

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 30 日現在

機関番号：34443

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24580187

研究課題名(和文)レジスタントスターチ - 4 の耐糖性改善効果：回腸・結腸ブレーキは関与する！？

研究課題名(英文)Glucose tolerance improvement effect of resistant starch -4: Is ileum and colon brake involved! ?

研究代表者

海老原 清 (Ebihara, Kiyoshi)

大阪青山大学・健康科学部・教授

研究者番号：90036492

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000 円

研究成果の概要(和文)：レジスタントスターチとは小腸で消化されないデンプンおよびデンプンの部分分解物の総称で、大きく4タイプに分類されている。レジスタントスターチ - タイプ4 (RS - 4) は化学的・物理的処理を施したデンプンであり、加工デンプンとして多くの食品に利用されている。RS - 4 は回腸および結腸からのインクレチン分泌を促進し、耐糖性改善効果や糖尿病発症遅延効果を示した。このインクレチン分泌促進効果には、RS - 4 が腸内細菌により分解されて生じる短鎖脂肪酸が強く関与していた。RS - 4 のインクレチン分泌促進効果は、RS - 4 の発酵性の度合いによっており、RS - 4 の種類によって効果の程度は異なっていた。

研究成果の概要(英文)：Resistant starch is highly resistant to  $\alpha$ -amylase digestion and is subdivided into 4 categories (RS type 1- type 4). The use of RS enables fortification of many foods with a dietary fiber-like material. Resistant starch type 4 (RS-4) is chemically or physically modified starch and is used in many food industries to improve the physical properties of various products. RS-4 showed an improving effect of glucose tolerance and a delaying effect of diabetes onset through stimulating the incretin secretion from the ileum and colon. The stimulating effect of RS-4 on incretin secretion was strongly related to the amount of short chain fatty acids produced by bacteria fermentation of RS-4 in the large intestines. The incretin such as GLP-1 (glucagon-like peptide-1) and PYY (peptide YY) is hormone secreted from the gut in response to food and stimulates the secretion of insulin. The stimulating effect of RS-4 on incretin secretion depended on the degree of fermentation of the RS-4.

研究分野：栄養科学

キーワード：レジスタント スターチ タイプ4 耐糖性改善効果 血糖値 インスリン インクレチン 短鎖脂肪酸

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 食物繊維などの難消化性食品成分、特にコンニャクマンナン、グアーガム、ペクチンのような粘性の高い難消化性食品成分は回腸・結腸ブレーキを介して耐糖性改善効果のあることが明らかにされている。現在、日本を含め先進国の食物繊維摂取量は目標摂取量には達していない。このことは、今日の食生活では十分な量の食物繊維を摂取することが非常に難しいことを示している。食物繊維摂取の補足を目的とした食物繊維強化食品の開発はなされているが、1) 食感や味を損なう問題、2) 食品加工上の問題(例えば、パンの膨らみが損なわれるなど)があり、食物繊維摂取量の不足を補うまでには利用されていない。RSはデンプンなので、パン、麺類などのデンプン性食品への利用が容易であり、日常的に無理のない摂取が可能である。さらに、食物繊維に比べ加工性に優れ、食感、味、色、形態などを損なうことなく食品に量的に多く添加できる。

(2) RSも難消化性食品成分であり、タイプ1~4 (RS1~4) の4タイプに分類されている。タイプ1~3に (RS1-3) については機能性食品成分として使用されているが、価格などの問題点があり汎用されていない。また、RS4は添加した際の食感、加工特性においてもRS2およびRS3よりも優れている。また、RS4はRS2およびRS3と違い、化工方法により物性および加工特性の異なる種々のRS4の製造が可能である。事実、タイプ4 (RS4) は化学修飾デンプンとしてデンプン食品の物性改良材としてこれまで多くの食品に使用されている。また、増粘剤などデンプン性食品以外への応用も可能である。したがって、RS-2やRS-3よりも量的に摂取可能であるとともに、幅広い種類の糖尿病予防および治療を意図した食品の開発が可能である。

## 2. 研究の目的

上記の研究開始時の背景を基にRS4の耐糖性改善効果を、RS4の質・量と改善効果能との関連、RS4の耐糖性改善効果の作用機序を明らかにすること、幅広い種類の糖尿病予防および治療を意図した食品の開発を行うことが、本研究の目的である。

