

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：23803

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16H03041

研究課題名(和文)生活習慣病の慢性炎症を惹起する腸管由来エンドトキシンのプロファイル解析

研究課題名(英文)Profiling analysis of intestinal endotoxins associated with chronic inflammation in lifestyle-related diseases

研究代表者

三好 規之(Miyoshi, Noriyuki)

静岡県立大学・食品栄養科学部・准教授

研究者番号：70438191

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,900,000円

研究成果の概要(和文)：生活習慣病の要因として、腸内細菌叢の悪化に伴う慢性炎症が重要視されている。腸内細菌が産生する最も強力な炎症誘導物質は、グラム陰性細菌の細胞壁構成分子リポ多糖(LPS)である。生活習慣病患者ではLPSが腸管から血中に移行し高LPS血症を呈するが、LPSは腸内環境に依存した化学修飾を受けるため活性は一様ではない。LPSの脂溶性ユニットであるlipid Aは、LPSのエンドトキシン活性を担う最小単位である。菌種や生育条件に依存したlipid A構造の変化はエンドトキシン活性に強く影響する。本研究では、生活習慣病の新規の予防・治療・診断法確立に向けたLPSの活性変化に関する基礎研究を展開した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、高LPS血症に関連する各疾患発症メカニズムの解明および早期診断の基盤データの構築を目的とし、これまで全く手付かずの腸管内lipid Aプロファイルの分析化学的解析と生理活性解析に取り組んだ。Lipid Aはそれ自身が直接的に炎症を制御する分子であるため、今後さらに詳細な検討により、腸内環境で疾患依存的に変動するlipid Aの法則が解明されれば、非侵襲的な早期診断が可能になる。

研究成果の概要(英文)：Chronic inflammation associated with deterioration of intestinal flora is regarded as an important factor for lifestyle-related diseases. The most potent inducer of inflammation produced by enterobacteria is the cell wall constituent lipopolysaccharide (LPS) of Gram-negative bacteria. In patients with lifestyle-related diseases, enterobacterial LPS transfers into the blood, which triggers metabolic endotoxemia (hyper-LPS), although LPS undergoes chemical modification depending on the intestinal environment, therefore its activity is not uniform. Lipid A, a lipophilic unit of LPS, is the minimum unit responsible for endotoxin activity of LPS. Changes in lipid A structure depending on bacterial species and growth conditions strongly influence endotoxin activity. In this study, we developed basic research on changes in LPS activity toward the establishment of new prevention, treatment and diagnostic methods for lifestyle-related diseases.

