

令和 3 年 5 月 17 日現在

機関番号：30105

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K02244

研究課題名(和文) 難消化性糖質による大腸アルカリホスファターゼ誘導作用に対する栄養条件の影響と解析

研究課題名(英文) Effects of nutritional conditions on induction of colonic alkaline phosphatase activity by dietary nondigestible carbohydrates, and those analyses

研究代表者

岡崎 由佳子 (OKAZAKI, Yukako)

藤女子大学・人間生活学部・准教授

研究者番号：80433415

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、難消化性オリゴ糖摂取ラットの大腸ALP活性誘導をはじめとする腸内環境調節作用が摂取する脂質の種類により異なり、大豆油食やコーン油食と比べてラード食の条件で作用が高まることを明らかにした。また、オリゴ糖による大腸ALP活性誘導作用は、摂取脂肪やタンパク質の量が多い条件下で顕著である可能性が示された。これらの結果より、難消化性糖質摂取による大腸ALP活性誘導をはじめとする腸内環境調節作用は、摂取する脂質とタンパク質の種類や量といった栄養条件により異なることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、腸内環境と健康は密接に関与することが知られてきており、その機能調節に関して食生活の面からも幅広く研究されている。一方で、食品成分の機能性は一定ではなく、人の栄養状態や生理状態により変動することが考えられる。本研究より、難消化性糖質摂取による大腸ALP活性増加作用をはじめとする腸内環境調節作用は、摂取する脂質とタンパク質の質や量といった栄養条件により異なることが新たに見出された。

研究成果の概要(英文)：This study demonstrated that dietary fat types influenced the effects of dietary nondigestible oligosaccharides on the colonic luminal environment, including ALP activity. The effect of oligosaccharides on colonic ALP activity and luminal variables was prominent when the rats are fed lard diet compared to rats fed soybean oil diet, or corn oil diet. It was further found that the inductive effect of dietary oligosaccharides on colonic ALP activity was prominent under the high-fat diet or high-protein diet conditions. These results suggest that nutritional conditions such as the quality or quantity of dietary fat or protein may change the effects of nondigestible carbohydrates on the colonic luminal environment including the ALP activity.

研究分野：食物学，栄養学

キーワード：大腸ALP活性 難消化性糖質 栄養条件 大腸内環境 ラット

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

腸内環境と健康は密接に関係することが知られてきており、その機能調節が重要視されている。腸管の機能維持には多様な因子が関わりあっており、これらの調節に関して食生活の面からも幅広く研究されている。

アルカリホスファターゼ (ALP) は、アルカリ性条件下でリン酸化合物を分解する糖タンパク質酵素であり、人を含む動物の生体内では、肝臓、腎臓、小腸、大腸など幅広い組織に分布している。近年小腸由来の ALP は、腸管の内毒素 (LPS) を分解して解毒することにより、炎症に対して防御的に作用することが報告されている。また動物実験により、小腸型の ALP を経口投与すると、メタボリックシンドロームが抑制されることも示されている。さらに、ビタミン A, D, K などの食品因子により小腸 ALP 活性が誘導されることが明らかにされている (引用文献①)。一方で、大腸における ALP の機能や食品因子による影響は、活性が小腸と比べてかなり低いこともありほとんど検討されていない。

これまでの研究において、水溶性食物繊維やオリゴ糖といった難消化性糖質が共通して、小腸には影響を与えず大腸特異的にラットの ALP 活性を増加させ、この作用に腸型 ALP 遺伝子 (*IAP-I*) の発現誘導が関与することを見出してきた (引用文献②, ③)。また、難消化性糖質摂取による大腸 ALP 活性上昇は、腸管バリア機能の指標である糞中 Mucin 含量、腸内細菌叢の *Bifidobacterium* spp. の割合および腸内発酵産物の酪酸含量といった、腸内環境の機能維持に関わる因子と正の相関関係にあることを明らかにした。一方で、食品成分の機能性は一定ではなく、人の栄養状態や生理状態により変動することが考えられる。これまでに、難消化性糖質による大腸 ALP 活性誘導作用をはじめとする腸内環境への影響が、栄養条件によりどのような影響を受けるかについては明らかになっていない。

2. 研究の目的

上述の研究背景から本研究では、難消化性糖質が大腸 ALP 活性と遺伝子発現をレギュレートする状況を、脂質やタンパク質の栄養条件を変えて検討することを目的としている。

