

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16H03040

研究課題名(和文) 食事由来フラボノイドが有する機能性の次世代伝承性

研究課題名(英文) Mother-infant interaction of functional flavonoids

研究代表者

榊原 啓之 (Sakakibara, Hiroyuki)

宮崎大学・農学部・教授

研究者番号：20403701

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,800,000円

研究成果の概要(和文)：フラボノイドは日常的に摂取すると吸収量が高まること、脂質代謝系への作用が顕著であること、その効果はケルセチンに顕著であることから、母子間伝承性の評価を行うフラボノイドとしてケルセチンを選定した。その結果、妊娠期間中のケルセチン摂取が、出生直後の次世代マウスの肝臓トリグリセリド濃度を低下させること、この効果は高脂肪食摂取群に特異的であることを見出した。また、ケルセチン摂取母体から生まれたマウスは、ケルセチン未摂取母体から生まれたマウスと比較して、食事誘発性肥満の症状が加速した。これらの結果は、フラボノイドの生体調節機能は母体を介して影響を受けことを示唆している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、妊娠期間中の母体がフラボノイドを摂取すると、その生体調節機能が母体を介して次世代に伝わる可能性が示された。着目すべき点は、フラボノイドが有する抗肥満などの生体調節機能が、母体摂取により影響を受ける可能性が示唆されたことである。したがって、フラボノイドを豊富に含む野菜や果物、ないしはサプリメントを母体が摂取するときには、次世代へ伝わる作用を考慮に入れる必要があると考えた。

研究成果の概要(英文)：In this project, we found that daily consumption of flavonoids increases their absorption rate, and also one of major functions is the effect of lipid metabolism. Therefore, we employed quercetin as candidate flavonoids, and evaluated its mother-infant interaction. Consequently, we obtained the following aspects: 1) hepatic triglyceride levels were significantly decreased in the infants from the mother consuming quercetin during the pregnancy, and this effect was remarkable in the groups consuming high-fat diet; 2) mice from mother consumed quercetin were sensitive for high-fat induced overweight comparing with mice from mother not consumed quercetin. In conclusion, our results clearly indicate the importance for mother-infant interaction of functions existed in dietary flavonoids.

研究分野：食品科学

キーワード：次世代伝承性 フラボノイド 機能性 ケルセチン アントシアニン マウス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肥満症や代謝内分泌系異常などの従来は大人の疾病と考えられていた症状が、近年、子ども達の中で増加の一途をたどっている。そこで、胎児期や乳児期の子どもが外界からの刺激に対して敏感であること、母胎環境が子どもの健康な成長に多大な影響を及ぼす可能性が高いことに着目し、国内外の研究者が、子どもの疾病が上昇している原因を探る研究を展開している。例えば、我が国では環境省が、胎児期から小児期にかけてのダイオキシンなどの環境化学物質への曝露が、子どもの健康に与える影響を検証する大規模な疫学調査(エコチル調査)を2011年より実施している。また、胎児期の栄養状態が成熟期の代謝に影響を与え、というエピジェネティックな代謝的刷り込みが生じる可能性も高いとされている。したがって、有益/有害を問わず、母胎内の環境が次世代を担う子供たちの健康に与える影響についての情報を集約することは、喫緊の研究課題の一つである。

2. 研究の目的

植物性食品に豊富に含まれており、肥満やがんなどの様々な疾病の予防効果が期待されるフラボノイドを母体が摂取すると、微量ではあるが母子間移行することが報告されている。しかし、母子間移行したフラボノイドが胎児・乳児の生理機能に与える変化と、成長に伴って表現してくる肥満などの症状への影響とを結び付けた研究は皆無である。本研究では、*in vivo* 試験により、母体のフラボノイド摂取が胎児・乳児体内の生理機能に与える作用を解析し、この時に受けた変化による発達期の糖や脂質などの代謝系および行動に対する影響、肥満や糖尿病などの疾患リスクとの関連を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 日本人の食事摂取基準に従った食事モデルの作成

広く用いられているマウスの食餌と日本人の食事摂取基準で推奨されている食事に準じた食餌を用い、自由摂食ないしは時間制限摂食を5週間継続した。その間の体重増加率や摂食量、試験終了後の血中生化学指標を評価した。

