

## 第 75 回日本栄養・食糧学会中部支部大会 一般講演プログラム

### 演題①～④ 座長：森田 達也（静岡大学）

- 13:05 ①ペクチンによる食物アレルギー予防機構の解析  
○山下昇悟<sup>1</sup>，岩城佳那<sup>2</sup>，矢部富雄<sup>1,2,3,4</sup>，北口公司<sup>1,2,3</sup>  
(<sup>1</sup>岐阜大院・自然科学，<sup>2</sup>岐阜大院・応生，<sup>3</sup>岐阜大・応生，<sup>4</sup>G-CHAIN)
- 13:16 ②ペクチンの化学構造の差異が接触性皮膚炎に及ぼす影響の解析  
○藤吉美咲<sup>1</sup>，石其慧太<sup>2</sup>，後藤香穂<sup>1</sup>，山下昇悟<sup>3</sup>，矢部富雄<sup>1,2,3,4</sup>，北口公司<sup>1,2,3</sup>  
(<sup>1</sup>岐阜大・応用生物，<sup>2</sup>岐阜大院・連合農学，<sup>3</sup>岐阜大院・自然科技，<sup>4</sup>G-CHAIN)
- 13:27 ③OVA 感作マウスにおける高リン酸化カゼインホスホペプチドの免疫調節作用  
○鈴木湧太<sup>1</sup>，Lebetwa Ntshelisa<sup>2</sup>，三谷壘一<sup>1,3</sup>，中村宗一郎<sup>1,2</sup>，片山茂<sup>1,3</sup>  
(<sup>1</sup>信州大院・農，<sup>2</sup>信州大・総合工，<sup>3</sup>信州大・バイオ研)
- 13:38 ④腸管粘膜機能に対する乳酸菌発酵成分配合流動食の影響  
○唐木晋一郎<sup>1</sup>，糸久枝<sup>2</sup>，芦田欣也<sup>2</sup>，高橋毅<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>静岡県大・食品栄養，<sup>2</sup>明治・研究本部)

### 演題⑤～⑧ 座長：堀尾 文彦（名古屋大学）

- 13:49 ⑤フラボノイド類縁体のドッキングシミュレーションによるキサントキシダーゼ阻害活性メカニズムの解析  
○本田沙理<sup>1</sup>，池谷晋<sup>1</sup>，菅敏幸<sup>2</sup>，熊澤茂則<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>静岡県大・食品栄養，<sup>2</sup>静岡県大・薬)
- 14:00 ⑥ビタミンE再生を介した大腸水素による酸化ストレス軽減  
○石田陽亮<sup>1</sup>，日野真吾<sup>2</sup>，森田達也<sup>2</sup>，西村直道<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>静大院・総合科学技術，<sup>2</sup>静大・学術院)
- 14:11 ⑦難消化性オリゴ糖摂取による腸内細菌由来のビタミン産生増強効果がラットの葉酸欠乏の予防に及ぼす影響  
○田辺賢一<sup>1</sup>，佐藤あつ子<sup>1</sup>，中村禎子<sup>2</sup>，奥恒行<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>名古屋女子大・家政，<sup>2</sup>十文字学園女子大・食・栄養・健康研)
- 14:22 ⑧*Akkermancia muciniphila* を標的とした新規プレバイオティクスの探索  
○水嶋貴康<sup>1</sup>，宮田高明<sup>2</sup>，日野真吾<sup>3</sup>，森田達也<sup>3</sup>  
(<sup>1</sup>静大院・総合科学技術，<sup>2</sup>静大・農，<sup>3</sup>静大・学術院)

**演題⑨～⑫ 座長：長岡 利（岐阜大学）**

- 14:33 ⑨ムチン型糖タンパク質の摂取が大腸短鎖脂肪酸量および小腸ムチン糖鎖に及ぼす影響の解析  
○石川愛梨<sup>1</sup>，宮田高明<sup>2</sup>，日野真吾<sup>3</sup>，森田達也<sup>3</sup>  
(<sup>1</sup> 静大院・総合科学技術，<sup>2</sup> 静大・農，<sup>3</sup> 静大・学術院)
- 14:44 ⑩ラット脂肪組織の遺伝子発現に及ぼす胎児期低栄養の影響  
○金芳加，小池美帆，本間一江，合田敏尚  
(静岡県大院・薬食生命科学総合学府)
- 14:55 ⑪多分岐鎖を特徴とする $\alpha$ -グルカンの消化抵抗性と回腸グルコース供給剤としての可能性  
○小室嘉彦<sup>1</sup>，櫻井岳夫<sup>2</sup>，近藤位旨<sup>3</sup>，日野真吾<sup>4</sup>，森田達也<sup>4</sup>，西村直道<sup>4</sup>  
(<sup>1</sup> 静大院・総合科学技術，<sup>2</sup> 林原・研開本，<sup>3</sup> 静大・創造科学技術大学院，<sup>4</sup> 静大・学術院)
- 15:06 ⑫ビタミン B<sub>6</sub> 欠乏時の肝臓脂質蓄積に対するホスファチジルコリンによる改善について  
○濱本有莉子<sup>1</sup>，本間英基<sup>2</sup>，北川絵里奈<sup>3</sup>，島田昌也<sup>1,2</sup>，中川智行<sup>1,2</sup>，  
稲垣瑞穂<sup>1,2</sup>，早川享志<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup> 岐阜大院・自然科学技術研，<sup>2</sup> 岐阜大・応生，<sup>3</sup> 名古屋文理大・健康生活)

**演題⑬～⑯ 座長：合田 敏尚（静岡県立大学）**

- 15:17 ⑬ジオスゲニンの脂肪蓄積抑制効果における骨格筋の関与  
○笠原玲奈<sup>1</sup>，坂東春佳<sup>2</sup>，升井洋至<sup>3</sup>，柴田貴広<sup>4</sup>，内田浩二<sup>5</sup>，草野由理<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup> 中部大院・応用生物学，<sup>2</sup> 中部大・応生，<sup>3</sup> 武庫川女大・生活環境，<sup>4</sup> 名大院・生命農学，<sup>5</sup> 東大院・農学生命科学)
- 15:28 ⑭骨代謝改善が期待されるツバキ葉熱水抽出物の評価  
○佐藤はな<sup>1</sup>，東海芙美子<sup>2</sup>，繁森英幸<sup>3</sup>，西本壮吾<sup>4</sup>  
(<sup>1</sup> 石川県大院・食品，<sup>2</sup> 筑波大・生命環境，<sup>3</sup> 筑波大・生命環境，<sup>4</sup> 石川県大・生物資源環境)
- 15:39 ⑮プロポリス成分による褐色脂肪細胞化の誘導と脂肪組織温度の変化  
○西川翔<sup>1</sup>，青山広樹<sup>1</sup>，兵頭拓真<sup>1</sup>，神谷美沙<sup>1</sup>，宮田涼<sup>2</sup>，吉村一輝<sup>2</sup>，  
熊澤茂則<sup>2</sup>，津田孝範<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 中部大・応生，<sup>2</sup> 静岡県大・食品栄養)
- 15:50 ⑯NMR を用いた飲料成分のメタボロミクス解析  
○茅野有希歌<sup>1</sup>，倉田卓磨<sup>1</sup>，本田沙理<sup>1</sup>，松原康隆<sup>2</sup>，土屋育未<sup>2</sup>，熊澤茂則<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 静岡県大院・食品栄養，<sup>2</sup> 物産フードマテリアル・生産・開発部)

