

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 19 日現在

機関番号：20104

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24700835

研究課題名(和文)大腸発酵水素の全身供給の可能性とその栄養学的役割

研究課題名(英文) Possibility of the whole body supply of hydrogen formed in large intestine and the nutritional role

研究代表者

田邊 宏基 (Tanabe, Hiroki)

名寄市立大学・保健福祉学部・助教

研究者番号：60573920

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では大腸発酵由来水素の一部が全身の組織へ移動することを明らかにするとともに、生体内へ広く供給された水素が肥満等の全身の酸化ストレス軽減に寄与することを明らかにすることを目的とした。まず大腸発酵由来水素の生体内分布を網羅的に解析し、門脈血、肝臓、腎周囲脂肪、精巣上体周囲脂肪中の水素濃度が上昇することを見出した。また、門脈を介した経路のみでは全ての組織に水素を供給しえないことを明示した。次に遺伝的肥満モデルマウスの肥満を誘発する遺伝的背景が大腸水素生成に与える影響を検討し、野生型マウスよりもフラクタンによる大腸水素生成が強く誘導されることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is to clarify that a part of hydrogen derived from large intestine moved to the organs of the whole body and supplied hydrogen contributed to reduce the oxidation stress of whole bodies such as the obesity.

At first we analyzed biodistribution of hydrogen derived from large intestine and found that hydrogen concentration in portal blood, liver, perirenal fat, epididimal fat rose. In addition, we proposed that it could not supply hydrogen to all organs only by the course through the portal vein.

We examined the influence that a genetic background to cause the obesity of the hereditary obesity model mouse gave for hydrogen and hydrogen large intestine generation due to fructan was stronger than a wild type mouse and clarified that it was guided.

研究分野：複合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：栄養学 動物 発酵 水素ガス

1. 研究開始当初の背景

酸化ストレスは動脈硬化や糖尿病といった主要な疾病だけでなく様々な疾患の発症・増悪に影響すると報告されており、その軽減は喫緊の課題である。酸化ストレスを軽減するために種々の方法が試みられているが、近年、Ohsawaらは、 H_2 ガスの吸入によってラット脳虚血-再灌流時の酸化ストレスが軽減し、脳梗塞巣が減少することを明らかにした (*Nature Medicine*, 13, 688-694, 2007)。また、 H_2 が生体に必要な酸化反応を阻害せず、最も酸化力の強いヒドロキシラジカルを特異的に除去することも明らかにされた。これは、 H_2 の生体内還元性が初めて示された点で画期的だった。その後、国内外の様々なグループから H_2 ガスや H_2 含有水の投与によって同様の効果を示すことが多数報告されている。このように、 H_2 が生体内において重要な分子であることは明らかである。しかし、直接的な H_2 の投与では生体内 H_2 濃度の低下が早く (Kamimura et al. *Obesity*, 19, 1396-1403, 2011)、高濃度に維持するためには頻りに摂取する必要がある。また、日常生活でこの方法を取り入れるには多くの費用がかかる。糖尿病や動脈硬化などの生活習慣病は普段の生活における酸化ストレスの蓄積によって発症・増悪すると報告されている。そのため、生活習慣病の発症・増悪の予防には費用を抑えて恒常的に酸化ストレスを軽減することが欠かせない。

申請者らはこれまでに外部から H_2 を供給するまでもなく、発酵基質の摂取によって門脈 H_2 濃度が $10\ \mu\text{M}$ に到達することをラットで確認した。これは H_2 ガス吸入時に見られる血中濃度に匹敵した。また、このようなラットで肝虚血-再灌流酸化障害が軽減されることも明らかにした (Nishimura et al. *Br J Nutr*, 2011 in press)。 H_2 の直接投与にくらべ、大腸発酵による H_2 供給は大腸内に基質が存在する限り体内の高 H_2 濃度を長時間維持できる。また、費用は H_2 ガス吸入や H_2 含有水投与にくらべ抑えられる。このように、利用する人々の生活習慣に大きな負担をかけずに過度な酸化ストレスによるQOLの低下を抑制できる点は大変有利である。

肝臓には高 H_2 濃度の門脈血が流れ込んでいるため、前述のように申請者らは大腸発酵由来 H_2 の酸化ストレス軽減効果の評価に肝臓を用いた。しかしながら、申請者らは最近の予備検討によって、門脈を介する経路とは無関係な組織に H_2 が多く存在していることを見出しつつある。これは門脈を介する経路とは別の H_2 輸送経路の存在を示唆している。すなわち、このことは大腸内から腹腔内に H_2 が吸収されることを示唆するものである。以上のことから、大腸発酵由来 H_2 の腹腔内への吸収および H_2 の生体内分布を明らかにすることで、大腸発酵由来 H_2 がより多くの組織の酸化ストレスを軽減できうることを

