

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 06 月 18 日現在

機関番号：27301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010 ～ 2012

課題番号：22590599

研究課題名（和文） 下痢抑制に及ぼす難消化性糖質経口摂取による腸内細菌由来水素ガスの影響に関する研究

研究課題名（英文） Effect on the suppression to diarrhea by hydrogen derived from the fermentation of intestinal microbes by the ingestion of nondigestible oligosaccharide.

研究代表者

中村 禎子（NAKAMURA SADAOKO）

長崎県立大学・看護栄養学部・助教

研究者番号：60382438

研究成果の概要（和文）：

経管栄養療法や抗生剤投与では非感染性下痢症が観察される。我々は既に難消化性糖質摂取による高浸透圧性下痢抑制作用を報告した。本研究は下痢誘発実験動物モデルへフラクトオリゴ糖を継続摂取させ腸内細菌叢の変化と下痢抑制作用との関連性を検討した。その結果、体外排水素ガス濃度が高く、酸化ストレスマーカーや炎症性サイトカインが良好であり、腸内細菌由来有害酵素活性低下等との関連性が推察された。以上のことより、難消化性糖質は経管栄養剤の改良に有用である可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Non-pathogenic diarrhea is often induced by the enteral nutrition and antibiotic treatment. We have already clarified that the induction of osmotic diarrhea was suppressed by the ingestion of nondigestible oligosaccharide. In this study we examined the interaction among the suppression to diarrhea and the change in intestinal microflora by the ingestion of fructooligosaccharide using modeled animals that induce the diarrhea. It was suggested that the suppression for diarrhea interacted among the higher excretion of hydrogen gas, the better levels of oxidative stress markers, inflammatory cytokines, and lower activities of harmful enzymes derived from intestinal microbes. We believe that the nondigestible saccharides can contribute the improvement of the liquid formula.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2011 年度	700,000	210,000	910,000
2012 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・公衆衛生学・健康科学

キーワード：プレバイオティクス、水素ガス、下痢抑制作用、難消化性糖質、腸内細菌

1. 研究開始当初の背景

経管栄養療法や抗生剤投与では原因を特定できない非感染性下痢症がしばしば観察される。下痢症は脱水症状や重篤な低栄養状態を誘発し、易感染状態や離床遅延を惹起するため、非病原性の下痢症誘発を抑制することは重要な課題である。近年、このような下痢症に対する改善または抑制作用を示す物質として、乳酸菌などを経口投与するプロバイオティクス、ならびにグアーガムなどの難消化性糖質を投与するプレバイオティクスが報告されている。申請者らは、難消化性甘味糖質であるフラクトオリゴ糖がバングラデシュスラム街に在住する小児の下痢発症ならびに症状を改善すること、グアーガムおよび結晶セルロースに高浸透圧性下痢誘発に対する抑制作用のあることなど、難消化性糖質経口摂取による下痢改善効果を明らかにしている。一方、難消化性糖質は消化を免れて大腸内に到達し、腸内細菌による発酵を受けて短鎖脂肪酸やガスに代謝される。その中で産生される水素ガスは強いラジカル消去能をもつことから、我々はこれらの下痢抑制に水素ガス産生が関与しているものと考えている。そこで、難消化性糖質摂取による下痢抑制の要因について、水素ガス産生や腸内細菌の代謝産物との関連性を検討した。本研究成果は難消化性糖質を用いた経管栄養剤などの改良に寄与できるものと考えている。

2. 研究の目的

本研究の最終目的は、難消化性糖質経口摂取の下痢抑制機序に共通する因子を、難消化性糖質摂取によって生じる腸内細菌叢の変化ならびに腸内細菌代謝産物とその作用の側面から明らかにすることである。本研究では腸内細菌由来水素ガスの抗酸化作用によ

る下痢抑制への影響に着目する。高齢期に誘発する下痢症ならびに抗生物質起因性下痢症モデル動物を用いて、水素ガス産生と抗酸化作用、短鎖脂肪酸および有機酸濃度との関連性、ならびに消化管粘膜上皮における受容体などに着目して検討した。

3. 研究の方法

【実験Ⅰ】下痢易誘発モデルマウスへ難消化性糖質を長期間経口摂取させて腸内細菌叢を変化させ、腸内細菌代謝産物の下痢抑制に及ぼす影響を観察する実験。

老化に伴い下痢誘発を生じる老化促進マウス SAMP6 へ、AIN93 精製飼料（コントロール群）、ショ糖の 5% を難消化性糖質であるフラクトオリゴ糖（FOS 群）あるいはグルコマンナン（GM 群）に置換した飼料を与えて 45 週間飼育した。解剖時に盲腸内容物を嫌氣的に採取して培養法により腸内細菌叢の変化を観察した。また同時に糞便から DNA を抽出し腸内細菌叢を観察した。盲腸内容物中の菌由来有害酵素活性を測定し、尿中酸化ストレスマーカー、血液中サイトカインなどを測定して、糞便状態や腸内細菌叢との関連性を検討した。

【実験Ⅱ】抗生物質起因性下痢を誘発させたラットの腸内細菌由来代謝産物および盲腸組織の変化に及ぼす難消化性糖質の影響を観察する実験。

Wistar 系雄性ラットを AIN93 のコントロール飼料とショ糖 5% を FOS に置換した飼料で 7~10 日間飼育し、ラット体外への水素ガス濃度測定を行った。その後 3 種類の抗生剤混合溶液を投与して腸内細菌を減少させて抗生物質起因性下痢症を誘発させた。盲腸内容物中の短鎖脂肪酸濃度を前述と同じ方法

