACTCACCCCTC	442
D28TUA1	28	33,640,328	TT	AT	AA	GGGAGGAGTGGTTGACCA	GGGCTGACAACTGCCTGTA	322

収穫祭における F1 産子の展示

11 月 3 日から 5 日にかけて、3 泊 4 日で厚木キャンパスの仮設飼育ペンにて展示を行った（図 2）。クラノスケの展示の隣に無角黒毛和種についてのポスター掲示し、来場者へ無角黒毛和種についての概要説明を行い、本研究の周知を図った。2 日間で延べ約 1,600 人が展示会場を訪れた。生きた牛を見ることが初めての人が多く、新鮮な反応が見られた。普段食べている牛肉は、除角をされた牛であることの説明には、驚きとアニマルウェルフェアに対する関心を得ることができた。



図 2 2023 年収穫祭におけるクラノスケの展示

収獲祭来場者へのアンケート

来場者に Forms を使用した無角黒毛創出に関するアンケートを実施し、173 人から回答を得た。代表的な質問に対する回答を示す。

- ・アニマルウェルフェアという言葉を知っていますか。

回答 知っていた 28% 聞いたことがある 13% 知らなかった 58% その他 1%

- ・私たちが普段食べる牛肉の多くが、角を切られた牛だと知っていましたか。

回答 知っていた 23% 聞いたことがある 14% 知らなかった 63%

- ・無角黒毛の肉には通常の肉に比べ、どの程度まで高くても購入したいと思いますか？

回答 通常の値段以上は難しい	20%
5%程度なら多く払うことができる。	37%
10%程度なら多く払うことができる。	34%
20%程度なら多く払うことができる。	5%
30%以上多く払うことができる。	4%

アンケートを通じて畜産の現状を知らない方が多く、アニマルウェルフェアについても一般消費者には浸透していないことが判明した。無角黒毛和種創出への賛成の声も多く寄せられた。想定購入金額は、通常の牛肉よりも 1 割程度高かった。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特になし

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

- ・3 年間の研究期間において、無角黒毛の創出の基盤が整えられた。このことは本プロジェクトの大きな成果である。具体的には、次世代作出のための始祖牛を開発することができた。また、世代を効率的に進めるための遺伝子診断法を確立できた。今後は、得られた F1 牛から N2, N3, N4 と世代を進めていく必要がある。しかしながら、牛の飼養には多大な労力と経費が必要であり、また、無角黒毛を品種として確立するには数年レベルの時間が必要である。そこで、無角黒毛確立のために、大学レベル、法人レベルでの支援を期待する。
- ・無角であることは除角の労力から解放されるので、肉牛生産の生産効率を高める。また、牛へのストレスもなく、アニマルウェルフェアに配慮している。しかし、今年度のアンケート結果から、除角やアニマルウェルフェアという言葉を知ることがない、内容を知らないという人々の割合が多いことが分かった。そこで、これらの言葉の意味や畜産の現状を人々に伝え、無角黒毛の優位性を広げていく必要がある。これにより、無角黒毛が農大ブランドのひとつとして認知・育成され、もって東京農業大学のプレゼンス向上に寄与すると期待される。

10. 公表した成果一覧

学術論文：特になし

学会発表：特になし

2023年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 山本 祐司

1. 研究課題名および予算額

研究課題名	研究領域 (キーワード)
玄米摂取が非アルコール性脂肪肝に及ぼす影響の分子機序の解析	SDGs3: すべての人に健康と福祉を

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	山本 祐司	応用生物科学部 農芸化学科・教授	統括と玄米中の機能性活性法の確立
研究分担者	藤巻 貴宏	応用生物科学部 農芸化学科・助教	玄米中の機能性の同定
	亀井 康富	京都府立大学 生命環境科学研究科・教授	玄米中の機能性の解析
	重村 泰毅	東京家政大学 家政学部栄養科・准教授	玄米中の機能性ペプチドの解析
	早田 一也	株式会社 神明	こめタンパク質の抽出
	三上 優依	株式会社 神明	米油の解析
	白石佳那子	応用生物科学研究科 農芸化学専攻・博士前期課程	ビタミン A 代謝の解析

3. 研究期間

2023年4月1日～2024年3月31日（3年計画の3年目）

4. 研究の背景（当初）

食生活の欧米化や運動不足による肥満は、脂質異常症、高血圧、2型糖尿病の原因となるのみならず、肥満は非アルコール性脂肪肝（NAFLD）の原因であり、日本人の10%～30%が罹患していると推定されている。NAFLDは脂肪肝炎を経て、肝臓へと変遷することが知られており、その予防及び改善は医療費負担の軽減や生活の質の向上の観点からも早急にとりくむべき課題の一つである。肥満によるさまざまな代謝異常はこれまで、炭水化物や脂質の過剰な摂取による脂肪組織の炎症が原因であると考えら

れてきた。しかし、近年の研究より、肥満やインスリン抵抗性では厳密な制御により生合成が調節されるレチノイン酸代謝が破綻し、潜在的なビタミン A 欠乏になっていることが報告されている。申請者らも、玄米摂取が肥満由来非アルコール性脂肪肝（NAFLD）の発症がレチノイン酸生合成を改善することで抑制することを明らかにしてきた。そこで、すでにビタミン A 代謝との関連の報告のある NAFLD をモデルに、食事中成分がビタミン A 生合成系に及ぼす影響解析をすることから、玄米中に NAFLD を抑制改善する機能性成分を含む可能性が占めされた。

5. 研究目的

玄米中に NAFLD を抑制改善する機能性成分を含む可能性が占めされたことから、糠中にビタミン A 代謝を制御する成分が含まれることが予想されたことから、最終年度では、この成分の同定と作用メカニズムを明らかにすることを目的とする。本研究で NAFLD の改善をする玄米由来の有効成分のスクリーニング、その作用メカニズムの解明を行うことで、食事由来の**栄養シグナルと体内ビタミン A シグナルの新たなクロストークについて提案をし、あらたな栄養シグナルの提案を行うとともに、糠の新規機能性の提案を行い、糠の有効利用の活路につなげる。**

6. 研究（実験）方法

＜脂溶性活性成分の探索＞

（1）糠からの脂溶性成分の抽出および分画

糠中に含まれる脂溶性成分にビタミン A 代謝亢進活性が昨年度の実験結果から得られたことから糠を用い、1) クロロホルム：メタノール 2) ヘキサン 3) 圧搾法の 3 サンプルを検討した結果、ヘキサンを用いる方法が商品化への考慮および効率的であると判断した。糠粉末に 10 倍量のヘキサン溶媒を加え、1 時間振盪して成分を抽出した。その後糠粉末をろ過しロータリーエバポレーターにて減圧乾固した後、DMSO に溶解し細胞添加サンプルとした。また、機能性成分の同定ではヘキサンで抽出した糠抽出物を、ヘキサン／酢酸エチルの混合溶媒を用いてシリカゲルカラムクロマトグラフィーにて試験管 50 本分採取し、5 本ずつをまとめて減圧乾固し 10 画分に分けたものを用いた。

（2）脂溶性成分の機能性解析（ビタミン A 生合成経路への影響）

ヘキサン抽出物を用い、糠成分中にビタミン A 代謝を変動される因子が含まれるか否かについて解析するために、ビタミン A 代謝の最終産物であるレチノイン酸によって用量依存的に発現が上昇する CYP26a1 のプロモーター領域を上流域に含むルシフェラーゼ遺伝子活性を組み込んだ pGL3-Basic-hCYP26A1P-E4 Luciferase を HepG2 細胞（ヒト肝がん由来細胞）へトランスフェクションし、ルシフェラーゼ活性を測定することによって解析した。また、レチノイン酸依存的に発現が制御される RAR β の遺伝子発現量については Real-time-PCR 法を用いて解析した。

さらに糠抽出物がレチノイン酸合成を促進しているのかを調べるため、レチノイン酸合成酵素 ALDH1a1 の酵素活性阻害剤 A37 を添加した状態で CYP26a1 プロモーター活性を測定した。A37 は ALDH1a1 の基質結合部位に結合することで競合阻害を起こす物質である。

（3）ビタミン A 代謝に変動を与える化合物の探索

上記（1）で得られた 10 画分をそれぞれ細胞へ添加して CYP26a1 プロモーター活性を測定した。その結果、画分 3～6 において有意な活性の上昇が確認されことからこれらの画分を HPLC、NMR にて解析

した。またこの画分に含まれる成分が糠抽出物と同じくレチノイン酸合成に関与しているのかを調べるために A37 阻害剤を用いた実験により CYP26a1 プロモーター活性を解析した。

(4) 脂溶性成分の機能性解析 (FOXO1 転写活性を制御する因子の検索)

ヒト肝がん由来の細胞である HepG2 細胞を使用し、細胞が 80% 以上コンフルエントになったところで、プラスミドをトランスフェクションした。プラスミドは pM FOXO1 (GAL4-FOXO1 融合タンパク質発現プラスミド)、4 × UAS TK Luc (レポーターのホタルルシフェラーゼの上流に GAL4 認識配列である UAS を組み込んだプラスミド) を使用した。トランスフェクション 5 時間後、米ぬか抽出物 (画分 No. 2 ~ No. 9) を終濃度 20ng/μL 及び 200ng/μL で添加し (n=4)、4 時間または 24 時間培養した後、Luc assay を行った。

<水溶性活性成分の探索>

(1) 米タンパク質分解物の脂質代謝への影響

玄米・糠投与によって Zucker fatty ラットの脂肪肝が抑制されるため、玄米・糠に豊富なタンパク質が有効成分の一つとして挙げられている。有効成分同定のために、米タンパク質画分を投与したラット血液中で増加するペプチドの検出を試みた。前日から絶食させたラットに、米から抽出したタンパク質 1g を投与し、30 と 45 分後に心臓から採血した。血漿に対して 3 倍量のエタノールを添加した後、10μL を採取・乾燥し、血漿中のアミノ酸をフェニルイソチオシアネート (PITC) で誘導化した。また同血漿を 110℃ で 20 時間加水分解した後、PITC 誘導化した試料も同様に調製した。PITC 誘導化された試料を HPLC で (試料液 200μL 中 10μL を) 分析し、血漿中に含まれる遊離 (未加水分解試料) とペプチド態アミノ酸を含む総アミノ酸 (加水分解後試料) 濃度を HPLC によって測定した。さらにペプチド配列の分析はプロテインシーケンサーを用いて解析した。

(2) 糠からのタンパク質精製と消化処理

米タンパク質の機能性を解析する目的で、糠からのインタクトなタンパク質抽出の方法の検討をおこなった。昨年度は、糠をアミラーゼおよびセルラーゼで処理し、酢酸で沈澱をさせることでタンパク質の粗精製を試みたが、操作が煩雑であったため熱水による抽出方法を試みた。その後にクエン酸を用いて pH を 3~4 に調整するし、タンパク質を沈殿さ、凍結乾燥した後タンパク質資料とした。人工消化液 (FASSGF) + 0.1mg/ml 溶液を調整しタンパク質試料を 37 度で 30 分インキュベート後再び凍結乾燥処理を行いタンパク質消化試料とした。

(3) リパーゼ活性阻害測定

前年度の研究成果で低タンパク質米の製造過程で生じる、米タンパク質分解物 (米からアルカリ抽出し、その後酵素処理により分解したもの) を高脂肪食に混餌した結果、糞中の中性脂肪量が増加した結果を受けて、小腸でのリパーゼが阻害されている可能性考察した。そこで、上記により調整したタンパク質消化試料を用い、リパーゼ活性阻害効果を調べた。具体的にはリパーゼによるエステル結合の切断を p-NPP を基質とした p-NP 産生量で評価した。

7. 研究成果

<脂溶性活性成分の探索>

(1) 脂溶性成分の機能性解析（ビタミン A 代謝への作用の解析）

糠からヘキサンで抽出した糠抽出物を HepG2 細胞へ添加した結果、用量依存的に CYP26a1 プロモーター活性及び RAR β の遺伝子発現量の上昇がみられた。レチノイン酸合成酵素 ALDH1a1 の酵素活性阻害剤 A37 を添加し結果、A37 を添加すると A37 無添加時にみられていた糠抽出物による CYP26a1 プロモーターの活性は A37 の用量依存的に抑制された。よって糠抽出物中の成分がヒト肝細胞においてレチノイン酸合成を促進させビタミン A 代謝に変動を与えることが示された。

次に、シリカゲルカラムを用いて分画し、CYP26a1 プロモーター活性及び RAR β の遺伝子発現量の上昇が得られた画分を解析した結果、主成分が化合物 A である可能性が示された。次に、化合物 A 標品を添加し CYP26a1 プロモーター活性を測定したところ有意な活性の上昇がみられた。また、また、化合物 A が分画前の糠抽出物と同じくレチノイン酸合成に関与しているのかを調べるために A37 阻害剤を用いた実験により CYP26a1 プロモーター活性を解析した。その結果、A37 無添加時にみられていた CYP26a1 プロモーター活性の上昇は A37 によって抑制され、糠抽出物分画前でみられた結果と同様であった。

(2) 脂溶性成分の機能性解析（FOXO1 転写活性を制御する因子の検索）

転写アッセイの結果、米ぬか抽出物の添加によって有意に Luc 活性値は低下しなかった。つまり、本実験で用いた FOXO1 転写アッセイ系では、米ぬかによる FOXO1 転写活性抑制効果は観察されなかった。そこで、転写アッセイとは独立した実験系により、米ぬかの FOXO1 活性への効果を調べる。具体的には、培養細胞に米ぬか抽出物を添加し、リアルタイム PCR によって FOXO1 標的遺伝子の発現変動解析を実施することで、標的遺伝子の発現レベルから FOXO1 の活性を評価する。

<水溶性活性成分の探索>

血液中のペプチド態アミノ酸（＝総アミノ酸 - 遊離アミノ酸）はタンパク質投与前に比べて、投与 30 分後に最大濃度に達しており、45 分後にやや減少傾向をみせた。Gly、Ala、Val、Leu のペプチド態アミノ酸が米タンパク質投与 30 分後のラット血中で多く増加していた。これらのアミノ酸を含むペプチドが米タンパク質投与後に脂肪肝抑制に関与する可能性がある。

また、今回人工消化により調整したタンパク質消化試料を用いた結果から、タンパク質消化試料中にリパーゼ阻害活性を有するペプチドが含まれる可能性を示す結果を得た。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特になし

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

今回糠中の化合物 A がビタミン A 代謝を制御する効果について明らかにしたが、そのメカニズムについては明らかにできなかった。また、他の植物油中にも化合物 A が含まれることから、糠中の他の有効成分が相加的・相乗的に作用している可能性についても考えられることから、引き続き有効成分の「解析は必要である」と考える。また今回効率的にタンパク質を抽出する方法を確立した。今後抽出効率アップについてさらに改良の余地があると考え。また、これらタンパク質の機能性をさらに詳細に解析することで糠の有効活用法の提案ができると考える。

10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) 山本 祐司・藤田 沙耶・松本 雄宇・鈴木 司・井上 順 玄米を改めて考える 伝統食品の研究 No50 (2023) (印刷中)

学会発表・その他

- 1) 山本 祐司 米澤加代 伝統食品の力！玄米の新しい効果について 食品化学新聞社 (印刷中)
- 2) 山本 祐司 玄米の効果について (仮) 日本食糧新聞社 (印刷中)
- 3) ビタミン A 代謝変動により非アルコール性脂肪肝炎を抑制させる玄米の効果について 農芸化学大会シンポジウム (令和 6 年 3 月 25 日)
- 4) 山本 祐司 玄米成分が非アルコール性脂肪肝炎を抑制する。ビタミン A 代謝の視点から 岡山県食品新技術応用研究会 第 387 回研修会 招待講演 (令和 6 年 2 月 8 日)
- 5) 白石 佳那子・山本 祐司・井上 順・鈴木 司・石見 佳子 ポスター発表 玄米摂取による非アルコール性脂肪肝炎 (NAFLD) の改善作用お米の未来を考えるシンポジウム 京都大学 (令和 5 年 12 月 8 日)

2023年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 小川 英彦

1. 研究課題名および予算額

研究課題名	研究領域 (キーワード)
動物個体生産向上を目指した胚の着床能獲得を支持する子宮液内因子の解明	SDGs 3, 7

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	小川 英彦	生命科学部 バイオサイエンス学科・教授	解析試料採取と胚や生体を用いた評価
研究分担者	川崎 信治	生命科学部 分子微生物学科・教授	プロテオーム・メタボローム解析
	樋浦 仁	生命科学部 バイオサイエンス学科・准教授	miRNA 解析
	佐藤 拓海	生命科学部 分子微生物学科・准教授	プロテオーム・メタボローム解析
	志波 優	生命科学部 分子微生物学科・准教授	全体のデータ解析

3. 研究期間

2023年4月1日～2024年3月31日（3年計画の3年目）

4. 研究の背景（当初）

哺乳類において、妊娠が成立するためには、①生殖細胞（卵子・精子）の形成、②受精の成立、③受精卵の卵割開始、④胚盤胞期胚の子宮内膜への着床、⑤着床後の胎子・胎盤形成、の7つのステップが正常に遂行されることが必要である。これらのうちステップ④は、遺伝的背景が異なる母体と胚とが子宮腔内において相互のコミュニケーションを基盤にしてお互いの存在を認識する「妊娠認識」が不可欠である。ヒトの妊娠では、およそ70%の受精卵が産子に至らず妊娠喪失に陥るとされている。さらに、妊

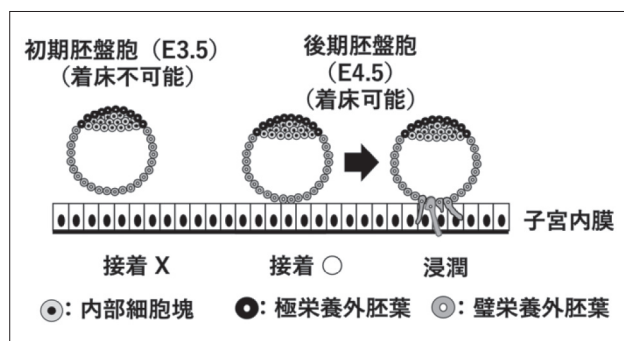


図1. 後期胚盤胞は着床可能になり、
子宮内膜へ接着・浸潤できる

娠喪失のうち約 75%がステップ④すなわち着床期に集中する。従って、着床効率を改善・向上させることは妊娠成立の高率化、産子率向上に必要である。

「妊娠認識」の過程において、子宮内膜は胚盤胞期胚を受容する能力を獲得する。一方、胚盤胞期胚は着床能を獲得し、子宮内膜に接触し、接着・浸潤の過程を進む（図 1.）。これらの過程で胚盤胞期胚と子宮内膜との間でシグナルの伝達が行われていると考えられているが不明な点が多い。我々はこれまでに、着床能獲得の初期段階で胚盤胞期胚の壁栄養外胚葉特異的に転写因子 CDX2 の発現が消失すること、また、体外培養系によりこの壁栄養外胚葉特異的 CDX2 の発現消失が胚以外の外的因子（ウシ胎子血清中に含まれる因子）で生じるという結果を得ている。従って、胚盤胞期胚の着床能獲得のトリガーとなる因子は子宮液中にあり、ウシ胎子血清中にも含まれる因子であると言える。

5. 研究目的

マウス胚盤胞期胚は、壁栄養外胚葉が分化することで着床能を獲得する。着床能獲得の初期段階では転写因子 CDX2 の発現低下が認められる。我々は、マウス胚盤胞の壁栄養外胚葉における CDX2 の発現動態を調べた結果、E3.5（受精後 3.5 日）の胚盤胞では壁栄養外胚葉で CDX2 が発現しているのに対し、E4.5 では完全に消失していた。これらの CDX2 の発現変化の結果から、マウス胚盤胞期胚の着床能獲得のトリガーとなる因子は E3.5 から E4.0 の子宮液内に存在すると考えられる。さらに、ウシ胎子血清（FBS）を添加した培養液で体外培養した胚盤胞でも、壁栄養外胚葉で CDX2 発現低下が見られたことから、着床能獲得のトリガーとなる因子は FBS にも含まれていると考えられる。そこで、E3.5、E4.0、E4.5 の妊娠子宮から回収した子宮内分泌液、または FBS を用いて、胚盤胞期胚の着床能獲得のトリガーとなる因子を同定することを最終目標とする。

6. 研究（実験）方法

本研究課題の最終目標である着床能獲得のトリガーとなる物質を同定するために、ウシ胎仔血清（FBS）及び着床期の子宮液を用いてメタボローム解析を行い、候補因子を選出した。さらに、得られた候補因子が胚の着床能促進する因子であるか特定を試みた。

（1）ウシ胎仔血清（FBS）を用いた胚盤胞期胚の着床能を誘導する候補因子の選出

昨年度、FBS を用いた研究成果から、胚の着床能を促進する因子は活性炭処理により除去される物質であることを明らかにした。除去された FBS の因子を同定するために、活性炭処理した FBS と処理していない FBS を用いて LC/MS 分析を行ったが、カラムが詰まってしまい解析には至らなかった。そこで、LC/MS 解析を諦め GC/MS 分析に変更して因子の同定を試みることにした。

（2）子宮液を用いた胚盤胞期胚の着床能を誘導する候補因子の選出

E3.5、4.0、4.5（それぞれ受精後 3.5、4.0、4.5 日）に回収した子宮液および非妊娠メスマウスから回収した子宮液（コントロール）を用いて、GC/MS 分析によりメタボローム解析を行った。昨年度に着床能獲得のトリガーとなる因子が E4.0 および 4.5 の子宮液に含まれていると考えられたことから、E4.0 および 4.5 の時期特異的に存在する因子を検出した。検出された物質は（1）の因子と照合し、共通して見られる因子を候補因子として選出した。

(3) 体外培養法による着床能評価による候補因子の特定

(2) で選出した候補因子を用いて、胚の着床能に及ぼす影響を調べた。雌雄 ICR 系統マウスの体外受精で得た受精卵を 96 時間培養後、透明帯除去した拡張胚盤胞期胚を供試した。フィブロネクチンコートしたディッシュで KSOM、10%FBS 添加 KSOM および必須アミノ酸と非必須アミノ酸を添加した KSOM (KSOMaa) で培養を行なった。*Cdx2* 発現低下に伴う mural TE 分化を評価するために、96 時間まで経時的形態観察を行ない、体外培養着床モデルとして知られるディッシュ上の TE 細胞遊走 (outgrowth) の割合 (outgrowth 率) と面積 (outgrowth 面積) を計測した。アミノ酸トランスポーター System B⁰⁺ および System L の阻害剤である BCH と LAT1 阻害剤である JPH203 を用いた。アミノ酸トランスポーター阻害による着床能への影響を評価するために、阻害剤添加培養 48 時間後における outgrowth 率と培養 96 時間後の outgrowth 面積を比較した。

(4) ウシ胎仔血清 (FBS) を用いた胚盤胞期胚の着床能を誘導する候補因子の再選出

研究方法 (1) で胚盤胞期胚の着床能を誘導する候補因子の選出を行ったが、さらに多くの因子を選出するために、液体クロマトグラフとキャピラリーイオンクロマトグラフを用いた質量分析を実施した (インセムズテクノロジー株式会社へ委託)。使用した解析サンプルは、研究方法 (1) と同様、活性炭処理した FBS と処理していない FBS とした。

7. 研究成果

(1) ウシ胎仔血清 (FBS) を用いた胚盤胞期胚の着床能を誘導する候補因子の選出

GC/MS 分析を行ったところ、活性炭により除去された因子が 17 個検出された。検出された 17 個の因子には、アミノ酸 (ロイシン、イソロイシン、アスパラギン酸、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン) やビタミン類 (パントテン酸: ビタミン B5) が含まれていた。

(2) 子宮液を用いた胚盤胞期胚の着床能を誘導する候補因子の選出

E3.5、4.0、4.5 (それぞれ受精後 3.5、4.0、4.5 日) に回収した子宮液および非妊娠メスマウスから回収した子宮液 (コントロール) を用いて、GC/MS 分析によりメタボローム解析を行った。解析結果をもとに、E4.0 および 4.5 の子宮液でのみ量が増加する因子を選出した結果、12 個の因子が抽出された。しかし、検出された因子のうち (1) と共通して見られる因子は見つけられなかった。そこで、E3.5 と比較して E4.0 および 4.5 で量が増加する因子を選出し、(1) の因子とを照合した。その結果、共通して増加した因子は、アミノ酸 (ロイシン、イソロイシン、アスパラギン酸、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン) のみであった (図 2.)。

(3) 体外培養法による着床能評価による候補因子の特定

アミノ酸が胚の着床能獲得に影響があるかを明らかにするために以下の実験を行った。フィブロネクチンコートしたディッシュ上で胚盤胞期胚を KSOMaa (KSOMaa 区) および KSOM+FBS (FBS 区) で培養し、outgrowth させた。培養 96 時間後の outgrowth 率は KSOMaa 区で 96% (26/27)、FBS 区で 90% (27/30) と同等であり、アミノ酸により着床能が誘導された可能性が考えられた。そこで、着床能獲得に影響を及ぼすアミノ酸を明らかにするために、アミノ酸トランスポーター阻害剤を添加し実験を行った。アミノ酸トランスポーター阻害剤として、Na⁺ 依存性中性・塩基性アミノ酸輸送を担う System B⁰⁺ および Na⁺ 非依存性中性アミノ酸輸送を担う System L の阻害剤である BCH と、System L に属し大型側

鎖を持つ中性アミノ酸輸送を担う LAT1 特異的阻害剤である JPH203 を用いた。KSOMaa 区および BCH 添加区の培養 48 時間における outgrowth 率は、それぞれ 68% (25/37)、23% (7/30) であり BCH 添加区において有意に outgrowth 率が減少していた。また、培養 96 時間後の BCH 添加区の outgrowth 率は KSOMaa 区と同等であったが outgrowth 面積は有意に小さく、BCH 添加によって着床能獲得が抑制された (図 3.)。JPH203 添加区では、培養 48 時間後の outgrowth 率は 62% (23/37) と KSOMaa 区と同等であったが培養 96 時間後 outgrowth 面積は有意に小さかったことから、JPH203 は着床能獲得を阻害しないが、その後の浸潤の進行を抑制したと考えられた (図 4.)。以上の結果より、System B⁰⁺、もしくは LAT1 以外の System L を介したアミノ酸輸送により胚盤胞は着床能を獲得すると考えられた。

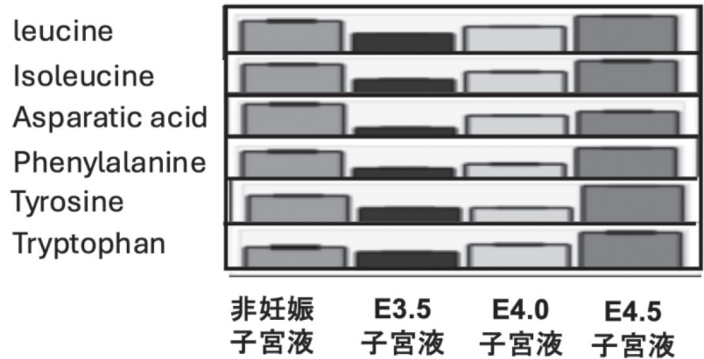
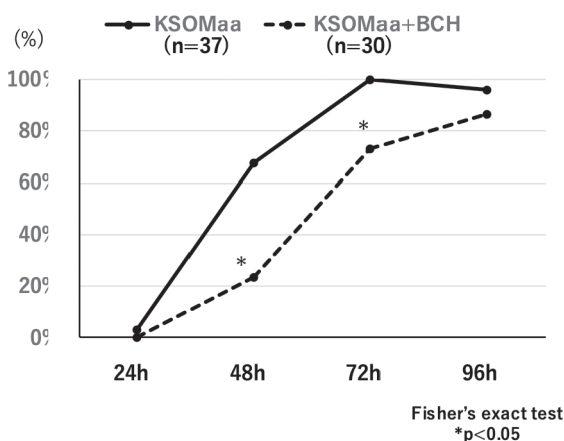


図 2. 子宮液を用いたメタボローム解析

a) outgrowth率



b) 培養96時間後のoutgrowth面積

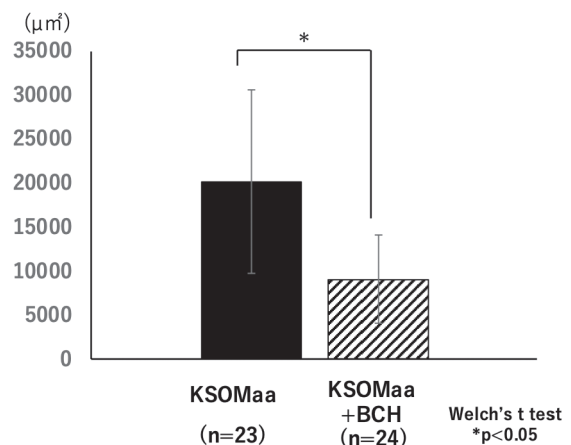
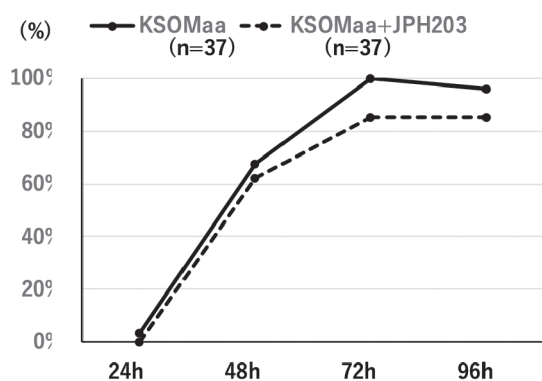


図 3. BCH が胚の outgrowth 率および outgrowth 面積に及ぼす影響

a) outgrowth率



b) 培養96時間後のoutgrowth面積

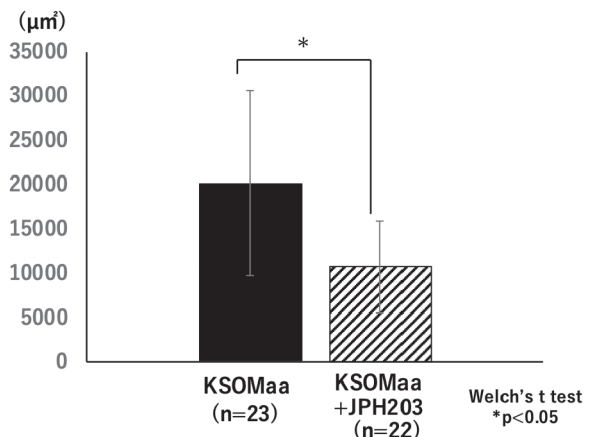


図 4. JPH203 が胚の outgrowth 率および outgrowth 面積に及ぼす影響

(4) ウシ胎仔血清（FBS）を用いた胚盤胞期胚の着床能を誘導する候補因子の再選出

FBS と比較して活性炭処理した FBS で有意に含有量が低下した因子と、活性炭処理した FBS では検出されなかった因子を選出した。その結果、活性炭処理した FBS で有意に含有量が低下した因子を 10 個、活性炭処理した FBS で検出されなかった因子を 83 個、再選出した。これらの中には、研究成果 (1) で選出したアミノ酸やビタミン類（パントテン酸）が含まれていた。さらに、新たにアミノ酸（メチオニン、ヒスチジン、アルギニン）とビタミン類（チアミン：ビタミン B1、ニコチンアミド：ビタミン B3）も選出された。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特になし

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本研究課題の最終目標である着床期の子宮液内に存在する着床獲得のトリガーとなる物質を同定するために、FBS と E3.5、E4.0 および E4.5 の子宮液を GC/MS 解析した。その結果、アミノ酸とビタミン類が候補因子として抽出された。

必須アミノ酸および非必須アミノ酸を含む KSOM 培地（KSOMaa）で培養した胚盤胞は、FBS 添加 KSOM 培地で培養した胚盤胞と同様に、outgrowth が観察された。この結果は、アミノ酸が胚の outgrowth を誘導する因子であることを決定付けるものである。しかし、今回候補因子として抽出されたアミノ酸単体または、混合液を添加した KSOM 培地では胚の outgrowth は観察されなかったため、候補因子を特定するには至らなかった。

今後は、添加するアミノ酸の量や組み合わせを変えて、outgrowth への影響を調べる予定である。さらに、本研究課題の最終目標である胚盤胞期胚の着床能獲得のトリガーとなる因子を同定するためには、CDX2 の発現低下をもたらすアミノ酸を明らかにすることも必要であると思われる。

10. 公表した成果一覧

学術論文：特になし

学会発表

- 1) 平野陽香、山形圭、小川英彦 「マウス胚の着床能獲得機構解明に向けた三次元培養法の確立」 第 64 回日本卵子学会学術集会（2023 年 5 月、於つくば）
- 2) 山形圭、平野陽香、佐藤拓海、小川英彦 「マウス胚の着床能獲得を誘導する胚外因子の解明」 第 64 回日本卵子学会学術集会（2023 年 5 月、於つくば）
- 3) 小川英彦 着床過程における胚の発生メカニズム 第 8 回 Art Clinical Research Conference（2024 年 2 月、於秋葉原）

2023年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 佐藤 みずほ

1. 研究課題名および予算額

研究課題名	研究領域 (キーワード)
With/After COVID-19の持続可能な Food Supply Chain に向けたシナリオ分析	COVID-19, Sustainable Food Supply Chain, Scenario Analysis, Food loss and waste

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	佐藤みずほ	国際食料情報学部 食料環境経済学科・教授	研究統括・実態調査（小売・外食）、ゲーミング、ワークショップ設計
研究分担者	大浦 裕二	国際食料情報学部 食料環境経済学科・教授	実態調査（消費者・流通）
	野々村真希	国際食料情報学部 食料環境経済学科・准教授	実態調査（消費者）・食品ロス
	菊島 良介	国際食料情報学部 食料環境経済学科・准教授	実態調査（消費者・卸売・生産者）
	水山 元	青山学院大学 理工学部 システム工学科・教授	シミュレーション・ゲーミング
	木下 裕介	東京大学大学院 工学系研究科・准教授	シナリオ分析
	中島 円	国際航業(株) 慶應義塾大学 SDM 研究科・特任教授	ワークショップ設計
	駒木 亮伯	(株)東芝 慶應義塾大学 SDM 研究科・後期博士課程	メンタルモデル作成

3. 研究期間

2023年4月1日～2024年3月31日（3年計画の3年目）

4. 研究の背景（当初）

2015 年の国連サミットで採択された「持続可能な開発のための 2030 アジェンダ」に示された「持続可能な開発目標（SDGs）」において、小売・消費レベルでの食品廃棄を世界全体で半減するという目標が掲げられた。国際連合食糧農業機関（FAO）のデータによると食料の 1/3（約 13 億トン）は毎年廃棄されており、金額にすると約 7,500 億ドルにもなっている。わが国も例外ではなく、2017 年のデータによると、食品廃棄は年間約 2,600 万トンも発生しており、中でも食べられるにも関わらず廃棄される食品ロスの量は約 600 万トンとされている。さらに、これらの量は 2019 年に発生した新型コロナウイルス（COVID-19）の影響を受けて増加している可能性がある。例えば、COVID-19 の感染拡大防止のため、学校の休校、外出自粛、飲食店の営業時間短縮などの要請が出された影響により、食品サプライチェーンでは、利用されない食品が発生している。これらの食品は、他の用途に流用されなければ廃棄されてしまう。また、消費者でも、緊急事態宣言に伴い、大量に食品を購入したものの、食べきれずにそのまま廃棄されてしまったケースも見られる。また、COVID-19 による食品サプライチェーンへの影響は一時的な変化で終わって将来的には元に戻るものもあれば、COVID-19 以前に戻らないものもあると考えられる。そのため、実態を把握した上で、今後の持続可能な食品サプライチェーンを考えていく必要がある。

5. 研究目的

2023 年度の研究目的は、COVID-19 による食品サプライチェーンへの影響の実態調査を踏まえ、消費者の行動変容がサプライチェーン全体に与える影響は大きいと示唆された。また、地域差による食意識・食行動への影響が示唆されたため、その変化について明らかにすることを目的とした。

6. 研究（実験）方法

（1）研究方法概要

本研究は下記のような Step 1～4 で構成されており、3 年目は、サプライチェーンの川下である消費者を中心に分析を試みた（※本研究 PJ としては Step 2 までとする）。

Step 1：主に野菜のサプライチェーンの各段階における COVID-19 の影響の実態調査

Step 2：Step1 の実態が今後どのように変化するかについてのシナリオ分析

Step 3：各段階にあった食品廃棄低減化方法の提案

Step 4：Step3 で出たアイデアの実装とその効果の評価

（2）研究方法

「Before-COVID-19 と With-COVID-19 の食意識・行動の変化」に関するアンケート調査データを基に 3 地域（COVID-19 感染者数の多い地域、中程度の地域、少ない地域）に分類して統計分析を行った。

分類方法は NHK が公表している、2020 年 1 月～2023 年 5 月までの累計 COVID-19 感染者数をもとに定めた（NHK, 2023）。なお、アンケート調査データは全国の都道府県の人口に比例して割付し、オンラインモニターを対象に 1200 名（男性 600 名・女性 600 名）から得た回答を用いて、分析には、統計ソフト jamovi を用いた。

7. 研究成果

COVID-19 感染者数によって 3 地域に分類して分析を行った。行動抑制が強く行われた地域を「累計

感染者数多地域」とし、累計感染者数が100万人以上の9都道府県を対象とした。つづいて、累計感染者数30万人未満の都道府県を「累計感染者数少地域」とし、残りの23府県を「累計感染者数中地域」と定めた。さらに調査では、食材の購入準備から購入後の料理、食材の保存や廃棄についてCOVID前後の変化を尋ね、5点尺度で回答してもらった。回答を購入前準備、計画的買い物などの大項目にまとめ、それぞれの大項目に入る質問で得られた得点を足して、新たな変数として作成した。回答によって逆転項目もあるため、適宜、逆転変数としての処理も行っている。表1に作成した新たな変数と、その変数に用いた質問をまとめた。

第1に全地域を対象にCOVID-19前後の食意識・食行動の変化を明らかにするためにt検定を行った。その結果、COVID-19前後の「購入前準備」、「栄養表示・自然食品重視」、「日配品・生鮮品の購入」、「環境配慮」、「料理」、「保存知識」、「廃棄意識・量」、「ソーシャルキャピタル」、「保守的」、「好奇心」、「社交的」で $p<.001$ 水準の有意差が見られ、「廃棄意識・量」、「保守的」、「社交的」を除いてCOVID-19後の数値が高くなっている。逆転した項目の「廃棄意識・量」についてはCOVID-19後の数値が有意に低くなっていることから、廃棄が減っていると読み取れる。「料理」は、COVID-19後、数値が優位に高くなっているため、廃棄への意識が上がり料理スキル等によって廃棄が削減されているのではないかと示唆された。また、COVID-19前後の平均の差をみると、「廃棄意識・量」の差が最も大きく(0.94)、次いで「料理」(0.87)「ソーシャルキャピタル」(0.49)、「保存知識」(0.48)で差が大きくなっていることから、これらはCOVID-19に強く影響を受けているとも考えられる。以上の結果からCOVID-19後はCOVID-19前に比べ、多くの食意識・食行動が変化していることが示唆された。

第2にCOVID-19前後の食意識・食行動の変化の差を明らかにするために3つの地域別にt検定を実施した。その結果、COVID-19感染者数の多かった地域では、変化の大きかった項目数とその平均値の差の数値が他地域より大きかったことから、その結果、COVID-19感染者数の多かった地域では、前後の平均値の差が有意となった項目数とその平均値の差の数値が他地域より大きかったことが明らかになった。このことからCOVID-19感染者数の多かった地域ではその他の地域と比べ、より多くの食意識・食行動が変化していることが確認できたと示唆された。

第3に3つの地域間での食意識・食行動の変化量に差があるかを検討するため、一要因分散分析を行った。その結果、地域間の差は、「栄養表示・自然食品重視」と「環境配慮」の2つの項目で有意な差がみられた。また、COVID-19感染者が多い地域は、他の地域に比べて「栄養表示・自然食品を重視」して食材を購入しようという傾向が強かったことから健康への意識が高くなっているのではないかと伺えた。さらに、COVID-19感染者が多かった地域、中程度の地域では環境配慮として、環境負荷の少ない商品や地元の食品、また、調理しやすいカット野菜の購入への変化が大きくみられた。しかし、その他の項目では有意な差はみられなかった。

また、COVID-19前後の食意識・食行動の変化量に影響を与える要因を検討するため、重回帰分析を行った。被説明変数をCOVID-19前後の食意識・食行動の変化量とし、説明変数を性別、年齢、家族の人数、世帯収入、地域別感染者数および、被説明変数以外の食意識・食行動の変化量とした。その結果、有意となった説明変数が多く見られた変化量は、「計画的買い物」、「環境配慮」、そして「料理」であった。その中で、「環境配慮」の変化量を被説明変数として重回帰分析を行った結果では、「栄養表示や自然食品を重視」して購入するようになったという変化が環境配慮に $p<.001$ 水準で正に有意となったことから、環境配慮行動は、健康への意識に影響を与えているのではないかと示唆された。

COVID-19後の食意識・食行動の地域間の特徴を見ると、感染者数の多い地域において、他地域よりも多くの要因が「料理」、「環境配慮」、「栄養表示・自然食品の重視」といった食意識・食行動に影響を与

えていることも見出された。性別や年齢という属性は弱いながらも感染の多い地域で影響を与えていることも確認できた。

なお、統計分析については、慶応義塾大学大学院研システムデザイン・マネジメント研究科特任助教の井上絵理氏に協力を得た。

表1：食意識・食行動の変数

大項目	質 問
購入前準備	買い物に行く前に冷蔵庫・保管庫の中身の確認 買い物に行く前に冷蔵庫・保管庫に保存されている食品の消費・賞味期限の確認
計画的買い物	買い物に行く前に購入する食品リストを作成 買い物計画より少し多く購入する傾向（逆）
品質より値引き重視	生鮮品の鮮度が多少悪くても値引されていたら購入 消費期限の違う複数の商品があった場合、値引されている消費期限の近い商品を購入 賞味期限の違う複数の商品があった場合、値引されている賞味期限の近い商品を購入
食べ切れる量の購入	なるべく一度に食べきれる量を購入 少量で足りる場合でもまとめ売りの方が安ければまとめ売りを購入 「数量限定」、「期間限定」をつい購入
日配品・生鮮品購入	日配品（豆腐、納豆、乳・乳製品など）・生鮮品（野菜・果物、肉・魚）の購入
栄養表示・自然食品重視	食品の購入を決める際に価格よりも栄養表示内容を重要視 栄養表示ラベルを見て食品を購入 自然食品を好んで購入
環境配慮	環境負荷の少ない商品（無駄を減らした容器、詰め替えができる包装など）を好んで購入 できるだけ国産や地元の食材を購入 産地や輸入先を確認して食材・食品を購入 生鮮品（野菜・果物・魚）などカットされて販売されているものを購入
料理	よく家庭で料理をする 食材をうまく使いきるようにする 余った食材を活用するようにする 料理を作り過ぎないようにする
保存知識	保存できる冷蔵庫の容量、台所の棚のスペースを把握 消費・賞味期限の意味を正確に理解 冷蔵庫の温度管理の実施
廃棄意識・量	調理くず、過剰除去、消費期限切れ、賞味期限切れ、食べ残し量 廃棄をする際に、外観、味、香りなどで判断して廃棄 余った料理は冷凍保存などして廃棄しないように留意
ソーシャルキャピタル	災害などで困ったとき、近所の人が助けてくれると思う 災害などで困ったとき、職場や学校関連の人が助けてくれると思う 災害などで困ったとき、趣味や社会活動で出会った知り合いが助けてくれると思う

	災害などで困ったとき、遠く離れているが、たまに会う、友人・知人が助けてくれると思う
利便性	家庭で出来合いの商品・冷凍食品・インスタント食品の素・宅配・定期的な配達を利用する
保守的	自分の食習慣を変えるのは好きではない 慣れ親しんだ食品以外は購入しない 慣れ親しんだ食品は安心できる
好奇心	常に新しい食や健康の情報を得るようにしている 新商品を試すのが好き・新しい料理を試すのが好き
社交的	友人と一緒に食事をとることは、社会生活で重要と思う 食事を友人に提供する際に最も重要なことは、友人と一緒に食べることだ と思う 食事の際に友人と会話を楽しむことができる

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

研究代表者と水山らは、持続可能なフードサプライチェーンの研究手法として、シリアスゲームの開発（Milky Chain Game, Veggie Mart Game）を行ってきた。科学技術融合振興財団（FOST）から2023年度調査研究「持続可能な食行動をデザインするゲーム」の助成を受けており、本研究で得られた消費者行動の変化や特徴をこの調査研究に盛り込んで研究を発展させており、International Simulation and Gaming Association's (ISAGA) Conference 2024 でその研究内容を発表した。

また、研究代表者、駒木、中島らは、COVID-19 による消費者のメンタル的な変化を踏まえて2030年に向けた健康な食行動のシナリオ分析を進めており、その内容を海外の論文に投稿中である。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

今回の分析からは、感染者数の多い地域において、他地域よりも多くの要因が「料理」、「環境配慮」、「栄養表示自然食品の重視」といった食意識・食行動に影響を与えていることが見出された。性別や年齢という属性は弱いながらも感染の多い地域で影響を与えていることも確認できた。こうした影響に、今後、どのような変化がみられるかのシナリオを検討する必要がある。これらの変数の因果関係について関係者でワークショップを実施しながら、2030年をゴールとした持続可能なフードサプライチェーンのシナリオ分析を進める。さらに今回の研究で得られた結果と海外（特にアメリカ）の事例を比較し、研究結果に違いがある場合は、その違いを明らかにして持続可能なフードサプライチェーンのシナリオ分析に活かしていきたい。

10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) Mizuho Sato, Tomoya Manago, Hajime Mizuyama : Milky Chain Game: A Pedagogical Game for Food Supply Chain Management, IFIP Advances in Information and Communication Technology, 690, Springer, 347-362, 2023

学会発表

- 1) 佐藤みずほ・水山元：持続可能なフードサービスのためのシリアスゲーム開発，日本フードサービス学会 第 28 回年次大会，「ポスター発表」，（立教大学，2023 年 12 月 2 日）
- 2) Mizuho Sato, Hajime Mizuyama: Digital Veggie Mart Game for Nutritional Education and Sustainable Food Supply Chain, International Simulation and Gaming Association's (ISAGA) Conference 2024, (Christchurch, New Zealand, July 9th, 2024)

2023年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 伊藤 晋作

1. 研究課題名および予算額

研究課題名	研究領域 (キーワード)
アフリカ実用作物を対象としたストライガ防除機構の解明と分子育種	SDGs (2. 飢餓をゼロに)

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	伊藤 晋作	生命科学部 バイオサイエンス学科・准教授	研究統括、阻害剤の評価
研究分担者	伊澤かな	生命科学部 バイオサイエンス学科・准教授	ゲノム編集ソルガム作出
	入江 憲治	国際食料情報学部 国際農業開発学科・教授	アフリカ実用作物への効果の検討
	斉藤 竜男	生命科学部 分子生命化学科・准教授	ストリゴラクトンの合成

3. 研究期間

2023年4月1日～2024年3月31日（3年計画の2年目）

4. 研究の背景（当初）

根寄生雑草ストライガは、アフリカ全域で主要作物に寄生し、生育不良、収量の減少を引き起こす。被害額は年間 100 億ドルに達すると試算されており、アフリカの「飢餓をゼロに」するための最重要問題と考えられている。ストリゴラクトン（SL）は植物が生産、分泌する生理活性物質であり、現在までに 40 種類程度の SL が報告されている。ストライガは土壤中で SL を認識し、発芽、寄生する一方、植物体内では植物ホルモンとして作用し、作物収量やバイオマス量を決定する重要因子である枝分かれ制御物質として、さらに植物共生菌との共生シグナルとしても作用することが知られている。現在 SL を合成できない生合成変異体はストライガに寄生されないことが報告されているが、植物ホルモン作用や共生菌との共生抑制に起因する収量減も引き起こす。さらにアフリカ実用作物での生合成変異体の報告はないことから、アフリカ農業への応用には大きな障壁があった。

5. 研究目的

申請者らはこれまでにジャポニカイネを対象とし、SL 生合成阻害剤の創製研究を行ってきた。その過程で SL 生合成酵素である CYP711A の阻害は一部の SL を選択的に阻害し、「ストライガの寄生は抑制されるが、植物ホルモン作用や共生菌との共生作用にはほとんど影響しない」というストライガ防除にとって理想的な植物形態を誘導することを見出してきた。CYP711A は植物に広く保存された遺伝子であり、理想的なストライガ耐性作物作出のための標的となりうる。一方、植物の合成する SL 類は品種や植物種によって大きく異なるため、本技術のアフリカ実用作物への適用には、現地栽培種での CYP711A 阻害の効果検証が必須である。そこで本研究ではアフリカ実用作物へのストライガ防除剤の効果を検証するとともに、高活性ストライガ防除剤、ストライガ耐性ソルガムの作出を目指す。

6. 研究（実験）方法

（1）アフリカ実用作物への応用検討（入江、伊藤）

1-1. CYP711A 阻害剤のアフリカ実用作物への効果検討

（2）ストライガ耐性作物の作出（伊澤、伊藤）

2-1. ゲノム編集ソルガムの作出検討

（3）高活性薬剤の創出と作用メカニズムの解析（伊藤、斉藤）

3-1. CYP711A 阻害剤の構造活性相関研究

3-2. 高活性 CYP711A 阻害剤の効果検討

7. 研究成果

課題 1、アフリカ実用作物への応用検討（入江、伊藤）

1-1. CYP711A 阻害剤のアフリカ実用作物への効果検討

昨年度課題 3 で見出した高活性な CYP711A 阻害剤である KeIKK5 を用いて、イネ（実験Ⅰ）、トウモロコシ（実験Ⅱ）、ソルガム（実験Ⅲ）を用いて枝分かれおよび収量への影響を評価した。

実験Ⅰ-1：イネの生育初期における CYP711A 特異的阻害剤が品種に及ぼす影響

分げつ旺盛な 11 品種を供試し、東京農業大学世田谷キャンパス E 温室内の角型容器（容量 135l、内寸 900×540×280mm）に、栽植密度 4cm×6.5cm で 10 月 17 日に播種した。10μMCYP711A 特異的阻害剤（KeIKK5）の無散布区（Control）と散布区（treatment）を設け、11 月 7 日から 1 週間毎に 2024 年 1 月 9 日まで計 10 回散布を行った。調査は、草丈、分げつ、乾物重について 1 月 15 日に収穫し、調査を行った。

結果および考察：t-検定の結果から、草丈、分げつ、乾物重の全ての項目で対照区に比べて、CYP711A 特異的阻害剤散布区が低かった。一方、処理区と品種の交互作用においては有意差がみられなかった。

実験Ⅰ-2：CYP711A 特異的阻害剤がアフリカ陸稲品種 IS452 の生育に及ぼす影響

本実験では、アフリカ品種 IS452 を供試した。5 月 19 日に東京農業大学世田谷キャンパス網室内の角型容器（容量 500l、内寸 1700×780×384mm）に、栽植密度 20cm×20cm で播種した。10μM CYP711A 特異的阻害剤（KeIKK5）の無散布区（Control）と散布区（treatment）を設け、CYP711A 特異的阻害剤の

散布は、6月6日から1週間毎に8月22日まで計13回行った。調査は、生育期間中に株あたりの葉齢および草丈、分けつ数の調査を6月1日から8月24日まで1週間ごとに計13回行った。また、葉緑素を推定するSPAD値の調査を6月29日から8月24日まで1週間ごとに計9回行った。収穫期の調査は株当たり穂数、穂長、穂重、一穂当たり粒数、粒長、粒幅、玄米長、玄米幅、一次枝梗の本数と着粒数、二次枝梗の本数と着粒数、精粒千粒重、玄米千粒重、地上部乾物重、稈長、登熟歩合について行った。

結果および考察：草丈と葉齢は、CYP711A 特異的阻害剤の散布による大きな差はみられなかった。茎数は、生育初期では同様の生育を示したが、生育後期では、対照区に比べてCYP711A 特異的阻害剤散布区の方が若干低くなった。SPADは、対照区では生育後期から低下したのに対し、CYP711A 特異的阻害剤散布区は大きくは低下しなかった。地上部乾物重、穂重、一穂粒数、二次枝梗数および二次枝梗着粒数、稈実数、玄米千粒重において対照区とCYP711A 特異的阻害剤散布区で有意差がみられた。玄米千粒重を除いて、対照区に比べてCYP711A 特異的阻害剤散布区の値が大きかった。CYP711A 特異的阻害剤の散布は、アフリカ陸稲品種では、草丈、茎数への影響は小さいが、穂形質に影響を及ぼすことがわかった。

実験Ⅱ：CYP711A 特異的阻害剤の散布がトウモロコシの生育に及ぼす影響

本実験では、サイレージ用デントコーンを供試した。東京農業大学桜丘4丁目圃場にて畝（80cm×1500cm）2本に、デントコーンを40×40cmの栽植密度で2から3粒ずつ播種した（播種日：2023/5/2 出芽：2023/5/9）。各区画24株の3反復で処理区には出芽後、1週間毎にCYP711A 特異的阻害剤（10mM KelKK5）37.5mlと水道水40lで混合した水溶液を、一株当たり520mlの散布を出穂期まで行った。生育期には草丈、葉数を1週間毎に調査した。収穫期には、草丈、分けつ数、雌穂長、雌穂径、雌穂重、千粒重を調査した。

結果および考察：草丈および葉数において、対照区とCYP711A 特異的阻害剤区との間に差は認められなかった。

実験Ⅲ：CYP711A 特異的阻害剤の散布がソルガムの生育に及ぼす影響

実験Ⅱと同様に東京農業大学桜丘4丁目圃場にて行った。草丈及び分けつ数には大きな影響はなかった。一方、夏場の高温のため、稈実率が低く、評価できなかった。

課題2、ストライガ耐性作物の作出（伊澤、伊藤）

2-1. ゲノム編集ソルガムの作出検討

昨年度選抜したアフリカ品種（B-112）を用いて形質転換を試みたもののゲノム編集個体の作出には至っていない。

課題3、高活性薬剤の創出と作用メカニズムの解析（伊藤、斉藤）

3-1. CYP711A 阻害剤の構造活性相関研究

昨年度見出したCYP711A 阻害剤である化合物Bの構造を基盤として更なる活性向上を志向し構造活性相関研究を行なった。今年度は12化合物の合成を行い、9サンプルについてイネのストリゴラクトン量の測定、トウモロコシ、ソルガムのCYP711A 阻害活性を*in vitro*で評価した。イネの試験では化合物は10nMもしくは100nMでトウモロコシCYP711Aには100nM、ソルガムCYP711Aには1μMで処理した。ストリゴラクトン測定はQTRAP5500システムを用いて行い、イネの主要なストリゴラクト

ンである 4-deoxyorobanchol と 4-oxo-methyl carlactonoate の分泌量もしくは carlactonoic acid、hydroxy carlactonoic acid を測定した。

結果および考察：In vitro での試験も同様の傾向が観察されたが、化合物 B と比較して同等以上の活性を有する化合物を見出した。CYP711A の中心金属と直接配位する活性本体である複素環部分については 1,2,4-トリアゾールが最適であると考えられるが、化合物 B を含む誘導体群では生体内でレトロマイケル反応が進行し活性本体が有利する可能性など、代謝安定性に課題が残されている。そのため現在では代謝安定型阻害剤を設計、合成を行なっている。

3-2. 高活性 CYP711A 阻害剤の効果検討

昨年度の研究により CYP711A 阻害剤として見出された TIS108 に比べ、イネやソルガム、トウモロコシの CYP711A のより強力な阻害剤として化合物 A および化合物 B を見出した。両化合物は in vitro において TIS108 よりも 10 から 100 分の 1 程度の低濃度でイネの主要なストリゴラクトンである 4-デオキシオロバンコール生産を阻害する。一方、ストライガ防除効果に関しては検討していなかったため、ポット試験でストライガ耐性試験を行った。TIS108 ではストライガ防除効果の見られない 0.1 μ M でそれぞれの化合物を処理した結果、化合物 B 処理ではストライガの寄生が完全に抑制されていた。一方化合物 A 処理では TIS108 に比べてストライガの寄生は抑制されているものの、完全には抑制されず、化合物 B 処理区に比べて背丈や生育が遅延していた。また、水耕栽培により両化合物を処理したイネの形態を確認したところ、化合物 B は課題 1 の結果と同様に分けつの増加や背丈の低下などはほとんど観察されなかった一方で、化合物 A 処理により分けつの増加と弱い矮化が観察された。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

本研究により見出した高活性 CYP711A 阻害剤群は構造的に新規であるため、構造活性相関研究を進めることで特許の取得を進めていきたい。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

課題 1 において CYP711A 阻害剤（化合物 B）はアフリカで栽培されるイネやトウモロコシ、ソルガムに対して高濃度においても分けつ増加作用などストリゴラクトン生合成阻害に特有の形態を示さなかったことから、アフリカ作物に関しても CYP711 阻害剤はストライガ防除に有用であることを示すことができた。一方、イネにおいては高濃度での化合物 B 処理は生育初期においては、背丈や分けつ数など生長に負の効果を示し、アフリカ陸稲品種 IS452 を用いた長期試験では大きな影響を及ぼさないという矛盾した結果が得られた。二つの試験では化合物の処理回数や処理時間の他に栽植密度が大きく異なっていることから、これらの因子が影響した可能性もある。また、IS452 では化合物 B 処理により、収量関連形質が改善する結果が得られた。ストライガ防除と同時に収量増が達成できればアフリカの食糧生産において大きな成果となる。これが CYP711A 阻害剤に普遍的に見られる形質であるか化合物 B 特有の形質であるかを来年度評価する予定である。

課題 2 においては現在までにゲノム編集個体は得られていない。未熟胚の採取時の気温が形質転換効率に大きく影響するという報告もあるため、今年度の猛暑の影響で質の良い未熟胚が得られなかった可能性がある。また、課題 2 の研究を加速するためにソルガムの形質転換系を走らせている東京大学農学部 堤教授の研究室との共同研究を開始したところ、通常イネで使用されているゲノム編集ベクターがソルガムでは働かない可能性を指摘されたため、ソルガムでのゲノム編集実績のあるベクターに変更し

て進める予定である。

課題3において、化合物Bよりも高活性な可能性のある化合物を見出すことができた。さらに化合物Bがイネにおいてではあるものの、リード化合物であるTIS108よりも低濃度でストライガ防除効果を示すことを見出すことができた。昨年度の研究により *in vitro* ではアフリカ作物に対しても化合物BはTIS108よりも低濃度でCYP711Aを阻害することを見出しているため、化合物Bがアフリカ作物のストライガ防除剤として有効であると考えられる。今後アフリカ作物でのストライガ防除試験が必要である。これまでのストライガ防除試験はストライガ使用許可のおりている東京大学で行ってきたが、アフリカ作物での試験を行うために、農大でもストライガ試験の使用許可を申請することが必要であると考えている。現在、入江教授の共同研究者がザンビアにてストライガ種子を採取してくださっているため、ストライガ種子の輸入のため、植物防疫所とコンタクトをとり申請準備を行っている。輸入許可が降り次第ストライガ種子を取得し、農大でアフリカ作物に対してストライガ試験を行う予定である。

10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) Saeki Y, Hosoi A, Fukuda J, Sasaki Y, Yajima S, Ito S. Involvement of cyclic nucleotide-gated channels in soybean cyst nematode chemotaxis and thermotaxis. BBRC 682, 293-298, 2023
- 2) Okazaki K, Ito S, Nakamura H, Asami T, Shimomura K, Umehara M. Increase in ENHANCER OF SHOOT REGENERATION2 expression by treatment with strigolactone-related inhibitors and kinetin during adventitious shoot formation in ipecac. Plant Cell Reports 42(12), 1927-1936, 2023
- 3) Ito S, Kawada K, Saeki Y, Nakano T, Sasaki Y, Yajima S. Fenoxycarb, a carbamate insect growth regulator, inhibits brassinosteroid action. J. Pestic. Sci. 48(3), 107-110, 2023
- 4) Kawada K, Saito T, Onoda S, Inayama T, Takahashi I, Seto Y, Nomura T, Sasaki Y, Asami T, Yajima S, Ito S. Synthesis of carlactone derivatives to develop a novel inhibitor of strigolactone biosynthesis. ACS Omega 8, 13855-13862, 2023
- 5) 伊藤晋作、高橋郁夫「ストリゴラクトン生合成酵素の特定のアイソザイムを標的とする阻害剤の開発」、植物の生長調節、58(2), 80-86, 2023

学会発表

- 1) Ito S, Kawada K, Saito T, Onoda S, Inayama T, Takahashi I, Seto Y, Nomura T, Sasaki Y, Asami T, Yajima S. Synthesis of carlactone derivatives as strigolactone biosynthesis inhibitor. IPGSA, Korea, 2023/7/4-8
- 2) Kawada K, Takahashi I, Saito T, Seto Y, Nomura T, Sasaki Y, Asami T, Yajima S, Ito S. Development of a novel compound as strigolactone biosynthesis inhibitor. IPGSA, Korea, 2023/7/4-8

2023年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 志和地 弘信

1. 研究課題名および予算額

研究課題名	研究領域 (キーワード)
植物生育促進・窒素固定細菌の作物生産への利用技術の開発	貧困をなくす、飢餓をゼロに、陸の豊さを守る。

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	志和地弘信	国際食料情報科学部 国際農業開発学科・教授	総括・IITA との調整
研究分担者	田中 尚人	生命科学部 分子微生物学科・教授	細菌のデータベース作成
	菊野日出彦	東京農業大学 宮古亜熱帯農場・教授	細菌の作物への接種方法の開発
	パチャキル バビル	国際食料情報科学部 国際農業開発学科・准教授	細菌を利用した栽培技術の開発
	志波 優	生命科学部 分子微生物学科・准教授	共生細菌のメタゲノム解析
	山本 紘輔	生命科学部 分子微生物学科・准教授	細菌の共生メカニズムの解明
	寺田 順紀	国際食料情報科学部 国際農業開発学科・助教	細菌の共生メカニズムの解明

3. 研究期間

2023年4月1日～2024年3月31日（3年計画の2年目）

4. 研究の背景（当初）

研究代表者らは国際熱帯農業研究所（International Institute of Tropical Agriculture：IITA ナイジェリア）や鹿児島大学とヤムイモ（*Dioscorea* spp.）の生産性改善に関する共同研究を行ってきた。そして、本学の宮古亜熱帯農場における高収量品種の育成過程で窒素がほとんどない土壌でも良く生育するダイジョ

(ヤムイモの一種) A-19 系統を発見した (Takada *et al.* 2017)。

A-19 系統は根粒菌などの多くの種類の窒素固定細菌と共生しているのが世界で初めて確認され、窒素固定の寄与率が 38% 以上あった (Takada *et al.* 2018)。さらに、ダイジョから分離された窒素固定細菌の *Rhizobium* sp. は、ゲノム解析からマメ科の根粒細菌の仲間ではあるが、ヤムイモに内生するために特化した新種の細菌と推定された (Ouyabe *et al.* 2020)。また、ヤムイモの共生細菌には窒素固定能だけでなく、インドール酢酸の生成、リン酸カルシウム可溶化活性並びにキレート鉄を生成する能力を同時に有する数属があり、植物生長促進細菌として特許申請を行った (特願 2019-209500、特願 2020-193418)。さらに、5 種類の細菌をそれぞれイネ (陸稲) に接種したところ、いくつかの細菌で生育を促す効果が見られ、細菌の作物生産への利用に道を開く成果を得た (Ouyabe *et al.* 2020)。この技術は化学肥料の入手が困難な途上国に有効と考えられ、また微生物を利用した農業は日本が目標とする有機農業の推進・化学肥料の低減を目指す (みどりの戦略) 次世代の技術になると期待される。

5. 研究目的

これまでの研究で宮古亜熱帯農場のヤムイモ 19 系統から 18 属 22 種の窒素固定細菌が見つかった (Ouyabe *et al.* 2019)。これらの窒素固定細菌のうち 9 株が前述の 3 つの活性能力を合わせ持っていた。そのうち増殖が容易だった 7 種の細菌 (*Agrobacterium* sp. 2 系統株、*Enterobacter* sp.、*Pantoea* sp. 2 系統株、*Mesorhizobium* sp.、*Lelliottia* sp.) は植物生長促進細菌 (PGPB) として特許申請を行った。次に、これらの 7 種の細菌について、まず、窒素固定能力が高かった *Agrobacterium* sp. をヤムイモに接種して、生育に及ぼす影響を調査した。その結果、イモの重量及び葉の窒素含有量が大きくなった (Liswadiratanakul *et al.* 2021)。さらに、*Agrobacterium*、*Mesorhizobium*、*Pantoea* 及び *Enterobacter* sp. の細菌をそれぞれイネに接種したところ、*Mesorhizobium* sp.、*Agrobacterium* sp.、*Enterobacter* sp. が生育を促した (Ouyabe *et al.* 2020)。これらは、人工気象器での小規模な実験での結果ではあるが、PGPB を作物生産に利用できる可能性を示すものであった。PGPB を活用した低投入型農業を実現させるためには、対象作物に適した細菌接種や肥培管理技術が必要である。本研究では最適な PGPB 群のパッケージを作成し、圃場レベルの栽培に有効な接種・肥培管理技術を開発する。

6. 研究 (実験) 方法

課題 1 ヤムイモに適応する PGPB 活性の高い細菌株の選抜と接種 (担当: パチャキル、菊野、田中、志波、大学院博士前期課程学生 樋水、博士後期課程 木原)

ダイジョ・ジネンジョの根から分離・培養された細菌の多くが *Proteobacteria* であり、その中でよく分離されるのは *Rhizobium*、*Mesorhizobium*、*Devosia* 属であった。ダイジョ・ジネンジョに共生する細菌の存在量を調べるためにメタ 16S 解析を行う。メタ 16S 解析による細菌叢と培養法で分離した細菌と一致したものについて PGPB 能力の高い細菌株をパッケージ化し接種試験に供するとともに細菌を活性化する施肥条件を検討する。一方で、ヤムイモの栽培地域ではしばしば降雨の中断があり、乾燥ストレスが見られる。乾燥ストレス条件下での細菌叢についてはこれまでに報告がない。本課題では以下の 3 つの実験を行った。

(1) 異なる土壤水分条件下におけるダイジョ A-19 に共生する細菌叢

植え付け後 130 日目から対照と半量の灌水を 1 ヶ月与えた植物体についてメタ 16S 解析を行った。

(2) 異なる施肥条件下での植物生育促進細菌のダイジョへの接種効果

ダイジョ A-62 系統 (モデル系統) を用いて、無施肥、牛糞 21kg/10a、化学肥料 21kg/10a 施用の条件

で栽培し、*Rhizobium* 属で窒素固定・シデロフォア産生能およびリン酸カルシウム可溶化活性をもつ 5 つの細菌を濃度 10^{+6} cell/ml に調整し、土壌上部に散布した。細菌接種後 90 日後の植物体について植物体各部位の乾燥重量と無機元素量 (P, Fe) を測定した。

(3) ジネンジョに共生する細菌叢の解析

赤土と黒ボク土で栽培したジネンジョに共生する細菌叢とリン溶解菌の分離を行った。

課題 2 ホワイトギニアヤムに共生する細菌叢の解析 (担当：山本、志和地)

西アフリカで最も栽培されており、経済的にも重要なホワイトギニアヤム (*D. rotundata* Poir.) の細菌叢については、現在まで報告されていない。本研究では、ナイジェリア、イバダンにある国際熱帯農業研究所 (IITA) の試験圃場において、6 つの遺伝子型のホワイトギニアヤム (S004, S020, S032, S042, S058, S074) を無施肥および窒素施肥条件で栽培し、各条件の非根圏土壌 (BI)、根圏土壌 (Rh)、根 (R) における細菌叢を解析した。

課題 3 イネへの PGPB の接種技術の開発 (担当：菊野、志和地、田中、Michel、大学院博士前期課程学生 山口)

窒素固定細菌はマメ科作物だけでなくイネ、サトウキビ、サツマイモなどにも共生していることが明らかになっている。昨年には Ouyabe *et al.* (2020) の研究で用いたイネ品種に内生する窒素固定細菌を生育段階ごとに調査したところ、生育全般を通して共生が確認されたのは Firmicutes, Actinobacteria, Proteobacteria であった。また、イネから分離された細菌で PGPB 活性が高いのは *Microbacterium* sp. と *Enterobacter* sp. であった (未発表)。これらの細菌がイネの生育に関与していると考えられることから接種試験に供するとともに細菌を活性化させる施肥条件を検討する。

課題 4 PGPB の接種がトマトの生育に及ぼす影響 (担当：山本、志和地、田中、4 年生曾根)

細菌の作物種への感染を確かめるために蛍光タンパク質 (GFP) を組み込んだ PGPB の *Agrobacterium* S-343 をヤムイモ・イネ・トウモロコシ・ソバ・トマトに接種したところ、全ての作物で細菌が根の細根から侵入する様子が確認できた (森ら 2021、稲葉 2022)。トマトのマイクロトムについて *Agrobacterium* S-343. の接種が生育に及ぼす影響を調べ、基礎的な知見を得る。

(1) *Agrobacterium* sp. S-343 のマイクロトムへの土壌接種

マイクロトム (*Solanum lycopersicum* L. cv. Micro-Tom) の 7 葉苗に $1 \times 10^{+4}$ cells/ml, $1 \times 10^{+6}$ cells/ml の 2 処理で調整菌液を 5ml/ポットで土壌表面に散布した。

(2) *Agrobacterium* sp. S-343 のマイクロトム種子への浸漬

$1 \times 10^{+4}$ cells/ml, $1 \times 10^{+6}$ cells/ml に調整した菌懸濁液 100ml に種子を浸し、25℃で 30 分間、振盪条件下 (160rpm) で培養した。その後、種子をバーミキュライトが充填されたプラスチックポット (直径 9cm, 深さ 15cm) に播種し、人工気象器内で栽培した。

7. 研究成果

課題 1 ヤムイモに適応する PGPB 活性の高い細菌株の選抜と接種

(1) 異なる土壌水分条件下におけるダイジョ A-19 に共生する細菌叢

ヤムイモは乾燥条件下でもよく生育する。十分な土壌水分条件下で栽培したダイジョ A-19 の細菌叢には Proteobacteria の 5 属の存在量が多く、それは *Allorhizobium* - *Neorhizobium* - *Pararhizobium* -

Rhizobium 系統群、Burkholderia – Caballeronia – Paraburkholderia 系統群、Bradyrhizobium、Pseudomonas 及び Stenotrophomonas であった。これら 5 属は窒素固定能を持ち、ダイジョの生育促進に寄与していると考えられている。植え付け後 130 日目から対照と半量の灌水を 1 ヶ月与えた植物体では Burkholderia – Caballeronia – Paraburkholderia 系統群、Streptomyces 属が増加した。これらは土壌の乾燥条件に関与する細菌と考えられた。

(2) 異なる施肥条件下での植物生育促進細菌のダイジョへの接種効果

乾燥重量は、各施肥条件において接種の有・無で有意な差が見られなかった。接種した 5 つの細菌はシデロフォア産生能およびリン酸カルシウム可溶化活性を有している。鉄は根の化学肥料区で増加した (Fig. 1)。リン酸は差が見られなかった。ダイジョは自然条件でも窒素固定細菌などと共生するため、バイオマスの増加促進が難しいと考えられる。しかし、PGPB 能の高い細菌の人為的な接種によって微量成分の吸収促進が可能になることが期待された。

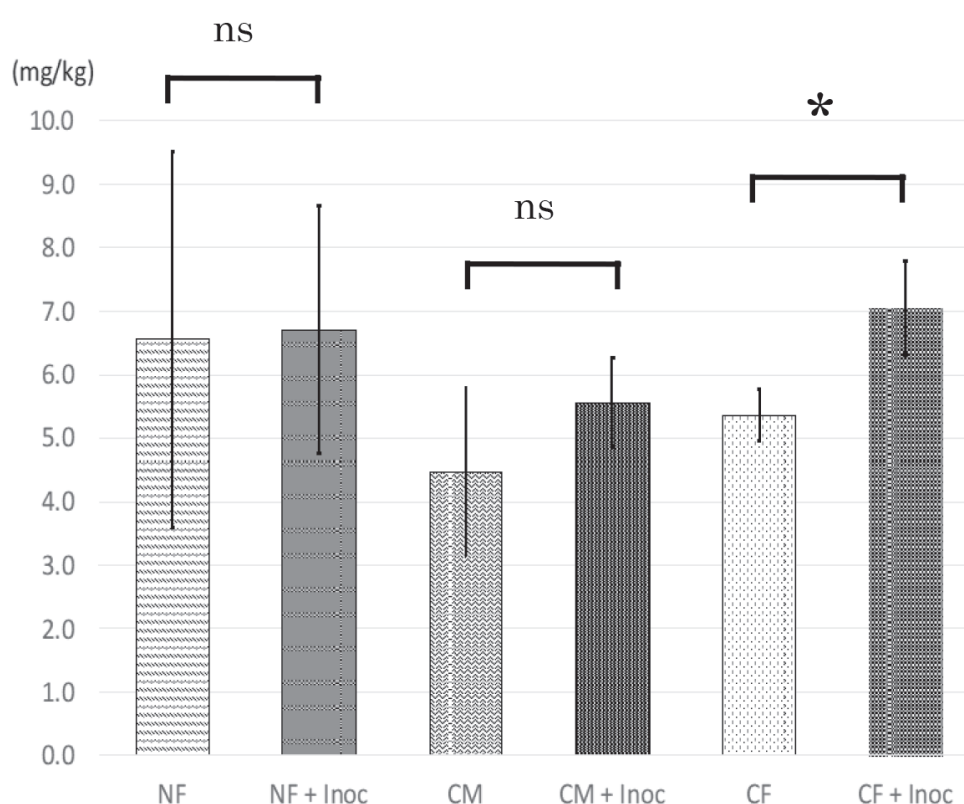


Fig.1 Effect of PGPB inoculation on iron content of cv.62 root

“ns” indicate a no significance difference according to a t-test.

Asterisks (*) indicate statistical significance ($p=0.05$) according to a t-test.

(3) ジネンジョに共生する細菌叢の解析

赤土と黒ボク土で栽培したジネンジョの生育に差は見られなかった。両土壌で栽培したジネンジョからリン溶解菌を分離し、リン酸カルシウム可溶化能指数を見たところ、土壌による違いがなかった。黒ボク土でもリンの吸収が促されると考えられた。

課題 2 ホワイトギニアヤムに共生する細菌叢の解析

6 つの遺伝子型のホワイトギニアヤム (S004, S020, S032, S042, S058, S074) を無施肥および窒素施肥

条件で栽培し、各条件の非根圏土壌 (BI)、根圏土壌 (Rh)、根 (R) における細菌叢を解析した。全条件において、Proteobacteria および Actinobacteria が優占門であった。S020 と S042 の BI サンプルは、施肥により細菌多様性が増加した。Rh サンプル間では、無施肥で栽培した S058 が、最も高い細菌多様性を示した。加えて、施肥処理および遺伝子型の違いにより細菌叢が異なり、特に S32 は他の遺伝子型と比べて、特有の細菌叢を有することが明らかとなった。全根サンプルにおいて、窒素固定細菌として有名な属である *Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium* clade が、高い相対存在率であり、ホワイトギニアヤムの根において中心をなす細菌属であった。根および根圏土壌における窒素固定細菌が属する 2 属 (*Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium* clade と *Bradyrhizobium*) は、施肥により相対存在率が有意に変化した。以上のことから、窒素肥料とホワイトギニアヤムの遺伝子型が、共生窒素固定細菌を含む細菌群集の構成に影響を与えることが示唆された。

課題 3 イネへの PGPB の接種技術の開発

ヤムイモから分離した植物生育促進細菌のイネ (*Oryza sativa* L.) への接種効果と混作への応用

PGPB へのイネへの接種による生育の促進効果は見られなかった。先行研究においてダイジョを屋外環境で細菌接種をした際、生育促進効果は見られなかった (Liswadiratanakul *et al.*, 2020) が、イネにおいても同様の結果となった。効果が現れなかった要因として 1 つは接種方法が不適切であったことが考えられる。播種後 7 日という幼苗に高い菌液濃度の懸濁液に長時間浸漬することで、植物体自体の健康を損なってしまったと推察される。細菌接種は土壌への懸濁液散布による接種が望ましいと考えられた。また接種時期についても再度検討していく必要がある。ヤムイモから分離した *Enterobacter* sp. がイネの共生細菌として適当でなかった可能性も考えられる (Table 1)。そのため今後はイネとの共生に適する PGPB の探索が必要となる。

Table 1. The plant growth-promoting traits of the bacterial strains used in this study.

Strains	Isolation Sources	Taxonomy*	IAA ¹ (ug/ml)	PS ² Index
S-8	Stem of accession A-18 (<i>D. alata</i>)	<i>Enterobacter</i> sp.	77.0 ± 6.4	1.7 ± 0.4
S-12	Stem of accession A-18 (<i>D. alata</i>)	<i>Rhizobium</i> sp.	29.5 ± 0.2	1.3 ± 0.1
S-163	Root of accession A-62 (<i>D. alata</i>)	<i>Enterobacter</i> sp.	87.2 ± 13.8	1.8 ± 0.0
S-187	Stem of accession E-3 (<i>D. esculenta</i>)	<i>Enterobacter</i> sp.	68.6 ± 0.9	1.8 ± 0.1
1614	Root of accession A-19 (<i>D. alata</i>)	<i>Enterobacter</i> sp.	115.2 ± 2.6	2.4 ± 0.2

*Bacteria were identified based on their partial 16S rRNA gene sequences. ¹Indole 3-Acetic Acid, ²Phosphate solubilization

課題 3 PGPB の接種がトマトの生育に及ぼす影響

企業との打ち合わせで、野菜類への細菌接種の効果を検討してほしいとの要望があり、PGPB のトマトへの利用を検討した。昨年度、GFP で標識した *Agrobacterium* sp.S-343 をトマトの根に接種し、その動態を正立型共焦点立体レーザー顕微鏡にて観察したところ *Agrobacterium* sp.S-343 は接種後 2 日目から細根に侵入し、5 日後には根の細胞に共生した。*Agrobacterium* sp. S-343 はニトロゲナーゼ活性、リン可溶性、IAA 及びシデロフォア生産能力を持っている。

(1) *Agrobacterium* sp. S-343 のマイクロトムへの土壌接種

Agrobacterium sp. S-343 をマイクロトムの苗に接種後 21 日目に生育を測定した。地上部重及び果実数は対照と処理で差が見られなかった (Table 2)。SPAD 値は 1×10^{-6} cells/ml 処理区で大きくなった。

Table 2. Effect of tomato growth by *Agrobacterium* sp. S-343 soil inoculation

Treatment	Above-ground part	SPAD (plant ⁻¹)	Number of fruits (plant ⁻¹)
	Dry weight (g plant ⁻¹)		
T0	0.96 ^{ns}	44.08 ^a	4.33 ^{ns}
T1	2.09	46.53 ^{ab}	5.08
T2	1.04	51.63 ^b	4.75

T0: control, T1: $1 \times 10^{+4}$ cells/ml, T2: $1 \times 10^{+6}$ cells/ml

(2) *Agrobacterium* sp. S-343 のマイクロトム種子への浸漬

Agrobacterium sp. S-343 をマイクロトムの種子に処理後 10 日目に生育を測定した。根の長さ及び地上部重は対照と処理で差が見られなかった (Table 3)。しかし、根重は $1 \times 10^{+6}$ cells/ml 処理区で大きくなった。

Table 3. Effect of tomato seed growth by *Agrobacterium* sp. S-343 liquid inoculation

Treatment	Root length (cm plant ⁻¹)	Above-ground part	Underground part
		Fresh weight (g plant ⁻¹)	Fresh weight (g plant ⁻¹)
T0	8.82 ^{ns}	0.04 ^{ns}	0.04 ^b
T1	9.67	0.05	0.05 ^{ab}
T2	10.21	0.05	0.07 ^a

T0: control, T1: $1 \times 10^{+4}$ cells/ml, T2: $1 \times 10^{+6}$ cells/ml

Agrobacterium sp. S-343 のマイクロトムへの接種は葉緑素と根の成長に影響を及ぼしたと考えられた。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

- (1) 科学研究費 国際共同研究加速基金 (国際共同研究強化 (B)) 研究課題名 アフリカ農業に向けた植物生育促進細菌の作物生産への利用技術の開発 (2022/11~2025) に採択されている。
- (2) 本研究による土壌細菌叢解析の技術を用いて NEDO ムーンショット研究 課題 4 研究テーマ「LCA/TEA の評価基盤構築による風化促進システムの研究開発」の実証研究に参画した。

<https://www.nedo.go.jp/content/100958137.pdf>

- (3) ヤマイモから発見された植物生育促進細菌 (Plant Growth Promoting Bacteria: PGPB) の研究を西アフリカに展開することになった。

<https://www.iita.org/news-item/promising-yam-bacteria-can-enhance-african-food-security/>

- (4) 東京農大と国際熱帯農業研究所とのヤマイモに関する研究協定を締結した。

<https://www.iita.org/news-item/iita-and-tokyo-university-of-agriculture-to-intensify-partnership-addressing-west-african-agricultural-challenges/>

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

国際熱帯農業研究所で行っているヤマイモ幼苗への PGPB の接種試験では生育の促進効果が見られており、基礎研究から実証研究に移行する。

10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) Sumetee Liswadiratanakul, Kosuke Yamamoto, Minenosuke Mastutani, Vatanee Wattanadatsaree, Shunta Kihara, Yuh Shiwa and Hironobu Shiwachi. 2023. Replacement of Water Yam (*Dioscorea alata* L.) Indigenous Root Endophytes and Rhizosphere Bacterial Communities via Inoculation with a Synthetic Bacterial Community of Dominant Nitrogen-Fixing Bacteria. *Frontiers in Microbiology*. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1060239
- 2) Sumetee Liswadiratanakul, Kosuke Yamamoto, Vatanee Wattanadatsaree, Yuh Shiwa and Hironobu Shiwachi. 2023. Effects of Two Different Inoculation Methods Using a Synthetic Essential Core Bacterial Community on Water Yam (*Dioscorea alata* L.). *Tropical Agriculture and Development*. 67: 31-37.

