

令和元年6月11日現在

機関番号：32403

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19692

研究課題名(和文)授乳婦のフルクトース摂取がトランスジェネレーションへ及ぼす影響

研究課題名(英文)Effects of high fructose intake by mother's on transgeneration

研究代表者

深谷 睦 (FUKAYA, Mutsumi)

城西大学・薬学部・助手

研究者番号：70611812

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では妊娠・授乳期の母親におけるフルクトースの習慣的摂取が世代を越えて児へ及ぼす影響(トランスジェネレーション)についてマウスを用いて検討した。

仔マウスの疾病発症リスクについて検討したところ、母マウスのフルクトース過剰摂取により、出生時点において仔の脂質合成や酸化ストレスの亢進を招くことが示された。これらはフルクトースの過剰摂取により顕著であったが、市販加糖飲料と同等量においても疾病発症リスクとなり得る可能性がある。本研究より、母親のフルクトース摂取は、母乳成分や腸内環境の変化を介し、児の脂質代謝異常を引き起こす可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

わが国において危険性の認識が低いフルクトースは、市販清涼飲料を介して、過剰摂取している可能性が高いと考えられる。そのため、認識不足によるフルクトースの過剰摂取が成長した児の疾病リスク誘導にどのような影響を及ぼすのか、さらにそのメカニズムについて解明することは、妊娠および授乳期におけるフルクトースの過剰摂取に警鐘を鳴らす科学的根拠を示す上で重要と考える。今後、本研究成果をヒトにおける食事による疾病予防への応用に活用し、妊娠・授乳期における栄養環境の改善の必要性を提唱することは、授乳婦自身はもとより、児の疾病リスク軽減の可能性の提示、次世代さらにはその先の世代の健康の確保を意味すると考えている。

研究成果の概要(英文)：In this study, we examined the effects of fructose on pregnant and lactating mothers over generations (transgeneration) in mice.

When we examined the disease risk of the offspring mice, it was shown that excessive intake of fructose in the dams induce to increased lipogenesis and oxidative stress in offspring at birth. These were caused by overdose of fructose, but they may be at risk of developing the disease even in the same level as a commercial sweet drink. The present study indicates that mother's fructose intake may cause lipid metabolism disorder in next generation through changes in breast milk components and intestinal environment.

研究分野：胎児・新生児医学

キーワード：フルクトース 生活習慣病 脂質代謝 エピジェネティクス 腸内環境

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

わが国において増加の一途を辿る生活習慣病は、遺伝と生活習慣の相互要因により発症するとわかってきた。近年では、これに加え、「胎芽、胎児、乳幼児期に、低栄養または過栄養の環境に暴露されると成人病の素因が形成され、その後の生活習慣の負荷により成人病が発症する」という「成人病胎児期発症(起源):Barker説」が注目され、「疾病及び健康の素因は人生の極めて初期に形成される」というDOHaD (Developmental Origins of Health and Disease) 説に発展している。

これまでに、妊娠・授乳期における母ラットの高脂肪摂食は、仔ラットの脂肪蓄積を誘導することが報告されている (Howie GJ *et al.* 2009)。これらの詳細なメカニズムは解明されていないが、胎児・乳児期の胎内環境や母乳を介した栄養環境によるエピゲノム制御の結果、メタボリックメモリーとして記憶され、世代を越えて児に変化を与え(トランスジェネレーション)、成長後の肥満や疾病リスクの増大を招くと推測されている。

果糖ぶどう糖液糖(コーンシロップ)などの異性化糖として多くの清涼飲料水に含まれる「フルクトース」もまたトランスジェネレーションが懸念されている食品成分である。フルクトースは、血糖上昇は緩やかであるものの、脂質蓄積能はグルコースよりも高く、疾病発症リスクに与える影響がより大きいことが懸念される。欧米諸国においては、フルクトースに関する数多くの報告がなされ、その摂取制限が提唱されている。しかし、わが国においては十分な科学的根拠が得られていないのが現状である。

### 2. 研究の目的

児の将来の疾病発症を左右すると考えられる妊娠・授乳期における母親の栄養習慣による影響について、過剰摂取が懸念される「フルクトース」に着目し、母マウスのフルクトース摂取が仔マウスの疾病発症リスクに及ぼす影響について検討した。