## 演題①\*

### ペクチンによる食物アレルギー予防機構の解析

○山下昇悟<sup>1</sup>, 岩城佳那<sup>2</sup>, 矢部富雄<sup>1,2,3,4</sup>, 北口公司<sup>1,2,3</sup>

(<sup>1</sup>岐阜大院・自然科学, <sup>2</sup>岐阜大院・応生, <sup>3</sup>岐阜大・応生, <sup>4</sup>G-CHAIN)

**【背景】**食物アレルギーの発症には、食物抗原特異的な IgE 抗体価の増加や、粘膜上皮からのサイトカイン産生、腸管局所へのマスト細胞の浸潤など様々な要因が関与している。近年、食物繊維がプレバイオティクス作用を介して抗アレルギー効果を示すことが報告されているが、その詳細な作用機序は未だ不明である。とりわけ、水溶性食物繊維の一種であるペクチンは、小腸絨毛の形態変化を引き起こすほか、パイエル板の抗原提示細胞に直接認識される可能性が示唆されていることから、新規な食物アレルギー調節効果を示す可能性が考えられた。そこで本研究では、ペクチンが食物アレルギー病態に及ぼす影響を調査し、その作用機序を明らかにすることを目的とした。

**【方法】**5~20%シトラスペクチン(CP)含有飼料を給餌した Balb/c マウスを卵白オボアルブミン(OVA)で感作した後、OVA を複数回経口投与することでアレルギー性の下痢を誘導した。誘導後のマウスから脾臓、腸間膜リンパ節(MLN)、空腸、回腸、血液を採取した。各組織から mRNA を抽出し、Th2 細胞分化のマスター転写因子 GATA-3、IgE へのクラススイッチに関与する IL-4、粘膜マスト細胞のマーカである MCP-1 の mRNA 発現量を qPCR 法により測定した。また、血中の OVA 特異的な IgE、IgG<sub>1</sub> 抗体価を ELISA 法により測定した。さらに、小腸の TSLP 産生量を ELISA 法により測定した。

**【結果, 考察】**CP 摂取群において下痢症状が緩和され、空腸における MCP-1 の mRNA 発現量が有意に低下した。さらに、CP 摂取群の血中 OVA 特異的 IgE、IgG<sub>1</sub> 抗体価の上昇が有意に抑制された。また、CP 摂取群の脾臓における GATA-3 と IL-4 の mRNA 発現量は Control 群と同程度であったが、MLN における GATA-3 と IL-4 の mRNA 発現量は有意に低下していた。さらに、小腸における TSLP 産生量も、CP 摂取群で有意に低下していた。以上の結果から、CP は小腸上皮細胞もしくは腸管免疫細胞に作用し、食物アレルギーの発症を予防している可能性が示唆された。

## 演題②

### ペクチンの化学構造の差異が接触性皮膚炎に及ぼす影響の解析

○藤吉美咲<sup>1</sup>, 石其慧太<sup>2</sup>, 後藤香穂<sup>1</sup>, 山下昇悟<sup>3</sup>, 矢部富雄<sup>1,2,3,4</sup>, 北口公司<sup>1,2,3</sup>

(<sup>1</sup>岐阜大・応用生物, <sup>2</sup>岐阜大院・連合農学, <sup>3</sup>岐阜大院・自然科技, <sup>4</sup>G-CHAIN)

#### 【背景】

食物繊維を摂取することでアレルギー疾患を予防できる可能性が示唆されている。これまでに我々は、水溶性食物繊維の一種であるペクチンを摂取することで、遅延型過敏症である接触性皮膚炎の症状を抑制できることを報告してきた。ペクチンが腸内で資化された結果生じる短鎖脂肪酸が血中に移行することで、皮膚炎患部の炎症を抑制している可能性が考えられたが、ペクチンの接触性皮膚炎抑制メカニズムは不明である。ペクチンは、植物の細胞壁や中葉に含まれる複合多糖類であり、ポリガラクトuron酸の主鎖に様々な中性糖からなる側鎖が付加している。ペクチンの分子量や側鎖構造は、由来とする植物種により異なることが知られており、短鎖脂肪酸の産生量も変化することが報告されている。そこで、本研究では、化学構造の異なる2種類のペクチンをマウスに給餌し、接触性皮膚炎の病態と盲腸内の短鎖脂肪酸の産生に及ぼす影響を調査した。

#### 【方法】

CP ケルコ社から提供されたシトラスペクチンとオレンジペクチンを実験に供した。ペクチンの全糖量とウロン酸含量は、それぞれフェノール硫酸法とカルバゾール硫酸法により測定した。さらに、それぞれのペクチンの重量平均分子量を、ゲル濾過クロマトグラフィーにより測定した。

7週齢の雄性 C57BL/6 マウスに、対照飼料(AIN-93G), 5%シトラスペクチン含有飼料および5%オレンジペクチン含有飼料を給餌した。給餌開始7日後に0.5%のジニトロフルオロベンゼン(DNFB)溶液を除毛した腹部に塗布することで感作を行った。感作から5日後に0.3%DNFB溶液を左耳に塗布して接触性皮膚炎を耳介に惹起した。DNFB塗布24時間後の耳介の厚さを測定した後、盲腸内容物を採取し、短鎖脂肪酸量をHPLCにより測定した。

#### 【結果・考察】

オレンジペクチンは、中性糖の割合がシトラスペクチンに比べて約3.5倍高く、側鎖を多く含んでいることが示唆された。オレンジペクチン含有飼料摂取群では、DNFB塗布により惹起された耳介の腫れが有意に抑制されたが、シトラスペクチン含有飼料摂取群では、耳介の腫れは対照飼料摂取群と同程度であった。また、オレンジペクチン含有飼料摂取群では盲腸内容物中の短鎖脂肪酸量が有意に増加し、とりわけ酢酸の増加が顕著であった。以上の結果より、ペクチンの接触性皮膚炎抑制効果は、短鎖脂肪酸を介している可能性が示唆された。

### 演題③\*

## OVA 感作マウスにおける高リン酸化カゼインホスホペプチドの免疫調節作用

○鈴木湧太<sup>1</sup>, Lebetwa Ntshelisa<sup>2</sup>, 三谷壘一<sup>1,3</sup>, 中村宗一郎<sup>1,2</sup>, 片山茂<sup>1,3</sup>

(<sup>1</sup>信州大院・農, <sup>2</sup>信州大・総合工, <sup>3</sup>信州大・バイオ研)

**【目的】**カゼインホスホペプチド (CPP) は牛乳主要タンパク質のカゼインから酵素分解により得られる。CPP の機能性については、カルシウム吸収促進作用や免疫促進作用などが報告されてきた。本研究室ではこれまでに、ノロウイルスの代替ウイルスであるネコカリシウイルスを用いて、CPP の抗ウイルス作用を明らかにしてきた。その際、抗ウイルス性サイトカインの産生促進作用が CPP のリン酸化度に依存することを見出した。そこで本研究では、OVA 感作マウスを用いて、リン酸化度の異なる CPP のアレルギー症状軽減効果について検討した。

**【方法】**CPP (明治フードマテリア) を 0.1 M ピロリン酸溶液 (pH 4.0) に溶解後、凍結乾燥した粉末を 85°C で 5 日間乾燥加熱することで、高リン酸化 CPP (H-CPP) を得た。脱リン酸化 CPP (D-CPP) はアルカリホスファターゼを用いて調製した。抗アレルギー作用の評価は、OVA 感作した BALB/c マウス (6 週齢, 雌性) をコントロール群, CPP, H-CPP および D-CPP 摂取群の 4 群に分けて実施した。コントロール群には通常飼料, 各種 CPP 摂取群には 0.05% の混餌飼料を 6 週間自由摂取させた。最終日に抗原チャレンジ試験を行い、アレルギースコアおよび体温変化を測定した。血清中の抗体価は ELISA 法により測定した。脾臓および腸管パイエル板における制御性 T 細胞 (Treg, CD4CD25Foxp3 陽性) の割合をフローサイトメトリーにより測定した。