学会発表

- 1) 樋水秀樹、菊野日出彦、山本紘輔、Liswadiratanakul Sumetee、Ouyabe Michel、志和地弘信．異なる施肥条件下での植物生育促進細菌のダイジョ (*D. alata* L) への接種効果．日本熱帯農業学会第 134 回講演会（近畿大学農学部）2023 年 10 月 14-15 日
- 2) 木原駿太、山本紘輔、志波優、菊野日出彦、松谷峰之介、志和地弘信．異なる土壤水分条件下におけるダイジョ (*D. alata* L) の共生細菌叢解析．日本微生物生態学会第 36 回大会 静岡県浜松市、アクトシティ浜松 2023 年 11 月 27 日-30 日

2023年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 鈴木 司

1. 研究課題名および予算額

研究課題名	研究領域 (キーワード)
未利用資源の付加価値向上を目指した機能性食品成分の探索および農大発・未利用資源ライブラリーの構築	③ SDGs (健康, つくる責任)

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	鈴木 司	応用生物科学部 農芸化学科・准教授	統括と血糖値低下作用解析
研究分担者	戸塚 護	生命科学部 分子微生物学科・教授	抗炎症成分探索と作用解析
	井上 順	応用生物科学部 農芸化学科・教授	抗動脈硬化作用の解析
	藤巻 貴宏	応用生物科学部 農芸化学科・助教	活性成分の探索と単離精製

3. 研究期間

2023年4月1日～2024年3月31日（3年計画の2年目）

4. 研究の背景（当初）

農産物の作物残渣の有効活用は食料・農業・農村基本法が掲げる循環型社会の形成において重要な課題の一つとして挙げられている。また、食品リサイクル法やSDGsの観点からは、食品製造の過程で生じる食品廃棄物の削減・再利用が急務となっている。この問題に対して、古くからワラ類や製造粕類などの副産物を堆肥や家畜飼料へと再利用することが行われており、一定の成果が上げられている。しかし、収穫時期・地域が偏在していたり水分含量が多く変質し易かったりと仕向率が低いもの、または利用されないものも多く存在する。そのため、これらを再利用可能資源とするための補完的な手段が求められている。

一方、近年では国民の機能性食品に対する関心が高まっており、食品成分の機能性を利用した特定保健用食品や機能性表示食品などが数多く開発・販売されていることから、我が国の食品関連の研究の方向性は食品の新規機能性の開発に向かっていると言える。以上のことから、食品の未利用資源から機能性を持つ食品成分の探索・開発を行うことは、本学やSDGsが解決すべき目標として掲げている健康・循環型社会に関する研究に他ならず、重要であると言える。

5. 研究目的

本申請者らはこれまでに、キューピー株式会社・株式会社グリーンメッセージとの共同研究にて、カット野菜の未利用部位を試料とした機能性成分の探索を行い、抗動脈硬化作用などを示す複数の試料を見出し、一部においては関与成分の推定も出来た。本研究課題では未利用資源を収集し、成分抽出・分画し、申請者らが持つ抗肥満・抗炎症などのすでに確立した評価系にて機能性評価を行い、新たな機能性成分の発見および未利用資源の再利用化を目指す。また、食品の未利用資源ライブラリーを構築することも目的とする。

6. 研究（実験）方法

本年度は、これまでに収集した未解析試料の解析とともに、新たに入手した各種試料を用いて各評価系で解析を行った。ヒットした試料は種々のカラムクロマトグラフィーを用いて分画を行うことで活性成分の単離や試料の解析を行った。

抗動脈硬化作用を示す未利用資源の探索

すでに確立しているルシフェラーゼを用いた評価系により試料の選抜を行った。次に、実際に内因性の LDL 受容体遺伝子発現を上昇させるかについて、肝臓由来の培養細胞を用いて検討した。抽出物を HPLC 分取により分画し、有効成分の構造を決定した。

血糖値低下作用を示す未利用資源の探索

生活習慣病、特に糖尿病に対して改善効果を有する試料の探索を行った。抽出物を培養細胞に添加し、血糖値の低下を促す AMPK タンパク質の活性状態を解析することで初期評価を行った。この他に、糖尿病はインスリン抵抗性によっても引き起こされることから、インスリン抵抗性の指標となるタンパク質（AKT など）の活性状態をも解析することで評価法を補完した。

チロシナーゼ阻害活性評価

マッシュルーム由来のチロシナーゼと、市販されている L-ドーパを 96 穴プレート上で反応させて、メラニン中間体であるドーパクロムを 492nm の吸光度で測定した。この時、抽出した未利用資源ライブラリーも同時に添加することで、サンプルのチロシナーゼ阻害率を算出した。

抗炎症作用を示す未利用資源の探索

ヒト結腸由来上皮細胞株 Caco-2 細胞を 2 週間培養することで腸管上皮の単層培養系を構築した。炎症性サイトカインである TNF- α を添加し、この刺激で誘導されるインターロイキン-8 (IL-8) の産生量を酵素免疫測定法 (ELISA 法) により定量した。この培養系に各種未利用資源抽出物を添加し、炎症反応の指標である IL-8 産生を抑制する活性をもつ成分を探索した。

7. 研究成果

抗動脈硬化作用を示す未利用資源の探索

サクランボ軸およびブドウ茎抽出物の 0.3mg/mL 処理により、LDL 受容体遺伝子プロモーター活性が上昇することを見出した。複数品種のブドウ茎について検討したところ、その抑制能とレスベラトロールの含有量が正の相関を示した。この結果から、ブドウ茎抽出物に含まれるレスベラトロールが LDL 受容体遺伝子プロモーター活性を上昇させる有効成分であると考えられる。サクランボ軸抽出物に関して

は HPLC を用いた分画後に検討を行い、活性を上昇させる複数の成分の存在を明らかにした。NMR および質量分析による解析の結果、クリシン配糖体が有効成分の一つであることを明らかにした。同定したクリシン配糖体は内因性 LDL 受容体の遺伝子発現を上昇させることに加え、タンパク質レベルさらには LDL 分子の細胞内への取り込みを上昇させることを明らかにした。

転写因子 SREBP は脂質代謝を包括的に制御している。肥満や糖尿病の肝臓では SREBP-1c が過剰に活性化していること、さらに SREBP の活性抑制によってそれらの症状が改善することが知られており、SREBP の活性抑制は抗肥満の標的として期待されている。本年度はブロッコリーの未利用部・可食部について着目し解析を行った。これまでにブロッコリー由来成分であるスルフォラファン (SFaN) は SREBP 活性を抑制することを明らかとしてきた。興味深いことに SREBP 活性を抑制するが、SFaN をほとんど含まない品種を見出し、その品種を用いて、SFaN 以外の SREBP 活性を抑制する成分を単離・同定することを試みた。

まず、抽出物 250mg (2.5 株分) を 60% MeOH と塩化メチレンで大まかに分液したサンプルをレポーターアッセイで測定した結果、塩化メチレン層で活性の抑制が見られた。さらに、塩化メチレン層をシリカゲルクロマトグラフィーで 40 フラクション (Fr) まで細分化したサンプルを同様に測定した結果、活性抑制画分が複数みられた。活性抑制画分を HPLC 測定で測定し、特異的なピークが見られた画分である Fr5-6 に着目した (着目した化合物を化合物 A と呼ぶ)。精製し、NMR に供したものの、サンプル量が少なく化合物 A の構造決定には至らなかった。そこで、抽出物 8.5 g (85 株分) を準備し、同様の手順で精製し NMR 解析を行った結果、化合物 A は 1-メトキシインドール-3-カルボン酸 (MIC) であることが判明した。

さらに、MIC をレポーターアッセイにて活性抑制能を評価した結果、活性の抑制効果が確認できた。SREBP のタンパクレベルに対する作用を Western blotting にて検討した結果、前駆体と活性型 SREBP への影響も見られなかった。このことから、MIC は SREBP のタンパク発現には作用せず、SREBP 活性を抑制していることが考えられた。

血糖値低下作用を示す未利用資源の探索

マメ科植物であるササゲの未利用部に着目し解析を行った。ササゲ 5 品種を東京農業大学農学科の高畑教授に栽培をして頂き、葉・さや・莖・実を用いて 50% エタノール抽出物を作製し、AMPK 活性化能を解析した。その結果、けごんの滝と呼ばれる品種において葉および、さやにおいて比較的高い AMPK 活性化能が示された。また、けごんの滝のさやにおいて、収穫時期の異なるサンプルを比較すると収穫時期が遅い方が AMPK 活性化能の上昇が認められた。したがって、登熟期間中に AMPK を活性化させる成分が増える可能性が予想される。特にさや抽出物においては高い活性化能が認められたことから物質同定のため解析を進めており、水溶性画分、脂溶性画分においては、脂溶性画分の方がより AMPK 活性化の上昇が高いと考えられ、脂溶性画分の分画実験の結果から、AMPK の活性化を上昇させる成分は、極性の低い画分に含まれると考えられる。

この他に、茶葉 8 種類 (ディンブラ、キャンディ、アッサム、ダージリン、インドネシア、和紅茶、やぶきた、鉄観音)、コーヒー豆 2 種類 (ブラジル、ベトナムロブスタ)、ベニコウジカビ 2 種に関しては鉄観音において AMPK 活性化能が認められた。

チロシナーゼ阻害活性評価

茶葉 8 種類 (ディンブラ、キャンディ、アッサム、ダージリン、インドネシア、和紅茶、やぶきた、

鉄観音)、コーヒー豆 2 種類 (ブラジル、ベトナムロブスタ)、ベニコウジカビ 2 種類 (5-PD、3PD-20) に関して評価した。その結果、全ての茶葉及びコーヒー豆のサンプルは 0.3 mg/mL において 50% 前後の強い阻害活性を示したが、ベニコウジカビはいずれも明確な阻害活性を示さなかった。また、新たにホップの地上部、ホップの地中部、桑の葉、ブロッコリー葉を 50%EtOH で抽出し、試験した。その結果、ホップ地中部と桑の葉において 1 mg/mL において 50% 以上の強い阻害活性を確認した。

FGF21 プロモーター活性試験 (藤巻)

終濃度 0.1 mg/mL において有意にプロモーター活性を上昇させたサンプルはコーヒー豆 (ベトナムロブスタ) とベニコウジカビ (5-PD) の 2 サンプルであった。また、さくらんぼの軸から活性成分として、クリシンおよびその配糖体を単離した。クリシンにおいては、リアルタイム PCR により内因性の FGF21 の発現を上昇させることを確認した。

抗炎症作用を示す未利用資源の探索

野菜の未利用部 18 種および利用部 13 種、茶葉 8 種、コーヒー豆 2 種、紅麹粉末 2 種の抽出物を対象として、抗炎症作用を示す物質の探索を行った。その結果、野菜抽出物 8 種、茶葉抽出物 3 種の抽出物を終濃度 0.1 mg/mL で添加した際に弱い IL-8 の産生抑制が観察された。一方、紅麹粉末の 1 種 (3PD-20) を添加した際には IL-8 産生の増強が観察された。添加濃度を 1/2、1/4 に減らした場合に IL-8 産生量は増加したことから、IL-8 産生を増強する成分と抑制する成分が共存している可能性が考えられた。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特になし

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

ブロッコリーから見出した化合物である MIC については、SREBP に対する活性抑制構造部位の探索、及び抑制メカニズムの解明を検討したい。また、ブロッコリーに関しては、MIC 以外にも複数の活性抑制化合物の存在が示唆されたことから、他の活性抑制化合物を探索したい。ササゲを含むその他の未利用部位に関しても、物質同定の道筋が立てられたため解析を進める。

さくらんぼ軸には今回見出したクリシンおよびその配糖体以外にも複数の活性成分が含まれている可能性があることを、レポーターアッセイにより確認しているため、それらの活性成分の単離精製を行う。また、既に単離したクリシンおよびその配糖体のメカニズム解析を行う。

10. 公表した成果一覧

学術論文

Kaname N, Fujimaki T, Horikoshi S, Fujimura K, Kodaka M, Wakamori S, Katsuta R, Ishigami K, Suzuki T, Yamamoto Y, Inoue J. (2023), Chrysin 7-O- β -d-glucopyranoside increases hepatic low-density lipoprotein receptor expression through AMP-activated protein kinase activation. *FEBS Open Bio*

学会発表

1) 増尾 翼、二瓶 遥、藤巻 貴宏、島田 康彦、鈴木 司、山本 祐司、井上 順

SREBP 活性抑制能を指標とした抗肥満作用を有するブロッコリー品種の選別

日本農芸化学会 2024 年度大会

- 2) 小高 愛未、川平 浩太郎、菊地 瑛登、正路 健太、石神 健、鈴木 司、山本 祐司、井上 順
スルフォラファンの新規結合分子の探索とその機能解析

日本農芸化学会 2024 年度大会

- 3) 兼行 紗矢、藤巻 貴宏、鈴木 司、山本 祐司、井上 順

SREBP 活性を抑制する化合物のブロッコリー抽出物からの探索

日本農芸化学会 2024 年度大会

- 4) 中村 怜央奈、須恵 雅之、松島 芳隆、藤巻 貴宏

＜FGF21 を誘導する天然物のスクリーニング＞

日本食生活学会第 66 回大会／東京農業大学 世田谷キャンパス 2023 年 5 月

- 5) 中村 怜央奈、佐藤 駿、小池 しおん、小澤 希莉、須恵 雅之、松島 芳隆、藤巻 貴宏

＜骨格筋における天然物由来 FGF21 誘導化合物の探索＞

日本農芸化学会関東支部 2023 年度大会／明治大学 生田キャンパス 2023 年 8 月

- 6) 金目 尚輝、藤巻 貴宏、藤村 海斗、石神 健、鈴木 司、山本 祐司、井上 順

＜LDL 受容体の発現を上昇させる食品由来成分の探索＞

第 76 回日本栄養・食糧学会大会／神戸 2022 年 5 月

- 7) Naoki Kaname, Takahiro Fujimaki, Kaito Fujimura, Ken Ishigami, Tsukasa Suzuki, Yuji Yamamoto, Jun Inoue

＜Exploring food-derived ingredients that up-regulate LDL receptor expression＞

22nd IUCS-ICN／東京 2022 年 12 月

- 8) Screening for inhibitors of lipid accumulation from Mango kernels. Takahiro Fujimaki, Chikako Sato, Rei

Yamamoto, Sayo Watanabe, Hikaru Fujita, Hidehiko Kikuno, Masayuki Sue, Yoshitaka Matsushima, 22nd

IUNS-ICN international congress of Nutrition in Tokyo, december6-11, 2022

- 9) Niclosamide activates the AMP-activated protein kinase complex containing β 2 subunits independently of

AMP sensitivity, Tsukasa Suzuki, Momoko Kojima, Yu Matsumoto, Ken-Ichi Kobayashi, Jun Inoue, Yuji

Yamamoto, 22nd IUNS-ICN international congress of Nutrition in Tokyo, december6-11, 2022

2023年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 相根 義昌

1. 研究課題名および予算額

研究課題名	研究領域 (キーワード)
新規抽出技術を用いた微細藻類の代替タンパク質資源としての利用	SDGs ②飢餓をゼロに

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	相根 義昌	生物産業学部 食香粧化学科・教授	研究の統括・蛋白質の精製
研究分担者	高橋 潤	生物産業学部 海洋水産学科・教授	微細藻類の培養
	中澤 洋三	生物産業学部 食香粧化学科・教授	抽出物の性状解析
	南 和広	生物産業学部 食香粧化学科・教授	抽出液の機能性解析
	Estefanía Noriega Fernández	Nofima・Senior Scientist European Food Safety Authority・Scientific officer	抽出技術の開発

3. 研究期間

2023年4月1日～2024年3月31日（3年計画の2年目）

4. 研究の背景（当初）

世界的な人口増加や経済的な中間層の拡大に伴う食肉需要の増加が、近い将来、タンパク質の生産不足を招くと予測されている。そこで、現在、着目されているのが「代替タンパク質」である。代替タンパク質資源の候補として、大豆などの高タンパクの農作物、昆虫、酵母そして微細藻類などが挙げられている。微細藻類は、これまでも脂質などの機能性物質の生産手段として利用されているが、タンパク質の含有量が約50%と高い（大豆は37%、酵母は39%、食肉でも43%）ことから、代替タンパク質の資源としても注目されている。

一方、オホーツク海は、世界の3大漁場の一つとしても知られ、ホタテやサケなど多くの海洋資源が豊富に得られる。そして、これらの資源を下支えとなるのが、流水に伴って運ばれるオホーツク海特有の微細藻類である。

5. 研究目的

本研究は、北海道オホーツク地域に生息する微細藻類をタンパク質の供給源とすること、並びにその抽出液から食品や化粧品、医薬品などに応用できる機能性物質を探索することで、地域の微細藻類を新たな地域資源として応用することを目的としている。本研究の大目標は、地域の微細藻類を活用した新規産業を創出すること、そしてその収益を北海道特有の自然環境の保全に充てることで、循環型の産業構造を産み出し、持続可能な地域産業の発展を目指すものである。

6. 研究（実験）方法

本研究は、生物産業学部近隣の環境に生息する微細藻類の中から、タンパク質の供給源となりうる藻類や機能性の高い藻類の確保を最終的な目的とする。そのため、候補となる微細藻類種の探索、その培養方法の確立、さらにタンパク質の抽出技術の確立を目的とした研究を進めている。

（1）培養法の確立した微細藻類種の機能性解析

本項目では、培養法の確立した微細藻類（*Nannochloropsis oculata*、*Tetraselmis tetrathele*、*Phaeodactylum tricornutum* および *Chaetoceros neogracile*）を適宜培養した。なお、一般的に機能性の高い微細藻類として知られている *Chlorella vulgaris*（スーパー生クロレラ、クロレラ工業株式会社）を比較対象とした。藻類は、熱水抽出法によって抽出液を調製した。それぞれの抽出液について抗酸化活性（スーパーオキシドアニオン消去活性）、血圧上昇抑制能（アンジオテンシン I 変換酵素阻害活）および抗糖化活性の測定を行い、各藻類抽出物の機能性解析を行った。スーパーオキシドアニオン消去活性の測定には SOD Assay Kit - WST (Dojindo)、アンジオテンシン I 変換酵素阻害活性の測定には ACE kit - WST (Dojindo) を用いた。抗酸化活性の測定は、Sun ら¹⁾の手法に従った。一方、各藻類の油脂産生の比較を行うため、各藻類に含まれる脂肪滴を脂肪滴染色蛍光色素（Lipi-Red、Dojindo）によって染色し、蛍光顕微鏡（BZ-X800）により観察した。

（2）新規に網走湖で分離した微細藻類の同定および機能性解析

網走湖で発生した「アオコ」を含む湖水を採集し、使用するまで 4℃ で保存した。湖水中の緑色の微細藻類を顕微鏡観察下で単離し、一般的な微細藻類の培養液中で培養した。単離された藻類のゲノム DNA は、NucleoSpin Plant II (Machery-Nagel) を用いて抽出した。ゲノム DNA 上の 18S rDNA 遺伝子を含む断片の増幅には、既報²⁾を基に 5 種のプライマーセットを用いた。増幅された DNA 断片の塩基配列は、SnapGene ソフトウェア (Dotmatics) の CAP3 を用いてアセンブルし、1693 bp の塩基配列を決定した。得られた塩基配列を基に blastn 解析によって、相同性の高い塩基配列のうち 100 種の配列を回収した。全ての塩基配列と網走湖由来藻類のそれとの ClustalW マルチプルアライメント解析および系統樹の作成には、MEGA11 ソフトウェアを用いた。さらに、新規藻類の機能性解析は、前項と同様の手法によって実施した。

（3）プラズマ活性水を用いた微細藻類細胞壁の効果的な破碎方法の検討

微細藻類は、他の植物細胞と同様、強固な細胞壁に覆われており、タンパク質などの細胞内の物質を抽出することが困難である。本項目では、Nofima との共同研究により、プラズマ活性水（PAW）を用いた微細藻類抽出法を検討した。なお、昨年度の報告のとおり、ノルウェーから日本への冷凍水溶液や水溶液の輸送が困難であったことから、本年度は、ノルウェー国内で調達した *Chlorella sorokiniana* を用い

てスタバンゲル大学の大学院生（「10. 公表した研究成果」の「その他」を参照）により実験した。藻類の破碎には、PAW 単独あるいは超音波処理および高圧処理との組み合わせによるアプローチを実施した。

- 1) Sun et al. (2010) Food Chemistry 120: 261–267.
- 2) Khaw et al. (2020) J. Microbiol. Meth. 172: 105890.

7. 研究成果

（1）培養法の確立した微細藻類種の機能性解析

① スーパーオキシドアニオン消去活性（SOD 様活性）

N. oculata、*T. tetrathele*、*P. tricornutum* および *C. neogracile* の抗酸化活性をクロレラ（*C. vulgaris*）のそれと比較するため、SOD 様活性を測定した。その結果、*P. tricornutum* および *C. neogracile* の抽出液は、抗酸化活性が高いとされるクロレラよりも SOD 様活性が高く、特に *C. neogracile* は約 5 倍高い値を示した。一方で、*N. oculata* および *T. tetrathele* は、クロレラより若干低い抗酸化活性を示した。

② アンジオテンシン I 変換酵素阻害活性（ACE 阻害活性）

アンジオテンシン I（ACE）は、血圧調節メカニズムの一つであるレニン / アンジオテンシン系において、ACE から昇圧作用を有するアンジオテンシン II を生成し、同時に降圧ペプチドであるブラジキニンを分解するなど、血圧上昇に大きく関与している酵素である。本研究では、ACE 阻害ペプチドを産生することが知られている *C. vulgaris* とその他の藻類との ACE 阻害活性を比較した。その結果、*P. tricornutum* および *C. neogracile* の抽出液は、クロレラのそれより高い値を示した。ACE 阻害活性の高い藻類については、今後、モデル動物を用いた研究により、その機能性を明らかにする必要があると考える。

③ 抗糖化活性

生体内のタンパク質は、糖類によりリジンやアルギニン残基が修飾（糖化）されて、酵素の活性や構造タンパク質の立体構造が変化することにより老化が引き起こされる。糖化は、代謝速度の低下や組織中の酸化ストレスの上昇など、さまざまな形態として生じ、老化を進める。本研究では、すでに抗糖化活性を有することが報告されているクロレラとその他の藻類の抗糖化活性を比較した。その結果、*P. tricornutum* および *C. neogracile* は、クロレラよりも 2～3 倍高い抗糖化活性を示した。

④ 微細藻類細胞内の脂肪滴観察

自然界に生息する微細藻類の中には、機能性脂肪酸を細胞内に生産・蓄積できるものが存在する。一部の藻類が産生する脂肪酸は機能性食品の材料として利用され、また、その油脂が燃料物質としても活用されている。本研究では、各微細藻類の油脂の生産および蓄積を観察するために、脂肪滴染色蛍光色素 Lipi-Red を用いて藻類細胞内の脂肪滴を染色し、その染色強度を観察した。その結果、特に *P. tricornutum* において脂質の高度な蓄積が観察された。

（2）新規に網走湖で分離した微細藻類の同定および機能性解析

① 18S rDNA 遺伝子塩基配列による微細藻類の同定

網走湖で発生した「アオコ」を含む湖水から、顕微鏡観察下で緑色の微細藻類を単離した。得られた藻類のゲノム DNA を抽出し、既報を基に作成したプライマーセットを用いて、1693 bp の遺伝子断片の

塩基配列を決定した。この配列をもとに blastn 解析を行った結果、複数のクロロコッカス科に属する緑藻類 *Chlorococcum* と高い相同性を示した。以上の結果から、本研究で単離した藻類は、*Chlorococcum* の一種であることが推定された。

② 網走湖で単離された *Chlorococcum* の機能性解析

今回、分離された *Chlorococcum* の機能性を明らかにするため、SOD 様活性、ACE 阻害活性、抗糖化活性等の機能性解析を実施したが、いずれもクロレラより低い活性を示した。一方、藻類細胞内の脂肪滴観察では、比較的高い蛍光シグナルが観察された。先行研究において、*Chlorococcum* の一部の種は、高度に油脂を産生し蓄積することが報告されており、機能性脂質の生産あるいはバイオ燃料生産への応用が期待される。

(3) プラズマ活性水を用いた微細藻類細胞壁の効果的な破碎方法の検討

C. sorokiniana を PAW で懸濁し、40、55 および 65℃ で 60 分間インキュベートし、処理後の懸濁液を遠心分離によって上澄み液と沈殿に分離した。上澄み液のタンパク質濃度を測定したところ、65℃ の PAW を使用した際の抽出されたタンパク質濃度 (37.8mg protein/g biomass) が、55℃ (28.6mg protein/g biomass) および 40℃ (8.5mg protein/g biomass) の溶媒と比較して、有意に高くなった。PAW 処理に超音波破碎 (68kHz 500W and 68 + 170kHz 1000W, 65℃, 60min) や高温処理 (600MPa, 15min) を併用した場合のタンパク質濃度は、PAW のみの処理と比較して、有意な高タンパク質収量は得られなかった。

一方、PAW 処理後の沈殿を 1 M NaOH で懸濁し、95℃ で 60 分間処理し、得られた上澄み液のタンパク質濃度を測定したところ、いずれの処理条件で PAW 処理後の上澄み液よりも顕著に高いタンパク質を含んでいることが示された。以上の結果から、PAW は微細藻類の細胞壁破碎に有用である可能性は示されたが、得られたタンパク質の多くが不溶化していることが示された。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

現在のところ、実用あるいは他の研究に活用された研究成果は得られていないが、研究成果を基に他大学および飲料メーカーとの共同研究を進めるための準備を進めている。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

(1) 微細藻類からのタンパク質の抽出法

本年度までの研究により、プラズマ活性水を利用した微細藻類の細胞壁破碎は、可能であることがわかったが、藻類細胞からのタンパク質抽出法は、タンパク質が不溶成分と結合してしまう、あるいは、タンパク質そのものが不溶化するなど、想定外の要因により不十分であることが示された。

今後は、別の手法で微細藻類内部のタンパク質あるいはその他の成分を抽出する手法を開発する必要がある。この問題点については、すでに、別の研究機関との連携で、開発を進めることで調整している。

(2) 網走近隣の環境からの微細藻類の探索

本年度の研究により、はじめて地域の環境から分離した微細藻類について、分子生物学的手法による藻類の同定およびその抽出物の機能性解析を行った。これらの手法を基に、今後も別の種の微細藻類の解析を行う。

(3) 抽出液の詳細な機能性解析

本年度の研究により一部の微細藻類に血圧上昇抑制作用を持つもの、油脂の産生・蓄積の見られるものなど有用性が高いと推測される種が見出された。今後は、脂質やペプチドなど機能性物質の同定を進める（協力企業との共同実験）。また、化粧品としての機能性に有用である色素産生の制御に関わる機能性（チロシナーゼ阻害あるいは亢進活性など）、抗炎症作用の検証など、細胞生物学的手法を含めた研究を進める。さらに、血圧調節作用に関しては、モデル動物を使った実験で更なる検証を進める予定である。

10. 公表した成果一覧

その他（修士論文）

- 1) Ayda Omar Mohamed (2023) Innovative strategies for enhanced extraction and functionality of microalgae proteins. Master's Thesis, University of Stavanger Faculty of Science and Technology, (Supervised by Estefanía Noriega Fernández, Gopalakrishnan Kumar, Izumi Sone, and Yoshimasa Sagane).
<https://uis.brage.unit.no/uis-xmlui/handle/11250/3091448>

2023年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 吉川 潤

1. 研究課題名および予算額

研究課題名	研究領域 (キーワード)
<i>Zalaria</i> sp. Him3を用いたオリゴ糖マルチ生産システム構築の基盤となる関与酵素の特定	SDGs 3 (保健)、 9 (イノベーション)

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	吉川 潤	応用生物科学部 醸造科学科・准教授	研究統括

3. 研究期間

2023年6月7日～2024年3月31日（3年計画の1年目）

4. 研究の背景（当初）

オリゴ糖は糖が複数個結合した構造を有し、主な生理機能として腸内のいわゆる善玉菌に資化されることで腸内環境を整え、便秘改善やミネラル吸収促進といった効果が得られることから、特定保健用食品や機能性表示食品の関与成分として重要な食品素材である。多くのオリゴ糖生産は、微生物が産生する加水分解酵素の転移反応を用いて実施される。例えば、マルトースからイソマルトオリゴ糖（IMO）、ラクトースからガラクトオリゴ糖、スクロースからフラクトオリゴ糖（FOS）などのオリゴ糖が製造されている。これまでにオリゴ糖を生産可能なカビや酵母が報告されているが、酵母と比較してカビによる事例は多種に渡る。酵母は一般的にカビと比較して増殖が速く、細胞形態が均一で培養が容易であるため、オリゴ糖生産に寄与できる酵母を新たに見出すことは産業的価値が高いと言える。

近年、我々は干芋から単離された *Zalaria* sp. Him3 由来の β -フラクトフラノシダーゼ（FFase）を用いることで FOS を高収率で生産できることを初めて明らかにした（Yoshikawa et al., J Appl Microbiol, 2022）。本菌株は、増殖時に均一な細胞形態を示すことから、菌体懸濁液をそのまま FFase 酵素液として FOS 生産反応に用いることができる。これは酵素の回収と濃縮を容易にするだけでなく、将来的な固定化菌体による連続生産の可能性からも利点がある。一方で本菌はマルトースを炭素源として培養した時、FOS とは別のオリゴ糖を生産できることが定性的に確認されている。このオリゴ糖が IMO であれば、*Zalaria* sp. Him3 を異なる炭素源で培養するだけで異なる複数の機能性オリゴ糖を生産することが可能となる。しかしながら、現時点でそれぞれのオリゴ糖生産に関与する酵素遺伝子の特定には至っていない。

本菌のオリゴ糖生産に関与する酵素遺伝子を特定することができれば、生産反応へ活用することによってコスト削減や収率向上へつながると予想される。さらに、培養に用いる炭素源をスクロースやマルトースに使い分けるだけで異なるオリゴ糖生産に供することができれば、単一の酵母による複数のオリゴ糖生産プロセスを確立することにつながり、生物工学的なイノベーションの創出だけでなく保健医学の発展にも重要なツールとなる。

5. 研究目的

既知の FOS 生産酵母は関与酵素である FFase を複数有しており、糖転移能の違いにより高転移型と低転移型が存在する。しかしながら、本研究で用いる供試菌株 *Zalaria* sp. Him3 が何種類の FFase を生産し、各々がどれくらいの糖転移能を示すかはいまだ不明である。また、生産が確認されたマルトオリゴ糖が機能性食品素材として知られている IMO であるかも不明である。そこで、本研究課題の目的としては、申請者によって新たに見出された FOS 高生産酵母である *Zalaria* sp. Him3 を用いて、① FOS 生産に関与する FFase の特定とその特性を解明し、高度な FOS 生産プロセスの確立へ繋げること、② FOS 以外のオリゴ糖として、IMO 生産を確認した上で関与酵素である α -グルコシダーゼ (AGase) を探索し、複数のオリゴ糖生産プロセス構築への土台を作ること、の二点である。

6. 研究（実験）方法

(1) *Zalaria* sp. Him3 における FOS 生産に関与する FFase の解明

スクロースを含む液体培地に *Zalaria* sp. Him3 を植菌し、30℃で振とう培養した。経時的に採取された培養液を遠心分離し、回収した上清画分をそのまま上清酵素液として、菌体画分は回収した上清と同量の緩衝液で懸濁して菌体酵素液とした。FFase の反応は、スクロースを基質としたときにフルクトース転移活性と加水分解活性の両方が存在し、どちらの反応もグルコースを遊離する。そのため、遊離したグルコースを定量することで、両方の活性を含んだ値として求めた。本酵素活性については、30℃で1分あたりに1 μ mol のグルコースを遊離する為に必要な酵素量を1 U と定義した。FFase の糖転移能測定として、15%のスクロースと3時間反応させた後、反応液中の転移物である FOS と分解物であるフラクトースの濃度を親水性相互作用クロマトグラフィーカラム (Hilicpak VG-50) による HPLC で定量し、FOS の割合を計算することで求めた (オリゴ糖生成量高 = 転移能高)。

FFase 候補遺伝子の決定に関しては、以前より実施済みのゲノム情報から既知の FFase と相同性が高い遺伝子、もしくは FFase が含まれる Glycoside Hydrolase family 32 (GH32) と推測された遺伝子から4種を抽出した。これら候補遺伝子の発現解析に用いるため、培養後の菌体を液体窒素で凍結してすり潰した後、RNA 抽出試薬を用いて高分子 RNA を抽出した。これに含まれる mRNA を鋳型として逆転写酵素によって cDNA を合成し、各 FFase 特異的なプライマーを用いてリアルタイム PCR にて個々の発現解析を行った。基準となるハウスキーピング遺伝子には GAPDH を用いた。

(2) *Zalaria* sp. Him3 における IMO 生産の確認

本菌における糖類の資化性を調べるため、酵母様真菌の同定キット API 20 C AUX (バイオメリュー社) を用いて、糖類ごとの発酵能を測定することで評価した。対照として炭素源無添加と比較し、それよりも濁りが視認されれば資化性があると判断し、グルコースを基準として強弱を評価した。

マルトースを含む液体培地で本菌を培養し、その培養上清中の糖成分における経時的な変化を前項と同様の HPLC で分析した。マルトオリゴ糖の生産に関与する α -グルコシダーゼ (AGase) の活性測定に

については、マルトース液体培地に本菌を接種し、30℃で振とう培養した培養液を前項同様に菌体画分と上清画分に分離して酵素液とした。これらを基質である *p*-ニトロフェニル- α -グルコピラノシドと反応させ、酵素作用によって生じた *p*-ニトロフェノール (PNP) の 400nm における吸光度を測定した。酵素活性は、得られた吸光度からモル吸光係数 ($18.1\text{mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) によって計算し、30℃で1分間に $1\mu\text{mol}$ の PNP を遊離する酵素量を 1 U とした。

7. 研究成果

(1) *Zalaria* sp. Him3 における FOS 生産に関与する FFase の解明

本酵母は液体培養時の菌体懸濁液を FFase 試料として用いることができ (菌体酵素)、培養上清にも FFase 活性を確認できる (上清酵素)。図 1 に示した通り、スクロース培養時における菌体酵素は、培養時間に関わらず一定の FFase 活性であり、転移活性 (Ut) と分解活性 (Uh) の合計活性 (Ut+Uh) 中に占める Ut の割合 (転移活性割合) には、ほとんど変化がなかった。一方、上清酵素では、培養時間の経過とともに FFase 活性が高くなったが、転移活性割合は 48 時間でやや低く、72 時間でやや高くなった。したがって、菌体酵素と上清酵素で培養時における挙動に違いが見られたことから、それぞれの FFase 組成は異なっており、複数の FFase を生産して利用していることが推測された。また、解析した本菌株のゲノム配列中に推定された 7496 の遺伝子から、既知の FFase と相同性の高い配列を探索したところ、GH32 として g3543、g3700、g7163、GH43 として g3609 の 4 遺伝子が FFase と推測された (図 2)。

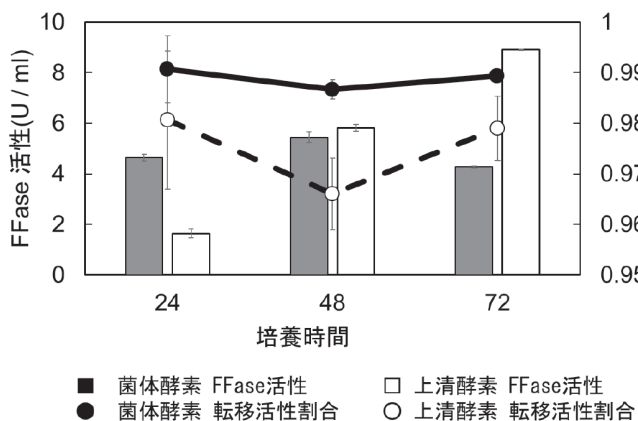


図 1 Him3 株における FFase 活性の経時変化

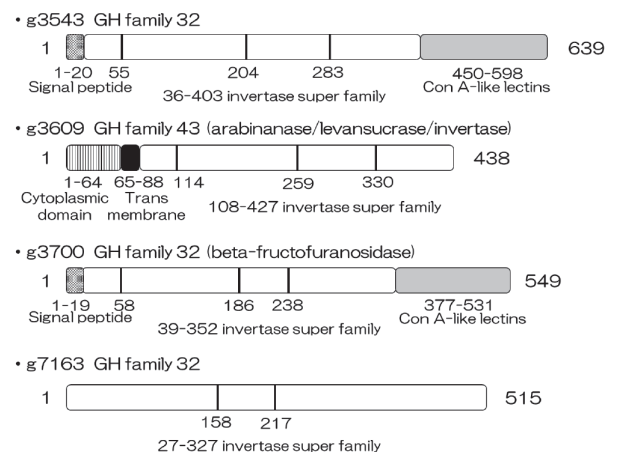


図 2 推測された FFase 候補遺伝子の特徴

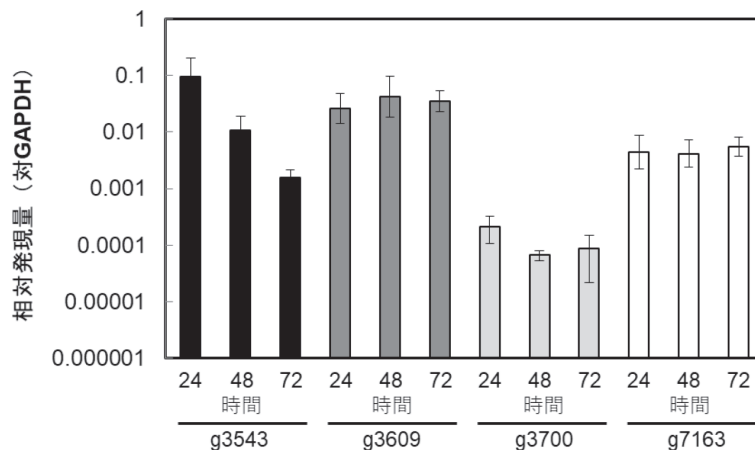


図 3 Him3 株における FFase 候補遺伝子の発現経時変化

さらに、これら候補遺伝子の経時的な発現についてリアルタイム PCR によって調べた結果、g3700 の発現は低かったが、g3543 と g3609、g7163 の発現が確認することができ、これらが FFase として FOS 生産に機能していることが期待された（図 3）。

(2) *Zalaria* sp. Him3 における IMO 生産の確認

供試菌株 *Zalaria* sp. Him3 は FOS 生産菌としての有用性について報告されているが、*Zalaria* 属酵母が 2017 年に新属として提唱された新しい種であることもあって、それ以外の生物工学的な研究はほとんど進んでいない。そこで、Him3 株の諸性質を明らかにする一端として、炭素源としての各種糖類の資化性を調べた（表 1）。糖類 19 種における *Zalaria* sp. Him3 の資化性を調べたところ、キシロースを最も良く資化し、すでに分かっているグルコースやスクロース、マルトースに加えてセロビオースやラフィノースなどを資化することが確認できた。本菌は、スクロースとマルトースを炭素源とした際の培養液中にオリゴ糖を生成することが薄層クロマトグラフィーで確認されている。そこで、マルトースを炭素源として培養し、経時的な培養液中の糖成分変化を HPLC で解析したところ、IMO であるイソマルトース、パノース、イソマルトトリオースの生産が確認できた（図 4）。さらに、本菌をマルトースで培養した時に AGase 活性が菌体懸濁液と培養上清の両画分に検出された。これらの結果より、*Zalaria* sp. Him3 はスクロースから FOS を生産するだけでなく、マルトースから IMO を生産できることが明らかにされ、培養時の炭素源を変えるだけで異なる機能性オリゴ糖の生産に利用できる酵素を生産できることが示された。

表 1 *Zalaria* sp. Him3 の糖類資化性

糖 類	資化能
Control (炭素源無し)	—
グルコース	+
グリセロール	—
2- ケトグルコン酸	—
L- アラビノース	+
キシロース	++
アドニトール	—
キシリトール	—
ガラクトース	±
イノシトール	+
ソルビトール	—
メチルグルコシド	—
N- アセチルグルコサミン	—
セロビオース	+
ラクトース	—
マルトース	+
スクロース	+
トレハロース	—
メレジトース	—
ラフィノース	+

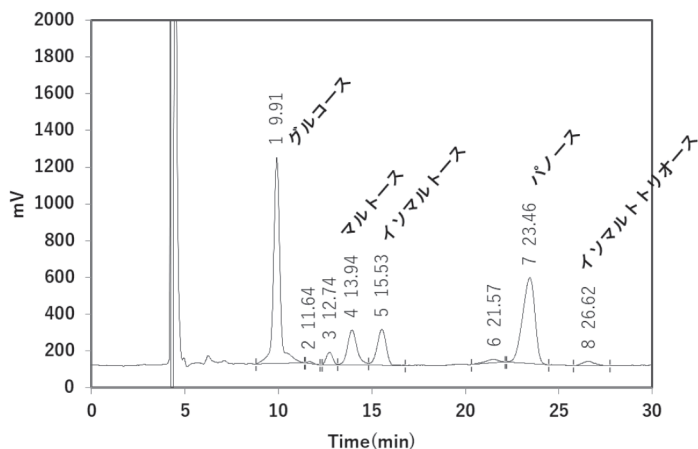


図 4 マルトース培地における培養液の HPLC 分析

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特許出願済（特願 2024-32174 オリゴ糖の製造方法、及びオリゴ糖製造システム，令和 6 年 3 月 4 日）。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

(1) *Zalaria* sp. Him3 における FOS 生産に関与する FFase の解明

複数の FFase 候補遺伝子を見つけることができた一方、最も FOS 生産に関係する遺伝子が不明である。挙げられた 4 種の cDNA を順次クローニング後、遺伝子組換え発現により個別に酵素タンパク質を取得し、個々の性質について調べることでフラクトオリゴ糖生産への関与を調べる。

(2) *Zalaria* sp. Him3 における IMO 生産の確認

本菌をマルトースで培養した際に IMO を生産することを見出したが、関連する酵素遺伝子の候補すら不明である。まずはゲノム配列から FOS 生産と同様に AGase の候補遺伝子を探索する。さらに、資化性を確認できた二糖類から、その他のオリゴ糖を生産できるかを増員して調べる。

10. 公表した成果一覧

学会発表

- 1) 齋藤 佑衣、眞榮田 麻友美、前橋 健二、吉川 潤：フラクトオリゴ糖生産菌 *Zalaria* sp. Him3 における β -フラクトフラノシダーゼの探索、第 75 回 日本生物工学会大会（2023 年 09 月 名古屋）
- 2) 松谷 遥希、田中 駿、眞榮田 麻友美、前橋 健二、吉川 潤：フラクトオリゴ糖生産酵母 *Zalaria* sp. Him3 株を用いたイソマルトオリゴ糖生産、日本農芸化学会 2024 年度大会 2023 年 03 月 東京）

2023年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 小泉 敬彦

1. 研究課題名および予算額

研究課題名	研究領域 (キーワード)
リン酸資源の効率的利用による循環型農業の実現に向けたアーバスキュラー菌根菌ブレンド資材の開発	③ SDGs (2, 13, 14, 15)

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	小泉 敬彦	生命科学部 分子微生物学科・助教	研究の総括・全般
研究分担者	齋藤 宏昌	生命科学部 分子微生物学科・教授	成長促進効果の定量分析
	田中 尚人	生命科学部 分子微生物学科・教授	菌根菌のリソース化
	山本 紘輔	生命科学部 分子微生物学科・准教授	菌根菌のコミュニティ解析
	田中 恵	地域環境科学部 森林総合科学科・准教授	内生細菌の菌叢解析
	市橋 泰範	理化学研究所 バイオリソース研究センター・チームリーダー	DNA ライブラリ調製 ネットワーク解析

3. 研究期間

2023年6月7日～2024年3月31日（3年計画の1年目）

4. 研究の背景（当初）

日本では4割もの畑地が、植物の必須栄養素であるリン酸と結合しやすい黒ボク土で覆われている。その結果、農地に投入されるリン酸肥料の66%が作物に利用されことなく土壤中に蓄積している。リン酸資源の枯渇問題に加えて不安定な世界情勢がリン酸肥料の価格高騰をもたらしており、我が国における持続的な農業を実現するには、農地への過剰なリン酸投与からの脱却が不可欠である（SDG 2.4）。これを可能にする手段として、土壤微生物の資材活用が挙げられる。陸上植物の根にはアーバスキュラー菌根菌（以下、菌根菌）という土壤微生物が普遍的に存在し、菌根菌が伸ばす菌糸は植物の根に代わって土壤中のリン酸を吸収する役割を担う。菌根菌を化学肥料に代わる農業資材として活用することでリン酸を効率的に回収でき、それゆえ作物の収量増加も期待できる。農地にも菌根菌は生息しているが、農薬や消毒剤の使用によって定期的に排除されてしまう。また、現時点において市場に流通する菌根菌資材は *Rhizophagus irregularis* という海外産の1種のみ由来し、国内の農地における施用効果は限定的である。

5. 研究目的

本研究では、特性の異なる複数種の菌根菌をブレンドすることで、施用効果の安定性が担保された新しい菌根菌資材を開発する。日本の国土の3分の2を占める森林の土壤環境は農地と比べて多様性に富み、菌根菌リソースの供給源としての高いポテンシャルが見込まれる。本目的を遂行するため、「森林土壌における菌根菌リソースの収集」、「接種試験によるリソースの特性評価」、「資材効果を最適化するブレンド候補の提案」を行う。

6. 研究（実験）方法

A. 菌根菌リソースの収集

-1 土壌のサンプリング

宮古亜熱帯農場および奥多摩演習林において菌根菌の胞子を含む土壌のサンプリングを実施した（図1）。草地と森林の2区分から3土壌コアずつ採取し、計12土壌コアを得た。これらをビニール袋に密封して冷蔵便で研究室へ輸送した。



図1. 菌根菌の胞子を含む土壌のサンプリング。（左）森林、（中央）草地、（右）ビニール袋に密封した採取土壌。

-2 菌根菌胞子のトラップ増殖

土壌中に含まれる菌根菌の胞子のうち発芽能力を有するものを抽出するため、無菌発芽させたイネ（日本晴）を採取土壌に移植して菌根菌をイネの根に感染させた。2ヶ月間生育させたのち、灌水を停止してイネを枯死させることによって菌根菌の胞子形成を誘導した（図2左）。

-3 宿主への単胞子接種

胞子を含む土壌を水で懸濁し、メッシュを通過させて直径 $30\text{--}150\mu\text{m}$ の胞子を回収した。実体顕微鏡を用いて胞子を観察し、形態に基づいて類別した。全ての形態を網羅するように16胞子を選別し、個別に無菌発芽させたイネの根に接種した（図2中央）。選別した菌根菌の胞子を増産するため、2ヶ月間生育させたイネを枯死させて胞子形成を誘導し、新たなイネ個体を植え継いだ（図2右）。

-4 菌根菌の種同定

菌根菌の胞子生産のために枯死させたイネ個体の根からDNAを抽出し、菌根菌の rRNA SSU-ITS-LSU 領域を選択的にPCR増幅し、サンガーシーケンスによってSSU領域の塩基配列情報を取得した。これを99%の相同性に基づいてクラスタリングして便宜的な解析単位（operational taxonomic unit; OTU）とした。



図 2. 菌根菌胞子のトラップ。(左) イネ根圏から張り出した菌根菌の菌糸、(中央) 1.5mL チューブ内で生育させたイネの根への単胞子接種、(右) 胞子増産に向けたイネの植え継ぎ。

B. 菌根菌ブレンド候補の提案

-1 アルゴリズムの構築

菌根菌による宿主植物の成長促進効果は、共存する他菌種および外部環境との相互作用によって変化する。そこで、共接種および環境に応じた成長促進効果を考慮して、資材効果を最適化する菌根菌の組み合わせ（ブレンド）を導き出すアルゴリズムを構築した。

-2 アルゴリズムの検証

本研究では、使用目的に応じて、汎用性の高い「スタンダード資材」と特定の条件に特化した「カスタムメイド資材」の 2 種類を想定する。本研究において、菌根菌が成長促進効果を発揮する環境をニッチと定義する。スタンダード資材では、ニッチの異なる菌種を組み合わせることで幅広い環境において最低限の効果が期待できる。カスタムメイド資材では、事前に環境（土壌化学性など）を調べておくことで、その環境で効果を発揮する菌種を組み合わせる。それゆえ、これらのニッチは類似する。菌根菌の共接種試験のデータは本研究期間の 2 年目に収集するため、今回は予備検証として、5 種類の環境に関するニッチが割り当てられた 30 菌種からなる仮想の相互作用系をコンピュータ上に構築し、そこで生成される疑似データを用いて 1000 回のシミュレーションを実施した。資材の種類によってブレンドされる菌種間のニッチ差に違いが生じるため、ニッチ差を表す統計量 D を次のように定義し、無作為にブレンドした場合をコントロールとしてアルゴリズムの有効性を検証した。

$$D = (1 / {}_nC_2) \cdot \sum_i \sum_j \sum_k \{a_k | E_{ik} - E_{jk} | \} \quad (i \neq j)$$

n はブレンドする菌種数、 i と j は菌種、 k は環境データの項目を表す。 a_k は D を算出する際の環境 E_k を重みづけするための係数であり、 $\sum a_k = 1$ を満たす。検証には統計解析ソフトウェア R を使用した。

C. 塩ストレス環境下における菌根菌の分布調査

-1 海岸における菌根菌胞子の収集

接種試験による菌根菌リソースの特性評価に先立ち、実際の野外における分布傾向から菌根菌の特性を把握することを目的として、恒常的に塩ストレスに晒されている環境である海岸において菌根菌の分布傾向を調査した。茨城県大洗海岸のクロマツ林縁を中心として、海岸線および内陸方向にライントランセクトを 3 本設置した（図 3 左）。ライン上で 10m 間隔に 8 地点、合計 24 地点において土壌を採取した。湿式篩い分け法を用いて直径が 45-150 μ m と 150-300 μ m の AM 菌胞子を区別して収集した。

-2 菌根菌の種同定

それぞれのサンプルから DNA を抽出し、Nested PCR 法により AM 菌の rDNA 遺伝子を増幅した。1st PCR には AML1/LSUmAr のプライマーペアを使用し、2nd PCR には SSU 領域を増幅する AMV4.5NF/AMVR および ITS 領域を増幅する ITS1-F_KYO1/ITS2_KYO2 の 2 種類のプライマーペアを使用した (図 3 右)。PCR 産物を Illumina MiSeq の 300 bp pair-end シーケンスにより塩基配列情報を取得した。SSU 領域は 98%、ITS 領域は 97% の相同性で塩基配列のクラスタリングを行い、OTU を作成した。

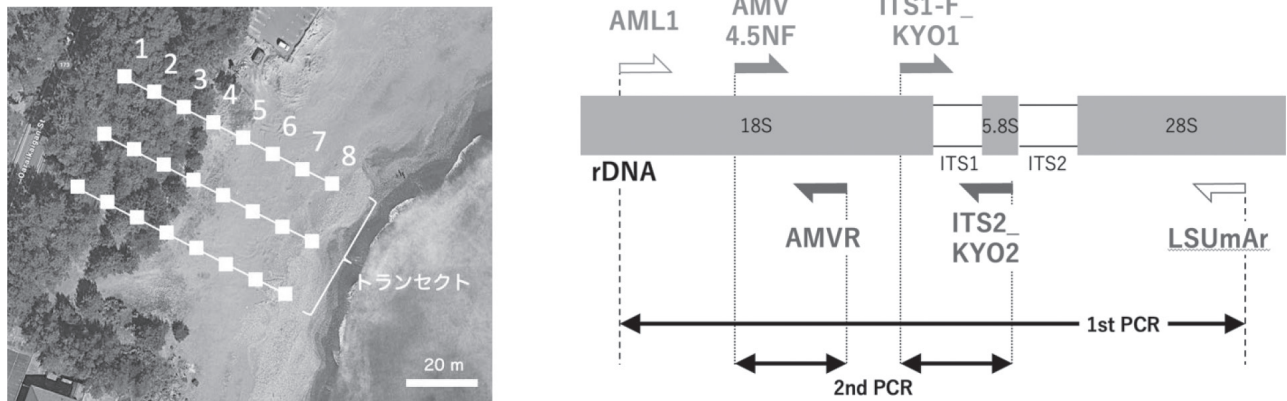


図 3. 海岸における菌根菌の分布調査。

(左) 菌根菌胞子を採取したトランセクトの位置図、
(右) 菌根菌の種同定に使用した rDNA 遺伝子配列の 2 領域。

-3 環境データの収集

採取地点は GPS により位置情報を記録した。採取した土壌を乾燥させ、土壌と蒸留水を 1:5 の割合で混合し、pH と電気伝導度を測定した。また、乾燥土壌と 3 mM 硫酸アンモニウム溶液を 1:10 の割合で混合し、カリウムイオンとナトリウムイオンを測定した。測定にはいずれも LAQUAtwin コンパクトメーター (HORIBA) を使用した。元素分析計を用いて土壌の炭素・窒素含有率を算出した。

-4 群集構造の比較解析

土壌の採取地点ごとに検出された菌種の情報を用いて Bray-Curtis 非類似度を算出した。これに基づいて座標平面上に群集構造を可視化した。また、統計解析ソフトウェア R の vegan パッケージ envfit 関数を使用して非類似度と環境データの相関を比較し、対応するベクトルを座標平面上に配置した。

7. 研究成果

A. 菌根菌リソースの収集

採取したいずれの土壌に移植したイネ根圏においても菌根菌の胞子形成が認められた。単胞子を接種したイネ 192 個体の根系全体から DNA を抽出し、58 サンプルから菌根菌の塩基配列情報が得られた。これらをクラスタリングして得られた 16 OTUs を BLAST 検索により国際塩基配列データベースと照合した結果、14 OTUs は Glomeraceae (51 サンプル)、1 OTU は Gigasporaceae (6 サンプル)、1 OTU は Diversisporaceae (1 サンプル) であると推定された (表 1)。

表 1. 検出された菌根菌 OTU およびサンプル数

	科 (Family)	宮古亜熱帯農場		奥多摩演習林	
		森林	草地	森林	草地
OTU1	Glomeraceae	20	4	1	2
OTU2	Glomeraceae	3	0	0	0
OTU3	Glomeraceae	1	0	0	0
OTU4	Glomeraceae	1	0	3	0
OTU5	Glomeraceae	1	0	0	0
OTU6	Glomeraceae	1	0	0	0
OTU7	Glomeraceae	1	0	0	0
OTU8	Glomeraceae	2	0	0	1
OTU9	Glomeraceae	1	0	0	0
OTU10	Glomeraceae	0	1	0	0
OTU11	Glomeraceae	0	1	2	0
OTU12	Glomeraceae	0	1	1	0
OTU13	Glomeraceae	0	0	1	0
OTU14	Glomeraceae	0	0	1	1
OTU15	Gigasporaceae	0	2	3	1
OTU16	Diversisporaceae	0	0	1	0
総OTU数		9	5	8	4

B. 菌根菌ブレンド候補の提案

シミュレーションによる検証の結果、スタンダード資材におけるブレンドではコントロールに対して有意に小さな D の値が認められ ($P < 0.001$)、カスタムメイド資材におけるブレンドではコントロールに対して有意に大きな D の値が認められた ($P < 0.001$)。ブレンドする菌種数を 3-6 と変化させて検証を実施した結果、いずれの場合においても同様の結果が得られた (図 3)。

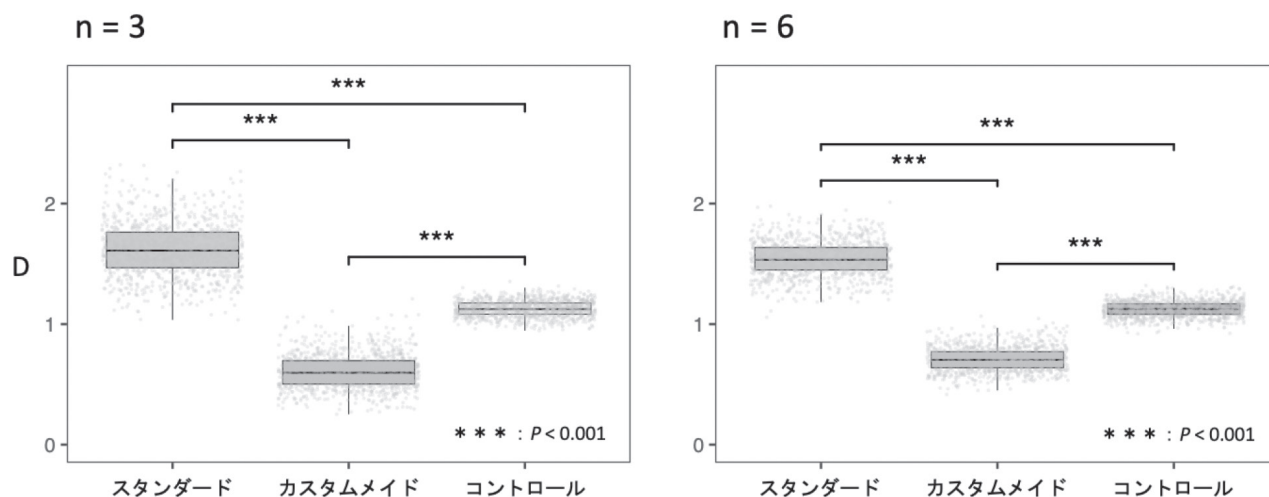


図 3. ブレンド候補として挙げられた菌種から算出される統計量 D のシミュレーション結果 (1000 回試行)。
(左) 3 菌種をブレンドした場合、(右) 6 菌種をブレンドした場合。

C. 塩ストレス環境下における菌根菌の分布調査

得られた塩基配列を相同性に基づいてクラスタリングした結果、SSU 領域から 8 属 247 OTUs、ITS 領域から 12 属 97 OTUs が検出された (表 2)。領域別に環境データ、位置情報、孢子直径と菌根菌の群集構造を比較した結果、いずれの場合でも pH、炭素・窒素含有率と各種イオン濃度に沿った群集構造の変化が認められた (図 4)。中でも *Glomus* 属、*Paraglomus* 属の優占比率が、カリウムイオン、ナトリウムイオンの濃度勾配に応じてそれぞれ変化した (表 3: $P < 0.05$)。

表 2. 検出された菌根菌の属名と OTU 数

属名	SSU	ITS
<i>Acaulospora</i>	7	1
<i>Ambispora</i>	15	0
<i>Archaeospora</i>	14	10
<i>Claroideoglossus</i>	11	2
<i>Corymbiglomus</i>	0	3
<i>Diversispora</i>	9	5
<i>Gigaspora</i>	0	3
<i>Glomus</i>	58	63
<i>Kamienskia</i>	0	2
<i>Palaeospora</i>	0	1
<i>Paraglomus</i>	120	2
<i>Redeckera</i>	0	1
<i>Scutellospora</i>	13	4
Total	247	97

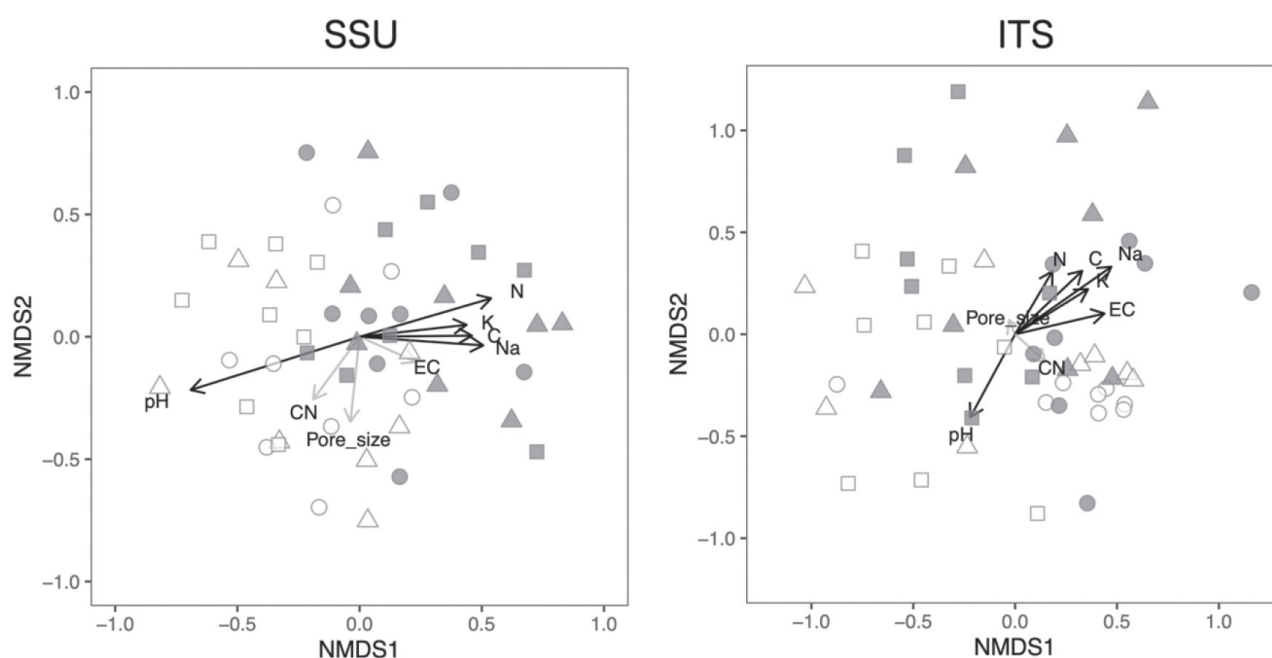


図 4. AM 菌胞子群集の類似度比較。(左) SSU 領域および (右) ITS 領域により検出された群集データ。シンボルの形はトランセクト、塗りつぶしの有無は林内と林外、矢印は有意に相関する環境変数を示す。

表 3. 属単位の優占比率変動に対する環境変数の説明力

属名	環境変数	R ²	P
SSU			
<i>Diversispora</i>	CN	0.533	0.040
<i>Glomus</i>	K	0.833	0.002
<i>Paraglomus</i>	Na	0.531	0.040
<i>Paraglomus</i>	EC	0.598	0.024
ITS			
<i>Redeckera</i>	CN	0.620	0.020

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

今回、複数の系統群からリソース候補となる菌種が検出された。これらの種間では宿主植物の成長促進に関わる特性が異なると考えられることから、本研究の目的に見合った望ましい結果が得られたと言える。現在、リソース化に向けた単孢子接種による胞子の増産を進めている。また、本研究が目指す菌根菌ブレンド資材は、それを使用すると想定される農家のニーズに応じて異なる菌根菌のブレンド候補を提案する必要がある。リソース収集には時間を要することから、リソースの確立に先立ってブレンド候補を提案するアルゴリズムを構築し、その有効性まで確認することができた。これにより、リソースが確立でき次第スムーズに実用へ移行することが可能である。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

-1 菌根菌の種同定

菌類の種同定には rRNA ITS 領域の塩基配列情報が使用されるのが一般的だが、アーバスキュラー菌根菌（Glomeromycota）のゲノム内には ITS 領域に多型が認められることから、サンガーシーケンスではその領域の塩基配列を取得できない。今後、リソース候補となる菌株に関してはクローニングあるいは NGS を用いた ITS アンプリコンシーケンスを実施し、正確に種を同定する。

-2 採取地の選定

当初の予定では菌根菌の採取地を森林に限定していた。しかし、将来的な農業適用を考えれば、進行する地球温暖化や塩害などの諸問題にも対処しうるリソースを確保することが望ましい。そこで、採取地の候補とする対象を、特異な環境である亜熱帯地域、海岸地域、強酸性土壌地域などに拡大し、2 年目以降もリソース収集を継続する。今回、海岸地域において菌根菌の分布傾向を調査した結果、塩濃度などの環境勾配に応じて菌根菌の分布が変化することが明らかとなった。従って、特異な環境におけるリソース収集の意義は大きいと言える。

-3 栽培ポットサイズの拡大

菌根菌の胞子増殖のためイネを生育させているが、栽培容器として使用している 50 mL チューブでは根圏空間が成長の律速となっているために植物体の生育差が表れにくいと考えている。2 年目の接種試験による成長促進効果を評価する際は、ポットサイズを大きくすることで改善を試みる。

10. 公表した成果一覧

学会発表

小泉敬彦、市橋泰範、山本紘輔、齋藤宏昌「海岸の環境勾配に沿ったアーバスキュラー菌根菌の孢子群集」日本菌学会第 68 回大会（青森）

2023年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 宮浦 理恵

1. 研究課題名および予算額

研究課題名	研究領域 (キーワード)
モンスーンアジアにおけるアグロエコロジカルな「連帯」による新たなフードシステムの構築に関する研究	アグロエコロジー連帯

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	宮浦 理恵	国際食料情報学部 国際食農科学科・教授	研究総括・アグロエコロジー・事例研究（インドネシア担当）
研究分担者	吉野 馨子	国際食料情報学部 食料環境経済学科・教授	農村社会学・事例研究（バングラデシュ担当）
	高梨子文恵	国際食料情報学部 食料環境経済学科・准教授	農業経済学・事例研究（ベトナム担当）
	中窪 啓介	国際食料情報学部 食料環境経済学科・助教	地理学・事例研究（フィリピン担当）

3. 研究期間

2023年6月7日～2024年3月31日（3年計画の1年目）

4. 研究の背景（当初）

今日の経済と資本の要求を満たすように発展したグローバルなフードシステムにより、人々は季節の制限を受けずに豊富な食材を用いた多様な食を享受するようになった反面、生産者は消費者と切り離され、環境面や経営上の困難な課題に翻弄されている。持続可能なフードシステムへと転換するためには、生産の場と食卓とのつながりの再構築をはかり、経済的な関係を超えた食をめぐる社会の形成と新たな価値の認知、すなわち「連帯（solidarity）」が不可欠で、食料の生産基盤（環境・資源）と人の営みの文化的な側面も含めた広い意味での地域生態系に配慮した持続可能な食と農のあり方への視点（アグロエコロジー、農生態学）が欠かせない。

5. 研究目的

本研究は、大陸部のベトナム、バングラデシュ、島嶼部のインドネシア、フィリピンを対象とし、生産者と消費者の「連帯」によるモンスーンアジア型フードシステムが成立可能かをアグロエコロジーの観点から検証することを目的とする。

モンスーンアジアは人口が稠密で、急速な都市化に安全な食料供給の整備が追い付かず消費者の食への不安が広がる一方で、生産を担う小農の農業離れが進んでいる。こうした状況下における消費者の食料入手の実態は明らかでなく、生産者と消費者の「連帯」の状況はさらに不明な部分が多い。そこで、消費者の食料入手及び生産者の農業経営の実態を把握した上で、生産者と消費者の双方に対する意識を明らかにする。さらに生産者と消費者の「連帯」の取り組みの形態と直面している課題を解明することで、モンスーンアジアとしての共通項と政治・社会・経済体制等の違いによる地域固有の課題、「連帯」による新たなフードシステムの構築の可能性を検討する。

6. 研究（実験）方法

本研究では、まずモンスーンアジアの国々における生産者と消費者の関係性と「連帯」の現状を明らかにし、各国に共通してみられる点と地域の固有性を分析する。分析の軸は、その「連帯」の段階順に、①都市消費者の中に類縁のない生産者と支えあうという考えがあるか、②（ある場合）どのような消費者にそのような関心があるか（社会階層・リテラシー、農村との物理・心理的距離）、③連帯の実践の形態（どのような生産者と／どのような農産物を対象に／どのようなアクセスの方法、流通システムを通じて）である。さらに、以上を踏まえ、今後の可能性について検討する。

中心的な事例国は、自然地理の違いも考慮し、大陸部に位置するベトナムとバングラデシュ、島嶼部に位置するインドネシアとフィリピンである。これらの4国の農村人口は44～63%、農業従事者率は23～41%と全体に高めであるが、国間の幅はありベトナム、バングラデシュの方がより農業的といえよう。いずれの国も稲作が中心であり人口稠密で大きな首都圏を擁するが、社会構造や政治経済構造には違いがあり、当然ながら農産物流通、消費者の食料入手や生消連携の状況も、共通するものと各国の固有性が見出されよう。

生産者と都市消費者の関係性と連帯の実態を解明するには、流通システム、社会構造・政治経済形態、都市の発展と都市農村関係、市民社会の形成、農政・食品安全行政等、幅広いバックグラウンドの把握も必要となり、現地カウンターパートと協働していく。代表者と分担者はそれぞれ1国ずつ担当する。宮浦（インドネシア担当）は、アグロエコロジーの視点から民族植物学やファーマリングシステム研究を行ってきた。吉野（バングラデシュ担当）は、社会学の視点から有機農業の展開、農民の交渉力、消費者の食の安全への意識などの研究を行ってきた。高梨子（ベトナム担当）は農業経済学の視点から、青果物流通の変化、生産者と消費者の連携などについて研究を行ってきた。中窪（フィリピン担当）は地理学の視点から青果物産地の供給態勢、生産者の生計、流通主体間の関係性などの研究を行ってきた。

（1）現地実態調査

それぞれの国で、首都圏の消費者及び地方都市消費者、さらにその地方都市に近い農村の生産者を調査協力者とする。縁故米等の個人ネットワークによる食料確保も含め、出身農村と都市住民の結びつきが依然強いと思われる農産物入手の実態と課題をまず明らかにし、それを支える生産者（農業者）の生産実態も捉える。合わせて都市消費者と生産者のそれぞれへの意識を明らかにする。本年度は、以下の日程で実態調査を実施した。

ベトナム：ハノイ（首都）及びホーチミン市（最大都市）と近郊農村

高梨子文恵 2023 年 12 月 21 日～31 日。

フィリピン：マニラ（首都）と周辺都市・農村（パンガシナン州）

中窪啓介 2023 年 8 月 27 日～9 月 18 日。

インドネシア：ジャカルタ（首都）及び地方都市（ボゴール県）と周辺農村（チアンジュール県）

宮浦理恵 2023 年 8 月 10 日～23 日。

バングラデシュ：ダカ（首都）及び地方都市（タンガイル、マイメンシン）と周辺農村

吉野馨子 8 月 28 日～9 月 13 日（比較のためインドとスリランカでも調査を行った）。

（2）横断的配票調査

都市消費者の農産物入手の実態と課題、食と農に関する意識を明らかにするため、バングラデシュ、ベトナム、フィリピン、インドネシアの消費者を対象に、基本的に同じ質問紙を用いたインターネット調査（バングラデシュは面接調査）を実施した。「生産者」と「消費者」の連携の形は多様であるが、アジアでの研究は限定的である。連携のあり方を考える上で、現在消費者がどのように食料を入手しているか、個人的に生産者とネットワークを持っているか、農業や環境についてどのような意識を持っているかを把握することは重要である。

インドネシア、ベトナム、フィリピンに関しては、①ジャカルタ首都特別州（インドネシア）、②ハノイ市・ホーチミン市（ベトナム）、③マニラ首都圏（フィリピン）の住民各 400 名に対する Web 調査を、主要な調査会社である GMO リサーチ株式会社に委託し実施した。

バングラデシュに関しては、④ダカ市に居住する住民 400 名に対し、他 3 国と同様の質問事項で構造化された質問紙により、対面の調査を実施した。上記 3 か国と同様に Web 調査を実施しない理由は、同国では web のパネルが十分存在していないため及び識字率は向上したものの複雑な文章の理解には困難を覚える人たちがいまだ少なくないためである。対象者は、市内 10 の地区から、既存データに基づき、比較的富裕層が居住する 2 地区、比較的貧困層が居住する 2 地区と、いずれにも該当しない 2 地区を選定し、それぞれの地区から 66 ないし 67 名とした。訓練を受けた調査員が、地区内の世帯を個別訪問し、調査への協力を同意してくれた人（同意書を提出してくれた人）にのみ質問を実施した。調査自体は現地の調査会社（Phenomena Research Integration (PRI)）に委託するが*、本研究のカウンターパート（Dr. Khurshed Alam 氏）が調査監督を行った。なお、本配票調査は「人を対象とする実験・調査等に関する倫理委員会」に研究計画書を提出し、審査後承認を受けた（No.2283）。

* 民間の調査セクターが未発達の同国において、同社は海外機関の業務受託の経験もあり、プライバシーポリシーも明文化しており、信頼できる調査機関と判断し選定した。

7. 研究成果

（1）事例国の有機農業に関する基礎データ

アグロエコロジーの推進及び生産者と消費者の連帯の取り組みにおいて、有機農業は重要な位置を占めている。表 1 は、各国の有機農業に関する統計をとりまとめている IFOAM の年次レポートの最新年（2021 年）から、事例 4 か国及び生産間の連携が進展している日本、アメリカ、カナダの状況を抜き出したものである。同報告書の数値は、政府や自治体が統計を取っていない場合、正確さには限界があることは留意が必要である。

表 1 をみていこう。有機農業の進展度合いは国によって異なり、有機農業の推進が農業政策としても

位置付けられている日本も認証されている割合は低い。事例 4 か国においては、フィリピンが高く、バングラデシュがかなり低い。バングラデシュでは水産養殖の面積が多いこともまた特徴的である。

かわる生産者数については、各国の調査年に幅があるが、フィリピンとインドネシアはともに 1 万人を超え、国内に浸透していることがうかがえる。ベトナムは社会主義国であるためか、関与者の現れ方が上記 2 か国と大きく違っている。そしてバングラデシュは 2 者（社）のみであるが、これは 2017 年のデータであり、その後増加している可能性はある。

各国の有機農業施策については、対照 3 か国（日本、アメリカ、カナダ）ではいずれも有機農業に関する法令が整備されそれに基づいた生産流通システムが普及しているが、フィリピン、インドネシア、ベトナムでは、法令や体制は作られているものの、それが現場にまでは十分浸透していないとされている。そしてバングラデシュでは法整備の準備中という状況である。

法令が定めるような有機認証は、認証機関への申請プロセスにおいて、生産者に経済的・手続的な負担をもたらし、とくに小農にとっては大きな負担となりがちである。日本での有機農業の普及率が低いのは、「有機農業」を実践していながらも、正規の認証の手続きを取らない生産者が少なくないためでもある。そのような負担に対し、PGS (Participatory guarantee system : 参加型保証システム) は生産者たちが自ら組織し互いに認証しあう参加型の「第三者認証」の代表的なものであり、信頼性は保ちながらも認証のコストを減らすことを目的としている。表からは、インドネシアとフィリピンで先行し広がっていることがみてとれる。インドネシアでは面積が、フィリピンでは関与する生産者が多い、というように、そのあり方は多様である。

以上のように、事例 4 か国の有機農業の展開の状況は多様であるが、バングラデシュでは実態としても法制度的にも他の 3 か国よりも普及が遅れており、現時点ではごく限られた部分的な取り組みであることがみてとれる。他の 3 か国でも、PGS の広がり方などに相違があり、その背景については、さらなる現地での分析が必要となる。

表 1 事例 4 か国及び対象 3 か国における有機農業の進展の状況

	area (Ha)						organic share			involved person				organic aquaculture production (t)	organic import to EU (2018,t)	Status of regulation on organic		PGS statistics 2020				
	agriculture (Ha)	Aqua culture	Forest	Grazing land	wild collection	total	organic share	producers	processors	importers	exporters			remarks	certificated(no)	involved (no)	operation PGA(no)	developing PGA(no)	certificate land ha			
Bangladesh	2,249	5,781				8,030	0.02%	2				2017	342	251	drafting	0	123		1			
Indonesia	251,619				18,412	270,031	0.40%	17836	120			2017			not fully implemented	295	425	1		83,323		
Philippines	168,352					168,352	1.40%	12037	20	33	39	2019			PGA recognition	222	1,980	6	7	318		
Vietnam	61,910	100,000			12,450	174,360	0.50%	-	555	40	60	2018	40		not fully implemented	304	480	4	2	114		
Japan	10,792					10,792	0.20%	3678	3361	302		2018			fully implemented	5	8	1		2		
Canada	1,321,072				24,119	1,345,191	2.30%	5677	1710			2019			fully implemented							
USA	2,326,551					2,326,551	0.60%	16476				2019			fully implemented	655	1,750	1		8,440		

Source: FiBL & IFOAM – Organic international The world of organic agriculture statistics & emerging trends 2021

(2) 各国実態調査結果

<ベトナム>

1) ベトナムにおける安全／有機野菜生産・流通展開の背景

ベトナムは 1986 年のドイモイ政策によって社会主義市場経済に体制移行した。農業分野では 1988 年の共産党第 10 号決議によって集団農業体制が解体され、家族農業が農業生産の基礎的な単位として認められ、これ以降農業生産は急激に拡大する。

経済全体の急速な成長と工業化、都市化、近代化の流れの中で農業生産の集約化が進んだ。農薬・化学肥料の使用が増加した結果、1990 年代後半に食品安全に関する事件が複数発生し、社会的関心が高まる。これに対応するため、政府は食品安全管理を行うベトナムで最初の中央機関、Vietnam Food Administration (VFA) を 1999 年に設置し、大都市近郊で Integrated Pest Management (IPM) を導入した生産をすすめる、一定の基準を満たした土地を安全野菜 (Safe Vegetable, Rau An Toan (RAT)) として認証した。同時にこのころ、海外の NGO によって有機農業が導入された (CIDSE (1998)、ADDA (2004) など)。

一方で、ベトナムは 2007 年に WTO 加盟を果たし、対外開放と法制度の整備が急速に進んだ。食品安全法を 2010 年に制定、農業生産に関しては VietGAP を導入 (2008) し、普及を進めている。一方で 2009 年に小売業が対外的に開放され、外国資本の参入が相次ぎ、スーパーマーケットが急速に増加したため、小規模農家は企業との公的な書面契約、認証の取得など、国際基準に則った生産への転換が求められるようになっていく。販売に関して、一部の安全野菜生産農協は、2000 年代に、伝統的な市場で消費者に直接小売する簡易店舗を設置するなどの動きがあったが、2000 年代の終わりころにはこうした動きは停滞した。代わりに、2010 年代初頭から、安全性認証を受けた安全／有機農産物の販売に特化した小規模な小売チェーンが活性化される。

2) 安全／有機農産物販売に特化した小規模な小売チェーン店の実態

まず、2010 年代初頭から増加している、安全／有機農産物に特化した小規模な小売チェーン店について、現地調査から明らかにする。

ハノイ市内では、安全な農産物や有機食品の販売に特化した、数店舗～20 店舗ほどの小規模チェーン店が急激に増加している。今回は、こうしたチェーン店の先駆的企業である「Bác Tôm」の創業者であり最高経営責任者 (CEO) でもある Trần Minh Chiến 氏からの聞き取り調査から、小規模専門小売店の実態を明らかにする。

i) Bác Tôm の概要

2013 年、ハノイ市内で創業した。当初は、NGO が行っていたプロジェクトの一部で、遠隔地で生産した有機野菜で販売できないものを、Chiến 氏が個人的に買い取って市内で販売していた。創業当初は野菜のみだったが、その後果物、肉類、魚類、加工品など、取り扱う品目を徐々に増やし、店舗を拡大した。2015 年の健康ブームで店舗数が増加し、2017 年には最大の 27 店舗まで増えたが、競合他社も増加したことから、2023 年現在 Bác Tôm の店舗は 20 店舗まで減少している。2019 年から株式会社化している。

ii) 仕入れ

野菜に関しては、Hà Nội、Hòa Bình、Hà Nam など、隣接する省の安全野菜、有機野菜農協や生産者グループ、企業から契約で仕入れを行っている。現在、およそ 20 農協／グループと取引がある。取り扱っている農産物の 40～50% は有機だが、取引している農協／生産者グループの野菜が品薄な時期は北部山岳地域等で安全野菜等を生産している農協から仕入れる場合もある。

ベトナムでは不正と契約不履行が多発していることから、Bác Tôm では 4 名の農業技術者を常時雇用し、すべての取引先を最低週 1 回巡回し、契約先農家が適切な栽培管理を行っているかのモニタリングを行っている。不正が見つかった場合、通常は数か月間取引を停止する措置をとり、問題がなければ取引を再開するが、深刻な違反が見つかった場合は契約を打ち切ることもある。モニタリングは基本的に野菜のみで、果物等は残留農薬等のリスクが低いため行っていない。そのため、野菜の取引先は北部ハノイ市近郊に限定されるが、果物は南部の産地とも取引がある。

すべての取引先から、朝 4 時までには自社の配送センター（ハノイ市内）に届くよう発注をかけている。積極的な生産者支援と開拓を行っており、取引先となる一部の農協に対して資本出資、新しい技術の移転などを行っている。

iii) 販売

1 号店である Nguyễn Công Trứ 店では、客単価はおよそ 250,000VND (≒ 1500 円)/人で、1 日当たり 250～300 人の来客がある。Face Book や Zalo 等、ソーシャル・メディアを通したマーケティング、販売も行っている。店舗ごとにアカウントがあり、Nguyễn Công Trứ 店では売上全体の 25～30% がソーシャル・マーケティングによるものだという。この店舗の客層は、35 歳くらい～高齢者が多く、若年層は少ない。若年層が多く居住する新興住宅街棟では、売り上げの半分程度がオンラインによる場合もある。

3) 有機農産物生産者の実態

Hà Nội 市の近郊農村及び近郊山岳地域では、急速に有機農業が展開している。慣行農業を行っていた農家が移行する場合もあるが、新規参入者も増加している。今回は、ハノイ市郊外の Phúc Thọ 県（市内中心部から 40km、車で 1 時間程度）の Gen Xanh Farm の事例を提示する。

i) Gen Xanh Farm の概要

Gen Xanh Farm は、ベトナム農業科学院の研究者 4 名が中心となり、協同組合方式で設立した農場である。実際の経営、作業を行っているのは農場主の Nguyen Duc Chinh 氏と妻の Duyen 氏である。二人は、農業科学院で就業していた時に ADB のプロジェクトで有機農業を知り、関心を持っていた。2020 年に 2.5ha の土地を借り、仕事を辞めて本格的に農業を始めた。2.5ha の土地は、現地の人民委員会を通じて、地権者 50 人と直接交渉して借りている。2.5ha のうち、約 1ha は 5 年契約、残りは 10 年契約で、2 年ごとに借地料を支払う契約になっている。

ii) 農業生産

開始した当初、認証取得について政策的な補助があり、申請費用の自己負担がなかったため有機認証を取得したが、現在は延長申請していないため、公式的な認証は受けていない。

農場では葉物、果菜、根菜、花卉など様々な農産物を少量ずつ生産している。新しい生産技術に関する情報を積極的に取り入れている。始めた当初は生産が安定しなかったが、現在は ha あたり 25t 程度の収量が見込めるようになった。

近隣農村に居住している労働者を 13 名雇用している。日毎契約だが、ほとんどが長期間就業している人なので、支払いは月に 1 回にまとめている。平均すると 1 人当たり 4,500,000VND/月程度支払っている。

iii) 農産物販売

すべて小売販売で、ツールは Facebook（以下 FB）を利用している。販売用に作成したグループは口コミで会員数が増加し、現在は 5000 人の登録がある。小売店や学校給食など、大口の取引先とは取引をしていない。受発注は FB で行う。注文を集約し、週に 3 回、ハノイ市内で配送を担当している組合員の

ところに農産物を出荷する。配送担当者は、発注者ごとに小分けして配達を行っている。

取引している消費者は、大半がハノイ市内在住者で、以下の特徴がある。①経済的に余裕があり、②自身の健康について関心があり、③有機農産物に理解がある人。80%以上が25～45歳の女性である。

Gen Xanh Farm は、BBQ スペースや子供が遊べる場所を無料で提供しており、週末は多くの家族連れが訪れる。生産の現場を実際にみた消費者の方が、形状や虫食いなど農産物の見た目について寛容になるため、農場訪問を歓迎している。

4) 小括

ベトナムでは、農業生産環境の変化、消費者の嗜好と市場の変化だけでなく、対外政策や経済発展等様々な要因から有機農業に注目が集まっている。今回の調査結果から、ソーシャル・メディアを通じた取引が広く展開されており、ニッチ市場ではあるが、生産者と需要のある消費者が効率的につながっていることが確認できた。

有機農産物の生産・流通量は増加傾向にあると思われるが、生産者側は農産物市場の拡大を予測して、利益目的で参入している場合も多い。一方で、消費者側は自身の健康維持のための購入であり、有機農産物の販売／購入という市場取引以外で双方をつながけているものはほとんど見られなかった。しかし、一部の消費者は農場を訪れて頻繁に生産者と交流を行っており、環境や地域農業に関心を持つ生産者・消費者が増えれば、連携が進む可能性もある。

<フィリピン>

1) 2023 年度の調査内容

2023 年度のフィリピンに関する調査では、第1に、同国における農業生態と有機農業の展開、マニラ首都圏をはじめとする都市部の食生活の変容、フードシステムの近代化、アグロエコロジーなどに関する文献の収集と読解を進めた。

第2に、2023年8月27日～9月18日に実施した現地調査の中で、本研究に関わるジェネラルサーベイと調査先の開拓に取り組んだ。後者の現地調査では、マニラ首都圏とパンガシナン州の都市部において、主要モールやスーパーマーケットをめぐり、有機農産物の販売状況を把握した。また、いまのフィリピンで唯一、地域支援型農業（CSA）を明確に掲げて実践する、マニラ首都圏の活動団体 Good Food Community にインタビューと参与観察を実施した。これらに加えて、パンガシナン州で有機農業に取り組む農業職業訓練施設の農園を視察し、その農家にヒアリングを行った。

第3に2024年3月1日～18日に実施した調査では、有機農産物を扱うマニラ首都圏のグローサリーを網羅的に調査した。また、パンガシナン州の主要な有機農産物の商人から、コロナ禍以降のマニラ首都圏における有機農産物市場の状況について聞き取りを行った。さらに、有機農産物を含む野菜の生産が盛んなベンゲット州において、来年度の本調査に向けて、行政・NGO、有機農産物の集荷組織と関係を構築するとともに基礎情報を収集した。

2) 生産段階の動向

フィリピンでは、1960年代からの「緑の革命」を通じて、化学肥料・化学合成農薬などの近代的投入資材に基づく慣行農法が始まり普及した。中西（2023）によると、有機農業はこうした動きへの対抗運動として登場し、1980年代から農民、研究者、教会、NGOなどの取り組みによって活性化した。特にこの運動を主導したのは、農民とフィリピン大学ロスバニョス校の研究者が組織した「農業発展のため

の農民と科学者」(MASIPAG)である。このグループが中心となり多様な主体と連携することで、農民主導の有機農業運動が全国に広がったのである。例えば、有機農業の先進地として、ネグロス州における「砂糖の島から有機農業の島」への転換の取り組みは有名であり、これを対象に詳細な事例研究も進められてきた(下口 2015; 中西 2020)。

