

令和 6 年 5 月 16 日現在

機関番号：30105

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K02156

研究課題名(和文) プレバイオティクスによる大腸ALPを含む腸内環境調節作用に及ぼす脂質栄養の影響

研究課題名(英文) The effect of lipid nutrition on the modulation of colonic luminal environment including the ALP activity by prebiotics

研究代表者

岡崎 由佳子 (Okazaki, Yukako)

藤女子大学・人間生活学部・教授

研究者番号：80433415

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では，6多価不飽和脂肪酸の多い綿実油やブドウ種子油食と比較して，飽和脂肪酸含量の高い牛脂，パーム油食や，3多価不飽和脂肪酸の多い亜麻仁油と魚油食が，難消化性オリゴ糖摂取下での大腸ALP活性と腸型ALP遺伝子発現，糞中Mucin含量を顕著に増加させることを明らかにした。また，難消化性オリゴ糖による大腸ALPを含む腸内環境関連因子への影響が最大限に発揮されるには，通常より多くの脂肪量を要する可能性を示した。これらの結果より，プレバイオティクスの大腸内環境調節作用には，油脂の脂肪酸組成や摂取脂肪量といった栄養条件が関与していることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腸内環境と健康との関りが注目される中で，難消化性オリゴ糖などのプレバイオティクスによる腸内環境改善作用に関する研究が多く行われている。一方で，プレバイオティクス作用がどのような栄養条件で発揮されるかを検討することも必要である。本研究では，腸内環境関連因子として大腸における腸型ALPに着目し，難消化性オリゴ糖の大腸ALP誘導をはじめとする腸内環境調節作用が，飽和脂肪酸や3多価不飽和脂肪酸の多い油脂で高まることと，摂取脂肪量としては通常より多くの脂肪量を要する可能性を新たに見出した。

研究成果の概要(英文)：This study demonstrated that the elevating effect of non-digestible oligosaccharides on colonic ALP activity and the gene expression of intestinal type ALP, and colonic luminal variables including mucins was prominent in the beef tallow and palm oil diet groups (high in saturated fatty acids), linseed oil and fish oil diet groups (high in 3 polyunsaturated fatty acids), compared with the cottonseed oil and grapeseed oil diet groups (high in 6 polyunsaturated fatty acids). This study further suggested that in order to exert the maximum effect of non-digestible oligosaccharides on the colonic luminal environment, including ALP activity, significantly more fat may be required than with low-fat or control-fat content.

研究分野：食物学，栄養学

キーワード：大腸ALP プレバイオティクス 大腸内環境 脂質栄養 ラット

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、腸管機能は食品の消化・吸収に果たす役割だけでなく、その機能不全は腸疾患やメタボリックシンドローム等の疾病と密接に関係することが知られてきている。腸管の機能維持には多様な因子が関わっており、食生活の面からも幅広く研究されている。

これまでの研究において、腸内環境改善作用が知られている水溶性食物繊維や難消化性オリゴ糖といったプレバイオティクスが共通して、近年抗炎症作用やメタボリックシンドローム抑制作用が指摘されているアルカリホスファターゼ (ALP) 活性を大腸特異的に誘導することを見出してきた (引用文献①②)。また、プレバイオティクスによる大腸 ALP 誘導と栄養条件との関連性について検討する過程で、プレバイオティクスの大腸内での働きは摂取する脂肪の種類と量により異なる可能性を示してきた (引用文献③)。プレバイオティクスによる腸内環境改善に関する報告は多くみられるが、脂質の種類や量といった栄養条件によりその作用がどのように変化するかについては、ほとんど報告がなされていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、プレバイオティクスによる大腸 ALP 活性誘導をはじめとする腸内環境調節作用に、摂取脂肪の質と量を与える影響を詳細に検討し、プレバイオティクスの大腸内環境調節作用と脂質栄養との関連性に新規知見を見出すことである。

