

永井 竜児<sup>1</sup>、安田 伸<sup>1</sup>、小野 政輝<sup>1</sup>、米田 一成<sup>1</sup>、木下 英樹<sup>1</sup>、山口 浩<sup>2</sup>

1) 農学部バイオサイエンス学科、2) 九州教養教育センター

## 緒言

近年、我が国において糖尿病や動脈硬化、高血圧、脂質異常症に代表される生活習慣病の罹患患者が急増しており、それに伴う医療費の増加が緊急な社会問題となっている。生活習慣病は発症後に開始される投薬治療では完治が困難なことから、日常的に摂取可能な機能性食品が発症や病態進行の予防に有効な手段の一つになると考えられる。そこで、これまで食用として利用してきた農産物に生活習慣病予防の機能性を見いだせれば、新たな価値を付加できると期待される。本学農学部においても、様々な食品素材について再評価を行っている。しかし、多くの素材の中からヒトにおいて高い効果を有する機能性成分を効率的に見出すためには、素材の選抜や生産から臨床試験までを一貫して行うシステムが必要であった。そこで本プロジェクトでは、生活習慣病に関連する生命現象の解明および、その予防を目指した機能性食品素材の探索を行う目的で、各研究者が個別に行っていた試験を系統的にまとめ、有効性を試験管実験のみならず動物及びヒトによる試験で効果の実証を行う体制を検討している (Fig. 1)。

今年度は食用として用いられてきた植物を中心に機能性を有する化合物の探索を行った。また、腸内細菌叢の改善をターゲットとした機能性が注目されている乳酸菌についても、高い機能性を有する系統の選抜および機能性メカニズムの解明を行った。さらに、多くの生活習慣病において起きるミトコンドリア機能異常を反映して増加する2SCの生体内における影響を明らかにするためモデルペプチドの合成を行った。

### ①機能性食品、②生活習慣病、③天然物、④酵素、⑤地域連携

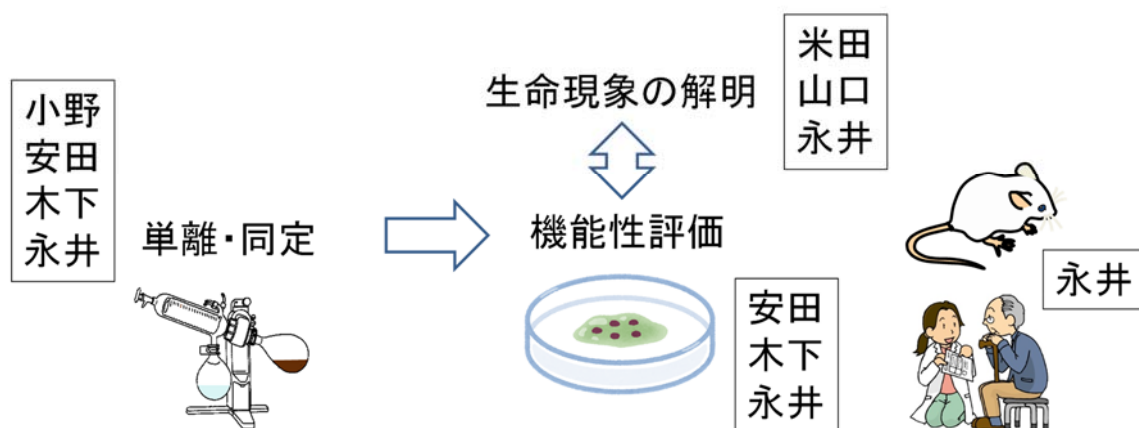


Fig. 1. プロジェクトにおける役割分担

## 1. 植物抽出物における機能性化合物の探索

植物抽出物を対象に、生活習慣病等の予防や改善に利用できる化合物の探索を行った。今回は、糖尿病等において生体中で増加することが明らかとなっている糖化反応の後期生成物である Advanced Glycation End-products (AGEs) をターゲットとし、AGEs 構造である N<sup>ω</sup>-(carboxymethyl)arginine (CMA) および N<sup>ε</sup>-(carboxymethyl)lysine (CML) を抑制する化合物を探索した (Fig. 2)。複数の植物より抽出された化合物においてスクリーニングを行った結果、一部の化合物において高い CMA および CML 抑制作用が認められた (Fig. 3)。これらの化合物は構造に共通の骨格を有していたことから、AGEs 生成抑制作用に特定の構造が関与している可能性が示された。今後、動物実験等の生体を用いた検証を進めることにより、実際にヒトにおいて利用可能な AGEs 生成抑制に有効な食材が明らかになると考えられる。

