

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 27 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H02932

研究課題名(和文) 消化管内における栄養素フローの時空間的解析と管腔内センシング人工モデルの開発

研究課題名(英文) Temporal-spatial analysis of nutrient flow in the gastrointestinal tract and development of the artificial organ for flow sensing

研究代表者

谷 史人(Tani, Fumito)

京都大学・農学研究科・教授

研究者番号：70212040

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：咀嚼・嚥下された食塊が、食道から大腸に至るまで消化管内でどのように流動し、多数の栄養素がどのように相互作用しながら消化・吸収されていくのか、その過程の詳細については不明である。本課題では、食品成分の組成のみならず形状や物性が、栄養素の分布や腸管細胞の応答に影響することに着目し、数十ミクロンの空間分解能でのイメージング質量分析(IMS)と顕微鏡的可視化手法を駆使して、腸管内における栄養素の経時的・空間依存的な分布を解析し、腸管細胞が消化物の物性をどのように感知し、栄養素の代謝を制御するかについて解析した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

健康長寿には腸機能の健全性は欠かせない。過敏性腸症候群といった腸関連疾患や肥満をはじめとする多くの生活習慣病に対する予防は、進化の過程で生まれた我々の腸の生理的な仕組みを正しく作動させることが前提と言える。様々な機能的な食品成分が消化管内でどのように分布し作用し得るのかを明らかにすることは、栄養素や薬物の送達効率を高めるために最適な構造や物性をもつ食品のデザインと開発につながり、脂質代謝を調節して肥満や糖尿病の予防などに貢献するという社会的意義がある。

研究成果の概要(英文)：The details of how a masticated and swallowed food mass flows in the digestive tract from the esophagus to the large intestine, and how the numerous nutrients interact with each other as they are digested and absorbed, remain unknown. In this project, we focus on the fact that not only the composition of food components but also their shape and physical properties affect the distribution of nutrients and the response of intestinal cells, and analyze the temporal and spatial distribution of nutrients in the intestinal tract using imaging mass spectrometry (IMS) with a spatial resolution of several tens of microns and microscopic visualization techniques to understand how intestinal cells sense the physical properties of digested products and regulate the metabolism of nutrients.

研究分野：食品化学、食品物理化学、食品生物学、食品生理機能学

キーワード：消化管 メカノストレス CRISPR/Cas9 栄養素 イメージング質量分析 脂質消化吸収 遺伝子改変マウス カルシウムセンサー

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

食品の物性は、主要な食シグナルの一つである。従来までは、咀嚼時の食感を改善する、あるいは嚥下時の誤嚥を防止するという観点から、食べる前や、食べるときの“食品自体”の粘弾性と咀嚼・嚥下時の関係を研究することに重点が置かれてきた。しかし、胃内、小腸内や大腸内に入った後、どのような物性がどのように認識されているのかについては全く解明されていない。

我々生物は常にさまざまなストレスに晒されている。中でもメカノストレスは、物理的または力学的刺激のことであり、これらを感じし応答することで生命の恒常性維持に役立っている(①)。生体内で作用するメカノストレスとして、ずり応力、静水圧、伸展張力、振動などが知られている。また、これらの刺激の一部は、PIEZO チャネル、TRP チャネルや P2 受容体といった機械刺激受容体によって認識されていることが解明されつつあり、物理的刺激に対する応答機構の詳細な解明は、刺激制御、計測技術の応用に向けた基盤技術の開発、新たな医療機器及び医療技術の創出などにつながっている。

血管や骨などの様々な組織に対する物理的刺激の受容機構が明らかになっていくのに対して、消化管でのメカノストレス応答については不明な点が多く、実体が証明されているのは細胞膜においてメカノセンサーと考えられている機械刺激感受性チャネルや細胞骨格の構成因子などに限られている(②・③)。

我々は食品を摂取する際、味やにおいといったフレーバーと呼ばれる化学的な刺激でその食品を評価すると同時に、テクスチャーと呼ばれる物理的な刺激も感知している。テクスチャーとは、食べ物の口当たり、舌触り、歯ごたえ、のど越しなどのことで、フレーバーリリースとの相互関係についても論じられる。これまで、このような口腔内における食品の挙動やその物理的感覚受容、つまり食感などについては、食品のもつ化学的刺激と並んで精力的に研究されてきた。嚥下時、あるいは嚥下後の消化管内において、食品の物性や食塊の流動特性等を感じする機構の存在については、血管と同様に管腔構造を有することからも大いに予想されるものの、未解明なところが多く残されている。

2. 研究の目的

進化の過程で生まれた我々の腸の生理的な仕組みを正しく作動させることが生活習慣病に対する予防や健康長寿につながる。しかし、消化管内において栄養素などの様々な機能的な食品成分が時空間的にどのように分布し作用し得るのかについては不明な点が多い。消化管は、血管と同様に管腔構造を有することから、食品の物性や食塊の流動特性等を感じする機構を明らかにすることは、高齢社会の現代において、高齢者食や流動食の開発、また炎症性腸疾患に代表される消化管疾患の予防や治療などに貢献することが期待される。また、栄養素や薬物の送達効率を高めるために最適な構造や物性をもつ食品のデザインと開発につながり、脂質代謝を調節して肥満や糖尿病の予防などに貢献する。

そこで本研究では、血管のメカノバイオロジーの知見をもとに、消化管内において食塊の流動に伴うずり応力刺激に着目し、主にメカノストレス応答に関与する受容体およびチャネルに着目して、その刺激を感じする機構について細胞レベルで解明することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) CRISPR/Cas9 法を用いた受容体欠損株の作製