付随的ではあるが、飼料摂取量を低下させ、体脂肪蓄積を抑制することも耐糖性改善効果に大きく関係することなので、この面からのアプローチも本研究の目的とした。

## 3. 研究の方法

(1) 実験動物 (Wistar系ラット) にAIN93G飼料または5%のRS4を含むAIN93G飼料を与え、所定の期間飼育後に採血した。採血後、盲腸、回腸、結腸を摘出した。RS4の添加量を5%にしたのは、ヒトでの摂取量に換算すると25g/dayになり、1日あたりの食物繊維目標摂取量に当たるからである。

耐糖性改善効果を比較検討するにあつ

ては、血液については、インクレチン (GLP-1、GIP) 摂食調整に關与するPYY、インスリン、血糖値、回腸、盲腸粘膜のGLP-1 mRNA発現量を測定した。盲腸内容物については短鎖脂肪酸量を測定した。短鎖脂肪酸がインクレチンの分泌に關与することが知られている。

インクレチンは食事摂取に伴い消化管から分泌され、膵細胞に作用してインスリン分泌を促進する消化管ホルモンである。インクレチンは血糖値が上昇した時のみに作用してインスリンの分泌を促進して血糖を降下させるのでインスリンを調節投与した時に起こるような低血糖になることがないので、より安全である。しかし、インクレチンは血中などに多くある酵素「DPP-4 (ジペプチジルペプチダーゼ-4)」によってすぐに分解されてしまう。インクレチンを分解するDPP-4の働きをブロックすることで、活性型のインクレチンの濃度をあげ、血糖を良好にコントロールすることが可能である。DPP-4の活性の働きを阻害すれば、インクレチンの働きでインスリン分泌が強まり、血糖コントロールが容易になるので、糖尿病治療にはDPP4が用いられている。

(2) RS4の耐糖性改善効果に及ぼす影響を結腸・回腸ブレーキの点から明らかにするため、回腸内容物を超遠心分離機で分離し、上澄と沈殿物中の糖質、脂質、タンパク質含量を測定した。回腸中の糖質、脂質、アミノ酸はインクレチンの分泌を促進することが知られている。

(3) ラットをモデルとして得られた実験結果をヒトに演繹しようとする場合、最も問題になるのは、盲腸の存在形態の違いである。ヒトに比べ相対的に非常に大きく、腸内細菌の働きが非常に活発な盲腸をラットは有している。さらに盲腸は難消化性多糖類の主たる発酵の場である。そこで、できるだけヒトに近い消化管モデルになるように盲腸切除ラットを用い、RS4のインクレチン分泌に対する短鎖脂肪酸の影響を検討するとともに、インクレチン分解酵素であるDPP-4活性に及ぼすRS4の影響についても検討した。

(4) RS4の発酵性 (短鎖脂肪酸生成能) について、呼吸水素ガスを測定することで検討した。呼吸水素ガスは食物繊維、レジスタントスターチのような難消化性多糖類が大腸で腸内細菌により分解 (発酵) された時に短鎖脂肪酸とともに生成されるもので、発酵性の程度を比較する上での指標になる。

(5) RS4摂取が腸内細菌叢に与える影響をPCR-DGGEにより検討した。

(6) 食品素材の開発を目的に、耐糖性改善効果が強く認められたヒドロキシプロピル化デンプンを酵素処理し、不消化部分を集め、耐糖性改善効果を検討した。

## 4. 研究成果

(1) 各種の物性の異なるRS4を用い、インクレチン分泌に及ぼす物性の影響を検討した

ところ、特に粘性が重要な要素であることが明らかとなった。

(2) 粘性を有するヒドロキシプロピル化デンプンのヒドロキシプロピル化度の異なる4種類(置換度=58, 86, 144, 340)を用いさらに粘性と血中GLP-1濃度、回腸・盲腸・結腸組織中のGLP-1量を測定したところ、58-144までは置換度、粘度の上昇に伴い増加したが、置換度340ではむしろ低下した。

