

平成 26 年 5 月 29 日現在

機関番号：17601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24650492

研究課題名(和文) 抗酸化食品成分を摂取した母体内の胎児が酸化耐性能を獲得できる可能性

研究課題名(英文) Can beneficial effects of food factors reach embryo via mother's body?

研究代表者

榊原 啓之 (SAKAKIBARA, HIROYUKI)

宮崎大学・農学部・准教授

研究者番号：20403701

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：抗酸化等の機能性を有する食品成分の効果が、母体を介して胎児に伝わる可能性をラットおよびマウスを用いた試験系により評価した結果、母体が摂取する食品成分は胎児に対して作用を示すものと示さないものが存在しており、その作用は母体よりも胎児で顕著に表れる成分が存在するとの知見を得た。またその効果は、脂質代謝系に顕著にみられており、抗酸化系への作用は小さいようであるが、結論を導くためには更なる研究が必要と考える。

研究成果の概要(英文)：We evaluated whether beneficial effects existed in the foods and food factors can reach embryo and infant via mother's body, and obtained the results indicating that some factors, such as bilberry anthocyanins, might affect on the lipid metabolic pathway, but not the antioxidative system, in the liver on embryo, when mothers were consuming food factors. On the other hand, extracts of bitter cucumber, which has been reported to reduce the hepatic triacylglycerol level in the adult animals, did not exert any effects on hepatic lipid metabolism in the mice embryo. We are continuing the studies to obtain further evidences on this research topics.

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：抗酸化成分 母子間移行 胎児益性 食品機能 脂質代謝

### 1. 研究開始当初の背景

超高齢社会に突入している我が国が対応すべき重要課題は、「健康な老後を楽しむことができる社会」と「将来を担う子どもたちを安心して育むことができる社会」の構築である。近年の研究により、母体内や授乳期の環境が、子どもの健康な成長に大きな影響を及ぼす可能性が高いとされている (Barker 仮説)。つまり、胎児期や授乳期の子どもは、外界からの刺激、例えば微量化学物質への曝露に対して敏感である。現在、様々な薬剤あるいはダイオキシン類や重金属などの微量環境化学物質の母子間移行 (胎児毒性) に関する知見は揃いつつあるが (Sakamoto *et al.*, 2002, 949, 51-59)、日常的に摂取することが前提となっている有益な機能性食品成分を妊娠中の母親が摂取し続けることが胎児にどのような影響を及ぼすのかについての知見は、益性/毒性どちらについても不足している。申請者は、これまでの研究において、機能性食品成分、特に抗酸化性を有する成分の生体影響について、動物試験およびヒト試験により評価してきた (Sakakibara *et al.*, 2009, 57, 7681-6, Takemura *et al.*, 2010, 274, 42-8, 等)。その過程で、「妊娠中の母体が摂取した抗酸化等の機能性を有する食品成分が、外部からの刺激に敏感な胎児に対して何かしらの益性/毒性的な影響を示すのではないか」との疑問に辿り着いた。

### 2. 研究の目的

本研究では、食品由来の機能性成分を母体が妊娠期間中に摂取していると、生まれてくる子どもは酸化耐性等の機能性を獲得することができるのか、またその結果、様々な疾患に対する耐性を身につけることができるのかを、動物試験により探究することを目的とし、妊娠した雌マウスおよびラットを用い、胎仔期あるいは授乳期を通じて、代表的な食品由来の抗酸化食品成分、例えば、アントシアニン等のフラボノイド類を母体に自由摂取あるいは経口投与した時の胎仔への影響を探究する研究を推進した。

### 3. 研究の方法

本試験は、宮崎大学動物実験指針に従って実施された。

#### (1) ラットを用いた試験

##### ① 実験動物

雌雄の SD 系ラットを日本 SLC (静岡) より購入後、ラット用 TPX ケージ (280 x 440 x 280 mm) にて飼育した (1 匹/ケージ)。2 週間の順化期間後に、雌ラットの膣スメア像により発情状態を確認後、発情期の雄ラットと雄とのペアリングを行い、膣スメア像により精子確認日を妊娠 0 日目とした (図 1)。飼育室の環境は、室温 23±2℃、湿度 55±5%、12 時間の明暗サイクルで調節した。飼育期間中の

飼料は、AIN-93G 精製試料を用いた。

経口投与試験：妊娠 18 日目に、12 時間の絶食下の母体にアントシアニンを豊富に含むビルベリー抽出物 (677 μmol/g 抽出物) を経口投与した (500 mg/kg 体重)。経口投与直前 (0 分)、投与後 15、30、60 分に母体の血漿、母子の肝臓を採取した。

