

高食物繊維食が腸内発酵に及ぼす影響

—呼気水素ガス分析より—

Effect of the dietary fiber meal for the intestinal fermentation

—On the breath hydrogen analysis—

林 明日香 Asuka Hayashi

(家政学部管理栄養学科)

白木 正孝 Masataka Shiraki

(新東工業株式会社)

鈴木 誉久 Yoshihisa Suzuki

(新東工業株式会社)

抄 録

われわれは、腸内細菌の発酵の指標として非侵襲的に測定できる呼気中水素ガス分析に着目し、摂取する食事との関連性から、高食物繊維食が腸内発酵を高め、健康効果に繋がるか、その有用性の検討を目的に研究を行った。対象者は、同意が得られた健常若年女性 12 名（平均年齢 21 ± 0 歳、平均身長 155.9 ± 6.9 kg、平均体重 47.8 ± 3.4 kg、平均 BMI 19.7 ± 1.3 kg/m²）とし、研究期間は令和 3 年 5 月 7 日～6 月 4 日に、2 種類の試験食摂取における呼気水素ガス分析のクロスオーバー試験を実施した。試験食は、成人女性 18～29 歳の 1 食分に相当する約 570～600kcal に調整後、高食物繊維食は食物繊維 13.2g、普通食は食物繊維 4.9g となるよう設定した。両群の比較において、小腸通過時間では、高食物繊維食群の小腸通過時間は普通食群よりも 42 分早くなった。呼気中水素総排出量では、高食物繊維食は普通食と比べて有意に多くなった。摂取前後の両群の呼気中水素濃度の経時的な比較においては、有意差が見られた。したがって、高食物繊維食は腸内発酵を促進し、腸内細菌に影響する一因となることが明らかとなった。

キーワード 食物繊維、呼気中水素分析、腸内発酵

目 次

- 1 はじめに
- 2 対象および方法
- 3 倫理的配慮
- 4 結果
- 5 考察
- 6 要約

1 はじめに

厚生労働省の 2020 年版日本人の食事摂取基準によると、食物繊維は数多くの生活習慣の発症率や死亡率との関係が検討されており、疾患と有意な負の関連が報告されている稀な栄養素であることが記載されている¹⁾。また、国民健康・栄養調査および池上の報告によると日本人の食物繊維摂取量は 1980 年には 17.3 g であったが、近年 20～29 歳においては 16.0 g とさらに減少し、1 日当たりの摂取目標量

の 20 g 以上に満たない不足状態が特に青年期に多くみられる状況となっている。この原因には、食の欧米化や和食離れによる穀物不足が食物繊維不足の要因であると考えられている^{2,3)}。

一方、ヒトの体は腸内細菌により酪酸をはじめ短鎖脂肪酸が生成されると、腸の活動を活発にし、腸粘膜のバリア機能は高まり、免疫能も高まることが知られている⁴⁾。この腸内細菌は大腸で 1000 種以上棲息すると言われ、大腸に流入した食物繊維の一

部は腸内細菌によって発酵分解を受け、代謝産物として二酸化炭素、水素、メタン、短鎖脂肪酸を産生する。なかでも腸内細菌から産生された水素ガスは腸粘膜から吸収され血液中に溶け込み、血液を介して、肺胞に拡散され、その約14%が呼気中に排出される⁵⁾。また、産生された呼気水素ガスは酸化力の強い活性酸素を選択的に細胞内で還元する事や有害な活性酸素のみを選択的に消去する抗酸化作用をもたらすことが報告されていることから^{6,7)}、腸内細菌を維持し、腸内環境の劣化（dysbiosis）を予防することは重要と考えられるが、食事と呼気水素ガスの関連性を検討した研究は少ない。

そこで今回、腸内細菌の腸内発酵の指標として非侵襲的に測定できる呼気水素ガス分析に着目し、摂取する食事との関連性から、高食物繊維食が腸内発酵を高め、健康効果に繋がるか、その有用性の検討を行った。

2 対象及び方法

2.1 対象者

対象者は、同意が得られた健常若年女性12名（平均年齢 21 ± 0 歳、平均身長 155.9 ± 6.9 kg、平均体重 47.8 ± 3.4 kg、平均 BMI 19.7 ± 1.3 kg/m²）とし、全員非喫煙者とした。その後、呼気水素ガス分析で1名がメタン産生者であったため対象から除外し、非メタン産生者かつ非喫煙者であり、特筆すべき疾患のない11名を解析対象とした。

