

全粒穀物の摂取が回腸内代謝に及ぼす影響

Influences of whole grain cereal intake on the ileal metabolism

青江 誠一郎¹

¹大妻女子大学家政学部

Seiichiro Aoe¹

¹Faculty of Home Economics, Otsuma Women's University

12 Sanban-cho, Chiyoda-ku, Tokyo, 102-8357 Japan

キーワード：β-グルカン，全粒穀物，回腸，短鎖脂肪酸

Key words : β-glucan, Whole grain cereal, Ileum, Short chain fatty acid

抄録

大麦由来のβ-グルカンを単離精製した素材を脂肪エネルギー比25%の中脂肪食に配合してC57BL/6Jマウスに給餌し、回腸に流入する代謝物のうち、低分子化合物をGC/MSを用いて網羅的に解析した。本結果より、大麦β-グルカンの摂取により、回腸内でも短鎖脂肪酸産生が増加すること、少糖類やアミノ酸類が多く流入することが示唆された。これらは、全て回腸のL細胞に影響を及ぼす成分であった。一方、胆汁酸濃度には差がなかった。

1. 研究の背景と目的

日本人男女の1日あたりの食物繊維の平均摂取量は、1955年では20g以上だったが、現在は約14gまで減少した。この原因として穀類からの食物繊維の摂取の低下が考えられ、2018年では1955年の穀物摂取量の約1/3である。これは、米離れとともに、大麦などの雑穀が食べられなくなったことも一因である。日本人の食事摂取基準（2020年版）では、18歳～64歳の食物繊維の目標量が男性21g、女性18g/日以上であり、目標量と摂取量の差が大きい。かつてのレベルまで食物繊維の摂取量を戻すためには、穀類の摂取量を増やすことが一つの方法である。

近年になって全粒穀物の摂取は、肥満、2型糖尿病、冠状動脈疾患のリスク低減に有効とするシステマティックレビューが報告された^[1]。さらに、朝食に全粒穀物を摂取することにより糖尿病、冠状動脈疾患の相対リスクが低下するというメタアナリシスの結果が報告された^[2]。最新のシステマティックレビューによれば、1日16gの全粒穀物摂取で全死亡リスクが7%低下、1日48gの摂取で20%低下することが示され、改めて全粒穀物摂取の重要性が示された^[3]。また、全粒穀物の効果に関して、64報の論文についてメタ解析が行われた^[4]。

その結果、1日90gの全粒穀物の摂取は、冠状動脈性心疾患、心血管疾患、全てのガン、呼吸器、感染症、糖尿病、その他疾患が原因の死亡率のリスクを低下させることを示した。なお、1日90gは、3サービングに相当する。

しかしながら、一口に全粒穀物とは言っても、不溶性食物繊維に富む全粒小麦や玄米、水溶性食物繊維を含む大麦、オート麦、ライ麦などがあり、食物繊維の質や量、健康効果も異なる。そこで本研究では、対照的な性質を持つ2種類の全粒穀物中の食物繊維に着目して機能比較を行うこととした。一つは、水溶性食物繊維給源の代表で、日本で多く摂取されている大麦由来のβ-グルカンを取り上げた。もう一つは、不溶性食物繊維給源の代表で、最も多く摂取されている全粒小麦由来のアラビノキシランを取り上げた。これまでに、大麦は代謝性疾患の予防・改善に、全粒小麦は腸疾患の予防や改善に有効とされる報告が多い。そして、これら食物繊維の作用部位は、消化吸收を遅延する胃～十二指腸ならびに、腸内発酵、排便に関与する大腸への影響を調べた研究がほとんどであった。