一方、政府機関は 1990 年代末から有機農業振興政策を積極的に進め、国際 NGO の国際有機農業運動連盟(IFOAM)や MASIPAG とともに連携しながら、有機農産物の規格策定や第三者認証制度の創設、専門委員会の設置を図ってきた。生駒(2022)によると、こうした政策の下でフィリピンの有機認証農地は 2005 年の 3,500ha から、2017 年には全農地の 1.6%にあたる約 20 万 ha まで拡大した。ただし、振興政策の眼目は、アグリビジネス企業が海外市場で需要の高まる有機農産物を輸出できるようにすること、また国内市場でも主にマニラ首都圏の富裕層をターゲットとした販売を可能にすることにあった。そのため、認証農地の大半は農民の農地ではなく、アグリビジネス企業が所有する農地であるという。中西(2023)は、農民にとって第三者認証は、ペーパーワークの多さ、認証に関わる費用の高さや審査時間の長さが大きな負担となり、有機農業発展の桎梏となっているとして、現在普及しつつある参加型有機認証制度を重視している。

以上のように、フィリピンの有機農業は、農民主導の運動が振興政策の形成に影響を与えてきたとは言え、アグリビジネス企業によるものと農民によるものに二分され、あるいはそのように論じられてきた。そうした議論において、暗黙のうちに、前者は利潤目的、後者は「緑の革命」など慣行農法への対抗運動と位置づけられてきたようにみえる。しかしながら、後述するポストコロナの有機農産物の需要と生産の拡大局面では、利潤目的で農民が有機農業に参入していることも十分に想定できる。また、パンガシナン州の上記農園でのインタビューからは、農薬散布が通常より少ない(月に 2、3 回)という程度でも、高値の販売を狙って自己認証で「有機農業」を標榜している事例があることが判明した。こうした現場での有機農業の捉え方や具体的な実践については、管見の限り十分に論じられていない。ポストコロナの段階において利潤目的の参入が増える中、そうした環境面での持続可能性が高くない実践がまん延するおそれもあり、実態の解明が求められる。

3) 小売・消費段階の動向

今日のフィリピンは、海外出稼ぎ・送金、BTO 産業、ギグエコノミーの拡大などにより、アジアの中でも著しい成長をとげ、中間層が台頭している。こうした中で、消費者の食生活は豊かになり、食品安全や健康への意識の高まりから有機農産物の購入も増加していることが推測される。例えば、ノコン・藤本(2006)は 2002~2003 年時点の調査から、有機野菜は消費者の関心が高いものの、購買力を持つ消費者に限られることを指摘した。ここからは、今日の国民所得の上昇、さらに人口増加によって、有機農産物の国内市場が大きく拡大していることが示唆される。加えて、その主要な売り場となるスーパーマーケットを抱えるモールは、経済成長のもと、マニラ首都圏で増加・高級化し、地方でも急激に普及している。

上記の Good Food Community や有機商人へのインタビューによると、コロナ禍を経て有機農産物の販売が定着したという。マニラ首都圏で調査したいずれのモールのスーパーマーケットでも、“organic”や“naturally grown”などのラベルが貼られた野菜が販売されていたり、有機野菜専用の販売コーナーが設けられていたりした。特にマカティやボニファシオグローバルシティの中心業務地区に並ぶ高級モールでは、そうしたコーナーや品揃えが充実し、パック詰めされた有機のカット野菜も多くみられた。また、ほとんどのスーパーマーケットでは野菜の種子が販売されており、健康的な食生活への意識の高まりか

ら、プランター栽培を含む家庭菜園が浸透していることが伺えたことも付言したい。都市農業は、マニラ首都圏でコミュニティーガーデンが開設されるなど（Saguin 2023）、市民・行政の間で注目されているのである。

しかしながら、スーパーマーケットで販売される有機野菜の多くは、アグリビジネス企業の自己認証や、小売業者のプライベートブランドにあたるものであり、実際にどの程度代替的な栽培がなされているのかは不明であった。またパンガシナン州で訪れた主要都市のダグパン市、サンカルロス市、カラシャオ町では、モールのスーパーマーケットにおいて有機野菜の販売は確認できなかった。地方のスーパーマーケットでは、野菜の売り場面積自体が小さく、品揃えも乏しい傾向がみられた。ただし、地方ではスーパーマーケットの利用が大都市圏に比べて少なく、野菜を公設市場で購入する人口や、キッチンガーデンから得る農村人口も多いと考えられる。

一方、有機野菜を販売するグローサリーはマニラ首都圏に集中している。調査を通じて 11 店が確認でき、1 社が 3 店、2 社が 2 店、4 社が 1 店を経営していた（ほかにドラッグストアに近い業態で健康食品を販売するチェーン H が 23 店を展開）。その多くはマニラ首都圏内でも平均世帯所得が高い地区と、3 つの中心業務地区に立地し、より店賃が高いと考えられる路面店はほとんどがそうした地区にあった。これら店舗における有機野菜の販売の開始時期をみると、ほとんどの店舗が 2010 年代以降であり、4 店は有機農産物の需要が拡大したコロナ禍以降に取り扱いを始めていた。

これらグローサリーの特徴として、スーパーマーケットに比べて店舗のデザインや商品のディスプレイが凝っており、健康や環境・社会への配慮を謳う食品や、高級食材を中心に扱っている傾向が認められた。有機野菜に関しては、多くは少数の固定的な生産者から調達されており、スーパーマーケット違って生産者の独自の包装が用いられていたり、ラベルに生産者の名前が示されていたりした。第三者認証ラベルの利用はみられず、信頼に基づく「顔の見える関係」が築かれていた。ただし、その中心は生産者と小売店、小売店と消費者の間の信頼関係であり、生産者と消費者の間でそうした関係がどの程度形成されているかは不明である。

総じて、現地調査を通じて、マニラ首都圏と周辺地方都市との間で、有機農産物の販売状況の違いが確認できた。しかし地方でも経済成長やモールの新設が著しく進んでいることから、スーパーマーケットでの有機農産物の取扱が普及していくことも予想される。また有機農業運動が盛んな地域では、有機農産物の独自の小売網が運動関係者によって築かれていることが報告されており（中西 2020）、パンガシナン州の有機農家へのインタビューでは、公設市場の商人が有機野菜を扱っていることも確認できた。これらに加えて、現在、フィリピンではインターネットや SNS を通じた食品販売が拡大しており、有機農産物でもそうした販路の利用は盛んである。来年度以降の調査では、こうした有機農産物の販売状況を一層把握していくことが必要である。

さらに、マニラ首都圏の食生活の実態についても、配票調査と統計分析から解明することが求められる。フィリピンの地域研究では、Tafoya（2023）が食品企業によって高度に加工された食品に依存する都市貧困層の食生活の実態を解明し、新機軸の研究として注目されているが、こうした状況は他の階層にも一定程度当てはまる可能性がある。例えば、一人あたり青果物の消費量は品目ごとにみると、必ずしも増加傾向にあるとは言えないのである。

4) CSA 団体の事例

管見の限り、フィリピンにおいて CSA の名称と概念を明確に打ち出した産消間の連帯は、2013 年の巨大台風被害からの復興時にみられた「フィリピン CSA ネットワーク」（PCSAN）と、現在も活動する

Good Food Community による取り組みに限られる。両者ともフィリピンでは新しい CSA の理念に則って活動を行う団体として、国内外のメディアで取り上げられてきた。

このうち、本研究で対象とする Good Food Community は 2011 年に創設された CSA 団体であり、マニラ首都圏の中心部に拠点を置き、ここで毎週木曜日に定期購入者に有機野菜の受け渡しをしている。調査時点で定期購入者は約 70 名あり、これには一般的に有機農産物の購入者に多い富裕層だけでなく、活動に理解のある教員や運動家など非富裕層も含まれる点が特徴と言える。

同団体はルソン島北部の高地の小規模生産者を組織して、野菜の供給を得てきた。生産者の多くは女性であり、彼女らはキッチンガーデンなどで自給向けに混作栽培した野菜を販売している。買取価格は生産者に有利な額が設定されており、固定価格であるため天候などに左右されることはない。たいていの場合、販売の儲けは世帯の補助的収入であり、生計の中心は夫の慣行農業にあるという。

団体の代表は、現在の有機農業の趨勢について、コロナ禍によって健康への心配から普及が進んだが、スーパーマーケットで販売されている有機野菜は大企業のモノカルチャーに基づくものとして評価しない。政府機関や地方行政の有機農業振興政策についても、団体には支援がなく影響がない、彼らはキャピタリストで大企業を支援しているのだらうと非難していた。

以上のように、Good Food Community は有機農産物をめぐる産消の連帯として、ラディカルな活動を行ってきた。これについて来年度以降の調査では、様々なアクターとの関係を捉えた上で、フィリピンの社会運動に照らして考察する。さらに生産者、定期購入者との関係や協同の取り組みについて、より詳細に把握していく必要がある。

<インドネシア>

1) インドネシアにおける安全／有機野菜生産・流通展開の背景

インドネシアの首都ジャカルタ（南緯 6 度）は、通年気温が高いが、熱帯モンスーン気候で 6～10 月の乾季と 11～5 月の雨季に分かれる。首都ジャカルタ特別州とその近隣の地区は通称 Jabodetabek と呼ばれ、ジャカルタ首都圏と位置付けられる。ジャカルタ、ボゴール、デポック、タンゲラン、プカシの地区からなり（図 1）、東京に次いで世界第 2 位、3000 万人の人口を擁する。近年経済発展が著しく、首都ジャカルタ特別州の最低賃金は月額 490 万 1,798 ルピア（約 4 万 4,116 円、1 ルピア＝約 0.009 円。2022 年比 5.6%増、JETRO 2022 年 12 月 01 日付）であるが、周辺にいくほど低くなり、ボゴール市ではおおむね 6 割程度である。

有機農業を行う農場はバリ島を中心に以前から存在していたが（Putro & Miyaura 2020）、ジャカルタ首都圏近郊ではほとんど聞かれなかった。2020 年から始まるパンデミックによる社会変化に伴い、消費者の健康志向の高まりと流通・デリバリーシステムの転換により近年急速に健康食品や有機農産物を取り扱う店舗が増加している。

2023 年 8 月 10 日～23 日にかけて実施した現地調査では、図 2 に示した通り、ジャカルタ首都圏（標高 10～30m）とボゴール市（標高約 250m）、農村としてのボゴール県 Petir 村（標高約 400m）とチアンジュール県チパナス郡（標高 1000～1600m）の 4 か所において、農産物の生産、流通、販売にかかる観察と聞き取りを行った。調査には、本学卒業生の IPB 大学 School of Business の Dr. Siti Jahroh の協力を得た。

2) ジャカルタ首都圏における有機農産物販売の状況

ジャカルタ首都圏における有機農産物販売の状況把握のため、インターネットで “organik, sayur organik



図1 ジャカルタ首都圏（Jabodetabek）の位置

<https://en.m.wikipedia.org/wiki/File:Jabodetabek.svg#/media/File%3AJabodetabek-label.svg>

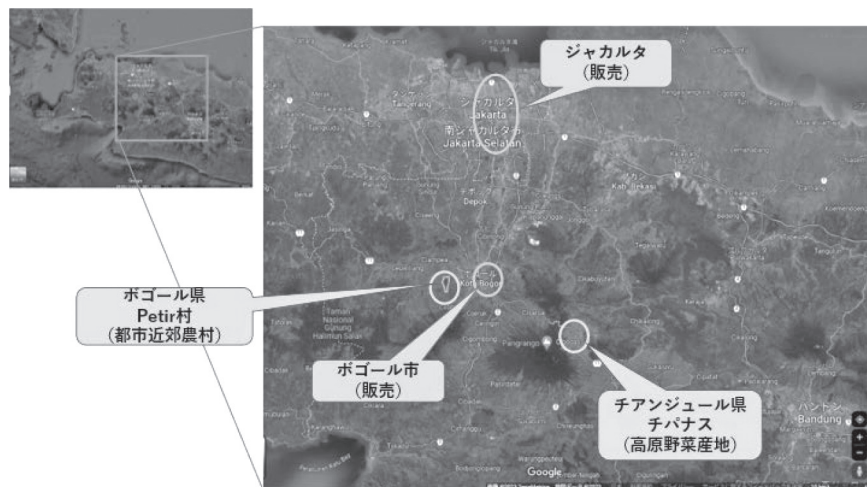


図2 2023年8月の実態調査対象地

“produk organik” のキーワードで検索したところ、複数の有機農産物の販売拠点を抽出することができた。自家農場をもち有機野菜を中心とした販売店舗をもつ Sayur Kendal、2022年に新たにオープンした近代的な高級有機自然食品店 Growell、Now Market (Natural organic wholefoods)、ネット販売の集荷場 Lojin Organic Center (Internet shop/online) および米を中心とした有機加工食品 Organik Market の店舗を訪問し、聞き取り調査を行った。ここでは、Sayur Kendal の事例のみ報告する。

メンテン地区に実店舗を構える Sayur Kendal は、有機野菜を中心とした青果物の販売とともにパッキング拠点として機能している（図3、4）。カフェと屋上水耕栽培菜園を併設しており、ネット販売も手掛けている。デボックにある農場 Nara kupu Village で生産された野菜の品目は豊富で、サラダセットや野菜炒めセットなどすぐに調理できるような形態にしたサービスや誕生日プレゼントセットなど日常の販売以外にも力を入れている。野菜の冷蔵、パッキングが衛生的に行われており、定期的に野菜セットを購入する顧客が多いことが分かった。

つぎに、ボゴール市内のスーパーマーケットチェーン “Farmers market” における有機農産物の販売実態を調査した。一般的な野菜の陳列棚の中に、有機農産物やそれに準ずる「健康」をアピールするラベルが貼られた商品が多数存在した。「Organik Indonesia」はインドネシアの認証であるが、ほかにも「Living organic Indonesia」「C Dorry organic」「Farmers organic」などが確認できた（図5）。ただし、聞き取りによると消費者はラベルに対して高い信頼を寄せてはおらず、ただのマーク程度の認識である場合もあることがわかった。



図3 ジャカルタの有機農産物の販売店 Sayur Kendal の店内の様子と販売物



図4 ジャカルタの有機農産物の販売店 Sayur Kendal に併設されたカフェとデリ



図5 ボゴール市内のスーパーマーケットで陳列されていた有機農産物とそのラベル
左から鶏肉、有機香り米、有機米、有機野菜

3) 高地野菜作地帯における有機農産物生産の状況

ジャカルタから100km程南東方向にはチパナスという高地野菜作地帯が広がる。オランダ植民地時代に温帯野菜が導入されたインドネシアで最も広大で歴史のある野菜作地帯である。若者の農業研修事業を行いながら有機野菜を生産している Okiagaru Farm で聞き取り調査を行ったところ、チパナス周辺では Living Organic、YUM Organic、Pasir Sarronge の Yayasan、PT Puncak Lestari、PT. Yoshi、Sukabumi など、

複数の小規模有機野菜生産農場があることが明らかになった。まだ、有機農産物の供給量が十分でないため、ジャカルタからオーダーを受けたときに自分の農場で賄いきれない場合がよくあるという。そのような場合、地域の農場が互いに融通をきかせてオーダー量をそろえるという生産者同士の連帯とみなせるような事象を確認することができた。

Okiagaru Farm は、ジャカルタへの中間地点に存する IPB 大学の Agribusiness and Technology Park が運営する有機農産物の集荷場へ出荷していた。IPB 大学を訪問すると、Yogya や Hero、Farmers market といった大手スーパーマーケットをはじめ、All Fresh, Sayur box など多くの企業と契約し農産物の出荷機能とともに、大学内の有機栽培温室（網室）での生産も行っていた。今後は直売所を開設する計画もあるということで、大学が有機野菜を含む農産物の流通拠点としての機能を展開させていることが明らかになった。

4) 農村における食と農

つぎに、農村地域に居住する消費者の食と農とのつながりを明らかにするための調査を行った。住まいの周りには農地が広がり、都市部へのアクセスが乏しい地域では、毎日の食材を屋敷地で栽培することが可能であり、または地域の農民と生産物を交換で賄うことができるのではないかと考えたからである。そこで、ボゴール県プティール村に在住する 22 歳から 46 歳の 5 名の女性に対し、8 月 12 日から 18 日までの 1 週間、毎日の食事メニューと材料を記録し、写真撮影を依頼した（図 6）。その結果、食事は 1 日 3 回とるが、調理は 1 日 1 回、昼間に行い、朝食と夕食は近所の商店にやってくる出前持ちでお粥、ソバ、焼きそばなどを購入する頻度が高いことが分かった（表 2）。また、調理に必要な食材や調味料の調達方法を表 3 に示した。周辺の畑での収穫物は 0～3% と極めて少なく、95～98% の材料が購入されていた。サンプルが 5 人と少ないが、農村においても若い世帯では購買行動が日常の中で常態化しており、食の外部依存が高い割合で認められた。

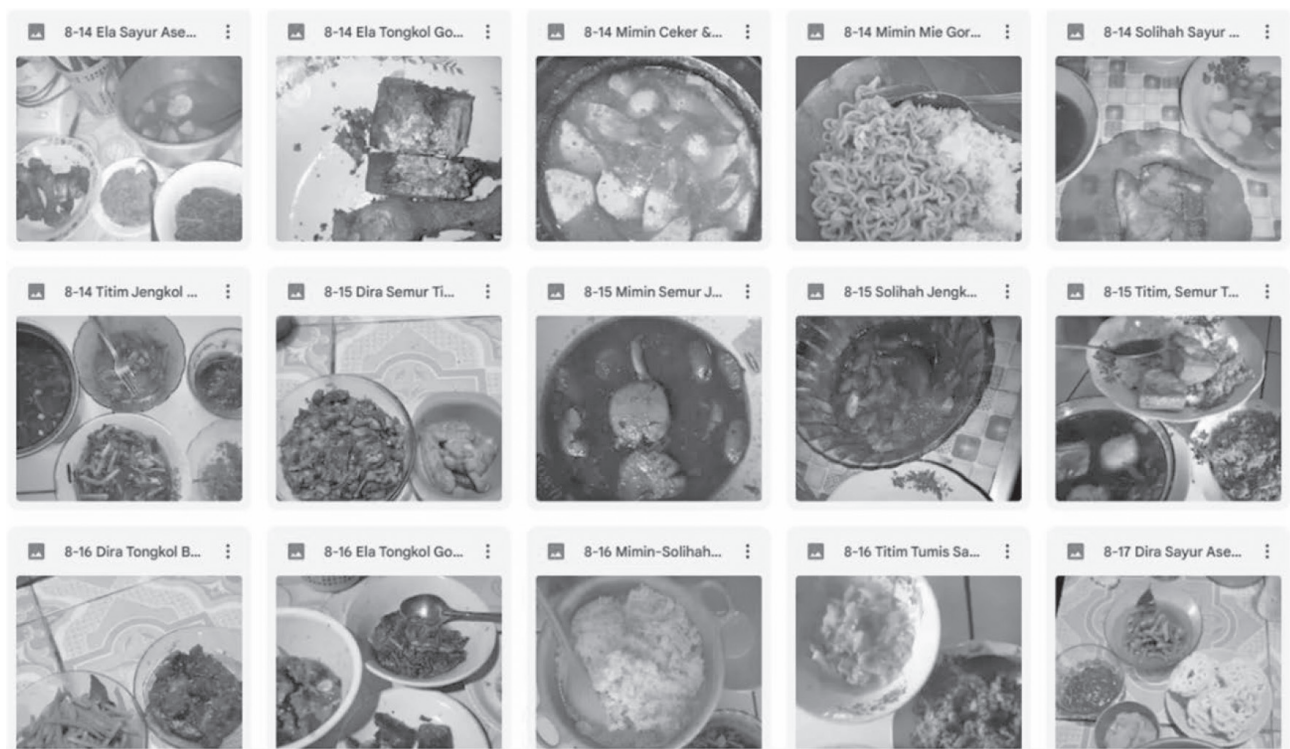


図 6 ボゴール県プティール村の女性 5 人による日々の料理の記録

表2 日々の調理に必要な食材の調達方法と頻度

		Dira			Mimin			Ela			Titim			Solihah			日合計
		購入	もらう	収穫	購入	もらう	収穫	購入	もらう	収穫	購入	もらう	収穫	購入	もらう	収穫	
8月12日	土	11			11			20			14			16			72
8月13日	日	16			15			20			17			11			79
8月14日	月	3			11	1		5		1	26	1		19			67
8月15日	火	12		1	14			24	1		13			12			77
8月16日	水	20			24	2	2	26	2		16	1		24	2	2	121
8月17日	木	15		1	12	2		24		2	11			15	1		83
8月18日	金	2			16		1	15			11			3			48
計		79	0	2	103	5	3	134	3	3	108	2	0	100	3	2	
割合		98%	0%	2%	93%	0%	3%	96%	0%	2%	98%	0%	0%	95%	0%	2%	

出所：2023年8月12日～18日の1週間の食事記録

5) 小括

インドネシアは、世界的パンデミックにより従来の社会システムから大きな転換期を迎えている。都市部では自家用車を購入できる中間層が増加し、移動に自家用車を用いることが以前より格段に増えたことで渋滞とともに大気汚染の問題が深刻化した。それに新型コロナウイルスの疾患に対する不安が加わり、安全な食や健康的な生活を求める傾向が高まった。スマートフォンの普及、ネット販売プラットフォームの拡充、解雇された人がバイクタクシーや個人タクシービジネスに転換したことで物流の簡便化が進行中である。日本の宅配システムが業者ではなく個人のドライバーによって簡便に利用でき、日常的な買い物から屋台の食事の配達までスマートフォンで安く委託できる。また、店舗を持たなくても見栄えの良いオーガニック食品のオンラインストアを構築してビジネス展開する動きも認められた。小さなスケールでの試行は、ロットの確保が難しいという弱点があるが、それらも生産者同士の相互扶助的ビジネススタイルにより補完しあい、生産者の「連帯」により消費者との連帯を根底で支える基盤を作りつつあることが分かった。今後、都市部ではさらに健康を支える安全な農産物の需要は増えるであろう。また、農村部では簡便な生活の浸透により、身近に食料資源が存在しながらそれを自給し食卓につなげるという行為が希薄になっていく恐れがある。地域の特性を生かした生産と消費の距離を縮めることは、持続可能なフードシステムへの転換レベル4で指摘されていることで（グリースマン2023）、農村地域における動向もさらなる調査が必要である。

<バングラデシュ>

1) バングラデシュにおける安全／有機野菜生産・流通展開の背景

バングラデシュは、インドの東側、ガンジス川、ブラマプトラ川及び、メグナ川の3つの大河川が形作る巨大なデルタの河口部に位置する。日本の約4割の国土（14万4千平方キロメートル）に、約1.8億人を抱える。同国では、繊維産業などの隆盛、都市の膨張とともに、農村部から都市部に出荷流通される農産物やその加工品への消費者の食の不安が深刻になっている。2004年、ダカ市役所が行った抜き打ちの市場調査では76%の食品が何らかの混ぜ物をされていたとの報告がある。フォルマリンやメラミンなどの人体に害を及ぼすような薬品が保存や発色を良くするためだけに広く使用されてきた。このような状況を受け、同国政府は2013年に食品安全法を制定し、2015年には食品安全庁（BFSA）を設立したが、中央政府と地方政府の連携不足、検査手法の不備、食品事業者や一般市民への不十分な啓発活

動等の課題に直面している。

他方、稠密な人口を養い、貧困緩和の目的から、政府は都市における農業を推進している。1996 年から 16 年ぶりに改訂された 2012 年の農業普及計画では、都市農業の推進が明示され、あらゆる休耕地、道路脇、高層ビルの屋上などでの栽培を推進し、食料の需要に対応していくことがうたわれている。

有機農業については、まだその取り組みは本格的ではない。まずは国民に十分な量の食料を提供することが政府にとっては最重要であり、官民のドナーの支援（圧力）のもと「緑の革命」は強力に進められてきた。広大なデルタに位置する同国は雨季における氾濫水を用いた天水の稲作が中心であったが、現在では乾季に灌漑、肥料、農薬、購入した改良種子（ハイブリッドがかなり広がってきている）を用いた稲作のほうが面積として凌駕してきている。同国では、有機農業は NGO により推進されてきたが、その広がりはかなり限定的である。民間では、Kazi&Kazi の紅茶などあるが、こちらも限定的である。

2) 首都ダカにおける有機農産物の現状と“有機食品”を扱う小売店の現状—Green corner

バングラデシュの農産物を取り扱う場は、伝統的な wet market や青果店、路上の引き売りなどのほかに、近代的なスーパーマーケットも急速に増えているが、オーガニック商品については、米や紅茶など、その種類はまだ限定的であった。また、宅配サービスは急速に成長しており、マンゴーの季節になると「有機」をうたったサイトが乱立するというが、その真偽は定かではない。

次に、Google Map より organic を冠する店舗を検索し、2023 年 8 月に訪問した（図 7）。map 上には書かれていても実際には存在しない店舗も多く、結果的に 2 つの店舗が営業していた。その一つの店舗である Green Corner は有機食品というよりは、伝統的な製法で作られた食品を販売しており、またインド亜大陸での伝統的な医療であるアーユルヴェーダ関連の食品を多く扱っていた。官庁街の近くに立地し、2020 年に開店した。オーガニックな穀類・スパイス・糖蜜・豆類、アーユルベータ的な食品・薬を販売しており、基本的に保存がきくものである。店主はジュート工場を経営していたが、コロナ禍の時に「ナチュラルなもの」への消費者の関心が非常に高まり、自分も伝手をたどって手に入れることにより、入手先を確保できるようになっていた。ミャンマー近くの丘陵地域は無農薬無施肥の焼き畑農業をやっているの、そこから主に伝統的な農法や加工法で作ったものを直接に扱っていることであった。ちょうど商品を買求めに来ていた女性がいたが、同店で買い物をする理由は安心なもの入手できるから、とのことであった。もう一店（Amar）は官庁街の近くにある、Green Corner と同じような商品構成であり、同業者として協力しあっているとのことであったが、同店ではかなり古い商品が並んだままであるようである。Green Corner も、この店舗からの売り上げはあまり芳しくはないようであった。

Green Corner の店主は、国内の各所から「伝統的な食材」を買求めてきたが、そこでバングラデシュでの有機農業は、施肥や農薬散布をする必要がない、あるいはしても意味がないような地区で”残存”する形であることを見出したという。それは具体的には、巨大なデルタであるという水文環境から、①その周縁の丘陵部のシフティングカルティベーションをしているところ（前述）、②チョールと呼ばれる河原、氾濫原の最前線に位置するところで、毎年土砂が崩れ、新しい中州が生成されるので、化成肥料を与えてももったいないところ（また肥沃でもある）、③ハオールと呼ばれる氾濫湖である。水浸しになるので化成肥料を与えても無駄ということで、大変興味深い知見であった。

3) 地方都市での「安全な食」の入手先

地方都市では、「安全な食」を掲げた店舗はまだほとんどみない。首都ダカから車で 2 時間ほどのマイメンシンでは、中心街のはずれの場所に Ekti Shomobay Uddog という店舗をみつけた。

同店は、信頼できる乳製品を共同購入するグループから始まり、現在は農産物全般に広げようとしている。店舗の看板には、「安全で無毒な国産の季節の果物が手に入る場所」と書かれている。8人ほどで運営し利益を分配している。生産者は10人ほどで、穀類、豆類、はちみつ、お茶などがメインであり、果物や青果はその時手に入るものという感じである。堆肥も販売していた。実店舗のほか、オンラインもやっている。利用客は徐々に増えてきているということではあるが、一日に5-7人程度と少ない。

一方マイメンシンには国立の農業大学がある。農業大学の教員やスタッフは当然ながら安全な食には関心が高く、信頼できる生産者から良質な農産物が手に入るという情報はすぐに広がり、あっという間にスタッフの間で売り切れるという。

また、バングラデシュの村はあちこちで定期市（ハット）が開かれ、近隣生産者たちが自分の生産物を売りにくる。地方都市に住む人は、そのような近隣のハットに出向いて買い物をする人も多い。

4) 有機農業を推進する NGO への聞き取りから

i) Mati

洪水常習地域であるシェルプール県の農村で有機農業を進めている。具体的にはバーミコンポスト（ミミズ堆肥）、液肥づくり、在来種子バンクなどである。地域の精農が「液肥はすごい」と評価したことにより、地域の人たちも耳を傾け始めるようになってきたという。その一方で、ハイブリッド稲の災害への強さを地域の人々は評価しており、在来種を維持するというもう一つの目標の達成は難しい状況である。しかし改良品種やハイブリッド稲は地力を著しく奪うため、地力回復のための有機資源の投入の必要性は高まっている。

また、あえて「有機農業」とは呼ばないが、女性たちが家族の食材（余剰は販売）のために栽培する伝統的な野菜（ウリ類）には化学肥料は絶対与えない。「身が崩れてしまう、おいしくなくなる」ためである。これらの野菜は、おかず、という意味の「トルカリ」と呼ばれ、女性が屋敷地やその周辺で栽培している。他方、「ショブジ」と呼ばれる野菜は、新たに導入された外来の野菜（キャベツ、カリフラワーなど）であり、主に男性が耕地で生産、販売する。

ii) Society for Social Service.

同 NGO はタンガイルを中心にさまざまな社会開発のプログラムを実践しており、農業プログラムの中で、ミミズによるバーミコンポストの普及に取り組んでいる。都市住民の家庭菜園が全国的に盛んになっているため、その肥料としての堆肥への需要は高い。

5) 都市から農業に向きあう人：マイメンシンの Ekti Shomobay Uddog に果物を出荷する農園への聞き取り（Kishan Somonit Krish Udyog）

同農園は、バングラデシュの最高峰であるダカ大を卒業後、広告業界で20年近く働いていた男性が2013年から始めた。親戚がマンゴーを食べて口の周りが変になったのを見て、食への不安を強く感じたからであるという。稲3エーカー、果樹園5エーカーと養殖池を経営している。野菜は手が回らずやめた。農地は少数民族の住む丘陵地域にあり、すべて借地である。スタッフは10-12人を雇用している。

9割くらいはオーガニックでやっている。100%有機にするには、良いオーガニックの薬剤がみつからないので難しい。薬は極力抑え、手で除草しており、その分手間がかかる。丘陵地域で湛水しないで土が更新されないためか水田は地力が弱いと感じる。ハイブリッド種を使っていることもあるかもしれないとのことであった。オーガニックよりはニラポッタ（「安全」）という視点からやっていきたい。有機に関する技術は、例えば肥料づくりについては、ネットで日本のぼかし肥の作り方を見て学んだという。

			
伝統的な wet market	屋上の家庭菜園	「安全な食品」を販売する Green hat	「安全な食品」を販売する Ekti Shomobay Uddog
			
バーミコンポスト (Mati)	女性が伝統的に有機栽培 するウリ科の野菜	バーミコンポスト製造販売 で成功した女性 (SSS)	都市のディレクターを やめて農園を開いた男性

図7 バングラデシュで認められた生産と流通の取り組み事例

販売はFBでの顧客が250人くらいである。割高になると買ってくれないので市場と同じ程度の値段で販売する。注文を受けて宅配するが、代金をちゃんと支払わないような人もいる。農園経営はかなり厳しいようであったが、社会的責任の意識から経営を続けているように思われた。

首都ダカでは、2022年からパイロットプロジェクトとして、ファーマーズマーケットが現在は16か所開催されるようになっている。上述のように定期市はバングラデシュでは非常に身近なものであり、生産者と都市消費者がつながる場として、今後の展開が興味深い。

6) 小括

バングラデシュでは、有害な添加物が蔓延しているため食の不安が深刻であり食への消費者の関心は高い。しかし「有機」よりは、まずは「安全な食」が求められている。また食糧増産の圧力（および官民のドナー機関の圧力？）からの政府の強力な近代技術の推進もあり、有機農業はマージナルな存在に置かれている。バングラデシュでは、有機農業は同国の特徴的な水文環境と結びついた形で部分的に残存しているようであった。しかし近代農業による地力の低下などの問題が顕在化しており、それ以外の地域でも、有機資源の投入など部分的に採用されていく可能性は高いだろう。堆肥は、家庭菜園の隆盛から都市住民からのニーズもある。安全な食の供給や有機農業の取り組みはあるが、小規模でそれぞれが孤立している感があり、ごく一部の企業をのぞき、安定的なビジネスにはまだ展開できていない。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特になし

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

今年度は、対象とする4か国の現地実態調査を行い、ポストコロナにおける各国の変化を多角的にと

らえることができた。また議論を重ねて配票調査票を作成したうえで実施に至ることができたが、分析の段階までは至らなかった。そこで、収集したデータを現地実態調査結果に基づいて詳細に解析する作業が残っている。また、当初予定していたが十分に取り組むことができなかった日本国内の提携や CSA の取り組み事例調査を実施する予定である。これらの調査・分析からもなお不足する対象国における農家の意識（事例地域でのインタビュー、自給用・出荷用の生産物の量的調査による「食料主権」や「食の正義」にかかわる実態把握）ならびに生産者と消費者の連帯の現状について詳細な調査を行う。またその背景となる社会構造・政治経済形態、都市の発展と都市農村関係、農政・食品安全行政にかかわるデータを収集する。

さらに、国際学会・学術誌で本年度の研究成果の発表を進めていく。現時点で、フィリピンについては中窪が 2024 年 7 月 28 日～8 月 1 日にスラバヤ（インドネシア）で開催される第 13 回国際アジア研究者会議（ICAS 13）のパネルセッションに登壇予定である。このセッションは、題目が“Politics of Environment in the Philippines”であり、広い意味で人間 - 環境関係を研究してきた若手の地域研究者らとともに、事例に基づいて伝統的なテーマを再訪しようとするものである（表 3）。バングラデシュについては吉野が 9 月 7～9 日に京都で開催される Asian Rural Sociology Association の大会で発表予定である。ベトナムとインドネシアについては、それぞれ高梨子および宮浦が、11 月 8～10 日に東京農業大学で開催される東南アジア国際農学会 /ISSAAS（第 136 回熱帯農業学会講演会と共催）で発表予定である。

表 3 ICAS 13 パネルセッション “Politics of Environment in the Philippines” の概要

パネリスト	発 表 題 目
芝宮尚樹（東京大・院）	Multiscale Struggles with Surroundings of Youth Climate Activists in the Philippines: From Conservative Parents to Global Environmental Concerns
白石奈津子（大阪大）	Changes in the Continuities: <i>Baha</i> in the Ecology of Inter-ethnic Relationship
飯田悠哉（愛媛大・研究員）	Biodiversity Conservation for Whom and for What? Historical Backdrop of “Green Counterinsurgency” in the Western Visayas
中窪啓介（東京農業大）	Can “Solidarity” Create Emergence in Food Systems? Producer-Consumer Relationships on Agroecology in the Post-COVID Philippines

10. 公表した成果一覧

著書

- 1) スティーヴン・グリースマン著村本穰司・日鷹一雅・宮浦理恵監訳（2023）『アグロエコロジー：持続可能なフードシステムの生態学』農文協 pp.512
- 2) 中窪啓介「東南アジアの農業生態」（2024）吉野馨子・高梨子文恵『地域の社会と経済を学ぶ』筑波書房、pp.155-171

学術論文

- 1) 高梨子文恵・吉野馨子（2023）「第三者の仲介者を置く CSA における運営のありかたと産消間の関係の近接性に関する一考察」『農村研究』第 137 号 pp.11-19

学会・研究会発表

- 1) 宮浦理恵 (2023)「アジアの食農の理解にアグロエコロジーの視点をー『アグロエコロジー：持続可能なフードシステムの生態学』の発刊に寄せて」日本有機農業学会第 24 回大会 特別セッション「未来を切り拓くアグロエコロジー：持続可能な食農システムへの挑戦」報告 (2023 年 12 月 10 日 於摂南大学)
- 2) 宮浦理恵 (2023)「フィールド研究とアグロエコロジー」公開セミナー「アグロエコロジーって何？」報告 (2023 年 12 月 13 日 於東京農業大学国際センター)
- 3) 宮浦理恵 (2023)「食の外部化による雑草食消滅の危機ーインドネシア・西ジャワ州農村における事例ー」日本雑草学会学術研究部会・小規模農業における雑草の利用管理研究会研究集会報告 (2023 年 12 月 16 日 Zoom)
- 4) 宮浦理恵 (2024)「アジア的食農文化とアグロエコロジー」第 71 回日本生態学会シンポジウム「アグロエコロジーの発展的展望」報告 (2024 年 3 月 19 日 於横浜国立大学)

2023年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 菊野 日出彦

1. 研究課題名および予算額

研究課題名	研究領域 (キーワード)
農大研究アイランドホッピング —在来希少作物の実装化、南西諸島を北から南へ—	①食の安全・②生物多様性・③持続可能な開発目標 SDGs 目標:2 (飢餓)・15 (陸上資源)・17 (実施手段)

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	菊野日出彦	国際食料情報学部 宮古亜熱帯農場・教授	総括・栽培（他研究者への材料の提供）・離島コーディネータ
研究分担者	谷岡 由梨	国際食料情報学部 国際食農科学科・准教授	ヤムイモの基本栄養成分分析・機能性成分・安全性の評価
	山内 淳	国際食料情報学部 国際食農科学科・教授	ヤムイモの基本栄養成分分析・機能性成分・安全性の評価
	古庄 律	国際食料情報学部 国際食農科学科・教授	ヤムイモの基本栄養成分分析・機能性成分・安全性の評価
	吉田 沙樹	農学部 生物資源開発学科・助教	ハマダイコンの生理生態の解析
	田中 啓介	東京情報大学 総合情報学部総合情報学科・准教授	ヤムイモのゲノム解析
	大野健太郎	香川大学・助教	亜熱帯島嶼地域におけるキウイフルーツ近縁自生種の適応性評価・シマキウイの選抜育成（選抜育種）
	別府 賢治	香川大学・教授	亜熱帯島嶼地域におけるキウイフルーツ近縁自生種の適応性評価・シマキウイの選抜育成（生理生態特性評価）
	片岡 郁雄	香川大学・(理事・副学長)	亜熱帯島嶼地域におけるキウイフルーツ近縁自生種の適応性評価・シマキウイの選抜育成（分担総括）

研究分担者	志和地弘信	国際食料情報学部 国際農業開発学科・教授	離島コーディネータ（渉外・ネットワーク構築）
	玉木 陸斗	東京農業大学 宮古亜熱帯農場・臨時雇職員	離島コーディネータ（フィールド調査全般補助・渉外・通訳）
	菊地 乙巴	国際食料情報学部 国際農業開発学科3年	研究補助（島キウイ課題）
	鈴木 祥子	国際食料農業科学研究科 国際食農科学専攻・博士前期課程1年	研究補助（ササゲ課題）

3. 研究期間

2023年6月7日～2024年3月31日（3年計画の1年目）

4. 研究の背景（当初）

本学は、北は北海道の網走寒冷地農場から南は南西諸島に位置する沖縄の宮古島に農場を有する。このような日本の最北から最南までを農学の実学研究領域とする大学は日本では本学のみであり、この宮古亜熱帯農場の利用価値は非常に高い。また本学のキャンパスは北海道のオホーツクキャンパスから東京の世田谷と神奈川の厚木にあり、学校法人としては千葉に東京情報大学もある。また、東京農業大学は国内外の大学と連携協定を結んでおり、香川大学も2020年に連携大学の一つとなっている。東京農業大学国際食料情報学部宮古亜熱帯農場は、南西諸島の農業に係る研究技術開発を対象分野として2023年3月に国立研究開発法人国際農林水産業研究センター熱帯・島嶼研究拠点（以下 JIRCAS 拠点）と沖縄

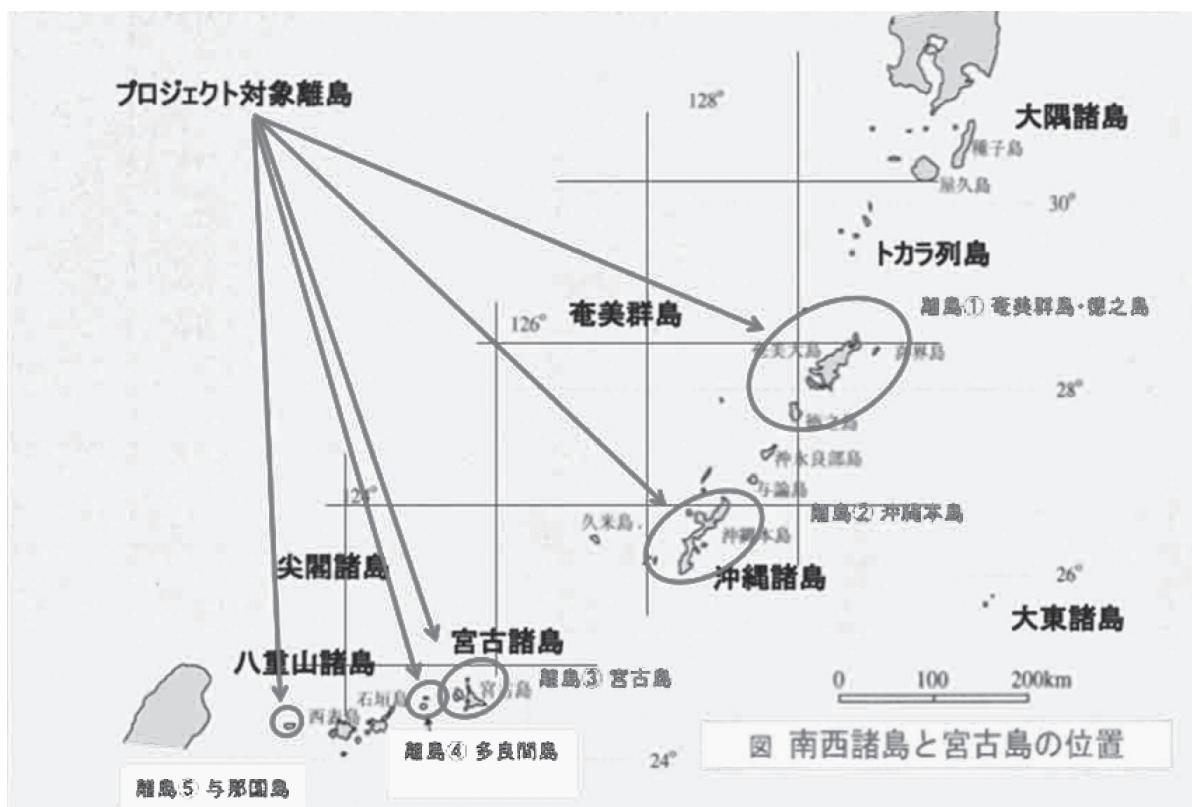


図1 プロジェクト対象の南西諸島内の離島

県農業研究センター（以下沖縄農研センター）との間に、温暖化等の気候変動に対応した南西諸島における環境保全と、熱帯作物の持続的かつ安定生産に寄与する実用化技術の開発を加速し、その成果の普及を促進するための研究連携協定を締結した。この締結により、今後宮古亜熱帯農場から出される研究成果は JIRCS 拠点や沖縄農研センターからも普及拡大することが期待される。

南西諸島は、北は鹿児島県南部の大隅諸島から南は八重山列島の与那国島まで連なる約 1,200km にわたって点在する島嶼群である。この南西諸島南部は亜熱帯に属し、熱帯・亜熱帯の作物が栽培され、まだまだ多くの未利用有用植物／作物が存在する。宮古亜熱帯農場には本格的な研究を実施すれば実装化が可能な以下 4 つの有用作物／植物遺伝資源（ヤムイモ・ハマダイコン・ササゲ・島キウイ）がある。

5. 研究目的

本研究は、この南西諸島の島々を北は奄美群島・徳之島から沖縄本島、宮古島、多良間島、そして日本最西端の与那国島まで、これらの島々にある有用作物／植物遺伝資源／新規作物（ヤムイモ・ハマダイコン・ササゲ・島キウイ）を 3 つの研究分野のアプローチ（①栽培学・作物生理学・分子遺伝学・②栄養や機能性分析化学・③普及）で、東京農大世田谷キャンパス、厚木キャンパス、そして東京情報大学や香川大学との連携で南西諸島に在来／野生として存在する遺伝資源を日本の食の中に実装化することを目的とする。

6. 研究（実験）方法

離島① 奄美群島・徳之島：ヤムイモ（ダイジョ）

宮古亜熱帯農場では沖縄県の伝統的な作物を再評価した中で、古くから沖縄で栽培されているダイジョ（ヤムイモの一種）に注目し、これを用いて糸満市の比嘉酒造に焼酎「天恵のしずく」（東京農大技術支援）の製造を依頼した。この焼酎は増産が期待された一方で、原料の確保や生産コストの高さが課題となっていた。そこで、世界各地から収集した 200 品種以上のヤムイモ（日本最大の遺伝資源）を宮古亜熱帯農場で栽培して、この地域の環境で収量性の高いダイジョ品種を選抜した。選抜したダイジョ品種は一株から 2～3kg のイモが収穫でき、10a 当たり 4～5 トンの収量が見込まれた。選抜品種は、収量だけならば沖縄の在来ダイジョとあまりかわらないが、選抜品種の最大の特徴はイモの皮が硬く、収穫しやすい丸形の形状であり、ジャガイモのように収穫が機械化できることにある。宮古亜熱帯農場では、農場の新たな収益源として焼酎原料用のヤムイモ生産を行うためにイモの収穫機械を導入し、選抜品種が機械で収穫できることを確認した。また、この品種は生食しても味が良く、イモの変色が少ない特徴を持つ。そこで商標登録を行い、「ぱり玉」として普及を開始し、宮古島では民間企業での生産が開始された。しかし、普及の過程でたびたび台風による被害が出た。そのため、原種種子（種芋）を安全に維持するためにぱり玉品種を奄美群島及び徳之島でも栽培することにした。本研究では生産者に対する聞き取り調査とアドバイス、各方面への仲介などを実施した。また、奄美大島ではダイジョ遺伝資源の収集も行った。

離島② 沖縄本島：ヤムイモ（トゲイモ／トゲドコロ）

トゲドコロ（*Dioscorea esculenta*：DE）は東南アジア、ベトナム、中国南部一帯で栽培され、塊根部分を食するヤマノイモ科の植物で日本では沖縄県が北限とされる。塊根部分には、運動機能の向上、加齢性の筋肉減少の抑制効果が明らかになっているジオスゲニン配糖体が含まれていることが報告されている。このメカニズムは、ジオスゲニン配糖体が細胞内の AMPK—PGC-1 α 経路の活性化によりエネルギー代

謝の亢進や筋委縮経路の抑制によるものと推察されている。また、AMPK 活性が上昇することで糖尿病における高血糖の改善も期待できる。これらのことから DE は、今後の高齢化社会を踏まえるとその利用価値は非常に高く、サルコペニア肥満（内蔵脂肪の蓄積）予防や高齢者向けの機能性食品、糖尿病の改善など、日本における公衆衛生学上の問題を解決するポテンシャルの高い食品であると言える。しかし、DE は傷つきやすく取り扱いが難しいため栽培が可能な沖縄地方でも生産量は少ないため、爆発的な消費拡大には至っていない。本研究では、加工についても視野に入れつつ、DE の栄養、機能性、安全性について評価を行い、沖縄県の農業振興に寄与したいと考えている。

研究の背景で述べたように、DE には糖尿病の血糖改善効果が期待できる。現在、日本における「糖尿病患者が強く疑われる者」および「糖尿病の可能性が否定できない者」の合計が国民の 6 人に 1 人の 2000 万人に上り、公衆衛生学上の重大な社会問題である。加齢とともに耐糖能は低下すること、また、運動量が低下することなどを考え合わせると、日本の糖尿病罹患率の増加の主因として高齢化の加速にあると考えられる。また、食の欧米化が進んだことで栄養改善が進み長寿になった一方で、脂質摂取量が増加したことも糖尿病罹患率増加の一因と考えられる。我々のグループでは、昨年度の先行研究において、DE には水溶性食物繊維が豊富に含まれ高粘性を示すこと。正常ラットへのグルコース負荷試験の結果、グルコース投与後 2 時間の血糖上昇をトゲドコロ摂取により顕著に抑制することを見出している。そこで本研究では、トゲドコロの機能性に着目し、*in vitro* においては DE より抽出した食物繊維のグルコース拡散阻害作用について明らかにし、*in vivo* で 2 型糖尿病ラットへの DE 投与が糖質代謝及び脂質代謝に及ぼす影響について明らかにすることとした。

【1. トゲドコロから抽出した食物繊維のグルコース拡散阻害作用】

実験には沖縄県宮古島市の「東京農業大学宮古亜熱帯農業研修センター」で 2022 年に収穫された DE、ヤムイモは 2023 年収穫の与那国島産を用いた。各試料の成分測定は日本食品成分表の分析マニュアルに準じて行った。DE の機能性を明らかにするために、食物繊維の抽出を行った。熱水抽出物の上清に 4 倍量の 98% エタノールを加え食物繊維を沈殿させ、3 日間透析し、凍結乾燥して得た乾燥物を以降の実験に使用した。食物繊維の血糖値上昇抑制効果を明らかにするためにグルコース拡散阻害装置を用いて実験を行った。本装置は、3 相をマイクロセルロースフィルターで仕切られており、A 相に純水、B 相には水または食物繊維 2% 溶液、C 相にグルコース 2% 溶液を入れた。B 相の純水をコントロールとし、食物繊維 2% および 4% 溶液で比較した。その後、37℃ の恒温槽中に静置し、A 相を攪拌（1,200rpm）し、開始から 30 分おきに A 相から 200 μ l ずつ試料を採取し、溶液中のグルコース濃度を GOPOD 法で測定し、食物繊維の影響を評価した。

【2. 2 型糖尿病及び食事誘導性 NASH モデル動物の病態に及ぼすトゲドコロ投与の影響】

実験には宮古亜熱帯農場で収穫された令和 5 年産 DE を用いた。試料を除皮・スライスしたものを凍結乾燥後にパワーミルで粉末化し、冷凍保存したものを適宜使用した。実験動物として、自然発症 2 型糖尿病モデルである GK ラット（8 週齢、雄、20 匹）を 4 群に分け、AIN76 飼料組成に準じた標準飼料（CD）とコリン欠乏・高脂肪・高フルクトースによる NASH 誘導飼料（PC）を調製し、それぞれに DE を 10% 添加した飼料（CDE、および HFDE）を給餌した。10 週間飼育後、下大静脈採血により脱血した後、肝臓、腹膜脂肪、腎周囲脂肪、精巣上体脂肪ならびに褐色脂肪を摘出した。血清については生化学的検査を行った。肝臓については、総脂質、中性脂肪、総コレステロール、TBARS の測定を行った。また、肝臓については組織病理学的解析を行った。

離島③ 宮古島：ヤムイモ（ダイジョ）・ササゲ・島キウイ

【ヤムイモ】

ヤムイモとはヤマノイモ属植物の食用種の総称である。主要なヤムイモは10種程度で、東南アジア起源のダイジョやトゲイモ、本州では温帯起源のナガイモやジネンジョなどがある。ヤムイモについては、宮古亜熱帯農場や国際農業開発学科の熱帯作物学研究室からその利用や普及を行っているが、生産農家や菓子メーカー（鹿児島のお菓子）、冷凍トロロなどの加工メーカー（シェア日本一）からはダイジョやトゲイモなど熱帯産ヤムイモの栄養・機能特性・安全性など消費者に伝えられる科学的エビデンスを伴った情報が販売促進のために必要不可欠であると言われている。遺伝資源の特性評価の一環として、与那国島のヤムイモ（未同定の幻のヤムイモ）を含め、他のダイジョ系統と合わせてゲノム解析による分類を行う。

【ササゲ】

AMPK (5'-adenosine monophosphate-activated protein kinase) は生体内のエネルギーセンサーとして機能する。エネルギーの枯渇によって AMPK が活性化し、主として脂質および糖代謝に関与する酵素タンパク質等をリン酸化し、正常な代謝系を維持する。先行研究によって、アフリカ東部、特にケニア共和国などで広く食されているササゲ葉部には AMPK を活性化する物質すなわち AMPK activator の存在が示唆されている。さらに先行研究において、宮古島産黒ササゲにも AMPK activator が存在することが明らかになった。本研究はさらに研究を進め、宮古島黒ササゲ葉に含まれる AMPK activator の実態を解明することを目標とした。

東京農大宮古亜熱帯農場で栽培されたササゲ黒種皮系統、ササゲは赤種皮系統および宮古島周辺の野生種であるハマササゲの AMPK 活性化能を評価した。凍結乾燥したササゲ葉を 60 メッシュでふるいにかけ均一化した。30 倍容量の 50% エタノールで 1 時間抽出し、エタノールおよび水分を除去した。これを 50mg/ml となるように DMSO に溶解し、試料とした。ヒト肝がん由来 HuH-7 細胞に試料を一定量添加し、細胞抽出液を作成した。ウエスタンブロット法を用いて AMPK の下流に存在する ACC タンパク質のリン酸化活能をもって AMPK 活性化能を比較した。また、メトホルミンを 1mM 添加し、陽性コントロールとした。

【島キウイ】

西日本の太平洋岸を中心に自生分布するシマサルナシ (*Actinida rufa*) は低温要求性（温暖条件での萌芽）、環境適応性（耐風、耐暑、耐乾）、耐病性（強毒性かいよう病）などの有用特性を有している。特に沖縄・南西諸島のシマサルナシ自生系統は、低温要求性が極めて低いことが明らかになっており、これを母本としたキウイフルーツとの交雑後代を用いて、①沖縄・南西諸島の環境に適応可能なキウイフルーツ系統選抜育成、②島しょ部環境下での安定栽培技術の開発を行い、島しょ部の特産ブランド化を目指すこととなった。本年度は、シマサルナシ及びキウイフルーツとの種間交雑実生について、生態特性、それらの果実形質について調査するとともに、栽培方法について検討を開始し、亜熱帯島しょ部の環境への適応性の基礎データを収集することを目的とした。

東京農大宮古亜熱帯農場および香川大学農学部研究圃場に植栽のシマサルナシおよびキウイフルーツとの交雑後代を用いて、①シマサルナシ [石垣]、[沖縄] 系統およびこれらとキウイフルーツとの種間交雑実生のフェノロジー比較、②シマサルナシ [石垣]、[沖縄] 系統の果実形質調査、③シマサルナシ [石垣] 系統とキウイフルーツとの種間交雑実生の形質評価と優良個体選抜、④安定栽培法の検討を開始

した。なお、香川大での試験には東京農大から学生 1 名が補助で派遣された。

離島④ 多良間島：ハマダイコン

ハマダイコンは東アジアの砂浜や河口域に多く生息しており、内陸部では多摩川流域などの河川敷に見られることもある。先島諸島の石垣島、竹富島、西表島、波照間島、黒島等にも生息しているが、食用利用の報告はされていない。多良間島では、ハマダイコンを伝統的に葉菜として利用しており、産業資産となり得る在来植物遺伝資源であると考えられるが、その供給は自然に頼ったものであり、環境変動や人間の社会活動に大きく左右される。また、メディアや SNS で注目を集めた場合、すぐに資源枯渇する可能性があるためハマダイコンの Domestication（作物の栽培化）が必要である。本年度は、多良間島在来ハマダイコンを栽培化するにあたり必要となる基本情報を収集する事を目標に、現地調査および発芽試験、環境の異なる圃場における栽培試験を行った。

- ①現地における情報の収集：2023 年 11 月 13 日～16 日に多良間島および水納島へ渡り、現地調査・情報の収集を行った。
- ②発芽の促進：2022 年に収集された種子について、発芽試験を行った。また、発芽率を安定させるため、ジベレリン処理・低温処理が種子休眠に及ぼす影響について検討した。
- ③特性評価：2023 年 11 月より、多良間島および東京農業大学厚木キャンパスにおいて栽培を開始した。

離島⑤ 与那国島：ヤムイモ（未同定の幻のヤムイモ）

未同定の与那国島産ヤムイモについては、遺伝資源の採取を含め、分類・同定そして保存を行う。沖縄県農研センターに大東島産のルゾンヤマノイモ（キールンヤマノイモとも考えられている）が遺伝資源としてあることから、農研センターとも連携して与那国島産のヤムイモについて同定を行う。また、その栄養価や機能性、安全性を評価し、得られた結果を与那国島の農家、行政などに還元させ与那国島の新規特産品とさせることを本課題の目的とした。

7. 研究成果

離島① 奄美群島・徳之島：ヤムイモ（ダイジョ）

徳之島では伊仙町において 2018 年から栽培を始め、原種種芋の維持を図ってきた。栽培農家の生産技術が安定してきたところで、2021 年から伊仙町のふるさと納税の返礼品としてリストアップされた。今年度は「ぱり玉」の認知度が上がり、300kg 程度の出荷があった。「ぱり玉」は窒素固定能力の高い品種であり、化学肥料を使わない生産が可能である。そこで徳之島の有機農業グループが生産を希望していることから、2023 年度には 1 戸の農家で試作を行い、ある程度の収量を得られることが確認された。しかし、「ぱり玉」品種は早掘りをするといモの褐変が起りやすいので、農家への指導が必要である。

奄美大島では 2022 年から在来品種と「ぱり玉」品種の比較試験を開始した。2023 年には鹿児島本土の菓子メーカーによるイモの品質及び加工適正の調査によって、「ぱり玉」が優れていることが明らかになった。本年度は農業青年クラブを中心に I ターン、U ターンの農家が種芋の増産をおこなった。来年度は生産を希望する農家が増えることから、宮古島から種芋の輸送を行う予定である。

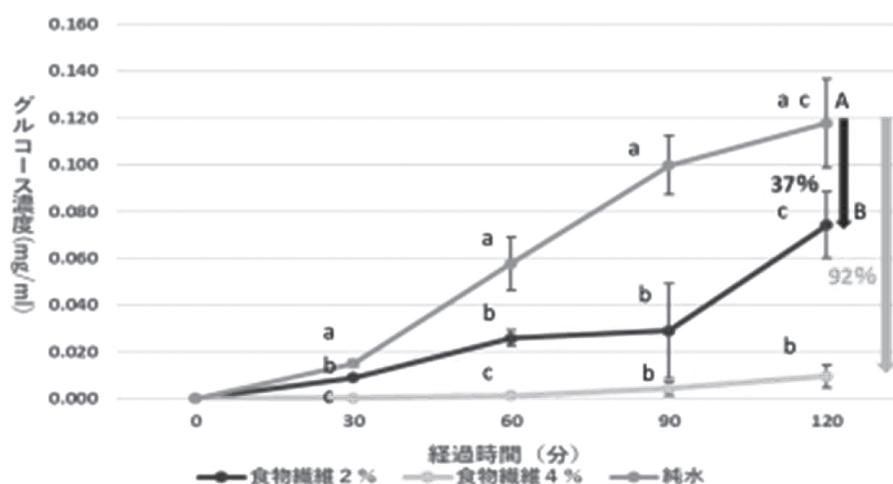
奄美大島の在来ダイジョ品種について遺伝資源として収集した。今後は RAD-seq 法および MiCAPs 法をベースとしたゲノム解析による分類を行う予定。

トゲドコロ

	単位g/100g
水分	69.1
灰分	1.2
脂質	0.2
タンパク質	2.4
利用可能炭水化物	21.1
食物繊維	6.0

ヤマイモ

	単位g/100g
水分	62.1
灰分	1.0
脂質	0.6
タンパク質	5.4
利用可能炭水化物	24.4
食物繊維	6.4



トゲドコロ食物繊維のグルコース拡散阻害

離島② 沖縄本島：ヤマイモ（トゲイモ／トゲドコロ）

【1. トゲドコロから抽出した食物繊維のグルコース拡散阻害作用】

DE（トゲイモ／トゲドコロ）とヤマイモの一般成分と食物繊維の含有量を比較したところ、各成分の含有量に大差は見られなかった。トゲドコロとヤマイモの炭水化物はサツマイモ塊根・皮付き・生（28.4g/100g）と同程度であったが、食物繊維はサツマイモ（2.8g/100g）の約2倍多く含まれていることが判明した。グルコース拡散阻害装置を用いて実験を行った結果、実験開始後、30分で食物繊維2%および4%において、グルコースの拡散が有意に阻害されており、120分後にはコントロールである純水と比較し、2%溶液で37%、4%溶液では92%までグルコースの拡散阻害みられた。In vitroでの検討ではあるもののDEの食物繊維には血糖値上昇抑制作用を有すると考えられた。以上のことから、食物繊維が豊富なDEを日常的に摂取は、2型糖尿病の発症予防や腸内環境の改善に寄与することが示唆された。

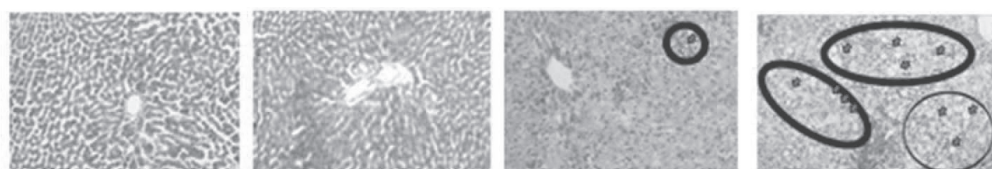
【2. 2型糖尿病及び食事誘導性NASHモデル動物の病態に及ぼすトゲドコロ投与の影響】

肝臓の解剖所見では、CD・CDE群に対し、PC・HFDE2群は肥大化や退色が見られた。総脂質、中性脂質、総コレステロールについては、CD群、CDE群に対してHFDE群およびPC群は有意に高値を示した。総脂質量は、CD群とCDE群間およびPC群とHFDE群間で有意差はないがDE添加群で低値傾向を示した。中性脂肪量については、CD群に対してCDE群、PC群に対してHFDE群がそれぞれ有意に低値を示した。総コレステロールについては、CD群に対してCDE群が低値傾向を示した。血清の生化学検査の結果、DEを摂取したCDE群、HFDE群は対照のCDおよびPC群に対して低値を示した。

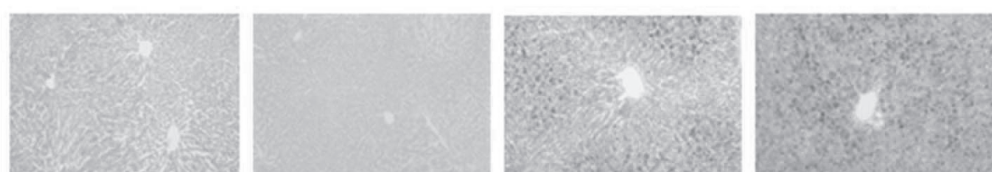
肝臓の組織病理学的結果、PC群は脂肪化による空胞が認められたのに対してHFDE群では認められなかつ

表2 GK ラットおよびNASH 誘導ラットの肝臓中の脂質量

	Total Lipid(g/Liver)	TG(g/Liver)	T-Chol(g/Liver)
C D	1.67 ± 0.30 b	1.67 ± 0.30 c	0.35 ± 0.05 b
CDE	0.56 ± 0.005 c	1.67 ± 0.31 d	0.09 ± 0.002 b
HFDE	6.14 ± 0.67a	1.67 ± 0.32 b	4.54 ± 0.40a
P C	6.72 ± 0.16a	1.67 ± 0.33a	5.23 ± 0.17a



HE stain : CD, CDE, HFDE, PC



Oil Red O stain: CD, CDE, HFDE, PC



Sirius Red stain: CD, CDE, HFDE, PC

Micrograph liver tissue sections with HE,ORO,SR staining

た。また、オイルレッド O 染色により染色される脂肪滴抑制された。さらに PC 群では、著しい線維化が観察されたのに対して、CDE 群、HFDE 群では線維化が最小限に抑制されてた。以上のことから、DE の摂取は肝臓の脂肪化、線維化およびコレステロールの蓄積を抑制し、血中の中性脂肪および総コレステロールを低下せる効果が期待され、糖尿病および NASH における脂肪肝に対する食事療法に有効な機能性食品としての可能性が示唆された。

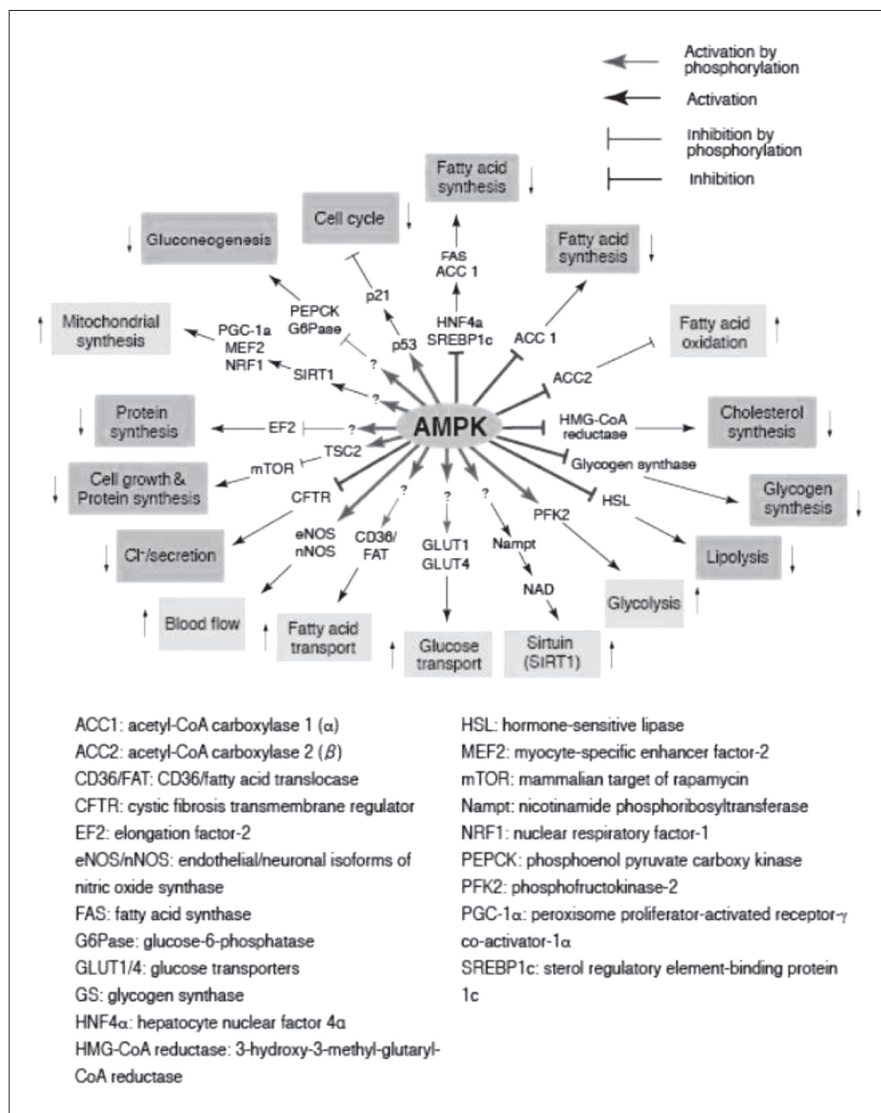
離島③ 宮古島：ヤマイモ（ダイジョ）・ササゲ・島キウイ

【ヤマイモ】

ヤマイモから高品質ゲノム DNA の抽出方法の検討と、与那国島の未同定系統を含む 84 系統のダイジョから RAD-seq 法によるライブラリー作製を行った。多量に粘性物を含むヤマイモから DNA 抽出を行うのは至難の業である。そこで本研究では、DNA すいすい-VS（株式会社リーズ）による市販の DNA 抽出キットの使用と共に 99.5% エタノールを加えた直後のステップにおいて氷上での低温処理を行うことにより、非常に効率よく DNA 抽出することができることが分かった。現在、RAD-seq 用のライブラリー作製が行われ、東京農業大学生物資源ゲノム解析センターにてゲノムシーケンシングを行っており、完了次第データ解析に移る予定である。

【ササゲ】

試料として用いた3種のササゲ葉にはいずれも高い AMPK 活性化能があることが分かった。中でも黒ササゲ葉の活性が比較的高いことが分かった。シリカゲルを用いて部分的に分画したところ、AMPK 活性化能を有する画分は脂溶性成分を多く含む可能性が示唆された。



【島キウイ】

①宮古島において、シマサルナシ〔石垣〕、〔沖縄〕系統およびこれらとキウイフルーツとの種間交雑実生は、12月下旬においても一部落葉せずに葉が着生しており、剪定後の1月上旬には萌芽した。一方香川では、1月下旬においてもシマサルナシの〔石垣〕系統で、腋芽が膨らみ萌芽の兆しが見られたのみで生育様相が大きく異なった。このことから、開花や果実の成熟も相当期間早まることが見込まれた。



2023 年 02 月 22 日

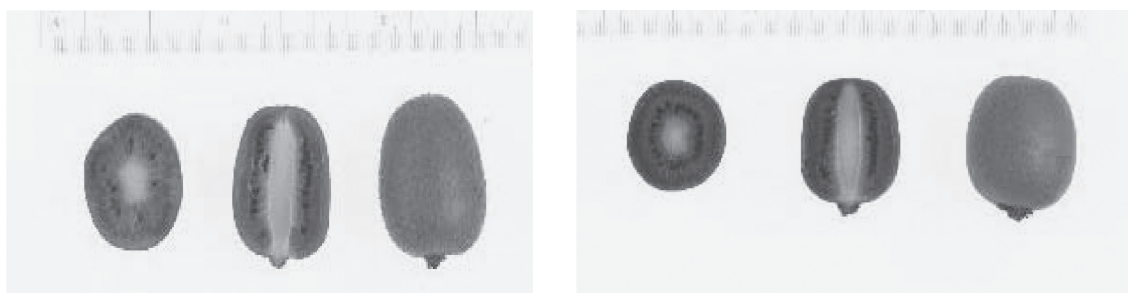


2023 年 10 月 24 日



2024 年 01 月 31 日

②香川大学農学部植栽のシマサルナシ〔石垣〕、〔沖縄〕について、可溶性固形物含量はそれぞれ 13.2%、17.9%、滴定酸含量は、1.7%、2.0%であり、標準的なキウイフルーツ品種である「ヘイワード」では、13.9%、0.5%であった。一方シマサルナシとキウイフルーツの種間交雑品種「香川 UP キ-5 号」では、15.9%、0.6%であったことから、シマサルナシ〔石垣〕、〔沖縄〕についても、キウイフルーツの交雑後代からより食味形質の優れる個体が出現することが期待できた。



果実形質調査結果（香川大学農学部研究圃場、2023年）

品種・系統	重量(g)	TSS(%)	TA(%)	糖酸比
r石垣	18.4 ± 0.66	13.2 ± 0.47	1.7 ± 0.03	7.6 ± 0.15
r沖縄	17.9 ± 0.86	15.3 ± 0.22	2.0 ± 0.04	7.7 ± 0.21
r府中	15.2 ± 0.38	15.5 ± 0.35	0.8 ± 0.06	19.2 ± 1.47
r中村A	19.2 ± 0.63	15.9 ± 0.24	1.1 ± 0.06	15.3 ± 1.01
r足摺B	14.6 ± 0.85	14.7 ± 1.61	2.2 ± 0.09	6.9 ± 0.90
ヘイワード	89.7 ± 2.13	13.9 ± 0.50	0.5 ± 0.04	32.1 ± 4.06
香川UPキ-5号	57.2 ± 2.05	15.9 ± 0.36	0.6 ± 0.09	28.1 ± 3.65

r : *A.rufa*（シマサルナシ）、香川UPキ-5号（シマサルナシ×キウイフルーツ）

③香川大学農学部研究圃場において、シマサルナシ〔石垣〕系統とキウイフルーツとの種間交雑実生約 40 個体を育成しており、次年度これらについて形質評価を行い、選抜した優良個体を宮古島に移植する予定である。

④安定栽培法については、生育様相の異なる宮古島植栽のシマサルナシおよびキウイフルーツとの交雑実生の剪定を、宮古島と香川の間でのオンライン方式により試みた。この方式により日常的な栽培管理、技術移転をより綿密に行えることが実証できた。その他、土壌水分管理、防風方策を検討した。

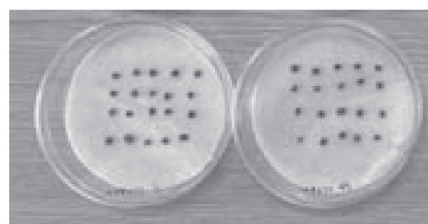
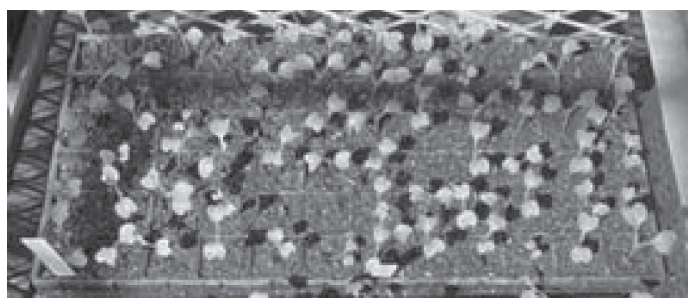


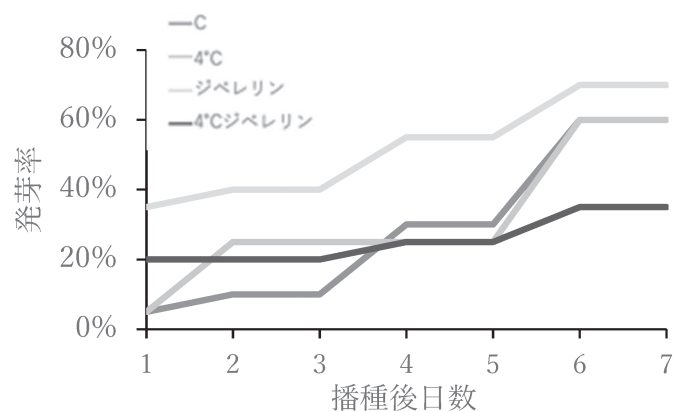
離島④ 多良間島：ハマダイコン

①現地における情報の収集：2022年に多良間島沿岸で発見されたハマダイコンの群落は、2023年11月時点でも全ての地点で継代が確認された。一方水納島においては、台風等の気象現象により、ハマダイコンの生息地が失われたことが、聞き取り調査から明らかになった。現地調査でも、ハマダイコンの生息は確認できなかった。



②発芽の促進：2022年11月、12月、2023年2月に野生群落から採種された種子は、発芽率が10%にも満たなかったが、2023年4月に採種された種子は播種後1週間目の発芽率が70%に達した。さらに、100ppmのジベレリン処理を行うことで、発芽までの日数が短縮された。また、ダイコン属ではサヤの硬さがしばしば問題となるが、ハマダイコン種子をサヤごと播種しても発芽したことから、採種の省力化が見込める。





ジベレリン処理が発芽に及ぼす影響

③特性評価：圃場栽培および形態形質の評価を厚木キャンパスおよび多良間村で実施した。個体ごとに形態・生育の差が激しいことから、優良個体を選抜し、蕾受粉による自殖を試みている。いずれの圃場においても、栽培は可能であった。

圃場における試験栽培（多良間村の協力）



厚木キャンパス内圃場における栽培の様子



多良間島圃場における栽培の様子

蕾受粉による自殖



形態形質の評価



定植後1ヶ月時点における生育の差異

離島⑤ 与那国島：ヤムイモ（未同定の幻のヤムイモ）

2023 年 7 月および 12 月に与那国島で調査を行った。7 月の調査では農家や行政に対する聞き取り調査を行い、ヤムイモが自生している場所の確認を行った。また、ゲノム解析用の葉を採取し、DNA 抽出を行った。ゲノムシーケンシング後にはデータ解析を行う予定。12 月の調査では農家から実際のヤムイモを入手し、増殖用の個体とした。また、美ら海財団でこのヤムイモを維持している担当者とのコンタクトをとることができたことから、次年度では植物体の生育している時期に訪問、植物体の比較を行う予定。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特になし

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本年度は初年度であったため、特に大きな問題点はなかった。今後の研究については本年と同様に進める予定である。

10. 公表した成果一覧

学術論文：特になし

学会発表：特になし

2023年度 東京農業大学 海外協定校との共同研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 中塚 博子

1. 研究課題名および予算額

研究課題名
熱帯地域への生物的土壌物理性改良システムの普及に向けた下層土の団粒化機構の解明

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	中塚 博子	農学部 農学科・助教	土壌・微生物分析、総括
研究分担者	Elke JBN Cardoso	サンパウロ大学・Brazilian Supervisor	微生物多様性解析

3. 研究期間

2023年4月1日～2024年3月31日（3年計画の3年目）

4. 研究の背景（当初）

熱帯・亜熱帯地域は、作物生産に適した気候であり、将来の食糧生産拠点として重要な地域であるが、土壌劣化が深刻である（FAO, 2011）。一方、申請者らの研究で、緑肥やキノコ廃菌床を利用した日本とブラジルの圃場で、表層から下層（約0～100cm）まで、土壌の団粒化が促進して土壌物理性が向上したことを発見した（Nakatsuka et al., 2016 他）。さらに、上記圃場では下層土の物理性改善による作物根の伸長領域が増加したため、生産性が向上した（Nakatsuka and Tamura, 2016 他）。上記の緑肥やキノコ廃菌床などの生物による団粒化機構を利用して下層土の物理性を改善させる農業システムー生物的土壌物理性改良システムーを、土壌劣化が深刻な熱帯・亜熱帯地域で普及させることで、土壌劣化と食糧問題の双方を解決できると考えた。

土壌団粒の発達には、植物根や糸状菌などの生物要因が重要である（Tisdall and Oades, 1982）。申請者らは、上記実践圃場の下層に糸状菌が多く観察されたことから、下層土の団粒発達機構は、緑肥根や廃菌床によって増加した土着微生物の直接的（菌糸による団粒化）または間接的（菌体外に分泌された多糖類と粘土との相互作用）な影響に起因していると仮説を立てた。

5. 研究目的

本研究は、日本およびブラジルの土壌で、直径8cm、高さ30cmの不攪乱土壌コアを用いた栽培試験を行い、下層土の団粒化機構を明らかにすることを目的とする。さらに、国際比較として東京農業大学

と海外協定校であるサンパウロ大学（USP-ESALQ）の Professor Elke JBN Cardoso と協力して圃場での実証実験を行い、生物的土壌改良システムの国際的な普及に向けた生産性および土壌劣化抑制効果を評価する。

6. 研究（実験）方法

6.1. 緑肥および廃菌床添加栽培試験

6.1.1. 20cm 不攪乱土壌コアを用いた栽培試験（ESALQ-USP: Piracicaba-SP, Brazil）

2022 年 10 月 13 日にブラジルサンパウロ州 Piracicaba, ESALQ-USP（22°43'6''S, 47°36'56''W；標高 590m；赤黄色土、図 1）において、直径 10cm、高さ 20cm の不攪乱土壌コア試料を採取し、緑肥栽培および廃菌床添加栽培試験を行った（図 2）。処理区は、緑肥区、廃菌床区、緑肥＋廃菌床区、対照区を各 4 反復設けた。また、アーバスキュラー菌根菌感染の調査のため、緑肥区と緑肥＋廃菌床区を各 3 反復さらに設けた。緑肥はトウモロコシ、廃菌床は 5mm 以下に篩ったヒラタケ廃菌床を用いた。栽培試験は 2022 年 10 月から 2023 年 2 月まで連作で 3 作行った。トウモロコシは 1 コア 2 粒播種し（催芽処理済み）、定着後 1 本に間引いた。廃菌床は表層 0～5cm に各作 20g 添加した。栽培は、ESALQ-USP の温室で行い、灌水は純水で適宜行った。



図 1. ESALQ-USP 試験圃場の土壌断面



図 2. 栽培試験の様子

また、ブラジルサンパウロ州 Piracicaba, ESALQ-USP（赤黄色土）において、表層（2～7cm）と下層（12～17cm）から不攪乱土壌コア試料を各 3 反復ずつ採取し、物理性分析に供した。さらに、表層（0～10cm）と下層（10～20cm）から化学性分析用の土壌試料を採取し、風乾後 2mm の篩に通して化学性分析に供した。供試土壌の一般理化学性に関して、表 1、表 2 に示した。

表 1. 供試土壌の物理性

		表層 (0-10 cm)	下層 (10-20 cm)
容積重	(g cm ⁻³)	1.60	1.75
含水率	(%)	12.6	10.5
含水比	(%)	14.5	11.8
透水性	(cm s ⁻¹)	2.91 × 10 ⁻⁴	2.45 × 10 ⁻⁵
砂含量	(g kg ⁻¹)	751	787
シルト含量	(g kg ⁻¹)	23	13
粘土含量	(g kg ⁻¹)	226	220
土性 (USDA)		SCL	SCL

SCL: 砂質埴壤土

表 2. 供試土壌の化学性

		表層 (0-10 cm)	下層 (10-20 cm)
pH(H ₂ O)		5.08	5.26
pH(CaCl ₂)		4.34	4.47
土壌有機物	(g dm ⁻³)	6.5	6.2
P	(mg dm ⁻³)	3.0	2.8
S	(mg dm ⁻³)	12.3	< 12.0
Ca	(mmol _c dm ⁻³)	7.0	10.5
Mg	(mmol _c dm ⁻³)	5.3	4.7
K	(mmol _c dm ⁻³)	0.4	0.2
Ex-Al	(mmol _c dm ⁻³)	5.0	2.8
Potential acidity	(mmol _c dm ⁻³)	25.5	22.7
SEB	(mmol _c dm ⁻³)	12.7	15.4
CEC	(mmol _c dm ⁻³)	38.2	38.1
BS	(%)	33.0	40.0
m	(%)	28.0	15.0

pH(CaCl₂): 0.01 mol L⁻¹ CaCl₂抽出の土壌pH。

有機物含量: 比色定量分析。

リン酸 (P): イオン交換樹脂で抽出後、比色定量分析。

硫黄(S): 0.01mol L⁻¹ リン酸カルシウム溶液で抽出し、比濁法で測定。

交換性カルシウム (Ca) と交換性マグネシウム (Mg): 1 mol L⁻¹ KClで抽出後、原子吸光分析。

交換性カリウム(K):イオン交換樹脂で抽出後、発光分光分析(AES)にて測定。

交換性Al (Ex-Al): 1 mol L⁻¹ KClで抽出後、滴定。

潜酸性 (H + Al):SMPバッファーで抽出 (Chemical analysis manual for fertility assessment of tropical soils, IAC, 2001)。

SEB: 交換性塩基量(Ca, Mg, K)。

CEC: 陽イオン交換容量。

BS: 塩基飽和度。

m: アルミニウム飽和度。

6.1.2. 30cm 不攪乱土壌コアを用いた栽培試験 (厚木キャンパス : 黒ボク土、宮古亜熱帯農場 : 富塩基土)

2018 年と 2021 年に厚木キャンパス圃場及び宮古亜熱帯農場の下層土 (20~30cm 以下) において、直径 8cm、高さ 30cm の不攪乱土壌コア試料を採取し、緑肥栽培および廃菌床添加栽培試験を行った。処理区は、緑肥区、廃菌床区、緑肥+廃菌床区、対照区を各 4 反復設けた。緑肥はデントコーン、廃菌床は 10mm 以下に篩ったシイタケ廃菌床を用いた。栽培試験は連作で 3 作行った。デントコーンは 1 コア 2 粒播種し (催芽処理済み)、廃菌床は表層 0~7.5cm に 1 作目は 20g、2 作目は 0g、3 作目は 5g 添加した。栽培は、東京農業大学厚木キャンパスのガラス温室で行い、灌水は適宜行った。

6.1.3. 30cm ポットを用いた栽培試験 (農大圃場下層土)

2021 年 6 月に東京農業大学厚木キャンパス農地において、深さ 30cm 以下の下層土 (黒ボク土) を採取し、8mm の篩をかけて直径 8cm、高さ 30cm のプラスチックポットに充填し、緑肥栽培および廃菌床

添加栽培試験を行った。処理区は、緑肥区、廃菌床区、緑肥+廃菌床区、対照区を各3反復設けた。緑肥はデントコーン、廃菌床は1cm以下に粉碎したシイタケ廃菌床を用いた。栽培期間は、2021年6月～7月の1カ月の栽培を行う試験（1作試験）と、2021年9月から2022年1月まで3作連作を行う試験（3連作試験）を実施した。デントコーンは1ポット1粒（催芽処理済み）、廃菌床は表層0～7.5cmに10g添加した。また連作栽培では、1作目と3作目は10g添加し、2作目は無添加とした。栽培は、東京農業大学厚木キャンパスのガラス温室で行い、灌水は適宜行った。

