

氏名	永田 龍次
本籍（国籍）	北海道
学位の種類	博士（農学）
学位記番号	連研第767号
学位授与年月日	令和2年3月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当課程博士
研究科及び専攻	連合農学研究科 生物資源科学専攻
学位論文題目	難消化性多糖類素材における腸内発酵特性とその生体に及ぼす影響 （ Intestinal fermentation properties of indigestible polysaccharides and their effects on host health）
学位審査委員	主査 帯広畜産大学准教授 韓 圭鎬 副査 福島 道広(帯広 教授), 伊藤 芳明(岩手 准教授), 前多 隼人(弘前 准教授)

論文の内容の要旨

食物繊維や難消化性デンプン（RS）は小腸で消化吸収されずに大腸に流入し、そこに生息する腸内細菌叢の栄養素となり短鎖脂肪酸（酢酸，プロピオン酸，酪酸）産生を増加させる。それに伴う腸内 pH の低下，有用菌の増殖，有害菌の抑制は，腸内細菌叢組成を改善させる。これらは，腐敗物質の産生抑制による腸管ダメージの軽減や，ムチン・IgA 分泌の増加による腸管バリア・免疫機能の強化をもたらす。このような効果を示す食品由来の非消化性成分は，プレバイオティクスと呼ばれる。本研究では，このような食品素材ならびに食品成分の探求を行った。

初めに，栄養機能性が異なる食品成分を組合せて摂取した際の効果に着目した。抗菌作用などが知られるポリフェノールを多く含む小豆抽出物（AE）と，水溶性食物繊維でプレバイオティクスであるイヌリンを同時に摂取した際の腸内発酵への影響について，*in vitro* およびラット試験において検討した。両試験においてセルロースを対照として使用した。*in vitro* 試験およびラット試験の両方において，イヌリンの添加および摂取は各種短鎖脂肪酸濃度を増加させた。また，*in vitro* 試験において AE は短鎖脂肪酸濃度を低下させたが，イヌリン+AE 試験区はセルロース試験区およびセルロース+AE 試験区より高い総短鎖脂肪酸濃度を維持した。ラット試験において，イヌリンと AE はそれぞれ盲腸内ムチン濃度を増加させ，それらの組合せは最も高い値を示した。両試験において，イヌリンと AE はそれぞれアンモニア態窒素産生を抑制し，それらの組合せは最も大きな抑制作用を示した。したがって，ポリフェノールを含む AE とイヌリンの同時摂取は，それぞれの有益な腸内発酵特性をさらに向上させる可能性が示唆された。本研究の報告により，他の食品においても異なる食品成分を組み合わせる際の効果を検討することで，新たな健康機能性に関する知見を蓄積することにつながるかもしれない。

続いて，デンプンの化学構造に着目した。アミロース含量の高いデンプンは小腸で消化抵抗性を示し，優れたプレバイオティクスとして知られている。一方で，アミロペクチン含量の高

いデンプンは小腸でほとんど消化されるが、高い粘性や膨潤力などの優れた加工利用能を示す。そこで、アミロペクチン含量の高いノーマルコーンスターチ（NCS）やワキシコーンスターチ（WCS）に、化学修飾であるヒドロキシプロピル化（HP-）を施すことで消化抵抗性を付与し、それらがラットの腸内発酵および脂質代謝に及ぼす影響を検討した。対照としてハイアマロースコーンスターチ（HACS）を使用した。HP-NCS および HP-WCS の摂取は、NCS、WCS および HACS と比較して盲腸内細菌叢組成を変化させ、HACS と同等以上の盲腸内短鎖脂肪酸産生の増加を示した。HP-NCS 群および HP-WCS 群における短鎖脂肪酸の増加は、盲腸内ムチンおよび IgA 分泌の増加、ならびに血漿 GLP-1 濃度の増加に寄与した可能性が示唆された。さらに、HP-NCS および HP-WCS の摂取は血清トリグリセリド濃度および腸間膜脂肪細胞面積を減少させた。したがって、HP-コーンスターチは HACS と同等以上の生理的特性を有することが示唆された。HP-コーンスターチは、優れた加工利用能と生理的特性を併せ持つデンプンとして食品製造を進展させ得るかもしれない。

先の研究により、デンプンの化学修飾はその物理化学特性や生理的特性を変化させることが示された。生のポテトスターチ（PS）は RS を豊富に含み、プレバイオティクスとして作用することが知られている。PS 分子は他のデンプンよりもリン酸基を多量に含み、そのリン酸基にカルシウム（Ca）を結合することが明らかにされている。そこで、新規デンプン素材として Ca 付加 PS（Ca-PS）に着目し、ラットを用いてその腸内発酵および脂質代謝への影響を検討した。PS および Ca-PS の摂取は *Bifidobacterium pseudolongum* の占有率を増加させ、それは盲腸内酢酸量と正の相関を示した。また、PS 群および Ca-PS 群は盲腸内酪酸産生および総短鎖脂肪酸に占める酪酸割合を増加させ、それらは盲腸内 *Clostridiaceae* 科の占有率と正の相関を示した。さらに、PS および Ca-PS の摂取は、血清および肝臓トリグリセリド濃度を低下させ腸間膜脂肪細胞面積を減少させた。したがって、Ca-PS は PS と同等の腸内環境改善および脂肪蓄積抑制効果を有する可能性が示され、有益な生理的特性を有する可能性が本研究で初めて明らかにされた。

