

総合農学研究所
2024年度 研究所プロジェクト報告書

2024-01 : 環境要因や加齢現象による慢性炎症を介した生活習慣病とその予防法の探索

平野 将司¹⁾、永井 龍児¹⁾、木下 英樹¹⁾、川邊 隆大²⁾、富永 悠幹¹⁾、
勝田 奈那¹⁾、山口 広子¹⁾、高橋 姫乃¹⁾、中島 勇貴³⁾、日比 友之⁴⁾、
外村 彩夏¹⁾、今井 早希⁵⁾、荒木 朋洋⁶⁾ (分析支援)

1) 農学部食生命科学科、2) 農学部農学科、3) 日本学術振興会特別研究員 PD、
4) 大学院生物科学研究科、5) 農学部動物科学科、6) 総合農学研究所

緒言

近年、ヒトや動物の健康と、これらを取り巻く環境・生態系の健全性は相互に密接に関連していることから、それらを総合的に良い状態にすることを目指すワンヘルス (One Health) という概念が注目されている。この分野横断的な連携 (ワンヘルス・アプローチ) を農学の観点から推進するため、本プロジェクトでは、ヒトの健康に関する課題に取り組んだ。

慢性炎症は生体内において長期間に亘って続く炎症反応のことであり、肥満や加齢により引き起こされ、様々な疾患の発症に関わっていることが明らかとなっている。また、大気汚染などの環境因子が慢性的な炎症性疾患を引き起こす要因としても知られ、生活習慣病との関連が注目されている。さらに近年、脂肪肝による肝臓における炎症の慢性化が肝炎発症の引き金となり得ることから、アルコール消費にかかわらず脂肪肝に肥満や糖尿病などの代謝異常が合併した脂肪性肝疾患として、代謝異常関連脂肪性肝疾患 (metabolic dysfunction-associated fatty liver disease; MAFLD) が提唱され、注目を集めている。

このような慢性炎症を伴う疾患は他の併存疾患のリスクが高まり、予後不良となることが予測されることから、疾病的発症前に日常的に接種する食品で予防していくことが望ましい。そこで、生活習慣病に関わる疾患進展機序とこれを予防・改善する食品の機能性について農学的アプローチを開拓するため、2024年度は以下のテーマについて取り組んだ。

- ・新規 AGE・グルコースリジンの疾患進展機序の解明とその予防
- ・豆乳ヨーグルト摂取による肥満モデルマウスの脳内炎症抑制と認知機能改善に関する研究
- ・ハイブリッドアッセンブリ法を用いた乳酸菌のゲノム解析
- ・メダカ脂肪肝に対する豆乳ヨーグルト (TOKAI 759m) の効果
- ・PM_{2.5}に起因する健康影響と食生活による予防

1. 新規AGE・グルコースリジンの疾患進展機序の解明とその予防

糖尿病は世界的に患者数が増加し続けており、健康寿命を短縮する最も重要な生活習慣病の一つである。持続する高血糖は血管障害を引き起こし、網膜症、神経障害、腎症などの細小血管症に加え、脳梗塞や心筋梗塞といった大血管症をもたらす。これらの糖尿病性血管疾患は一度発症すると根本的な治療が困難であり、患者のQOLを著しく低下させるため、発症前に如何に予防するかが最大の課題となっている。高血糖が持続すると、糖質代謝経路の一つで、合併症発症の一要因とされるポリオール経路が亢進することが知られている。本経路はソルビトール、さらにその下流でフルクトースを生成し、タンパク質と反応して終末糖化産物(AGEs)を産生する。

我々はポリオール経路に着目し、フルクトース由来AGEsとしてGlucoselysine(GL)を同定した(Ohno R et al., J Biol Chem 2019)。そして糖尿病を誘発したラット水晶体で変動を調べたところ、主要AGEsとして報告されているN-(carboxymethyl)lysine(CML)は8週間で1.7倍の増加であるのに対してGLは同期間で31.3倍増加することを確認している。しかし血中にはGLと分子量および液体クロマトグラフィーによる分析で溶出時間がほぼ同一など化学的特性が酷似しているFructoselysineが存在し、分離測定が困難であった。そこで我々は血清中のGL測定系を検討し、糖尿病患者において血清中GLが如何に変化するかを評価した。その結果、6N塩酸で18時間加水分解することでFructoselysineは完全にFurosineに変換されるため、塩酸加水分解後の生体試料ではGLとFructoselysineを完全に識別できることが確認された。そして塩酸加水分解後の血清ではGL及び内部標準として添加した¹³C₆-GLが検出され(図1A)、血清GLの定量が可能となった。本測定法及び、ポリオール経路の律速酵素として知られるアルドース還元酵素(AR)をノックアウトしたシュワン細胞を用いて培養液中のGL変化を評価した。その結果、ワイルドタイプのシュワン細胞を高グルコースで培養すると細胞液中GLが増加し、ノックアウトで有意に減少したが、その生成はゼロにはならなかった(図1B)。したがってARは確かにGL生成に影響を及ぼしているが、AR以外の副経路の存在が示唆された。さらに本測定法を糖尿病患者の血清で応用した結果、血糖のコントロールマーカーであるHbA1cは変化しないのに対してGLは細小血管障害の発症で有意に増加することが確認された(図1C)(業績1)。

