

炊飯処理後の各種米粉投与がラットの腸内発酵に与える影響

永田 龍次¹, 佐川 愛¹, 韓 圭 鎬¹, 島田 謙一郎¹,
加藤 清明², 佐藤 毅³, 福島 道広^{*1}

(2016年9月5日受付; 2016年11月18日受理)

要旨: 米のもつ腸内発酵特性に関する報告はあまりされていないため、今回はラットを用いた *in vivo* 試験において検討を行った。米粉は、北海道産米品種の系譜を継ぐ「ゆきひかり」および「ほのか224」、コシヒカリからの系譜を継ぐ「きらら397」および「しまひかり」を炊飯処理したものを、それらを30%含む食餌をラットに28日間経口投与した。その結果、コントロール群と比較して、ほのか224群において盲腸内pHの有意な低下、盲腸内酢酸濃度および総短鎖脂肪酸濃度の増加傾向（酢酸： $p = 0.067$ 、総短鎖脂肪酸： $p = 0.050$ ）、盲腸内免疫グロブリンA (IgA) 濃度および盲腸内アンモニア態窒素濃度の有意な増加を示した。ゆきひかり群は盲腸内酢酸濃度および総短鎖脂肪酸濃度の有意な増加を示し、しまひかり群は盲腸内ムチン濃度の増加傾向および盲腸内IgA濃度の有意な増加を示した。これらのことから、炊飯処理された米によって腸内発酵が増大し、それは米品種の系譜の違いに影響される可能性が示唆された。

キーワード: 米, 系譜, 腸内発酵, 短鎖脂肪酸, ラット

腸内細菌叢は多種多様な細菌から構成されており、それらの相互作用、あるいは細菌と腸管上皮との相互作用によって腸内環境に様々な影響を及ぼしている。腸内細菌は大腸に到達した難消化性の炭水化物を資化することで短鎖脂肪酸を産生する。大腸内の短鎖脂肪酸は、乳酸菌などの腸内有用菌の増加および大腸菌などの有害菌の減少に作用し、腸内細菌叢を改善している¹⁾²⁾。また、腸内細菌による炭水化物発酵は大腸内免疫グロブリンA (IgA) およびムチン分泌などに関与し³⁻⁵⁾、腸管粘膜バリア機能の調整に寄与することが報告されている⁶⁾⁷⁾。したがって、腸内細菌叢およびその発酵を管理することが腸の健康維持にとって重要だといえる。

腸内発酵に利用される炭水化物源として、デンプン、食物繊維、オリゴ糖などの研究が盛んに行われている³⁾⁸⁾⁹⁾。デンプンでは、馬鈴薯、トウモロコシおよびマメ類などはその難消化性から腸内発酵性が広く確認されており、腸内発酵における有用な基質とされている¹⁰⁻¹³⁾。

日々の食事の中で代表的なデンプン摂取源の1つとして米が挙げられる。米は日本のみならず世界中で主食として消費されており、その摂取方法は様々である。また、米粉として様々な食品へ添加するといった用途の拡大も進んでおり、より一層日常的な摂取を継続することが容易になってきている。そのため、米に栄養的価値を見出す

ことで継続的な摂取による健康効果の維持が期待できる。

米に関する報告はデンプンやタンパク質および脂質由来成分などの精製した成分に注目したものが多く、腸内発酵性や脂質代謝改善効果などが明らかにされている¹⁴⁻¹⁶⁾。しかし、実際に米を摂取する際のことを考慮すると、それらの成分が複合した状態である米そのものの栄養的価値を知ることも非常に重要であるといえる。

北海道の米品種の1つである「ゆきひかり」を米アレルギーの疑いがあるアトピー性皮膚炎患者に摂取させたところ、68.4%で臨床スコアに向上がみられ、さらにアレルギー性の下痢を誘発したマウスに投与したところ、腸内細菌叢の変化や腸管上皮細胞バリア機能の向上による腸管免疫向上の可能性が報告された¹⁷⁾。しかし、これらと関連深いとされる腸内発酵に関する報告はあまりされておらず、米の腸内に与える影響については不明な点が多い。

今回は、北海道産品種の系譜を継ぐ「ゆきひかり」および「ほのか224」と、それらとは異なる系譜でコシヒカリからの系譜を継ぐ「きらら397」および「しまひかり」を使用し、ラットを用いた *in vivo* 試験における各種米粉が腸内発酵に及ぼす影響について検討することを目的とした。

* 連絡者・別刷請求先 (E-mail: fukushim@obihiro.ac.jp)

¹ 帯広畜産大学食品科学研究部門 (080-8555 北海道帯広市稲田町西2線11番地)

² 帯広畜産大学地域環境学研究部門 (080-8555 北海道帯広市稲田町西2線11番地)

³ 地方独立行政法人北海道総合研究機構農業研究本部上川農業試験場 (078-0397 北海道上川郡比布町南1線5号)

