ラットコレステロール代謝に及ぼす食物繊維および タウリンの作用メカニズムに関する研究

学位論文内容の要旨

高コレステロール(CHOL)血症は動脈硬化症や虚血性心疾患の発症と強く関係しているといわれている。そのため食品成分で生体内における CHOL 量を調節することは予防医学的に重要である。

本研究ではラット CHOL 代謝に及ぼす食物繊維およびタウリンの作用とその作用機構を明らかにすることを目的とした。食物繊維は消化吸収されずに作用を発現する成分として、タウリンは吸収された後に作用を発現する成分として用いた。食物繊維（特にビート食物繊維 (BF)）の作用は CHOL を与えないラットを用いて血漿 CHOL 濃度変動に対する大腸内発酵の関与について調べた。タウリンの作用は CHOL を与えたラットを用いて CHOL 濃度変動について CHOL 異化(CHOL7 α -水酸化酵素(CYP7A1)) および胆汁酸排泄量の変動について調べた。

1. 食物繊維による CHOL 代謝の変動

(1)食物繊維の種類と血漿 CHOL 低下作用

ダイコン、キャベツ、タマネギ、モヤシ、ビートから抽出した粗食物繊維を CHOL 非摂取のラットに与え、盲腸内の発酵の違いと血漿 CHOL 濃度の変動について比較検討した。その結果、程度の差はあるものの各粗食物繊維が血漿 CHOL 低下作用を有することが明らかとなった。特に、BF の作用は顕著で発酵性に富んでおり、*n*-酪酸の産生量の多さは特徴的であった。また、盲腸内短鎖脂肪酸の生成量の増加が血漿 CHOL 濃度の低下に関与していることが示唆された。以上より、食物繊維の血漿 CHOL 低下作用に盲腸内発酵が関与している可能性が示唆された。

(2)食物繊維の CHOL 低下作用に対する盲腸の必要性と発酵の関与

盲腸・結腸同時切除、盲腸切除および結腸切除を施したラットを作成し、BF の CHOL 低下作用について調べ、発酵部位である大腸の存在の必須性について比較検討した。その結果、大腸部位、とりわけ盲腸の存在が BF の作用発現に必須であることが明らかとなった。

大腸内における発酵が BF の作用発現に寄与しているかを明らかにするために抗生物質を投与したラットを用いて、腸内細菌叢に変化を生じている場合の BF の血漿 CHOL に及ぼす作用について検討した。その結果、与える抗生物質の違いにより BF の作用が異なり、BF の大腸内における発酵が BF の作用発現にかかわっている可能性が示唆された。

(3)食物繊維の CHOL 低下作用を誘導する発酵産物の検索

手術により作成した盲腸に投与可能なラットを用いて、*in vivo* および *in vitro* における腸内細菌による食物繊維 (BF および GG) の発酵により産生された生成物を盲腸に投与し、血漿 CHOL 濃度の変動

について検討した。その結果、BF および GG の発酵産物の投与はともに血漿 CHOL 濃度を変動させなかった。しかし、投与量や投与方法の問題も生体における発酵を完全に再現したものでないため、発酵産物が血漿 CHOL 濃度変動に対してかかわっていないとは言い切れない。

2. タウリンによる CHOL 代謝の変動

(1)腸肝循環量変動時のタウリンの血清 CHOL 濃度変動

胆汁酸腸肝循環量を変動させるためコレステラミンおよび多量の胆汁酸をラットに与え、そのときのタウリンによる肝臓における CYP7A1 活性の変化を検討した。その結果、腸肝循環量変動しても肝臓 CHOL 濃度が高い場合、タウリン摂取は肝臓 CYP7A1 活性を上昇させ、胆汁酸排泄を亢進することにより CHOL 低下を発現することが明らかとなった。逆に肝臓 CHOL 濃度が低い場合、タウリンによる CYP7A1 の活性上昇は生じず、血清 CHOL は低下しないと推察された。タウリンにより肝臓 CHOL 異化が亢進するためには肝臓 CHOL 濃度が一定以上であることが必要と思われる。

(2)CHOL 吸収促進剤の違いによるタウリンの作用の違い

食餌性胆汁酸の有無によるタウリンの CHOL 低下作用の違いについて、CHOL 異化にかかわる CYP7A1 の遺伝子発現量と糞中胆汁酸排泄量より検討した。その結果、食餌性胆汁酸を与えない場合 CYP7A1 mRNA および胆汁酸排泄が CHOL 濃度の変動に関わっていた。一方、CYP7A1 mRNA と胆汁酸排泄の間に相関はみられなかった。以上よりタウリンの CHOL 異化亢進は CYP7A1 遺伝子の転写レベルで誘導されることがわかった。タウリンの血清 CHOL 低下作用は糞中胆汁酸排泄亢進によるが、CHOL 異化だけでなく別の要因による胆汁酸排泄亢進が関与している可能性が示唆された。

