

カキ肉エキスの給餌がマウスの糞中細菌叢および短鎖脂肪酸組成に及ぼす影響

中村 潤平¹⁾, 池田 祐生¹⁾, 細見 亮太^{†, 1)}, 石田 達也²⁾,
松井 博之²⁾, 松田 芳和²⁾, 下埜 敬紀³⁾, 神田 靖士³⁾,
西山 利正³⁾, 吉田 宗弘¹⁾, 福永 健治¹⁾

(¹⁾関西大学化学生命工学部栄養化学・食品化学研究室*, (²⁾日本クリニック株式会社中央研究所**,

(³⁾関西医科大学医学部衛生・公衆衛生学講座***)

(受付 2019年8月28日, 受理 2019年10月11日)

Effects of Dietary Oyster-Extract on the Composition of the Microbiota and Short-Chain Fatty Acids in the Feces of Mice

Junpei NAKAMURA¹⁾, Yuki IKEDA¹⁾, Ryota HOSOMI¹⁾, Tatsuya ISHIDA²⁾, Hiroyuki MATSUI²⁾,
Yoshikazu MATSUDA²⁾, Takaki SHIMONO³⁾, Seiji KANDA³⁾, Toshimasa NISHIYAMA³⁾,
Munehiro YOSHIDA¹⁾, Kenji FUKUNAGA¹⁾

¹⁾Department of Life Science and Biotechnology, Kansai University

²⁾Central Research Institute, Japan Clinic Co., Ltd.

³⁾Department of Public Health, Kansai Medical University

Summary

Oyster (*Crassostrea gigas*) extract (OE) contains many nutritional and functional components, including glycogen, taurine, and zinc. Our previous study showed that dietary OE increased the relative composition of *Lactobacillus* in cecal contents of rats. However, it was not clear whether this increase in *Lactobacillus* following the addition of dietary OE also occurs in mice. The present study demonstrated the effects of dietary OE on the composition of the microbiota and short-chain fatty acids in the feces of mice. Male C57BL/6J mice were divided into four groups and fed an AIN-93G diet (LF diet), AIN-93G modified high-fat diet (HF diet), LF diet containing 5% (w/w) OE (LFOE diet), and 5% (w/w) HF diet containing OE (HFOE diet) for 56 days. The composition of the fecal microbiota was compared between groups following high-throughput 16S rRNA gene amplicon sequencing using the Ion PGM system. The relative abundance of *Lactobacillus* in the feces of OE fed mice was significantly higher than in mice fed an OE free diet. These results suggest that dietary OE increased the relative composition of *Lactobacillus* not only in rats but also in mice.

カキ (*Crassostrea gigas*) には、亜鉛、グリコーゲン、タウリンなどの様々な栄養・機能性成分が含まれている。この栄養・機能性成分を抽出・濃縮したカキ肉エキスが健康食品の原料として用いられている。これまでにカキ肉エキス中の亜鉛の生体利用性に関する研究報告が数多くなされている¹⁻³⁾。また、カキ肉エキスの摂取による生体調節機能については、血小板凝集抑制効果⁴⁾や肝臓保護効果⁵⁾が報告されている。また、われわれの研究グループも、薬物により惹起した大腸前癌病変⁶⁾と腎障害⁷⁾モデル動物

に対するカキ肉エキス摂取の有益な効果を報告している。

近年、宿主の健康と腸内細菌叢の密接な関係が次々に明らかにされてきている。ヒトの消化管には10¹³個以上もの多種多様な細菌が在住しており、複雑な微生物生態系を形成している。これまで、腸内に存在する多くの嫌気性細菌は培養することができなかったために、大半が機能未知であった。しかし、ゲノム分析技術の発展によって、16S リボソーム RNA (rRNA) 系統解析やメタゲノム解析が可能になったことで、著しい腸内細菌研究の進展が見られ

*所在地：大阪府吹田市山手町3-3-35 (〒564-8680)

**所在地：京都市北区大將軍西町1 (〒603-8331)

***所在地：大阪府枚方市新町2-5-1 (〒573-1010)

†連絡先 (Corresponding Author), Tel: 06-6368-1765, E-mail: hryotan@kansai-u.ac.jp

るようになった。腸内細菌の多様性の減少や偏った菌種の異常な増加による腸内細菌叢の乱れ (dysbiosis) は、腸管免疫を起点とする恒常性維持システムに異常を起し、疾患の原因となる⁸⁾。例えば、偏った食事や栄養は、腸内細菌叢の変化を介して宿主の健康状態に影響を及ぼしている。これまでに、高脂肪摂取によって、マウスの Firmicutes 門の増加および Bacteroidetes 門の減少とともに、腸内細菌叢の多様性が失われることが報告されている⁹⁾。これまでに私たちは、カキ肉エキスの摂取には盲腸内 *Lactobacillus* 属の構成比率を増加させることを、高脂肪餌料を与えたラット試験によって観察している¹⁰⁾。そこで本研究では、カキ肉エキスの給餌による *Lactobacillus* 属の構成比率の増加が、ラット以外の種、または低脂肪餌料の給餌においても同様に起きる現象であるのか明らかにすることを目的とし、カキ肉エキスを添加した2種の餌料 (低脂肪および高脂肪) 餌料をマウスに給餌し、糞中細菌叢およびその代謝物である短鎖脂肪酸組成に及ぼす影響を評価した。

