

「宇宙飛行士の安全な長期宇宙滞在を可能にする機能性宇宙食の開発」の成果について

研究 開発 体制	主管研究機関	徳島大学	研究 開発 期間	平成25年度～ 平成27年度 (3年間)	研究 開発 規模	予算総額 (契約額) 41.46百万円		
	共同研究機関	医薬基盤・健康・栄養研究所、東京大学、宇宙航空研究開発機構		1年目		2年目	3年目	
				20百万円		9.88百万円	11.58百万円	

研究開発の背景・全体目標

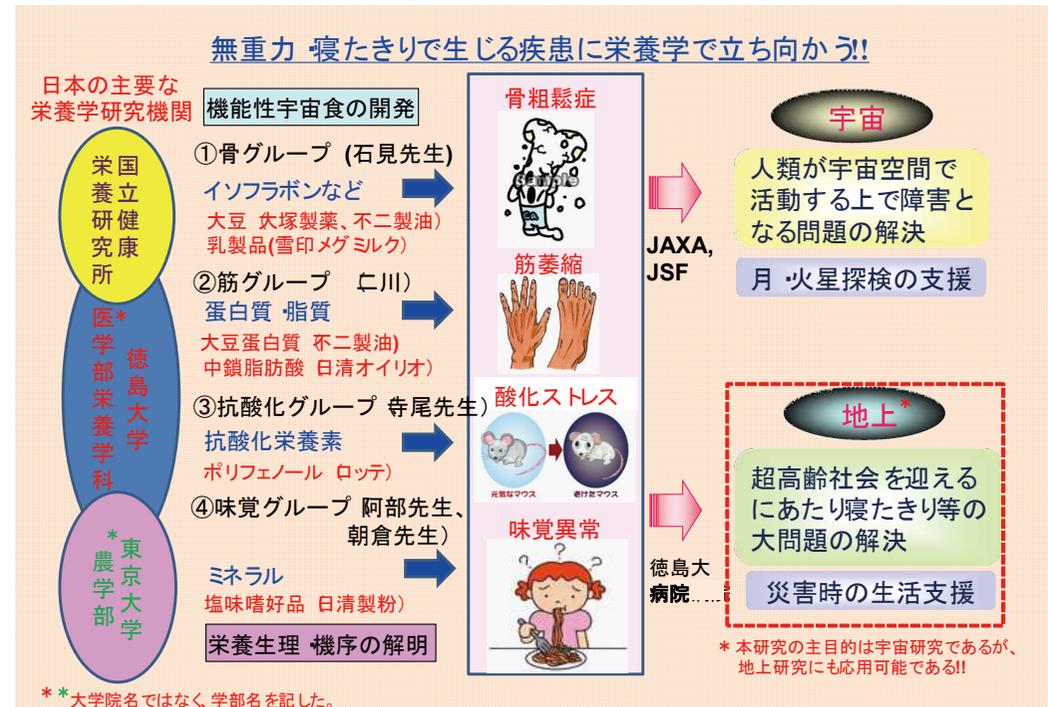
宇宙飛行士がISSに長期滞在する時代を迎え、宇宙環境が生体に及ぼす影響が問題視されている。宇宙環境では骨量減少が地上の約10倍の速さで起こる。また、筋肉の萎縮や宇宙放射線による被曝、味覚の変化も発生する。このような生体影響を軽減する方策の確立が急務である。

本研究では、宇宙飛行士が安全かつ長期間宇宙に滞在できるように、新規の宇宙食(機能性宇宙食)を開発するとともに、宇宙飛行士の味覚の変化を科学的に解明することを目的とした。

研究開発の全体概要と期待される効果

既に長期滞在した宇宙飛行士や寝たきりの患者を対象とした骨量減少・筋萎縮、酸化ストレス、味覚変化に関する評価試験を実施する。機能性宇宙食は、筋萎縮を予防する大豆タンパク質及び骨量減少を予防する大豆イソフラボンを含む大豆食品、骨量を増加させる乳塩基性タンパク質を含む錠菓、抗酸化活性を示す緑茶カテキン含有チョコレート等など具体的な機能性宇宙食を提案し、その有効性を実証する。本研究の結果は、宇宙飛行士の健康管理に貢献するばかりでなく、超高齢社会における寝たきりや不動による骨・筋萎縮、災害時の健康管理にも応用できる。

右図のように、研究体制としては、骨グループ(リーダー石見)、筋グループ(リーダー二川)、抗酸化グループ(リーダー寺尾)、味覚グループ(リーダー阿部)の4グループ体制で、地上でのヒト試験などにより、骨量減少、骨格筋萎縮、酸化ストレス増大を軽減する効果のある食品成分や機能性食品を見いだすとともに、味覚の変化(塩味の増大)について科学的に評価する。各グループには機能性食品の製造販売を担当する食品企業が共同研究者として参画する。



① 筋萎縮に有効な食材の開発(筋グループ)

1. ミリストイル化Cblinの抗筋萎縮作用

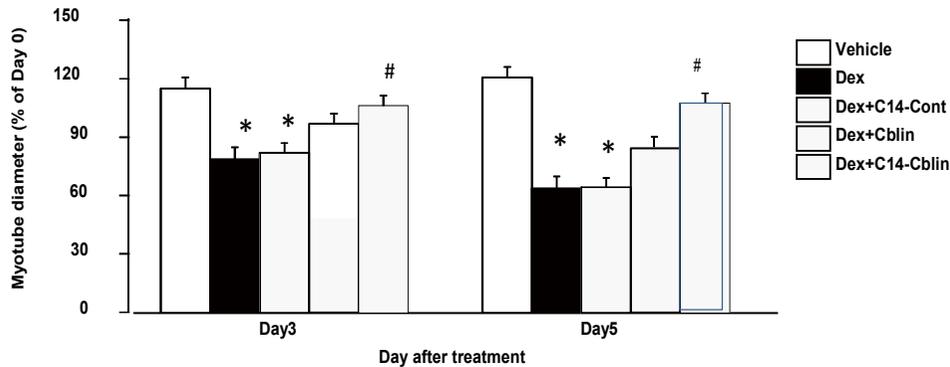
デキサメタゾンを追加し筋管径の減少したマウスC2C12筋管細胞に、Cblinまたはミリストイル化Cblin (C14-Cblin)を追加すると、筋管径の減少が抑制された(図1)。

また、ミリストイル化Cblinは、Cblinよりも低濃度でその効果を強く発揮した(CblinのIC50は120 mM, C14-CblinのIC50は30 μM)。マウスを用いたin vivoにおいても、ミリストイル化Cblinは、未修飾のCblinに比べて、デキサメタゾンによる筋質重量および筋横断面積の減少を顕著に抑制した(図2)。

ミリストイル化Cblinの強い抗筋萎縮効果は、Cblinを安定化させ細胞内への取り込み量を増大させるためであることも明らかにした。

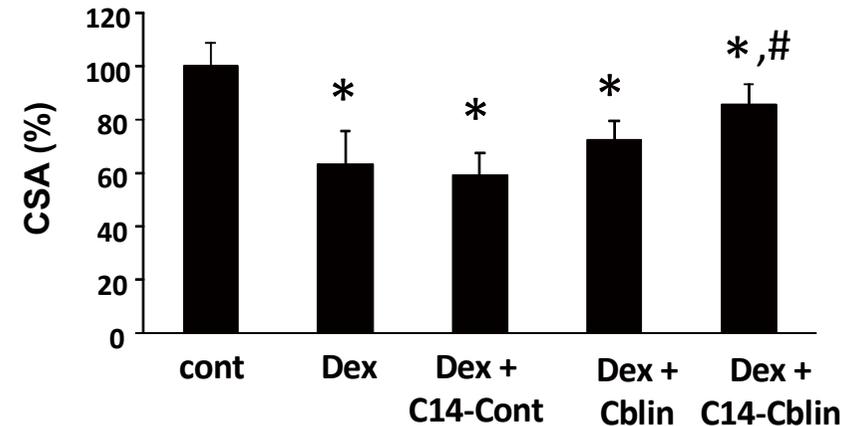
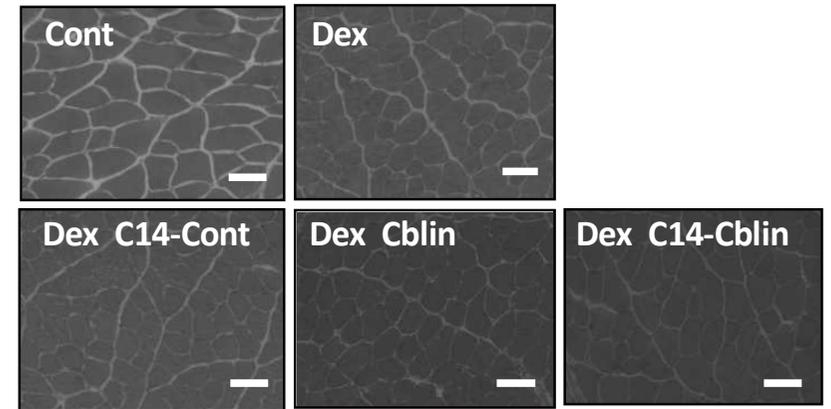
以上の結果は、Arch Biochem Biophys. 570:23-31, 2015に掲載された。

図1 デキサメタゾン誘導性筋管萎縮に対するミリストイル化Cblinの効果



(*P < 0.05 compared to vehicle treatment; #P < 0.05 compared to DEX treatment)

図2 デキサメタゾンによる筋萎縮に対するミリストイル化Cblinの抑制効果



(*P < 0.05 compared to control;

#P < 0.05 compared to DEX treatment.)

