

時間生物学を利用した機能性食品開発 ～イヌリンのヒト試験を中心に～

金 鉉基*・柴田 重信

はじめに

哺乳類では1997年に時計遺伝子 *Circadian locomotor output cycles kaput (Clock)* がクローニングされ、数十種の時計遺伝子が同定されている。時計遺伝子の発見以降、1日約24時間のリズムを刻む体内時計の生理的機能は、次々と明らかになり、規則正しい生活リズムを送り、体内時計を適切に調節することは健康を維持するために重要であることが明らかとなっている。このように体内時計の分子基盤研究が急速に進み、生物の種々のリズム現象を調べる学問として「時間生物学」が発展してきた。

近年、体内時計の研究は栄養学の分野においても応用されており、体内時計を考慮した食事・栄養のタイミングを考える「時間栄養学 (Chrono-nutrition)」が注目を集めている¹⁾。また、糖尿病や肥満などの生活習慣病の予防・改善のためのさまざまな機能性食品の開発も進んでおり、時間栄養学の視点から機能性食品の摂取タイミングを検討することはより有効な摂取方法を提案するうえで重要であると考えられる。

そこで、本稿では菊芋の構成成分の一つであるイヌリン（水溶性食物繊維）に着目し、イヌリンの摂取タイミングが血糖値の日内リズムや食後高血糖、腸内細菌叢に寄与する可能性について解説する。

時間栄養学

体内時計は栄養素の消化吸収や代謝の日内変動を制御していることが知られており、食事・栄養と体内時計は相互関係にある。この両者の密接な関係は「時間栄養学」として注目を浴びている。すなわち時間栄養学とは食事・栄養の内容や量だけでなく、“いつ”食べるかについて調べる学問であり、食事・栄養と体内時計との関係を双方向から明らかにする学問である。筆者らはこれを大きく2つの側面から考えている。1つ目は栄養素や食品成分による体内時計への作用を明らかにする「体内時計作用栄養学」であり、体内時計の周期、振幅、位相の3要素に対する影響を評価する。1日約24時間のリズムの形成に体内時計が重要であり、体内時計の乱れは肥満や糖尿病を含めさまざまな代謝異常を引き起こしていること

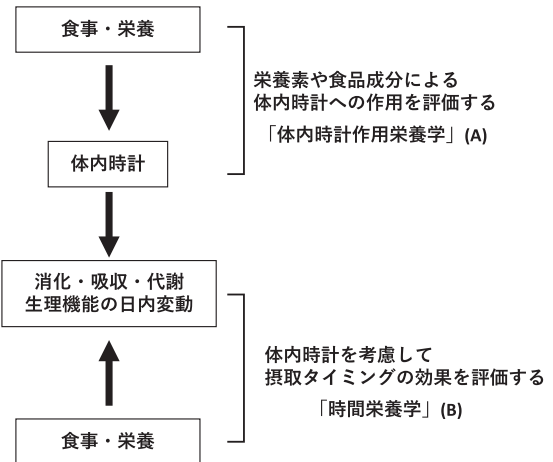


図1. 体内時計作用栄養学 (A) と時間栄養学 (B). 食事・栄養と体内時計の関係には相互関係があり、栄養素や食品成分が体内時計を調節する側面と、体内時計により生み出される日内変動を考慮して効果的な摂取タイミングを評価する側面がある。

が示されている²⁾。そのため、食事・栄養により、この体内時計の乱れを改善することで健康増進を促す考え方である。2つ目は、体内時計によって生み出される生理機能の概日リズムを考慮して、健康の維持、改善を目指すうえで効果的な食事内容や栄養成分の摂取タイミングの違いを解明する「時間栄養学」である。各種栄養素の消化・吸収や代謝にも概日リズムがあり、消化・吸収や代謝能の高い、または低い時刻が存在する。この時刻情報を利用して、効率良く栄養素の利用または食品成分の生理作用を増強するために摂取タイミングを考えることである (図1)。

食物繊維 (イヌリン)

食物繊維は、大腸に常在する有用菌の増殖または有害な細菌の増殖を抑制することで宿主に有益な効果をもたらす難消化性食品成分のプレバイオティクスとして認められており、血糖値のコントロールや腸内環境を改善し、糖尿病や肥満などの生活習慣病のリスク低減につながることを示されている^{3,4)}。食物繊維は大きく分けて2種類存在する。水に溶けにくい不溶性食物繊維と水に溶けや