実験方法

1. 餌料調製

カキ肉エキスは、日本クリニック株式会社 (京都) より供与された。カキ肉エキスの一般成分組成は、炭水化物

61.0 g/100 g, 粗タンパク質 28.1 g/100 g, 粗脂肪 2.0 g/100 g, 水分 3.9 g/100 g, 灰分 15.4 g/100 g であった。また、カキ肉エキスには NaCl が 8.24 g/100 g 含まれていた。餌料は、AIN-93G 組成¹¹⁾ の NaCl 量を改変した低脂肪餌料 (LF, 大豆油 7%, w/w) と、この LF 餌料を 20% 高脂肪 (大豆油 7% + ラード 13%, w/w) に改変した高脂肪餌料 (HF) を調製した。さらに、LF および HF 餌料に 5% (w/w) カキ肉エキスを添加し、糖質、タンパク質、脂肪および NaCl 量が LF または HF 群と同等になるように LFOE および HFOE 餌料を調製した。各餌料の組成を、Table 1 に示した。

2. 動物実験

本実験は関西大学動物実験委員会の承認を受けて実施した (承認番号: 1819)。実験動物には4週齢雄性 C57BL/6J マウス (日本エスエルシー株式会社, 静岡) を用い、24 匹を 6 匹ずつ平均体重が同等になるように 4 群に分けた。マウスは室温 22°C ± 1°C, 明暗 12 時間サイクル (8:00 ~ 20:00) の条件下で飼育した。実験餌料および水は自由摂取とし、56 日間飼育した。飼育期間終了後、イソフルラン (共立製薬株式会社, 東京) による深麻酔下で下大静脈より採血し、肝臓、盲腸および白色脂肪組織 (WAT) を採取した。血清は、血液を 2,000 × g, 15 分間遠心分離して得た。肝臓および盲腸は液体窒素にて急速凍

Table 1 Composition of experimental diets

	LF	LFOE	HF	HFOE
Dextrinized corn starch	132	132	92.1	92.1
Corn starch	397.486	366.486	277.386	246.386
Sucrose	98.47	100	98.47	100
Cellulose	50	50	50	50
Casein	200	182.3	230	212.3
L-Cystine	3	3	3	3
Choline bitartrate	2.5	2.5	2.5	2.5
AIN-93G mineral mixture	35	-	35	-
NaCl-free AIN-93G mineral mixture	-	35	-	35
AIN-93 vitamin mixture	10	10	10	10
Soybean oil	70	68.7	70	68.7
Lard	-	-	130	130
Oyster-extract	-	50	-	50
NaCl	1.53	-	1.53	-
<i>tert</i> -Butylhydroquinone	0.014	0.014	0.014	0.014

[†]Oyster-extract was provided by Japan Clinic Co., Ltd. (Kyoto, Japan). The composition of oyster-extract was as follows (% w/w): carbohydrate, 49.1; protein, 28.1; fat, 2.0; moisture, 3.9; ash, 15.4; NaCl, 8.24.

AIN, American Institute of Nutrition; HF, high-fat; HFOE, high-fat diet containing oyster-extract; LF, low-fat; LFOE, low-fat diet containing oyster-extract.

結し、 -80°C で保管した。また、解剖前日の1日分の糞を採取し、臓器と同様の方法で凍結・保管した。

3. 16S リボソーム RNA アンプリコンシーケンス

各個体の1日分の糞から、QIAamp DNA Stool Mini Kit (Qiagen, Venlo, Netherlands) を用いて Total DNA を抽出した。抽出した Total DNA から細菌の同定を行うために、16S rRNA 遺伝子の V2-4-8, V3-6 および V7-9 領域を、Ion 16S Metagenomics Kit (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA) を用いて PCR 法により増幅させた。PCR 産物は AMPure XP ビーズ (Beckman Coulter, California, USA) を用いて精製した。精製した PCR 産物は、Ion Plus Fragment Library kit および Ion Xpress Barcode Adaptors 1-16 kit (ともに Thermo Fisher Scientific) を用いて、Ion PGM system での解析に必要なアダプター配列および個体識別のためのバーコード配列を付加させ、DNA ライブラリを作製した。再び AMPure XP ビーズを用いて DNA ライブラリを精製し、次いで各 DNA ライブラリ濃度をバイオアナライザー (Agilent 2100: Agilent Technologies, California, USA) により定量した。各 DNA ライブラリを 10 pM に希釈し、エマルジョン PCR およびエンリッチメント処理をそれぞれ Ion OneTouch 2 と Ion OneTouch ES systems (ともに Thermo Fisher Scientific) で行った。調製した 16S rRNA 遺伝子フラグメントライブラリのシーケンス解析には、Ion PGM System, Ion PGM 400 sequencing reagents, Ion 318 v2 chips および Torrent Suit Software ver.5.6 (すべて Thermo Fisher Scientific) を用いた。

得られた配列データは、MicroSEQ 16S Reference Library v2013.1 (Thermo Fisher Scientific) と Greengenes v13.5 (The Greengenes Database Consortium, <http://greengenes.secondgenome.com/>) を参照配列とする Ion Reporter Software 16S Metagenomics Workflow ver.5.10 (Thermo Fisher Scientific) を用いて解析した。Ion Reporter Software によって、各サンプルの門および属の分類階級で同定された細菌とそのリード数のデータを得た。得られたリード数を用いて、各分類階級での細菌の構成比率を求めた。