本研究では、食物繊維の消化されない性質が、消化管下部、すなわち回腸の代謝に及ぼす影響を

検討することを目的とした。回腸は、小腸上部とは異なり、栄養素の消化吸收よりは、各種受容体やトランスポーターを介した再吸収、腸肝循環やL細胞を介した消化管ホルモン分泌が行われている臓器である。消化吸收されない性質をもつ食物繊維が回腸でどのような機能を担っているのか、それが全身の代謝にどのように働いているのかを調べた研究がこれまでに例がない。そこで、2種類の全粒穀物由来の水溶性食物繊維を配合した飼料をマウスに給餌し、回腸に流入する栄養素、分泌物、代謝物などを検討した。本報告では、大麦由来の β -グルカンの結果について記載する。

2. 方法

2.1. 動物実験

大麦由来の β -グルカンを4%となるように脂肪エネルギー比25%の中脂肪食に配合した。大麦由来の β -グルカンは、メガザイム社の高分子タイプを用いた。実験に用いた飼料組成を表1に示す。

表1 飼料組成 (g/kg 飼料)

	対照	大麦 β -グルカン
カゼイン	200.0	200.0
L-シスチン	3	3
コーンスターチ	355.486	314.986
α コーンスターチ	132.0	132.0
ショ糖	100	100
大豆油	70.0	70.0
ラード	42.0	42.0
セルロース	50	10
大麦 β グルカン		40
AIN-93Gミネラル混合	35	35
AIN-93ビタミン混合	10	10
重酒石酸コリン	2.5	2.5
t-ブチルヒドロキノン	0.014	0.014

4週齢の雄C57BL/6Jマウス（日本チャールス・リバー株式会社）を用いた。固形飼料（NMF、オリエンタル酵母工業株式会社）で1週間の予備飼育後、体重が均一になるように1群8匹に群分けした。マウスには表1に示した実験飼料と水を61日間自由摂取させ、体重と飼料摂取量を2日おきに測定した。なお、飼育環境は、室温 $22\pm 1^\circ\text{C}$ 、

湿度 $50\pm 5\%$ 、12時間の明暗サイクル（8:00~20:00）とした、実験最終日に、飼料摂取量、体重を測定後、8時間絶食させ、イソフルラン・炭酸ガスで安楽死後、開腹し、心臓より血液を採取した。肝臓、後腹壁脂肪、腸間膜脂肪、副睾丸周辺脂肪組織、回腸、盲腸を摘出した。回腸は盲腸より上20cmを切り出し、蒸留水で内容物を回収した。採取した血液は、血清を分離し、総コレステロール、LDL-コレステロール、HDL-コレステロール、トリグリセリド、遊離脂肪酸濃度を酵素法にて分析した。分析はドライケムを用いて分析した。

2.2. 大麦由来の β -グルカンを摂取したマウスの回腸内容物メタボローム解析

回腸内容物は、凍結乾燥後、イソプロパノール:アセトニトリル:水から成る単一相の混合液(体積比3:3:2)を2mL使用し、 20°C で5分間抽出した。3000rp、10分間遠心分離後、上澄みを0.5mL取り分けて完全に乾固させた。内部標準としてd24ミリスチン酸を $2\mu\text{L}$ 添加後、アジレント社のプロトコールにしたがい、残留物を誘導体化した。まず、メトキシアミン塩酸塩濃度 40mg/mL のピリジン溶液を $10\mu\text{L}$ 使用し、 30°C で90分のメトキシ化処理を行うことによってカルボニル基を修飾した。次に、化合物の揮発性を高めるために、1%のトリメチルクロロシランを含むN-メチル-N-トリメチルシリルトリフルオロアセトアミド(MSTFA+1% TMCS, Thermo Fisher 製)の混合溶液を $90\mu\text{L}$ 使用し、 37°C で30分かけてサンプルを誘導体化した。

GC/MSを用いたメタボローム解析の測定条件を以下に示す。

装置: 7890 GC/5975C MSD with 7693 自動前処理機能付きオートサンブラ

カラム: DB-5ms + Duragurd (10m) 30m, 0.25mm, 0.25 μm

注入量: $1\mu\text{L}$

注入法: スプリット, 10:1

注入口温度: 250°C

オープン : $60^\circ\text{C}(7\text{min})-10^\circ\text{C}/\text{min}-325^\circ\text{C}(10\text{min})$