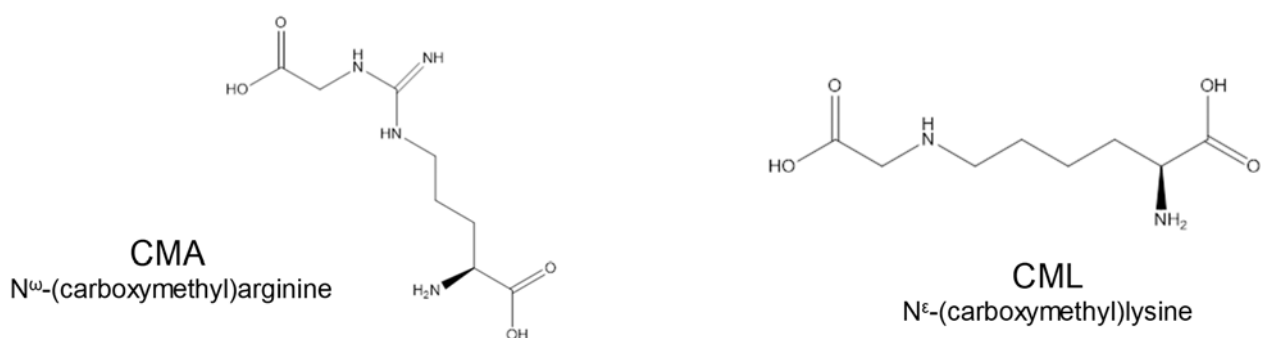


Fig. 2. スクリーニングに用いた AGEs 構造

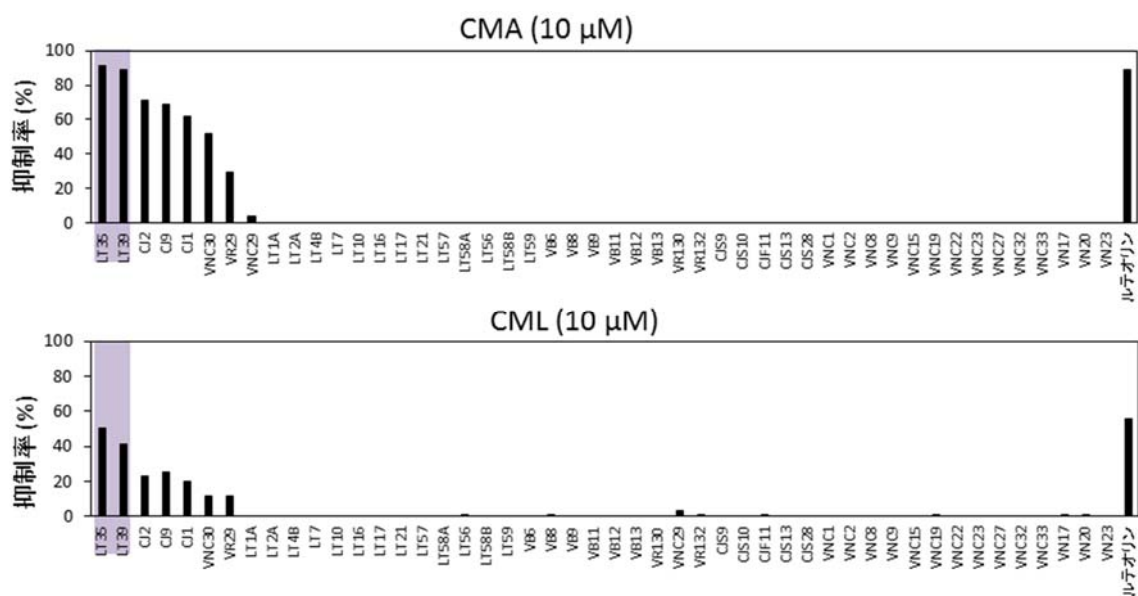


Fig. 3. 植物由来化合物における CMA および CML の抑制率



次に、HL-60 ヒト白血病細胞に及ぼすルコウアサガオ種子の樹脂配糖体画分の細胞傷害活性を調べた。抗腫瘍活性成分の探索に汎用される HL-60 ヒト白血病細胞を、試験サンプルまたは抗癌剤のマイトマイシン C とともに 24 時間培養し、CCK-8 キットを用いて未処理時の生細胞数に対する相対生細胞数を算出した。その結果、ルコウアサガオ種子の樹脂配糖体画分の 50%阻害濃度 IC<sub>50</sub> 値には 25.0 μg/ml が得られた (Fig. 6)。このときポジティブコントロールとして用いた抗癌剤 Mitomycin C では 5.36 μg/ml の IC<sub>50</sub> 値が得られた。ルコウアサガオ種子から得られた 7 種の新規樹脂配糖体と 4 種の既知樹脂配糖体のうち、活性試験に供するのに十分な収量が得られた 7 サンプルについて、HL-60 細胞に対する毒性試験を実施した。その結果、これらの中で multifidin III, multifidin IV および operculin XIII にヒト白血病細胞株 HL60 に対する抗癌剤よりも強い細胞毒性を見出した (Fig. 7)。HL60 に対する強い細胞毒性を認めた Multifidin III, multifidin IV および operculin XIII の IC<sub>50</sub> は 3.46, 14.7 および 10.9 μM であった。これらの結果は、大環状ラクトン構造が、活性発現に関与している可能性を示唆した。

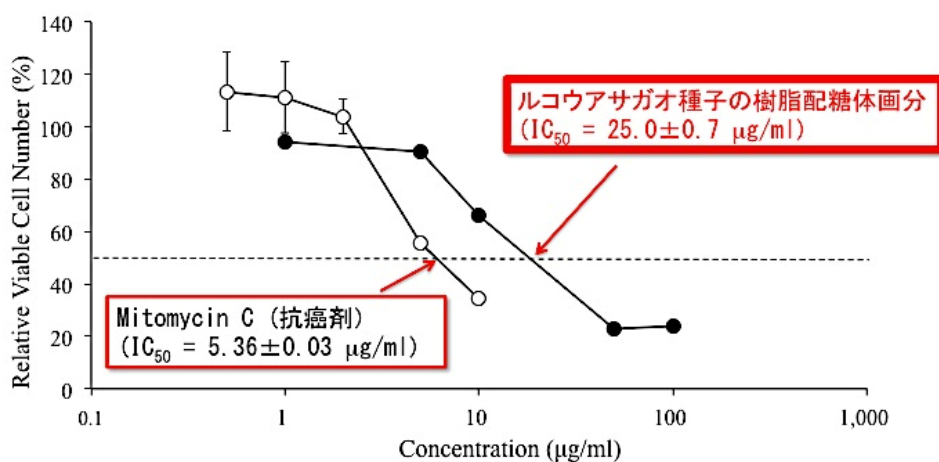


Fig. 6. HL-60 ヒト白血病細胞に及ぼすルコウアサガオ種子の樹脂配糖体画分の細胞傷害活性. 細胞は試験試料とともに 24 時間培養し、CCK-8 キットを用いて未処理時の生細胞数に対する相対生細胞数を算出。

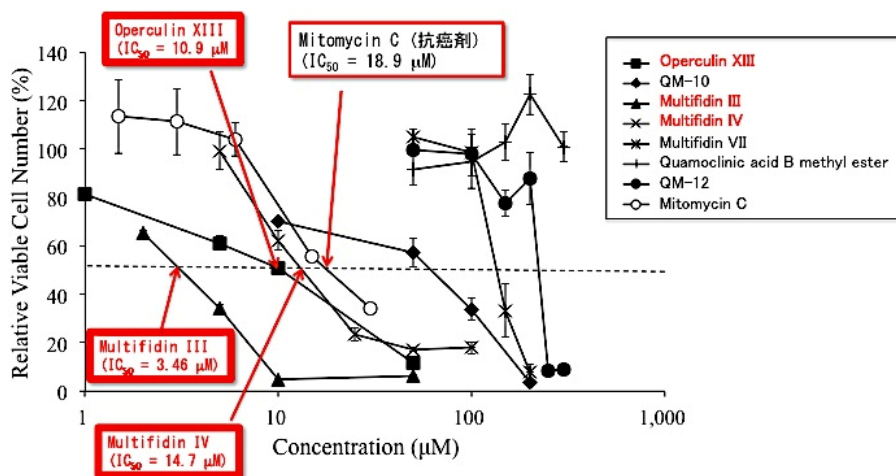


Fig. 7. HL-60 ヒト白血病細胞に及ぼすルコウアサガオ種子の樹脂配糖体の細胞傷害活性. 細胞は試験試料とともに 24 時間培養し、CCK-8 キットを用いて未処理時の生細胞数に対する相対生細胞数を算出。

なお、上述のサツマイモ塊根およびルコウアサガオ種子由来の新規樹脂配糖体に関する研究の成果については、論文にて報告している。

### 3. 豆乳ヨーグルト（抗酸化能に関する研究）

豆乳中には、大豆サポニン、イソフラボン、ポリアミン、ビタミン E などの抗酸化物質を多く含む大変優れた食品である。一方、乳酸菌も抗酸化作用のほか、整腸作用、免疫賦活化作用、血清コレステロール低下作用、血圧低下作用など、様々な機能性が知られている。昨年度までの研究で乳酸菌で豆乳を発酵させた豆乳ヨーグルトについて抗酸化能を評価し、発酵により抗酸化能が向上する乳酸菌を発見した。また、特に高い抗酸化を示した 4 菌株 (*Leuconostoc mesenteroides* MYU 60, *Lactobacillus plantarum* MYU 74, *Lactobacillus reuteri* MYU 220 および *Pediococcus pentosaceus* MYU 759) を選抜した。本年度は過酸化水素による HCT116 細胞の DNA 損傷抑制効果をコメットアッセイにて評価すると共に、機能分子の探索として菌体外多糖 (EPS) に着目して抗酸化試験を行った。

Fig. 8 にはコメットアッセイの結果を示した。全ての選抜菌は未発酵のコントロール豆乳よりも低いコメット値 (DNA 損傷のスコア : Fig. 8a 参照) を示した。具体的にはコントロールが 110 だったのに対し、*Leu. mesenteroides* MYU 60 で 63、*Lb. plantarum* MYU 74 で 67、*Lb. reuteri* MYU 220 で 78、*P. pentosaceus* MYU 759 で 60 であった。詳細なスコアは Table 1 に示した。特に *P. pentosaceus* MYU 759 は、レベル 4 の DNA 損傷スコアが 4 つと選抜菌の中で最も低い値であった。そのため、本菌株を選抜し、抗酸化物質の特定を試みた。

