

<平成 27 年度助成>

テイラーメイド食品の基盤的知見となる腸内菌叢の機能性の解明

田村 基¹⁾・星 千草¹⁾・堀 幸子¹⁾・平山 和宏²⁾

(¹⁾ 国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 食品研究部門
²⁾ 東京大学大学院 農学生命科学研究科)

はじめに

タマネギは疫学研究および動物実験等により、生活習慣病予防効果が期待されるケルセチンを多く含んでいることが明らかにされている。ケルセチンの肥満およびメタボリックシンドローム改善効果¹⁾や、糖尿病改善効果²⁾が動物試験で報告され、疫学調査ではケルセチンの摂取量が多い人ほど虚血性心疾患による死亡率が低いことが報告されている³⁾。ケルセチンは腸内菌叢により代謝されるが、その代謝性は個人差があると推察されている。そのため、ケルセチンのヒトに対する効果を考えた場合、腸内菌叢のケルセチン代謝の意義を明確にする必要がある。これまでの食品研究では、腸内菌叢のケルセチン代謝を考慮したケルセチンの摂取効果を明確にしてこなかった。本研究では、この点を明確にし、腸内菌叢のケルセチン代謝の意義を明らかにする。本研究では、ケルセチン代謝性腸内細菌マウスとケルセチン非代謝性腸内細菌マウスを作製し、作製したマウスや無菌マウスにケルセチンを投与することで、ケルセチン代謝性腸内菌がケルセチンの機能に及ぼす影響を検討する。また、ケルセチン分解性の異なるヒト糞便をそれぞれ無菌マウスに投与して、ヒト型腸内菌叢マウスを作製し、これらのマウスにケルセチンを投与することで、ケルセチンの代謝・分解の違いヒト腸内菌叢がケルセチンの機能に及ぼす影響を明確にする。ケルセチンの代謝分解の違いは、個人の体質の一つと考えられるため、本研究成果は、テイラーメイド食品の基盤的知見となる食品成分の効力を評価するための知見としての活用が期待される。

要 旨

無菌マウスにヒト由来腸内細菌を投与して、ケルセチン代謝菌のみを有するマウスやケルセチン代謝菌とケルセチン非代謝菌両方を有するマウス、ケルセチン非代謝菌のみを有するマウスを作製して、ケルセチン投与の効果を比較した。また、ケルセチン高分解性ヒト糞便サンプルとケルセチン低分解性ヒト糞便サンプルを無菌マウスに投与し、ケルセチン高分解性ヒト型腸内菌叢マウスとケルセチン低分解性ヒト型腸内菌叢マウスを作製し、これらのマウスに対するケルセチン投与の効果を比較した。

血漿ケルセチン濃度は、ケルセチン代謝菌 19-20、N4-2 単独投与マウスや無菌マウスに比べて、19-20+N4-2 混合投与マウスにおいて高い傾向が認められた。ケルセチン代謝菌 1～2 株だけの定着では、実際の腸内においてケルセチン代謝・分解性が発揮されていない可能性が示唆された。

ケルセチン代謝性腸内細菌 2 株 + ケルセチン非代謝性腸内細菌 5 株投与マウス TKN4219 とケルセチン非代謝性腸内細菌 5 株投与マウス TOK では、TKN4219 よりも TOK の方が血漿ケルセチン代謝物濃度が有意に高値を示した。ケルセチン非代謝菌 5 株がケルセチン代謝菌マウスの腸内でのケルセチン分解を促進し、ケルセチンの吸収量が低下した可能性が示唆された。

ケルセチン代謝・分解が低いヒトの糞便を投与した No23 群、K3 群、No37 群よりも、ケルセチン代謝・分解が高いヒトの糞便を投与した TOB 群の方が血漿ケルセチン代謝物濃度が低い傾向が認められた。腸内菌叢のケルセチン代謝・分解の違いが、ケ

ルセチンの吸収に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

ヒト型腸内菌叢マウス 4 群において、血漿ケルセチン代謝物濃度（ケルセチン代謝物 + イソラムネチン代謝物濃度）と血漿コレステロール濃度、血漿トリグリセリド濃度、血漿グルコース濃度、肝臓脂質重量、体重当たりの内臓脂肪重量について相関解析を行ったところ、腸内菌叢の違うマウスで血漿ケルセチン濃度と脂質代謝関連因子や血糖値との間の相関性が異なっていた。

これらの結果は、腸内菌叢がケルセチン代謝だけでなく、ケルセチンの宿主に対する効力に関与する可能性を示唆するものである。

方 法

動物試験

1) ケルセチン代謝性ヒト由来腸内細菌投与マウス 19-20 (n=4)、N4-2 (n=4)、19-20+N4-2 (n=4) の作製と動物試験

東京大学獣医公衆衛生学教室のビニールアイソレーター内（図 1）で維持されている 19 週齢 BALB/cA 無菌雌マウスに、ヒト由来ケルセチン代謝菌 19-

20 株（16S rRNA の相同性が *Clostridium orbiscindens* と 100% の相同性を有する）とヒト由来ケルセチン代謝菌 N4-2 株（16S rRNA の相同性が *Fusobacterium varium* と 99% の相同性を有する）を単独もしくは混合して無菌マウス 4 匹ずつに経口投与し、ケルセチン代謝性 19-20 マウス（単独投与）、N4-2 マウス（単独投与）、19-20+N4-2 マウス（混合投与）を作製し、AIN-93M ベースのペレット食を 3 週間給餌してから飼料を 0.05% ケルセチン添加ペレット食に変更し、解剖まで 3 週間給餌した（図 2）。