(3)CHOL 代謝に及ぼすタウリン用量依存性

CHOL 代謝にかかわるパラメーターに対するタウリンの用量依存性について検討し、CHOL 低下作用に対するタウリンの必要量について調べた。その結果、タウリンの用量依存的に肝臓タウリン濃度は増加し、血清 VLDL+LDL-CHOL 濃度、肝臓 CHOL 濃度は減少した。糞中胆汁酸量はタウリンの用量依存的に増加したが、肝臓における CYP7A1 活性は変動がみられなかった。したがって、タウリンによる胆汁酸排泄量の増加は CHOL 異化を主要因せず、小腸からの胆汁酸吸収に影響があると推察された。また、肝臓における CHOL 処理のためにタウリンの需要が高まり、肝臓 CHOL 濃度の調節に肝臓に存在するタウリン量の維持が重要であることが判明した。

(4)胆汁酸吸収に及ぼすタウリンの作用

タウリン摂取時の各消化管内の胆汁酸量の変化、門脈中胆汁酸の変動より胆汁酸吸収に対する影響について検討した。また、タウリンによる胆汁中胆汁酸組成の変動より胆汁酸吸収への影響を調べた。その結果、タウリン摂取により盲腸以降の胆汁酸量が増加した。胆汁中にはケノデオキシコール酸量が増加した。このため、タウリンによる糞中胆汁酸排泄量の増加は回腸における胆汁酸の能動輸送を抑制もしくは空腸、盲腸におけるケノデオキシコール酸の受動吸収から逃れた量が増加したためと推察された。しかし、門脈中の胆汁酸濃度はそれを裏付ける結果ではなく、この点は今後の課題である。

(5)糖尿病性高 CHOL 血症に対するタウリンの作用

遺伝的 2 型糖尿病 GK ラットを用いて糖尿病時の高 CHOL 血症に対してタウリンが正常ラットと同様に作用発現するかを検討した。その結果、CHOL 摂取時にタウリンを投与することにより正常ラット同様に CHOL 低下作用を引き起こすことが見出された。インスリン分泌異常の GK ラットでもタウリン摂取により糞中胆汁酸排泄量を増加させたことから、インスリンの影響を受けずにタウリンは肝臓での CHOL 異化を促進もしくは胆汁酸吸収を抑制するものと推測された。

(結論)

以上より食餌条件はそれぞれ異なるが、CHOL代謝に食物繊維やタウリンが大きく影響していることは明らかである。食物繊維の血漿 CHOL 低下作用に短鎖脂肪酸や二次胆汁酸などの大腸内発酵産物が関与しているかについては今のところ不明であるが、少なくとも大腸の存在と腸内発酵が食物繊維の作用発現に重要であることは間違いないと思われる。また、タウリンの CHOL 低下作用に胆汁酸排泄亢進が重要な要因であることが明らかとなったが、この亢進作用は CHOL 異化亢進よりもむしろ胆汁酸吸収の抑制が関与している可能性が示唆された。また、肝臓中タウリン量の維持がタウリンの CHOL 低下作用に重要な影響を及ぼすことが明らかとなった。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 原 博
副 査 教 授 浅 野 行 蔵
副 査 助 教 授 園 山 慶
副 査 講 師 石 塚 敏

学位論文題名

ラットコレステロール代謝に及ぼす食物繊維および タウリンの作用メカニズムに関する研究

本論文は、150 頁からなる和論文であり、図 21 と表 55 を含み、参考論文 8 編が添えられている。

高コレステロール(CHOL)血症は動脈硬化症や虚血性心疾患の発症と強く関係しているといわれている。そのため食品成分で生体内における CHOL 量を調節することは予防医学的に重要である。本研究は、ラットコレステロール(CHOL)代謝に及ぼす食物繊維、およびタウリンの作用とその作用機構を明らかにすることを目的として行っている。ここでは、食物繊維（特にビート食物繊維（BF））は消化吸収されずに作用を発現する成分として、タウリンは吸収された後に作用を発現する成分として用いている。食物繊維の作用は、主に血漿 CHOL 濃度変動に対する大腸内発酵の関与について、またタウリンの作用は、CHOL 異化（CHOL7a-水酸化酵素(CYP7A1)）および胆汁酸排泄量の変動について調べ、以下の結果を得ている。

