

平成 25 年度

神戸女子大学大学院家政学研究科

修士論文要旨

アラビアゴム分解能をもつビフィズス菌のゲノム解析

博士前期課程(食物栄養学専攻) 上野 裕美子

【目的】

ビフィズス菌は、グラム陽性の嫌気性細菌でヒトや動物の腸内に存在しており、整腸作用や免疫調節作用があり、健康に有益なプロバイオティクスと考えられている。*Bifidobacterium longum* subsp. *longum* JCM 7052 株はアラビアゴムを分解して増殖し、新規の α -ガラクトシダーゼも見出されるなど他の株には見られない性質を有する²⁾。アラビアゴムは乳化剤・安定剤などの食品添加物や化粧品に広く用いられており、構造はガラクトース・アラビノース・ラムノース・グルクロン酸から成る二型アラビノガラクトタンである。その分解系は十分に解明されておらず、分解において新規な酵素の関与が予想される。ゲノム解析を行い、遺伝子の同定を行うなど、*B. longum* subsp. *longum* JCM7052 株ゲノムの特徴を明らかにするとともにアラビアゴム分解系の遺伝子を同定することを目的とした。

【方法】

B. longum subsp. *longum* JCM 7052 の DNA を抽出し、DNA シークエンサー (Illumina HiSeq2000) で JCM 7052 ゲノムの解析を行った。塩基配列のギャップを PCR と制限酵素処理によって埋め、Mauve、MiGAP、BLAST の遺伝子解析プログラムにより、DNA の塩基配列と遺伝子の同定を行った。

【結果・考察】

B. longum subsp. *longum* JCM 7052 の塩基配列は 10 個の大きな contig が得られ、2,242,107 スクレオチド、遺伝子が 1,898 個、tRNA が 58 個、リボソーム RNA が 4 セット、6 ヶ所に挿入配列 IS があつた。

遺伝子中に糖鎖の分解酵素遺伝子が 51 個存在した。その中に二型アラビノガラクトタンの分解に働くと考えられる $\text{exo-}\beta\text{-1,3-}$ ガラクタナーゼと $\text{endo-}\beta\text{-1,6-}$ ガラクタナーゼの各遺伝子及びアラビアゴムで誘導される β -ガラクトシダーゼを同定した。

また既報の *B. longum* ゲノムには無い 8 個の遺伝子群が見つかった。その中の一つにアラビアゴム培養で誘導される α -ガラクトシダーゼ X の TOF-MS で得たアミノ酸配列から新規の遺伝子 *agaX* を同定した。その周りに 6 遺伝子がホスホフェノールピルビン酸カルボキシラーゼ (*pepC*) とチオレドキシソレダクターゼ (*txrB*) の間に在り、いずれもアミノ酸配列で *B. adolescentis* L2-32 の遺伝子と 66.5% の相同性を示した。この遺伝子群は *pepC* と *txrB* の 3' 端の下流に見られる相同な塩基配列での組み換えによって獲得または喪失すると考えられた。

もう一つの遺伝子群はフラボドキシソ・アルド/ケト還元酵素・細胞内で働くペプチダーゼなどの 11 の遺伝子から構成され、アミノ酸配列で *B. longum* subsp. *infantis* CCUG 52486 と 100% 相同であつた。

アラビアゴムの分解に働くと考えられる酵素として、 α -L-アラビノフラノシダーゼ、 β -グルクロナシダーゼの遺伝子が複数個ずつあつたが、同定には至らなかつた。

【結論】

以上のことから、アラビアゴムで増殖する *B. longum* subsp. *longum* JCM 7052 株の DNA のゲノ

ムの塩基配列がほぼ明らかになった。JCM 7052 のゲノムには既報の *B. longum* 株には見られない遺伝子群が 8 個あり、そのうちの二つの遺伝子群にアラビアゴム分解との関連が示唆された。これらの遺伝子群や糖鎖加水分解酵素の遺伝子の更なる分析によりアラビアゴム由来の新規のプレバイオティク効果をもつオリゴ糖の合成などに道が開かれると期待される。

- 1) 上野 裕美子, 才新 直子, 上田 雅美, 和田 明, 山本 勇 第 86 回日本生化学会大会, 3P-014 (2013).
- 2) N. Saishin, I. Yamamoto (2009) J. Biol. Macromol. 9(2), 73~81.

