

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月 5日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010 ～ 2012

課題番号：22658042

研究課題名（和文）

腸管のバリア機能維持に必要な因子としての、アスコルビン酸の新規生理機能の発掘

研究課題名（英文） Pioneer study on the protective effect of ascorbic acid on barrier function of gastrointestinal tract.

研究代表者

堀尾 文彦 (HORIO FUMIHIKO)

名古屋大学・生命農学研究科・教授

研究者番号：20165591

研究成果の概要（和文）：

遺伝的にアスコルビン酸合成不能の ODS ラットに、アスコルビン酸無添加飼料を 14 日間という短期間与えるだけで、肝臓では炎症様変化が起こることを我々は見出している。このアスコルビン酸の新規な機能の機構として、アスコルビン酸が腸管のバリア機能の維持因子として作用しており、アスコルビン酸欠乏によりその機能が破綻して腸管からのエンドトキシン流入が起こることにより肝臓の炎症様変化が起こる可能性を想定した。本研究の成果として、アスコルビン酸欠乏群では門脈血中のエンドトキシン濃度が高まることが示された。また、回腸の組織学的解析により、アスコルビン酸欠乏群では吸収上皮細胞中の杯細胞数が増加していることを見出し、アスコルビン酸欠乏による腸管の組織学的変化とバリア機能の障害が推定された。また、これらの現象は、肝臓の炎症様変化と同時期に起こることも観察した。それらの結果を踏まえて、抗生物質を ODS ラットに投与して腸内細菌数を著減させることによりアスコルビン酸欠乏による肝臓の炎症様変化の発生の抑制の可能性を検討したが、肝臓の炎症様変化を完全に抑制することはできなかった。これらの成果から、アスコルビン酸は腸管のバリア機能を維持してエンドトキシンの血中への流入を阻止する栄養素であることが初めて示唆された。一方、アスコルビン酸欠乏により起こる肝臓の炎症様変化はこのエンドトキシン流入のみで引き起こされている現象ではないことも示唆された。

研究成果の概要（英文）：

In ODS rats with a hereditary defect of ascorbic acid (vitamin C) biosynthesis, we have demonstrated that ascorbic acid deficiency stimulate the hepatic expressions of acute phase protein genes, that were seen in inflammation. We hypothesized that the intestinal disorder provoked by ascorbic acid deficiency causes the inflow of endotoxin from gastrointesinal tract into portal vein, leading to the inflammatory responses in liver. By the analysis in this study, the endotoxin concentration in portal vein was significantly higher in the ascorbic acid-deficient group than that in the control group. Subsequently, we confirmed whether the hepatic inflammatory responses occur or do not in ascorbic acid-deficient ODS rats treated with antibiotics. As a result, the hepatic inflammatory response was observed. From these results, we speculate that the inflow

of endotoxin into the portal vein and the other unknown disorder by ascorbic acid deficiency cause the inflammatory responses in liver. However, this study demonstrated for the first time that ascorbic acid deficiency induce the disfunction of gastrointestinal tract and endotoxemia in ODS rats.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,900,000	0	1,900,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
総計	3,300,000	420,000	3,720,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・食品科学

キーワード：栄養生化学

1. 研究開始当初の背景

応募者らは、AsA 生合成不能の ODS ラットを栄養学実験に初めて導入して(J.Nutr., 115,1630(1985))、このラットが AsA 生理機能の探求において優れたモデル動物であることを示した(J.Nutr.,116,2278(1986), 119,409,(1989))。そして、AsA 欠乏のごく初期において、炎症に応答して発現上昇する肝臓の急性期タンパク質(ハプトグロビン、 α 1-酸性糖タンパク質など)が誘導され、炎症応答メディエーターであるインターロイキン-6(IL-6)の血中濃度も上昇することを国内外で初めて見出した(J.Nutr.,126,2505(1996), J.Nutr.,128,832(1998), J.Nutr.Sci. Vitaminol. 52,28(2006))。一方、腸内細菌の外膜構成要素であるエンドトキシン(内毒素)をラットに投与した時の肝タンパク質発現変動および血清タンパク質プロファイル変化が、AsA 欠乏時のそれらと酷似していることを見出した。そこで、本研究での仮説を想定するに至った。

2. 研究の目的

我々は、アスコルビン酸(ビタミン C, AsA)

生合成不能の ODS ラットを用いて、AsA 欠乏のごく初期において、炎症に応答して発現上昇する肝臓の急性期タンパク質が炎症時と同様に誘導されることを見出した。本研究では、この AsA の新規な機能を解明するために斬新な仮説の証明を試み、AsA 生理機能研究にブレークスルーをもたらすことを目的とする。具体的には、AsA 欠乏により腸管のバリア機能に障害が生じ、内毒素であるエンドトキシンの門脈血中への流入が起こり、肝臓での急性期タンパク質発現を上昇させるという新規の仮説の証明に挑戦する。

3. 研究の方法

- (1) AsA 欠乏初期から腸管機能が破綻することにより、門脈血中にエンドトキシンが流入することを証明する。そして、その流入と肝臓急性期タンパク質の発現上昇との経時的な一致を確認する。
- (2) IL-6 転写を促進する転写因子 NF κ B の、肝臓での AsA 欠乏による活性化を明らかにする。
- (3) AsA 欠乏による腸管上皮(特に回腸部)

