

協同乳業、慶應義塾大学との共同研究 腸内細菌をターゲットとした新たな機能性食品に繋がる知見 牛乳の知られざる機能性か？

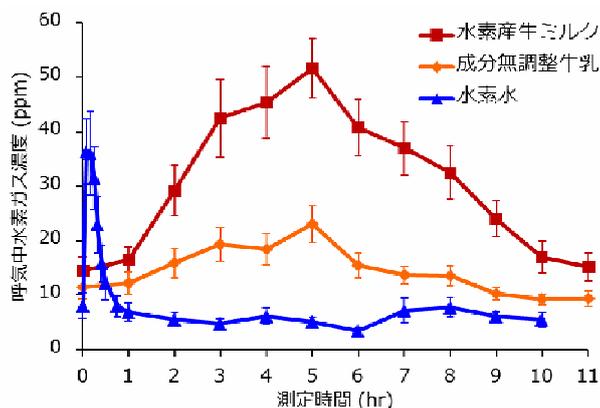
～ヒト腸内で水素ガスを効率的に産生する食物繊維類を添加した乳飲料～

メイトブランドの協同乳業株式会社(本社:東京・中央区/社長:尾崎 玲)の松本光晴主幹研究員らと、慶應義塾大学医学部の坪田一男教授らのグループは、ヒト大腸内での効率的な水素ガス産生を誘導する食物繊維類(オリゴ糖、糖アルコール含む)の組み合わせを見出し、ヒト試験でこれを含む乳飲料の水素ガス産生能の高さを証明しました。この研究成果は、International Society for Nutraceuticals and Functional Foodsの公式ジャーナル「Journal of Functional Foods」に公開されました。

《本論文の概要》

生理機能の研究が進行中の水素ガスを腸内細菌に効率的に産生させる食物繊維類を探索し、それらを添加した乳飲料を開発し、ヒト臨床試験で水素ガス産生力を確認する目的で実施した。

- ① 殆どのヒトの腸内菌叢で水素ガス産生が可能になるガラクトオリゴ糖、マルチトール、グルコマンナンの組合せを見出した。
- ② 上記3成分を牛乳(乳糖が有効成分)に添加することで、水素ガス産生量を高めることに成功した(水素ガス産生ミルク)。
- ③ ヒト臨床試験の結果、水素ガス産生ミルク摂取で呼気中水素ガス濃度が有意に上昇し、その効果は、水素水および成分無調整牛乳と比較し、高濃度、且つ持続的であることが認められた。
- ④ 2度の臨床試験の結果、30名全ての被験者で呼気中水素ガス濃度が上昇した。
- ⑤ 成分無調整乳でも呼気中水素ガス濃度の上昇が認められた。
- ⑥ 血糖値上昇や重度の下痢等の副作用は認められなかった。



水素ガス産生ミルク、牛乳、水素水摂取時の呼気中水素ガス濃度の比較(論文Fig. 4aを改変)

《意義》

本研究により、既存の生体への水素ガス供給方法(ガス吸入法、水素水)とは異なる新規の方法を創出することができました。また、水素ガス産生ミルクは、比較的安価で手軽に飲める製品として供給することが可能で、国民の健康に貢献することができます。

他にも以下の学術的意義が挙げられます。乳糖を消化できない大半の日本人にとって、牛乳は水素ガス産生食品であることが認められ、これは牛乳の未知の潜在的機能と推察することができます。また、進展が著しい腸内細菌研究の分野においても、腸内細菌の生理活性を有する代謝産物としての水素ガス研究に大きく貢献できます。同様に、多くの保健効果が確認されている食物繊維類(オリゴ糖含む)の作用メカニズム研究にも、新たな視点を与えます。

《論文》

ジャーナル: Journal of Functional Foods 35: 13-23, 2017

タイトル: Effects of functional milk containing galactooligosaccharide, maltitol, and glucomannan on the production of hydrogen gas in the human intestine

(日本語タイトル: ガラクトオリゴ糖、マルチトール、グルコマンナン含有機能性ミルクのヒト腸管内での水素ガス産生効果)

著者: Mitsuharu Matsumoto¹, Kazuo Tsubota² et al.