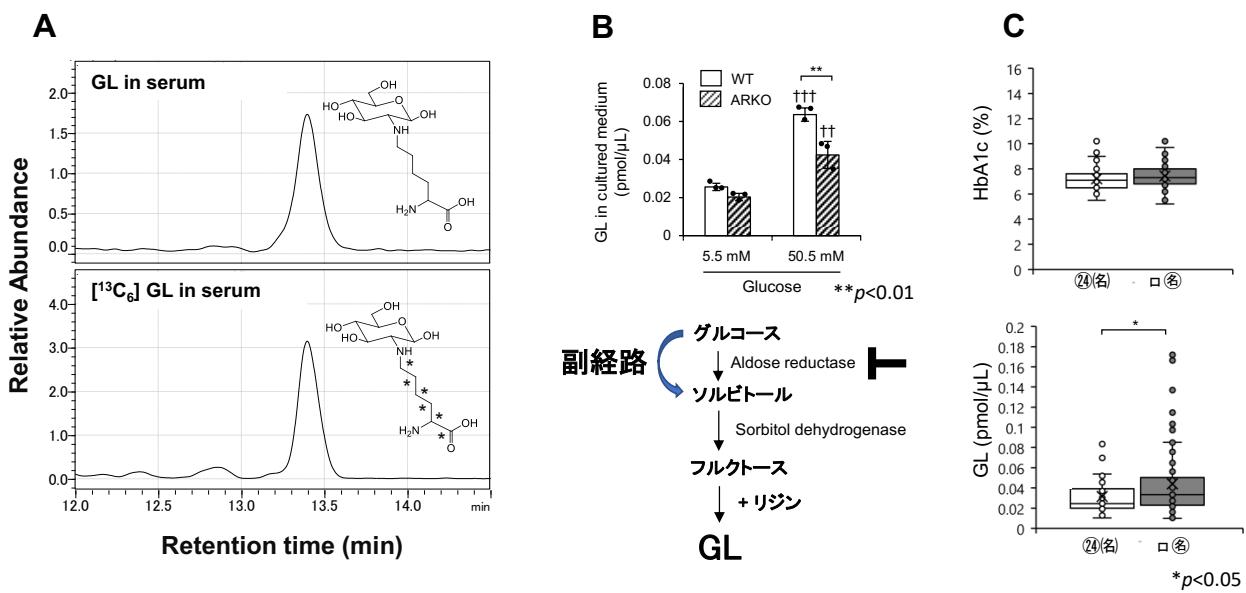


図1: GLの検出と定量

Yamaguchi H, Nagai R et al., J. Biol. Chem. 2024

A: 血清中のGLおよび内部標準GLの検出。

B: 野生型(WT)およびaldose reductaseノックアウト(ARKO)シュワン細胞における培地中GLの変動。

C: HbA1c値(上段)は細小血管合併症の有無で変動ないが、血清GL値(下段)は病態の発症で有意に上昇する。

これまで糖尿病三大合併症の予防として AR 阻害剤である Epalrestat、総称名キネダックが臨床で利用されてきたが、合併症の予防効果は不十分であり、近年はほとんど用いられていない。この原因として、Sango らは AR の副経路が存在し、AR をノックアウトしてもソルビトール、フルクトースの生成は進行することを報告している(Niimi N et al., J Neurochem. 144(6):710-722, 2018)。つまり HbA1c では察知が難しかった合併症リスクを GL で評価できる画期的な指標であることが確認された。この GL 測定の臨床応用により、合併症の予測精度が飛躍的に向上し、個別化予防医療の実現が可能となる可能性が考えられる。将来、GL 測定が一般化され合併症の進展予測が可能となれば、治療が困難な糖尿病性血管疾患に対し、発症前から「数値で予防的介入の必要性を伝える」ことが可能になると期待される。また、これまでではポリオール経路の阻害は AR を中心に創薬がなされていたが、今後は GL を創薬のターゲットとすることで、ポリオール経路をより効果的に抑制できる薬剤が見いだされる可能性も期待できる(図 2)。

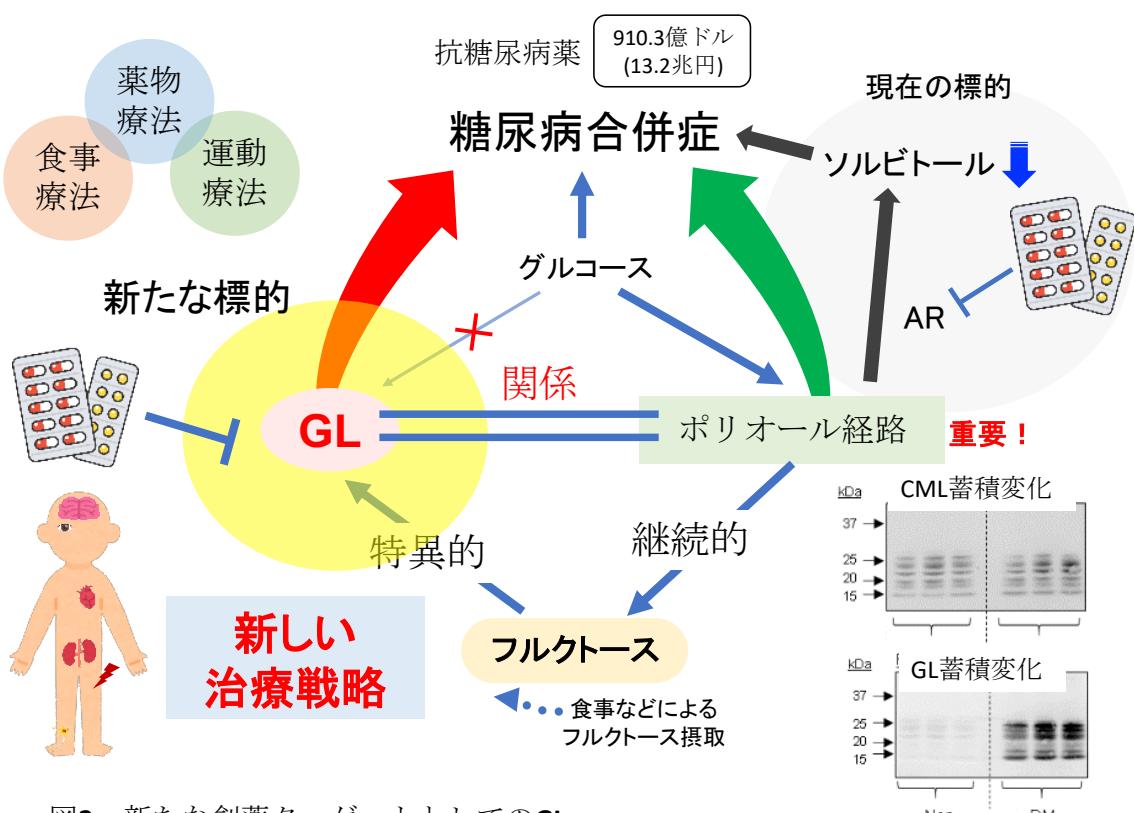


図2：新たな創薬ターゲットとしてのGL

2. 豆乳ヨーグルト摂取による肥満モデルマウスの脳内炎症抑制と認知機能改善に関する研究

近年、乳酸菌や発酵食品の摂取が腸内細菌叢を改善し、健康に寄与する可能性が明らかにされている。昨年度、我々は、*Pediococcus pentosaceus* TOKAI 759m (TK759m 株) で作製した豆乳ヨーグルト (SY) を高脂肪食摂取肥満若齢マウスに給餌したところ、神経炎症の抑制効果と認知機能の改善効果が見られたことを報告した (Nakashima et al. *Current Research in Food Science*, 10, 100993, 2025) (図 3)。しかしながら、老齢期にかけての長期間投与における影響は明らかになっていない。そこで、本研究では長期間投与における認知機能の変化を評価することとした。雄の C57BL/6NJcl マウスを (1) 通常食群、(2) 高脂肪食 (HFD) 群、(3) HFD+SY (SY 群) に分け、約 1 年半飼育した。途中、行動試験にて認知機能を評価したところ、新規物体認識試験のスコアが 5, 16, 20 カ月齢で SY 群で高い傾向、10 カ月齢で HFD 群と比較して SY 群で有意に高値を示した ($P < 0.05$)。以上より、SY の長期間継続摂食は、高齢の肥満モデルマウスにおいても認知機能の低下を緩和する可能性が示された。現在は、他の臓器を介して脳に与える効果に着目し、腸内細菌叢、腸管、肝臓および海馬の解析を進めている。

