

食物繊維に富む穀物の摂取が回腸および盲腸の胆汁酸代謝に及ぼす影響

Influences of dietary fiber-rich cereal intake on the ileal and cecal bile acid metabolism

青江 誠一郎

大妻女子大学家政学部

Seiichiro Aoe

Faculty of Home Economics, Otsuma Women's University

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

キーワード：大麦， β -グルカン，小麦，アラビノキシラン，胆汁酸

Key words : Barley, β -glucan, Wheat, Arabinoxylan, Bile acid

抄録

大麦由来の β -グルカンならびに小麦由来のアラビノキシランを単離精製した素材を配合した飼料をC57BL/6Jマウスに給餌し、回腸に流入および盲腸を経由して糞中に排泄される胆汁酸量を調べた。本結果より、大麦 β -グルカンの摂取により、糞中脂質の排泄は促進したが、回腸に流入および糞中に排泄される胆汁酸量は減少傾向にあることが明らかとなった。一方、小麦由来のアラビノキシランの摂取は、回腸に流入および糞中に排泄する胆汁酸量に影響を与えないことが示された。以上により、大麦由来の β -グルカンならびに小麦由来のアラビノキシランの血清コレステロール濃度低下作用はこれまで提唱されてきた胆汁酸排泄促進ではない可能性が示された。

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。日本人の食事摂取基準(2020年版)では、18歳~69歳の食物繊維の目標量が男性21g、女性18g以上/日であり、目標量と摂取量の差が大きい。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、2019年の穀物摂取量は、1955年の約1/3である。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。特に、食物繊維に富む穀物の選択が重要である。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]。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、改めて穀物摂取の重要性が示された^[2]。

全粒穀物中の食物繊維が脂質代謝を改善するメカニズムとして、胆汁酸のミセル形成阻害ならびに排泄促進に伴うコレステロールの異化促進が定

説である。胆汁酸を吸着する性質のある食物繊維や粘性のある食物繊維は、胆汁酸のミセル形成を阻害して脂質の吸収を抑制するとともに、回腸からの胆汁酸の再吸収を阻害し、肝臓でコレステロールを原料として胆汁酸合成が促進されるというメカニズムが主流である。しかし、著者らの動物実験において全粒穀物を摂取しても糞中胆汁酸は増加しないという結果が得られており、仮説と矛盾する。このように、穀物中の食物繊維が脂質代謝を改善することは事実であるが、これまで穀物中の食物繊維が胆汁酸代謝にどのように影響しているか再確認した研究は行われていなかった。

本研究は、異なる穀物由来の食物繊維成分(大麦 β -グルカンと小麦アラビノキシラン)を摂取した際に、回腸および盲腸に流入する胆汁酸を調べ、回腸および盲腸を介した胆汁酸代謝に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

2. 方法

2.1. 動物実験1(大麦 β -グルカン実験)

大麦由来の β -グルカンを4%となるようにAIN-93G組成の飼料に配合した。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 diet	
	対照	β -グルカン
カゼイン	200.0	200.0
L-シスチン	3.0	3.0
コーンスターチ	355.5	315.0
α コーンスターチ	132.0	0.0
ショ糖	100.0	100.0
大豆油	70.0	70.0
ラード	42.0	42.0
セルロース	50.0	30.0
β -グルカン*		192.5
AIN-93Gミネラル混合	35.0	35.0
AIN-93ビタミン混合	10.0	10.0
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

* β グルカンを溶解後、コーンスターチと混合して凍結乾燥 (β -グルカン11.4%)

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。回腸は盲腸より上 20cm を切り出し、蒸留水で内容を回収した。採取した血液は、血清を分離し、総コレステロール、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. 動物実験 2 (小麦アラビノキシラン実験)