乳酸菌の抗酸化物質として EPS が知られている。そのため、*P. pentosaceus* MYU 759 から EPS の精製を試みた。EPS を抽出後、陰イオン交換クロマトグラフィーに供したところ、本菌株は中性 EPS (nEPS) と酸性多糖を (aEPS) の二種類の EPS を産生することが分かった。それぞれをゲルろ過クロマトグラフィーに供し、簡易的に分子量を推定したところ nEPS は約 100,000、aEPS は約 20,000 であることが分かった。また、1L の培養物に対して 623 mg の nEPS を、355 mg の aEPS を得た。

Fig. 9 には精製 EPSs を用いて ORAC および HORAC 法による抗酸化試験の結果を示した。その結果、ORAC および HORAC 法で aEPS において高い活性を明らかにしたが、nEPS についてはほとんどまたは全く活性が観察されなかった。これらのことから、*P. pentosaceus* MYU 759 により作製された豆乳ヨーグルトの抗酸化の一部には aEPS が寄与していることが示唆された。

Table 1. Breakdown of scores in the comet assay

Comet score	Control	MYU60	MYU74	MYU220	MYU759
0	0	0	0	0	0
1	6	16	11	10	15
2	30	24	16	26	26
3	42	15	24	30	15
4	32	8	16	12	4
Total	110	63	67	78	60

A total of 50 cells were counted per slide and scored according to their damage condition

(comet score, see Fig. 1a).

Numbers indicate the cumulative value of the score for each comet score.

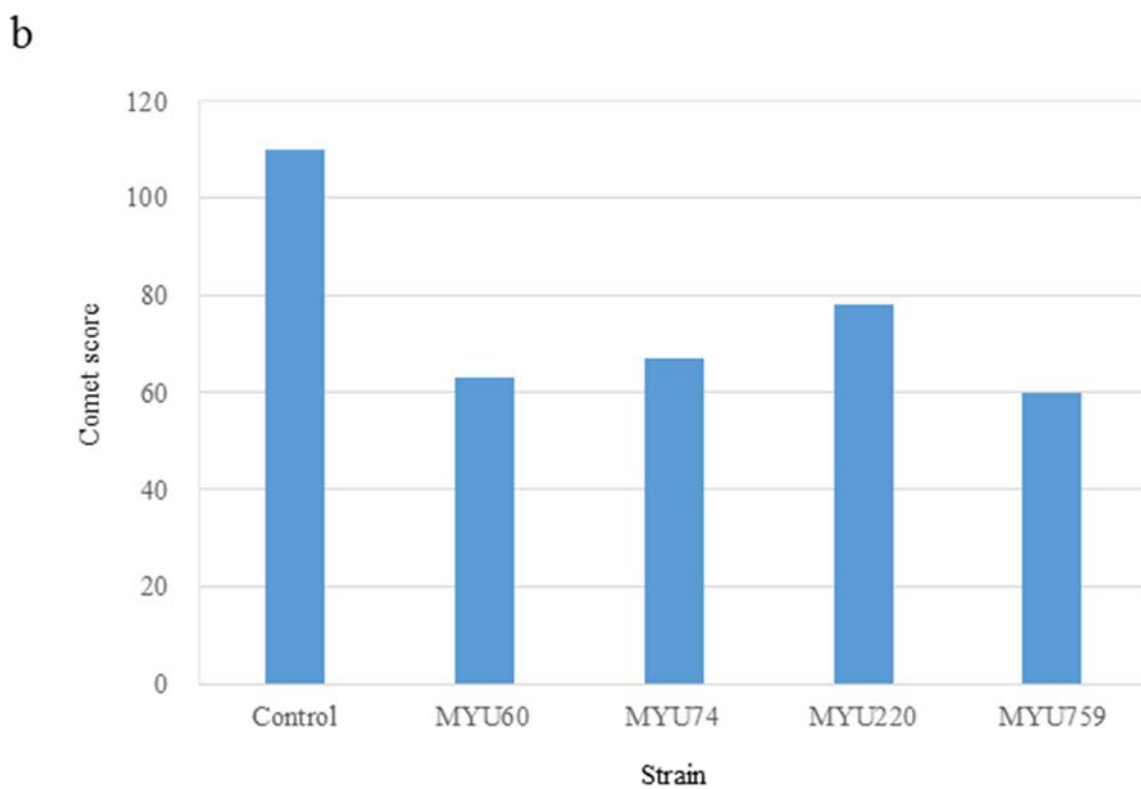
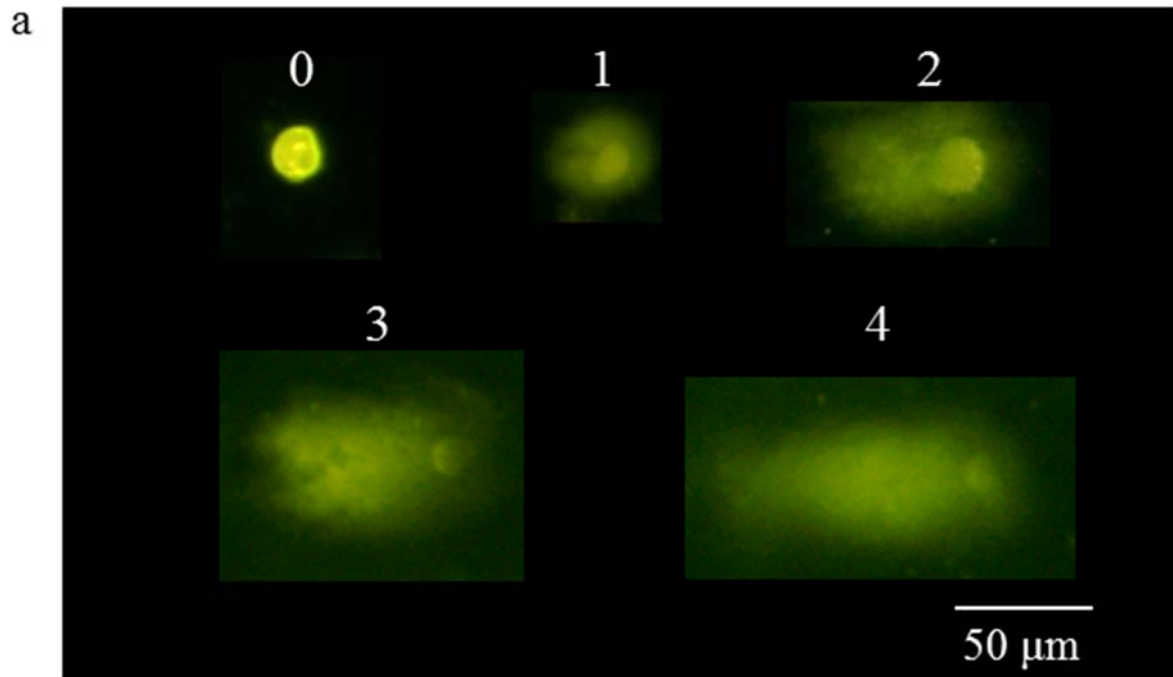


Fig. 8. DNA-protective effects of supernatants of soy yogurt by comet assay. Criteria for scoring comet assay results (a) and sum of the scores for each sample (n = 50) (b)

