

令和 4 年 6 月 2 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05862

研究課題名(和文) 腸内細菌叢の制御を介した胎生期低栄養に起因する生活習慣病の予防に関する研究

研究課題名(英文) Studies on the prevention of lifestyle-related diseases caused by fetal undernutrition through the control of the intestinal flora

研究代表者

平井 静 (Hirai, Shizuka)

千葉大学・大学院園芸学研究院・准教授

研究者番号：90432343

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：マウスの妊娠期糖質制限による次世代の肥満・糖代謝改善作用に、腸内細菌叢変化が関与する可能性を検証した。妊娠後期に対照食または糖質制限食を給与したマウスから出生した仔マウスの離乳直後の糞便を用いて腸内細菌叢解析を行ったところ、糖質制限群の腸内細菌叢は対照群とは異なるクラスターを形成していた。そこでこの腸内細菌叢を無菌マウスに移植し高脂肪食を負荷したところ、対照群と比較して糖質制限群では有意な体重および内臓脂肪重量の低下、経口糖負荷試験における血糖値の有意な低下が認められた。以上の結果より、妊娠期糖質制限により認められる次世代の肥満・糖代謝改善作用は、腸内細菌叢の変化を介していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

妊娠期低栄養は、一般的に次世代において肥満や生活習慣病発症リスクを高めるといわれてきた。一方、我々がこれまでに実施したマウスの妊娠期における糖質のみの制限は、次世代において肥満や糖代謝異常を改善する。本研究ではそのメカニズムに腸内細菌叢が関与することを見出した。この成果は、周産期栄養学において新たな知見をもたらしただけでなく、周産期における腸内細菌叢の改善に寄与する食事介入が次世代で生じうる肥満や糖代謝異常の予防に繋がることを示唆していることから、予防医学・先制医療に貢献する極めて社会的意義のある成果であるといえる。

研究成果の概要(英文)：We investigated the possibility that intestinal flora may be involved in the improving effect of carbohydrate restriction during pregnancy in mice on obesity and glucose metabolism in the next generation. The intestinal flora in the pups immediately after weaning in the carbohydrate-restricted group formed a cluster that was significantly different from that in the control group. Furthermore, when these intestinal flora was transplanted into germ-free mice and fed with a high-fat diet, a significant decrease in body weight and visceral fat weight was observed in the carbohydrate-restricted group compared with the control group. Plasma glucose level during oral glucose tolerance test was also significantly decreased in the carbohydrate-restricted group. These results suggest that changes in the intestinal flora mediate the improving effects of carbohydrate restriction during pregnancy on obesity and glucose metabolism in the next generation.

研究分野：食品機能学

キーワード：胎生期低栄養 糖質制限 腸内細菌叢 肥満 糖代謝

## 1. 研究開始当初の背景

近年、日本では、男性や中高年女性を中心に肥満者が多い一方で、ダイエットや粗食が原因となって生じる、主にたんぱく質や糖質の摂取不足を特徴とした低栄養状態にある人口が増加している<sup>1)</sup>。特に20-30代の若い出産世代の女性におけるやせ人口は約20%と非常に多くなっており<sup>1)</sup>、周産期の女性におけるこのような低栄養状態は、次世代において肥満や生活習慣病の発症リスクを高めることが知られているため<sup>2),3)</sup>、早急に対策が必要である。

我々はこれまでの研究において、マウスの妊娠後期におけるたんぱく質を含むすべてのエネルギー源の制限(総エネルギー制限)が出生仔において高脂肪食誘導性の肥満や糖・脂質代謝異常を増悪化するのに対して、妊娠後期の糖質制限は出生仔の肥満や糖代謝を改善することを見出している。しかしながら、この次世代における代謝変化を媒介するメカニズムに関しては不明であった。

