

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 3 月 31 日現在

機関番号：16101
 研究種目：挑戦的萌芽研究
 研究期間：2011～2012
 課題番号：23650482
 研究課題名（和文）疾患特異的な腸管栄養素センシング機構の解明と特殊栄養食品の開発基盤の確立
 研究課題名（英文）Disease-specific intestinal nutrient sensing mechanism and the development of special nutrition foods
 研究代表者 山本 浩範（YAMAMOTO HIRONORI）
 徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・助教
 研究者番号：60314861

研究成果の概要（和文）：本研究では、疾患特異的な腸管栄養素センシング機構の解明と特殊栄養食品の開発基盤の確立を目的とし、腎不全時の腸管変動遺伝子の網羅的解析による統合的データベースの構築、疾病予防または治療の標的となる疾患特異的な栄養素センサー遺伝子群の同定を行った。また、腎不全モデル動物へのリン制限食の投与は、カルシウム代謝異常や異所性石灰化の発症を予防し、腎性貧血の予防にも有効であることを見出した。

研究成果の概要（英文）：In this study, we established disease-specific intestinal nutrient sensing mechanism and a basis for the development of special nutritious food. I identified renal disease-specific nutrient sensor genes and gene database using DNA microarray analysis. In addition, administration of phosphorus restricted diet to renal failure animal model, found that to prevent the development of ectopic calcification and calcium metabolism abnormality, also effective in the prevention of renal anemia.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：特殊栄養食品

1. 研究開始当初の背景

近年急増しているメタボリックシンドロームなど生活習慣病の治療法として、薬物と栄養の併用療法が重要であり、病態に応じて多種栄養素項目の制限や補給、そして薬物との相互作用を考慮する必要がある。特に腎不全疾患においては腸管での栄養素や薬物の吸収および代謝のコントロールが重要と考えられるが、疾患時における腸管機能の変化は十分把握されてなく、治療効果や進展予防効果の予測が困難である。

我々は、これまでに不活動ストレスモデル動物において腸管遺伝子の網羅的発現解析およびミネラル吸収の分子メカニズムの解析（JBMM 2006, Toxicology 2006）および

ヒト試験を行い食品成分の腸管での消化吸収機能の調節を報告した（Metabolism 2004, 2007）。さらに、腎不全モデルラット腸管組織の発現解析により栄養素・薬物の消化、吸収に重要な新たな変動遺伝子群を見出すことに成功した。しかし、これらの遺伝子の変動メカニズムは不明のままであり、疾患特異的な腸管栄養素センシング機構の解明は、新しい特殊栄養食品を開発する上で重要な基盤となる。

2. 研究の目的

これまでに我々は、腎不全時のミネラル代謝異常を栄養生化学的に解析し、腸管トランス

ポーター、チャネルおよび核内受容体などの遺伝子の栄養素代謝への関与について研究してきた。そこで本研究では、生活習慣病特異的な栄養素センシング機構の解明と特殊栄養食品の開発基盤の確立を目的とし、腎不全時の腸管変動遺伝子の網羅的解析による統合的データベースの構築、疾病予防または治療の標的となる疾患特異的な栄養素センサー遺伝子群の同定、腸管上皮細胞を用いた機能解析や機能性因子スクリーニング試験および疾患動物への投与試験を行う。

3. 研究の方法

(1) 生活習慣病モデルにおけるメタボロミクス解析および腸管栄養素センサーの同定を行うために、腎不全、糖尿病および動脈硬化モデルにおける腸管遺伝子データベースを構築する。論文報告に従い、アデニン誘導性腎不全モデルおよび5/6腎摘出腎不全モデルを作成、また、2型糖尿病を呈するZuckerラット、動脈硬化モデルであるApoE欠損マウスを購入飼育し、血中、尿中の生化学検査により病態解析を行う。さらに血液、尿および糞を用い質量分析装置を用いたメタボロミクス解析を行い、アミノ酸や脂肪酸など各種栄養素あるいはペプチド様物質、代謝産物の濃度変動をデータ化する。また、正常および疾患動物の腸管粘膜組織より全RNAを抽出し、本学の総合支援研究センターの協力を得てDNAマイクロチップ(Affymetrix社)を用いトランスクリプトーム解析を行い、さらにパスウェイ解析、Gene Ontology解析を行い栄養代謝に重要な変動遺伝子群を同定する。また、腸管cDNAを用いて定量的PCRにより抽出された遺伝子の変動を再確認する。