自由摂食実験：ビルベリー抽出物を 1% 含む AIN-93G 精製試料を交配 3 日前より与え、妊娠 18 日目に解剖に処し、母体の血漿、母子の肝臓を採取した。

- ② 血中および肝臓中アントシアニン含量  
研究代表者らの既報 (Sakakibara *et al.*, 2009, 57, 7681-7686) に従って測定した。
- ③ 脂質濃度測定  
血漿および肝臓中のトリグリセライド、遊離コレステロール、総コレステロール、コレステロールエステル、リン脂質、HDL コレステロール濃度は、市販の測定キット (和光純薬工業) を用い、同封のプロトコルに従って測定した。
- ④ 肝臓中遺伝子発現解析  
研究代表者らの既報 (Tsurusaki *et al.*, 肝臓 2013, 52, 208-214) に従って、肝臓組織より RNA を抽出し、cDNA に逆転写後に定量的 RT-PCR 法により、主に脂質代謝系に関連した経路を制御している遺伝子の発現量を解析した。

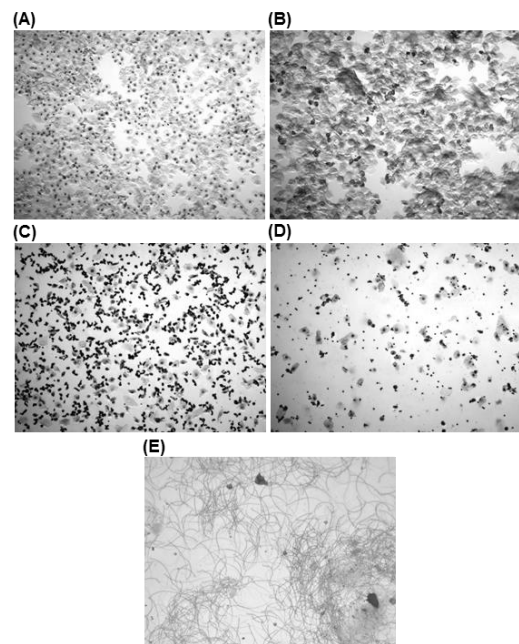


図 1. 膣スメア像

(A) 発情前期、(B) 発情期、(C) 発情後期、(D) 発情間期、(E) 受精後

#### (2) マウスを用いた試験

- ① 雌雄の C57BL/6 マウスを日本 SLC より購入後、マウス用 TPX ケージ (170 x 200 x 120 mm) にて飼育した (3 匹/ケージ)。動物飼育室の環境は上述のラット飼育室と同様である。1 週間の予備飼育期間を

経た後、食品成分を含む AIN-93G 精製試料を摂取させた

1%のニガウリ抽出物を含む AIN-93G 精製試料を交配 3 日前より与え、妊娠 17 日目に解剖に処し、母体の血液と母子の肝臓を採取した。また、未妊娠雌マウスに対して、同様に 1%のニガウリ抽出物を含む食餌を 1 週間与え、血液および肝臓を採取した。

#### ② 脂質濃度測定

血漿および肝臓中のトリグリセライド、総コレステロール、リン脂質濃度は、市販の測定キット(和光純薬工業)を用い、同封のプロトコルに従って測定した。

#### ③ 肝臓中遺伝子発現解析

研究代表者らの既報 (Tsurusaki *et al.*, 肝臓 2013, 52, 208-214) に従って、肝臓組織より RNA を抽出し、cDNA に逆転写後に定量的 RT-PCR 法により、主に脂質代謝系に関連した経路を制御している遺伝子の発現量を解析した。

### 4. 研究成果

#### (1) ラットを用いた試験

研究代表者のこれまでの研究成果の中で、最も抗酸化効果が強く、かつ我々が日常生活の中で摂取する機会が多い食品由来の成分として、ベリー系果実に豊富に含まれているアントシアニンに着目し、研究を開始した。

#### ① 雌ラットにおけるアントシアニンの体内動態

多くのげっ歯類を用いた体内動態試験では、雄性動物が利用されることが多い。まず、未妊娠の雌性ラットを用いて、アントシアニンの体内動態を追跡したところ、経口投与したアントシアニンが血中に移行することを見出した。また、雄性ラットでは 30 分が最大値になるとの報告が多いが、本研究では雌ラットでは 60 分まで上昇するととの差異がみられた。

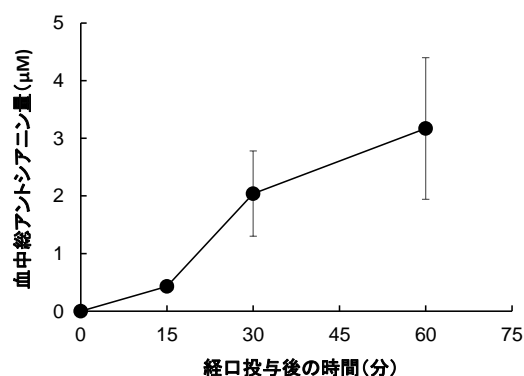


図 2. 雌ラットにおける経口投与後のアントシアニンの血中濃度の推移

平均値±標準偏差で表示 (n=5)。

② 妊娠母体へのアントシアニン投与  
妊娠母体へのアントシアニン投与 60 分後のアントシアニンの母体血中濃度は、 $1.1 \mu\text{M}$ 、肝臓中濃度は  $44 \text{ pmol/g}$  であった。胎仔肝臓中アントシアニンは検出限界以下であった。一方、投与後 30 分の肝臓からは、わずかであるが微量のアントシアニンの検出が確かめられた ( $8 \text{ pmol/g}$ )。以上の結果は、アントシアニンは母体を介して胎仔に移行する可能性が高い成分である可能性を示唆している。