*著者紹介 早稲田大学先進理工学部 E-mail: hk.kim@aoni.waseda.jp

すい水溶性食物繊維である。セルロースに代表される不溶性食物繊維は、胃や腸で水分を吸収して膨張するため、便の量を増やしたり、腸の蠕動運動を高めたりする作用がある⁵⁾。一方、イヌリンに代表される水溶性食物繊維は粘着性を持ち、糖の吸収を緩やかにすることで血糖値の上昇を抑制する⁶⁾。また、食物繊維は大腸内で分解・発酵されることにより短鎖脂肪酸となり、ビフィズス菌などの善玉菌の栄養源となりその増殖を促すため、腸内環境の改善効果がある⁷⁾。

水溶性食物繊維の中でもイヌリンは、多くの植物から生産される多糖類の一つであり、キクイモ、ゴボウやチコリなどの根菜類に豊富に含まれている⁸⁾。イヌリンは、でん粉を分解するptyalinやamylaseのような酵素によって分解されずに大腸に到達して腸内微生物によって発酵され、腸内環境の改善と排泄機能の促進に効果があることが示されている。さらに、血糖値抑制作用、脂質異常症改善、カルシウムやマグネシウムなどのようなミネラルの吸収促進や免疫システムの活性化などさまざまな効果が報告されている⁹⁾。

これらのことから、血糖値のコントロールおよび良い腸内環境を作るためには、イヌリンのような水溶性食物繊維の摂取が重要かもしれない。しかし、欧米化した現代の食生活では、食物繊維の摂取量が不足している。それゆえ、食物繊維の摂取量を増やすのはもちろんであるが、摂取効率を考慮することは重要である。

イヌリンと血糖値 イヌリンは、血中糖質の吸収を穏やかにし、急激な血糖値上昇を抑制する。先行研究において、2型糖尿病患者を対象とし6週間のイヌリン摂取が空腹時血糖値に及ぼす影響について検討した。その結果、イヌリン摂取による空腹時血糖値の減少が示されている¹⁰⁾。また、血糖値および血清脂質濃度がコントロールされていない2型糖尿病患者を対象とした他の先行研究では、14日間のイヌリン摂取による影響を検討し、空腹時血糖値濃度の減少や総コレステロール、LDL(悪玉)コレステロールの減少を報告している¹¹⁾。すなわち、イヌリンの摂取は、糖尿病患者に対する血糖値コントロールに有効である可能性を示唆している。

イヌリンの摂取タイミングと血糖値 血糖値は、空腹時だけでなく食後のコントロールも重要である。食後の高血糖は2型糖尿病や心血管疾患のリスクを増加させることが知られている¹²⁾。さらに、食事摂取時刻により糖代謝動態が異なることが報告されおり、同様の食事であっても食後の血糖値上昇は朝食に比べて夕食で高くなること示されている¹³⁾。夕食時には血中グルコース濃度が高くなり、インスリンやその分泌を促進するホルモ

ンなどの分泌量が低下することが知られている。つまり、夕食時に糖代謝機能が低下して血糖値が高くなる可能性が考えられる。そのため、イヌリンの摂取タイミングの違いによって血糖値変動への影響は異なる可能性がある。

そこで、筆者らは、食後の血糖値減少により有効な機能性食品の摂取タイミングを検討すべく、65歳以上の高齢者30名を対象とし、朝食前(15名、男性:7名、女性:8名)または夕食前(15名、男性:7名、女性:8名)に菊芋パウダー(5g)を摂取してもらい、その後の血糖値変動および腸内細菌叢(後述)を観察した。菊芋は日常生活の中でも手軽に入手が可能であり、乾燥重量基準で68~83%のイヌリンが含まれている¹⁴⁾。また、24時間の血糖値変動を評価するため、FreeStyle リブレ Pro フラッシュグロコースモニタリングシステム(Abbot社)を用いた。この測定器は、痛みをほぼ感じない針の先についているセンサーにより間質液中のグルコース濃度を15分ごとに測定し記録する。センサーの寿命は2週間であり、2週間分のデータを記録することができる。高齢者であっても負担が少ないことが特徴である。