カプサイシン摂取による高血圧予防の機序の検討

博士前期課程（食物栄養学専攻） 瀬川 悠紀子

【背景・目的】

カプサイシンはトウガラシに最も多く含まれる辛味成分である。カプサイシンはバニリル基を有するためバニロイドタイプに分類される。バニロイドは非選択性陽イオンチャネルの Transient Receptor Potential Channel Vanilloid Subfamily Member-1 (TRPV1) を活性化し、Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP) や Substance P (SP) を放出すること、endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS) を活性化して NO の産生を増加させることなどの報告から、バニロイドであるカプサイシンは血管弛緩に影響することが示唆された。そこで我々は先に、腎血管性高血圧 (2K1C) モデルラットに低濃度カプサイシンを継続的に経口摂取させると、血圧上昇を抑制することを確認した。そして、その作用が一酸化窒素合成酵素阻害剤の同時摂取によって消失することを見出した。すなわちカプサイシンは血圧上昇抑制作用を持ち、その機序に一酸化窒素 (NO) が関与している可能性が示唆された。以上のことから本研究では、カプサイシンの継続的経口摂取による血圧上昇抑制作用に対する NO の関与の検討をさらに進め、胸部大動脈における eNOS mRNA 発現量と血清中 NO_2/NO_3 を観察した。

【方法】

SD系雄ラットに5週齢時より、control食(CTL)、0.006%カプサイシン添加食(CAP)の投与を開始した。6週齢時にそれぞれの群において、麻酔下にて、内径0.254mm銀製クリップを左腎動脈に装着した2K1C群、対照としてクリップを設置しないSHAM群を作成した。SHAM-CTL群、SHAM-CAP群、2K1C-CTL群、2K1C-CAP群の4群とし、6週間飼育した。飼育期間を通じて、週一回tail-cuff法にて収縮期血圧の測定を行った。飼育期間終了時、麻酔下にて平均血圧の測定を行い、採血し、脱血死させた後、胸部大動脈を摘出し、RT-PCR法にてeNOS mRNAの半定量を行った。また、採取した血液から血清サンプルを作成し、血清中 NO_2/NO_3 の測定を行った。

【結果及び考察】

飼育期間中、体重は各群間で差は認められなかった。収縮期血圧は2K1C-CTL群ではSHAM-CTL群に比べて有意に上昇したが、2K1C-CAP群ではその上昇が抑制された。平均血圧においても、2K1C-CTL群ではSHAM-CTL群に比べて有意に上昇したが、2K1C-CAP群ではその上昇が抑制された。以上のことからカプサイシンの継続的経口摂取による血圧上昇抑制作用が再現された。これらのラットの胸部大動脈におけるeNOS mRNA発現量は、SHAM-CTL群に比べ2K1C-CTL群で増加傾向を示し、2K1C-CAP群では2K1C-CTL群と比べさらに増加傾向を示した。血清中 NO_2/NO_3 は、今回の実験では各群間に有意差を得ることはできなかった。2K1C-CTL群におけるeNOS mRNA発現量の増加傾向は、先行研究より、血圧上昇に対する代償的な反応であると考えられる。一方2K1C-CAP群では血圧の上昇がなかったにも関わらず、eNOS mRNA発現量が増加傾向にあったことから、カプサイシンがeNOS mRNA発現量を増加させ、血圧上昇抑制につながっている可能性があると考えられる。