レアファクション解析 (chao1 推定量および simpson 指数) は、QIIME を用いた Ion Reporter Software 16S Metagenomics Workflow ver.5.10 により求めた。また、各群の門および属レベルの構成比率をもとに、 R^{12} を用いて階層的クラスタリングを行った。さらに、Linear discriminant analysis effect size (LEfSe) 分析 (<http://huttenhower.sph.harvard.edu/galaxy/>)¹³⁾ を行って、各群の腸内細菌叢のバイオマーカーを調べた。

4. 盲腸内容物の pH および糞中短鎖脂肪酸組成

盲腸内容物を蒸留水に懸濁し、pH メーター (F-21, 株式会社堀場製作所, 京都) を用いて pH を測定した。糞中

短鎖脂肪酸 (SCFA) 組成は、2-エチル酪酸を内部標準として、ガスクロマトグラフ (GC) を用いて分析した¹⁴⁾。凍結乾燥した糞をミルで粉末化し、蒸留水を加え、十分にボルテックスした。次に、2-エチル酪酸、塩酸およびジエチルエーテルをそれぞれ添加し、攪拌した。その後、遠心分離 (10分, 16,000 rpm, 4°C) し、上清を回収し、ナイロンフィルター ($0.45\ \mu\text{m}$) でろ過した。NukolTM キャピラリーカラム ($30\ \text{m} \times 0.25\ \text{mm i.d.} \times 0.25\ \mu\text{m d.f.}$, Merck KGaA, Darmstadt, Germany) を備えた水素炎イオン化検出器 GC (GC-2014, 株式会社島津製作所, 京都) を用いて SCFA を分析した。カラムオープン温度プログラムは、初期温度は 40°C に設定し、その後、 180°C に達するまで温度を $20^{\circ}\text{C}/\text{分}$ 上昇させ、 180°C で 15 分間放置した。キャリアガスはヘリウムで $1\ \text{mL}/\text{分}$ の流量とした。各 SCFA 成分は Volatile Free Acid Mix certified reference material (Merck KGaA) を用いて同定した。

5. 統計処理

得られた測定値は平均値 \pm 標準誤差で示した。餌料中脂肪濃度および餌料中のカキ肉エキスの有無を因子として二元配置分散分析を行った。有意水準は $P < 0.05$ とし、 $0.05 \leq P < 0.15$ の場合は傾向があるとした。二元配置分散分析において、相互作用に有意差が認められた場合は、Tukey's multiple comparisons test による多群間比較を行った。統計解析は GraphPad Prism ver. 7.0d (GraphPad Software, California, USA) を用いて行った。

結果と考察

Table 2 に成長パラメーターおよび解剖時臓器重量を示した。終体重および体重増加量において、餌料中脂肪濃度が影響する傾向がみられた (それぞれ $P = 0.135$ および $P = 0.104$)。餌料摂取量は、餌料中脂肪濃度の影響がみられた。体重増加量を餌料摂取量で除して算出した餌料効率は、餌料中脂肪濃度の影響が認められた。初体重は、各群間で有意差は見られなかった。一方、解剖時臓器重量において、肝臓重量は餌料中脂肪濃度およびカキ肉エキスの影響が認められた。精巣上体周囲 WAT 重量では、餌料中脂肪濃度の影響が認められた。また、腎臓周囲 WAT 重量では、餌料中脂肪濃度が影響する傾向がみられた ($P = 0.057$)。腸間膜 WAT および鼠径部 WAT 重量には、各群間で有意な変化は見られなかった。本実験で用いた C57BL/6J マウスに長期的に高脂肪餌料を給餌すると、低脂肪餌料と比較して、体重が増加し、肥満が誘導されることが知られている¹⁵⁾。本実験において、高脂肪餌料給餌群は、精巣上体周囲 WAT 重量の有意な増加、および終体重と腎臓周囲 WAT 重量の増加傾向がみられたことから、若干肥満が誘導された状態であると判断した。また、カキ肉エキスの給餌によって、体重 $100\ \text{g}$ あたりの肝臓重量の有意な増大がみられた ($P = 0.006$)。ラットにカキ肉エキ

スを給餌した前報¹⁰⁾においても同様に、肝臓重量が増大する傾向がみられたが、重量増加に関連すると考えられる肝臓総脂質濃度には影響はみられなかった。今後、カキ肉エキスの給餌による齧歯類の肝臓重量増大の原因を明らかにする必要がある。

糞より Total DNA を抽出し、これを鋳型に 16S rRNA 遺伝子の超可変領域を PCR で増幅させ、Ion PGM System でシーケンスした。その結果、各個体の試料から 457,437 ± 33,647 リードの配列データが得られ、低品質のデータを除いた 349,163 ± 25,547 リードの配列データを解析に用いた。また、各群の平均リード数には有意差はなかった。Fig. 1 に属レベルの Chao1 推定量および Simpson