2) ケルセチン代謝性ヒト由来腸内細菌 + ケルセチン非代謝性ヒト由来腸内細菌投与マウス TKN4219 (n=4) とケルセチン非代謝性ヒト由来腸内細菌投与マウス TOK (n=4) の作製と動物試験

東京大学獣医公衆衛生学教室のビニールアイソレーター内（図 1）で維持されている 22 週齢 BALB/cA 無菌雌マウス 4 匹ずつに、ケルセチン代謝菌 19-20 株とケルセチン代謝菌 N4-2 株と 5 株のヒト糞便由来ケルセチン非代謝菌（表 1）を経口投与し、TKN4219 群を作製した。5 株のケルセチン非代謝菌（表 1）を 22 週齢 BALB/cA 無菌雌マウス 4 匹に経口投与し、TOK 群を作製した。これら 2 群に

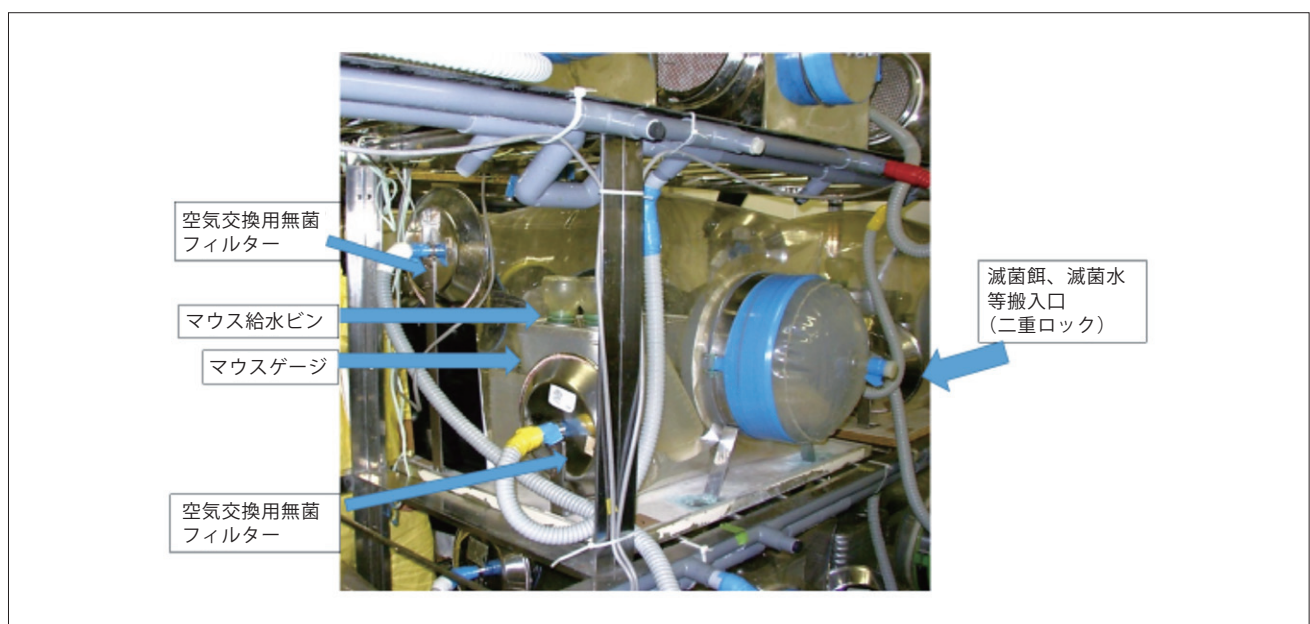


図 1 無菌マウス、ヒト型腸内菌叢マウスの飼育に用いるビニールアイソレーター

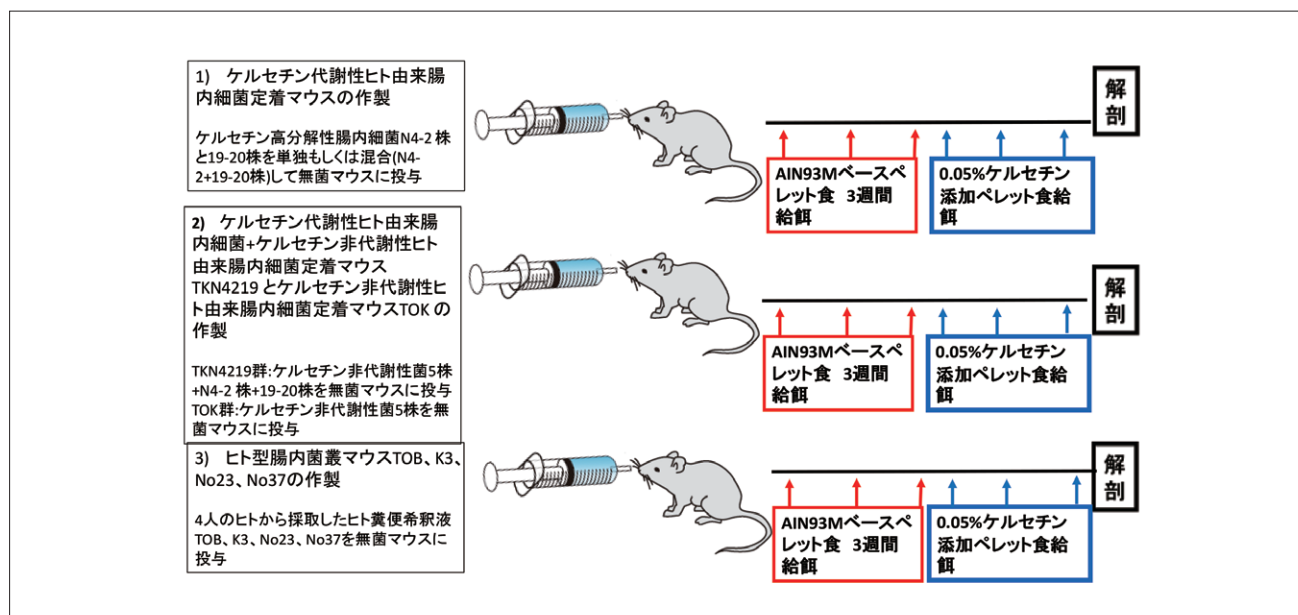


図2 動物試験の概要

表1 無菌マウスに投与したケルセチン非代謝性腸内細菌5株の近縁菌種と培養培地

菌名称	近縁菌種	嫌気培養培地
TOB2Tos1	<i>Lactobacillus fermentum</i>	BL 培地
TOB2Bac3	<i>Eubacterium limosum</i>	バクテロイデス培地
Tok6BL6	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	BL 培地
Tok6Bact10	<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	バクテロイデス培地
Tok6GAM6	<i>Bacteroides ovatus</i>	変法 GAM 培地

AIN-93M ベースのペレット食を3週間給餌してから飼料を0.05%ケルセチン添加ペレット食に変更し、解剖まで3週間給餌した(図2)。

3) ヒト型腸内菌叢マウスTOB (n=5)、K3 (n=5)、No23 (n=5)、No37 (n=5) の作製と動物試験

