

マウスのメタボリックシンドローム関連指標に及ぼす 穀物繊維とプロバイオティクスの組み合わせ効果

Combined effects of cereal fiber and probiotics
on the parameters related to metabolic syndrome in mice.

大竹 那実
Nami Otake

大妻女子大学大学院 人間文化研究科 人間生活科学専攻 修士課程

キーワード：穀物繊維，プロバイオティクス，メタボリックシンドローム
Key words : Cereal fiber, Probiotics, Metabolic syndrome

1. 研究目的

内臓脂肪型肥満は、脂質異常症や高血圧、糖尿病などの生活習慣病を合併することが多く、動脈硬化を促進し、心筋梗塞や脳梗塞の危険性を高める。このような病態をメタボリックシンドロームとよぶ。平成 30 年度国民健康栄養調査によると、肥満者(BMI 値 25 以上)の割合は男性の 32.2%、女性の 21.9%であり、この 10 年間ほぼ横ばいで推移しているが、いまだ男性では 3 人に 1 人以上が肥満である。近年、メタボリックシンドロームの予防または改善の食事について、Synbiotics が注目を集めている。Synbiotics とは、Probiotics と Prebiotics の組み合わせによる相乗効果であり、消化不能な物質である Prebiotics が、Probiotics 細菌の作用を活性化・増強する。Probiotics とは、「腸内フローラのバランスを改善することにより人に有益な作用をもたらす生きた微生物」と英国の微生物学者 Fuller により定義されている。Prebiotics とは、①消化管上部で分解・吸収されない、②大腸に共生する有益な細菌の選択的な栄養源となり、それらの増殖を促進する、③大腸の腸内フローラ構成を健康的なバランスに改善し維持する、④宿主の健康に有益な全身的な効果を誘導する、これらの条件を満たす食品成分を示すと英国の微生物学者

Gibson により定義されている。

本研究では、Prebiotics として穀物繊維を使用し、Probiotics は資化性実験を行い決定する。Probiotics や穀物繊維の摂取による短鎖脂肪酸の増加は、消化管内の pH を低下させ、酸耐性の弱い腸内有害菌を減少させる。一方、酸性環境下で生育可能な腸内有用菌が増加し、腸内環境を良好に保つ。これまでに、穀物繊維と Probiotics の組み合わせによる Synbiotics 効果について、メタボリックシンドローム関連指標に及ぼす影響は検証されていないが、Probiotics が穀物繊維を発酵することにより腸内環境を整え、単独摂取以上の良い効果を期待することができる。Synbiotics の適切な組み合わせを見つけ、病気の予防に努めることが目的である。

2. 研究実施内容

①資化性実験 (in vitro)

本実験の Probiotics を決定するために、菌の穀物繊維資化性を比較した。酪酸菌、プランタラム菌、カゼイ菌、フェカーリス菌をそれぞれ BHI, MRS, BHI, GAM 培地で培養した。グルコースを添加し、菌を継代培養した培養液を、穀物繊維添加培地にそれぞれ移し、2 日間培養した。pH、濁度(吸光度法)、短鎖脂肪酸(GC/MS 法)を分析し、発酵度を比較した。

結果

pH, 濁度, 短鎖脂肪酸の測定において, プラントラム菌による穀物繊維の発酵が著しく認められた. プラントラム菌を Probiotics に選定した.

②動物実験 (in vivo)