カラム流量: $1.1\text{ml}/\text{min}$ (定流量モード)

インターフェース温度: 290°C

イオン源温度: 250°C

測定モード: スキャン測定, 質量範囲, m/z 50-600

2.3. 大麦由来の β -グルカンを摂取したマウスの回腸内容物の短鎖脂肪酸解析

回腸内容物のイソプロパノール:アセトニトリル:水抽出物の上澄みから以下の手順で短鎖脂肪酸と有機酸を抽出し、GC/MSにて短鎖脂肪酸と有機酸を定量した。定量値は、抽出液2ml中の濃度とした。抽出液を30 μ L測りとり、100 μ Mクロトン酸および濃塩酸、ジエチルエーテル加えて有機酸を抽出した。遠心分離(3000rpm, 10min)後、上層(エーテル層)を採取し、誘導体化した。分析条件は既報にしたがい、以下の条件で行った^[5]。

誘導体化: MTBSTFA (シグマ社) を90 μ L添加, 80°C, 20分間反応, 48時間室温静置

装置: 7890 GC/5975C MSD with 7693 自動前処理機能付きオートサンブラ

カラム: DB-5ms + Duragurd (10m) 30m, 0.25mm, 0.25 μ m

注入量: 1 μ L

注入法: スプリット, 10:1

注入口温度: 250°C

オープン: 60°C(7min)-10°C/min-325°C(10min)

カラム流量: 1.1ml/min (定流量モード)

インターフェース温度: 290°C

イオン源温度: 250°C

測定モード: SIM モード測定

以下の標準物質を用いて、10種類の有機酸を同定し、内部標準物質(クロトン酸)との比から濃度を算出した。標準物質は、ギ酸、酢酸、プロピオン酸、イソ酪酸、酪酸、イソ吉草酸、吉草酸、乳酸、コハク酸を用いた(いずれも和光純薬(株)製)。

2.4. 大麦由来の β -グルカンを摂取したマウスの回腸内容物の胆汁酸解析

回腸内容物のイソプロパノール:アセトニトリル:水抽出物の上澄みを200 μ Lとり、酵素法にて総胆汁酸濃度を測定した。総胆汁酸測定には、総胆汁酸-テストワコー(富士フィルム和光純薬製)を用いた。定量値は、抽出液2ml中の濃度とした。

3. 結果と考察

3.1. 臓器重量, 血清脂質

肝臓, 腹腔内脂肪組織(副睪丸周辺脂肪, 後腹壁脂肪, 腸間膜脂肪)は, 対照群に比べて, 大麦

β -グルカン群で有意に低値を示した。一方, 盲腸重量は, 対照群に比べて, 大麦 β -グルカン群で有意に高値を示した。

血清脂質は, 総コレステロール, LDL-コレステロール, トリグリセリド, 遊離脂肪酸濃度が対照群に比べて, 大麦 β -グルカン群で有意に低値を示した。

以上のことより, 大麦 β -グルカンには, 腹腔内脂肪蓄積抑制作用, 血清脂質改善作用が確認された。

3.2. 大麦由来の β -グルカンを摂取したマウスの回腸内容物メタボローム解析

回腸内容物として主に以下の物質が検出された。

- 1) 糖類: キシロース, フコース, グルコース, ガラクトース, ラムノース, マンノース, マンニトール, 乳糖
- 2) アミノ酸類: バリン, アラニン, ロイシン, イソロイシン, プロリン, セリン, スレオニン, グリシン, メチオニン, アスパラギン酸, β -アラニン
- 3) 細胞内代謝産物: ピルビン酸, オキサロ酢酸, グリセロール, フマル酸, リンゴ酸
- 4) 遊離脂肪酸: カプリル酸, カプリン酸, リノール酸
- 5) ステロール類: コプロスタン3-オン, 4-コレステレン-3-オン, ラノステロール, コール酸
- 6) 有機酸類: プロピオン酸, 乳酸, グリコール酸, 酢酸, 酪酸, コハク酸
- 7) その他: ニコチン酸