### 3. 研究の方法

(1)フルクトース過剰摂取母マウスとその仔マウスの作製:すべての動物実験は、城西大学動物実験管理委員会の承諾を得て、「城西大学動物実験規定」に従った。4週齢の雌性ddYマウスに飲水としてフルクトース水を6週間自由摂取させた後、交配により妊娠させた群をフルクトース摂取群とした。一方の比較対照(正常)群には、飲水として蒸留水を自由摂取させた(C群)。出産後3週間を授乳期とし、仔マウスに哺乳させた。離乳後の仔マウスは、フルクトース水もしくは蒸留水摂取群に分け、16週齢時まで飼育した。なお、フルクトース濃度は市販飲料の定量結果を基に、日常的なフルクトース摂取量として5%のフルクトース水(5F群)もしくは過剰量として30%フルクトース水(30F群)を設定した。すべての群に飼料として、市販の一般固形飼料を与えた。母マウスは離乳時に、仔マウスは出生時と離乳時、成体期である16週齢時の3時点で解剖した (Fig.1)

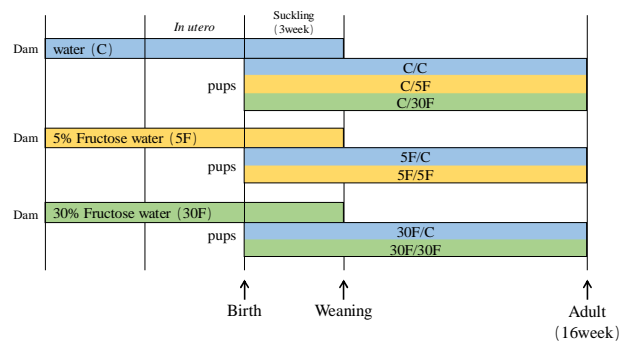


Fig.1 マウスの群分けと飼育概要

(2)生化学的パラメータ等の測定:解剖時に摘出した臓器の重量を測定した。また、採血後、血清を調製し、血糖やトリグリセライド(TG)等の血中パラメータを測定した。

(3) 肝臓における糖・脂質代謝関連遺伝子の発現解析: 肝臓組織より Total RNA を抽出し、逆転写したサンプルを用い、脂肪酸合成遺伝子である Fatty acid synthase (*Fas*) および Acetyl-CoA carboxylase (*Acc*)、脂肪酸分解遺伝子である Carnitine Palmitoyltransferase 1a (*Cpt1a*) 等の糖・脂質代謝関連遺伝子の mRNA 発現量を Real Time RT-PCR 法により解析した。また、酸化ストレスの指標として Heme Oxygenase 1 (*HO-1*) の mRNA 発現量を解析した。

(4) 母乳成分の測定: 授乳期母マウスより授乳期1および2週目に母乳サンプルを採取し、脂質(トリグリセライド)量、タンパク質量、糖質(ラクトース)量を測定し、総エネルギー量についてはアトウォーター係数を用いて算出した。

#### 4. 研究成果

(1) フルクトース摂取による母マウスへの影響: フルクトース摂取による体重や血糖値、臓器重量への影響はみられなかった。血清 TG 濃度は、交配時点まで差はなかったものの、離乳後は、摂取したフルクトースの濃度に依存して高値傾向を示した。

(2) 母マウスのフルクトース摂取による仔マウスへの影響:

出生時: 雄雌では、体重および血中パラメータ、臓器重量に差はなかった。脂肪酸合成遺伝子である *Fas* の mRNA 発現量は、30F 群で C 群と比較して高値を示した。また、酸化ストレスの指標である *HO-1* の発現量は、30F 群で高値傾向を示した。雌性では、体重は 5F 群が C 群と比較して低値を示したが、雄性同様、血中パラメータ、臓器重量に差はなかった。*Fas* の発現量は、30F 群で高値を示した。また、*Acc* の発現量は 30F 群で 5F 群と比較して高値を示した。*HO-1* は、雄性と同様の結果であった (Fig. 2)。