2.2 方法

本研究では、試験食摂取開始前に対象者の生活状態と食事内容を指定の用紙に記録してもらった。測定期間は令和3年5月7日～6月4日とし、その間に2週間のウォッシュアウト期間を設け、4週間の試験食摂取における呼気水素ガス分析のクロスオーバー試験を実施した。対象者には測定当日の空腹時に呼気中水素濃度を測定後、9時に試験食を摂取してもらい、その後15分間隔で6時間まで測定を行

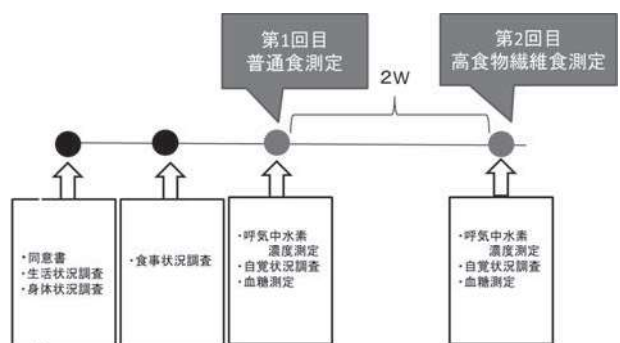


図1 研究プロトコル

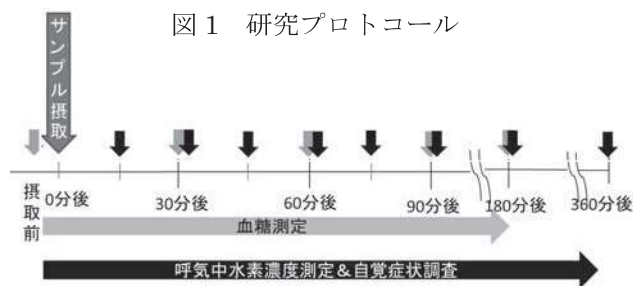


図2 1日の呼気中水素濃度測定の流れ

った。その後、高食物繊維食群と普通食群の2群間の比較検討を行った。研究プロトコルを図1・2に示す。

1) 試験食品

試験食は成人女性18～29歳の1食分に相当する約560～600kcalになるよう設定した。各試験食の栄養価計算は、エクセル栄養君 Ver.8（建帛社）を用いて算出した。試験食1人分の食材料と分量および栄養価は表1および2に示す。試験食品は食物繊維量別に高食物繊維食群・普通食群とした。対象者には12時間以上絶食とするために実験前日の夕食は21時までとし、その後は水以外摂取しないようにした。当日の朝も絶食とし、実験開始から終了までは試験食以外はミネラルウォーター500mlのみ自由摂取とした。

表1 試験食の食品および栄養価（1人分）

普通食群・食材料（g）		高食物繊維食群・食材料（g）	
シリアル	コーンフレーク 60、牛乳 150	シリアル	オールブラン（ケロッグ） 60、牛乳 150
バナナ	バナナ 100	バナナ	バナナ 100
目玉焼き	卵 50	目玉焼き	卵 50
コールスローサラダ	キャベツ 80、人参 20、スイートコーン 10、マヨネーズ 10、穀物酢 7	きんぴらごぼう	ごぼう 50、人参 30、清酒 3.5、砂糖 3、みりん 3.5、醤油 4、ごま油 2、ごま 0.5

表 2 試験食の食品および栄養価 (1 人分)

	エネルギー (kcal)	タンパク質 (g)	脂質 (g)	炭水化物 (g)	食物繊維量 (g)
普通食群	585	18.5	19.7	88.1	4.9
高食物繊維食群	558	17.6	14.2	97.6	13.2

栄養価の計算は、エクセル栄養君 ver.8 で求めた

2) 呼気ガス採集法および測定法

呼気の採集法は、「普通に呼吸して、鼻をつまんで 10 秒間息をこらえた後、吐き出す」方法で、終末呼気をコレクションバッグに採集した。採集した呼気サンプルは、ストップコック付きのシリンジに 10ml 移し、呼気水素・メタン分析装置 (SGA-1000D: (株) 呼気生化学栄養代謝研究所) に注入し、呼気中水素濃度を測定した。実験中対象者には安静を心掛けてもらい、リラックスした状態で過ごしながらい眠らないように注意した。