検出された全成分について1.3倍以上の差があるものを抽出し, アジレント社の多変量解析ソフト(Mass Profiler Professional; MPP)を用いて, 主成分分析を行った結果を図1に示す。

第一主成分: 58.0%

第二主成分: 11.6%

第三主成分: 10.6%

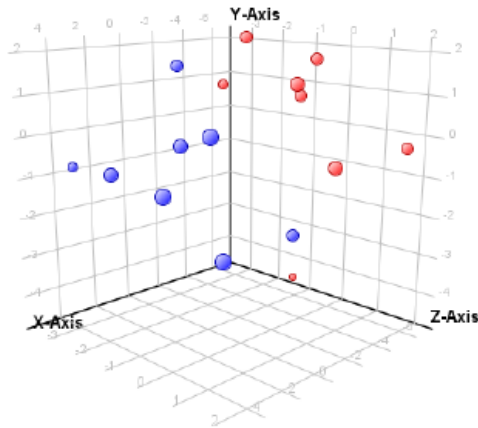


図1 回腸内容物のメタボローム解析結果の主成分分析
赤は、対照群、青は大麦β-グルカン群

本結果より、明らかに対照群と大麦β-グルカン群の回腸内容物が異なることが示された。

次にクラスター解析の結果を図2に示す。赤は、対照群、青は大麦β-グルカン群を示す。大麦β-グルカン群1例を除いて、対照群と大麦β-グルカン群が分離された。その中でも遊離アミノ酸とコハク酸が異なることが示された。また、データベースにはない16種類の物質が異なることが示された。