(2) 腸管機能遺伝子情報データベースを用いた生活習慣病時の腸管機能評価を行うために、マイクロアレイ解析で得られた遺伝子発現情報データと生化学検査データおよびメタボロミクス解析による代謝物データより相関性を検討し、疾患時の腸管遺伝子発現機能情報データベースを作成する。次に、データ計算による栄養素または薬物の消化吸収、代謝変動のシミュレーション解析を行う。さらに、腸管上皮細胞株(Caco-2, IEC-6)を用いて変動遺伝子群、特に栄養素の輸送や代謝に関わる遺伝子SLC family、Channel familyおよび代謝酵素などの活性測定および活性型ビタミンDやインスリンなどの内分泌ホルモンによる調節機構の解析、強制発現法やsiRNA法を用い機能解析を行う。

4. 研究成果

(1) 生活習慣病モデルにおけるメタボロミクス解析および腸管栄養素センサーの同定

として、腎不全、糖尿病モデルにおける腸管遺伝子データベースを構築した。論文報告に従い、アデニン誘導性腎不全モデルおよび5/6腎摘出腎不全モデル、糖尿病のラットを作成し、正常および疾患動物の腸管粘膜組織より全RNAを抽出し、本学の総合支援研究センターの協力を得てDNAマイクロチップ(Affymetrix社)を用いトランスクリプトーム解析を行った。さらにパスウェイ解析、Gene Ontology解析を行い栄養代謝に重要な変動遺伝子群を同定した(図1)。

①腎不全ラットの腸管においては、鉄や亜鉛、ビタミンCの吸収や代謝に関連する遺伝子が同定され、それら遺伝子が、疾患時に著しく低下することを確認した。また、糞中のミネラルを測定した結果、亜鉛および鉄の排泄量が有意に増加したことから、腎性貧血の原因には、エリスロポエチンの低下だけでなく、鉄および亜鉛吸収率の低下も原因と考えられた。

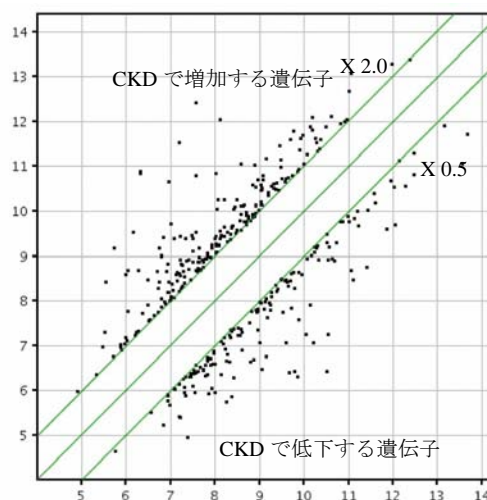


図1

②リン制限食は、腎不全で生じる亜鉛欠乏にも抑制的効果を有し、実際、腸管の亜鉛トランスポーターの発現変動を確認した。

③糖尿病モデルにおいては、腎臓でのビタミンD異化酵素CYP24遺伝子の発現亢進により、血中活性型ビタミンD濃度の低下が生じることを見出しただけでなく、選択的スプライシングにより産生されるデコイ型CYP24タンパクが増加することも見出した。糖尿病モデル動物においてもリン制限食がビタミンD代謝異常を改善する効果を観察した。

(2) 以上のことから、本課題研究により腎不全および糖尿病モデル動物を用いた腸管栄養素センシング機構の解析により、疾患の進展予防に効果を有する栄養素を特定する

ことができ、特殊栄養食品の開発基盤を確立することが可能になった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

- ① Van TV, Watari E, Taketani Y, Kitamura T, Shiota A, Tanaka T, Tanimura A, Harada N, Nakaya Y, Yamamoto H, Miyamoto K, Takeda E. Dietary phosphate restriction ameliorates endothelial dysfunction in adenine-induced kidney disease rats. J Clin Biochem Nutr. 51(1):27-32. 2012 査読有 DOI: 10.3164/jcbr.11-96.

