

高 β -グルカン大麦粉を配合した中脂肪, 高脂肪食を与えたマウスの回腸 ～結腸及び門脈中の胆汁酸、短鎖脂肪酸動態に関する研究

Bile acid and short-chain fatty acid kinetics in the ileum, colon, and portal vein of mice fed a medium-fat or high-fat diet supplemented high beta-glucan barley flour

三尾 建斗
Kento Mio

大妻女子大学大学院 人間文化研究科 人間生活科学専攻 博士後期課程

キーワード：大麦, 胆汁酸, 短鎖脂肪酸
Key words : Barley, Bile acid, Short-chain fatty acid

1. 研究目的

大麦に含まれる水溶性食物繊維の β -グルカンはこれまで様々な生理機能が報告されている。その中でも腸内発酵を介した代謝変化については近年研究が進んでおり、腸内細菌によって β -グルカンが発酵されて産生される短鎖脂肪酸や有機酸が受容体を介して、消化管ホルモンの分泌、転写因子の活性に繋がっている事が報告されている。上記の作用は実験動物並びにヒト試験でも報告されており、以前に申請者が修士課程で取り組んだ研究においても一定の効果が確認出来ている。しかし、上記の作用だけでは代謝改善のメカニズムの解明に至らなかった部分も存在した。そこで博士研究では大麦 β -グルカンの摂取が消化管の代謝産物、及びその機能に与える影響に着目している。

β -グルカンのような水溶性食物繊維素材を摂取すると、消化管内では腸内細菌叢が変化し、代謝産物である短鎖脂肪酸の変動が生じる。またそれらに加えて胆汁酸の代謝にも変動が起こると推測される。一般的に大麦 β -グルカンの摂取は胆汁酸吸収を阻害して、糞中排泄量を増加させる事により胆汁酸合成が増加し、結果としてコレステロールの低下に繋がる事が推測されている。しかしながら申請者の修士研究では糞中排泄量が増加せずに脂質代謝が改善していた事から、回腸に流入した胆汁酸が直接消化管にて脂質代謝に作用する事が考えられたが、そのメカニズムはこれまで明確にはなっていない。また、短鎖脂肪酸受容体である GPR43 や GPR41 は小腸下部に存在する腸内分

泌細胞の L 細胞にて主に発現しており、主要な胆汁酸受容体である TGR5 は L 細胞を含む多くの組織で発現している。GPR43 や TGR5 は共に L 細胞内にて GLP-1 等のインクレチンの分泌に関わると言われているが、大麦 β -グルカンの摂取がどちらに大きく寄与しているかは不明である。加えて大麦の摂取による短鎖脂肪酸や胆汁酸の変動が L 細胞の分化、あるいは細胞数増殖、機能変化のどれに関与しているのかは報告によって結果が違う事もあり、明らかとなっていない。

そこで本研究では上記作用を解明するための土台の試験として大麦 β -グルカンの摂取による消化管の代謝産物の動態の確立を主目的とし、マウスに大麦 β -グルカンを含む大麦粉を含む高脂肪食、中脂肪食を摂取させ、回腸—結腸部位をそれぞれ採取し、消化管内容物、糞中、門脈中の胆汁酸及び短鎖脂肪酸量を測定した。

2. 研究実施内容

2-1. 試験食の作成とマウスの飼育

飼料は AIN-93G 組成を基本とし、脂肪エネルギー比が 50%, 25% となるように、ラードとコーンスターチを用いて高脂肪食、中脂肪食に調整した。大麦群に用いる大麦は搗精率 70% にて精麦したビューファイバーを使い、総食物繊維量として 5% となるように添加した。対照群はセルロースを用いた。各群のたんぱく質、脂質が等しくなるようにカゼイン、ラードを用いて調整した。

動物は 4 週齢の C57BL/6J 雄マウスを使用した。計 40 匹のマウスを 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 10 匹ずつの 4 群

に群分けした。明暗は12時間サイクルとし、実験飼料と水を12週間自由摂取させ、週に3回体重と飼料摂取量を測定した。耐糖能試験は飼料摂取11週目に実施した。マウスを6時間絶食させた後、20%グルコース溶液を1.5g/kg体重となるようにマウスに注射した。尾部より採血を開始し、0分、15分、30分、60分、120分後に採血を行った。グルテストエールR(株式会社三和科学研究所)を使用し、各時間の血糖値の定量及びAUCを算出した。マウスの解剖3日前～解剖日までの間に新鮮糞を採取し、分析に供するまで -30°C 化で保存した。マウスの解剖は試験最終日に6時間絶食させ、イソフルラン/CO₂安楽死化で開腹して実施した。最終日心臓より血液、また門脈を採取し、その度、肝臓、腹腔内脂肪組織、消化管(回腸・盲腸)を摘出し、重量測定後、遺伝子発現測定用に肝臓、回腸を切り取り -30°C 化で保存した。

2-2. 短鎖脂肪酸、胆汁酸含量の測定
回腸、盲腸、門脈、新鮮糞、血清を、既存文献⁽¹⁾のプロトコルに従い誘導体化し、得られたサンプルについてGC/MS(7890GC/5975C MSD Ajilent社)を用いて短鎖脂肪酸含量を定量した。胆汁酸含量についても既存文献⁽²⁾のプロトコルを参考に、GC/MSを用いて同様に測定した。

3. まとめと今後の課題

耐糖能試験の結果では高脂肪食環境下では大麦の摂取により空腹時血糖値を含む全ての時間帯で血糖値が有意に低下した。しかしながら、中脂肪環境下ではその効果は見られなかった。短鎖脂肪酸含量は高脂肪食環境下では大麦の摂取により消化管上部は酢酸、乳酸が、下部では酪酸やプロピオン酸がそれらの産生菌によって増加した。また、門脈中でも短鎖脂肪酸の増加が確認されたことから、門脈→肝臓を通して、他の臓器にて影響を及ぼしている事が考えられた。一方、中脂肪環境下では酢酸、酪酸などの短鎖脂肪酸は消化管下部で有意に増加したが、消化管上部は変化が無く、門脈中の短鎖脂肪酸は逆に低下した。これらのことから食事の脂質量の違いにより大麦の摂取による短鎖脂肪酸動態は大きく変化する事が明らかとなり、その変化は高脂肪環境下でより顕著であった。また、胆汁酸含量については現在測定中であるため、今後は胆汁酸の測定を引き続き継続し、短鎖脂肪酸、胆汁酸が各代謝に及ぼす影響を検討していく予定である。

4. この助成による発表論文等

なし(第75回日本栄養食糧学会で一部報告予定)

5. 参考文献

- (1) Atarashi et al., Nature (2013)
- (2) Kakiyama et al., J Lipid Res (2014)