研究分野：食品機能学

キーワード：炎症

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

腸内細菌叢のメタゲノム解析より、食生活・加齢・疾患などの環境要因や遺伝的要因により腸内細菌叢の構成比が変化することが詳細にわかってきた。このような解析から宿主と腸内細菌叢が相互に影響・作用していることや、腸内細菌叢の変化が宿主の genotype に依存しない生理的・病理的表現型を決定・誘導する最も重要な要素の一つであることが多くの科学的エビデンスにより明確に示されつつある。例えば、肥満や糖尿病由来の腸内細菌を無菌マウスに移植すると、宿主の genotype に依存しないドナー由来の表現型(インスリン抵抗性、肥満、高血糖、高脂血症など)を示し(*Nature*, 444, 2006、*Science*, 328, 2010、*Cell*, 150, 2012 など)、抗生物質による除菌の結果、肥満や過食の症状までもが抑制される(*Science*, 328, 2010)。ヒト妊婦の腸内細菌叢を無菌マウスへ移植すると肥満やインスリン抵抗性を示すなど、動物種を超えて表現系が誘導されることも報告されている(*Cell*, 150, 2012)。それゆえ、これらの表現型を誘導する化合物の存在が強く示唆されており、異なる腸内環境で有意に変動するいくつかの活性分子が同定されている。例えば、ビフィズス菌の糖代謝産物として産生された酢酸が腸管出血性大腸菌 O157:H7 感染死予防に効果を示す可能性や(*Nature*, 469, 2011)、酪酸による制御性 T 細胞の分化制御(*Nature*, 504, 2013)、2 次胆汁酸(デオキシコール酸)による炎症誘導活性(*Nature*, 499, 2013)、さらには腸内常在菌細胞壁構成成分であるポリサッカライド A (PSA) などの糖鎖が Th1/Th2 バランスを整え、大腸炎に対して保護作用を示すことが報告されている(*Cell*, 122, 2005、*Nature*, 453, 2008)。一方、ヒトにおける腸内細菌叢の悪化は肥満やメタボリック症候群だけでなく、現代の 3 大死因である、がん・心疾患・脳血管疾患、さらに痴呆など多くの病気と関係していることが指摘されている。その一つの理由として、これら疾患の共通リスク要因として炎症があり、腸内細菌叢の変化に伴う低レベルの持続的な低レベルの炎症(自然炎症)が様々な疾患を惹起・進行・重症化させることが示唆されている。申請者は上述の知見に基づき、疾患モデル動物腸管内容物および糞便に含まれる起炎性分子の探索・同定解析を遂行した。現在までに複数の疾患モデル動物試料(糞便、腸管内容物)を採取・調製し、疾患群糞便に起炎性化合物が有意に高い割合で存在することを見出している。

一方で、腸管内容物や糞便の成分抽出(Bligh&Dyer 法)では変性タンパク質を主成分とする中間層にリポ多糖(lipopolysaccharide:LPS)が分画される。LPS は O 抗原およびコア多糖と呼ばれる糖鎖と、lipid A と呼ばれる脂質から成る分子量 5000 ~ 8000 程度のリポ多糖であり、toll 様受容体(TLR)を介した免疫系の過剰な活性化による致死性のショックを誘導する内毒素(エンドキシン)である。肥満、2 型糖尿病、冠動脈疾患、脂肪肝などでエンドキシンによる TLR - NF- κ B 経路を介した免疫活性化が認められていることや、高脂肪食負荷後に血中エンドキシン濃度が上昇することから、腸管微生物由来の LPS の一部が血中に移行し、生活習慣病に関連する低レベルの慢性炎症シグナルの引き金を引く可能性が示唆されている(*Diabetes*, 35, 2012)。

LPS の脂溶性ユニットである lipid A は、LPS のエンドキシン活性を担う最小単位であり、リン酸基が結合したグルコサミン 2 分子に脂肪酸が複数結合した複雑な化学構造をとる。菌種や生育条件(培養温度、pH、金属イオン濃度など)に依存した lipid A 構造の変化・多様性(リン酸基の有無、結合しているアシル基炭素鎖の数、長さなど)はエンドキシン活性に強く影響しており、一般的に、リン酸基が 1 つのものや脂肪酸部分が小さい構造のものは弱毒性あるいは無毒である。それゆえ、1 リン酸化型の lipid A アナログは、抗アルツハイマー病効果(*PNAS*, 110, 2013)や抗インフルエンザ効果(*Nature*, 497, 2013)などの有益な薬理作用(免疫賦活活性)を示すことも報告されており、子宮頸がんワクチン(Cervarix R)のアジュバントとしても使用されている。それゆえ、生体内の lipid A プロファイルを取得し、lipid A の生体に対する功罪活性を制御することで、慢性炎症性疾患の診断・予防・治療戦略になる。それゆえ、本研究目的の達成のために、糞便・血液など生体試料に含まれる lipid A の構造活性相関を分析化学的によりクリアにする必要がある。

研究代表者は、lipid A 分析に関するノウハウを蓄積させ、良好な分離条件で感度良く安定に検出できる LC-MS 分析条件を見出した。本研究では、生体内 lipid A プロファイルを分析化学的に取得し、各疾患発症メカニズムの解明および早期診断の基盤データを構築する。