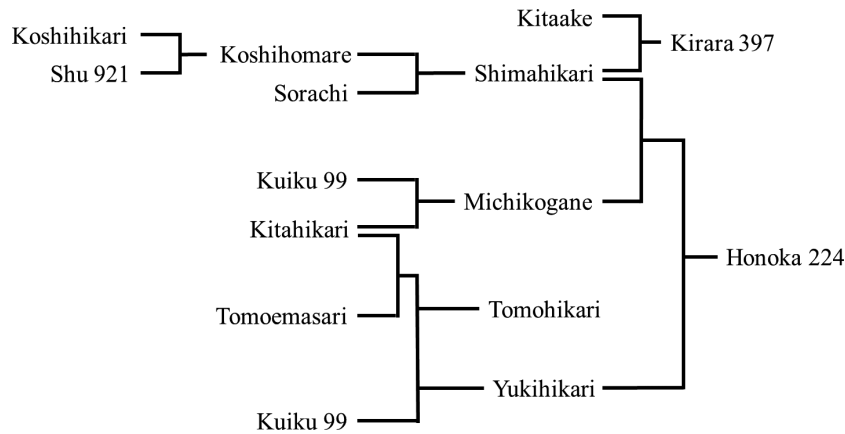


Figure 1 Genealogy of rice (Yukihihikari, Honoka 224, Kirara 397 and Shimahikari).

Table 1 Starch, Protein and Lipid content in untreated rice flour.

| g/100 g Rice flour | Yukihihikari | Honoka 224 | Kirara 397 | Shimahikari |
|--------------------|--------------|------------|------------|-------------|
| Starch | 73.9 | 71.2 | 73.0 | 73.2 |
| Protein | 6.02 | 5.66 | 5.31 | 6.57 |
| Lipid | 1.09 | 0.64 | 0.60 | 0.94 |

実験方法

1. 米の遺伝的背景および調製方法

試験食には、ゆきひかり、ほのか 224、きらら 397、しまひかりの 4 品種を用いた。ゆきひかりとほのか 224 は遺伝的に同じ系譜上にあり、主に北海道産品種の系譜を継いでいる (Figure 1)。一方、きらら 397 としまひかりも遺伝的に同じ系譜上にあり、コシヒカリからの系譜上に存在する (Figure 1)。したがってゆきひかりおよびほのか 224 と、きらら 397 およびしまひかりは異なる系譜である。これら 4 品種の未処理時のデンプン、タンパク質、脂質含量を Table 1 に示した。これらの成分はそれぞれ、市販のレジスタントスターチ測定キット (Megazyme, Wicklow, IRL)、ケルダール法 (AOAC 920.87、窒素-タンパク質換算係数 5.95)、ソックスレー抽出法 (AOAC 920.85) で測定した。これらの米をヒトが摂取することを想定して、家庭用炊飯器を用いて米および水の量を一般的な方法に倣い炊飯した。炊飯終了後、室温まで冷ましたものを凍結乾燥で十分に乾燥し、その後ミキサーに供し乾燥粉末化したものを米粉試料とした。

2. 動物実験

動物実験は 7 週齢の Fischer 系雄ラット (日本チャールス・リバー (株)、横浜、日本) を 25 匹用い、室温 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $60 \pm 5\%$ 、12 時間明暗周期 (明期 7:00 ~ 19:00) の条件下で飼育した。7 日間市販の粉末飼料で馴化後、各投与群間で体重差が出ないように 5 群に分け、オリエンタル酵母工業 (株) (東京、日本) で調製した実験食の投与を開始した。ラットの取り扱いには Guide for the Care and Use of Laboratory Animals に準じて行った¹⁸⁾。

Table 2 Composition of experimental diets.

| Ingredients (g/kg diet) | Control | Rice flour |
|-----------------------------|---------|------------|
| Casein | 200 | 200 |
| L-Cystine | 3 | 3 |
| Sucrose | 100 | 100 |
| Soybean oil | 70 | 70 |
| <i>t</i> -Butylhydroquinone | 0.014 | 0.014 |
| Cellulose | 50 | 50 |
| Mineral Mix (AIN-93G-MX) | 35 | 35 |
| Vitamin Mix (AIN-93-VX) | 10 | 10 |
| Choline bitartrate | 2.5 | 2.5 |
| Rice flour ¹ | — | 300 |
| α -Cornstarch | 529.486 | 229.486 |

¹Each of the four kinds of rice cultivars, Yukihihikari, Honoka 224, Kirara 397 and Shimahikari.