③ アントシアニン含有食の自由摂食試験  
交配の 3 日前から 1%のビルベリー抽出物を含む食餌で飼育した妊娠母体内の胎仔肝臓中アントシアニン含量は検出限界以下であったが、これはアントシアニンの摂取量が少なかったことが理由の一つと考えている。

妊娠期間中 (20 日間) のアントシアニン含有食の摂取により、母体の血中および肝臓中脂質濃度に変化は見られなかった。また胎仔肝臓中脂質濃度も同様の結果であった。ところが、脂肪酸合成系の遺伝子である *Srebf1*、 $\beta$ 酸化系の遺伝子である *Cpt*、コレステロール代謝系の遺伝子である *Cyp7a1* や *Hmgcr*、トリグリセライド合成系の遺伝子である *Mttp* 等の肝臓中での発現量が、母体では変化が見られなかったにも関わらず、胎仔ではいずれも有意な上昇を示した。本研究で測定したその他の遺伝子の発現量には変化は見られなかった。これは、母体から胎仔に移行したアントシアニン、あるいはビルベリー抽出物に含まれているその他の微量成分に対して、胎仔の脂質代謝系は母体よりもより敏感に反応することを示唆している。現在、この点に着目して研究を継続している。

#### (2) マウスを用いた試験

上記の試験により、脂質代謝系に対する作用が母体から胎仔に伝わる可能性を示唆する結果を得た。更なる研究を行うために、成体の脂質代謝系に作用することが報告されている食品素材を探索したところ、ニガウリにその作用があるとの報告がいくつか見つかった。そこで、脂質代謝改善効果が知られているニガウリ抽出物を被験試料として用い試験を行った。

#### ① ニガウリ抽出物の脂質代謝改善効果の確認

未妊娠の雌マウスに 1%のニガウリ抽出物を含む食餌を 1 週間与えた後に、血中および肝臓中脂質濃度を測定したところ、血中のトリグリセライド、総コレステロール、リン脂質には変化は見られなかったが、肝臓中トリグリセリド含量はニガウリ摂取群において、有意に低下していた。これは先行研究の結果と一致してい

- た。
- ② 母体が摂取したニガウリ抽出物が胎仔に及ぼす効果  
妊娠期間中に 1%のニガウリ抽出物を摂取した母マウスの血中および肝臓中脂質濃度は、(2)-①の未妊娠マウスの結果と同様に、肝臓中のトリグリセリド濃度のみがニガウリの摂取により低下していた。一方、胎仔の肝臓では、トリグリセリド、総コレステロール、リン脂質はいずれもニガウリの摂取により影響を受けていなかった。したがって、ニガウリが有する脂質代謝改善効果は、母体を介して胎仔へは移行しないと考えられる。

以上の結果より、母体が摂取する機能性食品成分は胎仔に対して作用を示すものと示さないものが存在しており、その作用は母体よりも胎仔で顕著に表れる成分もあると考えている。その変化は、脂質代謝系に顕著にみられており、抗酸化系への作用は小さいようであるが、結論を導くためには更なる研究が必要と思われる。また、胎児に作用する成分については、さらに成長後にどのような変化がみられるのかについて、現在追跡中である。

#### 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 0 件)  
投稿準備中

〔学会発表〕(計 2 件)

- 1) 吉武稔貴、窄野昌信、下位香代子、榊原啓之、母体が摂取したビルベリーアントシアニンの胎児移行性、第 18 回日本フードファクター学会学術集会、2013 年 11 月 9 日、東京農業大学(東京)
- 2) 榊原啓之、機能性食品研究に携わって 17 年目の挑戦－食品成分と体内リズムのクロノコミュニケーション－、2013 年 3 月 16 日、金沢和樹先生退職記念講演会－食品・医薬品研究の最前線、ANA クラウンホテル(神戸)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

〔その他〕

なし

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

榊原 啓之 (SAKAKIBARA HIROYUKI)  
宮崎大学 農学部 応用生物科学科  
准教授  
研究者番号：20403701

(2) 研究分担者

下位香代子 (SHIMOI KAYOKO)

静岡県立大学・環境科学研究所・教授

研究者番号：10162728