

令和 2 年 6 月 10 日現在

機関番号：23303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K00820

研究課題名(和文)種々のレジスタントスターチの機能特性

研究課題名(英文)Functional Properties of Resistant Starches

研究代表者

松本 健司 (Matsumoto, Kenji)

石川県立大学・生物資源環境学部・教授

研究者番号：60288701

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では難消化性デキストリンを含む種々のレジスタントスターチ(RS)の機能性について検討を行った。本研究において、難消化性グルカンは腸内細菌にほとんど資化されないが、非常に高い腸管IgA誘導を有することを明らかにした。また、RS含有うどんを高脂肪食餌とともにマウスに摂取させると、盲腸内のプロピオン酸と酪酸含量が増加し、耐糖能異常が緩和され、腸管IgA分泌が促進する効果が見られた。一方、RSをパンケーキに添加した実験では糞中IgAの増加などが見られたが盲腸内の短鎖脂肪酸は増加せず、生デンプンで見られた効果は限定的であった。よって、加工方法によりRSの保健効果は異なることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

難消化性グルカンは盲腸内の短鎖脂肪酸の誘導を伴わずに腸管IgAを誘導した。これまで難消化性糖質による腸管IgA誘導は、腸内細菌によって難消化性糖質から作られる短鎖脂肪酸が関わっていると報告されている。従って、難消化性グルカンによる腸管IgA誘導は新しいパターンであり、学術的に興味深い。また、RSの研究結果では、うどんや焙煎といった加熱加工ではRSの機能性が動物実験で見られた一方で、パンケーキではRSの特徴である大腸での短鎖脂肪酸の増加が見られず、糞量や糞中IgAの増加など、生デンプンで見られたRSの機能性が限定的であることが分かった。この結果はRSを利用した商品の開発において重要な知見である。

研究成果の概要(英文)：In this study, I investigated the functional properties of various resistant starch (RS) samples, including indigestible polysaccharides. I found that indigestible glucan strongly induced intestinal immunoglobulin-A (IgA) without accompanying its fermentation by intestinal bacteria. I also found that RS-supplemented Udon noodles attenuated the development of impaired glucose tolerance and induced intestinal IgA secretion in high-fat diet-induced obesity mice. This Udon noodles study indicates that Udon noodles processing keeps the functionalities of RS. On the other hand, RS-supplemented pancake showed only part of the functionalities of RS, such as increasing fecal mass and intestinal IgA induction, suggesting that pancake processing restricts the functionalities having RS.

研究分野：食品機能

キーワード：レジスタントスターチ 難消化性糖質 生理機能 動物実験

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究当初の背景

レジスタントスターチ (RS) には脂質の吸収阻害効果や 2 型糖尿病予防効果などの保健効果があり、機能的食品素材として国内外で広く産業利用されている。しかしながら、それぞれの RS の機能性について詳細に比較している研究例は少なく、特に調理加工後のサンプルについての機能性比較については報告がほとんど無い。これらの背景から、種々の RS について、調理加工後のサンプルを含めた機能性比較を行う研究課題を実施するに至った。

2. 研究の目的

本研究は種類の異なる RS および難消化性デキストリンなど水溶性の難消化性糖質について、大腸内での資化性や、2 型糖尿病など生活習慣病に対する効果、腸への影響について比較検討し、各サンプルの生理作用の違いを明らかにすることを目的とした。また、RS を人が摂取する場合は調理加工する必要があるため、RS は生デンプンの状態に加え、RS サンプルを添加した麺やパンを作製し、調理加工した形態での生理作用について明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

水溶性の難消化性糖質の機能性比較

難消化デキストリンなど、水溶性の難消化性糖質はドリンク類などに利用されているため、加熱加工せずにそのままサンプルを実験に用いた。難消化性デキストリンなど 4 種類を飼料に 5 % 添加してマウス (C57BL/6N、オス、7 週齢) に 4 週間摂取させた。コントロールにはコーンスターチを用いた。4 週間後に血液生化学値、糞中 IgA、盲腸内容物短鎖脂肪酸、糞中脂質量などを測定し、各サンプルの生理作用を比較検討した。

続いて、腸管 IgA 誘導能が特に高かった難消化性グルカンについて、腸管 IgA 分泌誘導効果が報告されているフラクトオリゴ糖、ハイアミロースコーンスターチとの比較を行った。また、難消化性グルカンを重合度 5 以上と 4 以下に分離してそれぞれの腸管 IgA 分泌誘導効果を調べた。さらに、ヒト腸内常在菌を用いた *in vitro* 資化性試験を行い、腸内細菌による難消化性グルカンの資化性を検討した。

