

オカラ乾燥粉末の摂取が成人男女の腸内細菌叢に及ぼす影響

Influence of okara flour intake on gut microbiota in adults

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：腸内細菌叢，食物繊維，オカラ乾燥粉末，短鎖脂肪酸

Key words : Gut microbiota, Dietary fiber, Okara flour, Short chain fatty acids

抄録

20～50代成人21名を対象に、オカラ乾燥粉末または大豆タンパク質（プラセボ）を1日あたり15g、4週間連続摂取する二重盲検プラセボ比較対象試験を行った。試験開始前と4週間後に糞便を採取し、腸内細菌叢を次世代シーケンサーを用いて分析した。また、腸内発酵の指標として糞便中の短鎖脂肪酸濃度をガスクロマトグラフ質量分析計（GC/MS）を用いて分析した。採択基準に適合した試験対象者は、全て女性でオカラ群10名、プラセボ群11名であった。腸内細菌叢の解析結果より、オカラの摂取は、腸内細菌叢の多様性を向上させてバランスを改善する作用が示された。プラセボ群は、ファーミキューテス門が多く、オカラ群は、バクテロイデテス門とその属の細菌占有率が多かった。短鎖脂肪酸濃度は、プラセボ群の方が高く、発酵促進作用は認められなかった。

1. はじめに

日本人の食物繊維摂取量は年々減少しており、永年にわたり成人の目標量である男性 21g/日以上、女性 18g/日以上に達していない。日本人の食事摂取基準 2020 年版では、食物繊維はメタ・アナリシスによって数多くの疾患と有意な負の関連があることが報告されているまれな栄養素と記載されている。食物繊維摂取不足と関連する代表的な疾患として、心筋梗塞、脳卒中、循環器疾患、2 型糖尿病、乳癌、胃癌、大腸癌等が挙げられる。近年になって、これら疾患の原因または増悪因子として、腸内細菌叢（腸内フローラ）が関係しているという報告が増えてきた。ヒトの腸には約 1000 種類の細菌が共生しており、全体として腸内細菌叢（腸内フローラ）を形成している。次世代シーケンサーというゲノムを一斉解析する装置を用いて腸内フローラの解析が行われた結果、炎症性腸疾患、肥満、糖尿病、がん、動脈硬化、自閉症など、さまざまな疾患と腸内フローラの異常とが関係していることが報告されている。この腸内フローラの乱れは“dysbiosis”とよばれており、細菌の種

類の減少（多様性の低下）や、本来あまり多くない細菌種の異常な増加、あるいは、有用菌と言われている細菌種の減少などが起こる。すなわち、dysbiosis とは腸内フローラの乱れにより、腸内全体として機能的に劣った細菌群の構成と言える。難治性の潰瘍性大腸炎などいくつかの疾患に対し dysbiosis の改善が重要な治療法となることが、細菌の便の移植の治験などから注目されている。

食生活を中心とした生活習慣と腸内細菌叢の関係は、1970 年代の東京大学の光岡らの培養法を用いた報告をはじめ、多くの報告がある。結果はほぼ一貫して高脂肪、低食物繊維食により、腸内細菌叢の多様性が低下し構成菌種も変化するとされている。このように、ヒトの健康に大きく関与している腸内細菌叢を健康な状態に維持するために、どのような食物繊維を摂取したらよいか注目が集まっている。

日本人の食物繊維摂取源として重要な食品に、穀類、豆類、根菜類、海藻類が挙げられる。オカラは、豆腐の製造工程において豆乳を分離する際に産生される大豆の残渣である。日本ではオカラ

の産生量は約 70 万トン/年であり、その多くは動物用飼料原料として利用されている[1]。日本食品標準成分表 2020 年版（八訂）によれば乾燥したオカラにはたんぱく質 23%、脂質 14%、食物繊維 44% が含まれている[2]。しかし、生のオカラは水分含量が約 80%と非常に多いため保存性が悪く、食感の悪さから大部分は産業廃棄物として処分され、食糧資源としてほとんどが利用されていない。近年になって保存性の良い乾燥オカラが入手できるようになり、その機能性の研究が行われるようになった。しかし、オカラに含まれる食物繊維は大部分が不溶性食物繊維であり、排便促進効果などが期待されるのみで腸内細菌叢改善効果についてはあまり検討されてこなかった。近年になって、オカラ粉末を配合した飼料で飼育したラットの盲腸内短鎖脂肪酸が増加すること[3]やオカラ由来の不溶性食物繊維が発酵を受けることが報告された[4]。しかし、日本人を対象として、オカラ摂取による腸内細菌叢に及ぼす影響を検討した報告は見あたらない。

本研究では食物繊維の豊富なオカラ乾燥粉末を提供し、毎日の食事で連続摂取してもらい、摂取前後において糞便解析を行い、腸内細菌叢がどのように変化するかを検証することを目的とした。腸内細菌叢は、門レベル、属レベルの解析を行うとともに、多様性解析、クラスター解析等を行ってオカラ粉末摂取群と食物繊維の少ない分離大豆タンパク質摂取群との腸内細菌叢の比較を行った。

