

令和 5 年 6 月 9 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K11751

研究課題名（和文）栄養素バランスと質による胆汁酸 - 腸内細菌相互作用を中心とした次世代継承研究

研究課題名（英文）Research on Next Generation Inheritance with a Focus on Bile Acid-Gut Microbiota Interactions by Nutrient Balance and Quality

研究代表者

横山 葉子（YOKOYAMA, Yoko）

慶應義塾大学・政策・メディア研究科（藤沢）・特任講師

研究者番号：10617244

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：近年、栄養素バランスの急激な変化の兆候が見られるが、第一世代あるいは次世代の健康状態への影響は十分明らかにされていない。本研究では、親世代のタンパク質の量（低・標準・高）と、タンパク質の質（動物性・植物性）を変化させ、次世代の妊娠・出産・出生体重、メタボエイジング、寿命に与える影響を検討した。本研究の結果、タンパク質の不足にならない範囲での設定では低タンパク質食による低出生体重は確認されなかった。一方、低タンパク質食による糖・エネルギー代謝改善が親世代および次世代で確認された。次世代の寿命への影響は、次世代自身の栄養素バランスとの相互作用が見られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

わが国の健康指標のうち出生体重は稀に見る世界で最低レベルであり、親になる世代の最適な栄養素バランスの特定は喫緊の課題である。本研究の結果、親世代のタンパク質の量（低・標準・高）や質（動物性・植物性）の変化はタンパク質の不足にならない範囲での設定では低タンパク質食による低出生体重への影響は確認されなかった。一方、次世代の糖・エネルギー代謝や寿命には親世代のタンパク質の量が関与していることが明らかとなった。本研究は、親世代の栄養素バランスの選択が、次世代の健康や寿命に影響することを示し、わが国の低出生体重児およびその後の健康状態改善に寄与する知見を得た。

研究成果の概要（英文）：In recent years, there have been indications of rapid changes in nutrient balance, but the impact on the health status of the first or next generation has not been fully clarified. This study examined the effects of varying the amount (low, standard, and high) and quality (animal and plant) of protein in the parental generation on pregnancy, childbirth, birth weight, metabolic aging, and life span in the next generation. The results of this study did not confirm low birth weight due to low-protein diets in settings that did not result in protein deficiency. On the other hand, improvements in glucose and energy metabolism due to low-protein diets were confirmed in the parent and next generation. The effect on the life span of the next generation was found to interact with the nutrient balance of the next generation itself.

研究分野：栄養医学

キーワード：栄養バランス タンパク質 次世代

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

わが国の2015年の2,500g未満の低体重新生児の比率は9.6%であり、OECD諸国の27カ国中でギリシャと並び最高である。日本の健康関連データの中で1985年から一貫して悪化し続けている稀な例である。低出生体重は、その後のメタボリックシンドロームや精神疾患の発症割合の上昇との関連が指摘され、このまま低出生体重児の増加が進めば将来これらの疾患の爆発的な発症が起こりかねない。加えて、医療費増加や労働生産性低下など、経済的にも重要な公衆衛生上の問題を引き起こす可能性がある。

国民健康・栄養調査によると、終戦直後の1946年から現在に至る70年にタンパク質のエネルギー摂取量に占める割合はほぼ変わらず15%前後であった。近年、世界的な広がりを見せている低炭水化物ダイエットでは、タンパク質摂取量が約2倍の30%以上となるが、高タンパク質は、60-65歳の成人では低タンパク質摂取群と比較して、がんによる死亡リスクが4倍に増加したとの指摘(Cell Metab 2014: 407-417)や、尿酸値の上昇や腎臓への負担増加に伴う慢性腎臓病の進行など健康障害の可能性が指摘されている。さらにこの歴史的に見ても急激な変化が妊娠期に起こった場合、次世代にどのような健康影響をもたらすのかは明らかではない。

### 2. 研究の目的

本研究では、親世代のタンパク質の量と、タンパク質の質(動物性、植物性)が親世代および次世代の代謝疾患をいかに制御するのかを明らかにすることを目的とする。さらに次世代の寿命における影響も明らかにする。本研究により、わが国の低出生体重児およびその後の健康状態改善に寄与する知見を得ることを目指す。

