

マウス腸内フローラから観察した健康食品の機能性

～マヌカハニーと食物繊維で腸内フローラを整える～



実施担当者 山村学園 山村国際高等学校
教諭 中西 貴裕 天野 誉

1 はじめに

山村国際高等学校生物部の研究は、微生物（真正菌類）を対象としている。ここ数年は天然の抗菌力を持つ食品を対象に抗菌効果を検証^{1)～3)}してきた。

その中でも特にマヌカハニー（抗菌生蜂蜜：以下、M・Hとする）は、生物部員が修学旅行先のニュージーランドのホストファミリーから、先住民族のマオリ族の人々に言い伝えられている「風邪には、M・Hをひと舐め」の習慣があると聞き、抗菌力を備えた健康食品の一つであると理解した。

そこで2014年、このM・Hの抗菌効果を、食中毒原因菌をマーカーとして検証し高い抗菌力を報告⁴⁾した。しかも抗菌力の源は、マヌカの花蜜だけに含まれる先駆物質が「メチルグリオキサール（以下、MGとする）」とよばれる抗菌活性成分に変性し産生されると知った⁴⁾。

さらに2015年、消費者庁の保健機能食品の制度改変を契機に、高い抗菌力を備えているM・Hならば、腸内フローラを構成する善玉菌（乳酸桿菌）と悪玉菌（クロストリジウム等）とのバランス改善（善玉菌の優勢）に役立つ機能性食品になるのではと考え、マウス腸内フローラから検証を行った。検証の結果、M・H900+（MG含有量900mg/kg）は、ヒトの体重60Kgあたり1日の摂取量に換算して10gであれば、腸内フローラのバランス改善（善玉菌の優勢）を図り、プロバイオティクスの乳酸菌飲料より優れた機能性表示食品に値すると報告^{5,6)}した。

そして2016年、今度は腸内フローラのバランス改善を図る高価なM・H900+では無く、M・H250+（MG含有量250mg/kg）⁷⁾でも、プレバイオティクスのオリゴ糖を添加すれば高価なM・H900+とほぼ同等な機能性の発揮はもちろんのこと、人工甘味料の摂取により乱れた腸内フローラのバランスを改善すると報告した⁸⁾。

そこで今回の研究は、さらに安価な健康食品であるM・H100+（MG含有量100mg/kg）とサポート食材として食物繊維の同時摂取により、M・H100+が悪玉菌を駆逐し、食物繊維が腸内フローラの餌となれば善玉菌（乳酸桿菌の中でも菌質に着目し、ビフィズス菌の増加を目指した）の増加につながるのではと考え（仮説）、高いお金を払うことなくセルフケア（体調の維持増進）に適した健康食品の機能性を検証した。

2 材料および方法

2-1 マヌカハニーとサポート食材

M・Hは、ニュージーランドのマヌカヘルス社⁷⁾の一番安価な100+を使用した(図1)。

M・Hの投与(摂取)量は、前回の報告^{5, 6)}において腸内フローラのバランス改善を図った、ヒトの体重60kgあたり1日の摂取量10gに換算して投与した。併せて腸内フローラの善玉菌の増加に影響するプロバイオティクスのサポート食材である食物繊維(水溶性デキストリン・不溶性セルロース・きな粉)は、これもヒトの体重60kgあたり1日の摂取量6~10gに換算して投与した(表1)。

マウスへの投与(摂取)は、ニードルとシリンジを用いて強制的に1日1回経口投与した。なお投与は2週間連続して行い、水(水道水)と餌(CE-2:日本クレア)⁹⁾は自由に摂取させた。



図1 M・H100+

表1 実験区①~⑦におけるマウス投与(摂取)量(ヒト60kg換算値)

実験区	① M・H100+	② M・H250+	③セルロース	④デキストリン	⑤M・H100+ デキストリン	⑥きな粉	⑦M・H100+ きな粉
マウス投与量	3.5mg/0.1mL	3.5mg/0.1mL	3.5mg/0.1mL	2.1mg/0.1mL	5.6mg/0.1mL	3.5mg/0.1mL	7.0mg/0.1mL
ヒト60kg 1日摂取量 換算	10g相当	10g相当	10g相当 (不溶性 食物繊維)	6g相当 (水溶性 食物繊維)	(10+6)g相当	10g相当 (不溶性 食物繊維)	(10+10)g相当