3. 研究の方法

(1) 脂肪酸組成の特徴が異なる油脂がプレバイオティクス摂取ラットの腸 ALP 誘導をはじめとする腸内環境調節作用に及ぼす影響の比較検討

実験動物として SD 系雄ラットを用いた。食餌脂肪として、実験 1 では、長鎖飽和脂肪酸を多く含む牛脂、パーム油、中鎖飽和脂肪酸の多いヤシ油、 $\omega 6$ 多価不飽和脂肪酸の多い綿実油、ブドウ種子油、及び $\omega 3$ 多価不飽和脂肪酸含有量の多い亜麻仁油、魚油を用いた。実験 2 では、飽和脂肪酸の多いラード、 $\omega 6$ 多価不飽和脂肪酸の多いブドウ種子油、ラードとブドウ種子油を 4:1 又は 1:1 の比率で配合した油脂を用いた。実験食として、これらの油脂を 30% 添加した飼料を用い、それぞれの飼料に 4% フルクトオリゴ糖 (FOS) をセルロースに置き換えて添加し、14 日間自由摂取させた。飼育終了後、糞および大腸 ALP 活性の測定と、大腸 ALP 遺伝子の発現解析 (RT-PCR 法) を行った。また、糞中の腸型 ALP (IAP) タンパク質をウエスタンブロッティングにより検出した。さらに、糞中 Mucin (蛍光光度法) および細菌類 (qPCR 法) を解析した。

(2) 脂肪の添加レベルがプレバイオティクス摂取ラットの腸 ALP 誘導に及ぼす影響

実験動物として、4 週齢の SD 系雄ラットを用いた。7% ラード食を基本食とし、低脂肪食として 2.5%、高脂肪食として 20% および 40% ラード食を用い、それぞれの飼料に 4% フルクトオリゴ糖 (FOS) をセルロースに置き換えて添加した 4 群 (1 群 6 匹) を設け、14 日間自由摂取させた。飼育終了後、大腸および糞中 ALP 活性の測定と、大腸 ALP 遺伝子発現解析を行った。さらに、糞中 Mucin 含量と盲腸内有機酸含量 (HPLC 法) を測定した。

(3) ペクチンの添加レベルが高脂肪食摂取ラットの腸 ALP 誘導に及ぼす影響

4 週齢の SD 系雄ラットに、高脂肪 (20% ラード) の 5% セルロース食を基本食とし、ペクチンをセルロースに置き換えて 1.0%、2.0% および 4.0% となるように添加した飼料を与え、14 日間飼育した。飼育終了後、糞と大腸の ALP 活性を測定し、ウエスタンブロッティングにより糞中 IAP タンパク質の検出を行った。また、大腸 ALP 遺伝子発現の解析も行った。

4. 研究成果

(1) 脂肪酸組成の特徴が異なる油脂がプレバイオティクス摂取ラットの腸 ALP 誘導をはじめとする腸内環境調節作用に及ぼす影響の比較検討

実験 1 の結果より、長鎖飽和脂肪酸の多い牛脂食 (図 1A)、パーム油食、中鎖飽和脂肪酸の多いヤシ油食では、FOS 摂取による大腸 ALP 活性と腸全域に高発現する ALP 遺伝子 (*Alpi-1*) 発現および糞中 Mucin 含量の有意な増加が認められた。一方、 $\omega 6$ 多価不飽和脂肪酸の多い綿実油食 (図 1B) とブドウ種子油食では FOS 摂取によるこれらの因子への同様な影響は認められなかった。また、牛脂食、パーム油食およびヤシ油食では FOS 摂取による *Lactobacillus* spp. の割合の有意な増加と *Clostridium coccooides* の割合の有意な減少が示されたが、綿実油食とブドウ種子油食では同様の影響は認められなかった。興味深い現象として、 $\omega 3$ 多価不飽和脂肪酸の高い亜麻仁油食 (図 1C) と魚油食においても飽和脂肪酸の多い油脂食と同様に、FOS 摂取による大腸 ALP 活性、*Alpi-1* 発現および糞中 Mucin 含量の増加と *Clostridium coccooides* の割合の減少が認められた。ウエスタンブロッティングの結果より、FOS 摂取ラットの糞中 IAP タンパク質は、 $\omega 6$ 多価不飽和脂肪酸の多い油を摂取した場合と比較して、飽和脂肪酸や $\omega 3$ 多価不飽和脂肪酸の多い油脂食でより強く検出されることが新たに認められた。