3) 小腸通過時間・呼気中水素総排出量

小腸通過時間は、呼気中水素濃度を測定し、最低値を見つけ、最低値より 3ppm 以上に上昇した値が 3 回連続した時点をマークし、その最初の時点を小腸通過時間とした。この時間は、食べ物が口から入り大腸に至るまでの口盲腸通過時間と考え、小腸通過時間と判断した。

呼気中水素総排出量は、累積面積 (AUC: Area under the Curve) を算出し、合計値を求めた。この値は、大腸内の腸内細菌による炭水化物の発酵の総量に比例すると考えられている。AUC は、先行研究より、 $(c_1+c_2) \times t/2 + \dots + (c_{n-1}+c_n) \times t/2$ で求めた。 c_1 は初期値、 c_2 は開始 15 分後の値、 c_n は最終値の呼気中水素濃度を表し、 t は時間を表し、時間×呼気中水素濃度により 15 分おきの総面積として求めた。

4) 血糖値測定

血糖値は自己検査用グルコース測定器 (グルテストエブリ: (株) 三和化学) を用いて、穿刺器に穿刺針をセットし、1 定量の血液をグルコース測定用試験紙に採取して測定した。測定は摂取前と試験食摂取後、30 分ごとに 3 時間測定を行った。

5) 自覚症状調査

自覚症状は、VAS: visual analogue scale を用い、対象者の主観的感觉について経過時間を追って調査した。調査項目全 11 項目 (空腹感、満腹感、吐き気、頭痛、眠気、疲労感、ガスが出る、腹が鳴る、腹痛がある、腹が鳴る、便意を感じる) について、記入用紙を使い 0 点から 10 点にて採点し、15 分ごとに 6 時間記入した。

6) 統計処理

結果は全て平均値±標準偏差で求めた。統計処理は、SPSS ver.26 のデータ分析ソフトを使い、結果の有意性の検討は、繰り返しのある二元配置分散分析を行い、行間変数 (試験食間変動)、列間変動 (時間変動) を算出した。その後の検定は、Student's t 検定を行い、いずれも有意水準 5%未満を有意差ありとした。

3 倫理的配慮

本研究実施にあたり、対象者には研究への参加は自由意志によるものであること、いつでも試験の途中で辞退でき、それにより対象者が不利益を被ることはないことは一切ないことを文書および口頭で伝え、同意書の提出をもって本研究への同意を確認した。

本研究計画は、ヘルシンキ宣言の趣旨に沿うものとともに、愛知学泉大学ヒト倫理審査委員会の承認を得た後、実施した。(承認番号 第 2021013)

4 結果

1) 対象者特性

対象者の特性を表 3 に示す。対象者は健常若年女性 11 人 (平均年齢 21 ± 0 歳、平均身長 155.9 ± 7.3 cm、平均体重 47.8 ± 3.6 kg、BMI 19.7 ± 1.4 kg/m²) であり、対象者全員が禁煙および下剤未使用者であった。

表3 対象者特性

項	目
身長 (cm)	155.9±7.3
体重 (kg)	47.8±3.6
BMI (kg/m ²)	19.7±1.4
下剤	0/11
喫煙	0/11

値は平均値±標準偏差
人数/総数

2) 自覚症状

自覚症状に関しては、食事内容と関連傾向が見られた。以下、「満腹感」と「便意を感じる」項目の結果を図3に示す。普通食群、高食物繊維食群ともに「満腹感」は摂取後15分後に最高値に達した後、徐々に減少し、4時間30分後には高食物繊維食が持続し高くなった。「便意を感じる」は、高食物繊維食群のほうが摂取後2時間15分後、3時間45分の時点で強く反応が示された。いずれの項目においても2群間に有意差は見られなかった