① 筋萎縮に有効な食材の開発(筋グループ)

2. 坐骨神経切除マウスへの大豆蛋白質(グリシニン)の抗筋萎縮効果

Cblinペプチドがin vitroの実験系で抗筋萎縮効果を有することが分かったため、このペプチドと同様のアミノ酸配列を有する蛋白質を検索したところ、大豆蛋白質であるグリシニンにその配列があることがわかった。そこで、その配列の抗ユビキチン化活性をしたべたところ、Cblinに比べ弱いながらもこの配列もCbl-bによるユビキチン化を阻害することがわかった(図3)。

そこで、グリシニン含量が異なる4種類の蛋白質食材を坐骨神経切除したマウスに投与したところ、食材中のグリシニン含量に比例して抗筋萎縮効果が強いことがわかった(図4)。実際、効果のあった筋内ではIRS-1量が回復し、IGF-1シグナルがControlに比べより正常に保たれていることが示唆された。

以上の結果は、Int J Endocrinol.2013;907565に掲載された。

図3 Cblin-like peptideの抗ユビキチン化活性

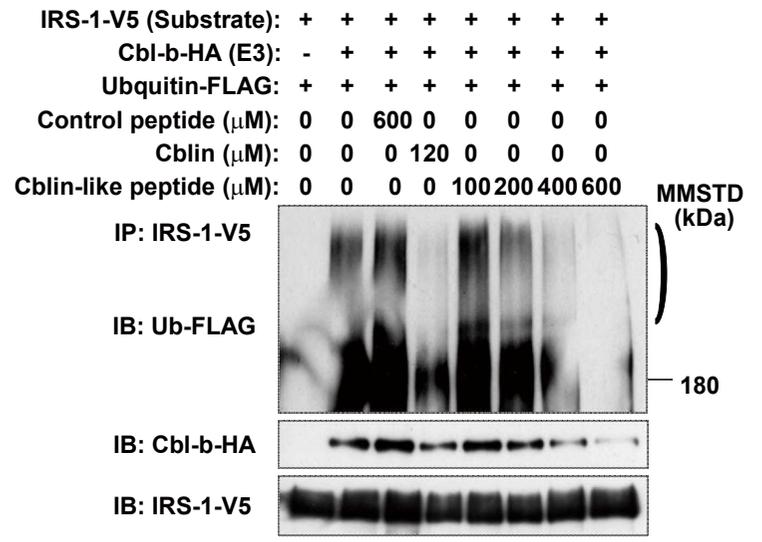
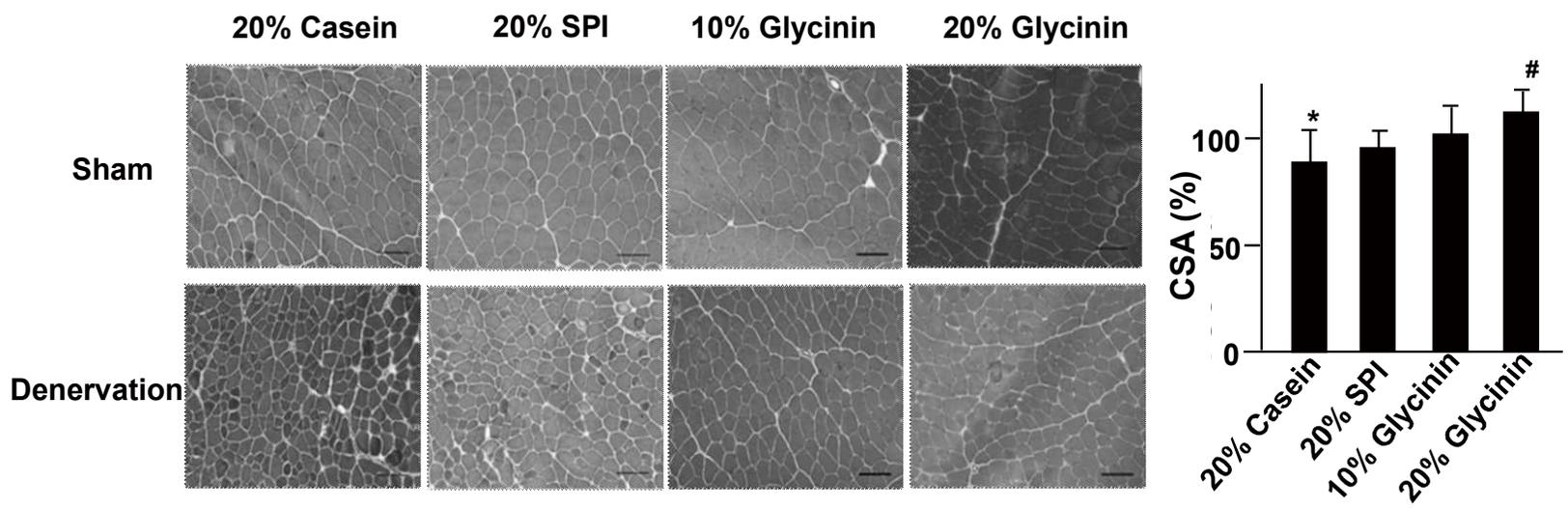


図4 坐骨神経切除による筋萎縮に対する大豆蛋白質グリシニンの抑制効果



① 筋萎縮に有効な食材の開発(筋グループ)

3. 食事大豆蛋白質の抗筋萎縮作用の実証のための臨床試験

大豆蛋白質がモデル動物レベルで抗筋萎縮作用を示したので、ヒトにおいてもその有効性を確認した。身体活動の低い被験者では、30日間大豆蛋白質の補充は、カゼイン蛋白質の補充に比べ、有意に大腿四頭筋量を増加させた(図5-A)。興味深いことに、寝たきり患者では、カゼイン蛋白質は大豆蛋白質よりも大きく骨格筋量を増大させたが、試験介入後の筋力は大豆蛋白質の方がより大きく増強させた(図5-B)。

また、寝たきり患者の尿中8-OHdG(8-hydroxydeoxyguanosine)濃度は、活動レベルの低いあるいは高い健常者のそれと比較し有意に高くなっていた(図6)。この知見は、寝たきり状態では身体に何らかの酸化ストレスを誘導していることを示唆した。

一方、蛋白質補充食を食した寝たきり患者の血中尿素窒素(BUN)と血清クレアチニン値は正常であったことより、今回の負荷程度の蛋白質量では、たとえ高齢者であっても腎機能に影響しないと判断した。

以上の結果は、J Med Invest. 62(3-4):177-83, 2015に報告済みである。

図5 大豆たん白質の筋量、筋力への影響

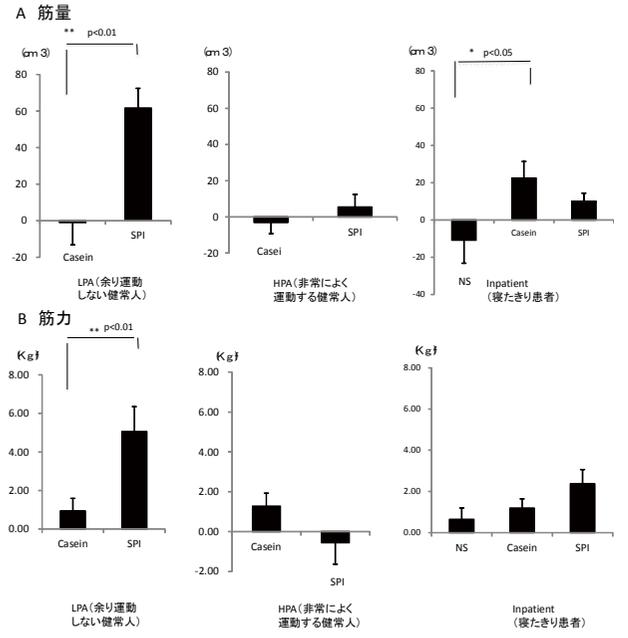
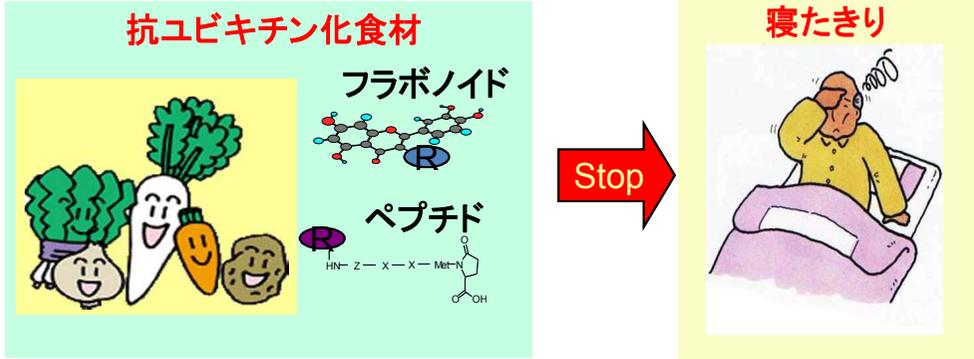
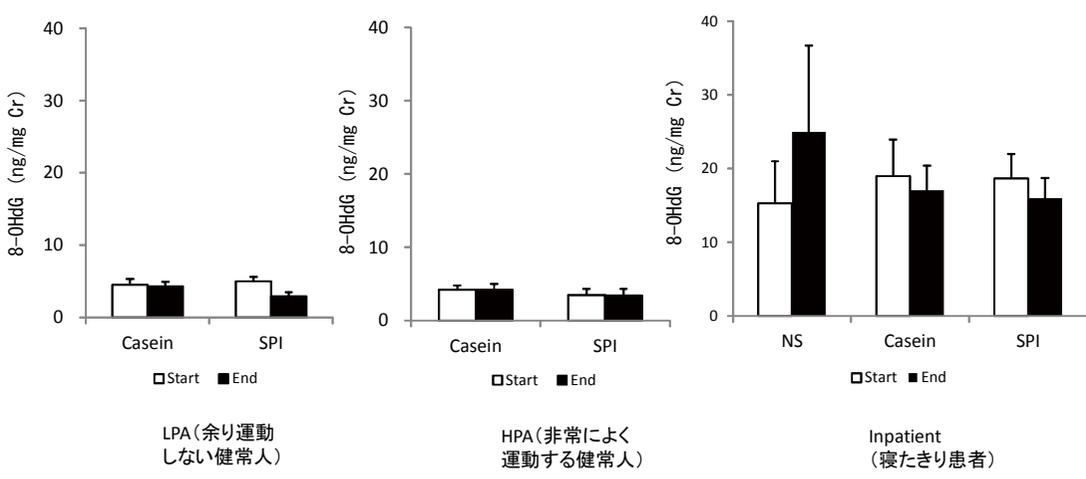


図6 各種食材の酸化ストレスへの影響



② 骨に有益な宇宙食候補の技術開発(骨グループ)

実施内容及び主な研究開発成果

(成果)

大塚製薬と共同で骨や筋の萎縮に有効な成分を含有する大豆クラッカーを作製した。大豆蛋白質と大豆イソフラボンを有効量として含んだこのクッキーを骨や筋の萎縮に有効な機能性宇宙食として考案した(図1)。

(研究内容)

「宇宙の無重力状態に起因する骨量減少に対して抑制作用をもつ食品成分」に関する研究報告をPubMed(アメリカ国立医学図書館の国立生物工学情報センター(NCBI)が運営する医学・生物学分野の学術文献検索サービス)を用いて調査した。その調査結果に基づき、尾部懸垂マウスを用いて、大豆イソフラボン(ISO)と乳塩基性タンパク質(MBP)及び両者を同時に含む食餌の骨への有効性を検討した。

