

平成 29 年 6 月 16 日現在

機関番号：13801

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26850079

研究課題名(和文)食物繊維の摂取によるパイエル板の発達とその制御

研究課題名(英文)Effects of dietary fiber intake on development of Payer's patch in rats

研究代表者

日野 真吾(Hino, Shingo)

静岡大学・農学部・助教

研究者番号：70547025

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、食物繊維の摂取が腸管免疫系の発達に及ぼす影響を明らかにすることを目的とし、パイエル板の形態と機能に与える影響について検討を行った。ラットでは、食物繊維の摂取はパイエル板数に影響しないことが明らかとなった。一方、食物繊維の摂取は小腸下部のパイエル板サイズを有意に大きくすることが明らかとなった。また、食物繊維の摂取は、小腸粘膜組織での炎症性サイトカイン発現量を上昇させることも明らかにした。これらの結果は、食物繊維の摂取が小腸の免疫系に作用することを示している。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to examine the effects of dietary fiber ingestion on intestinal immune system, development of Peyer's patch in particular. In rat study, ingestion of dietary fiber did not affect the number of Peyer's patch in the small intestine. However, dietary fiber increased the size of Peyer's patch in the lower part of small intestine (ileum). Further, our study revealed that ingestion of dietary fiber up regulated expression level of cytokine such as IL-17 and IFN-g. These results indicated that dietary fiber affects immune system in the small intestine.

研究分野：栄養化学

キーワード：食物繊維

1. 研究開始当初の背景

生体は、食事抗原や微生物のような外来抗原に絶えずさらされており、これらに起因する各種疾患に対抗するための生体防御機構として免疫系を備えている。しかしながら、免疫系は、加齢、ストレス、栄養状態などの各種環境因子等に起因してその機能が低下し、これにより各種疾患や感染症が引き起こされやすくなると考えられている。その中であって、生体の防御機能である免疫力を強化することは、生体の恒常性の維持に重要である。

近年の研究から、食物繊維 (DF) の摂取が腸管免疫系を修飾することが明らかになってきている。DF の腸管免疫系への作用の一部は、腸内で特定の腸内細菌群の増殖を刺激することによる細菌叢の変化や代謝産物である短鎖脂肪酸によると考えられている。実際、短鎖脂肪酸の一種である酪酸が結腸において制御性 T 細胞の分化・増殖を誘導することが明らかになっている。つまり、DF 摂取による腸管免疫系の修飾作用は大量の腸内細菌が存在する大腸で発現すると考えられる。一方で、DF の摂取は、経腸成分栄養で管理下のラットにおいてパイエル板由来リンパ球の増殖活性を回復し、細菌の透過性を抑制することが報告されている (Xu et al. JPEN 1998)。このことは、DF の摂取が大腸のみならず小腸においてもパイエル板を介し免疫応答を修飾している可能性を示すがその機序は明らかでない。

2. 研究の目的

本研究の全体構想は、多岐にわたる食物繊維 (DF) の生理機能のうち、腸管免疫系への影響について明らかにし、その応用を目指すものである。申請者らは DF の摂取が小腸ムチンと杯細胞数の増加を誘導することを見いだしており、この作用には DF の嵩や粘性といった物理化学的性質が関わることを示唆されている。本申請課題では、DF の摂取がパイエル板の形態に与える影響および腸管粘膜でのサイトカインプロファイルに与える影響を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) DF 摂取によるパイエル板の個数およびサイズへの影響

Wistar 系雄ラット(4 週齢)に 8% の小麦ふすま (WB) を含む飼料を摂取させた小麦フスマ群と食物繊維を含まない飼料を摂取させた対照群を設け、7 日後に解剖を行った。なお、飼料は AIN-76 に準拠した粉末試料を用いた。解剖時に、

小腸の長さおよび小腸各部位 (十二指腸、空腸中央部、回腸中央部、回腸末端部) のパイエル板サイズを計測した。

(2) DF 摂取が小腸サイトカイン発現量に与える影響 (摂取期間に着目した解析)

Wistar 系雄ラット(4 週齢)に 8% の小麦ふすまを含む飼料を摂取させた小麦フスマ群と食物繊維を含まない飼料を摂取させた対照群を設け、14 日および 56 日後に解剖を行った。解剖時に、小腸各部位から粘膜を採取し、サイトカイン発現量を測定した。

(3) DF 摂取が小腸サイトカイン発現量に与える影響 (摂取する DF の種類に着目した解析)