【結論】

腎血管性高血圧モデルにおけるカプサイシンの継続的経口摂取による血圧上昇抑制作用機序に、eNOS mRNA の発現量増加が関与している可能性がある。

エキストラバージンオリーブ油と植物性油脂との同時摂取による脂質代謝への影響

博士前期課程（食物栄養学専攻） 中尾仁美

【背景・目的】

これまで本研究室では、ポリフェノールを豊富に含んでいるエキストラバージンオリーブ油（EV00）について調べ、特にEV00中の主要なポリフェノールであるオレウロペインがノルアドレナリン分泌を促し、その結果、UCP1発現及びステロイドホルモン分泌を促進させることで、脂質代謝及び蛋白代謝を亢進させることを報告してきた¹⁾³⁾。また、日常の食生活においてEV00は他の油脂と共に摂取されることが多いため、動物性油脂であるラードとEV00の同時摂取による脂質代謝への影響について調べてきた。その結果、30%ラード食に対して、総脂質量は同じ30%とし、ラードの10%をEV00に置き換えてラットに投与した場合、尿中カテコラミン排泄量及びIBAT中UCP1含量を有意に増加させ、脂質代謝を促進させた。またそれは、EV00単独投与（30%EV00食）よりもさらにUCP1含量を増加させたことから、相乗的に脂質代謝を促進させることを報告してきた⁴⁾⁵⁾。

そこで本研究は、植物性油脂である大豆油を用いてEV00と植物性油脂との同時摂取による脂質代謝への影響について調べ、動物性油脂であるラードとの場合と比較することにした。

実験1. EV00と大豆油の同時摂取によるラットの脂質代謝への影響

方法：SD系4週齢雄ラット（n=49）に、高脂肪食である30%ラード食、30%大豆油食をコントロールとし、大豆油コントロール食に対して、総脂質量（30%）は同じで大豆油の5%、10%、15%、20%あるいは30%をEV00に置き換えた5種のEV00混合食を実験食として、28日間ペアフィーディングで投与した。尿中カテコラミンをHPLC法、IBAT中UCP1をウェスタンブロット法によって測定し、脂質代謝への影響を調べた。

結果：各群の体重には有意差は認められなかったが、腎周囲脂肪重量において、大豆油コントロール群に比べ、いずれのEV00混合食群も低下傾向を示し、特に20%及び30%EV00食群で有意に低下した。血漿中トリグリセリド濃度は、大豆油コントロール群に比べて30%EV00食群で有意に高い値を示した。IBAT中UCP1含量は、大豆油コントロール群と比較してEV00混合食群で高くなる傾向が見られたが、有意差は認められなかった。尿中カテコラミン排泄量も同様に、いずれのEV00混合食群も大豆油コントロール群に比べて高くなる傾向を示したが、有意差は認められなかった。しかし、ラードコントロール群と比較した場合においては、いずれのEV00混合食群も有意に高い値を示した。

以上の結果から、大豆油とEV00を同時摂取させた場合、ラードとEV00を同時摂取させた場合のような相乗的な効果は認められず、EV00と同時摂取させる油脂によって脂質代謝（UCP1含量及びカテコラミン分泌量）への影響に差を生じることが示唆された。

実験2. オレウロペイン添加による大豆油、パーム油あるいはラード高脂肪食摂取ラットの脂質代謝への影響

方法：SD系4週齢雄ラット（n=42）に、高脂肪食である30%大豆油食、30%パーム油食、30%ラード食をコントロールとし、それぞれに0.1%オレウロペインを添加したオレウロペイン食を実験食として、28

日間ペアフィーディングで投与した。実験1と同様に、脂質代謝について調べた。

結果：30%ラード食摂取ラットにオレウロペインを投与した場合、コントロール群と比較して体重、腎周囲及び精巣周囲脂肪重量が有意に低下し、IBAT 中 UCP1 含量及び尿中ノルアドレナリン排泄量が有意に増加した。30%パーム油食摂取ラットにオレウロペインを投与した場合においても、精巣周囲脂肪重量が有意に低下し、尿中ノルアドレナリン排泄量が有意に増加した。また、IBAT 中 UCP1 含量は、有意差は認められなかったが、増加傾向が見られた。しかし、30%大豆油食摂取ラットにオレウロペインを投与した場合、体重及び体脂肪重量に減少傾向が見られたが、IBAT 中 UCP1 含量及び尿中ノルアドレナリン排泄量においては、ほとんど差は認められず、有意差はなかった。