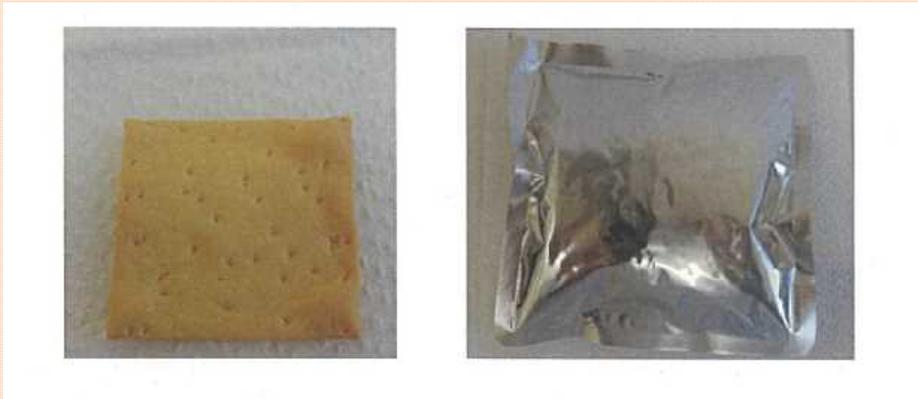
さらに、大豆を含む宇宙食作製では、包材の検討、骨量および筋量に有効な栄養成分量を動物実験等で検討後、大塚製薬製品技術第二研究所の協力を得て大豆クラッカーを作製した。

原材料は、大豆粉、チーズ粉、でん粉、食塩、水溶性食物繊維、クエン酸カルシウム、加工でん粉、アミノ酸、膨張剤、ビタミンC、ビタミンE、甘味料、ビタミンDとした。主な機能性成分の含有量は、1食当たり、大豆蛋白質8g、カルシウム279 mg、ビタミンD 5.26 μg、大豆イソフラボン(アグリコン換算)30 mgであった。

最終的に、調製した大豆クラッカーをJAXA指定の包材に充填し、2か月間の保存試験を実施した。官能評価、微生物評価を行い、2か月間の4℃、37℃、50℃の保存試験では問題ない事が確認された。

図1 宇宙機能性食材の例

大豆クラッカー



(大塚製薬(株)提供)

豆腐ハンバーグ



(不二製油(株)提供)

乳塩基性タンパク質(MBP)



(雪印メグミルク(株)提供)

② 骨に有益な宇宙食候補の技術開発(骨グループ)

1. 非荷重モデルマウスの骨密度に対する大豆イソフラボンと乳塩基性タンパク質の効果

1) 大腿骨骨密度への影響(データ示さず)

7.5週齢雌性ddy (SPF) マウスを荷重群 (Normal)、荷重+装置群 (Loading)、非荷重群 (Un-Loading (UL)) に分けた。後肢の非荷重は尾部懸垂により行った。非荷重群は非荷重+対照食群 (UL-C)、非荷重+0.5%イソフラボン食 (0.5%フジフラボンP40 (フジッコ株式会社、兵庫); UL-ISO)、非荷重+1%MBP食 (1%Milk Basic Protein (MBP) (雪印メグミルク株式会社、東京); UL-MBP)、非荷重+0.5%イソフラボン+1%MBP食 (UL-I+M) に分けた。

UL-C群の大腿骨全体骨密度はNormal群およびLoading群と比較し有意に低値を示した。UL-ISO群、UL-MBP群およびUL-I+M群の大腿骨全体骨密度は、UL-C群と比較し有意に高値を示し、Normal群およびLoading群と同程度であった。

また、大腿骨の近位部、骨幹部、遠位部においても、同様の傾向が認められた。これらの結果から、ISO及びMBP摂取は、尾部懸垂による大腿骨骨密度の低下を有意に抑制した。しかしながら、併用摂取による作用は認められなかった。これは、ISO単独及びMBP単独摂取により尾部懸垂による骨密度の低下が抑制されたためと考えられる。

2) 脛骨骨密度への影響(図2)

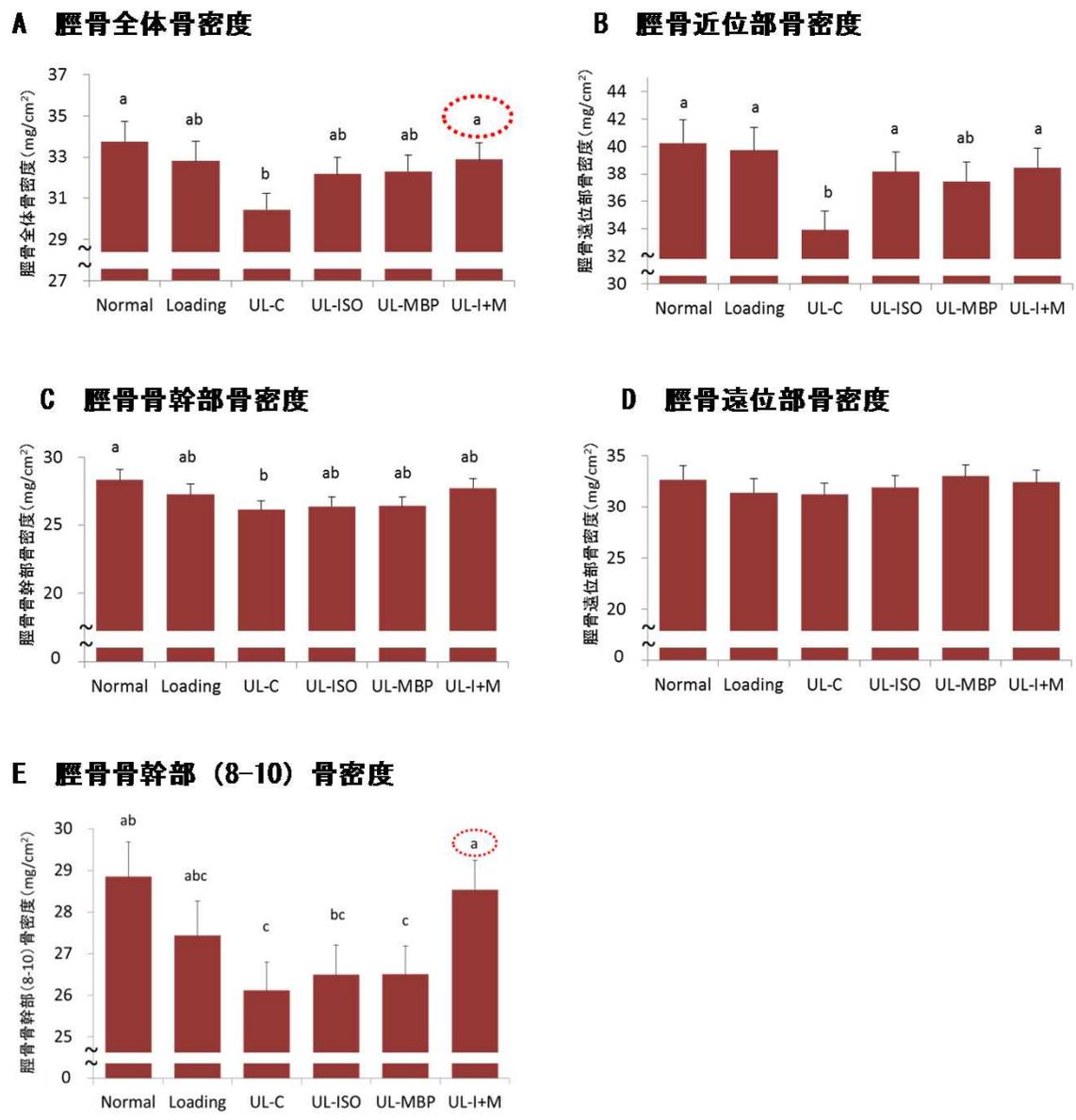
UL-C群の脛骨全体骨密度はNormal群と比較し有意に低値を示した。UL-ISO群およびUL-MBP群の脛骨骨密度は、UL-C群と比較し高値傾向を示したが、有意な差は認められなかった。一方、UL-I+M群の脛骨骨密度は、UL-C群と比較し有意に高値を示した(A)。

近位部骨密度において、UL-C群はNormal群およびLoading群と比較し有意に低値を示した(B)。また、UL-ISO群およびUL-I+M群はUL-C群と比較し有意に高値を示した(B)。

骨幹部骨密度において、UL-C群は、Normal群と比較し有意に低値を示した。しかし、その他の群間に有意な差は認められなかった(C)。遠位部骨密度において、各群間に有意な差は認められなかった(D)。

ISOとMBPの併用による骨量減少抑制作用が顕著に認められる部位を特定するため、脛骨を20部位に細分化し骨密度を解析した。その結果から骨密度低下に対する併用摂取の作用は、遠位部に近い脛骨骨幹部で顕著に認められることがわかった(E)。

図2 大豆イソフラボンと乳塩基性タンパク質の併用摂取が非荷重モデルマウスの脛骨骨密度に及ぼす影響

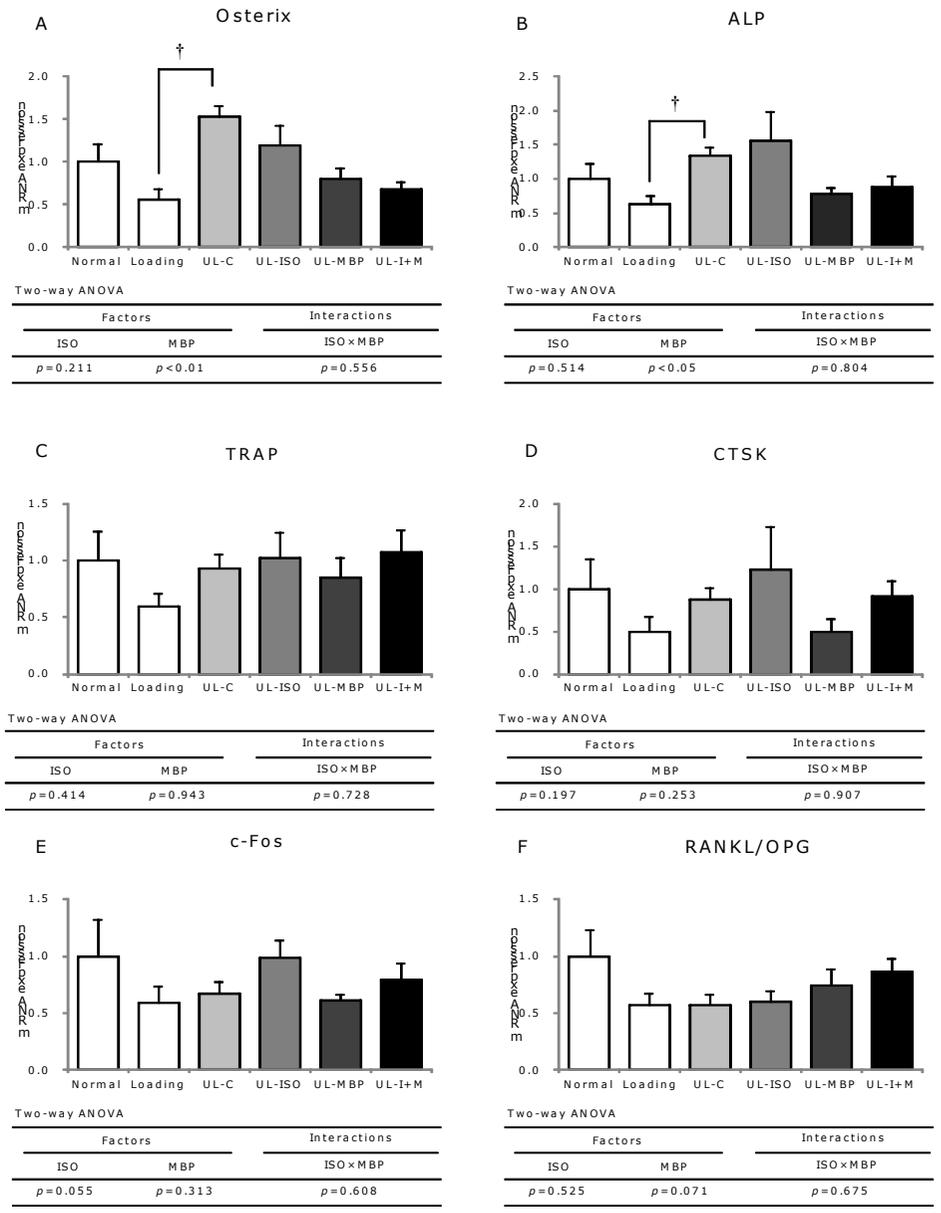


② 骨に有益な宇宙食候補の技術開発(骨グループ)

