

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 24 日現在

機関番号：30105

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24700845

研究課題名(和文) ユリネの腸内環境改善と生活習慣病予防作用に関する研究

研究課題名(英文) Curative and preventive effects of dietary lily bulb on colonic luminal environment and lifestyle-related diseases

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、アジアの伝統的食材であるユリネが高脂肪食摂取ラットの糞中IgAとムチン(腸管免疫とバリア機能の指標)を増加させることや、腸内発酵を促し、腸内細菌叢を改善することを明らかにした。また、ユリネは内臓脂肪蓄積を抑制し、この作用に糞中の脂質排泄増加が関与していることを見出した。さらにユリネは、肝障害および炎症性大腸炎の抑制に關与する可能性も示唆された。これらの成果から、ユリネは高脂肪食摂取条件下で腸内環境を改善し、生活習慣病を予防することが推定された。

研究成果の概要(英文)：This study demonstrated that consumption of lily bulb, a traditional food in Asia, increased fecal IgA and mucins (indices intestinal immune and barrier functions), colonic fermentation, and improved intestinal microflora composition in rats fed a high-fat diet. Dietary lily bulb also reduced adipose tissue weight by increasing fecal lipid excretion. Furthermore, this study showed that consumption lily bulb may suppress liver injury and inflammatory colitis. These results suggest that lily bulb can be considered as a novel functional food for improving colonic luminal environment and preventing lifestyle-related diseases under the high-fat diet condition.

研究分野：食物学，栄養学

キーワード：ユリネ 腸内環境 生活習慣病 肝障害 炎症性大腸炎 ラット

### 1. 研究開始当初の背景

ユリネはユリ科のユリの鱗茎(球根)で、古くから日本をはじめとする東アジアで食される伝統的食材である。日本におけるユリネの主産地は北海道で、国内生産量の90%以上を占める。主成分は糖質で、根菜類としてはタンパク質も多い。また、食物繊維はゴボウに匹敵する程の量であり、ユリネの粘質物はグルコマンナンである。

ユリネは古くから薬効のある作物として知られており、漢方薬としても利用されている。しかしながら、ユリネの機能性に関する研究は限られており、その栄養的・生理的作用についてはほとんど解明されていない。これまでに、培養細胞におけるユリネ抽出物の抗炎症作用が報告されているが、実際に動物に与えて機能性を調べた研究はほとんどない。

一方、現代の食生活は欧米食の普及に伴い、高脂肪食、低食物繊維食の傾向となっている。その結果、メタボリックシンドロームや、大腸がん、炎症性大腸炎などの生活習慣病が増加し、社会問題となっている。特に、高脂肪食は大腸疾病の危険因子であることが疫学的調査から推測されており、脂質の過剰摂取による腸内環境の変化が、脂質代謝異常や大腸疾病発症に関連していることが指摘されている。そのため、これら疾病を防ぐためには腸内環境の改善が必要とされており、そのための新たな対策を講じることが求められている。

### 2. 研究の目的

これまでに、北海道産を含む様々な食品素材の腸内環境への影響について検討を行ってきたところ、ユリネ乾燥粉末が高脂肪食摂取ラットの腸内発酵を促進させ、腸内環境を改善する可能性を予備的に見出した。近年メタボリックシンドロームや大腸疾病の発症機構の一部は、腸内環境関連因子の変動が関与すると指摘されている。そのためユリネは、腸内環境を改善すると共に、メタボリックシンドロームや大腸疾病の予防に関与する可能性が考えられる。そこで本研究では、ユリネの腸内環境への影響について詳細に検討を加え、脂質代謝や大腸疾病などの生活習慣病因子との関連性を解明することを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) ユリネ摂取による腸内環境と脂質代謝への影響

高脂肪食摂取ラットの腸内環境と脂質代謝に及ぼすユリネ摂取の影響を検討した。

実験動物として4週齢のSD系雄ラットを用いた。1週間の予備飼育後、実験食を一定量の制限食として与え、脱イオン水は自由摂取させて21日間飼育した。実験食は高脂肪食(30%牛脂)を基本食とし、実験1では、生ユリネの凍結乾燥粉末を5%あるいは10%を