3. 研究の方法

(1) 摂取脂肪の種類の違いがオリゴ糖摂取ラットの腸 ALP 活性と遺伝子発現に及ぼす影響

実験動物として、4 週齢の SD 系雄ラットを用いた。実験食として実験 1 では 30%大豆油食または 30%ラード食を、実験 2 では 30%コーン油食または 30%オリーブ油食を用い、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 (1 群 6 匹)。実験食と脱イオン水は 14 日間自由摂取させた。飼育終了前の 3 日間の糞を採取し、凍結乾燥後、粉末化した。飼育終了後、大腸、糞および血清 ALP 活性の測定と、大腸 ALP 遺伝子 (*IAP-I*, *Akp3*, *Alpl*) の発現解析 (RT-PCR 法) を行った。さらに、糞中 Mucin 含量 (蛍光光度法)、盲腸内容物の有機酸含量 (HPLC 法)、糞中の細菌叢 (qPCR 法) を解析した。

(2) オリゴ糖摂取ラットの腸 ALP 活性誘導をはじめとする腸内環境変動に対する脂肪摂取量の影響

実験動物として、4 週齢の SD 系雄ラットを用いた。実験食として実験 1 では 5%または 30%ラード食を、実験 2 では 5%または 30%大豆油食を用い、それぞれの飼料に 4%FOS をセルロースに置き換えて添加した飼料を与え (1 群 6 匹) 14 日間飼育した。飼育終了後、大腸、糞、盲腸内容物および血清 ALP 活性の測定と、大腸 ALP 遺伝子の発現解析を行った。また、糞中と盲腸内容物中の Mucin 含量、盲腸内容物の有機酸含量、糞中の細菌叢を解析した。

(3) タンパク質摂取量の違いがオリゴ糖摂取ラットの腸 ALP 活性に及ぼす影響

実験動物として、4 週齢の SD 系雄ラットを用いた。実験食として通常タンパク質 (20%カゼイン) 食または高タンパク質 (45%カゼイン) 食に 4% FOS をセルロースに置き換えて添加した飼料を与え (1 群 6 匹) 14 日間飼育した。飼育終了後、十二指腸、空腸、回腸および大腸 ALP 活性を測定した。

4. 研究成果

(1) 摂取脂肪の種類の違いがオリゴ糖摂取ラットの腸 ALP 活性と遺伝子発現に及ぼす影響

実験 1 と実験 2 を通して、体重増加量および食餌摂取量は、本実験食による影響は認められなかった。また FOS 無添加群において、食餌脂肪の種類の違いによる大腸 ALP 活性をはじめとする腸内環境関連因子への影響は認められなかった。

実験 1 の結果より、FOS 添加食群において、ラード食では FOS 添加により大腸 ALP 活性と ALP 遺伝子 (*IAP-I*) 発現が有意に増加したが、大豆油食では FOS 摂取による有意な影響は認められなかった (図 1A, B)。また、腸管バリア機能の指標である糞中 Mucin 含量も、大腸 ALP 活性や *IAP-I* 発現と類似した挙動を示すことが認められた。FOS 摂取による糞中 *Bifidobacterium* spp. の割合増加や *Clostridium coccoides* の減少も大豆油食と比較してラード食の条件下で顕著で

あった。FOS 摂取による盲腸内容物の有機酸増加作用は、食餌脂質の種類の違いによる影響を受けなかった。

実験 2 の結果より、オリーブ油食では FOS 摂取により大腸 ALP 活性が増加する傾向が示されたが、コーン油食では FOS 摂取による影響は認められなかった。FOS 摂取による Mucin 含量の増加についても、コーン油と比較してオリーブ油で顕著だった。

以上より、FOS 摂取による大腸 ALP 活性、ALP 遺伝子 (*IAP-I*) 発現、糞中 Mucin 含量の増加作用および腸内細菌叢への影響は、ラード食の条件下で顕著であることが示された。また植物性脂肪の中ではオリーブ油食がラード食と類似した傾向を示した。これらの結果より、オリゴ糖が高脂肪食摂取ラットの大腸 ALP 活性をはじめとする腸内環境関連因子に及ぼす影響は、摂取脂肪の種類によって異なることが示された。

