

α -結合ガラクトオリゴ糖摂取が一過性下痢誘発に及ぼす 影響ならびにその最大無作用量

- a) 鳥取大学医学部保健学科生体制御学講座
- b) 信州大学農学部応用生命科学科
- c) 株式会社横浜国際バイオ研究所

笠木 健^{a)}, 浦上克哉^{a)}, 谷口美也子^{a)}, 中村政則^{a)},
山下亜希子^{b)}, 橋本博之^{b)}, 岸野恵理子^{c)}, 伊藤哲也^{c)}, 藤田孝輝^{c)}

Effect of α -linked galactooligosaccharide on transitory diarrhea and estimation of maximum non-effective dose.

Takeshi KASAGI^{a)}, Katsuya URAKAMI^{a)}, Miyako TANIGUCHI^{a)},
Masanori NAKAMURA^{a)}, Akiko YAMASHITA^{b)}, Hiroyuki HASHIMOTO^{b)},
Eriko KISHINO^{c)}, Tetsuya ITO^{c)}, Koki FUJITA^{c)}

*a) Department of Biological regulation, School of Health Science, Faculty of Medicine,
Tottori University*

b) Department of Bioscience and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Shinshu University

c) Bio Research Corporation of Yokohama

ABSTRACT

It is known that nondigestible oligosaccharides involve the side effect of diarrhea when orally ingested in a single large dose.

In order to investigate the effect of the nondigestible α -linked galactooligosaccharide (α -GOS) on transitory diarrhea, we examined whether watery stool is caused by oral administration of α -GOS with 41 healthy subjects (11 males and 30 females). The amounts of α -GOS administered were 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6 and 0.7 g/kg body weight. The intake of the α -GOS was stopped at dose level that caused diarrhea or when the dose reached the maximal level.

As a result, the administration of 0.4-0.7 g/kg body weight of α -GOS caused diarrhea. The maximum non-effective dose of α -GOS was estimated as 0.25 g/kg body weight for males and 0.33 g/kg body weight for females by using the regression equation between the dose levels of α -GOS and the cumulative incidence of diarrhea.

These results suggest that it would be quite acceptable to administer α -GOS up to 5 fold of a standard daily amount (3 g/day). (Accepted on September 5, 2005)

Key words : α -linked galactooligosaccharide, nondigestible oligosaccharides,
maximum non-effective dose, transitory diarrhea

はじめに

腸内フローラを構成する菌の一つであるビフィズス菌は、健康と密接な関わりを持つことが知られ、ヒトにおける腸内環境改善効果^{1,2)}、マウスにおける免疫賦活効果^{3,4)}および発ガン抑制効果⁵⁾などの幅広い生理機能が報告されている。ビフィズス菌の有用性が確認されるにつれ、ビフィズス菌を選択的に増殖させるプレバイオティクスとしての難消化性のオリゴ糖が注目されている。多くのビフィズス菌は α -ガラクトシダーゼ活性を特異的に有しており、 α -ガラクトシドに対する選択的利用性が他の菌種に比較して高いため^{6,7)}、 α -ガラクトシル基を含むオリゴ糖は、プレバイオティクスとしての有用性が高いと考えられる。

α -ガラクトシル基を含む糖質は、天然にはスタキオース、ラフィノースやメリビオースが知られているが、著者らはガラクトースに麹菌由来の α -ガラクトシダーゼを作用させることにより、ガラクトース同士が α 結合した重合度2から8糖の α -結合ガラクトオリゴ糖(α -GOS)を効率良く合成できることを見出している⁸⁾。これまでに、 α -GOSは難消化性のオリゴ糖であり、ヒトでは1日3g摂取することで腸内のビフィズス菌数が有意に増加し、便秘傾向者では排便日数、排便回数、排便量が増加することを確認している⁹⁾。