朝食前または夕食前の菊芋パウダー摂取による一日の血糖値変動を摂取前と比較した結果、摂取期間において、朝食前摂取、夕食前摂取とも血糖値の減少が見られ、特に朝食前摂取において、より顕著な減少が見られた。筆者らはより詳細に検討すべく、各食後4時間の血糖値変動を検討した。その結果、夕食前摂取より朝食前摂取において、より顕著な減少が見られた。各食後の曲線下面積を算出して摂取前と比較すると、摂取期間において、朝食前摂取では各食後において有意な減少が見られた。しかし、夕食前摂取では、夕食後と翌日の朝食後においてのみ有意な減少が見られた。これらの結果から、菊芋パウダー(イヌリン)の摂取は、食後の血糖値コントロールに有効であることが示された。また、その効果は、摂取タイミングによって異なる可能性があり、朝の摂取がより効果的であることが示された(図2)。

菊芋パウダー摂取によるこれらの影響は、次の食事までの絶食時間の違いが影響していると推察される。朝食時に摂取すると、その次の食事は当日の昼食、夕食と続き、約半日のうちに3食を取ることになる。一方、夕食時の摂取は、その次の食事は翌日の朝食、昼食と続くため、菊芋パウダーを摂取してから約10~12時間以上経って初めて2食目を取るようになる。そのため、朝に摂取することで、次の食事とさらに次の食事までの絶食時間が短くなることからセカンドミール効果が働き、菊芋パウダーを摂取していない食事でも血糖値が低下したと考えられる。セカンドミール効果はFirst Meal(1食目)で

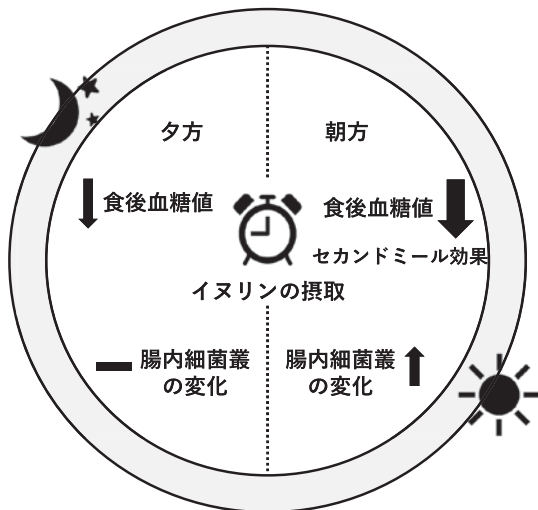


図2. イヌリン摂取タイミングの違いによる血糖値および腸内細菌叢の変化. 朝食前の摂取が夕食前の摂取に比べて食後の血糖値上昇が抑制され、腸内細菌叢のより好ましい変化が見られる。

血糖値の上昇を緩やかにする食事を取ると、Second Meal (2食目)での急激な血糖値の上昇が抑えられるという効果である¹⁵⁾。セカンドミール効果の詳細なメカニズムについては未だ解明されていないが、絶食時間が長くなると血中への放出が多くなり、インスリン抵抗性を引き起こす脂肪酸の関与が考えられている^{16,17)}。

また、菊芋パウダー摂取によるセカンドミール効果のもう一つのメカニズムが、短鎖脂肪酸 (short-chain fatty acids: SCFA) によるグルカゴン様ペプチド-1 (Glucagon-like peptide-1: GLP-1) の分泌促進である¹⁸⁾。菊芋に多く含まれているイヌリンが腸内微生物により分解発酵されることで産生されたSCFAがGLP-1の分泌を促進し、インスリンを介した血糖値コントロール機能を改善させたことでセカンドミール効果が現れたと考えられる。

イヌリンと腸内環境 近年、腸内細菌叢と疾病の関連についてさまざまな報告がされている。我々の腸内には100兆もの腸内細菌が存在し、その集合を腸内細菌叢と呼んでいる。腸内細菌には、善玉菌、悪玉菌、日和見菌 (ひよみり) が存在し、そのバランスを保つことが健康にとって重要である。一方で、悪玉菌が優位になり腸内環境が悪化すると、糖尿病や高血圧などの疾病につながる事が知られている^{19,20)}。つまり、腸内環境を整え、健康の維持、改善のためには善玉菌を増やし、悪玉菌を減らすことが重要である。このような腸内細菌叢は食事や運動などの影響を受けて変動する。これらの要因の中で良い腸内環境を生み出すためには、特に食物繊維の摂取が重要である。