(¹ 協同乳業(株)研究所技術開発グループ, ² 慶應義塾大学医学部眼科学教室)

本件に関するお問合せ先

(研究に関するお問合せ)

協同乳業株式会社 研究所 技術開発グループ 松本
TEL: 042-597-5910, FAX: 042-597-5911

(商品関係のお問合せ)

協同乳業株式会社 営業企画部 土屋
TEL: 03-5943-8576, FAX: 03-5943-3270

【研究背景】

2007年に、水素ガスが活性酸素種の中でも生体への悪影響が強いことが知られるヒドロキシラジカルを選択的に還元し、細胞を酸化ストレスから守り、虚血再灌流モデルラットにおける脳梗塞の抑制効果が報告されて以来、400報を超える研究論文が報告されています。水素ガスの摂取方法にはガス吸入法や水素水の摂取が知られていますが、ガス吸入法には特殊な装置が必要であり、また水素水は短時間で溶存水素ガスが拡散消失する欠点があります。

腸内細菌は大腸に届いた食物繊維類(オリゴ糖類、糖アルコール含む)から水素ガスを産生すること、また、牛乳に含まれる乳糖も大腸に届けば同様に腸内細菌により水素ガスが産生されることが知られていました。日本人の約90%は乳糖不耐症であり(多くは200ml程度は飲用可能な軽度な症状)、乳糖が比較的大腸に到達しやすい体質です。しかし、腸内菌叢は個体差が大きく、同じ成分を与えても、水素ガスを産生できる菌叢の人とできない菌叢の人がいます(我々の予備実験で確認)。そこで、幅広いヒトの腸内菌叢で水素ガスが産生できる成分(餌)を探索し、それを添加した牛乳を開発し、ヒト試験でその効果を評価しました。

【方法】

①ヒト(日本人)腸内で水素ガスを産生する食物繊維類の探索

食経験があり比較的安価な食物繊維類23種類(オリゴ糖6種類、糖アルコール5種類、食物繊維9種類、青汁2種類)から探索しました。ヒト新鮮糞便に各成分を添加し、37°Cの嫌気条件下で培養し(図1)、発生する水素ガス濃度をTRIllyzer mBA-3000(図2)で測定しました。

②水素ガス産生量と相関する腸内細菌の探索

試験①の糞便を用いて、16S rRNA遺伝子をターゲットとした腸内菌叢解析を次世代型シーケンサー IonPGMIにて実施し、水素ガス濃度との相関解析を行いました。

③ヒト臨床試験

A. 実験1(病院内厳密管理による試験 n = 9)

牛乳飲用により下痢等を発症しない健康成人(男性9名、平均年齢40.0歳)にて、単群・群内比較・オープン試験を実施しました。有効成分混合ミルク(ガラクトオリゴ糖、マルチトール、グルコマンナンを成分無調整乳に1%濃度ずつ添加したもの:以下、“水素産生ミルク1”と称する)、成分無調整牛乳(牛乳)、水素水(市販品、当研究グループ調べ1.57ppm含有)を試験飲料として週に1回のそれぞれの試験飲料にて摂取試験を行いました。全被験者は、試験前日に病院内で統一夕食を摂取後絶食し(水のみ自由摂取)、試験終了まで入院により厳密に管理されました。13時間後に飲用前の呼気を回収し、直後に試験飲料摂取し、1時間毎(水素水飲用時のみは5~10分間毎)に呼気を回収し(図3)、呼気中水素ガス濃度(※)を測定しました。被験者は2時間に1度、電解質溶液、試験食摂取4時間後にお粥を摂取しました。また、試験食摂取90分後に採血し血糖値を、アンケート形式で腹部不快感への影響を調べました。

B. 実験2(日常生活での食事管理による試験 n = 21)

健康成人(男性15名、女性6名、平均年齢38.5歳)にて、実験1とほぼ同じ単群・群内比較・オープン試験を実施しました。実験1との違いは、以下の通りです。病院内での厳密管理ではなく、被験者の自己管理により実施しました。将来の工業的ラインでの製造を考慮して、有効成分の比率を変更しました(ガラクトオリゴ糖:1.5%、マルチトール:1.0%、グルコマンナン:0.1%を成分無調整乳に添加したもの:“水素産生ミルク2”)。



図1. 糞便培養試験
水素ガスを通さない容器内で、希釈糞便内に各食物繊維類を添加し、気層を嫌気ガスに置換し培養した。



図2. TRIllyzer mBA-3000
水素ガス測定する装置。測定毎に検量線を作成し、正確に測定した。



図3. 呼気回収バッグ
試験前に被験者は呼気回収法のトレーニングを実施し、正確に回収した。

【結果と考察】

①ヒト(日本人)腸内で水素ガスを産生する食物繊維類の探索

各食物繊維類からの各糞便培養での水素ガス産生量を図4aに示しました。オリゴ糖類および糖アルコール類の添加により、比較的多くの糞便で水素ガスが産生されました。しかしながら、全糞便で水素ガス産生を誘導する成分はなく、同時に、あらゆる成分から水素ガスを産生する糞便(菌叢)も存在しないことがわかりました。興味深いことに、不溶性食物繊維類からは殆ど水素ガスが産生されないことが認められました。