また、動物実験は帯広畜産大学動物実験委員会より承認 (承認番号: 第 26-20 号) を得て行った。

投与群はそれぞれ、AIN93G を基準食として与えたコントロール群、基準食の 30% にあたる α -コーンスターチを各種米粉と置換して与えた、ゆきひかり群、ほのか 224 群、きらら 397 群、しまひかり群とした。実験食の成分組成は Table 2 に示す。投与期間は 4 週間とし、食餌および水は自由摂取とした。毎朝摂食量の測定を行い、週に 1 度体重の測定を行った。投与期間終了後ラットにネンプタール腹腔内注射によって麻酔し盲腸を摘出した。盲腸はその全体および組織の重量を測定した。内容物を採取し滅菌蒸留水で懸濁したものを pH¹⁹⁾ および細菌数の測定に供し、残りの懸濁液は各種分析まで -30°C で保存した。

3. 盲腸内容物における各種分析

3.1 短鎖脂肪酸濃度の測定 盲腸内短鎖脂肪酸濃度(酢酸, プロピオン酸, 酪酸)は高速液体クロマトグラフ(HPLC)(LC-10AD, 島津製作所, 京都, 日本)を用いて測定した。HPLC用試料は以前の我々の方法を参考に調製した¹⁹⁾。盲腸内容物懸濁液の上清400 μ Lに70%過塩素酸水溶液を60 μ L添加し遠心分離(10,000 rpm, 4°C, 30分)することでタンパク質を除去し, 得られた上清をセルロースアセテート膜フィルター(0.45 μ m, 東洋濾紙(株), 東京, 日本)に通してHPLC用試料とした。HPLCの設定条件は以前の方法に従った²⁰⁾。3種の短鎖脂肪酸の合計を総短鎖脂肪酸とした。

3.2 ムチン濃度の測定 盲腸内ムチン濃度は, 盲腸内容物懸濁液を用いてBovee-Oudenhoven *et al.*の方法で抽出し²¹⁾, 蛍光アッセイによって測定した²²⁾。

3.3 IgA濃度の測定 盲腸内IgA濃度は, 盲腸内容物懸濁液を遠心分離し(10,000 rpm, 4°C, 30分)得られた上清を用いてRat IgA ELISA Quantitation Kit (Bethyl Laboratories, Montgomery, Texas, USA)により測定した。

3.4 アンモニア態窒素濃度の測定 盲腸内アンモニア態窒素は, 盲腸内容物懸濁液を遠心分離し(10,000 rpm, 4°C, 30分)得られた上清を用いて血液検査用アンモニアキット(和光純薬工業(株), 大阪, 日本)により測定した。

3.5 腸内細菌数の測定 盲腸内細菌数の測定は盲腸内容物懸濁液および各種選択培地を用いて以前の我々の方法を参考にして行った²⁰⁾。大腸菌群および乳酸菌はそれぞれ, EMB寒天培地(栄研化学(株), 東京, 日本), MRS寒天培地(Oxoid, Hampshire, UK)を用いて37°Cで培養した。一般嫌気性菌, ラクトバチルス菌およびビフィズス菌はそれぞれ, BL寒天培地(栄研化学(株)), ROGOSA寒天培地(Oxoid), TOSプロピオン酸寒天培地(ヤクルト薬品工業(株), 東京, 日本)を用いて, Mitsuka *et al.*²³⁾の方法に準じてGasPakにより37°Cで培養した。コロニー数は盲腸内容物1gあたりの常用対数で表した。

4. 統計解析

すべてのデータを平均値 \pm 標準誤差で表した。各データにおける群間の有意差検定は一元配置分散分析(ANOVA)後, Tukeyの多重比較を用いた。2変数間の相関関係にはPearsonの相関係数を用いて行った。各検定における統計学的有意水準は $p < 0.05$ とした。

結 果

1. 体重, 摂食量

飼育28日間での体重増加量および摂食量に群間で有意な差はみられなかった(Table 3)。

2. 盲腸重量およびpH

盲腸内容物重量は群間で有意な差はみられなかった

(Table 3)。盲腸内pHは, ほのか224群でコントロール群よりも有意に低下し, きらら397群($p = 0.064$)およびしまひかり群($p = 0.067$)よりも低下傾向を示した(Table 3)。

3. 盲腸内短鎖脂肪酸濃度

酢酸濃度および総短鎖脂肪酸濃度は, コントロール群と比較してゆきひかり群で有意に増加し, ほのか224群では増加傾向を示した(酢酸: $p = 0.067$, 総短鎖脂肪酸: $p = 0.050$) (Table 3)。酪酸濃度は, ゆきひかり群でコントロール群よりも増加傾向を示し($p = 0.060$)。北海道産品種の系譜を継ぐ2品種で短鎖脂肪酸産生の向上がみられた。プロピオン酸濃度に各群有意な差はみられなかった。

4. 盲腸内ムチン濃度およびIgA濃度

盲腸内ムチン濃度は, しまひかり群においてコントロール群よりも増加傾向を示し($p = 0.082$)。ゆきひかり群よりも有意な増加を示した(Table 3)。

盲腸内IgA濃度は, コントロール群と比較してほのか224群およびしまひかり群で有意な増加を示した(Table 3)。また, 盲腸内pHと有意な負の相関関係を示し($r = -0.518$, $p < 0.01$)。盲腸内酢酸, 酪酸および総短鎖脂肪酸濃度と有意な正の相関関係を示した(酢酸: $r = 0.490$, $p < 0.02$, 酪酸: $r = 0.619$, $p < 0.01$, 総短鎖脂肪酸: $r = 0.535$, $p < 0.01$)。