2. 非荷重モデルマウスの骨代謝関連遺伝子発現に対する大豆イソフラボンと乳塩基性タンパク質の効果

図3 大豆イソフラボンと乳塩基性蛋白質の併用摂取が非荷重モデルマウスの骨代謝関連遺伝子に及ぼす影響

骨代謝関連遺伝子の発現量を図3に示した。
 UL-C群のOsterix発現はLoading群と比して有意に高値を示したが(図3A)、MBP摂取(UL-MBP群、UL-I+M群)群において、Osterix発現の増加に対する有意な抑制作用が認められた(MBP: $p < 0.01$)。しかしながら、発現の増加に対するISO単独の作用(ISO: $p = 0.211$)、およびISOとMBPの相互作用は認められなかった(ISO × MBP: $p = 0.556$)。
 ALP遺伝子発現に関しても同様に(図3B)、非荷重により生じたALP発現の増加に対してMBPは有意に抑制作用を示したが(MBP: $p < 0.05$)、ISO単独の作用(ISO: $p = 0.514$)、およびISOとMBPの相互作用は認められなかった(ISO × MBP: $p = 0.804$)。
 また、TRAP、CTSK、c-Fos、RANKL/OPGの遺伝子発現量は、非荷重による有意な作用は認められず、またISOおよびMBPの有意な作用、ISOとMBPの相互作用は認められなかった(図3C, D, E, F)。



② 骨に有益な宇宙食候補の技術開発(骨グループ)

3. 大豆クラッカーの品質検査

1) 官能評価 (表 1)

時間が経つごとにチーズのフレーバーが劣化し、大豆由来の風味がでてくる傾向があるが、大塚製薬株式会社の既存大豆製品と比較しても同等またはそれ以上に安定であると考えられた。

2) 水分値

50℃保管、37℃保管ともに大きな変化は認められないことから、包材やシールに問題はないと考えられる。

3) 微生物試験 (表 2)

50℃保管、37℃保管ともに微生物の増殖は認められないことから、品質に問題はないと考えられる。

4) ビタミンD (表 3)

50℃保管では6週目、37℃保管では6カ月を過ぎるころにはビタミンDが栄養成分表示の誤差範囲を下回る可能性がある。しかし、現実性を考慮した場合、このような過酷な保管が継続されるとは考え難く、今後、室温長期保管の結果と合わせてアップドーズを検討する必要がある。

5) 包材減圧試験

50℃保管、37℃保管ともに気泡は認められなかったことから、包材のシール強度に問題はないと考えられる。

6) 酸素濃度

酸素濃度が5%以下に保たれていることから、指定された包材に関しては通気性もほぼ無いと考えられ、シール密封に問題がない限り気密性に問題はないと考えられる。全体的に酸素濃度がスタート時より減少しているが、これは中のサンプルが酸化されたことによるものと考えられる。

表1 大豆クラッカー官能評価

	官能者	1週間			2週間			1ヶ月			2ヶ月		
		味	香	食感									
50℃	A	4+	5-	5	4	4+	5						
	B	5-	5-	5	5-	4+	5						
	C	5-	5-	5	4+	4+	5						
37℃	A							4	4+	5	4-	4	5
	B							5-	4+	5	4+	4+	5
	C							5-	5-	5	4+	4	5
4℃	A				5-	5-	5						
	B				5	5	5						
	C				5	5	5						

表2 大豆クラッカー微生物試験

(単位: cfu/g) ※大腸菌群 (単位/2g)

	細菌	真菌		大腸菌群
		カビ	酵母	
スタート	10	0	0	陰性
50℃ 1W	0	0	0	陰性
50℃ 2W	0	0	0	陰性
37℃ 1M	0	0	0	陰性
37℃ 2M	5	0	0	陰性

表3 大豆クラッカービタミンD含有量及び残存率

	理論値	スタート	2週		2ヶ月
			4℃	50℃	37℃
ビタミンD(μg/100g)	16.7	16.5	15.8	15.4	15.6
ビタミンD残存率(%)		100%	95.8%	93.3%	93.4%

③ 茶カテキン入りチョコレートの抗酸化作用の確認

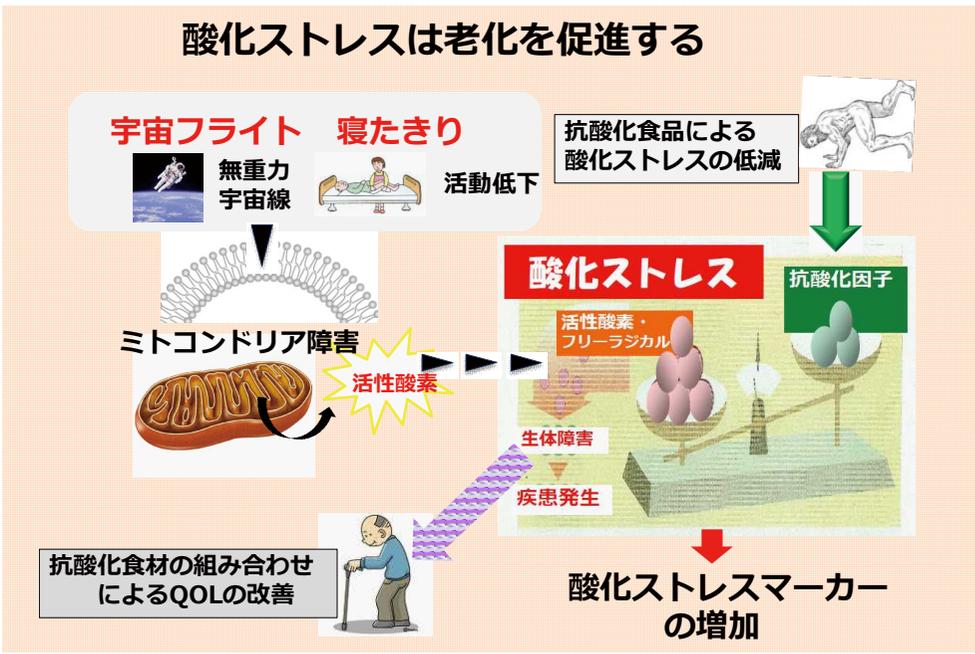
実施内容及び主な研究開発成果

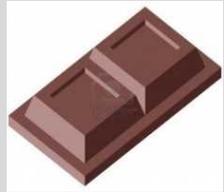
(要約)

萎縮筋では酸化ストレスが生じることから、抗酸化物質が筋萎縮を低減することが示唆された。我々は、以前より食品機能因子として抗酸化フラボノイドに着目し、その疾病予防作用に関する研究を推進してきた。現在まで、廃用性筋萎縮を予防する薬剤は開発されておらず、有効なのはリハビリテーションのみである。したがって、筋萎縮予防に寄与する機能性食品としてフラボノイドの効用を実証できれば、極めて大きな社会貢献になる。そこで、植物性素材の抗酸化フラボノイドから、抗ユビキチン化作用、つまりユビキチン化を司る酵素(ユビキチンリガーゼ)の発現を抑制しうるフラボノイドである茶カテキンの体内動態を解析した。経口摂取したこれらポリフェノールの一部は、骨格筋に蓄積することを明らかにした。また、茶カテキンをブロックチョコレートに含有させた機能性宇宙食を開発した。ヒトにこのチョコレートを摂取させると効率よく血中濃度が上昇することを確認した。茶カテキンを含んだチョコレートは抗酸化かつ抗筋萎縮機能を有する機能性食材として有効かもしれない。

(目的)

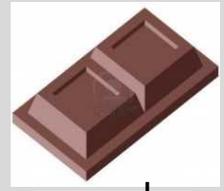
宇宙環境では高放射線曝露による酸化ストレス上昇が大きな健康リスクファクターになる。また、無重力環境で萎縮した骨格筋内には、酸化ストレスが亢進することも分かっている。このような酸化ストレスリスクを避けるための簡便かつ安全性の高い方法として食品由来抗酸化フラボノイドの有効利用がある。我々のグループでは菓子会社(ロッテ株式会社)の協力により、緑茶カテキン含有チョコレート(茶カテキンチョコChoco+CP: チョコレート原料20gに茶カテキン粉末0.375gを添加した)を作成した。本研究では、このフラボノイド含有チョコレートのヒトおよびラットでの体内動態や有効性を検証した。





Choco

チョコレート20g/日
(EC含有)



