

論文の内容の要旨

論文題目 短鎖フラクトオリゴ糖の生理機能とそのバイオマーカー
に関する研究

氏 名 深 澤 朝 幸

近年、機能性食品の研究において、「バイオマーカーの設定」が重要視されている。これは、食品の病気予防効果の代理指標として簡単に利用できるマーカーを分子レベル、遺伝子レベル、細胞レベル、組織レベルで選定しようという試みである。ヒトゲノム（全遺伝子情報）の解読を受け、いわゆる「ポストゲノム時代」が到来すると、その波は機能性食品分野へも押し寄せ、「ニュートリゲノミクス」という新科学が誕生した。ニュートリゲノミクスを活用することで、機能性食品の生理機能の遺伝子マーカーの特定が可能となることが期待される。

プレバイオティクスとしてよく知られている短鎖フラクトオリゴ糖（short chain-fructooligosaccharide : scFOS）は、ショ糖のフラクトース残基に 1~3 分子のフラクトースが結合した非還元性の糖質であり、1-ケストース（1-kestose : GF2）、

ニストース (nystose : GF3)、1F-β-フラクトフラノシルニストース (1F-β-fructofuranosyl nystose : GF4) からなる。scFOS がヒトに及ぼす生理機能としては、腸内細菌叢の改善作用、整腸効果、腸内環境の改善作用（腐敗産物の産生抑制作用）、ミネラル吸収促進作用、骨密度増加作用、血清脂質改善作用、アレルギー予防効果などが報告されている。

それらの生理機能の作用メカニズムとして、scFOS 摂取による腸管内 *Bifidobacterium* 属細菌（ビフィズス菌）の増殖、SCFA（短鎖脂肪酸）の増加が関与していると考えられている。scFOS の存在下におけるビフィズス菌の増殖促進については数多くの *in vitro* および *in vivo* の研究結果が報告されているものの、scFOS 中のどの成分がビフィズス菌の増殖を促進しているのかは明らかにされていない。同様に、scFOS によるビフィズス菌増殖促進と、ビフィズス菌による scFOS の代謝の関係についても明らかではない。そこで、本研究においては、まず第一に、ヒトの消化管内において優勢菌種であるビフィズス菌 4 種による、scFOS の主要成分である GF2 および GF3 の資化性の違いを調べた。その結果、本研究に用いた 4 株のビフィズス菌のうち、*B. longum* ATCC15707^T 株および *B. catenulatum* ATCC27539 株は GF2 を GF3 よりも早く資化すること、*B. pseudocatenulatum* ATCC27919^T 株は GF3 を GF2 よりも早く資化すること、*B. adolescentis* ATCC15705 株は両者をほぼ同程度に資化することが明らかになった。また、代謝産物の分析から、*B. adolescentis* ATCC15705 及び *B. pseudocatenulatum* ATCC27919^T 株は菌体外で GF2 もしくは GF3 を分解した上で利用していること、*B. longum* ATCC15707^T 株および *B. catenulatum* ATCC27539 株は菌体外でオリゴ糖を分解せず、直接菌体内に取り込んでから資化している可能性が示唆された。

scFOS 生理機能の作用メカニズムとして、scFOS 摂取による腸管内 *Bifidobacterium* 属細菌の増殖、SCFA の増加が関与していると考えられているが、食品としての scFOS 摂取、または scFOS 摂取による腸内常在細菌叢の変化など

の腸内環境の変化が、どの様に宿主に認識され、免疫調節作用や脂質代謝改善作用などの生理機能を発現しているかについては明らかにされていない。scFOSの生理機能のメカニズムを明らかにすることは、経口摂取した食品成分、または食品摂取による腸内環境の変化が、いかにして宿主の生命活動を調節するかという点において重要である。このような背景から、本研究では、scFOS 摂取による生理機能のマーカーを特定し、そのマーカー変化と腸内環境の変化や免疫調節作用、脂質代謝改善作用をリンクさせることにより、FOS 摂取による生理機能のメカニズムを明らかにしたいと考えた。具体的には、マーカー候補遺伝子のスクリーニングを目的として、DNA マイクロアレイを用いた遺伝子発現解析を行い、特定したマーカー遺伝子の発現を定量的 RT-PCR 法により調べた。その結果、小腸において腸管免疫調節作用のマーカー遺伝子として 4 遺伝子 (*H2-T10*、*H2-Eb1*、*Ifit1*、*Pik3r1*) を、肝臓において脂質代謝改善作用のマーカー遺伝子として 1 遺伝子 (*Lpl*) を特定した。マウス小腸における 4 遺伝子の発現変動は、これまで報告されてきた知見、scFOS 摂取による IgA 産生および *pIgR* 発現亢進、PP 応答性亢進、PP における B 細胞増殖亢進と矛盾せず、ゆえに scFOS 摂取の生理機能のマーカーとして有用であると考えた。また、抗原提示分子である MHC class I および II に関連する遺伝子 (*H2-T10* および *H2-Eb1*) がいずれも Δ PP において発現亢進した結果から、食品として摂取した scFOS、および/または scFOS 摂取による腸内細菌叢を含む腸内環境変化に対する小腸における認識部位は、PP よりもむしろ上皮細胞や粘膜固有層を含む Δ PP が主要であることが示唆された。この知見は、本研究において特定したマーカーの発現変動を調べることにより、scFOS 摂取による生理機能のメカニズムの一端が明らかになることを示すものである。ラット肝臓における *Lpl* の発現亢進は、scFOS 摂取によって肝臓中の中性脂肪濃度が低減した現象と矛盾せず、本遺伝子の発現変動が、scFOS 摂取の生理機能のマーカーとなりえると考えられた。

本研究において特定したマーカー遺伝子と腸内細菌叢変化を詳細に調べることにより、食品としての scFOS の摂取、および scFOS 摂取による腸内常在細菌叢を含む腸内環境の変化がどの様に宿主に認識され、腸管免疫調節作用や脂質代謝改善作用を発現しているかのメカニズム解明が可能になるものと考えられる。さらには、免疫調節や脂質代謝といったヒトの健康維持・増進に重要な生体制御に対する腸管内常在細菌の役割の解明につながり、ひいては腸管内常在細菌をコントロールし得る食品の開発につながる事が期待される。