**【結果】**CPP のリン酸基含量は 9.8 µg/ml であったのに対して、リン酸化処理した H-CPP では 18.8 µg/ml, 脱リン酸化した D-CPP では検量線の検出限界以下となった。抗原チャレンジ試験の結果、コントロール群マウスの体温は抗原摂取により顕著に低下したのに対して、CPP, H-CPP 摂取群のマウスでは体温の低下は一切認められなかった。一方、D-CPP 摂取群では、コントロール群と同様の体温低下が認められた。CPP, H-CPP 摂取群のアレルギースコアはコントロール群よりも低く、D-CPP 摂取群ではコントロール群と同程度であった。血清中 IgE 濃度においても上記と同様の傾向が示された。Th2 型抗体である IgG1 濃度は CPP, H-CPP 摂取群でコントロール群よりも低く、特に H-CPP において顕著な低下が認められた。一方、Th1 型抗体である IgG2a 濃度は CPP および H-CPP 摂取群で増加し、D-CPP 摂取群はコントロール群と同程度であった。次に、免疫寛容を司る Treg の割合を測定した結果、H-CPP 摂取群では、脾臓とパイエル板細胞の両方において顕著に増加することが示された。以上の結果より、OVA 感作マウスにおいて、高リン酸化 CPP は Treg 分化促進を介して免疫寛容を誘導し、アレルギー症状を軽減することが示された。

#### 演題④

### 腸管粘膜機能に対する乳酸菌発酵成分配合流動食の影響

○唐木晋一郎<sup>1</sup>, 桑久枝<sup>2</sup>, 芦田欣也<sup>2</sup>, 高橋毅<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>静岡県大・食品栄養, <sup>2</sup>明治・研究本部)

**【目的】** 乳酸菌発酵成分配合流動食 (LB 流動食) のビフィズス菌増殖促進作用などにより腸内環境を改善することで、経腸栄養に際してしばしば問題となる下痢の発症を防止することが期待されている。本研究では、LB 流動食、一般流動食および通常飼料で飼育したラットの腸管粘膜上皮の水分泌能を比較することで、LB 流動食の下痢防止作用の機序に関する検討を行った。

**【方法】** 雄性 SD ラット 18 匹を 3 群に分け、粉末化した LB 流動食 (YH フローレ)、一般流動食 (メイバランス)、通常齧歯類用飼料 (CRF-1) によって 16-18 日間、自由摂食・自由飲水で飼育後、消化管を摘出した。盲腸内容物中の有機酸量を測定し、菌叢解析を行った。さらに、回腸終末部、盲腸、近位結腸、遠位結腸および直腸の粘膜-粘膜下組織標本を作製し、Ussing chamber に装着した。水分泌・吸収の指標となる起電性イオン輸送を短絡電流 (Isc) として記録し、電気刺激 (EFS)、管腔側プロピオン酸刺激、血管側カルバコール (CCh) を行い、Isc の変化量 ( $\Delta$ Isc) を各食餌群間で比較した。

**【結果・考察】** 盲腸内容物中の有機酸濃度は一般流動食群で約 58%有意に減少していたが、LB 流動食群では約 79%まで回復しており、これには主に酢酸と酪酸濃度の回復が貢献していた。菌叢解析の結果、盲腸内容物中の総細菌量は一般流動食群 (108%) も LB 流動食群 (110%) も、通常飼料群よりも有意に増加していたが、一般流動食群ではビフィズス菌の増加はみられず、LB 流動食群では顕著な増加がみられた。Ussing chamber 試験では、一般流動食群では、通常飼料群に比べ、回腸終末部におけるプロピオン酸刺激による  $\Delta$ Isc が有意に増大しており、流動食によって内容物による粘膜刺激の過敏応答が下痢の発症原因の一つであることが示唆された。一方、LB 流動食群ではこれが有意に改善し、盲腸では、通常飼料群に比べてもプロピオン酸刺激による反応性が抑制されていた。また、腸管神経系を刺激して水分泌の亢進を惹起する EFS に対する反応性は、LB 流動食群では有意に抑制されていたが、上皮細胞を直接刺激して分泌を惹起する CCh では群間に差が無かったことから、LB 流動食は腸管神経系の機能を変化させて水分泌の過敏な応答を抑制していることが示唆された。

**【結論】** LB 流動食は回腸終末部や盲腸において、腸管神経系の機能を調節することで腸管内容物の粘膜刺激による過剰な水分泌を抑え、下痢の防止に作用していることが示唆された。

## 演題⑤

### フラボノイド類縁体のドッキングシミュレーションによる キサンチンオキシダーゼ阻害活性メカニズムの解析

○本田沙理<sup>1</sup>, 池谷晋<sup>1</sup>, 菅 敏幸<sup>2</sup>, 熊澤 茂則<sup>1</sup>

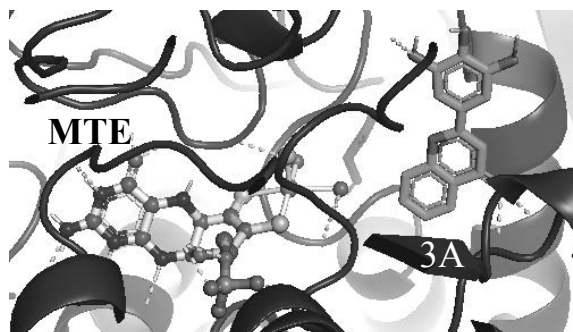
(<sup>1</sup>静岡県大・食品栄養, <sup>2</sup>静岡県大・薬)

#### 【目的】

フラボノイドは植物由来の機能性成分であり、いくつかの化合物は尿酸生成酵素：キサンチンオキシダーゼ（XO）に対する高い阻害活性を持つことが知られている。本研究では自然由来のフラボノイドには見られない A 環上に置換基が存在しない合成フラボノイド 4'-hydroxy flavone (1A), 3',4'-dihydroxy flavone (2A), 3',4',5'-trihydroxy flavone (3A), 4'-hydroxy flavonol (1B), 3',4'-dihydroxy flavonol (2B), 3',4',5'-trihydroxy flavonol (3B) 6 種を用いて XO 阻害活性を測定し、構造活性相関を検討した。また、特に強力な活性が見られたものについて、その活性発現メカニズムをドッキングシミュレーションにより推察した。

#### 【方法と結果】

XO 阻害活性は、基質のキサンチンから生成される尿酸を HPLC 法によって定量し、阻害率を算出した。200  $\mu\text{M}$  において、1A と 1B はほとんど阻害活性を示さなかったのに対し、2A, 3A, 2B, 3B はそれぞれ 78%, 76%, 71%, 67% と 50% 以上の阻害率を示した。これら 4 種の化合物について  $\text{IC}_{50}$  を求めたところ、2A, 2B, 3B がそれぞれ 63.6  $\mu\text{M}$ , 88.8  $\mu\text{M}$ , 63.1  $\mu\text{M}$  であり、3A は 8.6  $\mu\text{M}$  と最も強力な活性を示した。3A について XO に対する阻害様式の検討を行ったところ、複合型阻害であると考えられた。ドッキングシミュレーションの結果、3A は基質のキサンチンが尿酸へと酸化される部位であるモリブドプテリン補因子 (MTE) において最も安定であり、さらに、キサンチンよりもエネルギー的に安定に結合することがわかった。詳細な解析により、3A は MTE の周辺のアミノ酸のうち Val1011, Thr1010, Asn768 の 3 つのアミノ酸と水素結合し、Arg880, Phe1009, Ala1079, Phe914, Ser879, Leu1014, Glu802, Leu873, Lys771, Pro1076, Leu648, Thr803 の 12 個のアミノ酸と疎水性相互作用を示すと推察された。