東京大学獣医公衆衛生学教室のビニールアイソレーター内(図1)で維持されている18週齢BALB/cA無菌雌マウス20匹を、5匹ずつ4群に分けた。ヒト糞便4人分(サンプル名称No23、TOB、No37、K3)をそれぞれ嫌気チャンバー内において、嫌気性希釈液で100倍に希釈した。希釈した糞便希釈液をビニールアイソレーター内で無菌マウスに0.5mLずつ経口投与した。今回投与した糞便の*in vitro*でのケルセチン分解活性は、TOBのみ分解活

性が強く、他の23、37、K3はケルセチン分解活性が弱かった。糞便投与後AIN-93Mベースのペレット食を3週間給餌してから、飼料を0.05%ケルセチン添加ペレット食に変更し、解剖まで4週間給餌した(図2)。

動物試験終了後、解剖し、マウスから採血し、血漿を採取した。さらに肝臓、盲腸内容物、内臓脂肪を採取し、秤量した。

血漿ケルセチンの分析

0.1M酢酸バッファー(pH5.0)に35mg/mLとなるように β -glucuronidase/sulfatase typeH5(sigma)を溶解した。解剖後、-80℃にストックしていた血漿ケルセチン50 μ Lに対して上記50 μ Lの β -glucuronidase/sulfataseを添加し、37℃で40分間インキュベーションを行った。インキュベーション

後に酢酸エチルで2回抽出し、窒素ガスを吹き込み酢酸エチルを除去した。さらに200 μ L 80% メタノールに溶解し、LC-MS/MS を用いて血漿中のケルセチンおよびケルセチン代謝物のイソラムネチン分析を行った。

糞中胆汁酸含量測定方法

マウスより採取した糞便を凍結乾燥し、乳鉢を用いて粉碎し、90% エタノールで胆汁酸を抽出した。総胆汁酸テストワコーを用いて、糞中胆汁酸含量を測定した。

血漿脂質、血漿グルコース濃度測定方法

マウスの血漿総コレステロール、血漿トリグリセリド濃度、遊離脂肪酸 (NEFA) 濃度、血漿グルコース濃度測定は、和光純薬のキットを用いて測定した。

肝臓脂質含有量、コレステロール含有量、トリグリセリド含有量測定方法

肝臓脂質は、脂質を Bligh and Dyer 法で抽出して測定した。コレステロール含有量、トリグリセリド含有量は、肝臓脂質抽出物を 10% トリトン X100-イソプロパノールを添加して溶解し、和光純薬のキットを用いて測定した。