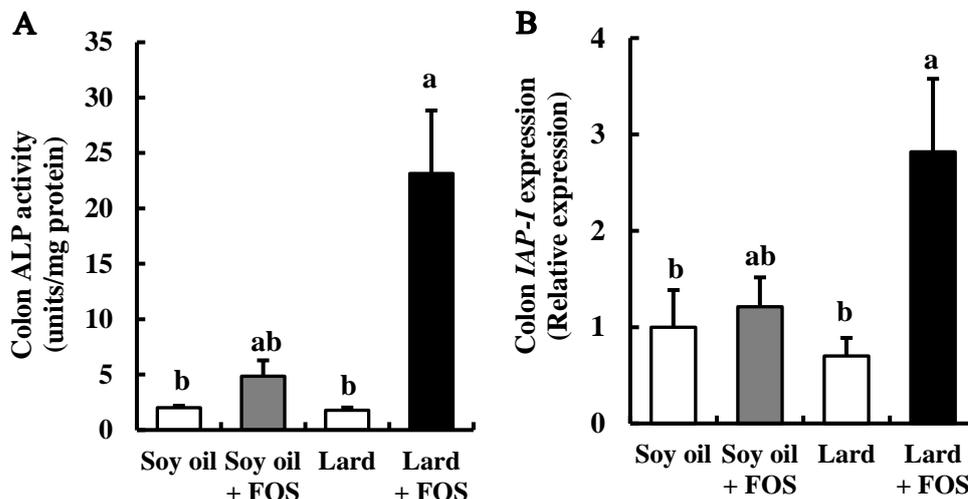


図 1 摂取脂肪の種類の違いがオリゴ糖摂取ラットの大腸 ALP 活性と *IAP-I* 発現に及ぼす影響
a, b P<0.05

(2) オリゴ糖摂取ラットの大腸 ALP 活性誘導をはじめとする腸内環境変動に対する脂肪摂取量の影響

実験 1 と 2 において、FOS 無添加食群では食餌脂肪量の違いによる大腸 ALP 活性および他の腸内環境関連因子への顕著な影響は認められなかった。

実験 1 の結果より、高ラード食では FOS 添加により盲腸内容物と大腸 ALP 活性 (図 2A)、および大腸 *IAP-I* 発現が有意に増加したが、低ラード食では同様の影響は認められなかった。また、FOS 摂取による盲腸内容物と糞中 Mucin 含量 (図 2B)、盲腸内容物酪酸含量の増加、および *Clostridium coccooides* の低下も低ラード食と比較して高ラード食で顕著だった。

大豆油を用いた実験 2 において、FOS によるレスポンスは (1) の結果と一致してラード食の条件よりも弱かったが、低大豆油食と比較して高大豆油食で FOS 摂取による大腸 ALP 活性誘導や Mucin 含量増加作用が高まることが示された。