XO の MTE 付近に結合する 3A の分子モデル

## ビタミンE再生を介した大腸水素による酸化ストレス軽減

○石田陽亮<sup>1</sup>, 日野真吾<sup>2</sup>, 森田達也<sup>2</sup>, 西村直道<sup>2</sup>( <sup>1</sup> 静大院・総合科学技術, <sup>2</sup> 静大・大学院)

【目的】大腸発酵で発生する分子状水素 (H<sub>2</sub>)は、ヒドロキシルラジカル (HR)の選択的消去により酸化ストレスを軽減することが *in vitro* で報告されているが、生体位でも同機序に依存するかは不明のままである。HR と H<sub>2</sub> の標準酸化還元電位差は 2760 mV であり、このような大きな電位差間での直接的な電子供与は膨大な自由エネルギー産生を伴うため、生体位では考えにくい。そこで我々は、生体内で H<sub>2</sub> が比較的酸化還元電位の低い  $\alpha$ -トコフェロール ( $\alpha$ -Toc)ラジカルに電子供与することで酸化ストレスを軽減するという仮説を立て、生体位における大腸 H<sub>2</sub> による HR の直接消去の可能性を調べた後、その H<sub>2</sub> が  $\alpha$ -Toc 再生を介して酸化ストレスを軽減するか検討した。

【方法】**実験 1:** ラットに对照食を給餌し、水もしくは 4%フラクトオリゴ糖 (FOS)溶液を 7 日間与えた。試験最終日にホロンによりグルタチオン欠乏を誘導した後、門脈血と肝臓を採取し、門脈 H<sub>2</sub> 濃度と肝 m-チロシン濃度を測定した。**実験 2, 3:** AsA 合成不能ラットに对照食を給餌し、高 AsA 溶液 (HC), 低 AsA 溶液 (LC), もしくは LC+4% FOS 溶液 (LCF)を 14 日間与えた。実験 2 では、試験最終日に門脈血と腹腔内外の各組織を採取し、H<sub>2</sub> 濃度と  $\alpha$ -Toc 濃度を測定した。実験 3 では、試験最終日に門脈血と脂肪組織を採取し、H<sub>2</sub>,  $\alpha$ -Toc, グルタチオン濃度, およびグルタチオンレダクターゼ (GR) 活性を測定した。

【結果および考察】**実験 1:** 門脈 H<sub>2</sub> 濃度は对照食群に比べ FOS 食群で有意に高かったが、肝 m-チロシン濃度に差はなかった。これはグルタチオン欠乏で発生した HR によるフェニルアラニンからの m-チロシン生成を大腸 H<sub>2</sub> が抑制できないことを示唆している。**実験 2:** LCF 群の門脈 H<sub>2</sub> 濃度は LC 群の 1.3 倍であり、FOS による大腸 H<sub>2</sub> 生成促進が認められた。脂肪組織の  $\alpha$ -Toc 濃度のみ、LC 群より LCF 群で高い傾向だった。これらの結果より、脂肪組織で非極性の H<sub>2</sub> が  $\alpha$ -Toc 再生を促進することが示唆された。**実験 3:** LCF 群の脂肪組織中 H<sub>2</sub> 濃度は LC 群の 4.4 倍だった。実験 2 と同様に脂肪組織中の  $\alpha$ -Toc 濃度は HC 群に比べ LC 群で低下したが、FOS 摂取により改善した。この改善に伴い、LC 群のグルタチオン還元型/酸化型比の低下も FOS 摂取で改善し、GR 活性は LC 群に比べ LCF 群で低値を示した。これは FOS 由来の H<sub>2</sub> によりレドックスバランスが還元方向にシフトしたことを示唆している。以上より、生体位で大腸 H<sub>2</sub> は、HR 消去ではなくビタミン E 再生を促すことで酸化ストレスを軽減すると考えられる。



## 演題⑦

### 難消化性オリゴ糖摂取による腸内細菌由来のビタミン産生増強効果が ラットの葉酸欠乏の予防に及ぼす影響

○田辺賢一<sup>1</sup>，佐藤あつ子<sup>1</sup>，中村禎子<sup>2</sup>，奥 恒行<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>名古屋女子大・家政，<sup>2</sup>十文字学園女子大・食・栄養・健康研)

**【目的】**近年，腸内細菌が産生する代謝産物に注目が集まっているが，腸内細菌が産生するビタミンの生理作用については，ほとんど研究がなされていない。我々は，先行研究で難消化性オリゴ糖を継続的に摂取させると盲腸内容物中の葉酸，ビタミン B<sub>6</sub> およびビタミン B<sub>12</sub> が有意に増加することを明らかにした。また，盲腸における水溶性ビタミン吸収トランスポーターの遺伝子発現量が増加することも明らかにしている。本研究では，腸内細菌が顕著に産生量を増加させていた葉酸に焦点をあて，難消化性オリゴ糖の継続摂取による腸内細菌叢の改善が，腸内細菌の葉酸の産生能を亢進させ，ラットの葉酸欠乏症を予防できるか否か評価した。

**【方法】**本研究では，AIN-93G 精製飼料組成の飼料をコントロール飼料とし，フラクトオリゴ糖(FOS)含有飼料は，コントロール飼料のスクロース 5%分を FOS で置換した。さらに，葉酸無添加コントロール飼料ならびに FOS 含有葉酸無添加飼料を調製した。Wistar 系雄性ラット(4 週齢，体重 80 g)を 1 週間，予備飼育後，1 群 6 匹とし，コントロール飼料群(CONT 群)，FOS 含有飼料群(FOS 群)，葉酸無添加飼料群(NFA 群)ならびに FOS 含有葉酸無添加飼料群(NFA+FOS 群)の 4 群に割り付けた。飼料は，軽い制限給餌で 4 週間飼育した後，屠殺した。血中の葉酸濃度の経時的な変化を観察するため，飼育開始時，飼育開始後 2 週間ならびに屠殺時(飼育 4 週間後)の計 3 回の血液を採取した。肝臓と盲腸内容物は，屠殺時に採取した。肝臓および血液中の葉酸量はキットを用いて測定した。また，盲腸内容物中の葉酸は，HPLC で測定した。

**【結果】**血中の葉酸濃度は，飼育開始時と比較して，飼料摂取 2 週間後ならびに屠殺時の 4 週間後において NFA+FOS 群ならびに NFA 群の両群で経時的に減少し，NFA+FOS 群と NFA 群の間には，減少した程度に有意な差異は観察されなかった。屠殺時の肝臓中の葉酸含有量に関しても，NFA+FOS 群と NFA 群のいずれも同程度で，有意な差異は観察されなかった。先行研究の結果より，FOS 摂取によって腸内細菌由来の葉酸産生量が増加することから，血中葉酸濃度ならびに肝臓への葉酸蓄積量に差異が観察されると想定していたが，ほとんど変わらなかった。この結果より，FOS 摂取によって腸内細菌由来の葉酸産生量は増加するが，腸内細菌が産生する葉酸量では，完全に葉酸を欠乏させた場合，不足を補えないことが示唆された。しかしながら，FOS 群(葉酸添加飼料)では，CONT 群(葉酸添加飼料)と比較して肝臓中の葉酸含有量が有意に増加しており，FOS の継続摂取によって体内の葉酸蓄積量が増加することが明らかになった。