以上の研究により、様々な難消化性多糖類の腸内発酵特性とその生体に及ぼす影響に関する新たな知見を示すことができた。今後、腸内発酵などの栄養機能性に関して、食品成分の効果的な摂取方法や新規のデンプン素材を用いた食品製造の発展が期待される。

論文審査の結果の要旨

食品由来の多様な機能性成分は小腸で吸収された後、宿主の健康に有益な生化学的、生物学的、生理学的な影響を与える。一方で、食物繊維、レジスタントスターチ、または一部のポリフェノールなどは人の消化酵素によって消化されにくい難消化性成分であるが、小腸で消化吸収されず大腸に到達すると腸内細菌による発酵基質となり、または腸内細菌叢を有益に変化させて腸内環境を改善することが期待されている。本研究では、日々の食事を反映した異なる難消化性成分を組み合わせる摂取した際や新規の難消化性多糖類素材による腸内細菌叢を介した腸内環境および脂質代謝の改善効果について検討を行った。

第 1 章では、腸管モデル化 *in vitro* およびラット試験においてポリフェノールを多く含む小豆抽出物とイヌリンを同時に投与した際の腸内発酵特性を検討した。両試験系において、共通に小豆抽出物とイヌリンはそれぞれアンモニア態窒素産生を抑制し、それらの組み合わせは最も大きな抑制作用を示すことを見出した。ラット試験において小豆抽出物とイヌリンの組み合わせ

せは、プロピオン酸産生におけるそれらの単独での有益な効果をさらに向上させた。その結果より、小豆抽出物とイヌリンの同時摂取は様々な健康効果を有する機能性食品素材になる可能性が示唆された。

第 2 章では、アミロペクチン含量の高いノーマルコーンデンプン (NCS) やワキシコーンデンプン (WCS) にヒドロキシプロピル化 (HP) を施すことでデンプンの消化抵抗性を付与し、それらがラットの腸内発酵および脂質代謝に及ぼす影響を検討した。いずれも HP 化デンプンはラットの盲腸内細菌叢を有益に変化させ、ポジティブコントロールであるハイアミロースコーンデンプンと同等以上の短鎖脂肪酸産生の増加を示すことを明らかにした。さらに、HP-NCS および HP-WCS の摂取による盲腸内の短鎖脂肪酸の増加は、盲腸管腔へのムチンおよび IgA 分泌の増加、ならびに血漿 GLP-1 濃度の増加に寄与した可能性が示唆された。さらに、HP-NCS および HP-WCS の摂取は血清の中性脂肪濃度および腸間膜脂肪細胞面積を減少させた。その結果、調理加工特性に活用度が高いハイアミロペクチンデンプンの NCS と WCS は、HP 化を介して腸内発酵などの栄養機能性が付与されて、新しいデンプン素材として食品産業の発展に貢献できるものと期待される。

第 3 章では、新規デンプン素材として Ca 付加ポテトデンプン (PS) のラットにおける腸内発酵および脂肪蓄積に与える影響を検討した。Ca 付加 PS の摂取は PS と同等のラット脂肪組織の細胞面積の減少など脂肪蓄積を抑制することを見出した。さらに、Ca-PS の摂取は PS と同様にラットの盲腸内細菌叢組成を変化させて短鎖脂肪酸産生を増大させた。特に、PS および Ca-PS の摂取は *Bifidobacterium pseudolongum* や *Clostridiaceae* 科を増加させ、それらが酢酸および酪酸産生の増加に関与している可能性が示唆された。本研究は初めて Ca-PS の生理的特性を解明し、カルシウム含有量を強化させた生理的特性を持つ有益なデンプン素材となることが期待される。

このように本研究は、健康機能性に関する腸内発酵に及ぼす食品成分の効果的な摂取方法を解明し、新規多糖類の優れた腸内発酵特性を明らかにしたものであり、今後の実用的食品開発において、食品産業の発展へ貢献できると期待される。本審査委員会は「岩手大学大学院連合農学研究科博士学位論文審査基準」に則り審査した結果、本論文を博士（農学）の学位論文として十分価値のあるものと認めた。

学位論文の基礎となる学術論文

主論文

1. Nagata R, Echizen M, Yamaguchi Y, Han KH, Shimada K, Ohba K, Kitano-Okada T, Nagura T, Uchino H, Fukushima M (2018). Effect of a combination of inulin and polyphenol-containing adzuki bean extract on intestinal fermentations *in vitro* and *in vivo*. *Bioscience Biotechnology, and Biochemistry*. **82**: 489-496.
2. Nagata R, Kamibayashi R, Bochimoto H, Fukuma N, Shimada K, Tachibe M, Takaishi Y, Han KH, Fukushima M (2020). Chemical modification of cornstarch by hydroxypropylation enhances cecal fermentation-mediated lipid metabolism in rats. *Starch-Stärke*. **72**: 1900050.

参考文献

1. Nagata R, Innami N, Pelpolage S, Shimada K, Koaze H, Tani M, Han KH, Fukushima M (2019). Effect of raw potato starch with high resistant starch levels on cecal fermentation properties in rats. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. **65**: S192-S195.