統計解析

すべてのデータは、平均±標準誤差で示した。得られたデータの平均値の有意差検定は、統計解析ソフト Sigma Plot 11 (HULINKS) を用いて行った。

結果と考察

1) ケルセチン代謝性ヒト由来腸内細菌投与マウス 19-20 (n=4)、N4-2 (n=4)、19-20+N4-2 (n=4) の作製と動物試験

無菌マウス (GF マウス) では、腸内細菌が存在しないため、消化管内でのケルセチンの分解性は低いと推察されたが、血漿ケルセチン濃度は、無菌マウス、19-20 投与マウス、N4-2 投与マウスにおいて有意な差は認められなかった。血漿ケルセチン濃度は、19-20+N4-2 投与マウスにおいて高い傾向が認められた (図 3)。ケルセチン代謝菌 1~2 株だけの定着では、実際の腸内においてケルセチン代謝・分解性が発揮されていない可能性が示唆された。無菌マウスはコンベンショナルマウスと消化管の構造が異なっており、腸内細菌投与マウスより消化管でのケルセチンの吸収性が低い可能性がある。

内臓脂肪重量については、GF マウスが有意な高値を示した。盲腸内容物重量は、N4-2 と N4-2+19-20 投与群が GF や 19-20 よりも有意な低値を示した。N4-2 は無菌マウスの盲腸内容物量に影響を及ぼす腸内細

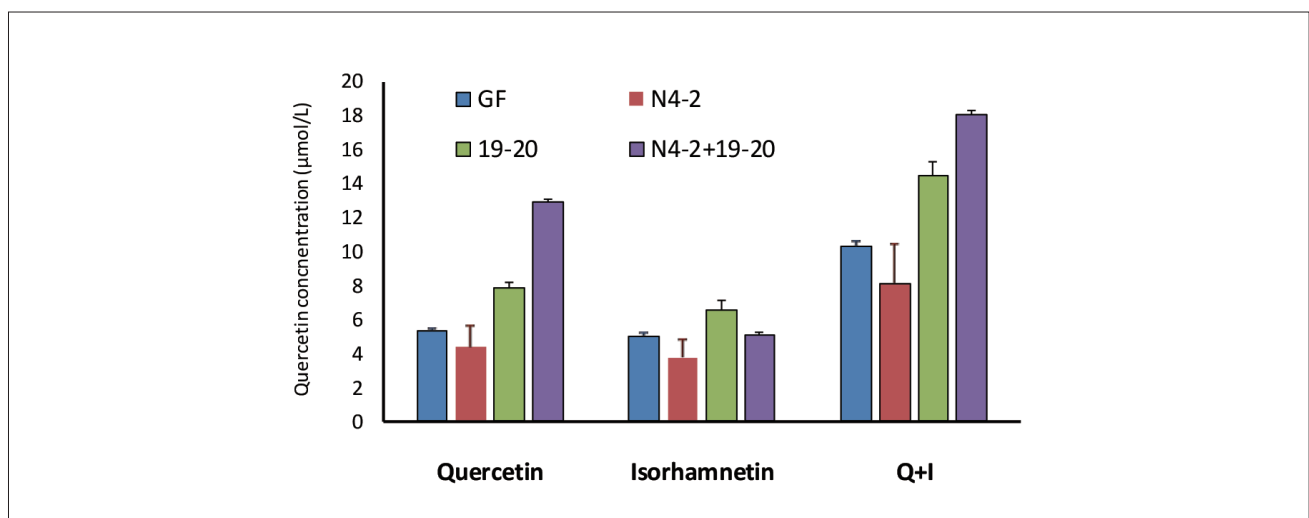


図 3 無菌マウスとケルセチン代謝菌投与マウスの血漿ケルセチン代謝物濃度

表2 無菌マウス、ケルセチン代謝菌投与マウスの血漿脂質、肝臓脂質、血糖値、糞便総胆汁酸濃度

	無菌マウス GF	ヒト腸内細菌投与マウス N4-2	ヒト腸内細菌投与マウス 19-20	ヒト腸内細菌投与マウス N4-2+19-20
血漿コレステロール濃度 (mg/dL)	139.8 ± 11.3	153.6 ± 19.5	146.5 ± 12.2	156.2 ± 4.9
血漿トリグリセリド濃度 (mg/dL)	186.1 ± 27.7 ^{a,b*}	205.9 ± 41.5 ^{b*}	202.1 ± 4.8 ^{b*}	155.5 ± 11.9 ^{a*}
血漿遊離脂肪酸濃度 (mEq/L)	3.6 ± 0.2	3.4 ± 0.5	3.6 ± 0.3	3.1 ± 0.4
血漿グルコース (mg/dL)	248.1 ± 16.5 ^{a,b*}	222.3 ± 13.9 ^{b*}	205.2 ± 19.2 ^{b*}	311.7 ± 9.8 ^{a*}
肝臓脂質量 (g)	0.11 ± 0.02	0.15 ± 0.03	0.14 ± 0.01	0.12 ± 0.02
肝臓トリグリセリド (mg)	57.2 ± 16.4	76.5 ± 15.8	87.7 ± 7.5	61.0 ± 14.7
肝臓コレステロール (mg)	4.8 ± 0.7	6.9 ± 0.9	5.5 ± 0.5	6.4 ± 0.8
糞便総胆汁酸濃度 (nmol/g糞便)	1040.3 ± 188.6	1232.7 ± 154.4	903.4 ± 115.7	1364.9 ± 91.2