5. 盲腸内アンモニア態窒素濃度

盲腸内アンモニア態窒素濃度は, ほのか224群でコントロール群およびきらら397群よりも有意に増加し, しまひかり群よりも増加傾向を示した($p = 0.058$) (Table 3)。また, ゆきひかり群においてもきらら397群よりも有意な増加を示した。

6. 盲腸内細菌数

コントロール群と比較して, きらら397群において一般嫌気性菌数の有意な低下および乳酸菌数の低下傾向($p = 0.074$)を示した(Table 3)。また, しまひかり群においてコントロール群よりもラクトバチルス菌の有意な低下がみられた。ビフィズス菌数および大腸菌群数に各群有意な差はみられなかった。

考 察

今回は, 北海道産米品種の系譜を継ぐ「ゆきひかり」および「ほのか224」, コシヒカリの系譜を継ぐ「きらら397」および「しまひかり」をそれぞれ炊飯処理した粉末を30%含有した飼料を28日間ラットに投与し, 腸内発酵特性を検討した。

盲腸内酢酸および総短鎖脂肪酸濃度は, ゆきひかり群およびほのか224群においてコントロール群よりも有意な増加もしくは増加傾向がみられ, 酪酸濃度はゆきひかり群で増加傾向を示した。さらに, 盲腸内pHはほのか224群でゆきひかり群以外の3群よりも有意な低下もしくは低下傾向を示した。腸内細菌の炭水化物発酵による

Table 3 Body weight gain, food intake and cecal status in rats fed the control diet or a diet containing 30% rice flour for 28 days.

| | Control | Yukihikari | Honoka 224 | Kirara 397 | Shimahikari |
|--|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|
| Body weight gain (g/28 d) | 63.3 ± 3.08 | 72.1 ± 4.75 | 72.3 ± 2.13 | 72.8 ± 1.89 | 72.0 ± 4.41 |
| Food intake (g/28 d) | 394 ± 7.26 | 404 ± 10.2 | 396 ± 6.01 | 389 ± 7.76 | 391 ± 7.22 |
| Cecal content | | | | | |
| Weight (g) | 2.18 ± 0.12 | 2.34 ± 0.23 | 2.79 ± 0.30 | 2.28 ± 0.05 | 2.18 ± 0.31 |
| pH | 7.41 ± 0.05 ^a | 7.21 ± 0.03 ^{ab} | 7.15 ± 0.05 ^b | 7.37 ± 0.04 ^{ab} | 7.37 ± 0.09 ^{ab} |
| SCFA (μ mol/g content) | | | | | |
| Acetate | 79.1 ± 6.77 ^b | 105 ± 7.05 ^a | 102 ± 5.56 ^{ab} | 88.4 ± 5.08 ^{ab} | 89.8 ± 3.48 ^{ab} |
| Propionate | 11.3 ± 1.14 | 14.0 ± 0.95 | 13.4 ± 1.17 | 12.6 ± 0.29 | 11.0 ± 0.56 |
| n-Butyrate | 4.55 ± 0.37 | 8.42 ± 1.22 | 7.48 ± 0.25 | 6.48 ± 0.60 | 7.66 ± 1.55 |
| Total | 94.9 ± 8.18 ^b | 127 ± 8.25 ^a | 123 ± 6.25 ^{ab} | 107 ± 5.63 ^{ab} | 108 ± 3.77 ^{ab} |
| Mucin (mg/g content) | 3.55 ± 0.07 ^{ab} | 3.44 ± 0.05 ^b | 3.67 ± 0.11 ^{ab} | 3.74 ± 0.04 ^{ab} | 3.88 ± 0.13 ^a |
| IgA (mg/g content) | 0.19 ± 0.02 ^b | 0.32 ± 0.05 ^{ab} | 0.43 ± 0.04 ^a | 0.29 ± 0.01 ^{ab} | 0.38 ± 0.06 ^a |
| NH ₄ -N (mg/g content) | 0.48 ± 0.04 ^{bc} | 0.63 ± 0.05 ^{ab} | 0.68 ± 0.06 ^a | 0.43 ± 0.02 ^c | 0.52 ± 0.02 ^{abc} |
| Bacteria (log ₁₀ CFU/g content) | | | | | |
| Anaerobes | 8.89 ± 0.26 ^a | 8.71 ± 0.03 ^{ab} | 8.53 ± 0.08 ^{ab} | 8.17 ± 0.23 ^b | 8.35 ± 0.08 ^{ab} |
| Lactic acid bacteria | 8.16 ± 0.16 | 7.92 ± 0.13 | 7.85 ± 0.02 | 7.73 ± 0.13 | 7.90 ± 0.05 |
| <i>Lactobacillus</i> | 7.46 ± 0.44 ^a | 6.55 ± 0.25 ^{ab} | 6.64 ± 0.31 ^{ab} | 6.53 ± 0.15 ^{ab} | 6.19 ± 0.17 ^b |
| <i>Bifidobacterium</i> | 7.06 ± 0.08 | 7.04 ± 0.16 | 7.18 ± 0.10 | 7.29 ± 0.17 | 7.02 ± 0.09 |
| Coliform | 7.59 ± 0.21 | 7.06 ± 0.25 | 7.01 ± 0.16 | 7.25 ± 0.22 | 7.34 ± 0.13 |