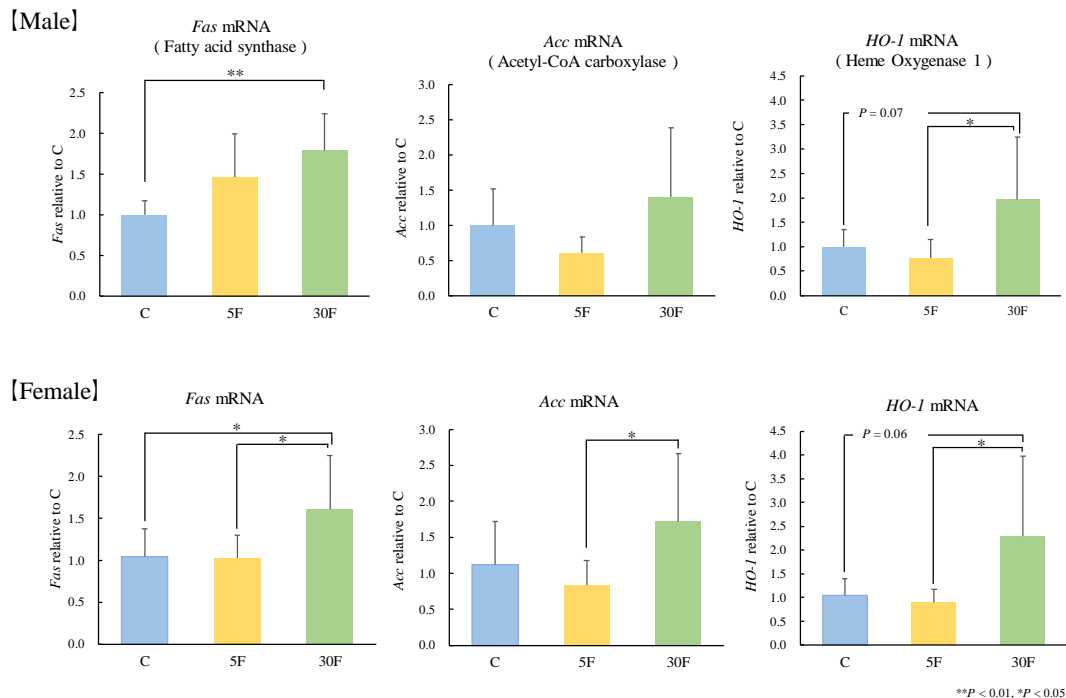


Fig.2 仔マウス出生時の脂肪酸合成遺伝子 (*Fas*, *Acc*) および *HO-1* mRNA 発現

離乳時: 雄雌では、体重および血中パラメータに差はなかった。30F 群の腎臓および肝臓重量は他群と比較して低値を示した。一方、後脚脂肪量は 30F 群で増加した。脂肪酸合成遺伝子発現量に差はなかったが、*HO-1* は、30F

群で高値だった。雌生の体重および血中パラメータに差はなかった。母親が30%フルクトース水を摂取していた30F群では、蒸留水摂取のC群と比較して、腎臓重量の低下および脂肪酸合成遺伝子の*Acc* mRNA 発現量が低値を示した。また、脂肪酸分解遺伝子の*Cpt1a* mRNA 量は母親のフルクトース水摂取により低下した。

成獣期：雄生の体重および血清TG値に差はなかった。血糖値は、5F/C群および30F/C群がC/5F群と比較して高く、5F/5F群および30F/30F群は5F/C群と比較して低値を示した。臓器重量に関して、腎臓は、母親が5%フルクトース水を摂取していた群で低値を示す傾向にあった。*Fas* および*HO-1* のmRNA 発現に差はなかったが、母仔ともに30%フルクトース水を摂取していた30F/30F群の*Acc* の発現量は、C/C群と比較して低値を示した。雌生の体重および血清TG値においても差はなかった。血糖値は30F/C群がC/C群および30F/30F群と比較して高値を示した。臓器重量では、腎臓が30F/C群でC/5F群と比較して、30F/30F群はC/C群およびC/5F群と比較して低値を示した。また、膵臓重量は母仔ともに30%フルクトース水を摂取していた30F/30F群が母親のみ摂取していた30F/C群と比較して低く、子宮重量は母親のフルクトース水摂取により低値を示した。*Fas* の発現量は、30F/30F群で5F/C群および30F/C群と比較して低値を示した。*Acc* の発現量は、30F/30F群でC/5F群および30F/C群と比較して低値を示した。*HO-1* の発現に差はなかった。

(3)母乳成分への影響：母マウス授乳期1週目の母乳中タンパク質量が30F群でC群と比較して低値を示した(Fig. 3)。授乳期2週目の糖質(ラクトース)量は、フルクトース摂取により低値傾向を示したが、有意な差はなかった。その他、脂質量および総エネルギー量に差はなかった。

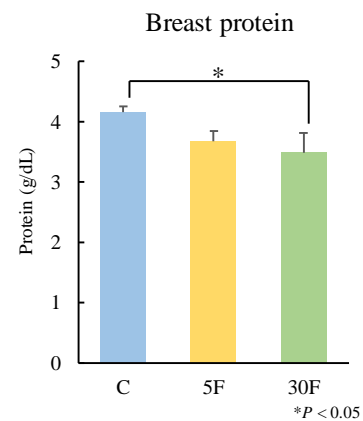


Fig. 3 授乳1週目の母乳中タンパク質量

(4)腸内環境への影響：雌雄ともに成獣期の糞便量は、仔の30%フルクトース水の摂取により減少したが、母仔ともに30%フルクトース水を摂取することでより顕著だった(30F/30F群)。盲腸重量に差はなかった。また、仔の成獣期の腸管長は、母親のフルクトース摂取により短縮することが明らかとなった(Fig. 4)。