難消化性の糖アルコールやオリゴ糖は、ヒト腸管ではほとんど吸収されないため、一度に多量に摂取した場合には、下痢を誘発することが知られている¹⁰⁻¹²⁾。

そこで、本研究では、難消化性の糖質である α -GOSを多量に摂取したときの便性状に及ぼす影響を検討し、下痢を誘発しない最大無作用量を調べることを目的とした。

材料および方法

1. 被験者

次のような選択基準と除外基準を設けて健康人41名(男性11名, 女性30名)を被験者とした。

1) 選択基準

- ①本試験の実施計画を説明し、インフォームド・コンセントが得られた者
- ②本試験中に何らかの医療行為を受ける予定のない者
- ③特に日常腹部に影響を及ぼすような薬剤や食

品を服用しない者

2) 除外基準

- ①食事に過敏で腹部症状に異常が生じやすい者
- ②肝障害, 腎障害, 心血管障害, 呼吸器障害, 内分泌障害, アレルギー症等の罹患歴のある者

本試験は、ヘルシンキ宣言の趣旨に則って、鳥取大学医学部倫理審査委員会の審議を受けて承認(受付番号510)を得た後に実施を開始した。また、被験者には試験の目的, 方法, 摂取食品の性状, 試験によって起こりうる症状, 試験開始後でもいつでも撤回できること等について十分に説明し、文書による同意を得た後に参加してもらった。

2. 試験物質

α -GOSは既報⁸⁾に従い調製した。なお、本試験に使用した α -GOSの糖組成は、2糖類58% (α 1,6結合67%, α 1,4結合3%, α 1,3結合17%, α 1,2結合5%, α 1,1結合8%), 3糖類28%, 4~8糖類14%であった。

3. 試験物質の摂取量と摂取条件

被験者全員が α -GOS摂取量0.2 g/kg体重から開始し、下痢を生じない場合には0.3 g/kg体重, 0.4 g/kg体重, 0.5 g/kg体重, 0.6 g/kg体重, 0.7 g/kg体重と順次増量した。摂取条件としては、前回摂取した試験物質の影響を排除するため1週間の間隔をおき、試験物質は原則として朝食2時間後に摂取してもらい、摂取方法(直接, 水溶など)は自由とした。

4. アンケート調査

中川らの調査表¹³⁾を改変した調査表を用いて、試験物質摂取24時間以内の排便状況および腹部症状について自記方式で記入させた。

便の状態は、(a)コロコロ状, (b)カチカチ状, (c)バナナ状, (d)半練り状, (e)泥状, (f)水状の6種類に分けた。なお、被験者によって便の状態の判定が著しく異なることのないようにするため、調査表に糞便見本図を添付し、見本より該当する記号を選択させた。

腹部症状は、(a)腹痛があった, (b)ゴロゴロお腹が鳴った(腹鳴), (c)お腹が張った(膨満感), (d)おならが出た(放屁), (e)便意はあったが排便できず痛みを感じた(しぶり腹), (f)吐き気がした, (g)その他の中から選択させ、その他の場合には具体的な症状を記入させた。さらに、生菌食の摂取, 過飲過食, 薬剤の服用および体調

表1 α-GOSの摂取と下痢誘発への影響

摂取量 (g/kg体重)		0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7
男性	被験者数	11	11	11	7	4	3
	年齢	20.9±1.3	20.9±1.3	20.9±1.3	20.7±1.6	19.5±0.6	19.7±0.6
	体重(kg)	64.4±9.4	64.4±9.4	64.4±9.4	64.0±9.6	61.0±8.8	62.0±10.4
	下痢発症者数	0	0	4	3	1	1
女性	被験者数	30	30	30	26	21	15
	年齢	20.2±0.9	20.2±0.9	20.2±0.9	20.2±0.8	20.3±0.8	20.2±0.7
	体重(kg)	53.5±5.3	53.5±5.3	53.5±5.3	53.3±5.4	52.1±4.5	51.7±4.8
	下痢発症者数	0	0	4	5	6	10
計	被験者数	41	41	41	33	25	18
	下痢発症者数	0	0	8	8	7	11