2. 研究の目的

腸内環境に大きく影響する腸内細菌叢は、食事など様々な環境要因に強く影響を受ける変動の激しい集団であるゆえ、純培養やメタゲノム解析により特定の原因菌種を同定するよりも、代謝物、特に特定のパターン化された分子群を同定することの方が、コストも安く、より広範囲な応用が可能であり、診断精度も優れている。本研究では、非侵襲的に大量にサンプル採取が可能である糞便試料の質量分析を軸とした分析化学により腸管内 lipid A プロファイルを取得し、in vitro および in vivo 生物活性解析を介した lipid A の功罪活性解明を目指す。

3. 研究の方法

大腸菌からの lipid A 抽出

OD₆₀₀=0.05-0.07 になるように、37°C で一晩振盪培養した培地を LB 培地 10 ml に植菌し、OD₆₀₀=0.8-1.0 になるまで 37°C で振盪培養した。遠心分離により回収したペレットを 1×PBS で 2 回洗浄し、1×PBS 2 ml で再懸濁した。Chloroform 2.5 ml と methanol 5 ml を加え(単相 Bligh-Dyer 液)よく攪拌し、室温で 20 分間インキュベートした。遠心分離により回収したペレットに 1×PBS 0.8 ml、chloroform 1 ml、methanol 2 ml を加え(単相 Bligh-Dyer 液)よく攪拌した。室温で 10 分間インキュベートした。遠心分離により回収したペレットに、10 mM TEA-citrate 2.7 ml を加え、

よく攪拌後、ソニケーションでサンプルを粉碎し、酸加水分解 (100°C, 90 min) した。Chloroform 3 ml と methanol 3 ml を加え (2 相 Bligh-Dyer 液) よく攪拌し、遠心分離後、下層を回収し、15 ml 試験管に移した。残った上層にさらに chloroform 3 ml を加え、よく攪拌し、再度抽出回収した。回収した下層 (lipid A サンプル) を N₂ ガスである程度気化させ、ガラスバイアルへ移し、60°C で加熱しながら N₂ ガスで lipid A サンプルを乾固させた。

Lipid A の LC-MS 分析

サンプルをクロロホルム 10 µl で溶解し、さらにメタノール 90 µl を加えた。遠心分離 (13000 rpm, 5 min) し、沈殿物を取り除いた溶液を LC-MS (Waters 社 UPLC およびブルカーダルトニクス社 microTOFQII) に供した。カラムは ACQUITY UPLC® BEH C18 (1.7 µm 2.1×50 mm) 移動相は solution A が 10 mM ammonium acetate buffer : methanol = 8 : 2 (pH 9.6) solution B が methanol を用いたリニアグラジエントにより流速 0.4 ml/min で scan range *m/z* 500~2000 にて分析を行った。

THP-1 細胞の培養

THP-1 細胞を 1.0×10⁶ cell/ml となるよう 6 well dish に 1.5 ml ずつ播種した。大腸菌サンプルを 1×PBS で洗浄、懸濁し THP-1 細胞に曝露した (MOI=1~100) 37°C で 1h インキュベート後、100 µg/ml gentamicin を曝露し、大腸菌を死滅させた。さらに 37°C で 5h インキュベート後、細胞を回収し RT-qPCR により炎症性サイトカイン遺伝子発現量を解析した。

Lipid A 生合成遺伝子欠損株の作成

Red/ET recombination 法を用いて *E. coli* MC1061 の *lpxM* を欠損させペンタアシル Lipid A を産生する MC1061 Δ *lpxM* 株と、*lpxL* と *lpxM* を欠損させテトラアシル Lipid A を産生する MC1061 Δ *lpxL* Δ *lpxM* 株を作製した。