Wistar 系雄ラット(6 週齢)に 4% のグアガムを含む飼料を摂取させたグアガム群と食物繊維を含まない飼料を摂取させた対照群を設け、14 日日後に解剖を行った。解剖時に、小腸各部位から粘膜を採取し、サイトカイン発現量を測定した。

4. 研究成果

(1) DF 摂取によるパイエル板の個数およびサイズへの影響

8% の WB 飼料の摂取は、小腸全体の長さおよびパイエル板数に影響を与えなかった (Table 1)。一方、8% の小麦ふすま飼料の摂取は、小腸パイエル板の 1 個あたりの面積を有意に増加させた。また、この作用は小腸下部 (回腸) でのみ認められる効果であることが明らかとなった。

Table 1 Food intake, body weight gain, small intestinal length, number of Peyer's patch and size of Peyer's patches in rats fed the control diet or a diet containing 8% wheat bran for 7d¹

	Control	8% WB
Initial body weight, g	95.4±3.6	94.6±2.9
Food intake, g/7d	94.8±2.4	92.6±0.9
Body weight gain, g/7d	51.0±0.6	51.5±2.8
Small intestinal length, cm	110.2±1.2	109.4±2.0
Peyer's patch number, n	14.7±0.3	14.0±1.7
Upper half		
Longitudinal length, mm	0.32±0.02	0.32±0.01
Horizontal length, mm	0.22±0.01	0.21±0.01
Longitudinal×horizontal length, mm ²	0.07±0.01	0.07±0.01
Lower half		
Longitudinal length, mm	0.40±0.03	0.45±0.02
Horizontal length, mm	0.23±0.01	0.32±0.01*
Longitudinal×horizontal length, mm ²	0.10±0.01	0.14±0.01*
Duodenum Peyer's patch		
Longitudinal length, mm	0.27±0.02	0.29±0.01
Horizontal length, mm	0.21±0.02	0.19±0.00
Longitudinal×horizontal length, mm ²	0.06±0.01	0.05±0.00
Mid-jejunum Peyer's patch		
Longitudinal length, mm	0.40±0.06	0.44±0.06
Horizontal length, mm	0.25±0.01	0.31±0.01
Longitudinal×horizontal length, mm ²	0.10±0.01	0.13±0.02
Mid-ileum Peyer's patch		
Longitudinal length, mm	0.36±0.03	0.31±0.01
Horizontal length, mm	0.23±0.01	0.25±0.03*
Longitudinal×horizontal length, mm ²	0.08±0.01	0.08±0.01
Terminal ileum Peyer's patch		
Longitudinal length, mm	0.41±0.19	0.52±0.08
Horizontal length, mm	0.20±0.06	0.40±0.01*
Longitudinal×horizontal length, mm ²	0.11±0.08	0.21±0.03

¹ Data are mean ± SE, n=6. * Different from the corresponding control, when analyzed by Student's t-test or Welch's t-test (P < 0.05).

(2) DF 摂取が小腸サイトカイン発現量に与える影響 (摂取期間に着目した解析)

析)
8%のWB飼料の摂取は、小腸の部位、摂取期間によらず、IL-17発現量を上昇させた。また、長期摂取時には短期摂取時には変化がなかったIFN-g応答も測定したすべての部位で上昇が観察された。したがって、食物繊維の摂取期間により免疫応答は異なると考えられた。

Table 2 Cytokine expression in the small intestinal mucosa in rats fed the control diet or a diet containing 8% wheat bran