(2) 食事誘発性肥満に対する評価

食事誘発性肥満マウスモデルを用い、抗肥満作用を有する食事由来フラボノイドを探索した。13週間の摂取後に解剖に供し、血中生化学指標等の測定によりその作用を評価した。

(3) 高脂血症モデルマウスを用いた評価

自然誘発性高脂血症モデルマウス(ApoE欠損マウス)を用い、フラボノイド含有量が豊富な食材の抗高脂血症作用を評価した。8週間ないしは16週間の自由摂食後に解剖に供し、血中生化学指標や肝臓中遺伝子発現を測定した。

(4) 摂取期間の影響評価

フラボノイドの摂取期間が体内動態に及ぼす影響を評価した。C57BL/6マウスに、フラボノイド含有食ないしは未添加食を自由摂取させたのち、同じフラボノイドを経口投与した。経口投与後、経時的に血液を採取し、血中へのフラボノイド移行量を比較測定した。

(5) フラボノイドの機能性の母子間伝承性評価

通常の脂肪含有食で交配する群(Cont群)と高脂肪食で交配する群(HF群)を作製した。それぞれの群に、フラボノイドを含有する群(Cont+Q群, HF+Q群)を作製した。次世代マウスは出産3日後に解剖に供する群と成長を追跡する群に設けた。成長を追跡する群は、さらにCont群, Cont+Q群, HF群, HF+Q群に分け、成長を追跡した。

4. 研究成果

(1) 日本人の食事摂取基準に従った食事モデルの作成

広くコントロール食として用いられている4%脂質含有食と日本人の食事摂取基準で示されている脂質含有量を反映した10%脂質含有食の2つの食餌を5週間マウスに与えたところ、自由摂食条件下では体重や血中因子の変化は見られないこと、活動期の最初ないしは最後の時間帯だけ与える時間制限給餌条件下では、4%脂質食では体重増加が抑制されるが、10%脂質食では自由摂食と同等の体重増加を示したことから(図1)、時間制限給餌等の試験を実施する際には、10%脂質含有食が対照食としてふさわしいことを示した。

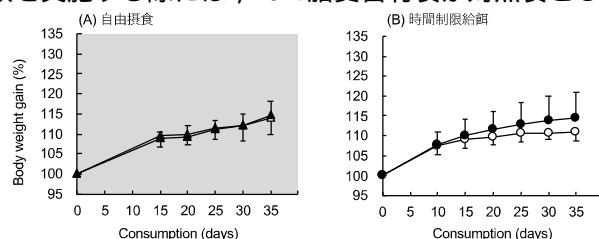


図1. Effect of time-restricted feeding on body mass gain. Four percent and 10% fat-containing AIN-93M diets were used. Ad libitum-fed groups (A) consumed the 4% fat diet (-Δ-) or the 10% fat diet (-▲-). Time-restricted feeding (TRF) groups (B) were provided with the 4% fat diet (-○-) or the 10% fat diet (-●-).

(2) 食事誘発性肥満に対する評価

脂質代謝系に作用することが知られているフラボノイドの一つであるケルセチンの配糖体（グルチン）を被験フラボノイドとして用い、食餌誘発性肥満に対する作用を評価したところ、顕著な予防効果を示した（図2）。また、ケルセチン配糖体を豊富に含んだブルーベリー葉を毒性が見られない濃度で摂取すると、血中および肝臓中脂質を低下させる効果を発揮することを示した。

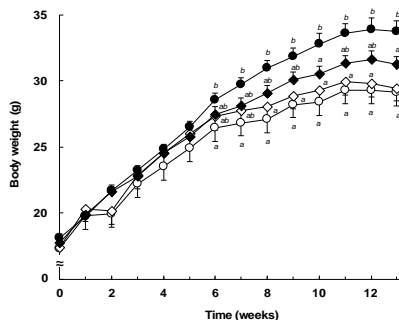


図2. Effects of α -monoglucosyl rutin (α MR) on body weight gain in mice. Control low-fat diet (LFD, \circ), LFD + 0.5% α MR (\square), high-fat diet (HFD, \bullet), and HFD + α MR (\blacksquare). Data indicate mean \pm SE. Different superscript letters indicate significant differences.