4. 研究成果

Lipid A リン酸基の *pKa* と ESI-TOF-MS でのイオン化効率を考慮した弱塩基条件で LPS (*E. coli* 標品) の酸加水分解物を UPLC-TOF-MS で分析したところ、リピド A を良好な分離で感度良く検出できることが確認できた。しかし、汎用されている条件での LPS 酸加水分解 (1% 酢酸, 100°C, 60 分) では、リピド A のリン酸基やアシル基が脱離した分解物が多数検出された。そのため、調製条件を再検討し、10 mM triethylamine-citrate 溶液を用いた酸加水分解で、リピド A を安定に調製することが可能となった。さらに、実試料分析のための前処理条件を検討し、固相抽出カラム (陰イオン交換) を用いた試料の精製条件を確立した (回収率: 約 80%)。これら確立したサンプル調製法、LC-MS 条件を用い、C57BL/6J マウス糞便からリピド A を調製し LC-MS に供した結果、いくつかのリピド A 様ピークが検出された。そのうちのひとつ (*m/z* 1420.9) について、イオントラップ型 MS を用いたリピド A の構造解析 (多段階 MS_n) を行ったところ、新規のリピド A 構造である可能性が示唆された。

一方、大腸菌などでは、培養条件に依存した lipid A 化学修飾によるエンドトキシン活性の変化が報告されており、食事や腸内環境の変化に応じて大腸菌 lipid A の構造・活性は多様化すると推測される。また、lipid A アナログである monophosphoryl lipid A (MPL) やエリトランは TLR-4 のアンタゴニストであり免疫賦活活性を示す。それゆえ、MPL やエリトランは、インフルエンザやアルツハイマーに抑制的な効果を示すことが報告されている。それゆえ次に、lipid A のエンドトキシン活性制御を目的として、食品成分の曝露による大腸菌 lipid A の構造変化と炎症活性を評価した。複数種類の食品成分を大腸菌に曝露し、薄層クロマトグラフィー (TLC) や MS infusion により lipid A 構造の変化を解析した。その結果、クエン酸を曝露した大腸菌 lipid A の一部の構造変化を確認した。この構造変化はクエン酸の酸性、またはキレート作用によるものと推測し、大腸菌を pH 5.0、EDTA 添加 LB 培地で培養し lipid A を分析したところ、同一の R_f 値および MS イオンピークが検出された。MS/MS スペクトルや文献情報から、この lipid A はパルミチン酸化 lipid A であると同等した。さらに、クエン酸曝露を嫌氣的に行うと、パルミチン酸化 lipid A 産生量が増大した。しかし、クエン酸の高濃度曝露では pH の過度の低下を引き起こし、パルミチン酸化 lipid A の産生量の減少が確認されたが、クエン酸 Na を用いることで pH の低下を防ぎ、パルミチン酸化 lipid A 産生が促進された。また、THP-1 細胞における炎症性サイトカイン TNF- α の発現誘導において、パルミチン酸化 lipid A は大腸菌の天然型 lipid A に比べ有意に低値を示した。