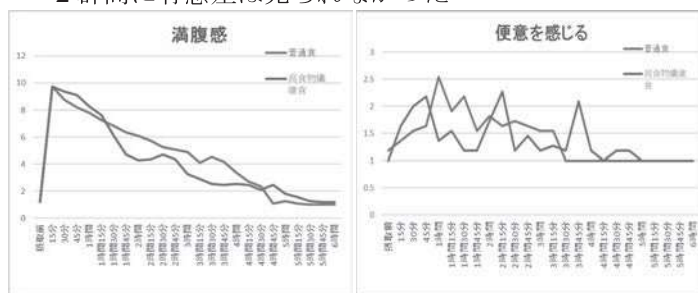


図3 自覚症状の変化

3) 血糖値

血糖値の変化を図4に示す。摂取前の空腹時血糖は普通食群 81.9±11.0mg/dl、高食物繊維食群 89.0±8.6mg/dl と共に正常範囲であった。摂取後30分後の血糖値は普通食群 116.2±17.8mg/dl、高食物繊維食群 133.9±10.8mg/dl となり、その後、緩やかに下降し3時間後はそれぞれ 99.6±8.1mg/dl、

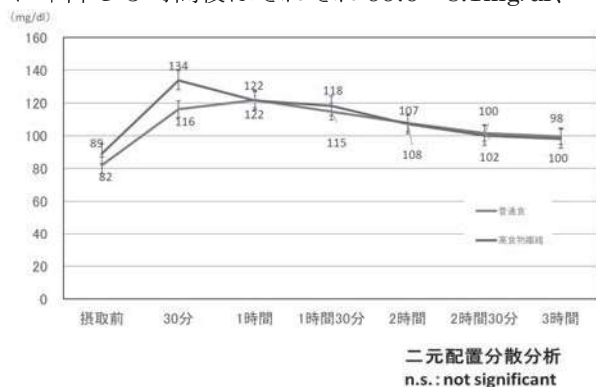


図4 血糖値の変化

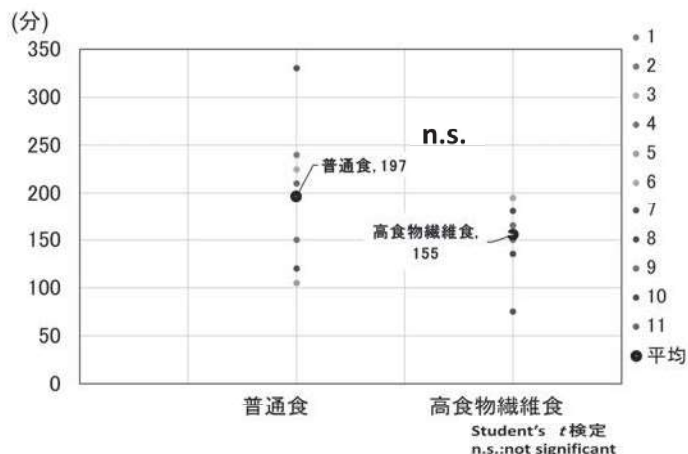


図5 小腸通過時間の比較

98.2±13.1mg/dl となったが、2群間の食事による血糖値の差は見られなかった。

4) 小腸通過時間

小腸通過時間の結果を図5に示す。小腸通過時間の平均値は、普通食群は 196.5±68.1 分、高食物繊維食群は 155.0±37.5 分であった。2群間の小腸通過時間に有意差は見られなかったが、高食物繊維食群の小腸通過時間は普通食群よりも42分早い傾向となった。

5) 呼気中水素総排出量

対象者に成人1人当たりの生活活動強度、普通にあたる食事摂取基準の1/3のエネルギーに相当する試験食を摂取してもらい、経口摂取前後の呼気中水素濃度を経過時間ごとに測定した。呼気中水素総排出量を図6に示す。呼気中水素総排出量は普通食群が 3216.7±1313.7ppm、高食物繊維食群が 8290.0±5183ppm となり、高食物繊維食群は普通食群と比べて有意に多くなった ($p<0.05$)。

