

令和6年2月9日

十文字学園女子大学大学院  
人間生活学研究科 研究科長  
志村 二三夫 殿

## 学位論文審査報告書

学位論文審査願いが提出された下記の論文について、厳正に審査した結果、論文審査結果の要旨に示されたように **合格**（不合格）と判定した。

### 記

学位論文の題目：妊娠期母獣の難消化性オリゴ糖摂取による腸内細菌由来水素ガスが母獣  
ならびに胎仔の酸化ストレスへ及ぼす影響に関する研究  
—妊娠期葉酸過剰モデルマウスの出生仔に惹起する糖代謝異常の要因検討—

学位申請者：奥田 明日香  
指導教員： 中村 禎子・教授

学位論文審査委員

主査 竹嶋 伸之輔・教授



副査 成谷 宏文・教授



副査 中村 禎子・教授



## 論文審査結果の要旨

学位申請者氏名：奥田 明日香

論文題目：妊娠期母獣の難消化性オリゴ糖摂取による腸内細菌由来水素ガスが母獣ならびに胎仔の酸化ストレスへ及ぼす影響に関する研究  
—妊娠期葉酸過剰モデルマウスの出生仔に惹起する糖代謝異常の要因検討—

### (研究の背景と目的)

難消化性オリゴ糖は、経口摂取後宿主の腸内細菌により発酵を受け、その代謝産物として腸内細菌由来水素ガス (Intestinal microbes-derived hydrogen gas, 以下 IMDH) や短鎖脂肪酸、ビタミン等が産生される。申請者は、難消化性糖質であるフラクトオリゴ糖 (FOS) を研究の対象試験物質とし、IMDH が酸化ストレス軽減へ及ぼす影響についてモデル動物を用い、妊娠期の母仔を対象として研究した。近年、National Institute of Health は、母体の葉酸過剰摂取による母体と胎児への影響について調査し、妊娠期の葉酸過剰摂取は児の成長後に肥満やインスリン抵抗性などの発症リスクを高めることを報告しており、この機序解明を目的として作成された葉酸過剰モデルマウス (Pregnant excessive folic acid model mouse, 以下 PEFAM) を用いた。本研究の最終目的は、難消化性オリゴ糖の新規な生理作用を明らかにし、母子の健康の保持増進に寄与することであるが、本研究では、以下に示す仮説を構築し、実験Ⅰと実験Ⅱによってその仮説を証明した。

まず、PEFAM では、①妊娠中に葉酸過剰摂取させると、胎盤を透過して胎仔に葉酸が過剰に移行し、③酸化ストレスを増加させ、④胎仔膵臓ランゲルハンス島  $\beta$  細胞の Pdx1, FoxO1, ならびに Insulin の発現を低下させる。このことが、出生後 7 週齢で糖代謝異常を惹起することに繋がる。この PEFAM に FOS を同時摂取させると、①過剰摂取による葉酸は胎仔へ移行するが、②FOS 摂取による IMDH が胎盤を透過して胎仔へ移行し、③IMDH を介し、核内転写因子 Nrf2 と抗酸化酵素を介する経路によって母獣、ならびに胎仔の酸化ストレスを抑制する。その結果、④胎仔膵臓ランゲルハンス島  $\beta$  細胞の Pdx1, FoxO1, ならびに Insulin の発現を維持する。この仮説を検証するために、【実験Ⅰ】として、通常ラットを用いて、FOS 飼料の絶食または非絶食下での IMDH の産生を観察し、次に妊娠ラットを用いて、妊娠中に FOS を与えた場合の IMDH の産生、体内分布、胎仔への移行について検討した。【実験Ⅱ】では PEFAM を用い、①母獣、ならびに胎仔肝臓および羊水中の葉酸濃度、②母獣肝臓、ならびに胎仔の IMDH 濃度を測定した。また、③全身性酸化ストレスマーカーである 8-OHdG, ならびに MDA を測定した。Nrf2 を介する抗酸化作用の機序を明らかにするため、Nrf2 タンパク質発現量、抗酸化酵素である SOD, CAT, GPx, HO-1 の酵素活性、タンパク質発現量、mRNA 発現量、ならびに *IL-1 $\beta$* , *IL-6* の mRNA 発現量を