2-2 試験マウスおよび飼育法

試験マウスは、東京実験動物¹⁰⁾から購入した7週令のC57BL/6J(♂)を24匹使用し、実験には3匹を1区とした(図3)。またマウス腸内フローラの観察には、解剖では無く脱糞した糞便を使用した。しかも腸内フローラを構成する菌種は嫌気性菌であり、脱糞した糞便への酸素の暴露は多くの菌種を死滅させる。そこで糞便分離チューブを有するマウス代謝ケージ(テクニプラスト・ジャパン)¹¹⁾を検証に使用した(図4)。また照明は、生物室内で飼育したため自然照明で、室温は24±3℃であった。

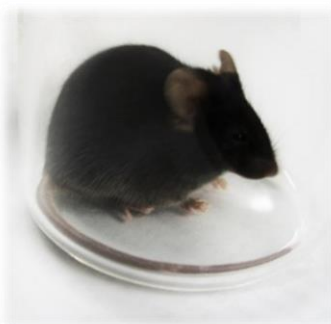


図3 C57BL/6J

2-3 マウス腸内フローラの解析

マウス腸内フローラの解析には、代謝ケージの糞便分離チューブから回収した糞を-40℃に冷凍して分子生物学的手法であるT-RFLP(16SrRNA)系統解析により検証を行った(テクノスルガ・ラボ委託)¹²⁾。



図4 マウス代謝ケージ

3 結果および考察

【実験区①】安価なM・H100+の摂取である。腸内フローラのプロファイルからは善玉菌率は低下し、健康食品としての機能性は低いと考察した（図5）。

【実験区②】高価なM・H250+の摂取である。腸内フローラのプロファイルから非常に高い善玉菌率が観察できた（58.0%）。さらに抗菌活性成分のMG含有量も高く（100+の約2.5倍）、健康食品としての機能性は高いと考察した（図5）。

【実験区③】不溶性食物繊維のセルロースの摂取である。不溶性食物繊維は腸内フローラの改善よりも水分を吸収して膨張し、これが腸壁を刺激して便通を促すと言われるように、腸内フローラのプロファイルからは善玉菌の特徴的な菌種は観察できなかった（図5）。

【実験区④】水溶性食物繊維のデキストリンの摂取である。これは腸内フローラの善玉菌の餌になると言われるように、腸内フローラのプロファイルからは善玉菌の中でもビフィズス菌が初めて観察できた。水溶性食物繊維のデキストリンの摂取は、腸内フローラの改善に良い結果をもたらすと考察した（図5）。

【実験区⑤】安価なM・H100+と実験区④で使用したデキストリンの摂取である。腸内フローラの善玉菌である乳酸桿菌の増加（58.8%）はもちろんのこと、さらに菌質の向上を求めたビフィズス菌の増加（1.4%）も観察できた。しかも、高価なM・Hと同等の以上の善玉菌の増加と悪玉菌の減少も伴った。これはヒトにおいても、安価なM・H100+と水溶性食物繊維の同時摂取は、腸内フローラのバランス改善を図りセルフケアに機能すると考察した。

【実験区⑥】食物繊維のきな粉の摂取である。善玉菌の乳酸桿菌は観察できたが、その他の菌種による腸内フローラが観察された（図5）。

【実験区⑦】安価なM・H100+と実験区⑥の食物繊維のきな粉である。善玉菌率は低下（15.1%）し日和見菌が増加してバランスを欠いたが、ビフィズス菌は観察（1.2%）できた（図5）。

以上の結果から、安価なM・Hとプレバイオティクスの水溶性食物繊維の同時摂取は腸内フローラのバランス改善に機能し、セルフケア（体調の維持増進）に適した健康食品であると考察した。