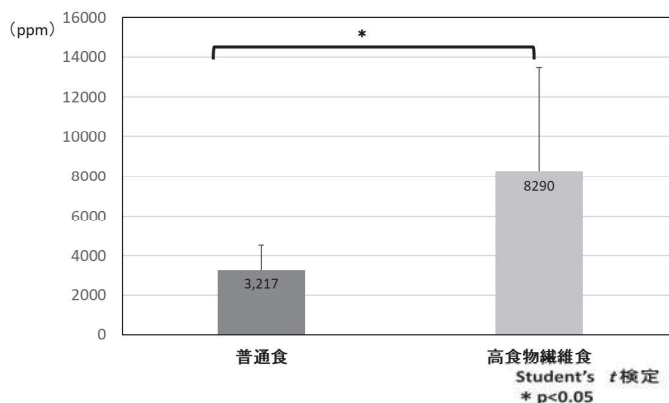


図6 呼気中水素総排出量の比較

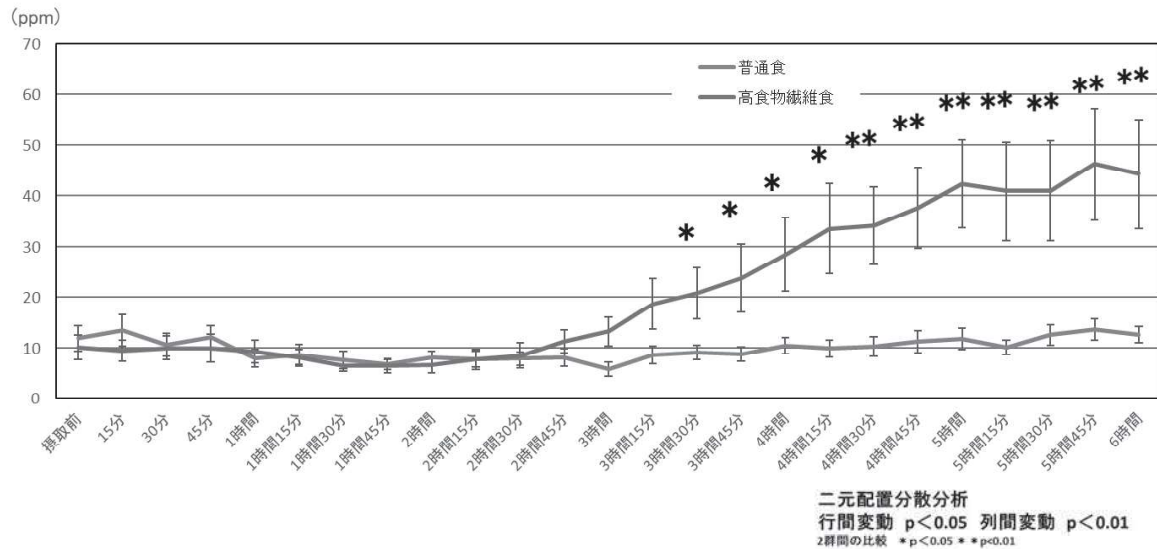


図7 普通食・高食物繊維食の呼気中水素濃度

6) 呼気中水素濃度

普通食、高食物繊維食摂取前後の呼気中水素濃度の結果を図7に示す。普通食群は摂取前、 13.92 ± 3.0 ppmであった。その後15分ごとの動態は摂取後から3時間時点まで徐々に下降した後、緩やかに上昇し、最高値は5時間45分時点で 13.08 ± 1.9 ppmと、初期値に戻った。

一方、高食物繊維食群は、摂取前は 9.82 ± 2.2 ppmであった。その後2時間時点まで徐々に下降したが、その後、5時間45分時点に至る 45.42 ± 10.0 ppmまで急激に上昇した。二元配置分散分析において、【時間】要因の主効果は、 $F=9.907$ 、自由度24、有意確立は1%水準で有意であった。また、交互作用【時間×試験食】については、 $F=10.416$ 、自由度24、有意確立1%で有意であった。さらに【試験食間】の主効果においても、 $F=6.994$ 、自由度1、有意確立5%水準で有意であった。

5 考察

近年、日本人の食生活は食の欧米化や食に関する思考の変化により、選択肢が広がっている。一方、食物繊維はヒトの消化酵素で分解されない食品の総称と定義され、1960年代半ばまで、日本人の平均食物繊維摂取量は、目標摂取量である20g以上を摂取していたが、近年青年期の平均は、急激に減少しており、循環器系疾患、2型糖尿病、便秘症など多くの生理機能に問題が生じる現状となっている。なかでも難消化性糖質は、腸内細菌の利用に影響を受け、

常在する腸内細菌の発酵にも大きく関連する。そこで今回、難消化性糖質である食物繊維量の多い食事の有意性を検討するため、消化管運動や腸内細菌の環境を知る手掛かりとなり、栄養代謝とも深いかわりがあると報告されている呼気中水素濃度の測定⁸⁾から腸内発酵の程度を検証することにした。試験食はエネルギー量や炭水化物量をほぼ同一とした普通食に対し食物繊維量を約3倍にした食事を高食物繊維食とし、この2種類の食事を対象者に投与した。