指数のレアファクション解析結果を示した。両指数において、各群間で有意な変化は見られなかった。そのため、餌料中脂肪濃度およびカキ肉エキスは、腸内細菌叢の多様性には影響を与えなかったと考えられる。さらに、両指数ともに 3 万リードまでで飽和に達し、実質的に十分なリード数が解析に供されたと考えられる。Fig. 2 に門 (A) および属 (B) レベルの分類階級別の細菌叢の構成比率と階層的クラスタリングを示した。門および属ともに、LF 群において構成比率の高いものから示し、構成比率 0.5% 未満の細菌は Others にまとめた。門レベルの構成比率を見ると、Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria および Proteobacteria 門で 98% が構成されていた。クラスタリ

Table 2 Growth parameters and organ weights

	Groups				Two-way ANOVA (P value)		
	LF	LFOE	HF	HFOE	Diet	OE	Diet x OE
Growth parameters							
Initial body weight (g)	15.3 ± 0.4	15.3 ± 0.3	15.3 ± 0.5	15.3 ± 0.3	0.961	0.961	0.987
Final body weight (g)	28.9 ± 0.8	28.6 ± 0.8	30.1 ± 0.4	30.0 ± 1.1	0.135	0.788	0.929
Body weight gain (g/day)	0.24 ± 0.01	0.23 ± 0.01	0.26 ± 0.01	0.26 ± 0.02	0.104	0.791	0.917
Food intake (g/day)	3.00 ± 0.06	2.94 ± 0.06	2.86 ± 0.10	2.72 ± 0.08	0.030	0.211	0.630
Food efficiency (g/kcal) [†]	0.080 ± 0.004	0.079 ± 0.003	0.091 ± 0.003	0.094 ± 0.005	0.002	0.718	0.617
Organ weights (g/100g BW)							
Liver	4.25 ± 0.10	4.56 ± 0.14	3.73 ± 0.17	4.16 ± 0.04	0.001	0.006	0.611
Epididymal WAT	2.55 ± 0.23	2.76 ± 0.23	3.59 ± 0.20	3.52 ± 0.37	0.002	0.796	0.607
Perirenal and retroperitoneal WAT	1.08 ± 0.13	1.14 ± 0.14	1.47 ± 0.10	1.28 ± 0.15	0.057	0.648	0.366
Mesentery WAT	1.82 ± 0.09	1.80 ± 0.09	1.88 ± 0.12	1.95 ± 0.15	0.348	0.828	0.696
Inguinal WAT	0.82 ± 0.08	0.85 ± 0.17	1.07 ± 0.10	0.74 ± 0.12	0.535	0.233	0.152

Data represent means ± SEM. Values in the same row not sharing a common superscript are significantly different at $p < 0.05$ using Tukey's multiple comparison test.

[†] Food efficiency (g/g) = BW gain (g/day) / food intake (g/day).

ANOVA, analysis of variance; BW, body weight; HF, high-fat; HFOE, high-fat diet containing oyster-extract; LF, low-fat; LFOE, low-fat diet containing oyster-extract; OE, oyster-extract, WAT, white adipose tissue.

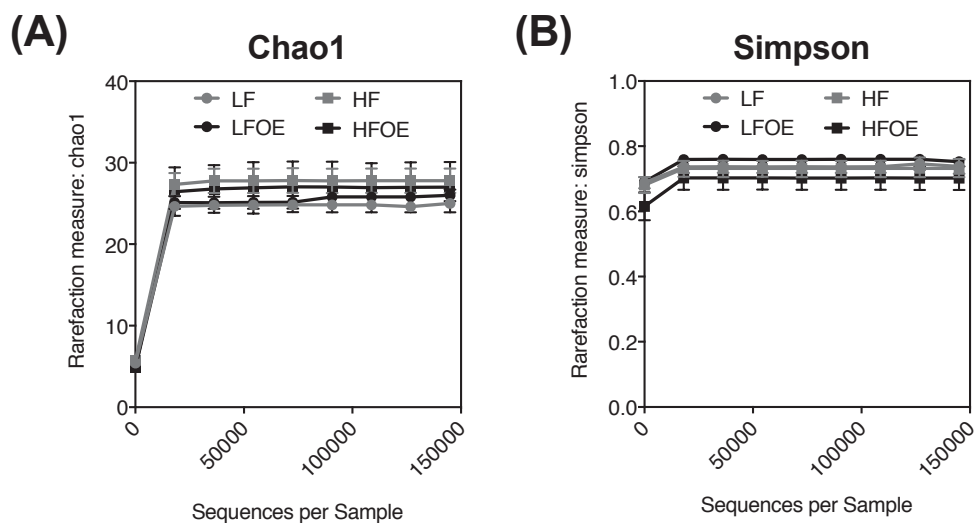


Fig. 1 Bacterial rarefaction curves based on Chao 1 (A) and Simpson (B) in genus level. The data are shown as mean value ± SEM. HF, high-fat; HFOE, high-fat diet containing oyster-extract; LF, low-fat; LFOE, low-fat diet containing oyster-extract.