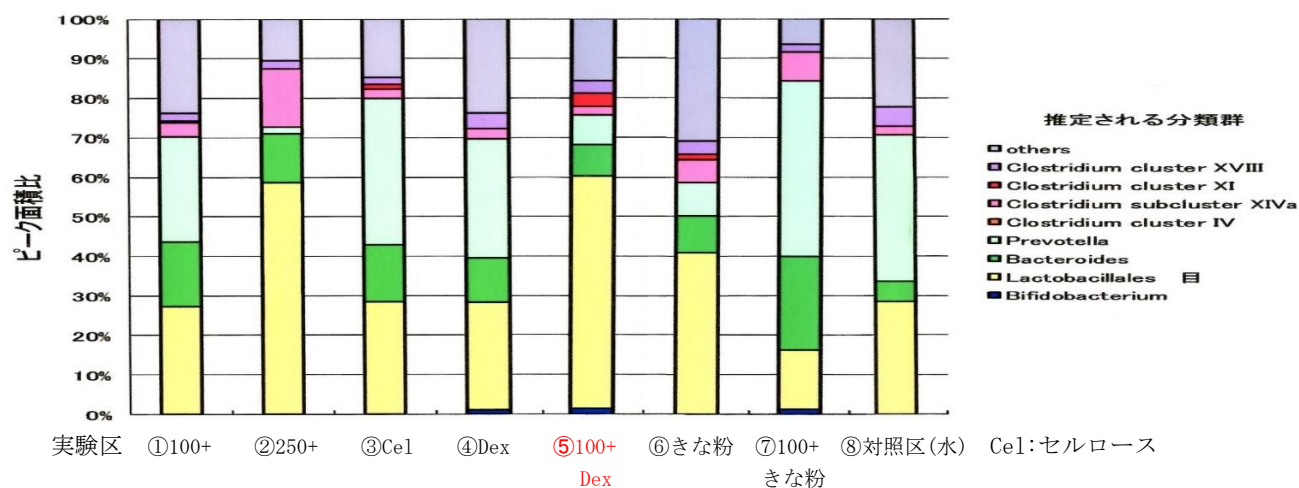


図5 T-RFLPによるマウス腸内フローラのプロファイル (n=3)

紺色・黄色=善玉菌 緑色・鶯色=日和見菌 赤紫色・赤色・紫色=悪玉菌

4 まとめ

マウス腸内フローラの解析から、ヒトにおいてもMG含有量が多い高価なM・H250+ではなく、この含有量が少ない安価なM・H100+でもプレバイオティクスの水溶性食物繊維のデキストリンとの同時摂取により、善玉菌（乳酸桿菌+ビフィズス菌）の増加と悪玉菌の減少という腸内フローラのバランス改善に期待できる。これは人々の健康寿命が延びるなか、高価なM・Hに高い金額を支払うことなく、安価なM・Hでもセルフケア(体調の維持増進)に適した健康食品となる。

ヒトと同じ哺乳動物であるマウスを使用した研究には意義があると考えます。今後は腸内フローラをリセットした状態から、M・Hと食物繊維を組み合わせた健康食品の機能性を生物部員と共に追求していきたい。

謝 辞

本研究は、公益財団法人 中谷医工計測技術振興財団の「平成 29 年度 科学教育振興助成」に採択され支援を受けております。この場をお借りして感謝を申し上げます。

参考文献

- 1) 「ペーパーディスク法を使用した天然防腐剤の抗菌効果の測定」
第4回坊っちゃん科学賞（東京理科大学理窓会） 山村国際高等学校 生物部（2012）
- 2) 「ソックスレー法を使用した天然防腐剤の抗菌成分量の比較」
第5回坊っちゃん科学賞（東京理科大学理窓会） 山村国際高等学校 生物部（2013）
- 3) 「ペーパーディスクを使用した香辛料の抗菌効果の測定」
第12回 全国高校生理科・科学論文大賞（神奈川大学） 山村国際高等学校 生物部（2014）
- 4) 「天然食品の食中毒菌に対する抗菌効果の測定」
第13回 全国高校生理科・科学論文大賞（神奈川大学） 山村国際高等学校 生物部（2015）
- 5) 「マヌカハニー（抗菌生蜂蜜）の抗菌効果のすごさ」
第14回 全国高校生理科・科学論文大賞（神奈川大学） 山村国際高等学校 生物部（2016）
- 6) 「マヌカハニーのマウス腸内フローラにおよぼす影響」
日本農芸化学会（札幌大会）ジュニア農芸化学会 2016 高校生による研究発表会（金賞受賞）
山村国際高等学校 生物部（2016）
- 7) Manuka Health New Zealand Ltd : manukahealth.co.nz
- 8) 「マウス腸内フローラから観察したマヌカハニーの機能性」
第6回 高校生バイオサミット in 鶴岡（農林水産大臣賞受賞）
山村国際高等学校 生物部（2016）
- 9) 日本クレア : clea-japan.com
- 10) 東京実験動物 : kwl-a.co.jp
- 11) テクニプラスト・ジャパン : tecniplastjapan.co.jp
- 12) テクノスルガ・ラボ : tecsrslab.jp
- 13) 「常在細菌叢が操るヒトの健康と疾患」実験医学 32 (5) (2014)
- 14) 「目に見えないヒト常在細菌叢のネットワークをのぞく」宇宙航空環境医学 49(3) (2012)