高β-グルカン大麦粉を配合した高脂肪食を与えたマウスの短鎖脂肪酸、胆汁酸を介したシグナルが糖・脂質代謝に及ぼす影響

メタデータ	言語: Japanese
	出版者:
	公開日: 2023-04-26
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者: 三尾, 建斗
	メールアドレス:
	所属:
URL	https://otsuma.repo.nii.ac.jp/records/7501

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.

学位論文の内容の要旨

報告番号　：　甲（又は乙）　第　　号

学位申請者	三尾　建斗
論文題目	高β-グルカン大麦粉を配合した高脂肪食を与えたマウスの短鎖脂肪酸、胆汁酸を介したシグナルが糖・脂質代謝に及ぼす影響
審査委員	主査　青江　誠一郎
	副査　田中　直子
	副査　髙波　嘉一
	江頭　祐嘉合（千葉大学大学院）

大麦は水溶性食物繊維に富む穀物であり、主成分であるβ-グルカンは様々な生理機能を有することが報告されている。近年は腸内発酵を介した効果について注目が集まっており、β-グルカンが腸内細菌によって発酵されると短鎖脂肪酸が産生する。短鎖脂肪酸は受容体に認識され、消化管ホルモンの分泌や転写因子の活性化を介して宿主代謝に関与する事が報告されている。一方で、β-グルカンはその粘性により栄養素の吸収や胆汁酸の再吸収を抑制するが、再吸収されなかった胆汁酸は腸内細菌によって代謝される。最近の報告では腸内細菌による胆汁酸組成の変動が受容体に認識され、生体内の代謝機能に影響するとされている。しかし、大麦の摂取による上記代謝産物の変動、及び生体内でどのような作用を及ぼすか詳細なメカニズムは明らかになっていない。本研究では、β-グルカン高含有大麦の摂取によって変動する消化管内の代謝産物の把握と代謝産物が腸管に存在する受容体を介して糖・脂質代謝に与える影響を実験動物、細胞を用いて明確にすることを目的とした。

第１章は過去の申請者の研究についてまとめ、先行研究との一致点、相違点をまとめた。

第２章では、大麦の摂取による短鎖脂肪酸の増加が短鎖脂肪酸受容体であるGPR43を活性化して耐糖能改善に寄与するかどうか、食餌性肥満モデルマウスと同系統のGPR43遺伝子欠損マウス、及びGLP-1分泌細胞モデルのGLUTag細胞用いて検討した。その結果、食餌性肥満モデルマウスは大麦粉の摂取で耐糖能が改善し、腸管内での短鎖脂肪酸の増加と、門脈中のGLP-1分泌の亢進が示された。さらに、これらのマウスの盲腸内容物を採取し、GLUTag細胞に添加した。その結果、大麦粉を摂取したマウスの盲腸内容物の添加によりGLP-1濃度、細胞内Ca^{2+}濃度が有意に増加した。しかしこの現象はsiRNAを用いてGPR43の発現を減弱すると消失した。さらにGPR43欠損マウスでは大麦粉の摂取によるGLP-1濃度の増加は確認されず、耐糖能の改善効果も減弱した。以上の結果、大麦の摂取による耐糖能改善作用は腸内発酵を介したGPR43のシグナルが大きく影響していると結論づけた。

第3章では腸内発酵を介した作用がβ-グルカン依存的な作用であるか検証した。第2章の結果が、大麦中のβ-グルカン単独の作用であるか、β-グルカンを含まない大麦粉(BGL)及び高β-グルカン大麦粉をマウスに給餌して検討した。その結果、GLP-1分泌、盲腸内短鎖脂肪酸濃度はBGLの摂取でも増加した。そのためBGLに含まれる食物繊維成分を確認したところ、発酵性の食物繊維であるアラビノキシランが多く含まれていた。以上のことから、β-グルカンだけでなく、大麦中のアラビノキシランも腸内発酵に関与している事が明らかになった。

第4章では2章、3章の結果より、大麦の摂取直後（ファーストミール）と摂取数時間後の次の食事（セカンドミール）での血糖値上昇抑制のメカニズムは異なると推定し、大麦由来のβ-グルカンとアラビノキシラン抽出物をマウスに単回投与して、セカンドミール時の血糖値上昇の抑制が食物繊維の発酵性に依存しているか確認した。その結果、β-グルカンの単回投与ではファーストミール、セカンドミール共に血糖上昇曲線下面積（IAUC）が低下し、アラビノキシランの投与ではセカンドミールでのみIAUCが低下した。さらにセカンドミール時はβ-グルカン、アラビノキシランの摂取で門脈中のGLP-1濃度が増加した。以上の結果、大麦の摂取による短鎖脂肪酸を介した耐糖能改善作用として、大麦の摂取数時間後に発酵性食物繊維（β-グルカン・アラビノキシラン）が腸内細菌に代謝され短鎖脂肪酸が増加し、GPR43が活性化されてGLP-1合成のシグナルが亢進した結果、GLP-1の分泌が惹起され耐糖能が改善することが主要なメカニズムと推定した。

第5章・6章では胆汁酸の変動による脂質代謝への影響を検討した。第5章では食餌性肥満モデルマウスを用いて、大麦粉の摂取による胆汁酸組成の動態を調べた。さらに血中、門脈中の代謝産物の違いをCE-MSを用いたメタボローム分析にて確認した。その結果、大麦粉の摂取により腸管内の一次胆汁酸が減少し二次胆汁酸が増加した。さらにメタボローム分析では血清、門脈中のコール酸やAMP濃度が増加した。したがって、大麦粉の摂取によって胆汁酸の腸肝循環が促進し、肝臓では胆汁酸の流入によって活性化されるFXRのmRNA発現量が有意に増加することが示された。さらに、FXRによって調節される胆汁酸合成の律速酵素であるCYP7A1や脂質合成に関わる遺伝子のmRNA発現量は大麦粉の摂取によって減少した。一方で、胆汁酸の受容体であるTGR5も有意に増加した。TGR5は二次胆汁酸によって強く活性化され、AMPの増加を促すため、大麦の摂取により、生体内での胆汁酸動態が変化すること、ならびにFXRやTGR5などの胆汁酸を介したシグナルが変動することが明らかになった。第6章では抗生物質を添加した混合水をマウスに摂取させて腸内細菌の活性を落としたマウスを作成し、胆汁酸動態と、脂質代謝への影響を確認した。抗生物質を投与したマウスでは大麦粉の摂取による血中コレステロール濃度および肝臓脂質蓄積の低下作用が消失した。つまり、大麦の摂取による脂質蓄積抑制や血中脂質の低下作用は腸内細菌の活性に依存していることが明らかとなった。さらに、飲料水を与えた群では大麦の摂取による二次胆汁酸の増加によってTGR5が活性化し、AMPが増加することでAMPKのリン酸化が亢進することがmRNA発現、タンパク質濃度レベルで明らかになった。この現象は抗生物質群では見られなかった。つまり、AMPKのリン酸化と、腸管循環を介したFXRの活性化によって脂質合成に関わる遺伝子が下方制御されることで、脂質蓄積が抑制されると推定した。

以上より、大麦の摂取による糖代謝改善は腸管内での短鎖脂肪酸の増加を介したGPR43の活性化が寄与しており、脂質代謝改善は腸管内での胆汁酸の循環量及び分子種の変化を介したTGR5や肝臓内でのFXRの活性化により、脂質合成の遺伝子が下方制御されるメカニズムであると推定した。