2. 実験方法

2.1. 被験食品

市販の乾燥オカラ粉末ならびに大豆タンパク質を用いた。盲検化するためアルミ容器に分包して A または B と表記した。割付は、研究に参加しない第三者に委託して割り付けた。

2.2. 介入試験

研究デザインは、無作為化二重盲検プラセボ対照試験とし、研究対象は 20~50 代女性とした。研究計画当初は、男性も含めていたが、排便回数に合致する被験者がわずかであったため女性のみとした。試験食品の摂取は、おからパウダーまたは大豆たんぱく質（プラセボ）を 1 日あたり 15g、4 週間行った。試験開始時と試験終了時の 2 回、腸内細菌検査用採便キットを使用した採便による腸

内細菌検査および糞便中の短鎖脂肪酸濃度の測定を行った。試験食品摂取記録と体調日誌（排便回数、便の性状）は毎日記録し、体重は週に 1 回記録した。

被験者の採択基準は以下の通りとした。1) 同意取得時の年齢が 20 歳以上 59 歳以下の日本人、2) 週の排便回数が 1~5 回の者、3) BMI が 18.5 以上 30 未満の者、4) 自宅に体重計があり、毎日体重測定を行って日誌に入力可能な者、5) 試験期間中の 4 週間、被験食（おからパウダー）を摂取可能な者。

除外基準は、以下の通りとし、自己申告により判断してもらった。1) 心血管疾患、肝疾患、腎疾患、消化器疾患、呼吸器疾患、糖尿病の現病または既往がある者、2) 悪性疾患の既往がある、または慢性疾患に対する治療を行っている者、3) 現在、薬剤による治療を行っている者、4) 薬剤・食物アレルギーの既往のある者、5) 食物繊維サプリメント（海藻、こんにやく、サイリウムなどから調整した食物繊維含有製品）や全粒穀物（全粒小麦、玄米、ライ麦、大麦などを含む）を継続して摂取している者、6) 現在妊娠中または授乳中、あるいは妊娠の可能性のある者、7) 喫煙習慣のある者、8) 過去 1 ヶ月以内に他のヒト臨床試験に参加している、もしくは現在他のヒト臨床試験に参加している者、9) 薬物依存・薬物乱用で治療中の者。

172 名の応募者より、上記基準に当てはまる者について選抜し、各項目に差がないようオカラ群とプラセボ群にランダムに割付けを行い、1 群 12 名の計 24 名にて試験を開始した。試験期間中に 1 名自己都合による脱落があった。また、試験終了後、排便頻度について除外基準の者（排便回数の多い者）が 2 名いたため、その 2 名を除外して解析対象とした。

2.3. 腸内細菌叢の解析

腸内細菌叢の解析は、株式会社 生物技研に委託し、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。得られた OTU の系統情報をソフトウェア (QIIME) を用いて解析し、階層毎の α 多様性 (群内多様性) 及び β 多様性 (群間多様性、主座標解析 PCoA) 解析を行った。また、線形判別分析効果サイズ (LEfSe) の解析を行い LDA スコアを解析した。

2.4. 短鎖脂肪酸の解析

盲腸内要物の誘導体化は、盲腸内容物を 20mg 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 TissueLyzerII (Quiagen 社) を用いてホモジナイズし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。分析条件は以下の通り。

誘導体化: MTBSTFA (シグマ社) を 16 μ L 添加,
80°C 20 分間, 室温 48 時間反応
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)。

2.5. 統計解析

2 群間の平均値の差の検定は、Student の t 検定または Wilcoxon 検定を行った。有意水準は 5% とし、両側検定を行った。

3. 実験結果と考察

被験者のベースライン値を表 1 に示す。両群間に有意な差は認められなかった。

表 1. 被験者ベースライン値

	プラセボ	オカラ
人数	11	10
年齢	47 \pm 11	46 \pm 10
身長 (cm)	160.7 \pm 5.0	161.8 \pm 5.3
体重 (kg)	53.9 \pm 6.1	56.6 \pm 8.4
BMI	20.9 \pm 2.2	21.6 \pm 2.6
排便回数 (回/週)	3.8 \pm 0.8	3.9 \pm 0.8

平均値 \pm 標準偏差を表す。

おからパウダーの摂取は、腸内細菌叢の多様性の指標である、Observed species と PD_whole_tree の変化量においてプラセボ群と比べて有意に増えた ($p<0.05$)。Observed_species は、生物種の豊富さ (Richness) の指標で、数値が高いほど生物種が豊富であることを示す。PD_whole_tree は、系統的な多様性の指標で、数値が高いほどさまざまな分類の生物種が存在していることを示す。本結果より、オカラ摂取により腸内細菌叢の多様性が増すことが認められた。門レベルの解析では、Bacteroidetes 門とその属の細菌占有率を増加させる作用が認められた ($p<0.05$)。一方で、プラセボ群は Firmicutes 門が優勢であった。属レベルでは、Bacteroidetes 属などの増加が見られた ($p<0.05$)。一方、大豆たんぱく質群 (プラセボ群) では、Ruminococcus 属で有意な増加がみられた ($p<0.05$)。線形判別分析効果サイズ (LEfSe) の結果を図 1 に示す。