本実験には、小麦フスマより抽出・精製した小麦アラビノキシランを使用した。抽出および精製は Prosky 変法の水溶性食物繊維を分析する方法で

分画した。小麦アラビノキシラン調製品の総食物繊維含量は 79.2% であり、アラビノキシラン含量は 50.3% であった。

動物実験の飼料組成を表 2 に示す。試験群は、対照群、小麦アラビノキシラン群の 2 群とした。AIN-93G 組成の飼料を基本として、脂肪エネルギー比が 50% になるように、ラードを添加した。小麦アラビノキシランは総食物繊維量が 5% になるように配合した。各群のたんぱく質量が等しくなるようにカゼインを調整した。

表 2. 飼料組成

	g/kg diet	
	対照	アラビノキシラン
アルファ化コーンスターチ	132.0	132.0
コーンスターチ	197.5	188.7
ミルクカゼイン	200.0	195.6
グラニュー糖 (ショ糖)	100	100
大豆油	70	70
ラード	200	200
セルロースパウダー	50	-
小麦アラビノキシラン (TDF 79.2%)	-	63.1
ミネラルミックス (AIN-93G)	35	35
ビタミンミックス (AIN-93)	10	10
L-シスチン	3	3
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) 20 匹を用いた。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 10 匹に群分けした。マウスには表 2 に示した実験飼料と水を 12 週間自由摂取させ、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 (9:00~21:00) 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。回腸は盲腸より上 20cm を切り出し、蒸留水で内容を回収した。採取した血液は、血清を分離し、総コレステロール、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。

2.3. 回腸内容物および糞中の胆汁酸解析

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。糞中胆汁酸は、80°Cの熱エタノールで3回抽出し、遠心分離にて上澄を分取、乾固後、エタノールに再溶解して分析に供した。総胆汁酸測定は、総胆汁酸-テストワコー（富士フイルム和光純薬製）を用いた。定量値は、回腸内容物は抽出液 2ml 中の濃度とし、糞中胆汁酸は乾燥糞 1g あたりの濃度とした。糞中胆汁酸の組成は、既報に従い酵素にて抱合型胆汁酸を脱抱合し、誘導体化後に GC/MS にて測定した^[3]。乾燥糞に蒸留水を加えて 90°C、10 分加熱後、コロイルグリシンヒドロラーゼ (15 units)、スルファターゼ (150 units) を含む酢酸ナトリウム緩衝液 (pH5.6, 100mM) を入れ、37°C で 16 時間脱抱合させた。次に、80°C 熱エタノールで 1 時間胆汁酸を抽出した。遠心分離後、上澄を分取し、90%エタノール (0.1N 酢酸) を加え、乾固後、メタノール：トルエン：トリメチルシリルジアゾメタン (10%ヘキサン) = 1 : 4 : 2.5 溶液を加えて、30 分間反応させた。再度乾固後、1-トリメチルシリルイミダゾール：ピリジン：トリメチルクロロシラン = 10 : 5 : 1 を加え、60°C で 40 分誘導体化してから GC/MS 分析に供した。

3. 結果と考察

3.1. 成長結果

大麦 β -グルカン実験では、両群ともに成長は良好で飼料摂取量、体重増加量、飼料効率に群間差はなかった。臓器重量は、 β -グルカン群の後腹壁脂肪重量が、対照群に比べて有意に低値を示し、腹腔内脂肪蓄積抑制作用が認められた。

小麦アラビノキシラン実験では、飼料摂取量には差がなかったが、体重増加量は小麦アラビノキシラン群で低下傾向にあり、飼料効率は、小麦アラビノキシラン群が、対照群に比べて有意に低値を示した。臓器重量は、小麦アラビノキシラン群の後腹壁脂肪および腸間膜脂肪重量が、対照群に比べて有意に低値を示し、腹腔内脂肪蓄積抑制作用が認められた。

3.2. 血清脂質

大麦 β -グルカン実験の血清脂質濃度を表 3 に示す。血清総コレステロール濃度は、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、血清トリグリセリドおよび遊離脂肪酸濃度には群間差は認められなかった。本結果は、これまで大麦摂取による血清コレステロール低下作用は、大麦中の β -グルカンが関与することを示すものである。