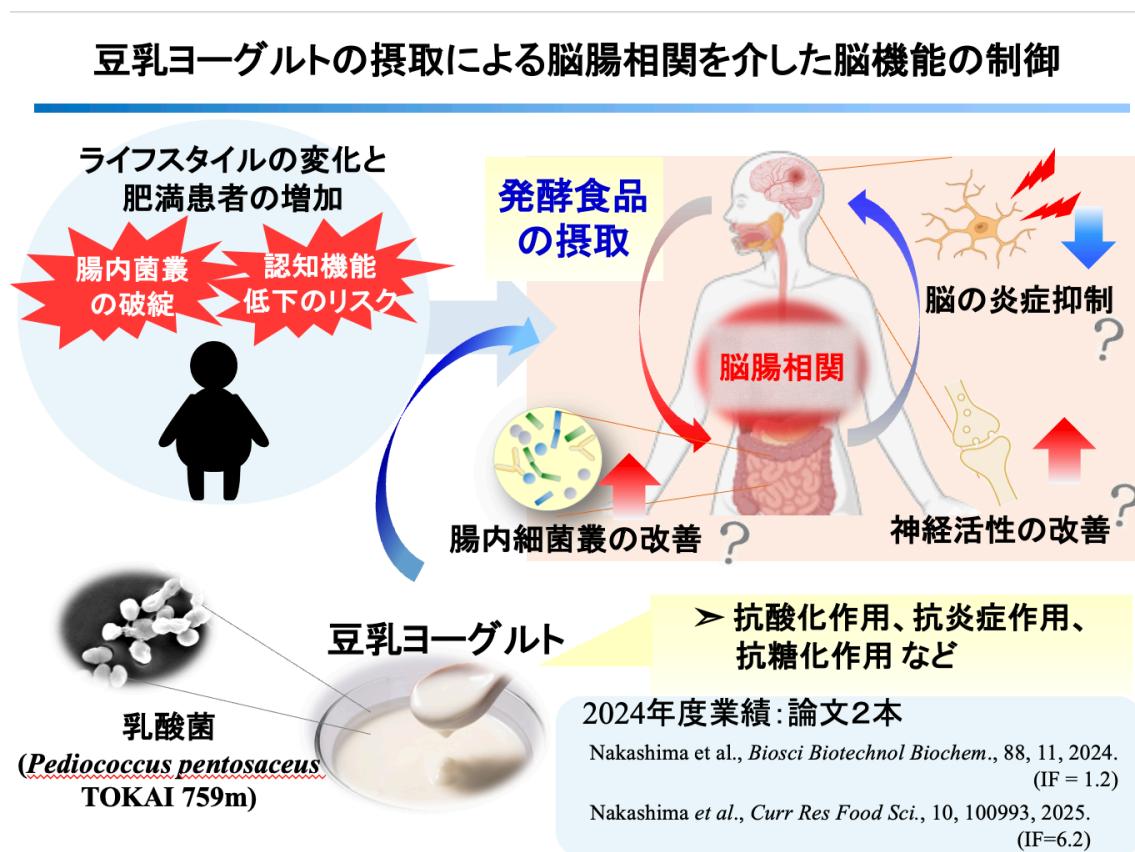


図 3. 本研究の概略図。

3. ハイブリッドアッセンブリ法を用いた乳酸菌のゲノム解析

TK 759m 株は、上記の認知機能改善効果のほか、抗酸化作用 (Yamamoto *et al.*, *Bioscience of Microbiota, Food and Health*, 38, 97–104, 2019)、抗炎症作用 (Nakashima *et al.*, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 88, 1349–1361, 2024)、抗糖化作用 (Nakashima *et al.*, *Food Bioscience*, 50, 102051, 2022) 等を有しており、豆乳ヨーグルトスターとして大変優れた特性を持つ乳酸菌である。しかしながら、本菌株のゲノム配列は分かっておらず、ゲノム配列を元にした安全性の確認が必要であった。これまでゲノム配列の決定は、ショートリードシーケンスによるものが主流であったが、本手法では一部の配列（回文構造など）が正確に読み取れず、欠損のないコンプリートゲノムの構築が困難であった。そこで近年、ロングリードシーケンスと組み合わせたハイブリットシーケンスが着目されている。本手法は、正確なショートリードシーケンスとその不足を補うロングリードシーケンスにより、高精度なゲノムの決定を可能とした新規手法である。そこで本研究では、TK 759m 株のゲノムをハイブリットアッセンブリにより決定し、本有用菌株の安全性を評価することを目的とした。

まず、TK 759m 株を MRS 培地 (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) で培養し、遠心分離により菌体を回収した。ショートリードシーケンスでは、DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN, Hilden, Germany) を用いて DNA を抽出した後、MiSeq Reagent Kit v3 (Illumina, San Diego, CA, USA) を用いてライブラリーを調製した。その後、本ライブラリーを MiSeq プラットフォーム (Illumina) にアプライし、300 bp ペアエンドでシーケンスを実施した。本シーケンス作業は、MySkin 株式会社 (Tokyo, Japan) に委託した。出力された生データは fastp v.0.24.0 を用いてトリミングを実施した。

ロングリードシーケンスは以下のように行った。Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega, Madison, WI, USA) を用いて菌体ペレットからゲノム DNA を抽出した後、Rapid Sequencing Kit V14 (SQK-RAD114, Oxford Nanopore Technologies [ONT], Oxford, UK) を用いてライブラリーを調製した。その後、本ライブラリーを MinION Mk1B (ONT) に搭載された R10.4.1 フローセル (FLO-MIN114, ONT) にアプライし、シーケンスを実施した。その後のベースコールは Dorado v.7.6.8 を用いて実施した。また、出力された生データは NanoFilt v.2.8.0 でトリミングを行った。

トリミングしたショートリードとロングリードシーケンスを用いて、Unicycler v0.5.1 でハイブリットアッセンブルを行った。構築されたコンティグは Bandage v0.8.1 で視覚化した(図 4)。また、BWA-MEM2 v2.2.1、SAMtools v1.21 および Pilon v1.24 を用いてポリッシュを行い、DFAST v1.3.6 でアノテーションを行った。その結果、2 つのプラスミドを含む計 1,937,242 bp の配列が決定された（表 1）。なお、本研究結果は Microbiology Resource Announcements に採択済みである (Hibi *et al.*, 2025. in press)。次に決定した配列について、PathogenFinder v1.1 を用いて、毒性遺伝子のスクリーニングを行ったところ、毒性遺伝子は検出されなかった。TK759m 株はすでに豆乳ヨーグルトのスターとして商業利用されており、これまで動物実験や人での摂食でも特に問題は見られていないが、本試験により改めて遺伝子面からの安全性が確認された。さらに、AMRFinderPlus v4.0.23 を用いて、カットオフ感度 60% で抗生物質耐性に関わる遺伝子を探査したところ、タンパク質のリフォールディングに関わるシャペロンタンパク質である ATP-dependent protease *ClpL* が検出された。本タンパク質は、多くの乳酸菌が保有しており、酸、熱、胆汁酸などへの耐性に寄与し、発酵中における生存性の向上やプロバイオティクスとして必要な胃酸や胆汁酸耐性に関わるタンパク質として知られている。一部の病原菌においては、ストレス応答が向上することで抗菌物質や保存料などへの耐性に間接的に関わるタンパク質として報告されているものの、安全性の高い乳酸菌においては現在のところ大きな問題とはされておらず、むしろプロバイオティクスとしての機能面に着目した研究が多い。

本研究ではショートリードとロングリードシーケンスを用いたハイブリッドアッセンブリにより乳酸菌の全ゲノムを精度よく解析することができた。また、遺伝子面からの安全性が確認された。今後は、本遺伝子配列を用いて乳酸菌の機能性解析も進めていく予定である。



図4. 得られた *TK 759m* 株のコンティグ.

表1. アノテーションにより得られた *TK 759m* の遺伝子情報.

Bacterial species	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
Strain	TOKAI 759m
Assembly statistics	
Total length (bp)	1,937,242
No. of sequences	3
Chromosome mean depth (×)	338.572
Plasmid 1 mean depth (×)	327.538
Plasmid 2 mean depth (×)	767.818
GC content (%)	37.4
No. of CDSs	1916
No. of rRNAs	15
No. of tRNAs	56
No. of CRISPRs	1
Completeness check (%)	93.67
Taxonomy Check (%)	98.92
(ANI to <i>Pediococcus pentosaceus</i> NBRC 107768 (GCA_007992275.1))	

4. メダカ脂肪肝に対する豆乳ヨーグルト (TOKAI 759m) の効果

本研究では、*Pediococcus pentosaceus* TOKAI 759m (TK759m 株) を用いて作製した発酵豆乳を小型魚類のメダカ (*Oryzias latipes*) に摂取することで、脂肪肝の予防に寄与するのかを検証した。これまでの研究から、高脂肪食として HFD32<High Fat Diet32> (CLER JAPAN、INC、[脂質 56.7%、タンパク質 20.1%、炭水化物 23.2%]) を 10 mg/匹/日で 8 週間以上与えたメダカにおいて、肝重量の増加傾向、また肝臓の肥大化・白色化を呈する脂肪肝を確認してきた。そこで本年度は、HFD32 に加えて発酵豆乳を給餌することで、脂肪肝を抑制するか、また肝臓の脂質代謝に関する遺伝子発現量を調査した。