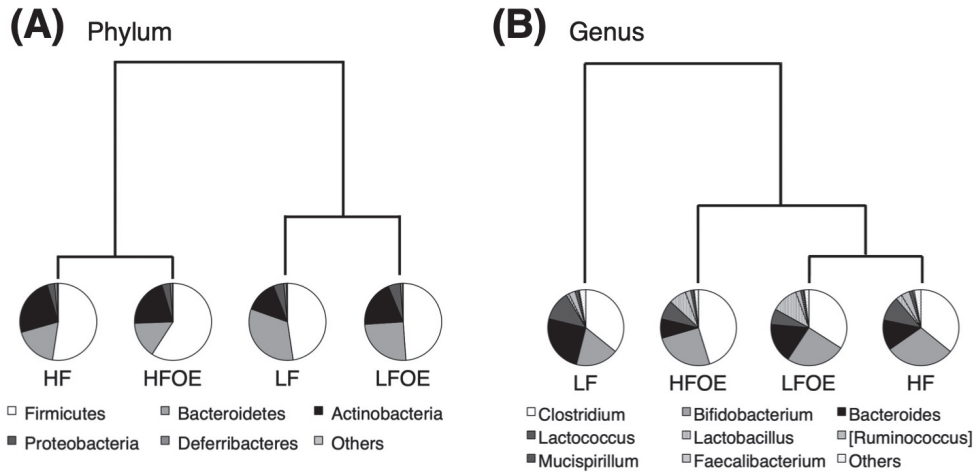


Fig. 2 Relative abundance of fecal microbiota on the phylum (A) and genus (B) levels
 Graphs are stacked from higher relative abundance in LF groups, and those with less than 0.5% of the relative abundance are summarized as Others.
 HF, high-fat; HFOE, high-fat diet containing oyster-extract; LF, low-fat; LFOE, low-fat diet containing oyster-extract.

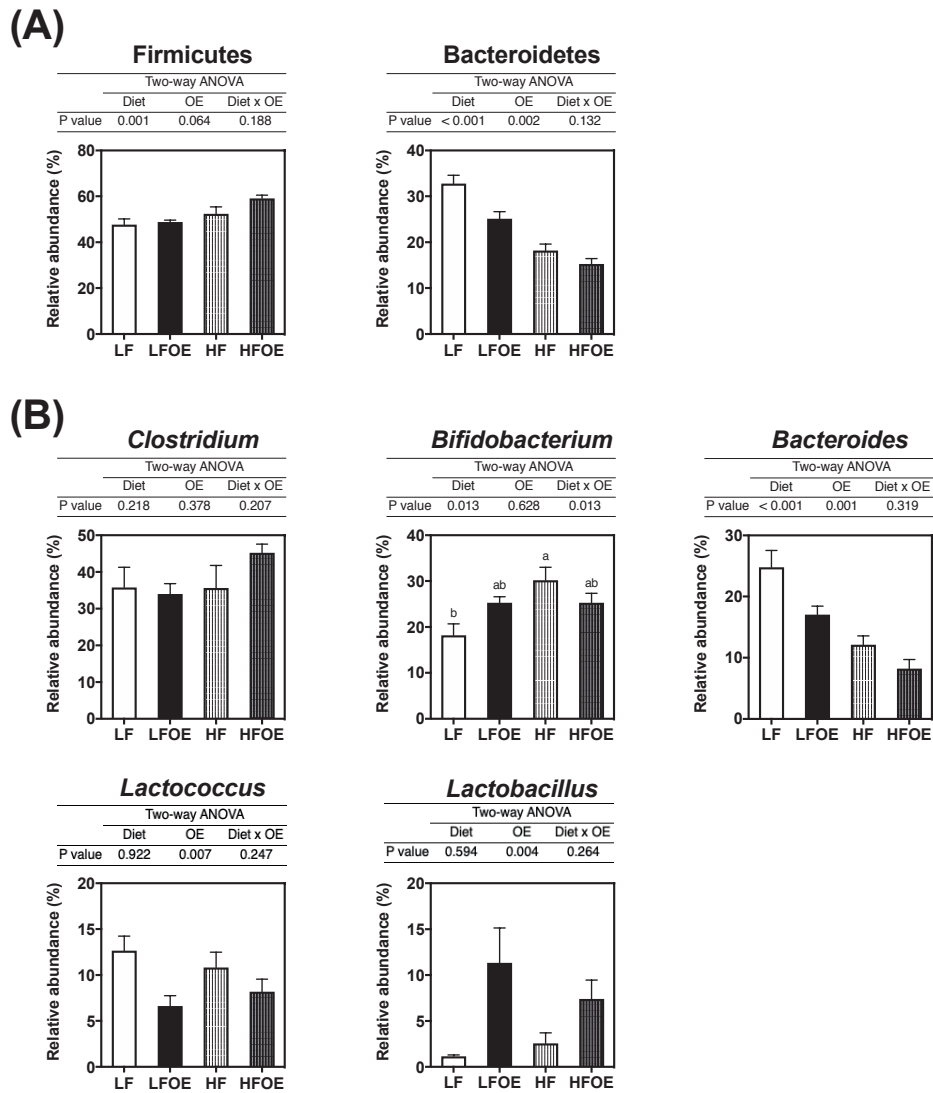


Fig. 3 Relative abundance of predominant microbes on the genus level
 Data represent mean \pm SEM. Different letters indicate significant differences at $P < 0.05$ using Tukey's multiple comparison test.
 ANOVA, analysis of variance; BW, body weight; HF, high-fat; HFOE, high-fat diet containing oyster-extract; LF, low-fat; LFOE, low-fat diet containing oyster-extract; OE, oyster-extract.