不良など試験に影響すると考えられる事項を備考欄に記入させた。

なお、本試験では、ラクトスクロース¹⁰⁾やフラクトオリゴ糖¹¹⁾の試験と同様に水状便を下痢と判定した。

結 果

1. 下痢発症状況

各摂取レベルでの被験者数、年齢、体重および下痢（水状便）発症者数を表1に示した。α-GOS摂取量が0.2 g/kg 体重および0.3 g/kg 体重の場合には、下痢はいずれの被験者にも観察されなかった。摂取量が0.4 g/kg 体重の場合から男女ともに下痢の発症が認められ、摂取量を増量するにしたがって、下痢発症者は増加したが、α-GOS摂取量が0.7 g/kg 体重の場合でも男性2名（男性被験者の18.2%）、女性5名（女性被験者の16.7%）には下痢を生じなかった。

2. 最大無作用量とED₅₀

α-GOS摂取量（0.3 g/kg 体重以上）と累計下痢発症率をプロットし、α-GOSの最大無作用量を算出した。図1に男性の結果を図2に女性の結果を示した。

男性の場合では下痢発症率と体重kg当りのα-GOS摂取量との近似式は式1で表され、

$$y=199.9x-49.05 \quad (\text{式1})$$

そのときの決定係数は $R^2=0.910$ であった。この近似式から下痢に対する最大無作用量を求め、α-GOSの最大無作用量は体重kg当り0.25 gと算出された。また、被験者の50%が下痢を誘発しない許容量（ED₅₀）は体重kg当り0.50 gであった。

女性の場合では下痢発症率と体重kg当りのα-GOS摂取量との近似式は式2で表され、

$$y=203.3x-66.33 \quad (\text{式2})$$

そのときの決定係数は $R^2=0.966$ であり、α-GOSの最大無作用量は、体重kg当り0.33 g、ED₅₀は0.57 gであった。

3. 試験物質摂取による便性状への影響

全被験者の排便の状態とその発生率を図3に示した。通常便であるバナナ状の発生率は0.2 g/kg体重の摂取で44.4%、0.3 g/kg体重の摂取で43.2%であったが、α-GOSの摂取量が増加するにしたがって便は軟化し、バナナ状および半練り状の発生率は減少した。0.4 g/kg体重の摂取から水状便の発症が認められ、摂取量の増加にもなって発生率は増加し、0.6 g/kg体重の摂取では33.3%、0.7 g/kg体重の摂取では51.6%であった。なお、これらの傾向は性別によって大きな差異は認められず、1日に複数回の下痢が発生した被験者もいたが、すべて翌日には正常に戻る一