実験には、生後 8 週齢のヒメダカの d-rR 系統を用いた。通常飼料は、ヒカリキョーリン (Hikari) を用いた。高脂肪食として HFD32 (HFD 群)、また TK759m 株を使用して作製した豆乳ヨーグルトの凍結乾燥品を用い、投与量は 5 および 10 % として HFD とともに混餌投与した (HFD+TK759m_5% および HFD+TK759m_10%)。これら各飼料は毎日給餌の際に電子天秤で量り取り、8 週間給餌した。4 週目および 8 週目に各投与群から 10 個体の解剖を行った。飼育条件はいずれも光周期 14 h:10 h (明:暗)、水温約 24°C、週 1 回の換水とした。給餌開始から 4 週目、8 週目に肝臓を摘出し、肝重量を測定した。また、採血前の 16 時間を絶食させたメダカから血液を採取し、グルコカードプライムを使用して血糖値を測定した。

投与 4 週後に肝臓を摘出した結果、全ての投与群で顕著な色の変化はみられなかった。HFD 投与群においても色の変化はみられなかつたものの、他の投与群と比較して肝臓の肥大化が進展していることが確認できた。投与実験 8 週後に肝臓を摘出した結果、Hikari 投与群の肝臓は赤みを帯びていたものの、HFD, HFD+Hikari 投与群では肝臓が白く肥大化していることが確認された。HFD+5%_TK759m, HFD+10%_TK759m 投与群では HFD, HFD+Hikari 投与群よりも肝臓が赤みを帯びており、腫れは確認されなかつた (図 5)。

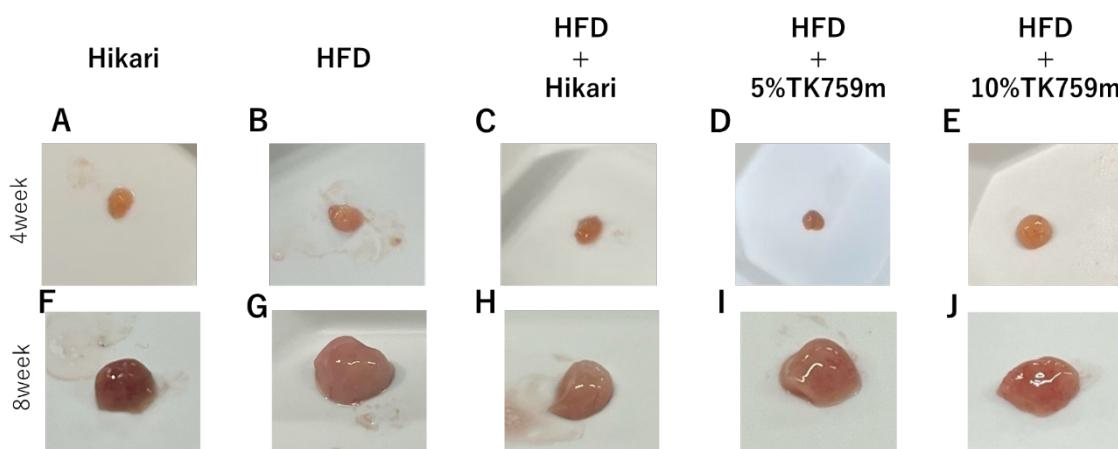


図 5. メダカに発酵豆乳を 4 週および 8 週間給餌した後の肝臓の形態変化。

そこで、投与 4 および 8 週間後における血糖値を測定した。投与後 4 週間後の血糖値の変化では HFD+Hikari 投与群と HFD+5%_TK759m, HFD+10%_TK759m との間で顕著な差は確認できなかつた。8 週間後の血糖値では、HFD + Hikari 投与群と比較して HFD+5%_TK759m、HFD+10%_TK759m 投与群の間で統計学的有意差は認められなかつたものの、減少傾向がみられた (図 6)。

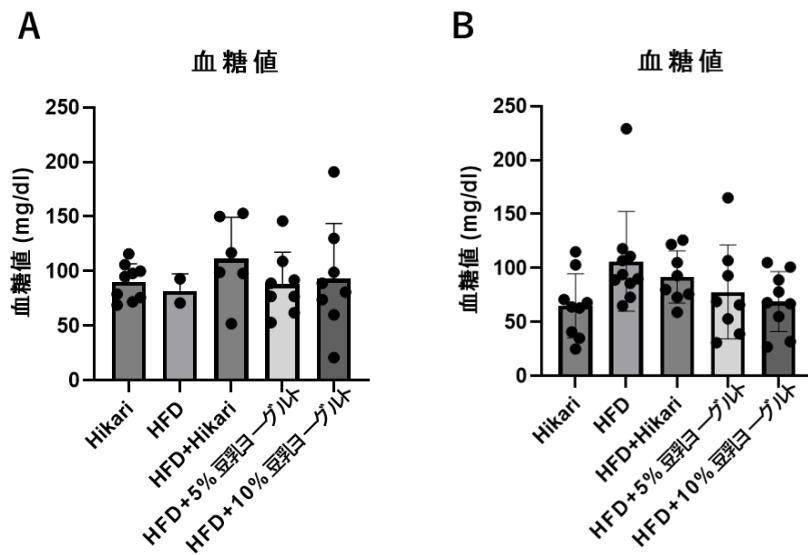


図6. 各食餌投与メダカにおける4週間後（A）および8週間後（B）の血糖値

発酵豆乳を投与した群において肝臓の色・肥大化の抑制、また血中グルコース濃度の減少がみられたことから、投与8週間後の肝臓における脂質代謝関連遺伝子群の発現量をリアルタイムPCRにて測定した。

脂肪酸合成酵素である FAS (Fatty acid synthase) および ACC (Acetyl-CoA carboxylase) は HFD+Hikari 群と比較して、豆乳ヨーグルト投与群において発現量が減少していた。また、SREBP-1 (Sterol regulatory element-binding protein) の遺伝子発現量も HFD+Hikari 群と比較して、豆乳ヨーグルト投与群において発現量の減少傾向がみられた。

ミトコンドリアにおける β 酸化の律速酵素である CPT1 (Carnitine palmitoyltransferase 1) またペルオキシソームの ACO1 (acyl-CoA oxidase 1) は、HFD 投与群と比較して顕著な減少が認められたものの、HFD+Hikari 投与群との顕著な差はみられなかった。PPAR α (peroxisome proliferator-activating receptor alpha) は、統計学的な有意差は認められなかつたものの、HFD+Hikari 投与群と比較して豆乳ヨーグルト投与群で遺伝子発現量の減少傾向がみられ、また、PPAR γ も対照群と比較して有意な遺伝子発現量の減少が認められた（図7）。