調理加工に適した RS サンプルの検討

調理加工方法として、再現性良く作製できるパスタとパンケーキを選択した。RS サンプルは企業から提供を受けた 6 種類を用い、コントロールとしてコーンスターチを用いた。パンケーキの作製ではホットケーキミックスを利用し、20 % (w/w) の RS サンプルを添加して作製した。パスタはデュラム小麦に 10 % の RS サンプルを添加して作製した。調理加工後の RS 含量、官能試験の結果からそれぞれの調理加工に適した RS サンプルを選抜した。

RS 含有うどんの機能性

実験 で選抜したパスタに最適だった RS を用いて冷凍うどんを作成し、市販の冷凍うどんと機能性を比較した。なお、官能試験でパスタを用い、機能性評価にうどんにした理由は、パスタ作成ではパンケーキと同様に卵を利用するため、卵を利用しないうどんでの評価を行うこととした。茹でた後に冷凍した冷凍うどんを凍結乾燥し、サンプルとした。マウス (C57BL/6J、オス) を用いて単回投与試験、13週間の長期試験を行い、耐糖能やインスリン抵抗性、血液生化学値などへの影響を検討した。

RS 含有パンケーキの機能性

実験 で選抜したパンケーキに最適だった RS を用いてパンケーキを作成し、温風 (60) 乾燥後に粉末化し、サンプルとした。コントロールのパンケーキにはコーンスターチを用いた。飼料中の RS 含量が 2% となるように高脂肪餌にパンケーキを 22% 混合し、実験飼料とした。マウス (C57BL/6J、オス) に実験飼料を 12 週間摂取させ、耐糖能やインスリン抵抗性、血液生化学値などへの影響を検討した。

RS 高含有 WX/AE 米の焙煎後の機能性

RS 高含有 WX/AE 米の玄米を焙煎して、RS の加熱による影響を検討した。コントロールとしてコシヒカリ玄米を用いた。焙煎した各玄米の粉末を飼料に添加し (WX/AE 群の試料中の RS 含量 : 1.8%) マウス (BALB/cA、オス) に 9 週間摂取させた。盲腸内短鎖脂肪酸量や糞中 IgA などの RS の生理作用についての検討を行った。

4. 研究成果

水溶性の難消化性糖質の機能性比較

4 種類のサンプルの中で 1 種類のみコントロールとほとんど差が見られなかった。よって、これ以降は難消化性デキストリン、還元性難消化性デキストリン、難消化性グルカンの 3 種類のサンプルの結果について示す。難消化性デキストリンおよび還元性難消化性デキストリンは通常食・高脂肪食ともに盲腸内における酢酸、プロピオン酸、酪酸が有意に上昇しており、資化性が高い難消化性糖質であることが分かった。一方、難消化性グルカンでは通常食・高脂肪食ともに盲腸内の短鎖脂肪酸の有意な増加は見られなかった。糞中の脂質量において、通常食では 3 種類のサンプルいずれも増加が見られなかったが、高脂肪食では 3 種類のサンプルすべて有意に増加した。このことは食事の脂質含量が高い場合にのみ各サンプルが脂質吸収阻害効果を発揮していることを示している。

腸管バリア機能に重要な役割を担っている腸管 IgA の分泌について、糞中 IgA 量を測定することにより検討を行った。3 種類のサンプルは通常食・高脂肪食ともに糞中 IgA 量を有意に上昇させた。中でも難消化性グルカンでは通常食、高脂肪食ともに約 8 倍の上昇が見られ、3 サンプルの中で効果が最も強かった。上記に得られた結果において、難消化性グルカンの腸管 IgA 分泌誘導効果については報告が無かったので、さらに研究を進めた。

難消化性グルカンの腸管 IgA 分泌誘導効果に関する研究

腸管 IgA の誘導について報告があるフラクトオリゴ糖 (FOS) とハイアミロースコーンス

ターチ（HACS）を対比サンプルとして難消化性グルカン（IG）の効果を比較した。各サンプルを飼料に5%添加し、マウスに6週間摂取させた。FOSは糞中IgA量を1.5倍程度増加させたが、HACSは5%では効果を示さなかった。一方、IGは5倍増加させ、他のサンプルと比較しても有意に増加した。これらの結果は、IGによる腸管IgA分泌誘導効果は難消化性糖質の中でも特に高いことを示している。