以上のように、大麦β-グルカンの摂取によって、回腸内の物質は、対照群とは明らかに異なり、回腸内の代謝が異なることが示された。

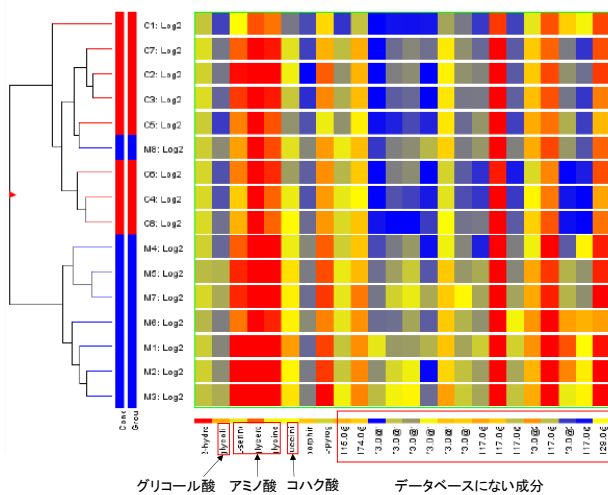


図2 回腸内容物のメタボローム解析結果のクラスター分析

3.3. 大麦由来のβ-グルカンを摂取したマウスの回腸内容物の短鎖脂肪酸解析

回腸内容物の短鎖脂肪酸濃度を図3に示す。

検出された短鎖脂肪酸の中で、酢酸が最も多く、次いで酪酸も検出された。両短鎖脂肪酸ともに、大麦β-グルカン群が対照群に比べて有意に濃度が高かった。

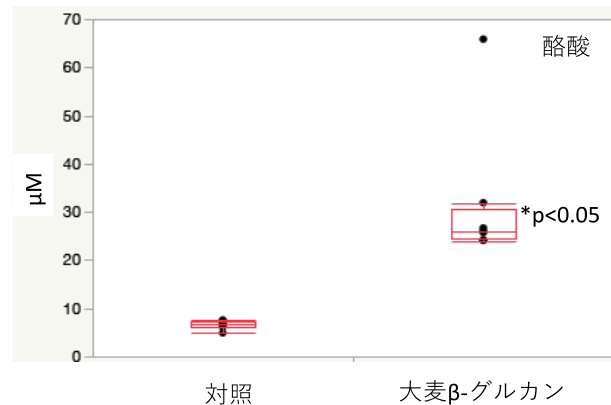
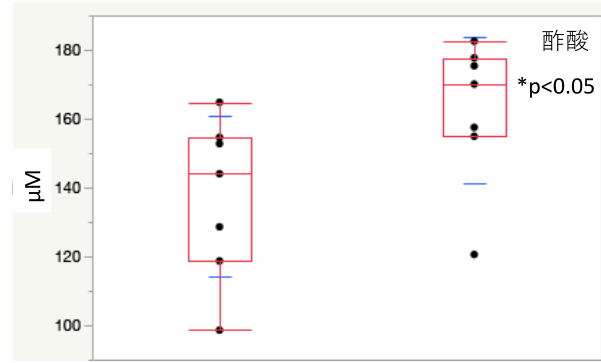


図3 回腸内容物の酢酸、酪酸濃度

以上のことより、回腸内でも大麦β-グルカンは腸内細菌により発酵をうけることが証明された。回腸における短鎖脂肪酸の産生は回腸に多く存在するL細胞の代謝に影響を与えると推察された。

3.4. 大麦由来のβ-グルカンを摂取したマウスの回腸内容物の胆汁酸解析

回腸内の総胆汁酸濃度を図4に示す。全体的にバラツキが多く、有意差は検出されなかった。胆汁酸は摂食後に多く分泌されることから、絶食時間を考慮する必要があるかもしれない。また、一胆汁酸と二次胆汁酸を分別定量することで差が見出されるかもしれない。胆汁酸代謝は今後の課題

である。

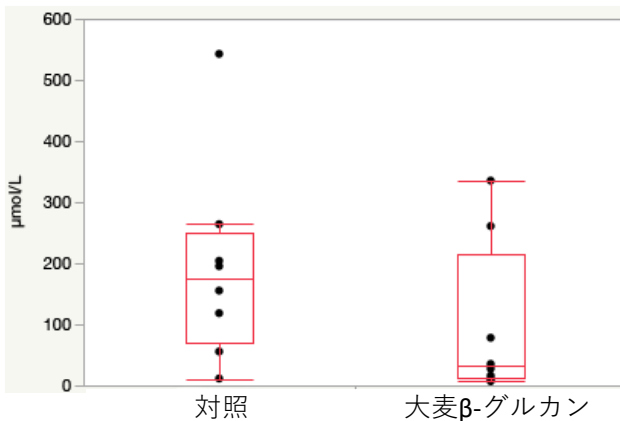


図4 回腸内容物の胆汁酸濃度

付記

本研究は大妻女子大学戦略的個人研究費 (S1905) の助成を受けたものです。

引用文献

[1] Cho, S.S. et al. Consumption of cereal fiber,

mixtures of whole grains and bran, and whole grains and risk reduction in type 2 diabetes, obesity, and cardiovascular disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2013, 98, p.594-619.

[2] Williams, P.G. The benefits of breakfast cereal consumption: a systematic review of the evidence base. *Adv. Nutr.*, 2014, 5, p.636S-673S.

[3] Zong, G. et al. Whole Grain Intake and Mortality From All Causes, Cardiovascular Disease, and Cancer: A Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. *Circulation*, 2016, 14, p.2370-2380.

[4] Aune, D. et al. Whole grain consumption and risk of cardiovascular disease, cancer, and all cause and cause specific mortality: systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *BMJ*, 2016, 353, i2716.

[5] Atarashi K. et al. Treg induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota. *Nature*, 2013, 500, p.232-236.

(受付日：2020年7月1日，受理日：2020年7月9日)

青江 誠一郎 (あおえ せいいちろう)

現職：大妻女子大学家政学部教授

千葉大学大学院自然科学研究科博士後期課程修了。

専門は栄養生化学。現在は、全粒穀物、藻類、乳成分摂取によるメタボリックシンドローム予防効果と作用メカニズムの研究を動物およびヒト介入試験で行っている。

主な著書：食物繊維 基礎と応用（共著，第一出版）