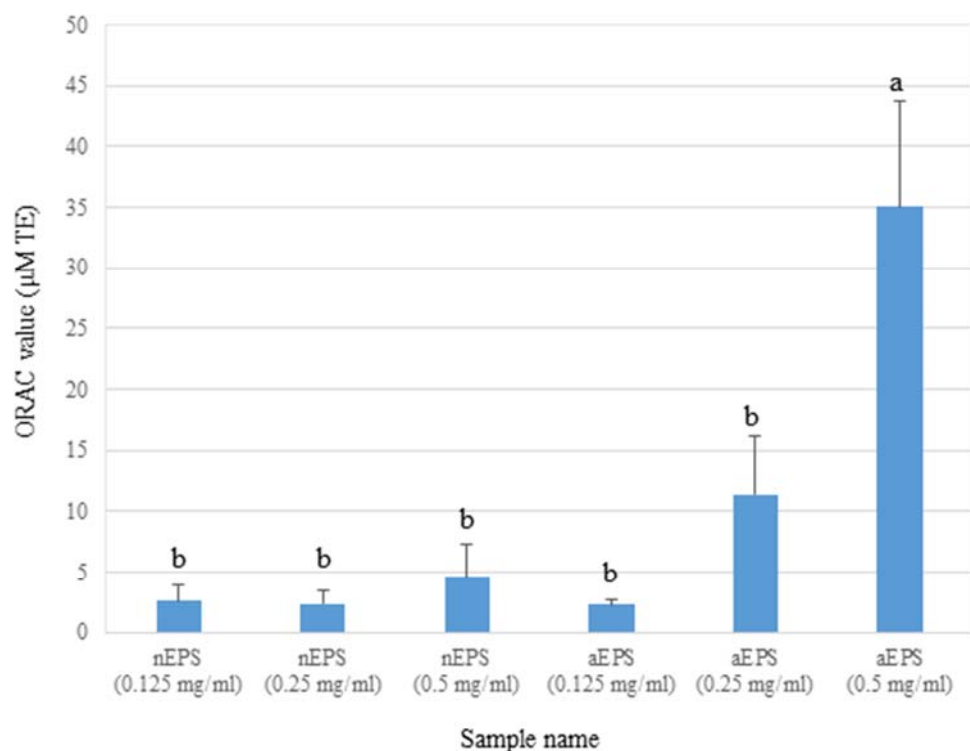
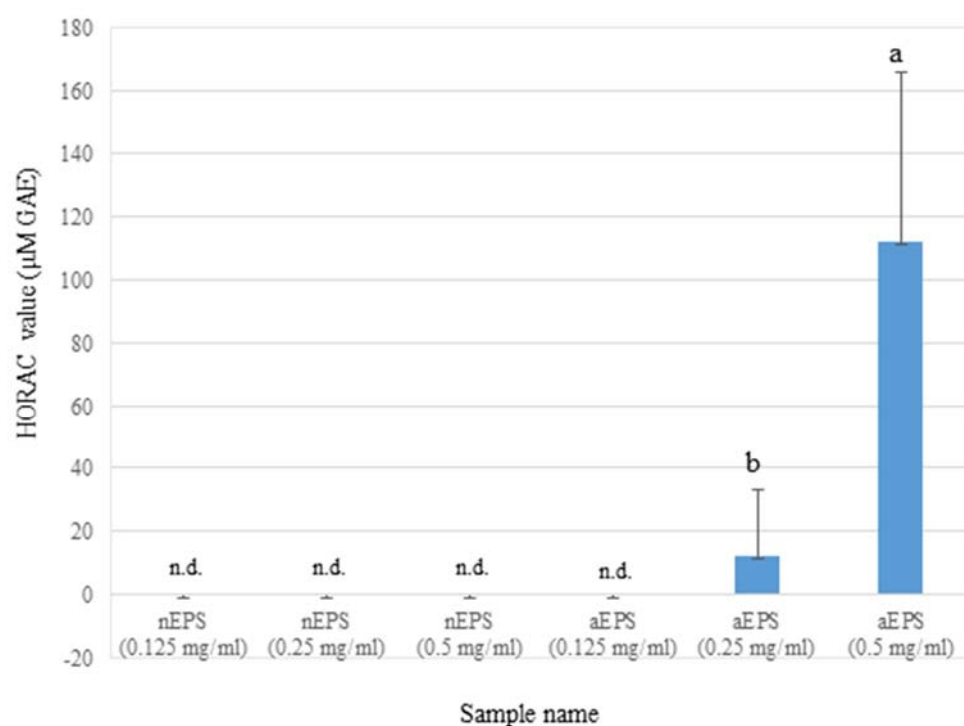
**a****b**

Fig. 9. Oxygen radical antioxidant capacity (ORAC) (a) and hydroxyl radical antioxidant capacity (HORAC) (b) values of purified EPSs produced by *P. pentosaceus* MYU 759. Data represent the average values  $\pm$  SD. ORAC and HORAC values are indicated as the TEAC ( $\mu\text{M TE}$ ) and GAEAC ( $\mu\text{M GAE}$ ), respectively. n.d.: not detected. Different letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).



#### 4. 乳酸菌グリセルアルデヒド-3-リン酸脱水素酵素 (GAPDH) の立体構造解析

乳酸菌 *Lactobacillus plantarum* の菌体表層に発現している特異な GAPDH (グリセルアルデヒド-3-リン酸脱水素酵素; 解糖系の脱水素酵素) の重金属吸着能および、ヒト腸管内糖鎖結合能の分子メカニズムを酵素の立体解析から解明するために、組み換え酵素の結晶化および水銀をソーキングした結晶を用いて結晶構造解析を行った。その結果、GAPDH-水銀複合体の立体構造を 2.1Å 分解能で決定し、4 量体構造であることや、活性に関わる触媒残基周辺のアミノ酸残基の構造や補酵素結合部位の構造を解明した(Fig. 10)。水銀の結合に関与する部位を特定した結果、触媒反応に関与する His183, Cys156 は水銀の結合には全く関与せず、その周辺のシステイン残基である Cys101, Cys160, Cys328 の先に水銀(銀のボールで表示)が結合することを明らかにした(Fig. 11)。触媒残基である Cys 156 はシステインであるにも関わらず水銀が結合しない理由は未だに不明であるがこれらの研究成果をまとめ、ミルクサイエンス誌に発表した(Yoneda K, Ogata M, Nishiyama K, Fukuda K, Yasuda S, Igoshi K, and Kinoshita H. "Crystal Structure of Cell Surface Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase from *Lactobacillus plantarum*: Insight into the Mercury Binding Mechanism." *Milk Science*. 2019; 68: 3-11.)。今後は GAPDH のヒト腸管内糖鎖結合メカニズムを解明していく予定である。

