

鳥取県環境学術研究等振興事業費補助金研究実績報告書（環境部門）

研究期間（ 2年目/ 3年間）

研究者 又は 研究代表者	氏名	(ふりがな) とみた しゅうへい 富田 修平
	所属研究機関 部局・職	鳥取大学医学部病態解析医学講座分子薬理学分野 教授 電話番号 0859-38-6161 電子メール tomita@med.tottori-u.ac.jp
研究課題名	クロマグロ内臓を利活用した腸管免疫を賦活化する新規機能性食品素材の創出	
研究結果	動物実験系におけるマグロ内臓利用部位として栄養素などの観点より幽門垂を選定し、回収したマグロ内臓を適切な方法により処理し、動物実験用飼料を作製した。作製した動物実験用飼料を動物実験マウスに適応し実験を行った。腸管免疫評価実験系である、薬剤（デキストラン硫酸ナトリウム）誘発性大腸炎モデルにおいて、マグロ幽門垂含有飼料給餌群での組織評価は軽微ながら炎症誘発の抑制傾向が認められた。組織形態学的観点においても同様に形態学的変化の抑制傾向がうかがえた。培養細胞系での実験においてはAhRレポーターベクターの作製は終了したが、現段階では細胞実験系においては幽門垂粗抽出物を使用することは適していない状況である。細胞培養系での実験計画の変更、見直し、代替法を検討している。	
研究成果	本年度の研究から得られた知見として、動物実験においては、マグロ幽門垂含有飼料給餌群において薬剤誘発性大腸炎を抑制する傾向が示唆された。詳細な作用機序等については更なる解析、検討が必要である。	
次年度研究計画	〔次年度の研究計画について簡潔に記すこと〕 細胞培養系における腸管免疫活性評価系が困難であることか代替法での評価が必要となっている。従って、マグロ内臓含有飼料給餌群及び比較飼料給餌群に薬剤による大腸炎を誘発し、その腸管より炎症、免疫系に関わる細胞を分離し、その活性化状態、細胞分布を解析し、炎症が抑制されているか否かについて解析を行う。	
報告責任者	所属・職 氏名	研究・国際協力部研究協力課・課員・朝野弘昭 0857-31-5494 ken-jyosei@adm.tottori-u.ac.jp

注1) 表題には、環境部門、地域部門、北東アジア学術交流部門のいずれかを記載すること。

2) 「研究期間（ 年目/ 年間）」及び「次年度研究計画」は、環境部門のみ記載すること。

3) 研究者の知的財産権などに関する内容等で、非公開としたい部分は、罫線で囲うなど明確にし、その理由を記すこと。

4) 研究実績のサマリーを併せて提出すること。

平成27年度鳥取県環境学術研究等振興事業 調査研究実績報告（別添資料）

研究方法

動物実験用飼料の作製

動物実験用飼料に使用する幽門垂はミンチしたものを凍結乾燥したものを15%通常飼育飼料に含有し作製した。対照飼料は栄養成分的に同等となるように日本クレア株式会社依頼し、作製を行った。

AhRレポーターベクター作製

AhRレポーターベクターはマウスAhR遺伝子のクローニングを行い、これをレポーターベクターに挿入し、AhRレポーターベクターの作製を行った。

デキストラン硫酸誘発性大腸炎モデルを用いた評価

本実験に使用するマウスは8～12週齢の雌性のものを用いた。

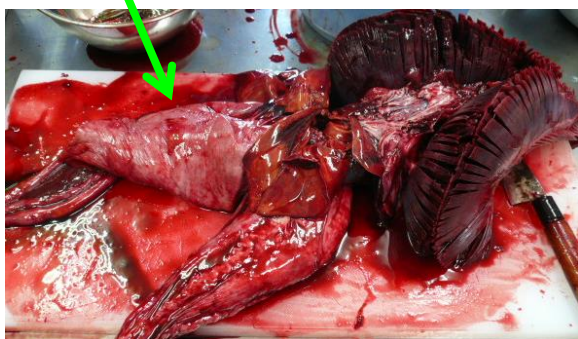
マウスは日本クレアより購入し、基本飼料は日本クレアCE-2を使用した。デキストラン硫酸ナトリウム(DSS)は分子量5000のものを和光純薬より購入し用いた。