添加した飼料を与えた。実験2では、生ユリネあるいは蒸し加熱ユリネの凍結乾燥粉末を7%添加した飼料を与えた。実験3では、ユリネの有効成分を検討するために、試料として生ユリネの凍結乾燥粉末、乾燥粉末の70%エタノール抽出物及び70%エタノール抽出残渣物を用い、ユリネ粉末、エタノール抽出物、エタノール抽出残渣物をそれぞれ7%、0.9%および6.1%添加した飼料を与えた。なお、ユリネのタンパク質や食物繊維等の量は基本飼料のカゼインやセルロース等で補正した。飼育19~21日目に糞を採取し、凍結乾燥させた。乾燥させた糞は重量測定後に粉末化し、分析を行うまで35で保存した。

飼育終了後、腹部大動脈より採血し、血清を得た。盲腸と大腸を速やかに採取し、液体窒素で直ちに凍結させた後、分析を行うまで80で保存した。腸管免疫機能の指標である糞中のIgA、炎症性サイトカインである血清TNF- $\alpha$ およびIL-6はELISA法を用いて測定した。腸管バリア機能の指標である糞中ムチン含量は、蛍光光度法により測定した。盲腸内容物については、重量とpHを測定後、HPLCを用いて有機酸含量を測定した。盲腸内容物中のDNAを抽出し、T-RFLP法又はqPCR法で細菌叢解析を行った。大腸の発ガンに係る糞中 $\beta$ -glucuronidaseは、分光光度法で測定した。また、血清、肝臓及び糞中脂質含量を測定した。

#### (2) ユリネ摂取による肝障害への影響

腸内環境改善が肝障害の防御につながる可能性があるため、ユリネ摂取が肝障害に及ぼす影響について検討した。

5週齢のSD系雄ラットに高脂肪食(37.5%粉末牛脂)を基本食とし、生ユリネ粉末を7%添加した飼料を10日間与えた。飼育後、D-ガラクトサミンを腹腔内に投与し、肝障害を誘発させた。投与22時間後に腹部大動脈より採血し、血清を得た。肝障害の指標である血清ALTおよびAST活性を測定した。

#### (3) ユリネ摂取による大腸炎への影響

ユリネ摂取が高脂肪食摂取ラットのデキストララン硫酸ナトリウム(DSS)誘導大腸炎に及ぼす影響について検討を加えた。

実験動物として5週齢のSD系雄ラットを用いた。高脂肪食(30%牛脂)を基本食としてControl群、DSS群、DSS+7%ユリネ添加食群の3群を設け、17日間飼育した。DSS群とDSS+ユリネ添加食群には、飼育10日目に2%DSSを、11日~17日目に1%DSSを溶解した飲水を与えた。臨床症状の指標として、Disease activity index(DAI)を求めた。また、15日~17日目に糞を採取し、凍結乾燥した。糞中の腸内細菌叢(qPCR法)、盲腸有機酸含量(HPLC法)、糞中ムチン(蛍光光度分析法)、及び糞中、大腸粘膜、血清、肝臓のALP活性を測定した。

#### 4. 研究成果

(1) ユリネ摂取による腸内環境と脂質代謝への影響

生ユリネ摂取による影響(実験1)

飼料摂取量および体重増加量は、5%生ユリネ添加群では影響がなく、10%生ユリネ添加群で低下していた。また、10%ユリネ添加群において脾臓重量が増加していた。腸管免疫の指標である糞中 IgA は、5%及び10%ユリネ添加食群で顕著に増加した。糞および盲腸内容物中のバリア機能の指標である Mucin については、ユリネ添加量の増加に伴い有意に増加した。盲腸内容物の pH は5%及び10%ユリネ添加食において有意な低下が認められた。盲腸内容物重量は5%ユリネ添加群で増加傾向を示し、10%ユリネ添加群で有意に増加した。ユリネ摂取により、盲腸内の酢酸、プロピオン酸、酪酸は増加しており、特に乳酸については、10%ユリネ添加群で顕著な増加がみられた。

