

氏名	PELPOLAGE, Samantha Wathsala
本籍（国籍）	スリランカ民主社会主義共和国
学位の種類	博士（農学）
学位記番号	連研第 768 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	Health functionality of agricultural products and agricultural by-products（農産物および農産副産物の健康機能性について）
学位審査委員	主査 帯広畜産大学教授 福島 道広 副査 韓 圭鎬(帯広 准教授), 井上 奈穂(山形 准教授), 長澤 孝志(岩手 教授)

論文の内容の要旨

背景と目的：植物由来のいくつかの成分は動物の消化酵素では消化されず、それらは“食物繊維”もしくは“難消化性タンパク質”として知られている。非消化性の植物成分（IPMs）は加水分解酵素で消化されないが、腸内細菌叢の酵素によって分解される。雑食動物や草食動物において、腸内細菌叢による IPMs の加水分解は腸内発酵として知られている（その他に反芻動物など）。この嫌氣的な異化作用は主に短鎖脂肪酸（SCFA）やガスを産生する。SCFA は、宿主のエネルギー代謝の調節、発がん物質合成や病原菌活性の阻害、大腸がん発症のリスク低減、腸の物理的免疫学的バリア機能の向上など、有益な生化学的、生物学的、生理学的な影響を宿主に与えることが知られている。大腸発酵により産生される SCFA の組成や量は、主に大腸に届く IPMs の種類および量や、それらを加水分解する特定の細菌の能力に依存する。したがって、本研究の目的は様々な農産物および農産副産物由来の異なる IPMs の発酵特性や宿主への有益な健康促進効果を評価することである。

材料と方法：Chapter 2 において、全粒（Wh）および精白（Rf）されたソルガム（*Sorghum bicolor* L.）から難消化性画分（ERFs）を調製して、それを培養槽で 48 時間発酵させた。0,6,12,24,48 時間経過後に培養液を採取して SCFA、アンモニア態窒素および細菌叢組成（寒天培地法および 16S rRNA 遺伝子シーケンス）の分析に使用した。Chapters 3, 4, 5 では、Fischer 344 雄性ラット（1 群 6 匹）を用いて AIN93G 準拠の生ソルガム食（30% w/w）、湿熱処理ソルガム食（30% w/w）、サトウキビ（*Saccharum officinarum* L.）バガス水溶性繊維（BGS）食（5% w/w）を 4 週間給餌した。2 つのソルガム試験では対照として α -コーンスターチとハイアミローススターチ（HAS）が使用され、サトウキビバガス水溶性繊維試験ではキシロオリゴ糖（重合度 2-3; 95%純度）（XYO）が対照として使用された。

結果と考察：

Chapter 2 : ERF-Wh と ERF-Rf の両試験区は培養 12-24 時間の間の SCFA 産生を増加させ、プロピオン酸、酪酸および総 SCFA 産生は両ソルガム試験区で対照区より有意に増加した。タンパク質発酵の副産物であるアンモニア態窒素産生は、両ソルガム試験区で培養 12 時間以降に増加傾向が示され、アンモニアの塩基性のために pH が上昇した。さらに、両ソルガム試験区で乳酸生成菌が優勢となった。本試験における知見は、ソルガム試験区での高い SCFA 産生はいくつかの乳酸菌による難消化性タンパク質の発酵によるものである可能性を示唆した。

Chapter 3 : 両ソルガム群の盲腸内 SCFA 量は HAS 群より有意に低く、コントロール群と同程度であった。盲腸 pH とアンモニア態窒素量は Chapter 2 と同様の傾向であり、タンパク質発酵による影響が示唆された。同様に、両ソルガム群でタンパク質分解菌の占有率が高かったことから、細菌叢組成もタンパク質発酵の仮説を裏付けた。しかし、ピアソンの相関分析は総 SCFA 量と盲腸重量との間に正の相関を示し、総 SCFA 量と pH の間に負の相関を示した。

Chapter 4 : 湿熱処理した精白ソルガムを摂取したラット盲腸 SCFA 量は、全粒ソルガム群およびコントロール群より高く、特に酪酸量は HAS 群と統計的に同程度であった。生のソルガム摂取と比較して (Chapter 3)、SCFA 産生は湿熱処理ソルガムの摂取により向上された。さらに、湿熱処理ソルガム摂取ラットの腸内細菌叢は、難消化性デンプンおよび食物繊維を利用することが知られる *Ruminococcus* 属が優勢であった。ムチンおよび免疫グロブリン A (IgA) 合成は湿熱処理ソルガム群で生ソルガム群より向上し、HAS 群と同等以上であった。さらに、最終体重、体重増加量、摂食量、脂肪組織重量の低下および糞中胆汁酸排泄の増加などのいくつかの有益な傾向が、コントロール群と比べて両湿熱処理ソルガム群でみられた。

Chapter 5 : BGS 群の盲腸酢酸および酪酸産生は、XYO 群およびコントロール群よりそれぞれ有意に増加した。BGS 群の盲腸 pH と盲腸重量は高い SCFA 産生を反映した。ムチンと IgA 合成は BGS 群で有意に増加し、腸管バリア機能における有益な効果が示唆された。これらの有益な効果は腸内細菌叢組成の結果からも支持され、BGS 群では酢酸産生菌の *Blautia* 属や、ムチンを利用しムチン合成を向上させる *Akkermansia* 属が優勢となった。また BGS は XYO と比較して同等以上の高い発酵特性を示した。

