

平成 26 年 6 月 12 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2013

課題番号：25660099

研究課題名(和文)ファイトケミカルの哺乳類胎児への影響

研究課題名(英文)Effects of phytochemicals for mammalian embryo

研究代表者

高橋 直樹 (TAKAHASHI, NAOKI)

東京大学・農学生命科学研究科・教授

研究者番号：30179501

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)：現在用いられている催奇形性の検査法は、マウスなどの実験動物に食品成分を投与し、形態などに異常が生じないことを確認するというものである。この方法では十分な安全性を保證できるとは言えない。我々は形態形成過程において中心的な役割を果たしているHox遺伝子等の発現の変化をDNAマイクロアレイを用いて網羅的に解析することによって危険性を予見するという方法を開発し、現在サプリメント等に用いられているファイトケミカルのマウス胎児への影響を解析した。

研究成果の概要(英文)：Contrasting a comprehensive analysis using DNA microarrays, our analysis is simpler and allows the examination of a large number of samples. Information on molecular markers such as the Hox genes under various conditions (exposure-time, -dosage) will allow the prediction of the hazardous nature of unknown factors. In addition, the understanding of the molecular mechanisms common to different teratogenic agents requires the identification of the target genes of Hox and each transcription factor and an understanding of transcription factor networks

研究分野：農学

科研費の分科・細目：食品科学・食品安全性

キーワード：催奇形性 遺伝子発現 哺乳類

## 1. 研究開始当初の背景

### (1) 実験動物としてのマウス(ハツカネズミ)

現在世界的に最も広く用いられている、ヒトを最終的な目標とした研究に用いられる実験動物はマウスである。マウスは哺乳類としては、比較的小型で、飼育、繁殖が容易であるという実験動物としての多くの利点を持っているが、最も重要な点は、遺伝的にほぼ均一なゲノムを持っているという点である。ヒトはもちろんであるが、ウサギ、ラットなど広く実験動物として用いられている動物でもマウスに比べれば遺伝的なばらつきは大きい。人間に多くの個体差(個性)があるように、これらの動物にも個体差があり、実験データのばらつきを生じる一つの原因となっている。マウスは100年以上の間近親交配を繰り返して作成したいくつかの系統(近交系)が、作成されており、これが、科学的な実験に用いられる。

### (2) SPF (specific pathogen free) マウス

上記のような遺伝的に均一なマウスが広く実験に用いられているが、マウスの飼育環境がコントロールされていないと厳密な実験データは得られない。飼育時の明暗の時間、温度や湿度の違いによって実験結果が大きく異なる場合が多い。さらに、マウスの健康状態によっても、結果は大きな影響を受ける。そこで、世界的にスタンダードなマウスの飼育基準が設定されており、この条件で飼育されていない場合は、その研究成果が認められない場合が多い。学術研究や医薬関連の研究は、多くの実験はこの条件を満たしているが、わが国の食品研究の多くは必ずしもこの条件のもとで行われているとは限らない。

本研究は、植物由来の機能性成分といわれているものの安全性と有効性を科学的に明らかにすることを目的としており、世界基準に合った飼育条件でマウスを飼育する。その条件は、明暗、温度、湿度はもちろんであるが、健康状態を検査するため、マウスに影響を与え

ることの知られている、いくつかの病原菌が存在しないこと(specific pathogen free)を定期的にモニターする。

## 2. 研究の目的

現在わが国では多くの植物由来の機能性食品成分が販売されているが、その有効性および安全性について必ずしも十分な科学的根拠(エビデンス)が得られていない。有効性および安全性の根拠となっている一つの実験はマウスを用いた動物実験によるものであるが、わが国では、薬品の有効性・安全性検査のために用いられている、細菌やウイルスの感染をコントロールしたSPF (specific pathogen free) マウスではなく一般(conventional) マウスを用いた検査が広く用いられている。本共同研究の目的は、下記の有効性および安全性について SPF マウスを用いて検査することによって、有効かつ安全な機能性成分を含む食品、サプリメントを開発することである。