盲腸内容物中の *Bifidobacterium* はユリネ添加群で顕著に増加し、*Lactobacillales* は5%および10%ユリネ添加群で用量依存的に有意に増加した。糞中  $\beta$ -glucuronidase 活性は、ユリネ添加群で有意に低下することが認められた。

これらの結果より、ユリネは腸管の IgA と Mucin 産生および腸内発酵を促進させることが示唆された。さらにユリネは、腸内細菌叢や  $\beta$ -glucuronidase 活性に好ましい影響を与え、腸内環境を改善するものと推定した。一方、未加熱のユリネを10%程度添加した場合、摂取量や体重増加量が低下し、その原因としてユリネ中のトリプシンインヒビターの影響が関与している可能性が示唆された。

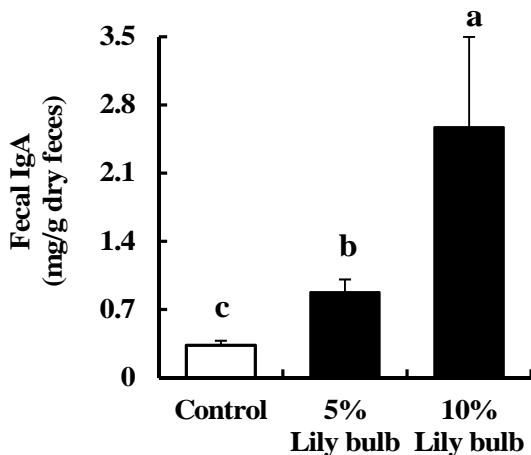


図1 生ユリネによる高脂肪食摂取ラットの糞中 IgA 増加作用

蒸し加熱ユリネ摂取による影響(実験2)

食餌摂取量と体重増加量は本食餌組成による影響を受けなかった。盲腸内容物重量は生ユリネと同様に蒸し加熱ユリネ群で有意に増加し、内容物の pH は有意に低下した。

糞と盲腸内容物中の Mucin 含量は、蒸し加熱ユリネ群においても顕著に増加し、糞中 IgA 含量も増加した。盲腸内容物中の乳酸、プロピオン酸、酢酸及び酪酸は、生ユリネ群と同様に蒸し加熱ユリネ群で有意に増加し、特にコハク酸については蒸し加熱ユリネ群で顕著に増加した。盲腸内容物の *Lactobacillales* は、生ユリネ群で有意に増加し、蒸し加熱ユリネ群で同様の増加傾向が認められた。血清 TNF- と IL-6 は、本実験条件による影響は認められなかった。

脂質代謝について検討を加えたところ、腸間膜脂肪組織重量は、蒸し加熱ユリネ群で有意に減少し、副睾丸周囲脂肪組織重量も同様の傾向を示した。また、蒸し加熱ユリネ群において糞中の中性脂肪量は有意に増加することが認められた。一方、生ユリネ摂取による脂肪組織重量や糞中中性脂肪量への有意な影響は認められなかった。

これらの結果より、蒸し加熱ユリネは、生ユリネを摂取させた場合とほぼ同様に、高脂肪食摂取ラットの腸内環境を改善する可能性が示された。また、蒸し加熱ユリネは、糞中への脂肪排泄を高め、内臓脂肪の蓄積を抑制することが推察された。

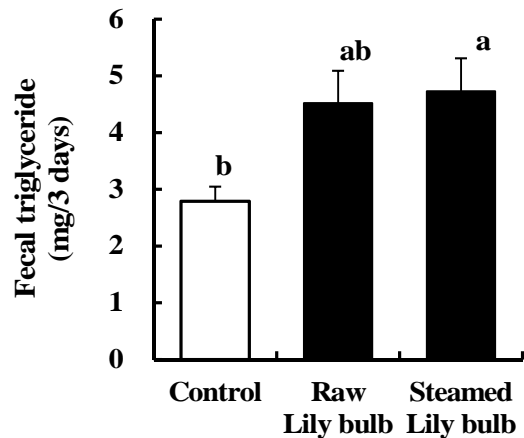


図2 蒸し加熱ユリネによる高脂肪食摂取ラットの糞中脂質排泄促進作用

ユリネのエタノール抽出物およびその残渣物摂取による影響(実験3)