示せる着想に至った。このような生体内 H_2 の体内輸送に関する研究は申請者の調べる限り国内外に報告されていない。

2. 研究の目的

前述の背景および着想をもとに本研究では大腸発酵由来 H_2 が吸収され、その一部は門脈に流入することなく腹腔を介して全身の組織へ移動することを明らかにするとともに、腹腔を介した移動経路によって生体内に広く供給された H_2 が全身の酸化ストレス軽減に寄与することを明らかにする。そのために、研究期間内に以下のことを明らかにする。

- (1) 大腸発酵由来 H_2 が吸収され、その一部は門脈に流入することなく腹腔を介して全身の組織に移動することを明らかにする。
- (2) 腹腔を介する H_2 移動経路および門脈を介する H_2 移動経路の H_2 移動寄与率を算出し、生体内 H_2 移動における腹腔を介する経路の重要性を明らかにする。
- (3) 遺伝的肥満モデルマウスを用いて大腸発酵由来水素の酸化ストレス軽減効果を確認するにあたり、肥満を誘発する遺伝的背景が大腸水素生成に与える影響を明らかにする。

3. 研究の方法

- (1) 7週齢のSD系雄ラットを体重および総 H_2 排出量を基準に2群に分け、対照食または難消化性糖質のハイアミロースコーンスターチ (HAS) を20%添加した飼料を14日間与えた。試験最終日にラットの総 H_2 排出量を測定した後、麻酔下で3 mLの生理食塩水を腹腔内投与した。30秒後直ちに開腹し、腹腔内の生理食塩水を1 mL回収し、 H_2 量を測定した。続いて門脈血および腹部大動脈血を採取した後、肝臓中葉、脾臓、精巣、精巣上体周囲脂肪、腎臓、腎周囲脂肪、肺、脳を摘出し、 H_2 濃度を測定した。
- (2) 5週齢の肥満型 (*ob/ob*) 雄マウスと野生型雄マウスを体重および(呼吸+放屁) H_2 排出量を基準にそれぞれ2群に組分けした。それぞれのマウスの片方の群にコントロール(C)食を、もう一方の群にC+5%フラクトオリゴ糖(FOS)食を28日間与えた。3、7、14、21、28日後に(呼吸+放屁) H_2 排出量を測定した。最終日に麻酔下で門脈血および大腸内容物を採取し、門脈 H_2 濃度および大腸内短鎖脂肪酸濃度を測定した。また、大腸内 *Firmicutes/Bacteroidetes* 比を解析し

た。

4. 研究成果

- (1) HAS 食群の門脈血、腎周囲脂肪および精巢上体周囲脂肪中の H₂ 濃度は C 食群に比べ有意に高く、肝臓、精巢、肺で高い傾向を示した。一方、腹部大動脈血、脾臓、腎臓および脳のそれらに両群間で差は認められなかった (図 1, 2)。また、腹腔内 H₂ 量は C 食群に

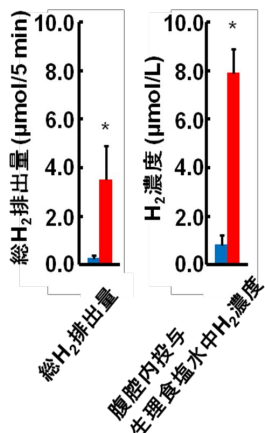


図 1 HAS 摂取による総 H₂ 排出量および腹腔内 H₂ 濃度

比べ HAS 食群で有意に高かった。この腹腔内に投与、回収した生理食塩水には門脈血を超える多量の水素が含まれており、大腸発酵水素は臓器を貫通し、腹腔内を經由して広く全身に到達する可能性が示唆された。また、末梢血ではほとんど水素が検出されないにもかかわらず、内臓脂肪組織には多くの水素が蓄積されたことから、大腸内で生成した H₂ の全てが門脈経路による呼吸や放屁から単純に排出されるだけではないことが初めて示された。また、大腸内から H₂ が腹腔内に拡散し、とりわけ脂肪組織に選択的に取り込まれている可能性が示唆された。これらの知見から大腸発酵由来 H₂ は全身に広く供給され、腹腔内のあらゆる組織、とりわけ脂肪組織において還元性を示し、生体の酸化ストレスを軽減する可