(3) 高脂血症モデルマウスを用いた評価

アントシアニンやカテキンを豊富に含んだ黒大豆種皮抽出物を被験試料として評価したところ、肝臓における脂質代謝系への作用を通じて、血中および肝臓中の脂質異常値を低下させることを見出した。

(4) 摂取期間の影響評価

アントシアニンを豊富に含むビルベリー抽出物を被験試料として用い、日常的にフラボノイドを摂取することが、フラボノイドの体内への吸収量に与える影響を評価したところ、摂取履歴がない状態よりも、日常的に摂取していると、摂取したフラボノイドの吸収量が高まることがわかった。

(5) フラボノイドの機能性の母子間伝承性評価

以上の(1)-(4)の研究より、フラボノイドは日常的に摂取すると吸収量が高まること、脂質代謝系への作用が顕著であること、その効果はケルセチンに顕著であることがわかった。そこで、母子間伝承性の評価を行うフラボノイドとしてケルセチンを選定し、妊娠期間中を含めて日常的にケルセチンを摂取させることとした。得られた知見は以下の通りである。

出生直後の次世代マウスへ与える作用

妊娠期間中に Cont 食, Cont+Q 食, HF 食, HF+Q 食の4つの食餌を与えた母体から生まれた3日後に解剖に供し、体重および血中生化学指標に与える影響を調べたところ、ケルセチン摂取による顕著な差は見られなかった（表1）。一方、肝臓中のトリグリセリド濃度は、次世代マウスの高脂肪食群でのみケルセチン摂取により有意に低下した。この効果は母マウスでは見られなかったことから、次世代への特異的な作用と考えられる。その他の脂質因子である、総コレステロールおよびリン脂質には顕著な作用は見られなかった。

Table 1. Effects of quercetin consumption on biological parameters.

	Mother mice		Offspring mice	
	Cont	Quer	Cont	Quer
AIN-93G based control diet experiment				
Body weight gain (g)	14.8 \pm 1.4	13.9 \pm 1.4	-	-
Food intake (g/day)	7.2 \pm 0.5	7.7 \pm 1.0	-	-
Quercetin intake (mg/day)	-	76.8 \pm 1.0	-	-
Blood TG (mg/dL)	96.2 \pm 16.8	79.0 \pm 12.5	272.0 \pm 61.7	312.0 \pm 52.7
Blood TCHO (mg/dL)	90.0 \pm 4.8	92.8 \pm 8.2	66.3 \pm 1.6	65.5 \pm 2.7
Blood GLU (mg/dL)	244.2 \pm 21.8	227.1 \pm 16.5	102.8 \pm 11.6	101.5 \pm 10.8
Blood TP (g/dL)	4.8 \pm 0.1	4.7 \pm 0.1	2.2 \pm 0.0	2.3 \pm 0.1
Blood ALB (g/dL)	2.2 \pm 0.1	2.2 \pm 0.0	0.9 \pm 0.0	1.0 \pm 0.1
AIN-93G based high-fat (30%) diet experiment				
Body weight gain (g)	10.2 \pm 0.6	10.2 \pm 2.1	-	-
Food intake (g/day)	4.4 \pm 0.3	4.3 \pm 0.2	-	-
Quercetin intake (mg/day)	-	42.8 \pm 2.3	-	-
Blood TG (mg/dL)	51.4 \pm 9.6	35.8 \pm 2.4	393.5 \pm 44.9	360.1 \pm 69.9
Blood TCHO (mg/dL)	83.1 \pm 6.9	93.7 \pm 5.2	61.8 \pm 1.5	62.5 \pm 1.9
Blood GLU (mg/dL)	205.2 \pm 8.8	210.5 \pm 4.6	89.5 \pm 3.5	83.6 \pm 2.2
Blood TP (g/dL)	6.0 \pm 0.1	6.2 \pm 0.1	2.8 \pm 0.0	2.7 \pm 0.1
Blood ALB (g/dL)	3.2 \pm 0.1	3.3 \pm 0.1	1.4 \pm 0.0	1.4 \pm 0.0

Means \pm SE (Cont mother; n=4, Quer mother; n=6, Cont offspring; n=5, Quer offspring; n=5)
P < 0.05 vs Cont (t-test)