次に、腸内菌叢の個体差により、様々なヒトの腸内菌叢で共通して水素ガスを産生する食物繊維類が存在しないことが判明したため、幅広い菌叢で水素ガス産生が可能になる複数の食物繊維類の組み合わせを探索し、ガラクトオリゴ糖、マルチロール、グルコマンナンの組み合わせを見出しました(図4b)。

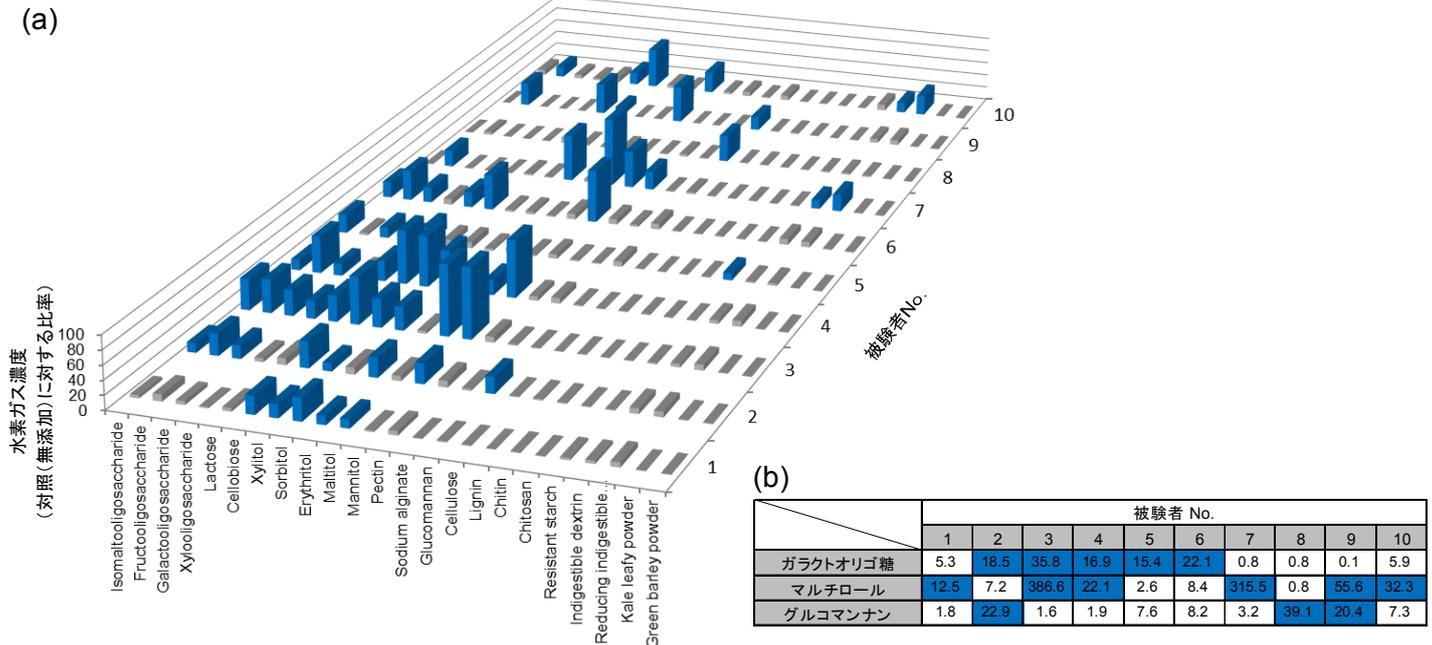


図4. 各食物繊維添加による水素ガス産生量(論文Fig. 1を改変)

- (a) 対照(無添加)の水素ガス濃度を1とした時の、食物繊維添加時の水素ガス量. 10倍以上の増加を青色で示した.
- (b) 試験対象糞便全てで無添加時の10倍以上の水素ガスを産生する組合せ. 数値は(a)と同様に比率を示す.