表 3. 血清脂質濃度 (大麦 β -グルカン実験)

	対照	β -グルカン
総コレステロール (mg/dl)	184.1 \pm 45.6	138.5 \pm 15.9*
トリグリセリド (mg/dl)	71.8 \pm 19.7	84.8 \pm 14.2
遊離脂肪酸 (μ Eq/l)	616.1 \pm 72.0	589.6 \pm 60.9

平均値 \pm 標準偏差を表す。

*対照群と比べて有意差あり (p<0.05)

表 4. 血清脂質濃度 (小麦アラビノキシラン実験)

	対照	小麦アラビノキシラン
総コレステロール (mg/dl)	190.3 \pm 24.0	145.7 \pm 30.5*
トリグリセリド (mg/dl)	85.3 \pm 9.6	92.8 \pm 14.8
遊離脂肪酸 (mEq/L)	0.45 \pm 0.06	0.47 \pm 0.06

数値は平均値 \pm 標準偏差を表す。

*対照群と比べて有意差あり (p<0.05).

小麦アラビノキシラン実験の血清脂質濃度を表4に示す. 血清総コレステロール濃度は, 対照群に比べて小麦アラビノキシラン群で有意に低値を示した. 一方, 血清トリグリセリドおよび遊離脂肪酸濃度には群間差は認められなかった. 本結果は, これまで小麦フスマあるいは全粒小麦摂取による血清コレステロール低下作用は, 小麦中のアラビノキシランが関与することを示すものである.

3.3. 回腸内容物および糞便胆汁酸濃度

大麦β-グルカン実験における回腸内および糞便胆汁酸濃度を図1に示す. 当初, 回腸と盲腸の胆汁酸濃度を測定する計画であったが, 盲腸に流入し, 再吸収されなかった胆汁酸を測定するには糞便が適すると判断し, 変更した.

その結果, 総脂質の排泄促進作用が認められたが(データ省略), 胆汁酸濃度は回腸内では低値傾向にあり, 糞便中の胆汁酸濃度も対照群よりも少なかった(有意差なし). したがって, これまで提唱された血清コレステロール濃度低下作用は, 腸肝循環する胆汁酸の排泄促進作用によるものではないことが示された.

小麦アラビノキシラン実験における回腸内および糞便胆汁酸濃度を図2に示す. その結果, 回腸内の胆汁酸濃度は両群間で差がなかった. また, 糞便中の胆汁酸濃度も両群間でほぼ同じであった. したがって, 小麦アラビノキシランは, 血清コレステロール濃度低下作用を有するが, 胆汁酸排泄促進によるものでないことが示された.

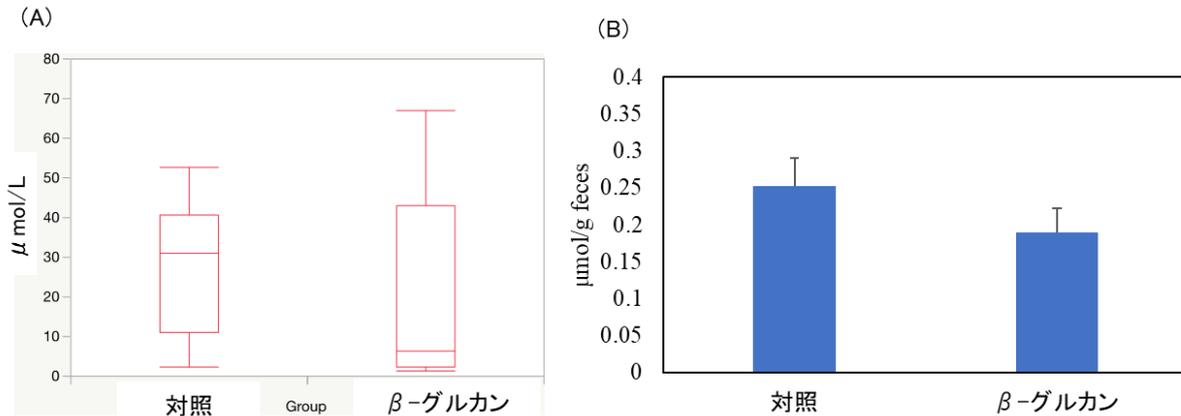


図1. 回腸内容物 (A) および糞便 (B) 胆汁酸濃度
(大麦β-グルカン実験)

(B) のエラーバーは標準誤差を表す.