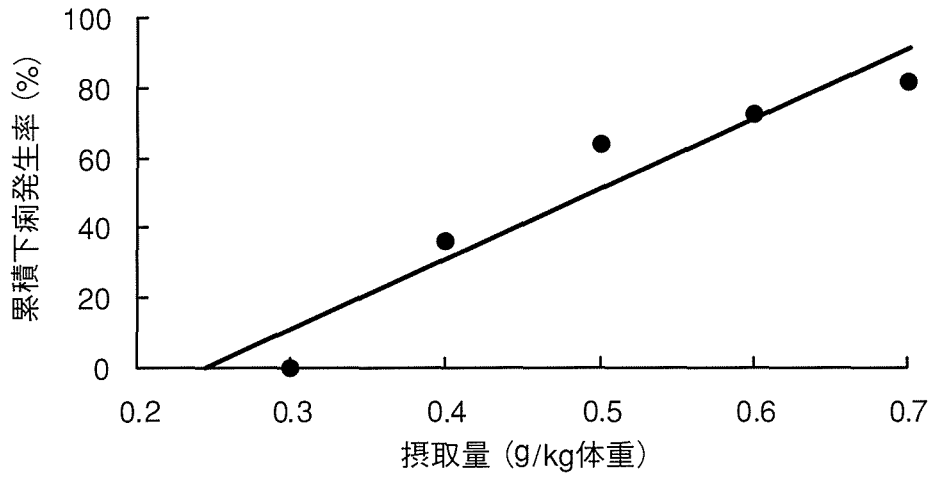


図1 健康成人男性における α -GOS摂取量と下痢発生率との関係

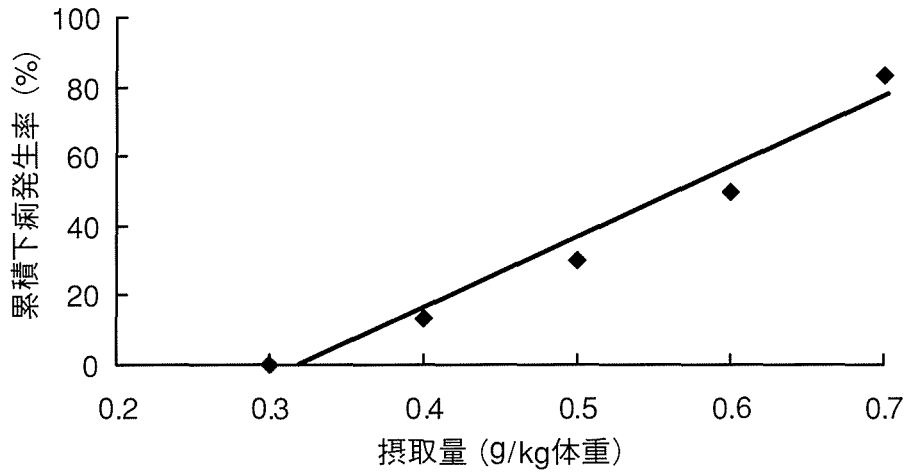
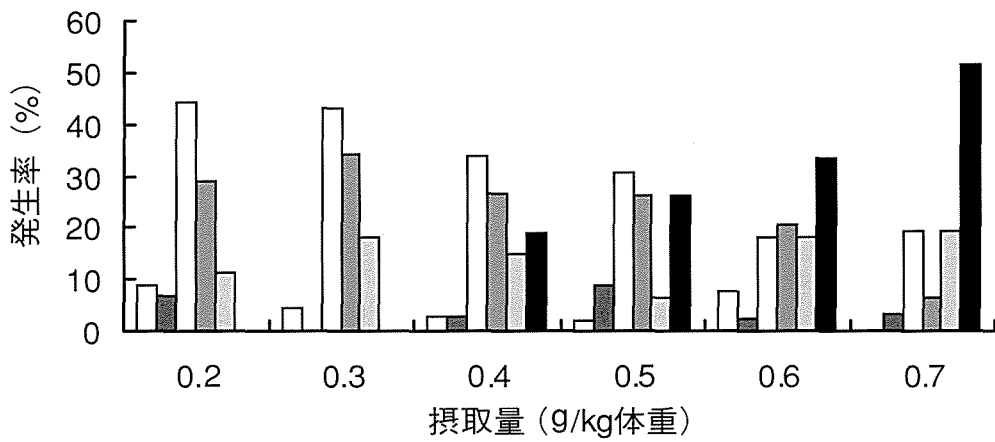


図2 健康成人女性における α -GOS摂取量と下痢発生率との関係



□コロコロ状 ■カチカチ状 □バナナ状 ■半練り状 □泥状 ■水状

図3 α -GOS摂取による便性状に及ぼす影響

表2 α-GOS摂取による腹部症状に及ぼす影響

摂取量 (g/kg体重)	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	
被験者数	41	41	41	33	25	18	
腹部症状発生率(%)	53.7	65.8	73.2	81.8	84.0	88.9	
割合(%)	腹鳴	30.3	28.6	27.5	28.5	35.4	34.2
	膨満感	30.3	18.4	12.9	21.4	13.7	14.3
	放屁	30.3	40.8	35.5	25.0	23.5	25.7
	しづり腹	0.0	0.0	3.2	3.6	3.9	2.9
	腹痛	9.1	10.2	17.7	17.9	19.6	20.0
	吐き気	0.0	2.0	3.2	3.6	3.9	2.9
	その他	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