検討した。酸化ストレスによる、④胎仔膵臓ランゲルハンス島ランゲルハンス島  $\beta$  細胞 Pdx1, FoxO1, ならびに Insulin のタンパク質発現量への影響を検討した。

(結果の要約と評価)

【実験I】では「通常雄性ラットにおける FOS 継続摂取後の絶食の有無が IMDH 排出に及ぼす影響，ならびに妊娠ラットにおける FOS 継続摂取による IMDH の体内分布と胎仔への移行」を測定し，FOS 継続摂取による通常ラットと妊娠ラットにおいて IMDH の体内分布，ならびに母獣の IMDH が胎盤を介して胎仔に移行することを明らかにした。【実験II】では「PEFAM における妊娠期間中の FOS 継続摂取が母獣，ならびに胎仔に及ぼす影響」を測定し，羊水中の葉酸濃度は，CONT 群と比較して EFA 群，ならびに EFA-FOS 群は有意に高値を示すが，EFA 群と EFA-FOS 群では統計学的有意差は観察されないこと，胎仔の IMDH 濃度は，CONT 群，ならびに EFA 群と比較して，EFA-FOS 群は有意に高値を示し，CONT 群と EFA 群では統計学的有意差は観察されないことを明らかにした。母獣，および胎仔の酸化ストレス指標，抗酸化酵素，ならびに胎仔 Nrf2 については，EFA-FOS 群は CONT 群と比較して統計学的有意差は観察されなかったが，EFA 群は CONT 群，ならびに EFA-FOS 群と比較して有意に高値を示すことを明らかにした。さらに，胎仔膵臓ランゲルハンス島  $\beta$  細胞 Pdx1, FoxO1, ならびに Insulin タンパク質発現量は，EFA-FOS 群は CONT 群と比較して統計学的有意差は観察されなかったが，EFA 群は CONT 群と比較して有意に低値を示すことを明らかにした。以上の結果より，PEFAM に FOS を摂取させると，葉酸過剰摂取によって引き起こされた酸化ストレスが抑制されることを明らかにした。その要因として，母獣が FOS を摂取することにより産生された IMDH が胎盤を透過して胎仔へ移行し，Nrf2 を介する経路によって SOD が抑制されたことを明らかにした。また，胎仔膵臓ランゲルハンス島  $\beta$  細胞 Pdx1, FoxO1, ならびに Insulin のタンパク質発現量は酸化ストレスによって低下することが明らかにし，PEFAM の仔に誘発する糖代謝異常の機序の1つを明らかにした。

本研究は，IMDH についての新規な生理作用として，PEFAM の胎仔期に生じる膵臓ランゲルハンス島  $\beta$  細胞の発達異常を正常化できるかを明らかにすることを最終目的とし，【実験1】では，難消化性糖質摂取後の IMDH の体内分布，IMDH の母獣から胎仔への移行を調べ，【実験2】では，IMDH による酸化ストレス指標，ならびに抗酸化酵素への影響，ならびに胎仔膵臓ランゲルハンス島  $\beta$  細胞の分化発達に関連するたんぱく質発現を調べた。その結果，難消化性糖質摂取後の IMDH の体内分布が明らかになり，IMDH は母獣から胎仔へ移行することを初めて明らかにした。また，IMDH の抗酸化作用を介して膵臓ランゲルハンス島  $\beta$  細胞の発達異常に対して，それを正常化する作用のあることを初めて明らかにしている。

以上より，審査委員会は，研究課題としての学術的重要性，研究手法の妥当性，分析・考察の深さ的確性，さらに，独創性について審査した結果，本論文はすべてにおいて高く評価でき，博士論文としての要件を十分に満たすものと全員一致で判断した。