CRISPR direct (<https://crispr.dbcls.jp/>) を利用し、pX330 ベクターのガイド配列挿入サイトを参考にして、guide RNA (gRNA) 配列を決定した(図1)。この gRNA は、TRPV4 の4番目のエクソンを標的となるように設計した。80-90%コンフルエントな状態にある 60 mm ディッシュ上の細胞に対して、gRNA 発現用プラスミドと薬剤耐性プラスミドを加えてトランスフェクション操作を行った。数週間培養後、コロニーが生成したら、コロニーを 24well プレートに播種した。得られた変異株を回収し、細胞を凍結し、一部は、ゲノム回収後、シーケンスにより変異導入を解析した。

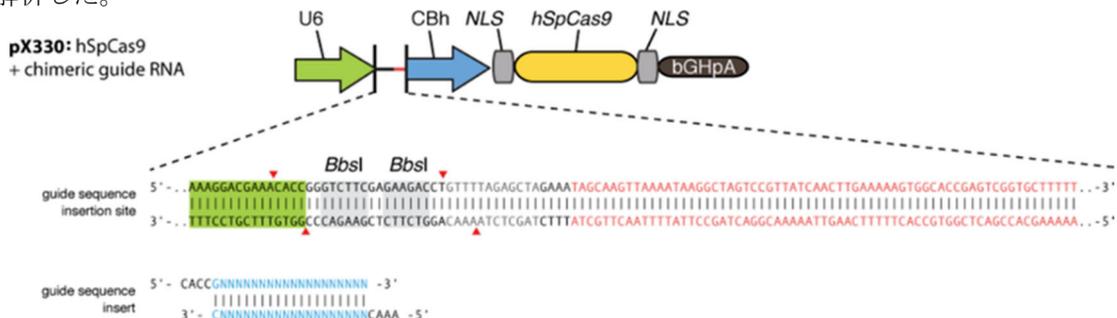


図1. pX330 ベクターガイド RNA 挿入サイト (Addgene ホームページより引用)

(2) 発現遺伝子の解析

ISOSPIN Cell & Tissue RNA を使用し、プロトコルに従って細胞から RNA を抽出した。逆転写

反応により取得した cDNA を用いて Real-time PCR (RT-PCR)を行った。内在性遺伝子として GAPDH を用いた。

(3) 細胞株のずり刺激応答の解析

ヒト咽頭由来細胞株である Detroit562 とヒト結腸腺由来細胞株である HT29-MTX-E12 を μ -slide に 10 万 cells ごと播種し、37°C で 30 分間インキュベートして細胞を接着させた。その後、培地を 170 μ l 加えて 80~90%コンフルエントになるまで培養した。細胞を洗浄後、3.3 μ M Fura-2 AM を含む培地を添加して 37°C で 30 分間インキュベートした。その後、灌流液で洗浄後、 μ -slide を、チューブを介してシリンジポンプに接続し、フローチャンバー流路系を組み立てた。ずり応力刺激の負荷は、シリンジポンプにて灌流液を送液することで行った。細胞応答の観察は、顕微鏡のステージには Thermo Plate を装着して、蛍光顕微鏡 IX-73 を用いて行った。測定には Meta Fluor を用いて 10 秒毎に蛍光画像の撮影を行い、蛍光画像中の任意の点について 340 nm と 380 nm 励起での蛍光強度を測定した。

カルシウムイメージング法により得られた結果をもとに細胞内カルシウムイオン濃度を定量した。顕微鏡視野内の細胞から任意の点を選択し、その点における蛍光強度を測定した。同時にバックグラウンドの蛍光強度を得て、測定値から引くことで F_{340} 、 F_{380} の値とした。これらの値から、以下に示す Grinkiewicz らの式により細胞内カルシウムイオン濃度を算出した。

$$[Ca^{2+}]_i = (R - R_{min}) / (R_{max} - R) \times b/a \times K_d \quad \dots \dots \text{式 (1)}$$

ここで、 R は蛍光比 (F_{340}/F_{380})、 R_{max} は 2 μ M A-23187 を添加した灌流液送液時の R 、 R_{min} は 5 mM EGTA を添加した灌流液送液時の R 、 b/a は R_{min} 時 (b) と R_{max} 時 (a) の F_{380} の比、 K_d は Ca^{2+} と Fura-2 の解離定数 (37°C では 224 nM)。

(4) イメージング質量分析 (IMS) による生体成分の解析

クライオスタットを用いて、凍結したマウスを腹側から背中側にかけて 12 μ m の厚さで切り出し、酸化インジウムすずコート (ITO) ガラススライド上に貼り付けた。超音波脱気したシナピン酸を TMSprayerTMにより塗布し、処理した標本を rapifleX による質量分析に供した。また、IMS 後の組織切片に対し、組織学的分析のために、ヘマトキシリン-エオシン染色を行った。

小腸の解析では、マウスをセボフルラン麻酔下で解剖して、胃の幽門から盲腸付け根までを取り出し、消化管を 3 等分し、各画分をスライドガラス上で蚊取り線香状に巻きスィスロールを作製した。凍結切片を取り出し、真空乾燥機で乾燥させた後、ネガティブイオンモードのマトリックスとして 9-アミノアクリジン塗布した。IMS は、355 nm Nd : YAG レーザーを備えた大気圧 MALDI-QIT-TOF-MS を使用して実行した。このとき、質量範囲は m/z 250~900、横方向の解像度は 50 μ m に設定した。