Values are expressed as mean ± SE, $n = 5$. ^{a,b}Mean values within a row with unlike superscript letters are significantly different ($p < 0.05$), as determined by ANOVA with Tukey's test.

短鎖脂肪酸産生とそれに伴う盲腸内 pH の低下は広く知られていることから²⁴⁾, ゆきひかりおよびほのか 224 に含まれる炭水化物が腸内細菌に利用され腸内発酵を増大したことが示唆された。

盲腸内 IgA 濃度はほのか 224 群でコントロール群よりも有意に増加した。さらに, 盲腸内 pH と有意な負の相関を示し Komura *et al.* の報告と一致していた⁸⁾。しかし, Komura *et al.* の報告ではラットへのフルクトオリゴ糖 (FOS) 食給餌 4 週間後に盲腸内 IgA においてコントロール群との差はみられなかったが⁸⁾, 米粉を用いた本研究では有意な差を示した。これらの理由については明らかでないが, Komura *et al.* は FOS 食給餌開始後短期間での乳酸産生の増加と, それに伴う盲腸内 pH の低下が IgA 分泌を促進するとしている⁸⁾。それに対して本研究では, 盲腸内 IgA 濃度と pH との相関に加え, 盲腸内酢酸, 酪酸および総短鎖脂肪酸濃度との間にも有意な正の相関がみられた。これは Ebihara *et al.* のヒドロキシプロピル化デンプンを用いた 4 週間のラット試験の報告と一致していた²⁵⁾。したがって, 今回の盲腸内短鎖脂肪酸濃度の増加やそれに伴う pH の低下が IgA 分泌を刺激した可能性が考えられる。しかしながら, しまひかり群では盲腸内 pH および短鎖脂肪酸濃度においてコントロール群に対して有意な変化を示さなかったが, 盲腸内 IgA 濃度はコントロール群より有意な増加を示した。これらの影響をもたらした原因は不明であるが, ラットでは, 血清中の IgA が肝細胞表面膜に存在する受容体を介して肝細胞にとりこまれ胆汁中に分泌される機構があ

り, 胆汁中にはかなりの量の IgA が含まれるとされている²⁶⁾。今回胆汁中 IgA 濃度の分析は行っていないが, 米に含まれる難消化性多糖類以外の成分が腸内発酵に関与しない異なる機構で盲腸内 IgA 分泌を増加させた可能性も考えられることから, 今後検討する必要がある。

さらに, 腸管バリア機能に寄与する盲腸内ムチン濃度においても, しまひかり群はコントロール群より増加傾向を示し ($p = 0.082$), ゆきひかり群と比較して有意に増加した。盲腸内ムチンの分泌は短鎖脂肪酸の増加に伴い刺激されることが示されているが²⁷⁾, 今回は盲腸内ムチン濃度と短鎖脂肪酸濃度との間に相関はみられなかった。腸内のムチンは杯細胞から分泌され, その分泌増加機構は個々の杯細胞からの分泌量が増加するか, もしくは杯細胞の数が増加する 2 パターンに分けられる²⁸⁾。短鎖脂肪酸のムチン分泌については杯細胞からの分泌量の増加に起因していることが報告されているが²⁹⁾, 不溶性食物繊維や水溶性食物繊維はその保水性もしくは粘性の程度に比例して杯細胞数を増加しムチン量を増加するといった報告もされている³⁰⁾³¹⁾。また, ラットへのスレオニンの給餌が腸管でのムチン分泌増加に関連するなど³²⁾, 難消化性多糖類だけでなく様々な食餌要因が影響を及ぼす可能性も報告されている。したがって, しまひかりに含まれる成分の詳細および腸管の杯細胞数などへの影響を検討し, 原因を追究することが必要と考えられる。