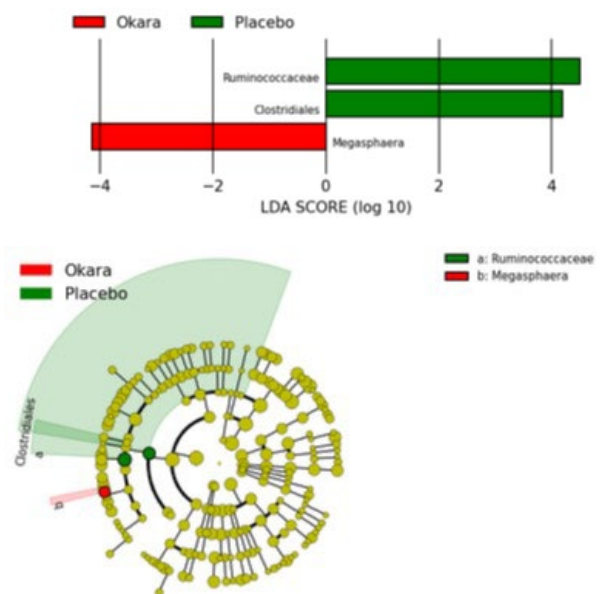


図 1 線形判別分析効果サイズ (LEfSe)

LDA スコアでは、ルミノコッカス科 (Ruminococcaceae) やクロストリジウム目 (Clostridiales) に属する菌属がプラセボ群で増加し、メガスフェラ属がオカラ群で減少した。

排便については、ブリストルスケールによる便の性状について、大豆たんぱく質群 (プラセボ群) で改善がみられた ($p<0.05$)。一方、おからパウダーの摂取により短鎖脂肪酸産生を促進しないことが示された。糞便中の総短鎖脂肪酸濃度を図 2 に示す。両群間に有意差は認められなかった。

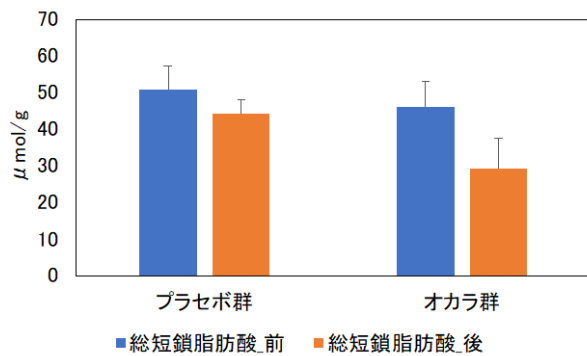


図2 糞便中の総短鎖脂肪酸濃度

短鎖脂肪酸に差がなかった理由は、大豆たんぱく質中にオリゴ糖が含まれていた可能性、またはオカラ群で糞便重量や水分量が増えたため、糞便1gあたりの短鎖脂肪酸量が希釈された可能性が考えられる。オカラによる腸内細菌の発酵への影響は、今後、人工腸管モデルによる糞便培養の実験により明らかにする必要がある。

4. 結語

オカラ乾燥粉末の摂取は、腸内細菌叢の多様性を向上させてバランスを改善する作用が示された。プラセボ群は、Firmicutes 門が優勢に、オカラ群は、Bacteroidetes 門が優勢となった。オカラ摂取による、腸内発酵の促進は観察されなかった。

謝辞

本研究は大妻女子大学人間生活文化研究所の戦略的個人研究費（N2201「オカラ乾燥粉末の摂取が成人男女の腸内細菌叢に及ぼす影響」）の助成を受けて実施したものです。

引用文献

- [1] O'Toole, D.K.: Characteristics and use of okara, the soybean residue from soy milk production--a review, *J. Agric. Food Chem.*, 47, 363-371 (1999).
- [2] 科学技術・学術政策局政策課資源室. 日本食品標準成分表 2020 年版 (八訂). https://www.mext.go.jp/a_menu/syokuhinseibun/mext_01110.html (参照 2022-2-13)
- [3] 高木尚紘, 北脇涼子, 西村侑子, 原田智子, 岩崎充弘, 都築公子, 福田満. 乳酸発酵オカラ豆乳がラット盲腸内の短鎖脂肪酸およびポリアミン含量に及ぼす影響. *日本食品科学工学会誌*, 56, 585-590 (2009).
- [4] LyuB, WangY, ZhangX, ChenY, FuH, LiuT, HaoJ, LiY, YuH, JiangL. Changes of High-Purity Insoluble Fiber from Soybean Dregs (Okara) after Being Fermented by Colonic Flora and Its Adsorption Capacity. *Foods*. 10, 2485 (2021).

(受付日: 2023年6月25日, 受理日: 2023年7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課程修了。

専門は栄養化学。現在は食物繊維の機能性研究を行っている。特に、内臓脂肪型肥満、腸内環境の改善に関わる食餌因子について研究を行っている。

主な著書: 毒出しごはん (単著, 河出書房新社), 20歳若返る食物繊維 (監修, 朝日新書)