近年、消化管に生息する腸内細菌叢が肥満や糖尿病などの病態形成に影響を及ぼすことが報告されている。腸内細菌叢は食事の栄養成分によって変化することが知られており<sup>4)</sup>、妊娠期にたんぱく質制限を行った母獣から出生した仔ラットにおいても腸内細菌叢や短鎖脂肪酸濃度の変化が報告されている<sup>5)</sup>。すなわち、妊娠期の栄養によって母体に生じた腸内細菌叢の変化は仔へと受け継がれ、それが肥満や生活習慣病発症の一因となっている可能性が示唆される。

そこで本研究では、胎生期栄養制限、特に胎生期糖質制限による肥満・糖代謝改善作用に腸内細菌叢が関与する可能性に着目し、検証を行った。

## 2. 研究の目的

本研究では、胎生期糖質制限によって生じる肥満・糖代謝改善作用が、腸内細菌叢の変化によって生じているのか否かを明らかにするために、以下の2点について研究を行った。

- (1) 胎生期糖質制限が腸内細菌叢に及ぼす影響を明らかにする。
- (2) 胎生期糖質制限によって変化した腸内細菌叢が実際に糖代謝改善作用を誘発し得るのかどうかを、無菌マウスへの腸内細菌叢移植によって検証する。

## 3. 研究の方法

### (1) 胎生期糖質制限による腸内細菌叢変化

雌雄のC57BL/6Jマウスを交配し、妊娠10日目の雌マウスを、標準食を自由摂取させる対照群または糖質のみの摂取制限により摂取エネルギーを40%制限した糖質制限群に分けて各飼料を給与し、出産させた。出産後の母マウスには標準食を自由摂取させ、出産した仔マウスを3週間哺育させた。仔マウスは3週間後に離乳させ、離乳後3日間の糞便を採取した。糞便からDNAを抽出し、16SrRNAシーケンスによる腸内細菌叢解析に供した。仔マウスは成獣後に60kcal%高脂肪食を16週間給餌した。

### (2) 無菌マウスへの腸内細菌叢移植が肥満および糖・脂質代謝に及ぼす影響

雌雄のC57BL/6Jマウスを交配し、妊娠10日目の雌マウスを、標準食を自由摂取させる対照群、標準食の摂取量を40%制限した総エネルギー制限群、または糖質のみの摂取制限により摂取エネルギーを40%制限した糖質制限群に分けて各飼料を給与し、出産させた。出産後の母マウスには標準食を自由摂取させ、出産した仔マウスを3週間哺育させた。仔マウスは3週間後に離乳させ、離乳後3日間の糞便を採取し、滅菌水を用いて糞便懸濁液を調整した。

次に、C57BL/6N無菌雄マウスをアイソレーター内で飼育し、60kcal%高脂肪食を給与するとともに、100 mg/mLに調整した糞便懸濁液を飲水投与した。経口糖負荷試験の後に、20週目に解剖を行った。

## 4. 研究成果

### (1) 胎生期糖質制限による腸内細菌叢変化

胎生期糖質制限群の仔マウスに高脂肪食を負荷したところ、対照群の仔マウスと比較して、体重増加量の低下および白色脂肪組織の小型化やインスリン感受性の亢進が見られ、これまでの結果と一致した。

一方、高脂肪食負荷前の離乳直後の仔マウスの体重は、群間で差が認められなかったにも関わらず、胎生期糖質制限群では腸内細菌叢の多様性が有意に高値を示し、対照群とは異なるクラスターを形成していることが明らかになった。さらに、腸内細菌叢を属レベルで比較したところ、対照群と比較して胎生期糖質制限群では、*Clostridium* および *Bacteroides* が有意に減少し、*Prevotella* が有意に増加していた。さらに、体重減少に伴い増加することが知られている *Prevotella/Bacteroides* (P/B) 比<sup>6)</sup>が有意に上昇していた。また、糞中短鎖脂肪酸（酢酸、酪酸、プロピオン酸）量は胎生期糖質制限群において増加傾向が認められた。