	14d		56d	
	Control	8% WB	Control	8% WB
Jejunum				
<i>Ifng</i>	1.0±0.1	1.2±0.6	1.0±0.1	2.4±0.3*
<i>Il4</i>	1.0±0.1	1.1±0.4	1.0±0.2	1.0±0.2
<i>Il17</i>	1.0±0.2	4.7±0.9*	1.0±0.1	2.2±0.4*
<i>Il10</i>	1.0±0.2	1.1±0.2	1.0±0.3	1.9±0.4
<i>Il13</i>	1.0±0.1	0.9±0.3	1.0±0.2	2.3±0.5
<i>Tnf</i>	1.0±0.1	0.6±0.1*	1.0±0.1	0.9±0.1
<i>Tgfb1</i>	1.0±0.2	0.8±0.2	1.0±0.1	1.3±0.2
Ileum				
<i>Ifng</i>	1.0±0.1	1.0±0.2	1.0±0.2	1.6±0.3*
<i>Il4</i>	1.0±0.1	0.7±0.2	1.0±0.1	1.3±0.3
<i>Il17</i>	1.0±0.3	3.3±0.6*	1.0±0.3	1.6±0.1*
<i>Il10</i>	1.0±0.1	1.6±0.3*	1.0±0.1	1.1±0.1
<i>Il13</i>	1.0±0.3	0.6±0.1	1.0±0.2	0.7±0.1
<i>Tnf</i>	1.0±0.2	0.8±0.1	1.0±0.1	0.8±0.1
<i>Tgfb1</i>	1.0±0.3	0.8±0.1	1.0±0.1	0.9±0.2
Terminal ileum				
<i>Ifng</i>	1.0±0.1	1.1±0.4	1.0±0.2	2.3±0.5*
<i>Il4</i>	1.0±0.2	1.0±0.2	1.0±0.2	2.1±0.5
<i>Il17</i>	1.0±0.3	2.0±0.5*	1.0±0.2	3.0±1.3*
<i>Il10</i>	1.0±0.1	1.2±0.2	1.0±0.1	1.0±0.1
<i>Il13</i>	1.0±0.5	0.8±0.3	1.0±0.2	1.4±0.4
<i>Tnf</i>	1.0±0.4	0.3±0.1	1.0±0.3	1.9±0.2*
<i>Tgfb1</i>	1.0±0.2	1.0±0.2	1.0±0.2	1.1±0.1

(3) DF 摂取が小腸サイトカイン発現量に与える影響 (摂取する DF の種類に着目した解析)

(2) の結果を踏まえ、不溶性食物繊維である WB とは全く物理化学的性質が異なり水溶性食物繊維である GG を摂取させた際のサイトカインプロファイルを測定した。その結果、GG 飼料の摂取により IL-17 および IFN-g 発現量が上昇した。この特徴は WB 飼料と同様であった。一方、WB 飼料摂取時とは異なり、TNF-a 発現量の顕著な上昇が GG 摂取時に観察された。以上の結果から、IL-17 および IFN-g 発現量の上昇は、DF 摂取時

Table 3 Cytokine expression in the small intestinal mucosa in rats fed the control diet or a diet containing 4% Guar gum (GG) for 14 or 56d.

	14d		56d	
	Control	4% GG	Control	4% GG
Jejunum				
<i>Ifng</i>	1.0±0.1	2.3±0.7*	1.0±0.1a	6.3±2.0*
<i>Il4</i>	1.0±0.1	0.6±0.1	1.0±0.2	1.0±0.1
<i>Il17</i>	1.0±0.2a	8.7±3.1*	1.0±0.1a	5.3±2.0*
<i>Il10</i>	1.0±0.2	1.5±0.3	1.0±0.3	1.7±0.2
<i>Il13</i>	1.0±0.1	0.8±0.2	1.0±0.2	1.7±0.4
<i>Tnf</i>	1.0±0.1a	2.4±0.9*	1.0±0.1a	6.9±1.5*
<i>Tgfb1</i>	1.0±0.2	0.9±0.1	1.0±0.1	1.3±0.2
Ileum				
<i>Ifng</i>	1.0±0.1a	2.3±0.3*	1.0±0.2a	3.5±0.9*
<i>Il4</i>	1.0±0.1	0.6±0.2	1.0±0.1	0.9±0.3
<i>Il17</i>	1.0±0.3a	2.8±0.7*	1.0±0.3a	4.0±0.9*
<i>Il10</i>	1.0±0.1a	2.7±0.7*	1.0±0.1	1.4±0.1
<i>Il13</i>	1.0±0.3	1.0±0.2	1.0±0.2	0.9±0.2
<i>Tnf</i>	1.0±0.2a	3.0±1.0*	1.0±0.1a	3.6±0.5*
<i>Tgfb1</i>	1.0±0.3	0.6±0.2	1.0±0.1	1.2±0.1
Terminal ileum				
<i>Ifng</i>	1.0±0.1	1.3±0.6	1.0±0.2	3.3±0.7*
<i>Il4</i>	1.0±0.2	0.8±0.2	1.0±0.2	2.2±0.5
<i>Il17</i>	1.0±0.3	1.9±0.5*	1.0±0.2	8.7±1.7*
<i>Il10</i>	1.0±0.1	1.2±0.1	1.0±0.1	0.8±0.2
<i>Il13</i>	1.0±0.5	0.5±0.2	1.0±0.2	0.9±0.2
<i>Tnf</i>	1.0±0.4	0.7±0.3	1.0±0.3	3.8±0.7*
<i>Tgfb1</i>	1.0±0.2	1.0±0.2	1.0±0.2	1.8±0.2*