イヌリン (水溶性食物繊維) は腸内細菌叢を標的とするプレバイオティクス (消化できない食品成分のことであり、腸内細菌の成長や活動を刺激することで宿主に有益な効果をもたらす、宿主の健康を増進する) であり、善玉菌の栄養源となることで微生物の組成および活性に影響を与える。それと同時に、善玉菌に代謝される過程で生じるSCFAは腸管内のpHを下げ、我々の体内の免疫や代謝機能の調節を担う⁸⁾。いくつかの先行研究において、イヌリンの毎日の摂取は腸の微生物組成を変化させ、糞便中のビフィズス菌 (善玉菌) を増加させることが示されている^{21,22)}。さらに、腸内細菌叢は、体重、インスリン感受性やグルコース代謝との関連が示されている²³⁻²⁵⁾。

イヌリンの摂取タイミングと腸内環境 イヌリンの摂取は腸内環境を改善するが、「いつ」摂取するとより効果的であるだろうか。筆者らは、マウスを用いてヒトの食生活を模した食モデルを作製し、イヌリンの効果を検討した。マウスの活動期始めを「朝」、終わりを「夕」と定義した。まず、それぞれの時間帯に高脂肪食を与える群 (高脂肪食群) と高脂肪食にイヌリンを添加した餌を与える群 (イヌリン群) に群分けを行い、検討を行った。その結果、イヌリン群は高脂肪食群に比較して盲腸内のSCFAが増加し、弱酸性になることが示唆された。

また、同様のモデルを用い、イヌリンの摂取時刻の違いにおける腸内細菌叢への影響を検討するため、朝のみにイヌリンを摂取した群 (朝摂取群) と夕のみにイヌリンを摂取した群 (夕摂取群) を用意して検討した。その結果、盲腸内の弱酸性の度合いは、朝と夕で有意な差は認められなかったが、盲腸内のSCFA量は、夕摂取群と比べて朝摂取群でより増加した。さらに、高脂肪食群、朝摂取群、夕摂取群の腸内細菌の構成を測定すると、高脂肪食群と比較して、朝摂取群で腸内細菌の構成の大きな変化が見られた。

さらに、筆者らはヒトに応用すべく、ヒトを対象とし、菊芋パウダーの摂取時刻の違いが腸内細菌叢に及ぼす影響について検討を行った。その結果、朝食前の菊芋パウダー摂取は夕食前の摂取に比較して腸内細菌叢の変化が大きいことが観察された。さらに、血糖値と相関が見られ、ヒト腸内細菌叢で優勢な菌群である *Bacteroidetes* 門と *Firmicutes* 門の変化と24時間血糖値の曲線下面積の変化率との相関を調べた。肥満・高血糖のヒトでは、*Bacteroidetes* 門が少なく、*Firmicutes* 門が多いということが報告されているため、一般的に腸内細菌叢にとって *Bacteroidetes* 門が増加し *Firmicutes* 門が減少することが良い変化だと言われている²⁶⁾。その結果、夕食前の摂取

取と比べて朝食前摂取においてより好ましい変動が見られた。これらの結果から、イヌリンは夕食前に摂食するよりも朝食前に摂食する方がより健康維持に効果的である可能性が示唆された(図2)。

間食(イヌリン)と食後血糖値 日本における2型糖尿病患者の約半数が週2回以上間食を摂取していると報告している²⁷⁾。また、2010年の国民健康・栄養調査では、日本人男性は1日の摂取カロリーの約10%を間食から摂取していると報告している²⁸⁾。これらの報告から、間食を避けることは容易でないことがわかる。間食は場合によって血糖値を急上昇させ、糖尿病などの生活習慣病のリスクとなる可能性があるため、注意を払う必要がある。