以上から、発酵豆乳を給餌することで肝臓における脂質代謝関連遺伝子の発現量が変化し、脂肪蓄積を抑制する可能性が示唆された。

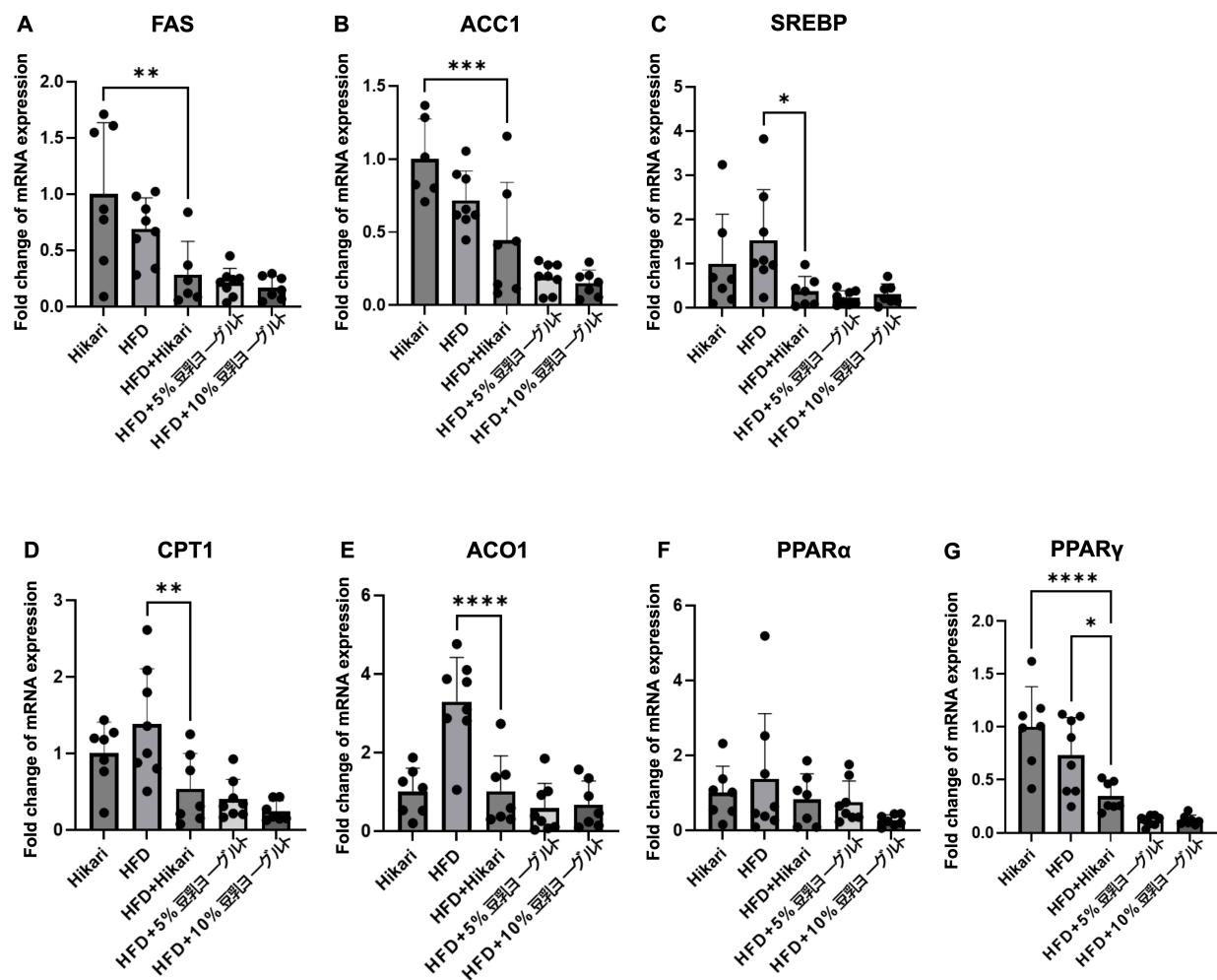


図7. 各食餌投与メダカ肝臓における脂質代謝関連遺伝子群の発現量.

(A) FAS, (B) ACC1, (C) SREBP, (D) CPT1, (E) ACO1, (F) PPAR α , (G) PPAR γ .

, $p < 0.01$, *, $p < 0.001$, ****, $p < 0.0001$, n = 6-8.

5. PM_{2.5}に起因する健康影響と食生活による予防

近年、大気汚染によるヒトの健康への影響は社会問題となっており、特に、微小粒子状物質PM_{2.5}は、肺の奥まで到達しやすく、粒子表面に様々な有害成分も吸着していることから、生活習慣病との関連が注目されている。また、環境中の化学物質が生体内に取り込まれる際には、食物成分や栄養状態が吸收や毒性の程度に影響を与えたり、特定の栄養素の要求量が増えたりする等、栄養との関連があることがわかっている。本研究では、PM_{2.5}成分を含むPM試験液を行い、日常的な高脂肪食摂取がPM_{2.5}曝露による糖代謝および脂質代謝に及ぼす影響を評価することを目的とした。C57BL/6雄性マウスに24週間高脂肪食を給餌し、週に1回生理食塩水あるいはPM試験液を腹腔内投与した。生理食塩水を投与した群をControl群、PM試験液を投与した群をPM群とした。飼育期間中に体重、摂餌量、血糖値を測定し、解剖後に血清および肝臓、脾臓、脂肪組織を回収した。得られたサンプルについて、血液生化学検査およびリアルタイムPCRによる遺伝子発現解析を行った。

実験期間中の摂餌量を比較したところ、PM群では4週目に増加傾向がみられ、6週目および22週目には有意な増加が確認された。一方、体重増加率や血糖値変化率には群間差は認められず、さらに肝臓・脾臓・脂肪組織・骨格筋の重量においても両群間で差はみられなかった。血液生化学検査の結果、PM群ではクレアチニンおよびビリルビンが高値を示し、カリウム、AST、LDHは増加傾向を示した。一方でナトリウムは低値、カルシウムは低下傾向であり、PM試験液投与により腎機能および肝機能障害が引き起こされている可能性が示唆された。さらに肝臓および脾臓、脂肪組織サンプルを用いて、糖代謝関連遺伝子発現量を解析した結果、TNF- α は肝臓で増加傾向、脾臓で増加を認め、IL-6は脾臓で増加、脂肪組織で増加傾向を示した(図8および図9)。さらには、STAT3は肝臓および脾臓で増加し、IRS-1も脾臓で有意に増加していた。TNF- α の上昇に伴うインスリン抵抗性およびIL-6/STAT3経路の活性化が誘導された可能性がある。今後、酸化ストレスマーカーを含む追加解析が必要であるが、日常的な高脂肪食摂取時におけるPM_{2.5}成分曝露は、慢性炎症と代謝異常を助長する可能性が示された。