まず、食物繊維量が多い食事は、普通食に比べ小腸通過時間は短いことが示された。この高食物繊維食は、蠕動運動を促進する結果を反映したものと考えられた。Burkittの報告においても同様に高食物繊維食は呼気中水素濃度の発生が増加し消化管時間の短縮をもたらすと報告している⁹⁾。さらに奥田は、高食物繊維食は胃・結腸反射が起きやすく、小腸通過時間は短くなるとの報告をしていることから¹⁰⁾、これら本研究結果を支持すると考えられた。しかし、今回は個人差によるばらつきも大きく、群間には有意差がなかったことから、今後さらに対象者を増やし検討する必要があると考えられた。

一方、普通食の呼気中水素濃度の動態を見ると、摂取前の 13.92 ± 3.0 ppmから3時間まで下降し、最低値に減少した後、4時間まで緩やかに上昇後、ほぼ横ばいの状態となった。これは、食物繊維が少ない普通食では、消化管でほとんど消化吸收した状態になったと考えられた。一方、高食物繊維食においては、呼気中水素濃度が摂取前の 9.82 ± 2.2 ppmか

ら3時間30分後に急激な上昇がみられ、消化管でほぼ消化吸収されない難消化性糖質が、大腸まで到達した後、発酵を受けた結果、代謝産物として多く水素量の産生があったと考えられた。奥田も同様に高食物繊維食投与により、未消化物が大腸に到達することで腸内細菌による発酵が活発になったと報告している¹⁰⁾。さらに中村の報告では、呼気中水素ガス排出の観察は難消化性糖質の発酵分解性の指標として用いることができると示されていることから¹¹⁾、本研究結果を支持すると考えられた。すなわち、高食物繊維食が腸内発酵を促進し、腸内細菌に影響することを裏付ける一因となることが明らかとなった。

一般に呼気中には多種類の微量ガスが存在するが、その中には、消化吸收機能あるいは消化管内細菌叢の状態と密接に関連しているものがある^{12,13)}。なかでも水素生成能を持つヒトの腸内細菌は *Ruminococcus* 属、*Roseburia* 属、*Clostridium* 属、*Bacteroides* 属など、嫌気性細菌が存在する。この嫌気性腸内細菌が生成する水素ガスの生成が増えると大腸管腔内の水素分圧が上昇するため、発酵が阻害される。そのため、生成した水素を大腸管腔外に除く3つの経路が存在する。1つは放屁による排出(15~20%)、1つは門脈後の肺からのガス交換による排出(15~20%)、残りは細菌による水素の利用と考えられている。そして、腸内細菌叢を構成する水素生成細菌と水素利用細菌のバランスによって、正味の水素ガス発生量が決定されることが明らかとなっている¹⁴⁾。すなわち、呼気中水素ガスは、腸内環境を知る手掛かりとなるため、今回の研究において、高食物繊維食が腸内細菌叢の活性をもたらし、水素生成が促された結果、大腸水素ガスの産生も増大したと考えられ、このことは同時に水素利用細菌の活性も促進された可能性が考えられた。

さらに、大腸水素ガスは限られた組織だけではなく、全身的に供給されることも報告されている¹⁵⁾。例えば、大腸水素ガスは肝臓での酸化の軽減を介し、酸化障害を抑制することが明らかとなっている。これらは水素ガスが特異的にヒドロキシラジカルを消去することに起因すると考えられている。また、大腸水素ガスは拡散され、脂肪細胞に多く局在することも報告されている。これらの水素ガスは極めて小さい分子であり、非極性分子であるため、脂肪組織で引き起こされる酸化ストレスの軽減にも寄与している可能性が示されている。したがって、高食物繊維

食は、単に大腸発酵で水素を生成するだけではなく、発酵を介し注目すべき生理機能の一つにも挙げられる酸化ストレスの軽減や酸化障害の抑制に寄与している可能性があると考えられ、その有効性が考えられた。すなわち、高食物繊維食による腸内細菌叢の活性を高めることは、脂肪組織での酸化ストレス軽減に繋がる可能性があると考えられる。