IGは様々な重合度を有するグルカンの混合物であることから、重合度の違いによる腸管IgA分泌誘導効果について調べたところ、重合度が高い（5以上）成分が即時的に腸管IgAの分泌を誘導することが明らかになった。また、IGは大腸内での資化性がほとんど見られなかったため、ヒト腸内常在菌を用いたin vitro資化性試験を実施したところ、マウスでの実験を裏付ける通り、約60種類の微生物でIGを利用できた微生物は1種類でありIGが腸内細菌によって利用できにくい難消化性糖質であることが示された。

食物繊維を含めた難消化性糖質による腸管IgAの作用メカニズムとして、難消化性糖質が大腸内で腸内細菌に利用されて作り出される短鎖脂肪酸（酢酸、プロピオン酸、酪酸）が重要な役割をしていることが報告されている（Kim et al., *Cell Host & Microbe*. 2016）。一方、今回我々が行ったIGによる腸管IgA分泌誘導効果には短鎖脂肪酸の産生を伴わないものであった。本課題終了後も引き続きこの作用メカニズムについて取り組む予定である。

調理加工に適したRSサンプルの検討

6種類のRSサンプルとコーンスターチを用いてパスタとパンケーキを作製した。ハイアミロースコーンスターチなど、加工デンプンでないRSサンプルは調理加工後のRS含量が30%以下になった。一方、湿熱処理や酸処理をしている場合は7割程度RS含量を維持していた。また、美味しさや硬さなどを評価項目として官能検査を行い、パスタとパンケーキに最適なRSサンプルを選抜した（RSの提供を受けたメーカーの都合上パスタに適したRSをRS-N、パンケーキに適したRSをRS-Pとする）。

RS含有うどんの機能性

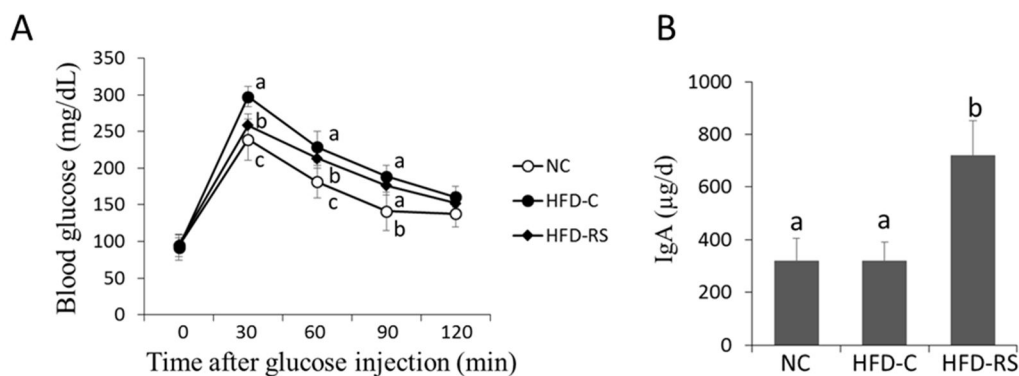


図2. RSうどん摂取実験における耐糖能試験（A）と糞中IgAの比較（B）。NC：通常飼料群、HFD-C：高脂肪コントロールうどん群、HFD-RS：高脂肪RSうどん群。図中の異なる文字間に有意差あり。

で選抜した RS-N を用いて冷凍うどん (RS うどん) を作成し、その機能性をマウスで検討した。単回投与試験では RS うどんは RS を含まないコントロールうどんと比較して摂取後 30 分における血糖値が低下傾向であった。一方、高脂肪食餌によるマウス肥満モデルを用いた 13 週間の長期試験では、RS うどんの摂取は耐糖能異常を緩和し (図 2-A)、絶食時の血中遊離脂肪酸の上昇を防ぐといった糖代謝への有効性を示した。また、RS うどんは糞中 IgA を 2 倍程度、有意に増加させた (図 2-B)。盲腸内において、RS うどんを摂取したマウスはプロピオン酸および酪酸がコントロールうどんと比べて有意に増加しており、酢酸も増加傾向であった。これらの結果は、RS-N をうどんに応用した場合には生デンブンを評価した際の RS-N の生理作用が期待できることを示している。