食餌摂取量と体重増加量は本食餌組成による影響を受けなかった。糞と盲腸内容物中の Mucin 含量はユリネ粉末食群とユリネ残渣物食群で顕著に増加し、エタノール抽出物食群においても糞中 Mucin 含量が有意に増加することが認められた。盲腸内容物重量はユリネ残渣物食群で有意に増加し、ユリネ粉末食群も同様の傾向を示した。盲腸内容物中の pH は、ユリネ粉末食及びユリネ残渣物食群において有意に低下し、エタノール抽出物食群で低下する傾向を示した。盲腸内容物中の乳酸、プロピオン酸、酢酸および酪酸は、ユリネ粉末食及びユリネ残渣物食群において有意に

増加した。一方、エタノール抽出物食群の盲腸有機酸含量に対する顕著な影響は認められなかった。盲腸内容物中の *Bifidobacterium* spp. は、ユリネ残渣物食群において有意に増加することが認められた。

以上の結果より、ユリネ摂取による Mucin 産生と腸内発酵促進作用は、主にユリネ残渣画分の作用が関与していると推察された。また、エタノール抽出物画分も Mucin 産生に対して部分的に関与している可能性が示唆された。

### (2) ユリネ摂取による肝障害への影響

食餌摂取量、体重増加量および肝臓重量は本食餌組成による影響を受けなかった。D-ガラクトサミン投与により、血清 AST および ALT 活性は有意に増加したが、この増加はユリネ摂取により低下する傾向が示された。これらの結果より、ユリネは高脂肪食摂取ラットの肝障害を抑制する可能性が示された。

### (3) ユリネ摂取による大腸炎への影響

DSS 投与 7 日目（飼育 17 日目）において、DAI は DSS + ユリネ添加食群で有意に抑制された。大腸の長さは Control 群と比較して DSS 群で有意に短くなったが、DSS + ユリネ添加食群で回復する傾向を示した。

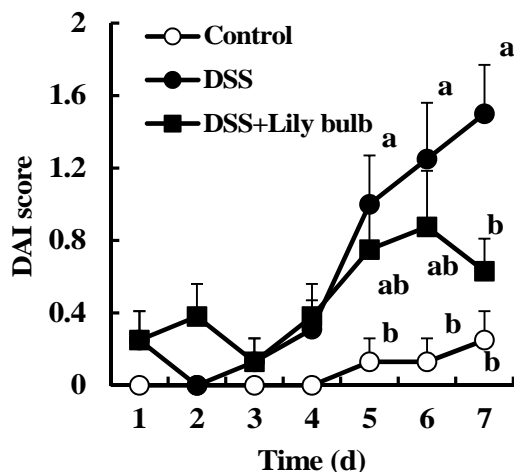


図3 ユリネによる DSS 誘導性大腸炎の病態指標 (DAI スコア) 低減作用

糞中 *Bifidobacterium* spp. の割合は、Control 群と比較して DSS 群で著しく低下したが、DSS + ユリネ添加食群はこの減少を Control 群と同程度にまで回復させ、*Lactobacillus* spp. の割合についても同様の傾向を示した。盲腸内容物中の酪酸含量、糞中ムチン及び糞中 ALP 活性は、Control 群と比較して DSS 群で有意に増加し、この増加は DSS + ユリネ添加食群において促進された。大腸粘膜の ALP 活性についても DSS 群で増加する傾向を示し、DSS + ユリネ添加食群において有意に増加した。血清と肝臓の ALP 活性は、本実験条件による影響を受けなかった。

これらの結果より、ユリネ摂取は、腸内細菌叢に影響を与え、有機酸や、ムチン、ALP 活性を上昇させて大腸への防御機構を高めることで DSS 投与による大腸炎を抑制する可能性が示唆された。