これらの結果より、 $\omega 6$ 多価不飽和脂肪酸の多い油と比較して飽和脂肪酸の多い油脂食では、

FOS 摂取による大腸 ALP 活性, 腸型 ALP 遺伝子発現, 糞中 IAP タンパク質, 腸内細菌類および Mucin 含量への影響が高まり, さらに ω 3 多価不飽和脂肪酸の多い油を用いた場合も同様に高まることが明らかとなった。

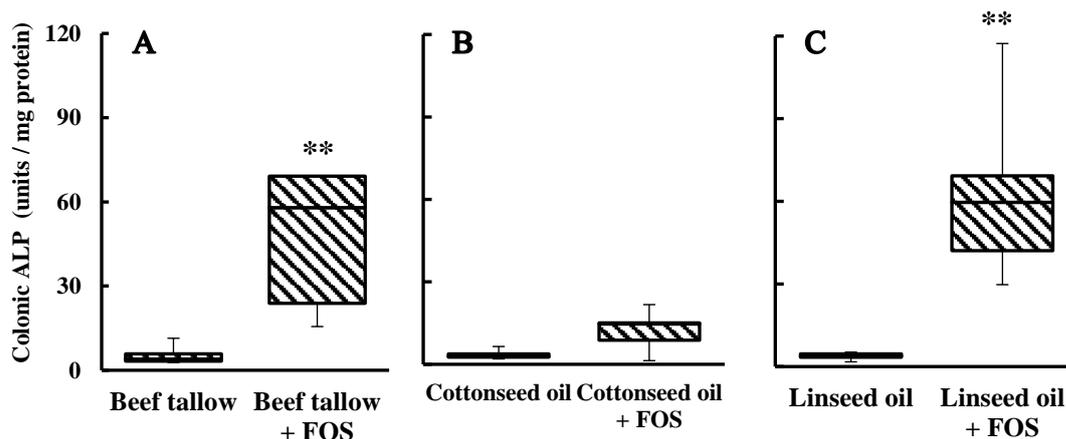


図 2 脂肪酸組成の特徴が異なる油脂が FOS 摂取ラットの大腸 ALP 活性に及ぼす影響

** P<0.01

実験 2 の結果より, FOS 摂取ラットの大腸 ALP 活性は, ラード食群と比較して, ブドウ種子油食で有意に低下した。ラードとブドウ種子油 4:1 配合食群では大腸 ALP 活性が低下傾向を示し, 1:1 配合食群では有意に低下した。大腸における腸型 ALP 遺伝子 (*Alpi-1*) 発現も, ALP 活性と同様の挙動が認められた。また, 大腸 ALP 活性と ω 6 多価不飽和脂肪酸摂取量との間には統計的に有意な負の相関関係があることが示された。これらの結果より, FOS 摂取による大腸 ALP 誘導作用は, ω 6 多価不飽和脂肪酸の影響をより受けやすい可能性が示唆された。

(2) 脂肪の添加レベルがプレバイオティクス摂取ラットの大腸 ALP 誘導に及ぼす影響

大腸 ALP 活性と *Alpi-1* 発現は, 7%ラード+FOS 食群と比較して 2.5%ラード+FOS 食群では影響が認められなかった。一方, 20%ラード+FOS 食群では大腸 ALP 活性が有意に高く, 40%ラード+FOS 食群でも同様の傾向が示された (図 2A, B)。糞中 Mucin 含量も, 7%ラード+FOS 食群と比較して 20%および 40%ラード+FOS 食群でほぼ同程度に有意に増加した。また, 20%ラード+FOS 食群では, 7%ラード+FOS 食群と比較して, 盲腸内酪酸含量が有意に増加することが示された。