* 異なるアルファベット間では有意差あり P<0.05

菌の可能性がある。終体重については、GF マウスは N4-2+19-20 投与マウスよりも有意な高値を示した。

血漿グルコース濃度は、N4-2 と 19-20 単独投与マウスが N4-2+19-20 投与マウスよりも有意な低値を示した (表 2)。血漿トリグリセリド濃度は N4-2 と 19-20 単独投与マウスが N4-2 と 19-20 の混合投与マウスよりも有意な高値を示した (表 2)。N4-2 と 19-20 の腸内細菌を 2 種類投与したマウスと、N4-2 株もしくは 19-20 株 1 種類を投与したマウスの間で血漿脂質の違いが生じた。N4-2 と 19-20 腸内細菌の共存による相互作用が、脂質代謝に影響を及ぼしているからだと考えられる。糞便 1g グラム当たりの胆汁酸量 (表 2) については 4 群間で有意な差は認められなかった。

内臓脂肪重量については、GF マウスが有意な高値を示した。腸内菌叢が肥満に影響を及ぼすことが報告されている⁴⁾。無菌マウスが腸内細菌を定着したマウスよりも内臓脂肪が増加した理由は不明であるが、定着したケルセチン代謝性腸内細菌によって消化管内の余剰の栄養成分が代謝・消費されて、脂肪の蓄積が抑制された可能性がある。

2) ケルセチン代謝性ヒト由来腸内細菌 + ケルセチン非代謝性ヒト由来腸内細菌投与マウス TKN4219 (n=4) とケルセチン非代謝性ヒト由来腸内細菌投与マウス TOK (n=4) の作製と動物試験

血漿ケルセチン濃度 (図 4) は、ケルセチン代謝

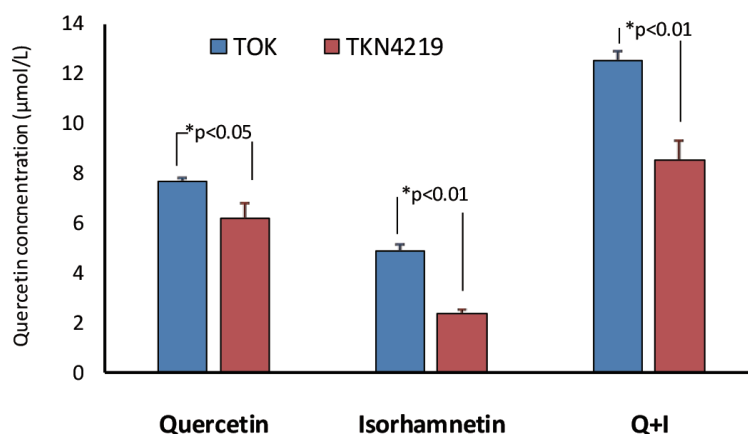


図4 ケルセチン代謝性ヒト由来腸内細菌 + ケルセチン非代謝性ヒト由来腸内細菌投与マウス TKN4219 とケルセチン非代謝性ヒト由来腸内細菌投与マウス TOK の血漿ケルセチン濃度

表3 ケルセチン非代謝菌投与マウス、ケルセチン非代謝菌＋ケルセチン代謝菌投与マウスの血漿脂質、肝臓脂質、血糖値、糞便総胆汁酸濃度

	ヒト腸内細菌投与マウス TKN4219	ヒト腸内細菌投与マウス TOK
血漿コレステロール濃度 (mg/dL)	132.3 ± 7.3	121.9 ± 4.0
血漿トリグリセリド濃度 (mg/dL)	177.3 ± 20.2	170.1 ± 17.6
血漿遊離脂肪酸濃度 (mEq/L)	3.1 ± 0.4	3.1 ± 0.3
血漿グルコース (mg/dL)	246.1 ± 19.4	254.1 ± 7.3
肝臓脂質量 (g)	0.11 ± 0.01	0.13 ± 0.01
肝臓トリグリセリド (mg)	59.8 ± 7.0	70.9 ± 12.6
肝臓コレステロール (mg)	5.6 ± 0.2	6.2 ± 0.6
糞便総胆汁酸濃度 (nmol/g糞便)	1920.9 ± 549.5	2368.8 ± 521.6

性ヒト由来腸内細菌＋ケルセチン非代謝性ヒト由来腸内細菌投与マウス TKN4219 とケルセチン非代謝性ヒト由来腸内細菌投与マウス TOK では、血漿ケルセチン濃度とケルセチンの肝臓代謝産物イソラムネチンの両方で、TOK が TKN4219 よりも有意に高い濃度を示した。