## 演題⑧\*

### *Akkermancia muciniphila* を標的とした新規プレバイオティクスの探索

○水嶋貴康<sup>1</sup>, 宮田高明<sup>2</sup>, 日野真吾<sup>3</sup>, 森田達也<sup>3</sup>

(<sup>1</sup> 静大・総合科学技術, <sup>2</sup> 静大・農, <sup>3</sup> 静大・大学院)

**【目的】** *A. muciniphila* (*Am*)は、ムチンを唯一の炭素・窒素源としたとき生育可能な菌として、2004年にヒト糞便から分離された新菌種で、肥満や炎症性腸疾患および糖尿病患者の腸内細菌叢では、その占有率が極度に低下することから病態との関連が注目されている。偏性嫌気性菌である *Am* は、GlcNAc やスレオニンに必須性を示すためプレバイオティクスの開発は困難である。一方、ムチン糖鎖末端にはフコース、シアル酸または硫酸化糖が付与されており、ムチン分解の律速は硫酸基の除去にあるが、エイムチン(EM)は硫酸化糖の糖鎖末端キャッピング比率が他のムチン種に比べて高い。このムチン糖鎖に対応するグリコシダーゼとサルファターゼを同時に有する菌種は、事実上 *Am* と *B. thetaiotaomicron* (*Bt*)に限定される。本試験では、キャッピング比率が高いEMの摂取が、生体位において *Am* を特異的に誘導すると考え、これを検証した。**【方法】** 7週齢のWistar系雄ラットに精製飼料(対照飼料),あるいは1.5%EMまたは1.5%ブタ胃粘膜ムチン(PM)を添加した飼料を14日間与えた。10-12日目に新鮮便を採取しムチン分解活性を測定した。試験終了後、盲腸粘膜のムチンおよび密着結合(TJ)関連遺伝子の発現量を測定した。盲腸内容物では、短鎖脂肪酸(SCFA)およびムチン量(O-結合性糖鎖当量)を、またDNAを抽出しPCRにより *Am*, *Bt* および総菌数を測定した。さらに16S ribosomal RNA 遺伝子解析(MiSeq)により腸内細菌叢の遷移を観察した。**【結果・考察】** EMをムチン基質としたときラット糞便のムチン分解活性は、EM群でのみ強力に誘導され対照およびPM群に比べ有意に上昇した。PMおよびEM群の腸内細菌叢は、 $\alpha$ -多様性では対照と差がなかったが、門レベルではPM群でFirmicutes, EM群ではVercomicrobiaの占有率が上昇し、菌種構成比を加味した $\beta$ -多様性では群間に有意な差が認められた。また種レベルにおいてEM群の *Am* 占有率は30%を超え、PMおよび対照群に比べ有意に高い値を示した。EM群の *Am* 増殖作用は、PCRによる菌数測定でも確認された。一方、*Bt* 数は、対照群に比べEM, PM群ともに増加傾向を示すにとどまった。盲腸内容物の総SCFA量はEMとPM群で対照群に比べ有意に上昇したが、PM群では酪酸, EM群ではプロピオン酸の上昇が顕著であった。盲腸内容物のムチン量は、対照とPM群で差がなくEM群でのみ有意に高い値を示した。EMはPMに比べ腸内細菌による資化性が低いと考えられる。また、EM摂取による *Am* の増殖は、盲腸粘膜のムチンおよびTJ関連遺伝子の発現に何ら影響を与えなかった。以上、EM摂取は盲腸において効果的にSCFA量を高めると同時に、*Am* を特異的に誘導する新奇なプレバイオティクスである可能性が示された。

## ムチン型糖タンパク質の摂取が大腸での短鎖脂肪酸量 および小腸ムチン糖鎖に及ぼす影響の解析

○石川愛梨<sup>1</sup>, 宮田高明<sup>2</sup>, 日野真吾<sup>3</sup>, 森田達也<sup>3</sup>

(<sup>1</sup> 静大院・総合科学技術, <sup>2</sup> 静大・農, <sup>3</sup> 静大・学術院)

【目的】ムチンは腸上皮組織を保護する非特異的バリアとして機能する一方で、40兆個の腸内細菌と宿主との共生因子でもある。豚胃粘膜ムチン (PM) を摂取したラットでは、盲腸の短鎖脂肪酸 (SCFA) 濃度が上昇し、特に酪酸の上昇が顕著である。本試験では、PM の糖鎖構成に着目し酪酸濃度を高めるムチン構成糖を特定することを主目的に、発酵代謝経路が異なると推定される GlcNAc, フコース (Fuc), またはアセチルシアル酸 (NeuAc) をラットに摂取させた。また、ブタ顎下腺由来のムチンを摂取したヒトの小腸上皮には、本来ヒトでは発現していないグリコリルシアル酸 (NeuGc) が検出されたとする報告がある。ラットにおいてもムチン構成糖の摂取が小腸杯細胞およびムチン糖鎖に反映される可能性があると考え、これを検証した。【方法】Wistar 系雄ラットに対照飼料または GlcNAc, Fuc, NeuAc をそれぞれ 1% 添加した飼料を 2 週間与えた。試験終了後、小腸および盲腸内容物を回収してムチン画分を調製し O-結合性糖鎖当量を測定した。盲腸内容物の一部は有機酸測定および菌叢解析に用いた。小腸ムチン糖鎖については、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 含量の測定、シアル酸分子種および構成糖の測定を行った。また、回腸組織を採取し HID-AB 染色により杯細胞を観察し、回腸粘膜組織から RNA 抽出後、RT-PCR によりムチン (*Muc2*, *Muc3*) およびムチン糖鎖関連遺伝子 (sialyltransferase, *Siat4c*; sulfotransferase, *Gal3ST4*) の発現量を測定した。【結果】解剖時の盲腸内容物重量は対照に比べ単糖添加群で高く、内容物 pH は単糖添加群で低かった。盲腸内容物 SCFA 濃度では、GlcNAc は酪酸、Fuc はプロピオン酸、NeuAc は酢酸を特異的に増加させた。このときの盲腸内容物 16S rRNA 解析の結果から、相対占有率が上位の 20 菌種を対象に SCFA 生成量との相関をネットワーク解析したところ、Fuc 群ではプロパンジオール経路でプロピオン酸を生成する *Blautia* 属が一様に増加しており、NeuAc 群では *Hungatella hathewayi* と *Roseburia faecis* が有意な増加を示したが、前者は酢酸産生菌であり、後者は酢酸資化菌であった。一方、酪酸濃度の上昇が顕著な GlcNAc 群では、acetyl CoA-butryl CoA transferase 経路で酪酸を産生する *Roseburia faecis*, *Eubacterium tortuosum* の有意な増加が認められた。また、単糖添加群の杯細胞染色像では、対照群に比べシアロムチン/サルホムチン陽性細胞比の有意な増加が観察され、この結果は回腸粘膜の *Gal3ST4* 発現量の有意な低下と一致していた。NeuAc 群の小腸ムチン糖鎖では NeuAc/NeuGc 比の増加傾向が認められた。以上、ムチン摂取による盲腸酪酸濃度の上昇には GlcNAc の代謝が関与すること、さらに摂取したムチン構成糖の一部は小腸で吸収され、ムチン糖鎖を直接修飾することが明らかになった。