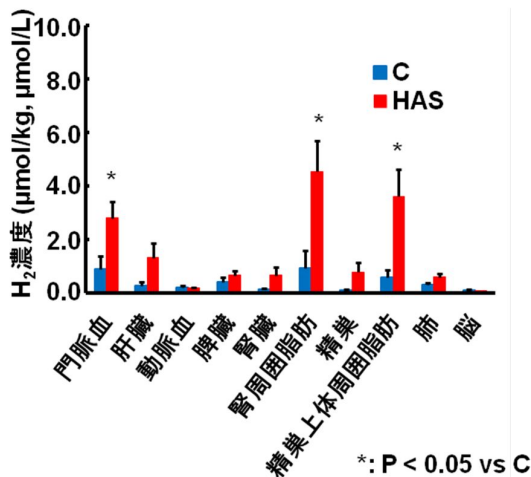


図 2 HAS 摂取による各組織の H₂ 濃度

能性があると考えられる。

- (2) エネルギー摂取量、体重増加量および腎周囲脂肪量は遺伝的肥満モデルマウスで野生型に比べ有意に増加した (data not shown)。先の実験では 5 分間の (呼吸+放屁) H₂ 排出量を総 H₂ 排出量として測定し、非侵襲的に水素供給具合を確認する手段としたが、本試験では飼育期間中定期的に (呼吸+放屁) H₂ 排出量を測定し、その曲線下面積から (呼吸+放屁) H₂ 排出量 AUC_{0-28d} を算出し、飼育期間中の水素供給量を予測した。 (呼吸+放屁) H₂ 排出量および門脈 H₂ 濃度は、FOS 食を与えた肥満型マウスで他の群に比べ有意に増加した (図 3)。大腸内酢酸

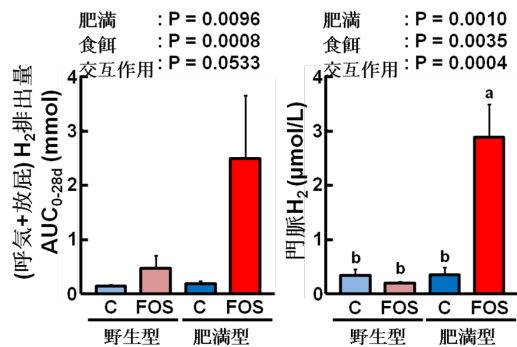


図 3 (呼吸+放屁) H₂ 排出量 AUC_{0-28d} および門脈 H₂ 濃度

濃度およびプロピオン酸濃度では全ての群で差がなかった。一方、酪酸濃度は FOS 食を与えた肥満型マウスで他の群に比べ有意に増加した (data not shown)。このことは遺伝的肥満モデルマウスの腸内細菌叢は FOS を資化する際に H₂ を生成する菌が多いもしくは H₂ を利用する菌が少ないことを示唆する。また、C 食を与えた肥満型マウスの Firmicutes/Bacteroidetes 比は野生型マウスの約 6 倍だった。FOS 食を与えた肥満型マウスの Firmicutes/Bacteroidetes 比は野生型マウスの 0.023 倍だった (図 4)。以上

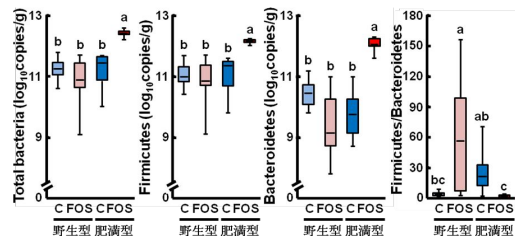


図 4 (呼吸+放屁) H₂ 排出量 AUC_{0-28d} および門脈 H₂ 濃度

の結果から、肥満による腸内細菌叢の変化が FOS 摂取時の大腸 H₂ 生成を増

進させることが示唆された。一般に、肥満と痩せでは腸内細菌叢が異なることが知られている。大腸内発酵で水素が生成されないような腸内細菌叢パターンも考えられる。このため、難消化性糖質の資化による水素供給方法では腸内細菌叢の変化は死活問題であるが、本試験の知見により、肥満モデルの腸内細菌叢でも水素生成を増強する難消化性糖質を発見できたことは、今後の肥満モデルを用いた検討において非常に有益である。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 4 件)

- (1) 田邊宏基、橋本裕子、山本達朗、西村直道、高脂肪食時のフラクタン摂取はラット大腸 H2 生成を特に亢進する、第 67 回日本栄養・食糧学会大会、2013 年 5 月 24-26 日、名古屋大学 (愛知県)
- (2) 田邊宏基、山本達朗、西村直道、遺伝的肥満マウスの大腸 H2 生成に対するフラクトオリゴ糖の作用、第 43 回日本栄養・食糧学会北海道支部会、2013 年 10 月 26 日、北海道大学 (北海道)
- (3) 田邊宏基、穴戸彩加、山本達朗、西村直道、フラクトオリゴ糖による大腸 H2 生成は肥満マウスで顕著かもしれない、第 18 回日本食物繊維学会学術集会、2013 年 11 月 23-24 日、仁愛大学 (福井県)
- (4) 田邊宏基、佐藤紗佳子、穴戸彩加、山本達朗、西村直道、肥満マウスにおける腸内細菌叢の変化は大腸 H2 生成を増強するかもしれない、第 19 回 Hindgut Club Japan シンポジウム、2013 年 12 月 7 日、専修大学 (東京都)

〔図書〕(計 0 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：
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

田邊宏基 (タナベヒロキ)

研究者番号：60573920