1. 食物繊維による CHOL 代謝の変動

(1)食物繊維の種類と血漿 CHOL 低下作用

ダイコン、キャベツ、タマネギ、モヤシ、ビートから抽出した粗食物繊維を CHOL 非摂取のラットに与え、盲腸内の発酵の違いと血漿 CHOL 濃度の変動について比較検討した。その結果、程度の差はあるものの各粗食物繊維が血漿 CHOL 低下作用を有することを明らかにした。特に、BF の作用は顕著で、盲腸内短鎖脂肪酸の生成量の増加が血漿 CHOL 濃度の低下に関与していることを示唆した。

(2)食物繊維の CHOL 低下作用に対する盲腸の必要性と発酵の関与

盲腸-結腸同時切除、盲腸切除および結腸切除を施したラットを作成し、BF の CHOL 低下作用について調べ、発酵部位である大腸の存在の必須性について比較検討した。その結果、大腸部位、とりわけ盲腸の存在が BF の作用発現に必須であることが明らかとなった。

また、大腸内における発酵が BF の作用発現に寄与しているかを明らかにするために抗

生物質を投与したラットを用いて、腸内細菌叢に変化を生じている場合の BF の血漿 CHOL に及ぼす作用について検討した。その結果、BF の大腸内における発酵が BF の作用発現にかかわっている可能性が示唆された。

(3)食物繊維の CHOL 低下作用を誘導する発酵産物の検索

手術により作成した盲腸に投与可能なラットを用いて、*in vivo* および *in vitro* における腸内細菌による食物繊維 (BF および GG) の発酵により産生された生成物を盲腸に投与し、血漿 CHOL 濃度の変動について検討した。その結果、BF および GG の発酵産物の投与はともに血漿 CHOL 濃度を変動させなかった。

2. タウリンによる CHOL 代謝の変動

(1)腸肝循環量変動時のタウリンの血清 CHOL 濃度変動

胆汁酸腸肝循環量を変動させるためコレステラミンおよび多量の胆汁酸をラットに与え、そのときのタウリンによる肝臓における CYP7A1 活性の変化を検討した。その結果、腸肝循環量が変動しても肝臓 CHOL 濃度が高い場合、タウリン摂取は肝臓 CYP7A1 活性を上昇させ、胆汁酸排泄を亢進することにより CHOL 低下を発現することが明らかとなった。逆に肝臓 CHOL 濃度が低い場合、タウリンによる CYP7A1 の活性上昇は生じず、血清 CHOL は低下しないと推察された。タウリンにより肝臓 CHOL 異化が亢進するためには肝臓 CHOL 濃度が一定以上であることが必要と思われる。

(2)CHOL 代謝に及ぼすタウリン用量依存性

CHOL 代謝にかかわるパラメーターに対するタウリンの用量依存性について検討し、CHOL 低下作用に対するタウリンの必要量について調べた。その結果、タウリンの用量依存的に肝臓タウリン濃度は増加し、血清 VLDL+LDL-CHOL 濃度、肝臓 CHOL 濃度は減少した。糞中胆汁酸量はタウリンの用量依存的に増加したが、肝臓における CYP7A1 活性は変動がみられなかった。したがって、タウリンによる胆汁酸排泄量の増加は CHOL 異化を主要因せず、小腸からの胆汁酸吸収に影響があると推察された。また、肝臓における CHOL 処理のためにタウリンの需要が高まり、肝臓 CHOL 濃度の調節に肝臓に存在するタウリン量の維持が重要であることが判明した。

(3)胆汁酸吸収に及ぼすタウリンの作用

タウリン摂取時の各消化管内の胆汁酸量の変化、門脈中胆汁酸の変動より胆汁酸吸収に対する影響について検討した。また、タウリンによる胆汁中胆汁酸組成の変動による胆汁酸吸収への影響を調べた。その結果、タウリン摂取により盲腸以降の胆汁酸量が増加した。胆汁中にはケノデオキシコール酸量が増加した。このため、タウリンによる糞中胆汁酸排泄量の増加は回腸における胆汁酸の能動輸送を抑制もしくは空腸、盲腸におけるケノデオキシコール酸の受動吸収から逃れた量が増加したためと推察された。しかし、門脈中の胆汁酸濃度はそれを裏付ける結果ではなく、この点は今後の課題である。

本研究は、食物繊維による血漿 CHOL 低下に大腸の存在が必須であり、発酵が重要な要因となっていることを明らかにし、タウリンの CHOL 低下作用に CHOL 異化よりむしろ腸肝循環抑制が寄与していることを示唆した。食物繊維の作用発現における大腸の必須性およびタウリンの作用発現における腸肝循環抑制の寄与は新しい知見であり、高く評価できる。

よって、審査員一同は、西村 直道が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。