+



Choco+CP

チョコレート20g
+ 茶カテキンパウダー
0.375g/日

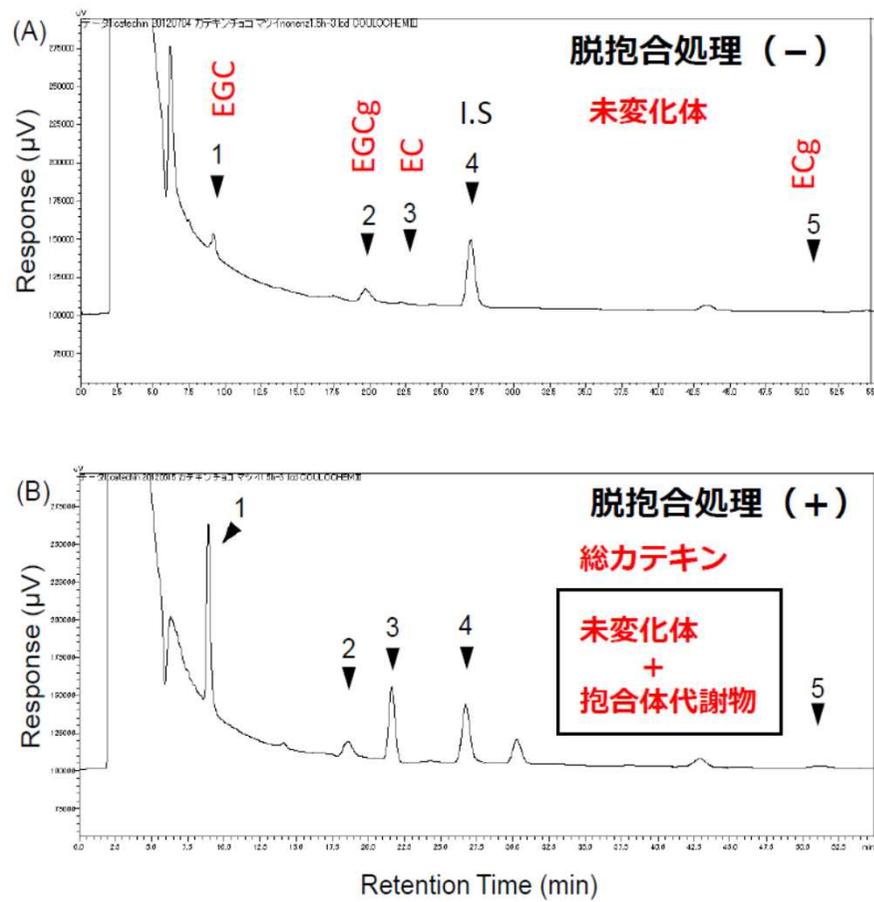
ロッテ(株)提供

③ 茶カテキン入りチョコレートへの抗酸化作用の確認

1. 茶カテキン入りチョコレートのヒトへの単回投与実験

4種類のカテキンが、茶カテキン入りチョコレート摂取90分後の血漿に検出された。
EC(図1上の3),EGC(図1上の1)がほとんど抱合体代謝物で存在したのに対して、ECg(図1上の5),EGCg(図1上の2)では多くが未変化体として存在した (図1)。

図1 カテキンチョコ(Choco+CP)20g摂取後1.5時間の血漿抽出物のHPLCクロマトグラム



(脱抱合酵素処理により得られたピークは総カテキンを示す。脱抱合処理(-)は抱合体のみのピークである)。

③ 茶カテキン入りチョコレートの抗酸化作用の確認

2. 茶カテキン入りチョコレートのヒトへの連続投与実験

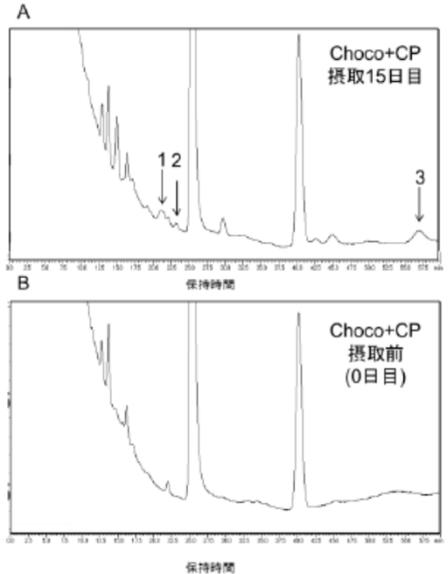
14日間連続で試験食を摂取した被験者である20代女性5名は、15日目の血漿からEC(図2上の2)とECg(図2上の3)が検出されたが、EGCとEGCg(図2上の1)は検出されなかった(図2)。とくにECgの濃度は10.6±2.3 nMに達した。

そこで、ラットを用いてECgとEGCgを等量として摂取させた後の血中蓄積量を比較した。その結果、未変化体およびアグリコンと抱合体代謝物を合わせた総カテキン量とともにECgの方がEGCgよりも24時間までの血中濃度は高値であった(図3) またECgでは摂取後8時間以降に抱合体代謝物濃度が上昇する特徴がみられた。

さらに14日間、ラットに同量を強制反復投与させ、24時間絶食後の血漿濃度(basal 濃度)を分析した結果、ECg濃度がEGCg濃度に比べて高値を示した(図4)。

これらの結果から、単回投与、反復投与のいずれにおいてもECgの方が生体利用率が高いことが明らかになった。したがって、茶カテキンチョコの機能性を評価するためには、ECgに焦点を当てる必要があると考えられた。

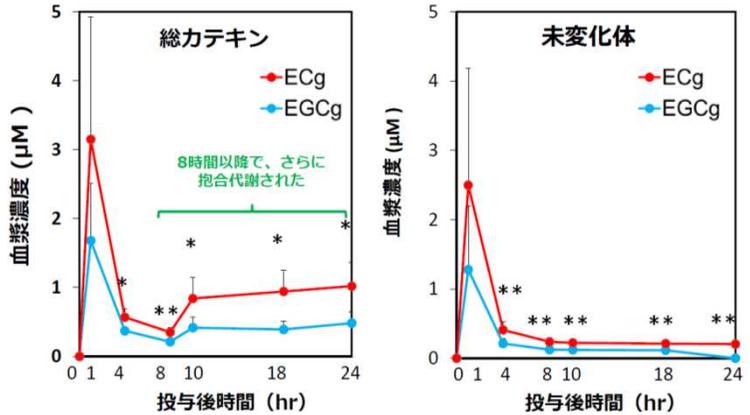
図2 14日間カテキンチョコ(choco+CP)摂取後のヒト血漿抽出物のHPLCクロマトグラム



脱抱合処理有。
1: EGCg
2: EC
3: ECg

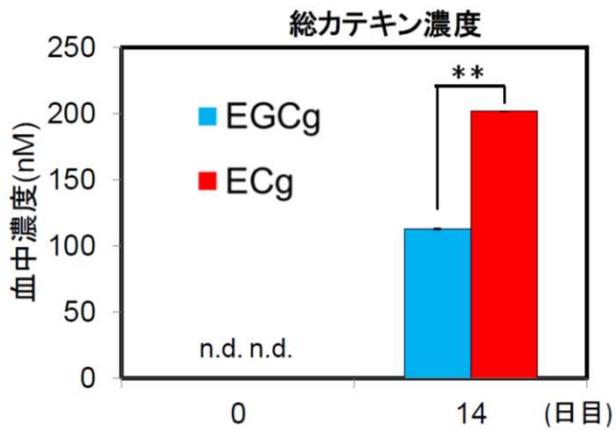
カテキン含有チョコではECGが蓄積しやすい

図3 ラットのカテキン粉末単回投与によるECgとEGCgの血中濃度の変化



Mean ± S.E. (n=7), ECgとEGCgで比較して有意差あり。 Student's t-test, (p<0.05) n.d. = not detected * : p<0.05 ** : p<0.01

図4 ラットのカテキン粉末反復投与によるEcgとEGCgとのbasal血中濃度の比較



③ 茶カテキン入りチョコレート の 抗酸化作用 の 確認

3. 茶カテキンの血管内皮細胞に及ぼす作用

ポジティブコントロールとして用いたケルセチン(Q)に比べて、ECgではcav-1のリン酸化は抑制されなかった(図5)。
 酸化ストレスによるcav-1のリン酸化は内皮細胞間の結合タンパク発現を介して内皮透過性に関わることが知られている。本実験の条件では、ECgにcav-1リン酸化を抑制する作用はみられなかった。

次に、酸化ストレスによるcav-1そのものの発現上昇に対するECgの効果を検討した。酸化LDL由来のリゾホスファチジルコリン(LysoPC) 0.1 μM濃度、および10 μMのECgで48時間HUVECを同時処理した後に、細胞を回収した。ウエスタンブロットにより、cav-1発現量を測定したところ、ポジティブコントロールであるケルセチン(Q)に比べてECgはその発現を抑制しなかった(図6)。しかし、EGCGはQと同様に発現抑制することが示された。

酸化ストレスはcav-1の発現上昇を介して動脈硬化に関与する単球接着因子の発現を上昇させることが知られている。したがって、EGCGに抗動脈硬化作用が期待できる結果となった。

図5 H₂O₂によるHUVECのカベオリンー1リン酸化に対するECgの効果
 (Q:ケルセチン positive control)

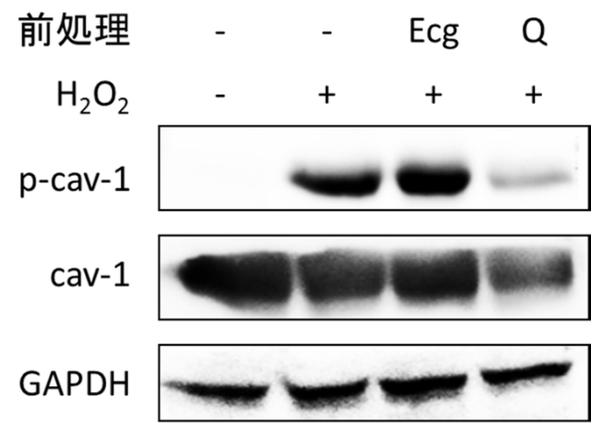
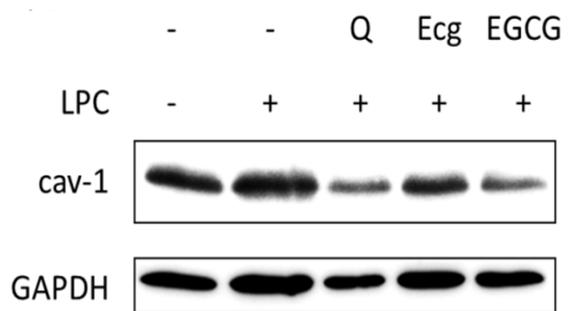


図6 LPCによるカベオリンー1タンパク発現に対するECg、EGCGの影響
 (Q:ケルセチン positive control)



④ ミネラルバランスと塩味嗜好性の相関性の解析(味覚グループ)