以上より, FOS 摂取による大腸 ALP 活性と腸型 ALP 遺伝子発現, 糞中 Mucin 含量および盲腸有機酸含量への影響は脂肪添加量によって異なり, 20%の添加量で顕著であることが示された。

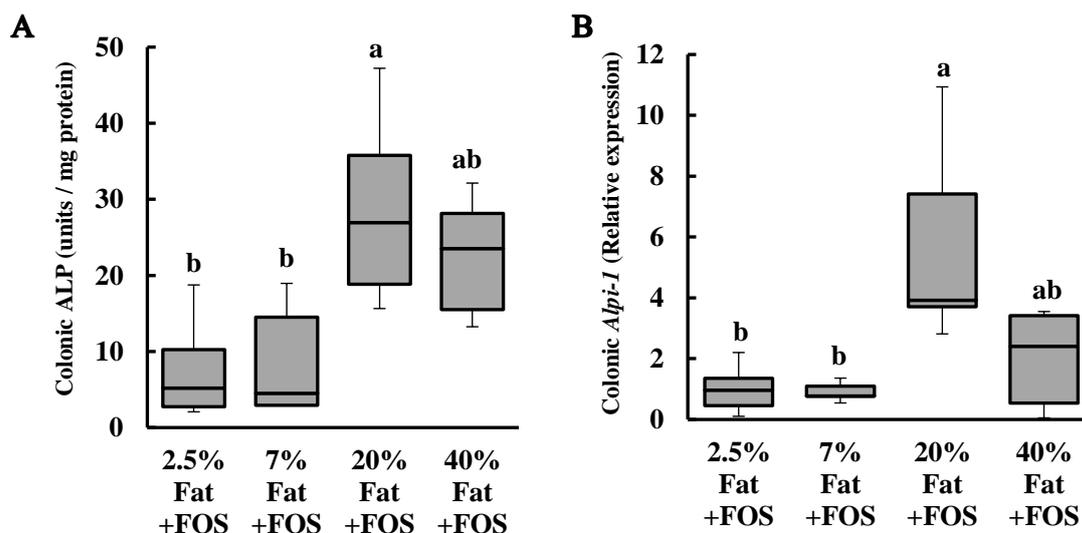


図 2 脂質添加レベルが FOS 摂取ラットの大腸 ALP 活性と遺伝子発現に及ぼす影響

^{a, b} P<0.05

(3) ペクチンの添加レベルが高脂肪食摂取ラットの大腸 ALP 誘導に及ぼす影響

プレバイオティクス摂取による大腸内環境への影響は, 20%の脂肪添加量で顕著であることが示されたことから, 20%脂肪食の条件下で水溶性食物繊維ペクチンの添加レベルを設け, 大腸 ALP への影響を検討した。その結果, 大腸 ALP 活性と遺伝子 (*Alpi-1*) 発現は添加レベルに従っ

て増加し、大腸 ALP 活性は 2.0%以上で、*Alpi-1* 発現は 4.0%ペクチン添加で有意に増加した。ウエスタンブロッティングの結果より、糞中 IAP タンパク質は、ペクチンの添加量に従って強く検出されることが示された。糞中 Mucin 含量は添加レベルに従って有意に増加し、*Clostridium leptum* は添加レベルに従って低下した。以上より、高脂肪食条件下でのプレバイオティクスによる大腸 ALP 誘導をはじめとする腸内環境調節作用は、比較的現実的な添加レベルから引き起こされることが示された。

本研究より、プレバイオティクスによる大腸 ALP 誘導をはじめとする腸内環境調節作用は、 ω 6 多価不飽和脂肪酸と比較して、飽和脂肪酸や ω 3 多価不飽和脂肪酸の多い油脂を摂取させた場合に高まることが示された。また、プレバイオティクスの大腸内での機能が最大限に発揮されるには、通常より多くの脂肪量を要する可能性が新たに見出された。今後は、長期摂取させた条件下での影響や、大腸炎等の疾病が生じた状態での影響を詳細に検討する必要がある。