E. coli の天然型 lipid A は、2 つのリン酸基、6 つのアシル基 (C14:C12 = 5:1) を持つヘキサアシル lipid A、バクテロイデス門の *P. gingivalis* は 1 つのリン酸基、5 つのアシル基

(C15:C16:C17=1:2:2) を持つペンタアシル lipid A を産生する。加えて、*E. coli* などいくつかの菌種においては、培養条件に依存した lipid A 化学修飾によるエンドトキシン活性の変化が報告されており、食事や腸内環境の変化に応じて lipid A の構造・活性は多様化すると推測される。それゆえ次に、異なる lipid A 構造が誘導する炎症活性を詳細に検討する目的で、*E. coli* lipid A 生合成遺伝子の一部である *lpxL*、*lpxM* を欠損させた菌株を作製し、ヒト単球細胞 THP-1 に曝露したときの炎症性サイトカイン遺伝子発現への影響を検討した。その結果、MC1061 *lpxL*/*lpxM* 株曝露における TNF- α の発現誘導は MC1061 WT と比較して有意に低値であった。一方、TGF- β 遺伝子の発現量は、MC1061 WT および *lpxL*/*lpxM* 株で有意な差は認められなかった。以上より、MC1061 Δ *lpxL* Δ *lpxM* 株曝露における TNF- α 遺伝子の発現量が MC1061 WT と比較して有意に低値を示したことで LPS 受容体である TLR4 の下流シグナルが抑制されている可能性が示唆された。このことより、*E. coli* Lipid A アシル基の欠損による、炎症活性の減弱化が示唆された。また、*in vitro* の試験系より、クエン酸 Na を嫌氣的に大腸菌に曝露することでも、起炎症活性が抑制された lipid A 修飾が効率的に誘導されることを見出した。今後は、動物試験や複数の食品成分の相加相乗効果についても検討し、生活習慣病の新規予防・治療法の確立を目指す。さらに、本研究では LC-MS を用いたリポド A 分析法を開発し、生体試料分析に応用することで、糞便試料に含まれるリポド A 検出に初めて成功し、その構造を予測することが可能となった。今後、さらなる分析の高感度化を検討し、血液や糞便試料に応用することで、生活習慣病におけるリポド A 動態の解明を目指す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Sanada Shunsuke, Suzuki Takuji, Nagata Akika, Hashidume Tsutomu, Yoshikawa Yuko, Miyoshi Noriyuki	4. 巻 10
2. 論文標題 Intestinal microbial metabolite stercobilin involvement in the chronic inflammation of ob/ob mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 6479
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-63627-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Uchikawa Misaki, Kato Mai, Nagata Akika, Sanada Shunsuke, Yoshikawa Yuto, Tsunematsu Yuta, Sato Michio, Suzuki Takuji, Hashidume Tsutomu, Watanabe Kenji, Yoshikawa Yuko, Miyoshi Noriyuki	4. 巻 10
2. 論文標題 Elevated levels of proinflammatory volatile metabolites in feces of high fat diet fed KK-Ay mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 5681
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-62541-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Hashidume Tsutomu, Sakano Taiken, Mochizuki Ayaka, Ito Keisuke, Ito Sohei, Kawarasaki Yasuaki, Miyoshi Noriyuki	4. 巻 8
2. 論文標題 Identification of soybean peptide leginsulin variants in different cultivars and their insulin-like activities	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 16847
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-018-35331-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Hashidume Tsutomu, Sasaki Kaori, Hirata Jun, Kato Mai, Yoshikawa Yuko, Iwasaki Yusaku, Arai Hidekazu, Miura Shinji, Miyoshi Noriyuki	4. 巻 66
2. 論文標題 Effects of Sanyaku and Its Constituent Diosgenin on the Fasted and Postprandial Hypertriacylglycerolemia in High-Fat-Diet-Fed KK-Ay Mice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Agricultural and Food Chemistry	6. 最初と最後の頁 9968 ~ 9975
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.jafc.8b03040	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoshikawa Yuko, Katayanagi Yuki, Kamiya Manatsu, Yamamoto Yuri, Fukutomi Ryuta, Imai Shinjiro, Miyoshi Noriyuki, Ohashi Norio	4. 巻 49
2. 論文標題 Tomato saponin supplementation ameliorates the development of experimental arthritis by regulating inflammatory responses	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Functional Foods	6. 最初と最後の頁 458 ~ 464
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jff.2018.09.009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Iwai K, Yoshikawa Y, Miyoshi N, Fukutomi R, Asada K, Ohashi N.	4. 巻 23
2. 論文標題 Effects of Short-Term Intake of Wheat Bran with Different Particle Sizes on the Murine Intestinal Environment.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Food Sci. Tech. Res.	6. 最初と最後の頁 733-742