得られたデータの解析は、ソフトウェア IMAGEREVEAL (Shimadzu, Kyoto) を用いて行った。

4. 研究成果

(1) 機械受容体欠損株の作製とずり刺激に対する細胞応答

ヒト骨髄性白血病細胞株 HAP1 およびヒト結腸腺由来細胞株 HT29-MTX-E12 において遺伝子発現が検出された PIEZO1、P2X4 について RT-PCR により定量した。CRISPR/Cas9 法により両細胞の複種類の受容体欠損株の作製を行った。まず、5 種類の膜タンパク質 PIEZO1、P2X4、TRPV4、P2Y11、Panx1 について sgRNA を設計し、pX330 ベクターを用いてガイド RNA/Cas9 コンストラクトを構築した。HAP1 において PIEZO1、P2X4、TRPV4 の 3 種類、HT29-MTX-E12 において PIEZO1、P2X4 の 2 種類の受容体ノックアウト操作を行ったところ、標的配列での塩基の欠失または付加を検出した (図 2)。各タンパク質の合成予測を行ったところ、P2X4 変異株では終止コドンや膜貫通領域のアミノ酸残基変化などから全サンプルで受容体機能の喪失を予測した。それに対し、PIEZO1 変異株、TRPV4 変異株の一部では終止コドンが現れたが、アミノ酸数残基の欠失に留まるものも存在し、遺伝子変異を検出した全サンプルでの受容体機能の喪失には至らなかった。

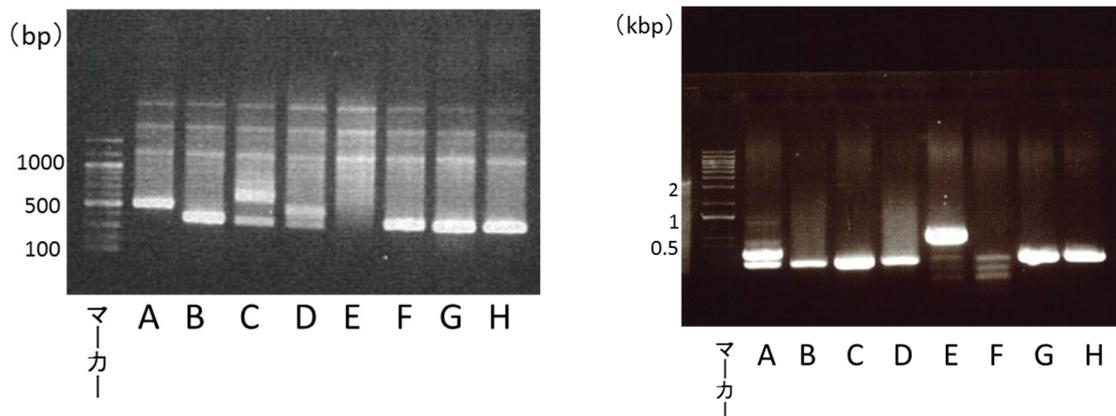


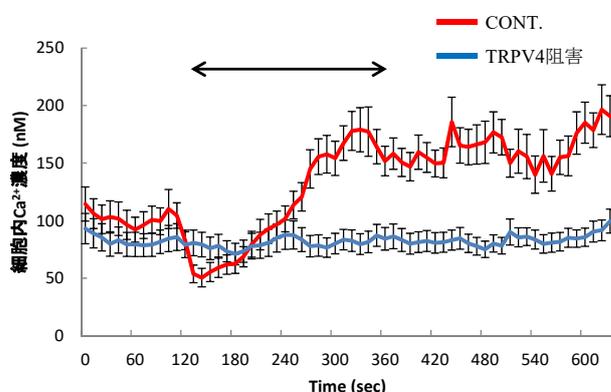
図 2. HAP1 Δ PIEZO1 (左 A~H) と Δ P2X4 (右 A~H) Genomic PCR 電気泳動写真

HAP1 野生株と受容体機能の喪失予測を行った PIEZO1 変異株、P2X4 変異株を用いてメカノストレス応答の比較を行った。フローチャンバー流路系を用いたずり応力刺激による細胞応答をカルシウムイメージングによって解析した。灌流液組成は P2X4 のリガンドである ATP を含むが、この濃度の ATP 溶液を細胞に添加するのみでは目立ったカルシウム応答は生じなかった。10 dyn/cm² のずり応力刺激では野生株で刺激開始から遅れた緩やかなカルシウム増加を示したが、変異株ではいずれも応答は検出されなかった。次に 15 dyn/cm² のずり応力刺激では野生株、P2X4 変異株において刺激直後にカルシウム増加が観察されたが、PIEZO1 変異株では応答は検出されなかった。また、20 dyn/cm² のずり応力刺激では、いずれの細胞株でも刺激直後にスパイク状のカルシウム増加が観察された。また、細胞外 ATP 非存在下での HT29-MTX-E12 を用いた 25 dyn/cm² のずり応力刺激ではスパイク状のカルシウム増加を示し、P2X4 阻害剤による応答減衰は見られなかった。

以上の結果を総合すると、HAP1 において PIEZO1、P2X4 の両受容体がメカノストレス応答に関与していることが示唆された。また、応答への寄与の程度について、協働的作用や、単独での機構など刺激強度に応じて異なる形態をとることが示唆された。さらに、20 dyn/cm² 以上の高ずり応力刺激では、今回考慮した受容体経路とは異なる機構の存在が予想された。

二倍体細胞株 (HT29-MTX-E12、Detroit562) から P2X4 と Piezo1 を完全に欠失させた細胞株を樹立することは出来なかった。再度、gRNA を設計し直すか、CRISPR/Cas9 操作を 2 回繰り返すか、スクリーニングのスケールを拡大することを検討しなければならなかった。ヒトの Detroit562 と HT29-MTX-E12 細胞株におけるメカノストレス応答に関与する受容体の遺伝子発現を比較したところ、TRPV4、Pannexin1、P2X4、P2Y2 の発現はいずれも観察されるものの、Detroit562 では主に TRPV4 の、HT29-MTX-E12 では P2X4 の発現が優位であり、消化管の部位によりセンシング機構の違いが示唆された。そこで、一倍体細胞 HAP1 を用いて TRPV4 と Pannexin1 受容体の欠損株を作製した。