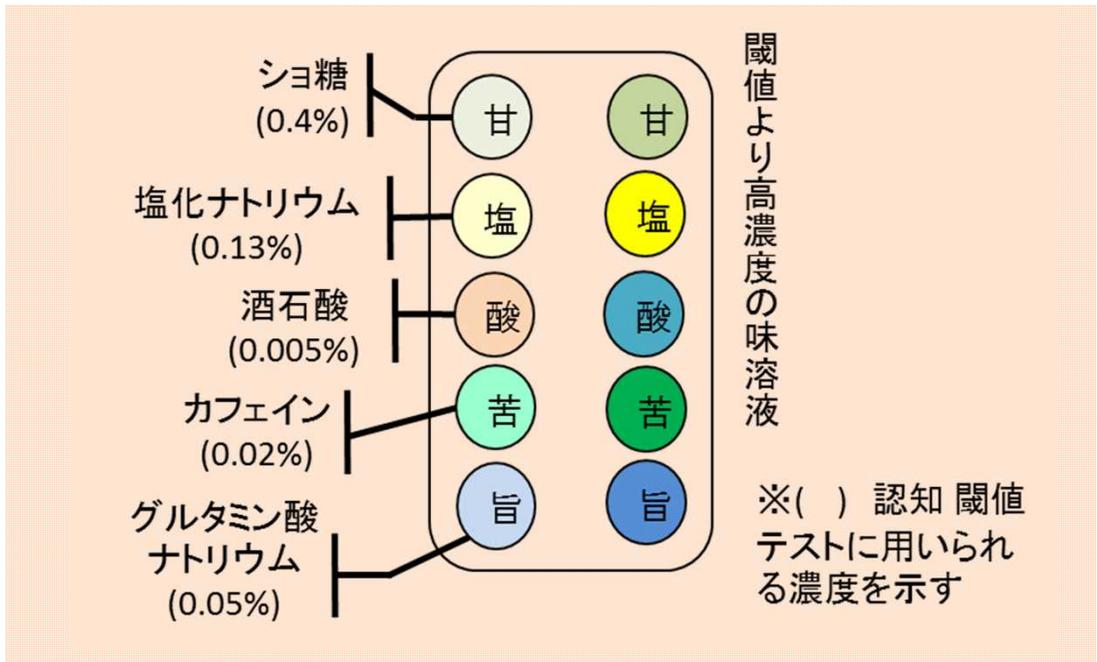
実施内容及び主な研究開発成果

(要約)

「宇宙環境で味覚が変動する」ことは宇宙飛行士の経験から伝えられているが、科学的なメスは加えられていない。まず、宇宙環境における味覚の変化に関する研究に先立って味覚を変化させる要因の一つである亜鉛欠乏と、味覚変化に関する研究を実施した。短期の亜鉛欠乏食を与えたマウスの味に対する嗜好性の変化を観察した。長期的な亜鉛欠乏では、塩味・苦味・酸味・甘味など、複数の基本味における嗜好性が変化することが示されているが、短期間の欠乏における味嗜好性変化に関する研究は少ない。宇宙空間においては、短期間における金属代謝の変化が予想されていることから、短期間における味嗜好性の変化を観察することは重要である。実験動物としてマウスを用い高濃度NaCl(塩味)に対する嗜好性変化が生じるが、味蕾の形状変化は認められない、亜鉛欠乏8日目に解析日とした。嗜好性行動の評価には、従来用いられてきた two bottle test ではなく、多濃度における解析が容易であり、摂取後効果の影響を排除できる brief access test を用いた。まず、忌避性味質である高濃度NaClの嗜好性変化について解析したところ、過去に報告されている two bottle test の結果と同様に、亜鉛欠乏群において嗜好性の増大(忌避性の低下)が観察された。このことから、高濃度NaClに対する嗜好性変化は報酬系などの摂取後効果によるものではないことが示された。

塩分濃度の異なる宇宙食インスタントラーメンの嗜好性テストを行い、ミネラルバランスと塩味嗜好性の相関性を見いだした。さらに、NaClに代わる塩味成分を見だし、宇宙飛行士に塩分の取り過ぎを防ぐ食事を考案した。今まで報告のある塩味増強物質の類縁物質から、増強効果を有する物質を見出した。その結果、 Guanidinoアルコール類に強い活性があることがわかった。炭素骨格の異なる Guanidinoアルコールを複数合成し、溶解度などを検討した結果、3-guanidino-1-propanolが溶解性に優れていること、結晶化に成功したことから、本物質を大量に且つ簡便に合成する方法を構築した。得られた物質は98%以上の純度を有し、これを用いて安全性試験を行った。単回投与試験などの安全性をチェックし、宇宙食としても利用されているラーメンの塩分濃度の異なるスープに添加して、減塩効果を検証した。その結果、25%程度の減塩が可能であることが見いだされた。

濃度差識別試験



④ ミネラルバランスと塩味嗜好性の相関性の解析(味覚グループ)

1. Brief access test による亜鉛欠乏ラットのNaCl嗜好性変化の観察

二瓶嗜好テストでは、摂取後効果の影響が考えられることから、味覚感受性のみを捉えるbrief access testによる嗜好性の変化を解析した。

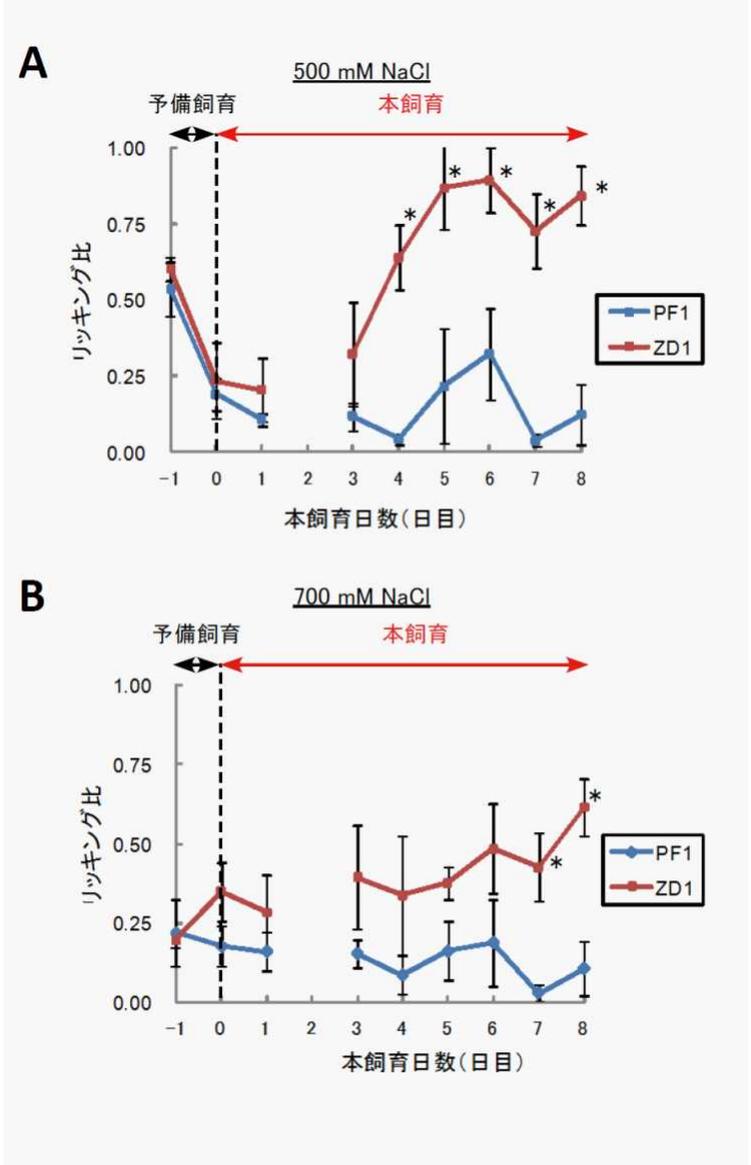
高濃度NaCl溶液として500 mM NaClを提示したところ、対照群であるPF1群では味溶液を初めて提示した予備飼育6日目(本飼育-1日目)には約0.5と比較的大きなリッキング比が観察された。しかしその後のリッキング比は0.35以下を保ち続け、500 mM NaClは絶水状態であれば忌避されることが示された(図1-A)。

一方、亜鉛欠乏食を給餌したZD1群では、本飼育0日目まではPF1群と同程度のリッキング比を示していたが、本飼育1日目から徐々に嗜好性が増大していった。本飼育4日目以降はリッキング比が0.5を超え、PF1群に対し有意な嗜好性の増大が観察された。700 mM NaClを提示した際には、PF1群は常に0.25以下のリッキング比を示した(図1-B)。

ZD1群では500 mM NaClのように顕著な嗜好性の増大は観察されなかったが、PF1群と比較するとやや大きく、0.25以上のリッキング比を保ち続けた。本飼育7日目および8日目にはPF1群に対し有意に700 mM NaClを嗜好した。

これらの結果から、亜鉛欠乏食によって高濃度NaClに対する嗜好性は徐々に増大し、本飼育7日目以降は再現性よく有意に嗜好することが明らかとなった

図1 亜鉛欠乏ラットのbrief access test による高塩濃度NaCl水溶液に対する嗜好性評価



④ ミネラルバランスと塩味嗜好性の相関性の解析(味覚グループ)

2. 新規の塩味増強物質の探索

ハイスループットな測定系としてプレートリーダーを用いたスクリーニング系を構築した。リガンドがENaCに応答すると膜電位が変化し、同時に導入した膜電位感受性色素の蛍光値の変化として現れる。この蛍光値変化 ΔRFU を記録する。図2に示すようにリガンド添加100秒後の ΔRFU を測定することで、応答強度の差を検出する。

細胞の培養時間、リガンドの添加方法は図3-Aのように決定した。すなわち、hENaC a, b, gを一過的にHEK293T細胞に発現させ、DMEM中にて24~27時間培養する。これを96ウェルマイクロプレートに播種する。Na⁺を含む測定用バッファーに置換し、膜電位感受性色素を添加する。リガンドを含む測定用バッファーをウェルの中に滴下し、蛍光を測定する(図3-B)。既にENaC活性化能を有すると報告されているS3969を1 mM加えた際の応答値に対する各リガンドの応答値の比率が0.18以上のものを、二次スクリーニングへ進めた。

一次スクリーニングで得られた化合物には多くの疑陽性物質が含まれる可能性があり、二次スクリーニングでは、これらを除くためにアフリカツメガエルの卵母細胞を用いた2電極膜電位測定法を用いて、膜電位の変化を測定した。hENaCa, b, gのcRNAを1:1:1の比率で、マイクロインジェクターを使用してアフリカツメガエル卵母細胞(oocyte)に注入し、hENaCを発現させた。ナトリウムイオンを含むND96バッファーで満たされたチャンバー内で卵母細胞に2本の微小電極を挿し、ここにリガンド溶液を添加する。hENaCを介したナトリウムイオンの流入速度に変化が生じると、膜電流が変化し、この膜電流変化を二電極膜電位固定法により記録する。測定の際にはENaC阻害剤であるアミロライド1 μ Mの添加を同時に行い、それに対する応答を基準としてリガンドの活性有無の判定を行うことで、偽陽性を除去した。これらのスクリーニングで最終的に残った化合物をhENaC活性化剤とした。

化合物ライブラリー(約21万化合物)の中で構造的に多様性を持たせた約1万のコアライブラリーの中から、上記方法で3,367化合物のスクリーニングをおこなった。スクリーニングの結果は特許申請の関係で示さず。今後これらの化合物の構造的相同性などの解析が必要である。