6.1.4. 土壌呼吸速度

栽培試験前の土壌呼吸量をアルカリ性吸収剤による方法（土壌微生物研究会編, 2004）で行った。2.5Lの密閉ガラス容器に栽培前の土壌100g（最大容水量60%）とポリ容器に入れた0.5N NaOH 20ml（炭酸ガス吸収剤）を入れて密閉し、25℃、暗所で一定期間静置させた。ポリ容器を取り出して、pH指示薬を加え、0.5N HClで滴定を行い、土壌呼吸量を算出した。土壌は、ブラジルサンパウロ州 Piracicaba, ESALQ-USP（赤黄色土）において、表層（0～10cm）と下層（10～20cm）から採取し、<2mmに篩った土壌を用いた。処理区として、100gの土壌に廃菌床を10g混合添加した区と廃菌床を添加していない対照区を設けた。各処理区3反復で行った。

6.1.5. 植物の地上部収量調査

栽培試験の緑肥区および緑肥+廃菌床区の植物体（トウモロコシとデントコーン）について、地上部生重量、地上部乾物重量、草丈、SPAD値を測定した。

6.1.6. 土壌の物理性分析

20cmポット栽培試験後のブラジル土壌の深度5～10cmから100cm³のステンレスコアを用いて不攪乱土壌試料を採取し、仮比重および透水係数を測定した。

6.1.7. 土壌の化学性および生物性分析

30cmポット栽培試験の土壌（深さ20～27cm、未風乾、<2mm）を用いて土壌の化学性および生物性分析を行った。生物性分析は、細菌+放線菌数、糸状菌数（希釈平板法）、土壌酵素活性（ β -グルコシダーゼ活性、プロテアーゼ活性）、バイオマス炭素および窒素量（クロロホルムくん蒸法）を行った。

また、20cmポット栽培試験のブラジル土壌（深さ0～5cm、5～10cm、10～20cm、未風乾、<2mm）を用いて、土壌酵素活性（ β -グルコシダーゼ活性、ホスファターゼ活性、ウレアーゼ活性）およびグロマリン含量（Wu et al., 2014; Wright and Upadhyaya, 1996）を測定した。化学性分析は、無機態窒素量（硝酸態窒素量、アンモニア態窒素量）、土壌pH、可給態リン酸（トルオーグ法）の測定を行った。

6.1.8. 土壌薄片の観察と画像解析

土壌薄片は、永塚・田村の方法を改良して作成した。不攪乱土壌試料（30cmポットの17.5～22.5cm）を凍結乾燥させた。乾燥後、不飽和ポリエステル樹脂で土壌試料を固化させた。完全に固化した試料を、切断、研磨して土壌薄片を作製した。

土壌薄片の記載は土壌薄片記載ハンドブックに準じて行った。観察は三眼実体偏光顕微鏡（メイジテクノ株式会社）を用いて行った。また、観察薄片の撮影には、顕微鏡用カメラ（BASLER POWERPACK-ACE 2.3MP, BASLER 社）を使用した。粗粒質画分と細粒質画分の境界（c/f境界）は全て10 μ mとし、

c/f境界は、直行ニコルによる視野の観察により判定した。

土壌薄片の画像をスキャナーで取り込み、画像解析を行った。孔隙面積、孔隙面積割合の計測は、二値化画像をもとに画像解析ソフト（Image J）を用いて行った。

6.1.9. アーバスキュラー菌根菌（AM 菌）の感染率の計測

ブラジルサンパウロ州 Piracicaba, ESALQ-USP（赤黄色土）を用いた栽培試験について、3 作目の栽培が終了した後、新鮮な根を採取して水で洗浄した。根の新鮮収量を測定後、60～65℃で3日間乾燥させた。その後、乾燥重量を測定した。根の長さを測定した後、上部から15cmの長さで切断して、上部根と下部根に分けた。根サンプルと10%KClを50mLのポリ遠心チューブに入れ、80℃で30分間、温水浴中で培養した。 $\text{H}_2\text{O}_2 : \text{H}_2\text{O} = 1 : 1$ （V : V）の溶液を試料チューブに入れ、根の色素が抜けて透明となったのを確認し、反応液を捨てた。根を純水で洗浄後、ブルーインク液（ラクトグリセロール溶液1L、5% Parker Quick Blue ink）をサンプルチューブに根が浸る程度に入れ、80℃で2～3分間保った。反応液を捨てた後、植物根のサンプルはラクトグリセロール溶液（純水1L、乳酸1Lおよびグリセロール1Lの混合液）で暗所にて保存した。染色根サンプルをスライドグラスに載せ、光学顕微鏡にて感染構造を確認した。さらに、1cm四方の格子が描かれたシャーレに染色根を広げ、格子線と根の交点でのAM菌感染構造の有無を実態顕微鏡下で観察した。100交点を観察した後、AM菌感染率を以下の式にて求めた。

$$\text{AM 菌の感染率 (\%)} = \text{AM 菌の感染構造が確認できた交点数} / 100 \text{ 交点数} \times 100$$

6.1.10. 土壌および植物根からのDNAの抽出

ブラジルでの試験栽培の土壌試料（深さ0～5cm、10～20cm、未風乾、<2mm）を-80℃に保存し、DNA抽出に供した。DNeasy PowerSoil Pro Kit（QIAGEN, DE, US）を使用し、0.25gの土壌試料を用いてDNAを抽出した。DNAの抽出量と質はQbitとnano-dropにて確認した。

細菌および真菌群集構造のメタ16SおよびITS解析は、16S rRNA and ITS sequencing library protocol（Novogene Co., Ltd, CA, USA）に従って行った。PCRは、プライマー16SV4（GTGCCAGCMGCCGCGGTAA,GGACTACHVGGGTWTCTAAT）とITS1-1F（CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA,GCTGCGTTCTTCATCGATGC）を用いて土壌および植物根から抽出されたDNA（～50mg）を用いて行われた。

6.1.11. 統計解析

統計解析は、JMP 14.2.0で行った。

7. 研究成果

7.1. 20cm不攪乱土壌コアを用いた栽培試験（ESALQ-USP: Piracicaba-SP, Brazil）

7.1.1. 土壌呼吸活性

栽培前土壌の呼吸活性は、廃菌床の添加により顕著に増加した。また、土壌深度による廃菌床添加での土壌呼吸活性に差は認められなかった（図3）。土壌呼吸の反応速度は、廃菌床添加区の1日目で最大となり、徐々に低下し、10日目以降は一定となった。また、廃菌床を添加していない対照区では、反応速度は1日目で最大となり、以降は一定となった。土壌深度による反応速度の差は認められなかった（図4）。

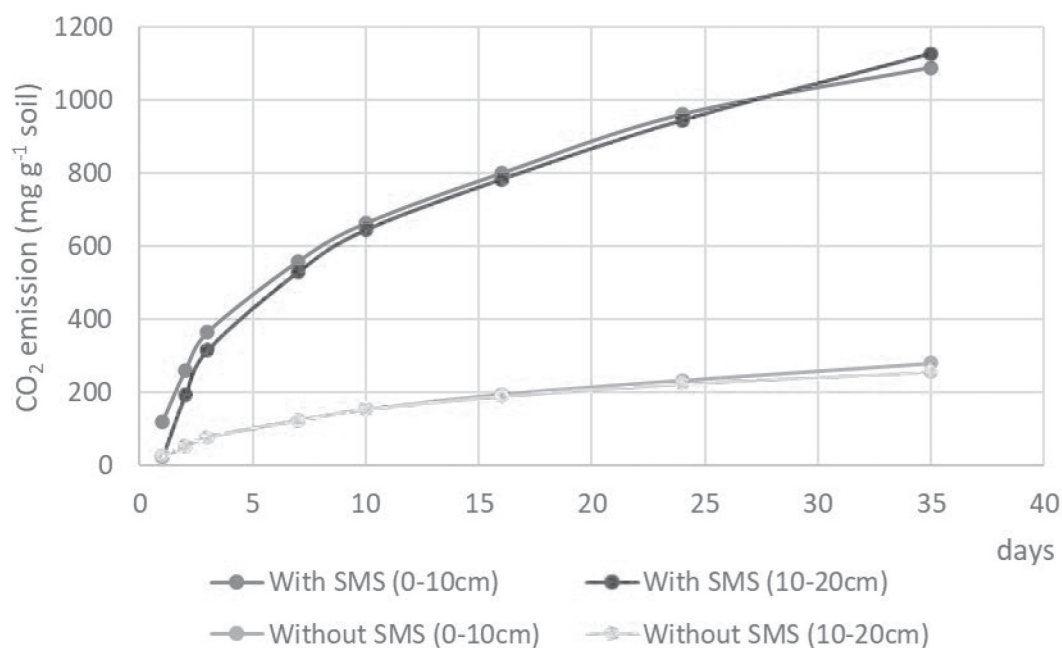


図 3. 廃菌床添加による栽培前土壌の土壌呼吸活性

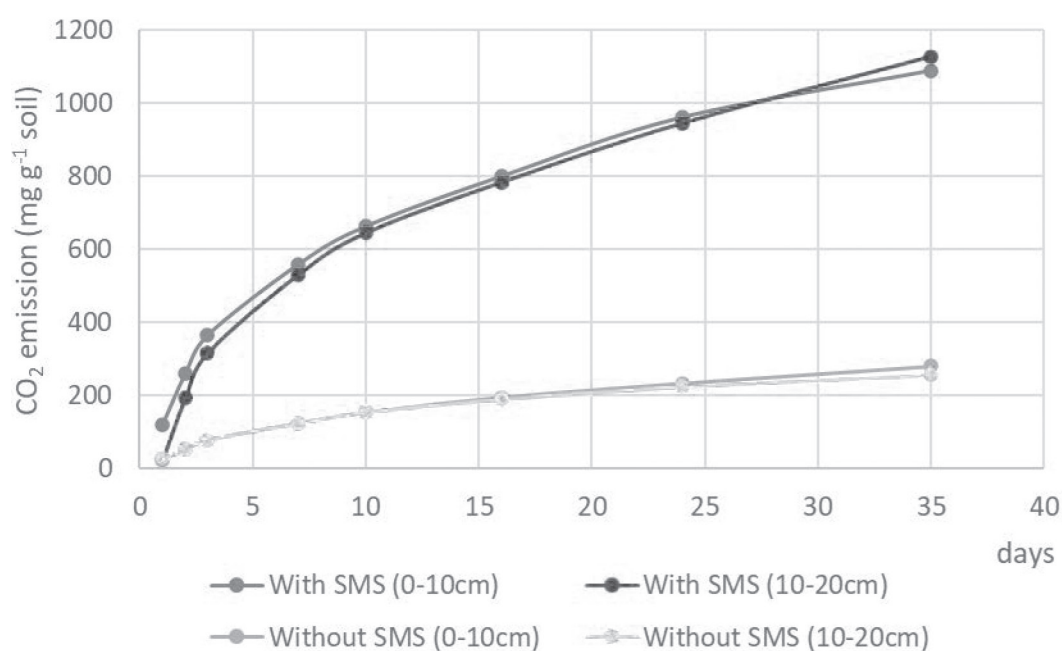


図 4. 廃菌床添加による栽培前土壌の土壌呼吸の反応速度

7.1.2. トウモロコシの生育量

栽培試験後の緑肥区及び緑肥＋廃菌床区の様子を図 5、トウモロコシ地上部重量を表 3、栽培後の緑肥区及び緑肥＋廃菌床区の地下部形態を図 6 に示した。

草丈の生長量は、1～3 作目全てで緑肥＋廃菌床区が緑肥区よりも高く、成長速度も速くなった。また、緑肥区と緑肥＋廃菌床区ともに、連作回数が増えるにつれ、生育速度及び播種から 20 日後の草丈が増加した。トウモロコシの地上部生重量と地上部乾物重量についても、3 作全てで緑肥＋廃菌床区が緑肥区よりも高くなった。また、3 作目のトウモロコシの地下部生重量と地下部乾物重量についても、緑肥＋廃菌床区が緑肥区よりも高くなった。



図 5. 20cm コア栽培試験後のトウモロコシ (2 作目)

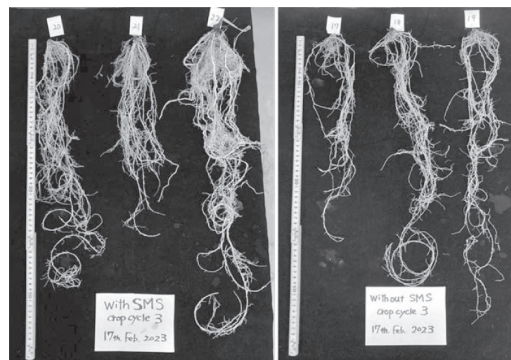


図 6. 20cm コア栽培試験後のトウモロコシの地下部形態 (3 作目)

7.1.3. 土壌物理性

仮比重は緑肥＋廃菌床区でその他の処理区よりも低い傾向を示した。含水比は、SMS 区でその他の処理区よりも高い傾向が認められた。飽和透水係数は、緑肥区、廃菌床区および緑肥＋廃菌床区で対照区よりも高い傾向を示した。

7.1.4. 土壌化学性

廃菌床の添加および緑肥の栽培は、土壌 pH と無機態窒素および可給態リン酸に顕著な影響を与えた。土壌 pH (H_2O) は、0～5cm で緑肥区 (pH 6.1) が最も高く、廃菌床区 (pH 5.1) で最も低くなった。5～20cm については、廃菌床区 (pH 5.1) で緑肥および緑肥＋廃菌床区 (pH 5.5～5.6) と比較して低い値を示した。pH (KCl) は、0～5cm で廃菌床区 (pH 4.1) がその他の処理区 (pH 4.5～4.6) と比較して低い値となった。土壌の硝酸態窒素含量は、全土壌深度で廃菌床区がその他の処理区よりも有意に高い値を示した。また、0～5cm では、有意差はないものの緑肥＋廃菌床区は緑肥区や対照区よりも硝酸態窒素含量が高い傾向を示した。アンモニア態窒素含量は、0～5cm で廃菌床区と緑肥＋廃菌床区が緑肥区と対照区よりも有意に高い値を示した。5～20cm では、緑肥＋廃菌床区でその他の処理区よりも高い傾向を示した。可給態リン酸含量は、0～10cm で、緑肥＋廃菌床区と緑肥区が緑肥区と対照区よりも有意に高い値となった。pH (H_2O) と硝酸態窒素含量について正規性の検定を行い、pH (H_2O) は $p = 0.681$ で正規性を示したが、硝酸態窒素含量は $p < 0.0001$ で正規性が棄却されたため、ノンパラメトリックによる解析を行った。pH (H_2O) と硝酸態窒素含量の Spearman の順位相関係数は、 $\rho = -0.5278$ 、 $p = 0.0001$ で高い負の相関が認められた。従って、土壌の硝酸態窒素の増加に伴い、土壌 pH が酸性化することが示唆された。

7.1.5. 土壌生物性

0～5cm では、 β -グルコシダーゼ活性とグロマリン含量が廃菌床区と緑肥＋廃菌床区で緑肥区と対照区よりも有意に高くなった。また、ホスファターゼ活性とウレアーゼ活性は緑肥＋廃菌床区で最も高く、次いで廃菌床区、緑肥区と対照区の順となった。

7.1.6. AM 菌の感染率

トウモロコシ根への AM 菌の感染率は、処理区間での違いは認められなかった。しかし、上部根 (0～15cm) で廃菌床の添加なし区が廃菌床添加あり区よりも AM 菌感染率が高い傾向を示した。また、トウモロコシ根には、Auxiliary 細胞をもつ *Gigasporaceae* 科の AM 菌が観察された (図 7)。

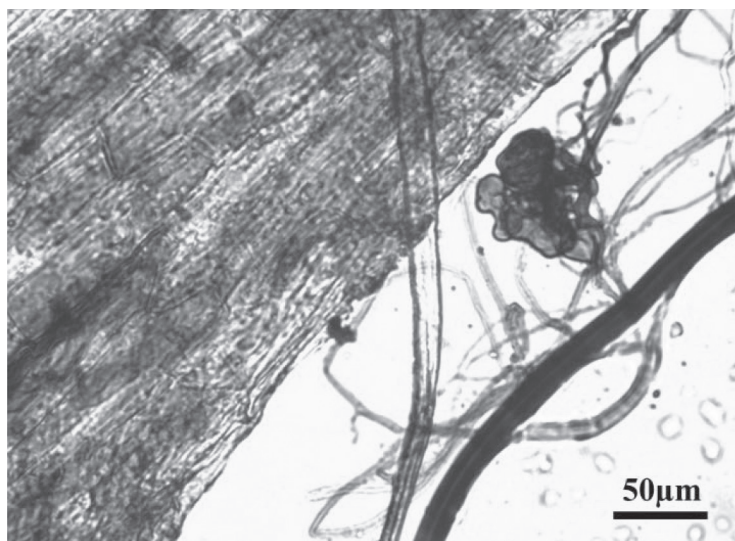


図 7. トウモロコシ根に感染した *Gigasporaceae* 科の Auxiliary 細胞

7.1.7. ブラジル赤黄色土における廃菌床添加および緑肥栽培が作物の生産性と土壌特性に与える影響

2023 年度は、ブラジル土壌を用いた不攪乱コア栽培に重点を置き、研究を行った。その結果、ブラジル土壌では、廃菌床の添加によりトウモロコシの生育が向上した。また、廃菌床の添加により土壌化学性と生物性が顕著に変化した。特に廃菌床の添加は、土壌中の無機態窒素含量および可給態リン酸含量を増加させた。一方で、廃菌床の添加により、土壌中の硝酸態窒素含量が増加し、土壌 pH は酸性化した。土壌の生物性は、廃菌床の添加により、添加した土壌表層で土壌酵素活性が増加し、グロマリン含量が増加した。特に、ウレアーゼ活性とホスファターゼ活性は、緑肥と廃菌床の併用により、廃菌床のみ施用や緑肥のみ施用した処理区よりも顕著に向上した。Wang et al. (2021) は、滅菌または非滅菌の廃菌床ともに、廃菌床の添加により土壌酵素活性 (β -1,4-glucosidase, β -d-cellobiosidase, β -1,4-acetyl-glucosaminidase, acid phosphatase, protease) が増加したことを報告している。Joniec et al. (2022) は、廃菌床添加 1 年目でウレアーゼ活性が高くなったことを報告している。本研究では、不攪乱土壌コアでトウモロコシを 3 作栽培し、本条件下においても先行研究を支持する結果となった。しかし、それらの生物性向上の結果は、廃菌床を添加した表層のみであり、廃菌床を添加した下層土 (5~20cm) の土壌深度では、土壌酵素活性およびグロマリン含量の増加は確認されなかった。一方、栽培前の土壌における廃菌床添加による土壌呼吸活性の結果から、表層 (0~10cm) および下層 (10~20cm) とともに、廃菌床の添加により呼吸活性が増加した。従って、10~20cm の深度においても、土壌に廃菌床を添加すると、土壌微生物の活性が高まることが示唆された。土壌物理性については、には、仮比重は廃菌床添加と緑肥の栽培を併用することにより、5~10cm の次表層で仮比重が減少した。また、廃菌床の添加と緑肥栽培により、透水性が向上した。以上より、廃菌床の添加と緑肥栽培により、土壌肥沃度が向上し、作物の収量が向上した。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

本研究では、廃菌床施用により、作物生産性および土壌肥沃度と土壌生物性が改善された。一方で、それらの効果の大小は、土壌に依存していた。本研究で得られた研究成果は、2023 年度からの JIRCAS 委託研究「もみ殻による菌床栽培技術開発および廃菌床施用効果の検証」においてガーナ国、2024 年度住友財団研究助成「北東アジア半乾燥地の風食抵抗性放牧地の開発」においてモンゴル国で実証試験を行い、より広範囲での普遍化や社会実装に向けて活用する。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本研究では、厚木キャンパス黒ボク土試料以外の宮古亜熱帯農場の富塩基土試料およびブラジル ESALQ の赤黄色土試料での土壌薄片観察や比重分画法による土壌団粒分析、メタゲノム解析を行い、土壌化学性、物理性、生物性および生産性との関連について解析を行う。

10. 公表した成果一覧

学会発表

- 1) **Hiroko Nakatsuka**, Arisa Noguchi, Elke J.B.N. Cardoso. (12-13th, Nov., 2022). Effect of spent mushroom substrate (*Lentinula edodes*) and plant roots (*Zea mays* var. *indentata*) on subsoil microstructure in Andosol, Japan. I REUNIÃO BRASILEIRA DE MICROMORFOLOGIA DE SOLOS, Axis 6: Micromorphology applied to study of soil biota, ESALQ/USP, Piracicaba-SP, Brazil.
- 2) **Hiroko Nakatsuka**, Denise de Lourdes Colombo Mescolotti, Antonio Marcos Miranda Silva, Arisa Noguchi, Elke Jurandy Bran Nogueira Cardoso. (11-14th, Apr., 2023). Spent mushroom substrate of *Pleurotus ostreatus* increases soil enzyme activities, glomalin content and maize biomass. V Simpósio de Microbiologia Agrícola: “Aplicações e perspectivas para agricultura do future”, Poster No.47, ESALQ/USP, Piracicaba-SP, Brazil.

2023年度 東京農業大学 海外協定校との共同研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 入江 憲治

1. 研究課題名および予算額

研究課題名
ケニア農村地域における健康と栄養改善に向けた郷土食材資源の開発

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	入江 憲治	国際食料情報学部 国際農業開発学科・教授	研究統括・ 動植物栄養素資源探索
研究分担者	日田安寿美	応用生物科学部 栄養科学科・教授	食習慣・食生活変化の促進
	山内 淳	国際食料情報学部 国際食農科学科・教授	食材資源の栄養素評価
	松田 浩敬	農学部 デザイン農学科・教授	食習慣・食生活変化の促進
	武田 晃治	教職・学術情報課程・教授	動植物栄養素資源探索

3. 研究期間

2023年6月7日～2024年3月31日（3年計画の1年目）

4. 研究の背景（当初）

世界には、9人に1人が飢餓状態とされ、3人に1人が何らかの栄養障害にある。とくに開発途上国では、十分な食料が得られず栄養素欠乏による疾病にかかる人たちも多い一方で、同時に炭水化物の過剰摂取による肥満症、高血圧症、糖尿病といった疾病が、先進国と同様に増えている。こういった栄養課題は、絶対的なエネルギー不足を解消するためにコメやコムギ、トウモロコシなどの主食穀類に集中した食料生産が一つの要因となっている。申請者らは、ケニア農村地域における地域農産物の利用促進による栄養・生活改善を目的に、『新たな栄養評価法の導入による栄養改善事業』を実施してきた。その成果として、栄養評価のアプリケーションを開発し、農村地域の栄養分析・評価の協力を行っている。ケニアでは、2014年の統計データによると成人女性の3人に1人が過体重または肥満であり、増加傾向である一方で、5歳未満の子ども4人に1人は発育障害である。この背景として、多くの地域が微量栄養素を多く含む栄養価の高い食料に手ごろな値段でアクセスできず、栄養バランスの良い食事にありつけていないことが要因としてあげられ、食生活の改善は喫緊の課題となっている。ケニアでは多様な自然環境を背景に、伝統的に栽培されてきた多様な地域農産物や野生の動植物があり、地域住民の栄養源

として利用されている。一方、多種類の緑色葉野菜といった地域食料資源は、ほとんどは低利用で食生活の変化や市場価値の高い食材の導入などにより、消失の危機にある。これらの食材資源は、様々な環境ストレスの適応に優れ、良質なタンパク質、ビタミン A や鉄分などの微量栄養素を豊富に含んでおり、低中所得世帯でも栄養素の確保を容易にするために重要な役割を果たすと考えられる。

5. 研究目的

本研究では、ジョモケニヤッタ農工大学と協力し、伝統的に利用されてきた地域食材資源を探索し、その栄養価を評価し、新しい郷土食品の開発を目的とする。さらに食材を多様化することで、多様な栄養素資源の摂取を促進させ、主食（穀類）、副菜（緑色葉野菜など）とともに良質なたんぱく質源となる食材を検討し、バランス良い食事を提案する。本研究の成果は、健康的で地球にやさしい食事を促進するためのカギとなり、食料安全保障に対するレジリエンスを高めることが期待される。

6. 研究（実験）方法

本研究の相手国の研究代表者は、ジョモケニヤッタ農工大学（JKUAT）動物学科の Gicheha Mathew Gitau 主任講師を代表研究者とし、国際農業研究機関の Alliance of Bioversity International and CIAT、国立ケニア博物館とも連携する。研究対象地域は、ケニアの首都ナイロビの北西に位置する湿潤地域のヴィヒガ郡（Vihiga county）と南東部に位置する乾燥地域のキツイ郡（Kitui county）、ナイロビ近郊のキアンブ郡（Kiambu county）の農村部とし、以下の課題を研究の柱とする。

課題 1 農村地域における動植物栄養素資源のインベントリー調査（武田晃治・入江憲治・Gicheha Mathew Gitau）

ケニアでは伝統的に利用されてきた多様な動植物があり、地域住民の栄養・収入源として利用されている。有用植物資源の数は 800 以上とされ、シロアリなどの昆虫食もまた貴重なたんぱく質摂取源となっている。これらの食材として利用できる動植物資源を PIC、MAT の取得とともに伝統知およびインベントリー調査し、得られた情報をデータベースに登録する。

課題 2 探索収集された食材資源の栄養素評価（山内淳）

課題 1 で収集した食材資源を JKUAT および本学にて、エネルギー量、水分、たんぱく質、脂質、炭水化物の一般分析、鉄、カルシウム、ナトリウム、亜鉛、マグネシウム、硫黄などのミネラル、機能的成分を分析し、一般食材としての適正を評価する。とくにケニアでは、たんぱく質資源は豊富でなく、たんぱく質の補給源となる食材を開発し、良質のたんぱく質を食生活に取り込むことが重要となることから、食材のたんぱく質の量と質は重点的に評価する。

課題 3 農村地域における食習慣・食生活変化の促進（日田安寿美・松田浩敬）

「バラエティ豊かで栄養バランスのよい食事改善、健康の維持・増進に資する食事を提供する」には、これまでの食習慣・食生活の変化を促進させることが不可欠である。食事記録（DR）と食物摂取頻度調査票（FFQ）による調査を実施し、ADD-IT アプリケーションを強化・改良し普及を促す。また、食事行動、食品の選択、社会経済状況、利用食材の農業生物多様性等を調査し、食生活変化の意識・行動を分析することで、適切な栄養摂取を促進するための食育を行い、健康な食事の実践のための食意識や食行動の変容を促す。

課題4 地域食材資源を活用した食品の開発と普及（全員）

課題1、2の成果から、JKUAT、ケニアの民間企業と連携し、地域食材資源を活用した郷土食材の開発と普及を促進する。革新的な食品素材や食品加工技術を集約させ、食材資源の多様な利用を図ることで、都市部の需要の向上、農村部の生産拡大、収入改善、持続的な食料生産、農業多様性の保全に貢献する。

7. 研究成果

2023年には、ジョモケニヤッタ農工大学との共同研究の実施に向け、8月10日～20日に日本側研究者3名（入江憲治、山内淳、武田晃治）およびプロジェクトに関連した研究課題を博士論文研究とする学生1名がケニアに渡航し、ジョモケニヤッタ農工大学の研究代表者である Gicheha Mathew Gitau 博士と共同研究の内容について協議を行った。また、生物多様性条約のナショナル・フォーカルポイントであるケニア博物館の Kenya Resource Centre for Indigenous Knowledge (KENRIK) を訪ね、PIC、MAT の取得、伝統知およびインベントリー調査に必要な事項について協議した。

課題1 農村地域における動植物栄養素資源のインベントリー調査

ケニア北西部のビヒガ郡には、大学連携により JICA 海外協力隊（2021年10月～2023年11月）として活動していた大学院生が、同地域の植物資源のインベントリー調査を実施した。その結果、同地域では作物67種が確認された。その内訳は、穀類3種、香草類4種、地域葉菜類15種、果物類22種、マメ類9種、イモ類5種、導入野菜類8種、食用・果実用バナナ、サトウキビが栽培され、地域内の各村間で多様度が異なった。研究成果は、日本熱帯農業学会第135回講演会（2024年3月）にて学会発表¹⁾を予定している。さらに2024年3月6日～13日にケニアに研究者および大学院生1名が渡航し、この地域の伝統的食材のシロアリのサンプル収集と日本への導入を試みる。

ケニア南西部のキツイのインベントリー調査は、国際機関のバイオバーシティインターナショナルが実施した調査データを共有し、解析を進めている。

課題2 探索収集されたれた食材資源の栄養素評価

ケニア・ビヒガ地域から導入した伝統的地域葉菜資源のアマランサスの葉90点のカルシウム、鉄分、カリウム、マグネシウム、マンガン、ナトリウム、リンの成分含量の分析を行った。

2023年8月に研究対象地域のキツイ郡およびビヒガ郡を訪問し、両地域のたんばく質資源であるマメ類、小魚の食材収集を行った。現在、これらの食材サンプルのタンパク質含量の分析を行っている。

課題3 農村地域における食習慣・食生活変化の促進

大学連携により JICA 海外協力隊（2022年9月～2023年7月）として KENRIK にて活動していた大学院生が、ビヒガ郡およびキツイ郡における食事記録（DR）による調査を実施し、栄養素等摂取量、食品群別摂取量、社会経済状況、利用食材の農業生物多様性等を調査し、保護者（女性）と5歳未満児の摂取量の関係性を分析した。その結果、保護者の摂取量と子供の摂取量には正相関がみられ、子供の栄養状態の改善には保護者の食事を改善する事が重要であることが示された。また、1000kcalあたりの栄養素等摂取量では、子供の方が栄養素密度が高く、子供に優先的に食事を与えている可能性が考えられた。また、保護者は肥満であっても、たんばく質、ビタミン類、ミネラル類は不足している可能性が示された。今後は、子供だけでなく、保護者への食育を通じて現地で入手可能な食材を活用しながら食習慣を改善していくことが望ましいと考えられた。

課題4 地域食材資源を活用した食品の開発と普及（全員）

8月のケニア訪問では、ナイロビからキツイへの道中にあるマチャコスのザリガニ養殖場を訪ね、動物性たんぱく質資源としての食品の可能性を探った。ケニアでは食材としてのザリガニ利用は、今のところないが、貴重なたんぱく質資源としての食品開発と普及の可能性は高いと考えられた。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

課題3の農村地域における食習慣・食生活変化の促進の研究の成果が、栄養学専攻の大学院生の博士論文研究の一部となっている。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

課題1のビヒガおよびキツイ地域における動植物栄養素資源のインベントリー調査にて見出された食材資源の栄養評価を進め、食品開発とフードデモンストレーションなどを通じた食事介入の研究を推進する。また、ザリガニなど新たなたんぱく質資源導入の研究にも取り組む。

10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) Kishino M, Hida A, Ishikawa-Takata K, Tada Y, Kariuki L, Maundu P, Matsuda H, Irie K, Morimoto Y: Relationship of dietary intake between children aged 12-59 months and their mothers in rural Kenya: a cross-sectional study in two seasons, J Hum Nutr Diet. 2023, doi: 10.1111.

学会発表

- 1) 伏見和子・Patrick Maundu・Esther Odera・入江憲治・森元泰行（2024）. ケニア共和国ビヒガ・カウンティにおける農業多様性と食習慣. 日本熱帯農業学会第135回講演会（千葉大学柏の葉キャンパス）.

2023年度 東京農業大学 博士支援テーマ重点化プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 上原 万里子

1. 研究課題名および予算額

研究課題名
体内栄養状態を反映するバイオマーカーとしての抗加齢タンパク質 SMP30の新たな生理的役割

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	上原万里子	応用生物科学部 食品安全健康学科・教授	研究統括
研究分担者	井上 博文	応用生物科学部 食品安全健康学科・准教授	実験実施・研究指導
	荒川 航太	応用生物科学研究科 食品安全健康学専攻・博士後期課程3年	実験計画立案・実施

3. 研究期間

2023年6月7日～2024年3月31日（1年計画の1年目）

4. 研究の背景（当初）

日本における高齢化は急速に進行し、2019年には65歳以上が総人口の28.4%を占めるまでに至っている。この超高齢社会を健全に維持するためには“健康寿命の延伸”が最も重要である。これまでに加齢に伴うアルツハイマー病や心血管疾患の早期診断のためのバイオマーカー研究が盛んに行われて来たが、具体的な確立には至っていない。そこで我々は、性差を問わず加齢と共に減少するSMP30（Senescence Marker Protein 30）に着目した。SMP30遺伝子欠損マウスでは、脂肪粒の増加やエネルギー産生に関わるミトコンドリアの形態異常、著しい骨量の減少が報告されている。即ち、加齢によるSMP30の発現低下は、様々な疾患の発症リスクを増加させる一因となることが考えられる。これまで我々は、鉄欠乏状態におけるSMP30発現低下により細胞老化が亢進されることを報告している（Inoue H et al., *Biosci Biotechnol Biochem*, 2018）。加えて、ヒトと同様なビタミンC合成不全動物を用いた研究では、ビタミンC不足状態の組織中SMP30が、細胞からのメッセージ物質を運ぶカプセルといわれる細胞外小胞であるエクソソーム（EVs: extracellular vehicles）を介して血中に放出されることを確認し、SMP30が体内状態の変化を検知するような生理的役割を示すことを見出した（博士支援研究）。また、非栄養性機能物質（非栄養素）である緑茶カテキンEGCG（Inoue H & Arakawa K et al., *J Clin Biochem Nutr*, 2021）や葡萄などに多く含まれ健康長寿に寄与するといわれるresveratrol（RSV）、エストロゲン様作用を有する

大豆イソフラボン類についても SMP30 発現を増加させる食品成分として検討している。このように SMP30 の増減が生体内の栄養・健康（老化）状態を反映し、加齢性疾患の早期発見に寄与するバイオマーカーとなれば、各種疾患の予防に有用なツールとなり得る。

5. 研究目的

以上の背景を踏まえ本研究では、1) 3 種のモデル動物を用いて SMP30 の組織から血中または尿中への放出レベルを網羅的に解析することで、生体内栄養・健康（老化）状態を表す有用なバイオマーカーとなる可能性を明らかにする、2) 細胞を用いて SMP30 発現を増加させる EGCG 以外の 2 種の食品成分（非栄養性素）の作用機序を解明することを目的とした。

6. 研究（実験）方法

実験 1 として、1-1) ビタミン C（アスコルビン酸：AsA）濃度依存的な SMP30 のバイオマーカーとしての機能解析、1-2) 急性肝障害モデルにおける SMP30 のバイオマーカーとしての機能解析の 2 点について研究を遂行した。実験 2 として、SMP30 発現を増加させる食品成分として見出した 2-1) RSV と 2-2) イソフラボン代謝産物の equol (Eq) 鏡像異性体の SMP30 発現増加の作用機序について明らかにするため、ラット肝臓由来細胞株 FAO 細胞を用いた研究を遂行した。具体的な実験方法は以下に示す。尚、実験結果の統計処理方法として、2 群間の比較の場合、対応のない t-test を使用し、3 群以上の場合には一元配置分散分析後、多重比較検定（3 群：Fisher's PLSD、4 群以上：Tukey-Kramer test）を行い、 $p < 0.05$ で有意とした。

【実験 1】

1-1) ビタミン C (AsA) 濃度依存的な SMP30 のバイオマーカーとしての機能解析

AsA 生合成能を欠く 4 週齢雄性 ODS (Osteogenic Disorder Shionogi) ラットに蒸留水 (AsA 欠乏群) または 0.1% AsA 添加水 (AsA 充足群) を与えた 2 群に分け、AIN-93G による 2 週間の Pair-feeding を行った。飼育終了後、血液および各組織を採取し、組織重量、肝障害マーカー (AST (aspartate aminotransferase), ALT (alanine aminotransferase)) を測定し、肝臓・血清 EVs 中 SMP30 および AsA 濃度の解析を行った。

また、AsA 欠乏レベルが SMP30 の EVs への分泌に及ぼす影響についても検討を行った。被験動物として、4 週齢雄性 ODS ラットに蒸留水 (AsA 欠乏群) または 0.03% AsA 添加水 (AsA 不足群)、0.1% AsA 添加水 (AsA 充足群) を与えた 3 群に分け、AIN-93G による 2 週間の Pair-feeding を行った。飼育期間終了後、血液および各組織を採取し、組織重量、肝障害マーカー (AST、ALT)、肝臓・血清 EVs 中 SMP30 および AsA 濃度を測定し、EVs マーカー、EVs 放出の主要経路の一つである STAT3 (Signal transducer and activator of transcription 3) シグナルの解析を行った。

1-2) 急性肝障害モデルにおける SMP30 のバイオマーカーとしての機能解析

急性肝障害モデルの一つであるアセトアミノフェン (APAP) 投与動物を用い、引き起こされた肝障害による SMP30 の血清 EVs 中への放出と AsA 濃度との関連を明らかにすることを目的とした。被験動物として、7 週齢 Wistar 雄ラットを用い、対照 (CTL) 群および APAP 群 (1,000mg/kg 投与) の 2 群に分け、APAP の経口投与から 24 時間後の組織重量、肝障害マーカー (AST、ALT、LDH (lactate dehydrogenase))、肝臓中酸化ストレスマーカー (malondialdehyde: MDA) 量、総グルタチオン (GSH) 濃度を測定し、肝臓・血清 EVs 中 SMP30 および AsA 濃度の解析を行った。さらに、ヘマトキシリン・エオジン (HE)

染色した肝臓切片を光学顕微鏡にて観察し、肝障害の有無を確認した。

【実験 2】

我々は、EGCG が Ubiquitin-proteasome 系阻害を介して SMP30 発現を安定化させることで SMP30 発現を増加させることを明らかにしているが、異なる機序で SMP30 発現を制御する 2 種の非栄養素についても解析した。

2-1) Resveratrol (RSV) による SMP30 発現制御機構の解析

ラット肝臓由来細胞株 FAO 細胞に対し、RSV (1-100 μ M) を 24 時間処理し、WST-8 法による細胞生存率の評価を行った。続いて、RSV の SMP30 発現に対する影響を明らかにするため、FAO 細胞に対し RSV (10-50 μ M) を 24 時間処理後、Western Blot (WB) 法による解析を行った。また、先行研究より、AMPK (5' adenosine monophosphate-activated protein kinase) は RSV によって活性化される主要なシグナル分子として報告されていることから、JASPAR を用いた SMP30 遺伝子のプロモーター領域の応答配列について検討を行った。

2-2) 大豆イソフラボン代謝産物 equol (Eq) による SMP30 発現制御機構の解析

RSV と同様に FAO 細胞に対し、Eq 鏡像異性体 (10-100 μ M) WST-8 法による細胞生存率の評価を行った。続いて、Eq 鏡像異性体が SMP30 発現に対する影響を明らかにするため、FAO 細胞に対し Eq 鏡像異性体 (10-100 μ M) を 24 時間処理後、WB 法による解析を行った。Eq はエストロゲン受容体 (ER) への結合を介してシグナル伝達を制御することが知られている。Eq による SMP30 発現変動が ER 依存性かどうかを確認するため、FAO 細胞に ER 拮抗阻害剤である ICI 182,780 (終濃度 5 μ M) で 2 時間前処理後、30 μ M の Eq 鏡像異性体で 24 時間の併用処理を行った後、WB 法によるタンパク質発現を解析した。また、SMP30 はカルシウム結合ドメインを持つことから細胞内カルシウム濃度を変動させ、細胞死を制御することも報告されている。Eq による SMP30 発現増加が細胞死を誘導する小胞体ストレスを緩和することが推測されるため、Eq 鏡像異性体 (本実験では (S)-equol のみで検討) による SMP30 発現変動と小胞体ストレス制御について検討を行った。FAO 細胞に (S)-equol を終濃度 30 μ M で 24 時間前処理した後、終濃度 0.5 μ g/ml Tm で 6 時間処理を行った。その後、小胞体ストレスマーカーである GRP78、CHOP 遺伝子発現について、SYBR Green を用いた定量的 PCR (q-PCR) 法にて解析を行った。

7. 研究成果

【実験 1】

1-1) ビタミン C (AsA) 濃度依存的な SMP30 のバイオマーカーとしての機能解析

体内 AsA の有無が SMP30 発現に及ぼす影響を解析した結果、血清 AsA 濃度は、AsA 充足群に比し AsA 欠乏群で有意に低下したが、肝障害マーカー AST/ALT 比は AsA 欠乏群で有意に増加した。肝臓中 SMP30 発現は、AsA 充足群に比し AsA 欠乏群で有意に低下したが、腎臓では SMP30 発現変動が認められなかった。加えて、血清 EVs 中 SMP30 発現ならびに肝実質細胞由来 EVs マーカーである ASGPR1 (Asialoglycoprotein Receptor 1) 発現は AsA 充足群に比し AsA 欠乏群で有意に増加した。そこで EVs 放出の主要な経路の一つである STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3) シグナルの解析を行った。その結果、AsA 充足群に比し AsA 欠乏群では肝臓中 STAT3 のリン酸化および STAT3 標的遺伝子発現 (*Hp* (Haptoglobin)、*AGP* (α 1-Acid glycoprotein)、*SOCS3* (Suppressor of Cytokine Signaling 3)) は何れも増加した。さらに、STAT3 活性を制御する血清中ケモカインである *CINC-1* (cytokine-induced neutrophil chemoattractant-1) 濃度やその受容体の *CXCR2* (C-X-C chemokine receptor type 2) 遺伝子発現

も AsA 欠乏群で有意に増加した。以上より、AsA 欠乏は肝特異的に SMP30 の血清中 EVs への放出を促進することを明らかにし、この放出は CINC-1/CXCR2/STAT3 系を介していることを確認した。以上より、SMP30 の EVs 放出が AsA 欠乏の指標となる可能性が示唆された（学術論文 1 に該当する成果）。

続いて、体内 AsA 欠乏レベルが SMP30 分泌に及ぼす影響について検討した結果、血清・肝臓・腎臓中 AsA 濃度は、AsA 充足群に比し AsA 不足及び AsA 欠乏群で段階的に減少した。SMP30 発現は、肝臓中では AsA 充足群に比し AsA 欠乏群で有意に減少したが、AsA 不足群では変動を示さなかった。一方、腎臓中 SMP30 発現では、全群間に有意な差は認められなかった。血清 EVs 内 SMP30 発現は、AsA 充足群に比し AsA 欠乏群でのみ有意に増加し、EVs マーカーの ASGPR1 発現も SMP30 発現と同様の挙動を示した。加えて、EVs 分泌の主要なシグナル経路である STAT3 について、AsA 充足群に比し、AsA 欠乏群でのみ、肝臓における STAT3 のリン酸化および STAT3 標的遺伝子発現が有意に増加した。以上より、AsA 欠乏による肝由来 SMP30 の血清中 EVs 放出と STAT3 シグナルの活性化は、重度な AsA 欠乏でのみ引き起こされる現象であることが示唆され、肝障害を伴うことが示唆された（論文投稿準備中）。

1-2) 急性肝障害モデルにおける SMP30 のバイオマーカーとしての機能解析（学会発表 1 に該当）

実験 2-1 から、肝障害レベルと肝由来 SMP30 の血清 EVs 中への放出に正の相関があることを見出したことから、本実験では、急性肝障害モデルで引き起こされた肝障害による SMP30 の血清 EVs 中への放出と AsA 濃度との関連を明らかにすることを目的とした。その結果、肝臓重量、AST、ALT、LDH および肝臓中 MDA 量は CTL 群に比し、APAP 投与群で著しい増加を示したが、総 GSH 濃度は逆に有意な減少を示した。光学顕微鏡による肝臓切片の状態は、CTL 群に比し、APAP 群で肝小葉中心性の巣状壊死に加え、所々に免疫系細胞の浸潤が認められた。上記、臓器重量及び生化学値の結果と合わせ、APAP 投与による急性肝障害が生じていることを確認した。また、肝臓および血清中 AsA 濃度は 2 群間で有意な差を示したが、正常範囲での変動であった。一方、肝臓中 SMP30 は CTL 群に比し APAP 投与群において有意な減少を示し、血清中 EVs 中 SMP30 発現は APAP 投与群で有意に増加した。以上より、APAP 誘発性急性肝障害時において、体内 AsA 濃度とは非依存的に、肝由来 SMP30 の血清中 EVs 内への放出が増加することを明らかにした（論文投稿準備中）。

【実験 2】

2-1) Resveratrol (RSV) による SMP30 発現制御機構の解析（学術論文 2 に該当）

FAO 細胞を用いて RSV 処理による細胞毒性評価を行い、50 μ M まで毒性を示さなかったため、以降、30 μ M を最大濃度として使用した。SMP30 発現について、RSV 処理は無処理群に比し、10 μ M から SMP30 の発現を増加させた。また、転写因子結合予測サイトの JASPAR を用いた応答配列の解析から、SMP30 遺伝子のプロモーター領域に AMPK 下流分子の一つである Foxo1 (forkhead box protein O1) の応答配列が存在することが推測された。そこで RSV による SMP30 発現調節機構を明らかにするため、AMPK 活性阻害剤である Compound C との併用処理を行った結果、RSV 処理で増加した SMP30 発現は Compound C で抑制された。さらに、Foxo1 選択的阻害剤である AS1842856 を用いて同様の検討を行ったところ、RSV による SMP30 発現増加は抑制された。以上より、SMP30 の発現を上昇させる食品成分として、新たに RSV を同定した。また、RSV による SMP30 発現上昇の作用機序として、AMPK-Foxo1 経路を介する可能性が示唆された。

2-2) 大豆イソフラボン代謝産物 equol (Eq) による SMP30 発現制御機構の解析 (論文投稿準備中)

FAO 細胞を用いて Eq 鏡像異性体処理による細胞毒性評価を行ったところ、100 μ M まで毒性を示さなかったため、以降 100 μ M を最大濃度として使用した。SMP30 発現について、無処理群に比し 30 μ M (*S*)-equol は有意に増加したが、100 μ M (*S*)-equol では影響が認められなかった。*(R)*-equol はすべての処理濃度 (10-100 μ M) で無処理群に比し SMP30 発現が有意に増加したが、濃度依存的な増加は認められなかった。Eq 鏡像異性体による SMP30 発現増加が ER 依存性か否かを確認する為、FAO 細胞に ER 拮抗阻害剤である ICI 182,780 を併用処理したところ、無処理群に比し、両鏡像異性体処理群で増加した SMP30 発現は、何れも ICI 182,780 処理により有意に抑制された。よって、Eq 鏡像異性体の SMP30 発現増加は ER を介していることが示唆された。小胞体ストレスに与える影響については、無処理群に比し、0.5 μ g/ml Tm 処理により *GRP78*、*CHOP* 遺伝子発現が増加したことから小胞体ストレスが誘導されていることが確認され、(*S*)-equol (*(R)* 体については実施していない) は Tm 誘導性 *GRP78*、*CHOP* 遺伝子発現増加を有意に抑制することが確認された。

以上より、体内栄養・健康状態が変動し、肝障害等が引き起こされる際に SMP30 が血清の細胞外小胞の EVs 内へと放出されることが確認され、バイオマーカーとして利用できる可能性が期待される結果となった。また、非栄養性機能物質の SMP30 発現増加について幾つかの物質で検討した結果、物質ごとに異なる作用機構を示すことが確認されたが、安全性評価に対するバイオマーカーとしての利用については、今後、さらなる検討が必要とされる。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特になし

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

これまで、SMP30 の機能解析には、ビタミン C 合成律速酵素という視点から、主に SMP30 ノックアウトマウスを用いた研究がなされてきた。しかし本研究では、ヒト同様にビタミン C を作ることができない ODS ラットを用いて、ビタミン C 欠乏に伴う肝障害により、SMP30 が血清 EVs 内に放出されること (学術論文 1 に該当)、それも重度のビタミン C 状態で引き起こされることを見出した (実験 1)。続いて、アセトアミノフェンを用いた急性肝障害モデルにおいて、ビタミン C 濃度非依存的に SMP30 が血清 EVs 内への放出されることも明らかにした (論文投稿準備中：学会発表 1 に該当)。今後、SMP30 とビタミン C の相互作用が、肝障害研究における新たなテーマとなることが推察される。

一方、本研究には残された課題も多い。まず、SMP30 の血中 EVs への放出の機序が肝障害による直接的なものなのか否かについては不明であり、今後、肝障害抑制剤 (抗酸化剤) などを用いた解析が必要になる。また、非侵襲性を考慮した尿中 SMP30 の動態については、検討途中である。さらに、ミネラル欠乏時における SMP30 の挙動や非栄養性機能物質摂取時の安全性評価に対して SMP30 がバイオマーカーとして利用可能か否かについて検討を進めることができなかった。その一方で、SMP30 ノックダウンの実験系が構築できたことから、今後、SMP30 ノックダウン時における非栄養性機能物質 (非栄養素) 投与による毒性発現の有無を明らかにし、安全性評価へと繋げることができると考える。

10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) Arakawa K, Inoue H, Ishigami A, Sato A, Takino Y, Tanaka M, Morimoto H, Takahashi N, Uehara M, Release of SMP30 in extracellular vesicles under conditions of ascorbic acid deficiency is involved with acute phase response in ODS rat, *J Nutr Sci Vitaminol*, 69: 420–427, 2023
- 2) Inoue H, Shimizu Y, Yoshikawa H, Arakawa K, Tanaka M, Morimoto H, Sato A, Takino Y, Ishigami A, Takahashi N, Uehara M, Resveratrol upregulates senescence marker protein 30 by activating AMPK/Sirt1–Foxo1 signals and attenuating H₂O₂-induced damage in FAO rat liver cells, *J Nutr Sci Vitaminol*, 69: 388–393, 2023.

学会発表

- 1) 荒川 航太、井上 博文、石神 昭人、佐藤 綾美、滝野 有花、美谷島 克宏、大橋 清佳、森本 洋武、高橋 信之、上原 万里子. 抗加齢タンパク質 SMP30 は APAP 誘発急性肝障害時に細胞外へ放出される. 第 28 回日本フードファクター学会、2023 年 11 月.

2023年度 東京農業大学 博士支援テーマ重点化プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 和田 健太

1. 研究課題名および予算額

研究課題名
<i>Fgf5</i> の変異を介した長毛化と、その性差を引き起こすメカニズムの解明

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	和田 健太	生物産業学研究科 生物産業学専攻・教授	遺伝学的解析・総括
研究分担者	高橋 諒	生物産業学研究科 生物産業学専攻・博士後期課程2年	発現解析・ゲノム編集マウス
	興石 雄一	東京農業大学 生物資源ゲノム解析センター・研究員	RNA-seq 解析

3. 研究期間

2023年6月7日～2024年3月31日（1年計画の1年目）

4. 研究の背景（当初）

毛包は哺乳類の皮膚に存在する特徴的な小器官である。毛包は周期的な発毛と脱毛を繰り返しており、それは毛周期と呼ばれている。毛包は多くのシグナル伝達に制御されていることが報告されているが、その詳細な制御機構はいまだ明らかにされていない。

Fibroblast growth factor 5 (*Fgf5*) は毛周期を成長期から退行期に移行させる強力な因子であり、*Fgf5* をコードする遺伝子の突然変異はイヌやネコ、マウス、ヒトにおいて異常な被毛の伸長を引き起こすことが報告されている。我々もまた自然発症により単離・近交化された長毛シリアンハムスター (MALC) が *Fgf5* の1塩基欠失変異 (*Fgf5^{malc}*) であることを明らかにしてきた (Yoshizawa et al. 2015. *Mamm Genome*)。しかし、MALC はこれまでの *Fgf5*/FGF5 変異体と異なり、オスに顕著な長毛を示した。さらに我々は、この性差が男性ホルモン受容体 (AR) の活性化によって引き起こされることも併せて報告した (Yoshizawa et al. 2015. *Mamm Genome*)。 *Fgf5* 変異と AR の活性化が被毛長に性差を引き起こす現象は、これまでの報告にない初めてのケースであった。しかし、*Fgf5* 変異と AR の活性化がどのようなメカニズムで被毛長の性差を引き起こすのかは不明のままである。

シリアンハムスターにおける研究ツールやゲノム情報は数が限られるため、研究ツールの豊富なマウ

スに MALC と類似する *Fgf5* 変異を導入したモデルマウスが必要であった。そこで申請者らは顕微注入を必要としない簡便なゲノム編集マウスの作製法、*i*-GONAD 法によって *Fgf5^{malc}* に類似する変異を導入したモデルマウス (*Fgf5^{go-malc}*) を樹立した (Takahashi et al. 2022. *Int J Mol Sci*)。申請者らの期待通り *Fgf5^{go-malc}* の被毛は野生型に比べて伸長し、それはメスに比べオスに顕著であった。これにより申請者らはマウスにおいて *Fgf5* 変異と AR の関連を明らかにするモデル動物を確保できた。

5. 研究目的

本研究の目的は *Fgf5^{go-malc}* を用いて、変異型 FGF5 が AR の活性化を介して被毛長に性差を引き起こすメカニズムを解明することで、動物が普遍的に表現する性的二型をもたらす分子メカニズムの一端を解明することとした。

申請者らは昨年度までに① *Fgf5^{go-malc}* の皮膚組織において変異型 FGF5 が毛包に局在することで、被毛の成長期が延長することを報告している (Takahashi et al. 2022. *Int J Mol Sci*)。さらに②変異型 FGF5 の発現が毛包の成長を促進するシグナル伝達経路である Wnt/ β カテニンシグナル伝達経路と Shh シグナル伝達経路のシグナル伝達分子、*Ctnnb1* と *Shh* の発現を維持することで成長期を延長させることを明らかにしている。

前年度までの研究結果をふまえ、本研究では①変異型 FGF5 と受容体である FGF 受容体 1 (FGFR1) との結合可能性の検証および、② *Fgf5^{go-malc}* の皮膚組織で差次的に発現する遺伝子とタンパク質を明らかにすることで、*Fgf5^{go-malc}* の被毛に長毛化と性差を引き起こすメカニズムを解明することを目的としている。

6. 研究(実験)方法

①変異型 FGF5 と FGFR1 の結合可能性の検証

Fgf5^{go-malc} の皮膚で発現が確認された変異型 FGF5 が、FGFR1 と結合することを検証するために野生型および *Fgf5^{go-malc}* の雄 3 個体の皮膚組織切片を作製し、抗 FGF5 抗体と抗 FGFR1 抗体を用いた多重免疫組織染色を行った。観察には共焦点レーザー顕微鏡 (Leica TSC SP5 confocal laser-scanning microscope, Leica microsystems) を用いた。

② *Fgf5^{go-malc}* において差次的に発現する遺伝子群の探索

- 変異型 FGF5 が *Fgf5^{go-malc}* の被毛を伸長し、それに性差を引き起こすメカニズムを解明するため、*Fgf5^{go-malc}* の皮膚において差次的に発現する遺伝子をトランスクリプトーム解析によって探索した。サンプルには脱毛により毛周期を初期化し、17 日間発毛させた生後 66 日齢の野生型および *Fgf5^{go-malc}* の雌雄各 3 個体の皮膚組織由来トータル RNA を用いた。トランスクリプトーム解析には Nextseq1000 (Illumina) を用いた RNA-seq 解析を行い、野生型 vs. *Fgf5^{go-malc}* および雄 vs. 雌において発現変動する遺伝子群を抽出した。さらに抽出された遺伝子群から Gene Ontology 解析によって長毛化と性差の候補遺伝子を選定した。候補遺伝子となった転写産物の検証は、定量的 RT-PCR により行った。
- 変異型 FGF5 の発現がタンパク質の相互作用に与える影響を評価するため、皮膚組織由来タンパク質を用いたプロテオーム解析を実施した。サンプルには②-1 と同様の処理をした野生型および *Fgf5^{go-malc}* の雌雄各 1 個体を用いた。解析は SWATH 技術を用いた DIA (Data independent acquisition) 法による網羅的プロテオーム解析を、Q Exactive 質量分析計 (Thermo Fisher Scientific) を用いて行った。得られたデータからは 野生型 vs. *Fgf5^{go-malc}* および雄 vs. 雌において発現変動を示した翻訳産物

を抽出した。抽出された翻訳産物は KEGG パスウェイ解析により変異型 FGF5 の影響を受けたと思われる候補因子を決定した。

7. 研究成果

①変異型 FGF5 と FGFR1 の結合可能性の検証

Fgf5^{go-malc} の皮膚に発現する変異型 FGF5 が受容体である FGFR1 と結合する可能性を、野生型および *Fgf5^{go-malc}* の皮膚組織切片を用いた FGF5 および FGFR1 の免疫組織染色によって検証した。その結果、変異型 FGF5 は野生型 FGF5 と同様に毛包の毛乳頭細胞に検出され、さらに受容体である FGFR1 と共に細胞膜上に共局在を示した。変異型 FGF5 は FGFR1 との結合に重要な FGF ドメインを有している。そのため、この結果は変異型 FGF5 が FGFR1 と結合し、細胞内にシグナルを伝達する可能性があることを示唆した。

② *Fgf5^{go-malc}* において差次的に発現する遺伝子群の探索

1. Nextseq1000 を用いた RNA-Seq 解析は、野生型と *Fgf5^{go-malc}* の間に有意な発現変動を示した 38 種（増加：20 種、減少：18 種）の遺伝子を抽出した。抽出された遺伝子群は Gene Ontology 解析の結果、“keratin filament” (GO:0045095) に分類された ($P<0.01$)。発現量が上昇した遺伝子は 4 種のケラチン関連タンパク質 (*Krtap*) および角化に関連する *Lcelc* などの遺伝子を含んだ。また、毛包の休止期に高発現する *Angptl7* および毛周期のアポトーシスを調節する *Tsc22d3* は *Fgf5^{go-malc}* において発現量の減少がみられた。くわえて、定量的 RT-PCR による検証は、*Fgf5^{go-malc}* において発毛の維持・促進に関与する *Shh* の発現量が野生型に比べて有意に高いことを明らかにしている。また、発現量が低下した遺伝子はヒト皮膚繊維芽細胞においてコラーゲン合成の阻害に関与する *Fkbp5* および *Tsc22d3* を含んだ。これらの結果は、*Fgf5^{go-malc}* は野生型よりも毛周期の成長期が延長し、活発な被毛形成を維持することを示唆した。

さらに、*Fgf5^{go-malc}* における被毛長の性差に関与する遺伝子を同定するため、野生型の雌雄間において発現量の差異がなく、かつ *Fgf5^{go-malc}* の雌雄間において有意な発現変動がみられた遺伝子 22 種（増加：17 種、減少：5 種）を抽出した。抽出された遺伝子群は Gene Ontology 解析の結果、“intermediate filament” (GO:0005882) および “keratin filament” (GO:0045095) に分類された ($P<0.001$)。これらの GO にカテゴライズされた遺伝子は 14 種のケラチン (*Krt*) および *Krtap* ファミリーを含んだ。さらに、コラーゲンの原料となるプロリンの産生に関与する *Pycr1*、ステロイドや脂質の生合成に関与する *Hmgcs2* は *Fgf5^{go-malc}* の雄において高い発現量を示した。一方、発毛を阻害するアデニル酸シクラーゼ活性を有する *Ak8* や酸化ストレスを誘発する *Vnn3* は、*Fgf5^{go-malc}* の雄において発現量の低下を示した。定量的 RT-PCR による検証において、*Krt34* や *Krtap21-1* は野生型の雌雄および *Fgf5^{go-malc}* の雌に比べ *Fgf5^{go-malc}* の雄において高い発現量を示した ($P<0.05$)。これらの結果から、*Fgf5^{go-malc}* の雄は発毛を促進する遺伝子が高発現することにより被毛長に性差を引き起こすことが示唆された。

2. DIA 法によるプロテオーム解析の結果、各サンプルにおいて約 8,200 種のタンパク質を同定した。その結果、野生型と *Fgf5^{go-malc}* の間で発現量に有意な変動がみられた 115 種（増加：41 種、減少：74 種）のタンパク質を検出した。これらのタンパク質は、KEGG パスウェイ解析の結果によると “Hedgehog signaling pathway” (Path: mmu04340) に分類された ($P<0.05$)。分類されたタンパク質 4 種のうち、Casein kinase I isoform delta (KC1D) および Casein kinase I isoform gamma-3 (KC1G3)

は、発毛に重要な Wnt シグナルに関与することが報告されているが、その発現量は野生型に比べて減少した。その一方で、残りの 2 種、アポトーシス誘導と Shh シグナルの阻害に関与する cAMP-dependent protein kinase catalytic subunit beta (KAPCB) および Protein-cysteine N-palmitoyltransferase HHAT-like protein (HHATL) は野生型に比べて *Fgf5^{go-malc}* において発現量が増加した。以上の結果は、*Fgf5^{go-malc}* において毛包の成長を抑制し、アポトーシスを誘導することを示しているが、それは RNA-seq 解析とは逆の現象であり、その表現型と一致しなかった。

その一方で、ステロイドホルモンの代謝に関与する Estrogen receptor (ESR1) や Retinol dehydrogenase 7 (RDH7)、概日時計に関与する Period circadian protein homolog 1 (PER1) および Cyclic AMP-responsive element-binding protein 1 (CREB1)、FGF 受容体を含むチロシンキナーゼ受容体ファミリーのアダプタータンパク質である SH2B adapter protein 2 (SH2B2)、アポトーシスに関与する XIAP-associated factor 1 (XAF1) は *Fgf5^{go-malc}* において発現量の減少がみられた。エストロゲンは発毛の抑制に作用し、概日周期に関する遺伝子は毛周期の調節に関与することが知られている。また、SH2B2 は退行期誘導に働く growth factor receptor bound protein 2 (GRB2) に結合することが報告されている。さらに、インスリン受容体基質である Insulin receptor substrate 2 (IRS2) や Insulin-like growth factor-binding protein 7 (IBP7) は *Fgf5^{go-malc}* において発現量が増加した。インスリン様成長因子 (IGF) は発毛を促進する作用が報告されており、IRS2 や IBP7 は *Fgf5^{go-malc}* の長毛化に関与することが予測された。*Fgf5^{go-malc}* の毛包において発毛の維持・促進に関与する Wnt シグナルが抑制的に制御される理由は不明なものの、これらの結果は変異型 FGF5 を介して毛周期が延長すること、それにはインスリン様成長因子が関与することが示唆された。

さらに、*Fgf5^{go-malc}* の雌雄間において異なる発現量を示したタンパク質は 720 種 (増加: 421 種、減少: 299 種) であった。KEGG パスウェイ解析の結果、このうち 9 種は “GnRH signaling pathway” (Path: mmu04912) に分類された (P<0.05)。これに分類された遺伝子は epidermal growth factor receptor (EGFR) を含んだ。また、*Fgf5^{go-malc}* の雄において特異的に発現した growth hormone inducible transmembrane protein (GHITM) は、過剰発現によってアポトーシス誘導を阻害する働きが報告されている。この結果は *Fgf5^{go-malc}* の雄における過剰な被毛の伸長が、成長因子の発現やアポトーシスの阻害によって引き起こされることを示唆した。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

現時点ではないが、トランスクリプトーム解析およびプロテオーム解析によって検出された変異型 FGF5 に影響される遺伝子、ならびに被毛長の性差に関与する遺伝子についての研究成果は、毛周期の制御機構や性ホルモンと毛包の関係を解明する上で有用な情報を提供することが期待された。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

①変異型 FGF5 と FGFR1 は皮膚の毛包において共局在した。しかし、それらが物理的に結合するかは不明のままである。そこで本研究は組換え変異型 FGF5 と FGFR1 タンパク質を調製し、*in vitro* においてそれらの結合能を検証している。

②ヒトケラチンの皮膚への投与はマウスの発毛を促進することが報告されている。本研究のトランスクリプトーム解析は、被毛長の性差に関与する可能性のある *Krt* および *Krtap* などの遺伝子を検出した。その一方で、ケラチンあるいはケラチン関連遺伝子を調節する因子はほとんど明らかでない。加えて、ケラチンファミリーに属する遺伝子は数多く存在し、それら個々の機能については不明な点が多い。加

えて、プロテオーム解析では *Fgf5* 変異が Hedgehog signaling pathway に影響を与えることを示唆したが、毛包における *Fgf5* の下流カスケードやアポトーシス誘導のメカニズムには不明な点が多い。さらに *Fgf5^{go-malc}* の雄に特異的に発現した成長ホルモン誘導性膜貫通タンパク質の毛包における作用も明らかになっていない。このため我々は、*Fgf5^{go-malc}* の雌雄において発現変動したケラチン関連タンパクおよび変異型 FGF5、成長ホルモンを培養毛包へ投与し、その効果を *in vitro* で検証しようと計画している。

10. 公表した成果一覧

学会発表

- 1) 高橋 諒・高橋 剛・佐藤正宏・大塚正人・和田健太. *Fgf5^{go-malc^l}* マウスの長毛表現型における変異型 FGF5 の効果. 第 46 回日本分子生物学会年会. ポスター発表. 2023 年 12 月 6 日. 神戸市.
- 2) 高橋 諒・高橋 剛・輿石雄一・佐藤正宏・大塚正人・和田健太. *Fgf5* 変異を介して *Fgf5^{go-malc}* に長毛化と性差を引き起こす分子の探索. 第 20 回北海道実験動物研究会学術集会. 口頭発表. 2024 年 7 月 27 日. 江別市. ※筆頭演者は北海道実験動物学会から若手奨励賞を授与された。

2023年度 東京農業大学 持続可能な農業研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 トウ ナロン

1. 研究課題名および予算額

研究課題名
有機栽培における微生物燃料電池技術効果の検証

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	トウナロン	地域環境科学部 生産環境工学科・准教授	研究全般

3. 研究期間

2023年4月1日～2024年3月31日（3年計画の3年目）

4. 研究の背景（当初）

電気を利用して農業生産するエレクトロカルチャー「電気栽培」は歴史が長く、100年以上前から発見されたが、近年では持続可能な農業生産の関心が高まり、再び注目されている。電気栽培の注目とともに、発酵生産分野においては微生物を選択的に活性化させ、生産性を向上させる電気培養技術が注目されている。電気培養技術は好気性と嫌気性に依存せず、電極を通じて電流を流すことで微生物の呼吸に必要な酸化還元物質を供給できる技術である。電気培養技術による微生物の呼吸促進作用や代謝制御作用の効果が確認されているが、発酵生産分野において実用的な応用事例がなく、食料生産分野においても応用事例が報告されていない。また、電気栽培の類似技術として動電学的処理法（Electrokinetic Treatment, ET）がある。ETは土壤に埋設した2つの電極に一定の電圧を与え、電位勾配により土壤から汚染物質を排除する技術であり、およそ50年前から開発され、現在も土壤汚染の浄化に広く用いられている。

研究代表者は簡易な設備、かつ効率の高い微生物燃料電池技術（Microbial Fuel Cell Technology, MFCT）の開発に成功しており、MFCTによる堆積物内の硫化水素除去や微生物の活性化、底生生物の生息回復、堆積物の還元性の改善などを明らかにしてきた。また、MFCTは牡蠣養殖場の底質・水質保全や下水方流口付近に堆積する汚泥の浄化に適用されており、実用性の高い技術であると確認されている。エレクトロカルチャーは電気を利用して磁場を形成させ、植物を成長させる技術である。一方、MFCTは土壤に埋設したアノード（負電極、酸化反応用）と水中に設置されるカソード（正電極、還元反応用）との電位差により電流を生じさせ、酸化還元反応や電極間の電極勾配により堆積物の物理・化学・生物的環

境を変化させる技術である。MFCT と ET はほぼ同様な原理であるが、MFCT のカソードは水中に設置されている。一方、ET の両電極は土壤に埋設され、外部電源を利用して電極間に電流を生じさせている。

これまでの実用的な研究実績から、MFCT は有機栽培における微生物の条件を制御できると確信している。しかしながら、食料生産分野において MFCT の応用はこれまで検討されていない。

5. 研究目的

本研究では土壤内で電子の流れを起こすために、MFCT と動電学的手法（ET）を拡張した技術（太陽電池で稼働する ET）を開発した。ET では一定の高い電圧が負荷されるため、電極周辺では微生物が生息できない環境が形成されると予想している。農業生産において土壤微生物の環境を配慮することが必要不可欠であり、本研究では ET の外部電源として太陽電池を使用することにした。これは、夜間では太陽電池が発電できないため、それぞれの電極では 1 日に酸化反応と還元反応が繰り返し生じることが期待できるためである。

本研究の目的は本技術を適用した有機性土壤（牛糞堆肥を混合した黒ボク土）における作物の生産性の向上を評価することである（図-1）。具体的には、①養分生成と微生物の活性化（2021 と 2022 年度）、および②作物の成長に対する本技術の働きを解明する（2023 年度）。

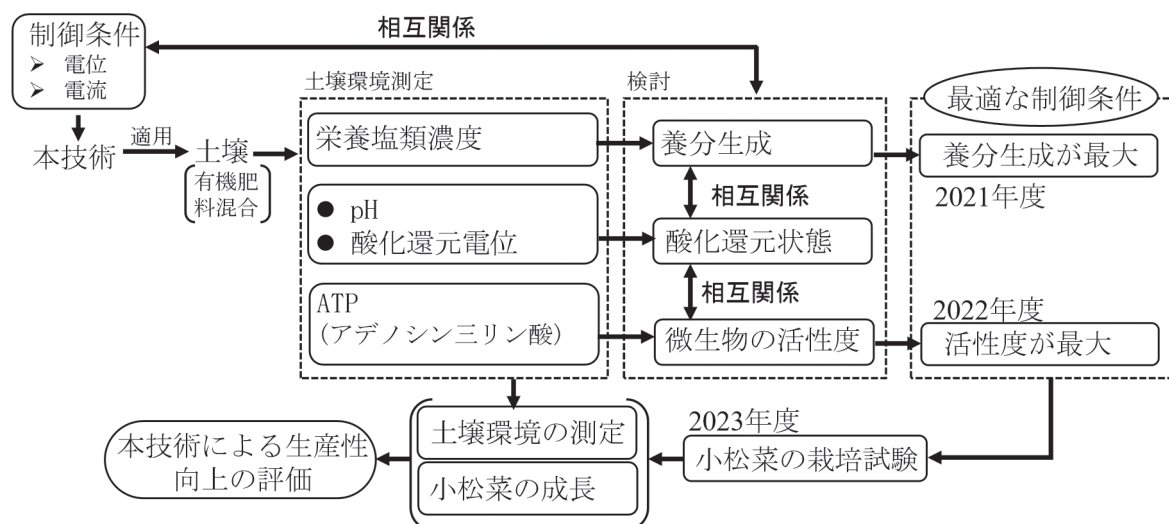


図-1 本研究の大まかな流れ

2021 年度では、排水なしの有機性土壤に 1.5V の太陽電池を稼働した ET を適用することで、土壤の間隙水において微生物の活性化およびアンモニウムイオンの濃度増加を確認した。なお、リン酸の溶出が確認できなかった。リン酸を溶出させるためには 1.5V の電圧が不十分と推定された。そのため、2022 年度では有機性土壤内のリン化合物が解離できる太陽電池の最適な電圧を検討した。その結果、6V の太陽電池を用いることで三大栄養素（N、P、K）の濃度増加のみならず土壤の団粒を発達させることができ、生産性の向上に寄与できる可能性が高いとわかった。なお、通電に伴って電極での pH 変化が大きく、強い還元（カソード付近）・酸化（アノード付近）状態に置かれた。これらは植物の生育に影響を及ぼす可能性があるとして予想している。

したがって、2023 年度では小松菜栽培試験により、6V の太陽電池を用いた ET の適用に伴う植物成長への効果を明らかにすることを目的としている。

6. 研究（実験）方法

植物成長に対する本技術の効果を検討するために、土層から排水なし（実験①）と排水あり（実験②）の条件で実験を行った。実験では土層に 6V の太陽電池を稼働する ET を適用した。排水なし条件では土層から蒸発のみで、排水あり条件では蒸発に加えて、プランダーの底部から重力で水が流れるようにしている。排水なし条件は水田土壌の環境、すなわち、土壌が還元状態に置かれることを想定している。一方で、排水あり条件は圃場の環境、すなわち、土壌が酸化状態に置かれることを想定している。

（1）実験①（排水なし条件）の概説

図-2 に示した装置で実験を行った。まず、コンテナ（高さ 14cm、長さ 56cm、幅 26cm）に牛糞堆肥混合した黒ボク土（堆肥混合体積率 47%）を投入して土層を作成した。牛糞堆肥と黒ボク土は市販のものであった。図-2 に示した位置に土層内にカソード（還元反应用電極）とアノード（酸化反应用電極）を設置した。電極材料はカーボnkロス（News Company, PL200E）であった。なお、電極性能を向上させるために、カーボnkross を 500℃ - 2 時間燃焼した後、カーボン繊維の電極（図-2a）を作成した。カソード面積は 0.01m² であるが、アノード面積は 0.02m² であった。カソード面積を小さくしたのは、カソード周辺の土壌をより還元状態にさせるためである。土層の 1cm 表層に図-2b のように小松菜の種を 5cm 間隔で蒔いた。また、土層に一日 1 回散水を行っており、散水は自動散水ポンプを使用した（図-2、右写真）。コンテナの側面と底面から水が流れないため、土壌水分は土層の表面からの蒸発によって変化すると考えられる。

図-2 に示した回路でアノードを 6V の太陽電池（Tamiya, 1.5V-500mA, 4 個直列）の正端子に接続し、カソードを太陽電池の負端子に接続した。太陽電池とアノードの間に 2.2 Ω の抵抗を負荷し、22 日間の通電を行った。また、抵抗の両端を電圧計（T&D、MCR-4V）に接続し、電圧を測定した。測定された電圧を用いてオームの法則により電流を算出した。制御回路の導線としてチタン線（ニラコ、TI-451465）が用いられた。実験期間中にカソードと土層に設置した参照電極（Toyo、W-RE-7A）を電圧計に接続し、カソード電位を連続的に測定した。

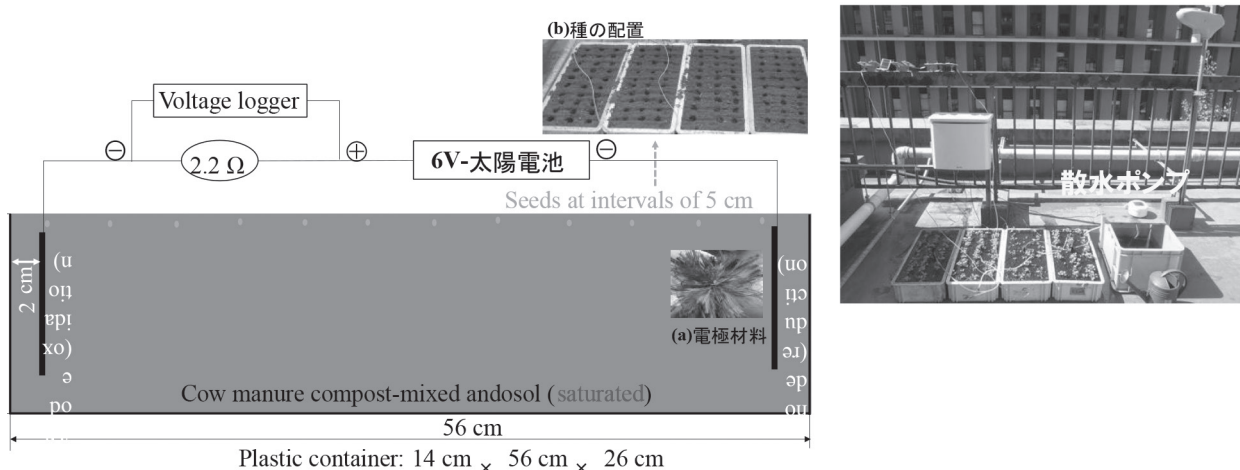


図-2 排水なし条件での実験方法の概略図

通電終了後、小松菜の成長を評価した。試験期間中に虫害に遭ったため、小松菜の成長評価では 1 株中の葉の最大長さをノギスで測定した。また、これまでの研究成果により通電することで土粒子の団粒化が発達することが報告されている。そのため、葉の長さを測定した後小松菜を電気炉で 110℃ - 24 時間乾燥させ、根の乾燥質量を測定した。

(2) 実験②の概説

図-3に示した装置で実験を行った。まず、プランター（高さ 17.5cm、長さ 57cm、幅 14cm）に牛糞堆肥混合した黒ボク土（堆肥混合体積率 47%）を投入し、10cm の土層を作成した。牛糞堆肥と黒ボク土は実験①に使用したものをを用いた。図-3bに示した位置に土層内にカソードとアノードを設置した。電極材料はカーボンクロス（News Company, PL200E）であった。なお、電極性能を向上させるために、カーボンクロス を 500℃ - 2 時間燃焼した後、カーボン繊維の電極（図-3d）を作成した。本実験では実験①に比べて土層の体積が小さいため、カソードとアノードの面積はそれぞれ 0.01m² とした。土層の表層に図-3c のように小松菜の種を 5cm 間隔で蒔いた。土壌に自動散水ポンプ（図-3c）で一日 1 回散水した。土壌水分は蒸発に加え、プランターの底部からの排水によって変化すると考えられる。

図-3bに示した回路でアノードを 6V の太陽電池（Tamiya, 1.5V-500mA, 4 個直列）の正端子に接続し、カソードを太陽電池の負端子に接続した。太陽電池とアノードの間に 1 Ω の抵抗を負荷し、36 日間の通電を行った。また、抵抗の両端を電圧計（T&D、MCR-4V）に接続し、電圧を測定した。測定された電圧を用いてオームの法則により電流を算出した。制御回路の導線としてチタン線（ニラコ、TI-451465）が用いられた。実験期間中にカソードと土層に設置した参照電極（Toyo、W-RE-7A）を電圧計に接続し、カソード電位を連続的に測定した。

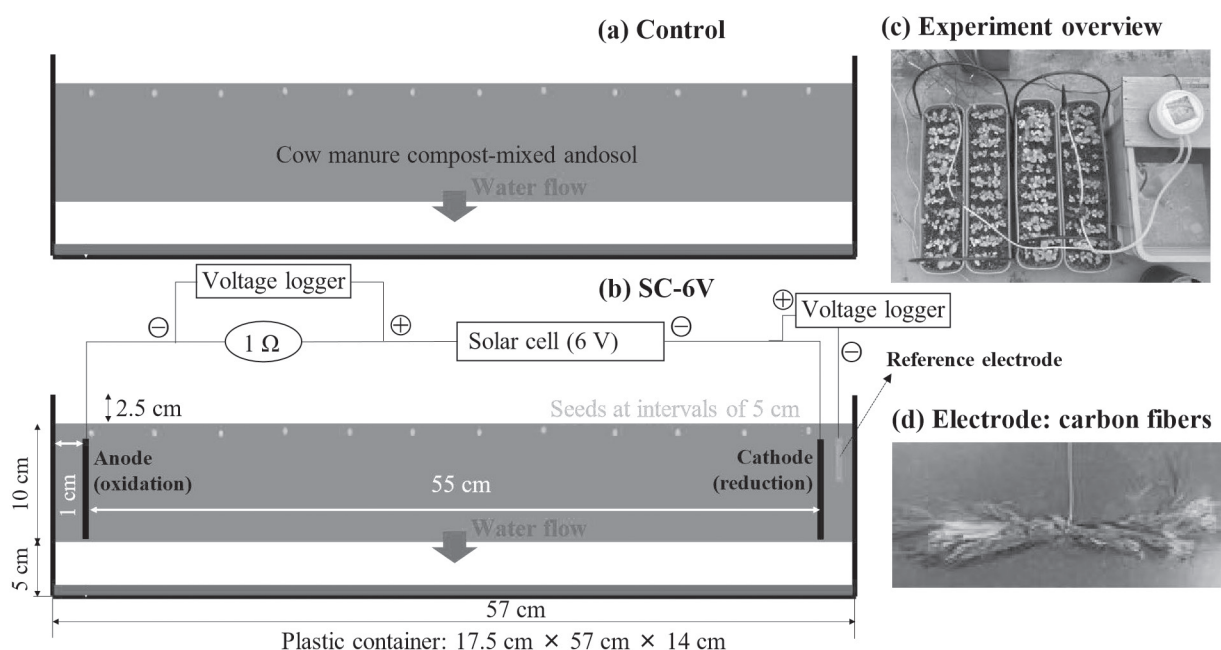


図-3 排水あり条件での実験方法の概略図

通電終了後、小松菜の成長を評価した。成長評価では 1 株中の葉の最大長さ・幅をノギスで測定した後、電子はかりで 1 株の質量を測定した。その後、各株の写真を撮影し、Image J を用いて画像解析を行い、各株の葉面積を求めた。

7. 研究成果

(1) 通電中のカソード電位と電流密度の経時的な変化

排水あり（実験②）・なし条件（実験①）でのカソード電位と電流密度の比較を図-4に示した。電流密度は算出した電流をアノード面積で割った値である。

排水なし条件ではカソード電位が -0.5V 以下、排水あり条件のカソード電位が 0V 以上に安定してい

る（図-4a）。排水なし条件では土壌が強い還元状態に置かれ、排水により土壌の還元状態が緩和されることがわかる。土層に水の流れを起こすことで、酸素が灌漑水とともに土層内へ供給され、土層内に蓄積される還元物質が酸化したと推定される。

電流密度（図-4b）をみると、排水なし条件では電流密度が $0.06\text{--}1.30\text{A/m}^2$ に変動しているが、排水あり条件での電流密度は 0.05A/m^2 以下であった。電流は両電極の電位差（電圧）に依存しており、電位差が大きい、すなわち、カソード電位が低いほど電流が大きい。排水あり条件では土壌の還元状態が緩和され、すなわち、カソード電位が上昇によって電圧が小さくなり、電流を減少させた要因として考えられる。

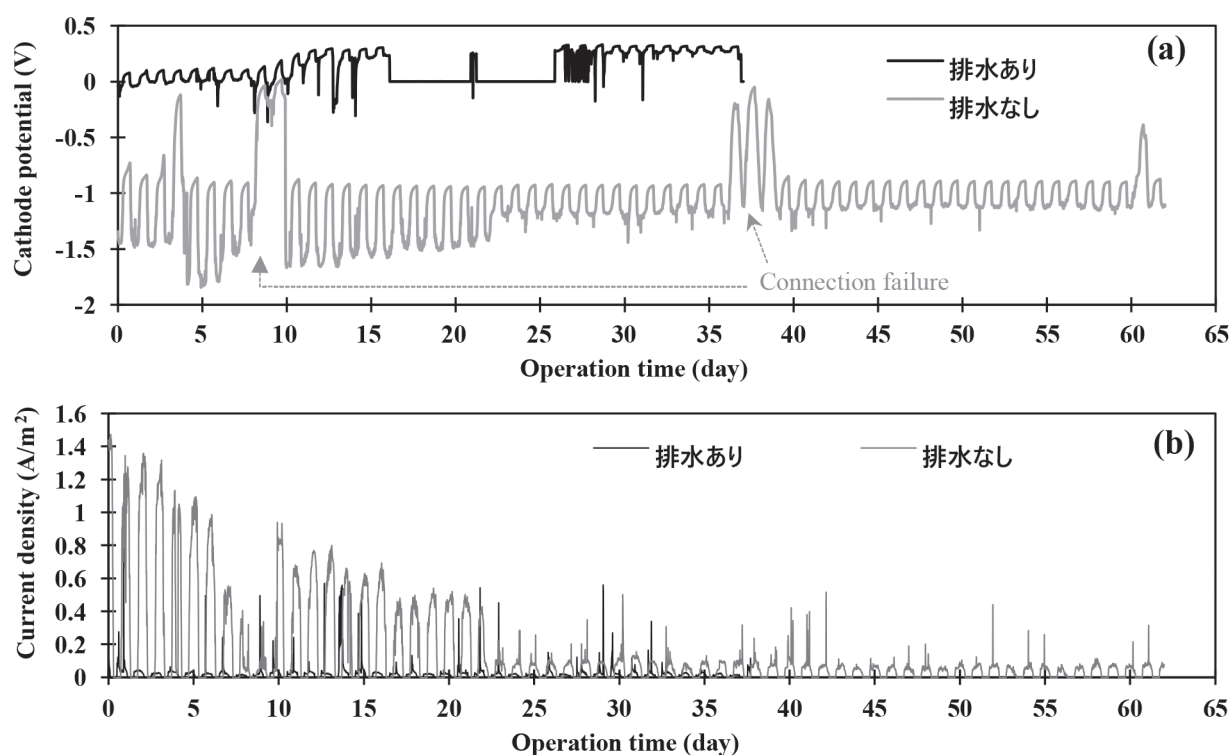
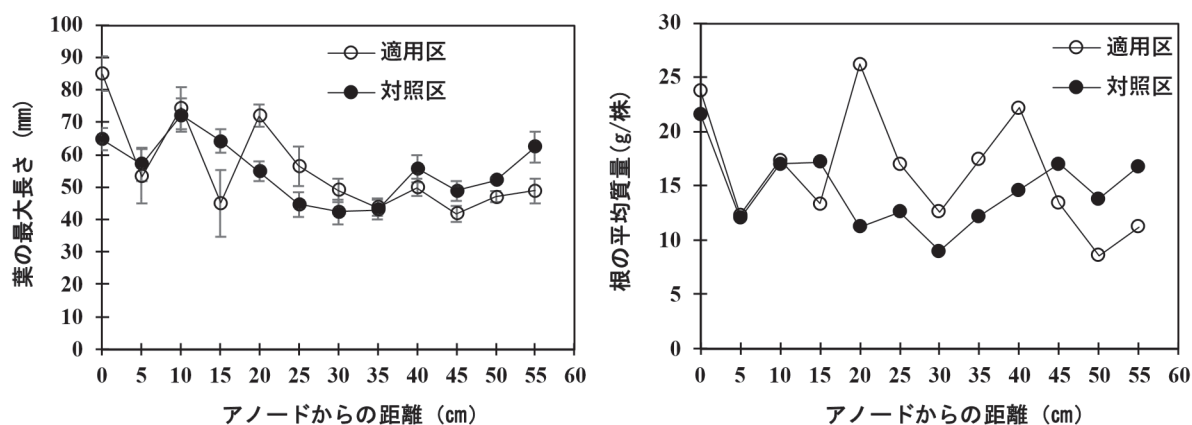