以上より、FOS による大腸 ALP 活性をはじめとする腸内環境関連因子への影響は、摂取する脂肪の量が多い条件下で顕著である可能性が示された。

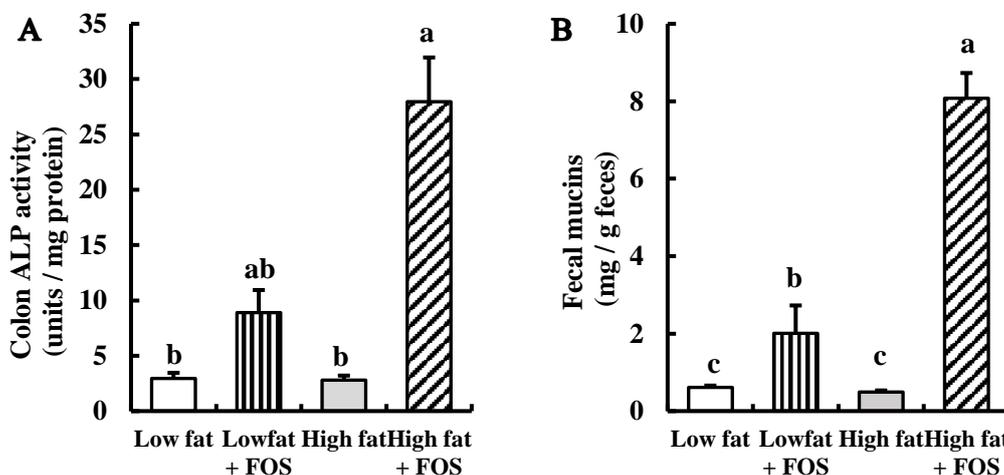


図 2 オリゴ糖摂取ラットの大腸 ALP 活性と糞中 Mucin 含量に及ぼす脂肪摂取量の影響
a, b, c P<0.05

(3) タンパク質摂取量の違いがオリゴ糖摂取ラットの大腸 ALP 活性に及ぼす影響

体重増加量および食餌摂取量は、本実験条件による影響は認められなかった。また FOS 無添加群において、食餌タンパク質量の違いによる大腸 ALP 活性をはじめとする腸内環境関連因子への影響は認められなかった。

一方 FOS 添加群では、高タンパク質の条件下で大腸特異的に ALP 活性が有意に増加したが、通常タンパク質の条件では同様な影響は認められなかった。これらの結果から、摂取タンパク質量の違いもオリゴ糖摂取による大腸 ALP 活性誘導に影響を与える可能性が示された。

本研究より、難消化性糖質摂取による大腸 ALP 活性増加作用をはじめとする腸内環境調節作用は、摂取する脂質とタンパク質の種類や量といった栄養条件により異なることが新たに見出された。今後は、脂質の質に関する研究として、飽和および不飽和脂肪酸が難消化性糖質摂取による大腸 ALP をはじめとする腸内環境調節作用に与える影響を検討する必要がある。また、オリゴ糖などのプレバイオティクスが腸内環境改善作用を最大限に発揮する栄養条件を見出すために、脂質やタンパク質の添加レベルを変えて検討する必要もある。

<引用文献>

- ① Noda S, Yamada A, Tanabe R, Nakaoka K, Hosoi T, Goseki-Sone M. Menaquinone-4 (vitamin K2) up-regulates expression of human intestinal alkaline phosphatase in Caco-2 cells. *Nutr Res* 36: 1269-76 (2016).
- ② 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).
- ③ 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).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 60
2. 論文標題 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	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 European Journal of Nutrition	6. 最初と最後の頁 89-99
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00394-020-02219-y	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 -

1. 著者名 岡崎 由佳子	4. 巻 74
2. 論文標題 食品因子による大腸内環境調節作用に関する研究	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本栄養・食糧学会誌	6. 最初と最後の頁 9-14
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4327/jsnfs.74.9	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8件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 岡崎 由佳子, 粟津 瑠姫, 木村 李華, 小檜山 聖佳
2. 発表標題 食餌脂肪の質の違いがフルクトオリゴ糖摂取ラットの大腸ALP活性誘導と腸内環境変動に及ぼす影響
3. 学会等名 日本農芸化学会2019年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡崎 由佳子
2. 発表標題 大腸内環境関連因子を調節する食品成分
3. 学会等名 日本食品科学工学会第66回大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡崎 由佳子, 粟津 瑠姫, 佐久間 一歌, 上杉 美玖
2. 発表標題 食餌脂質の種類の違いがオリゴ糖摂取ラットの大腸ALP活性誘導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24回学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木 穂那, 東海林 綾香, 岡崎 由佳子
2. 発表標題 食餌脂肪量の違いがオリゴ糖摂取ラットの大腸ALP活性誘導に及ぼす影響
3. 学会等名 2019年度日本農芸化学会北海道支部第2回講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡崎 由佳子, 鈴木 穂那, 東海林 綾香
2. 発表標題 食餌脂肪量の違いがオリゴ糖摂取ラットの大腸ALP活性誘導をはじめとする腸内環境に及ぼす影響
3. 学会等名 日本農芸化学会大会2020年度大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岡崎 由佳子
2. 発表標題 食品因子による大腸内環境改善調節作用に関する研究
3. 学会等名 令和2年度 日本栄養・食糧学会 受賞講演(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岡崎 由佳子
2. 発表標題 食品成分によるアルカリホスファターゼを含む大腸内環境調節作用に関する研究
3. 学会等名 2020年度 日本農芸化学会北海道支部 / 第50回 日本栄養・食糧学会北海道支部 合同学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岡崎 由佳子, 尾崎 舞, 鈴木 穂那, 東海林 綾香
2. 発表標題 フルクトオリゴ糖摂取ラットの大腸ALP活性誘導をはじめとする腸内環境変動に対する脂肪摂取量の影響
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会
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
---------	---------