図2 膜電位感受性色素を用いたリガンドの応答活性評価

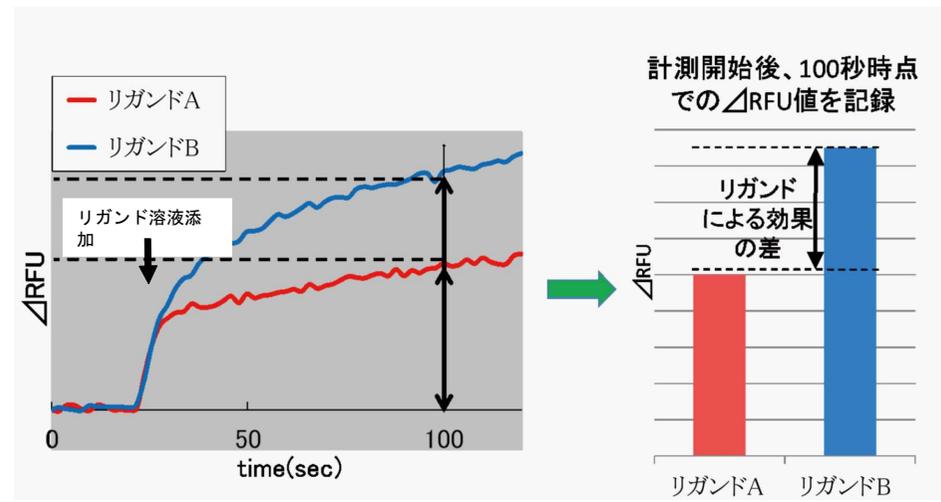
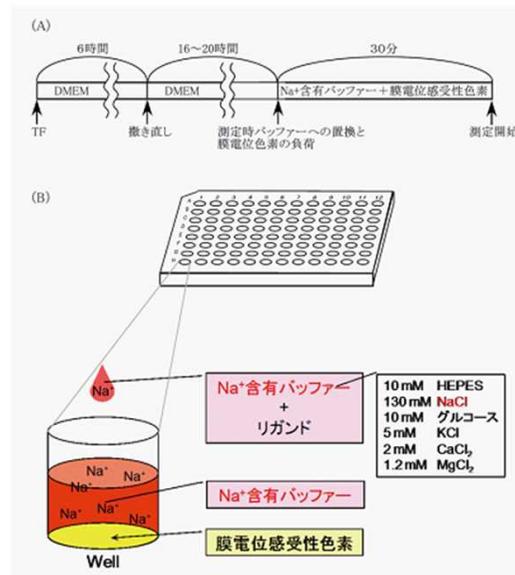


図3 ハイスループットアッセイ系



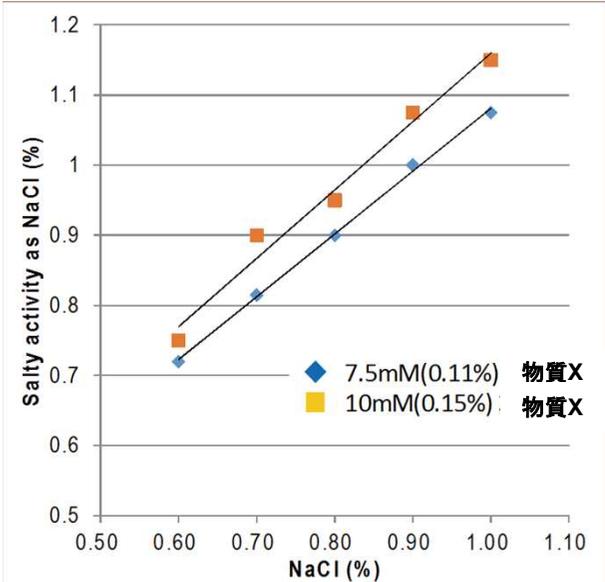
④ ミネラルバランスと塩味嗜好性の相関性の解析(味覚グループ)

3. 官能評価による既知物質(アミノ酸類)からの塩味増強物質の探索

官能評価による既知物質(アミノ酸類)からも塩味増強物質の探索を行った。図4に示すように、この物質も0.15%の添加で食塩水の塩味を15%以上増強することを見出した(特許の関係で物質名を伏す)。この時、添加物の異味は全く感じられず、塩味だけが増強された。

宇宙食の中で、スペースラーメンは塩分を2.5%含有している。塩分を低下させるために本物質をインスタントそばつゆに添加し、塩味がどの程度増強されるかを検証した。その結果、これを0.2%添加した場合、0.76%食塩濃度でも、1.02%の食塩を添加した場合と同じ塩味を感じることが出来た。すなわち、**25%の減塩に成功した。**

図4 物質Xの塩味増強活性



その他の研究開発成果

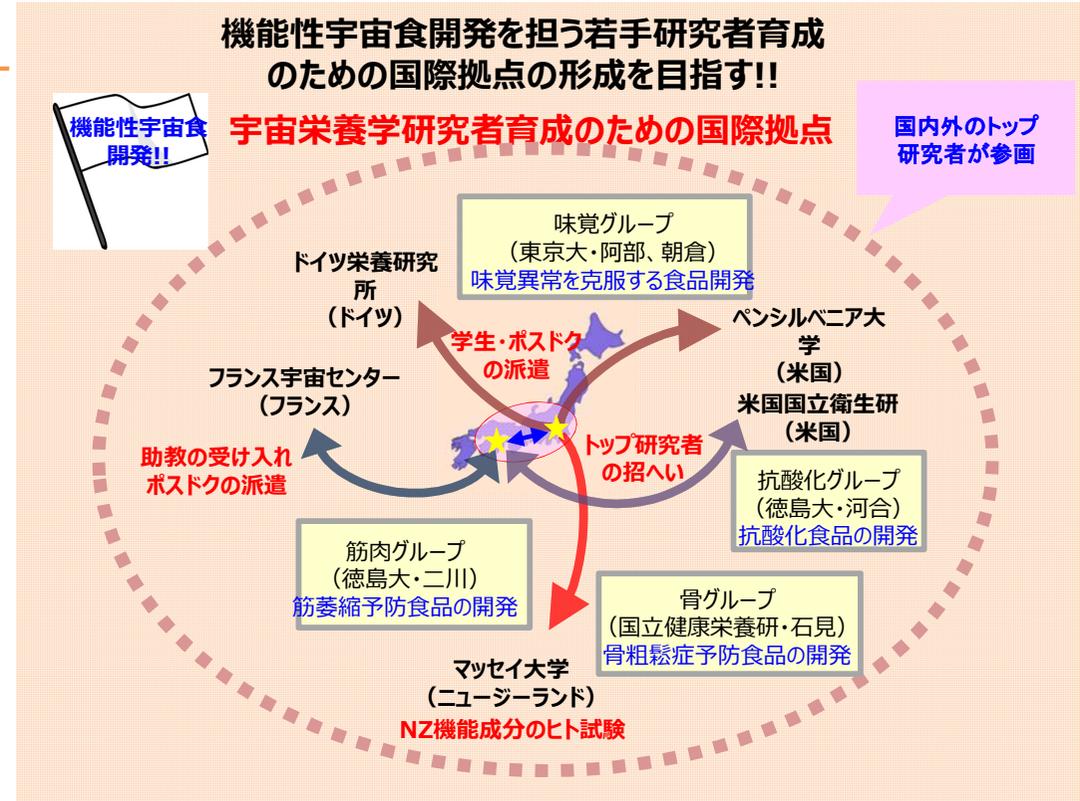
これまで得られた成果 (特許出願や論文発表数等)	特許出願	査読付き 投稿論文	その他研究発表	実用化事業	プレスリリース・取材対応	展示会出展
	国内：1 国際：0	国内：4 国際：59	国内：150 国際：13	国内：0 国際：0	国内：0 国際：1	国内：0 国際：0
	受賞・表彰リスト		2016年度 日本栄養・食糧学会 学会賞（二川健）			

成果展開の状況について

より長期間の宇宙滞在を可能とし宇宙開発を加速するためには、宇宙環境で生じる生体障害を軽減する「機能性宇宙食」の開発・応用が必要である。これまでに本申請メンバーを中心として、骨・筋肉・抗酸化・味覚に着目した機能性食材の探索とメカニズム解明などを進めてきた結果、ヒトへの応用が見込まれる多彩な有効成分が見出されている段階である。しかも、米国オバマ大統領が“2030年までに人類を火星に送る”と述べているように、人類の宇宙大航海時代はすぐ目の前に来ている。来たるべき本格的な宇宙開発時代へ向けて、このような機能性宇宙食研究を継続・発展させるためには長期的かつ戦略的なシステム構築が必要であり、本課題では「宇宙栄養学」を志す若手研究者の育成に主眼を置いた。宇宙食研究に取り組む研究者人口は、一般生命科学分野と比べて極めて少なく、また一般社会への認知度も不十分であり、裾野拡大と研究者人口の増加が望まれる。そこで、本課題ではこれまでに国内で醸造された機能性宇宙食研究のノウハウと本申請メンバーのもつ国際的な学術ネットワークを有機的に連携することにより「機能性宇宙食研究拠点」を構築し、次世代の宇宙栄養学を担う若手研究者を育成することを目的として研究をスタートしている。

今後の研究開発計画

- 1) 機能性宇宙食材の開発分野の研究者を育成するため、平成28年度の宇宙航空科学技術開発委託費に申請することとした（幸いなことに、本報告書作成時には、採択の連絡があった）。
- 2) 企業に宇宙食産業に参画してもらうためには、宇宙飛行士を対象とした機能性宇宙食介入試験が必須である。今回の研究成果を基盤に新たに企業との共同研究体制を構築し、平成29年度のJAXAが提供するFeasibility 宇宙研究に申請することとした。



事後評価票

平成28年3月末現在

1. 課題名 宇宙飛行士の安全な長期宇宙滞在を可能にする機能性宇宙食の開発
2. 主管実施機関 国立大学法人徳島大学
3. 共同実施機関 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所、国立大学法人東京大学、国立研究開発法人宇宙航空研究開発機構
4. 事業期間 平成25年度～平成27年度
5. 総事業費 41百万円
6. 課題の実施結果
(1) 課題の達成状況
「所期の目標に対する達成度」 宇宙飛行士がISSに長期滞在する時代を迎え、宇宙環境が生体に及ぼす影響が問題視されている。宇宙環境では骨量減少が地上の数倍～10倍の速さで起こる。また、筋肉の萎縮、宇宙放射線による被曝や味覚の変化も発生する。このような生体影響を軽減する方策の確立が急務であることから、宇宙飛行士のISSでの食生活において、少しでもこれらの影響を軽減することができれば理想であると考え、機能性宇宙食のセットを開発するとともに、微小重力下における味嗜好の変化を科学的に解明することを目的として研究を実施した。 本課題により、大豆蛋白質、大豆イソフラボンや茶カテキンなどの食材の機能性(有効性)がヒトで確認できた。さらに、それらの機能性を利用して、宇宙飛行士を悩ませている骨粗鬆症、筋萎縮に有効な大豆クラッカーや酸化ストレス軽減に有効なカテキン入りチョコレートなど、機能性宇宙食として認定可能な食品も提案した。また、宇宙に行くと味覚異常により塩分摂取が増大するが、宇宙食にも用いられる麵つゆの25%減塩を可能にする塩味増強物質も得ることができた。以上のことより、所期の目標に対する達成度はほぼすべて達成できたと考える。
「必要性」 本課題の必要性は、以下のようなものが考えられた。 1) 科学的・技術的意義(独創的、革新性、先導性、発展性等) 本研究により、大豆蛋白質、大豆イソフラボンや茶カテキンなどの食材の機能性(有効性)がモデル動物だけでなくヒトでも確認できた。これらの機能性食材を用いた機能性宇宙食により宇宙飛行士の健康維持に貢献することができたと考える。さらに、地上で展開することにより、地上での高齢者の健康の