ング解析の結果, LF 群および LFOE 群, また HE 群および HFOE 群が同一のクラスターとなり, 餌料中脂肪濃度の違いによって分類された。これまでに高脂肪餌料をマウスに給餌すると, Firmicutes 門に分類される細菌が増加し, Bacteroidetes 門に分類される細菌が減少することが報告されている¹⁶⁾。Fig. 3A に Firmicutes 門および Bacteroidetes 門の構成比率を示した。Firmicutes 門の構成比率は, 餌料中脂肪濃度の影響が認められた。一方, Bacteroidetes 門の構成比率は, 餌料中脂肪濃度およびカキ肉エキスの影響が認められた。これまでの報告¹⁶⁾と同様に, 本実験においても高脂肪餌料の給餌によって Firmicutes 門の構成比率が増加し, Bacteroidetes 門の構成比率が減少する結果が得られた。一方, 属における構成比率をみると, *Clostridium*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Lactococcus* および *Lactobacillus* 属で 90% 以上が構成されていた (Fig. 2B)。階層的クラスタリング解析の結果, LFOE 群が HF 群と同一のクラスターに分類され, LF 群とは異なるクラスターに分類された。そのた

め属レベルの構成比率では, 低脂肪餌料にカキ肉エキスを添加することによって, 高脂肪餌料給餌群でみられる細菌叢の構成に近づく可能性が示された。Fig. 3B に *Clostridium*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Lactococcus* および *Lactobacillus* 属の構成比率を示した。*Clostridium* 属は各群間で有意な変化はみられなかった。*Bifidobacterium* 属は, 餌料中脂肪濃度の影響が認められ, LF 群と比較して, HF 群で有意な増加が確認された。*Bacteroides* 属は, 餌料中脂肪濃度およびカキ肉エキスの影響が認められた。*Lactococcus* 属は, カキ肉エキスの影響が認められた。また, *Lactobacillus* 属は, カキ肉エキスの影響が認められた。これまでに私たちはラットにカキ肉エキスを給餌すると, 盲腸内の *Lactobacillus* 属の構成比率が上昇することを報告している¹⁰⁾。そのためカキ肉エキスの給餌は, ラットだけでなくマウスにおいても *Lactobacillus* 属の構成比率を増加させると考えられる。

各群に特徴的な細菌を同定するため, LEfSe 解析を行った (Fig. 4)。その結果, 計 33 の系統が同定された。LF

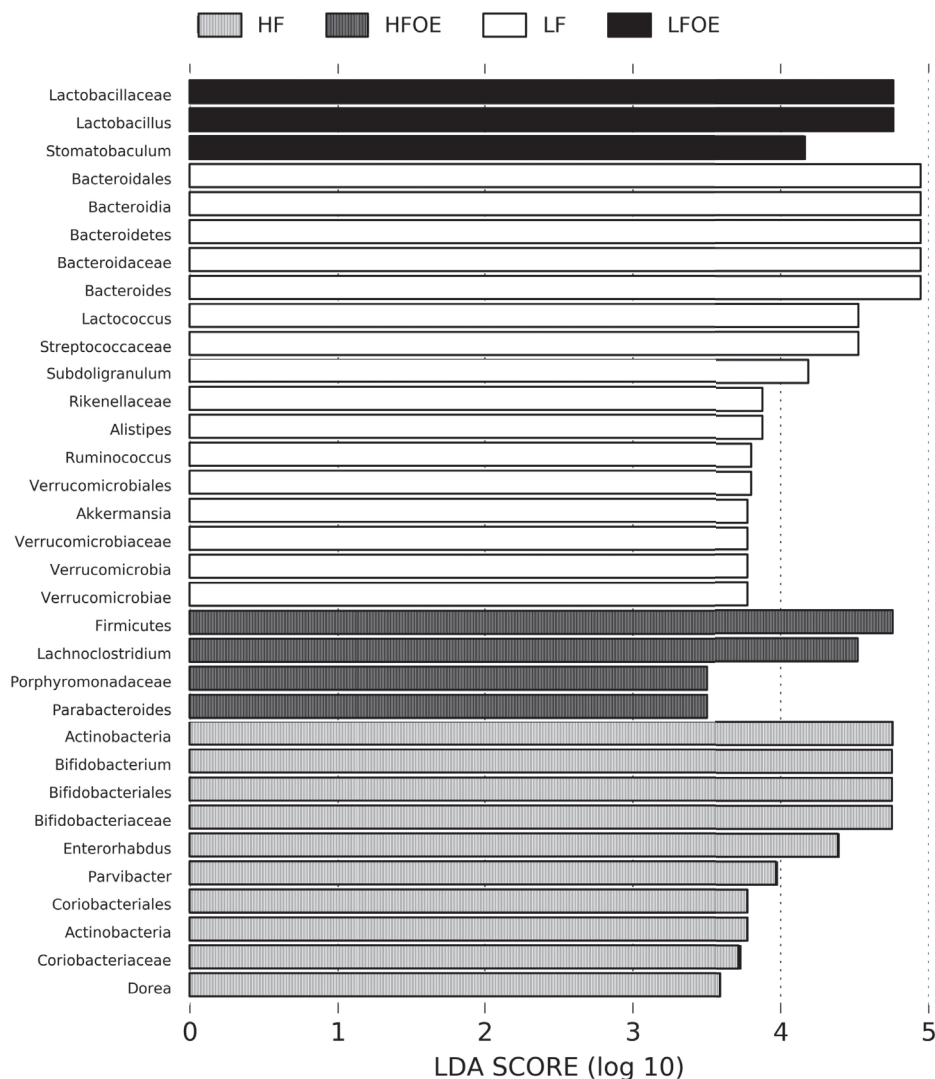


Fig. 4 Comparisons of gut bacteria using linear discriminant analysis effect size (LEfSe)
 HF, high-fat; HFOE, high-fat diet containing oyster-extract; LF, low-fat; LFOE, low-fat diet containing oyster-extract.