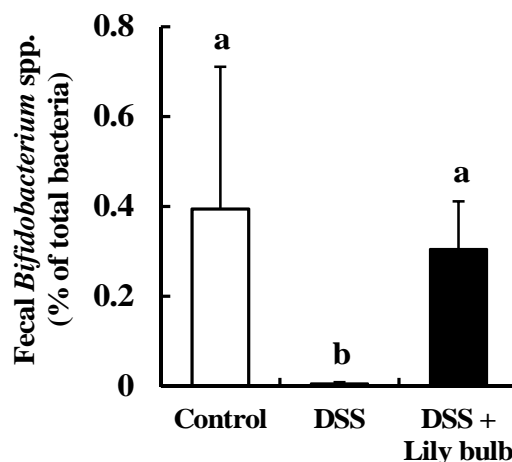


図4 ユリネによる DSS 誘導性大腸炎モデルラットのビフィズス菌増加作用

本研究の結果より、ユリネは、高脂肪食摂取下での腸内環境と脂質代謝を改善することを新たに見出した。また、ユリネ摂取による腸内環境改善が、肝障害抑制や炎症性大腸炎の緩和に関与している可能性が示唆された。したがってユリネは、大腸疾病をはじめとする生活習慣病の予防に有効な食品因子であると考えられる。今後は、ユリネの作用がユリネ中のグルコマンナン、デンプン、ポリフェノール類等の単一成分の作用によるものなのか、これら複数の成分が混合することによる効果なのかを検討する必要がある。また、ユリネ摂取による腸内環境と脂質代謝への影響を遺伝子の転写発現調節に関する microRNA レベルで検討することも今後の課題である。

## 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1件)

Okazaki, Y., Fukuda, E., Chiji, H., Kato, N. Edible lily bulb modulates colonic barrier functions, microflora and fermentation in rats fed a high-fat diet. *J. Nutr. Health Food Sci.*, 2, 1-7, 2014. 査読有

[学会発表](計8件)

Okazaki, Y., Fukuda, E., Chiji, H., Kato, N. Effect of dietary lily bulb on dextran sulfate sodium-induced

colitis in rats fed a high-fat diet.  
12<sup>th</sup> Asian Congress of Nutrition,  
2015/5/16, Pacifico Yokohama  
(Yokohama)

岡崎由佳子・福田絵里・知地英征・加藤  
範久, ユリネ摂取が高脂肪食摂取ラットの  
のデキストラン硫酸ナトリウム誘導大腸  
炎に及ぼす影響, 第44回日本栄養・食糧  
学会北海道支部会, 2014年11月1日,  
北海道大学(札幌)

岡崎由佳子・山口さより・平敏夫・福田  
絵里・知地英征・加藤範久, ユリネのエ  
タノール抽出物および抽出残渣物が高脂  
肪食摂取ラットの腸内環境に及ぼす影響,  
2014年3月29日, 明治大学(神奈川)

岡崎由佳子・山口さより・平敏夫・福田  
絵里・知地英征・加藤範久, ユリネ摂取  
が高脂肪食摂取ラットの腸内フローラと  
肝障害に及ぼす影響, 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(札幌)

Okazaki, Y., Fukuda, E., Chiji, H.,  
Kato, N. Favorable effect of  
consumption of lily bulb on colonic  
luminal environment in rats fed a  
high-fat diet. IUNS 20<sup>th</sup> International  
Congress of Nutrition, 2013/9/19,  
Granada Congress Centre (Spain)

岡崎由佳子・福田絵里・知地英征・加藤  
範久, 生および加熱ユリネの摂取が高脂  
肪食摂取ラットの大腸内環境に及ぼす影  
響, 日本家政学会第65回大会, 2013年5  
月5月18日, 昭和女子大学(東京)

岡崎由佳子・福田絵里・知地英征・加藤  
範久, 加熱処理したユリネのラット腸内  
環境と脂質代謝への影響, 日本農芸化学  
会2013年度大会, 2013年3月26日, 東  
北大学(仙台)

岡崎由佳子・福田絵里・知地英征・加藤  
範久, ユリネ摂取が高脂肪食摂取ラット  
の腸内細菌叢および  $\beta$ -Glucuronidase と  
Mucinase 活性に及ぼす影響, 第42回日  
本栄養・食糧学会北海道支部会, 2012年  
10月27日, とかちプラザ(帯広)

## 6. 研究組織

### (1) 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