

令和 5 年度豆類振興事業調査研究（雑豆需要促進研究）成果概要

1 課題名 小豆摂取による腸内細菌の二次代謝産物を介した認知症予防に関する検討

2 研究者 大分大学医学部 内分泌代謝・膠原病・腎臓内科学講座、講師、後藤孔郎

共同研究者：大分大学医学部 内分泌代謝・膠原病・腎臓内科学講座、助教、岡本光弘

大分大学医学部 内分泌代謝・膠原病・腎臓内科学講座、准教授、正木孝之

大分大学医学部 内分泌代謝・膠原病・腎臓内科学講座、教授、柴田洋孝

3 成果概要

研究目的：加齢は全身性に炎症性変化をもたらすことが広く知られている。また加齢はアルツハイマー型認知症を含む認知症の危険因子であることが多くの研究で報告されている。一方、加齢は腸内でも炎症性変化をもたらすが、そのような炎症性変化が腸管バリアの破綻をもたらし、腸管腔内で生成される炎症惹起物質である lipopolysaccharide (LPS) が腸管外へと漏出し体循環を介して脳に到達することで、脳内炎症が発症しさらには認知機能の低下もおこると考えられている。したがって、血中 LPS 濃度をいかに低下させるかが、認知機能低下を予防するのに重要になってくる。肥満も加齢と同様に認知症発症の危険因子と考えられている。申請者らは肥満モデル動物に小豆パウダーを投与すると、肥満による腸管バリアの破綻が抑制され、血中 LPS 濃度が低下することを見出している。

近年、食品由来成分や腸内細菌代謝産物と免疫応答制御との関係がますます注目され、“腸内細菌叢仮説”が唱えられている。特に炎症性変化に関しては、腸内細菌の二次代謝産物として腸管内で産生される短鎖脂肪酸（short chain fatty acid: SCFA）の関与が大きいと推測されている。SCFA は、難消化性の食物繊維が腸内細菌によって分解される際に発生する微生物二次代謝産物であり、その中でも特に多く含まれる酢酸には抗炎症作用がある。しかしながら、酢酸自体は酸性で危険物であり多量に経口摂取できず、また酢酸ナトリウムはナトリウムの過剰摂取につながる可能性がある。そこで腸内細菌代謝産物として腸管内で酢酸を増加させるという発想が重要となってくる。加齢に伴う全身の炎症性変化の発症にも、腸内細菌からの SCFA 産生の低下といったことが関与していると推測される。

本研究は、不溶性食物繊維を多く含む小豆の摂取によって、腸内で酢酸が多く生成されさらに腸管内での炎症を抑制、腸管バリアの保持によって血中 LPS 濃度を低下させることが認知機能の低下に重要であることを明らかにすることを目的とした。

研究方法及び手法：

[1]モデル動物の作製：

若い野性雄マウス（8 週齢：ヒトで換算すると 20 歳台に相当, YOUNG）と老化モデルの雄マウス（56 週齢：ヒトで換算すると 70 歳台に相当, OLD）に対して、通常餌（通常）、通常餌に 3%小豆パウダーを添加（小豆）した餌に各々分け、1 ヶ月摂取させる。したがって、

YOUNG+通常群、YOUNG+小豆群、OLD+通常群、OLD+小豆群の4群を作製する。

[2]小腸に関する評価：

- a) 各群の便を採取し、次世代シーケンサーを用いて、腸内細菌の分布を検討する。T-RFLP (terminal restriction fragment length polymorphism)法を用いて、腸内細菌解析を検討した。
- b) 腸内環境でいわゆる“悪玉菌”が増加すると、それら細菌から門脈へと炎症惹起物質である LPS が分泌されることが分かっている。今回、血中 LPS 濃度を測定した。
- c) 腸管バリアの保持に必要なタンパク質である ZO-1 抗体を用いて、免疫組織学的に腸管バリアを評価した。
- d) 小腸内での TNF- α といった炎症に関与するサイトカインの発現を評価した。
- e) 小腸内での炎症性マクロファージ (M1 マクロファージ) の浸潤度について、免疫組織学的に検討した。