図-4 排水あり・なし条件でのカソード電位と電流密度の比較

(2) 排水なし土壌における小松菜の成長に及ぼす通電の効果（実験①）

図-5 にはアノードから 5cm 毎の葉の最大長さ（分布）と根の平均質量（分布）が示されている。最大長さは各株の最も大きい葉の長さであり、各位置の 3～7 株の平均値である。また、図中のエラーバーは標準偏差を示している。本技術を適用しない条件（対照区）に比べて本技術を適用した土層（適用区）では、アノードから 30cm まで葉の最大長さが 1～2cm 長い傾向にあった。なお、アノードから 35cm 以上離れた、すなわち、カソードから 20cm まで葉の最大長さが約 1cm 短いことがわかった（図-5a）。根の平均質量は各位置の全株の根の乾燥質量をその株数で割った値である。図-5b をみると、アノードの 15cm 周辺では根の平均質量の増加が小さく、カソードの 10cm 周辺土壌では根の平均質量が顕著に低下しており、図-5a と同様な傾向にあった。なお、各電極から 20～40cm 離れた土壌において平均質量の増加を確認したことから、有機性土壌に本技術を適用することで生産性が向上される可能性が高いと考えられる。



(a) 葉の最大長さ分布

(b) 根の平均質量分布

図-5 葉の最大長さ（分布）と根の平均質量（分布）の比較

2022 年度の研究成果では土壤に還元反応を起こすことで団粒が発達するとともに、栄養素が生成されることを確認しており、これらの効果は生産性の向上に寄与する要因として考えられる。一方、通電に伴ってカソードでは還元反応が生じ、電位が低下すること（図-4a）から、カソード周辺土壤の還元性が発達する。カソードでは還元反応に伴って土壤 pH が上昇し、アノードでは酸化反応が生じて土壤 pH が低下する。これらを本研究の結果（図-5）と照らし合わせると、排水なし土壤では作物の生育に及ぼすアノードでの酸化反応の影響は極めて低く、通電は成長を促進させている。これに対して、カソードでの還元反応は作物の生育に影響を顕著に及ぼし、通電は成長を阻害することがわかった。

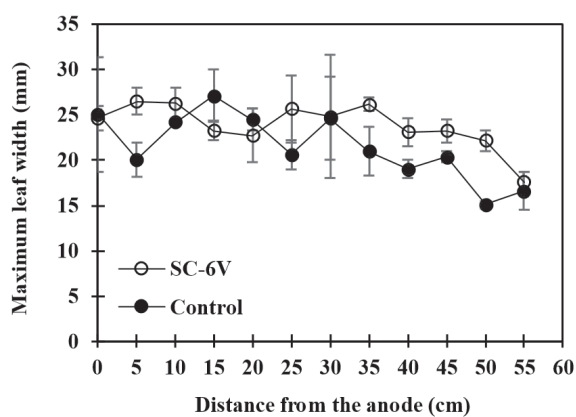
(3) 排水あり土壤における小松菜の成長に及ぼす通電の効果（実験②）

図-6 にはアノードから 5cm 毎の小松菜の成長パラメーター（葉長、葉幅、など）の比較が示されている。本技術を適用しない条件（対照区）と本技術を適用した土壤（適用区）を比べると、アノードから 15cm 周辺では葉の最大長さが平均的に同程度であった（図-6a）。最大葉幅の結果（図-6b）をみると、アノードの 30cm 周辺では平均的に同程度であったが、カソードの 20cm 周辺（アノードから 35～55cm）では 5mm 程度の増加を明確に確認できた。すなわち、カソード周辺では通電に伴って小松菜の成長が促進されることが明らかになった。

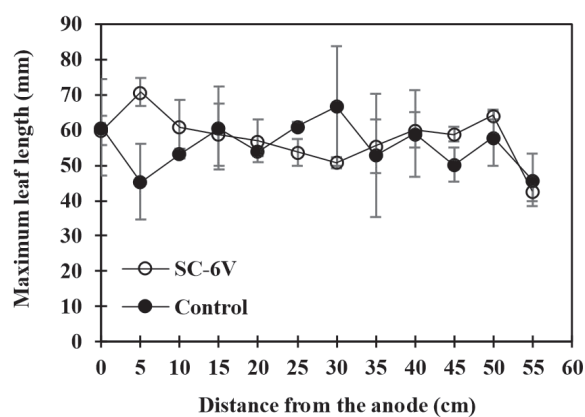
図-6c に示した湿潤質量は各位置の全株の湿潤質量をその株数で割った値である。この図により、アノードおよびカソードから 20cm 周辺の土壤では、約 1.3 倍の質量増加を確認した。なお、アノード位置（0cm）では、質量の増加が小さく、カソード位置（55cm）では質量の減少が見られた。このことから、電極付近では酸化反応あるいは還元反応が活発に生じており、作物へ影響を及ぼすことが明らかになった。

小松菜の葉面積の算出方法について、まず各株の撮影した写真を用いて ImageJ で解析し、それぞれの面積を算出した。次に、各位置の全株の面積をその株数で割った結果を図-6d に示した。面積の結果をみると、湿潤質量と同様な傾向にあり、同様な結論が言える。

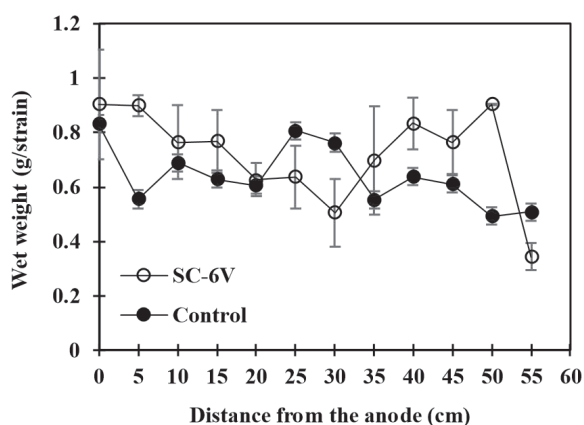
以上の結果から、排水あり条件において電極の位置を除き、両電極の 20cm 周辺では通電により小松菜の成長が促進されたと明らかになった。電極の位置では反応が活発に起こるため、成長が同程度、もしくは成長が阻害されることがわかった。排水なし土壤ではカソードでの還元反応は成長を阻害したが、排水することでカソード周辺においても成長が促進された。これは、排水により土壤内への水の流れ（酸素供給）は還元反応の影響を緩和したためと考えられる。



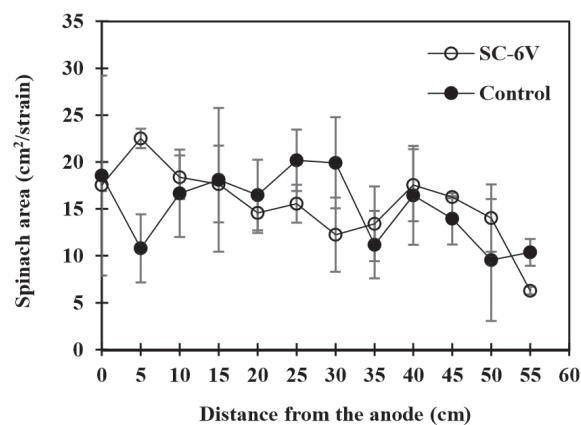
(a) 葉の最大長さの分布



(b) 葉の最大幅の分布



(c) 一株当たりの湿潤質量



(d) 一株当たりの葉面積 (ImageJ)

図-6 小松菜成長パラメーターの比較

本研究により、6Vの太陽電池を用いた動電学的手法を排水なし有機性土壤に適用することで、アノードでの酸化反応により作物の成長が促進されたが、カソード周辺土壤では還元反応の影響で土壤が強い還元状態に置かれて、作物の成長が阻害された。一方、排水なし有機性土壤に適用することでカソードの還元反応による強い還元性が緩和され、カソード周辺土壤においても作物の成長が促進されることが結論としてつけられた。以上のことがMFCTは農業分野、特に有機農業や肥料の削減などに応用できることが明らかになった。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

現時点で、本成果が実用ならびに他の研究に活用されていない。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

6Vの太陽電池を利用して土壤内で通電を行うと、作物の生産性が向上されることが明らかになった。今後、実用に向けた電極の設置間隔の検討が必要となる。また、本研究の成果は水耕栽培にも寄与できる可能性が高く、施肥量を低減できる新型水耕栽培システムを開発していく。

10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) Touch N. and Nakamura T.: Enhancing Plant Growth using a 6 V Solar Cell – Powered Electrokinetic Treatment, International Journal of Environmental and Rural Development, Vol. 15, 2024 (投稿中)
- 2) TOUCH NARONG, 小川航平, 中村 貴彦: 太陽電池を用いた動電学的手法による作物生産性向上の検討、廃棄物資源循環学会研究発表会講演集、第 34 回、pp. 235-236, 2023

学会発表

- 1) Touch N.: Enhancing Plant Growth using a 6 V Solar Cell – Powered Electrokinetic Treatment, **Oral Presentation**, 15th International Conference on Environmental and Rural Development, Khon Kaen, Thailand, 2024/3/8-2024/3/10
- 2) Touch N.: 太陽電池を用いた動電学的手法による作物生産性向上の検討、口頭発表、第 34 回廃棄物資源循環学会研究発表会、大阪工業大学、2023/09/11-2023/09/13

2023年度 東京農業大学 持続可能な農業研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 武田 晃治

1. 研究課題名および予算額

研究課題名
機能性付与アメリカザリガニの代替タンパク質創出

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	武田 晃治	教職・学術情報課程・教授	研究統括・餌作成・給餌試験・タンパク解析・教育実践
研究分担者	高橋 信之	応用生物科学部 食品安全健康学科・教授	栄養成分分析
	美谷島克宏	応用生物科学部 食品安全健康学科・教授	安全性試験
	岡澤 宏	地域環境科学部 生産環境工学科・教授	アクアポニックス装置
	加藤 拓	応用生物科学部 農芸化学科・准教授	肥料成分分析
	浅井 俊光	地域環境科学部 地域創成科学科・准教授	水質分析・生態調査
	小松 憲治	農学部 生物資源開発学科・准教授	遺伝的解析
	黒澤 亮	農学部 動物科学科・助教	餌の開発

3. 研究期間

2023年4月1日～2024年3月31日（3年計画の3年目）

4. 研究の背景（当初）

研究代表者はこれまで、東京農業大学戦略プロジェクトや科研費研究を通じて、アメリカザリガニの体色変化を観察する実験教材の開発に取り組み、その知見を活用した科学教育実践を行ってきた。

アメリカザリガニ（以降、ザリガニ）は子どもから大人までがよく知る馴染み深い生き物である一方で、在来水生昆虫や水草群落など生態系への影響や稲苗の食害、水田の畔の崩壊など農業被害の要因でもあることから、2023年6月からは条件付き特定外来生物となった。そのため、ザリガニは有志団体により駆除され、その多くは殺処分されている。ところが最近、駆除したザリガニを食べるイベントが実施されるようになった。しかしながら、駆除したザリガニは一時的な活用にとどまり、持続可能な資源としての積極的な活用には至っていない。一方、欧米や中国でザリガニは、食用（タンパク源）として活用されており、世界13位に位置する水生養殖生物である（FAO2018）。

現在の飽食の日本で食料問題と言ってもイメージがわきにくいですが、世界では今後の気候変動や人口増加による食料の確保は重要な問題として取り上げられている。特に 2030 年のタンパク質危機は、タンパク質の需要と供給が崩れる年と言われ、タンパク源の確保は喫緊の課題である。日本において未利用資源であるザリガニの活用は、日本をはじめ未だ持続可能な資源として利用されていない国々への新たな食料資源としての可能性を秘めている。また、ザリガニの駆除とその活用研究は、その地域環境や他の地域資源を守るだけでなく、持続可能な農業資源としての新たな資源開発にもつながると考えられる。

5. 研究目的

本研究では、「環境、外来種、生命、資源、食料」について学ぶ環境&科学教育から、本学の主軸となる環境や食料に対する専門性を活かし、将来の食料問題に向けた環境負荷低減の有用資源として、機能性付与アメリカザリガニ（以降ザリガニ）の食用・農業用資材への利活用を考えた。

具体的には、地域の社会教育として、ザリガニをきっかけとした身近な生物への関心を高める環境教育を実施し、駆除活動による環境保全につながる考え方を養う。また、環境教育を通じて駆除したザリガニの観察や体色を変える実験を組み入れた科学教育に活用し、環境・科学教育を実践する。次に、水の循環を通じてザリガニと葉物野菜の水耕栽培とを組み合わせたアクアポニックスにおいて、閉鎖系の中で両者を同時に育成する栽培・養殖装置を開発する。そして栄養価を高め、機能性を付与したザリガニを栄養学的な視点から研究し、その安全性を評価することで、未来の代替タンパク質として人や動物の食用として活用する。その際、機能性付与として、見た目の体色に関わり、抗酸化物質であるカロテノイド色素の他、筋肉中に機能性成分を蓄積したザリガニの作出を目指し、飼育条件の検討や餌の開発を行う。また、殻など非食部も食品添加物、肥料などに用いてザリガニを循環型農業資源に活かす。

本研究で行う地域の社会教育から始まるザリガニを活用した機能性付与代替タンパク質創出は、SDGs につながる新たな東京農大ブランドとしての意義ある研究として発信し、本年度は試食会や一般の方を対象としたイベントなどで持続可能な農業資源開発としての啓発活動を行う。

6. 研究（実験）方法

本研究は、教育活動を通じ、本学の専門性を活かして開発するアメリカザリガニの資源化に向けた研究として、大きく3つのテーマで行う。(1) ザリガニの栄養成分分析、(2) 人工海水中における飼育試験および飼育装置の改良、(3) 環境科学教育などによる啓発活動に取り組む。

(1) ザリガニの栄養成分分析

昨年度はザリガニ丸ごとの栄養成分分析を行ったが、本年度は可食部である尾部のみの栄養成分分析も行う。また、既に日本で食用化されているウチダザリガニとの成分比較を行い、アメリカザリガニの有用成分を明らかにする。

凍結検体のザリガニは、8匹ずつ3群に分け、重量を測定した後、尾部を採取した。この尾部は、殻をむいてから重量を測定し、歩留りを算出する。分析検体はホモジナイザーで均質化したこの尾部とする。水分の測定は、135℃、2時間の乾熱加熱乾燥法で測定する。タンパク質は、水分測定後の検体を用いてケルダール法で分析する。なお窒素係数は6.25を用いる。脂肪は迅速脂肪抽出法でエーテル抽出したものとする。無機質は550℃の電気炉による燃焼法で得られた残渣を無機質とする。炭水化物は、水分、タンパク質、脂肪、無機質の合計値を100から差し引いた値とする。

脂肪酸の測定は、凍結乾燥により乾燥させた検体（アメリカザリガニ11匹分、ウチダザリガニ31匹

分をそれぞれまとめたもの)を用いて測定する。凍結乾燥した検体約 2g を 50ml のテストチューブに入れ、メタノール-クロロホルム (1:2) を 20ml、生理食塩水を 2ml 加えて 5 分間振とうする。その後、上澄み部分は廃棄して下層を回収し、さらにメタノール-クロロホルム 10ml を加えて振とう抽出する。再び上澄みを廃棄した後、遠心分離 (3000rpm, 5 分間) し、上澄みを廃棄して下層を回収する。回収した検液は、ロータリーエバポレーターで溶媒を揮発させ、ジエチルエーテルで脂質を回収し、窒素噴霧により脂質のみを回収してこれを検体とする。抽出した脂質はメチルエステル化し、ガスクロマトグラフ (島津製作所 GC-2014) にて分析を行う。カラムは ZS-FAME (長さ 30m、内径 0.25mm、膜厚 0.20 μ m)、キャリアガスはヘリウムを用いる。分析は定性分析とし、測定のための標準物質は Supelco 37 Component FAME Mix (CRM47885) を用いて検出物質を同定・定量し、脂肪酸組成を算出する。

可食部であるザリガニの身に含まれる親水性化合物、特に呈味性や機能性に関わる物質について解析を行う。ウチダザリガニおよびアメリカザリガニを供試試料として、未処理の凍結試料を用い、各固体の可食部分から計 10 サンプル採取 (n=10) して一晩凍結乾燥を行う。凍結乾燥後の試料を粉碎・均一化したものを 10mg 計り取り、内部標準物質としてリビトール (終濃度 100 μ g/ml) を添加した Mix solvent (メタノール/水/クロロホルム=5:2:2) およびジルコニアビーズを添加し、振盪ブロックインキュベーター (ATTO, WSC-2630) で 37℃、90 分振盪攪拌することで親水性化合物を抽出する。その後、pyridine に溶解した Methoxyamine Hydrochloride (Sigma-Aldrich) を加えて 37℃、30 分反応させてオキシム化、N-Methyl-N-trimethylsilyltrifluoroacetamide (MSTFA) (Sigma-Aldrich) によるトリメチルシリル化を行い、Ultra pure pyridine (Wako) に溶解したものを分析サンプルとする。得られたサンプルの分析は、InertCap 5NS/Np column (0.25mm ID $\times$ 0.25mm film thickness $\times$ 30m) (GL Science) を接続した GCMS-TQ8040 NX triple quadrupole mass spectrometer (Shimadzu) を用いて分析する。キャリアガスには純ヘリウムを用いる。カラム温度は 50℃で 3min、15℃/min で 320℃まで上昇し、320℃で 6min 維持させる。質量分析は Electron Ionization により行い、イオン化電圧 70eV、気化室温度 230℃、トランスファーライン 250℃、検出器温度 250℃、スキャン m/z は 50m/z-500m/z の条件で分析する。GCMS により得られたデータは、NIST 17 library と GCMS solution (Shimadzu) を用いて解析する。Principal component analysis (PCA) および階層クラスター解析は MS-DIAL software により解析し、各サンプルの相対値は内部標準物質であるリビトールのピーク面積で標準化する。

(2) 人工海水中における飼育試験および飼育装置の改良

本年度は筋肉中の機能性成分の発現条件の検討として、人工海水下における生育試験を行う。既にアメリカザリガニを海水中で飼育させることで、機能性成分である D-アミノ酸 (アラニン) が増加することが報告されている。しかしながら、生育に影響を及ぼさずに、D-アラニンを誘導する最適な海水濃度は不明である。また、昨年度報告した通り、淡水にも関わらず、ザリガニにはトレハロースが多く存在している。トレハロースは、浸透圧調節などに機能していることが知られており、また加工食品の食感向上や味質改善の目的で多くの食品に利用されている。さらに、生理機能としても骨粗鬆症やメタボリックシンドロームを予防する効果なども見出されてきている。

そこで本実験では、濃度を変えた人工海水でのザリガニ飼育により、成長に影響を及ぼさない海水濃度の検討を行い、ザリガニの筋肉中における有用成分 (D-アラニンやトレハロース) の分析を行う。

L-D-アラニン分析条件は、キャリア：アセトニトリル/エタノール/水/PFA = 85/10/5/0.5 (V)、送液流量 0.4ml/min、カラム：CROWNPAK CR- (+) (ダイセル株式会社製) とする。発色試薬溶液の調整は以下の通りである。A 液として、Sodium Bicinchoninate (BCA) 1g、Na₂CO₃ $\cdot$ H₂O 2g、Na₂C₄H₄O₆ $\cdot$ 2H₂O

(酒石酸ナトリウム) 0.16g、NaOH 0.4g、NaHCO₃ 0.95g を脱イオン水 95.5mL に溶解し調整する。B 液として、CuSO₄・5H₂O 0.4g を脱イオン水 9.6mL に溶解し調整する。そして、ビシンコニート発色試薬溶液として A 液 50mL と B 液 1mL を混合したものをを用い、送液流量 0.04ml/min、サンプルインジェクト量 5 μ L、分析時間 1500 秒、検出器：VIS (405nm) で検出する。

トレハロースの HPLC による分析条件は、キャリア：アセトニトリル / 水 = 88/12 (V)、送液流量 0.4ml/min、カラム：UK-Amino 100mm $\times$ 6mm、サンプルインジェクト量 5 μ L、分析時間 1500 秒、RI 検出する。

サンプル調整方法は、各 NaCl 濃度のサンプル（身+皮）部分（1 匹）をエッペンドルフチューブ（2ml 容）に入れ天秤で計量し、10 倍希釈になるようにキャリアを添加する。その後、エッペンドルフチューブ内でスパーテルを使用して身を細かくして、30 分以上室温で抽出を行い、0.45 μ m のメッシュでフィルタをしたものをサンプルとして用いる。

飼育装置として昨年度のアクアポニックス装置では、植物への水やりが手動となっていたため、本年度は流水システムを工夫する。具体的には、一定時間植物を浸水させるために給水流路を自動化した装置へと改良する。そのための設計図を作成し、実際の装置を作成する。

(3) 環境科学教育などによる啓蒙活動

本年度も一般の方や小中高の児童生徒、大学生を対象とした科学教育を行い、科学的な視点から捉えたアメリカザリガニの資源活用に関する啓発活動を行う。その際、ザリガニを用いた実験や講義を世田谷キャンパス、食と農の博物館、稲花小学校、つくば市で実施する。さらに、本年度はプロジェクト最終年として、学内および学外の方を対象に、「アメリカザリガニの資源活用」をテーマとしたミニシンポジウム（講演・試食会）を農大サポートと連携して行う。その際、これまでの研究成果の発表の先にある社会実装までの道筋を発表し、さらにザリガニ料理（市販ザリガニを使用）を実食する機会を設け、今後の食用資源としての活用事例を示す。

7. 研究成果

(1) ザリガニの栄養成分分析

アメリカザリガニとウチダザリガニそれぞれに含まれる栄養成分（水分、タンパク質、脂質、炭水化物、灰分）の分析結果を以下の表 1 に示した。全体の約 80% を水分が占めており、灰分は 1.5% 程度であった。成分中の有機物は、大部分がタンパク質で脂肪と炭水化物はわずかであった。アメリカザリガニは、ウチダザリガニに比べ、タンパク質と炭水化物が多かった。

表 1 アメリカザリガニとウチダザリガニの 3 大栄養素の比較

	Red swamp crayfish	Signal crayfish
Moisture	80.13 $\pm$ 0.23	83.29 $\pm$ 0.16
Protein	17.33 $\pm$ 0.23	14.87 $\pm$ 0.07
Fat	0.20 $\pm$ 0.01	0.36 $\pm$ 0.04
Carbohydrate	0.86 $\pm$ 0.44	0.17 $\pm$ 0.12
Ash	1.47 $\pm$ 0.06	1.30 $\pm$ 0.04

アメリカザリガニとウチダザリガニの尾部から抽出した脂肪に含まれる脂肪酸組成を表 2 に示した。多く含まれたのは、パルミチン酸 (C16:0)、オレイン酸 (C18:1)、リノール酸 (C18:2)、アラキド

ン酸（C20：4）、エイコサペンタエン酸（C20：5）で、これらで全体の約 70%を構成した。

脂肪酸組成において、飽和脂肪酸、一価不飽和脂肪酸および多価不飽和脂肪酸で分類すると、アメリカザリガニは飽和脂肪酸が多く、ウチダザリガニは多価不飽和脂肪酸が多かった。各脂肪酸で比較すると差が大きかったのは、エイコサペンタエン酸（C20：5）とアラキドン酸（C20：4）がウチダザリガニに多く、リノール酸とオレイン酸（C18：1）がアメリカザリガニに多かった。広く知られている脂肪酸の機能に基づいて考察すると、うま味（オレイン酸）はアメリカザリガニで強く感じられると推察される。また、エイコサペンタエン酸、リノール酸、アラキドン酸は、生体にとって必須の生理活性物質であるプロスタグランジンなどのエイコサノイドの材料となり健康効果が期待されるが、この効果については両者のザリガニ脂質に共通する利点と推察された。

表2 アメリカザリガニとウチダザリガニの脂肪酸の比較

Composition		Red swamp crayfish	Signal crayfish
	Compound		
C14:1	Methyl myristoleate	0.4	0.2
C15:0	Methyl pentadecanoate	1.4	0.4
C15:1	Methyl cis-10-pentadecenoate	1.7	1.6
C16:0	Methyl palmitate	12.4	13.3
C16:1	Methyl palmitoleate	4.1	5.5
C17:0	Methyl heptadecanoate	1.9	0.6
C17:1	cis-10-Heptadecanoic acid methyl ester	0.7	0.6
C18:0	Methyl stearate	7.1	6.2
C18:1n9c	cis-9-Oleic acid methyl ester	3.6	4.1
C18:1n9t	trans-9-Elaidic acid methyl ester	19.2	17.1
C18:2n6c	Methyl linoleate	0.4	0.2
C18:2n6t	Methyl linolelaidate	10.2	3.9
C18:3n3	Methyl linolenate	0.4	0.2
C18:3n6	Methyl γ -linolenate	3.1	1.5
C20:0	Methyl arachidate	0.1	0.2
C20:1	Methyl cis-11-eicosenoate	0.7	0.9
C20:2	cis-11,14-Eicosadienoic acid methyl ester	0.8	1.4
C20:4n6	cis-5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid methyl ester	12.2	14.3
C20:5n3	cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic acid methyl ester	13.4	21.5
C22:6n3	cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic acid methyl ester	4.6	5.4
C24:0	Methyl lignocerate	1.2	0.3
C24:1	Methyl nervonate	0.3	0.5
Saturated fatty acid		24.1	21.0
Mono-unsaturated fatty acid		30.8	30.6
Poly-unsaturated Fatty acid		45.1	48.4
total		100.0	100.0

GC/MS によるザリガニ筋肉中に含まれる親水性化合物の網羅的解析の結果、549 のピークが検出され、アメリカザリガニとウチダザリガニとで共通する 107 成分が同定された。このことから、両ザリガニ筋肉中には様々な化合物が含まれていることが明らかとなった。

同定された 107 成分について詳細に解析を行った。機能性および呈味性化合物としてスレオニン、セリン、プロリン、グリシン、グルタミン、アスパラギン（甘味テイスト）、代表的なうま味成分であるグルタミン酸およびアスパラギン酸などのアミノ酸、イノシン、イノシン酸、アデニン、アデノシン、グアニン、グアノシン、リボースなどの核酸関連物質、グルコース、マンニトール、イノシトール、ガラクトクトール、スクロース、フルクトースなどの糖類、パントテン酸、ニコチン酸およびニコチンアミド、アスコルビン酸などのビタミン類、タウリン、オルニチン、クレアチン、シトルリン、GABA などの各

種機能性物質が含まれていることがわかった。

これら同定された物質についてアメリカザリガニとウチダザリガニとの間で含有量差があるものについて調べたところ、アメリカザリガニにおいてはウチダザリガニと比較してヒポタウリン、トレハロース、クレアチン、ソルビトール、アスパラギン酸、イノシトール、グルタミン酸が2倍以上多く、ウチダザリガニにおいては、アラニン、スレオニン、イソロイシン、プロリン、ロイシン、バリンなどのアミノ酸およびタウリン、トリプタミン等の部物質がアメリカザリガニと比較して2倍以上多かった。

次に、GC/MS 解析により得られた成分データを Principal component analysis (PCA) に供したところ、アメリカザリガニとウチダザリガニは大きく2つのクラスターに分けられ、成分含量の違いをよく反映した(図1)。この成分差異を特徴付ける成分は、アミノ酸およびグルコース、ヒポタウリン、イノシトール、スクロース、トレハロースなどの糖類であった。以上の結果から、ウチダザリガニとアメリカザリガニでは筋肉部における成分含有成分量に差異は見られるものの、共通する成分が多いことが明らかとなった。

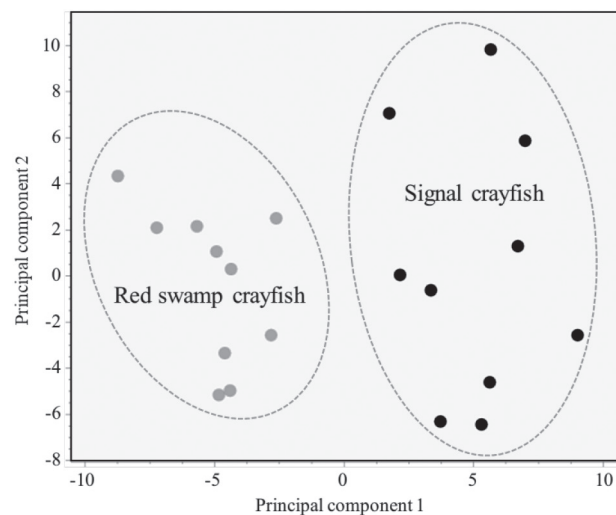


図1 アメリカザリガニとウチダザリガニの主成分分析の比較

(2) 人工海水中における飼育試験および飼育装置の改良

昨年度までに脱色した野生ザリガニに対し、外骨格に抗炎症、心血管疾患、白内障や黄斑変性症などの様々な慢性変性疾患における発症リスクの抑制に関与していると言われているアナトー色素を蓄積させることに成功した。全体の8割を占める殻に機能性成分を含有させることは、食品としての色だけでなく機能性としても重要である。

そこで本年度は、筋肉中の成分に着目し、成長しながら生育できる最適海水濃度の検討として、5～7mm程度の稚ザリガニを用いて、人工海水中(0、1、2、3%)における飼育試験を行った。その結果、0、1%の海水濃度において、アメリカザリガニが成長しながら生育することを確認した。2、3%の人工海水でも生育はするが、脱皮をしても成長がみられなかった。そのため、人工海水の濃度を0、0.5、1、1.5%の人工海水濃度で飼育試験を行ったところ、1.5%以下では成長しながら生育することが観察された。D-アラニンについては、最適な分析条件の検討を行っている。トレハロースについては、人工海水濃度が上がるにつれ、筋肉中のトレハロース濃度も増えている傾向がみられた。現在、生育試験や筋肉に含まれるD-アラニンやトレハロース含有量の再現性を確認している。

昨年度のアクアポニックス装置では、植物への水やりが手動となっていたため、本年度は流水システ

ムを工夫する。具体的には、一定時間植物を浸水させるために給水流路を自動化した装置へと改良する。現在、設計図に合わせた装置を製作中である。

(3) 環境科学教育などによる啓発活動

小学生、中学生、高校生の児童・生徒から大人を対象に授業実践を行った。実施時期と対象者は以下に記載した。

令和5年6月27日、7月4日 東京農業大学稲花小学校3年生2クラス授業（計6コマ）

令和5年7月15日 食と農の博物館（カラフルザリガニ科学教室）

令和5年8月24日 新・才能の芽を育てる体験学習 探してみよう！生き物の色や形のふしぎ

令和5年11月4日 茨城県つくば市小中高校生・地域住民対象 ザリガニ講座

令和5年12月8日 ミニシンポジウム（アメリカザリガニの資源活用）

授業実践を通じて、ザリガニをきっかけとして環境保全や生き物の命に対して改めて考える機会になっていることや食用資源としての捉え方のきっかけになることが、受講者の感想からも明らかとなった。また、本授業で扱っている7つのポイント（ザリガニの生息環境、特徴、導入の歴史、生息分布、外来種問題、カラフルザリガニ、資源活用）について昨年度作製した絵本やその英語版の冊子や缶バッチを児童生徒、大人に配布した。

ミニシンポジウムでは、ケニア大使館、農林水産省、各種企業、ジョモ・ケニヤッタ農工大学副学長とマシュー博士、アフリカ大陸初のザリガニ養殖会社（キスメオ・オーガニクス）のロビン社長、本学学長、副学長をはじめ学内関係者の80-90名が参加した。本シンポジウムは2部構成で、第1部では、東京農業大学の武田教授がこれまでのザリガニの栄養学的な基礎研究について、ジョモ・ケニヤッタ農工大学のマシュー博士がケニアにおける食資源としての価値や今後の研究、キスメオオーガニクスのロビン社長がケニアでのザリガニ養殖や今後の課題について、基礎研究から社会実装につながる一連の発表を行った。第2部では、柳原料理教室の柳原先生による和食ザリガニの創作料理、一般財団法人地域創生人材育成学舎の関代表によるザリガニスープや塩ゆでザリガニ、ザリガニせんべい、ロビン社長によるケニア流ザリガニ料理が参加者の方々に提供された。また、南部美人の久慈社長よりザリガニ料理にあう日本酒や梅酒をご提供いただき、ザリガニ料理とお酒のうま味の相乗効果を参加者に体験していただく機会となった。なお、本シンポジウムについては、多数のメディアに取り上げていただいた。その成果は、成果一覧（10）に記載した。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

共同研究者である一般財団法人地域創生人材育成学舎の関代表により、アメリカザリガニの濃厚ビスケットのレトルト商品が開発された。柳原料理教室の柳原先生による和食ザリガニの創作料理。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

アクアポニックス装置の継続的な試験を行い、植物の育成のみならず、ザリガニ飼育に対しても最適な条件を引き続き検討する。また、機能性を持たせたザリガニとして、アナトー色素などの色素含有餌により着色したザリガニの安全性を評価する実験を将来的に行う予定である。さらに、今後、さらなる飼育条件を検討し、様々な機能性成分を付加させる飼育条件を明らかにする予定である。

10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) Higuchi, S., Ono, H., Honda, H., Maskey, S., Kurosawa, A., Suzuki, T., Takahashi, N., Okazawa, H. and Takeda, T. Educational Material Research on the Color of Crayfish for Conversion to Edible Resources. *International Journal of Environmental and Rural Development* 14-1 pp.98-105. (2023)
- 2) Higuchi, S., Kurosawa, A., Suzuki, T., Tanahashi, K. and Takeda, T. Comparison of Useful Components of Red Swamp Crayfish (*Procambarus clarkii*) and Signal Crayfish (*Pacifastacus leniusculus*). *International Journal of Environmental and Rural Development* 15 (2024) 投稿 (査読) 中

学会発表

- 1) Higuchi, S., Kurosawa, A., Suzuki, T., Tanahashi, K. and Takeda, T. Comparison of Useful Components of Red Swamp Crayfish (*Procambarus clarkii*) and Signal Crayfish (*Pacifastacus leniusculus*). *International Journal of Environmental and Rural Development* (2024) 2024 年 3 月発表予定 (タイ コンケン大学)
- 2) 樋口幸希、本多宏明、武田晃治 アメリカザリガニの体色要因に着目した生物実験教材の開発 日本生物教育学会 2024 年 1 月発表 (神奈川大学)

その他

- 1) 新・実学ジャーナル 2024 年 3 月号掲載予定 (アメリカザリガニの食用資源化研究について)
- 2) TOKYO FM サステナ＊デイズ 出演 (食と農の博物館での講座について) (令和 5 年 7 月 20 日)
- 3) エフエム世田谷 (探してみよう! 生き物の色や形のふしぎ) (令和 5 年 9 月 15 日)

以下、ミニシンポジウム関連

〈テレビ〉

■ ANN Newsch ※当日と事後に 2 度報道。

- ・食料不足対策 東農大がザリガニ食研究を発表 (2023 年 12 月 9 日)

<https://www.youtube.com/watch?v=U8VDIbboLNM>

- ・「ザリガニ食べよう」東農大が研究 食糧不足に新たな解決策? エビに似た食感【知ってもっと】 (2023 年 12 月 12 日)

https://www.youtube.com/watch?v=8WcX_TJ3z5M

〈Web〉

■ ABEMA Times (Yahoo! ニュース)

「ザリガニ」が食糧危機を救う!? 低コスト・高タンパクのザリガニを東農大が“激推し”コオロギのライバルになる?

<https://times.abema.tv/articles/-/10106601>

※ Yahoo! ニュース等数社に転載。

<https://news.yahoo.co.jp/articles/d1d4ad774e9a9372469278975c1d35b8941a51be>

■ テレ朝ニュース

- ・食料不足対策 東農大がザリガニ食研究を発表

<https://news.yahoo.co.jp/articles/9b70a6e07543c63a1690e044cb2947676bcec13a>

- ・食料不足対策…ザリガニを新たな食材に 東京農業大学が研究発表

<https://news.yahoo.co.jp/articles/3436251d9b3d0a68e9384ac4733f742e710be551>

※ Yahoo! ニュース等数社に転載。

- ・「ザリガニ食べよう」東農大が研究 食糧不足に新たな解決策？ エビに似た食感

https://news.tv-asahi.co.jp/news_economy/articles/900000959.html

※ Yahoo! ニュース等数社に転載。

<https://news.yahoo.co.jp/articles/6e46667dde326a2f966b6ed9f228289bf8eda051>

■グルメ Watch

東京農業大学、ケニアの農工大・養殖事業者とザリガニの食用資源化を研究

<https://gourmet.watch.impress.co.jp/docs/news/1553314.html>

■日経バイオテク

東京農大、ザリガニの食用化に向けてケニアの大学や養殖業者と共同研究

<https://bio.nikkeibp.co.jp/atcl/news/p1/23/12/13/11402/>

■旅行読売（Yahoo! ニュース）

ザリガニが和食になった!! 日本酒に合う!? 東京農業大学の“ザリガニ先生”がその魅力を教えてくれた

<https://news.yahoo.co.jp/articles/0b91979976d5475214546fb99e6cdcdc7b76ca7a>

〈まとめサイト〉

- はちま起稿 コオロギの次はザリガニか？ 東京農業大学「ザリガニは高たんぱくで成長スピードが早く、生産コストが低い。非常に素晴らしい食資源になる」

<http://blog.esuteru.com/archives/10143057.html>

■ジェイコム 12月23日（土）～12月29日（金）の1週間放送

番組名：「ジモトトピックス」

放送チャンネル：地上波 11CH（J:COM 接続世帯にて視聴可能）

放送時間：7:00～7:30、11:00～11:30、20:30～21:00

放送エリア：世田谷区・大田区・調布市・狛江市

■共同通信「めぐみラボ」

■経堂経済新聞 ※ Yahoo! ニュースにも転載

■日本経済新聞 2月8日夕刊2面「フォーカス」掲載

2023年度 東京農業大学 持続可能な農業研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 堀田 和彦

1. 研究課題名および予算額

研究課題名
農業への関心のきっかけ、ならびに新規就農との因果性に関する深層心理学的研究

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	堀田 和彦	国際食料情報学部 食料環境経済学科・教授	研究総括

3. 研究期間

2023年6月7日～2024年3月31日（2年計画の1年目）

4. 研究の背景（当初）

日本農業における後継者（担い手）の不足が常態化している。家族経営、法人経営における経営継承者ならびに新規就農者は微増で推移しているとはいえ、日本農業の存続にとって十分な状態とは言い難い。一般的に新規就農を志す者はその決断をする以前に、生物、動植物または農業、農村、農学への関心を抱き、農業系大学への進学、農業実習の経験、新規就農説明会への参加、新規就農の決断等のステップを踏むことが想定される。しかし、新規就農者が人生のいかなる局面でそのような農業、農学への関心を高め、具体的にどこで学びを深めるのか、また、仮に農業への関心を抱き、農業系大学で学んだとしても、その若者がどの時点でいかなるきっかけにより就農を決断するにいたったのか、十分明らかとは言えない。

5. 研究目的

本研究の目的は、農業への関心のきっかけ、ならびに新規就農との因果性に関する深層心理を明らかにし、新規就農までの行動プロセスを規定する要因を明確にすることにある。

6. 研究（実験）方法

1つ目のアプローチは広く、農業系大学に進学した学生に対して、大量アンケート調査を実施し、生物、動植物または農業、農村、農学への関心をいつ、どのような局面で抱いたか、また、その関心に対して農業系大学の提供する情報は十分に有効であったか、いかなるポイントが農業系大学進学の大きな

動機付けとなったかを解明する。またもう1つのアプローチはラダリング法を用い、上記の関心と農業系大学進学との因果関係をより明確にすることにある。

またもう1つ柱は農業系大学等に進んだ若者がいかなるきっかけで新規就農の決断に至ったかを解明するものである。この分野においても上記のアプローチ同様、新規就農者への大量アンケート調査、新規就農者数人を集めてのラダリング法による深層心理解明を行う予定である。

7. 研究成果

本年度は新規就農の決断プロセス解明の予備調査として、あらためて学術論文の整理と新規就農相談センターへの調査（10月4日）、新規就農相談センターよりご紹介のあった、熊本県山都町（11月28日、29日）、大分県庁（1月24日、25日）へのヒヤリング、今年度3月に山都町で新規就農者への個別調査（ラダリング法）を実施の予定（3月4日～6日）である。

上記の研究により、新規就農者の農業に関する興味を抱くきっかけ、時期等について整理するとともに、その関心をもとに漠然とした就農動機を具現化する情報、支援策を用意している熊本県山都町、大分県に多くの新規就農希望者が集まり、就農を実現していることが明らかになった。そのプロセスは漠然とした農業へのあこがれ、就農の夢を具体的な目標に変換し、就農のために必要な技能や生活習慣を身に付け、就農に向け具体的な経営計画を策定し、実行していく過程に他ならない。そのプロセスにおいて、明確な目標化のための具体的な就農モデルをより多く提示し、自らの希望を明確にした後の多様な研修メニューこそ最も重要な就農決断のきっかけとなっていることが明らかとなった。

そのプロセスでの就農者の心理的变化の詳細は3月に熊本県山都町にて新規就農者9名への個別実態調査を実施しその実態を解明した。新規就農者の就農前の就農へのきっかけは様々で、したがって就農に至るまでの経緯も多様な展開が見られた。農業系大学においてその経験を体験しているものも稀であった。また、同町での研修を通じて、農業での技術、経営的ノウハウ等を加味し、経営的採算に目途がたった年、また、その具体的経営実態を踏まえ、その後の経営計画を単なる計画ではなく、実現可能なものに修正した時点において大きな心理的变化、就農への自信の醸成が見られた。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特になし

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

今年度の調査結果をもとに、より広範囲での就農決断プロセス解明のためのアンケート、個別調査を実施するとともに、農業系大学進学との関連性について研究を行う予定である。

10. 公表した成果一覧

学術論文：特になし

学会発表：特になし

2023年度 東京農業大学と東京情報大学との共同研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 石川 森夫

1. 研究課題名および予算額

研究課題名
酢酸菌の易変異性を利用したファインセルロース生産のための有用復帰変異の取得と機構解明

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	石川 森夫	応用生物科学部 醸造科学科・教授	復帰変異株の取得、表現型解析
研究代表者 (東京情報大学)	田中 啓介	総合情報学部 総合情報学科 データサイエンス学系・准教授	ゲノムマッピングおよび変異解析
研究分担者	松谷峰之介	東京農業大学 生物資源ゲノム解析センター・嘱託准教授	研究総括、ゲノムリシーケンスの実施
	村上 洋一	東京情報大学 総合情報学部 総合情報学科 データサイエンス学系・准教授	網羅的構造モデリングおよび構造比較

3. 研究期間

2023年6月7日～2024年3月31日（1年計画の1年目）

4. 研究の背景（当初）

酢酸菌においては菌膜生成能を有する Rough 株（R 株）と生成能を失った Smooth 株（S 株）が見いだされている。R 株で振盪培養を繰り返すと、菌膜形成能を失った S 株が出現し、S 株で静置培養を繰り返すと、再び菌膜形成能を有する復帰変異株（R' 株）が現れる。これまでに我々は、この RSR' 転換の性質を利用して *Komagataeibacter oboediens* MSKU3 株（R 株）から E3 株（S 株）を取得し、そして静置培養により 4 種のアミノ酸置換を伴う R' 株を得ることに成功した。また、取得した R' 株が親株の数倍を上回るバクテリアセルロース（BC）の生産能や、より微細な繊維質をもつことを明らかにした。現在までに、復帰変異株の大量取得を目指して、変異箇所が異なる 19 種の S 株を取得している。

5. 研究目的

酢酸菌が生成する BC は微細なナノファイバーであり、ナノセルロース素材として化粧品などに利用

されている。申請者らは、酢酸菌の BC 生成能が、ゲノム不安定性に起因する変異により消失し、アミノ酸置換を伴い復帰することを見出している。本研究は、これら S 株を基盤に R' 株を大量取得し、BC 生成能及び性状の解析を行うことで復帰変異箇所との関係を明らかにするとともに、蛋白質構造モデリングを全ての復帰 BC オペロンに実施し構造クラスタリングにより BC 生産能力改変の機構解明を目的とした。

6. 研究（実験）方法

これまでに獲得した S 株のうち、19 種を復帰変異株取得のスタート株として使用した。それぞれの株について、グリセロールが添加された YPD 培地に接種し、静置条件にて約 2 週間毎に継代培養を行った。液面に不溶性の膜が確認された培養液からコロニーを単離し、これをセルロース合成復帰株（R' 株）とした。得られた複数の R' 株について、DNA 抽出・ドラフトゲノム解析を行い、野生株（R 株）のゲノムとの比較により変異箇所を特定した。また、R' 株の培養により得られたセルロースの形状や生成量についても R 株と比較し評価した。

高次構造モデルは、Alpha Fold 2（AF2）の計算処理を高速化した構造モデリングツール LocalColabFold をローカルな GPU 計算機環境上に実装し、これを用いて構築した。また各復帰 BC オペロンに対して、局所的な構造の信頼度を与える指標 pLDDT に基づき上位 5 つの構造モデルを構築した。

7. 研究成果

スタート株として使用した 19 種の S 株のセルロース生合成オペロンへの遺伝子変異の内訳として、塩基の挿入欠損によるフレームシフトが 6 箇所、1 塩基置換によるアミノ酸の置換が 8 箇所、同じく 1 塩基置換によるストップコドンの挿入が 4 箇所およびトランスポゾン挿入変異が 1 箇所となる。我々は、これら S 株から新たに 13 株を取得し、これまでに取得してきた 5 株と合わせ、8 種の S 株を起点とする計 18 株の R' 株を取得することができた。また、これら復帰変異の取得を可能とした S 株の変異パターンの内訳は、塩基の挿入欠損によるフレームシフトが 4 箇所、1 塩基置換によるアミノ酸の置換が 2 箇所、同じく 1 塩基置換によるストップコドンの挿入が 2 箇所となり、フレームシフト変異が復帰変異を

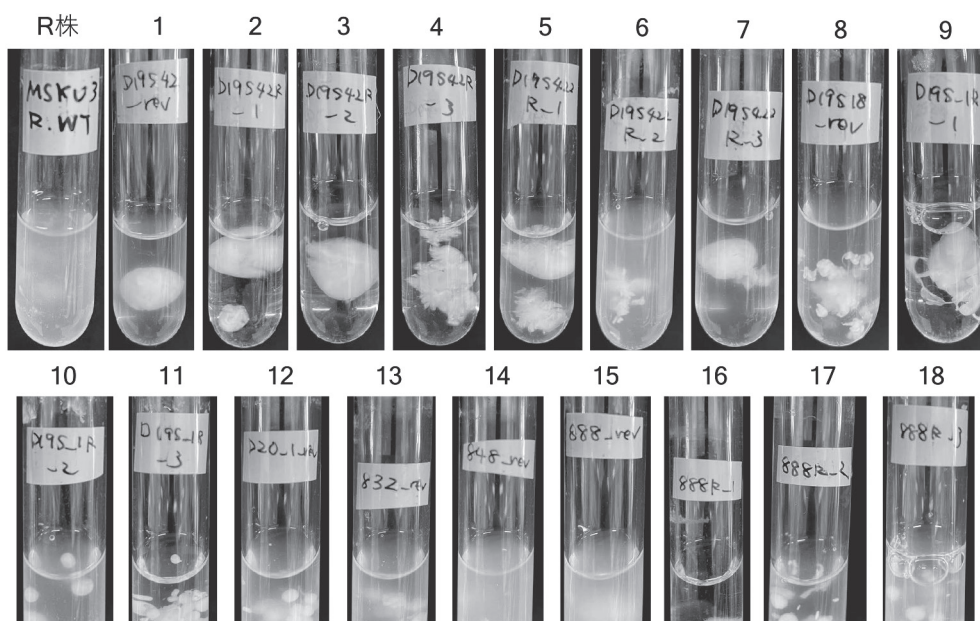


図1 元株（R）株と復帰変異（R'）株が生成するセルロースの形状の比較

獲得しやすい傾向にあるという結果が得られた。一方で、残り 11 種の S 株からは復帰変異株を取得することができなかった。このことは、復帰変異の可否が S 株に最初に入った変異の箇所に大きく依存することを示している。しかしながら、復帰変異を得ることができない株もフレームシフト変異を含めて変異様式に関わらず複数存在していることから、復帰変異の可否と高次構造との関係性について検討している。

高次構造モデルと復帰変異の可否の関係性については、現在もデータ解析を進めているところであるが、セルロースを排出する BcsC では、8 箇所中 5 箇所（約 60%）が復帰変異可能であったのに対して、セルロースの生合成に関わる BcsA では、9 箇所中 2 箇所（約 20%）と概ね BcsC の 1/3 程度の復帰変異に留まっていたため、その高次構造およびドメインが担っている機能により、復帰変異の可否が大きく異なることが示唆された（図 2A-E）。

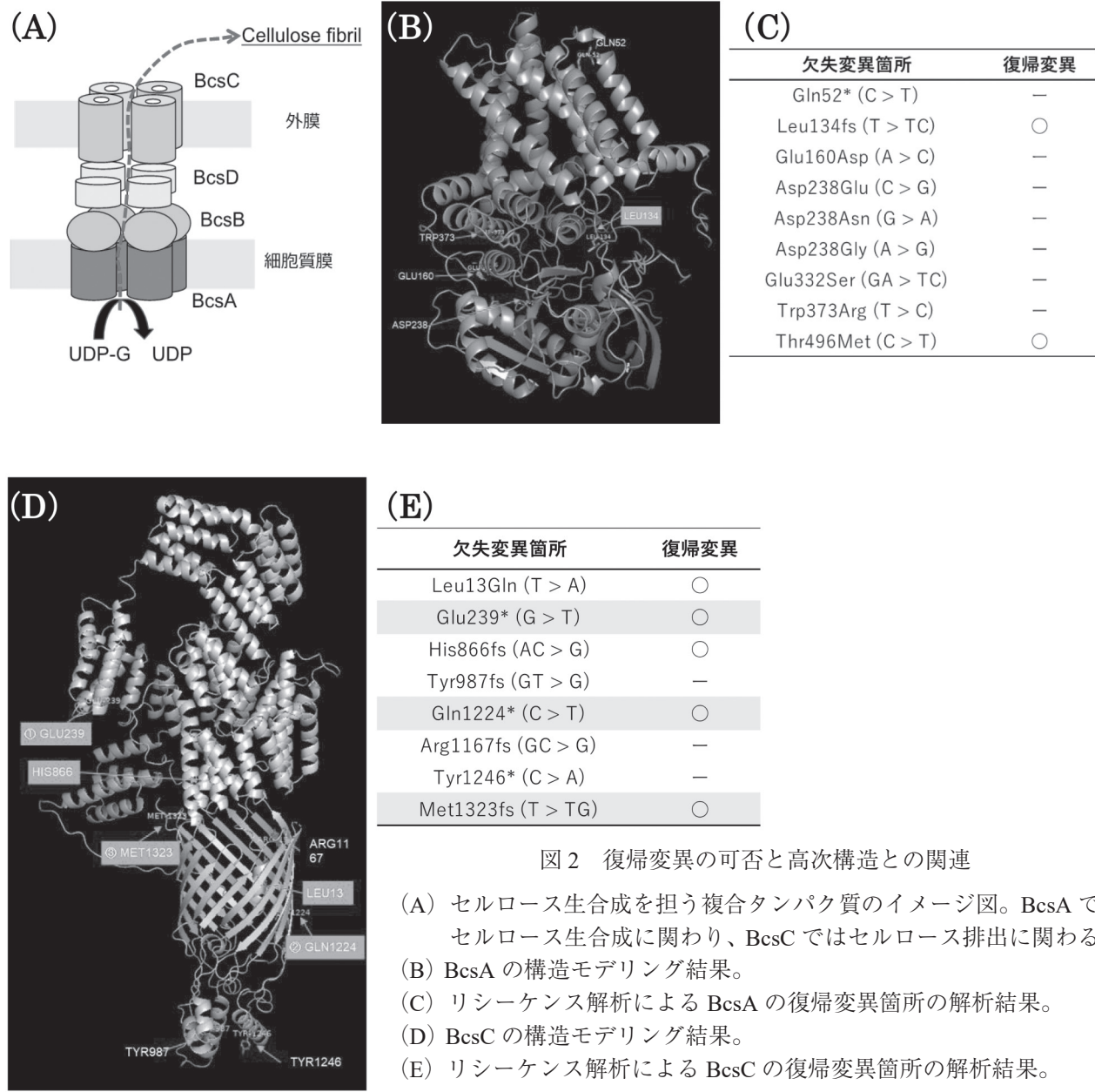


図 2 復帰変異の可否と高次構造との関連

- (A) セルロース生合成を担う複合タンパク質のイメージ図。BcsA ではセルロース生合成に関わり、BcsC ではセルロース排出に関わる。
 (B) BcsA の構造モデリング結果。
 (C) リーセンス解析による BcsA の復帰変異箇所の解析結果。
 (D) BcsC の構造モデリング結果。
 (E) リーセンス解析による BcsC の復帰変異箇所の解析結果。

これまでに取得した R' 株を培養すると、ゲル状や粒状などの元株（R 株）とは異なる形状のセルロースを生成することが明らかになった（図 1）。さらに、そのうちの 5 株を用いて、セルロースの生産量を比較したところ大幅な差異が見られたが、親株（非変異株、R 株）の生産量を大きく上回る株を取得することはできなかった（図 3）。残りの 13 株の生産量については、現在データの取得を進めている。また、今後も復帰変異を取得できた 8 種の S 株に絞り、更なる復帰変異株（R' 株）の取得を進める予定である。

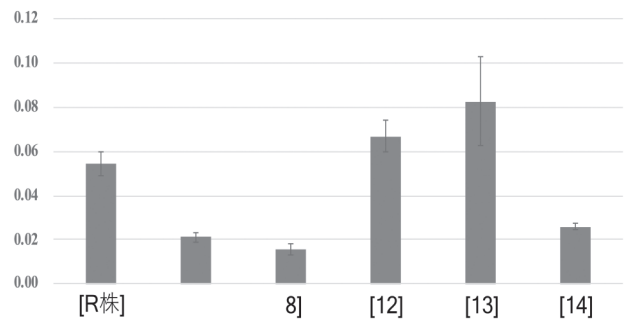


図 3 復帰変異（R'）株の BC 生成量の比較

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

酢酸菌のセルロース生産能は、セルロース生合成オペロン以外をターゲットにして遺伝子破壊などの遺伝子工学の実験を実施する場合には生育を阻害する足枷となる。この問題を解決するために、復帰変異が出来ないセルロース非生産変異株を利用した。現在、外部の共同研究先に提供し遺伝子実験に使用している。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

残された問題点について、下記に列挙する。

（1）復帰変異株の大量取得について

復帰変異株については、現在までに 18 株が得られているが、BC 実用化に向けた候補株をコレクション化するための復帰変異の数としては十分とはいえない。したがって、以下のような解決策を考えている。復帰変異株を取得可能な S 株については、今回の研究で特定することができたため、これらの株をベースに単一サンプルから複数系列をつくり、同時並行で静置継代培養を進めることで更なる有用変異の取得を目指す。

（2）得られた復帰変異株の表現型解析について

今回取得した 13 株と今後取得する株について、取得までの時間を要したため表現型の解析を行うことができなかった。したがって、今後は以下のような解析に取り組む予定である。これまでに取得した 5 株と同様、乾燥重量を比較することで正確なセルロース生産量を見積もって大量取得株を選抜する。また、コロニー形態が変化した株、多くのセルロースを生成できる株について、電子顕微鏡によって極細繊維のセルロースであるかどうかを確認する。

（3）取得した復帰変異株のゲノムリシーケンスについて

復帰変異株の変異箇所について、一部の株のみシーケンスが完了しており、残りの株については、ゲノムリシーケンス解析を現在進めているところであり、本報告までに達成できなかった。したがって、今後も以下のような解析に取り組む予定である。引き続き、残りの株のゲノムリシーケンス解析を進め、変異箇所をまとめたリストの作成や変異パターンについてまとめる。そして、取得した全ての復帰変異とセルロース生産量などの表現型を明らかにすることで高次構造の情報も含めた機構解明を目指す。

10. 公表した成果一覧

学術論文：特になし

学会発表

- 1) 酢酸菌の易変異性を利用したセルロース生合成オペロンの改変、松谷 峰之介，川嶋 牴牾，薬師 寿治，松下一信，石川 森夫、酢酸菌研究会 第11回 研究集会（東京）、令和5年11月9日（木）

2023年度 東京農業大学と農研機構との MF 型共同研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 太治 輝昭

1. 研究課題名および予算額

研究課題名
ホウレンソウの変異導入技術開発と低シュウ酸化に寄与する遺伝子の変異導入

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	太治 輝昭	生命科学部 バイオサイエンス学科・教授	ROC 変異株、低シュウ酸変異株のスクリーニング
研究代表者 (農研機構)	佐々木健太郎	農研機構 作物ゲノム編集研究領域・上級研究員	ホウレンソウへの iPB 法適用に向けた条件検討
研究分担者	山中 温人	生命科学研究科 バイオサイエンス専攻・博士前期課程1年	ROC 変異株、低シュウ酸変異株のスクリーニング

3. 研究期間

2023年6月7日～2024年3月31日（1年計画の1年目）

4. 研究の背景（当初）

ホウレンソウは栄養価が高く、世界中で食される重要な野菜である。一方、ホウレンソウは大部分の作物と比較してシュウ酸含量が高く、腎結石形成（およびエグ味）の原因となり得る食品として知られており、低シュウ酸含量化が望まれている。なぜ生重量 1% にも相当するシュウ酸を蓄積するのか、一般に害獣・害虫への防御応答と考えられているものの、その蓄積メカニズムや生物学的意義は不明であり、これらの解明は基礎研究としてのインパクトのみならず、他のシュウ酸高蓄積作物（山芋やコーヒーなど）の低シュウ酸化に繋がる潜在性を有する。2022 年 7 月にホウレンソウの低シュウ酸含量品種「まるみ」が開発されたものの、その原因遺伝子については不明である。シュウ酸の生合成または代謝経路については、モデル植物を中心にその経路で働く遺伝子がいくつか知られているものの、ホウレンソウにおける寄与度は不明である。また、ホウレンソウの形質転換法は未だ確立しておらず、これまでにホウレンソウ個体の遺伝子機能改変に関する報告はない。先行研究において、植物ウイルスベクターを利用したウイルス誘導ジーンサイレンシング（Virus-induced gene silencing, VIGS）のホウレンソウへの技術移転を検討したところ、効率よく VIGS を誘導可能なウイルスベクターを得ることに成功した。こ

のウイルスベクターを用いてシュウ酸生合成遺伝子群に対する VIGS を試みたところ、*Reducing Oxalate Content, ROC* と命名した遺伝子発現抑制株のみ、コントロール植物と比較して約 30% のシュウ酸含量低下が認められた。複数のハウレンソウ品種について VIGS による *ROC* 発現抑制効果を調べたところ、いずれの品種においても有意にシュウ酸含量の低下が認められたことから、ハウレンソウのシュウ酸含量に寄与する遺伝子同定に成功した。

5. 研究目的

本研究では低シュウ酸含量ハウレンソウの分子育種を目的に、農研機構とカネカ（株）が共同開発した組織培養を介さないゲノム編集技術である、in plant Particle Bombardment (iPB) 法のハウレンソウへの適用、さらには *ROC* 遺伝子のゲノム編集、およびエチルメタンスルホン酸（EMS）による突然変異処理を介した *ROC* 変異株ならびに低シュウ酸含量変異株の単離を試みる。

6. 研究（実験）方法

＜東京農大_太治＞

- 1) EMS 変異_M1 世代における *ROC* 変異株の PCR スクリーニング
- 2) EMS 変異_M2 世代における低シュウ酸変異株スクリーニング

＜農研機構_佐々木＞

- 1) GFP を用いたパーティクルガンの打ち込み条件の検討
- 2) *ROC* 遺伝子のゲノム編集条件の検討

7. 研究成果

＜東京農大_太治＞

（1）EMS 変異_M1 世代における *ROC* 変異株の PCR スクリーニング

新日本（遺伝的固定品種）_EMS 変異_M1 世代において、5 個体をひとまとめにしてゲノム DNA 抽出し、*ROC* 遺伝子のエキソン部位を PCR で増幅後、T7 endonuclease I により、ヘテロで変異が入った個体の検出を行った。いくつか実施する中で、ヘテロ変異が検出されたものの、同じバンドパターンを示すことに気付いた。そこで個体ごとに *ROC* 遺伝子のシーケンスを実施したところ、いくつかの SNP が存在することが明らかになった。これは固定品種である新日本も完全に遺伝的に固定できていないことを示唆する。そこで、*ROC* においてホモ化できた個体より間性株を介した自殖由来の種子を獲得した。現在はこれらに EMS 処理している。

（2）EMS 変異_M2 世代における低シュウ酸変異株スクリーニング

これまでに EMS 変異_M1 世代の個体から間性株を得て自殖種子を 50 系統得たので、それらについてシュウ酸含量を簡易に定量し、シュウ酸含量が低い候補株から M3 世代種子を得た。個体のバラツキはあるものの、野生株と比較して 2~3 割ほどシュウ酸含量が低い傾向が認められた。低シュウ酸品種の「まるみ」は新日本と比較して 7 割ほど低いため、その程度にシュウ酸含量が低下した変異株を継続してスクリーニングしている。ただし、間性株の出現頻度（3 割程度）の問題で M2 世代を得られないことが多く、スクリーニングの母集団がなかなか増えていない問題を抱えているのが現状。

(1) GFP を用いたパーティクルガンの打ち込み条件の検討

iPB 法を用いたホウレンソウのゲノム編集技術の確立に向けて、まず金粒子が茎頂組織（生殖細胞系列が存在する）に導入されるかを確認した。具体的には、GFP コンストラクトを、金粒子を介してパーティクルガンを用いて茎頂組織に打ち込み、GFP 蛍光を指標に金粒子の茎頂組織への導入を評価した。コムギなど、これまで iPB 法が適用できた植物種においては、茎頂に GFP コンストラクトを打ち込むと強い GFP 蛍光が観察されている。しかし、ホウレンソウの茎頂における GFP 蛍光は、コムギ等と比較すると弱く、GFP が強く光る条件検討が必要とされた。種皮を剥いた際に植物体に「ぬめり」があったため、それが茎頂への金粒子導入を阻害する要因と考えられた。そこで、ぬめりを取るために「洗浄」してから GFP コンストラクトの打ち込みをしたところ、強い GFP 蛍光が茎頂で観察されるようになった。

(2) ROC 遺伝子のゲノム編集条件の検討

ROC 遺伝子をターゲットとするガイド RNA とゲノム編集酵素（Cas9）を RNP（Ribonucleoprotein）の形で茎頂組織に打ち込み、ゲノム編集される条件の検討を行った。打ち込み植物からゲノム DNA を抽出し、ガイド RNA のターゲット配列を含む DNA 領域を PCR 後に制限酵素で処理してその切断パターンを確認した。その結果、未切断バンド、つまり編集により制限酵素切断配列に変異が生じたと考えられるバンドが複数個体で認められる条件を見出した。それらの変異箇所についてシーケンスしたところ、PAM 配列の 3～4 塩基前付近に変異が認められたことから、iPB 法によりホウレンソウにゲノム編集が適応できたと示唆された。ただし、打ち込み植物はキメラ状態（植物内に編集された細胞と編集されていない細胞が存在する状態）であり、変異が固定された植物を得るためには、次世代の種子を得て遺伝しているか（生殖細胞系列に編集が生じたのか）を確認する必要がある。現在、次世代の種子を獲得しており、今後変異の遺伝を確認する予定である。

上記のホウレンソウのゲノム編集技術の開発においては、(1) で改善が認められた「洗浄」ステップを入れておらず、当該処理により、変異効率および変異遺伝率の更なる向上が期待できる。現在、洗浄した植物を用いた RNP の打ち込み実験を進めているところである。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特許出願

【発明の名称】 ホウレンソウおよびその製造方法

内容：本研究成果で得られた ROC 遺伝子抑制による低シュウ酸含量ホウレンソウ作出技術

農研機構 生物機能利用研究部門内 石橋和大博士との共同出願

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

上述のとおり、EMS 変異_M2 世代における低シュウ酸変異株スクリーニングについては、間性株の出現頻度が低いこともあり、スクリーニングの母集団がなかなか増えにくい。これについては徐々に母集団を増やす努力を続ける予定である。

iPB 法を用いたゲノム編集については、次世代に変異が遺伝しているかを確認する予定である。また、ROC 遺伝子以外の遺伝子にも iPB 法が適用できるかを検証するため、他のシュウ酸関連遺伝子をターゲットとしたゲノム編集を行う予定である。

10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) Isono K, Nakamura K, Hanada K, Shirai K, Ueki M, Tanaka K, Tsuchimatsu T, Iuchi S, Kobayashi M, Yotsui I, Sakata Y, *Taji T. LHT1/MAC7 contributes to proper alternative splicing under long-term heat stress and mediates variation in the heat tolerance of Arabidopsis. **PNAS Nexus** 2023; 2(11): pgad348. doi: 10.1093/pnasnexus/pgad348
- 2) Endo N, Tsukimoto R, Isono K, Hosoi A, Yamaguchi R, Tanaka K, Iuchi S, Yotsui I, Sakata Y, *Taji T. MOS4-associated complex contributes to proper splicing and suppression of ER stress under long-term heat stress in Arabidopsis. **PNAS Nexus** 2023; 2(11): pgad329. doi: 10.1093/pnasnexus/pgad329
- 3) Kanamori K, Nishimura K, Horie T, Sato MH, Kajino T, Koyama T, Ariga H, Tanaka K, Yotsui I, Sakata Y, *Taji T. Golgi apparatus-localized CATION CALCIUM EXCHANGER4 promotes osmotolerance of Arabidopsis. **Plant Physiology** 2024; 194: 1166–1180 (IF = 8.0) doi: 10.1093/plphys/kiad571
- 4) Mori K, Murakoshi Y, Tamura M, Kunitake S, Nishimura K, Ariga H, Tanaka K, Iuchi S, Yotsui I, Sakata Y, *Taji T. Mutations in nuclear pore complex promote osmotolerance in Arabidopsis by suppressing the nuclear translocation of ACQOS and its osmotically induced immunity. **Frontiers in Plant Science** 2024; 15 (IF = 6.6) doi: 10.3389/fpls.2024.1304366

学会発表

- 1) 低シュウ酸含量ホウレンソウ変異株の作出：山中温人、市川翔哉、石橋和大、佐々木健太郎、四井いずみ、坂田洋一、太治輝昭：日本植物バイオテクノロジー学会（仙台）2023年9月
- 2) Identification of genes contributing to low-oxalate-content in spinach. Yamanaka Haruto, Shoya Ichikawa, Kazuhiro Ishibashi, Kentaro Sasaki, Izumi Yotsui, Yoichi Sakata, Teruaki Taji：日本植物生理学会（神戸）2024年3月

2023年度 東京農業大学と農研機構との MF 型共同研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 伊藤 博武

1. 研究課題名および予算額

研究課題名
オオムギの不良環境適応性の向上にむけた根の生理・遺伝学的研究

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	伊藤 博武	生物産業学部 北方圏農学科・教授	大麦根系のストレス反応の生理的解析
研究代表者 (農研機構)	中野 友貴	中日本農業研究センター 水田利用 研究領域品種開発グループ・研究員	大麦根系のストレス応答遺伝子の同定及び根系関連遺伝子の変異解析
研究分担者	長嶺 敬	中日本農業研究センター 水田利用 研究領域品種開発グループ・グループ長	有用な根系関連遺伝子の集積による 不良環境適応性大麦の早期開発
	涌井 三蔵	生物産業学研究科 北方圏農学専攻・ 博士前期課程1年	根のストレス反応の品種間差異の解

3. 研究期間

2023年6月7日～2024年3月31日（1年計画の1年目）

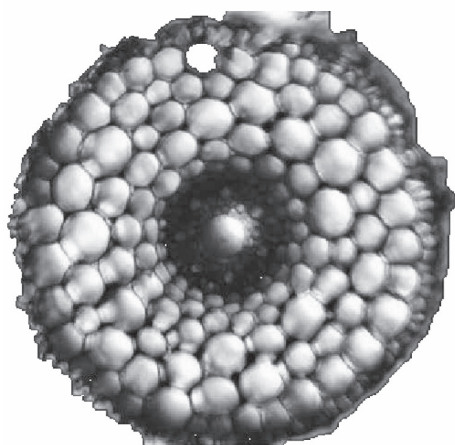
4. 研究の背景（当初）

気象変動の激化による干ばつや多雨、肥料コストの上昇や化学肥料の連用による土壌の酸性化など、世界の大麦生産を取り巻く環境は厳しさを増している。そのような中で安定した大麦生産を行うためには、理想環境下で多収高品質を実現する品種ではなく、これらのストレス環境下でも安定した収量や品質を保証する「不良環境適応性品種・栽培法」の開発が必要である。本研究は、土壌環境への適応に重要である「根系」に着目し、各種ストレスによる根系の反応、根関連遺伝子の発現解析や有用遺伝子の集積育種をすすめ、大麦の安定生産の基盤を構築する。

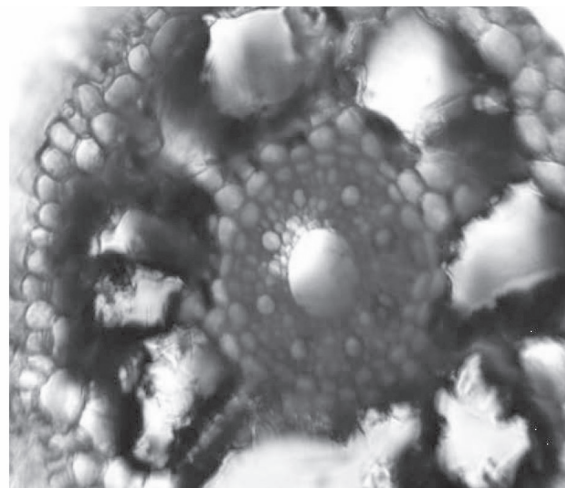
5. 研究目的

2023年度の本研究課題では以下の4点に重点を置き、「不良環境適応型品種・栽培法」の開発に必要

な知見を積み上げる。すなわち、「1：大麦根系のストレス応答遺伝子の同定及び根系関連遺伝子の変異解析」、「2：大麦根系のストレス反応の生理的解析」、「3：ポット栽培による乾燥ストレスの再現・評価（東京農大）」および「4：有用な根系関連遺伝子の集積による高不良環境適応型大麦新品種の早期開発（農研機構）」の4点である。ここでは、特に東京農大が担当した「3：ポット栽培による乾燥ストレスの再現・評価」を中心的な目的とした。2022年度における過湿土壌条件を模した低酸素条件の SkyGel 培地で栽培した結果、特に「ファイバースノウ」は総根長が最も短く、「大正麦」は最も長くなった。その要因として、「大正麦（100%）」の破生通気組織（写真1）の形成率は「ファイバースノウ（63.6%）」よりも高いためと報告している。一方、乾燥土壌条件についてみると、「ユメサキボシ」は乾燥条件下で側根数の増加が認められ草丈の成長を維持していると報告している。ただし、両実験は極初期の影響を調べているに過ぎず、「大正麦」の耐湿性が高い、また「ユメサキボシ」の耐乾性が高いとは限らない。そこで、2023年度の実験では、茎立ち期まで栽培してから過湿条件下や乾燥条件下で、50日間という長い時間で栽培した場合の地上部と根への影響を検討した。



「ファイバースノウ」



「大正麦」

写真1 「ファイバースノウ」と「大正麦」の根の横断切片

6. 研究（実験）方法

以下の両実験とも東京農業大学オホーツクキャンパス内の温室にて実施した。また栽培には特注の透明なアクリルパイプ（直径 5.3cm 長さ 22cm）を用いた。

【過湿土壌条件】

2022年度の実験にて耐湿性に極端な有意差が認められた。「ファイバースノウ（湿害耐性：劣）」と「大正麦（湿害耐性：優）」の2品種を選び試供した。土壌には、園芸培土、有機土壌およびデンプンを100:10:1の割合で混合して使用した。両品種とも14個体ずつの計28個体を準備し、茎立ち期以降に半分の個体を湛水区に移し各品種の生育調査を行った。生育調査は草丈、地上乾物重、SPAD値、葉の枚数、種子総根長、総側根長を調査した。種子総根長と総側根長の画像解析の際、本研究では根の太さ0.3mm未満を側根、そして根の太さ0.3mm以上1.0mm未満を種子根とした。

【乾燥土壌条件】

耐乾性に優れている「ユメサキボシ」と影響が大きく耐乾性に劣る「HN67」の2品種・系統を使用し

た。土壌には園芸培土を使用し、pF 測定値（土壌水分条件）が 1.5（成長有効水分点）と 3.0（成長阻害水分点）に相当する様に、それぞれ土壌 1kg に対し水 300ml と水 400ml を添加した。調査は草丈、地上乾物重および根の乾物重の計 3 項目とした。

7. 研究成果

【過湿土壌条件】

本研究での過湿区の電荷還元電位（Eh）は Eh296mV から Eh89mV になった（データは示していない）。過湿区の草丈が極端に小さくなり（図 1）、また過湿区の根は著しく約 25%と短くなったことから、土壌 Eh296mV から Eh89mV の値でも土壌は過湿条件になっており、大麦に低酸素の影響が観察されたと判断した。

本研究の過湿区の調査では草丈、地上部乾物重および葉数（データは示していない）の全てにおいて品種間に有意な差が認められ、「大正麦」が「ファイバースノウ」よりも大きくなった。また、過湿区は全ての形質で対照区よりも低くなった。地下部では、両品種とも総種子根長より総側根長の方が長くなった。特に処理間に有意な差が認められて過湿区では両品種とも低酸素によって根の成長が抑制されたものの、過湿区でも「大正麦」総側根長は「ファイバースノウ」よりも長い傾向はあるものの品種間に大きな差が認められなかった。

以上から、本研究の結果は「大正麦」の耐湿性が「ファイバースノウ」より優れていると報告している 2022 年度の結果を支持していると考えられた。ただし、本実験では成熟期までの栽培では無いことから、耐湿性からみた収量性の検討も望まれる。

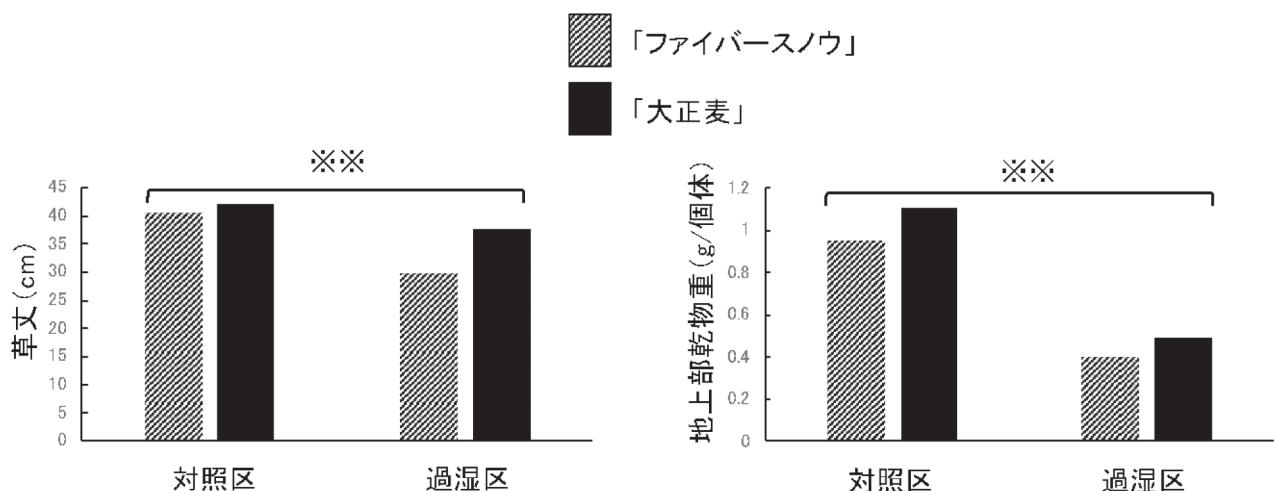


図 1 過湿土壌処理による供試 2 品種の草丈と地上部乾物重

※※は処理間に 1% 水準で有意な差があることを示す。

【乾燥土壌条件】

本研究における草丈、地上部乾物重、葉数、地下部乾物重は処理間に有意な差が認められ、乾燥区で大きく減少した（図 2）。草丈をみると、対照区に対する乾燥区の草丈は「ユメサキボシ」で 87.0%となり、「HN67」では 91.3%となった。次に地上部の乾物重でみると、「ユメサキボシ」は 59.2%と高いのに対し、「HN67」は 54.4%と低かった。根の乾物重に着目してみると、両品種とも処理間に大きな差が認められ、さらに「HN67」は「ユメサキボシ」よりも大きく減少することが分かった。すなわち、本研究での草丈と地上部乾物重という視点から乾燥土壌条件の影響をみると、「ユメサキボシ」への影響は

「HN67」よりも小さことが分かった。

2022 年度に報告している「ユメサキボシ」は乾燥条件下で側根数の増加が認められ草丈の成長を維持していると著者らは報告している。50 日目の草丈では品種間で逆転の結果となった。しかしながら、生長量を乾物生産量で評価すると、生育初期における側根形成能力高い「ユメサキボシ」は耐乾性に優れる結果を支持できると考えられた。ただし、本実験では過湿土壌条件と同様に成熟期までの栽培では無いことから、乾燥耐性からみた収量性の検討も望まれる。

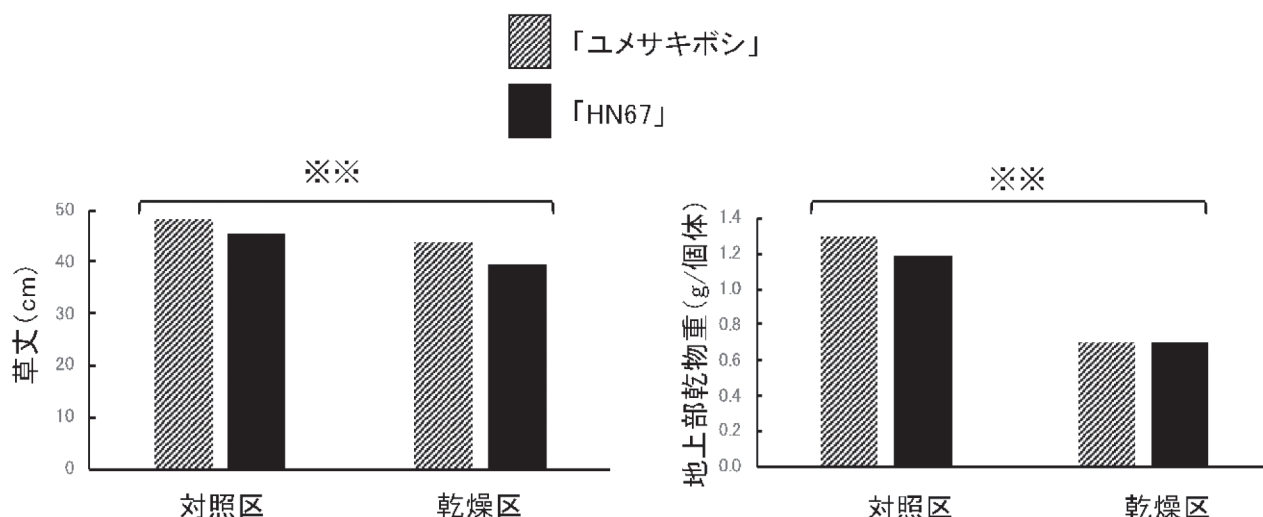


図2 乾燥土壌処理による供試2品種の草丈と地上部乾物重

※※は処理間に1%水準で有意な差があることを示す。

【まとめ】

2022 年度は極初期の生育にて過湿土壌条件と乾燥土壌条件に対するストレス耐性を評価したに過ぎなかった。しかしながら、2023 年度に 50 日間の栽培を通じて、両年度での評価に大きな違いはないと判断された。これらの結果に収量性の評価も加味して判断すべきであるが、2023 年度の結果は、過湿土壌条件と乾燥土壌条件に対するストレス耐性の初期選抜の可能性を示しているであろう。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特になし

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

特になし

10. 公表した成果一覧

学会発表

- 1) 涌井三蔵、鈴木伸治、中野友貴、長峰敬、伊藤博武、「根系の特性から見た大麦品種の乾燥ストレス耐性」(2023 年 11 月 4 日) 第 58 回根研究集会
- 2) 中野友貴、「高湿害耐性品種の開発を目指したオオムギの根伸長角度および低酸素応答の品種間差異に関する研究」(2023 年 12 月 24 日) 第 18 回ムギ類研究会

2023年度 東京農業大学と農研機構との MF 型共同研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 笠島 真也

1. 研究課題名および予算額

研究課題名
ソバ産業の未来を拓く：半矮性ソバの効果的な栽培技術開発

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	笠島 真也	生物産業学部 北方圏農学科・准教授	研究の総括（研究・管理）
研究代表者 （農研機構）	石黒 浩二	北海道農業研究センター・主席研究員	研究の総括（研究・管理）
研究分担者	原 尚資	北海道農業研究センター・上級研究員	試験担当者
	大塚しおり	北海道農業研究センター・研究員	試験担当者

3. 研究期間

2023年6月7日～2024年3月31日（1年計画の1年目）

4. 研究の背景（当初）

ソバの収量は主要な穀物に比べ極めて低く、増収技術が求められている。ソバの栽培では、茎が倒れやすく、脱粒や穂発芽の問題から収量や品質が低下しやすいという課題が生産の制限要因となっている。近年、北農研によって、実用性に優れた半矮性ソバ系統が育成されている。本系統は、単一劣性遺伝子支配の半矮性遺伝子により植物体の草丈が従来品種よりも短く、倒れにくい性質を示す画期的な材料である。そのため、従来の品種では倒伏を防止するため、施肥量を制限する必要があったが、半矮性ソバでは適正な施肥管理が可能となる。本研究では、半矮性を活かした施肥管理を確立し、少量の追肥で従来品種に比べて収量を約10～20%増加させ、粉のタンパク質含有率を1～2%向上させることを目指す。

5. 研究目的

本研究では、半矮性ソバに着蕾期と開花期に窒素追肥を行い、収量性に加えて、粉の窒素含量やタンパク質含有率など品質面を調査することを主目的とした。

6. 研究（実験）方法

【北農研担当試験】

複数の半矮性ソバ系統「18sd-1」、「18-601」と従来品種「キタミツキ」の間で形態形質を比較し、収量成立要因を明らかにしようとした。また、東京農業大学の圃場で収穫された追肥処理区のソバ粉のタンパク質含有率等の品質項目を測定した。

【東農大担当試験】

材料は北海道農業研究センターで育成されている普通ソバの半矮性系統「18-601」を用いた。試験は網走市呼人の圃場（泥炭土）で行った。播種は2023年6月8日に畦間30cm、株間2cm（播種量167粒 m^{-2} ）でシーダー播種機を用いて行った。基肥はNを 2g m^{-2} 、 P_2O_5 を 8g m^{-2} 、 K_2O を 4.7g m^{-2} を全層施肥した。窒素施肥は施用時期（基肥 - 着蕾期 - 開花期）に応じて4処理区を設けた。窒素成分で基肥（ 2g m^{-2} ）のみ施用した2-0-0区、基肥に加えて着蕾期に 2g m^{-2} 追肥した2-2-0区、開花期に 2g m^{-2} 追肥した2-0-2区、着蕾期と開花期に 2g m^{-2} ずつ追肥した2-2-2区を設けた。基肥、着蕾期、開花期の施用はそれぞれ6月6日、6月30日、7月14日に行った。1区面積を $1.2\text{m} \times 2.5\text{m}$ とし、3反復乱塊法で配置した。7月28日にSPAD値（葉色）を調査し、8月25日の収穫時に主茎長と分枝数を調査した。収量は各区とも生育が均一な20個体を刈り取り求めた。

7. 研究成果

【北農研担当試験の結果】

半矮性系統は主茎節数がやや少ないが、「18-601」では総花房数が多く、「18sd-1」では千粒重が重いことにより、既存品種「キタミツキ」の90%程度の収量性を確保することが明らかになった（表1）。また、半矮性系統は中～上位節の節間長が短かった（図1）。

【東農大担当試験の結果】

本試験では、いずれの処理区でも倒伏は観察されなかった。特に、2023年の台風7号が北海道を通過した後も、基肥のみを施した区（2-0-0）や窒素追肥を施した区（2-2-0、2-0-2、2-2-2）全てで倒伏は

表1 半矮性系統の生産力評価（令和5年）

播種期	品種・系統	播種日 月・日	開花期 月・日	収穫日 月・日	草丈 cm	主茎長 cm	主茎節数 節/株	分枝数 本/株	総花房数	茎の太さ	倒伏程度	全重 kg/10a	子実重 kg/10a	標準比 %	千粒重 g	容積重 g/L	収穫指数
標播	18sd-1 半矮性	6.07	7.08	8.22	97	94	11.6	2.0	23.4	6.2	1.3	676	160	89	31.8	570	0.224
	18-601 半矮性	6.07	7.07	8.22	86	81	11.3	3.0	38.5	6.1	1.3	630	160	89	30.6	570	0.243
	キタミツキ標準	6.07	7.06	8.22	118	117	13.1	2.2	23.1	5.3	2.0	746	180	100	29.5	582	0.228
晩播	18sd-1 半矮性	6.22	7.23	9.19	110	109	13.5	2.4	34.4	8.0	1.3	730	161	94	31.6	538	0.205
	18-601 半矮性	6.22	7.22	9.19	105	104	14.9	2.5	41.1	7.5	1.5	713	181	105	29.9	530	0.237
	キタミツキ標準	6.22	7.21	9.19	147	146	15.3	2.3	30.5	6.8	4.3	778	172	100	27.6	562	0.206

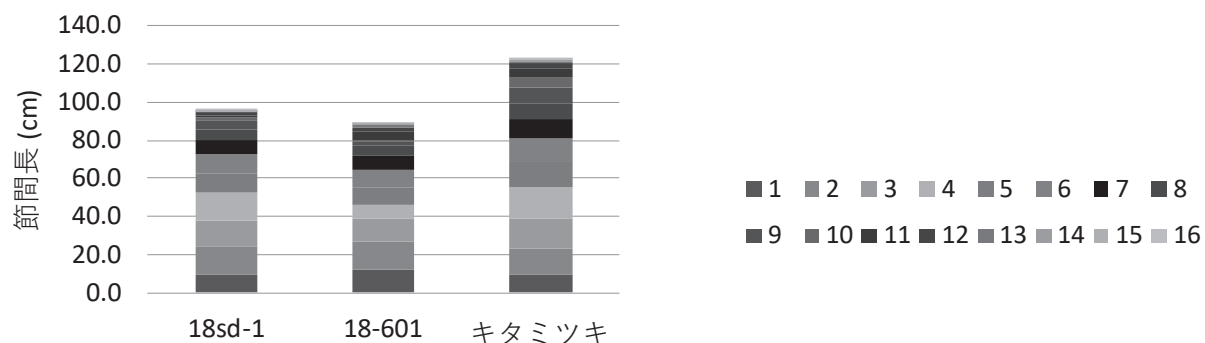


図1 節間長の品種・系統間比較

みられなかった。窒素追肥は SPAD 値に有意な影響を与え（図 2）、SPAD 値は 2-2-2 区で最も高く、その次に 2-0-2、2-2-0、2-0-0 の順であった。主茎長は処理区間に大きな差がみられなかったが（図 3）、分枝数は窒素を追肥した区（2-2-0、2-0-2、2-2-2）で多かった（図 4）。子実収量は窒素追肥によって増収効果がみられ（図 5）、2-0-2 区で最も高い子実収量が得られ、その次に 2-2-0 区が続き、それぞれ 97.9g および 89.5g m² の収量を示し、2-0-0 に比べて 1.34 倍および 1.23 倍の増加を示した。2-2-2 区と 2-0-0 区の間に収量差はみられなかった。千粒重は処理区間で大きな差がなく（図 6）、m² あたりの子実数は子実収量の傾向を反映していた（図 7）。粉のタンパク質含有率は窒素追肥により増加する傾向を示し（図 8）、最も高いタンパク質含有率は 2-0-2 区で観察され、その次に 2-2-2 区が続いた。両区はそれぞれ 15.0g/100g のタンパク質含有率を示し、2-0-0 区に比べて 108%の増加を示した。

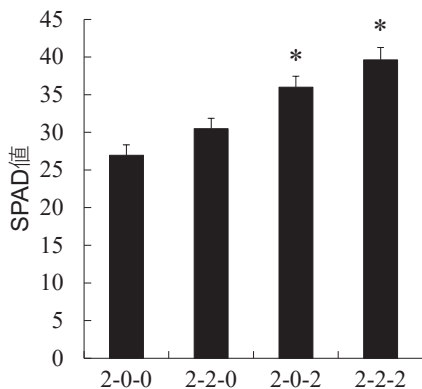


図 2 各処理区における SPAD 値

Dunnet による多重比較検定（片側検定）

* 対照区（2-0-0 区）に対して 5%水準で有意差あり。

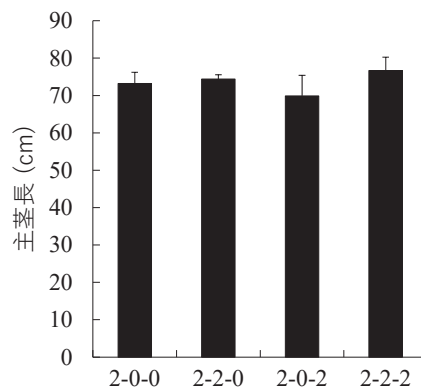


図 3 各処理区における主茎長

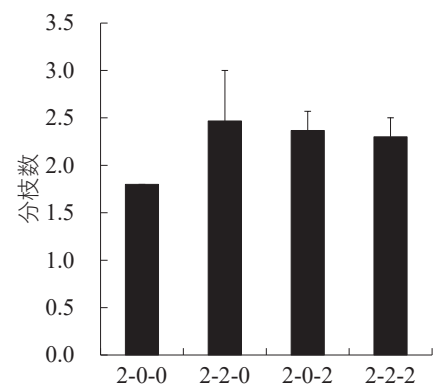


図 4 各処理区における分枝数

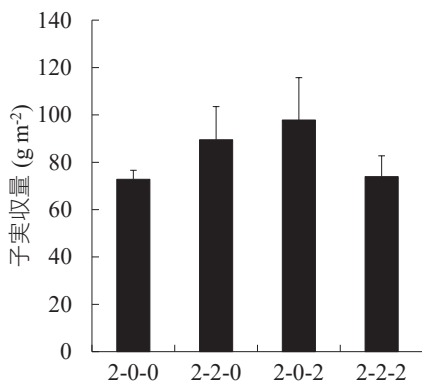


図 5 各処理区における子実収量

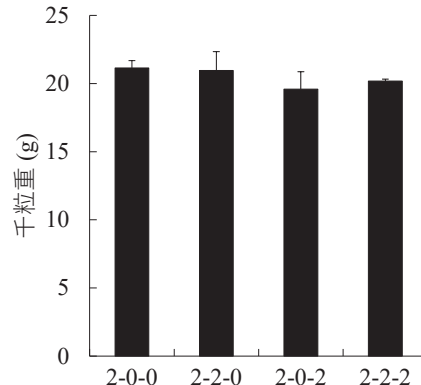


図 6 各処理区における千粒重

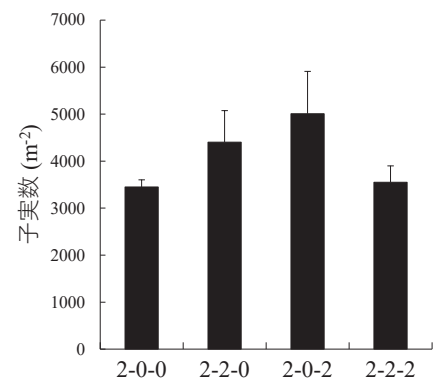


図 7 各処理区における子実数

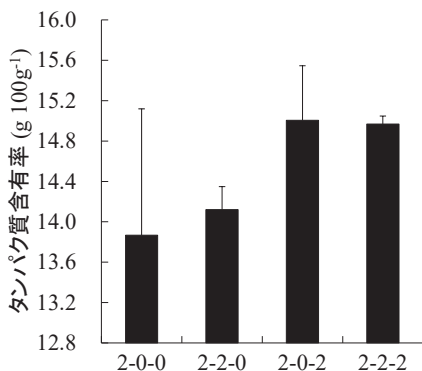


図 8 各処理区における
タンパク質含有率

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

本研究成果より、普通ソバの半矮性系統において窒素追肥は有効であり、特に開花期の追肥により高収量と高タンパク化が期待できる。ソバ主産地の北海道において効率的かつ実用的な生産の技術開発と高品質化に向けた重要な一歩となると考えられる。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本試験では、着蕾期と開花期の両方に追肥した 2-2-2 区で増収が認められなかったことから、適正施肥量の把握が課題である。一方で、半矮性ソバを活用することで、開花期の窒素追肥により粉のタンパク質含有率が増加することが確認された。ソバ粉のタンパク質含有率はそば切りの製麺適性と深く関連するため、育種だけでなく栽培によるタンパク質制御の方策を追求する。

10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) Kasajima, S., Yoshida, M., Ishiguro, K., Hara, T. and Otsuka, S. 2024. Effect of nitrogen topdressing on seed yield and flour protein content in semidwarf common buckwheat. *Fagopyrum* 41, 41-47.