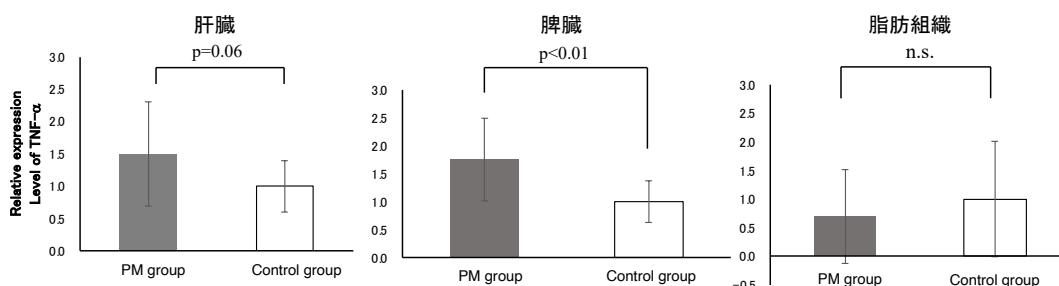


図8. 高脂肪食摂取時におけるTNF- α 遺伝子発現量の比較。

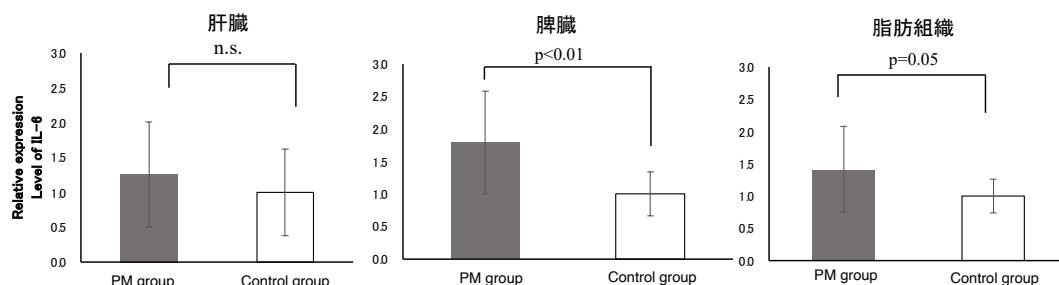


図9. 高脂肪食摂取時におけるIL-6遺伝子発現量の比較。

5. 総括

本プロジェクトでは2024年度から「環境要因や加齢現象による慢性炎症を介した生活習慣病とその予防法の探索」というテーマでワンヘルス・アプローチにおけるヒトの健康に資するプロジェクトとして始動した。生活習慣病予防やQOL向上を目指して様々な疾患の発症に関わる慢性炎症に着目し、肥満や加齢、また環境因子の観点から作用機序とその予防について取り組んだ。生活習慣病に関しては、病気になる一歩手前である「未病状態をいち早く検出する方法の確立」を目指し、AGEs等の物質の検出とその予防法について展開した。また、発酵食品に着目し、*in vitro*で効果が期待された乳酸菌および発酵食品について、マウスを使った*in vivo*試験や、さらに動物愛護の観点から倫理的に動物実験を行うための3Rの原則の観点からマウス実験の代替となり得る手法の確立のため、小型魚類であるメダカをモデル生物とした*in vivo*系での機能性評価を実施した。加えて、環境因子として大気汚染に着目し、慢性炎症と代謝異常について知見を得ることができた。以上のことから、多角的な視点からワンヘルスにおけるヒトの健康に対して農学的アプローチを展開することができた。本年度において得られた研究シーズをさらに推進・発展させることで地域・社会貢献に寄与したい。

東海大学総合農学研究所：

<https://www.u-tokai.ac.jp/education-research/research-centers/the-research-institute-of-agriculture/>

業績

<書籍等>

- (1) Nakashima N and Kinoshita H. Inhibition of Advanced Glycation End Products (AGEs) by Fermented Foods Using Lactic Acid Bacteria. *Methods in Molecular Biology*. pp 135–141 (2024)
- (2) Tomoyuki Hibi and Hideki Kinoshita. Biosorption of Histamine by Lactic Acid Bacteria for Detoxification. *Methods in Molecular Biology*. 173–183 (2024)
- (3) 日比友之, 中島勇貴, 木下英樹. 食品コロイド・ゲルの構造・物性とおいしさの科学. 「乳酸菌・発酵食品の機能性とおいしさ」. エヌ・ティー・エス, 3 編 1 章 5 節, 267-286 (2024)

<学術論文>

- (1) Yamaguchi H, Matsumura T, Sugawa H, Niimi N, Sango K, Nagai R. Glucoselysine, a unique advanced glycation end-product of the polyol pathway and its association with vascular complications in type 2 diabetes. *J Biol Chem.*, 300(7):107479, 2024.
- (2) Kato S, Matsumura T, Sugawa H, Nagai R. Correlation between serum advanced glycation end-products and vascular complications in patient with type 2 diabetes. *Sci Rep.* 14(1):18722, 2024.
- (3) Sugawa H, Ikeda T, Tominaga Y, Katsuta N, Nagai R. Rapid formation of N^{ϵ} -(carboxymethyl)lysine (CML) from ribose depends on glyoxal production by oxidation. *RSC Chem Biol.* 5(11):1140-1146, 2024.
- (4) Takahashi H, Tominaga Y, Nagai R. Rapid measurement of fumaric acid in culture medium as an evaluation of metabolic abnormality of adipocytes. *Glycative stress Res.* 11(1) 1-6, 2024.
- (5) 日比友之, 田上誠吾, 中島勇貴, 浦上雅史, 森井大貴, 安田伸, 木下英樹. 乳酸菌基準株における菌体表層ムーンライティングプロテインの網羅的解析. ミルクサイエンス. 73, 96-107, 2024.
- (6) Nakashima Y, Onuki K, Hibi T, Ohno R, Sugawa H, Tominaga Y, Yasuda S, and Kinoshita H. Soymilk yogurt fermented using *Pediococcus pentosaceus* TOKAI 759m improves mice gut microbiota and reduces pro inflammatory cytokine production. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 88, 1349-1361, 2024.
- (7) Maeda K., Hirano M., Hayashi T., Iida M., Kurata H., Ishibashi H. Elucidating Key Characteristics of PFAS Binding to Human Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Alpha: An Explainable Machine Learning Approach. *Environ. Sci. Technol.*, 58, 1, 488–497, 2024.
- (8) Iwamoto W., Ikeda T., Nishikawa H., Hirano M., Kinoshita H., Ono M., Kurogi K., Sakakibara Y., Suiko M., Yasuda S. Regulatory Effects of Antioxidants on Indoxyl Sulfate-Enhanced Intracellular Oxidation and Impaired Phagocytic Activity in Differentiated U937 Human Macrophage Cells. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 88(9), 1081–1089, 2024.
- (9) Xie, W., Kojima,T., Hokamura, A., Matsusaki, M., Zhang, D. A Protocol for measuring variations of aerosol soluble proteins content in hours at low sampling flow rate using the bicinchoninic acid (BCA) assay. *Aerosol Science and Engineering*, 8, 336-346, 2024.
- (10) 田尻絵里, 外村彩夏, 小野薫, 井形元維, 西田健朗, 荒木栄一, 下田誠也. 日本人若年成人における耐糖能障害の特徴と耐糖能に影響を及ぼす生活習慣の検討, 日本病態栄養学会誌, 27, 201-207, 2024.
- (11) Yamaguchi H, Sugawa H, Niimi,N, Sango K, Matsumura T, Nagai R. Glucoselysine, a fructose-derived advanced glycation end-product: Exploring its potential as a novel indicator of polyol pathway activity. *IMARS HIGHLIGHTS* vol. 20, Number1, 2025.
- (12) Nakashima Y, Hibi T, Urakami M, Hoshino M, Morii T, Sugawa H, Katsuta N, Tominaga Y, Takahashi H, Otomo A, Hadano S, Yasuda S, Hokamura A, Imai S, and Kinoshita H. Soymilk yogurt

- prepared using *Pediococcus pentosaceus* TOKAI 759m ameliorates cognitive function through gut microbiota modulation in high-fat diet mice. Current Research in Food Science. 10: 100993, 2025.
- (13) 米田一成, 竹下晃音, 原田祐多, 木下英樹, 荒木朋洋. 乳酸菌由来菌体表層 GAPDH のヒ酸認識メカニズムの解明. 東海大学農学部紀要.44, 1-9, 2025.
- (14) 平野将司, 森山みづき. ヒストンH2AXのリン酸化を指標としたクロロプロパンおよびクロロプロパノールのDNA損傷性評価. 東海大学農学部紀要.44, 11-17, 2025.