一方、先行研究において間食の摂取による夕食後の食後血糖値変動についての検討が示されており、昼食と夕食の間での間食の摂取は、間食摂取なしと比較して夕食後の血糖値上昇が緩やかであることが示されている²⁹⁾。しかし、間食の種類や成分の違いにおけるその後の食後血糖値変動への影響は明らかにされていない。そこで、筆者らは若年男女12名(男性:6名, 女性:6名)を対象とし、間食に含まれている成分の違いにおける夕食後の血糖値変動への影響について検討を行った。介入期間の2週間のうち、任意の3日間で食物繊維が多く含まれているクッキーA試行(154 kcal, 食物繊維9.1 g)、ビスケットB試行(154 kcal)、または間食なし試行のそれぞれを行い、比較検討を行った。各試行の夕食は規定食(761 kcal)を摂取してもらった。昼食、間食、夕食の間はそれぞれ4時間あけてもらい、間食後と夕食後の血糖値変動を検討した。血糖値の評価は、フラッシュグルコースモニタリングシステムを用いて行った。その結果、間食後4時間の血糖値変動ではクッキーA試行、ビスケットB試行で間食なし試行と比較して血糖値の上昇が見られたが、曲線下面積においては有意な違いは認められなかった。しかし、夕食後4時間の血糖値変動では、クッキーA試行でビスケットB試行と間食なし試行と比較して血糖値の低下が見られ、曲線下面積において有意な低値が認められた。これらのことから、食物繊維を含んだ間食の摂取は、食物繊維が含まれていない間食の摂取と比較して夕食後の血糖値コントロールに、より有効であることが示唆された。

おわりに

本稿では、主に血糖値や腸内細菌叢に着目し、イヌリンまたはイヌリンの含まれている機能性食品(菊芋)の効果について検討した筆者らのいくつかの研究を紹介した。機能性食品を含む食事・栄養を用いた食事療法は、肥満や糖尿病などの生活習慣病の予防・改善のためにさまざまな観点からのアプローチがなされてきている。既存の食事療法に時間(タイミング)の視点を取り入れることで食事療法のより有効なタイミングまたは、新しいアプローチ方法の開発が期待できるだろう。

文 献

- 1) Shibata, S. *et al.*: *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **62**, 918 (2010).
- 2) Doi, M.: *Biol. Pharm. Bull.*, **35**, 1385 (2012).
- 3) Wong, J. M. *et al.*: *J. Clin. Gastroenterol.*, **40**, 235 (2006).
- 4) Jackson, K. G. *et al.*: *Br. J. Nutr.*, **82**, 23 (1999).
- 5) Cheng, W. *et al.*: *Front. Microbiol.*, **20**, 1750 (2017).
- 6) Rao, A.: *J. Nutr.*, **129**, 1442S (1999).
- 7) El Kaoutari, A. *et al.*: *Nat. Rev. Microbiol.*, **11**, 497 (2013).
- 8) Roberfroid, M. B.: *Br. J. Nutr.*, **93**, S13 (2005).
- 9) Evert, A. B. *et al.*: *Diabetes Care*, **36**, 3821 (2013).
- 10) Ghavami, A. *et al.*: *Adv. Pharm. Bull.*, **8**, 39 (2018).
- 11) Yamashita, K. *et al.*: *Nutr. Res.*, **4**, 961 (1984).
- 12) O'Keefe, J. H.: *Am. J. Cardiol.*, **100**, 899 (2007).
- 13) Takahashi, M. *et al.*: *Nutrients*, **10**, E1763 (2018).
- 14) Paseephol, T. *et al.*: *Food Chem.*, **104**, 73 (2007).
- 15) Jenkins, D. J. *et al.*: *Am. J. Clin. Nutr.*, **35**, 1339 (1982).
- 16) Wolever, T. M. *et al.*: *Am. J. Clin. Nutr.*, **48**, 1041 (1988).
- 17) Wolever, T. M. *et al.*: *Diabetes Care*, **18**, 962 (1995).
- 18) Kimura, I. *et al.*: *Nat. Commun.*, **4**, 1829 (2013).
- 19) Barlow, G. M. *et al.*: *Nutr. Clin. Pract.*, **30**, 787 (2015).
- 20) Loh, G.: *Gut Microbes*, **3**, 544 (2012).
- 21) Gibson, G. R. *et al.*: *Gastroenterology*, **108**, 975 (1995).
- 22) Brighenti, F. *et al.*: *Eur. J. Clin. Nutr.*, **53**, 726 (1999).
- 23) Rabot, S. *et al.*: *FASEB J.*, **24**, 4948 (2010).
- 24) Diamant, M. *et al.*: *Obes. Rev.*, **12**, 272 (2011).
- 25) Backhed, F. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 15718 (2004).
- 26) Ley, R. E. *et al.*: *Nature*, **444**, 1022 (2006).
- 27) 橋本善隆ら: *Ther. Res.*, **38**, 77 (2017).
- 28) 厚生労働省「平成21年国民健康・栄養調査報告」:
<https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/eiyuu/h21-houkoku.html> (2019/9/3).
- 29) Imai, S. *et al.*: *Diabetes Metab.*, **44**, 482 (2018).