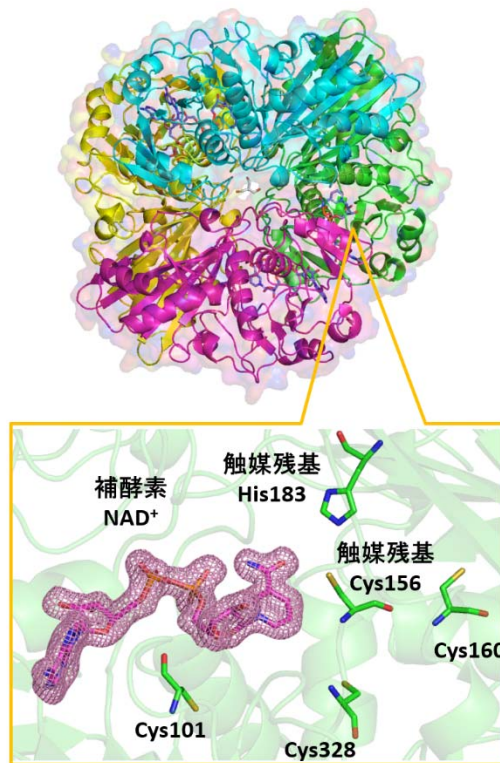


Fig. 10. 乳酸菌由来 GAPDH の4量体構造と触媒残基周辺の構造

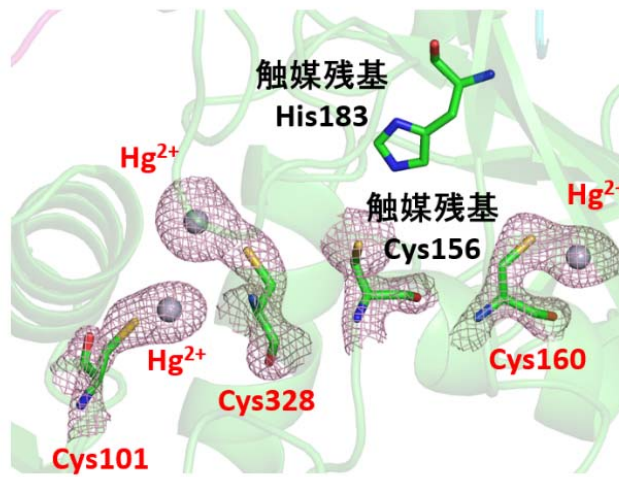


Fig. 11. 乳酸菌由来 GAPDH の水銀結合構造

## 5. 病態マーカーの高感度・低コスト分析法の開発

生活習慣病の病態進展を評価する手段の一つとして、病態マーカーを定量することが考えられる。ここで病態マーカー量の増減は病態進展に関与する生成物の量をさす。一般的な病態マーカーの分析は機器分析装置を用いるが、効率の良い分析には標準物質を用いた分析条件の検討が必要である。タンパク質の2SC化は老化や生活習慣病のマーカー候補であるが現在、その分析には条件検討にもちいる標準物質が必要とされている。そこで、2SCの高感度機器分析手法の確立をめざし、標準物質2SCペプチドの合成法を検討とした。

モデルペプチドには既に同定されているアディポネクチンの2SC含有ペプチドを選択した。ペプチド合成は定法のFmoc固相合成法で行い、ペプチド精製は逆相HPLCで行った。ペプチドの2SC化反応は精製ペプチドを緩衝液中でフマル酸と混合することで行った。目的物の同定はESI-MSで行った。その結果、ペプチド鎖伸長合成は高純度(>70%)で得られたが、2SC化反応は反応時間、反応pHを種々検討したが、副生物が主に生成し、目的の2SC化ペプチドはほとんど得られなかった。

改善点として、2点を検討した。①2SC化はCys側鎖のチオール基とフマル酸の2重結合間でのマイケル付加反応で形成するが、マイケル付加反応はフマル酸の2つカルボン酸がエステル(保護体)の方が効率は良いと考えた。加えて、フマル酸よりも幾何異性体であるマレイン酸は立体障害が少ないと考えた。種々のマレイン酸誘導体を検討した結果、マレイン酸ジエチルを用いたとき、効率よく付加反応が観測された。そこで、以下の実験には2SC化反応にはマレイン酸ジエチルを用いた。②ペプチドの酸化および副反応を避けるため、ペプチド鎖伸長後に固相樹脂上での2SC化を試みた。

上記2つの改善点を加えた固相上での2SCペプチド合成のスキームをFig. 12に示す。ペプチド配列は最近同定されたRCM1を選択した。これは、上記アディポネクチンは長鎖でペプチド鎖伸長反応に時間がかかるため、2SC化反応の条件検討には短鎖のRMC1が適当と考えたためである。固相上でCys側鎖保護には選択的に脱保護する為Mmt基を用いた。また、マレイン酸ジエチルとの反応は緩衝液中で行うため、固相樹脂には緩衝液中で膨潤率の高いPEG樹脂を用いた。エチルエステルはアルカリケン化反応で処理した。その結果、目的の2SCペプチドの生成が純度30%で確認できた。未修飾のペプチドが6割ほど得られたが、これはCys側鎖のMmt基の脱保護が不十分であったと考えられた。この点を改善することでさらなる純度および収量の向上が可能と考える。

以上の結果から、収量増加はさらなるが検討が必要ではあるが、機器分析に用いるには十分量の2SCペプチドの合成法を確立した。

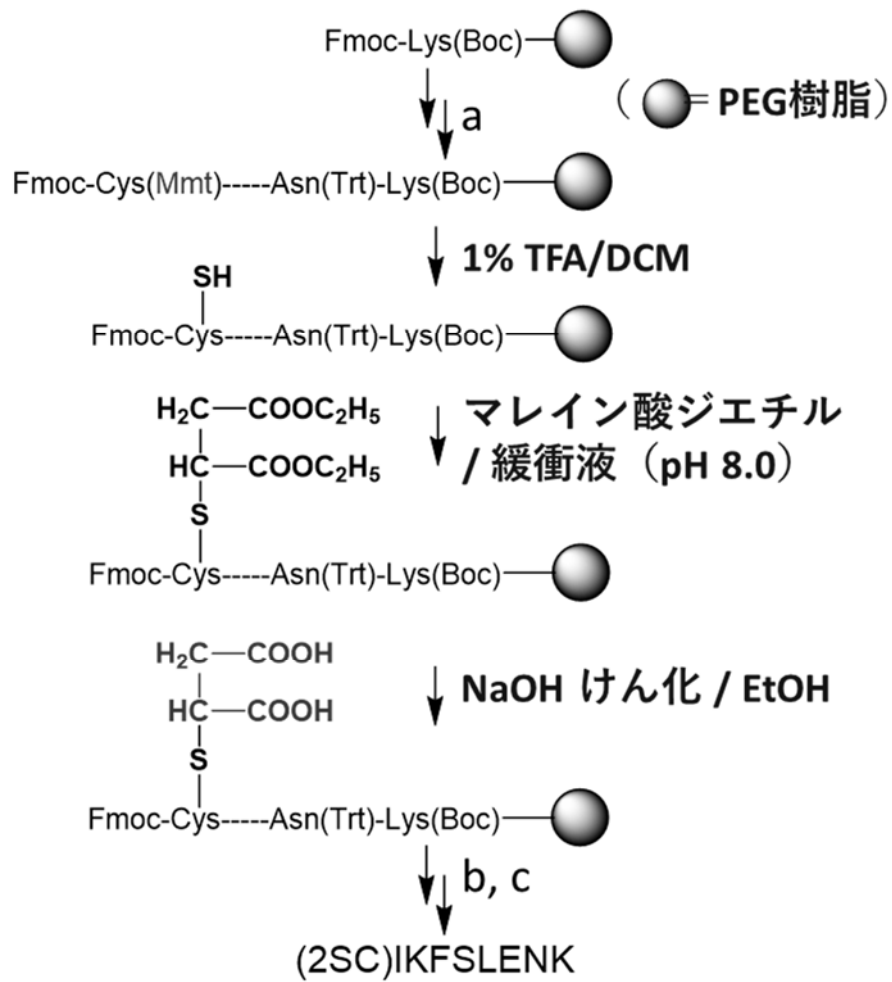


Fig. 12. 合成ペプチドの固相上での 2SC 化反応  
 (a) Fmoc 固相ペプチド合成, (b) 20% ピペリジン/NMP, (c) TFA/ H<sub>2</sub>O/ TIS