保持・増進に寄与できた。骨及び筋萎縮を予防する方策として、現在、国際宇宙ステーションでは運動処方が実施されている。また、骨量減少を軽減させる方策として、医薬品の効果が検証されつつあるが、副作用の問題もあり、全ての飛行士に適用されるわけではない。本研究では、モデル動物だけでなくヒトにおいても、日常的に摂取する食事により微小重力の生体影響を軽減することがわかった。これまでに、微小重力下において誘発される骨・筋萎縮並びに酸化ストレスに対して、食品の有用性を評価した宇宙実験は行われていないことから、本課題は発展性のある研究といえる。

これまでの日本の宇宙開発は、どちらかというところ、ロケットや人工衛星などハード面の開発が主流であったと考えられる。しかし、どれほどこれらの技術が発展しようとも、食材などソフト面の進歩がなければ、人類は長期間安全に宇宙で滞在することはできない。本課題で骨粗鬆症、筋萎縮に有効な大豆クラッカーや酸化ストレス軽減に有効なカテキン入りチョコレートなど、実用化に近い機能性宇宙食を開発したことは、日本の宇宙開発に独自の流れを起こしたと考える。

2) 社会的・経済的意義（産業・経済活動の活性化・高度化、国際競争力の向上、知的財産権の取得・活用、社会的価値（安全・安心で心豊かな社会等）の創出等）

今後の医学は、疾患の治療ではなく予防が重要である。宇宙環境は高齢化社会が進む我が国の近未来の環境を提供している。つまり、栄養学的アプローチにより宇宙という特殊環境を対象とした本課題は、近未来の日本が直面する医学的問題を解決することに通じるもので非常に重要な意義がある。本課題は、日本の近未来を反映した宇宙環境を利用し、栄養学・医学を飛躍的に発展させるものであり、宇宙飛行士だけでなく高齢者や被災時の被災者等、多くの地球上の人々もその成果を享受できる。本課題は、「国民からよく見える日本の宇宙開発」のモデル研究になったと考える。

以上のことから、本研究の必要性は十分であったと考える。

「有効性」

1) 直接の成果の内容

「きぼう」利用シナリオ、方向性2では、宇宙活動のための基盤的な研究開発が求められている。そのうち、宇宙医学分野では重点目標1において、将来の宇宙開発のための基盤的な研究開発として、「宇宙飛行士の健康管理に役立つ宇宙医学研究」を推進することが挙げられている。本課題は、日常の食生活において人体の骨量減少、筋萎縮、抗酸化ストレスを軽減すること、さらに塩味嗜好性の変化を明らかにすることを目的とした。期待通りの成果をあげることができたことにより、まさしく長期間、微小重力下で活動する宇宙飛行士の健康管理に直接役立つ宇宙医学研究であったといえる。

2) 実用化・事業化への貢献

本課題は食品企業との共同研究の成果でもある。宇宙食産業を実態のある産業として発達させる基盤を提供できたのではないかと考える。宇宙食のみでは対象の規模が小さいので企業が直接参入するのは失敗する確率が高い。本課題では機能性宇宙食が地上の健康食品開発につながるということが明らかになった。これより、企業が宇宙環境で起こりうる疾患と関連した地上の疾患を対象とした食材・食品開発に参入しやすくなったと考える。

3) 波及効果の内容と人材の育成

本課題により、同じく機能性宇宙食の開発に熱心なフランス宇宙研究センターなど海外の研究者との交流が深まり、共同研究を行うこととなった。さらに、徳島大学にもフランスから本課題推進のために若手研究者が助教として勤務している。将来、日本からフランスへの留学の道の可能性が高まり、機能性宇宙食開発分野の人材育成にも貢献したと考える。

以上のように有効性の高い研究であった。

「効率性」

1) 計画・実施体制の妥当性

本課題に採択後、毎年2回全体会議（進行状況報告会、年度末報告会など）を開催し、グループ間の情報の共有化に努めた。あるグループで研究が滞っている場合は、他のグループから研究方法の指導や支援をした。その結果、大きく研究進路を誤ることはなかった。また、その会合に、常にJAXAの研究者を招待し、宇宙食開発分野で問題となっている事項や宇宙実験の現状などの説明を受け、常に本課題の目的を見失うことなく研究を実施できた。

2) 研究開発の手段やアプローチ、費用対効果の妥当性

ヒト、特に入院患者（寝たきり患者）を対象とした食事介入試験は、一般に数千万円から億単位の費用がかかると言われている。本課題では、徳島大学病院の臨床試験管理センターやその関連病院、共同研究企業の支援により、数百万円で行うことができた。今後のヒト食事介入試験のモデルとしたい。

(2) 成果

「アウトプット」

各グループの成果は以下のとおりである。

1) 筋グループ

食餌(食事)大豆蛋白質の抗筋萎縮作用を明らかにするため、筋萎縮モデル動物や寝たきり患者に対し、大豆蛋白質の食餌(食事)介入試験を行った。平成25年度は副腎皮質ホルモンを処理した筋管細胞と坐骨神経切除マウスに対して、平成26-27年度は運動不足の健常人や寝たきり患者に対して、大豆蛋白質の抗筋萎縮効果を検討した。平成26年度導入の最新のメタボローム解析機器を用い試験サンプル(血液や尿)をメタボローム解析に供し、8gの大豆蛋白質が宇宙飛行士と同じように筋が萎縮する寝たきり患者にも有効であることを確認した。

2) 骨グループ

骨量減少の抑制を目的とする食品成分については、尾部懸垂非荷重モデル動物を用いて、大豆イソフラボン及び乳塩基性蛋白質の有効性を評価した。ヒトを対象とした試験でその有効性・安全性の評価結果を基に、大豆蛋白質8g及び大豆イソフラボン30mgを含有する大豆クラッカー(大塚製薬と共同研究)と大豆ハンバーグ(不二製油と共同研究)を開発し、それらの機能性宇宙食の実現性を探った。

3) 抗酸化グループ

強い抗酸化活性を有し、機能性食品に応用されている茶カテキンの筋萎縮抑制作用並びに抗酸化作用を評価するため、茶カテキンをブロックチョコレートに含有させた機能性宇宙食を開発した（ロツテと共同研究）。FSでは、チョコレートとして摂取した場合の茶カテキンのヒトでの生体利用性を確認することを目的としてヒトを対象とした試験を実施し、ヒトにおいて血中濃度が上昇することを確認した。

4) 味覚グループ

味覚については、これまでに味嗜好とミネラル代謝の関係について基礎的な研究を実施してきた。過度な塩分摂取は高血圧や浮腫等の疾病を引き起こすものの、宇宙食の美味しさには適度な塩分濃度が必要である。この美味しく感じる塩分濃度は、身体ミネラルバランスと密接に関わることが知られている。本研究では、亜鉛欠乏食を摂取させ、血中の亜鉛濃度が低下したラットでは、通常忌避する高濃度（0.5M）の塩味嗜好性が高まることを明らかにした。本研究では、塩分濃度の異なる宇宙食インスタントラーメン汁（日清食品との共同研究）の嗜好性テストを行い、ストレスと塩味嗜好性の相関性を解析した。一方、塩味成分増強物質もいくつか発見した。

「アウトカム」

1) 波及効果

本課題により、ヒトでの大豆蛋白質の有益性が証明できたことにより、平成28年度の日本栄養・食糧学会学会賞を授与した。さらに、平成28年4月にNHK WorldのMedical Frontiersの番組にも出演する機会を得た。栄養学におけるヒト試験の重要性改めて認識した。その他、研究代表者は、JAXAの主催する市民講座の講師や科学技術担当相の徳島大学訪問時の説明者として招かれた。

2) 効果・効用

徳島大学病院モデルともいべき、安価なヒト食事介入試験システムを構築した。そのシステムを用い、大豆蛋白質、大豆イソフラボンや茶カテキンなどの食材の機能性(有効性)がヒトでも確認できた。さらに、それらの機能性を利用して、宇宙飛行士を悩ませている骨粗鬆症、筋萎縮に有効な大豆クラッカーや酸化ストレス軽減に有効なカテキン入りチョコレートなど、機能性宇宙食として認定可能な食品も提案した。

3) 人材交流の推進

国際シンポジウム等を開催し、機能性宇宙食分野の国際的な人材交流を推進した。

(3) 今後の展望

日本食では米、ドイツ料理ではジャガイモ、インド食ではナン（小麦）というように、宇宙環境に最も適した主食（宇宙食の主食）を決定したい。本課題により大豆（蛋白質）はその有力候補になり得るのではないかと考えている。宇宙食として、昆虫が貴重な栄養源として考えられているが、食経験や加工のしやすさから判断すると、大豆にはより大きなメリットがある。近い将来、大豆を中心とした機能性宇宙食の宇宙実験を実施し、大豆の優位性を実証したいと考えている。

さらに、本課題で実施した機能性宇宙食の開発は、超高齢社会の我が国の健康食品産業の育成につながる。実際、多くの民間企業の協力のもと具体的な食品を開発できており、抗老化食の開発とも呼ぶべき地上での実用化に大いに貢献できると考えている。

機能性宇宙食の研究者の数は世界的にも少ないので、本課題で育んだ人脈を通じ、若手研究者の育成システムも構築できるのではないかと考えている。

評価点

A

評価を以下の5段階評価とする。

S) 優れた成果を挙げ、宇宙航空利用の促進に著しく貢献した。

A) 相応の成果を挙げ、宇宙航空利用の促進に貢献した。

B) 相応の成果を挙げ、宇宙航空利用の促進に貢献しているが、一部の成果は得られておらず、その合理的な理由が説明されていない。

C) 一部の成果を挙げているが、宇宙航空利用の明確な促進につながっていない。

D) 成果はほとんど得られていない。

評価理由

宇宙飛行士の長期滞在における影響を考慮したより効果的な宇宙食の開発が期待されている。本研究開発では、企業との連携により、大豆蛋白、大豆イソフラボン・茶カテキンなどの食材を用いた機能性宇宙食の開発・検証ができており、相応な成果を挙げている。また、日常生活での応用が明確化されている点も評価できる。以上より、本課題は、相応の成果を挙げ、宇宙航空利用の促進に貢献している。

なお、宇宙食の開発は、社会への還元ができる可能性が高く、今後、有効性の実証を更に進めることを期待する。