

平成22年5月12日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19500679
 研究課題名（和文）老年期食生活における食物繊維の役割－老齡ラットにおける遺伝子発現変化を指標として
 研究課題名（英文）Physiological role of dietary fiber in aging rat

研究代表者
 南 道子（MINAMI MICHIKO）
 東京学芸大学・教育学部・教授
 研究者番号：70272432

研究成果の概要（和文）：老年期の食物繊維の生理的な役割を検討するために40週令ラットに食物繊維としてセルロースを10%、2%添加した飼料を作り約1週間飼育し、血中の内分泌物質、肝臓のDNAマイクロアレイによる遺伝子発現の変化、腸内細菌叢の変化を検討した。その結果、内分泌物質のPAI-1(plasminogen activator inhibitor -1)に有意差が見られた他、肝臓では脂質代謝系の遺伝子の発現が亢進し、腸内細菌叢もそれぞれ各群がクラスターを形成した。これらの事から食物繊維量の変化で腸内細菌叢の変化を起し、その変化が腸内から吸収される栄養素に変化を与え、食物が最初に通過する肝臓での遺伝子発現を変化させ、さらに血中の内分泌成分の変化をもたらせた事が示唆された。

研究成果の概要（英文）：To determine the physiological role of dietary fiber, 10 % and 2% cellulose diet were served 40 weeks male Wister rat for a week. The composition of 12 fecal microflora was analysed by T-RFLP profile derived from the digestion of the fecal 16S rRNA gene by HhaI digestion. The fecal microflora was divided into 2 clusters. Serum PAI-1 is significantly different from 10% and 2% cellulose diet group. The effect of dietary fiber on the gene expression profiles in liver by using DNA microarray analysis. A gene ontology analysis revealed that lipid metabolic-related genes had been markedly up-regulated.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,600,000	780,000	3,380,000
2008年度	700,000	210,000	910,000
2009年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

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：食物繊維、DNAマイクロアレイ、遺伝子発現、老年期、

1. 研究開始当初の背景

食生活の欧米化とともに死因に関しても欧米なみになり、日本人の食生活を見直す動きが活発になってきた。研究分野では網羅的に遺伝子の発現を把握できるツールであるDNA マイクロアレイの手法が確率された。また、栄養素の遺伝子発現調節はビタミンAやDで研究されており食品由来の物質が遺伝子の発現を直接調節することが証明されている。食物繊維は栄養素としての機能を発揮しないと考えられており、遺伝子発現調節には関係がないと考えられている。また、最近の日本人では摂取が少ない傾向にある。老年期は身体的な恒常性を維持しにくいと考えられ、食物繊維がどのような役割があるかということとは不明であった。

2. 研究の目的

この課題では従来栄養素の機能としては何もないといわれている食物繊維を取り上げた。その機能として腸内細菌叢の変化を起こす事は知られているが、菌によっては食物繊維を分解し栄養とするものがあり、さらにそれらのある種の菌は短鎖脂肪酸などを分泌する事が知られている。その産生物が腸から吸収され、門脈を通過して肝臓に運ばれ、遺伝子発現調節に影響を及ぼすか否かを検討する目的でDNA マイクロアレイの手法を用いて検討した。

3. 研究の方法

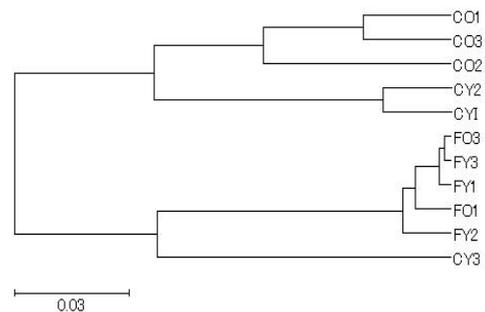
研究方法としては雄の老齢ラット 40 週令を用い食物繊維の多い 10%セルロースの餌と少ない 2%の餌で1週間飼育し、肝臓と新鮮糞をとり、さらに頸動脈から採血して、血清を作成した。肝臓を用いてDNA マイクロアレイの手法で遺伝子の発現を網羅的に解析し、血清を用いて内分泌に影響を及ぼすか ELISAの手法で検討した。新鮮糞では T-RFLP 法に基づき各群間の腸内細菌の種類について 16S Ribosomal RNA の配列をもとに、末端に蛍光ラベルしたプライマーでPCR反応を行い増幅し、HhaI の制限酵素処理を行なった産物をABI3300にかけて DNA の断片長を分離し、得られた結果をコンピューターで解析した。

4. 研究成果

(1) 腸内細菌叢の検索

1 週間の摂取食物繊維の違いにより、F 群 (fiber=cellulose10%) と C 群 (control=

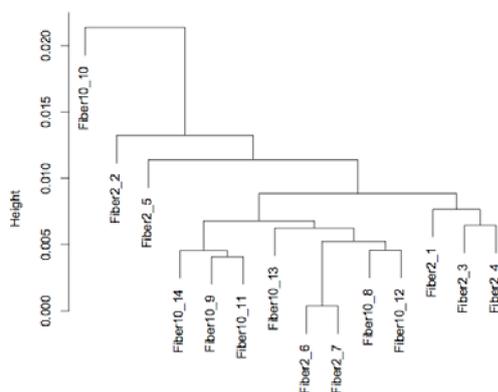
cellulose2%) 間の腸内菌叢パターンの違いがはっきりとあらわれることが両群の結果がクラスターを形成している事から示唆された。さらにこの違いは食物繊維の多い群では菌種が少ない事が分かった。一方食物繊維の少ない群では菌の種類が多い。今後は、この菌叢の違いが何に由来しているか、すなわちどのような菌種の割合が変動しているかについて解析を行なっているところである。