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.3136/fstr.23.733	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nuka E, Tomono S, Ishisaka A, Kato Y, Miyoshi N, Kawai Y.	4. 巻 80
2. 論文標題 Metal-catalyzed oxidation of 2-alkenals generates genotoxic 4-oxo-2-alkenals during lipid peroxidation.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Biosci Biotechnol Biochem.	6. 最初と最後の頁 2007-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1080/09168451.2016.1191334.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miyoshi N.	4. 巻 80
2. 論文標題 Chemical alterations and regulations of biomolecules in lifestyle-related diseases.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Biosci Biotechnol Biochem.	6. 最初と最後の頁 1046-53.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1080/09168451.2016.1141037.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakamura T, Miyoshi N, Ishii T, Nishikawa M, Ikushiro S, Watanabe T.	4. 巻 80
2. 論文標題 Activation of transient receptor potential ankyrin 1 by quercetin and its analogs.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Biosci Biotechnol Biochem.	6. 最初と最後の頁 949-54
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1080/09168451.2015.1132148.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Onuma W, Tomono S, Miyamoto S, Fujii G, Hamoya T, Fujimoto K, Miyoshi N, Fukai F, Wakabayashi K, Mutoh M.	4. 巻 7
2. 論文標題 Irsogladine maleate, a gastric mucosal protectant, suppresses intestinal polyp development in Apc-mutant mice.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 8640-52
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.18632/oncotarget.7082.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hayakawa S, Saito K, Miyoshi N, Ohishi T, Oishi Y, Miyoshi M, Nakamura Y.	4. 巻 17
2. 論文標題 Anti-Cancer Effects of Green Tea by Either Anti- or Pro- Oxidative Mechanisms.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Asian Pac J Cancer Prev.	6. 最初と最後の頁 1649-54
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 1件/うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Noriyuki Miyoshi
2. 発表標題 Identification of pro-inflammatory fecal volatile metabolites in high fat diet fed diabetic KK-Ay mice
3. 学会等名 ICoFF2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sayaka Ohashi, Tsutomu Hashidume, Noriko Ishiduka, Hisayoshi Hayashi, Yasuaki Kawarasaki, Kenji Watanabe, Yuko Yoshikawa, Noriyuki Miyoshi
2. 発表標題 Assay for proinflammatory activity of structurally modified lipid A.
3. 学会等名 第23回静岡健康・長寿学術フォーラム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sayaka Ohashi, Tsutomu Hashidume, Noriko Ishiduka, Hisayoshi Hayashi, Yasuaki Kawarasaki, Kenji Watanabe, Yuko Yoshikawa, Noriyuki Miyoshi
2. 発表標題 Lipid A biosynthesis in E. coli cultured in metal-depletion
3. 学会等名 Shizuoka ICPF 2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 加藤麻衣、橋詰力、庄司豊、庄司（加藤）久美子、五十嵐美樹、早川清雄、吉川悠子、三好規之
2. 発表標題 高脂肪食を摂取したNASH 肝発がんモデルマウス糞便中揮発性化合物の分析
3. 学会等名 第72回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大橋咲香、橋詰力、三好規之
2. 発表標題 グラム陰性菌リポ多糖構成分子lipid AのLC-MS分析法の開発
3. 学会等名 第40回日本分子生物学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 三好規之、望月綾香、坂野太研
2. 発表標題 大豆ペプチド leginsulin のバリエーション解析と生理活性
3. 学会等名 第70回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Noriyuki Miyoshi
2. 発表標題 Soybean peptide leginsulin homologues in different cultivars and their insulin-like activities
3. 学会等名 The 3rd International Conference on Pharma and Food (国際学会)
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

http://dfns.u-shizuoka-ken.ac.jp/labs/biochem/

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	渡辺 賢二 (Watanabe Kenji) (50360938)	静岡県立大学・薬学部・教授 (23803)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	吉川 悠子 (Yoshikawa Yuko) (00580523)	日本獣医生命科学大学・獣医学部・講師 (32669)	