カルシウム蛍光指示薬 Fura-2 を細胞にロードする際に用いる Probenecid の細胞内カルシウム応答に及ぼす影響を調べたところ、Detroit562 細胞においては、Probenecid 不使用時のみ、低ずり応力刺激に応答して細胞内カルシウム濃度が上昇し、刺激負荷後も高濃度で維持された。しかし、Detroit562 の TRPV4 を受容体拮抗薬で阻害したところ、カルシウム応答がほとんど完全に抑制された (図 3)。一方、HT29-MTX-E12 細胞においては、その応答波形や細胞外 ATP 依存性に大きな差異は見られなかった。そこで、ずり応力刺激に伴う細胞内からの ATP 放出について調べたところ、TRPV4、あるいは PANX1 を阻害することで、その放出量が有意に減少した。続いて、PANX1、P2 受容体の拮抗薬により ATP シグナルを阻害した際のカルシウム応答について



調べたところ、ずり応力刺激負荷開始直後の細胞内カルシウム濃度の上昇は見られたものの、その後の持続的な応答は消失した。ずり応力刺激負荷後の経時的な細胞応答の様子を蛍光顕微鏡にて観察したところ、カルシウム応答が細胞間で伝播していることがわかった。また、TRPV4 欠損 HAP1 細胞株を用いて、粘性の異なる溶液のずり応力に対する細胞応答について解析し、TRPV4 受容体は流体の粘性に依存してずり応力刺激を感知し、粘性の上昇とともに活性化することを見出した。

図 3. TRPV4 アンタゴニストの有無による 2 dyn/cm² のずり応力刺激時の細胞内カルシウムイオン濃度変化

(2) イメージング質量分析法を用いた消化管内食物成分の動的挙動の解析

イメージング質量分析法を用いた代謝物の可視化を、マウス一頭体レベルから組織薄片片を作製して行った。この解析対象組織には、胸腔内のリンパ組織や骨髄、脊髄などを含む冠状断と消化管を含む矢状断の作製が有効であり、特に、後者の作製には特殊なマイクロトームを用いた解析法の開発が重要となった。また、消化管の解析では、生体側の情報に加えて腸内環境を形成している管腔側の分子局在についても同じ切片上で解析することが可能となった。例として、大豆油脂成分を強制単回投与したマウスと水のみを強制単回投与したマウスの 2 匹から、ホールマウント切片を作成、シナピン酸をマトリックスとして MALDI-IMS を行った。その結果、組織特異的に局在するピーク、消化管特異的に局在するピークがあることを確認した。なかでも消化管特異的に局在するピークにおいては、大豆油脂成分投与マウスと水投与マウスで局在位置が同じピークと異なるピークが見られた。これは、投与物の粘度の違いが原因であると考察された。

MALDI 型質量分析法を用いたイメージング質量分析の対象分子には、リン脂質・アミノ酸・ペプチド・タンパク質・ヌクレオチド等がある。脂質の消化吸収プロセスを、胆汁酸をマーカーとした IMS により明らかにするために、マウス消化管サンプルに対して低分子 IMS を実行した。消化管を 3 等分して渦巻き状に巻く (スイスロール) することで、上部から下部消化管全域にわ

たる IMS に成功した (図 4)。HE 染色画像とエネルギー代謝物の IMS 画像を比較したところ、その局在が一致し、IMS 画像における組織領域と内容物領域との識別が可能となった。その上で、脂質の消化吸収に関連する物質として、胆汁酸とトリグリセロール、脂肪酸の IMS 画像を取得した。タウロコール酸の IMS 画像では、その分布が上部から下部にかけて均一になる様子が観察された。胆汁酸が脂質にアプローチして乳化を行う様子を捉えることができた可能性がある。また、未消化トリグリセロールの IMS 画像において下部でその局在が見られなかったこと、脂肪酸の IMS 画像において中部消化管以降に内容物領域での局在が見られなかったことから、脂質がリパーゼにより分解され、腸管に吸収される過程を可視化することができたと考えられる。以上から、IMS は脂質の消化吸収プロセスを明らかにするツールとして有用であることが示された。

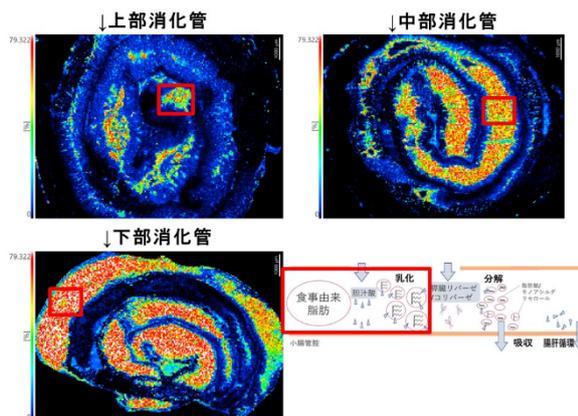


図 4. タウロコール酸 (m/z 514.29) のイメージング画像

また、脂質消化吸収に関連する可能性のある未知分子やメカニズムを発見する足掛かりとして、UMAP によるセグメンテーションを IMS データに適用した。結果、特徴空間上で十分に分離できたことが確認され、セグメンテーション結果を見ても組織領域と内容物領域が明確に特徴付け・区別されていた。このセグメンテーション結果を用いて類似画像解析を行ったところ、 m/z 640 を含む 14 のピークで、内容物に特徴的な局在が確認された。以上より、IMS データに UMAP を用いたセグメンテーションを適用することが、脂質の消化吸収プロセスに新たな知見を与える有用な方法である可能性を示した。