今後は、多剤服用をして腸内細菌が乱れがちな要介護高齢者に対しても、食物繊維の生体に対する現象が確認されるか検討する必要があると考える。さらに食物繊維による腸内発酵効果という視点において、食事容量が多くなると食事が摂取しにくくなる高齢者に対し、どのような種類の食物繊維が安全に摂取出来、かつ摂取可能な量となるか、臨床試験を実施し検討する必要があると考える。

最後に本研究の限界を述べる。今回の研究では、腸内発酵の活性といった視点での検討であったため、腸内でどのような腸内細菌が活性したか把握することはできなかった。したがって、どの種類の腸内細菌が活性したのか、今後は詳細に検討する必要があると考えられた。

さらに、本研究では活性酸素や酸化ストレスの計測は実施していないため、今後は腸内細菌の活性とともに抗酸化作用との関連を明確にすることが課題となると考える。

6 要約

本研究では、腸内細菌の腸内発酵の指標として非侵襲的に測定できる呼気中水素ガス分析に着目し、摂取する食事との関連性から、高食物繊維食が腸内発酵を促進し、健康効果に影響するか、その有用性の検討を行った。

普通食群と高食物繊維食群の比較において、血糖値の差は見られなかったが、小腸通過時間では、高食物繊維食群の小腸通過時間は普通食群よりも早い傾向となった。呼気中水素総排出量の比較においては、高食物繊維食は普通食と比べて有意に多くなった。また、摂取前後の呼気水素ガスの経時的比較において、摂取後に有意な上昇が見られた。

すなわち、高食物繊維食は腸内発酵を促進し、腸内細菌に影響する一因となることが明らかとなった。

参考文献

- (1) 伊藤貞嘉、佐々木敏：厚生労働省「日本人の食事摂取基準(2020年版)」策定検討会報告書,第一出版,東京(2020)
- (2) 池上幸江：日本人の食物繊維摂取量の変遷,日本食物繊維研究会誌,1(1),3-12(1997)
- (3) 医薬基盤・健康・栄養研究所監修：国民健康・栄養の現状-令和元年厚生労働省国民健康・栄養調査報告より-,第一出版,東京(2021)
- (4) 小林弘幸：20歳若返る食物繊維 免疫力がアップする健康革命,朝日新聞出版,東京(2021)
- (5) 青木ひかる、加賀谷みえ子：呼気中水素分析による朝食内容の検討,日本食生活学会誌,25(2),93-100(2014)
- (6) Ohsawa I, Ishikawa M, Takahashi K, Watanabe M, Nishimaki K, Yamagata K, Katsura K, Katayama Y, Asoh S, Ohta S:Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals, *Nature Medicine*, 13(6),688-694(1990)
- (7) 市原正智：水素は危険物質か-水素を用いた新しい抗酸化療法の可能性-,生命健康科学研究紀要,4,65-70 (2008)
- (8) 横谷馨倫, 戸谷誠之：消化機能評価における呼気中水素ガス濃度の意義, 昭和女子大学 学苑・生活科学紀要,806,15-22 (2007)
- (9) Burkitt D, Walker A R P, N. Painter: Effect of dietary fiber on stools and transit-times, and its role in the causation of disease, *Lanset*, 30,1408-1411(1972)
- (10) 奥田真子, 加藤史香, 川合友貴, 加賀谷みえ子：食物繊維食摂取が呼気中水素および人体に及ぼす影響,日本食生活学会誌,28(2),109-117(2017)
- (11) 中村禎子,奥恒行：ヒトにおける呼気水素ガス試験による発酵分解評価の有効性とそれに基づく各種食物繊維素材のエネルギー評価の試み,*J.Jpn.Assoc.Dietary Fiber Res*,9(1),34-46(2005)
- (12) 近藤孝晴,石黒洋,三井隆弘：腸内細菌叢と栄養-呼気中 $H_2 \cdot CH_4 \cdot N_2O$ の測定-,栄養・評価と治療,18,63-68 (2001)
- (13) 石黒洋,三井隆弘,藤木理代：呼気中水素および亜酸化窒素測定による消化吸収機能および消化管内細菌叢の評価,消化器科,39,144-148 (2004)
- (14) Wolf P.G, Biswas A, Morales S.E.et al: H_2 metabolism is widespread and diverse among human colonic microbes, *Gut Microbes*,7,235-245(2016)
- (15) 森田達也, 園山慶, 辻英明：腸内細菌-宿主のクロストークと食事要因,建帛社,東京(2019)

(原稿受理年月日：2022年1月11日)