(3) ヒドロキシプロピル化デンプンを20%、40%含むパンを作り、凍結乾燥後に粉末化し、飼料中にヒドロキシプロピル化デンプンが5%になるように調製したAIN93-based飼料をラットに与えた。パンを作る際の加工処理(練る、発酵、焼くなど)は、ヒドロキシプロピル化デンプンが元来有するGLP-1、PYY分泌能に影響を与えることはなかった。ヒドロキシプロピル化デンプンを20%、40%含むパンは食感、外観ともに通常のパンと変わりがなかった。

(4) ヒドロキシプロピル化デンプンを酵素処理し、ヒドロキシプロピル基がついている部分を多く含む不消化部分(この部分は水溶性である)を取り出し、この不消化部分の発酵性を調べたところ、発酵性は低いが、腸内細菌叢は大きく変化していることが明らかになった。しかし、血中インクレチン濃度の上昇は見られず、分泌には回腸ブレイキよりも、盲腸内で生成される短鎖脂肪酸の量に大きく影響されることが示された。

(5) ヒドロキシプロピル化度の異なる4種類(置換度=58, 86, 144, 340)の発酵性を調べたところ、58-144までは置換度、粘度の上昇に伴い発酵性は高くなったが、置換度340ではむしろ低下した。DPP4による作用はPYYよりもGLP-1の方が強く受けた。

(6) 盲腸切除によりGLP-1、PYYの血中濃度は明らかに低下し、GLP-1、PYY分泌には回腸・結腸ブレイキよりも短鎖脂肪酸の方が大きく関与することが明らかになった。

(7) 盲腸内容物中の短鎖脂肪酸量と門脈血中のGLP-1、PYY濃度の間に正の相関性が認められた。

(8) 回腸内容物中の糖質、脂質、アミノ酸量は、粘性の大きいRS4を摂取すると増加したが(特に上澄部分で)、血中インクレチン濃度や回腸粘膜のGLP-1 mRNA発現量と相関性は認められなかった。

(9) RS4摂取により盲腸内容物中の腸内細菌層が大きく変化した。ヒドロキシプロピル化デンプン摂取時には、飼料中のヒドロキシプロピル化デンプンの添加量を増加させるに従い、*Clodtridium cocoides group*、*Bacteroides*の顕著な増加が認められた。

(10) RS4の摂取はGLP-1やPYYの分泌量を増加させることにより、ラットの飼料摂取量を低下させた。

## 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4件)

Ebihara K, Kaneko N, Kishida T (2013)  
Hydroxypropylation of high-amylose maize starch changes the digestion and fermentation-dependent parameters in rats. J Nutr Sci、査読有、Vol.2、2013、1-10、DOI:10.1017/jns.2013.5.

### 総説・解説

海老原 清、教材研究：レジスタントスターチの栄養・生理機能、日本調理化学会誌、26巻、2014、49-52.

海老原 清、特集：第11回高付加価値食品開発のためのフォーラム、レジスタントスターチ・タイプ4の栄養・生理機能について、日本食品・機械研究会誌、1巻、2014、34-42

海老原 清、食物繊維の栄養・生理機能について、醤油の研究と技術、47巻、2014、145-151.

### [学会発表](計5件)

山本松平、立部誠、岸田太郎、海老原清、消化管機能に対するヒドロキシプロピル化デンプン摂取の影響、第67回日本栄養・食糧学会大会、2013、名古屋市、講演要旨集、p.200、

海老原清、レジスタントスターチ・タイプ4の栄養・生理機能、第53回澱粉研究懇談会、2013、伊東市、資料集、pp.87-92.  
海老原清、第11回高付加価値食品開発のためのフォーラム(シーズとニーズの新たな出会い)2013、富士裾野市、要旨集、pp.14-17.

Ryoko Shimada, Yohko Sugawa-Katayama, Kiyoshi Ebihara, Plasma GLP-1 concentration is increased in non-operated rats fed fermentable dietary fiber, but not in cecectomized rats, 12<sup>th</sup> Asian Congress of Nutrition, 2015, Yokohama, Abstract p.162.

Ryoko Shimada, Yohko Sugawa-Katayama, Kiyoshi Ebihara, Decrease of plasma GLP-1 concentration and DPP-4 activity in rats fed partially hydrolyzed guar gum by cecectomy, 6<sup>th</sup> International Dietary Fibre Conference 2015, 2015, Paris Abstract

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

海老原 清 (EBIHARA, Kiyoshi)

研究者番号：9 0 0 3 6 4 9 2

##### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：