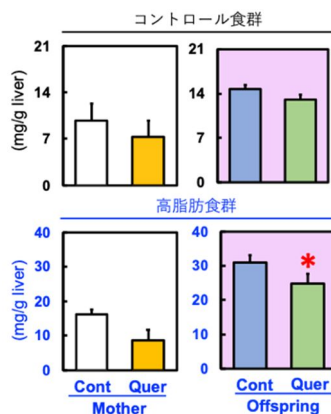


図3. 肝臓中トリグリセリドのうどに与える影響
Mean \pm SE (n=4-5) *P<0.05 vs Cont.

次世代マウスの成長に与える作用。

興味深いことに、ケルセチン摂取母体から生まれたマウスが、出生後に高脂肪食を摂取すると、ケルセチン未摂取母体から生まれたマウスと比較して、食事誘発性肥満の症状が加速した。この作用は、高脂肪食摂取母体から生まれた子供よりも、通常食摂取母体から生まれた子供で顕著であった。現在、母体のケルセチン摂取が次世代に与える作用の詳細を解析中であるが、この結果は、フラボノイドが有する抗肥満などの生体調節機能が、母体を介して次世代に影響を与える可能性を示唆している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Matsuyama H., Tanaka W., Yokoyama D., Matsumoto S., Sano T., Yamashita T., Nishimura S., Sakono M., Sakakibara H.	4. 巻 3
2. 論文標題 Suitability of a 10% fat diet for use in time-restricted feeding experiments with C57BL/6 mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bioactive Compounds in Health and Disease	6. 最初と最後の頁 55-65
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 オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Tanaka W., Matsuyama H., Yokoyama D., Yamashita Y., Ashida H., Sakono M., Sakakibara H.	4. 巻 -
2. 論文標題 Daily consumption of black soybean (<i>Glycine max</i> L.) seed coat polyphenols attenuates dyslipidemia in apolipoprotein E-deficient mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Functional Food	6. 最初と最後の頁 -
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 オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Tanaka Wataru, Yokoyama Daigo, Matsuura Yasushi, Nozaki Masahiko, Hirozawa Naoya, Kunitake Hisato, Sakono Masanobu, Sakakibara Hiroyuki	4. 巻 6
2. 論文標題 Subchronic toxicity evaluation of leaves from rabbiteye blueberry (<i>Vaccinium virgatum</i> Aiton) in rats	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Toxicology Reports	6. 最初と最後の頁 272 ~ 278
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.toxrep.2019.03.005	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 Nohara Chiaki, Yokoyama Daigo, Tanaka Wataru, Sogon Tetsuya, Sakono Masanobu, Sakakibara Hiroyuki	4. 巻 66
2. 論文標題 Daily Consumption of Bilberry (<i>Vaccinium myrtillus</i> L.) Extracts Increases the Absorption Rate of Anthocyanins in Rats	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Agricultural and Food Chemistry	6. 最初と最後の頁 7958 ~ 7964
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.jafc.8b02404	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 Matsuura Y., Sakakibara H., Kawaguchi M., Murayama E., Yokoyama D., Yukizaki C., Kunitake H., Sakono M.	4. 巻 8
2. 論文標題 Effects of blueberry leaf and stem extracts on hepatic lipid levels in rats consuming a high-sucrose diet	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Functional Foods in Health & Disease	6. 最初と最後の頁 447-461
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 オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yokoyama D., Tanaka W., Hashizume Y., Tandia M., Sakono M., Shimoi K., Sakakibara H.	4. 巻 8
2. 論文標題 Daily consumption of monoglucosyl rutin prevents high-fat diet-induced obesity by suppressing gastric inhibitory polypeptide secretion in mice.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Functional Foods in Health & Disease	6. 最初と最後の頁 353-371
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 オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計16件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 7件)