以上の結果から、胎生期糖質制限により腸内細菌叢が変化することが明らかとなった。

### (2) 無菌マウスへの腸内細菌叢移植が肥満および糖・脂質代謝に及ぼす影響

胎生期総エネルギー制限および糖質制限群の仔マウスの離乳直後の糞便から懸濁液を調整し、それぞれ無菌マウスに投与するとともに、高脂肪食を摂取させて肥満を誘導した。その結果、胎生期総エネルギー制限群の腸内細菌叢を移植したノトバイオートマウスの体重は対照群と同等であったが、肝臓中トリグリセライド含量は有意に低下した。一方、糖質制限マウスの腸内細菌叢を移植したノトバイオートマウスでは、体重、肝臓および腸管膜脂肪組織重量が有意に低値を示し、肝臓中トリグリセライド含量も有意に低値を示した。さらに、ノトバイオートマウスに経口糖負荷試験を実施したところ、胎生期総エネルギー制限群も糖質制限群も、対照群と比較して有意な血糖値低下が認められた。

以上の(1)、(2)の結果より、我々の以前の研究で認められた胎生期糖質制限マウスにおける肥満および糖代謝改善は、腸内細菌叢の変化によって誘導されることが示唆された。一方、胎生期総エネルギー制限では、過去の報告や我々の以前の研究では、高脂肪食誘導性の肥満および糖・脂質代謝異常の増悪化が認められていたが、離乳直後の腸内細菌叢はその誘発には関与せず、むしろ糖・脂質代謝の改善作用を示すことが示唆された。

### <引用文献>

- 1) 厚生労働省 平成 28 年国民健康栄養調査結果
- 2) Int J Obes Relat Metab Disord. 25: 735. 2001.
- 3) Cell Metab. 1: 371. 2005.
- 4) Science. 7; 334(6052):105. 2011
- 5) J Pediatr Gastroenterol Nutr. 51: 402. 2010.
- 6) Int J Obes (Lond). 43: 149. 2019.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 山口皓平、小澤彩花、中村絵里、小泉僚子、原千里、川添佳奈美、江頭祐嘉合、平井 静
2. 発表標題 胎生期糖質制限による腸内細菌叢の変化と成獣期の代謝との関連性
3. 学会等名 第10回日本DOHaD学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 原千里、小澤彩花、中村絵里、小泉僚子、川添佳奈美、山口皓平、 江頭祐嘉合、平井静
2. 発表標題 胎生期糖質制限による糖・脂質代謝変化と腸内細菌叢の関連性
3. 学会等名 第75回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小澤彩花、中村絵里、小泉僚子、原千里、川添佳奈美、山口皓平、 江頭祐嘉合、平井静
2. 発表標題 胎生期糖質制限による糖代謝改善作用と腸内細菌叢の関連性
3. 学会等名 第41回日本肥満学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中村絵里、小澤彩花、石井彩香、小泉僚子、川添佳奈美、江頭祐嘉合、平井静
2. 発表標題 胎生期栄養制限マウスの新生仔期クリルオイル曝露が成獣後の糖代謝に及ぼす影響
3. 学会等名 第40回日本肥満学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shizuka Hirai
2. 発表標題 Regulation of glucose and lipid metabolism in next generation by carbohydrate restriction during pregnancy
3. 学会等名 The 7th International Conference on Food Factors (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Eri Nakamura, Ayaka Ishii, Ayaka Ozawa, Yukari Egashira, Shizuka Hirai
2. 発表標題 Effect of paternal obesity and maternal nutritional restriction during pregnancy on glucose and lipid metabolism in offspring
3. 学会等名 The 7th International Conference on Food Factors (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ayaka Ozawa, Eri Nakamura, Kanami Kawasoe, Ryoko Koizumi, Ayaka Ishii, Yukari Egashira, Shizuka Hirai
2. 発表標題 Effect of maternal nutritional restriction during pregnancy and pacific krill oil intake during lactation on glucose and lipid metabolism in offspring
3. 学会等名 The 7th International Conference on Food Factors (国際学会)
4. 発表年 2019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

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
---------	---------