<学会発表>

- (1) 高橋姫乃, 富永悠幹, 永井竜児, ミトコンドリア機能異常の早期検出を目的とした有機酸の定量について, 第7回日本Uremic Toxin研究, 2024.
- (2) 高橋姫乃, 富永悠幹, 須川日加里, 永井竜児, 脂肪細胞における代謝異常評価のための簡便な有機酸測定法の確立, 第24回日本抗加齢医学会総会, 2024.
- (3) Y. Nakashima, T. Hibi, M. Urakami, T. Morii, H. Sugawa, N. Katsuta, Y. Tominaga, A. Hokamura, S. Yasuda, R. Nagai, A. Otomo, S. Hadano, S. Imai, H. Kinoshita, Soymilk yogurt using *Pediococcus pentosaceus* TOKAI 759m ameliorates cognitive function and gut microbiota in high-fat diet mice, KSBMB International Conference, 2024.
- (4) 加藤 紗優里, 永井竜児, 農学部の領域から生体AGEsの理解と測定の重要性について, 第29回糖化ストレス研究会講演会, 2024
- (5) 山口 広子, 松村 剛, 須川 日加里, 新見 直子, 三五一 憲, 永井竜児, ポリオール経路における糖化ストレスの有望な指標: グルコースリジンは2型糖尿病患者の合併症併発で増加する, 第29回糖化ストレス研究会講演会, 2024.
- (6) 友田美穂, 高橋姫乃, 永井 竜児, 抗2SC抗体の作製に必要な新規抗原の調製法, 第29回糖化ストレス研究会講演会, 2024.
- (7) J. F. Nugraha, N. Katsuta, H. Sugawa, R. Nagai, Quantification of AGEs in biological samples by mass spectrometry, 第29回糖化ストレス研究会講演会, 2024.
- (8) 勝田 奈那, 永井 美芽, 永井 竜児, ヒシ熱水抽出物によるAGEs生成抑制効果の検討, 第29回糖化ストレス研究会講演会, 2024.
- (9) 高橋 姫乃, 友田 美穂, 永井 竜児, マレイン酸修飾タンパク質に対するモノクローナル抗体の作製, 第29回糖化ストレス研究会講演会, 2024.
- (10) 富永 悠幹, 保苅 義則, 橋詰 昌幸, 永井 竜児, 生活習慣病の予防を目的としたダシによる酸化ストレス由来AGEs生成抑制効果, 第29回糖化ストレス研究会講演会, 2024.
- (11) 中島 勇貴, 熊谷 希里, 榻岡 誠介, 日比 友之, 森井 大貴, 浦上 雅史, 須川 日加里, 安田 伸, 永井 竜児, 木下 英樹, *Lactiplantibacillus plantarum* TOKAI 17 で作製した豆乳ヨーグルトによる終末糖化産物の生成抑制効果と作用分子の探索, 第29回糖化ストレス研究会講演会, 2024.
- (12) 日比 友之, 中島 勇貴, 須川 日加里, 勝田 奈那, 富永 悠幹, 浦上 雅史, 森井 大貴, 福地 雄大, 大貫 琴音, 菊川 文音, 井上 まき, 衛藤 優希, 大嶋 里菜, 友田 早紀, 中島 知華子, 寺川 みのり, 安田 伸, 永井 竜児, 木下 英樹, 乳酸菌による豆乳ヨーグルトは1型糖尿病マウスの血中AGEsレベルを低減する, 第29回糖化ストレス研究会講演会, 2024.
- (13) 浦上 雅史, 中島 勇貴, 日比 友之, 森井 大貴, 富永 悠幹, 安田 伸, 永井 竜児, 木下 英樹, 乳酸菌と麹で発酵したワカメの抗酸化及び抗糖化能の評価, 第29回糖化ストレス研究会講演会, 2024.
- (14) 加藤木 高広, 富永 悠幹, 永井 竜児, 星 良和, 異なる培地成分がトウカイコモウセンゴケのフェノール性化合物の生産に及ぼす影響, 第29回糖化ストレス研究会講演会, 2024.
- (15) 野嶋 純, 山崎 拓実, 永井 竜児, 榎本 哲郎, MG-H1測定ELISAの開発, 第29回糖化ストレ

ス研究会講演会, 2024.

- (16) 中嶋 圭介, 宮下 裕幸, 吉満 斎, 藤原 章雄, 永井 竜児, 池田 剛, ノブドウ果実から単離した天然化合物の抗糖化活性に関する研究, 第29回糖化ストレス研究会講演会, 2024.
- (17) Y. Nakashima, T. Hibi, M. Urakami, T. Morii, H. Sugawa, N. Katsuta, Y. Tominaga, A. Hokamura, S. Yasuda, R. Nagai, A. Otomo, S. Hadano, S. Imai, H. Kinoshita, Improvement of cognitive function in HFD mice by soymilk yogurt and comprehensive analysis of hippocampus proteins, 第132回日本畜産学会, 2024.
- (18) H. Yamaguchi, H. Sugawa, N. Niimi, K. Sango, T. Matsumura, R. Nagai. Glucoselysine, a fructose-derived advanced glycation end product: Exploring its potential as a novel indicator of polyol pathway activity. The 15th International Maillard Reaction Society., 2024.
- (19) S. Kato, R. Nagai, T. Matsumura. Evaluation of AGEs levels in sera using new pretreatment system for detection of diabetic vascular damages. The 15th International Maillard Reaction Society., 2024.
- (20) N. Katsuta, H. Sugawa, R. Nagai. Development of methods for measuring AGEs and 2SC in mice sperm. The 15th International Maillard Reaction Society., 2024.
- (21) H. Yamaguchi, R. Nagai. Rapid, efficient, and one-step synthesis of succinated thiol compounds. The 15th International Maillard Reaction Society., 2024.
- (22) Y. Tominaga, T. Katogi, Y. Hoshi, R. Nagai, Establishment of culture method for industrial use of *Drosera* sp. targeting anti-glycation activity. The 15th International Maillard Reaction Society., 2024.
- (23) 山口 広子、須川 日加里、新見 直子、三五 一憲、松村 剛、永井 竜児, フルクトース特異的な終末糖化産物であるグルコースリジンからみるポリオール経路。第34回日本メイラード学会年会, 2024.
- (24) 高橋 姫乃、友田 美穂、永井 竜児, マレイシン酸修飾タンパク質を免疫して得られた抗体の反応性について。第34回日本メイラード学会年会, 2024.
- (25) 加藤 紗優里, 松村 剛, 須川 日加里, 永井 竜児, 多検体 AGEs 定量と 2型糖尿病患者における血管合併症との関連性評価, 第97回日本生化学会, 2024.
- (26) 山口 広子, 松村 剛, 須川 日加里, 新見 直子, 三五 一憲, 永井 竜児, ポリオール経路由来の終末糖化産物は糖尿病血管合併症の発症で増加する, 第39回日本糖尿病合併症学会, 2024.
- (27) Yuki Nakashima, Tomoyuki Hibi, Masafumi Urakami, Taiki Morii, Hikari Sugawa, Nana Katsuta, Yuki Tominaga, Ayaka Hokamura, Shin Yasuda, Ryoji Nagai, Asako Otomo, Shinji Hadano, Saki Imai, Hideki Kinoshita. Soymilk yogurt using *Pediococcus pentosaceus* TOKAI 759m ameliorates cognitive function and gut microbiota in high-fat diet mice. KSBMB International Conference 2024. South Korea. 2024.
- (28) Tomoyuki Hibi, Yuki Nakashima, Masafumi Urakami, Taiki Morii, Shin Yasuda, Kazunari Yoneda, Masashi Hirano, Takeshi Shimosato and Hideki Kinoshita. Moonlighting proteins of lactic acid bacteria induce immune responses in macrophage cells. KSBMB International Conference 2024. South Korea. 2024.
- (29) Masafumi Urakami, Yuki Nakashima, Tomoyuki Hibi, Taiki Morii, Shin Yasuda and Hideki Kinoshita. Development of a new functional fermented food using *Undaria pinnatifida*. KSBMB International Conference 2024. South Korea. 2024.
- (30) Hideki Kinoshita, Kotone Onuki, Yuki Nakashima, Tomoyuki Hibi, Masafumi Urakami, Taiki Morii, Shin Yasuda. Screening of lactic acid bacteria with anti-inflammatory effects and evaluation of anti-inflammatory effects of fermented fruits and vegetables based on soymilk. KSBMB International Conference 2024. South Korea. 2024.