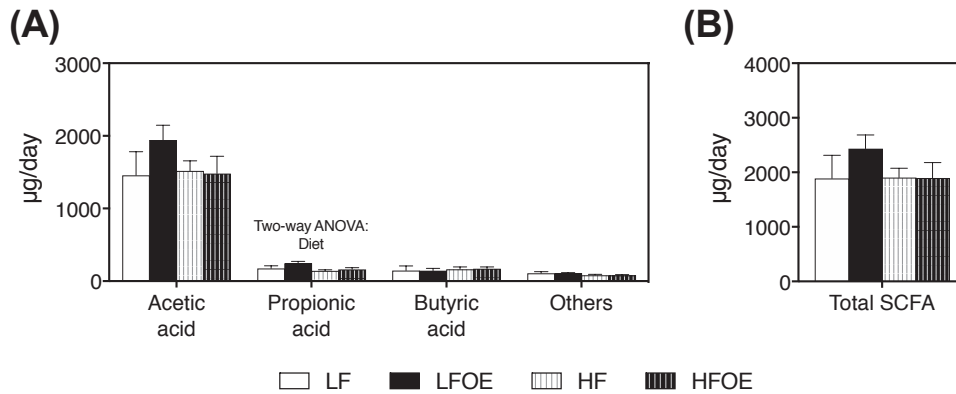


Fig. 5 Fecal short-chain fatty acid (SCFA) composition
 (A) SCFA composition in feces, (B) Total SCFA content in feces.
 Data represent mean \pm SEM. Different letters indicate significant differences at $P < 0.05$ using Tukey's multiple comparison test.
 ANOVA, analysis of variance; HF, high-fat; HFOE, high-fat diet containing oyster-extract; LF, low-fat; LFOE, low-fat diet containing oyster-extract; SCFA, Short-chain fatty acid.

群では, *Bacteroides*, *Lactococcus*, *Subdoligranulum*, *Alistipes*, *Ruminococcus* および *Akkermansia*, LFOE 群では *Lactobacillus* および *Stomatobaculum*, HF 群では, *Bifidobacterium*, *Parvibacter* および *Dorea*, HFOE 群では *Lachnoclostridium* が属レベルとして同定された。

Fig. 5 に糞へ排泄された短鎖脂肪酸量を示した。糞プロピオン酸量において、餌料中脂肪濃度の影響が認められた。プロピオン酸は、主に *Clostridia*, *Desulfovibrio*, *Propionibacterium* や *Bacteroides* によって生成されることが知られている¹⁷⁾。低脂肪群 (LF および LFOE 群) で *Bacteroides* の構成比率が増加していた (Fig. 3B)。一方, *Desulfovibrio* および *Propionibacterium* は本実験では検出されず, *Clostridia* は各群間で変化は見られなかった (data not shown)。そのため、低脂肪群で観察された糞プロピオン酸の増加は, *Bacteroides* の構成比率の増加が関係していると考えられる。腸内細菌により生成された SCFA は、大腸の粘膜細胞により腸内容物中の水分吸収の際のエネルギー源として利用されることが明らかにされており、この吸収作用のため、盲腸内容物と糞の SCFA 量に差が出ることが報告されている。一方で、盲腸内容物と糞の細菌叢の構成はほとんど同じことが報告されている¹⁸⁾。そのため、腸内細菌叢の違いによる SCFA 組成の変化を検証するためには、糞 SCFA のみではなく、盲腸内容物の SCFA 組成も合わせて測定する必要があると考えられる。一方、糞総 SCFA、酢酸、酪酸、Others (イソ酪酸、吉草酸およびイソ吉草酸の総量) に各群間に有意な差はみられなかった。また、盲腸内容物の pH にも各群間で有意な変化はみられなかった (data not shown)。

Lactobacillus の構成比率の上昇といった腸内細菌叢の変化を引き起こしたカキ肉エキス中の成分として、カキ肉エキスの約半分を占めるグリコーゲンが第一に考えられる。これまでに、グリコーゲンをラットに給餌すると、糞の *Bifidobacterium* や *Lactobacillus* といった有用菌が顕著に増加することが報告されている¹⁹⁾。一方、カキ肉エキスに

含まれているタウリンは、腸内細菌叢の多様性やその構成比率に影響を与えないことが、培養系ヒト腸内細菌叢モデルを利用した *in vitro* 試験において報告されている²⁰⁾。そのため、カキ肉エキス中のグリコーゲンによって、糞中 *Lactobacillus* の構成比率が増加したと考えられる。

以上のことから、カキ肉エキスの給餌は、前報¹⁰⁾ で報告したラットだけでなく、マウスにおいても *Lactobacillus* 属の構成比率を増加させた。さらにカキ肉エキスの給餌は、高脂肪食条件だけでなく、低脂肪食給餌においても *Lactobacillus* 属の構成比率を増加させる効果を有することが示唆された。今後、カキ肉エキス給餌による *Lactobacillus* 属の構成比率の増加が宿主の健康状態に及ぼす影響について明らかにしていく必要があると考えられる。

