

平成 30 年度 プロジェクト研究費研究実績報告書

令和元年 5 月 7 日

代表者 金 高 有 里

研究課題名	妊娠期葉酸過剰摂取が次世代の腸内バリア機能に及ぼす影響
研究期間	平成 30 年 5 月 7 日 ~ 平成 31 年 3 月 30 日
共同研究者	食物栄養学科 中村禎子
1. 今年度の研究概要	
<p>妊娠期の葉酸摂取により胎児の神経管閉鎖障害の発症リスクを減らせるという報告から、海外では葉酸摂取の義務化・強化が行われている。日本では葉酸の不足についても問題となっている一方で、サプリメントの乱用などによる人工合成葉酸の過剰摂取に陥る妊婦が増加している。そこで、人工合成葉酸の過剰摂取による影響とそのメカニズムの解明を動物実験で検証することが重要であると考えた。本研究では、妊娠期に葉酸過剰環境であった母獣と胎児・出生後の仔を用いて、過剰な人工合成葉酸および葉酸不足が母獣および出生後の仔の腸内細菌叢および免疫に及ぼす影響、さらに胎児の免疫や出生後の脂質異常症等の生活習慣病へ及ぼす影響を明らかにすることを目的として以下のように検討を行った。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・特殊飼料の作製と妊娠期特殊飼料環境と母獣・仔マウスへの影響 <p>AIN-93G を①基礎飼料（コントロール食(2 mg/kg:葉酸含量)：以下 CN 食）とし、葉酸過剰食(40mg/kg):以下 FA 食、葉酸欠乏食（0.4 mg/kg）：以下 FD 群を作製した。成熟 C57BL/6J マウスを用い、交配に得られた仔を 3 群に分け、それぞれの食餌を与えた。仔の採取した糞便を用いて葉酸摂取量による腸内細菌叢の変化を同定した。自然分娩させ、餌を CN 食に統一させた。経時的に採取した仔獣の糞便を用いて腸内細菌叢の変化を同定し、解剖時に小腸の反転腸管法により、腸管内外液を用いて腸管のバリア機能の変化を評価した。母獣および仔獣の糞便中の腸内細菌叢の変化をユニバーサルプローブの 16SrRNA をコードする DNA を増幅し、変性剤濃度勾配ゲルで異なる種の 16SrRNA の DNA を分離する。増減するバンドを特定し、DNA 配列を観察することによって、葉酸過剰および不足によって増減する腸内細菌の種類を同定し、体内の免疫応答との関連を観察した。</p>	
2. 研究の成果	
<p>解析した糞便中の DNA の検討の結果を以下に示す。</p> <p>Eubacterium cylindroides group の検出数は、母獣、仔獣はともに FA 群がもっとも高値であり、次いで CN 群、FD 群と続き、NP マウスでは CN 群がもっとも多く、次いで FA 群、FD 群と続き、母獣、仔獣、NP マウスいずれも FD 群がもっとも低値であった。</p> <p>Eubacterium cylindroides group の検出数は、母獣、仔獣はともに FA 群がもっとも高値であり、次いで CN 群、FD 群と続き、NP マウスでは CN 群がもっとも多く、次いで FA 群、FD 群と続き、母獣、仔獣、NP マウスいずれも FD 群がもっとも低値であった。</p> <p>Fusobacterium の検出数について、母獣と仔獣では FA 群がもっとも多く、次いで CN 群、FD 群であった。</p> <p>Atopobium cluster 産生量は、母獣、仔獣、NP マウスすべてにおいて同様の変化がみられた。すなわち、仔獣は出産時や授乳期に母の保菌数をそのまま受け継ぐのではないかと推察した。Atopobium cluster は、解析した 10 種類の菌群の内もっとも有意差があり、葉酸との関連性が高い菌群と示唆された。本研究では葉酸摂取量が腸内細菌叢に変化を及ぼすことを明らかにした。</p>	

3. 研究成果の公表実績・予定（年月日、方法）

英文論文投稿予定

日本栄養改善学会（H31年9月）学会発表予定