## 総括

今年度は、サツマイモを含むヒルガオ科の植物から、新規樹脂配糖体の構造を複数決定すること成功し、一部の構造では細胞実験において抗ガン作用が認められた。また、乳酸菌で豆乳を発酵させた豆乳ヨーグルトでは、特に高い抗酸化能およびDNA 保護作用を示す菌株の選抜に成功した。さらに乳酸菌では、*Lactobacillus plantarum* に発現する金属吸着能を有した GAPDH の結晶化構造解析を行い、水銀の吸着に関与する部位が特定された。また、生活習慣病に伴って生体に蓄積する AGEs 生成抑制成分の探索を目的に、多くの天然物由来化合物のスクリーニングを行った結果、特定の構造を有する化合物が共通して AGEs 生成抑制作用を示すことが明らかとなった。AGEs と同様に生活習慣病の発症や進展に関与する修飾アミノ酸の 2SC では、生体内に生成する 2SC 化タンパク質の効率的な特定を目的としたモデルペプチドの合成に成功した。

以上のように本年度は、本研究所が有する測定系で候補となる食品素材の探索および機能性メカニズムの解明を行った。今後もより多くの食品素材の評価を行う他、生体における効果の検証のため動物実験等も実施していく予定である。

## 業績

### 研究成果

#### [学会誌・書籍]

永井竜児, 白河潤一, 大野礼一, 須川日加里, 木下奨, 佐藤ひかり, 勝田奈那, 砂掛詩織, 永井美芽. 誌上ディベート 食事中の AGEs は有害?無害?日本抗加齢医学会 アンチ・エイジング医学: メディカルレビュー社. Vol. 15, No. 1. 77-82. 2018.

永井竜児, 大野礼一, 須川日加里, 山口広子, 荒川翔太郎, 鈴木隆介, 木下奨, 佐藤ひかり, 砂掛詩織, 勝田奈那, 白河潤一, 松村剛, 山中幹宏, 永井美芽. 代謝異常マーカーとしての生体 AGEs の測定. 腎とフリーラジカル 第13集. 52-56. 2018.

永井竜児, 白河潤一, 大野礼一, 須川日加里, 山口広子, 木下奨, 佐藤ひかり, 勝田奈那, 砂掛詩織, 荒川翔太郎, 鈴木隆介, 永井美芽. 糖化とは何か?食品化学から見出された生体タンパク質の変性機構 (What is glycation? Modification mechanism of biological found from food chemistry). 日本抗加齢医学会 アンチ・エイジング医学: メディカルレビュー社. Vol. 14, No. 5. 24-31. 2018.

山中幹宏, 永井竜児. 指尖を用いた経皮蛍光測定の臨床的意義 (Assessing clinical significance using fingertip skin autofluorescence). 日本抗加齢医学会 アンチ・エイジング医学: メディカルレビュー社. Vol. 14, No. 5. 37-44. 2018.

須川日加里, 大野礼一, 永井竜児. マンゴスチンおよびスイゼンジノリにおける AGEs 生成阻害効果と健康効果 (Inhibitory effect of *Garcinia mangostana* L. and *Aphanothece sacrum* (Sur.) Okada on AGEs formation and those beneficial effects for health). 日本抗加齢医学会 アンチ・エイジング医学: メディカルレビュー社. Vol. 14, No. 5. 45-48. 2018.

白河潤一, 山中幹宏, 永井竜児. サラシア, スッポン卵における抗酸化作用 (Anti-glycated activity in biological conditions of *Salacia chinensis* extract and soft-shelled turtle egg). 日本抗加齢医学会 アンチ・エイジング医学: メディカルレビュー社. Vol. 14, No. 5. 57-62. 2018.

永井竜児, 藤原章雄. クエン酸, ポリフェノールによる AGEs 生成抑制作用 (Inhibitory effects of citric acid and polyphenols on AGEs formation). 日本抗加齢医学会 アンチ・エイジング医学: メディカルレビュー社. Vol. 14, No. 5. 63-71. 2018.

永井竜児, 山中幹弘, 白河潤一, 大野礼一, 須川日加里, 山口広子, 荒川翔太郎, 鈴木隆介, 佐藤ひかり, 勝田奈那, 砂掛詩織, 永井美芽. AGEs の精密及び簡易分析の加齢関連疾患評価に対する応用性について. (独) 日本学術振興会「先端ナノデバイス・材料テクノロジー第151委員会」平成30年度 第4回研究会資料. 2018.

Sugawa H, Matsuda S, Shirakawa J, Kabata K, Nagai R. Preventive Effects of *Aphanothece sacrum* on Diabetic Cataracts. YAKUGAKU ZASSHI 139, 381-384 (2019)

松浦朝奈, プラダンラジブ, 安田伸, 村田浩平, 阿部淳. (2018.4) 2016年の熊本県における有機栽培の大豆の生産性. 日本作物学会九州支部会報, 84, 21-23.

## [学会発表]

木下奨,南里友明, 白河潤一, 佐藤ひかり, 勝田那奈, 砂掛詩織, 永井竜児. 1型糖尿病モデルラットにおけるヒシエキス・ルテインの投与濃度、期間による AGEs 生成抑制効果.第16回日本機能性食品医用学会総会. 新潟, 2018年12月 (学会賞受賞).

砂掛詩織, 赤星天翔, 市丸健太, 大野礼一, 白河潤一, 永井竜児. アルコール代謝において生成するアセトアルデヒド修飾タンパク質の評価. 第18回アジア農業シンポジウム. 熊本, 2018年12月.

勝田那奈, 佐藤ひかり, 白河潤一, 川島悠暉, 山中幹宏, 中島衡, 伊藤建二, 永井竜児. 経皮蛍光測定装置で検出される物質の分析. 第18回アジア農業シンポジウム. 熊本, 2018年12月.

永井竜児, 白河潤一, 三枝幸一, 木下奨, 藤原章雄, 松村剛, 木下博之, 荒木栄一, 2SC のミトコンドリア異常マーカーとしての可能性とその生活習慣病との関連. 第13回ミトコンドリア学会, 久留米, 2018年12月.

高山駿, 荒木朋洋, 米田一成, Enzymological characterization of class II chitinase from Barley The 18th Asian Agricultural Symposium (第18回 アジア農業シンポジウム) 2018年12月 (熊本)

吉岡観紗, 米田一成, Enzymological characterization of Indigo reductase involved in the Aidate fermentation of Japanese Aizome (indigo dyeing)

The 18th Asian Agricultural Symposium (第18回 アジア農業シンポジウム) 2018年12月 (熊本)

長野里奈, 米田一成, Enzymological characterization of L-threonine dehydrogenase from *Phytophthora infestans*

The 18th Asian Agricultural Symposium (第18回 アジア農業シンポジウム) 2018年12月 (熊本)

Hideki Kinoshita. Two huge earthquakes in eastern Japan and Kumamoto and our efforts for their reconstructions. The 18th Asian Agricultural Symposium. 2018年12月8日. 東海大学熊本キャンパス

須川 日加里, 大野 礼一, 白河 潤一, 木下 奨, 荒川 翔太郎, 永井 美芽, 永井 竜児. AGEs と加齢関連疾患との関連性解析. 第41回日本分子生物学会年会. 神奈川, 2018年11月.

砂掛詩織, 赤星天翔, 白河潤一, 永井竜児. モノクローナル抗体および LC-MS/MS を用いたアセトアルデヒド代謝に伴うタンパク質変性機構の解析. 第41回日本分子生物学会年会. 神奈川, 2018年11月.

勝田那奈, 佐藤ひかり, 白河潤一, 山中幹宏, 中島衡, 伊藤建二, 永井竜児. 経皮蛍光測定装置の安定性・応用性および検出される構造の解析. 第30回腎とフリーラジカル研究会. 香川, 2018年11月.