の組織学的変化を調べる。

(4) エンドトキシンの門脈血中への流入を防止する処理(抗生物質の投与)により、AsA 欠乏時の肝臓の急性期タンパク質発現の上昇が消失するかについて明らかにする。

4. 研究成果

(1) アスコルビン欠乏群では、欠乏 14 日目から門脈血中のエンドトキシン濃度が高まることが示された。この濃度上昇は、肝臓の急性期タンパク質の発現上昇の時期と一致していた。

(2) アスコルビン酸欠乏群では、欠乏 18 日目において肝臓の NF- κ B の活性化が検出された。本研究の活性化測定法によっては、18 日目まで活性化上昇は得られず、急性期タンパク質の発現上昇時期よりも遅れていた。

(3) 回腸の組織学的解析により、アスコルビン酸欠乏群では吸収上皮細胞中の杯細胞数が増加していることを見出し、アスコルビン酸欠乏による腸管の組織学的変化とバリア機能の障害が推定された。

(4) 抗生物質を ODS ラットに飲水から投与して、腸内細菌数を著減させることによりアスコルビン酸欠乏による肝臓の炎症様変化の発生の抑制の可能性を検討したが、肝臓の炎症様変化を完全に抑制することはできなかった。

これらの成果から、アスコルビン酸は腸管のバリア機能を維持してエンドトキシンの血中への流入を阻止する栄養素であることが初めて示唆された。一方、アスコルビン欠乏により起こる肝臓の炎症様変化はこのエンドトキシン流入のみで引き起こされている現象ではないことも示唆された。

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)

(1) Yamauchi, R., Kobayashi, M., Matsuda, Y., Ojika, M., Shigeoka, S., Yamamoto, Y., Tou, Y., Inoue, T., Katagiri, T., Murai, A. and Horio, F.: Coffee and caffeine ameliorate hyperglycemia, fatty liver, and inflammatory adipocytokine expression in spontaneously diabetic KK-Ay mice. (査読有)

J.Agric.Food Chem. 58,5597-5603(2010)

(2) Kobayashi, M., Ohno, T., Hada, N., Fujiyoshi, M., Kuga, M., Nishimura, M., Murai, A. and Horio, F.: Genetic analysis of abdominal fat distribution in SM/J and A/J mice.

J.Lipid Res. 51,3463-3469(2010) (査読有)

(3) Matsuda, Y., Kobayashi, M., Yamauchi, R., Ojika, M., Hiramitsu, M., Inoue, T., Katagiri, T., Murai, A. and Horio, F.: Coffee and caffeine improve insulin sensitivity and glucose tolerance in C57BL/6J mice fed a high-fat diet.

Biosci.Biotechnol.Biochem., 75(12),2309-2315(2011) (査読有)

[学会発表] (計 7 件)

(1) 吉村 修、三浦奈津子、小林美里、村井篤嗣、伊藤弘幸、森田達也、堀尾文彦
アスコルビン酸欠乏による肝臓の炎症様変化とその機構の解析

第 64 回日本栄養・食糧学会大会(徳島)2010.5

(2) 堀尾文彦、吉村 修、三浦奈津子、小林美里、伊藤弘幸、森田達也、村井篤嗣

ODSラットにおける、アスコルビン酸欠乏による肝臓の炎症様変化とその機構の解析

日本ビタミン学会第 62 回大会(盛岡)2010.6

(3) 三浦奈津子、星長夕貴子、小林美里、村井篤嗣、伊藤弘幸、森田達也、堀尾文彦

アスコルビン酸欠乏により惹起される肝臓の炎症様変化の機構解析

第 65 回日本栄養・食糧学会大会(東京)2011.5

(4) 三浦奈津子、星長夕貴子、小林美里、村井篤嗣、堀尾文彦

ODS ラットにおける、アスコルビン酸欠乏により惹起される肝臓の炎症様変化の解析

日本ビタミン学会第63回大会(広島)2011.6

(5) 堀尾文彦、三浦奈津子、徳田優希、小林美里、半田 圭、森田達也、村井篤嗣

アスコルビン酸欠乏による肝臓の炎症様変化と、腸管からのエンドトキシン流入の可能性

第16回日本食物繊維学会(東京)2011.11.26

(6) 徳田優希、三浦奈津子、星長夕貴子、村井篤嗣、小林美里、堀尾文彦

アスコルビン酸欠乏による肝臓の酸化的ストレス防御系の変動

第66回日本栄養・食糧学会大会(仙台)2012.5.18

(7) 徳田優希、三浦奈津子、星長夕貴子、村井篤嗣、小林美里、吉村和也、堀尾文彦

ODS ラットにおけるアスコルビン酸欠乏時の肝臓の酸化的ストレス防御系の変動

日本ビタミン学会第64回大会(岐阜)2012.6.

〔図書〕(計1件)

(1) 堀尾文彦:「ビタミン総合事典」日本ビタミン学会編集、(分担執筆) pp.400-404 朝倉書店(2010)

〔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

<http://www.agr.nagoya-u.ac.jp/~anutr/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

堀尾 文彦 (HORIO FUMIHIKO)

名古屋大学・大学院生命農学研究科・教授

研究者番号：20165591

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

村井 篤嗣 (MURAI ATSUSHI)

名古屋大学・大学院生命農学研究科

・准教授

研究者番号：10313975

小林 美里 (KOBAYASHI MISATO)

名古屋大学・大学院生命農学研究科・助教

研究者番号：20456586