

海藻由来の水溶性食物繊維が腸内細菌叢を介した肥満への影響

Effect of soluble dietary fiber from seaweed on obesity through the intestinal microbiota

小川 怜菜
Reina Ogawa

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：海藻，水溶性食物繊維，肥満，腸内細菌叢

Key words : Seaweed, Soluble dietary fiber, Obesity, Intestinal microbiota

1. 研究目的

メタボリックシンドロームとは内臓脂肪型肥満に加えて、脂質異常症、高血圧、高血糖のうち2項目以上当てはまるものを指す。主な原因は過栄養と運動不足による内臓脂肪の蓄積であり、脂肪細胞よりさまざまな生理活性物質、アディポサイトカインの分泌異常をきたし、生活習慣病を惹起する^[1]。著者の脂質エネルギー比50%の高脂肪食下でのアルギン酸ナトリウム、ラミナラン、フコイダンのマウスを介した摂取試験では、アルギン酸ナトリウムは脂質吸収阻害と短鎖脂肪酸を生成による肥満の抑制が示唆され、フコイダンは脂質吸収阻害とインスリン分泌節約作用を介したSREBP1cによる脂質合成抑制。ラミナランはβ酸化関連遺伝子の亢進が確認され、海藻由来の水溶性食物繊維による肥満への影響が明らかになった。しかし、高脂肪食下では胆汁酸の分泌による腸内細菌叢へ影響を与えた可能性が考えられ、腸内細菌叢の変化と肥満との因果関係は不明である。そこで、高脂肪食では胆汁酸分泌が亢進し、腸内発酵が抑制されるため脂質エネルギー比25%の中脂肪の飼料に、アルギン酸ナトリウム、ラミナラン、フコイダンを配合したものをマウスに摂取させ、消化管機能ならびに腸内細菌叢による腸内発酵に及ぼす影響について明らかにした。

2. 研究実施内容

<研究方法>

4週齢の雄C57BL/6Jマウス32匹を1週間の予備飼育後、1群8匹ずつの4群に群分けした。対照群(C群)の飼料は、AIN-93G組成を基本とし、

脂質エネルギー比が25%になるようにラードを

添加した。アルギン酸群(A群)、ラミナラン群(L群)、フコイダン群(F群)とし、それぞれの飼料に3%添加後、総食物繊維量が5%になるようにセルロースで調整した。8週間の飼育期間中は、飼料と水を自由摂取させた。飼育最終日は8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、副睾丸周辺脂肪、腸間膜脂肪を摘出した。糞便内有機酸はクロトン酸を内部標準としてGC/MS法にて分析した。回腸の消化管免疫、消化管機能、炎症関連指標のmRNA発現量と糞便内腸内細菌数は、リアルタイムPCR法にて分析した。また、新鮮糞からDNAを抽出し、次世代シーケンサーによる16SrRNAの解析部位がV3/V4領域(341f-805r)をターゲットとして腸内細菌解析を行った。

Table1 - 1 飼料組成

飼料組成	g/kg diet			
	C群	A群	L群	F群
コンスターチ	355.5	351.7	354.9	345.2
アルファ化コンスターチ	132.0	132.0	132.0	132.0
ミルクゲイン	200.0	199.9	200.0	196.4
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	42.0	42.0	42.0	42.0
セルロースパウダー	50.0	20.0	20.0	29.8
海藻多糖類	-	33.9	30.6	34.1
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-ブチルヒドロキノン	0.014	0.014	0.014	0.014

<結果>

盲腸総重量は全ての群において有意に高い値を示した。また、水溶性食物繊維摂取 3 群の糞便内酢酸、プロピオン酸、酪酸量が有意に増加し、A 群はプロピオン酸、L 群は酪酸、F 群は酢酸が多く生成された。腸内細菌叢の解析では A 群は *Verrucomicrobia* 門 *Akkermansia* 属の増加、F 群では *Bacteroidetes* 門 *Bacteroides* 属、L 群では *Bacteroidetes* 門 S24-7 科の有意な増加が確認された。

最近では、腸内細菌の一種で *Verrucomicrobia* 門に属する *Akkermansia muciniphila* を肥満マウスや糖尿病マウスに投与すると、脂質代謝異常、脂肪量増加、インスリン抵抗性などの高脂肪食誘発性代謝障害が抑制され、さらに食物繊維の補給によって *Akkermansia muciniphila* が増加し、酢酸、プロピオン酸、酪酸を生成することで、糖代謝と脂質代謝に恒常性に影響を与える可能性があることが報告された^[2]。以上の事に加えて、アルギン酸の摂取による酢酸、プロピオン酸、酪酸の有意な増加と *Akkermansia* 属と短鎖脂肪酸との相関では($r=0.74$)の正の相関性が確認されたことから、アルギン酸の摂取は腸内発酵により *Akkermansia* 属の増加が短鎖脂肪酸を生成し、肥満を防ぐ可能性が示唆された。水溶性食物繊維摂取により、また、いずれの群も *Firmicutes* 門の減少と *Bacteroidetes* 門の増加が認められた。

α 多様性解析の結果、Shannon index は C 群と比較して水溶性食物繊維摂取 3 群で有意に低く、Chao1 index は F 群が有意に低い値を示しており、多様性の低下が確認された。プレバイオティクス機能を持つ難消化性オリゴ糖を摂取することによりビフィズス菌などの有用菌が増え、多様性が低下することが知られている。本研究では A 群は *Verrucomicrobia* 門 *Akkermansia* 属に、L 群は *Bacteroidetes* 門 S24-7 科、F 群は *Bacteroidetes* 門 *Bacteroides* 属が独占していたため占有率に偏りが生じたことが明らかになった。一方で、 β 多様性の結果から異なるクラスターを形成し、それぞれの海藻多糖類は異なる腸内細菌叢を形成することが明らかとなった。特に、C 群、L 群、F 群はそれぞれ離れた位置にプロットされ、腸内細菌叢がそれぞれ大きく異なることが示された。

一方で、C 群と A 群は近い位置でプロットされていることから比較的類似した腸内細菌叢である可能性が示された。

3. まとめと今後の課題

以上のことから海藻由来の水溶性食物繊維の摂取は、いずれも *Firmicutes* 門/*Bacteroidetes* 門比を低下させ、属レベルでは変動する菌属がそれぞれ異なり、発酵特性も異なることが認められた。さらに、アルギン酸群の *Akkermansia* 属の占有率を増加させることが認められ、*Akkermansia* 属の増加によるメタボリックシンドロームの抑制が示唆された。しかし、アルギン酸の摂取による *Akkermansia* 属の増加や短鎖脂肪酸が抗肥満作用にどの程度寄与しているかどうかについてはさらなる研究が必要である。

4. 参考文献

- [1] 井上修二, 上田伸男, 岡純(2011)肥満とメタボリックシンドローム・生活習慣病, 初版, p80-87, 大修館書店, 東京
- [2] Everard A, Belzer C, Geurts L, Ouwerkerk JP, Druart C, Bindels LB, Guiot Y, Derrien M, Muccioli GG, Delzenne NM, de Vos WM, Cani PD(2013)Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. Proc Natl Acad Sci USA, Vol.110(22)p9066-71.

5. 謝辞

本研究は大妻女子大学人間文化研究所令和3年度大学院生研究助成 (B) (DB2105)「海藻由来の水溶性食物繊維が腸内細菌叢を介した肥満への影響」より研究助成を受けたものです。