RS 含有パンケーキの機能性

で選抜した RS-P を用いてパンケーキ (RS パンケーキ) を作成し (コントロールはコーンスターチを使用した)、RS 含量が飼料中に 2% になるように高脂肪餌に添加して実験飼料とした。実験飼料をマウスに 12 週間摂取させ、糖代謝や脂質代謝、盲腸内容物について検討した。RS パンケーキの摂取は糞重量の増加や糞中 IgA の増加など生デンブンを摂取時に見られた RS の効果を示したものの、盲腸内の短鎖脂肪酸の増加は認められなかった。一方、サンプルに用いた RS-P は生デンブンを摂取するとプロピオン酸と酪酸を増加させた。RS が有する糖代謝や脂質代謝への保健効果は、腸内細菌によって利用されて作り出される短鎖脂肪酸がその受容体である GPR41 や GPR43 を介して発揮されることが報告されている。従って、RS-P のパンケーキへの応用では、成分上は RS 量が確認できるものの、含まれる RS は腸内細菌によって短鎖脂肪酸に変換されない形態に変化しているため、生体では短鎖脂肪酸による保健効果は期待できず、RS の効果は一部しか発揮されないと考えられる。

RS 高含有 WX/AE 米の焙煎後の機能性

RS のパンケーキへの応用では RS の特徴である、腸内細菌による短鎖脂肪酸への変換が見られなかった。このことが、加熱による影響であるかを確かめるために、焙煎した RS 高含有 WX/AE 米を用いて、加熱による RS の作用の変化を確かめた。200℃ で 10 分間焙煎した WX/AE 米とコシヒカリの玄米を粉砕したものをサンプルとして通常飼料に添加し、マウスに 9 週間摂取させたところ、WX/AE 米摂取群では盲腸内の酪酸が有意に増加していた。また、WX/AE 米摂取群では糞中 IgA の増加や盲腸内容物 pH の低下が確認できた。

今回、動物実験に用いた加工食品中の RS の生理作用について比較すると、すべての RS に腸管 IgA の誘導能が認められた。一方、盲腸内での短鎖脂肪酸量の増加に関してはサンプルごとに差があり、パンケーキに添加した場合には短鎖脂肪酸は増加しなかった。上述した通り、RS 摂取による糖代謝や脂質代謝への保健効果については、RS が腸内細菌により利用されて作り出される短鎖脂肪酸がその受容体を介して発揮される。よって、RS を利用した商品開発を行う場合に、RS が持つ様々な保健効果を期待する場合は、in vitro における RS 含量の分析だけでなく、動物実験や腸内細菌を用いた試験によって短鎖脂肪酸の増加について検討する必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kenji Matsumoto, Hiroki Shimada, Hiroki Morishima, Reina Akahori, and Naotaka Kida	4. 巻 71
2. 論文標題 Resistant Starch-Supplemented Udon Noodles Prevent Impaired Glucose Tolerance and Induce Intestinal Immunoglobulin-A Secretion in Mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Starch	6. 最初と最後の頁 1900042
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/star.201900042	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 堀之内歩・松本健司
2. 発表標題 3種類の水溶性難消化性グルカンの機能性比較
3. 学会等名 日本応用糖質科学会2018年度大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 堀之内歩・松本健司
2. 発表標題 3種類の水溶性難消化性グルカンの機能性比較
3. 学会等名 日本農芸化学会中部支部第183回例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長岡花恵・堀之内歩・松本健司
2. 発表標題 難消化性澱粉の調理による影響
3. 学会等名 日本栄養改善学会北陸支部学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 堀之内歩・平井宏和・尾藤寛之・高木宏基・松本健司
2. 発表標題 難消化性グルカンの腸管免疫に対する影響
3. 学会等名 日本応用糖質科学会2019年度大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 IgA分泌促進用組成物	発明者 松本健司, 平井宏和, 尾藤寛之, 高木宏基	権利者 石川県公立大学 法人, 日本食品 化工株式会社
産業財産権の種類、番号 特許、特願2018-193057	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

<p>国際シンポジウムでの発表 名称：石川県立大学 - 大連工業大学合同シンポジウム 場所：大連（中国） 発表者名：Ayumu Horinouchi, Hirokazu Hirai, Hiroyuki Bitou, Hiroki Takagi, Kenji Matsumoto 発表標題：Effects of indigestible glucan on intestinal barrier system in mice 発表年：2019年</p>
--

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----