まとめ : Chapter 2 および 3 でみられたように、ソルガムは細菌叢や生理的特性に有益な影響を示した。一方で、ソルガムの湿熱処理は大腸での発酵を向上させ、SCFA、ムチンおよび IgA 産生の向上や有益な細菌の増加などを示した。Chapter 5 では、BGS は有益なプレバイオティクスと比較してもより優れた腸内発酵特性を示した。“様々な農産物および農産副産物由来の異なる IPMs の発酵特性や宿主への有益な健康促進効果を評価すること”とした目的で行った今回の試験結果では、異なる植物原料由来の IPMs (農産物および農産副産物) はそれら固有の物理化学特性や加工のされ方に起因して、腸内発酵特性、代謝産物およびそれらに関連する有益な効果を変化させることが明らかになった。

論文審査の結果の要旨

本研究では、植物由来のいくつかの成分は動物の消化酵素では消化されず、腸内細菌叢により腸内発酵が行われ、この嫌気的な異化作用は主に短鎖脂肪酸（SCFA）やガスを産生する。SCFAは、宿主のエネルギー代謝の調節、発がん物質合成や病原菌活性の阻害、大腸がん発症のリスク低減、腸の物理的免疫学的バリア機能の向上など、有益な生化学的、生物学的、生理学的な影響を宿主に与えることが知られている。大腸発酵により産生されるSCFAの組成や量は、主に大腸に届く非消化性成分の種類および量に依存する。したがって、本研究の目的は様々な農産物および農産副産物由来の異なる非消化性成分の発酵特性や宿主への有益な健康促進効果を評価することである。

1) ソルガムの *in vitro* 試験による腸内発酵性の評価

全粒ソルガムと精白ソルガムの両試験区はSCFA産生を増加させ、プロピオン酸、酪酸および総SCFA産生は両ソルガム試験区で対照区より有意に増加した。タンパク質発酵の副産物であるアンモニア態窒素産生は、両ソルガム試験区で培養12時間以降に増加傾向が示され、pHも上昇した。さらに、両ソルガム試験区で乳酸生成菌が優勢となった。その結果、ソルガム試験区での高いSCFA産生はいくつかの乳酸菌発酵による可能性を示唆した。

2) ソルガムの *in vivo* 試験による腸内発酵性の評価

両ソルガム群の盲腸内SCFA量はHAS群より有意に低く、コントロール群と同程度であった。盲腸pHとアンモニア態窒素量は*in vitro*試験と同様の傾向であった。また、両ソルガム群でタンパク質分解菌の占有率が高かったことから、細菌叢組成もタンパク質発酵の仮説を裏付けた。

3) 湿熱処理ソルガムの *in vivo* 試験による腸内発酵性の評価

湿熱処理した精白ソルガムを摂取したラット盲腸SCFA量は、全粒ソルガム群およびコントロール群より高く、特に酪酸量はHAS群と同程度であった。さらに、湿熱処理ソルガム摂取ラットの腸内細菌叢は、難消化性デンプンおよび食物繊維を利用する *Ruminococcus* 属が優勢であった。ムチンおよび免疫グロブリンA (IgA) 合成は湿熱処理ソルガム群で生ソルガム群より向上し、HAS群と同等以上であった。

4) バガス(BGS)の *in vivo* 試験による腸内発酵性の評価

BGS群の盲腸酢酸および酪酸産生は、キシロオリゴ糖(XYO)群およびコントロール群よりそれぞれ有意に増加した。ムチンとIgA合成はBGS群で有意に増加し、腸管バリア機能における有益な効果が示唆された。これらの有益な効果は腸内細菌叢組成の結果からも支持され、BGS群では酢酸産生菌の *Blautia* 属や、ムチンを利用しムチン合成を向上させる *Akkermansia* 属が優勢となった。またBGSはXYOと比較して同等以上の高い発酵特性を示した。

以上の結果より、ソルガムは細菌叢や生理的特性に有益な影響を示した。一方で、ソルガムの湿熱処理は大腸での発酵を向上させ、SCFA、ムチンおよびIgA産生の向上や有益な細菌の増加などを示した。BGSは有益なプレバイオテ

イクスと比較しても優れた腸内発酵特性を示した。従って今回の試験結果では、異なる植物原料由来の非消化性成分の固有の物理化学特性や加工特性に起因して、腸内発酵特性、代謝産物など有益な効果に影響を及ぼすことが明らかになった。

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. Pelpolage SW, Han KH, Koaze H, Hamamoto T, Hoshizawa M, Fukushima M. (2019)
Influence of enzyme-resistant fraction of sorghum (*Sorghum bicolor* L.) flour on gut microflora composition, short chain fatty acid production and toxic substance metabolism.
Journal of Food and Nutrition Research. 58: 135-145.
2. Pelpolage SW, Nagata R, Fukuma N, Shimada K, Han KH, Hamamoto T, Hoshizawa M, Fukushima M. (2019)
In vivo colonic fermentation of Sorghum (*Sorghum bicolor* L.): important correlations observed among the physiological parameters of cecum, liver, adipose tissue and fasting serum lipid profile.
Journal of Nutritional Science and Vitaminology. 65: s222-227.
3. Pelpolage SW, Goto Y, Nagata R, Fukuma N, Furuta T, Mizu M, Han KH, Fukushima M. (2019)
Colonic fermentation of water soluble fiber fraction extracted from sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) bagasse in murine models.
Food Chemistry. 292: 336-345.