にその種類によらず共通して観察される減少であることが明らかとなった。一方、TNF-a 発現量の上昇は水溶性食物繊維である GG 摂取時のみ観察される減少であることから、今後、この違いがもたらす生理作用の違いについて検討する必要があると考える。

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 4 件)

Belobrajdic DP, Hino S., Kondo T, Jobling SA, Morel MK, Topping DL & Bird AR (2016). High wholegrain barley β -glucan lowers food intake but does not alter small intestinal macronutrient digestibility in ileorectostomised rats. International journal of food sciences and nutrition, 67(6), 678-685 (査読有)

Hirano K, Hino S., Oshima K, Nadano D, Urisu A, Takaiwa F, Matsuda T (2015). Evaluation of allergenic potential for rice seed protein components utilizing a rice proteome database and an allergen database in combination with IgE-binding of recombinant proteins, Bioscience, biotechnology, and biochemistry 80 (3), 564-573 (査読有)

Hino S., Ito S, Kondo T, Morita T (2015). Elemental diet induces the proliferation of sialomucin goblet cells in the rat duodenum and jejunum Bioscience, biotechnology, and biochemistry 79 (6), 992-996 (査読有)

Komura M, Fukuta T, Genda T, Hino S., Aoe S, Kawagishi H, Morita T (2014). A short-term ingestion of fructo-oligosaccharides increases immunoglobulin A and mucin concentrations in the rat cecum, but the effects are attenuated with the prolonged ingestion, Bioscience, biotechnology, and biochemistry 78 (9), 1592-1602 (査読有)

(学会発表)(計 8 件)

河合恵里佳, 田邊 宏基, 近藤位旨, 加藤一実, 石田高志, 日野真吾, 森田達也, ムチンは内因性食物繊維として宿主と腸内細菌との相利共生関係を支える, 日本食物繊維学会第 21 回学術集会, 2016 年 11 月 26 日, 静岡大学 (静岡県静岡市)

源田知美, 近藤位旨, 石塚敏, 鈴木卓弥, 松田幹, 日野真吾, 森田達也, フラクトオリゴ糖摂取時の盲腸 IgA 分泌応答と粘膜

炎症との関連性について，日本食物繊維学会第 21 回学術集会，2016 年 11 月 26 日，静岡大学（静岡県静岡市）

近藤位旨，稲葉一穂，源田知美，日野真吾，濱口徳寿，尾藤寛之，森田達也，難消化性デキストリン類の糞便性状および腸内容物移動速度におよぼす効果日本食物繊維学会第 21 回学術集会，2016 年 11 月 26 日，静岡大学（静岡県静岡市）

源田 知美，日野真吾，森田 達也，フラクトオリゴ糖の摂取初期に観察されるラット盲腸 IgA 分泌促進作用には腸管透過性の上昇と粘膜炎症が伴う，日本食品免疫学会第 12 回学術大会，2016 年 11 月 9 日，伊藤謝恩ホール（東京都文京区）

源田 知美，寺崎 史高，近藤 位旨，石塚敏，日野真吾，森田 達也，フラクトオリゴ糖摂取時の盲腸 IgA 分泌応答と粘膜炎症との関連性について，第 70 回 日本栄養・食糧学会，2016 年 5 月 14 日，武庫川女子大学 中央キャンパス（兵庫県西宮市）

日野 真吾，寺崎史高，森田達也，Pectin and Its Hydrolysates Stimulate Intestinal Mucin Secretion，第 12 回アジア栄養会議，2015 年 5 月 14 日，パシフィコ横浜（神奈川県横浜市）

源田知美，佐々木優太，日野真吾，園山慶，森田達也，Elevation of Cecal IgA Concentration by

Fructo-oligosaccharide Ingestion Is Associated with Immunological and Inflammatory Responses in Rats，第 12 回アジア栄養会議，2015 年 5 月 14 日，パシフィコ横浜（神奈川県横浜市）

源田知美，佐々木優太，日野真吾，園山慶，森田達也，フラクトオリゴ糖摂取によるラット盲腸 IgA 分泌促進作用には生理的炎症を伴う，日本食物繊維学会第 19 回学術集会，2014 年 11 月 28 日，かんでんぱぱガーデン（長野県伊那市）

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

http://www.agr.shizuoka.ac.jp/abc/morit_a_t/index.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

日野 真吾（HINO, Shingo）

静岡大学・農学部・助教

研究者番号：70547025