### 3. 研究の方法

#### (1) 親世代マウスへのタンパク質の量や質を変化させた食事介入

低タンパク質群、通常タンパク質群、高タンパク質群および動物性タンパク質、植物性タンパク質を組み合わせた餌をAIN(米国栄養研究所)93飼料を元に設計した。低タンパク質群はタンパク質の不足が生じない範囲での設定とした。この餌をC57BL/6J雌マウスの妊娠可能週齢から投与開始した。親世代マウスは次世代マウスの飼育後、解剖を行い、代謝主要臓器のサンプルを採取した。

#### (2) 親世代マウスの交配・妊娠・出産

(1)のC57BL/6J雌マウスと、交配時まで通常食を投与し飼育したC57BL/6J雄マウスとの交配を行った。雌マウスが妊娠前に餌を摂取する期間を群間で統一するため、同時期に出産できるように研究設計した。妊娠中体重増加量、妊娠割合、出生時死亡割合、出生時仔数等の測定を実施し、群間差を比較した。次世代マウスを飼育しない親世代マウスから母乳の採取を行った。

#### (3) 次世代マウスの食事誘導性代謝疾患への応答

出生日を揃えた次世代の子(雄マウス)を、親世代の餌の種類ごとにそれぞれコントロール食群(10kcal%脂肪)、高脂肪食(食事誘導性肥満)群(60kcal%脂肪)に分け、19週間飼育した。体重変化や経口ブドウ糖負荷試験(OGTT)、腹腔インスリン負荷試験(IPITT)を実施し、代謝疾患への影響を検討した。胆汁酸応答性シグナルを検討するため、褐色脂肪の活性化を検討する寒冷刺激実験を実施した。19週間の飼育後、解剖し代謝主要臓器のサンプルを採取した。

#### (4) 次世代マウスの寿命への応答

親世代の栄養素バランスの違いによる次世代の影響を健康寿命の観点からも検討することの有効性が実験の結果より示唆されたため、出生日を揃えた次世代の子を、親世代の餌の種類ごとにそれぞれ標準食群(10kcal%脂肪)、高脂肪食群(60kcal%脂肪)に分け、寿命まで飼育を行った。体重、餌の摂取量の測定を毎週実施した。次世代マウスの餌のパターン別に、親世代のタンパク質量ごとの Kaplan-Meier 法による生存時間解析を行った。

### 4. 研究成果

#### (1) 親世代マウスへのタンパク質の量や質を変化させた食事介入

C57BL/6J雌マウスの妊娠可能週齢から低タンパク質群、通常タンパク質群、高タンパク質群および動物性タンパク質、植物性タンパク質を組み合わせた餌を投与し、各種臓器や母乳、糞便サンプルの採取と分子生物学的検討を行ったところ、特に脂質代謝においての違いが確認された。親世代の雌マウスにおいても雄マウスでこれまでに確認されていた低タンパク質食による褐色脂肪組織でのエネルギー代謝の亢進が確認された。

## (2) 親世代の食事介入の次世代の妊娠・出産への影響

親世代マウスの妊娠中体重増加量、妊娠割合・出生時死亡割合、出生時仔数等の測定を行なった結果、タンパク質の量により妊娠中体重増加量に統計学的有意な差が見られ、出生時死亡割合は2倍以上の差が見られた。一方で、出生した次世代マウスの出生時体重に差は見られなかった。

親世代の低タンパク質食は親世代における代謝疾患改善作用を示す一方、次世代への低栄養の影響として低出生体重児が生まれるリスクが懸念されたが、今回設計したタンパク質が不足しない範囲での低タンパク質食においては、標準タンパク質食群と比較した低栄養による低出生体重児の増加は確認されなかった。一方で、出生時の仔の死亡割合は低タンパク質群で標準タンパク質群と比較して半数以下であり、親世代の妊娠・出産時の栄養素バランスが妊娠・出産自体に影響を与えていることが確認された。

## (3) 次世代マウスの食事誘導性代謝疾患への応答

出生日を揃えた次世代の仔を、母親世代の餌の種類ごとにそれぞれコントロール食群(10 kcal%脂肪)、高脂肪食群(60 kcal%脂肪)に分け、代謝疾患への影響を検討した。この結果、親世代が低タンパク質食群であった次世代では、高脂肪食による肥満が投与14週までは抑制が見られ、インスリン抵抗性の改善も見られた。一方、コントロール食群においては体重やインスリン抵抗性等における群間差は確認されなかった。親世代から次世代へ継承された表現型の責任臓器を特定するため、遺伝子発現解析や寒冷刺激試験による褐色脂肪組織の機能解析の結果から、白色脂肪組織や褐色脂肪組織が関与していることを明らかにした。胆汁酸応答性シグナルである褐色脂肪組織のミトコンドリアにおけるエネルギー代謝を中心に解析を実施した。