## ラット脂肪組織の遺伝子発現に及ぼす胎児期低栄養の影響

○金芳加, 小池美帆, 本間一江, 合田敏尚  
(静岡県大院・薬食生命科学総合学府)

**【目的】**胎生期から発達期の栄養状態は、成長後の生活習慣病の発症リスクに関与しているという知見が蓄積されてきた。動物モデルにおいて、胎児期の栄養制限は、インスリン分泌の低下や脂肪組織重量の減少をもたらすが低いことが報告されている。脂肪細胞は中胚葉性多機能幹細胞が前駆脂肪細胞へ増殖する過程を経て、成熟脂肪細胞へと分化が進む。遺伝的にインスリン分泌が低く、また、脂肪を蓄積しにくい形質を持つ非肥満型2型糖尿病モデルである GK ラットにおいては、胎児期栄養制限による脂肪細胞の分化への影響がある可能性が考えられた。そこで本研究では、Wistar 系および GK ラットを用い、胎生後期における母親の 50%エネルギー制限による低栄養状態が、発達期の仔獣における脂肪細胞において、その分化に関わる転写因子の遺伝子発現にどのような影響を及ぼすかを検討した。

**【方法】**妊娠した Wistar 系ラットおよび GK ラットを搬入し、妊娠 10 日目にそれぞれ 2 群に分け、対照群には AIN-97G 固形飼料を自由摂取させ、胎児期栄養制限群には対照群の 50%量の摂食量となるよう出生まで食餌制限を行った。産仔は、生後 27 日齢に完全離乳させ、その後は AIN-97G 固形飼料を自由摂食させた。Wistar 系ラットは生後 13, 20, 27, 42 日齢で、GK ラットは 42 日齢で屠殺して腸間膜脂肪組織を採取した。脂肪組織における mRNA 発現量をリアルタイム RT-PCR 法によって測定した。

**【結果および考察】**胎生後期における母親の 50%エネルギー制限により、Wistar 系ラットの場合体重が有意に低下し、Wistar 系ラットと GK ラットのいずれも、腸間膜脂肪組織重量が減少した。Wistar 系ラットの胎児期栄養制限群では、離乳前の 13 または 20 日齢において、腸間膜脂肪組織における脂肪細胞の分化・合成に必要な転写因子である AP-1, KLF4, KLF5, KLF15, C/EBP $\alpha$ , C/EBP $\beta$ , C/EBP $\delta$ , C/EBP $\gamma$ , PPAR $\gamma$ 1, PPAR $\gamma$ 2, SREBP1, ChREBP の mRNA 発現量は有意に低かった。また、Wistar 系ラットの胎児期栄養制限群では、離乳後の 42 日齢において、対照群と比較して、KLF15, PPAR $\gamma$ 2, Thrsp, ME の mRNA 発現量は有意に低値であった。GK ラットでは、胎児期栄養制限により、42 日齢における腸間膜脂肪組織の AP-1, KLF5, KLF6, KLF15, C/EBP $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$ ,  $\gamma$ , SREBP1, Thrsp, GR, ACC $\beta$ , DGAT2, HSL, LPL の mRNA 発現量は有意に低値であった。

以上の結果より、胎児期の低栄養は、脂肪細胞の分化に関わる転写因子の発現を抑制し、特に GK ラットにおいては、離乳後の腸間膜脂肪組織における脂肪合成の著しい抑制をもたらすことが示唆された。

## 演題⑪

### 多分岐鎖を特徴とする $\alpha$ -グルカンの消化抵抗性と 回腸グルコース供給剤としての可能性

○小室嘉彦<sup>1</sup>, 櫻井岳夫<sup>2</sup>, 近藤位旨<sup>3</sup>, 日野真吾<sup>4</sup>, 森田達也<sup>4</sup>, 西村直道<sup>4</sup>

(<sup>1</sup> 静大院・総合科学技術, <sup>2</sup> 林原・研開本, <sup>3</sup> 静大・創造科学技術大学院, <sup>4</sup> 静大・学術院)

【目的】消化吸収の遅い炭水化物は回腸まで消化吸収が及び、ゆるやかな血糖上昇やインスリン分泌の節約を引き起こす。 $\alpha$ -グルカンを構成する結合は主に  $\alpha$ -1,3, 1,4, 1,6,グリコシド結合であるが、 $\alpha$ -1,3 および  $\alpha$ -1,6 グリコシド結合の存在は小腸における消化速度を遅延させる。我々は、以前に上記結合を多数有するイソマルトデキストリン (IMD) を与えた盲腸切除ラットで門脈血 GLP-1 濃度が上昇することを示した。これは、このような  $\alpha$ -グルカンの消化は遅延し、回腸にグルコースをもたらすことを示唆している。回腸へのグルコース供給は粘膜を肥厚させバリア機能を強めることから、本研究では IMD を用い、多分岐  $\alpha$ -グルカンの消化率、グルコース吸収速度および回腸粘膜に対する作用を調べ、本  $\alpha$ -グルカンの回腸グルコース供給剤としての可能性を検証した。

【方法】**実験 1-1**：ラット小腸刷子縁膜小胞 (BBMV) と膵  $\alpha$ -アミラーゼを用い、IMD の人工小腸消化率を解析した。**実験 1-2**：0.1 %ネオマイシン硫酸塩 (NE) を飲水投与した回-直腸吻合ラットにコントロール (C)食, 3% IMD 食, 3% イソマルトオリゴ糖 (IMO) 食を 10 日間与えた。試験最終 3 日間に回収した糞中の難消化性糖質画分量を測定し、IMD と IMO の生体位における小腸消化率を算出した。**実験 2**：ラットを C 食で 6 日間飼育後、24 時間絶食させ、グルコース, IMD, 高アミロースでんぷん (HAS) を経口投与し、経時的に採取した尾静脈血の血漿グルコース濃度を測定した。**実験 3**：ラットに C 食, 5% IMD 食, 5% HAS 食を 7 日間与え、試験最終日に空腸および回腸の組織および粘膜を採取した。組織を 4% パラホルムアルデヒド溶液で固定した後、包埋、薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色した。組織像より粘膜厚を測定した。粘膜のマルターゼおよびイソマルターゼ活性を測定した。

【結果・考察】**実験 1-1**：IMD の人工小腸消化率は約 70% だった。**実験 1-2**：回-直腸吻合ラットにおける IMD および IMO の小腸消化率は 79.5% および 98.5% だった。**実験 2**：グルコース投与群に比べ、HAS 投与群の血漿グルコース濃度は 15 分～60 分で有意に低く、IMD 投与群のそれは 15 分で低い傾向を示した。AUC<sub>0-15 分</sub> は、グルコース投与群に比べ HAS 投与群で有意に低く、IMD 投与群で低い傾向を示した。以上より、IMD は部分的に消化抵抗性を示し、そのグルコース吸収は遅延することが示唆された。**実験 3**：空腸および回腸粘膜厚に群間差はなかった。空腸および回腸粘膜マルターゼ、イソマルターゼ活性にも群間差は認められなかった。以上より、IMD のグルコース吸収遅延は認められるが、低用量の IMD を単体で投与した場合、回腸グルコース供給能はそれほど強くないことが示唆された。そのため、用量の増加や他の食品成分との共存によるその供給能の向上についてさらなる検討が必要である。

## 演題⑫

### ビタミン B<sub>6</sub> 欠乏時の肝臓脂質蓄積に対するホスファチジルコリン による改善について

○濱本有莉子<sup>1</sup>, 本間英基<sup>2</sup>, 北川絵里奈<sup>3</sup>, 島田昌也<sup>1,2</sup>, 中川智行<sup>1,2</sup>,  
稲垣瑞穂<sup>1,2</sup>, 早川享志<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>岐阜大院・自然科学技術研, <sup>2</sup>岐阜大・応生, <sup>3</sup>名古屋文理大・健康生活)