[3]脳に関する評価：

- a) 脳内のミクログリアの活性化については、ミクログリアが活性化すると細胞体が腫大することから、免疫組織染色を用いて形態学的にミクログリアの活性化を評価した。
- b) 脳内の TNF- α 発現を評価した。
- c) モーリス水迷路試験を用いて空間学習能力と記憶力を評価するための行動実験を行った。

研究成果：

(1) 加齢による腸内細菌叢の悪化や小腸内炎症変化の亢進および血中 LPS 濃度の増加が小豆の摂取によって改善

老化により腸管の炎症を抑制する作用をもつ腸内細菌である *Blautia* 属の減少がみられたが、小豆の摂取はその減少を抑制させた。実際、老化による小腸内 TNF- α 発現や M1 マクロファージ浸潤といった小腸内炎症性変化の亢進や腸管バリア機能の低下も、小豆摂取によって抑制された。また、腸内細菌の二次性代謝産物である SCFA のうち、酢酸の血中濃度が老化マウスで低下していた

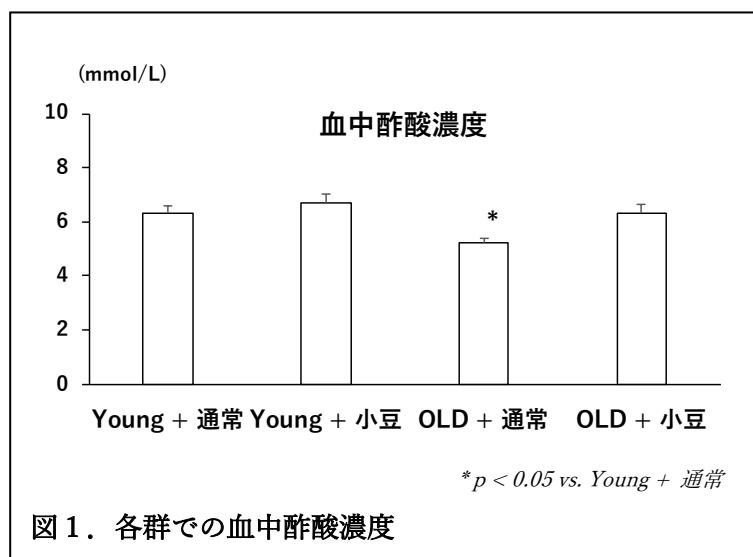


図1. 各群での血中酢酸濃度

が、小豆摂取によってそのような低下が抑制された (図1)。さらに小豆摂取は老化による血中 LPS 濃度の増加も軽減させた (図2)。

(2) 加齢による脳内炎症性変化の亢進および認知機能の悪化が小豆の摂取によって改善

老化によりミクログリアが活性化するが、小豆摂取によって血中 LPS 濃度の低下作用に伴い、脳内での免疫担当細胞であるミクログリアの活性も抑制された (図3)。さらにモーリ

スの水迷路試験を用いて、空間学習機能や記憶力について検討したところ、老化モデルマウスでは空間学習機能・記憶力ともに低下したが、老化モデルマウスに小豆を摂取させると、そのような低下が軽減された。

今回、小豆摂取は老化による *Blautia* 属という腸内細菌の低下を抑制させた。この *Blautia* 属は二次代謝産物として酢酸の生成に大きく関与することが広く知られている。実際、老化による血中酢酸濃度の低下が、小豆摂取によって抑制された。このように小豆による腸管内での酢酸生