学会発表

- 1) 笠島真也・吉田みらい・石黒浩二・原尚資・大塚しおり 2024. 窒素追肥が普通ソバ半矮性系統の収量と品質に及ぼす影響. 日本作物学会第 257 回講演会要旨集.

2023年度 企業とのマッチングファンド型共同研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 西尾 善太

1. 研究課題名および予算額

研究課題名
近赤外分析によるコムギのビタミン E 含量測定法の開発とその応用による高付加価値国産食品の展開 Determination of Vitamin E Content of Wheat by Near-Infrared Analysis and Its Application to High-Value-Added Domestic Foods.

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	西尾 善太	農学部 農学科・教授	研究総括・ビタミン E 測定・ 近赤外線検量線作成
研究代表者 (企業)	田中 智樹	株式会社ニッポン 中央研究所 小麦研究チーム・チームマネージャ	コムギサンプル調製・全粒粉等 の加工適性評価

3. 研究期間

2023年4月1日～2024年3月31日（1年計画の1年目）

4. 研究の背景（当初）

令和4年の農林水産省食料需給表によると、わが国の一人あたりの年間のコメの消費量は50.9kgで減少傾向にあるが、コムギの消費量は31.7kgで安定しており、主要穀物の中で存在感を増している。コメやコムギなどの穀類の種子には、主に栄養分を蓄える胚乳と、発芽して成長を始める胚芽が存在する。このうち胚芽には、胚乳にはほとんど含まれないビタミンやミネラルなどの重要な栄養素が多く含まれる。その中でも特に脂溶性のビタミンE（トコフェロール類）に富むことが知られる。このため、コムギの製粉工程において分離された胚芽は、高価なコムギ胚芽油や健康補助食品の原料となっている。しかし、コムギの胚芽は、通常は種子重量のうち約2%とかなり少ないため、高価格で取引されている。近年、わが国のイネの品種改良では、胚芽に含まれる多くの有用成分に着目し、通常のイネの約3倍の大きさの胚芽を有するいわゆる巨大胚品種が育成されている。巨大胚イネは品質や栽培特性の改良が進み、「金のいぶき」等の優れた食味と栄養分を示す高付加価値の品種が人気を得ている。一方、コムギの巨大胚に関する研究はほとんど報告されておらず、巨大胚品種も開発されていない。そこで、応募者らは2021～22年度の東京農大と農研機構のマッチングファンド型共同研究において、巨大胚コムギの有望

な遺伝資源から胚芽サイズの大きい海外品種の「Turkey-43」や日本で最も生産量の多い品種「きたほなみ」の突然変異系統「E15-0198」等を見出した。さらに、ゲノムワイド関連解析を用いてコムギの胚芽の大きさに関連する DNA マーカーの同定に加え、胚芽サイズの増加に応じて貴重な栄養素であるビタミン E の含量が有意に増加することを見出し、世界的に初めての巨大胚コムギ開発の端緒となる成果を得た。そこで、本マッチングプロジェクト研究では、新たな国産コムギの需要創出の追求のため、大手製粉企業と共同で非破壊方式の簡便かつ短時間で測定可能な「近赤外線分析」によるコムギのビタミン E 含量の測定法を開発し、早期の実用化を目指す。これにより、コムギ原料に含まれる有用な栄養成分を短時間かつ的確に評価可能とする技術開発を実現し、高い付加価値を持つ国産コムギの研究成果と蓄積を社会実装するため早期の商品化を目指す。

5. 研究目的

前述のように、コムギの胚芽には多くの重要な栄養素が含まれ、高価格で取引されている。しかし、その栄養含量を簡便かつ短時間に評価するための研究開発は、世界的にもほとんど手つかずになっている。我が国の健康志向が高まっている中で、貴重な栄養素を多く含むコムギを効率的に評価することが出来れば、国産コムギの付加価値を画期的に高めることが可能となる。貴重な栄養成分を多く含み、最近売上が増加している全粒粉パンや菓子等への高まる期待や、さらなる市場の拡大余地を考慮すると、その経済波及効果は極めて大きい。本研究の成果は、国産コムギの付加価値向上と自給率の向上だけではなく、国民の健康増進に対しても大きく寄与することが期待できる。既に東京農大に導入されている近赤外線分析装置の世界的な標準機種であるインフラマチック 9500 を用いて予備的なビタミン E の検量線作成を開始した。2022 年の厚木産のコムギ 10 品種について近赤外線分析による検量線の作成を試みたところ、決定係数が 0.63 以上の比較的良好な結果が得られた。本研究プロジェクトでは、サンプル数を増加してビタミン E の検量線をブラッシュアップし、早期の実用化を加速することにより、コムギのビタミン E 含量測定の簡便かつ短時間に行うことを実現する。これより栄養的に高い価値を持つコムギ原料の評価にかかるコストを大幅に縮減することが可能になり、高付加価値かつ価格競争力の高い全粒粉や栄養補助食品等の事業化につながる。

6. 研究（実験）方法

東京農業大学農学部農学科植物育種学研究室で維持管理されている、農研機構遺伝資源センタージェンバンクの日本のコムギコアコレクションのうち、全粒粉パンの香味特性が優れる系統として選抜した「鴻巣 25 号」、「ナンプコムギ」、「ユキチャボ」、「広島シプレー」、「アブクマワセ」と、国産小麦の主要品種である「ゆめちから」、「みのりのちから」、「きたほなみ」、に加え、「せときらら」、「農研小麦 1 号」の計 10 品種を、全粒粉製パン試験および成分分析に使用した。このサンプルは、東京農大厚木キャンパスの試験圃場に 2022 年 11 月に播種してから 2023 年 6 月に収穫し、7、8 月に脱穀・乾燥を行った。今回の解析材料として、2023 年に東京農大厚木キャンパスにおいて収穫した、上記の全粒粉パンの香味特性で選抜された在来品種および最近の主要なコムギ 10 品種（V 試験区）、株式会社ニッポンから供試された国産コムギ品種の「きたほなみ」、「春よ恋」、「ゆめちから」、「シロガネコムギ」、「チクゴイズミ」、「さとのそら」、「きぬあかり」、「イワイノダイチ」と、輸入コムギ銘柄の「1CW（No.1 Canada Wheat：カナダ産春まき硬質コムギ）」、「DNS（Dark Northern Spring：米国産春まき硬質コムギ）」、「SH（Semi Hard（Hard Red Winter）：米国産秋まき硬質小麦）」、「WW（Western White：米国産秋まき軟質コムギ）」、「ASW（Australian Standard White：豪州産中間質コムギ）」を用いた（表 1）。なお、これらのサンプルは、ビタ

ミン E を多く含む胚芽のコムギ子実に対する割合が、千粒重によって変動することを防ぐため、平均的な千粒重を示した原料からサンプリングを行った。

国内外の代表的なコムギ品種・銘柄および栽培環境や年次の異なるコムギ生産物を供試するため、在来品種および最近の主要なコムギ 10 品種を東京農大厚木キャンパスの試験圃場において栽培し、ビタミン E 測定用のサンプルを得た。また株式会社ニッポンが製粉原料用として使用している代表的なコムギ原料について、代表的な国産および外国産のコムギから必要なサンプルを調整した。ビタミン E 含量の測定は、東京農大国際食料情報学部国際食農科学科 古庄 律教授の協力を得て HPLC 法により実施し、 α 、 β -トコフェロールおよび α 、 β -トコトリエノールのそれぞれを測定した。

HPLC によるビタミン E の測定は以下のとおり行った。コムギサンプルをミルサーで 30 秒間攪拌したものを 0.1g 使用し、ネジ付き褐色試験管に入れ、ピロガロール 300mg とエタノール 3ml、60%水酸化カリウム溶液を 3ml を加え、窒素充填して 10 秒間攪拌した。70℃の温浴中で 30 分間ケン化した後に冷水中で冷却し、飽和食塩水 2ml、*n*-ヘキサン：酢酸エチル (9：1) 4ml を加え、窒素充填して 1 分間攪拌した。その後、分層するまで静置した（この際、きれいに 2 層に別れなかった場合には食塩水を 1～2 滴加える）。パスツールピペットを用いて上清（有機溶媒層）を分取して 10ml 容供栓付褐色試験管に移した。飽和食塩水 2ml を加え、窒素充填して 15 秒攪拌し、有機溶媒層を洗浄する。その後、パスツールピペットでバブリングしないように水層を除去し、無水硫酸ナトリウムを 0.5 g 加えた。窒素充填後、5 秒間攪拌し 5 分間静置して脱水した。その後、2500rpm で 5 分間遠心分離を行い、上清（有機溶媒層）を 4ml 分取して褐色供栓付試験管に移し、遠心エバポレーターで濃縮乾固した。窒素充填した後、エタノールを 0.5ml 加えて再溶解したものを HPLC 用の試料とした。また、測定値は 3 回の平均値を用いた。HPLC の条件はカラム：Cosmisil 5PFP (Φ 4.6mm × 250mm)、移動相：メタノール：水 (9:1)、流速：1.0ml/min、カラム温度：40℃、検出機：FP-2025plus 蛍光分光光度計（日本分光）、検出波長：励起波長 (Ex) 293nm 蛍光波長 (Em) 325nm、感度：× 100 で行った。総ビタミン E 量の算出には α -toc × 1 + β -toc × 0.5 + α -T3 × 0.3 + β -T3 × 0.05 (Nielsen and Hansen 2008) を用いた。

コムギサンプルの近赤外線分析は、Perten Instruments 社の Inframatic 9500 Plus を使用し、近赤外透過法によりタンパク質含有率、水分率を測定した。測定方法は、ホーム画面で測定を選択し、表示されたプロダクトの中から「小麦」を選択した。次に測定を選択し、測定するサンプル名を入力し、タンパク質含有率、水分率を測定した。タンパク質含有率は、タンパク固定換算 = 13.5% の測定値を用いた。ビタミン E の検量線を作成するための近赤外線スキャンデータの取得は、約 400ml のコムギ子実サンプルをホッパーに充填し、全スペクトルデータを測定し、データをエクスポートして使用した。それぞれのコムギサンプルのビタミン E 含量とスペクトルデータによる検量線の作成は、専用のソフトウェアを用いて、株式会社エヌ・エス・ピーにおいて作成し、得られた検量線についてクロスバリデーションを行った。2022 年の北海道産のサンプルについては、コムギの機能性成分で、フェノール化合物のフェルラ酸、食物繊維のアラビノキシラン、 β -グルカン含量を、株式会社ニッポンにおいて測定した。また、コムギ子実サンプルの α -トコフェロール含量については、日本食品分析センターによる委託分析を実施した。

表 1. 本研究で使用したコムギサンプルのリスト

No.	品種系統・銘柄名	産地、JA等
1	V-1 鴻巣25号	厚木キャンパス
2	V-2 ナンプコムギ	厚木キャンパス
3	V-3 ユキチャボ	厚木キャンパス
4	V-4 広島シプレー	厚木キャンパス
5	V-5 アブクマワセ	厚木キャンパス
6	V-6 ゆめちから	厚木キャンパス
7	V-7 みのりのちから	厚木キャンパス
8	V-8 きたほなみ	厚木キャンパス
9	V-32 せときらら	厚木キャンパス
10	きたほなみ	厚木キャンパス
11	きたほなみ	旭川 北ひびき
12	きたほなみ	旭川 ふらの
13	きたほなみ	十勝 芽室町
14	きたほなみ	十勝 十勝池田町
15	きたほなみ	十勝 鹿追町
16	きたほなみ	十勝 足寄町
17	きたほなみ	網走 美幌町
18	ゆめちから	網走 きたみらい
19	ゆめちから	網走 津別町
20	ゆめちから	網走 常呂町
21	ゆめちから	十勝 鹿追町
22	ゆめちから	十勝 芽室町
23	春よ恋	十勝 音更町
24	春よ恋	旭川 ふらの
25	春よ恋	旭川 北ひびき
26	春よ恋	網走 美幌町
27	春よ恋	網走 きたみらい
28	シロガネコムギ01	福岡県①
29	シロガネコムギ02	福岡県②
30	シロガネコムギ03	佐賀県
31	チクゴイズミ01	佐賀県
32	チクゴイズミ02	福岡県
33	さとのそら01	群馬県
34	さとのそら	栃木県
35	きぬあかり	愛知県
36	1CW01	カナダ
37	1CW02	カナダ
38	1CW03	カナダ

No.	品種系統・銘柄名	産地、JA等
39	DNS01	米国
40	DNS02	米国
41	DNS03	米国
42	SH01	米国
43	SH02	米国
44	SH03	米国
45	WW01	米国
46	WW02	米国
47	WW03	米国
48	ASW01	豪州
49	ASW02	豪州
50	ASW03	豪州
51	シロガネコムギ04	兵庫県
52	シロガネコムギ05	福岡県
53	チクゴイズミ03	福岡県
54	チクゴイズミ04	福岡県
55	チクゴイズミ05	福岡県
56	さとのそら03	群馬県
57	せときらら01	山口県
58	イワイノダイチ01	栃木県
59	きたほなみ（原系統）	農研機構
60	きたほなみ（巨大胚変異体）	農研機構
61	きたほなみ	R5旭川 ふらの
62	きたほなみ	R5旭川 北ひびき
63	きたほなみ	R5十勝 芽室町
64	きたほなみ	R5十勝 鹿追町
65	きたほなみ	R5十勝 足寄町
66	きたほなみ	R5網走 常呂町
67	きたほなみ	R5網走 美幌町
68	春よ恋	R5旭川 ふらの
69	春よ恋	R5旭川 北ひびき
70	春よ恋	R5網走 きたみらい
71	春よ恋	R5網走 美幌町
72	ゆめちから	R5十勝 芽室町
73	ゆめちから	R5十勝 音更町
74	ゆめちから	R5十勝 鹿追町
75	ゆめちから	R5網走 常呂町
76	ゆめちから	R5網走 津別町

年次記載のないものはR4産

7. 研究成果

今回の研究で解析したコムギサンプルの分析値（千粒重、胚芽面積、胚芽指数、タンパク含量、容積重、水分、灰分、 α -トコフェロール（toc）、 β -トコフェロール、 α -トコトリエノール（T3）、 β -トコトリエノール、総ビタミンE含量の結果を表2、それぞれの成分値の相関解析の結果を表3に示した。東京農大の測定値は、測定機の不調のため参考値とし、以下の解析には日本食品分析センターによる α -トコフェロールの分析値を使用した。

表2. 本研究に用いたコムギサンプルの各分析値の結果

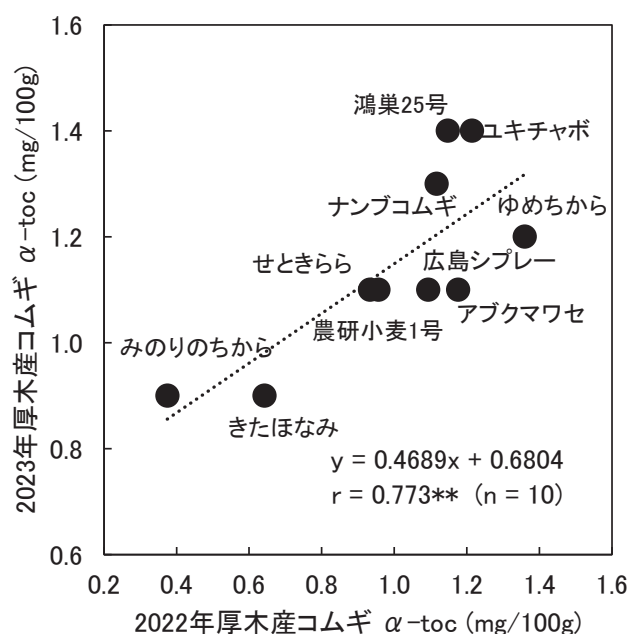
No.	品種系統・銘柄名	産地等	千粒重 (g)	胚芽 面積 (mm ²)	胚芽 指数 (mm ² /g)	蛋白 含量 (%)	容積重 (g/l)	灰分 (%)	食セ α-toc (mg/100 g)	前年 α-toc (mg/100 g)	農大 α-toc (mg/100 g)	農大 β-toc(mg/ 100g)	農大 α-T3(mg/ 100g)	農大 β-T3(mg/ 100g)	農大総ビ タミン E(mg/10 0g)
1	V-1 鴻巣25号	R5厚木キャンパス	41.2	4.0	9.8	15.2			1.4	1.1	0.44	0.14	0.18	0.54	0.60
2	V-2 ナンプコムギ	R5厚木キャンパス	39.2	4.0	10.3	13.6			1.3	1.1	0.54	0.22	0.19	0.88	0.75
3	V-3 コキチャボ	R5厚木キャンパス	35.2	4.3	12.2	13.8			1.4	1.2	0.98	0.32	0.23	1.44	1.28
4	V-4 広島シプレー	R5厚木キャンパス	28.0	3.0	10.7	12.1			1.1	1.1	0.53	0.12	0.18	0.95	0.69
5	V-5 アブクマワセ	R5厚木キャンパス	35.0	3.9	11.0	11.0			1.1	1.2	0.92	0.21	0.25	0.79	1.14
6	V-6 ゆめちから	R5厚木キャンパス	34.0	3.3	9.5	14.2			1.2	1.4	0.42	0.07	0.11	0.55	0.52
7	V-7 みのりのちから	R5厚木キャンパス	33.6	3.0	9.0	12.1			0.9	0.4	0.49	0.14	0.42	1.11	0.74
8	V-8 きたほなみ	R5厚木キャンパス	32.8	3.3	9.9	11.4			0.9	0.6	0.58	0.17	0.29	1.09	0.81
9	V-32 セときらら	R5厚木キャンパス	40.4	3.9	9.8	12.1			1.1	1.0	0.70	0.23	0.25	0.74	0.93
10	V-33 農研小麦1号	R5厚木キャンパス	37.0	3.3	9.0	12.4			1.1	0.9	0.58	0.17	0.30	0.78	0.80
11	きたほなみ	旭川 北ひびき	40.8	3.3	8.0	11.0	843	1.47	1.0		0.43	0.10	0.16	0.90	0.57
12	きたほなみ	旭川 ふらの	39.2	3.5	9.0	11.8	813	1.51	0.9		0.75	0.26	0.31	0.99	1.02
13	きたほなみ	十勝 芽室町	41.0	4.2	10.2	13.2	826	1.39	1.0		0.69	0.24	0.28	0.97	0.95
14	きたほなみ	十勝 池田町	42.4	4.1	9.6	11.9	821	1.49	1.0		0.53	0.13	0.18	1.28	0.72
15	きたほなみ	十勝 鹿追町	40.4	4.0	10.0	13.3	826	1.43	1.0		0.45	0.10	0.10	0.71	0.57
16	きたほなみ	十勝 足寄町	41.2	3.8	9.3	12.2	821	1.56	1.0		0.48	0.09	0.11	0.75	0.60
17	きたほなみ	網走 美幌町	43.4	4.4	10.2	12.8	833	1.47	0.9		0.46	0.12	0.13	0.92	0.61
18	ゆめちから	網走 きたみらい	42.4	4.3	10.1	12.5	835	1.54	0.9		0.68	0.26	0.27	1.11	0.95
19	ゆめちから	網走 津別町	44.0	3.8	8.6	16.0	810	1.69	1.1		0.79	0.18	0.23	0.64	0.98
20	ゆめちから	網走 常呂町	43.4	3.7	8.6	16.1	824	1.70	1.1		0.42	0.06	0.07	0.49	0.50
21	ゆめちから	十勝 鹿追町	41.0	3.7	9.1	15.4	821	1.70	1.2		0.66	0.11	0.14	0.61	0.78
22	ゆめちから	十勝 芽室町	41.6	3.5	8.5	16.1	806	1.70	1.2		0.43	0.07	0.06	0.52	0.50
23	ゆめちから	十勝 音更町	44.6	3.6	8.1	15.5	809	1.74	1.2		0.39	0.05	0.06	0.45	0.46
24	春よ恋	旭川 ふらの	40.2	4.2	10.4	13.8	827	1.72	1.3		0.48	0.08	0.12	0.59	0.58
25	春よ恋	旭川 北ひびき	38.4	4.0	10.5	13.6	823	1.77	1.3		0.57	0.08	0.14	0.71	0.69
26	春よ恋	網走 美幌町	38.6	3.9	10.1	12.9	830	1.65	1.2		0.49	0.07	0.12	0.78	0.61
27	春よ恋	網走 きたみらい	38.8	3.9	10.0	13.0	821	1.67	1.3		0.65	0.14	0.27	0.87	0.85
28	シロガネコムギ01	福岡県①	34.7	3.3	9.5	10.8	819	1.48	1.5		0.47	0.13	0.07	0.65	0.58
29	シロガネコムギ02	福岡県②	35.1	3.7	10.5	10.9	817	1.48	1.5		0.47	0.14	0.09	0.77	0.61
30	シロガネコムギ03	佐賀県	35.5	3.4	9.7	10.9	815	1.47	1.4		0.53	0.15	0.06	0.56	0.65
31	チクゴイズミ01	佐賀県	38.5	3.3	8.5	9.9	815	1.53	1.1		0.33	0.07	0.08	0.63	0.42
32	チクゴイズミ02	福岡県	40.3	3.5	8.6	9.6	808	1.46	1.0		0.30	0.05	0.07	0.55	0.37
33	さとのそら01	群馬県	38.8	3.3	8.6	10.0	800	1.48	1.3		0.53	0.06	0.10	0.63	0.63
34	さとのそら	栃木県	36.7	3.3	9.0	10.1	799	1.46	1.4		0.43	0.08	0.06	0.56	0.52
35	きぬあかり	愛知県	41.3	3.9	9.4	9.2	818	1.33	1.2		0.41	0.14	0.09	0.67	0.54
36	1CW01	カナダ	32.0	3.2	10.0	13.6	802	1.56	1.1		0.62	0.16	0.36	0.84	0.85
37	1CW02	カナダ	30.4	3.3	11.0	13.9	805	1.57	1.0		0.42	0.05	0.12	0.69	0.51
38	1CW03	カナダ	30.9	3.4	11.1	14.6	804	1.56	1.2		0.46	0.08	0.12	0.68	0.56
39	DNS01	米国	30.6	3.1	10.1	14.1	798	1.59	1.2		0.77	0.18	0.22	0.75	0.96
40	DNS02	米国	29.3	3.1	10.7	13.6	814	1.59	1.2		0.53	0.10	0.13	0.76	0.66
41	DNS03	米国	30.8	3.4	11.1	13.4	806	1.64	1.2		0.58	0.10	0.17	0.94	0.73
42	SH01	米国	29.4	2.9	9.9	12.0	801	1.60	1.1		0.59	0.18	0.26	0.97	0.81
43	SH02	米国	33.9	3.0	8.8	11.6	803	1.47	1.0		0.48	0.17	0.14	1.02	0.66
44	SH03	米国	29.7	2.9	9.6	11.9	797	1.58	1.1		0.49	0.16	0.13	0.96	0.66
45	WW01	米国	32.8	3.1	9.5	9.2	802	1.37	1.1		0.43	0.16	0.13	0.93	0.60
46	WW02	米国	34.7	3.4	9.7	9.5	797	1.34	1.2		0.47	0.17	0.12	0.73	0.62
47	WW03	米国	33.1	4.3	12.9	9.4	819	1.28	1.1		0.48	0.06	0.08	0.42	0.55
48	ASW01	豪州	40.5	4.1	10.2	9.5	804	1.32	1.1		0.51	0.10	0.14	0.61	0.63
49	ASW02	豪州	40.3	4.2	10.5	9.6	813	1.28	1.1		0.60	0.14	0.16	0.62	0.75
50	ASW03	豪州	39.6	4.2	10.7	9.4	796	1.34	1.0		0.39	0.06	0.11	0.45	0.48
51	R5シロガネコムギ04	兵庫県	35.0	4.3	12.3	9.9	792	1.48	1.4		0.46	0.15	0.08	0.82	0.60
52	R5シロガネコムギ05	福岡県	38.2	4.5	11.8	10.5	825	1.48	1.5		0.40	0.15	0.07	0.80	0.54
53	R5チクゴイズミ03	福岡県	42.2	4.0	9.4	9.6	811	1.57	1.0		0.24	0.05	0.06	0.53	0.31
54	R5チクゴイズミ04	福岡県	42.2	3.9	9.2	9.3	809	1.50	1.0		0.25	0.07	0.04	0.68	0.33
55	R5チクゴイズミ05	福岡県	39.8	4.0	10.2	9.3	803	1.50	1.0		0.35	0.09	0.07	0.75	0.45
56	R5さとのそら03	群馬県	38.0	3.9	10.3	8.7	776	1.44	1.3		0.43	0.11	0.06	0.62	0.53
57	R5せときらら01	山口県	43.2	4.2	9.7	12.9	807	1.46	1.3		0.32	0.08	0.07	0.49	0.41
58	R5イワイノダイチ01	栃木県	38.4	4.0	10.5	8.8	796	1.51	1.2		0.36	0.13	0.06	0.79	0.49
59	R5 きたほなみ1-6 2023 オープン	農研機構	41.6	4.1	9.8				1.1						
60	R5 E15-0198-10 (M4) 2023 オープン	農研機構	40.6	4.8	11.9				1.3						
61	R5きたほなみ旭川 (ふらの)	R5旭川 ふらの	38.4	3.7	9.5	10.3	820	1.45	1.1						
62	R5きたほなみ旭川 (北ひびき)	R5旭川 北ひびき	39.4	3.7	9.4	10.7	826	1.43	0.9						
63	R5きたほなみ十勝 (芽室町)	R5十勝 芽室町	41.6	3.9	9.4	11.4	844	1.29	1.0						
64	R5きたほなみ十勝 (鹿追町)	R5十勝 鹿追町	42.4	4.4	10.3	11.6	838	1.37	1.0						
65	R5きたほなみ十勝 (足寄町)	R5十勝 足寄町	45.0	4.3	9.6	11.1	840	1.53	1.0						
66	R5きたほなみ網走 (常呂町)	R5網走 常呂町	38.4	4.0	10.4	11.0	837	1.43	0.9						
67	R5きたほなみ網走 (美幌町)	R5網走 美幌町	38.0	4.2	11.1	10.4	833	1.42	0.9						
68	R5春よ恋 旭川 (ふらの)	R5旭川 ふらの	37.6	4.6	12.3	13.1	825	1.74	1.4						
69	R5春よ恋 旭川 (北ひびき)	R5旭川 北ひびき	39.8	4.5	11.4	13.3	824	1.65	1.3						
70	R5春よ恋 網走 (きたみらい)	R5網走 きたみらい	41.0	4.5	11.0	12.5	829	1.66	1.3						
71	R5春よ恋 網走 (美幌町)	R5網走 美幌町	38.2	3.9	10.2	12.7	825	1.66							
72	R5ゆめちから十勝 (芽室町)	R5十勝 芽室町	38.8	3.5	8.9	14.2	824	1.60							
73	R5ゆめちから十勝 (音更町)	R5十勝 音更町	41.6	3.7	8.9	14.4	836	1.61							
74	R5ゆめちから十勝 (鹿追町)	R5十勝 鹿追町	46.0	4.2	9.1	13.7	835	1.64							
75	R5ゆめちから網走 (常呂町)	R5網走 常呂町	44.4	3.8	8.6	13.4	833	1.62							
76	R5ゆめちから網走 (津別町)	R5網走 津別町	41.8	3.8	9.2	13.6	823	1.62							

年次記載のないものはR4産

表 3. コムギサンプルにおいて解析した α -トコフェロールその他の成分値の相関解析

	α -toc	胚芽面積	胚芽指数	千粒重	容積重	灰分	蛋白	フェルラ酸	β -グルカン
胚芽面積	0.138	-							
胚芽指数	0.321**	0.509**	-						
千粒重	-0.146	0.612**	-0.364**	-					
容積重	-0.259*	0.421**	-0.061	0.500**	-				
灰分	0.273*	-0.066	-0.134	0.074	0.102	-			
蛋白	0.112	-0.050	-0.117	0.080	0.277*	0.746**	-		
フェルラ酸	0.543*	-0.510*	-0.621*	0.388	-0.509*	0.671**	0.846**	-	
β -グルカン	-0.100	0.297	0.590	-0.655*	0.543*	-0.450	-0.788**	-0.767**	-
アラビノキシラン	0.343	-0.454	-0.594	0.401	-0.564*	0.500*	0.805**	0.809**	-0.793**

** P < 0.01, * P < 0.05, α -toc (n = 76), 容積重・灰分・蛋白 (n = 64), フェルラ酸等 (n = 17)

図 1. 厚木キャンパスにおいて2年間栽培したコムギ 10 品種の α -トコフェロール含量の比較

合計で 70 点のコムギサンプルについて分析を行った結果、ビタミン E の代表的な成分である α -トコフェロール含量は、0.9~1.5mg/100g、ビタミン E を多く含む胚芽部分がコムギ子実に対する割合を示す胚芽指数（胚芽面積（mm²）/ 千粒重（g））は、8.0~12.9mm²/g、タンパク含量は 8.7~15.9%の範囲であった。 α -トコフェロール含量が最も高いサンプルは、「シロガネコムギ 01 福岡県①」で、最も低いサンプルは、複数産地の「きたほなみ」と「みのりのちから」であった。コムギに含まれる α -トコフェロールとその他の成分の間で相関解析を行った結果、 α -トコフェロールは、ポリフェノールの一種であるフェルラ酸と比較的強い正の相関を示し、灰分と有意な正の相関、容積重と有意な負の相関をそれぞれ示した（表 3）。また、 α -トコフェロールは、コムギ子実のうちの胚芽の割合を示す胚芽指数と有意な相関を示した。厚木キャンパスにおいて栽培した V 試験区の 10 品種について、2 年間の α -トコフェロールを比較した結果を図 1 に示した。その結果、同じ品種の α -トコフェロール含量は、2 年間とも同様の値を示す傾向があり、非常に強い相関関係（ $r = 0.773$, $P < 0.01$, $n = 10$ ）を示した。この結果より、コムギの α -トコフェロール含量は、年次により異なる栽培気象条件の影響を受けにくく、品種によって遺伝的に安定していることが示された。

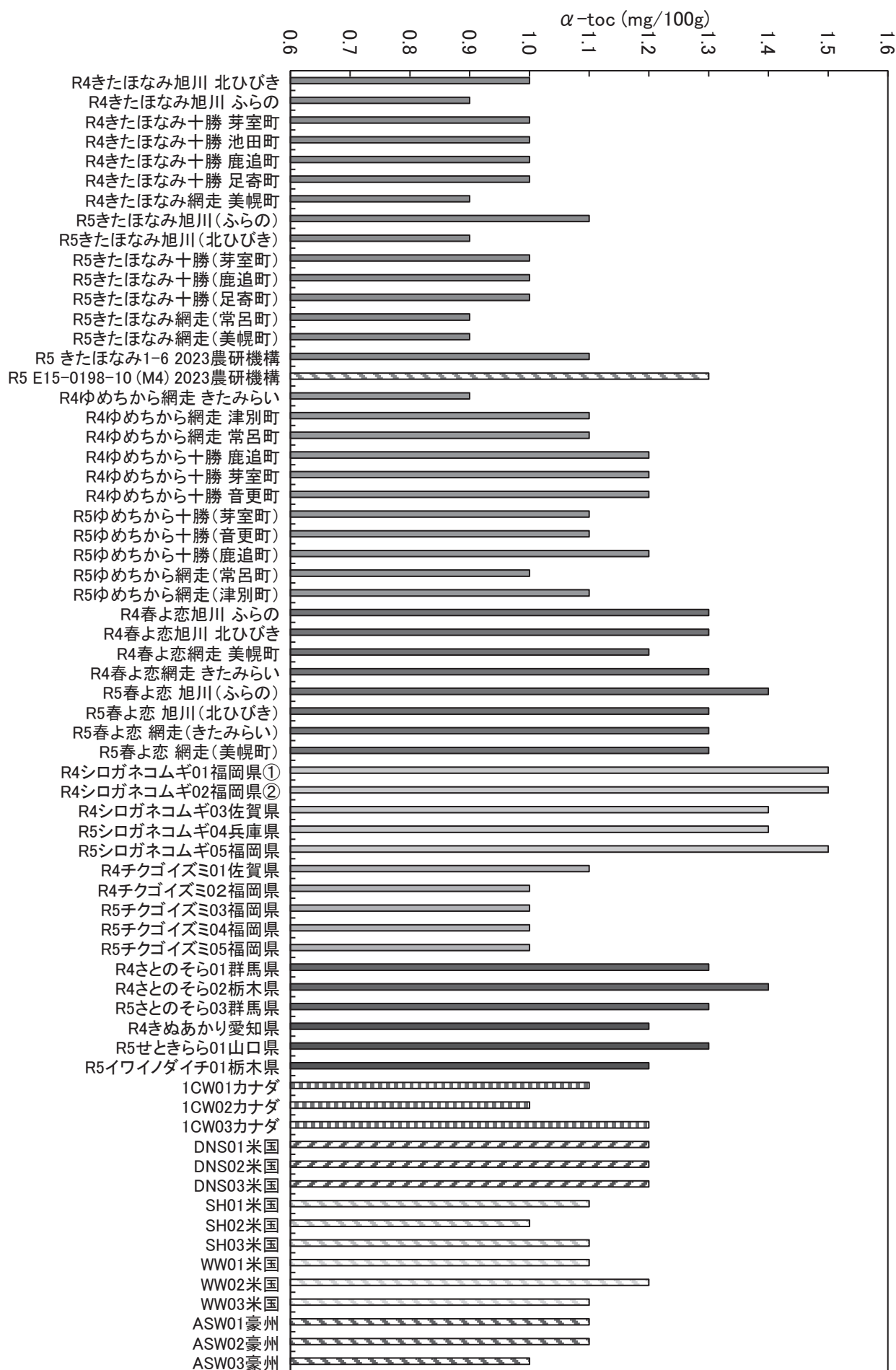


図2. 代表的な国産コムギ品種および海外産コムギ銘柄のα-トコフェロール含量の比較

代表的な国産コムギおよび海外産コムギ銘柄の α -トコフェロール含量の比較を図2に示した。国産小麦で最も生産量の多い「きたほなみ」や2番目の「ゆめちから」、3番目の「春よ恋」、4番目の「チクゴイズミ」等について、それぞれ異なる産地と産年のサンプルを比較した結果、 α -トコフェロール含量は、産地や産年より品種間差が大きいことが明らかになった（図2）。複数のサンプルを供試した品種の中では、「シロガネコムギ」の α -トコフェロール含量が $1.45 \pm 0.05\text{mg}/100\text{g}$ （平均 $\pm$ 標準偏差）（ $n = 5$ ）で最も高く、以下、国産コムギでは、「さとのそら」が $1.33 \pm 0.06\text{mg}/100\text{g}$ （ $n = 3$ ）、「春よ恋」が $1.30 \pm 0.05\text{mg}/100\text{g}$ （ $n = 8$ ）、「ゆめちから」が $1.11 \pm 0.09\text{mg}/100\text{g}$ （ $n = 11$ ）、「チクゴイズミ」が $1.02 \pm 0.04\text{mg}/100\text{g}$ （ $n = 5$ ）の順で、「きたほなみ」の $0.97 \pm 0.06\text{mg}/100\text{g}$ （ $n = 14$ ）が最も低かった。海外産コムギ銘柄では、「DNS」が $1.20 \pm 0.00\text{mg}/100\text{g}$ で最も高く、「WW」が $1.13 \pm 0.06\text{mg}/100\text{g}$ 、「1CW」が $1.10 \pm 0.10\text{mg}/100\text{g}$ 、「SH」と「ASW」が $1.07 \pm 0.06\text{mg}/100\text{g}$ であった。国内外のサンプル全体の α -トコフェロール含量の比較では、国産コムギの方が変異の幅が大きく、海外産コムギは変異の幅が小さく、国産コムギの平均的な値を示した。また、昨年度の農研機構とのMF研究で作出した、「きたほなみ」に突然変異処理を行って得られた巨大胚候補系統「E15-0198」を2023年に増殖栽培したサンプルの α -トコフェロール含量は1.3（ $\text{mg}/100\text{g}$ ）で、変異処理前の「きたほなみ 1-6」の1.1（ $\text{mg}/100\text{g}$ ）と比較して、 α -トコフェロール含量が約18%増加していることが確認された（図2、3）。



きたほなみ
胚芽指数：9.8 (mm²/g)
 α -toc：1.1 (mg/100g)



きたほなみ変異体
E15-0198
胚芽指数：11.9 (mm²/g)
 α -toc：1.3 (mg/100g)

図3. 「きたほなみ」および「きたほなみ」変異体の「E15-0198」の胚芽の比較

全てのサンプルの胚芽指数と α -トコフェロール含量の散布図を図4に示した。全てのサンプルの胚芽指数と α -トコフェロール含量は、有意な正の相関を示し、「きたほなみ」の巨大胚変異体の α -トコフェロール含量の増加が確認されたことから、胚芽の大きさで α -トコフェロール含量の高いものを選抜することは可能であると考えられた。しかし、 α -トコフェロール含量の多い「シロガネコムギ」と少ない「きたほなみ」を比較すると、同程度の胚芽指数であっても、 α -トコフェロール含量は約1.5倍も異なるため、その濃度にも品種間差があることが推察された。したがって、 α -トコフェロール含量の高いコムギを作出するためには、胚芽の大きさと、 α -トコフェロールの濃度の両方で選抜を行う必要があると考えられた。

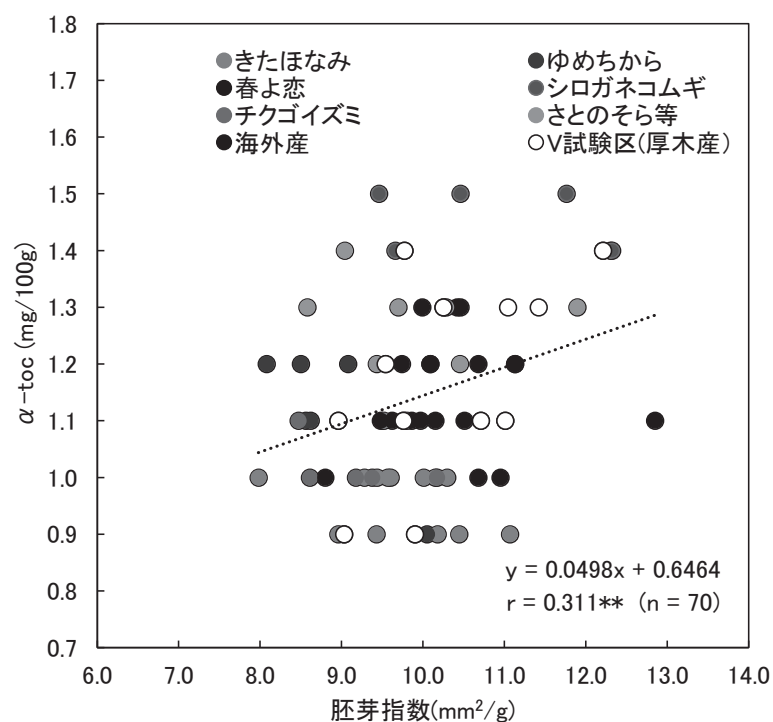


図 4. 代表的な国産コムギおよび海外産コムギ銘柄の胚芽指数と α -トコフェロールの関係

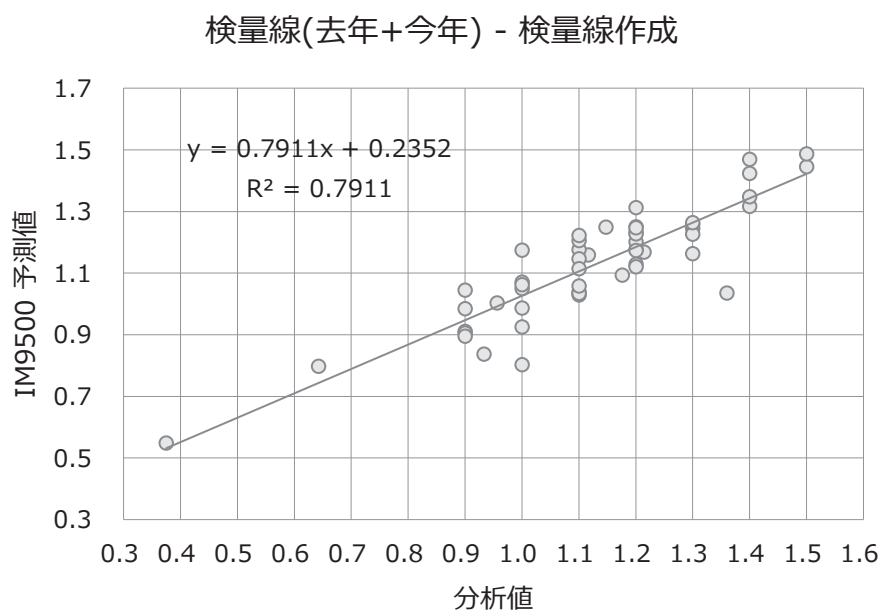


図 5. 2022～2023 年産の全てのコムギサンプルの α -トコフェロール含量について
近赤外線分析装置インフラマチック 9500 により作成した検量線

2022～2023 年産の全てのコムギサンプルの α -トコフェロール含量について近赤外線分析装置インフラマチック 9500 により作成した検量線を図 5 に示した。今回の検量線の作成時点で合計 51 点のサンプルから、比較的高い決定係数 0.7911 を示す検量線が得られた。残りの約 20 点のサンプルについて α -トコフェロールの測定を進めており、今後、全てのサンプルのデータを精査して小数点第 2 位以下の測定値が得られることから、今年度中にさらに本検量線の精度を高められる見込みである。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

本研究では、国産および海外産の多くのコムギ品種銘柄について、ビタミンEの主要な成分である α -トコフェロールの含量を解析し、その品種間差を明らかにし、産地、産年に影響されにくいこと解明した。国産コムギの中では、福岡県や佐賀県を中心に栽培されている「シロガネコムギ」が最も高い α -トコフェロール含量を示し、最も含量が低い「きたほなみ」に比べて、約1.5倍の含量があることを明らかにした。また、近赤外線分析装置によって簡便に α -トコフェロール含量を測定できるようにするため、決定係数0.7911の信頼性の高い検量線を作成することが出来た。現在分析中のサンプルの結果が得られれば、さらに精度を高められる見込みである。近赤外線分析装置によってビタミンEを測定することが可能になれば、多くの遺伝資源や育成系統、製粉原料などから効率的に有用な材料の選抜を行うことが可能になる。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本研究では、ビタミンEの成分のうち、 α -トコフェロールに絞って解析を行ったが、農大の分析機が復調すれば、 β -トコフェロール、 α -トコトリエノール、 β -トコトリエノール等の他の成分についても分析を行い、より有用なコムギ品種の選定と開発を進めることができる。また、近赤外線分析装置による選抜が可能になれば、有用なコムギの開発を一気に加速することができる。株式会社ニップンでは、これまでに世界的にも新規の高いコムギのアミロース合成遺伝子を導入した、従来よりも柔らかく日持ちの長いパンを製造することが可能な品種のシリーズの「にしのやわら」、「みなみのやわら」（それぞれ現在、株式会社ニップンによる契約栽培を実施）や、国産で唯一のデュラム小麦「セトデュール」のパスタの製品化と販売を国内の製粉会社の中で最も率先して進めており、これまでにない新たな高付加価値を国産コムギの商品開発が期待される。本研究を推進することにより、ビタミンEのような貴重な栄養成分を多く含む国産コムギ由来の高付加価値食品の開発に対して非常に有用な手段を提供し、国民の健康増進に寄与することが可能となることが期待される。

10. 公表した成果一覧

企業との共同研究のため、先方と協議の上、結果の公表を進める予定。

2023年度 企業とのマッチングファンド型共同研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 庫本 高志

1. 研究課題名および予算額

研究課題名
水族園飼育下マゼランペンギンに見出された小脳変性症の病理学的解析と遺伝学的解析

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	庫本 高志	農学部 動物科学科・教授	遺伝解析、ゲノム解析
研究代表者 (企業)	毛塚 千穂	株式会社グランビスタ ホテル& リゾート須磨海浜水族園・獣医師	サンプル採取、病理学的解析

3. 研究期間

2023年4月1日～2024年3月31日（1年計画の1年目）

4. 研究の背景（当初）

神戸市にある須磨海浜水族園は、“スマスイ”の愛称で親しまれ、外来種問題への取り組み、学術賞の設立、自然環境保全事業など、従来の水族館の枠に囚われない活動を展開している。

須磨海浜水族園にはマゼランペンギンが飼育されており、水族園の人気者として来場者に親しまれている。近年、本来病気にかかりにくい10歳前後で、運動失調症を呈し、数年後に死亡する事例が発生した。発症個体は、臨床経過および死後の病理解剖により小脳変性症と診断された（Ioannidis et al., 2019）。その後、発症個体の子、兄弟の中にも同様の症例が散見された。以上のことから、須磨海浜水族園のマゼランペンギンに見出された小脳変性症は遺伝性であり、その原因遺伝子は集団内に浸透している可能性が高いと考えられた。

もし、原因遺伝子を同定できれば、小脳変性症のキャリアを選別し繁殖から除外することで、小脳変性症を克服できる。遺伝子同定には遺伝解析が必要である。しかし、そのための詳細な病態解析（臨床・病理像）、遺伝様式の推定、遺伝マーカーの開発はなされていない。

5. 研究目的

本研究の目的は、（1）運動失調の原因となる神経系の異常を病理組織学的に明らかにすること、（2）集団の家系図を作成し遺伝様式を解明すること、（3）発症個体、非発症個体のゲノムDNAを用いて遺

伝マーカーを開発し、ゲノム解析を行うことである。

6. 研究（実験）方法

（1）病理組織学的検討

運動失調症を発症し、死亡した5個体について病理解剖を行った。

（2）遺伝様式の解明

須磨水族園の開園時からの記録を整理し、家系図を作成した。また、日本動物園水族館協会（JAZA）に登録されているマゼランペンギン飼育施設の担当者と本運動失調症についての情報交換を行った。

（3）ゲノム解析

須磨水族園で採材された39個体とすみだ水族館で採材された16個体の血液より、NucleoSpin Blood（Macherey-Nagel）を用いてゲノムDNAを抽出した。運動失調を発症した個体は須磨水族園由来のもので7個体であった。これらのゲノムDNAを用いてRAD-seq解析を行い、SNPマーカーの開発とジェノタイピングを行った。

7. 研究成果

（1）病理組織学的検討

発症個体に共通して見られた所見は、小脳皮質の分子層における血管新生・線維性グリオーシス、プルキンエ細胞の著しい変性・脱落であった（図1,2）。また、小脳の分子層および顆粒層において、軸索の腫大が散見された。小脳のプルキンエ細胞の脱落や分子層・顆粒層における軸索の腫大が運動失調の原因と考えられた。

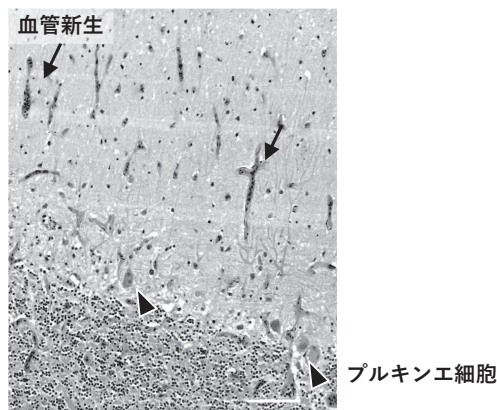
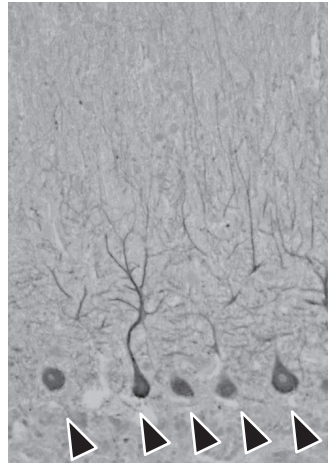


図1 発症個体の小脳のHE像
プルキンエ細胞の脱落と血管新生がみられた。

正常



発症

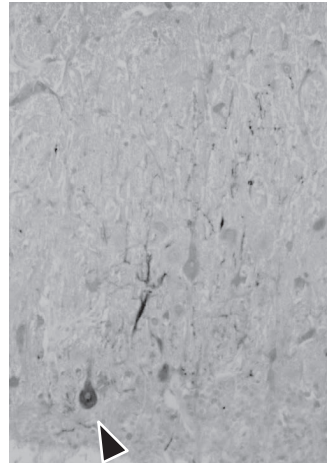


図2 抗カルビンディン抗体による小脳の免疫組織染色像
正常個体ではカルビンディン陽性のプルキンエ細胞が見られるが、
発症個体ではプルキンエ細胞細胞が脱落している。

(2) 遺伝様式の解明

須磨水族園のマゼランペンギンは、1988～89年に導入した19羽の野生個体から始まり、延べ157羽が飼育下繁殖や他施設との交換・譲渡により飼育されてきた。157羽のうちこれまでに運動失調症を発症した個体は21個体であった。20個体が2歳から18歳の間に発症した。1個体のみ31歳に発症した。この1個体のみを外れ値として、残り20個体の平均発症年齢は、9.1歳、中央値は8.5歳であった（図3）。動物園飼育下での平均寿命は26～30歳と考えられているので、本症状の発症により、寿命が短縮されると考えられた。

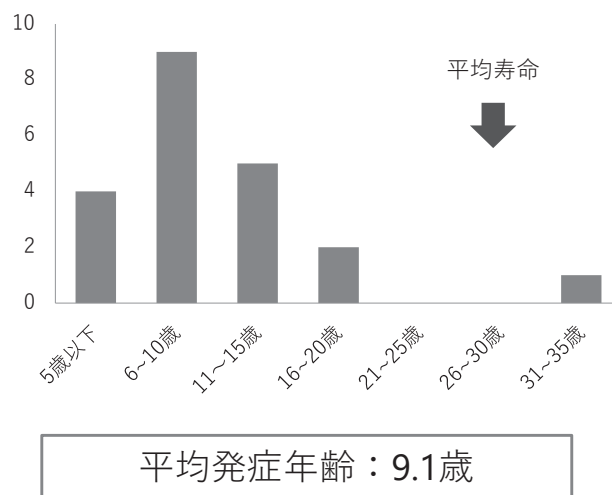


図3 発症個体の発症年齢分布
平均発症年齢は9.1歳、中央値は8.5歳であった。

家系図を作成したところ、発症×未発症の子9頭のうち1頭のみ発症。同様に、発症×未発症の子12頭のうち1頭のみ発症しており、不完全顕性が疑われていた。また、野生由来の個体でも発症するものがいた。さらに、野生由来の個体同士の交配から、発症個体が得られた。以上のことから、本神経症状の発症様式は、単純なものではなく、複数の遺伝子が関与している可能性が示唆された。また、環境要因によって発症することも否定できない。

以上のことから、須磨水族園のマゼランペンギンで見られた運動失調症は遺伝性である可能性が非常に高いものの、明確な遺伝様式は見いだせなかった。また、他園でも同様の運動失調症が観察されていることから、餌、水質、温湿度、気候などの環境要因も本疾病の原因として排除できなかった。

(3) ゲノム解析

Rad-seq 解析で得られた配列データ (FASTQ) から、アダプタートリミングツールである Trimmomatic を用いて、アダプター配列を除去した。BWA でアデリーペンギンの参照ゲノム配列にマッピングした。さらに、bcftools で多型サイトの取り出しを行った。

vcftools にて Miss0.95,miniQ30,maxAllele2,maf0.01,no indel の条件で SNP 取得したところ、19440 個の SNP を獲得した。GWAS において遺伝子型と表現型に相関を示した SNP を 1 つ得た (図 4)。しかし、LOD 値は、5 をわずかに超えるレベルであり、さらなる検証が必要である。

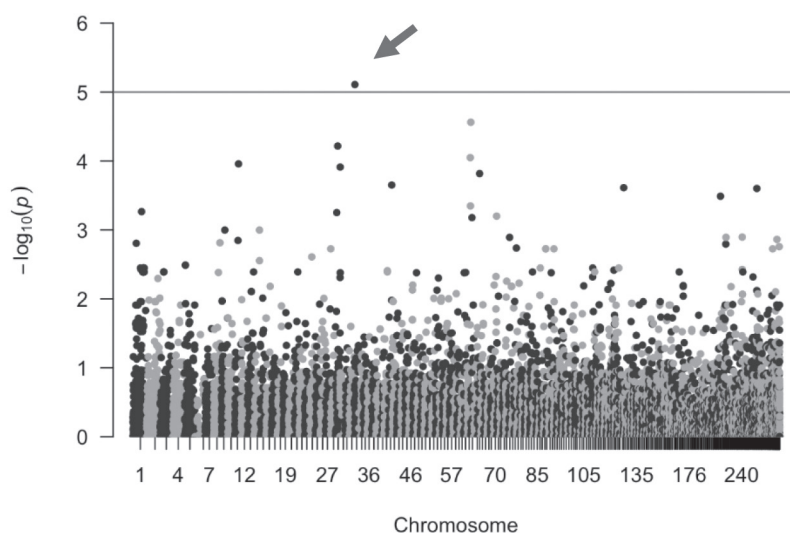


図 4 GWAS の毛解析結果

本研究で取得した 19440 個の SNP を用いて、神経症状の発症と連関を調べた。
その結果 1 つの SNP (矢印) において、発症との有意な連関がみられた。

まとめ

須磨シーワールドで飼育しているマゼランペンギンに散見された運動失調の病理学的、遺伝学的解析を行った。その結果、運動失調は約 9 歳で発症し、その病理学的な原因のひとつは、小脳の神経変性であることが判明した。詳細な家系図を作成したが、明確な遺伝様式を見出すことはできなかった。また、RAD-seq 法により、19440 個の SNP を得ることができた。これらの SNP を用いて GWAS 解析を行い、発症の有無と有意に連鎖している SNP を 1 個得ることができた。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

本研究で得られた一連の SNP はマゼランペンギンにおいて初の報告となる。今後、集団内に偏りなく広がっている SNP を選別し、マゼランペンギンの親子関係やや集団構成の知るためのツールとして利用できる。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

- 明確な遺伝性を確認できなかったこと、また、明確な連鎖が見いだせられなかったことから、運動失調の発症には複数の遺伝子が関与している、あるいは、環境要因が関与していることが考えられた。
- 原因遺伝子の同定ができなかった原因として、発症個体が少なかったことが挙げられる。今後、継続的に観察を実施し、発症個体が得られれば随時、採血を行うことで発症個体の DNA を集めていくことが必要である。また、JAZA 加盟の水族園に広く症例の報告、サンプルの提供を求める必要がある。

10. 公表した成果一覧

学術論文：特になし

学会発表：特になし

2023年度 企業とのマッチングファンド型共同研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 小林 朋子

1. 研究課題名および予算額

研究課題名
牛伝染性リンパ腫の発症を簡便かつ迅速に検査できる LAMP 法（簡易 PCR 法）システムの構築

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	小林 朋子	農学部 動物科学科・准教授	研究実施・推進・統括
研究代表者 (企業)	大上 光明	株式会社ニッポンジーン 診断試薬部	推進・統括
研究分担者	牧元 櫻子	農学研究科 動物科学専攻（動物衛生学研究室）・博士前期課程2年	研究実施・推進
	佐々木 瞭	農学研究科 動物科学専攻（動物衛生学研究室）・博士前期課程1年	研究実施・推進
	牧 文典	株式会社ニッポンジーン 分子診断試薬部	技術開発・システム設計、構築
	河瀬 智紀	株式会社ニッポンジーン 分子診断試薬部	技術開発・システム設計、構築

3. 研究期間

2023年4月1日～2024年3月31日（1年計画の1年目）

4. 研究の背景（当初）

乳牛および肉牛に致死的な症状をもたらす牛伝染性リンパ腫（enzootic bovine leukosis: EBL）は、牛伝染性リンパ腫ウイルス（bovine leukemia virus: BLV）の感染に起因し、近年、感染牛の増加およびそれに伴う発症牛の増加が深刻となっている。この疾病は、特徴的な症状がみられないまま、免疫機能の低下や乳量の減少、消瘦などを引き起こす。また、発症牛は家畜伝染病予防法および、と畜場法により食用に供することはできないため、発症した牛を早期に発見し、長期飼養による損失を低減する必要がある。しかしながら、経済性や迅速性の観点から実効性の高い検査技術は未だ確立されていない。

5. 研究目的

本研究では、申請者らが 2022 年に報告した、BLV 感染細胞のウイルス遺伝子組み込み部位を利用した感染細胞のクローナリティを検査する方法（BLV- Rapid Amplification of the Integration Site: BLV-RAIS 法）について、その検出原理を応用して、生産現場でより簡易的に実施できる手法の開発を目的とした。

6. 研究（実験）方法

本研究では、EBL 発症を検査するために、まず、電気泳動による発症診断法の確立を行った。具体的には（i）制限酵素による断片化→（ii）アダプター配列付加と PCR 反応→（iii）電気泳動という手順によりウイルス遺伝子と宿主遺伝子のつなぎめ領域を増幅した（図 1 参照）。まず、農場において BLV に感染している牛の血液および、と畜場において EBL と診断された牛の腫瘍を採取し、ゲノム DNA を抽出した。制限酵素によりゲノム DNA を断片化し、アダプターを付加後、BLV の 3' LTR 末端に対するフォワードプライマー 2 種と、付加したアダプターに対するリバープライマー 2 種を設計し、ネステッド PCR 法により BLV と組み込み部位に隣接する宿主遺伝子のつなぎ目領域を増幅した。増幅産物を用いてアガロースゲル電気泳動を行い、得られた泳動像によりクローナリティの高低を判定した。また、同じ検体について、従来のクローナリティ解析手法である BLV-RAIS 法によりクローナリティ値（Cv 値）を算出した。

次に、この検出原理を最大限に発揮できるように、Loop-Mediated Isothermal Amplification（LAMP）法による検査システムの構築を検討した。LAMP 法は、65 度付近の恒温状態で鎖置換型 DNA ポリメラーゼを作用させ、標的塩基配列の多様性を迅速かつ簡便に増幅する方法である。実際に検討した手法では、（i）制限酵素による断片化→（ii）アダプター配列付加と PCR 反応までは電気泳動法と同様であり、その後、（iii）LAMP 反応→（iv）融解曲線解析という手順にて検討を行った（図 2 参照）。

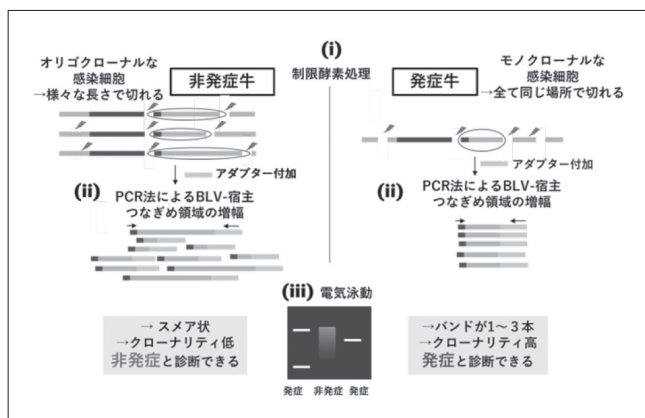


図 1

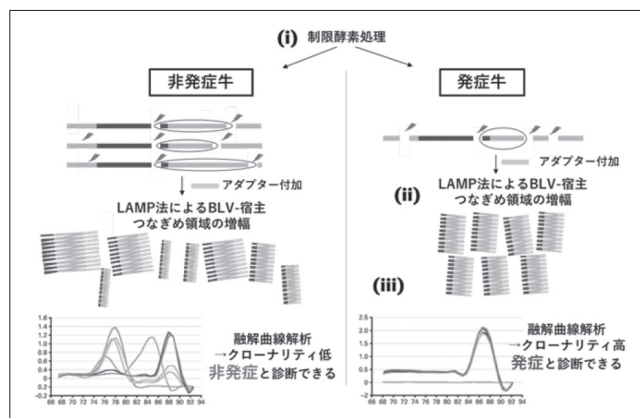


図 2

7. 研究成果

まず、BLV 非感染牛 1 検体、感染非発症牛 1 検体、EBL 発症牛 2 検体について、電気泳動法によりクローナリティ解析を行った。その結果、非感染牛と感染非発症牛の検体では特異的な増幅産物がみられなかった（図 3A）。一方、EBL 発症牛 2 検体については、それぞれ 400bp、500bp 程度の長さの増幅産物が得られ、特異的な一本のバンドとして可視化できた。この 2 検体については Cv 値がそれぞれ 0.94 および 1.0 であり、この Cv 値からは感染細胞がモノクローナルに増殖していることが推定された（図 3B）。次に、様々な Cv 値を示す検体について、同様に電気泳動法によりクローナリティ解析を行った。

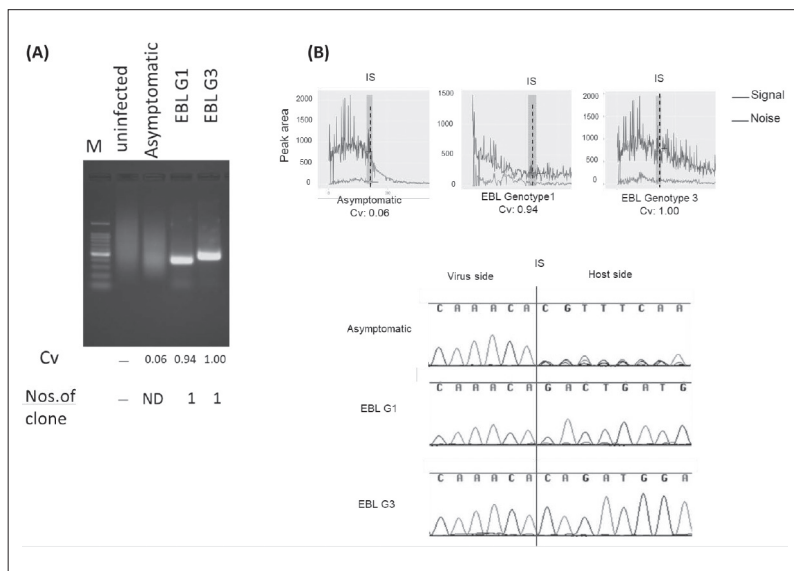


図 3

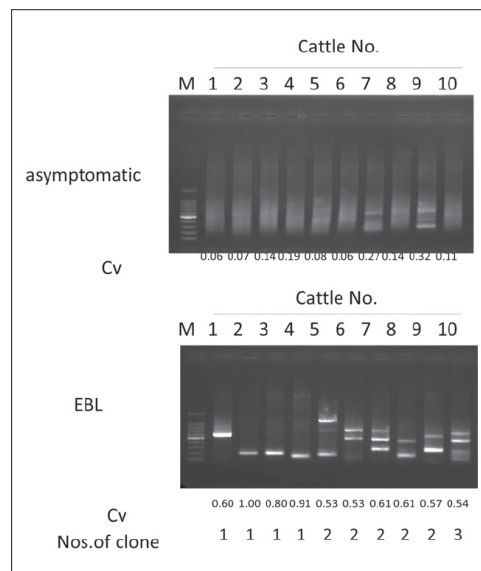


図 4

その結果、Cv 値の低い感染牛では特異的な増幅産物がみられず、Cv 値の高い発症牛では特異的なバンドが一本から数本検出された（図 4）。これらの結果より、本研究により検討した電気泳動法によって、簡便にクローナリティ解析が可能であることが示された。

次に、LAMP 法を用いた発症検査法を構築するために、まず、BLV3' 末端配列と宿主遺伝子に見立てたランダム配列を人工合成し、プラスミド DNA にクローニングした。そのプラスミドを用いて LAMP 法に使用するプライマーの検討を行った。BLV 側に設計したプライマー7セットについてプラスミド DNA を鋳型に LAMP 反応を行ったところ、4 つのプライマーセットについて、増幅産物が得られた。一方で、融解曲線解析を行ったところ、増幅産物の長さによる融解曲線の差を検出することはできなかった。

また、電気泳動法により解析した牛の発症検体と、非発症検体、さらに BLV 非感染牛検体を用いて、増幅がみられた 2 つの LAMP プライマーセット（ID3 と ID7）を用いた解析を行った。その結果、プライマーセット ID3 については、非感染牛の検体は増幅しないが、発症と非発症で増幅産物が得られた。しかし、融解曲線の差はみられなかった。プライマーセット ID7 については、非感染に関しても増幅がみられ、さらに発症と非発症での融解曲線の差がみられなかった。最後に、検討したプライマーセットの組み合わせパターンの検討、テンプレート量の検討、エンハンサーを添加して増幅バイアスの低減化、インターカレーター法の検討などを行ったが、発症検体特異的な反応産物を得ることができなかった。この原因として、以下のような理由が考えられる。LAMP 法による検出系は、テンプレートに対してプライマーがカバーする全長を増幅するだけでなく、短い増幅産物も非常に多く増幅されていることが報告されている。つまり、研究当初は、発症検体では一種類の増幅産物、非発症では多種類の増幅産物が得られることを前提として、融解曲線による増幅産物長の可視化を行う計画であったが、そもそも発症牛においても短い増幅産物が混在した数種類の増幅産物が得られている可能性が考えられた。これらの結果より、LAMP 法によるクローナリティ解析については、今の時点では構築が難しいと結論付けた。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

本研究では、LAMP 法による検査系の構築は難しかったが、電気泳動法による検査は非常に検出感度もよく、十分に実用可能性が高いと考えられた。この手法を用いることにより、従来法におけるシーケンス解析が不要となり、全体の手順も大幅に簡便化できる。今後は、ネコ白血病ウイルスなど、ウシ以外の動物に感染するレトロウイルスについてもクローナリティ解析に応用できる可能性がある。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

電気泳動法については、今後、検体数を増やしてさらに検査精度の確認を行うとともに、電気泳動像を数値化し、閾値の設定などを行いたい。また、LAMP 法を用いた発症検査法については、途上国などでの発症検査を考えた場合、非常に有用な方法であると考えられるため、今回検討したクローナリティ解析以外にも、発症特異的遺伝子発現などについてもさらに検討し、LAMP 法による発症検査法の確立を目指したい。

10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) 牧元櫻子 (2024) 牛伝染性リンパ腫の病態進行における BLV 感染細胞のクローナリティ解析及び遺伝子発現解析 動物科学専攻博士前期課程学位論文

学会発表

- 1) 小林朋子、牧元櫻子、鳥居恭司 (2024) 「クローナリティを利用した牛伝染性リンパ腫の簡便な検査方法」第 63 回獣医疫学会学術集会

2023年度 東京農業大学と昭和大学との共同研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 煙山 紀子

1. 研究課題名および予算額

研究課題名
農医学連携による社会還元促進を目指した NAFLD/NASH 病態解析と食品栄養学的介入の検討

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	煙山 紀子	応用生物科学部 食品安全健康学科・准教授	統括／ モデル動物作製・病態解析
研究代表者 (昭和大学)	細沼 雅弘	医学部 薬理学講座 医科薬理学部門	ヒト肝臓検体での検討／ モデル動物の免疫学的解析
研究分担者	山本 祐司	応用生物科学部 農芸化学科・教授	食品成分の機能性解析
	平井 隆仁	昭和大学 医学部 外科学講座 消化器一般外科学部門・助教	ヒト肝臓検体の症例抽出

3. 研究期間

2023年4月1日～2024年3月31日（1年計画の1年目）

4. 研究の背景（当初）

非アルコール性脂肪性肝疾患／肝炎（NAFLD/NASH）は生活習慣病の肝の表現型として近年増加している肝疾患である。NASH は、脂肪肝に加えて高度な線維化を伴う肝硬変や肝がんへと進展し得る病態であるが、肝細胞における脂質蓄積と、免疫系細胞等の多彩な非実質細胞が相互に関係しながら複雑に進展するとされ、有効な予防・治療法の決定打が無いのが現状である。一方で近年、腸肝相関と呼ばれる、腸内細菌代謝物およびその代謝産物が NAFLD/NASH 進展に強く影響を与えることが着目されている。しかし、腸内細菌代謝物およびその代謝産物を修飾する食品栄養学的介入に関しては未だ不明な点が多い。

5. 研究目的

我々は、分子栄養学的・毒性病理学的見知から NAFLD/NASH の病態進行について、モデル動物や培養細胞を用いた基礎的研究に取り組んできており、これまでに、肝線維化や肝がん発症に重要な分子や、

食品栄養学的な介入として、玄米摂取がレチノイン酸シグナルを活性化することで NAFLD 進展を予防する等を見いだしてきた。

我々が見いだしてきた NAFLD/NASH で重要とされるシグナルについて、その成果を実社会へ還元するためには、基礎的研究の結果がヒトへの外挿性を有するかを検討することが非常に重要である。そこで、昭和大学医学部外科学講座消化器一般外科学部門との共同研究により、昭和大学が有する NAFLD/NASH、肝細胞がん、および正常肝の手術検体を用いて、これらのメカニズムがヒトへの外挿性を有するか検討することを目的とした。さらに、食品栄養学的な介入効果について、医学部薬理学講座医科薬理学部門との共同研究により、腸内細菌を介した免疫修飾という視点でメカニズムの解明を発展させることを目的とした。

6. 研究（実験）方法

（1）ヒト手術検体を用いた外挿性の検討

東京農業大学においてげっ歯類動物モデルを用いて見出してきた NAFLD/NASH の発症進展に関与すると考えられる因子について、昭和大学においてヒト肝臓検体を用いて外挿性を検討した。すなわち、肝脂肪化、線維化、がん化といった NAFLD/NASH に関連するそれぞれの病態において、げっ歯類動物モデルにおいて関与が示唆される因子の発現の変化は、ヒトにおいてもみられるか、相関性について検討した。パラフィンブロックが入手可能な肝がん手術症例から、NASH を背景肝とする肝細胞がん症例においては、NASH 病変および NASH 合併肝細胞がん病変を、転移性肝がん症例における背景肝は正常肝として抽出を行った。着目する因子に関して、ヒトサンプルにおいて免疫組織化学染色の予備的検討を行った。

（2）NASH モデル動物を用いた免疫学的解析

東京農業大学で作製したげっ歯類動物モデルに対して、免疫学的視点での病態メカニズム解析を展開した。炎症・線維化を誘発する NASH モデルや、高脂肪食による NAFLD モデル等を東京農業大学において作製し、全身免疫を反映する脾細胞、および肝病変部位における単核球を単離した。昭和大学では Th1/Th2 や Th17/Treg といった各種リンパ球分画および、M1/M2 や浸潤、常在マクロファージとその表現型について、フローサイトメトリーを用いた解析を実施した。

（3）NASH モデル動物を用いた腸内細菌叢およびその代謝産物の解析

玄米摂取による NAFLD 抑制作用に関して、腸内細菌叢に着目したメカニズム解析を行った。本年度は、げっ歯類のスタンダード食である AIN93G をベースに、三大栄養素と食物繊維量を一定に揃えられる限度（15%）まで米ぬかを混餌し、C57BL/6J 雄マウス 5 週令より 2 週間投与を行った。得られた便サンプルから DNA 抽出を行い、16S rRNA メタゲノム解析を行うことで、マイクロバイオータの変動を観察した。

7. 研究成果

（1）ヒト手術検体を用いた外挿性の検討

昭和大学において実施された肝臓がん手術検体リストより、NASH または NASH 疑い、B 型肝炎、C 型肝炎、大腸がん肝転移症例 33 検体を抽出した。それぞれについて、がん分化型とともに、線維化の程度、アルコール性の有無、自己免疫性の有無について確認した。「NASH」あるいは、近年、新しい脂肪肝

疾患の定義として提唱された「代謝異常関連脂肪性肝疾患（MASLD）」の定義との一致について確認を行った。NASH については、肝臓組織所見として、大滴性脂肪沈着・炎症性細胞浸潤・肝細胞風船様腫大が必要とされ、NASH 疑いの検体については、病理医に改めて組織学的診断を依頼することとなった。MASLD については、脂肪肝に加え BMI、糖尿病、脂質異常症からの診断となり、12 症例が診断された。

免疫組織化学染色は、ヒトサンプルにおける染色条件検討を実施した。その結果、最終的に良好な染色性を示し、条件検討は完了した。

(2) NASH モデル動物を用いた免疫学的解析

東京農業大学において、著明な脂肪肝・線維化を誘発するコリン欠乏メチオニン低減アミノ酸高脂肪食（CDAA-HF）を C57BL/6J 野生型マウス（WT）およびある遺伝子を欠損させたマウス（KO）に投与して NASH 病態を誘発し、リンパ球あるいはマクロファージに関する検討を実施した。東京農業大学では、組織学的あるいは遺伝子発現解析を行った。脾臓および肝臓より単離を行った単核球サンプルは昭和大学に送付し、フローサイトメトリーによる免疫学的解析を実施した。KO マウスは、WT と比較して肝線維化が抑制されることが、組織学的および遺伝子発現解析において示された（図 1）。リンパ球における解析では、Th1/Th2 や Treg/Th17 のサブタイプは、普通食群と比較して NASH 誘発群において、炎症の促進に関わる Th17 が著明に亢進するなどの変化が明らかであった（図 2）。一方で、WT と KO に