【結論】

実験1及び実験2の結果より、EVOOと同時に摂取する脂質の種類、特に飽和脂肪酸、不飽和脂肪酸の割合によって、EVOO中のオレウロペインによるカテコラミン分泌促進及びUCP1含量増加に対する影響に差を生じることが示唆された。即ち、EVOOと植物性油脂を同時に摂取した場合、動物性油脂との場合に比べ、EVOO中オレウロペインによる脂質代謝を促進させる影響が現れにくいことが示唆された。

【引用文献】

- 1) Oi-Kano Y, Kawada T, Watanabe T, et al.: Extra virgin olive oil increases uncoupling protein 1 content in brown adipose tissue and enhances noradrenaline and adrenaline secretion in rats. *J. Nutr. Biochem.* 18: 685-692, 2007.
- 2) Oi-Kano Y, Kawada T, Watanabe T, et al.: Oleuropein, a phenolic compound in extra virgin olive oil, increases uncoupling protein 1 content in brown adipose tissue and enhances noradrenaline and adrenaline secretion in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 54: 363-370, 2008.
- 3) Oi-Kano Y, Kawada T, Watanabe T, et al.: Oleuropein supplementation increases urinary noradrenaline and testicular testosterone levels and decreases plasma corticosterone level in rats fed high-protein diet. *J. Nutr. Biochem.* 24: 887-893, 2013.
- 4) 竹山巴麗、狩野百合子 他：エキストラバージンオリーブ油と他の油脂との同時摂取による体熱産生への影響 第64回 日本栄養・食糧学会大会講演要旨集 p.194 (2010).
- 5) 狩野百合子、中尾仁美 他：エキストラバージンオリーブ油とラードの同時摂取によるラットの体熱産生への影響 第33回 日本肥満学会講演要旨集 p.204(2012).

分岐鎖アミノ酸の筋萎縮抑制作用に関する研究

博士前期課程（食物栄養学専攻） 西田ひかる

【背景・目的】

分岐鎖アミノ酸(BCAA)は、筋タンパク合成を促進する細胞内シグナル因子である。同時に筋タンパク分解抑制作用も併せ持つことから、様々な筋萎縮モデルに対してBCAA投与が有効であることが報告されている。一方、成長ホルモン(GH)及びGHにより誘導されるインスリン様成長因子1(IGF-1)も、骨格筋発達維持に重要な物質であり、その欠損により筋萎縮が出現することが知られている。GH/IGF-1とBCAAは別の細胞内シグナルを介しタンパク合成を促進すると言われているが、特にBCAAシグナルに関してはまだ不明瞭な点も多く、双方の関連についてはまだ検討の余地がある。本研究ではGH欠損ラット Spontaneous dwarf ラット(SDR)へGH投与並びにBCAA投与を行い、BCAAの骨格筋同化作用にGH/IGF-1系が関与するか検討した。

【方法】

実験1

7週齢の雄性SDRをControl群、BCAA(600 mg/kg/day)の経口投与群(BCAA群)、デキサメサゾン(Dex, 600 μ g/kg/day)の腹腔内投与群(Dex群)、DexとBCAAの併用群(Dex/BCAA群)の4群に割り付け、これらを5日間毎日投与した。その間、摂食量、体重を毎日測定した。6日目に麻酔下でヒラメ筋および長趾伸筋を摘出し、筋重量を測定し、ATPase染色した後、筋線維断面積を計測した。また筋タンパク質を抽出し、筋タンパク合成を促進するp70 S6kinase及び4EBP1量、それぞれのリン酸化タンパク量をウエスタンブロットにて測定した。また、筋萎縮に大きな役割を果たす筋特異的ユビキチンリガーゼであるAtrogin-1、MuRF1並びにオートファジーの関連遺伝子であるBnip3のmRNA量をRT-PCRで測定した。