今回, 各種米粉添加群で各種腸内細菌数に有用な結果は得られなかった。乳酸菌, ラクトバチルス菌, ビフィズス菌といった有用菌の増加と, 腸内発酵による短鎖脂

脂肪酸産生の増加は大きく関連している¹⁾。しかし、腸内発酵にはこれらの細菌以外に多種多様な細菌叢が密接に関連しており、動物実験において炭水化物源の異なる飼料を投与した群間で腸内細菌叢組成や、発酵産物および腸内環境に差がみられた例が報告されている¹⁷⁾²⁵⁾。したがって、盲腸内の短鎖脂肪酸やアンモニア態窒素の産生に米品種間で違いがみられたことから細菌叢の変動が示唆され、今後細菌叢解析を行って明確にする必要がある。

腸内細菌は基質として炭水化物だけでなくタンパク質も利用する³³⁾。さらに、大腸に到達したタンパク質は腸内細菌による炭水化物発酵を促進し短鎖脂肪酸産生を増加することが報告されており、タンパク質源として米タンパク質を含む食餌をラットに与えたところ、カゼイン食群よりも盲腸内短鎖脂肪酸量を増加し pH を低下した³⁴⁾。米の貯蔵タンパク質の 1 つにプロラミンがある。プロラミンは消化抵抗性を示し³⁵⁾、それは炊飯により増加するとされている³⁶⁾。さらに、コシヒカリ中の貯蔵タンパク質はプロラミンの割合が低く、消化抵抗性が低いといった報告がある³⁷⁾。さらに 397 およびしまひかりはコシヒカリの系譜を継ぐ品種であることから、タンパク質組成がコシヒカリに類似している可能性が考えられる。したがって、ゆきひかり群およびほのか 224 群はさらに 397 群およびしまひかり群よりも、多くの米タンパク質もしくはそれに由来する窒素化合物が盲腸に到達し、腸内細菌による炭水化物発酵をより促進した可能性が示唆される。

盲腸内アンモニア態窒素濃度は、ほのか 224 群でコントロール群、さらに 397 群およびしまひかり群よりも有意な増加もしくは増加傾向を示し、ゆきひかり群もさらに 397 群より有意に増加し、北海道産品種の系譜を継ぐ 2 品種で増加がみられた。アンモニア態窒素は、腸内細菌が難消化性タンパク質などの窒素化合物を資化することにより産生される³³⁾。アンモニア態窒素産生の推移に短鎖脂肪酸濃度との類似がみられることから、先に述べたプロラミンによる難消化性タンパク質量の増加の影響が考えられる。

以上の結果をまとめると、ラットへの炊飯後の各種米粉投与において、北海道産米品種の系譜を継ぐ「ゆきひかり」および「ほのか 224」は、盲腸内短鎖脂肪酸濃度を増加させ、特にほのか 224 はそれに伴い盲腸内 pH の低下および盲腸内 IgA 濃度の増加を示したことから、腸内環境の改善効果が示唆された。コシヒカリからの系譜を継ぐ「しまひかり」も盲腸内ムチン濃度および IgA 濃度の増加を示し、腸管バリア機能の向上が示唆されたが、短鎖脂肪酸濃度や pH に変化は無くほのか 224 とは異なる機構である可能性が考えられる。これらのことから、同一系譜上にある品種の発酵性は類似し、異なる系譜上の品種間では発酵特性に差が生じる可能性が示唆された。その原因として米の成分の違いが考えられ、今後検討していくことが必要である。

イネ品種の種子は、地方独立行政法人北海道立総合研究機構農業研究本部中央農業試験場遺伝資源部ならびに国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構遺伝資源センターから分譲された。また、供試した米は北海道大学北方生物圏フィールド科学センター生物生産研究農場で生産され、高牟禮逸朗博士には多大なるご支援をいただいた。本研究は、公益財団法人飯島藤十郎記念食品科学振興財団からの研究助成金によって実施された。