謝辞

本研究をおこなうにあたり、動物実験に協力してくれた関西大学化学生命工学部の永井千尋氏に感謝致します。

参考文献

- 1) 松田芳和 (2008) 牡蠣亜鉛の性質とその栄養有効性. ミネラルの科学と最新応用技術 (糸川嘉則). シーエムシー出版, 東京: pp. 124-135.
- 2) 吉田宗弘, 平田登, 木谷祥子, 松田芳和 (2002) 牡蠣から調製した亜鉛濃縮物の性質. 微量栄養素研究 19: 43-46.
- 3) 辻貴之, 菊池祐子, 中塚千晶, 木谷祥子, 福永健治, 西山利正, 松田芳和, 吉田宗弘 (2001) 牡蠣の酸可溶性画分に含有される亜鉛の栄養有効性. 微量栄養素研究 18: 63-66.
- 4) 久保道徳, 松田秀秋, 田村崇子, 高津政雄 (1980) バランスター [カキ *Crassostrea gigas* (THUNBERG)]

- の肉エキス]の実験的肝障害に対する予防および肝機能改善作用. 基礎と臨床 14: 1437-1442.
- 5) 松田芳和, 出田祐久, 藤田忠義, 太田隆男, 中塚正博, 吉野昌孝, 柴田幸雄 (1994) 糖尿病・肝臓病患者に対するかき肉エキスの影響. 微量栄養素研究 12: 91-97.
 - 6) Hosomi R, Matsuda Y, Ishimaru A, Takemura S, Fukunaga K, Yoshida M (2007) Effect of dietary oyster extract on the colonic aberrant crypt foci in mice. Trace Nutrients Research 24: 71-75.
 - 7) Hosomi R, Matsuda Y, Watanabe Y, Fukunaga K, Yoshida M (2008) Effect of dietary oyster extract on the p-aminophenol-induced nephrotoxicity in rats. Trace Nutrients Research 25: 91-95.
 - 8) 雑賀あずさ, 國澤純 (2018) 食用油を介した「食事-腸内細菌-宿主」ネットワークによる免疫制御. 腸内細菌誌 32: 167-174.
 - 9) Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, Waget A, Neyrinck AM, Delzenne NM, Burcelin R (2008) Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. Diabetes 57: 1470-1481.
 - 10) 池田祐生, 細見亮太, 松田芳和, 新井博文, 下埜敬紀, 神田靖士, 西山利正, 吉田宗弘, 福永健治 (2018) カキ肉エキスの給餌によるラットの盲腸内細菌叢の変化. 微量栄養素研究 35: 41-46.
 - 11) Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC Jr (1993) AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. J Nutr 123: 1939-1951.
 - 12) Segata N, Izard J, Waldron L, Gevers D, Miropolsky L, Garrett WS, Huttenhower C (2011) Metagenomic biomarker discovery and explanation. Genome Biol 12: R60.
 - 13) Ihaka R, Gentleman (1996) R: a language for data analysis and graphics. J Comp Graph Stat 5: 299-314. Available via <http://www.R-project.org>.
 - 14) Duan J, Ishida M, Aida K, Tsuduki T, Zhang J, Manabe Y, Hirata T, Sugawara T (2016) Dietary Cerebroside from Sea Cucumber (*Stichopus japonicus*): Absorption and Effects on Skin Barrier and Cecal Short-Chain Fatty Acids. J Agric Food Chem 64: 7014-7021.
 - 15) An HJ, Chung HS, An NH, Park RK, Kim SH, Kim CH, Kim YK, Kim HM, Hong SH (2004) Regulatory effect of doxycycline on high-fat diet-induced obesity in C57BL/6J mice. Biol Pharm Bull 27: 1297-1300.
 - 16) Hildebrandt MA, Hoffmann C, Sherrill-Mix SA, Keilbaugh SA, Hamady M, Chen YY, Knight R, Ahima RS, Bushman F, Wu GD (2009) High-fat diet determines the composition of the murine gut microbiome independently of obesity. Gastroenterology 137: 1716-1724.
 - 17) MacFabe DF, Cain NE, Boon F, Ossenkopp K-P, Cain DP (2011) Effects of the enteric bacterial metabolic product propionic acid on object-directed behavior, social behavior, cognition, and neuroinflammation in adolescent rats: Relevance to autism spectrum disorder. Behav Brain Res 217: 47-54.
 - 18) 河津大輔, 大島直子, 奥積昌世, 藤井建夫 (1994-1995) ラットの盲腸内容物と糞便の細菌叢および代謝産物の比較. 日食微誌 11: 125-128.
 - 19) Furuyashiki T, Takata H, Kojima I, Kuriki T, Fukuda I, Ashida H (2011) Metabolic fate of orally administered enzymatically synthesized glycogen in rats. Food Funct 2: 183-189.
 - 20) Sasaki K, Sasaki D, Okai N, Tanaka K, Nomoto R, Fukuda I, Yoshida KI, Kondo A, Osawa R (2017) Taurine does not affect the composition, diversity, or metabolism of human colonic microbiota simulated in a single-batch fermentation system. PLoS One 12: e0180991.