実験2

6週齢のSDRに麻酔下でPorcine GH(pGH)溶解液を含むオスモティックミニポンプを背中中の皮下に埋込み、14日間pGH(10 μ g/ μ L/h)を持続的に投与した。これらをGH/Control群、BCAA投与群(GH/BCAA群)、Dex投与群(GH/Dex群)、DexとBCAAの併用群(GH/Dex/BCAA群)の4群に分け、実験1と同じ用量のBCAA及びDexをGH持続投与開始後第10日から14日まで5日間投与した。GH持続投与開始後第15日目(BCAA及びDex投与開始6日目)に麻酔下でヒラメ筋および長趾伸筋を摘出し、筋重量を測定した。また筋タンパク質を抽出し、p70 S6kinase及び4EBP1量、それぞれのリン酸化タンパク量をウエスタンブロットにて測定した。また、筋細胞へのアミノ酸取込みに関連するアミノ酸トランスポーターLAT1及びSNAT2のmRNA量をRT-PCRで測定した。

【結果・考察】

SDRにおいて、Sprague-Dawley系ラット(SD系ラット)でみられるBCAAの筋萎縮に対する抑制効果が減弱していた。まず、ヒラメ筋及び長趾伸筋の筋線維断面積は、どちらの筋でもControl群に比べBCAA群で有意な増加は認められなかった。また、筋タンパク合成を促進するp70 S6Kinase、4EBP-1のリン酸化もControl群とBCAA群間で有意差は認められなかった。さらに、Dexに誘導される筋タンパク分解に対するBCAAの抑制効果も明確ではなかった。また、SDRに対してGHを補償したところ、ヒラメ筋にお

いてBCAA投与によるp70 S6Kinase及び4EBP-1のリン酸化の促進が明確になった。SDRにおいてこれらBCAAの効果が見られなかった原因の一つとして、SDRにおいて、タンパク合成促進や分解抑制の要となるmTORタンパク量が同一週齢のSD系ラットと比べ減少しており、これによりBCAAの作用が低下する可能性が示唆された。また筋細胞のBCAA取込みに関与するアミノ酸トランスポーターLAT1のmRNA量がヒラメ筋においてGHの補償で増加した。

【結論】

GHを欠くSDRにおいては筋タンパク合成系・分解系いずれにおいてもBCAAの効果は明確ではなかった。また、GHの補償によりヒラメ筋においてBCAAの効果が出現した。以上よりBCAAの筋肉における作用の発現にはGH/IGF-1系が関与する可能性が示唆された。

千里ニュータウンにおける 団地の暮らし再現模型製作プロジェクトに関する考察

博士前期課程（生活造形学専攻） 瓜生 朋恵

【背景・目的】

1950年代半ばから始まった高度経済成長は、日本の住宅史の「近・現代」において、住宅の建設・供給システムだけでなく、住生活や生活文化にまで及ぶ「産業化」を生み出した。日本各地で建設されたニュータウン(以下、NTと記す)では、開設当初「団地族」という言葉が流行し、多くの国民が夢と希望を抱き入居した。しかしながら、開設から数十年を経た現在では「オールドタウン」と揶揄されるまでになり、建物の老朽化や急激な少子高齢化が問題となっている。

日本初の大規模住宅都市として50年前に開発された千里NTは都心への良好なアクセスや周辺環境の良さから今後も一定の住宅需要が見込まれるため、一部の地域においては建て替え事業が推進され、若年世代の新しい住民が増加傾向にある。このように、急激な都市景観の変化や住民の世代交代に伴い、千里NTにおける暮らしの継承や地域アイデンティティの喪失が懸念される。

一方、家政系(生活科学系)大学における住教育では、学生が主体的に学べる実践的・体験的な教材への需要は高い。しかし、住居関連科目の授業の担い手は限られており、教材開発も担当教員が独自に行うものに委ねられているのが現状である。

以上の背景から、筆者を含む大学生は、住生活や住宅の大変革期であった1960年代の住生活に着目し、千里NT第一世代の団地における暮らしの記憶を収集し、集めた記憶を伝えるために暮らし再現型の住宅模型(以下、暮らし再現模型と記す)を製作し、展示する「暮らし再現模型製作プロジェクト」を実施した。プロジェクトは、①住生活史の把握、②社会貢献、③大学生の主体的な住居領域の学びの三つを目標として実施した。