4週齢の雄 C57BL/6J マウス 32匹を1週間飼育室で順応させた後, 体重が各群均一になるように1群8匹ずつの4群に群分けした. 動物は室温 $22\pm 1^\circ\text{C}$, 湿度 $50\pm 5\%$, 12時間明暗サイクルで飼育した. コントロール(以下, C群)の飼料は, AIN-93G組成を基本とし, 脂肪エネルギー比が50%になるようにラードを添加した. 試験群は, 大麦(White Fiber; 以下, W群), *L.plantarum* TO-A株(以下, P群), 大麦と *L.plantarum* TO-A株の組み合わせ(以下, LP群)とし, 各群の総食物繊維量が5%になるようにセルロースで調整した(Table 1). 12週間の飼育期間中は, 飼料と水を自由摂取させ, 2~3日毎に体重と飼料摂取量を測定した. 耐糖能試験は, 飼育11週目に6時間絶食させた後, 20%グルコース溶液を1.5g/1kg体重となるようにマウスの胃内に投与し, 経時的に血糖値を測定した. 血圧測定は, 飼育最終日にマウス非観血圧測定装置で測定した. また, 飼育最終日は6時間絶食後, イソフルラン/CO₂麻酔下で安楽死させ, 心臓より採血, 肝臓, 盲腸, 後腹壁脂肪組織, 副睾丸周辺脂肪組織, 腸間膜脂肪組織を摘出し重量を測定した. 採取した血液は, TG, 遊離脂肪酸, TC, HDL-Cを酵素法にて測定した. 肝臓はFolch法により脂質を抽出後, TGとTCを酵素法にて測定した. 盲腸内短鎖脂肪酸はクロトン酸を内部標準としてGC/MS法にて測定した.

Table 1: 飼料組成 (g/kg diet)

	C群	W群	P群	WP群
コンスターチ	197.5	-	197.5	-
α化コンスターチ	132.0	27.3	112.0	7.3
ミルクカゼイン	200.0	157.4	200.0	157.4
グラニュー糖(ショ糖)	100.0	100.0	100.0	100.0
大豆油	70.0	70.0	70.0	70.0
ラード	200.0	192.4	200.0	192.4
セルロースパウダー	50.0	-	50.0	-
プラントラム菌	-	-	20.0	20.0
ホワイトファイバー	-	402.4	-	402.4
ミネラルミックス	35.0	35.0	35.0	35.0
ビタミンミックス	10.0	10.0	10.0	10.0
L-シスチン	3.0	3.0	3.0	3.0
重酒石酸コリン	2.5	2.5	2.5	2.5
トピチルヒドロキノン	0.014	0.014	0.014	0.014

結果

飼料効率, 終体重, 体重増加量, 肝臓重量, 後腹壁脂肪重量と腸間膜脂肪重量において, White Fiberの摂取で有意に低下した. 一方, 飼料摂取量に有意差がみられなかったことから, 各群のエネルギー摂取量は, 同等であると判断した. これらの成長結果から, White Fiberの摂取により, 脂肪蓄積による体重増加を抑制することを示した. また, 糖代謝, 脂質代謝改善作用は, White Fiberの効果が顕著に認められ, *L.plantarum*の効果と相乗効果は検出されなかった. 血圧については, *L.plantarum*の作用も一部検出されたが, 盲腸重量ならびに盲腸内短鎖脂肪酸量に有意差が認められなかったことから, 腸内発酵を介していない作用であると考えられた.

3. まとめと今後の課題

本研究では, *in vitro* 実験で穀物繊維の発酵が確認された *L.plantarum* TOA株を Probiotics に選定し, *in vivo* 実験で大麦と *L.plantarum* TOA株の相乗効果について調べた. 動物実験の結果, 大麦と *L.plantarum* TOA株の組み合わせ摂取による腸内発酵を介した効果を明らかにすることができなかった. そこで, 過去に菌単独での有効性が認められた *L.plantarum* 284株を用いて追試を行う. 併せて, *L.plantarum* TOA株と *L.plantarum* 284株の菌株の比較を行う. 胃内投与ではなく, 経口投与による菌の有効性を検出し, メタボリックシンドローム関連指標に及ぼす穀物繊維との相乗効果を検討することが今後の課題である.

4. この助成による発表論文等

なし.

主要参考文献

- [1] 厚生労働省, 平成30年国民健康・栄養調査結果の概要(2019)
- [2] Gracie, DJ and Ford, AC: Symbiotics in irritable bowel syndrome—better than probiotics alone? Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care, 18(5). pp.485-489, ISSN, 1363-1950(2015)
- [3] Fuller, R.: Probiotics in man and animals. J. Appl. Bacteriol, 66, 365-378 (1989)
- [4] Gibson, G.R. : J. Nutr, 125.1401(1995)