給餌飼料は上述の幽門垂含有飼料および比較飼料を給餌することによりおこなった。最終的な実験プロトコールは以下のように定めた。

飼料ローディングを10日間行い、3%DSSを自由飲水させ8日間観察を行った。この間、便性状等を観察し評価項目とした。7日後、マウスより大腸を摘出し、摘出し、固定後パラフィンに包埋薄切しHE染色を行い、組織標本作製した。組織評価は論文報告されている基準に従ってスコアリングし組織評価を行った。

平成27年度鳥取県環境学術研究等振興事業 調査研究実績報告（別添資料）

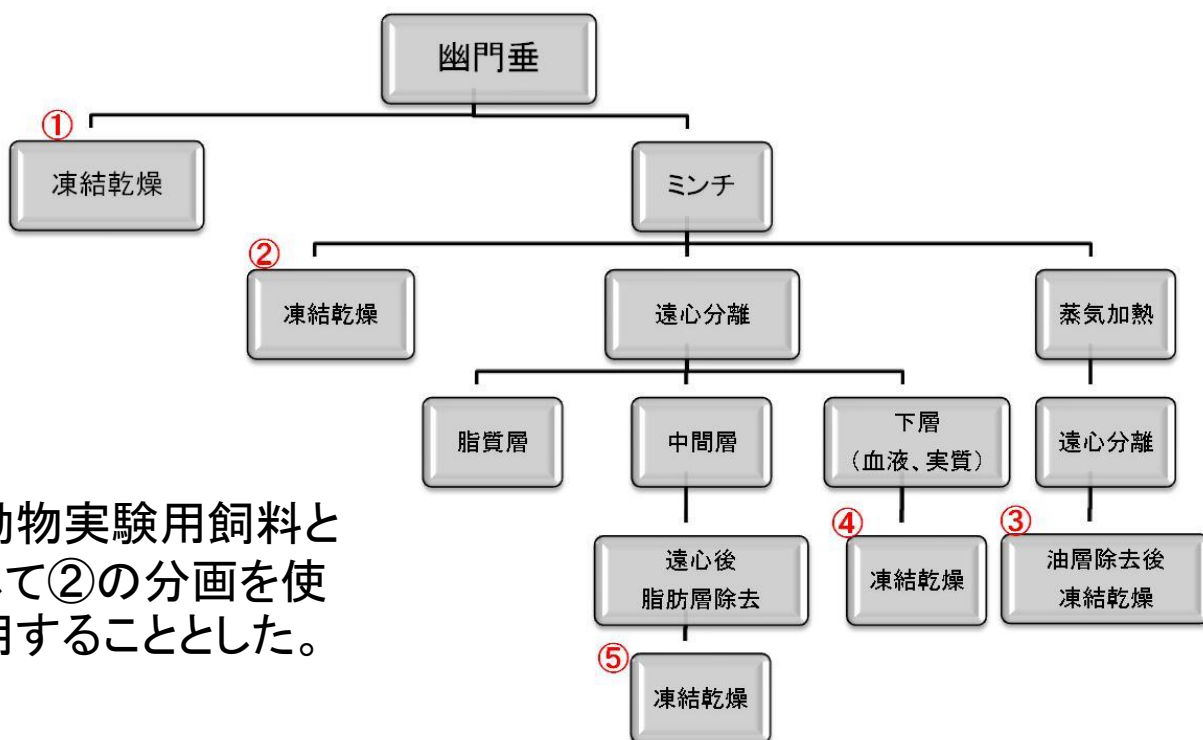
幽門垂



動物実験用飼料

実験に影響を与える因子を取り除き、飼料化を行う必要があったため、成分分析を行い、その結果から大容量にて分画作製を行い。動物実験用飼料分画を作製し、飼料化を行った。