(図1) セルロース添加飼料によるラット腸内細菌叢の検索 F セルロース 10%群, C セルロース 2%群

(2) DNA マイクロアレイによる解析

マイクロアレイデータ (CEL ファイル) を基に、統計解析言語・環境「R」を用いて解析を行った。正規化は Factor Analysis for Robust Microarray Summarization (FARMS) で行った。階層的クラスタリングによって同一処理群内の再現性・異なる処理群間のプロファイルの差を確認した後、2%セルロース投与群と10%セルロース投与群の2群間比較を RnaKProduct 法で行った。False discovery rate (FDR)を考慮し、理論上 False positive が 1 個未満となるような遺伝子リストを、10%群で発現上昇したもの、発現低下したものそれぞれについて抽出した。抽出した遺伝子リストについては、The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID) のウェブツールを用いて、どのような機能を持った遺伝子が有意に集まっているかを調べる gene functional enrichment analysis を行った。その結果、10%食物繊維群ではコレステロールの代謝、ステロイドの合成系、脂肪酸のβ酸化、腸内でのコレステロールの吸収に関する遺伝子の発現上昇がみられ、反対に発現が減少した群としては脂質、糖質、タンパク質に関する遺伝子群が数多く見られ特に炭水化物の代謝に関する遺伝子の発現が押えられていた。



(図2) 食物繊維の量の違いによるラット肝臓遺伝子発現のデンドログラム F10 セルロース 10%群、F2 セルロース 2%群

(3) 内分泌量の測定

内分泌物質はACE, ACTH, C3a Adiponectin, Angiotensin, Cortisol, Galanin, Groth Hormon, IGF-1 Insulin, Leptin, LH, PaI-1 Progesteron, Prolacton Secretin, Testosterone,その他に無機質としてCA, MG, 血糖値、脂質として、コレステロール、中性脂肪ともカイロミクロン VLDL, LDL, HDL を測定した。血中のグルコースは 10%群が 2%群よりも濃度が低く、従来言われていた食物繊維を多くすると血糖が低下傾向にあるといわれていることが再現された。それ以外に血中の PAI-1 濃度に有意差が表れた。PAI-1 は血管内皮、肝臓、脂肪組織が分泌する物質で血栓形成部位ではプラスミンの生成を抑制する事が知られている。今回の結果はその PAI-1 が食物繊維 10%食で増えると言う予想とは反対の結果になった。しかし、その値は 1.16 倍であり、従来いわれている疾病時の高い値 (平常値の 4-5 倍) と比べると少ない。また本実験は 2% というラットの通常食 5% と比べると低い。そこでラットの PAI-1 の平常値が不明である以上、2%食物繊維群が値が低いという可能性がある。そこで、さらに詳細な検討を行うためにラット 40 週令の 5%食物繊維飼育群の血清 PAI-1 値の測定を行ない、考察する必要があると考えるが、いずれにせよ 0.01%の危険率で有意差があることから食物繊維の濃度と血清 PAI-1 濃度に相関関係があると考えられた。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 3 件)

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に

は下線)

- ① Suzuki Y., Minami, M., Suzuki M., Abe K., Zenno S., Tujimoto M., Matsumoto, K. and Minami, Y. The Hsp90 inhibitor geldanamycin abrogates colocalization of eIF4E with eIF4E-Transporter into Stress Granules and Association of eIF4E with eIF4G J.B.C. 査読有り 284 (51)35597-35604 (2009)
- ② Mizuho Nishida, Tomiko Asakura, Tomomi Watanabe, Etsuko Kunizaki, Mami Matsumoto, Wakako Eto, Tomoko Tamura, Michik Minami, Akio Obata, Keiko Abe and Junko Funaki Application of Aspergillus saitoi Protease Preparation to Soybean Curd to Modify Its Functional and Rheological Properties Biosci. Biotechnol. Biochem., 査読有り 72 (2), 581-590, 2008
- ③ Nakai. Y., Hashida. H., Kadota K., Minami. M., Shimizu. K., Matsumoto I., Katoh. H. and Abe K. Up-regulation of Genes Related to the Ubiquitin-Proteasome System in the Brown Adipose Tissue of 24h-Fasted Rats Biosci. Biotechnol. Biochem. 査読有り 72 139-148 (2008)

[学会発表] (計 3 件)

- ① Ysufumi Minami, Michiko Minami A Possible Role of Hsp90 in Translational Control The complex life of RNA: From synthesis to decay 2010年3月20日、European molecular Biology Laboratory (Heidelberg)
- ② 松本健、南道子、南康文、The Hsp90 inhibitor geldanamycin affects the formation of processing bodies and stress granules 第32回日本分子生物学会年会、2009年12月10日、横浜国際会議場
- ③ 南道子、松本健、南康文、P body 及びストレス顆粒に関わる Hsp90 の機能、第82回日本生化学会大会、2009年10月23日、神戸国際会議場

6. 研究組織

(1) 研究代表者

南道子 (MINAMI MICHIKO)
東京学芸大学・教育学部・教授
研究者番号：70272432

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

中井 雄治 (NAKAI YUJI)

東京大学大学院・農学生命研究科・特任准
教授

研究者番号：10321788