[学会発表] (計11件)

- ① 田尻真梨、山本浩範、中橋乙起、香川知博、竹谷豊、佐々木一、武田英二：糖尿病時におけるビタミンD代謝異常の解明とリン制限食の治療効果 第16回日本病態栄養学会年次学術集会 2013年1月12-13日 京都国際会議場、(京都府)
- ② Nakao M, Yamamoto H, Nakahashi O, Kozai M, Taketani Y, Takeda E: Dietary Phosphate Restriction Prevents Renal Anemia in Chronic Kidney Disease Model Rats The American Society of Nephrology (ASN) Meeting, Kidney week 2012, 2012年10月30-11月4日 San Diego Convention Center (サンディエゴ、アメリカ合衆国)
- ③ 中尾真理、山本浩範、中橋乙起、阿部航太郎、竹谷豊、武田英二：慢性腎不全時のリン制限食を用いた栄養療法は、腎性貧血の発症進展を予防する 第245回徳島医学会学術集会 2012年7月29日、徳島県医師会館、(徳島県)
- ④ Yamamoto H, Kikuchi H, Nakao M, Nakahashi O, Tanaka S, Taketani Y, Takeda E. THE EXPRESSION PROFILING OF INTESTINAL NUTRIENT TRANSPORTER GENES IN RATS WITH RENAL FAILURE the XVI International Congress on Nutrition and Metabolism in Renal Disease 2012 the First World Renal Nutrition Week, 2012年6月26-30日, Hilton Hawaiian Village (ホノルル ハワイ、アメリカ合衆国)

- ⑤ 上田遥香、Abuduli Maerjianghan、山本浩範、竹谷豊、武田英二：CKDモデルラットにおける血管内皮機能障害に対する炭酸ランタンの効果、第55回日本腎臓学会学術総会 2012年6月1-3日、パシフィコ横浜、(神奈川県)
- ⑥ 中尾真理、山本浩範、中橋乙起、池田翔子、香西美奈、田中更紗、竹谷豊、武田英二 リン制限食による腎性貧血改善効果 第66回日本栄養・食糧学会大会 2012年5月18-20日、東北大学、(宮城県)
- ⑦ 十河未来、山本浩範、香西美奈、中橋乙起、池田翔子、大谷彩子、竹谷豊、武田英二：炎症性腸疾患の発症および治癒過程におけるリン摂取量の重要性 第66回日本栄養・食糧学会大会 2012年5月18-20日、東北大学、(宮城県)
- ⑧ 中尾真理、山本浩範、中橋乙起、池田翔子、香西美奈、田中更紗、竹谷豊、武田英二 リン制限食による腎性貧血の改善効果 第15回日本病態栄養学会年次学術集会 2012年1月14-15日、京都国際会議場、(京都府)
- ⑨ Yamamoto H, Masuda M, Kozai M, Taketani Y, Miyamoto K, Takeda E. Regulation of Phosphate Homeostasis by Steroid/thyroid Hormones and Its Receptors The International Conference on Food Factors 2011 (ICoFF 2011)、2011年11月20-23日、台北国際会議中心、(台北、台湾)
- ⑩ Mukai R, Kawamura T, Nemoto H, Nikawa T, Yamamoto H, Takeda E, Terao J. Flavonoid Derivatives Prevent Disuse Muscle Atrophy, The International Conference on Food Factors 2011 (ICoFF 2011)、2011年11月20-23日、台北国際会議中心、(台北、台湾)
- ⑪ Yamamoto H, Tsuji M, Mukai R, Inakuma T, Terao J, Takeda E Dietary quercetin and onion powder could prevent immobilization induced bone loss in rats. 第5回ポリフェノールと健康国際会議(ICPH) 2011年10月17-20日、Hotel Meliá, Sitges, Barcelona (スペイン)

6. 研究組織

(1)研究代表者

山本 浩範 (YAMAMOTO HIRONORI)
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス
研究部・助教
研究者番号：60314861

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：