## (4) 次世代マウスの健康寿命への応答

次世代マウスの飼育を寿命まで継続しカプランマイヤー法による生存時間解析を行った結果、親世代の栄養素バランスの違いにより、標準食群(10 kcal%脂肪)を与えられたマウスでは生存曲線に有意な差異が見られ、低タンパク質群で有意な寿命の延長が確認された。

次に、次世代マウスの餌の種類を高脂肪食(60 kcal%脂肪)とし寿命の測定を行なった。この結果、標準食を与えられた場合と比較して逆の方向性が確認された。このことから、親世代の栄養素バランスのエピジェネティクスによる継承は次世代の栄養素バランスと相互関連し寿命を規定していることが明らかとなった。

## (5) まとめ

本研究では、親世代の栄養素バランスが次世代の妊娠・出産、代謝疾患、寿命に与える影響を検討した。タンパク質の不足が生じない範囲での低タンパク質食で、親世代では雌でも雄と同様に代謝疾患改善効果が確認された。親世代の栄養素バランスを変化させることで、次世代で同じ栄養素バランスの摂取状態においても代謝疾患への応答や、寿命延伸に有意な差異が生じることを明らかにした。さらに寿命においては次世代の栄養素バランスのパターン(10 kcal%脂肪、60 kcal%脂肪)により親世代の栄養素バランスの影響の方向性が異なっており、親世代からの継承が次世代の栄養素バランスのパターンと相互作用することを発見した。次世代への代謝疾患の応答性差異の検討から、胆汁酸応答性シグナルを有する褐色脂肪組織が責任臓器の一つとみられた。本研究結果は、食の選択が次世代にも影響を与えることを広く認知するための基本的研究結果となると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yokoyama Yoko, Shinohara Kawori, Kitamura Naho, Nakamura Anna, Onoue Ai, Tanaka Kazuki, Hirayama Akiyoshi, Aw Wanping, Nakamura Shigeru, Ogawa Yoko, Fukuda Shinji, Tsubota Kazuo, Watanabe Mitsuhiro	4. 巻 10
2. 論文標題 Metabolic Effects of Bee Larva-Derived Protein in Mice: Assessment of an Alternative Protein Source	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Foods	6. 最初と最後の頁 2642 ~ 2642
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/foods10112642	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 内田 瀬奈, 横山 葉子, 渡辺 光博	4. 巻 12
2. 論文標題 代謝におけるシグナル伝達分子としての胆汁酸の役割	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 医と食	6. 最初と最後の頁 27-31
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 無
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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 1.Yokoyama Y, Tanaka K, Fukuda S, Shinohara K, Yoshimoto K, Nakamura A, Kitamura N, Miyazaki T, Honda A, Tsubota K, Watanabe M
2. 発表標題 Dietary Lower Protein Increased Anti-aging Related Metabolite and Improved Glucose and Lipid Metabolism
3. 学会等名 The 10th APRU Population Aging Conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 横山 葉子, 田中 一己, 福田 真嗣, 篠原 かをり, 花里 奈瑠美, 伊集院 ほのか, 吉元 果恋, 中村 杏菜, 北村 奈穂, 本多 彰, 坪田 一男, 渡辺 光博
2. 発表標題 タンパク質を中心とした栄養バランスの違いによる胆汁酸-腸内細菌相互作用の検討
3. 学会等名 日本抗加齢医学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 4.Yokoyama Y, Tanaka K, Kitamura N, Taworntawat T, Onoue A, Kashikura K, Fukuda S, Honda A, Tsubota K, Watanabe M
2. 発表標題 Dietary Protein Quantity Alter Energy Metabolism via Liver-gut interaction signals
3. 学会等名 XXVI International Bile Acid Meeting (国際学会)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔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	渡辺 光博  (WATANABE Mitsuhiro)  (10450842)	慶應義塾大学・政策・メディア研究科(藤沢)・教授   (32612)	

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0件

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		
スイス	スイス連邦工科大学ローザンヌ校		