さらに、確立した胆汁酸の可視化情報に加えて、タンパク質やペプチドを対象分子にした MALDI 型質量分析法を用いたイメージング質量分析法を駆使して、哺乳 1 日目新生児マウス体内における母乳成分の消化吸収プロセスの可視化に取り組んだ。

(3) 食物応答レポーターマウスの作製

食物応答レポーターマウス作製に必要な基盤的情報の取得を行った。具体的には下記の二項目を行った。

- ・腸管細胞においては食物に応答してカルシウム濃度が上昇することが知られている。そこで、生きたマウス腸管による食物応答をリアルタイムで測定するためにカルシウムセンサーを用いて、カルシウム濃度変化を測定することとした。本マウス作製に用いるカルシウムセンサーの選択を行い、GCaMP が適していることを明らかにした。

- ・GCaMP を生きたマウス体内で発現させるために必要となるマウス系統 (B6-Gt(Rosa)26Sor<tm1(CAG-GCaMP6,-mCherry)Shi>) を導入した。

腸管上皮細胞特異的 Cre 発現マウスと Cre 依存的な蛍光タンパク質カルシウムプローブ GCaMP6f 発現マウス (B6-Gt(Rosa)26Sor<tm1(CAG-GCaMP6,-mCherry)Shi>) とを交配させることを試みた。まず、腸管にてカルシウムセンサーを発現させるための Cre ドライバーマウスとして Villin-Cre マウス (C57BL/6N-Tg(Vil1-cre)2Utr/Rbrc) を検討した。しかしながら、本マウスは全身の臓器で Cre が発現することが判明したため、本目的には適さないことが判明した。一方、遺伝子改変マウスを用いる手法ではマウスの交配・繁殖に多大な時間と労力を要するため、ウイルスベクターを用いる手法の検討を行った。その結果、アデノ随伴ウイルスが有用であることが判明した。

また、PV-Cre マウス (Tg(Pvalb-cre)1Tama) の Cre 発現を調べたところ、腸管での発現が弱いものの、食道にて強い発現が認められた。したがって、食道における食物応答レポーターマウス作製のために使える可能性があった。さらに、アデノ随伴ウイルスによる腸管での遺伝子操作手法を検討した結果、セロタイプ PHS のアデノ随伴ウイルスが本目的に適することを明らかにした。

<引用文献>

- ① Dimitrije, S., and Michael, L. S. (2020) Tensional homeostasis at different length scales. *Roy. Soc. Ch.*, **16**, 6946-63
- ② Ma, R., Seifi, M., Papanikolaou, M., Brown, F. J., Swinny, D. J., and Lewis, A. (2018) TREK-1 Channel Expression in Smooth Muscle as a Target for Regulating Murine Intestinal Contractility: Therapeutic Implications for Motility Disorders. *Front Physiol.*, **9**, 157.
- ③ Dong, H., Tang, B., Jiang, Y., and Mittal, K. R. (2019) $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger 1 is a key mechanosensitive molecule of the esophageal myenteric neurons. *Acta. Physiol.*, **225**(4), e13223.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計19件（うち査読付論文 19件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 17件）