ケルセチン代謝菌だけを投与したマウスでは、ケルセチン分解が高まらなかったが、ケルセチン代謝菌と 5 種類のケルセチン非代謝性腸内細菌を投与したマウスではケルセチンの分解が高まった可能性が考えられる。ケルセチンの分解性は、ケルセチン代謝性腸内細菌単独だけでは十分に高まらず、共存するケルセチン非分解性腸内細菌の存在が重要である可能性がある。成島⁵⁾らは、*in vitro* で二次胆汁酸産生能がある腸内細菌を単独で無菌マウスに投与して作成した腸内細菌投与マウスにおいて、二次胆汁酸が生成しないことを見だしている。今回 TOK に投与したケルセチン非代謝性腸内細菌のいずれかもしくはすべての菌が、ケルセチン代謝性腸内細菌のケルセチンの代謝に寄与している可能性が考えられる。ケルセチン非代謝菌 5 株がケルセチン代謝菌のマウスの腸内でのケルセチン分解を促進し、ケルセチンの吸収量を低下させている可能性が示唆された。

内臓脂肪重量や終体重については、TKN4219 マウスと TOK マウスの間で有意な差は認められなかった。しかし、盲腸内容物については、TOK マウスが

有意な高値を示した。TKN4219 は、N4-2 菌を含んでいる。今回の試験においても N4-2 はマウスの盲腸内容物量に影響を及ぼしている可能性が考えられた。

有意差はなかったものの血漿コレステロール濃度の平均値や血漿トリグリセリド濃度の平均値については、ケルセチン非代謝菌投与の TOK マウスが低い値を示した（表 3）。ケルセチンの分解抑制効果が血漿脂質の一部に影響している可能性が考えられた。

3) ヒト型腸内菌叢マウス TOB (n=5)、K3 (n=5)、No23 (n=5)、No37 (n=5) の作製と動物試験

血漿ケルセチン濃度（図 5）は、ケルセチン代謝・分解が低いヒトの糞便を投与した No23、K3、No37 よりも、ケルセチン代謝・分解が高いヒトの糞便を投与した TOB の方が低い傾向が認められた。ケルセチンの濃度は、No23 が TOB よりも有意に高い値を示した。腸内菌叢のケルセチン代謝・分解の違いが、ケルセチンの吸収に影響を及ぼしている可能性が示唆された。しかし、ケルセチン分解性の低い 3 人のヒトの糞便を投与したマウスの間でも血漿ケルセチン濃度に差が認められ、ケルセチンの肝臓での代謝物の一つであるイソラムネチンは、No37 よりも No23 で有意に高値を示した。ヒト型腸内菌叢マウスの腸内菌叢の構成の違いが、腸内でのケルセチン代謝・分解に影響を及ぼしている可能性が考えられた。