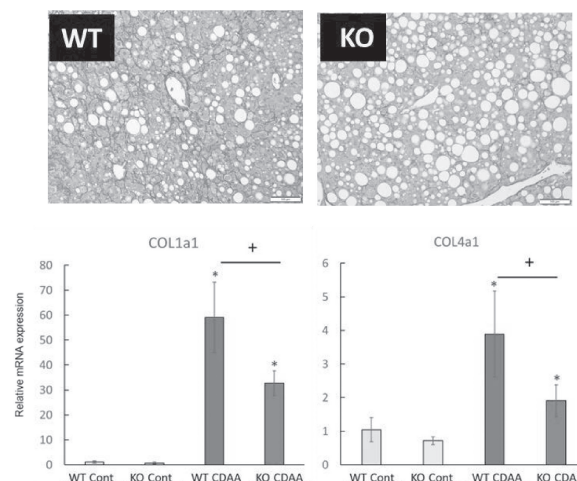


図 1 NASH モデルにおける線維化解析

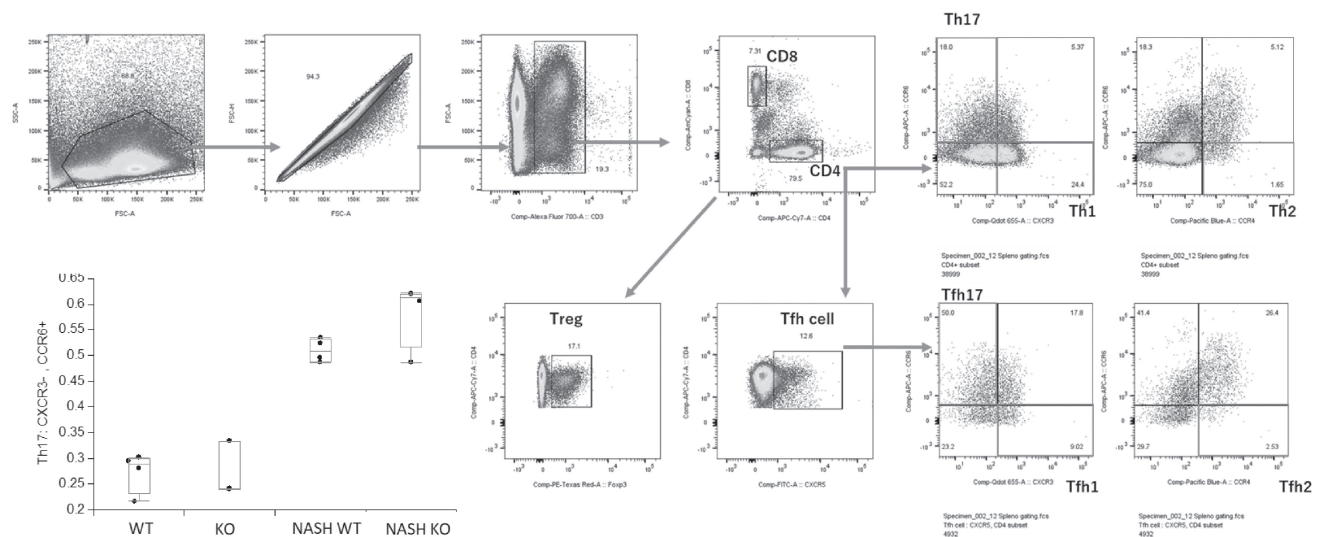


図 2 NASH モデル肝臓におけるリンパ球サブタイプ解析

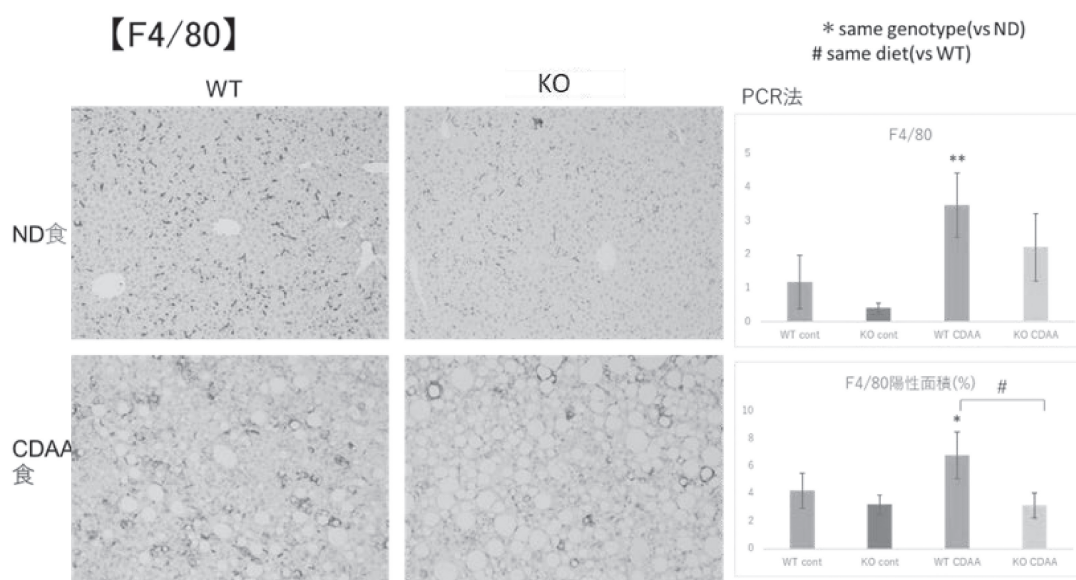


図3 NASHモデル肝臓におけるF4/80マクロファージ陽性像と定量解析

α 多様性はぬか餌群で有意に増加

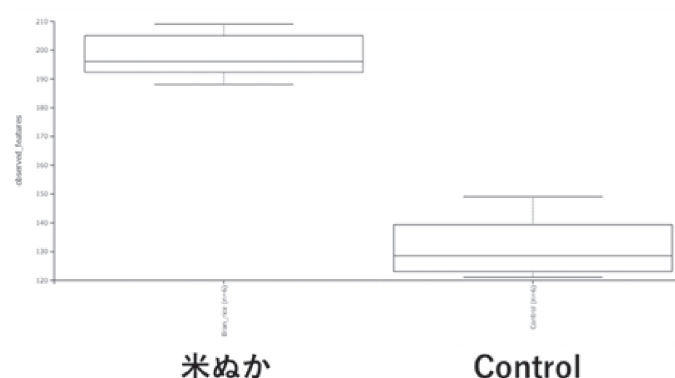


図4 米ぬか食投与による α 多様性の変化

は大きな差が見られなかった（図2）。マクロファージにおける解析では、NASH誘発群においてマクロファージの陽性像増加と形態学的な変化が観察された。WTと比較し、KOではマクロファージ陽性像の増加抑制が示された（図3）。次に、マクロファージのサブタイプについて検討したところ、NASH線維化に関与すると報告があるCD11cと、浸潤性マクロファージCCR2やLy6cが、組織学的あるいは遺伝子発現解析において、WTと比較してKOで低下していたことが明らかとなった。

(3) NASHモデル動物を用いた腸内細菌叢およびその代謝産物の解析

AIN93G米ぬか食では、炭水化物・脂質・タンパク質量と食物繊維量はAIN93Gと同様の組成であった。AIN93G群とAIN93G米ぬか添加群において、マウスの体重は変化が見られず、同様の成長曲線を示した。盲腸便よりDNAを抽出し、16S rRNAメタゲノム解析を実施したところ、腸内細菌叢は大きく変化していることが示された。 β 多様性は2群間で異なり、 α 多様性はAIN93G群と比較して、米ぬか群で有意に増加した（図4）。門レベルにおいては一般的に病態時に増加がみられるProteobacteriaが減少するなど、全体的に米ぬか群で腸内細菌叢が良い方向に変化していることが示唆された。科レベルにおいては、酪酸産生が示唆されるLachnospiraceaeやOscillospiraceaeが米ぬか群で増加した（図5）。

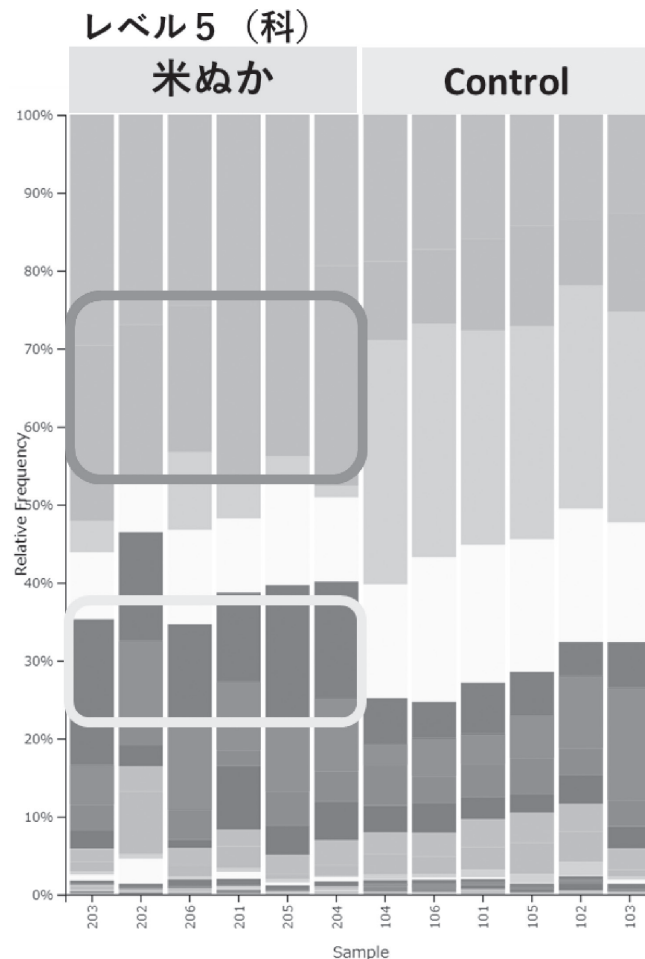


図5 米ぬか食投与による腸内細菌叢の変化（科）

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特になし

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

ヒト手術検体を用いた外挿性の検討においては、昭和大学病理医の NASH 確定診断を待って、最終的に症例抽出を確定することとなった。また、線維化そのものに着目すると、NASH 以外の症例において肝線維化のみを指標としても解析を実施していくこととした。

NASH モデル動物を用いた免疫学的解析においては、CDAA-HF 誘発の NASH 線維化において、リンパ球とマクロファージが大きく変化していることが見いだされた。KO マウスの肝線維化抑制には、リンパ球よりもマクロファージの関与が大きい可能性が示唆された。現在、昭和大学においてマクロファージのフローサイトメトリーを実施中であり、東京農業大学で実施された組織学的あるいは遺伝子発現解析結果と併せて結論を得る予定である。

腸内細菌叢の解析では、米ぬかの摂取により、腸内細菌叢の有益な変化が示唆された。今後、どの菌叢が変化しているかの詳細や、代謝物の変化の検討が必要である。本研究では正常個体に対する変化を見たが、今後、NAFLD 病態に対する変化をみていきたいと考えている。

10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) Ohata K, Sugaya T, Nguyen HN, Arai K, Hatanaka Y, Uno K, Tohma M, Uechi T, Sekiguchi K, Oikawa T, Nagabukuro H, Kuniyeda K, Kamijo-Ikemori A, **Suzuki-Kemuriyama N**, Nakae D, Noiri E, Miyajima K. Urinary liver-type fatty acid binding protein is a biomarker reflecting renal damage and the ameliorative effect of drugs at an early stage of histone-induced acute kidney injury. *Nephrology (Carlton)*. 2023 Nov 11.
- 2) **Suzuki-Kemuriyama N**, Abe A, Nakane S, Yuki M, Miyajima K, Nakae D. Nonalcoholic steatohepatitis-associated hepatocarcinogenesis in mice fed a modified choline-deficient, methionine-lowered, L-amino acid-defined diet and the role of signal changes. *PLoS One*. 2023 Aug 3;18(8):e0287657.
- 3) Ohata K, Sugaya T, Nguyen HN, Hatanaka Y, Uno K, Tohma M, Oikawa T, Nagabukuro H, Kuniyeda K, Kamijo-Ikemori A, **Suzuki-Kemuriyama N**, Nakae D, Noiri E, Miyajima K. Urinary liver-type fatty acid binding protein is increased in the early stages of the disease with a risk of acute kidney injury induced by histone. *Nephrology (Carlton)*. 2023 Jun;28(6):345-355.
- 4) **Hosonuma M**, Hirasawa Y, Kuramasu A, Murayama M, et al. Nivolumab receptor occupancy on effector regulatory T cells predicts clinical benefit. *Cancer Sci*. 2024
- 5) Otsuka K., Isobe J., Asai Y., Nakano T., Hattori K., **Hosonuma M.**, Yoshimura K et al. Butyricimonas is a key gut microbiome component for predicting postoperative recurrence of esophageal cancer. *Cancer Immunol Immunother*. 2024 Jan 27;73(2):23. doi: 10.1007/s00262-023-03608-y.
- 6) Hamada K, Isobe J, Hattori K, **Hosonuma M**, Baba Y, et al. Turicibacter and Acidaminococcus predict immune-related adverse events and efficacy of immune checkpoint inhibitor. *Front Immunol*. 2023 May 3;14:1164724. doi: 10.3389/fimmu.2023.1164724.
- 7) Kaname N, Fujimaki T, Horikoshi S, Fujimura K, Kodaka M, Wakamori S, Katsuta R, Ishigami K, Suzuki T, **Yamamoto Y**, Inoue J. Chrysin 7-O- β -d-glucopyranoside increases hepatic low-density lipoprotein receptor expression through AMP-activated protein kinase activation. *FEBS Open Bio*. 2023 Aug;13(8):1447-1458.
- 8) 松本 雄宇, 岩崎 優, 細川 恵, 鈴木 司, 井上 順, 重村 泰毅, 高野 克己, **山本 祐司** 低タンパク質米製造過程で生じる抽出米タンパク質分解物が脂質代謝に及ぼす影響 *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 70(5), 177-185, 2023
- 9) Tashiro Y, Aoki T, Kobayashi N, Tomioka K, Kumazu Y, Akabane M, Shibata H, **Hirai T**, Matsuda K, Kusano T. Color-coded laparoscopic liver resection using artificial intelligence: A preliminary study. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*. 2024 Feb;31(2):67-68. doi: 10.1002/jhbp.1388. Epub 2023 Oct 25.
- 10) Tomioka K, Aoki T, Kobayashi N, Tashiro Y, Kumazu Y, Shibata H, **Hirai T**, Yamazaki T, Saito K, Yamazaki K, Watanabe M, Matsuda K, Kusano T, Fujimori A, Enami Y. Development of a Novel Artificial Intelligence System for Laparoscopic Hepatectomy. *Anticancer Res*. 2023 Nov;43(11):5235-5243. doi: 10.21873/anticancer.16725.
- 11) Enami Y, Aoki T, Tomioka K, **Hirai T**, Shibata H, Saito K, Nagaishi S, Takano Y, Seki J, Shimada S, Nakahara K, Takehara Y, Mukai S, Sawada N, Ishida F, Kudo SE. Optimal Timing of Laparoscopic Cholecystectomy After Conservative Therapy for Acute Cholecystitis. *Cancer Diagn Progn*. 2023 Sep 3;3(5):571-576. doi: 10.21873/cdp.10256.

学会発表

- 1) 煙山 紀子 SREBP 活性の抑制と免疫系を介した臓器線維化抑制作用、日本農芸化学会 2024 年度大会 創立 100 周年記念大会 シンポジウム (2024 年 3 月)
- 2) 山本祐司 ビタミン A 代謝変動により非アルコール性脂肪肝炎を抑制させる玄米の効果について、日本農芸化学会 2024 年度大会 創立 100 周年記念大会 シンポジウム (2024 年 3 月)

2023年度 東京農業大学と昭和大学との共同研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 志波 優

1. 研究課題名および予算額

研究課題名
成人における食物アレルギー患者の腸内細菌叢メタゲノム解析により将来的な治療標的の探索を目指す医農連携研究

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	志波 優	生命科学部 分子微生物学科・准教授	総括・昭和大学との調整・メタゲノム解析
研究代表者 (昭和大学)	鈴木慎太郎	呼吸器・アレルギー内科学部門・准教授	総括・東京農業大学との調整・試料採取・臨床情報解析
研究分担者	田中 尚人	生命科学部 分子微生物学科・教授	研究結果の解釈
	戸塚 護	生命科学部 分子微生物学科・教授	研究結果の解釈
	佐藤 拓海	生命科学部 分子微生物学科・准教授	メタゲノム解析
	西田 暁史	生命科学部 分子微生物学科・助教	メタゲノム解析

3. 研究期間

2023年4月1日～2024年3月31日（1年計画の1年目）

4. 研究の背景（当初）

成人食物アレルギーの病態解析は未発達な研究分野であり、その結果、治療薬は存在せず、患者は特定された原因食物の除去を行うことが治療・管理の主体になっている。小児を対象にした既報では腸内環境の変化が食物アレルギーに関与していることが示されており、成人でも同様の病態が介在している可能性が示唆されている。そこで、本研究では腸内細菌叢に着目し、成人食物アレルギーの病態解析を行うことを目的とする。特に小児期からの食物アレルギーを成人まで移行して罹患し続けている症例では、その関与が大きいと考えており、腸内細菌叢の改善を目指した新規治療、すなわちプロバイオティクス、ポストバイオティクスが有用な治療手段と成り得ることが期待されている。本研究は、本邦でも画期的な医学部と本学の分子微生物学科が共同して推進する研究企画であり、それぞれの優位性（昭和大学：アレルギー診療の専門性、東京農業大学：先端的な腸内細菌研究、解析技術）を持ち寄り、クロスオーバーさせることで新たな研究発展につながる礎になるものと考えている。

5. 研究目的

本研究は国内有数の移行期～成人の食物アレルギー患者が受診・通院する医療機関である昭和大学病院で得られた臨床検体（糞便）を用いて、本学で腸内細菌叢解析（メタゲノム解析）を実施する。本年度は共同研究プロジェクトの立ち上げにあたり、小規模サンプルサイズ（48 検体程度）から研究を開始し、昭和大側では患者のリクルートと糞便検体採取等の臨床試験体制の立ち上げ、農大側ではヒト糞便検体からの DNA 抽出と本学ゲノム解析センターによるメタゲノム解析等の研究体制の基盤構築を行うことを目的とする。

6. 研究（実験）方法

（1）臨床検体の採取（昭和大学側）

昭和大学病院側での臨床試験として、倫理委員会承認後（承認番号 2023-015-B）、成人食物アレルギー患者群とその対照群合わせて、目標症例数 48 名、以下の 6 群からの糞便試料の収集を目標とする。①健康対照者（5 名）、②小児／乳児期からのアレルギー発症が改善した患者（5 名）、③小児／乳児期からの食物アレルギー発症（ほぼ経腸）が移行・持続する患者（10 名）、④成人からの食物アレルギー発症（ほぼ経気道感作）がある患者（10 名）、⑤成人アニサキスアレルギーの患者（10 名）、⑥好酸球性消化管障害の患者（8 名）。糞便試料は研究参加者自らが採取・保存できるように、室温で約 1 ヶ月糞便中の菌叢を維持できる保存液入りの糞便採取キットブラシ型（株式会社テクノスルガ・ラボ）を採用する。得られた糞便検体と付随する解析に必要な臨床情報は、昭和大学側で匿名化された後に、東京農業大学側に移送する。

（2）糞便試料からの DNA 抽出と次世代シーケンス（農大側）

昭和大学から移送された糞便検体から、Quick-DNA Fecal/Soil Microbe Kit（Zymo Research 社）を用いて DNA 抽出を実施する（本学「人を対象とする実験・調査等に関する研究計画書承認番号 2279」）。糞便中の病原細菌が存在する可能性を考慮し、作業は分子微生物学科 P2 実験室で実施する。得られた DNA の品質と濃度を吸光度と蛍光法で測定する。得られた DNA から 16S rRNA 遺伝子の V3-4 領域を対象としたアンプリコン調製を行い、イルミナ社の次世代シーケンサー MiSeq（2 x 300 bp）によるシーケンスを行う。アンプリコン調製からシーケンスまでの工程は、本学生物資源ゲノム解析センターに学内利用申請し実施を委託する。

（3）シーケンスデータを用いた腸内細菌叢解析（農大側）

得られたシーケンスデータとそのメタデータを、QIIME2 Pipeline（本学生物資源ゲノム解析センター開発）にアップロードし、配列データから多様性解析を行うと同時にその菌叢組成データを得る。これらのデータを患者群と対照群の群間比較し、患者群に特有の腸内細菌叢の変動の検出を試みる。先行研究で行っている α/β 多様性解析、変動菌種解析に加えて、細菌間相互作用の推測等の多変量解析も試みる。

（4）臨床情報と腸内細菌叢データの統合解析（昭和大・農大）

臨床情報と腸内細菌叢データの統合解析を行い、臨床情報と関連する多様性指数や菌種に関する統合解析を行う。得られた研究成果に基づき学会発表や論文化を目指す。

7. 研究成果

(1) 臨床検体の採取（昭和大学側）

研究先である昭和大学・呼吸器・アレルギー内科学部門では、糞便検体採取を伴う臨床試験の経験が乏しく、最終的に糞便試料を研究参加者自らが採取・保存できるキット（糞便採取キットブラシ型（株式会社テクノスルガ・ラボ）の採用に至るまで農大側と議論を重ねた。それに伴い、検体収集研究開始までの準備期間を要し、研究参加者のリクルートが開始されたのが2023年11月末頃であった。当初は6群48検体の収集を目標としていたが、本学ゲノム解析センターへの年度内サンプル提出メ切に間に合わせるため、2群で48検体の収集へ目標を変更し、2024年12月末時点で収集できた16検体（男性9女性7名、うち健常者6検体、患者10検体）を匿名化後に農大側に移送した。

(2) 糞便試料からのDNA抽出と次世代シーケンス（農大側）

昭和大学から移送された糞便検体ブラシから、2024年1月初旬にDNA抽出を実施し、濃度 $46.6\text{ng}/\mu\text{L}$ (S.D. ± 31.9)、純度 (A260/280) が1.87 (S.D. ± 0.04) とアンプリコン解析に必要なDNAを抽出できた。一方、研究参加者自らがブラシで糞便を採取する系であったため、検体ごとの糞便量にかなりバラツキがあることが判明し、糞便量のバラツキを減らす工夫について今後考慮する必要性を感じた。DNA抽出後、直ちに本学生物資源ゲノム解析センターにDNAを提出し、現在、得られたDNAから16S rRNA遺伝子のV3-4領域を対象としたアンプリコン調製を行い、イルミナ社の次世代シーケンサー MiSeq (2 x 300 bp) によるシーケンスが完了した。各サンプルから得られた平均リード数は $514,559 \pm 634,213$ と解析に十分量のリード数を得られた。

得られたシーケンスデータとそのメタデータを、QIIME2 Pipeline（本学生物資源ゲノム解析センター開発）にアップロードし、配列データから菌叢データに変換した。得られた各検体の細菌叢の菌種数の多様性を示す α 多様性を図1に示す。Chao1は菌種数を、Shannon指数は菌種数に均等度を加味した指数を示す。両指数において患者群において減少傾向が認められたが、個人間の腸内細菌叢のバラツキと少ないN数のため統計的な意差は認められなかった。続いて、生物分類階級最上位の門レベルにおける菌叢組成を図2に示す。日本人の腸内細菌叢は5つの門（*Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria*）で90%以上占められていることが報告されており（Takagi T, et al. 2019）、今回も同様の傾向を示した。一方、患者群において菌叢組成に一部検体において特定の門の割合が高い等のバラツキが認められた。さらに属レベルにおいては244属が検出されたものの、両群で統計的に有意な変動菌種は認められなかった。

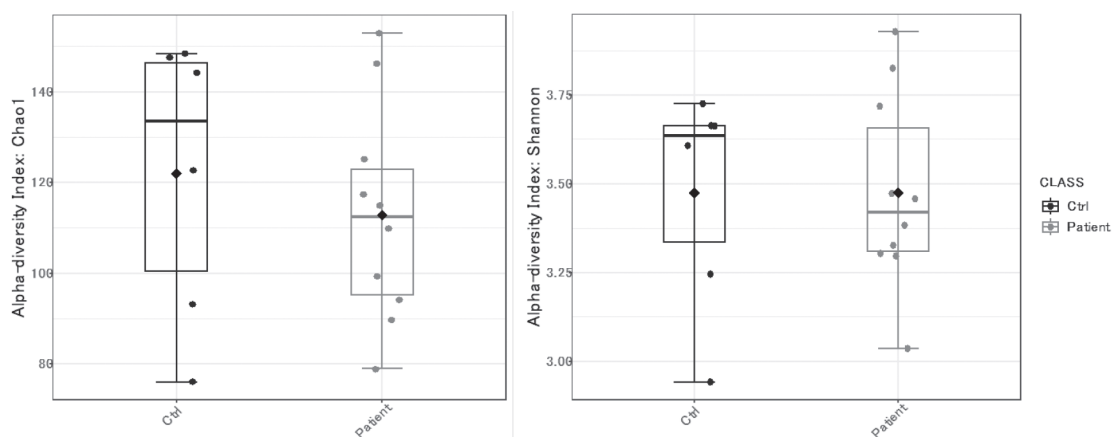


図1. α 多様性（Chao1とShannon指数）のボックスプロット（Ctrl: 健常者群, Patient: 患者群）

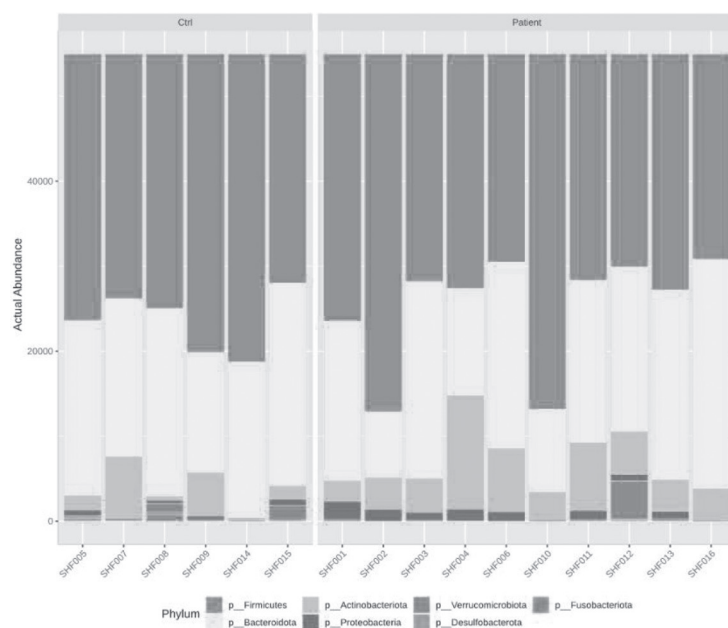


図 2. 門レベルにおける菌叢組成 (Ctrl: 健常者群, Patient: 患者群)

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特になし

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本年度は昭和大学・呼吸器・アレルギー内科学部門と本学分子微生物学科の初めての共同研究であり、かつ、研究参加者自身が糞便検体採取を行う臨床研究であった。そのため、倫理審査申請に要する時間に加えて、検体採取方法や研究参加者への説明文書の作成等、一連のプロトコル確立に当初の想定以上に時間を要した。次年度以降に向けて、年度内に菌叢データ取得を優先してプロトコルの確立を目指すことを優先し、サンプル数が当初の 6 群 48 検体の収集目標から 2 群で 16 検体へと減少した。しかしながら、今年度糞便検体から高品質な DNA が得られる系が確立され、DNA から本学ゲノム解析センターを利用した菌叢解析の枠組みを確立することができた。また、 α 多様性が患者群において減少傾向が認められたことから、次年度以降はさらに検体数を増やし菌叢データを拡充することで、患者群に特有の菌叢変化を検出できる可能性がある。今後はメタゲノム解析の観点から成人食物アレルギーの病態解明と、その成果を学会発表や論文として公表することを目指す。

10. 公表した成果一覧

学術論文：特になし

学会発表：特になし

2023年度 東京農業大学と昭和大学との共同研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 山内 淳

1. 研究課題名および予算額

研究課題名
婦人科系疾患に用いる漢方薬のエストロゲン活性に対する影響

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	山内 淳	国際食料情報学部 国際食農科学科・教授	エストロゲン活性評価 研究総括
研究代表者 (昭和大学)	小池 佑果	薬学部 臨床薬学講座 天然医薬治療学部門・ 講師	漢方エキスの作成、 エキスの分離精製
研究分担者	藤巻 貴宏	生物応用科学部 農芸化学科・助教	活性成分の同定

3. 研究期間

2023年4月1日～2024年3月31日（1年計画の1年目）

4. 研究の背景（当初）

まず、2022年度は婦人科系疾患の治療薬として代表的な当帰芍薬散、桂枝茯苓丸、加味逍遥散のエキスを作成し、ヒト乳がん由来細胞株である MCF7 細胞を用いレポーターアッセイ系を用いて、エストロゲン活性を評価した。その結果、本アッセイ系を漢方薬の評価が可能であることを確認した。本年度はその他の漢方薬を対象に、エストロゲン活性に対する影響を調べた。

5. 研究目的

2022年度に測定した漢方エキ스가エストロゲン活性を持つことがわかったが、その活性は低かった。そこで、本年度は別の婦人科系疾患に用いられる大黃牡丹皮湯、通導散、温経湯など9種の漢方についてスクリーニングを実施し、活性が認められた漢方についてエストロゲン活性を指標に活性成分の探索を行った。基本的には、1年間で本研究は終了とするが、多数の漢方にエストロゲン活性が認められた場合は、漢方毎に1年ずつ更新し継続的に共同研究を実施することとした。

6. 研究（実験）方法

【昭和大学】漢方エキスの作成とエキスの分画を担当する。漢方エキスは、構成生薬を煎じ、濃縮後、凍結乾燥し作成する。エストロゲン活性に影響を与えた漢方については、エキスを分画する。分画は、有機溶媒や各種担体を用いて行い、活性成分の単離を行う。得られた活性成分の構造はNMR スペクトルやMS スペクトルを用いて決定する。これらを実施することで、漢方に含まれる活性成分を明らかにする。

【東京農業大学】エストロゲン活性の測定を担当する。エストロゲン応答配列を上流にもつ Nano-luciferase レポーター遺伝子を、正常なエストロゲン受容体を持つことが知られているヒト乳がん由来細胞である MCF-7 細胞に安定的に発現する細胞株を用いて、エストロゲン活性を評価する。漢方薬の評価が可能であることを確認する。漢方エキスと活性成分のエストロゲンに対する活性を明らかにする。エストロゲン活性を示す物質は脂溶性成分である可能性があるため、生薬を煎じる抽出法に加え、有機溶媒を用いた抽出法も試みる。

7. 研究成果

水抽出の他に 50%エタノール抽出した漢方エキスを作成し、エストロゲン活性を評価した。本年度は新たに 9 種類の生薬を試みたが、水抽出およびエタノール抽出いずれの方法でもエストロゲン活性を認める漢方が存在した。特に、エタノール抽出によってより活性が高くなることから、エストロゲン活性を有する物質は脂溶性である可能性が示唆された。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特になし

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

水抽出、エタノール抽出いずれにも活性が認められる漢方を選択し、分画することによってエストロゲン活性を示す物質を同定することが課題である。しかしながら、共同研究者の小池氏が令和 6 年 1 月より 1 年間海外留学されており、研究を継続することが困難となった。したがって小池氏の帰国を待って研究を継続したい。

10. 公表した成果一覧

学術論文：特になし

学会発表：特になし

その他

- 1) 2023「産学官・地域連携 HUB」シンポジウム 令和 5 年 12 月 1 日 研究シーズ発掘ファンド「婦人科系疾患に用いる漢方薬のエストロゲン活性に対する影響」山内 淳

2023年度 東京農業大学 若手・女性研究者支援プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 吉田 沙樹

1. 研究課題名および予算額

研究課題名
ワサビの農業特性と遺伝的多様性解明に関する研究

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	吉田 沙樹	農学部 生物資源開発学科・助教	代表

3. 研究期間

2023年6月7日～2024年3月31日（1年計画の1年目）

4. 研究の背景（当初）

ワサビ（*Eutrema japonicum* (Miq.) Kiudsz.）は日本の食事には欠かせない香味野菜であり、古くは飛鳥時代から食文化に関わっている。江戸時代より根部はすりおろして薬味として用いられ、また地上部は山菜として漬物や天ぷらに調理される。近年は山菜・香辛料のみならず、蒸留酒の原料になるなど、活用の幅は広がっている。

山梨県小菅村は、多摩川の源流部である小菅川が流れ、多くの湧水を有する山間の村である。小菅村では、その水を利用してワサビが栽培されており、山梨県内における栽培面積割合も上位に位置する。小菅村固有の在来ワサビの栽培も報告されており、地域資源としての利活用が期待されている。しかし、伊豆から流入した品種が多く栽培されているのが現状であり、在来ワサビの栽培面積は広くはない。さらには栽培農家の高齢化に伴い、栽培技術や伝統的知的財産が失われ、在来品種の存続が危ぶまれている。今後さらに改良種の普及が進めば、在来系統が減少し多様性が失われることが予測される。在来ワサビの保全は緊急の課題であるが、ワサビは種子の保存が困難な難貯蔵種子であることから、ジーンバンクに遺伝資源として保存されておらず、多くは生息・栽培地で域内保存されているのが現状である。また、栽培品種についても栄養繁殖の繰り返しによる劣化が見られ、新品種の開発が望まれているが、品種育成の親となる遺伝資源も、同時に消失しつつある。

5. 研究目的

本研究では、小菅村在来ワサビの保全を目的とし、**(1) 小菅村におけるワサビ栽培の実態調査**を行う

と共に、(2) 在来ワサビの遺伝的な情報の基盤構築、(3) 増殖方法の検討を行った。また、地域資源としての活用を目指し、(4) 辛味成分含有量の測定を試みた。

6. 研究（実験）方法

(1) 小菅村におけるワサビ栽培の実態調査

多摩源流大学協力のもと、2023 年 10 月 19 日に小菅村のワサビ農家 3 件を訪れ、聞き取り調査を行った。また、以下の遺伝学的実験の為に、植物体の一部を採取した。

(2) ワサビの遺伝的な情報の基盤構築

- 染色体の観察：ワサビの根端を採取し、4℃の暗所でオキシキノールに 5 時間浸漬した後、純粋で洗浄し、ファーマ固定液（エタノール：酢酸 = 3 : 1）で 4℃にて 24~48 時間固定した。固定後標本作製まで - 20℃の 70%エタノールで保管した。標本作成時は、固定した根端を 70%エタノールに 5 分、15%エタノールに 5 分、純水に 8 分、60℃の塩酸に 7~8 分、純水に 6 分、シッフ試薬に 1 時間浸漬した。1 時間経過した後、純水 5 分浸漬し洗浄後、押しつぶし法にてプレパラートを作成し、根端での染色体観察（体細胞分裂）を行った。
- ゲノムサイズの測定：サンプル調整は、CyStain PI Absolute P（Sysmex）の推奨プロトコルに従った。ワサビ葉を 5mm四方に切り取り、Extraction buffer を用いて破碎した。粉碎後、フィルター濾過を行い、染色液（Staining buffer : Propidium Iodide : RNaseA = 1.6ml : 9.6 μ l : 4.8 μ l）を加え各染色体の染色を行った。測定は CyFlow Ploidy Analyser（Sysmex）を用いて行った。
- GRAS-Di 解析：小菅村在来（SG23-1~4）・栽培ワサビ（SG1~3, SG23-5, SG23-6）、長野県白馬村・小谷村で収集された自生系統（HK）および一般的な栽培ワサビである真妻（ZM）、イシダル（ID）、正緑（DR）を用い、小菅村在来ワサビの遺伝的な位置付けの解明を試みた。自生ワサビは、白馬五竜高山植物園および北アルプス植物園の協力のもと、長野県において収集した。サンプル DNA の調整は NucleoSpin® Plant II（TaKaRa）の推奨プロトコルに従い行った。DNA 量の濃度測定および電気泳動によるクオリティチェックをクリアした 96 サンプルを株式会社生物技研に送付し、委託解析を行った。

(3) 増殖方法の検討

種子増殖・根茎伏せ込み法・無菌培養を試みた。

- 種子増殖：ワサビ種子は一般に乾燥に弱いとされる。栽培農家における伝統的な種子の保管方法として、5 月に収穫した種子をネットに包み、サヤごと流れのある川に漬け、サヤが腐り落ちた秋ごろに種子を回収し播種を行う方法がある。そこで、5 月に収穫した小菅在来ワサビの種子を同様の手法で保管し、発芽を試みた。
- 根茎伏せ込み法：根茎を 2 センチほどに切り分け、ベンレート 1000 倍希釈で消毒した床土 = 川砂：腐葉土（1:1）に伏せ込み、栄養繁殖を試みた。
- 無菌培養：5 月に収穫した種子を寒天培地で培養した。

(4) 辛味成分含有量の測定

ワサビの辛味成分である、機能性成分であるイソチオシアネート（ITC）類のうち、アリルイソチオシアネート（AITC）および 6-メチルスルフィニルヘキシルイソチオシアネート（6-MSITC）の含有量

をについて、GC/MS 分析による定量を試みた。サンプル調整は、竹下らの 2016 年の報告に従った（静岡県環境衛生科学研究所報告 No.59）。

7. 研究成果

(1) 小菅村におけるワサビ栽培の実態調査

小菅村におけるワサビ栽培は、江戸時代に静岡県から持ち込まれたのが始まりであると言われている。栽培が広まってからは、小菅村から静岡県に苗が持ち込まれたという記録も残っており、かつては両生産地で系統の行き来があったことが伺える。しかしその後は、生産者によって独自の育種が進められたため、静岡県の系統と鳥取県のだるま系統を掛け合わせたなどの断片的な証言はあるものの、詳細な記録は残っていない。生産者の間でも、「小菅村在来ワサビ」は村の在来系統として認識されており、かつては栽培していたという生産者も存在したが、小菅村在来ワサビには根茎が大きくなる、という問題が生じていた。根茎重量によって価値が決まるワサビとしては致命的な問題点であったため、栽培件数は激減し、現在圃場として小菅村在来ワサビを維持しているのは 1 件のみであった。しかし、小菅村在来ワサビは小ぶりで辛いと言われており、村には「辛すぎてワサビであると信じてもらえなかった」などの逸話が残っていた。

(2) ワサビの遺伝的な情報の基盤構築

染色体観察の結果、小菅ワサビ、真妻、イシダル、正緑において、28 本の染色体が観察された（図 1）。ワサビには 2 倍性・4 倍性と種内に倍数性があることが報告されているが、小菅村在来ワサビは一般的な栽培ワサビと同様の $2n=28$ の 4 倍体であると考えられた。また、ゲノムサイズを測定したところ、イシダル、真妻のゲノムサイズは共に約 700Mb、正緑はその 2 品種よりも大きい約 860Mbp であった。小菅村在来ワサビのゲノムサイズは、平均 720Mbp とイシダルや真妻と近い値を示した。以上のことから、小菅村在来ワサビの基本的な遺伝学的特性は、一般の栽培ワサビと共通していることが確認された。GRAS-Di 解析の結果に基づき系統樹を作成したところ、形態から野生種と判断された系統（13,14）が主となるクラスター（Cluster 1）、栽培品種である真妻（ZM）、イシダル（ID）、正緑（DR）および小菅村栽培ワサビから形成されるクラスター（Cluster 2）、長野県自生ワサビが主となるクラスター（Cluster 3）の 3 クラスターが形成された（図 2）。小菅村在来ワサビ（SG23-1~4）は同じ村内で栽培されながらも、小菅村栽培ワサビ（SG1~3, SG23-5, SG23-6）とは異なるクラスターに位置しており、自生ワサビと遺伝的に近縁であった。以上の事から、小菅村在来ワサビは一般的なワサビとしての特性を維持しながらも、村固有の系統として遺伝的に独立していることが明らかとなった。

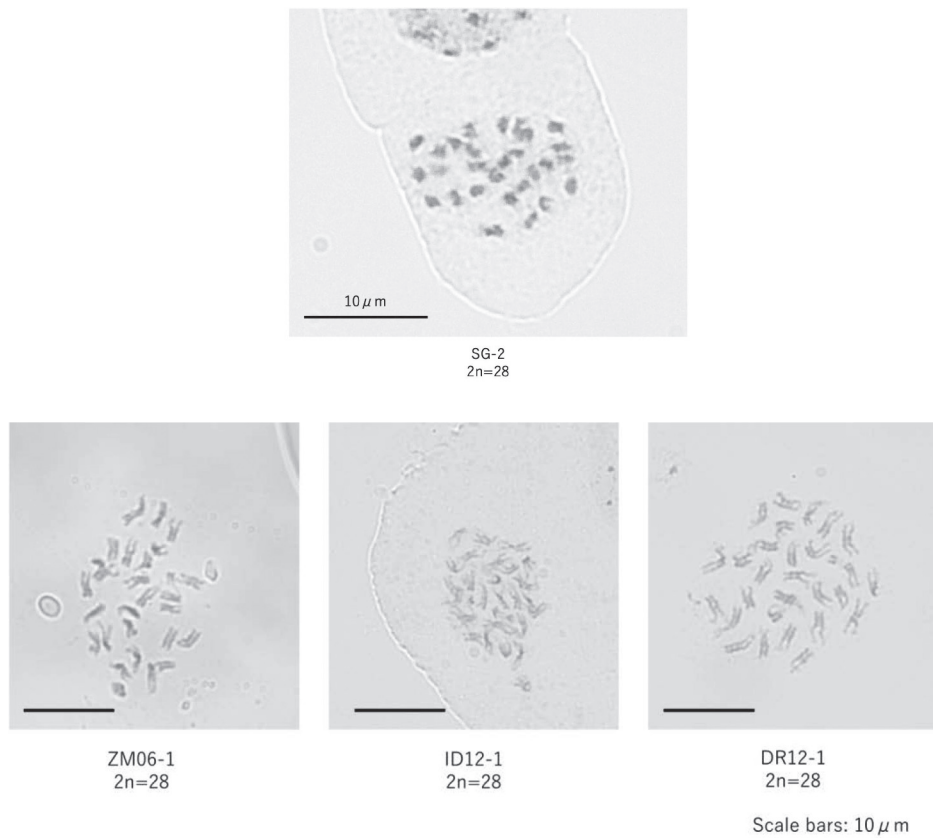


図1 ワサビの染色体数 (SG: 小菅在来ワサビ, ZM: 真妻, ID: イシダル, DR: 正緑)

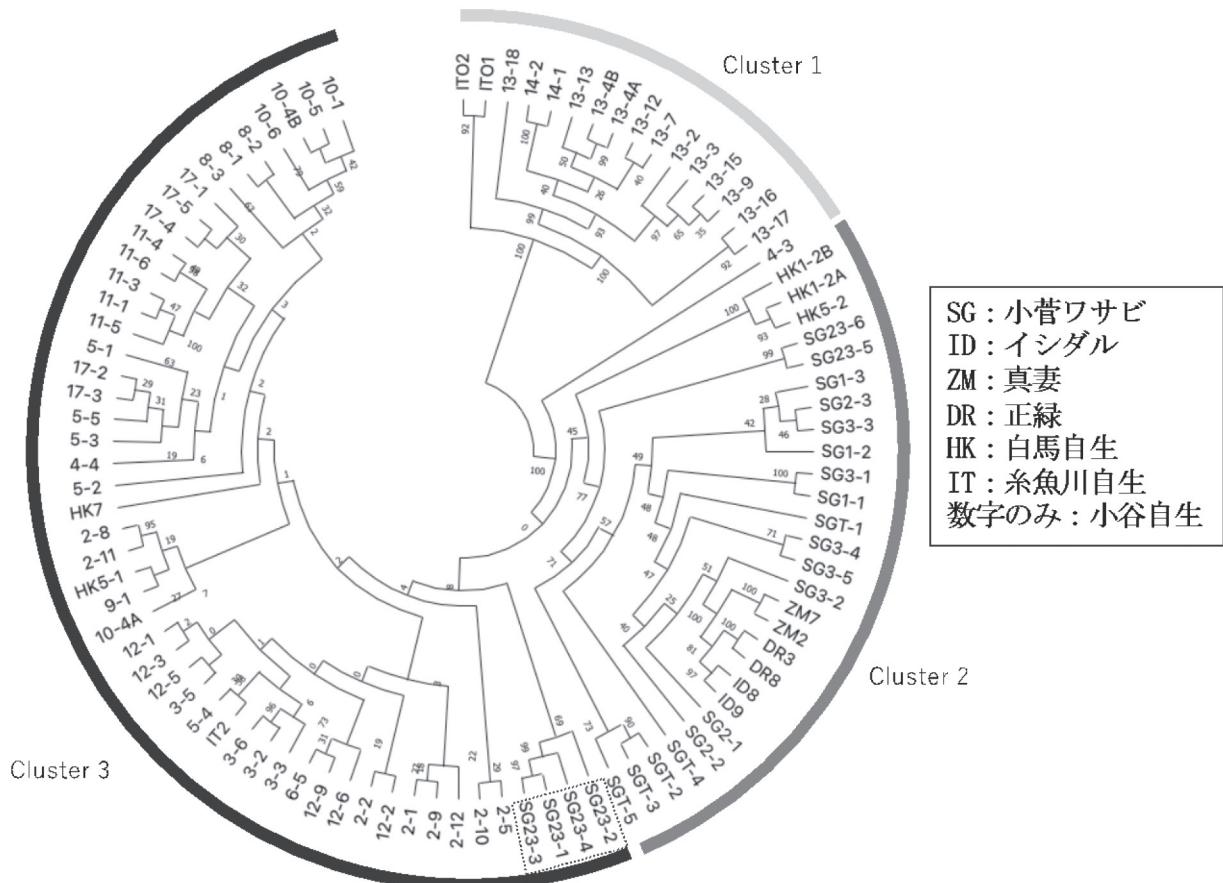


図2 ワサビの遺伝的多様性および小菅村在来ワサビの遺伝的位置付け

(3) 増殖方法の検討

5月～10月に川で処理をしたワサビ種子について、4℃の低温で処理した後に厚木キャンパス内の温室において播種を行ったところ、発芽を確認した。また、根茎伏せ込み法では、伏せ込み後約3ヶ月で28個体中17個体から腋芽の発生が確認された(図3)。無菌培養を試みたところ、培地への播種後6ヶ月ほどで発芽が確認された。根茎伏せ込み法は即効性・増殖効率に優れるが、クローン増殖のみならず、種子から育苗した個体を維持することが望ましい。

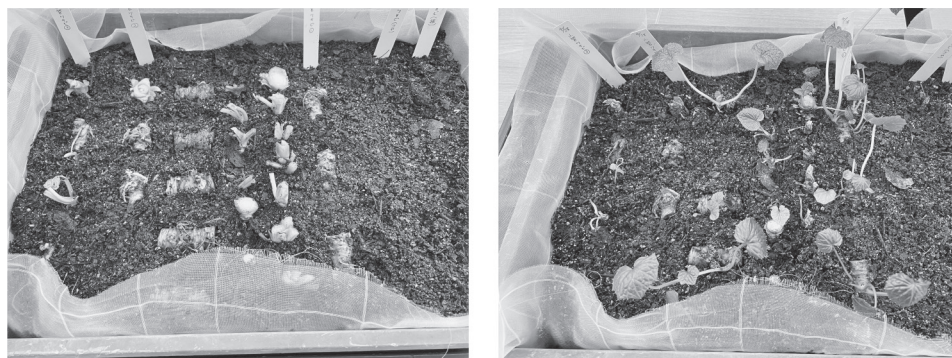


図3 伏せ込み開始時のワサビ(左)および伏せ込み後3ヶ月時点のワサビ(右)

(4) 辛味成分含有量の測定

辛味成分含有量は栽培環境や測定法により変動しやすいことが報告されている。現在、サンプル調整法について検討中である。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

根茎伏せ込み法による簡易で迅速な増殖が可能であることが確認されたことから、現在個体数の限られた小菅村在来ワサビの保全を大きく進めることが可能となった。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本研究により、小菅村在来ワサビが栽培品種とは遺伝的に異なっていることが明らかとなったが、今回比較した自生系統は長野県から収集されたものに偏っている。今後は、三大産地である静岡県・岩手県を含めより広範囲なサンプルを用いて系統解析を行うことで、小菅村在来系統のみならず、日本におけるワサビの多様性解析を行うことが望ましい。また、本研究ではGRAS-Di解析によって遺伝的情報を獲得し、特に野生系統の変異を見出すことができた。ワサビは、形態から野生か否かを識別することが難しく、現状では開花期に雄蕊の葯の色から判断するのみとなっている。今回の得られた変異からマーカーを作成することで、開花期に限らず迅速に野生系統を識別することが可能となる。

聞き取り調査では、小菅村在来ワサビの辛味に関する証言を得ることができた。簡易的に行った官能試験においても、小菅村在来ワサビは一般の栽培品種より辛いとする声が多かった。辛味成分含有量については現在測定法を検討中だが、この辛味を残したまま、小菅村在来ワサビの弱点である根茎重量を増加することができれば、地域資源としての活用に期待ができる。その為、今後は倍加ワサビの作出等による根茎の肥大化を目指す。

10. 公表した成果一覧

2024年度に行われる、第147回日本植物育種学講演会(令和6年度春季大会)において発表予定。

2023年度 東京農業大学 若手・女性研究者支援プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 眞榮田 麻友美

1. 研究課題名および予算額

研究課題名
黒麹菌におけるフェノール酸脱炭酸酵素とオートファジーの関係性

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	眞榮田麻友美	応用生物科学部 醸造科学科・助教	代表

3. 研究期間

2023年6月7日～2024年3月31日（1年計画の1年目）

4. 研究の背景（当初）

泡盛は沖縄の伝統的な蒸留酒であり、3年以上熟成させると芳醇な香りを持つ古酒になる。泡盛古酒香の特徴香であるバニリンは米の細胞壁に結合しているフェルラ酸（FA）に由来している。泡盛醸造中に細胞壁に結合しているFAが黒麹菌が持つフェルラ酸エステラーゼによって遊離し、そのFAが4-ビニルグアヤコール（4-VG）に変換され、貯蔵中に非酵素的酸化によってバニリンに変わることが知られている。これまでに、泡盛醸造中の4-VG生成は乳酸菌や酵母、蒸留時の熱によって生成されと考えられてきたが、申請者は黒麹菌由来フェノール酸脱炭酸酵素（AIPAD）が泡盛醸造中の4-VG生成の主要因であることを明らかにした。また、AIPADは製麹時間と共に発現量が増加することを明らかにしたが、製麹後期にAIPADの発現量が増加する理由は明らかになっていない。その他、AIPADは液体培養においてグルコースやその他の糖を消費後、著しく発現することが確認された。菊間ら（2014）は *Aspergillus oryzae* においてオートファジーは窒素源飢餓や気中菌糸形成、分生子形成などの形態分化時に起きることを報告している。また、転写因子破壊株ライブラリーを用いた実験において、炭素源や窒素源の利用、分生子や分生子柄形成に関連する転写因子が4-VG生成量の増減に関係していることが確認された。これらのことから、AIPADの発現とオートファジーに関係性があるのではと考え本研究を着想した。

5. 研究目的

本研究はAIPADの誘導・発現メカニズムを明らかにするために、AIPADとオートファジーに関係性があるのかを明らかにすることを目的として行った。

6. 研究（実験）方法

(1) グルコース培養菌体重量、培養上清中のグルコース量および AIPAD の発現確認

黒麹菌を完全合成培地で 18 時間培養し、得られた培養菌体を 1% グルコースを含む最小合成培地（MM 培地）に移し替え、1 日ごとに菌体を回収し、菌体量を測定した。回収した菌体はマルチビーズショッカーを用いて破碎し、タンパク質抽出液を調製した。調製した抽出液を用いてタンパク質量を揃えてウエスタンブロッティングを行い、AIPAD のシグナル強度を ImageJ を用いて定量した。コントロールとしてリコンビナント AIPAD (rAIPAD) を用いた。培地上清中に含まれているグルコースはグルコース CII- テストワコーを用いて測定した。

(2) *alpad* およびオートファジー関連遺伝子の転写量の定量

回収した菌体を液体窒素にて凍結し、マルチビーズショッカーを用いて破碎し、SV Total RNA Isolation System を用いて RNA を抽出した。抽出した RNA の定量は Qubit Fluorometer を用いて測定した。次に、Rever Tra Ace PCR RT Master Mix with gDNA Remover を用いて cDNA を合成した。作製した cDNA を鋳型にリアルタイム PCR (qPCR) にて *alpad* およびオートファジー関連遺伝子 (*atg*) の測定を行った。

7. 研究成果

(1) グルコース培養菌体の重量、グルコース消費量および AIPAD の発現確認

グルコースを唯一の炭素源とする MM 培地にて 9 日間培養し、各培養時間の菌体湿重量および培養上清中のグルコースを定量した結果、グルコースの消費は 3 日後にはほぼ消費されており、1 日後から 2 日後の消費量が最も多かった（図 1）。それに伴い培養菌体の菌体量も 1 日後から 2 日後にかけて増加していた。また、グルコースが完全に消費されてから 24 時間後に菌体量が減少していることが確認された。各培養時間ごとのウエスタンブロッティングの結果およびそのシグナル強度を図 2 および 3 に示す。AIPAD は培養 4 日後に発現することがわかった。このことから AIPAD はグルコースが消費されてから約 24 時間後に発現することがわかった。また、菌体の重量が著しく低下していることから自己消化が起きる条件下で AIPAD が発現する可能性が示唆された。

(2) *alpad* およびオートファジー関連遺伝子の転写量の定量

各培養時間の菌体を用いて各遺伝子の転写量の定量を行った。*atg* 遺伝子においては、*Aspergillus oryzae* や *niger* において報告されている Atg と相同性のある配列をゲノム情報を基に探索し、qPCR にて定量した。今回調べた遺伝子は、飢餓条件下で引き起こされるオートファジーの上流にある *atg13*、Atg13 の下流にあり細胞死に関与するとされる *atg1*、さら

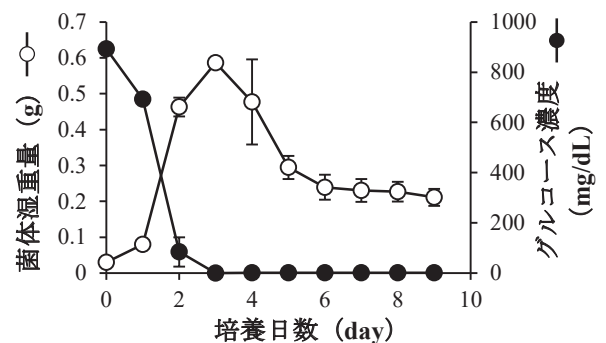


図 1. 菌体湿重量および培養上清中のグルコース量



図 2. グルコース培養菌体の
ウエスタンブロッティング

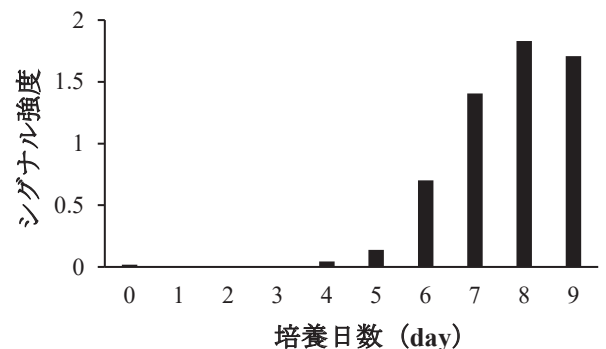


図 3. ウエスタンブロッティングのシグナル強度

にその下流にありオートファゴソーム前駆体の形成に関わる Atg と相互作用する *atg2*、菌糸成長の際のオートファジーに関わる *atg8*、オートファジックボディ内の溶解に関わるリパーゼである *atg15* を用いた。

始めに *alpad* の定量を行った結果、2 日後にわずかに減少後 3 日後から 7 日後にかけて増加していた (図 4)。これまでに AIPAD はグルコースが存在すると発現量が抑制されることが報告されている。グルコース培養において 1 日後から 2 日後にかけてグルコースの消費が著しいことから、その間にカーボンカタボライトリプレッションにより *alpad* の転写が抑制されたと考えられる。次に *atg* 遺伝子について調べた結果、*atg2*、*atg13* および *atg15* はどの培養時間においても大きな差は見られなかった。また菌糸の伸長に関わる *atg8* と飢餓時のオートファジーに関わる *atg1* においては 3 日後が最も高い値となった。しかし、菌体重量の結果から菌体の増殖は 1 日後から 3 日後にかけて増殖していた。このことから、*atg8* の転写量の増加は 3 日後よりも前にあるのではないかと考えられる。また、菌体量の減少は 3 日後から 4 日後の間に著しく減少したことから *atg1* が増加したことによりオートファジーが促進され菌体量が減少したと考えられる。

これらの結果から、菌体重量の変化とオートファジー関連遺伝子の関係性は見られたが、AIPAD の発現と関係性があるオートファジー関連遺伝子については明確にすることができなかった。しかし、AIPAD の発現はオートファジー関連遺伝子が発現し、細胞死が始まったところに転写し始めることがわかった。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特になし

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本実験では AIPAD の発現とオートファジー関連遺伝子の関係性について明確にすることができなかった。今後、その他のオートファジー関連遺伝子についても調べ AIPAD と関係性がある遺伝子がないか調べる。また、*atg1* などの欠損株を作製し *alpad* が転写されるか調べる。その他、オートファジー関連遺伝子以外の遺伝子の関与を調べるために RNA-seq などの転写解析についても検討する。

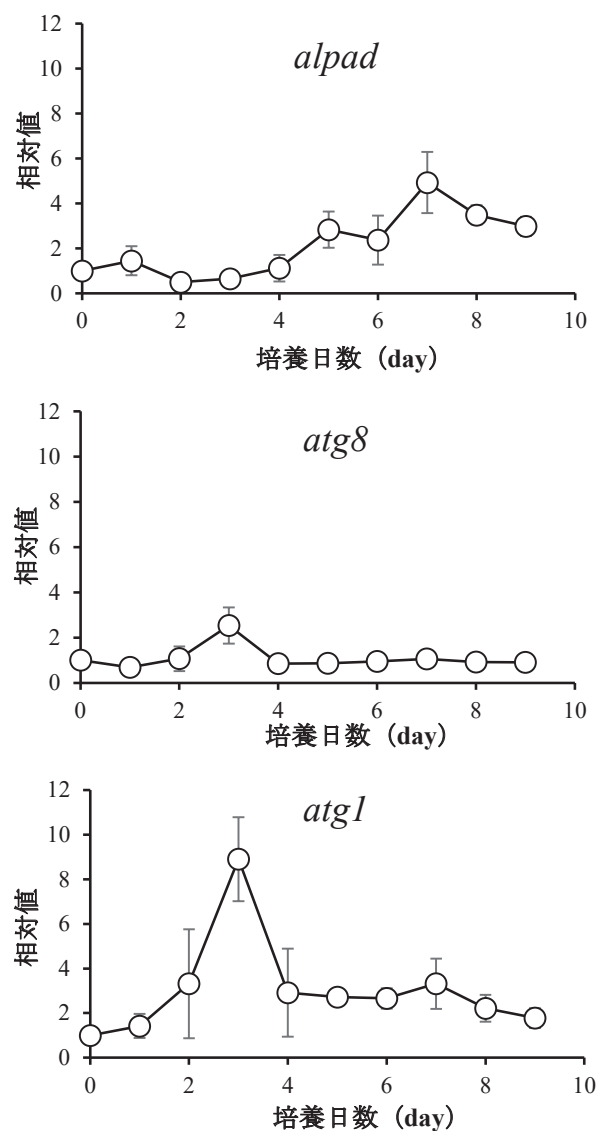


図 4. 各培養時間における *alpad* および *atg* 遺伝子の相対値

10. 公表した成果一覧

学会発表

- 1) 宇良一輝, 松尾彩, 吉田嵩策, 平良東紀, 吉川潤, 前橋健二, 眞榮田麻友美. *Aspergillus luchuensis* 由来フェノール酸脱炭酸酵素の誘導条件. 日本生物工学会 2024 年度大会. 東京. 2024 年 9 月

2023年度 東京農業大学 若手・女性研究者支援プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 四井 いずみ

1. 研究課題名および予算額

研究課題名
植物の基礎的抵抗性に関わる細胞死抑制機構の解明

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	四井いずみ	生命科学部 バイオサイエンス学科・助教	活性酸素種の定量・研究統括
研究分担者	瀬津 暁乃	生命科学研究科 バイオサイエンス専攻・博士前期課程1年	遺伝子発現解析
	吉田美百合	生命科学研究科 バイオサイエンス専攻・博士前期課程1年	抗酸化剤処理による免疫応答の解析

3. 研究期間

2023年6月7日～2024年3月31日（1年計画の1年目）

4. 研究の背景（当初）

植物の基礎的抵抗性は微生物に共通して保存されている構造（パターン）を認識することで発揮され、植物を日和見感染から防ぐ。この基礎的抵抗性は被子植物に加え、近年コケ植物でも報告されたことから（Bressendorff et al., *Plant Cell* 2016）、高等植物への進化の過程で複雑化する前に獲得、保存された重要なシステムであると推測される。基礎的抵抗性に関わる因子を探索するために申請者らは遺伝的冗長性の低いコケ植物に着目した。植物の基礎的抵抗性における細胞死抑制機構の一端を明らかにすることを目指して、一細胞からの分化能が高いコケ植物ヒメツリガネゴケを用いた変異体スクリーニングにより、カビの細胞壁成分キチンの処理で基礎的抵抗性の指標となる褐変を示さず、細胞死が誘導される変異体（*chitin-induced cell death mutant*）: *ccd* を複数単離することに成功した（2021年度）。昨年度は、本プロジェクトの助成を得てコケ植物では初めてとなる遺伝子マッピング系を確立し *ccd* の原因遺伝子として P450 ファミリーに属する遺伝子を同定することに成功した（「2022年度植物生理学会で責任著者として発表」）。

5. 研究目的

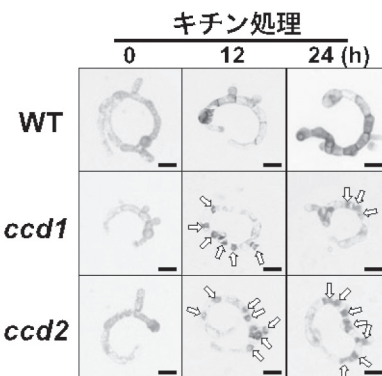
植物において P450 ファミリーは 11 種のグループ（クラン）に分類され、その一つである 71 クランには細胞壁成分であるリグニンの生合成に重要な経皮酸 4 位水酸化酵素（C4H）や *p*- クマル酸 3 位水酸化酵素（C3H）、フェルラ酸 5 位水酸化酵素（F5H）などを含む二次代謝全般に関わる酵素が含まれる。分子系統学的解析から *ccd* の原因遺伝子は、C3H をコードする *CYP98A* と相同性を持つ遺伝子（*PpCYP98A-Like/CCD*）であった。植物において C3H の代謝産物であるクロロゲン酸やカフェ酸は抗酸化剤としての作用が報告されている（Grace and Logan, 2000）。そこで本申請においては、C3H を介した代謝産物の抗酸化作用と植物の基礎的抵抗性との関係を以下の研究計画・方法に記載した解析により明らかにする。

6. 研究（実験）方法 と 7. 研究成果

（1）キチン誘導性の過敏感細胞死の解析

キチン処理により、WT においては処理 12 時間で褐変が誘導される一方で、*ccd* において褐変は観察されず Hypersensitive Response（HR）様応答に代表される葉緑体の破壊や細胞質の収縮が誘導され（挿入図 1 矢印）、48 時間後には *ccd* において細胞死が誘導されることをこれまでに明らかにしている。病原菌感染で HR 様細胞死を起こす細胞では活性酸素種の高蓄積が報告されている（Ines Ponce de Leon, 2012）。そこでキチン処理による細胞内の活性酸素種の蓄積量を WT と *ccd* で比較するために活性酸素検出蛍光試薬である H_2DCFDA を用いて活性酸素種量を定量することを試みた。

5 μ M の H_2DCFDA で 1 時間前処理した WT と *ccd* をキチンで 0, 12, 24, 48 時間処理し、細胞内の活性酸素種と反応して生じる緑色蛍光（490nm で励起、525nm で検出）を、蛍光プレートリーダーを用いて測定した。しかしながら、WT において時間経過に伴いキチン未処理区画とキチン処理区画の両方において蛍光値が上昇したことにより、キチン処理による活性酸素種量の上昇を観察することは出来なかった。 H_2DCFDA 処理後の洗浄が不十分であると蛍光値が上がるため蛍光値の変動がなくなるまで 5 回程度水で洗浄している。洗浄による接触刺激がキチン未処理区画での活性酸素量の上昇の原因になっていることが考えられたため、洗浄回数や洗浄方法を今後検討していく必要がある。



挿入図 1

ヒメツリガネゴケ原糸体をキチン処理
0, 12, 24 時間後の写真
(上段):WT (中央):*ccd1* (下段):*ccd2*
bar: 50 μ m
矢印: HR 様の応答を示す細胞

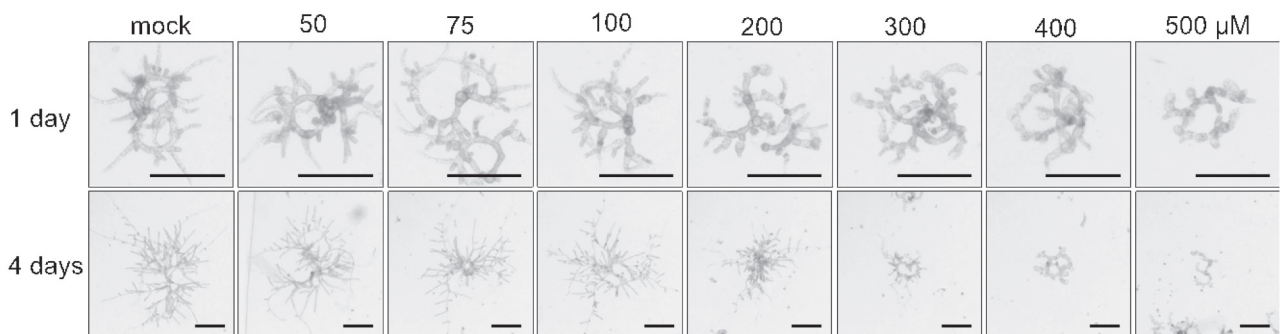
（2）キチン誘導性細胞死における抗酸化剤カフェ酸の役割の解析

キチン処理により細胞死が顕著に誘導される *ccd2* においては活性酸素種の生成に関わる NADPH オキシダーゼの一つ *PpNOX* がキチン処理により WT と比べて優位な発現上昇を示すことを明らかにしている。このことから *ccd* においてキチン処理後に誘導される HR 様応答には活性酸素種の蓄積が影響していることが推測された。C3H の代謝産物で抗酸化作用を有するカフェ酸をキチンと同時処理することにより、HR 様応答が抑制されるかを観察することとした。

ヒメツリガネゴケにおいてカフェ酸の生合成ができない変異体は配偶体形成が阻害されるが長期的に 20 μ M カフェ酸を添加した培地で育てると配偶体形成が部分的に回復する（Renault et al., 2016）。一方、高濃度のカフェ酸の長期的処理は生育を抑制することが報告されている（Richter et al., 2012）。キチン応答は 48 時間までの短期的処理による応答を観察するため、生育に影響を及ぼさずに効果を発揮するカ

フェ酸濃度を検討した。0, 50, 75, 100, 200, 300, 400, 500 μM のカフェ酸添加培地上での生育を観察したところ、処理後 24 時間以降で 200 μM 以上の濃度では顕著な生育抑制が観察されたため、カフェ酸の添加濃度を 100 μM とすることとした（挿入図 2）。

キチン 24 時間処理により WT においては褐変化、*ccd2* においては HR 様応答が観察されるが、キチンとカフェ酸同時処理することにより *ccd2* における HR 様応答が抑制された。このことから HR 様応答に影響を与える活性酸素種がカフェ酸による抗酸化作用により無毒化されたことが考えられた。一方で、カフェ酸が細胞外でキチンの効果を弱めていることも考えられるので、キチン単独処理とキチンとカフェ酸同時処理した時の組織におけるキチン誘導性の遺伝子発現を比較することにより、単独処理とキチンとカフェ酸同時処理時のキチン応答を確かめる必要がある。



挿入図 2 ヒメツリガネゴケ原系体を左から未処理, 50, 75, 100, 200, 300, 400, 500 μM のカフェ酸で処理した写真 上段: 1 日間処理, 下段: 4 日間処理 bar: 250 μm

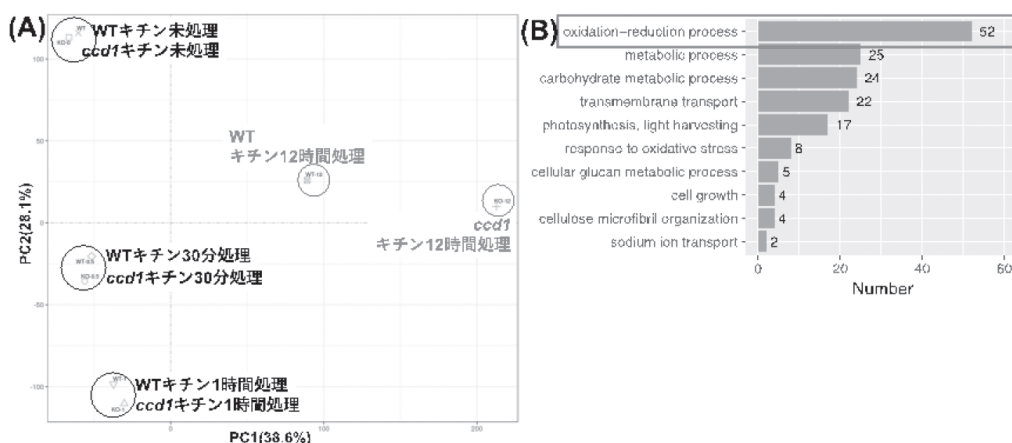
(3) 病原菌接種による細胞死と抵抗性の評価

Botrytis cinerea は死細胞を栄養とする殺生菌の特徴を有し 200 種以上の植物に感染する多犯性の病原菌である。ヒメツリガネゴケにも感染し HR 様細胞死を誘導することが報告されている (Ines Ponce de Leon, 2012)。これまでの研究により *ccd1* と *ccd2* の両変異体は WT よりも *B. cinerea* に対する抵抗性が低いことが分かっている。しかしながら、*ccd* 変異体は紫外線照射により単離されているため抵抗性の低さが原因遺伝子である *PpCYP98A-Like/CCD* の欠失によるものかは明らかではなかった。そこで、*ccd1* と *ccd2* のそれぞれにおいて *PpCYP98A-Like/CCD* 相補体を作出し *B. cinerea* に対する抵抗性を WT と比較した。その結果、*PpCYP98A-Like/CCD* 相補体は WT と同様の抵抗性を示したことから、*PpCYP98A-Like/CCD* が *B. cinerea* に対する抵抗性に重要な働きをしていることを明らかにした。

次に *ccd2* にカフェ酸を処理することで *B. cinerea* 接種に対して WT と同程度の抵抗性を示すようになるかを観察することとした。WT と *ccd2* を *B. cinerea* 接種もしくは 100 μM カフェ酸で 24 時間前処理した後に *B. cinerea* 接種した。しかしながら、WT においてカフェ酸前処理した場合、*B. cinerea* 菌糸の広がり顕著に抑えられたことから、WT と *ccd2* との差を観察することは出来なかった。カフェ酸の抗菌性やカフェ酸の処理濃度について今後検討する必要がある。

(4) 網羅的遺伝子発現解析

昨年度は、キチンなどの微生物パターンで数分から 1 時間程度の間に初期誘導されるパターン誘導性免疫 (PTI) と中期的応答である HR 様細胞死に関わる遺伝子発現パターンについて知見を得るとともに WT と *ccd* の間でキチン処理時に遺伝子発現変動が顕著なタイムコースを明らかにするため、WT と *ccd1* をそれぞれキチン未処理、処理後 30 分、1 時間、12 時間の組織を biological replicate=1 でサンプリング



挿入図3 RNAseq 解析

- (A) キチン処理による WT と *ccd1* の遺伝子発現パターンを主成分解析 (PCA) した結果
 (B) キチン 12 時間処理した WT と *ccd1* で発現変更が顕著な遺伝子を GO 解析した結果

し、RNAseq 解析を行った。主成分解析の結果、HR 様応答が顕著な 12 時間処理で WT と *ccd1* の遺伝子発現パターンに顕著な違いが見られた (挿入図 3 (A))。さらに処理後 12 時間で WT と *ccd1* で発現変動が顕著な遺伝子を GO 解析した結果、酸化還元プロセスに関わる遺伝子が多いことが分かった (挿入図 3 (B))。

ccd1 の原因遺伝子は、P450 ファミリーの 71 クランに属する C3H をコードする *CYP98A* と相同性を持つ遺伝子 (*PpCYP98A-Like/CCD*) である。71 クランには細胞壁成分であるリグニンの生合成酵素を含む二次代謝全般に関わる酵素が含まれる。キチン処理後 12 時間で WT と *ccd1* において発現変動する遺伝子の多くは酸化還元プロセスに関わる遺伝子であったので (挿入図 3 (B))、酸化酵素や還元酵素に着目し、WT と *ccd2* をキチン未処理、処理後 12 時間の組織を biological replicate=3 でサンプリングし、定量的 RT-PCR を行なった。その結果、*ccd2* をキチン 12 時間処理した際に酸化酵素や還元酵素の発現量が優位に上昇することが確かめられた。このことから HR 様応答を示す細胞内では酸化還元バランスが崩れていることが考えられた。これらの遺伝子発現が HR 様応答などの中期的応答を制御しているのかを確かめるためには、更なる解析によりこれらの遺伝子の欠損体や過剰発現体などを作出した上で、キチン処理による HR 様応答を観察していく必要がある。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特になし

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

C3H の代謝産物である抗菌性のカフェ酸やクロロゲン酸などを含む二次代謝産物は植物のストレス応答に重要な役割を果たす。*PpCYP98A-Like/CCD* はキチン処理の時間経過に応じて発現量が上昇することを 2022 年度の研究で明らかにしているが、2023 年度の本プロジェクトにより *B. cinerea* への抵抗性に重要な役割を果たすことを明らかにした。*CCD* を欠損することで生体内の酸化還元バランスが崩れ、それが病原微生物への抵抗性が低下する原因になっていることが考えられた。今後、*PpCYP98A-Like/CCD* の相互作用因子を探索するなどして基質の明らかにすることが出来れば、植物が病原微生物の感染を受けた時に細胞内でどのような応答をしているのか、またどのように抵抗性を獲得するのかを明らかにすることができ、さらには抵抗性を備えた植物の作出への応用研究が期待できる。

10. 公表した成果一覧

学会発表

- 1) 「ヒメツリガネゴケにおけるオーキシシンシグナルを介した免疫応答の解析」吉田美百合、太治輝昭、坂田洋一、四井いずみ 日本植物学会 第87回大会 2023年9月（北海道）
- 2) 「ヒメツリガネゴケにおけるキチンシグナルを介した転写因子 CAMTA の機能解析」瀬津暁乃、太治輝昭、坂田洋一、四井いずみ 日本植物学会 第87回大会 2023年9月（北海道）
- 3) 「The role of auxin signaling in immune responses of the moss *Physcomitrium patens*」吉田美百合、太治輝昭、坂田洋一、四井いずみ 第65回日本植物生理学会年会 2024年3月（神戸）
- 4) 「Analysis of transcription factor CAMTA in chitin signaling of *Physcomitrium patens*」瀬津暁乃、太治輝昭、坂田洋一、四井いずみ 第65回日本植物生理学会年会 2024年3月（神戸）

2023年度 東京農業大学 若手・女性研究者支援プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 長尾 真弓

1. 研究課題名および予算額

研究課題名
ジビエのフードシステムの安全性デザインに関する研究 ー食肉処理業者の意識と選択に着目してー

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	長尾 真弓	国際食料情報学部 食料環境経済学科・助教	研究代表者

3. 研究期間

2023年6月7日～2024年3月31日（1年計画の1年目）

4. 研究の背景（当初）

全国の農山村地域で獣害対策と農村振興の一環でシカやイノシシのジビエ利用を推進している。ジビエの特徴の一つに、食肉としての安全性が法的に担保されない。よって、ジビエのフードシステム形成には安全性の向上が喫緊の課題となっている。

一方で、衛生管理水準の異なる4段階のジビエ流通の実態がある。①認証/HACCP取得、②衛生管理ガイドラインの遵守あり、③同前の遵守なし、④闇肉であり、衛生管理は食肉処理業者の判断に委ねられている。よって、安全性の高いジビエが生産され、流通し、消費される、ジビエのフードシステムの確立が必要であり、それには、食肉処理業者の高い衛生管理の実施が求められるが、食肉処理業者の運営意識や行動は明らかになっていない。

5. 研究目的

本研究の目的は、食肉処理業者の衛生管理に関する意識と衛生管理水準選択行動を明らかにし、ジビエの安全性向上に効果的な支援策を検討することである。

6. 研究（実験）方法

郵送アンケート調査を実施した。対象は、農林水産省が公表する「ジビエ処理加工施設名簿」のうち、web検索により住所が把握できた石川県を除く410施設とした。なお、研究計画当初は石川県を含む422施設としていたが、能登半島地震を受けて石川県を対象外とした。調査期間は2024年1月15日～2024

年3月31日までである。

なお、本調査の実施にあたり、東京農業大学「人を対象とする実験・調査に関する倫理委員会」の承認を受けた。

調査項目は、事前のヒアリング調査を踏まえ、以下を設定した。

【1】食肉処理施設の概要

運営状況に関して、所在地、運営形態と指定管理者制度、運営主体、事業形態、専従者、行政支援の有無を設定した。

処理状況と衛生管理に関して、年間の処理状況、衛生管理の取り組みに関する項目を設定した。

【2】運営意識

食肉処理業者の運営意識についてはオブジェクト型ベスト・ワースト・スケーリングを用いた。

評価項目は、事前の鳥取県でのヒアリング調査に基づき、販売価格、安全性、良質な食肉生産、処理頭数／量の確保、地域貢献の5項目を設定した。各項目の詳細は表1の通りである。

【3】2022年度の運営実績

処理実績に関して、獣種、年間の解体頭数に関する項目を設定した。

次に、ジビエ利用量について、ジビエ利用の内訳、販売先に関する項目、ハンターとの関わりについて、搬入者、個体買取に関する項目を設定した。

表1 評価項目

項 目	概 要
販売価格	ご自身が納得のいく価格で販売を行うこと
安全性	衛生管理を徹底し、食肉としての安全性を確保すること
良質な食肉生産	ご自身が考える質の高い食肉を生産すること
処理頭数／量の確保	食肉として利用できる処理頭数／処理量を確保すること
地域貢献	食肉処理を通じて獣害対策や地域に貢献すること

7. 研究成果

本研究の成果は、今後論文投稿を予定しているため、本報告書で記述は控えさせていただく。

なお、得られたデータの概要は以下の通りである。

調査票の郵送をした410施設のうち13件は宛先不明で返送されたため、調査票配布数は397件となった。回収数は243件であり、有効回答数は180件であった。回収率は61%である。

内訳は、北海道21件、東北4件、関東8件、中部46件、近畿28件、中国22件、四国15件、九州・沖縄36件である。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特になし

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本研究より、食肉処理施設運営の特徴と衛生管理水準選択の関連性が明らかになりつつある。今後、更に分析を進め、論文化していく。本研究の成果を踏まえ、今後は、ジビエを扱う飲食店側のニーズを

明らかにすることで、両者のマッチング方策についても検討していきたい。

10. 公表した成果一覧

学術論文：特になし

学会発表：特になし

2023年度 東京農業大学 若手・女性研究者支援プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 金嶋 泰

1. 研究課題名および予算額

研究課題名
ハッカ精油蒸留残渣が有する消臭活性に関する研究

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	金嶋 泰	生物産業学部 食香粧化学科・助教	研究統括および実施者
研究分担者	田村 俊	生物産業学研究科 食香粧化学専攻・大学院生	実施者

3. 研究期間

2023年6月7日～2024年3月31日（1年計画の1年目）

4. 研究の背景（当初）

ハッカは冷涼感を呈するメントールを獲得する資源として栽培され、メントールは食品だけでなく香粧品や医薬品などに幅広く利用されている。ハッカは現在、主にインドなどで栽培される一方で、国内に目を向けると北海道の一部地域でのみ栽培されているが、大規模栽培ではないのが現状である。また、北海道の道東に位置する北見市は、かつて世界の7割のメントール生産に関わったハッカ栽培の歴史を持つ地域である。しかしながら、第二次世界大戦や安価な外国産ハッカや合成メントールの台頭により現在は記念館や蒸溜館および一部の商品のための小規模な栽培に留まっている。メントールの世界的な需要は拡大しており、現在はメントール生産量の6割以上を合成メントールが占め、今後さらに需要は拡大すると考えられている。一方で、安心安全志向および本物感を求める近年の消費者およびメーカーにおいてはハッカ精油から取り出した天然メントールにも需要があり、今後は天然メントールの市場取引が拡大することが考えられ、既に現在のハッカ生産量では不足すると見込まれている背景から、国内産ハッカの市場取引の増加も遠い将来の話ではないと考えている。

当研究室ではハッカの脱メントール精油が体臭に寄与するイソ吉草酸（足裏臭）に対して消臭活性を示すことを見出し、精油中のプレゴンおよびメントンがマスキング作用により消臭することを報告している（*J. Essent. Oil Res.*, 30, 431-436, 2018）。精油蒸留残渣においても、低極性画分が虫菌菌に対して抗菌活性を示すことが認められ、寄与成分はスタチチンであることが明らかとなっている。申請者は、精油蒸留残渣中の高極性画分が魚臭やタマネギ臭などの食品のオフフレーバーに対して消臭効果を示し、消

臭に寄与する不揮発性成分（無臭）が複数存在することを見出した。しかしながら、寄与成分の同定には至っていない（図 1）。天然メントールの増加は精油抽出残渣の増加を意味することから、本研究ではハッカ精油蒸留残渣に含まれる消臭活性成分の特定およびその消臭メカニズムの解明を試み、日本在来ハッカおよび限られた天然資源のさらなる利用価値向上を目指す。

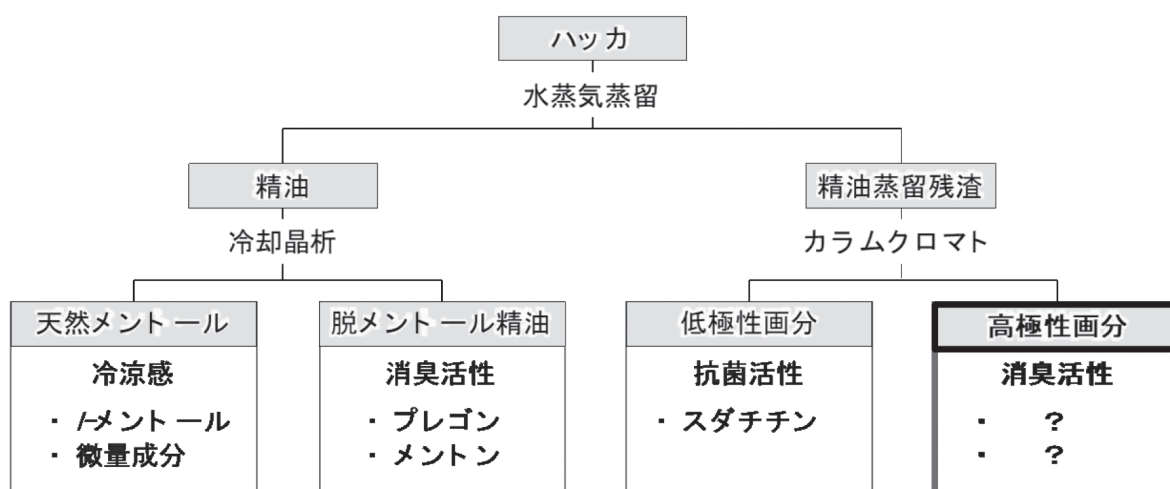


図 1. ハッカ精油および精油蒸留残渣の分画物が有する機能性

さらには年間で数万トン生産されている同シソ科ハッカ属のペパーミントやスペアミントに同じ化合物が含有される可能性があることから、近縁種の応用にも活かされることが考えられる。消臭成分の特定後には、類縁体の消臭スペクトルの作成や、それらを含む植物の利用にも期待ができるため、本研究はハッカだけに留まらない様々な天然物の応用に関して発展性のある、学術面および産業面に貢献することができる社会的に意義のある研究である。

5. 研究目的

本研究は悪臭に対する消臭剤に天然由来の素材を利用することを目指し、日本の在来植物であるハッカから消臭活性成分を探索することを目的とした。当該研究期間内では、①食品のオフフレーバーに対する消臭活性に寄与する成分の構造特定および②抽出物が消臭する香気成分を探索することとした。

6. 研究（実験）方法

（1）消臭活性成分の単離同定

ハッカ蒸留残渣中の消臭活性成分をオフフレーバーであるタマネギ臭のジメチルトリスルフィド（DMTS）に対する消臭活性を指標として各種クロマトグラフィーで分離精製し、核磁気共鳴分光法（NMR）などの機器分析において構造解析をした。

具体的には、ハッカ蒸留残渣を 50% アセトンで抽出し、抽出液のアセトンを留去後に酢酸エチルで液分配して水相を得た。水相を MCI gel CHP 20 に供して水画分、30% メタノール（MeOH）画分、50% アセトン画分を得た。水画分を高速液体クロマトグラフィー（HPLC）でカラムや溶離液を変えて複数回分画することで複数の成分を単離した。単離した Fr.1-3A および Fr.1-5A は NMR および LC- 質量分析装置（LC-MS）で測定し、構造解析をした。