で測定し、盲腸組織を観察した。

【実験Ⅲ】難消化性糖質経口摂取によって誘発した高浸透圧性下痢の修復期の違いによる短鎖脂肪酸受容体の変化の検討。

我々はこれまでに Wistar 系雄性ラットを AIN93 のショ糖 8%を FOS に置換した飼料で飼育して高浸透圧性下痢を誘発し、下痢誘発期、下痢修復直後、下痢修復 2 週間後に腸内細菌叢と短鎖脂肪酸濃度を測定した結果、これらが有意に変化することを報告した。そこで、これらの時期のラットが体外へ排泄する水素ガス濃度、酸化ストレスマーカー、ならびに短鎖脂肪酸受容体の変化を観察した。

4. 研究成果

SAMP6 は、難消化性糖質摂取によって FOS 群と GM 群は軟便となり、10~14 日後に馴化した。その後散発的に軟便が観察されたが FOS 群では重症化しなかった。FOS 群の盲腸内容物中腸内細菌叢はコントロール群に比較して *Bifidobacterium* 属および乳酸菌属が有意に増殖し、 β -グルコシダーゼや β -グルクロニダーゼなどの有害菌体酵素活性が有意に低値を示した。また、FOS 群と GM 群の IL-10 などのサイトカインおよび 8OHdG などの酸化ストレスマーカーは、コントロール群に比較して有意に良好であった。

抗生物質投与によって誘発した下痢症のラットでは、短鎖脂肪酸生成はコントロール群と FOS 群のいずれもわずかに観察された。FOS 群では盲腸組織の炎症性細胞数が低値である傾向を示した。ショ糖 8%を FOS に置換して高浸透圧性下痢を誘発したラットでは、コントロール群に比較してラット体外へ排出される水素ガス濃度が有意に高値を示した。下痢誘発期、下痢修復直後、下痢修復 2 週間後の血液中酸化ストレス (dROM) お

よび酸化マーカー (BAP) には統計的有意差な観察されなかった。また、短鎖脂肪酸受容体の変化については本研究では有効な結果を得られなかった。

以上の結果、高浸透圧性下痢症や抗生物質起因性下痢症は、難消化性糖質である FOS を継続的に摂取させることによって軽減することが示唆された。わが国では高齢化に伴って経管栄養療法を必要とするケースや濃厚流動食の利用率が高まっている。これに伴い、高浸透圧性下痢など非感染性の下痢に対する有効な対処方法が必要になってきている。本研究成果は、これらの食品開発へ有用な基礎資料を提供できるものと考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

- 1) 中村禎子, 田辺賢一, 大曲勝久, 奥恒行. [査読有] ヒトにおけるダイフルクトースアンハイドライトⅢおよびマンニトールの一過性下痢に対する最大無作用量の評価. *New Diet Therapy* 28, 3-13 (2012).
- 2) Hongo R, Nakamura S, Oku T. [査読有] Utilization of orally administered D-[14C]mannitol via fermentation by intestinal microbes in rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 56, 387-395 (2010).

[学会発表] (計 7 件)

- 1) Nakamura S, Morita S, Miyahara A, Ushiroda C, Yamaguchi Y, Oku T. Effect on the suppression of postprandial glucose by the ingestion of liquid formula added crystallized cellulose in healthy human. IUNS 20th International Congress of Nutrition. September 15th ~20th, 2013.

- Granada, Spain. [発表確定]
- 2) Oku T, Nakamura S. Evaluation of available energy of several dietary fiber materials based on the fermentability from breath hydrogen excretion in healthy subjects. IUNS 20th International Congress of Nutrition. September 15th ~20th, 2013. Granada, Spain. [発表確定]
 - 3) Nakamura S, Tanabe K, Ushiroda C, Yamaguchi Y, Oku T. Effect of crystallized cellulose on suppression of transitory osmotic diarrhea induced by substitutes. 12th International Conference “Functional Food Ingredients and Nutraceuticals in Chronic Disease: Science and practice”. November 28th ~ December 1st, 2012. Dallas, TX, USA.
 - 4) 中村禎子, 後田ちひろ, 山口喜勇, 宮原明美, 田辺賢一, 奥 恒行. ラットにおける難消化性オリゴ糖投与による水素ガス産生の動態ならびに産生水素ガスの生理的意義. 第 16 回日本食物繊維学会学術集会. 2012 年 11 月 23 日~24 日. 福岡市.
 - 5) 田辺賢一, 北島美穂, 中村禎子, 奥 恒行. 老化促進モデルマウス SAMP6 の骨粗鬆症発症に及ぼす難消化性オリゴ糖ならびに食物繊維長期摂取の影響. 第 16 回日本食物繊維学会学術集会. 2012 年 11 月 23 日~24 日. 福岡市.
 - 6) 中村禎子, 伊森千晃, 橋口美智留, 田辺賢一, 奥 恒行. ラットにおける α -グルコシダーゼ阻害物質と同時摂取した消化性糖質のプレバイオティクス効果. 第 65 回日本栄養・食糧学会大会. 2011 年 5 月 13 日~15 日. 東京都.
 - 7) 江島寛幸, 伊森千晃, 福嶋恭子, 田辺賢一, 中村禎子, 奥 恒行. 老化促進マウス SAMP6 の各種生体指標に及ぼす難消化性糖質の影響. 第 65 回日本栄養・食糧

学会大会. 2011 年 5 月 13 日~15 日. 東京都.

6. 研究組織

(1)研究代表者

中村 禎子 (NAKAMURA SADAKO)
長崎県立大学・看護栄養学部・助教
研究者番号 : 60382438

(2)研究分担者

奥 恒行 (OKU TSUNEYUKI)
長崎県立大学・看護栄養学部・名誉教授
研究者番号 : 50010096

(3)連携研究者

大曲 勝久 (OMAGARI KATSUHISA)
長崎県立大学・看護栄養学部・教授
研究者番号 : 90244045