1. 著者名 Maki Hiroaki, Yoshimi Akihide, Shimada Takashi, Arai Shunya, Morita Ken, Kamikubo Yasuhiko, Ikegawa Masaya, Kurokawa Mineo	4. 巻 94
2. 論文標題 Physical interaction between BAALC and DBN1 induces chemoresistance in leukemia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Experimental Hematology	6. 最初と最後の頁 31 ~ 36
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.exphem.2020.12.003	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 Yasui Hirokazu, Yano Keita, Kuzuhara Yuki, Ikegawa Masaya, Matsukawa Mami	4. 巻 107
2. 論文標題 Prolonged Hyperglycemia Reduces Elasticity of Type II Diabetic Rat Bone	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Calcified Tissue International	6. 最初と最後の頁 381 ~ 388
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00223-020-00733-z	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 Murata Kozue, Ikegawa Masaya, Minatoya Kenji, Masumoto Hidetoshi	4. 巻 40
2. 論文標題 Strategies for immune regulation in iPS cell-based cardiac regenerative medicine	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Inflammation and Regeneration	6. 最初と最後の頁 36
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s41232-020-00145-4	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 Asai Hiroataka, Ohkawa Noriaki, Saitoh Yoshito, Ghandour Khaled, Murayama Emi, Nishizono Hirofumi, Matsuo Mina, Hirayama Teruyoshi, Kaneko Ryosuke, Muramatsu Shin-ichi, Yagi Takeshi, Inokuchi Kaoru	4. 巻 13
2. 論文標題 Pcdh deficiency affects hippocampal CA1 ensemble activity and contextual fear discrimination	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Brain	6. 最初と最後の頁 7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13041-020-0547-z	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 Hoshino Chiaki, Konno Ayumu, Hosoi Nobutake, Kaneko Ryosuke, Mukai Ryo, Nakai Junichi, Hirai Hirokazu	4. 巻 14
2. 論文標題 GABAergic neuron-specific whole-brain transduction by AAV-PHP.B incorporated with a new GAD65 promoter	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Brain	6. 最初と最後の頁 33
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13041-021-00746-1	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 Tsuji Yudai, Yamaguchi Shinichi, Nakamura Tomoyuki, Ikegawa Masaya	4. 巻 11
2. 論文標題 Mass Spectrometry Imaging (MSI) Delineates Thymus-Centric Metabolism In Vivo as an Effect of Systemic Administration of Dexamethasone	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Applied Sciences	6. 最初と最後の頁 11038 ~ 11038
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/app112211038	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 KANEKO Ryosuke, KAKINUMA Toshie, SATO Sachiko, JINNO-OUE Atsushi	4. 巻 67
2. 論文標題 Improvement of short straws for sperm cryopreservation: installing an air-permeable filter facilitates handling	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Reproduction and Development	6. 最初と最後の頁 235 ~ 239
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1262/jrd.2021-019	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 Inoue Yukiko U., Morimoto Yuki, Yamada Mayumi, Kaneko Ryosuke, Shimaoka Kazumi, Oki Shinji, Hotta Mayuko, Asami Junko, Koike Eriko, Hori Kei, Hoshino Mikio, Imayoshi Itaru, Inoue Takayoshi	4. 巻 10
2. 論文標題 An Optimized Preparation Method for Long ssDNA Donors to Facilitate Quick Knock-In Mouse Generation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 1076 ~ 1076
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells10051076	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 Ishii Nobukazu, Tajika Yuki, Murakami Tohru, Galipon Josephine, Shirahata Hiroyoshi, Mukai Ryo, Uehara Daisuke, Kaneko Ryosuke, Yamazaki Yuichi, Yoshimoto Yuhei, Iwasaki Hirohide	4. 巻 11
2. 論文標題 Correlative microscopy and block-face imaging (CoMBI) method for both paraffin-embedded and frozen specimens	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 13108
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-92485-5	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 Kawakami R., Matsui M., Konno A., Kaneko R., Shrestha S., Shrestha S., Sunaga H., Hanaoka H., Goto S., Hosojima M., Kabasawa H., Obokata M., Koitabashi N., Matsui H., Sasaki T., Saito A., Yanagita M., Hirai H., Kurabayashi M., Iso T.	4. 巻 255
2. 論文標題 Urinary FABP1 is a biomarker for impaired proximal tubular protein reabsorption and is synergistically enhanced by concurrent liver injury	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Pathology	6. 最初と最後の頁 362 ~ 373
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/path.5775	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 Hirose Kensuke, Nakaya Yuka, Kitano Kohei, Saito Yasuhiko, Kaneko Ryosuke, Yanagawa Yuchio, Yamamoto Kiyofumi, Shirakawa Tetsuo, Kobayashi Masayuki	4. 巻 473
2. 論文標題 Differential regulation of medium spiny and cholinergic neurons in the nucleus accumbens core by the insular and medial prefrontal cortices in the rat	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pflugers Archiv - European Journal of Physiology	6. 最初と最後の頁 1911 ~ 1924
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00424-021-02634-y	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 Inoue Yukiko U., Miwa Hideki, Hori Kei, Kaneko Ryosuke, Morimoto Yuki, Koike Eriko, Asami Junko, Kamijo Satoshi, Yamada Mitsuhiko, Hoshino Mikio, Inoue Takayoshi	4. 巻 9
2. 論文標題 Targeting Neurons with Functional Oxytocin Receptors: A Novel Set of Simple Knock-In Mouse Lines for Oxytocin Receptor Visualization and Manipulation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 eneuro	6. 最初と最後の頁 ENEURO.0423
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/ENEURO.0423-21.2022	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 Masuda Tetsuya, Okubo Kyohei, Baba Seiki, Suzuki Mamoru, Tani Fumito, Yamasaki Masayuki, Mikami Bunzo	4. 巻 389
2. 論文標題 Structure of thaumatin under acidic conditions: Structural insight into the conformations in lysine residues responsible for maintaining the sweetness after heat-treatment	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Food Chemistry	6. 最初と最後の頁 132996 ~ 132996
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.foodchem.2022.132996	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 Onishi Yuichiro, Adachi Shuji, Tani Fumito, Kobayashi Takashi	4. 巻 186
2. 論文標題 Insight into formation of various rare sugars in compressed hot phosphate buffer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Supercritical Fluids	6. 最初と最後の頁 105621 ~ 105621
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.supflu.2022.105621	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 Park Hongsun, Yamanaka Tomoyuki, Toyama Yumiko, Fujita Atsushi, Doi Hiroshi, Nirasawa Takashi, Murayama Shigeo, Matsumoto Naomichi, Shimogori Tomomi, Ikegawa Masaya, Haltia Matti J., Nukina Nobuyuki	4. 巻 10
2. 論文標題 Hornerin deposits in neuronal intranuclear inclusion disease: direct identification of proteins with compositionally biased regions in inclusions	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Acta Neuropathologica Communications	6. 最初と最後の頁 28 ~ 44
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40478-022-01333-8	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 Kawakami Ryo, Sunaga Hiroaki, Iso Tatsuya, Kaneko Ryosuke, Koitabashi Norimichi, Obokata Masaru, Harada Tomonari, Matsui Hiroki, Yokoyama Tomoyuki, Kurabayashi Masahiko	4. 巻 12
2. 論文標題 Ketone body and FGF21 coordinately regulate fasting-induced oxidative stress response in the heart	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 7338
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-10993-4	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 Inutsuka Ayumu, Maejima Sho, Mizoguchi Hiroyuki, Kaneko Ryosuke, Nomura Rei, Takanami Keiko, Sakamoto Hirota, Onaka Tatsushi	4. 巻 5
2. 論文標題 Nanobody-based RFP-dependent Cre recombinase for selective anterograde tracing in RFP-expressing transgenic animals	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 979
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-022-03944-2	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 Sugawara Shiori, Nakaya Yuka, Matsumura Sachie, Hirose Kensuke, Saito Yasuhiko, Kaneko Ryosuke, Kobayashi Masayuki	4. 巻 506
2. 論文標題 Neural Subtype-dependent Cholinergic Modulation of Neural Activities by Activation of Muscarinic 2 Receptors and G Protein-activated Inwardly Rectifying Potassium Channel in Rat Periaqueductal Gray Neurons	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1~13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuroscience.2022.10.012	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 Im Sanghun, Ueta Yoshifumi, Otsuka Takeshi, Morishima Mieko, Youssef Mohammed, Hirai Yasuharu, Kobayashi Kenta, Kaneko Ryosuke, Morita Kenji, Kawaguchi Yasuo	4. 巻 33
2. 論文標題 Corticocortical innervation subtypes of layer 5 intratelencephalic cells in the murine secondary motor cortex	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cerebral Cortex	6. 最初と最後の頁 50~67
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/cercor/bhac052	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 -