**【目的】**メチオニン (Met) の代謝に補酵素として関与するビタミン B<sub>6</sub> (B<sub>6</sub>) は, 欠乏時, 有害物質ホモシステイン (Hcy) の蓄積および代謝異常を引き起こす。私共は, Met 高負荷 B<sub>6</sub> 欠乏飼料をラットに給餌した際, 肝臓に脂質蓄積が生じることを見出した。これは, Met 代謝が間接的に関与するホスファチジルコリン (PC) の生合成阻害により, PC を構成因子とし, 肝外に脂質を運搬する役割を担う超低密度リポタンパク質 (VLDL) の分泌低下により生じると示唆された。本研究では, B<sub>6</sub> 欠乏時の VLDL 動態のより詳細な解析, 改善効果を示す PC 量およびその改善機序の解明を目的とした。

**【方法】**4 週齢の Wistar/ST 系雄ラットを 5 群 (n=7) に分け, 各群に AIN-76 標準飼料の 3 倍量の Met を含む Control 飼料 (C 群), C 群飼料から B<sub>6</sub> を除いた B<sub>6</sub> 欠乏飼料 (D 群), および D 群飼料に PC を 3.15, 6.3, 12.6 g/kg diet を 3 段階に添加した飼料 (PC3 群, PC6 群, PC12 群) をそれぞれ D 群に対するペアフィーディングにより与えた。35 日間飼育したのち解剖し, 肝臓および血漿の脂質, Met 代謝物, 高感度ゲルろ過 HPLC により VLDL 詳細分画の測定を行った。

**【結果および考察】**血漿 Hcy 濃度が C 群と比較して D 群で有意に増加し, 肝臓総脂質, 肝臓総コレステロール (Chol), 肝臓トリグリセリド (TG) といった肝臓脂質も Hcy と同様の様相を示した。血漿脂質は, 総 Chol, TG およびリン脂質 (PL) が C 群と比較して D 群で有意に低下し, VLDL-Chol および VLDL-TG も同様の様相を示した。さらに, VLDL-TG を 3 段階の粒子サイズ別で測定したところ, TG を多く含有する large-VLDL-TG 濃度が B<sub>6</sub> 欠乏により最も大きな減少率を示した。このことから, B<sub>6</sub> 欠乏が, VLDL を介した TG の肝外排出低下を惹起したと判断された。また, これらの B<sub>6</sub> 欠乏に伴う脂質プロファイルの異常は PC の添加により改善を示した。肝臓総 Chol, 血漿脂質は PC12 群で改善が見られ, 血漿 Hcy, 肝臓総脂質および肝臓総 TG は, PC6, PC12 群で改善が見られた。また, D 群で減少した肝臓ベタインは, PC6, PC12 群で回復が観察された。以上の結果より, Met 高負荷 B<sub>6</sub> 欠乏条件下では, Met 代謝異常を介して, VLDL による肝臓脂質分泌減少により肝臓脂質蓄積が起こることが示唆された。さらに, PC の添加 (6.3 g/kg diet 以上) により, 直接 PC が VLDL 分泌を改善するだけでなく, コリンの補給に伴うベタインの増加を介した Met 代謝異常改善を促進し, この両者により肝臓脂質蓄積を改善するという機序が考えられた。

## 演題⑬\*

### ジオスゲニンの脂肪蓄積抑制効果における骨格筋の関与

○笠原玲奈<sup>1</sup>, 坂東春佳<sup>2</sup>, 升井洋至<sup>3</sup>, 柴田貴広<sup>4</sup>, 内田浩二<sup>5</sup>, 草野由理<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>中部大院・応用生物学, <sup>2</sup>中部大・応生, <sup>3</sup>武庫川女大・生活環境, <sup>4</sup>名大院・生命農学, <sup>5</sup>東大院・農学生命科学)

**【背景・目的】**ジオスゲニンは、ジネンジョなどのヤマノイモ属に含まれるステロイドサポゲニンである。本研究室においてジオスゲニンには、内臓脂肪の蓄積抑制作用があること、骨格筋の筋繊維増強作用があることを、ラットを用いた動物実験から見出しており、これまでにジオスゲニンが骨格筋細胞に与える影響を検討してきた。今年度は、骨格筋細胞において、ジオスゲニンが細胞内のエネルギーセンサータンパク質である AMP - activated protein kinase (AMPK) のリン酸化レベルを亢進すること、さらにそのリン酸化にはキナーゼである liver kinase B1 (LKB1) の関与を示唆する結果が得られたので報告する。**【方法】**多核の筋管細胞に細胞分化させたマウス骨格筋由来筋芽細胞株 C2C12 細胞を、適当な濃度のジオスゲニン存在下で培養し、細胞溶解液を得た。また必要に応じて細胞分画し、核画分と細胞質画分を得た。そこに含まれる AMPK 及びその  $\alpha$  サブユニット内の Thr172 がリン酸化された AMPK, LKB1, ユビキチン化タンパク質を、それぞれの抗体を用いたウエスタンブロッティング法を用いて検出した。**【結果・考察】**細胞分化した C2C12 細胞を、ジオスゲニン存在下で 1 時間培養すると、その細胞質画分において AMPK のリン酸化レベルが亢進していた。ジオスゲニンは経口摂取した場合でも体内に吸収されることから、ジオスゲニン摂取ラットの骨格筋においてその異化経路が活性化されることが示唆された。さらにその条件下で LKB1 は 30 分後から細胞質におけるタンパク質の発現レベルが亢進しており、ジオスゲニンは骨格筋細胞の細胞質において LKB1 の集積を促すことが明らかになった。この結果から、ジオスゲニンによる AMPK のリン酸化レベルの亢進には LKB1 が関与することが示唆された。この LKB1 の集積は核画分においても認められたことから、ジオスゲニンは LKB1 の核から細胞質への移行を促すというよりも、細胞全体での発現レベルを亢進することが示された。LKB1 はプロテアソーム依存的に分解されることが明らかにされている。そこで、ジオスゲニンのプロテアソーム不活性化に与える影響を、ユビキチン化タンパク質の集積により検討したところ、その集積に大きな変化はみられなかった。この結果はジオスゲニンが LKB1 の分解を特異的に制御する可能性を示唆するものと考えている。このようなジオスゲニンによる骨格筋細胞の LKB1 / AMPK 経路の活性化が、ジオスゲニン摂取ラットにおける内臓脂肪蓄積抑制作用に寄与するものと考えられた。

## 演題⑭\*

### 骨代謝改善が期待されるツバキ葉熱水抽出物の評価

○佐藤はな<sup>1</sup>, 東海芙美子<sup>2</sup>, 繁森英幸<sup>3</sup>, 西本壮吾<sup>4</sup>

(<sup>1</sup>石川県大院・食品, <sup>2</sup>筑波大・生命環境, <sup>3</sup>筑波大・生命環境,

<sup>4</sup>石川県大・生物資源環境)

**【目的】**日本を始めとした先進国では高齢社会に直面している。今後、高齢化はさらに進行するとされており、それに伴い要介護となる可能性も高まる。要介護となる原因の一つとして骨折・転倒があり、その要因として骨粗鬆症による骨の脆弱化が挙げられる。要介護状態は高齢者本人と介護者の QOL (Quality of Life : 生活の質) を低下させてしまう可能性があるため、要介護状態の予防や症状の改善が求められている。骨代謝に関与する天然素材としてお茶の原料であるチャノキが報告されている。先行研究において、チャノキと同属であるヤブツバキの葉の熱水抽出物は、骨代謝関連因子へ作用することが明らかとなった。本研究ではヤブツバキ葉の熱水抽出物の更なる骨代謝への関与を検討することを目的とした。

