

ラフィノース摂取による腸内細菌叢の改変を介した デオキシコール酸生成抑制効果の解明

共生基盤学専攻 食品安全・機能性開発学講座 胃腸内圏微生物学 小山 遥

1. 背景と目的

近年、高脂肪食摂取によるメタボリックシンドローム発症の要因のひとつとして、腸内細菌叢の崩壊が注目されている。我々は高脂肪食摂取による菌叢崩壊の要因として、胆汁酸に着目して研究を進めている。胆汁酸は肝臓でコレステロールから合成され、脂質の消化吸収に寄与する。消化管に分泌された胆汁酸の一部は大腸に流入して、さまざまな腸内細菌による変換反応を受ける。ヒトの主要な一次胆汁酸であるコール酸 (CA) は、大腸に存在する *Clostridium* 属の限られた菌種によって強い殺菌作用を持つデオキシコール酸 (DCA) へと変換され、DCA が示す高い殺菌活性や細胞毒性が選択圧となり、腸内で菌叢変化が起こる機構が知られている。しかしながら、腸内細菌叢における DCA 生成の機構や他菌種との相互作用については未だ不明な点が多い。そこで本研究では、ラットへ CA および機能性糖質の一つであるラフィノースを摂取させ、ラフィノースによる DCA 生成の抑制効果を検証し、そのメカニズムを解明することを目的として実験を行った。

2. 方法

【飼育試験 1】3 週齢の Wistar/Slc 雄性ラットを 2 週間の予備飼育後、基本飼料の AIN-93G を与える Control 群, 0.05%CA 添加食 (CA) 群, 3%ラフィノース添加食 (Raf) 群, 0.05%CA+3%ラフィノース添加食 (CR) 群に分け、4 週間の本飼育試験を実施した。

【飼育試験 2】飼育試験 1 と同様のラットを 6 日間の予備飼育後、Control 群と Raf 群の 2 群に分け、2 週間飼育した。その後、各群を CA 添加の有無によってさらに 2 群に分け、最終的に飼育試験 1 と同様に、Control 群, CA 群, Raf 群, CR 群の 4 群を設定し、4 週間の本飼育試験を実施した。

【解析項目】解剖時に盲腸内容物を採取し、pH を測定した。その後、盲腸内容物を LC-ESI/MS による胆汁酸組成分析、および 16S rRNA 遺伝子の V3-V4 領域を標的とした Illumina MiSeq によるメタ 16S 菌叢解析に供した。また有機酸分析を行い、ラフィノース摂取による盲腸内発酵への影響を解析した。さらに本飼育期間中に採取した糞便を用いて、経時的な胆汁酸排出量の変化を測定した。

3. 結果と考察

飼育試験 1, 2 とともに、ラフィノースの摂取により盲腸内容物中 pH が有意に低下したことから、盲腸内発酵が亢進したと考えられた。またメタ 16S 菌叢解析では、盲腸内容物中の Actinobacteria 門の増加、Firmicutes 門の減少が観察された。胆汁酸組成分析の結果、CA 群で Control 群と比較して DCA 濃度が増加していた。しかしながら【飼育試験 1】では、ラフィノース摂取により盲腸内容物 DCA 濃度は抑制されなかった。一方、CA 負荷よりも先にラフィノースを与え、ラフィノースへの飼料馴化期間を設けた【飼育試験 2】では、盲腸内容物・糞便ともに、ラフィノース摂取により DCA 濃度が抑制された。また糞便への胆汁酸排出量は増加していなかった。有機酸分析の結果、ラフィノースの摂取により、盲腸内容物中のコハク酸や酢酸が特徴的に増加していた。

以上より、ラフィノースの摂取により、盲腸内での発酵促進と短鎖脂肪酸組成の変化、門レベルでの菌叢変化が生じることが明らかとなった。加えて、ラフィノースの先行摂取による盲腸内 DCA 濃度の低下は、糞便中への胆汁酸排出の促進によるものではなく、盲腸内での DCA 生成菌の減少あるいは DCA 生成活性の低下などによるものであることが示唆された。