〔学会発表〕 計34件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 谷 史人
2. 発表標題 新規機能性食素材としてセルロースナノファイバーは役立つのか?
3. 学会等名 2020食品工業倶楽部月例会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 前川和響, 新谷 祈, 辻 雄大, 蕪澤 崇, 池川雅哉, 谷 史人
2. 発表標題 イメージング質量分析法を用いた大豆オイルボディーの消化分解過程の可視化
3. 学会等名 第45回日本医用マススペクトル学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 手島和裕, 榎田哲哉, 谷 史人
2. 発表標題 呈味物質に対するヒト腸管内分泌細胞の応答性評価
3. 学会等名 日本食品科学工学会第3回関西支部大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 横井朱里, 榎田哲哉, 三上文三, 谷 史人
2. 発表標題 甘味タンパク質ソーマチンのpH変動に伴う構造変化と熱安定性に関する研究
3. 学会等名 日本食品科学工学会第3回関西支部大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 YAMANOUE Miki, POPUANG Nuntanut, MAEKAWA Kazuki, OGAWA Takenobu, MASUDA Tetsuya, TANI Fumito
2. 発表標題 Carboxymethylated-cellulose Nanofibers May Confer Physiological Functions Compatible to the Gastrointestinal Tract?
3. 学会等名 日本食品科学工学会第3回関西支部大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西野嘉晃, 葛 徳, 秋山いわき, 池川雅哉, 岩崎了教, 高柳真司
2. 発表標題 メダカ胚プロテオーム解析による発生期の超音波照射影響
3. 学会等名 日本超音波医学会第93回学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 外山友美子, 武笠結天, 新谷 祈, 徳平壮一郎, 大村孝幸, 小谷政弘, 田代 晃, 角田伸人, 葦澤 崇, 村山繁雄, 内藤康秀, 池川雅哉
2. 発表標題 DIUTHAMEを用いたアルツハイマー病(AD)脳の迅速MALDI質量分析イメージング
3. 学会等名 第45回日本医用マススペクトル学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 安井悠生, 亀山大樹, 山本康太, 葦澤 崇, 梶田遼, 角田伸人, 平田岳史, 池川雅哉
2. 発表標題 リチウム神経薬理作用の解明に向けたマウス脳プロテオームの可視化
3. 学会等名 第45回日本医用マススペクトル学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 武笠結天, 梶田 遼, 葦澤 崇, VAN HUYEN Jean-paul Duong, RABANT Marion, BRUNEVAl Patrick, 植田初江, 内木宏延, 角田伸人, 池川雅哉
2. 発表標題 腎アミロイドーシスのパラフィン包埋生検組織を対象としたMALDIイメージング質量分析法とショットガンプロテオミクス法による高深度プロテオーム解析
3. 学会等名 第45回日本医用マススペクトル学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 新谷 祈, 辻 崇, 葦澤 崇, 梶田 遼, 植田初江, 升本英利, 湊谷謙司, 池川雅哉
2. 発表標題 MALDI-イメージング質量分析法とショットガンプロテオミクスを用いた拡張型心筋症モデルJ2N-kハムスターの病態解析
3. 学会等名 第45回日本医用マススペクトル学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 辻 雄大, 山口真一, 山本卓志, 中邨智之, 池川雅哉
2. 発表標題 顕微質量計を用いたマウス胸腺のメタボロミック・イメージング
3. 学会等名 第45回日本医用マススペクトル学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小杉菜由佳, 木下和生, 葦澤 崇, 梶田 遼, 角田伸人, 池川雅哉
2. 発表標題 W突然変異マウスのWhisker毛包におけるプロテオーム解析
3. 学会等名 第45回日本医用マススペクトル学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 辻 崇, 新谷 祈, 石田瑞樹, 葦澤 崇, 梶田 遼, BRUNEVAL Patrick, 植田初江, 升本英利, 湊谷謙司, 池川雅哉
2. 発表標題 J2N-kハムスター拡張型心筋症モデルにおけるバイオマーカー探索および病態解明に向けたMALDI イメージング質量分析およびショットガンプロテオミクスの併用
3. 学会等名 第73回日本胸部外科学会定期学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 外山友美子, 朴 洪宣, 梶田 遼, 角田伸人, 宮坂知宏, 葦澤 崇, 村山繁雄, 貫名信行, 井原康夫, 池川雅哉
2. 発表標題 イメージング質量分析法とショットガンプロテオーム解析を用いた脳病理解析
3. 学会等名 第39回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 金子涼輔, 阿部 学, 高鶴裕介, 井上(上野) 由紀子, 渡辺雅彦, 崎村建司, 柳川右千夫, 八木 健
2. 発表標題 神経細胞識別コードの可視化：クラスター型プロトカドヘリンの発現解析
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 金子涼輔, 阿部 学, 井上(上野) 由紀子, 高鶴裕介, 渡辺雅彦, 崎村建司, 柳川右千夫, 八木 健
2. 発表標題 神経細胞識別コードの可視化：クラスター型プロトカドヘリンの発現解析
3. 学会等名 第44回 日本神経科学大会（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小川剛伸, 瀬良早香, 平山祐輔, 谷 史人
2. 発表標題 透明化した食品の三次元蛍光計測法
3. 学会等名 日本食品工学会2021年度年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 瀬良早香, 小川剛伸, 谷 史人
2. 発表標題 人工知能を用いたパンの新規物性解析法の開発
3. 学会等名 日本農芸化学会関西支部第519回講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 尾西佑一朗, 安達修二, 谷 史人, 小林敬
2. 発表標題 亜臨界水中での糖の反応挙動に及ぼす緩衝液の種類の影響