荒川翔太郎, 斎藤充, 鈴木隆介, 白河潤一, 永井竜児, 丸毛啓史. ヒト海綿骨中の終末糖化産物 AGEs の網羅的解析 (Comprehensive analysis of Advanced Glycation End-products (AGEs) in human cancellous bone). 日本整形外科基礎学術集会. 奈良, 2018年11月.

清田 雄平, 山口 浩, 真栄城 正寿, 渡慶次 学, 宮崎 真佐也. 固定化酵素の再活性化法の開発とマイクロリアクターへの応用. 化学とマイクロ・ナノシステム学会 第38回研究会. 北海道, 2018年11月.

白河潤一, 三枝幸一, 木下奨, 藤原章雄, 松村剛, 木下博之, 荒木栄一, 永井竜児. ミトコンドリアの代謝異常産物である2SCの血中濃度は高血糖および血管障害で増加する. 第33回日本糖尿病合併症学会. 東京, 2018年10月.

白河潤一, 三枝幸一, 木下奨, 市丸健太, 藤原章雄, 松村剛, 荒木栄一, 永井竜児. 糖尿病合併症の発症は生体中 2SC を有意に増加させる. 第28回日本メイラード学会年会. 北海道, 2018年10月.

木下奨, 南里友明, 白河潤一, 佐藤ひかり, 勝田那奈, 砂掛詩織, 永井竜児. ヒシエキス・ルテインの短期および長期投与による白内障予防効果および AGEs 生成抑制効果. 第28回日本メイラード学会年会. 北海道, 2018年10月.

鈴木隆介, 斎藤充, 荒川翔太郎, 谷口海友, 高橋基秀, 白河潤一, 永井竜児, 藤原章雄, 丸毛啓史. グリコールアルデヒドは骨芽細胞内の終末糖化産物の蓄積によって小胞体ストレスを介した細胞死を誘導する. 第28回日本メイラード学会. 北海道, 2018年10月.

須川日加里, 藤本雄己, 白河潤一, 永井竜児. *C.elegans* における加齢および高血糖に伴う AGEs 蓄積の変化. 第28回日本メイラード学会年会. 北海道, 2018年10月.

砂掛詩織, 赤星天翔, 市丸健太, 大野礼一, 白河潤一, 永井竜児. LC-MS/MS およびモノクローナル抗体を用いたアセトアルデヒド修飾タンパク質の検出. 第28回日本メイラード学会年会. 北海道, 2018年10月.

勝田那那, 佐藤ひかり, 白河潤一, 山中幹宏, 中島衡, 伊藤建二, 永井竜児. AGEs センサで検出される蛍光性物質の分析. 第28回日本メイラード学会年会. 北海道, 2018年10月.

佐藤ひかり, 白河潤一, 永井竜児. ラット及びマウス脳中 AGEs 構造の解析. 第28回日本メイラード学会年会. 北海道, 2018年10月.

富永悠幹, 小野政輝, 木下奨, 白河潤一, 永井竜児. AGEs 生成抑制効果を有する天然物由来化合物の *in vitro* スクリーニング. 第28回日本メイラード学会年会. 北海道, 2018年10月.

Arakawa S, Saito M, Suzuki R, Shirakawa J, Taniguchi M, Nagai R, Marumo K. Comprehensive analysis of Advanced Glycation End-products (AGEs) in human cancellous bone: correlation of AGEs contents in bone, serum and urine. 13th International Symposium on the Millard Reaction (ISMR). Canada, September 2018.

Shirakawa J, Ichimaru K, Fukushige T, Matsumura T, Araki E, Fujiwara Y, Nagai R. 2SC level in the peripheral blood of diabetic mice and patients with diabetic complications is significantly increased as compared with other AGEs. 13th International Symposium on the Millard Reaction (ISMR). Canada, September 2018.



Suzuki R, Saito M, Arakawa S, Shirakawa J, Taniguchi M, Takahashi M, Fujiwara Y, Nagai R, Marumo K. Intracellular accumulation of Advanced Glycation Ends Products caused by glycolaldehyde induces murine osteoblastic cell apoptosis via the endoplasmic reticulum stress pathway. 13th International Symposium on the Millard Reaction (ISMR). . Canada, September 2018.

高山駿、荒木朋洋、米田一成、オオムギ由来クラスIIキチナーゼのクローニングと機能解析、日本農芸化学会 2018 年度西日本支部大会、熊本、2018 年 09 月

鈴木隆介、斎藤充、荒川翔太郎、谷口海友、高橋基秀、白河潤一、永井竜児、藤原章雄、丸毛啓史. グリコールアルデヒドは骨芽細胞内の終末糖化産物の蓄積によって小胞体ストレスを介した細胞死を誘導する. 第 33 回日本整形外科基礎学術集会. 沖縄, 2018 年 9 月.

須川日加里, 藤本雄己, 宮原浩二, 永井竜児. *C.elegans* における AGEs 蓄積と寿命との関連性評価について. 第 91 回日本生化学会大会. 京都, 2018 年 09 月.

永井竜児、木下奨、大野礼一、須川日加里、山口広子、荒川翔太郎、鈴木隆介  
佐藤ひかり、砂掛詩織、勝田奈那、白河潤一、永井美芽、コラーゲンの酸化に伴う CMA の生成について、第 26 回日本過酸化脂質・抗酸化物質学会年会、仙台、2018 年 8 月

山口 浩. 酵素固定化マイクロリアクターのプロテオミクス解析への応用. 東海大学マイクロ・ナノ啓発会【Tune】第 9 回学術講演会. 熊本, 2018 年 8 月.

砂掛詩織, 赤星天翔, 永井竜児. アルコール代謝由来の修飾タンパク質の免疫化学的検出. 東海大学マイクロ・ナノ啓発会【Tune】第 9 回学術講演会. 熊本, 2018 年 8 月.

勝田奈那, 佐藤ひかり, 白河潤一, 山中幹宏, 中島衡, 伊藤健二, 永井竜児. AGEs センサは何を検出しているのか? 東海大学マイクロ・ナノ啓発会【Tune】第 9 回学術講演会. 熊本, 2018 年 8 月.

Nagai R, Shirakawa J, Matsumura T, Araki E, Fujiwara Y、The levels of serum 2SC, a marker for mitochondria dysfunction, increases with diabetes and its complications, 9th World congress on Targeting Mitochondria. Germany, 2018, October

砂掛詩織, 赤星天翔, 永井竜児. アルコール代謝由来の修飾タンパク質検出法の開発. 平成 30 年度日本生化学会九州支部例会. 福岡, 2018 年 6 月.

勝田奈那, 佐藤ひかり, 白河潤一, 山中幹宏, 中島衡, 伊藤健二, 永井竜児. 経皮蛍光測定装置で検出される生体蛍光性物質の単離. 平成 30 年度日本生化学会九州支部例会. 福岡, 2018 年 6 月.