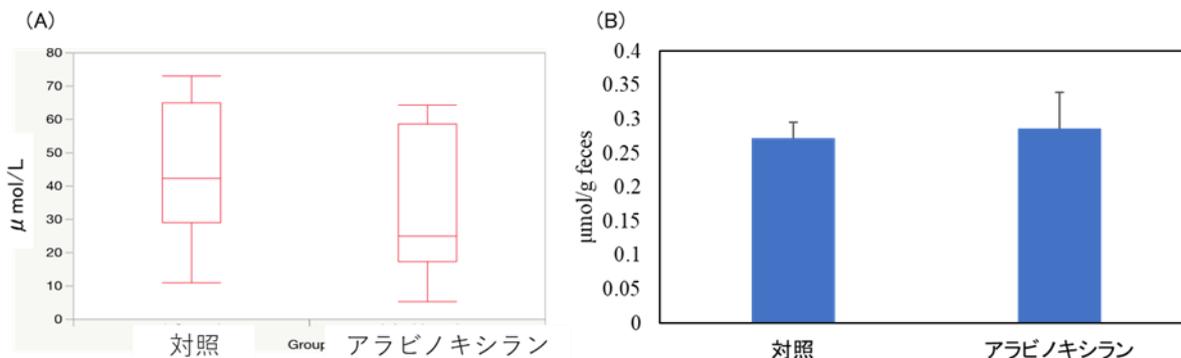


図2. 回腸内容物 (A) および糞便 (B) 胆汁酸濃度
(小麦アラビノキシラン実験)

(B) のエラーバーは標準誤差を表す.

以上のことから、穀物摂取による血清コレステロール低下作用は、これまで示されてきた β -グルカンやアラビノキシランによる胆汁酸排泄促進作用ではない可能性が示された。著者らは、低分子化した大麦 β -グルカンでも血清コレステロール低下作用を有することを報告しており、腸内発酵による短鎖脂肪酸の作用の可能性を推定した^[4]。本結果も、 β -グルカンの粘性による胆汁酸排泄促進作用ではなく、腸内発酵を介した作用である可能性が考えられる。

3.4. 大麦由来の β -グルカンを摂取したマウスの胆汁酸解析

大麦 β -グルカン実験における糞中胆汁酸の組成をGC/MSで解析した結果、対照群に比べて大麦 β -グルカン群で、2次胆汁酸であるデオキシコール酸およびリトコール酸の比率が増加することが認められた。大麦 β -グルカンが盲腸～大腸で発酵して増加した腸内細菌が一次胆汁酸を二次胆汁酸に変換したと考えられる。回腸および糞便の総胆汁酸量はむしろ低い傾向にあったことから、胆汁酸の再吸収が促進されたと考えられる。胆汁酸再吸収促進作用については、回腸の胆汁酸トランスポーター発現量などを解析していく必要がある。

また、胆汁酸再吸収量の増加と二次胆汁酸増加の生理的意義についても今後調べていく予定である。

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] 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.
- [3] Kakiyama, G. et al. A simple and accurate HPLC method for fecal bile acid profile in healthy and cirrhotic subjects: validation by GC-MS and LC-MS. *J. Lipid Res.*, 2014, 55, p.978-990.
- [4] Aoe, S. et al. Low molecular weight barley β -glucan affects glucose and lipid metabolism by prebiotic effects. *Nutrients*, 2020, 13, 130.

付記

本研究は大妻女子大学戦略的個人研究費(S20516)の助成を受けたものです。

(受付日：2021年7月27日，受理日：2021年8月19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、大麦ならびに全粒穀物、藻類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）