文 献

- 1) Topping DL, Clifton PM (2001) Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. *Physiol Rev* **81**: 1031-64.
- 2) Borner FR, Brouns F (2002) Immune-stimulating and gut health promoting properties of short-chain fructo-oligosaccharides. *Nutr Rev* **60**: 326-34.
- 3) Ito H, Wada T, Ohguchi M, Sugiyama K, Kiriyama S, Morita T (2008) The degree of polymerization of inulin-like fructans affects cecal mucin and immunoglobulin A in rats. *J Food Sci* **73**: 36-41.
- 4) Kudoh K, Shimizu J, Wada M, Takita T, Kanke Y, Innami S (1998) Effect of indigestible saccharides on B lymphocyte response of intestinal mucosa and cecal fermentation in rats. *J Nutr Sci Vitaminol* **44**: 103-12.
- 5) Kudoh K, Shimizu J, Ishiyama A, Wada M, Takita T, Kanke Y, Innami S (1999) Secretion and excretion of immunoglobulin A to cecum and feces differ with type of indigestible saccharides. *J Nutr Sci Vitaminol* **45**: 173-81.
- 6) Bouvet JP, Fischetti VA (1999) Diversity of antibody-mediated immunity at the mucosal barrier. *Infect Immun* **67**: 2687-91.
- 7) Rescigno M (2011) The intestinal epithelial barrier in the control of homeostasis and immunity. *Trends Immunol* **32**: 256-64.
- 8) Komura M, Fukuta T, Genda T, Hino S, Aoe S, Kawagishi H, Morita T (2014) A short-term ingestion of fructo-oligosaccharides increases immunoglobulin A and mucin concentrations in the rat cecum, but the effects are attenuated with the prolonged ingestion. *Biosci Biotechnol Biochem* **78**: 1592-602.
- 9) Han KH, Kobayashi Y, Nakamura Y, Shimada K, Aritsuka T, Ohba K, Morita T, Fukushima M (2014) Comparison of the effects of longer chain inulins with different degrees of polymerization on colonic fermentation in a mixed culture of swine fecal bacteria. *J Nutr Sci Vitaminol* **60**: 206-12.
- 10) Morita T, Hino S, Ito A, Han KH, Shimada K, Fukushima M (2013) Slower fermentation rate of potato starch relative to high-amylose cornstarch contributes to the higher proportion of cecal butyrate in rats. *Biosci Microbiota Food Health* **32**: 149-56.
- 11) Fohse JM, Gänzle MG, Regmi PR, van Kempen TA, Zijlstra RT (2015) High amylose starch with low in vitro digestibility stimulates hindgut fermentation and has a bifidogenic effect in weaned pigs. *J Nutr*

- 145: 2464-70.
- 12) Han KH, Fukushima M, Shimizu K, Kojima M, Ohba K, Tanaka A, Shimada K, Sekikawa M, Nakano M (2003) Resistant starches of beans reduce the serum cholesterol concentration in rats. *J Nutr Sci Vitaminol* **49**: 281-6.
 - 13) Han KH, Hayashi N, Hashimoto N, Shimada K, Sekikawa M, Noda T, Fukushima M (2008) Feeding potato flakes affects cecal short-chain fatty acids, microflora and fecal bile acids in rats. *Ann Nutr Metab* **52**: 1-7.
 - 14) Cheng HH, Lai MH (2000) Fermentation of resistant rice starch produces propionate reducing serum and hepatic cholesterol in rats. *J Nutr* **130**: 1991-5.
 - 15) Yang L, Chen JH, Lv J, Wu Q, Xu T, Zhang H, Liu QH, Yang HK (2012) Rice protein improves adiposity, body weight and reduces lipids level in rats through modification of triglyceride metabolism. *Lipids Health Dis* **13**: 11-24.
 - 16) Qureshi AA, Sami SA, Salser WA, Khan FA (2002) Dose-dependent suppression of serum cholesterol by tocotrienol-rich fraction (TRF 25) of rice bran in hypercholesterolemic humans. *Atherosclerosis* **161**: 199-207.
 - 17) Sonoyama K, Ogasawara T, Goto H, Yoshida T, Takemura N, Fujiwara R, Watanabe J, Ito H, Morita T, Tokunaga Y, Yanagihara T (2010) Comparison of gut microbiota and allergic reactions in BALB/c mice fed different cultivars of rice. *J Nutr* **139**: 218-26.
 - 18) National Research Council. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, <http://nap.edu/html/labrats/>
 - 19) Han KH, Lee C, Kinoshita M, Oh C, Shimada K, Fukushima M (2016) Spent turmeric reduces fat mass in rats fed a high-fat diet. *Food Funct* **7**: 1814-24.
 - 20) Han KH, Azuma S, Fukushima M (2014) *In vitro* fermentation of spent turmeric powder with a mixed culture of pig faecal bacteria. *Food Funct* **5**: 2446-52.
 - 21) Bovee-Oudenhoven IM, Termont DS, Heidt PJ, Van der Meer R (1997) Increasing the intestinal resistance of rats to the invasive pathogen *Salmonella enteritidis*: additive effects of dietary lactulose and calcium. *Gut* **40**: 497-504.
 - 22) Crowther RS, Wetmore RF (1987) Fluorometric assay of O-linked glycoproteins by reaction with 2-cyanoacetamide. *Anal Biochem* **163**: 170-4.
 - 23) Mitsuoka T, Segal T, Yamamoto S (1965) Improved methodology of qualitative and quantitative analysis of the intestinal flora of man and animals (in German). *Zentralbl Bakteriol Orig* **195**: 455-69.
 - 24) Topping DL, Fukushima M, Bird AR (2003) Resistant starch as a prebiotic and synbiotic: state of the art. *Proc Nutr Soc* **62**: 171-6.
 - 25) Ebihara K, Tachibe M, Kaneko N, Kishida T (2013) Hydroxypropylation of high-amylose maize starch changes digestion and fermentation-dependent parameters in rats. *J Nutr Sci* **2**: 1-10.
 - 26) 大嶋哲夫, 嵐 方之, 吉崎榮泰, 阿部 敬, 赤保内良和, 谷内 昭 (1983) 胆汁 IgA に関する研究. 日本消化器病学会雑誌 **80**, 1461-7.
 - 27) Shimotoyodome A, Meguro S, Hase T, Tokimitsu I, Sakata T (2000) Short chain fatty acids but not lactate or succinate stimulate mucus release in the rat colon. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* **125**: 525-31.
 - 28) Specian RD, Oliver MG (1991) Functional biology of intestinal goblet cells. *Am J Physiol* **260**: 183-93.
 - 29) Gaudier E, Rival M, Buisine MP, Robineau I, Hoebler C (2009) Butyrate enemas upregulate Muc genes expression but decrease adherent mucus thickness in mice colon. *Physiol Res* **58**: 111-9.
 - 30) Tanabe H, Sugiyama K, Matsuda T, Kiriyama S, Morita T (2005) Small intestinal mucins are secreted in proportion to the settling volume in water of dietary indigestible components in rats. *J Nutr* **135**: 2431-7.
 - 31) Ito H, Satsukawa M, Arai E, Sugiyama K, Sonoyama K, Kiriyama S, Morita T (2009) Soluble fiber viscosity affects both goblet cell number and small intestine mucin secretion in rats. *J Nutr* **139**: 1640-7.
 - 32) Faure M, Moënnoz D, Montigon F, Mettraux C, Breuillé D, Ballèvre O (2005) Dietary threonine restriction specifically reduces intestinal mucin synthesis in rats. *J Nutr* **135**: 486-91.
 - 33) Macfarlane GT, Cummings JH, Allison C (1986) Protein degradation by human intestinal bacteria. *J Gen Microbiol* **132**: 1647-56.
 - 34) Morita T, Kasaoka S, Ohhashi A, Ikai M, Numasaki Y, Kiriyama S (1998) Resistant proteins alter cecal short-chain fatty acid profiles in rats fed high amylose cornstarch. *J Nutr* **128**: 1156-64.
 - 35) Ogawa M, Kumamaru T, Satoh H, Iwata N, Omura T, Kasai Z, Tanaka K (1987) Purification of protein body-I of rice seed and its polypeptide composition. *Plant Cell Physiol* **28**: 1517-27.
 - 36) Kubota M, Saito Y, Masumura T, Watanabe R, Fujimura S, Kadowaki M (2014) *In vivo* digestibility of rice prolamin/protein body-I particle is decreased by cooking. *J Nutr Sci Vitaminol* **60**: 300-4.
 - 37) Yang L, Kumagai T, Kawamura H, Watanabe T, Kubota M, Fujimura S, Watanabe R, Kadowaki M (2007) Effects of rice proteins from two cultivars, Koshihikari and Shunyo, on cholesterol and triglyceride metabolism in growing and adult rats. *Biosci Biotechnol Biochem* **71**: 694-703.