成の増加がきっかけとなって、腸内炎症の抑制・腸管バリア機能の保持さらには血中 LPS 濃

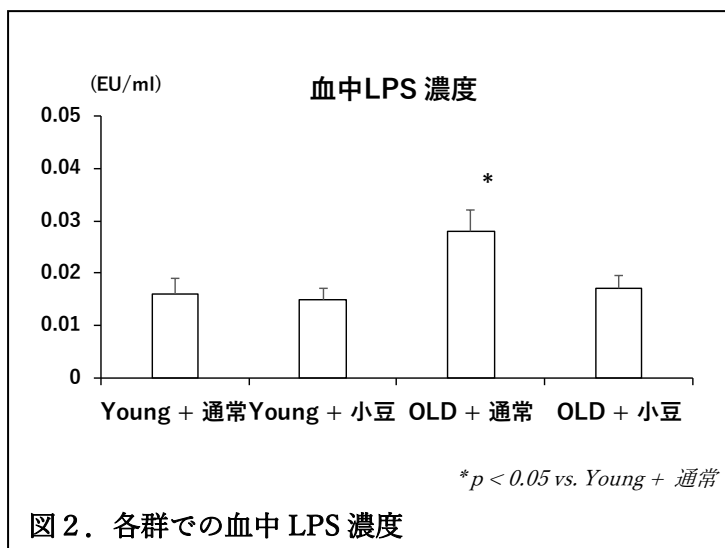


図2. 各群での血中 LPS 濃度

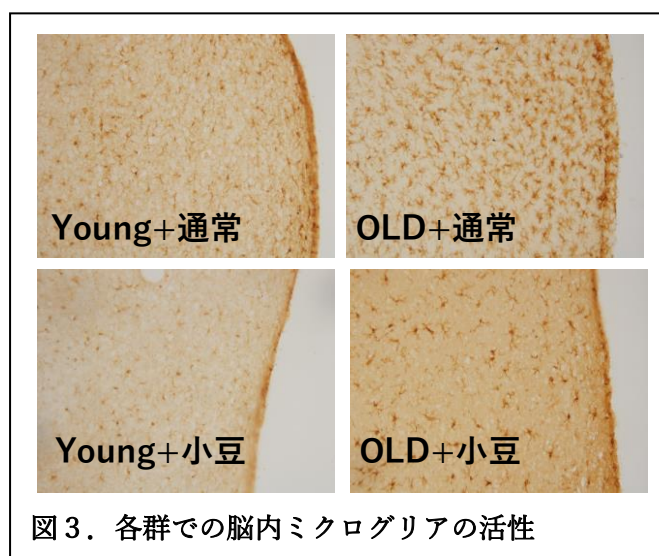


図3. 各群での脳内ミクログリアの活性

度の低下がもたらされたことが考えられる。酢酸には抗炎症性作用を有していることから、本研究の結果と矛盾しないものである。さらに、腸管バリア機能の保持によって腸管内の LPS が腸管外へと漏出することを抑制することで、血中 LPS 濃度が低下し、それが脳内炎症の抑制および認知機能の改善をもたらしたと推測された。

今後の発展・展開

本研究により、小豆の摂取は認知機能の悪化を軽減させる可能性があると予想される。認知症施策推進大綱では“認知症になるのを遅らせる・進行を緩やかにする”予防について触れており、運動不足の解消、生活習慣病の予防、社会的孤立の解消などが認知症予防に資する可能性が示唆されている。したがって、日常の食生活習慣から腸内炎症を防ぐことによって、腸管バリアの保持や血中 LPS 濃度を増加させないように努めることが、予防医学の観点からかなり重要であると思われる。厚生労働省の調査で、認知症患者（450 万人）とほぼ同等数で、認知症の前段階である軽度認知障害（MCI）の患者がいると報告されており、さらに今後 MCI から認知症への多くの移行が予想されている。したがって、MCI から認知症に移行する前に小豆などの雑豆・豆類を摂取することが有効であると申請者は推測している。今後、特に MCI 発症リスクがある高齢者への豆類摂取が重要になってくると考えられる。