②水素ガス産生量と相関する腸内細菌の探索

得られた糞便菌叢データとガラクトオリゴ糖、マルチロール、グルコマンナンおよび乳糖添加時の水素ガスの濃度の相関性を調べた結果、ガラクトオリゴ糖とRikenellaceae科、*Alistipes*属等、乳糖と*Odoribacter*属等との相関性が認められました。しかしながら、これらの菌群が実際に水素ガスを産生しているか否かは本研究では確認しておらず、水素ガス産生菌に関する研究は今後の課題です。

③ヒト臨床試験

A. 実験1(病院内厳密管理による試験 n = 9)

水素ガス産生ミルク1、成分無調整乳、水素水摂取による、呼気中水素ガス濃度の経時変化を図5に示します。水素ガス産生ミルク1摂取により、3時間後より8時間後まで有意に呼気中水素ガスが上昇することが確認されました。水素水は、摂取後10分後をピークに減少しました。水素ガス産生ミルク1と成分無調整乳では、それぞれ3~11間後、4~8時間後に水素水飲用時より有意に高い水素ガス産生が認められました。また、折れ線グラフの曲線下面積値(水素ガス総排出量に該当)を算出した結果、水素ガス産生ミルク1が水素水より有意に高く、成分無調整乳でも高い傾向を示しました。全被験者で摂取前より摂取後3~7時間後のいずれかで呼気中水素ガス濃度が上回っていることが確認されました。

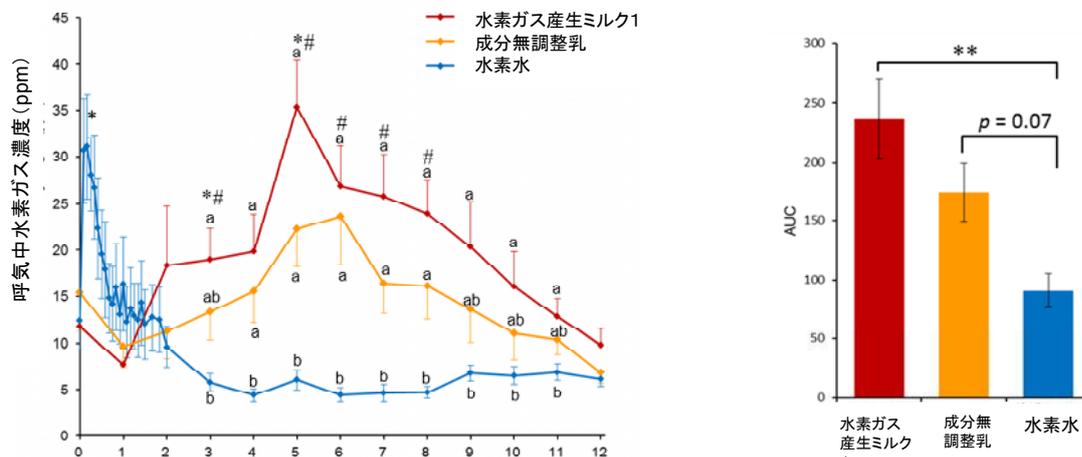


図5. 水素ガス産生ミルク1、成分無調整乳、水素水摂取による呼気中水素ガス濃度産生(論文Fig. 3を日本語化)

- (a) 経時変化(*摂取前、#摂取1時間後と比較し有意差あり。a, b:各時間において、異なるアルファベット間で有意差あり。)
- (b) 曲線下面積(**有意差あり $p < 0.01$)

B. 実験2(日常生活での食事管理による試験 n = 21)

水素ガス産生ミルク2、成分無調整乳、水素水摂取による、呼気中水素ガス濃度の継時変化を図6に示します。実験1とほぼ同様の結果が得られ、水素ガス産生ミルク2の摂取により、摂取前と比較し4時間後より7時間後まで有意に呼気中水素ガスが上昇することが確認されました。水素ガス産生ミルク2と成分無調整乳では、それぞれ3~10間後、3、5、6時間後に水素水飲用時より有意に高い水素ガス産生が認められました。曲線下面積値では、水素ガス産生ミルク2が水素水($p < 0.001$)および成分無調整乳($p < 0.001$)と比較して有意に高く、成分無調整乳も水素水と比較して有意に($p < 0.001$)高い結果が得られました。また、全被験者で摂取前より摂取後3~7時間後のいずれかで呼気中水素ガス濃度が上回っていることが確認されました。成分無調整乳でも水素ガス産生が認められたことは、乳糖を分解できない大半の日本人にとって、牛乳は水素ガス産生を介して保健効果を誘導する機能性飲料と捉えることができ、大変興味深い結果です。