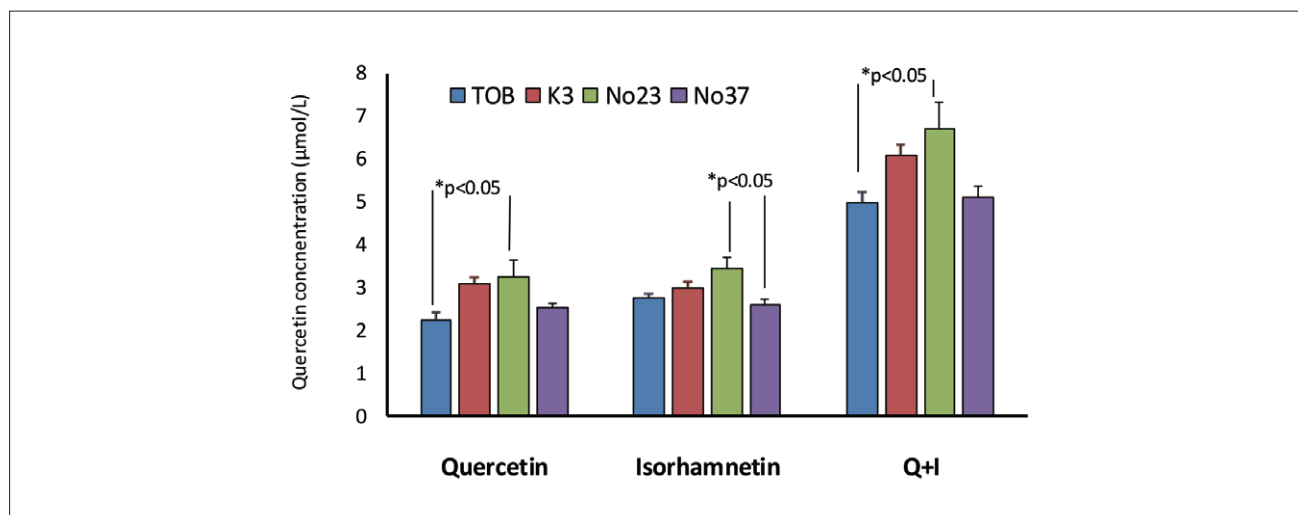


図5 ヒト型腸内菌叢マウスの血漿ケルセチン代謝物濃度

表4 ヒト型腸内菌叢マウスの血漿脂質、肝臓脂質、血糖値、糞便総胆汁酸濃度

	ヒト型腸内菌叢マウス TOB	ヒト型腸内菌叢マウス K3	ヒト型腸内菌叢マウス No23	ヒト型腸内菌叢マウス No37
血漿コレステロール濃度 (mg/dL)	152.0 ± 4.8 ^{ab*}	163.8 ± 6.1 ^{a*}	133.3 ± 5.4 ^{b*}	143.1 ± 7.7 ^{ab*}
血漿トリグリセリド濃度 (mg/dL)	170.8 ± 10.0	176.1 ± 10.7	170.8 ± 4.3	212.2 ± 51.9
血漿遊離脂肪酸濃度 (mEq/L)	2.5 ± 0.1	2.2 ± 0.06	2.5 ± 0.1	2.7 ± 0.4
血漿グルコース (mg/dL)	237.7 ± 5.3 ^{a*}	303.9 ± 15.9 ^{b*}	234.0 ± 10.8 ^{a*}	267.1 ± 15.3 ^{ab*}
肝臓脂質量 (g)	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.12 ± 0.01
肝臓トリグリセリド (mg)	53.8 ± 7.9	62.7 ± 0.8	51.2 ± 7.2	66.3 ± 10.0
肝臓コレステロール (mg)	7.0 ± 2.9	6.1 ± 1.0	5.6 ± 0.9	6.0 ± 0.5
糞便総胆汁酸濃度 (nmol/g糞便)	2482.8 ± 265.4 ^{ab*}	1616.9 ± 253.9 ^{a*}	2922.6 ± 692.8 ^{ab*}	5124.7 ± 887.4 ^{b*}

* 異なるアルファベット間で有意差あり P<0.05

盲腸内容物は、No23 マウスが有意な高値を示した。腸内菌叢の違いがマウスの消化管内容物の消化管通過速度に影響している可能性がある。

血漿グルコース濃度(表4)は、K3 群マウスがヒト型腸内菌叢マウス TOB 群や No 23 群よりも有意に高値を示した。血漿コレステロール濃度(表4)も、K3 群が No 23 群よりも有意に高値を示した。血漿トリグリセリド濃度は、4 群間で有意な差は認められなかった。肝臓脂質量(表4)に関しては、4 群の間で有意な差は認められなかった。しかし、肝臓脂質量平均値は、No 23 が最も低い値であった。肝臓コレステロール含有量(表4)、肝臓トリグリセリド含有量(表4)については、4 群間で有意な差は認められなかった。

糞便 1g 当たりの胆汁酸量(表4)については、No37 群が K3 群よりも有意に高値を示した。胆汁酸代謝には腸内菌叢が関与していることが知られている⁶⁾。これらのことから、腸内菌叢が胆汁酸を代謝して再吸収させない代謝物に変換することも考えられる。ヒト型腸内菌叢マウスに対する餌の種類はすべて同じであったため、No37 群の胆汁酸量が K3 群よりも有意に高値を示したことは、腸内菌叢の胆汁酸代謝の違いが関係していると考えられる。腸内菌叢が胆汁酸から産生する二次胆汁酸が発癌と関連する可能性が示唆されている⁷⁾。ヒト型腸内菌叢 No37 群の二次胆汁酸解析も今後は必要となるだろう。

ヒト型腸内菌叢マウス 4 群において、血漿ケルセ

表5 ヒト型腸内菌叢マウスの血漿ケルセチン代謝物濃度と生体成分との相関関係

	血漿ケルセチン代謝物濃度との相関関係（相関係数）			
	TOB 群	K3 群	23 群	37 群
血漿コレステロール	0.753	0.175	0.815	-0.8
血漿トリグリセリド	0.926	-0.911	0.361	-0.75
血漿グルコース	-0.139	0.569	-0.0134	-0.431
肝臓脂質	0.653	0.308	-0.32	-0.52
体重当たりの内臓脂肪量	0.6	-0.00408	-0.534	-0.807

チン代謝物濃度（ケルセチン代謝物＋イソラムネチン代謝物濃度）と血漿コレステロール濃度、血漿トリグリセリド濃度、血漿グルコース濃度、肝臓脂質重量、体重当たりの内臓脂肪重量について相関解析を行ったところ（表5）、TOB 群では、血漿グルコース濃度以外は正の相関を有していた。また、K3 群では、血漿トリグリセリドと強い負の相関を有していた。23 群は血漿コレステロール濃度、血漿トリグリセリド濃度とのみ正の相関を有していた。ところが、37 群は、調べたすべての項目と負の相関を有していた。37 群は、血漿ケルセチン代謝物濃度が、血漿コレステロール、血漿トリグリセリド濃度、血漿グルコース濃度、肝臓脂質重量、体重当たりの内臓脂肪重量と負の相関を有していたことから、血漿ケルセチン代謝物濃度が糖代謝や脂質代謝に強く影響していると推察される。今回ヒト型腸内菌叢マウス4群に与えた餌はすべて同じであったことから、37 群の腸内細菌叢がケルセチンの糖代謝や脂質代謝に及ぼす効果に、より強く関与している可能性が示唆される。一方、23 群は、調べたヒト型腸内菌叢マウスの中では最も血漿ケルセチン濃度が高く、血漿トリグリセリド濃度、血漿コレステロール濃度、血漿グルコース濃度の平均値は最も低い結果となった。これらの結果に対して、血漿ケルセチンが関与している可能性が考えられるが、23 群では血漿トリグリセリド濃度、血漿コレステロール濃度、血漿グルコース濃度と血漿ケルセチン濃度の間には、有意な負の相関は認められなかった。これらのことから、23 群の血漿トリグリセリド濃度、血漿コレステロール濃度、血漿グルコース濃度が低値である理