(2) 抽出物により消臭される香気成分の探索

抽出物が消臭する香気成分について悪臭に限らずに探索した。消臭試験の手法は図2に示した溶液を用意し、1対2点識別法で抽出物の添加で消臭されているかを評価した。

具体的にはアルコール、アルデヒド、カルボン酸、ケトン、メチルエステルなどの官能基をもつC₃～C₉の直鎖脂肪酸族に対して水画分の添加による消臭試験をした。また、

これに二重結合やアルキル基が置換した化合物、悪臭防止法で定められている悪臭成分やオフフレーバーとして知られる成分について消臭試験をした。消臭試験は中身の色が見えない褐色ガラス管に香気成分水溶液と分画物水溶液を添加したサンプルおよび香気成分水溶液に水を添加したサンプルを用意し、基準液の香りを嗅いだ後に両サンプルを嗅ぎ、香りの強度が弱いサンプルを選択する1対2点識別法で評価した。なお、パネルは20～40代の男女15名以上とした。得られたデータはExcel for Microsoft 365 (Microsoft) で各項目の比較に二項検定を用いて分析した。各抽出物から得た水相およびその分画物を添加した溶液のにおいが薄いと選択した人数を成功数、評価した人数を試行数および成功率を0.5として検定し、成功数が多く有意差のあったものを消臭活性有りとした。

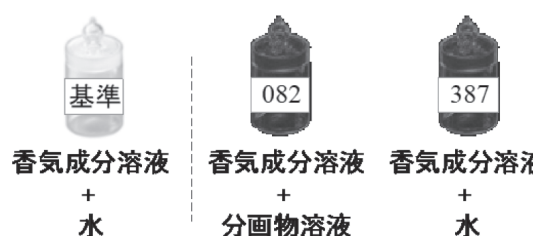


図2. 消臭活性試験方法

7. 研究成果

(1) 消臭活性成分の単離同定

ハッカ蒸留残渣中には消臭活性を示す成分が複数あり、その内 Fr. 1-3A および Fr. 1-5A の2成分を単離することができ、Fr. 1-3A は構造解析により化合物（構造は論文投稿予定）を特定した。同成分が消臭活性を示す報告はなく、ハッカ中に含有される報告もされていない。Fr. 1-5A は構造特定には至っていないもののNMR およびLC-MS 測定により部分構造の推定をすることができた。Fr. 1-1 には2成分以上の消臭活性成分が含まれることが示唆された。

(2) 抽出物により消臭される香気成分の探索

水画分は直鎖の低級脂肪酸を消臭することが明らかとなった。一方で、アルキル基や二重結合があると消臭されないカルボン酸が多い結果となった。また、一部の直鎖のアルデヒドおよび一部の二重結合やアルキル基が置換したアルデヒドも消臭された。これらの結果は、官能基に特異的な消臭活性でないことを意味していることが示唆された。悪臭防止法で定められている悪臭成分およびオフフレーバーに対する試験では、含窒素化合物および含硫化合物などの一部で消臭が認められた（詳細は論文投稿予定）が、こちらも構造と消臭活性の特異性を捉えることができなかった。従って、本研究のような化合物個々における消臭試験の実施が重要となることが考えられた。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

本研究の発展および実用につながる成果は得られたため、現在は継続して研究を実施している。現段階では実用および他の研究への活用はされていない。

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

(1) 消臭活性成分の単離同定

Fr. 1-5A の構造解析および Fr. 1-1 に2つ以上の消臭成分が含有されることが明らかとなったため、こ

れらについて構造を特定する必要がある。今後は引き続き分離精製して構造解析をすすめる。

消臭成分の構造を解明できた成分については、消臭メカニズムについて明らかにする研究を始めている。他の消臭成分についても、構造特定後に消臭メカニズムの解明を目指す。

(2) 抽出物により消臭される香気成分の探索

入手済みの香気成分の全てについて消臭試験が完了したわけではないので、さらに対象を増やした消臭試験をする。また、濃度によって消臭活性の検知が異なることから、各香気成分の濃度を調整して試験をする必要がある。

消臭スペクトルの重要性が示されたことから、当初の予定通り単離化合物についても順次、同様に様々な香気成分に対する消臭試験を実施する。興味深いことに、ハッカから得られた水画分を添加する消臭試験をする中で、いくつかの香気成分でにおいが増強する現象も捉えられた。従って、香りのコントロール剤の開発を見据えた研究へとつながることが示唆された。現在は実用化を目指した香りのコントロール剤としての可能性を見出す研究を遂行している。

10. 公表した成果一覧

その他（学会発表など）

- 1) 金嶋泰，地域の特産物であるハッカの消臭剤としての可能性，令和5年度オホーツク地域活性支援包括連携フォーラム（2024年2月26日）

2023年度 東京農業大学 若手・女性研究者支援プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 山本 久美子

1. 研究課題名および予算額

研究課題名
皮膚細胞のトランスグルタミナーゼ2を標的とした新規アンチエイジング機構の探索

2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	山本久美子	生物産業学部 食香粧化学科・助教	代表

3. 研究期間

2023年6月7日～2024年3月31日（1年計画の1年目）

4. 研究の背景（当初）

皮膚の老化の約8割が紫外線が原因の光老化であることが近年明らかになっている。紫外線はシミやしわ、たるみ等の症状を引き起こすのみならず、重度の場合は皮膚がんになる可能性もある。そのため、美と健康を考える上で紫外線の皮膚影響を明らかにすることは重要な課題である。皮膚細胞に紫外線を始めとしたDNA損傷を伴う酸化ストレスを与えると、細胞内小器官であるミトコンドリアからの活性酸素種（ROS）産生が亢進し、このROSがDNAを損傷させることによって細胞老化が進行することが明らかになっている。一方で、ミトコンドリア代謝の過程で生じる有機酸がROSを消去することも示されていることから、紫外線照射後のミトコンドリア代謝を活性化することで老化の原因となるROSを抑制できる可能性があると考えられる。しかし、紫外線照射によって細胞内のタンパク質架橋酵素であるトランスグルタミナーゼ2（TG2）の発現が上昇し、このTG2の活性化がミトコンドリア代謝を低下させることも近年明らかになっている（Lee *et al.*, *Exp. Dermatol.*, 2021）が、光老化とTG2の関係については不明な点が多い。

5. 研究目的

本研究では紫外線による皮膚老化を抑制するための基礎研究として、紫外線照射後の細胞老化へのTG2の寄与や紫外線照射後のミトコンドリア代謝応答とTG2の関連性について明らかにすることを目的とした。そのために、紫外線により誘導した細胞老化に対するTG2阻害の影響について評価を行った。

6. 研究（実験）方法

細胞はヒト皮膚線維芽細胞由来 NB1RGB を用いた。細胞の培養には、10% fetal bovine serum (FBS)、1.8mM グルタミン、1% 抗生物質を含む α -MEM 培地 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) を用いた。細胞はウォータージャケット式インキュベーターにて 37℃、5% CO₂ 条件下で維持した。

NB1RGB の老化誘導には、UVB ランプ (GL8E, 8W, 波長 306nm, 三共電気株式会社, 東京) による紫外線 (UVB) 照射を行った。細胞を 35mm dish に播種し、24 時間培養した。その後、細胞に紫外線を 24 時間毎に計 4 回照射し、最後の照射から 24 時間後に細胞老化の指標として用いられる senescence-associated β -galactosidase (SA- β -gal) 活性の評価を行った。SA- β -gal 活性については Cellular Senescence Plate Assay Kit - SPiDER- β Gal (同仁化学研究所, 熊本) を用いて定量した。細胞を Lysis Buffer で 10 分間室温にて溶解し、SPiDER- β Gal working solution を添加して 37℃ にて 30 分間インキュベートした。Stop Solution を添加後、プレートリーダー (Varioskan, Thermo scientific, Waltham, MA, USA) を用いて励起波長 520nm、蛍光波長 560nm で測定した。蛍光強度については細胞数にて補正した。また、TG2 阻害剤である KCC009 の処理については、細胞播種から 24 時間後に 250 μ M KCC009 を含んだ α -MEM 培地に交換した。さらに 24 時間後に培養液を KCC009 不含の α -MEM 培地に交換後、2mJ/cm² の強度の UVB を 24 時間ごとに計 4 回照射し、最後の照射から 24 時間後に SA- β -gal 活性の評価を行った。また、ポジティブコントロールとして 150 μ M アスコルビン酸を KCC009 と同様に NB1RGB 細胞に添加し、SA- β -gal 活性の評価を行った。

細胞内 ROS 量の評価については、細胞内で ROS と反応することで蛍光を発する DCF-DA で細胞を染色することによって行った。NB1RGB 細胞を 6cm dish に播種し、24 時間培養した。その後、細胞に UVB を 2mJ/cm² の強度で 24 時間ごとに計 4 回照射した。最後の照射から 24 時間後に 10 μ M DCF-DA を含んだ α -MEM で 30 分間、37℃ でインキュベートした。その後、トリプシン処理によって細胞を回収し、PBS で 2 回洗浄した。PBS に細胞を再懸濁させ、フローサイトメーター (CytoFLEX, Beckman Coulter, 東京) を用いて解析した。励起波長は 488nm、蛍光波長は 525nm にて細胞 1 $\times$ 10⁴ 個当たりの DCF 蛍光強度の測定を行った。

7. 研究成果

初めに、細胞の老化誘導のための紫外線強度の条件について検討を行った。1~4mJ/cm² の強度の UVB を細胞に照射したところ、2mJ/cm² および 4mJ/cm² の強度で SA- β -gal 活性の上昇がみられたことから (図 1)、2mJ/cm² 以上の UVB 照射強度で細胞老化が誘導する可能性が示されたため、UVB 照射強度を 2mJ/cm² と決定した。

図 2 より、2mJ/cm² の UVB を細胞に照射することで UVB 非照射コントロールの約 2.8 倍 SA- β -gal 活性が上昇したが、TG2 阻害剤である KCC009 を細胞に処理し同様に老化誘導を行ったところ、KCC009 を処理していない細胞と比較すると SA- β -gal 活性の低下が見られた。この SA- β -gal 活性の低下はポジティブコントロールであるアスコルビン酸と同程度であった。また図 3 より、2mJ/cm² の UVB 照射で

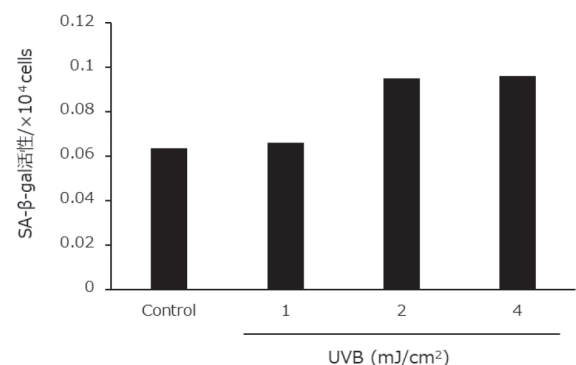


図 1. UVB を照射した際の NB1RGB 細胞の SA- β -gal 活性

NB1RGB 細胞に各強度の UVB を 24 時間毎に 4 回照射した際の SA- β -gal 活性を測定した。SA- β -gal 活性は 1 $\times$ 10⁴ 個当たりの細胞数で補正した。

細胞老化を誘導した際の細胞内 ROS 量は UVB 非照射細胞よりも約 2 倍上昇していた。上記の結果から、TG2 はアンチエイジングの標的になり得ることが示唆されたが、今後紫外線照射後の皮膚老化に対する TG2 阻害の影響について、細胞内 ROS 量や細胞からのコラーゲン産生量を始めとした検討を行う必要がある。

8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特になし

9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本研究において、TG2 阻害によって紫外線誘導細胞老化を抑制することが示されたが、本プロジェクトの研究期間内では当初の期待ほど研究を推進させることができなかった。原因としては、紫外線による細胞老化の誘導の検討に時間を要してしまった点にある。UVB の照射強度や照射回数、培養日数といった条件の決定が当初の予定よりも大幅に遅れてしまった。しかしながら、紫外線による細胞の老化誘導の条件が確立できたため、今後は紫外線照射後の TG2 阻害による皮膚老化に対する影響の解明について速やかに研究を進めていくことができると考える。そのために、まずは紫外線および TG2 を阻害した際の NB1RGB 細胞の TG2 発現をウェスタンブロット法にて確認する必要があると考える。さらに、老化の指標として今回は SA- β -gal の評価のみを行っているが、確実に細胞老化が誘導されていることを確認するためにも、細胞老化特異性マーカーである p16 の発現レベルについても評価を行う必要があると考える。

また、紫外線誘導老化細胞の TG2 を阻害した際の細胞から産生される炎症性サイトカインやコラーゲン量、皮膚の弾力に深く関わるコラーゲンを分解する酵素であるマトリックスメタロプロテアーゼ活性についても評価を行う。さらに、紫外線照射後の TG2 阻害による皮膚細胞のミトコンドリア代謝機能への影響についても本プロジェクト研究期間内では取り掛かることができなかったため、これについても同時に研究を進めていく予定である。

10. 公表した成果一覧

学術論文：特になし

学会発表：特になし

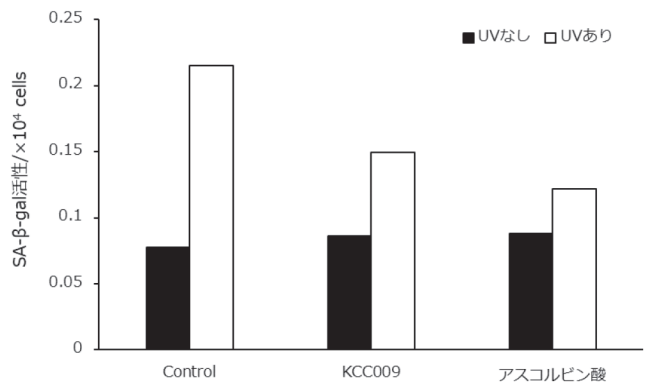


図 2. UVB および KCC009 を処理した際の NB1RGB 細胞の SA- β -gal 活性

NB1RGB 細胞に KCC009 (250 μ M) およびアスコルビン酸 (150 μ M) を 24 時間処理した後、2mJ/cm² の UVB を 24 時間毎に 4 回照射した際の SA- β -gal 活性を測定した。SA- β -gal 活性は 1×10^4 個当たりの細胞数で補正した。

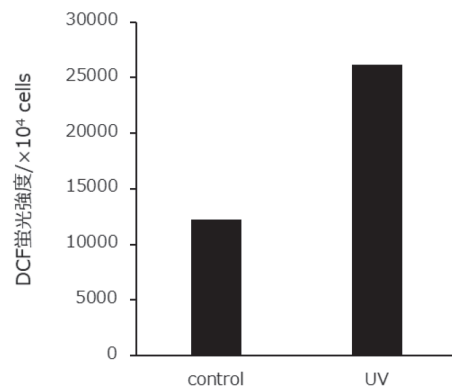


図 3. UVB 誘導老化した NB1RGB 細胞内の活性酸素種量

NB1RGB 細胞に 2mJ/cm² の UVB を 24 時間毎に 4 回照射した際の細胞内 ROS 量を DCF-DA で細胞を染色することによって測定した。 1×10^4 個当たりの細胞の蛍光強度を示した。

研究所記事

東京農業大学総合研究所研究会 令和5年度事業報告

(令和5年4月1日～令和6年3月31日)

1. 概要

1) フォーラム

令和5年度は、総研フォーラムを2回開催した。

2) 研究会事務

総合研究所事務部のうち、研究会担当者により業務を遂行した。

2. 会員数の状況

	R5.3.31 時点	入 会	退 会	R6.3.31 現在
顧 問	2			2
名誉会員	6			6
法人会員	175	3	12	166
個人会員	108	18	8	118
特別会員(A)：総研職員(客員を含む)	127	7	11	123
特別会員(B)：東京農大教職員	209	12		221
合 計	627	40	31	636

3. 諸会議の開催

1) 常任理事会

事業計画及び今後の事業方針等を検討した。

開 催 日：令和5年5月29日(月)

開催方法：オンライン

出 席 者：常任理事等12名

2) 理事会

開 催 日：令和5年7月3日(月)

開催方法：オンライン

3) 第42回 通常総会

開 催 日：令和5年7月3日(月)

開催方法：オンライン

4) 特別講演

開 催 日：令和5年7月3日(月)(第42回 通常総会時に実施)

開催方法：オンライン

講演 テーマ：「フードサプライのゲームとメカニズム」

講 師：水山 元氏 青山学院大学 教授

5) 部会企画の特別活動

令和5年度に部会の特別活動として実施された事業は以下のとおり。

・農薬部会

「第3回殺虫剤抵抗性対策シンポジウム」

4. フォーラムの開催

- アグリ・フードテクノロジー部会キックオフシンポジウム
～青果物の低温流通の進展と課題～

主 催：アグリ・フードテクノロジー部会

日 時：令和6年2月20日(火) 14時50分～18時

開催方法：オンライン

プログラム：

1. 開会宣言
2. 部会長挨拶・創設趣旨：高野克己（東京農業大学前学長・名誉教授）14:50-15:00
3. 講演（45-50分）、質疑（10-15分）
 - 1). 「カット野菜における微生物制御の課題」：15:00-16:00
東京農業大学食品安全研究センター長 五十君静信 教授
 - 2). 「カット野菜の製造と品質保証への取り組み」：16:00-17:00
株式会社サラダクラブ 商品部 次長 石塚光彦氏
 - 3). 「青果物のコールドチェーンと品質」：17:00-18:00
東京農業大学農学部農学科 馬場正 教授

4. 閉会宣言

- 日米のフードテックや食品安全研究の現状とこれからを語り合う

主 催：IFT (Institute of Food Technologists) ジャパンセクション

共 催：アグリ・フードテクノロジー部会

学校法人東京農業大学食品安全研究センター

日 時：令和6年4月24日（水）14時00分～17時45分

会 場：東京農業大学世田谷キャンパス 国際センター2F 榎本ホール

プログラム：

開会の挨拶：高野克己（東京農業大学総研研究会アグリ・フードテクノロジー部会部会長）

講演

1. 「価値と研究開発—IFTのトップマネジメントをお迎えして—」
久能昌朗（東京農業大学客員教授）
2. 「Industry-academia collaboration」 Christie Tarantino（IFT専務理事）
3. 「Food Tech and Food Safety Research in the US and Japan」 Sean Leighton（IFT会長）
4. 「工学的アプローチを活用したフードテックの国内動向」
小林 功（（国研）農業・食品産業技術総合研究機構 食品研究部門 上級研究員）
5. 「食品とメイラード反応—意義と安全性—」
村田常容（東京農業大学応用生物科学部農芸化学学科教授）

閉会の挨拶：五十君静信（学校法人東京農業大学食品安全研究センターセンター長）

5. 部会活動報告（36部会）

◆部会名：アグリ・フードテクノロジー部会

◇部会長：高野 克己 連絡幹事：野口 智弘

◇令和5（2023）年度活動報告

令和5年度講演会

（キックオフシンポジウム）

テーマ：青果物の低温流通の進展と課題

（趣旨）：コールドチェーン動向から約60年、日本のみならず世界的に低温流通は食品産業に必要な不可欠な技術となっている。創成期は肉、魚が主であった低温流通は近年青果物の流通に欠かせない技術となり、またカット野菜の流通量は大幅な増加を見る。消費拡大に伴う品質の問題も多く発生している状況である。今後更なる拡大が予想される青果物・カット野菜の低温流通の課題を整理し、その対応技術などを専門の講師の先生に紹介頂いた。

日時：令和6年2月20日（火）14:50-18:00

方式：Zoom ウェビナー

講演プログラム：

部会長挨拶・創設趣旨：高野克己（東京農業大学前学長・名誉教授）

講演（45-50分）、質疑応答（10-15分）：

- 1). 「カット野菜における微生物制御の課題」
東京農業大学食品安全研究センター長 五十君静信 教授
- 2). 「カット野菜の製品と品質保証への取り組み」
株式会社サラダクラブ商品部次長 石塚光彦氏
- 3). 「青果物のコールドチェーンと品質」
東京農業大学農学部農学科 馬場正 教授

会 費：無料（キックオフシンポジウムのため非会員も含め無料）

参加者：68名

◆部会名：アロマ・コスメ・フード連携部会

◇部会長：山崎 雅夫 連絡幹事：南 和広

◇令和5(2023)年度活動報告

○部会活動の打合せ 11月17日

アグリ・フードテクノロジー部会との協働模索

○部会立ち上げ報告 11月17日

東京農業大学OB組織の一つである「食香会」において立ち上げ報告
および資料配布を実施

○外部研究会との打ち合わせ

外部組織である「食香粧研究会」との協働を含めた模索

◆部会名：稲・コメ・ごはん部会

◇部会長：佐々木 卓治 連絡幹事：辻井 良政

◇令和5(2023)年度活動報告

1. 稲・コメ・ごはん部会第13回セミナー開催 2024年3月6日(水) 約80団体参加

～冷凍米飯食品の最前線～

米飯の冷凍保存は特異な技術であり、その歴史は欧米では肉類や野菜が先行していたが、東南アジアでは日本がリードしている。現在では、小売店から家庭用まで広く利用され、米飯の冷凍や解凍時の状態変化についての研究が進んでいる。その歴史はピラフや炒飯の時代から、今日の多様な冷凍米飯関連商品の展開に至る。特にIQF(個別速冷)冷凍米飯の普及は、日本酸素株式会社によるガス式凍結機の開発によって可能になり、喫茶店や一般家庭でも広まった。冷凍米飯の品質向上には凍結装置の進歩が大きく寄与しており、氷結晶形成や解凍後の特性変化についての研究も行われている。

①「米飯の冷凍保存の原理と応用(業務用とホームフリージング)」

鈴木 徹 (東京海洋大学 産学・地域連携推進機構 サラダサイエンス
(ケンコーマヨネーズ) 寄附講座 特任教授)

②「冷凍米飯の技術革新の歴史と今後の可能性」

山本 達也 (山本冷凍食品・技術士事務所)

③「冷凍米飯の氷結晶特性と産業用凍結システム」

河野 晋治 (株式会社前川製作所 技術研究所)

2. 食・農データサイエンス部会との共催シンポジウム

第3回公開シンポジウム(ウェビナー形式で、石川県金沢市より配信)

令和3年度と同じく、食・農データサイエンス部会と共催して開催した。

2024年1月25日(木)

「食品衛生学とデータサイエンス！」

1. Rプログラミング基礎を中心に図を描画

2. 加賀の食品(日本酒山廃仕込みなど)を中心としたデータサイエンス

3. 食品衛生学にデータサイエンスを活用できるか?

4. ベイズ統計入門

第3回公開シンポジウムには約70名に参加いただいた。第3回公開シンポジウムの録画は総合研究所研究会ウェブページにて公開した。稲・コメ・ごはん部会が実地でのデータ収集や試験を行い、食農データサイエンス部会が収集されたデータを解析し、洞察を得るといった役割分担が効果的である。このような連携により、研究成果や提案された解決策の実用化が促進を目指している。

◆部会名：榎本・横井研究部会

◇部会長：原 珠里 連絡幹事：浅野 康之

◇令和5(2023)年度活動報告

例年年間2回(夏季・春季)の研究会や講演会などを開催していたが、本研究会の会員は比較的高齢であり、新型コロナウイルス感染症の感染リスクが高いことなどを考慮し、令和5年度第51回研究会の開催は断念したため、活動はおこなっていない。

◆部会名：おいしさ研究部会

◇部会長：松本 信二 連絡幹事：阿久澤 さゆり

◇令和5(2023)年度活動報告

部会長(松本信二)および学内企画委員(阿久澤、岩槻、前橋(3名共に東京農業大学教員))を運営組織とし、学外アドバイザー(山野善正:一般社団法人おいしさの科学研究所理事長)と共同運営において開催する企画の相談を行うべく、企画会議を開いた。参加者の便宜を鑑み、東京農業大学世田谷キャンパス内国際センターでの講演会を下記の内容で開催することとした。

1. 企画の相談: 2023年度の活動について、4・5・1月にメール会議および電話連絡を中心に意見交換を行った。
2. 開催企画の内容
 - 1) セミナー「おいしさ知覚について改めて考える」
 - 2) 開催日時(6月30日金曜13時30分~17時00分)
 - 3) 場所: 東京農業大学 世田谷キャンパス内 国際センター
 - 4) 参加費: 会員・非会員ともに無料
 - 5) ①開会の挨拶 おいしさの科学研究所 理事長 山野 善正
②特別講演 『自然セラピーの科学—五感を介した生理的快適性評価』
千葉大学環境健康フィールド科学センター教授 宮崎良文 先生
③講演 『おいしさ知覚研究の最前線』
畿央大学教授 山本 隆 先生
④講演 『味と匂いのセンサーでおいしさを可視化する』
九州大学五感デバイス研究開発センター特命教授 都甲 潔 先生
⑤閉会の挨拶・おいしさ研究の動向
山野 善正 一般社団法人おいしさの科学研究所理事長
 - 6) 情報交換会
場所: 東京農業大学 世田谷キャンパス内 国際センター1階ラウンジ
会費: 3,000円
3. 参加者 講演会: 一般95名(運営委員4名含む)
情報交換会: 一般44名

◆部会名: 応用微生物部会

◇部会長: 鈴木 健一郎 連絡幹事: 細田 浩司

◇令和5(2023)年度活動報告

令和3年度末にはリモートではあるが初めてシンポジウム「微生物学の基盤」を部会主催で開催した。令和4年度は日本微生物資源学会(大熊盛也会長)が主催した微生物分類学に関するシンポジウムが当部会の部会長はじめ関係者が企画・実行に主体的に参加し、内容も部会の趣旨に沿うことから本部会も協賛として研究会で案内した。日本微生物資源学会は(公財)発酵研究所助成のシンポジウムを令和5年度も開催することになり、その企画が「微生物リソース整備とその利活用」という書籍の出版にあわせたものとなった。この書籍も部会関係者が複数執筆しており、その内容が当部会の趣旨に沿うことから、主催者の学会に部会の協賛としての参加をお願いし、会員に案内することができた。その実施概要とプログラムは以下の通りで実施形式は対面のみとなった。シンポジウムは参加登録制で、95人の登録があり、75人の参加があった。参加者名簿から、東京農業大学農業大学の所属とされていた参加者は15名、法人会員企業からの参加もあった。主催の日本微生物資源学会の非会員の参加が多く、農業大学農業大学研究部会の協賛は学会にとっても有益であったと考えられる。シンポジウムの実施内容と、その実績は以下の通り。

日本微生物資源学会 公益財団法人発酵研究所 学会・研究部会助成 公開シンポジウム
「微生物リソース整備とその利活用: 現状と今後の展望」

日時: 2024年3月12日(火)

開催場所: 東京国際フォーラム ホールD5

1. 「病原真菌リソースの特徴とその利活用」
矢口貴志(千葉大学真菌医学研究センター)
2. 「理研BRC-JCMにおけるアーキア・極限環境細菌リソースの整備」
加藤真悟(理化学研究所バイオリソース研究センター)
3. 「NBRCのコレクション業務-産業有用微生物の整備-」
木下 浩(製品評価技術基盤機構バイオテクノロジーセンター)
4. 「究極のモデル真核微生物「酵母」のリソースセンター: NBRP酵母」
杉山峰崇(広島工業大学)

5. 「公的微生物バンクを活用した免疫機能性乳酸菌の発掘と事業化」
藤原大介（キリンホールディングス株式会社）
6. 「日欧ヒト腸内常在菌叢最優勢 51 種の一斉培養システム」 栗原 新（近畿大学）
7. 「病原真菌と動物細胞の共培養による共培養特異的化合物の取得、
およびその産生メカニズム」 荒井 緑（慶應義塾大学）
8. 「微細藻類・シアノバクテリアを利用した CO2 からの直接物質生産」
蓮沼誠久（神戸大学）
（敬称略）

昨年度の計画の実施状況

1. 学科の先生方の意見の収集、主体的なシンポジウムの開催にはならなかったが、協賛シンポジウムがそれに変わることができたと考えている。
2. 3. について、情報交換は行ったが実施には至らなかった。継続して意見収集を進めたい。

◆部会名：環境緑化部会

◇部会長：栗野 隆 連絡幹事：田丸 敬三

◇令和 5（2023）年度 活動報告

1. 「リカレントスクール・造園・2023」の開催・運営（造園 CPD 認定プログラム）
※前年同様に、オンラインと対面での受講のハイブリッドでの開催
●メインテーマ：
「戦後 20 世紀をリードした「農大造園」出身の造園家（ランドスケープ・アーキテクト）」
開催場所：グリーンアカデミー・ホール 3F 大会議室
第 1 回 令和 5 年 9 月 26 日（火）18：30～20：00
◎企画の趣旨と戦後 20 世紀をめぐる造園家の全体像（プロローグ）
・東京農業大学 地域環境科学部 造園科学科 教授（平成 16 院農博卒）栗野 隆 氏
◎中島 健（昭和 12 年東京高等造園学校卒）—風情と無限感
・高崎設計室有限会社 代表取締役・石組師 高崎 康隆 氏
第 2 回：令和 5 年 10 月 24 日（火）18：30～20：00
◎荒木 芳邦（昭和 17 年東京高等造園学校卒）
—日本の造園界にモダニズムを実現させた作家
・有限会社ウッズプランニング 代表取締役（昭和 48 造園学科卒）武田 純 氏
第 3 回：令和 5 年 11 月 7 日（火）18：30～20：00
◎伊藤 邦衛（昭和 22 年専門部緑地課卒）
—石を生ける ～造園空間は美しくなければならぬ～
・有限会社 伊藤庭園工房 代表取締役（昭和 52 造園学科卒）加園 貢 氏
第 4 回：令和 5 年 12 月 19 日（火）18：30～20：00
◎中根 金作（昭和 18 年東京高等造園学校卒）—昭和の小堀遠州と謳われた名匠
・株式会社 中根庭園研究所 取締役副所長（平成 14 造園科学科卒）中根 行宏 氏
第 5 回：令和 6 年 1 月 23 日（火）18：30～20：00
◎井上 卓之（昭和 17 年東京高等造園学校卒）
—にわのこと 風景のこと 井上 卓之の軌跡
・追手門学院大学 地域創造学部 地域創造学科 教授
追手門学院大学 大学院 現代社会文化研究科 現代社会学専攻 教授 井上 典子 氏
※主催・共催：東京農業大学緑友会（全国）（主管：東京緑友会）
東京農業大学 地域環境科学部 造園科学科大学院 地域環境科学研究科 造園学専攻
東京農業大学 総合研究所研究会 環境緑化部会との共催
2. 「東京農大 緑のフォーラム 2023」の共催（造園 CPD 認定プログラム）
開催日：令和 5 年 5 月 27 日 13：30～（対面式参加のみ）
開催場所：百周年記念講堂（※主催：東京農業大学造園科学科・大学院造園学専攻）
●MLA Award 受賞者講演
◎「3 次元点群データを用いた定量指標の適用性と心理分析による景観の把握に関する研究」
（令和 5 造園学専攻修了）舘川 龍希 氏
●第 49 回造園大賞受賞者講演
◎「ライフスタイル提案まで包括するグリーンクリエイターとしての実績
—エクステリアから空間プロデュースまで—」

- ・(有)田主丸緑地建設 専務取締役(平成7造園学科卒) 小西 範揚 氏
- ◎「日本庭園の伝統技術と思想をふまえた作庭の実践と国内外への日本庭園文化の普及啓発」
- ・(株)植芳造園 代表取締役社長(平成6造園学科卒) 井上 勝裕 氏
- ◎「映像プロデュースを通じた地域の連携及び活性化・人材育成に貢献する一連の作品制作とその活動」
- ・(株)佐世保映像社 代表取締役(平成2造園学科卒) 志岐 誠 氏
- ◎「地域の風土や文化に着目した書籍・雑誌の編集およびプロデュースなどの一連の作品制作とモノづくり活動」
- ・フリーランスエディター(平成2造園学科卒) 石田(島崎) 美佐子 氏

◆部会名：きのこ研究部会

◇部会長：阿部 尚樹 連絡幹事：本間 裕人

◇令和5(2023)年度活動報告

★幹事会を実施し、運営に関する審議を行った。

部会長と連絡幹事間で複数回会合を開いて運営方針を審議した。

★12月9日に『きのこ研究部会 2023年度 シンポジウム』を対面(東京農業大学 世田谷キャンパス サイエンスポート 8F エアブリッジ)と Zoom 配信によるハイブリッド形式で開催し、約50名の方々にご参加頂いた。

シンポジウムテーマ

「きのこが織りなす多様な世界」

13:10~13:45 講演 日本きのこマイスター協会 理事長 JA 中野市元常務理事
前澤 憲雄 氏

「信州中野のきのこ産業・その発展史と日本きのこマイスター協会の活動」

13:45~14:20 講演 東京農業大学 森林総合科学科 客員教授 高畠 幸司
「沖縄県産アラゲキクラゲの特徴と選抜」

14:20~14:55 講演 東京農業大学 食品安全健康学科 教授 阿部 尚樹

「中国産食用茸ツイボタケ(*Thelephora vialis*)含有 vialinin 類による炎症性サイトカイン TNF- α 発現阻害メカニズムの解析」

15:20~15:50 講演 東京農業大学 分子生命化学科 教授 橋本 貴美子

「原因未解明のきのこ中毒」

15:50~16:20 講演 東京農業大学 醸造科学科 准教授 本間 裕人

「醸造用微生物としてのきのこ類の可能性」

16:45~18:15 情報交換会

★研究部会への問合せなどを介した海外テレビ局からの取材への対応

韓国 KBS テレビからの「きのこの抗炎症機能」に関するインタビュー取材に対応し、東京農業大学におけるきのこ研究について情報公開した。

◆部会名：グローバル情報研究部会

◇部会長：立岩 寿一 連絡幹事：武原 タイ 板垣 啓四郎

◇令和5(2023)年度活動報告

1) GIA 出版実行委員会

「グローバルに未来を思考する」の2/18/24時点での販売実績：824冊

*第2弾 GIA 本の発行を計画

2) GIA ホームページアップデート(テキスト・画像)参照：gia-nodai.com

10/08/23 バージニア工科大学 夏季日本留学プログラム 東京散策の巻 By 鎌塚俊徳

10/13/23 ガーナ北部における環境再生型農業の研究開発 By 板垣啓四郎

12/24/23 「GIA アルコー会 2023 冬 in 熊野古道」のご案内 By 長尾聡

01/20/24 GIA アルコー会 in 熊野 By 武原タイ

02/15/24 総合研究所研究会告知第8回 GIA コラボ農薬 x グローバル x スポーツ By 武原タイ

3) GIA コラボ開催

2/26/24@ 東京農業大学国際センター榎本ホール

第8回 GIA コラボ「農×グローバル×スポーツ」シンポジウム

グローバル人材の育成について一大谷翔平をケーススタディーとして

(パネラー) 鈴木清吾 元本学教育後援会会長 バラ栽培農家

山下 学 東京オリンピック フィールドホッケー代表キャプテン
樋越 勉 東都大学野球連盟理事長

(アクセルレーター) 武原タイ グローバル情報研究部会

4) 第12回 GIA アルコー会 in 熊野 ウェルビーイング実践

12/27/23～12/29/23

熊野三山(熊野本宮大社・熊野速玉大社・熊野那智大社) 那智の滝熊野古道

5) GIA リーダー会 読書会

05/28/23 本「運動脳」 アンデシュ・ハンセン サンマーク出版

09/15/23 本「野生の思考」 レヴィ・ストロース NHK 出版

10/28/23 本「老子×孫子」 老子、孫子 NHK 出版

◆部会名：昆虫バイテク部会

◇部会長：長島 孝行 連絡幹事：櫻井 健志

◇令和5(2023)年度活動報告

昨年度に引き続き、活動を見合わせていた。新しい時代に即した昆虫機能利用の部会(名称も変更する予定)に移行する予定で準備を進めている。

◆部会名：沙漠緑化研究部会

◇部会長：豊田 裕道 連絡幹事：鈴木 伸治

◇令和5(2023)年度活動報告

【幹事会】

メール会議にて行った。

【令和5年度活動報告会および令和6年度定時総会】

令和5年6月22日、東京農業大学世田谷キャンパスサイエンスポート 8F エアブリッジにおいて開催した。

<報告会>学生たちのジブチ共和国 ～SATREPSによる活動報告～

東京農業大学大学院 生命科学研究科 バイオサイエンス専攻

博士前期課程2年 駒形 遥

東京農業大学大学院 地域環境科学研究科 農業工学専攻

博士前期課程1年 倉光太一・柴田理佳

東京農業大学大学院 地域環境科学研究科 農業工学専攻

博士前期課程1年 岡元俊樹

東京農業大学大学院 地域環境科学研究科 農業工学専攻

博士前期課程2年 山本翔太

東京農業大学 国際食料情報学部 国際食農科学科

学部4年 亀田恭昌

【講演会】

(1) 地球環境戦略研究機関(IGES)の活動紹介

令和5年6月22日、東京農業大学世田谷キャンパスサイエンスポート 8F

エアブリッジ

公益財団法人 地球環境戦略研究機関(IGES)

戦略マネジメントオフィス 統括研究ディレクター/プリンシパルフェロー

米谷光司氏(元 在ジブチ日本国大使館・特命全権大使)

(2) 熱帯沙漠の国ジブチの環境・エネルギー・農牧業の研究最前線

令和5年12月9日、東京農業大学 世田谷キャンパス 国際センター2F

榎本ホール

日本沙漠学会沙漠工学分科会との共催

(対面とZoom オンライン配信でのハイブリッド開催)

<プログラム>

GETFLOWSを用いたジブチ全土の地下水流動系の把握

寄立 徹(オリエンタルコンサルタンツグローバル)

UAV 画像データを用いたジブチにおける土地被覆環境の把握

関山絢子(東京農業大学)

ジブチ農業における自然エネルギーを利用したポンピングシステムの変遷と提案

田島 淳（東京農業大学）
ジブチ農業における廃棄物利用の可能性
大山修一（京都大学）
乾燥地での土壌改良と温暖化対策への外来種の活用に関する検討
伊藤 豊（島根県立大学）
ジブチにおける降雨量への夜間光の反応
山本裕基（関西大学）

【地球規模課題対応国際科学技術協力プログラム（SATREPS）の諸活動の支援】

本研究部会のメンバーの多くが参加している、SATREPS プロジェクト「ジブチにおける広域緑化ポテンシャル評価に基づいた発展的・持続可能水資源管理技術確立に関する研究」について、研究部会として支援を行った（主に情報提供やカウンターパート研修生受入れ支援など）。
現地研究者とリモートで情報交換を行った。

【その他】

とくになし。

◆部会名：GIS 研究部会

◇部会長：鈴木 充夫 連絡幹事：畑中 勝守、下嶋 聖

◇令和 5（2023）年度 活動報告

1. 幹事会の開催

令和 5 年 5 月、7 月、10 月にオンライン&メールで開催した。

2. JA ぎふ 岐阜型次世代農業と人材育成ワークショップ研修

JA ぎふの目指す新しい農業の形『岐阜型次世代農業』（持続可能な食料生産と地域農業の確立）
がのワークショップを JA ぎふで開催した。

日時：2023 年 4 月 25 日、26 日

場所：JA ぎふ

参加者：東京農業大学（下嶋准教授、矢野、地主（合同会社流域共創研究所だんどり、鈴木（元東京農業大学）4 名）JA ぎふ（岩佐組合長、加藤部長他 40 名）、営農企画課、みどり戦略推進室、農業相談課、資材課、地消地産推進室、販売推進課、総計 40 名の職員を対象にワークショップを開催し、その成果をアクションカードにまとめ JA に提出した。

3. 東京農業大学・伊藤忠商事・パスコと連携した日本林業再生プロジェクトの実施

1) 森林台帳・レーザーデータが揃っている岐阜県市町村から岐阜県森林連合会協議して、対象地域を選定してもらった。

2) 県から提供されたデータを活用した樹種（ヒノキ、スギ）判読手法の開発と現地調査。

3) 県から提供されたデータを活用した施業エリア優先度マップの作成。

4) 施業エリア毎の収益性分析。

5) 判読した結果から地位の再確認を行う。

を研究内容とし、「課題名：衛星画像とレーザーデータを活用した新しい森林資源活用に関する学際的研究」として、森林総合科学科矢部和弘教授を研究代表者として文部省科学研究費 B に申請した。

研究協力者：東京農業大学 畑中勝守、島田沢彦、下嶋聖、GIS 研究部会 鈴木充夫、(株)パスコ 島村秀樹、望月寛一郎、横尾泰広、伊藤忠商事 頃安延幸

4. その他研修会

次世代農業サポート研究会では、現在、地方で農業に従事している専門的農に集ってもらい、「農業とは何か？—専業農家とのディスカッションから—」をテーマとして勉強会を開催した。

日時：2024 年 2 月 5 日（月） 14：00 から 16：30

場所：(株)カクイチ 東京本部

参加者：農家 3 名、(株)カクイチ 5 名、共同出版 2 名、GIS 研究部会鈴木充夫

成果は、ビデオとして編集した。

◆部会名：芝草部会

◇部会長：高橋 新平 連絡幹事：大橋 邦雄

◇令和 5（2023）年度 活動報告

・令和 5 年度 現地コース視察（東京農業大学グリーン研究会共同開催）参加者 24 名

日時：令和 5 年 6 月 6 日（火）8：30～

場所：伊香保カントリークラブ

内容：①東京農業グリーン研究会会員、総合研究所芝草部会員によるコース視察

②会員個人による視察所見・意見交換会（同クラブハウス内にて）

・令和5年度 特別研究会（現地開催）

（東京農業大学グリーン研究会合同開催）参加者 32 名

日時：令和5年6月6日（火）15：00～

場所：伊香保カントリークラブ

内容：①『芝生のネクロティックリングスポット病の対策』

講師 伊香保カントリークラブ代表取締役社長 原 直道氏

同専務理事 高橋 亨氏

◆部会名：就農者推進教育研究部会

◇部会長：平野 繁（農学科） 連絡幹事：小池 安比古（農学科）

◇令和5（2023）年度活動報告

以下のように、研究部会独自の活動と、農学部で開講している「農業インターンシップ（一）」と「農業インターンシップ（二）」に係る活動を実施する計画でしたが、新型コロナウイルスの影響で、計画していた活動の一部を、やむなく中止しました。

＜幹事会＞

随時、必要に応じて、メールなどのオンライン形式で実施しました。

＜農業応援ツアー・農業体験・農家実習の受入先実地調査＞

夏休みに、研究部会の教員による、現地調査を予定していたが、新型コロナ感染拡大によって中止しました。

＜第16回新規就農推進フォーラム＞

夏休みから、後学期にかけての、新型コロナ感染拡大により、開催を見合わせました。

＜農業応援ツアー・農業体験＞

①農業応援ツアー in 福島県北塩原村は、夏休みの新型コロナ感染拡大によって中止しました。

②農業体験 in 高知県も、夏休みの新型コロナ感染拡大によって中止しました。

＜農業インターンシップ（一）の実施＞

毎週木曜日 16:20～17:50 に 1103 教室で実施。15 回の講義の「学習内容」は、例年通り、日本農業の現状、および、夏休みの「農家実習」先決定の為の情報公開を中心としました。さらに、3 年ぶりに、夏休みの期間中に、農業インターンシップ（一）履修学生 68 名、ならびに、昨年度、一昨年度の農業インターンシップ（一）履修学生のうちの希望者 4 名に対し、「農家実習」を実施しました。うち、8 名の実習先は、夏休み直前からの新型コロナ感染拡大により受入中止となり、残りの 64 名は、22 カ所の実習先で実習を実施しました。

＜農業インターンシップ（二）の実施＞

毎週木曜日 16:20～17:50 に 1103 教室で実施。15 回の講義の「学習内容」は、夏休みの「農家実習」報告など、アクティブラーニングを主体としました。

なお、後学期定期試験後、農業関連産業の見学会として、農協関係で、「JA 全農 営農技術センター」と「JA あつぎ 夢未来市」、流通関係で「大田市場」、農業試験場関係で「神奈川県農業技術センター」、農業関連の民間企業として「北興化学工業(株)開発研究所」を予定していましたが、新型コロナ感染拡大防止の点から、受け入れ先と協議の結果、中止としました。

◆部会名：醸造食品部会

◇部会長：舘 博 連絡幹事：石川 森夫

◇令和5（2023）年度活動報告

1. 部会総会の開催

令和5年7月28日（金）第14回総会をオンラインにて開催、参加会員は29名であった。

2. 講演会の開催

令和5年度講演会を行った、開催概要は以下のとおり。

開催日：令和5年7月28日（金）14:15～

開催形式：東京農業大学国際センター榎本ホールでの対面

ZOOM によるハイブリッド開催

参加者：オンライン 16 名、対面 47 名、計 63 名

講演者：上北農産株式会社 常務取締役 研究開発・企画担当 花田 一雄氏

講演内容：「地場の農産物にこだわったものづくり」

講演者：日本の伝統的なこうじ菌を使った酒造り技術の保存会 事務局長（日本酒造組合中央会 理事） 宇都宮 仁 氏

講演内容：「日本の伝統的なこうじ菌を使った酒造り技術の保存会」とユネスコ無形文化遺産登録に向けた取組みについて」

3. 研修会（工場見学会）の開催

令和5年度 オンライン研修会（工場見学会）を開催した。

開催概要は以下のとおり。

①三和酒類株式会社（大分県宇佐市）：令和5年9月8日（金） 15:00～

開催形式：ZOOMでのオンライン見学会、参加者 51 名

②嘉美心酒造株式会社（岡山県浅口市）：令和5年12月8日（金） 15:00～

開催形式：ZOOMでのオンライン見学会、参加者 53 名

4. 幹事会の開催

幹事会を1回開催した。

1) 令和5年度第1回幹事会（第33回）令和5年7月28日（金）、13:30～

出席者：舘 博 部会長、穂坂 賢（学内）、茂木浩介（学外）、小島 賢（学外、オブザーバー参加）、塚田 孝（学外）、八木聖史（学外）、門倉利守（学内）、前橋健二（学内）石川森夫（連絡幹事） 以上9名

5. 情報交換会（親睦会）の開催

令和5年7月28日（金）講演会終了後、対面にて開催した。

6. その他

◆部会名：食育研究部会

◇部会長：中村 靖彦 連絡幹事：大西 章博

◇令和5（2023）年度 活動報告

下記の通り実施した。

食材の寺小屋 令和5年度活動報告

①4月11日（火）「海に眠る海藻資源を食卓に」

講 師：友廣裕一氏（合同会社シーベジタブル 共同代表）

会 場：東京農業大学「食と農」の博物館 2階 セミナールーム

②8月25日（金）「筋肉のこと、どのくらい知っていますか？」

講 師：荒井秀典氏（国立長寿医療研究センター 理事長）

会 場：東京農業大学「食と農」の博物館 2階 セミナールーム

③10月13日（金）「ツンとした刺激あるお話“倭からし”」

講 師：株式会社 美ノ久

会 場：東京農業大学「食と農」の博物館 2階 セミナールーム

④11月7日（火）

出前講座～ジビエをもっと身近に～『秋の高原で味わって知ろう、ジビエのこと』

講 師：藤木徳彦氏（オーベルジュ・エスポワール オーナーシェフ
日本ジビエ振興協会代表理事）

会 場：長野県蓼科中央高原 オーベルジュ・エスポワール

⑤12月5日（火）「有機給食で地域を元気に」

講 師：鶴 理恵子氏（専修大学人間科学部 専修大学大学院文学研究科 教授）

会 場：東京農業大学「食と農」の博物館 2階 セミナールーム

◆部会名：食と農の環境工学部会

◇部会長：中村 好男 連絡幹事：藤川 智紀

◇令和5（2023）年度 活動報告

1. 幹事会

・令和5年6月1日：令和5年度活動企画案の検討

・令和5年9月14日：研究会開催に関する当初計画の変更についての検討

・令和5年12月20日：東京農業大学・東京情報大学共同研究プロジェクトシンポジウムの共催に関する打ち合わせ

・令和6年2月21日：令和5年度活動の総括

2. 活動結果

(1) 事前情報収集

「みどりの食料システム戦略」に関する全国展開の状況について、令和5年9月11日に農林水産省農村振興局の担当者とメールで情報交換を行った。また、令和6年3月12日に開催された農林水産省主催の「第1回みどり技術ネットワーク全国会議」にオンライン参加し、全国の取り組み実態と効果に関する情報を収集した。

(2) 研究会開催

①当初計画

今年度の研究会のテーマとして、「みどりの食料システム戦略における環境工学の役割」を計画した。この戦略において環境工学がスマート農業の確立に向けてどのような役割を果たすことができるかについて研究会を開催して検討することとした。

②活動結果

東京農業大学・東京情報大学共同研究プロジェクト（総合研究所プロジェクト）シンポジウム「農業とロボット 50年後・100年後の未来」を本研究部会との共催として、令和5年12月25日に東京農業大学国際センターで開催することになった。シンポジウムは対面とオンラインとのハイブリット開催とし、企業、東京農業大学、東京情報大学、東京農業大学の学生、全国の高校の教員・高校生ら100名以上の参加を得た。シンポジウムのプログラムは以下の通りである。

[講演]

- ・「農業とロボット」／東京農業大学生産環境工学科教授 田島 淳
- ・「農研機構におけるロボット研究の取り組み：ロボットが活躍できる環境整備とスマート農業」／農研機構農村工学研究部門 農地基盤情報研究領域農地整備グループ 岩田 幸良
- ・「低コストの農地向けUGV（無人走行車両）開発を目指した技術研究」／東京情報大学・総合情報学部総合情報学科・情報システム学系・准教授 大見 嘉弘
- ・「UAV（ドローン）による作物認識と多様な人々の補助AI作成」／東京情報大学・総合情報学部総合情報学科・情報システム学系・教授 朴 鍾杰

[パネルディスカッション]

パネリスト

東京農業大学 地域環境科学部生産環境工学科 教授 田島 淳
東京情報大学 総合情報学部総合情報学科 情報システム学系 教授 朴鍾杰
東京情報大学 総合情報学部総合情報学科 情報システム学系 准教授 大見嘉弘
東京農業大学 地域環境科学部生産環境工学科 准教授 関山絢子
東京情報大学 総合情報学部総合情報学科 情報システム学系 教授 斎藤卓也
農研機構農村工学研究部門 農地基盤情報研究領域農地整備グループ 岩田幸良
合同会社めえもんけえ 吉田農園 代表 吉田忠弘（東京農業大学農学科卒業生）
コーディネーター

東京農業大学 地域環境科学部生産環境工学科 教授 鈴木伸治

本部会では、本学卒業生で農研機構農村工学研究部門の岩田幸良氏に講演を依頼した。講演内容は、ロボットが活躍できる環境整備とスマート農業の可能性について最新の研究成果を報告いただき、今後のみどりの食料システム戦略に貢献できることが示された。

◆部会名：食の安全と安心部会

◇部会長：五十君 静信 連絡幹事：美谷島 克宏、田村 倫子、煙山 紀子

◇令和5（2023）年度 活動報告

(1) 第6回シンポジウムの開催

開催日時：2023年12月1日（金）13時から

開催方式：YouTubeによるオンライン開催、FSRCとの共催

参加費：無料（事前登録必須）

概要：新開発食品の安全性をどのように考えるか

食の安全と安心部会では、年に一度食の安全に関するシンポジウムを開催している。2023年度は第6回シンポジウムを、2022年4月より発足した学校法人東京農業大学食品安全健康センター（FSRC）との共催で開催した。シンポジウムでは、従来の食経験という考え方では判断できない、細胞性食品などといった新開発食品の安全性をどのようにとらえていくべきかについて、4名の講演者を招き、最新の情報を講演いただくとともに議論をおこなった。

シンポジウム URL を以下に示す。

<https://www.nodai.ac.jp/fsrc/news/5-6/>

一般参加登録者 555 名、同時視聴者数 最大 295、平均 206

学生

農芸化学科 160 名、栄養科学科 240 名、食品安全健康学科 350 名

計 約 1300 名が参加した。

【会議】

(1) 部会運営会議

6 回開催し、令和 5 年度の活動方針と第 6 回シンポジウムの開催とその内容を総括した。

4 月 15 日 … 本年度の活動方針の確認

6 月 7 日 … シンポジウム開催を検討

7 月 18 日 … シンポジウム開催方法とプログラムの検討

8 月 31 日 … シンポジウム開催方法と演者の検討

9 月 21 日 … シンポジウム開催方法と広報の検討

11 月 6 日 … シンポジウム開催方法の実際の確認、
シンポジウム開催最終確認、事前準備

【その他】

(1) 部会会員の獲得

部会の会員増を図るための母体の検討および呼びかけを積極的に行なった。

◆部会名：食・農データサイエンス部会

◇部会長：金谷 重彦 連絡幹事：辻井 良政、瀧川 義澄

◇令和 5（2023）年度 活動報告

1. 食・農データサイエンス勉強会（ウェビナー配信で実施）

部会単独の活動として、実データを用いた食・農データサイエンス勉強会を実施した。

第 1 回 2023 年 7 月 26 日 テーマ「R プログラミング基礎」

第 2 回 2023 年 9 月 13 日 テーマ「線形、非線形視覚化」

第 3 回 2023 年 11 月 30 日 テーマ「ベイズ統計モデリングによる室内精度推定」

勉強会には延べ 120 名程度に参加いただいた。

2. 第 3 回公開シンポジウム（ウェビナー形式で、石川県金沢市より配信）

令和 4 年度と同じく、稲・コメ・ごはん部会と共催して開催した。連携することにより、食・農分野におけるデータサイエンスのすそ野を広げることを目指した。今年は米から製造される日本酒をテーマに取り入れた。

開催日：2024 年 1 月 25 日

プログラム

「食品衛生学とデータサイエンス！」

1. R プログラミング基礎を中心に図を描画

2. 加賀の食品（日本酒山廃仕込みなど）を中心としたデータサイエンス

3. 食品衛生学にデータサイエンスを活用できるか？

4. ベイズ統計入門

第 3 回公開シンポジウムには約 70 名に参加いただいた。

3. ニュースレター『DSCFA Letter』（2023 年 6、9、12 月、2024 年 3 月）を発行

4. 食・農データサイエンスの認知向上活動による会員増強活動

日本食品化学学会第 29 回総会・学術大会（6 月、富山）でデータサイエンスのポスター発表を行った。多くの学会参加者より、ポスター発表内容について質問があり、認知度向上が行えた。研究会会員増に貢献した。

5. 部会状況

新たに企画幹事 1 名が加わった。

部会長 1 名、副部会長 1 名、幹事（企画担当）7 名、連絡幹事 2 名

会員 57 名（うち特別会員 5 名、個人会員 23 名、法人会員 12 機関（28 名））

※ 2024 年 3 月現在

◆部会名：植物工場研究部会

◇部会長：山中 宏夫 連絡幹事：小野瀬 純一

◇令和 5（2023）年度 活動報告

- ・植物工場（温室型、閉鎖型）、アグリビジネス最新動向などを会員向けに情報提供。（書籍、資料購入）
- ・植物工場見学会実施（東京都中央区銀座 銀座伊東屋 Farm）
 - 第 1 回 11 月 8 日 5 名
 - 第 2 回 11 月 22 日 5 名
 - 第 3 回 12 月 5 日 7 名
 - 個別対応 11 月 8 日 5 名
 - 1 月 24 日 3 名

◆部会名：森林文化研究部会

◇部会長：佐藤 孝吉 連絡幹事：吉野 聡

◇令和 5（2023）年度 活動報告

1. 総会の開催

対面で実施せずメールでの報告と確認を行った。（2023 年 1 月）

2. 活動計画

1) 森林文化に関連する資料作成および学会報告を行った。

東京農業大学中木山分収林について取りまとめ、関東森林学会（山梨県）で発表した。中木山分収林は、森林総合科学科（前林学科）の世田谷移転時に実習で活用されてきた林分であり、2022 年に伐採し国有林へと返還となった。

報告した題目は、「佐藤孝吉（2023.11.2）大学の分収林経営に関する一考察－東京農業大学中木山分収林を事例にして－」である。

2) 第 135 回日本森林学会（2024 年 3 月 8 日～11 日 於東京農業大学）等に関連づけて活動を行った。

公開シンポジウムの実施

2024 年 3 月 9 日（土）東京農業大学世田谷キャンパス百周年記念講堂で、「楽しい林業、元気のける林業」をテーマとして実施した。司会是新井一司氏（東京都農林総合研究センター）、基調講演は佐藤宣子氏（九州大学）、講演者：西野文貴氏（株式会社グリーンエルム）、飯塚潤子氏（株式会社東京チェンソーズ）、田口房国氏（株式会社山共）、コメント：内山総太郎氏（有限会社内山林業）で、パネルディスカッションを佐藤孝吉（東京農業大学）のコーディネートで行った。主催は一般社団法人日本森林学会、共催は公益社団法人国土緑化推進機構、公益社団法人大日本山林会、後援東京農業大学であった。研究会では、今まで作成してきた東京農業大学校内のリーフレットを増版して配布し、講演者・協力者への手土産を用意した。

◆部会名：生物的防除部会

◇部会長：河津 圭 連絡幹事：足達 太郎

◇令和 5（2023）年度 活動報告

I 広報事業

①講演会の開催：農業病虫害の生物的防除等に関する講演会をハイブリッド形式で 3 回開催

第 1 回（2023/6/20）

演題 1

「スクミリングガイによる被害の早期鎮静化にむけた新技術開発の取り組み」

柴 卓也氏（農研機構 植物防疫研究部門 作物病虫害防除研究領域病虫害防除支援技術グループ）

演題 2

「スクミリングガイ被害抑制に向けた水田管理技術の再考～ジャンボタニシは IPM で解決する～」

清水 健氏（千葉県農林水産部担い手支援課専門普及指導室 上席普及指導員病虫害防除支援技術グループ）

演題 3

「感染症媒介蚊のベクターとしての「死」と昆虫寄生菌の経口感染」

相内大吾氏（帯広畜産大学 グローバルアグロメディシン研究センター）

第 2 回（2023/11/16）

演題 1

「ハダニピークを作らないイチゴ栽培を目指して“JA 全農イチゴハダニゼロプロジェクト”」

中島哲男氏（全国農業協同組合連合会 耕種資材部農薬課）

演題 2

「果樹類における IPM、天敵農薬普及状況と課題」

田中栄嗣氏（アリスライフサイエンス株式会社 マーケティング部）

演題 3

「「振動」を IPM 技術の一つとするために～宮城県における振動防除技術の実用化に向けた取り組み～」

大江高穂氏（宮城県農業・園芸総合研究所 園芸環境部虫害チーム）

第 3 回（2024/2/13）

演題 1

「自然界における生物間相互作用に関わる生理活性物資の探索と応用利用に向けた研究」

和佐野直也氏（九州大学大学院農学研究院）

演題 2

「熊本県における露地・施設カンキツ類の天敵を活用した害虫防除の取り組み－防除体系構築に向けた課題」

杉浦直幸氏（熊本県農業研究センター 生産環境研究所）

演題 3「福島県におけるハダニ類の防除」

中村傑氏（福島県農業総合センター果樹研究所）

②生物的防除部会ニュース発行

79 号、80 号、81 号 PDF を送付、または HP 上で公開

希望者には印刷物を郵送（約 20 件）

③ ホームページの管理運営：ニュースレターのバックナンバーをホームページに掲載

http://www.ipm-bio.jp/bukai_news.html

II 情報収集および交流事業 学会・研究会へ参加して情報収集および交流

III 会議

①通常幹事会：web にて実施（6/6、10/31、2/5）

講演会の演者選定、HP 検討、会則の改定など

② 総会：web 検討、承認（7/14 回答締切）

1）2022 年度事業報告および会計報告、監査報告

2）2023 年度事業計画案および予算案

◆部会名：生命科学研究部会

◇部会長：角谷 直人 連絡幹事：太治 輝昭

◇令和 5（2023）年度 活動報告

・幹事会開催：年 1 回

第 1 回幹事会

日時：2023 年 12 月 1 日（金）

・講演会開催

講演内容：オオムギの遺伝子情報に基づくコムギ穂発芽耐性の標的改変

講師：岡山大学資源植物科学研究所 佐藤和弘 博士

日時：2023 年 12 月 20 日（水）16：30～18：00

場所：東京農業大学世田谷キャンパス 1 号館 632 教室

参加者：世田谷キャンパスでの通常開催で 40 名が参加した。

今回講演をお願いした佐藤先生は長年に渡ってオオムギの育種に関する研究に取り組んでおり、研究実績により 2022 年度には日本農学賞を、また 2023 年 11 月には紫綬褒章を受賞されました。今回の講演ではゲノム編集を使つてのコムギ穂発芽性の改変についての最先端の研究を紹介していただきました。

大変分かりやすい講演でしたので講演後とその後の情報交換会では学生からの質問が相次ぎました。

◆部会名：大学所有遺伝資源保全・利用研究部会

◇部会長：豊原 秀和 連絡幹事：入江 憲治、菊野 日出彦

◇令和 5（2023）年度 活動報告

1. 幹事会開催：

12 月 8 日にメール上にて幹事会を行った。

2. 講演会開催

講演内容：『遺伝資源を学び考える－ケニアにおける農業生物多様性による健康と栄養改善－』
はじめに 『新たな栄養評価法の導入による栄養改善促進事業概要』

講師：森元 泰行（Alliance Bioversity-CIAT）

I. 『半乾燥地域キツイ・カウンティでの栄養改善活動』

講師：広瀬 水流（2021-1 JICA ボランティア、国際農業開発学科卒）

II. 『ケニア共和国ビヒガ・カウンティにおけるホームガーデンの農業多様性とその要因』

講師：伏見 和子（2021-2 JICA ボランティア、国際農業開発学専攻博士前期2年）

III. 『ケニア農村における母子の食生活改善』

講師：木住野 円華（2022-9 JICA ボランティア、食品栄養学専攻博士後期課程3年）

日 時：令和5年12月21日（木）午後4時20分～午後6時00分

会 場：東京農業大学世田谷キャンパス 441 教室

参加者：25 名

3. 大学所有遺伝資源保全・利用活動

宮古亜熱帯農場と連携・協力してタロイモ遺伝資源 200 点およびヤマイモ遺伝資源 100 点の保存に取り組んでいる。

◆部会名：地域再生研究部会

◇部会長：宮林 茂幸 連絡幹事：町田 怜子、浅井 颯太

◇令和5（2023）年度活動報告

1. 令和5（2021）年度 活動報告

2023年6月24日に、平塚市ゆるぎ地区の里地里山で第40回ワークショップをコロナ禍以降3年ぶりに開催した。平塚ゆるぎの里山は、地域再生研究部会の活動フィールドの一つであり、自治会連合会（民）、東京農業大学（学）、平塚市（官）、中央日本土地建物（株）（産）の間で四者協定を締結し、里山の保全管理を行っている。第40回ワークショップ開催の挨拶では、河野太郎内閣府特命担当大臣（デジタル改革）、中央日本土地建物宮崎氏、東京農業大学からは町田が挨拶を行った。ワークショップでは、平塚の里山散策グループと散策路整備グループに分かれて里山の活動を実施した。ワークショップには60名以上の市民、東京農業大学、東海大学の学生が参加し、平塚ゆるぎの里山の魅力を楽しんだ。

また、2024年2月27日には、平塚ゆるぎの里地里山が、環境省「自然共生サイト」に認定された。「自然共生サイト」とは、2030年までに陸と海の30%以上を健全な生態系として保全する世界共通の目標「30by30（サーティ・バイ・サーティ）」の達成に向けて、環境省が2023年度から正式運用を開始した制度である。生物多様性の保全に貢献する区域を「自然共生サイト」と認定し、認定を受けた区域は OECM（Other Effective area-based Conservation Measures：自然保護区など以外の生物多様性保全に貢献している場所）として国際データベースに登録される仕組みとなっている。平塚ゆるぎの里山は2010年より東京農業大学、東海大学、（株）中央日本土地建物、（株）オオバ、市民との連携より里山を活用した地域づくりを推進してきた。長年の活動成果が評価され自然共生サイトの認定に至ったことは、企業と大学、民間との協働による自然と共生する社会の構築に向けた意義が非常に高い。

2. 分科会開催

2023年5月29日、2024年2月21日に平塚ゆるぎ地域再生研究部会の分科会を開催した。

3. フォーラムの開催

2024年3月2日に、自然と共生する持続可能な里山再生を実現するため、行政、民間、市民、大学と共に里山管理のあり方について議論を深めることを目的にした「自然共生サイトと里山」のフォーラムを東京農業大学エアブリッジで開催した（対面開催）。

開会の挨拶とフォーラムの主旨説明を東京農業大学総合研究所地域再生研究部会長 東京農業大学名誉教授 宮林茂幸氏より行われた。

続いて、環境省自然環境局自然環境計画課長 則久 雅司氏より「ネイチャーポジティブと自然共生サイトの取り組み」の紹介がされた。

九州大学 アジア・オセアニア研究教育機構准教授 田中俊徳氏より「自然共生サイト：歴史的意義と未来の展望」と題して基調講演が行われた。

続けて、（株）西武リアルティソリューションズ 大島孝夫氏より自然共生サイトの先進事例として西武の森の事例報告が行われた。さらに、自然共生サイトとモニタリング手法の技術面からの話題提供として、株式会社地域環境計画 彦坂洋信氏より、平塚ゆるぎ里地里山を事例にした紹介がされ

た。パネルディスカッションでは、東海大学観光学部教授 田中伸彦氏がコーディネーターで、則久氏、田徳氏、大島氏、彦坂氏が登壇し、自然共生サイトにおける里山管理、その管理の効果・実効性の議論を深めた。宮林部会長からは、自然共生サイトへのインセンティブの視座も示された。本シンポジウムは、対面開催の中 90 名以上の民間企業、地方自治体、NPO、東京農業大学演習林等の関係者や東京農業大学学生が参加し、大盛況の内に挙行できた。

◆部会名：地域連携推進研究部会

◇部会長：水庭 千鶴子 連絡幹事：秋山 聡子

◇令和 5（2023）年度 活動報告

昨年度のシンポジウムでの活動報告の内容を踏まえて、それぞれの地域連携について、継続および連携の検討を図った。また新規の連携を検討し、現地の地域課題解決の検討と連携に関する打ち合わせ等を行った。

◆部会名：農業・関連企業のイノベーション部会

◇部会長：堀田 和彦 連絡幹事：及川 智正

◇令和 5（2023）年度 活動報告

1. オンラインセミナー「未来へのことだま」を開催

目的：東京農業大学卒業もしくは農業界で活躍している経営者に登壇して頂き、最先端の農業技術及び農業経営等を学生とともに学ぶ。

共催：東京農業大学学生団体：農大愛好会

1) 第 1 回オンラインセミナー「未来へのことだま」

日 時：令和 5 年 5 月 22 日 16:30～18:00

講演者：前田 茂雄氏 前田農産食品株式会社 代表取締役社長

演 題：北海道を農で生きる

参加者：130 名（学生 40 名）

2) 第 2 回オンラインセミナー「未来へのことだま」

日 時：令和 5 年 8 月 14 日 16:00～18:00

講演者：宮川 将人氏 有限会社 宮川洋蘭 代表取締役社長

演 題：返事はイエスかハイ

参加者：77 名（学生 17 名）

3) 第 3 回オンラインセミナー「未来へのことだま」

日 時：令和 5 年 11 月 13 日 16:30～18:00

講演者：矢野 太一郎氏 株式会社日本政策金融公庫 上級農業経営アドバイザー

演 題：金融機関職員からみた農業経営

参加者：53 名（学生 12 名）

4) 第 4 回オンラインセミナー「未来へのことだま」

日 時：令和 5 年 2 月 19 日 16:30～18:00

講演者：浅井 雄一郎氏 株式会社浅井農園 代表取締役 CEO

演 題：現場を科学する農業カンパニー

参加者：121 名（学生 15 名）

2. 異業種研修交流会

1) 東京神奈川異業種研修交流会

日 時：令和 5 年 9 月 13 日～15 日

研修先：座間洋ランセンター、サカタのタネ、服部牧場を視察

参加者：31 名（学生 4 名）

◆部会名：農業協同組合研究会

◇部会長：白石正彦 連絡幹事：佐藤和憲

◇令和 5（2023）年度 活動報告

1. 幹事会・シンポ実行委員会：2023 年 5 月、6 月、10 月に開催した。

2-1. 第 16 回農協に関するシンポジウムの開催：2023 年 11 月 10 日（金）13:00～17:00 まで東京農業大学世田谷キャンパス 1 号館 5 階 542 教室 + zoom によるハイブリット方式で、「気候変動・食料システム激変の危機抑止とチャンスを開く「農業経営と農協」の両輪における“人財育成”・“事業革新”の好循環メカニズム」をテーマに、総合研究所研究会農業協同組合研

究部会の主催で開催した。

第1報告：気候変動・食料システム激変の危機管理とチャンスを開く「農業経営と農協」にける両輪の“人財育成”・“事業革新”の好循環の創造—食料・農業・農村基本法の検証・見直し論議をふまえて—

報告者：白石正彦（本学名誉教授、総合研究所研究会農業協同組合研究部会長、元・日本協同組合学会会長）・野口敬夫（本学准教授、産学官・地域連携センター副センター長）・菊地哲夫（本学前教授、総合研究所研究会農業協同組合研究部会幹事）・高梨子文恵（本学准教授、日本協同組合学会理事）・望月洋孝（本学准教授、実践総合農学会学術委員）・犬田剛（本学助教、前・日本政策金融公庫 農業事業本部勤務）

第2報告：群馬県 JA 邑楽館林におけるやる気ある農家支援事業活動における人と職場の革新

報告者：阿部裕幸（群馬県 JA 邑楽館林代表理事組合長）

第3報告：みどりの食料システム戦略における熊本県 JA 菊池の提案と挑戦

報告者：三角修（熊本県 JA 菊池代表理事組合長）

コメント：3つの報告に対して、①食料・農業・農村基本法の検証・見直し論議について谷口信和氏（東京大学名誉教授）が課題解決の方向を、②「農業経営と農協」における両輪の“人財育成”・“事業革新”の好循環について西井賢吾氏（日本協同組合連携機構 JCA 主任研究員）が課題解決の方向を、③農地の土壌診断で浮かび上がった農地のメタボ状態からの脱却を各作目の栽培視角から後藤逸男氏（全国土の会会長・東京農業大学名誉教授）が、課題解決の方向を明らかにした。

さらに、全体討論と交流会を開催した。

2-2. 日本農業労災学会・東京農業大学総合研究所研究会農業協同組合研究部会など3研究部会の主催で

- (1) 2023 年度（第3回）農業労災ワークショップ（主題：『海外に学ぶ農作業事故防止・労災補償対策—アイルランドなど欧州と韓国の取り組みを中心に—』）を2023年6月1日（木）13:00～16:00にZoomによるオンラインで開催し、農業協同組合研究部会会長の白石は企画・座長担当した。
- (2) 10周年記念シンポジウム（統一テーマ：『新たな農業労災学の展望と農作業事故の根絶を目指して』）を2023年10月20日（金）13:00～16:45に東京農業大学世田谷キャンパス横井講堂+Zoomによるオンライン方式で開催し、農業協同組合研究部会会長の白石はシンポジウム企画・座長アドバイザー等を担当した。

◆部会名：農業生産工程管理（GAP）研究部会

◇部会長：入江 憲治 連絡幹事：齋藤 修平

◇令和5（2023）年度活動報告

1. 幹事会開催

第一回幹事会 05月08日

第二回幹事会 08月21日

第三回幹事会 12月04日

2. 講演会開催

講演会タイトル：「GAP 認証に関わる仕事の色々」

日時：令和5年12月04日（月）16:20～17:50

会場：東京農業大学厚木キャンパス 1304 教室

目的：先進国では近年、食品事故（偽装、異物混入、生物学的あるいは化学的汚染）を未然に防ぐために食品加工業では HACCP 認証導入の義務化が進んでいる。一方で、原材料を生産する農業においても欧米を中心に GAP 認証の導入が進んできているが、我が国ではまだその普及が進んでいない。そこで今回セミナーでは GAP 認証に関わる仕事を理解し、コンサルタントや審査員の立場から見た GAP について学ぶことを目的とする。

2-1. 講演内容

（講演1）

講演者：山田 篤史：テュフズードジャパン株式会社 マネジメントサービス GlobalG.A.P. 審査員
演題：「審査員から見た GAP と審査員という仕事」

（講演2）

講演者：井上 淳広：ファームアライアンス株式会社 コンサルティング事業部

演題：「コンサルタントから見た GAP とコンサルタントという仕事」

主催：東京農業大学総合研究所研究会 農業生産工程管理（GAP）研究部会

参加者：16 名（学生 15 名（うちリモート 1 名）、教員 1 名（主催者を除く）

3. 勉強会の開催

適宜 GAP の勉強会を実施した。

◆部会名：農村計画研究部会

◇部会長：宮林 茂幸 連絡幹事：入江 彰昭、栗田 和弥

◇令和 5（2023）年度 活動報告

- ・現地シンポジウムを予定していたが、予定が合わず開催できなかった。
- ・群馬県川場村富士山地区および中野地区、高知県津野町、福島県鮫川村、茨城県阿見町での農村集落との交流活動を通じて、集落景観の再生に取り組んだ。

◆部会名：農薬部会

◇部会長：本山 直樹 連絡幹事：薮田 五郎

◇令和 5（2023）年度 活動報告

(1) 会員数：法人会員 22 社 個人会員 3 名

(2) 会議

総会：令和 5 年 5 月 19 日（金）参加者 65 名

特別講演『みどりの食料システム戦略の内容と課題～植物防疫の立場から～』

講演者：早川 泰弘氏（一般社団法人日本植物防疫協会理事長）

幹事会：第 146 回（令和 5 年 5 月 19 日）ハイブリッド開催

第 147 回（令和 5 年 7 月 21 日）ハイブリッド開催

第 148 回（令和 5 年 8 月 18 日）ハイブリッド開催

第 149 回（令和 5 年 9 月 15 日）ハイブリッド開催

第 150 回（令和 5 年 11 月 17 日）ハイブリッド開催

第 151 回（令和 6 年 3 月 29 日）ハイブリッド開催

新年顔合わせの会：令和 6 年 1 月 19 日 参加者 23 名

特別講演：『カイコガの性フェロモン受容体の発見—昆虫の嗅覚受容体—』

講演者：西岡 孝明氏（京都大学名誉教授）

部会セミナー：

第 127 回セミナー（令和 5 年 7 月 21 日）参加者 56 名

新規殺虫剤プロフラニリド（テネベナール®）の開発経緯

直井 敦子氏（三井化学クロップ&ライフソリューション(株)研究開発本部殺虫剤チーム）

ドローンによるきめ細やかな薬剤散布に係るガイドラインについて

野口 淳氏（一般財団法人、日本緑化センター）

臨時部会セミナー（令和 5 年 8 月 18 日）参加者 69 名

ASEAN-Pesticides Management Harmonization (PMH)

Dr. Vasant L. Patil (Consultant USDA FAS & CropLife Asia Singapore)

有機農業推進に便乗した反農薬/非農薬を謳った疑義資料の昔と今

本山 直樹氏（千葉大学名誉教授/東京農業大学総合研究所研究会農薬部会長）

第 128 回セミナー（令和 5 年 9 月 15 日）参加者 70 名

畑作除草剤アクシーブ®（ピロキサスルフォン）の開発経緯と国際普及の現状

中谷 昌央氏（土）クミアイ化学工業(株)研究開発本部）

宇宙園芸の現状と展望

高橋 秀幸氏（千葉大学大学院園芸学研究院宇宙園芸研究センター長・特任教授）

第 129 回セミナー（令和 5 年 11 月 17 日）参加者 30 名

誘引剤を用いた害虫防除—フェロモン SL®を中心に

望月 文昭氏（千葉大学非常勤講師/元信越化学工業(株)）

千葉県農業における環境負荷低減に係る取り組みについて

吉村 直美氏（千葉県農林水産部安全農業推進課環境農業推進室）

第 130 回セミナー（令和 6 年 3 月 29 日）

芳香族アミノ酸に由来する植物二次代謝研究

須恵 雅之氏（東京農業大学応用生物科学部教授）

農薬学会の現状と展望
松田 一彦氏（農薬学会会長、近畿大学農学部教授）
シンポジウム：「第3回殺虫剤抵抗性対策シンポジウム」（令和5年12月22日）
農林害虫防除研究会と共催

◆部会名：バイオビジネス部会

◇部会長：大久保 研治 連絡幹事：鈴木 充夫

◇令和5（2023）年度活動報告

1. 地域食農ビジネスとの連携プロジェクト

（国際食農科学科食農・文化政策研究室と共同実施）

会津坂下町の食や農に関する地場産業との連携プロジェクトとして、会津坂下町の食農資源を活用した新商品を開発するための調査、研究を下記の通り実施した。

①ブレンド米開発：猪俣徳一商店との共同開発。

・パナソニックより炊飯機の貸し出し、Panasonic Cooking @Lab 炊飯部による協力体制など支援を受けた。

・ブレンド米第3弾は開発を継続中

②非常食開発：猪俣徳一商店と共同開発と無印良品でのプロモーション活動

・2022年度に開発した世田谷の地場野菜「大蔵大根」と福島県会津産コシヒカリを使用した非常食を商品化し、猪俣徳一商店で販売を開始した。

・関連イベントを無印良品砵店・経堂店（世田谷区）および郡山桑野店（福島県郡山市）で実施した。

③リキュールの開発：五ノ井酒店、大和川酒造との共同開発。

・2022年に開発した日本酒と福島県産果樹の果汁を使用したリキュール「かじかじ」が発売された。

④福島復興イベントへの参加

・2023年8月18日（金）～20日（日）に、竹原肉店、五ノ井酒店と共同で、2022年第4回下町上野ふるさと盆踊り大会 with『発見！ふくしま夏まつり』に出店し、馬肉焼きと会津の日本酒を販売した。（8月18日は前夜祭）

◆部会名：バイオマス・資源・エネルギー研究部会

◇部会長：大西 章博 連絡幹事：中村 貴彦

◇令和5（2023）年度活動報告

下記の通り実施した。

NITE（独立行政法人製品評価技術基盤機構）と東京農業大学がバイオテクノロジー分野の連携に関する協定に基づく共同研究の中間報告会を2023年3月22日に実施した。

（連携協定：<https://www.nite.go.jp/nbrc/information/release/20190110.html>）

報告会の内容は第3回国際発酵・醸造食品産業展（2024年7月30から8月1日：東京ビッグサイト）にて公開させて頂く。（<https://hakkoexpo.jp/>）

◆部会名：人と生物圏研究部会

◇部会長：濱野 周泰 連絡幹事：中村 貴彦

◇令和5（2023）年度活動報告

幹事会：令和6年2月、部会活動について（リモート）

令和6年3月、新入会員「杉丸勝郎氏」の確認（リモート）

打合せ：令和6年3月、現地視察の運営について

観察会：以下の現地視察は感染症・部会長の都合（怪我治療）の影響で実施することができなかった。

1. 都市のグリーンインフラ視察

○北青山再開発緑地（ののあおやま）

2. 樹木の種・資源保存地視察

○多摩森林科学園

◆部会名：みどりの環境創造研究部会

◇部会長：中村 幸人 連絡幹事：鈴木 伸一

◇令和5（2023）年度活動報告

本研究部会は、「みどりの環境デザイン」を基礎理念において、在来植物の有効利用による自然再生とその管理方法の研究・普及を目的としている。本研究会員も多く所属する（一社）日本植木協会との連携による「植生アドバイザー育成講座」開催のほか、環境省・農林水産省共管「人材認定等事業」における「植生管理士」の資格認定事業や補助講座として「植生管理士スキルアップセミナー」を実施している。

令和5年度は新型コロナウイルス COVID-19の影響から脱し、本格的な活動再開の一年となった。カリキュラム改編も実施した。「植生アドバイザー育成講座」は事前ビデオ学習、フィールド研修、オンライン講座を取り入れ、参加申込者に多面的な学びを提供し、知識の定着を図った。

人と自然の共生に向けて「みどり」を再生する人材をより多く育成輩出することが当部会の使命である。昨今、植生管理業務に興味を持つ方々が増えてきていることから、今後活動に一層の厚みを加えていきたい。

令和5（2023）年度の主な活動状況

【セミナー】「植生調査士」スキルアップセミナー

開催日：令和5年6月28日～29日

場 所：新潟県（日本海側中越地方）の自然植生と土地利用を観察・調査する研修会
燕市国上山ブナ林、新潟市佐潟の水生植物、日本海海岸砂丘植物の観察・調査

参加者：27名

【セミナー】「植生アドバイザー」育成講座

開催日：令和5年8月31日～9月2日（2泊3日）、

場 所：「世田谷区民健康村」群馬県川場村、フィールド研修

事前ビデオ学習：令和5年8月1日～8月30日

オンライン講座：令和5年9月9日

参加者：46名

【認定試験】

開催日：令和5年10月14日

テーマ：「植生管理士」認定試験・筆記

場 所：（一社）日本植木協会 会議室

【認定試験】中止

開催日：令和5年11月11日

テーマ：「植生管理士」認定試験・実技

場 所：「横浜自然観察の森」横浜市栄区上郷町

【幹事会】

第1回：令和5年2月22日

第2回：令和5年5月31日

第3回：令和5年8月4日

テーマ：「植生アドバイザー」育成講座、「植生管理士認定試験」、「植生管理士スキルアップセミナー」の実施計画、カリキュラム検討等について

方 法：ミーティングソフト ZOOM を使用したオンライン会議

参加者：13名

◆部会名：労災対策研究部会

◇部会長：北田 紀久雄 連絡幹事：半杭 真一

◇令和5（2023）年度活動報告

＜シンポジウムの開催＞

日本農業労災学会、労災対策研究部会、就農者推進教育研究部会、農業協同組合研究部会の共催により、以下のシンポジウムをハイブリッドで開催した。

このシンポジウムは、労災対策研究部会と日本農業労災学会が主に企画・運営を担当し、問題意識を一部共有する就農者推進教育研究部会、農業協同組合研究部会にご協力していただき、開催したものである。

テーマ：「新たな農業労災学の展望と農作業事故の根絶を目指して」

日 時：2023年10月20日（金）13：00～16：40

会 場：ハイブリッド開催（東京農業大学世田谷キャンパス横井講堂・Zoomによるオンライン）

第Ⅰ部 記念講演

座 長：北田紀久雄（元東京農業大学教授）

第1講演「農業労災学の新たなパラダイムと方法論開発の方向」

門間敏幸（東京農業大学名誉教授）

第2講演「利用者にやさしい農業機械開発の現状と今後」

田島 淳（東京農業大学教授）

第3講演「農業者の命を守る法制度・労災補償の課題と今後の展開方向」

中村雅和（いのしし社会保険労務士事務所所長）

第4講演「JA グループの農業労災の安全対策と労災補償対策の取り組みの実態・課題と今後の展開方向」宮永 均（JA はだの代表理事組合長）

第Ⅱ部 パネルディスカッション

テーマ：「農作業事故の根絶を目指して－自助・共助・公助の連携を創る」

座 長：半杭真一（東京農業大学准教授）、緒方大造（日本農業新聞論説委員）

白石正彦（アドバイザー、東京農業大学名誉教授）

パネリスト：高橋良行（㈱グリーンファーム代表取締役（福島県）、日本農業法人協会副会長）、石澤 哲（全国農業協同組合中央会 営農・担い手支援部営農企画課考査役）、土佐竜一（農林水産省農産局技術普及課生産資材対策室長）、夏川周介（佐久総合病院名誉院長）、鈴木泰子（社会保険労務士法人リライアンス代表）、稲垣勇一（クボタ農作業安全検討会 社内連絡会議事務局・農機国内サービス事業推進部担当部長）

<農業労災ワークショップの開催>

日本農業労災学会が主催した以下の第3回農業労災ワークショップを後援して開催した。

テーマ：「海外に学ぶ農作業事故防止・労災補償対策－アイルランドなど欧州と韓国の取り組みを中心に－」

日 時：2023 年 6 月 1 日（木）13:00～16:00

方 法：オンライン開催

座 長：緒方大造（日本農業新聞論説委員）、白石正彦（東京農業大学名誉教授）

基調報告：田島 淳（東京農業大学教授）、山田 優（日本農業新聞特別編集委員）、金 京蘭・崔 棟弼（韓国農村振興庁農業者安全推進団）

コメント：氏田由可（ILO 東・東南アジア太平洋ディーセント・ワーク技術支援チーム労働安全衛生上級専門官）、宮永 均（JA はだの代表理事組合長）、門間敏幸（東京農業大学名誉教授）

質疑応答・意見交換

東京農業大学総合研究所紀要 第 35 号

令和 7 年 1 月 31 日 印刷

令和 7 年 1 月 31 日 発行

発行人 矢嶋 俊介

発行所 東京農業大学総合研究所
〒156-8502 東京都世田谷区桜丘1-1-1