- (31) Rongtao Zhang, Mehes Gabor, Hideki Kinoshita, and Takeo Miyake. Molecular delivery into bacteria with nanotube stamp system. The 11th International Conference on Molecular Electronics & Bioelectronics (M&BE11). Shimane, Japan. 2024.
- (32) Saki Imai, Ryoga Kawata, Moe Tazawa, Kazuma Asada, Hirokazu Matsumoto, Yasuhiko Ohoba. Usp46 mutant mice have impaired mounting behavior. NERUO2024, Fukuoka, Japan. 2024.
- (33) 中島勇貴, 熊谷希里, 櫻岡諒介, 日比友之, 森井大貴, 浦上雅史, 須川日加里, 安田伸, 永井竜児, 木下英樹. *Lactiplantibacillus plantarum* TOKAI 17 で作製した豆乳ヨーグルトによる終末糖化産物の生成抑制効果と作用分子の探索. 第 29 回糖化ストレス研究会. 熊本. 2024.
- (34) 日比友之, 中島勇貴, 須川日加里, 勝田奈那, 富永悠幹, 浦上雅史, 森井大貴, 福地雄大, 大貫琴音, 菊川文音, 井上まき, 衛藤優希, 大嶋里菜, 友田早紀, 中島知華子, 寺川みのり, 安田伸, 永井竜児, 木下英樹. 乳酸菌による豆乳ヨーグルトは 1 型糖尿病マウスの血中 AGEs レベルを低減する. 第 29 回糖化ストレス研究会. 熊本. 2024.
- (35) 浦上雅史, 中島勇貴, 日比友之, 森井大貴, 富永悠幹, 安田伸, 永井竜児, 木下英樹. 乳酸菌と麹で発酵したワカメの抗酸化及び抗糖化能の評価. 第 29 回糖化ストレス研究会. 熊本. 2024.
- (36) Yuki Nakashima, Tomoyuki Hibi, Masafumi Urakami, Taiki Morii, Hikari Sugawa, Nana Katsuta, Yuki Tominaga, Ayaka Hokamura, Shin Yasuda, Ryoji Nagai, Asako Otomo, Shinji Hadano, Saki Imai, Hideki Kinoshita. Improvement of cognitive function in HFD mice by soymilk yogurt and comprehensive analysis of hippocampus proteins. 日本畜産学会第 132 回大会. 京都. 2024.
- (37) 森井大貴, 角替健斗, 東野虎太朗, 菊川文音, 中島勇貴, 日比友之, 浦上雅史, 安田伸, 木下英樹. スキムミルク中における *Geotrichum candidum* の生育促進因子の探索と乳酸菌との共生関係の解明. 日本畜産学会第 132 回大会. 京都. 2024.
- (38) 日比友之, 中島勇貴, 浦上雅史, 森井大貴, 安田伸, 米田一成, 平野将司, 下里剛士, 木下英樹. 様々な生物種におけるグリセルアルデヒド-3-リン酸脱水素酵素 (GAPDH) の立体構造比較. 日本畜産学会第 132 回大会. 京都. 2024.
- (39) 平野将司, 内田雅也, 有薗幸司, 石橋弘志. アミ類における有機ハロゲン化合物の毒性影響と QSAR モデルによる毒性評価. 日本内分泌搅乱物質学会第 26 回研究発表会. 東京. 2024.
- (40) 石橋弘志, 松原健太, 長谷川拓人, 内田雅也, 富永伸明, 有薗幸司, 平野将司. メダカに対する PFAS のエストロゲン様作用: *in silico* および *in vivo* による評価. 日本内分泌搅乱物質学会第 26 回研究発表会. 東京. 2024.
- (41) 宮坂雄暉, 森山響, 平野将司. 短鎖有機フッ素化合物と PPAR γ の相互作用評価. 令和 6 年度 化学関連支部合同九州大会. 福岡. 2024.
- (42) 内田紗羽, 長田鈴帆, 平野将司, 水川薰子, 櫻井健郎, 小林淳. ポリフルオロアルキルリン酸エステル類のメダカへの毒性影響評価. 第 3 回環境化学物質合同大会. 広島. 2024.
- (43) 幸田惇志, 内田雅也, 平野将司, 富永伸明, 有薗幸司, 石橋弘志. 初期生活段階のメダカに対する GenX 類縁化合物の発生毒性および抗エストロゲン様作用の評価. 第 3 回環境化学物質合同大会. 広島. 2024.
- (44) 井手拓人, 吉田省真, 唐渡龍平, 佐藤祐介, 田尻絵里, 下田誠也, 外村彩夏, 正常マウスにおける PM_{2.5} 成分曝露による糖代謝への影響, 第 77 回日本栄養・食糧学会大会, 福岡, 2024.
- (45) 唐渡龍平, 久留主理人, 戸田匠紀, 本田正義, 阿部英喜, 白土英樹, 外村彩夏, ポリヒドロキシアルカン酸合成におけるペクチンの利用, 第 77 回日本栄養・食糧学会大会, 福岡, 2024.
- (46) 田尻絵里, 外村彩夏, 下田誠也, 大学生の 3 年間における肥満化および BMI 増加と食生活習慣との関連, 第 71 回日本栄養改善学会, 大阪, 2024.
- (47) 船越 さゆり、堀 彩葉、富永 悠幹、加藤木高広、佐伯 爽、永井 竜児、星 良和, 2 倍体および 4 倍体コモウセンゴケのフェノール性化合物を中心とした分類学的研究、24 回植物分類学会大会, 2025.

<招待講演>

- (1) Nagai R. The impact of glycation and succination in health and disease. The International Maillard Reaction Society (IMARS), IMARS-15, Maastricht, September 19, 2024.
- (2) Nagai R, Yamaguchi H, Kato S, Takahashi H, Tominaga Y, Katsuta N, Sugawa H, Naga M. The relationship between age-related diseases and AGEs and their inhibition by food components. The 36th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology and International Conference (TSB2024), Thailand, November 14-16, P41, 2024.
- (3) Ryoji Nagai, Hiroko Yamaguchi, Sayuri Kato, Himeno Takahashi, Mime Nagai, Yuki Tominaga, Nana Katsuta, Hikari Sugawa, The importance of evaluating AGEs levels in organisms 11月7日、第97回日本生化学会シンポジウム, 2024.
- (4) 永井竜児、山口広子、加藤紗優里、高橋姫乃、富永悠幹、永井美芽、勝田奈那、須川日加里、AGEs のマーカーおよび病態進展に伴う役割、第29回糖化ストレス研究会講演会, 2024.
- (5) 永井竜児、山口広子、加藤紗優里、高橋姫乃、富永悠幹、永井美芽、勝田奈那、須川日加里、AGEs 測定で見えてきた代謝の異常と病態進展とのつながり、2024年11月30日：東海大学・熊本大学連携シンポジウム。
- (6) 永井竜児、山口広子、富永悠幹、加藤紗優里、佐藤優、高橋姫乃、勝田奈那、須川日加里、AGEs とは何か、その測定意義について. 2024年4月24日：福岡脳神経外科病院
- (7) 永井竜児、山口広子、加藤紗優里、高橋姫乃、富永悠幹、永井美芽、勝田奈那、須川日加里、AGEs 及び2SC 測定を指標とした代謝異常の検出およびアンチエイジング. 2024年12月20日：ロートリサイチビレッジ京都.

<受賞>

- (1) 木下英樹. Kumamoto City Pitch・再春館共創ラボラトリー賞
- (2) 日比友之. 第29回糖化ストレス研究会・奨励賞
- (3) 中島勇貴. KSBMB International Conference 2024・Travel Grant
- (4) 中島勇貴. 第132回 日本畜産学会・English Presentation Award
- (5) 山口広子 第34回日本メイラード学会・若手奨励賞
- (6) 山口広子 第29回糖化ストレス研究会・奨励賞
- (7) 加藤紗優里 第29回糖化ストレス研究会・奨励賞