本研究では、上記で記した三つの目標の視点から、暮らし再現模型製作プロジェクトが地域やプロジェクト参加者に及ぼした影響を考察することを目的とする。

【方法】

本研究の方法は、まず1960年代の千里NTの団地における①住生活史の把握を目的として、暮らし再現模型製作プロジェクトを実施し、暮らしの記憶を収集した。その上で、地域、運営主体、大学生3者のプロジェクトに対する評価を調査し、調査で得られた結果をもとに②社会貢献、③大学生の主体的な住居領域の学びの視点から本プロジェクトを考察した。

【結果及び考察】

1960年代の千里NTの団地における暮らしの記憶を収集するための調査により、千里NT入居開始当初の団地暮らしの特徴を把握することができた。当時の社会情勢から、人々のモノに対する思いが強いことがわかった。そのため、その後の景気回復により家庭内の家具家電製品などモノが急増した一方、居住スペースは圧迫された。また、当時先進的であった団地暮らしには不便な部分も多く、特に各部屋の

空間活用、水回り設備に問題があったことがわかった。しかし、居住者は苦労して手に入れた住まいやモノに愛着を持ち、それらを大切に扱うとともに、工夫し、楽しみながら暮らしていたことがわかった。

また、プロジェクト後半では、暮らし再現模型をツールとして暮らしの記憶を収集したことで、より多くの人々から暮らしの記憶を集めることが可能となった。加えて、模型は人々の記憶の想起に役立ち、家具家電製品の使い方など、より細かな記憶を収集することができた。このことから、本プロジェクトは口述史調査の新たな手法として展開できる可能性があることが示唆された。

地域、運営主体を対象に実施した聞き取り調査からは、プロジェクトには、社会貢献活動として二つの異なる効果を期待できることが明らかとなった。一つ目は、住民同士の交流や世代間交流など多くの人々の交流機会を形成することであった。暮らし再現模型製作プロジェクトは、調査、製作、展示とプロジェクトのすべての工程で、地域の交流を促す要素があり、地域活性化に寄与することができた。特に、展示室では、多くの来館者たちが模型を見ながら、当時の暮らしについて会話する場面がみられた。二つ目の効果は、近現代の住生活文化を収集し、それを後世に継承することであった。暮らし再現模型の展示は、博物館来館者が1960年代の暮らしに興味を抱く機会となり、来館者と限定的ではあるが、過去の暮らしを伝えることができた。来館者自身が自発的に、一緒に来た子や孫と、また、見知らぬ他の来館者とも、模型を見ながら当時の暮らしの様子を話す姿がみられた。

以上の結果から、暮らし再現模型製作プロジェクトは、地域の交流を促す地域活動の一手法として、また、人々に住生活史を伝えるための一手法として、展開できる可能性が示唆された。

本プロジェクトに関わった大学生への聞き取り調査の結果から、主体的に取り組んだ学生にとって、本プロジェクトの調査過程では、1960年代の社会情勢や住生活文化について理解を深める機会となっていたことがわかった。また、模型の製作過程では、作業スタッフも暮らし再現模型(縮尺15/100)の製作ノウハウ、当時の住生活文化や建物の構造、家具・家電製品の形体を学ぶ機会となった。展示室では、来館者と対話する中で、プロジェクトや製作物に対する充実感や達成感を体感していた。さらに、プロジェクト全体を通して、メインの学生は調査の手法やプロジェクトのマネジメント手法を習得していた。

このことから、暮らし再現模型製作プロジェクトは大学生にとって、住生活史など専門分野の知識を深めるだけでなく、コミュニケーション力の向上、プロジェクトのマネジメント力の習得など、有意義な活動であったといえる。

【結論】

本研究では、①住生活史の把握、②社会貢献、③大学生の主体的な住居領域の学びの三つの目標の視点から「暮らし再現模型製作プロジェクト」が地域やプロジェクト参加者に及ぼした影響を考察することを目的とした。

調査の結果から、暮らし再現模型製作プロジェクトでは、限定的ではあるものの、千里NTの暮らしを後世に残し、伝えることに寄与できたことがわかった。また、プロジェクトの内容やそのプロセスを分析したところ、再検討する必要があるものの、目標であった①住生活史の把握、②社会貢献、③大学生の主体的な住居領域の学びの一手法として、展開できる可能性が示唆された。