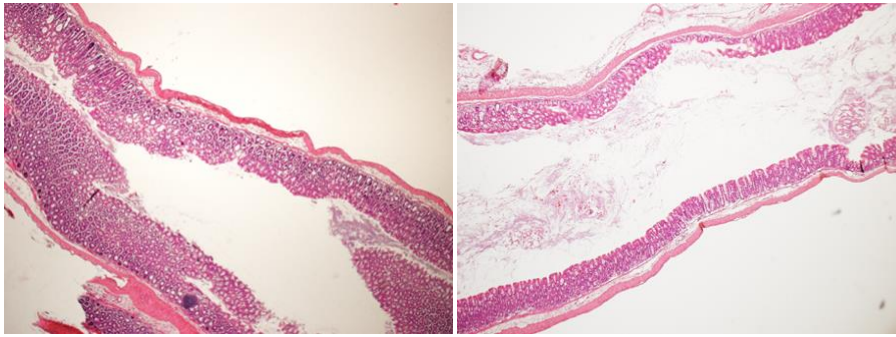
検討を行った幽門垂分画フロー



動物実験用飼料として②の分画を使用することとした。

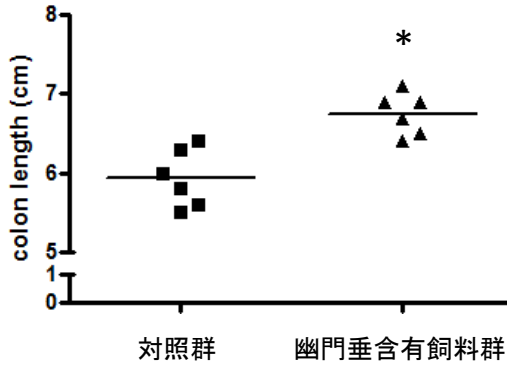
平成27年度鳥取県環境学術研究等振興事業 調査研究実績報告（別添資料）

腸管免疫評価実験系による評価

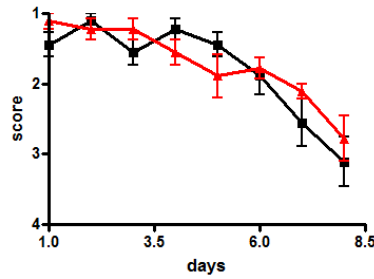


腸管免疫評価に対して薬剤誘発性大腸炎モデルを用いて作製した各飼料を給餌し評価を行った。

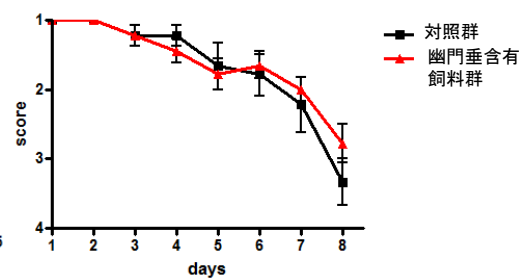
大腸長



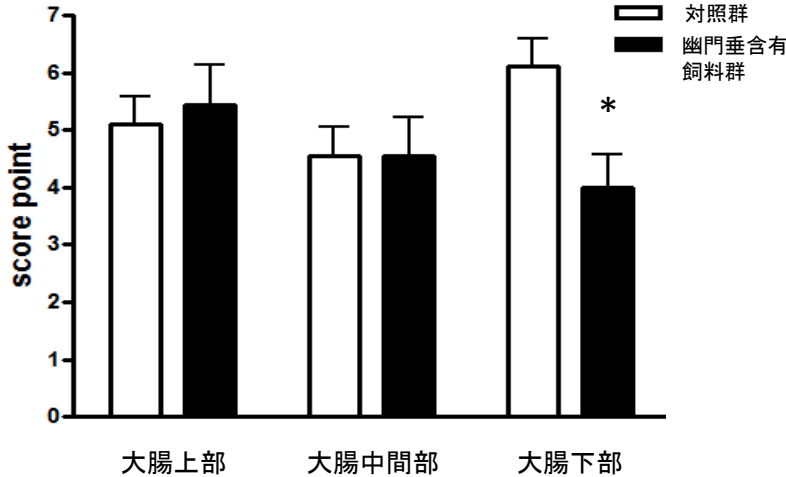
下痢



血便



組織学的大腸障害スコア



これらの動物実験結果からマグロ幽門垂含有飼料群においては対照群と比較し薬剤誘導性大腸炎の炎症誘発抑制傾向が示唆された。