<引用文献>

- ① Okazaki Y, Katayama T. Glucomannan consumption elevates colonic alkaline phosphatase activity by up-regulating the expression of IAP-I, which is associated with increased production of protective factors for gut epithelial homeostasis in high-fat diet-fed rats. *Nutr Res* 43: 43-50 (2017).
- ② Okazaki Y, Katayama T. Consumption of non-digestible oligosaccharides elevates colonic alkaline phosphatase activity by up-regulating the expression of IAP-I, with increased mucins and microbial fermentation in rats fed a high-fat diet. *Br J Nutr* 121: 146-54 (2019).
- ③ Okazaki Y, Katayama T. The effects of different high-fat (lard, soybean oil, corn oil or olive oil) diets supplemented with fructo-oligosaccharides on colonic alkaline phosphatase activity in rats. *Eur J Nutr* 60: 89-99 (2021).

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 Yukako Okazaki, Tetsuyuki Katayama	4. 巻 110
2. 論文標題 High-fat diet promotes the effect of fructo-oligosaccharides on the colonic luminal environment, including alkaline phosphatase activity in rats	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nutrition Research	6. 最初と最後の頁 44 ~ 56
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.nutres.2022.12.009	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10件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 岡田妃可, 岡崎由佳子
2. 発表標題 動物油脂と植物油の配合がフルクトオリゴ糖摂取ラットの大腸ALP活性をはじめとする腸内環境におよぼす影響
3. 学会等名 日本農芸化学会2024年度大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 岡崎由佳子
2. 発表標題 脂質の種類や量がオリゴ糖の腸内環境調節作用に及ぼす影響
3. 学会等名 日本脂質栄養学会 食用油脂安全委員会 第4回ミニシンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 岡田妃可, 岡崎由佳子
2. 発表標題 ラード及びブドウ種子油の配合食がオリゴ糖ラットの大腸ALP活性に及ぼす影響
3. 学会等名 2023年度 日本農芸化学会北海道支部 第2回学術講演会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岡崎由佳子
2. 発表標題 オリゴ糖が大腸内環境に及ぼす影響と脂質栄養
3. 学会等名 第77回日本栄養・食糧学会大会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中谷有希, 岡崎由佳子
2. 発表標題 ペクチンの添加レベルが高脂肪食摂取ラットの大腸ALP活性と遺伝子発現に及ぼす影響
3. 学会等名 第77回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yuki Nakaya, Tetsuyuki Katayama, Yukako Okazaki
2. 発表標題 Comparative investigation of the effects of beef-tallow and cottonseed oil diets on colonic luminal environment including the ALP activity in rats fed fructo-oligosaccharides
3. 学会等名 22nd IUNS-ICN International Congress of Nutrition (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐藤 里咲, 白鳥 菜々子, 大柏 優衣, 酒井 茉帆, 岡崎 由佳子
2. 発表標題 異なる種類の食餌脂質（牛脂, パーム油, 綿実油, 亜麻仁油）がオリゴ糖摂取ラットの大腸ALP活性を含む腸内環境調節因子に及ぼす影響
3. 学会等名 日本食物繊維学会第27回学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岡崎由佳子, 中谷有希
2. 発表標題 牛脂食および綿実油食がオリゴ糖摂取ラットの大腸ALP活性を含む腸内環境調節作用に及ぼす影響の比較検討
3. 学会等名 第76回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岡崎 由佳子, 中谷 有希
2. 発表標題 コーン油への飽和脂肪酸の添加がフルクトオリゴ糖摂取ラットの大腸ALP活性をはじめとする腸内環境におよぼす影響
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岡崎 由佳子, 能瀬 菜々, 篠原 結月
2. 発表標題 脂肪の添加レベルがフルクトオリゴ糖摂取ラットの大腸ALP活性をはじめとする腸内環境に及ぼす影響
3. 学会等名 日本食物繊維学会第26回学術集会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------