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 金城史奈, 松宮健太郎, 石井統也, 北湊咲葵, 木下満里代, 重本絢音, 西村公雄, 谷 史人, 松村康生
2. 発表標題 添加する油脂の種類と凝固条件が豆乳エマルションゲルの物性に与える効果
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 長谷川京加, 佐伯宏樹, 松村康生, 谷 史人, 松宮健太郎, 西村公雄
2. 発表標題 グルコース修飾大豆11Sグロブリンの抗酸化能と乳化特性について
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 北川実奈, 木本悠作, 小川剛伸, 谷 史人
2. 発表標題 人のテクスチャー感覚の予測を目指した新たな食感機器計測法の開発
3. 学会等名 日本食品科学工学会第69回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山崎博道, 小川剛伸, 谷 史人
2. 発表標題 三次元構造の高精度計測に向けた多様な食品の透明化法の開発
3. 学会等名 日本食品工学会2022年度年次大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高谷道也, 中川究也, 谷 史人, 小林 敬
2. 発表標題 生分解性蓄熱マイクロカプセルの外殻強度に及ぼす架橋処理の影響
3. 学会等名 日本食品工学会2022年度年次大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 尾西佑一朗, 安達修二, 谷 史人, 小林 敬
2. 発表標題 再生可能なアルミン酸触媒を用いた熱水中でのマルツロースの生産
3. 学会等名 日本食品科学工学会2022年度関西支部大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Masaya Ikegawa, Yudai Tsuji, Haruka Koyama, Shinichi Yamaguchi, Tomoyuki Nakamura
2. 発表標題 Mass Spectrometry Imaging (MSI) delineates thymus-centric metabolism in vivo as an effect of systemic administration of dexamethason
3. 学会等名 Cell Symposia (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 金子涼輔, 阿部 学, 井上(上野) 由紀子, 高鶴裕介, 渡辺雅彦, 崎村建司, 柳川右千夫, 八木 健
2. 発表標題 神経細胞識別コードの可視化: クラスタ型プロトカドヘリンの発現解析
3. 学会等名 Neuro2022 (第45回日本神経科学大会/第65回日本神経化学会大会/第32回日本神経回路学会大会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 金子涼輔, Martijn Schonewille, 吉田隆行, 樋口流音, 梅澤遥香, 橋本浩一, 玉巻伸章, 柳川右千夫, 八木 健
2. 発表標題 小頭症を伴う神経発達障害の原因遺伝子Pcdhgc4の機能解明とニューロン配置制御システムの理解
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Mana Miyamoto, Shinichi Yamaguchi, Masaya Ikegawa and Fumito Tani
2. 発表標題 MALDI-IMS for the gastrointestinal tracts to define an inflammatory process through metabolism induced by food emulsifiers
3. 学会等名 第6回 京都生体質量分析研究会 (KBMS) 国際シンポジウム・国際質量分析イメージングシンポジウム2023京都 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山崎博道, 小川剛伸, 谷 史人
2. 発表標題 汎用的な食品透明化法の開発による食品内部の三次元微細構造の解明
3. 学会等名 日本農芸化学会2023年度大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 長谷川茉莉奈, 斎藤雄大, 松宮健太郎, 谷 史人
2. 発表標題 ファージディスプレイ法を用いたブチロフィリン免疫グロブリン様ドメインの認識配列の解析
3. 学会等名 日本農芸化学会2023年度大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 齋藤雄大, 谷 史人
2. 発表標題 腸管粘膜制御に関わる乳脂肪球膜タンパク質ブチロフィリン1A1の構造的特徴
3. 学会等名 日本農芸化学会2023年度大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 尾西佑一朗, 小林 敬, 谷 史人
2. 発表標題 大豆亜臨界水処理物において成分に及ぼす添加物の影響
3. 学会等名 日本農芸化学会2023年度大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 二俣 真, 尾西佑一朗, 安達修二, 小林 敬, 谷 史人
2. 発表標題 卵殻を用いた垂臨界水中での異性化によるタガトースの生産
3. 学会等名 日本農芸化学会2023年度大会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 池川雅哉	4. 発行年 2020年
2. 出版社 北隆館	5. 総ページ数 6
3. 書名 別冊Bio Clinica: 慢性炎症と疾患 自己免疫疾患: イメージング質量分析法を用いた脳・脊髄プロテオーム解析による多発性硬化症のバイオマーカー探索	

1. 著者名 外山友美子, 朴 洪宣, 角田伸人, 蕪澤 崇, 村山繁雄, 貴名信行, 池川雅哉	4. 発行年 2022年
2. 出版社 学際企画	5. 総ページ数 258
3. 書名 細胞組織化学 2022	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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	金子 涼輔 (Kaneko Ryosuke) (40390695)	大阪大学・生命機能研究科・准教授 (14401)	

6. 研究組織（つづき）

	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	池川 雅哉 (Ikegawa Masaya) (60381943)	同志社大学・生命医科学部・教授 (34310)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計1件

国際研究集会	開催年
第6回 京都生体質量分析研究会 (KBMS) 国際シンポジウム・国際質量分析イメージングシンポジウム2023京都	2023年～2023年

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------