**【方法】**ツバキ葉を凍結乾燥し粉碎した後、熱水で 15 分間抽出した。得られた抽出物を濃縮し、凍結乾燥させたものをツバキ葉熱水抽出物 (*Camellia japonica* L. heated water extract : CHE) として実験に用いた。ツバキ葉を 2~3 cm 角に細断し 15 分間焙煎した。焙煎した葉を熱水で 15 分間抽出した後、濃縮し凍結乾燥させた。この粉末を焙煎ツバキ葉熱水抽出物 (Roasted *Camellia japonica* L. heated water extract : R-CHE) として実験に用いた。骨吸収評価として ddY 系統メスマウスの大腿骨と頸骨から回収した骨髄細胞を用いた。R-CHE を添加培養後、TRAP (Tartrate-resistant acid phosphatase) 染色並びに酵素活性評価、Pit formation assay を行った。加えて CHE の骨代謝に対する活性成分を探索するために、ALP 酵素活性測定による骨形成評価と、TRAP 染色並びに酵素活性測定による骨吸収評価を行った。

**【結果・考察】**マウス骨髄細胞に R-CHE を添加培養した結果、濃度依存的に TRAP 陽性細胞の減少が確認され、TRAP 酵素活性評価においても同様の結果が得られた。Pit formation assay の結果、R-CHE の添加培養によって Pit 数の減少が確認された。破骨細胞特異的な酵素である TRAP の発現が抑制され、骨吸収を示す Pit の数が減少したことから、ツバキ葉は焙煎工程を加えても骨吸収抑制能を有する可能性が示唆された。CHE 分画サンプルを用いた評価において、ブタノール可溶画分で ALP 酵素活性の増加が確認され、酢酸エチル可溶画分で TRAP 陽性細胞の減少が確認された。以上の結果から、骨代謝に関わる CHE に含まれる成分は、骨形成と骨吸収で異なる可能性が考えられた。



## 演題⑮

### プロポリス成分による褐色脂肪細胞化の誘導と脂肪組織温度の変化

○西川翔<sup>1</sup>, 青山広樹<sup>1</sup>, 兵頭拓真<sup>1</sup>, 神谷美沙<sup>1</sup>, 宮田涼<sup>2</sup>,  
吉村一輝<sup>2</sup>, 熊澤茂則<sup>2</sup>, 津田孝範<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>中部大・応生, <sup>2</sup>静岡県大・食品栄養)

#### 【目的】

すでに寒冷刺激など種々の環境変化に応じて白色脂肪組織中で「誘導型」褐色脂肪細胞が増加（褐色脂肪細胞化の誘導）し、熱産生によるエネルギー消費が亢進し体脂肪が減少することが明らかにされている。これまでに演者らは、褐色脂肪細胞化を誘導する食品由来因子とその作用機構を検討し、昨年度の支部大会では高生体内吸収性クルクミン製剤の褐色脂肪細胞化誘導とその作用機構を報告した<sup>1)</sup>。さらに演者らはブラジル産プロポリスの主要成分である Artepillin C (ArtC) についても同様の検討を行った。その結果、ArtC の投与は、マウスにおいて褐色脂肪細胞化を誘導すること、その作用機構としては、ArtC が PPAR $\gamma$  のアゴニストとして作用し、褐色脂肪細胞化誘導に必須の因子である PRDM16 タンパク質の分解抑制が関与することを明らかにしている<sup>2)</sup>。本研究では、ArtC の投与による褐色脂肪細胞化の誘導時における組織温の測定法を確立し、体温上昇を明らかにすることを目的とした。

#### 【方法】

C57BL/6J マウスに ArtC の ①単回経口投与、②持続的な経口投与（4週間）、を行った際の直腸及び脂肪組織（褐色脂肪組織、鼠蹊部白色脂肪組織）温度をデジタル温度計と温度プローブを用いて投与1時間後まで継続的に測定した。さらに②と同様に ArtC を持続的に経口投与した C57BL/6J マウスに寒冷暴露を行い、直腸温度を測定し、体温変化を測定した。

#### 【結果】

C57BL/6J マウスに ArtC を単回経口投与した場合は、直腸及び脂肪組織温度に変化は認められなかった。一方 ArtC の持続的な投与では、褐色脂肪細胞化誘導が認められた鼠蹊部白色脂肪組織において有意な温度上昇が認められた。さらに寒冷暴露を行った結果、ArtC 投与群で有意な直腸温度の低下抑制がみられた。以上のことから、ArtC の投与による褐色脂肪細胞化誘導は、白色脂肪組織温度の上昇と体温の維持を伴うことが明らかになった。現在、引き続き ArtC 投与による体温上昇の機構について検討を進めている。

1) *Mol. Nutr. Food Res.* (2018) 62:1700731.

2) *PLoS ONE* (2016) 11: e0162512.

## 演題⑩\*

### NMR を用いた飲料成分のメタボロミクス解析

○茅野有希歌<sup>1</sup>, 倉田卓磨<sup>1</sup>, 本田沙理<sup>1</sup>, 松原康隆<sup>2</sup>, 土屋育未<sup>2</sup>, 熊澤茂則<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>静岡県大院・食品栄養, <sup>2</sup>物産フードマテリアル 生産・開発部)

【目的】核磁気共鳴 (NMR : Nuclear Magnetic Resonance) は、分子の構造上の情報を得るために非常に有効的な方法である。従来、単一化合物の分子構造解析に用いられてきたが、現在では、分子を構成する原子核そのものを定量的に観測できることから、定量分析への応用も検討されている。また、NMR では各成分中に検出対象の核が含まれていれば、多成分を同時に検出することができることから、NMR スペクトルを用いた多変量解析によるメタボロミクスに関する研究も進みつつある。

我々は毎日摂取している食品中には様々な成分が含まれており、食品の風味や機能性などは、それらの成分が相互的に関わることで多様に変化する。そのため、食品の特徴を見出すためには、食品中の含有成分を総合的に評価する事が必要である。

本学会では、前研究で行った紅茶のメタボロミクス解析を応用し、果汁に含まれる成分を対象に、NMR を用いた定量分析および多変量解析、また機能性評価を行った。

#### 【方法・結果】

嗜好飲料の他にも様々な原料として使われるイチゴやアプリコット等の果汁濃縮汁 14 種を蒸留水で希釈し、フィルターで濾過後、D<sub>2</sub>O を添加して NMR 測定用試料に調製した。調製した試料について<sup>1</sup>H-NMR を測定し、得られたシグナルについて多変量解析ソフト AMIX (ブルーカー・バイオスピン株式会社), SIMCA (version 14.0, Umetrics) を用いて主成分分析を行い、果汁の分類分けに成功した。今回の分類に寄与した成分を調べたところ、ローディングプロットによりアミノ酸や糖類が寄与していることが考えられた。さらに、各果汁について DPPH 法を用いて抗酸化活性を評価したところ、いちご濃縮汁に強い活性があることが示された。しかし、ラット小腸を用いた  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害の機能性評価を行ったが、各果汁とも高い活性が見られなかった。このことにより、果汁に含まれるアミノ酸類が抗酸化活性に関与している可能性が見出され、抗酸化活性を有する果汁のスクリーニングに<sup>1</sup>H-NMR を用いたメタボロミクス解析が利用できることが示された。