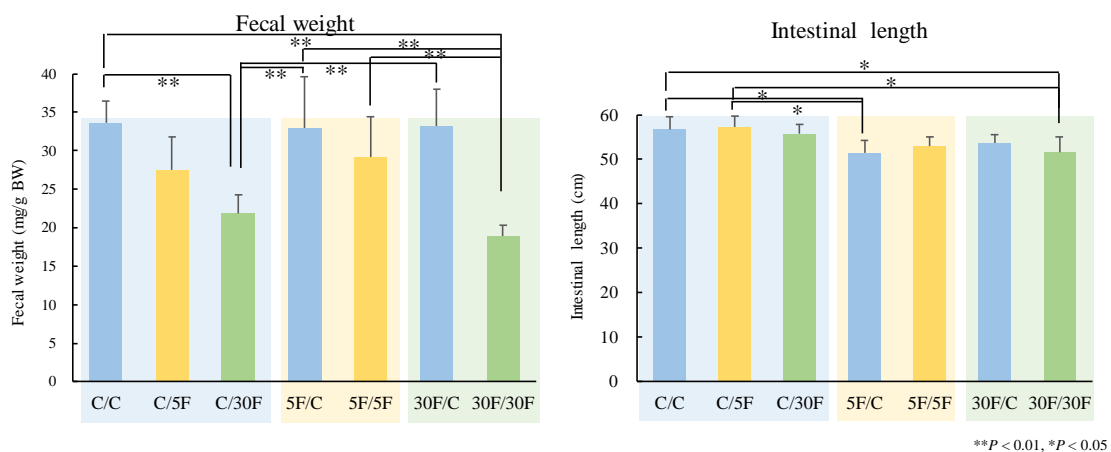


Fig. 4 雄性成獣期における糞便量および腸管長

本研究の結果、母親のフルクトース水摂取による自身への影響はほとんど見られなかったが、母乳や腸内環境の変化を介して、仔においては出生時点から脂質合成や酸化ストレスの亢進が誘導される可能性が示唆された。これらの現象はフルクトースの過剰摂取により顕著であったが、市販加糖飲料と同用量においてもリスクとなり得る可能性が考えられた。今後は、疾病発症リスクのメカニズムについて、エピゲノム制

御や腸内細菌叢に視点をおき詳細に検討する必要がある。

## 5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計7件)

秋山 優太、照屋 美子、深谷 睦、神内 伸也、岩田 直洋、日比野 康英：フルクトース過剰摂取が次世代に与える影響、日本薬学会 第 139 年会 2019 年 3 月(幕張)

大森 早織、秋山 優太、照屋 美子、深谷 睦、神内 伸也、岩田 直洋、日比野 康英：フルクトースの過剰摂取がミトコンドリア DNA と遺伝子発現に及ぼす影響、日本薬学会 第 139 年会 2019 年 3 月(幕張)

秋山 優太、照屋 美子、深谷 睦、神内 伸也、岩田 直洋、日比野 康英：フルクトースの世代を超えた脂質代謝に与える影響、第 62 回 日本薬学会関東支部大会 2018 年 9 月(中野)

飯野 恭平、深谷 睦、日比野 康英、堀 由美子：母マウスのフルクトース摂取が仔マウスの脂質代謝に及ぼす影響、日本薬学会 第 138 年会 2018 年 3 月(金沢)

秋山 優太、照屋 美子、深谷 睦、神内 伸也、岩田 直洋、日比野 康英：フルクトースの過剰摂取が世代を超えて代謝反応に与える影響、日本薬学会 第 138 年会 2018 年 3 月(金沢)

飯野 恭平、深谷 睦、日比野 康英、堀 由美子：母マウスのフルクトース摂取による仔マウスの脂質代謝への影響、第 15 回日本機能性食品医用学会総会 2017 年 12 月(東京)

深谷 睦、飯野 恭平、堀 由美子、神内 伸也、岩田 直洋、日比野 康英：母および仔ラットのフルクトース摂取が肝臓での代謝や糖化・酸化ストレスに及ぼす影響、第 89 回 日本生化学会大会 2016 年 9 月(仙台)

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、研究者個人に帰属されます。