米田一成、櫻庭春彦、荒木朋洋、大島敏久、*Bacillus smithii* 由来 FMN-NADH 依存性インジゴ還元酵素の機能と構造、日本ビタミン学会第 70 回大会、大阪、2018 年 06 月

木下奨、大野礼一、須川日加里、山口広子、荒川翔太郎、鈴木隆介

佐藤ひかり、砂掛詩織、勝田奈那、白河潤一、永井美芽、永井竜児、LC-MS/MSによるコラーゲン特異的AGEsであるCMAの生成経路および生体含量の測定、第71回日本酸化ストレス学会、京都、2018年5月

永井竜児、市丸健太、白河潤一、代謝異常マーカーとしての各種AGEsのLC-MS/MSを用いた測定、第2回日本Uremic Toxin研究会学術集会。東京、2018年4月。

チャーワチョープ ナッティヤー、松田靖、村田達郎、安田伸、黒田泰弘。ヤーコン由来 Fructan 1-Fructosyltransferase 遺伝子の解析。東海大学マイクロ・ナノ啓発会[Tone]第9回学術講演会・ポスター発表。(東海大学熊本キャンパス、熊本県熊本市) 2018年8月25日。

荒川諒太、川上 玄、武藤はるか、安田 伸、大川雅史、金城順英、横溝和美、吉満 斉、野原稔弘、小野政輝、ハマヒルガオから単離した4種の新規樹脂配糖体とそれらの抗単純ヘルペスウイルス活性、第22回 天然薬物の開発と応用シンポジウム、要旨集 p. 138-140、2018年10月8日。

小野政輝、一尾美里、安土真愛子、安田伸、土橋良太、大川雅史、金城順英、吉満斉、野原稔弘、ルコウアサガオ種子の樹脂配糖体に関する研究(2)、日本生薬学会代65回年会、要旨集 p. 166、2018年9月16日

#### [招待講演]

##### (国際)

Nagai R, Shirakawa J, Ohno R, Sugawa H, Yamaguchi H, Arakawa S, Suzuki R, Satou H, Sakake S, Katsuta N, Nagai M. Simple analysis and precise analysis of AGEs are both important for evaluating metabolic disorders. 13th International Symposium on the Maillard Reaction (ISMR). Canada, September 2018.

Nagai R, Advantages of both simple and precise analysis of AGEs for evaluating metabolic disorders. Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science, 19th International Symposium. Tokyo, 2019 February

##### (国内)

永井竜児、糖化とは何か？ー加齢関連疾患との関与と糖化を抑制するマンゴスチンについてー、第18回日本抗加齢医学会総会ランチョンセミナー22、大阪、2018年5月

永井竜児、大野礼一、須川日加里、山口広子、木下奨、勝田奈那、砂掛詩織、荒川翔太郎、鈴木隆介、白河潤一、永井美芽、食品および生体タンパク質のグリケーションが生体に及ぼす作用について、第91回日本生化学会シンポジウム、京都、2018年9月

永井竜児、山中幹宏、白河潤一、大野礼一、須川日加里、山口広子、荒川翔太郎、鈴木隆介、佐藤ひかり、勝田奈那、砂掛詩織、永井美芽、AGEsの精密および簡易分析の加齢関連疾患評価に対する応用性について、日本学術振興会「先端ナノデバイス・材料テクノロジー第151委員会」第4回研究会、埼玉、2018年9月

永井竜児、AGEs情報の産業活用を考える～バイタルデータが創る未来～、平成30年度熊本県自然共生型産業創出支援事業セミナー、熊本、2018年、11月

永井竜児、食品による老化予防と運動能力向上の可能性について、Let's 不思議、熊本、2018年12月

永井竜児、大野礼一、須川日加里、山口広子、荒川翔太郎、鈴木隆介、木下奨、佐藤ひかり、砂掛詩織、勝田奈那、白河潤一、山中幹宏、永井美芽、生活習慣病の早期検出および予防を目的とした AGEs の測定、第 334 回 R I S T フォーラム、熊本、2018 年 11 月

永井竜児、AGEs (糖化最終産物) 測定技術と抗糖化食品の開発、食品ニューテクノロジー研究会、2018 年 10 月

木下英樹、研究成果の一部を発表、ラウンドテーブル、熊本市、熊本、2018 年 9 月

永井竜児、～楽しく簡単にアンチエイジング～老化物質 AGEs をつくりにくい生活習慣とは、生活習慣病予防講演会、熊本、2019 年 2 月

永井竜児、加齢関連疾患評価に対する AGEs の精密および簡易分析の有用性、島津製作所セミナー、京都、2019 年 3 月

## [論文]

米田一成, 緒方美月, 西山啓太, 福田健二, 安田伸, 井越敬司, 木下英樹. *Lactobacillus plantarum* 由来菌体表層グリセルアルデヒド-3-リン酸脱水素酵素の結晶構造解析: 水銀結合メカニズムの解明. *ミルクサイエンス誌*. in press

Yamamoto N, Shoji M, Hoshigami H, Watanabe K, Watanabe K, Takatsuzu T, Yasuda S, Igoshi K, Kinoshita H. Antioxidant capacity of soymilk yogurt and exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *Biosci. Microbiota Food Health*. in press.

Yoneda K, Sakuraba H, Araki T, Ohshima T. Crystal structure of the NADP<sup>+</sup> and tartrate-bound complex of L-serine 3-dehydrogenase from the hyperthermophilic archaeon *Pyrobaculum calidifontis*. *Extremophiles*. 2018; 22:395-405. doi: 10.1007/s00792-018-1004-0. (IF 2.24)

Ohshida T, Koba K, Hayashi J, Yoneda K, Ohmori T, Ohshima T, Sakuraba H. A novel bifunctional aspartate kinase-homoserine dehydrogenase from the hyperthermophilic bacterium, *Thermotoga maritima*. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2018; 82:2084-2093. doi: 10.1080/09168451.2018.1511365. (IF 0.89)

El Daibani AA, Xi Y, Luo L, Mei X, Zhou C, Yasuda S, Liu M-C. (Epub2018.11) Sulfation of hesperetin, naringenin and apigenin by the human cytosolic sulfotransferases: A comprehensive analysis. *Nat Pro Res* (IF1.828). In press doi: 10.1080/14786419.2018.1503264.

Ono M, Azuchi M, Ichio M, Jiyoubi Y, Tsutsumi S, Yasuda S, Tsuchihashi R, Okawa M, Kinjo J, Yoshimitsu H, Nohara T. (2019) Seven new resin glycosides from the seeds of *Quamoclit × multifida*. *J Nat Med*, **73**,11–22.

Maejima K, Ohno R, Nagai R, Nakata S, Effect of mangosteen pericarp extract on skin moisture and arterial stiffness: Placebo-controlled double-blinded randomized clinical trial, *Glycative Stress Research*, 5 (2), 095-103, 2018.

Lioe HN, Kinjo A, Yasuda S, Kuba-Miyara M, Tachibana S, Yasuda M. (2018.6) Taste and chemical characteristics of low molecular weight fractions from tofuyo - Japanese fermented soybean curd. *Food Chem (IF4.529)* 252, 265-270.

Ono M., Teramoto S., Naito S., Takahashi A., Yoneda A., Shinkai M., Taga N., Yasuda S., Tsuchihashi R., Okawa M., Kinjo J., Yoshimitsu H., Nohara T. (2018) Four new resin glycosides, murasakimasarins I-IV, from the tuber of *Ipomoea batatas*. *J Nat Med*, **72**, 784-792.

#### [外部資金]

南阿蘇オーガニック株式会社委託研究資金：「マコモタケおよびキクイモの高温処理後の機能性に関する分析」（研究代表・安田伸）486,000 円、2018 年 9 月～11 月

バイオテクノロジー研究推進会平成 30 年度研究助成金「ムーンライティングプロテインの多機能性解析と機能性マーカーへの応用」（研究代表・木下英樹）40 万円

公益財団法人 発酵研究所 一般研究助成「藍建て発酵に関するインジゴ還元酵素の機能と構造解析並びに染色への応用（継続）」（研究代表・米田一成） 3,000 千円、2018 年 04 月～ 2019 年 3 月

国立研究開発法人科学技術振興機構・研究成果最適展開支援プログラム（A-STEP）：「健康寿命延伸を目標とした AGEs 蓄積早期検知システムの構築と予防食品の開発」（研究代表・永井竜児）平成 30 年度 10,333 千円（総額 89,484 千円）2018 年 10 月～ 2021 年 3 月