1. 発表者名 Takashima M., Kai C., Tanaka W., Matsuyama H., Sakono M., Sakakibara H.
2. 発表標題 Effects of quercetin consumption during pregnancy on lipid metabolism of the offspring in mice
3. 学会等名 The 9th International Conference on Polyphenols and Health (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sakakibara H., Shimoi K.
2. 発表標題 Effects of polyphenol-rich plants on physiological responses for social stress
3. 学会等名 The 9th International Conference on Polyphenols and Health (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tanaka W., Matsuyama H., Yokoyama D., Hashizume Y., Tandia M., Sakono M., Sakakibara H.
2. 発表標題 Effects of daily consumption of monoglucosyl-rutin on diet-induced obese mice
3. 学会等名 The 9th International Conference on Polyphenols and Health (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tanaka W., Matsuyama H., Yokoyama D., Ymashita Y., Ashida H., Sakono M., Sakakibara H.
2. 発表標題 Effects of black soybean seed coat extracts on blood lipid levels in ApoE deficient mice
3. 学会等名 The 7th International Conference on Food Factors (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Matsuyama H., Tanaka W., Yokoyama D., Nishimura S., Matsumoto S., Sano T., Yamashita T., Sakono M., Sakakibara H.
2. 発表標題 Effects of consumption-timing and fat species on body weight gain in C57BL/6 mice
3. 学会等名 The 7th International Conference on Food Factors (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 甲斐 千尋, 田中航, 横山大悟, 宍野昌信, 榊原啓之
2. 発表標題 ケルセチン摂取がマウスの母子パラメーターに及ぼす影響
3. 学会等名 平成30年度 日本栄養食糧学会九州 沖縄支部大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 甲斐 千尋, 田中航, 横山大悟, 宍野昌信, 榊原啓之
2. 発表標題 ケルセチン摂取がマウスの母子パラメーターに及ぼす影響
3. 学会等名 平成30年度 日本栄養食糧学会九州 沖縄支部大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 榊原啓之
2. 発表標題 お母さんの食事が子たちに与える影響～食事由来フラボノイドが有する機能性の次世代伝承性～
3. 学会等名 第17回 石川県立大学 食品科学科 公開セミナー（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 榊原啓之
2. 発表標題 次世代の健康な発育をサポートする母体の食事提言
3. 学会等名 第2回宮崎テックプラングランプリ
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田中航, 松山弘希, 横山大悟, 山下陽子, 芦田均, 宍野昌信, 榊原啓之
2. 発表標題 黒大豆種皮抽出物の摂取が脂質代謝・動脈硬化形成へ及ぼす影響
3. 学会等名 第23回日本フードファクター学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 横山大悟, 田中航, 橋爪雄志, Mahamadou Tandia, 窄野昌信, 下位香代子, 榊原啓之
2. 発表標題 グルコシルルチンはGIPの分泌抑制を介して食事誘発性肥満の進展を抑制する
3. 学会等名 第23回日本フードファクター学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tanaka W., Yokoyama D., Matsuura Y., Nozaki M., Hirozawa N., Kunitake H., Sakono M., Sakakibara H.
2. 発表標題 Subchronic toxicity evaluation of leaves from rabbiteye blueberry in rats
3. 学会等名 The 4th International Conference on Pharma and Food (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 柿野佑介, 横山大悟, 窄野昌信, 榊原啓之
2. 発表標題 妊娠母体のケルセチン摂取は次世代に影響を与えるのか?
3. 学会等名 第3回COC+ みやざきA&Sヒルズ研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 柿野佑介, 窄野昌信, 榊原啓之
2. 発表標題 ケルセチン摂取がマウスの母子に及ぼす影響
3. 学会等名 第22回日本フードファクター学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 榊原啓之
2. 発表標題 これからの宮崎県における農と食の進化
3. 学会等名 みやざきネクストアグリSpring Kitchen (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 30.Hiroyuki Sakakibara
2. 発表標題 Biological rhythm and bioavailability of functional food ingredients
3. 学会等名 1st International Conference on Green Agroindustry and Bioeconomy (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 中村 宜督、榊原 啓之、室田 佳恵子	4. 発行年 2018年
2. 出版社 講談社	5. 総ページ数 256
3. 書名 エッセンシャル食品化学	

〔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	芦田 均 (Ashida Hitoshi) (90201889)	神戸大学・農学研究科・教授 (14501)	

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
研究 分 担 者	榊原 陽一 (Sakakibara Yoichi) (90295197)	宮崎大学・農学部・教授 (17601)	