## 3. 研究の方法

上記の述べた、厳密に管理されたマウスを用い、妊娠10日、12日にRA、TCDD、ファイトケミカルを投与し、その2日後(原則)の胎児における遺伝子発現について、Hox, Pax, Tbxなど形態形成を制御していることが明らかになっている遺伝子群について、RT-PCR法および、DNAマイクロアレイを用いた方法で網羅的に解析する。また発現に変化が観測された成分については、形態の観察も行う。

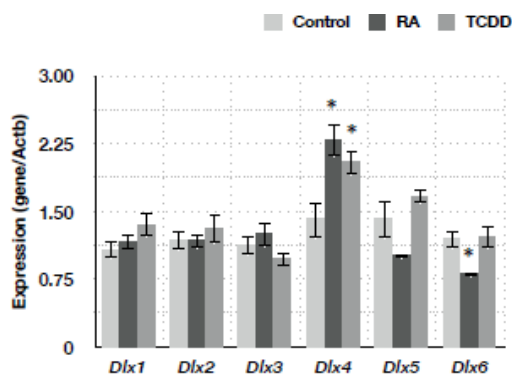
## 4. 研究成果

### (1) RAおよびTCDDを用いた研究

本研究は、マウスを用いた食品の安全性に関わる研究であり、上記のような完全に管理された条件で飼育されたマウスを用いて行う必要がある。東京大学農学部栄養化学研究室ではこれまで SPF 条件で飼育されたマウスを用いて(食品の安全性にかかわる)研究を行ってきたが、飼育施設として学内の動物実験施設を利用して

実験を行ってきた。本研究も上記の飼育環境で飼育したマウスを用い、まずRAおよびTCDDの催奇形性について解析を行った。

以下に、RAおよびTCDDの投与によって発現が影響される遺伝子群と催奇形性について解析を行った結果の一例を示す。



TCDD dose (µg/kg)	N <sup>a</sup>	Absorption		Cleft palate	
		No. of litters affected	No. of litters affected	Affected fetuses / Total fetuses	
0	2	0	0	0/14	
5	2	0	0	0/15	
10	3	1	0	0/11	
20	4	1	4	11/17	

## (2) ファイトケミカルを用いた研究

上記の条件で飼育したマウス研究法を用いて以下の植物由来機能性食品成分の安全性の検査を行なった。またこれらの成分の有効性についても同様な方法を用いて行なった。

カテキン(茶)

チャランチン、コロコリン酸、モモルディシン(ゴーヤ)

クルクミン(クミン)

ニンジン(β-カロテン)

セサミン(ゴマ)

ケルセチン(玉ねぎ)

レスベラトロール(ブドウ、赤ワイン)

リコピン(トマト)

ダイゼイン、ゲステニン等(大豆イソフラボン)

## 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 3件)

Muramatsu, D., haraguchi, R., Moon, A. M., Satoh, Y., Nakagata, N., Yamamura, K-I., Takahashi, N and Yamada, G. Genetic analysis of the role of Alx4 in the coordination of lower body and external genitalia formation. Eur. J. Human Genetics 22, 350-357(2014) 査読あり

Saito, Y., Kojima, T. and Takahashi, N. The septum transversum mesenchyme induces gall bladder development. Biology Open 2, 779-788(2013) 査読あり

Kojima, T., Asano, S. and Takahashi, N. Teratogenic factors affect transcription factor expression. Biosci. Biotechnol. Biochem. 77, 1035-1041(2013) 査読あり

〔学会発表〕(計 2件)

小栗 晶、小島 拓哉,高橋 直樹 マウス脂肪組織における Mab2111 遺伝子の機能解析 日本農芸化学会 2014.3.28 明治大学(東京)

吉満 和、小島 拓哉,高橋 直樹 骨における Mab2111 遺伝子の機能解析 日本農芸化学会 2014.3.28 明治大学(東京)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計 0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：

国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6．研究組織

### (1)研究代表者

高橋 直樹 (TAKAHASHI, Naoki)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授

研究者番号: 30179501

### (2)研究分担者

小島 拓哉 (KOJIMA, Takuya)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・助教

研究者番号: 90346312