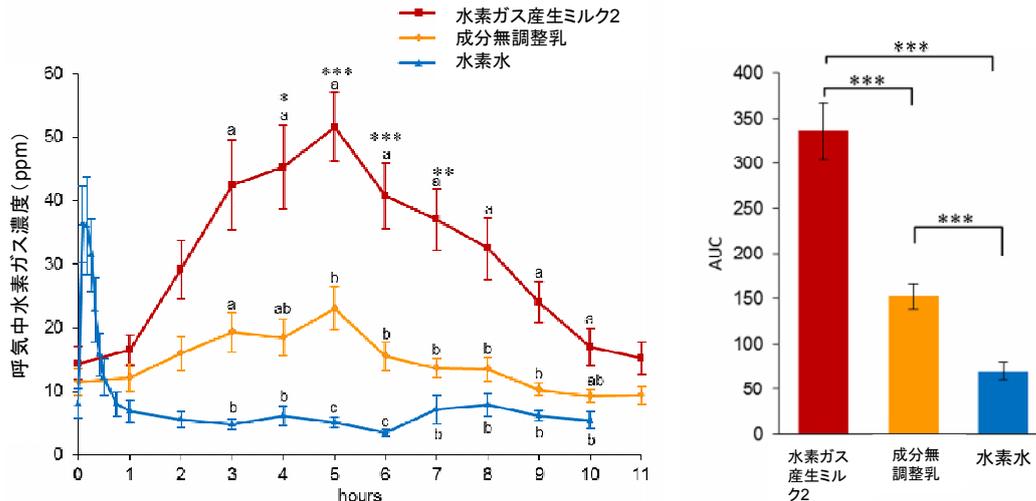


図6. 水素ガス産生ミルク、成分無調整乳、水素水摂取による呼気中水素ガス濃度産生 (論文 Fig. 4を日本語化)
 (a) 継時変化(* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ 摂取前と比較し有意差あり. a, b, c: 各時間において、異なるアルファベット間で有意差あり.)
 (b) 曲線下面積(***有意差あり $p < 0.01$)

食物繊維類はグルコースを含むものも多く、腸内細菌に分解されるとグルコースが大腸内で遊離する可能性もあるため血糖値を調べました(図7)。その結果、血糖値の上昇は認められず、腸内細菌は食物繊維類を消化後、自らが吸収・利用し、ヒト体内へは移行しないことがわかりました。

腹部不快感に対するアンケート試験では、普段よりお腹がゴロゴロする被験者はいましたが、重度の下痢や不快感を報告した被験者はゼロでした。

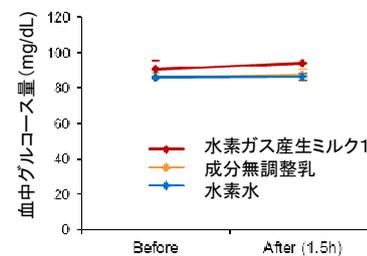


図6. 各試験飲料摂取が血糖値に与える影響 (論文 Fig. 5を日本語化)

【今後の展望】

この水素ガス産生ミルクを用いて、ヒトへの保健効果に関する研究を進めます。特に、過去に牛乳摂取の疫学的調査で有効性が報告されている症状に対して、腸内細菌由来の水素ガスの視点からアプローチします。また、未だ十分に解明されていない水素ガスが生体細胞へ与える分子基盤を明らかにする研究にも取り組みます。

【用語説明】

※呼気中水素ガス: 腸管内で発生した水素ガスは生体内に拡散する。その一部は呼気中にも移行する。腸管内の水素ガス濃度は呼気中水素ガス濃度と相関関係にある(腸管内で濃度が上昇すれば呼気中濃度も上昇する)ことは報告されている。

【論文】

ジャーナル: Journal of Functional Foods 35: 13-23, 2017

タイトル: Effects of functional milk containing galactooligosaccharide, maltitol, and glucomannan on the production of hydrogen gas in the human intestine

(日本語タイトル: ガラクトオリゴ糖、マルチトール、グルコマンナン含有機能性ミルクのヒト腸管内での水素ガス産生効果)

著者: Mitsuharu Matsumoto^{1*}, Ayako Fujita¹, Ayano Yamashita¹, Shoichiro Kameoka¹, Yumi Shimomura¹, Yusuke Kitada¹, Hazuki Tamada¹, Shigeru Nakamura², Kazuo Tsubota²

(¹協同乳業(株)研究所技術開発グループ, ²慶應義塾大学医学部眼科学教室)