J Jpn Soc Nutr Food Sci **70**: 61–67 (2017)

Original Paper

Effects of Cooked Rice Flours on Cecal Fermentation in Rats

Ryuji Nagata,¹ Ai Sagawa,¹ Kyu-Ho Han,¹ Kenichiro Shimada,¹
Kiyooki Kato,² Takashi Sato,³ and Michihiro Fukushima^{*1}

(Received September 5, 2016; Accepted November 18, 2016)

Summary: The effects of cooked rice flours on cecal fermentation in rats were examined. The rice flours used were Yukihihikari and Honoka 224, which have the genealogy of the rice cultivar Hokkaido, and Kirara 397 and Shimahikari, which have the genealogy of the cultivar Koshihikari. Rats were fed either a control diet or one of the experimental diets each containing one of the four rice flours as a starch source. The animals were fed the diet at 300 g/kg for 28 days. In comparison with the control group, the rats fed Honoka 224 were found to have a significantly lower cecal pH, their cecal concentrations of acetate and total short-chain fatty acids (SCFA) tended to be higher (acetate: $p = 0.067$, total-SCFA: $p = 0.050$), and their immunoglobulin A (IgA) and ammonia nitrogen concentrations were significantly higher. In the rats fed Yukihihikari, the cecal acetate and total SCFA concentrations were significantly higher. In the rats fed Shimahikari, the cecal mucin concentration tended to be higher and the cecal IgA concentration was significantly higher. Collectively, these findings suggest that consumption of cooked rice improves cecal fermentation, and that this effect is influenced by the genealogy of the rice.

Key words: rice, genealogy, cecal fermentation, short-chain fatty acid, rat

* Corresponding author (E-mail: fukushim@obihiro.ac.jp)

¹ Department of Food Science, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Inada-cho, Obihiro, Hokkaido 080-8555, Japan

² Department of Agro-Environmental Science, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Inada-cho, Obihiro, Hokkaido 080-8555, Japan

³ Hokkaido Research Organization, Agricultural Research Department Kamikawa Agricultural Experiment Station, Pippu-cho, Kamikawagun, Hokkaido 078-0397, Japan