由は、ケルセチンの効果だけでなく、腸内菌叢の代謝産物を介する直接的もしくは間接的な宿主に及ぼす影響、腸内菌叢自体の消化管を介する宿主への代謝調節等の可能性が考えられる。いずれにせよ、血漿ケルセチン代謝物濃度と脂質代謝成分や糖代謝成分との間の相関性の違いが腸内菌叢の違いで生じたことは、ケルセチン代謝における腸内菌叢の重要性だけでなく、腸内菌叢が宿主の代謝調節に関与する可能性を示唆するものである。そのため、今後は、腸内菌叢の違いと脂質代謝や糖代謝に及ぼす影響をさらに検討するとともに、機能成分に対する個々人の腸内菌叢の代謝タイプを考慮して、各人が最も効率的に機能成分の効果を得られるような食事条件を、個々人の腸内菌叢に合わせて考えていく必要がある。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、研究助成を賜りました公益財団法人 浦上食品・食文化振興財団およびご関係者様に深く感謝いたします。

参考文献

- 1) Kobori M, Masumoto S, Akimoto Y, Oike H. Chronic dietary intake of quercetin alleviates hepatic fat accumulation associated with consumption of a Western-style diet in C57/BL6J mice. *Mol Nutr Food Res* (2011) 55:530-540.
- 2) Kobori M, Masumoto S, Akimoto Y, Takahashi Y. Dietary quercetin alleviates diabetic symptoms and reduces streptozotocin-induced disturbance of hepatic gene expression in mice. *Mol Nutr Food Res* (2009) 53:859-868.
- 3) Knekt P, Kumpulainen J, Järvinen R, Rissanen H, Heliövaara M, Reunanen A, Hakulinen T, Aromaa A. Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *Am J Clin Nutr* (2002) 76:560-568.
- 4) Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* (2006) 444:1027-1031.
- 5) Narushima S, Itoh K, Takamine F, Uchida K. Absence of cecal secondary bile acids in gnotobiotic mice associated with two human intestinal bacteria with the ability to dehydroxylate bile acids in vitro. *Microbiol Immunol* (1999) 43:893-897.
- 6) Ridlon JM, Kang DJ, Hylemon PB. Bile salt biotransformations by human intestinal bacteria. *J Lipid Res* (2006) 47:241-259.
- 7) Bayerdörffer E, Mannes GA, Ochsenkühn T, Dirschedl P, Paumgartner G. Variation of serum bile acids in patients with colorectal adenomas during a one-year follow-up. *Digestion* (1994) 55:121-129.

Elucidation of the functionality of microbiota to obtain basic information for tailor-made foods

Motoi TAMURA¹⁾, Chigusa HOSHI¹⁾, Sachiko HORI¹⁾, and Kazuhiro HIRAYAMA²⁾

¹⁾ *Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization*

²⁾ *Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo*

Abstract

Substantial attention has recently been focused on the beneficial effects of quercetin. In this study, we produced gnotobiotic mice by administering quercetin-metabolizing bacteria, quercetin-metabolizing bacteria plus quercetin nonmetabolic bacteria, and quercetin nonmetabolic bacteria to germ-free mice. We then estimated the effects of dietary quercetin on these gnotobiotic mice. Next, we produced human flora-associated mice by administering four types of human feces. We then estimated the effects of dietary quercetin on the resulting human flora-associated mice.

Plasma quercetin concentrations tended to be high in the gnotobiotic mice administered quercetin metabolizing bacterium 19-20 plus N 4-2, compared with other gnotobiotic mice and germfree mice. Quercetin metabolic activity might not be high in gnotobiotic mice associated with one or two quercetin-metabolizing bacteria.

Plasma quercetin concentrations were significantly higher in gnotobiotic mice administered with five types of quercetin nonmetabolic bacteria (TOK group), than those with quercetin-metabolizing bacteria (19-20 plus N 4-2) plus five types of quercetin nonmetabolic bacteria (TKN4219 group). In the TKN4219 group, quercetin nonmetabolic bacteria promoted quercetin degradation by the quercetin-metabolizing bacteria in the gut, which may result in a reduction of quercetin absorption from the gut.

Plasma quercetin concentrations tended to be high in human flora-associated mice (No 23, K3, No 37 group) than in human flora-associated mice (TOB group). The different metabolic activities of microbiota against quercetin might affect the bioavailability of dietary quercetin.

We performed a correlative analysis between plasma quercetin metabolite concentrations and biological components (plasma cholesterol, plasma triglycerides, plasma glucose, liver lipids, and visceral fat per body weight). Different correlations between plasma quercetin metabolite concentrations and the biological components (plasma cholesterol, plasma triglycerides, plasma glucose, liver lipids, and visceral fat per body weight) were observed among human flora-associated mice hosting different microbiota.

These results suggest that intestinal microbiota affect not only quercetin metabolism, but also quercetin efficacy against the host.