表3 難消化性糖質の最大無作用量

難消化性糖質	男性 (g/kg体重)	女性 (g/kg体重)	文献
大豆オリゴ糖 (スタキオース・ラフィノースとして)	0.64 (0.22)	0.96 (0.32)	15)
ラクトスクロース	0.6	0.6	10)
エリスリトール	0.46	0.68	16)
フラクトオリゴ糖	0.3	0.4	11)
マルチトール	0.3	0.3	17)
6'-ガラクトオリゴ糖	0.3	0.3	18)
4'-ガラクトオリゴ糖	0.28	0.14	18)
α-GOS	0.25	0.33	
ソルビトール	0.15	0.3	17)
キシロオリゴ糖	0.12	-	18)

過性の発症であった。

4. 試験物質摂取による腹部症状への影響

α-GOS摂取による各腹部症状の出現割合を表2に示した。腹部症状を訴えた被験者数の割合は0.2 g/kg体重の摂取では53.7%であったものが、0.7 g/kg体重の摂取では88.9%まで高まった。さらに、摂取量の増加にともなって、膨満感および放屁といった軽微な症状の出現頻度が減少し、腹痛の頻度が高まった。

考 察

難消化性糖質の摂取で問題になるのは、多量摂取時の下痢の誘発である。これは消化吸収されなかった糖質がそのまま大腸に移行すると、大腸内

の浸透圧が上昇し、腸管内の溶液が多くなり、結果として下痢を誘発すると考えられている¹⁴⁾。本試験では、難消化性のオリゴ糖であるα-GOSを多量に摂取したときの便性状に及ぼす影響を検討し、α-GOSの許容量を算出した。その結果、下痢を指標としたα-GOSの最大無作用量は男性0.25 g/kg体重、女性0.33 g/kg体重、ED₅₀は男性0.50 g/kg体重、女性0.57 g/kg体重であった。α-GOSの最大無作用量は男性に比べ女性の方が32%も高い値を示したが、これまでに報告されている難消化性糖質の最大無作用量は4'-ガラクトオリゴ糖を除き、いずれも女性の方が高い値となっている(表3)。

下痢を誘発しない最大無作用量は糖質によって

異なり、ラクトスクロースやエリスリトールは最大無作用量が高く、下痢を誘発し難い糖質であるといわれている。大豆オリゴ糖の最大無作用量も男性0.64 g/kg体重、女性0.96 g/kg体重と高い値であるが、大豆オリゴ糖に含まれる機能性成分のスタキオースおよびラフィノース含有量は30%であり、スタキオース・ラフィノース換算としては男性0.22 g/kg体重、女性0.32 g/kg体重となる。この値は同じ α -ガラクトシル基を有する α -GOSと同程度である。さらに、フラクトオリゴ糖、マルチトール、6'-ガラクトオリゴ糖、ソルビトールの女性に対する最大無作用量は0.3~0.4 g/kg体重であり、この結果からも α -GOSの許容量は他の難消化性糖質と同程度であると考えられる。

α -GOSは1日3gの摂取によって便性改善効果が認められており⁹⁾、本試験で算出した α -GOSの最大無作用量値は、体重60kgの男性で摂取目安量(1日3g)の5倍量、50kgの女性で5.5倍量に相当する。したがって、 α -GOSは摂取目安量の少なくとも5倍量までは安全に摂取することができるものと考えられる。

結 語

健康成人男女41名(男性11名、女性30名)に α -結合ガラクトオリゴ糖(α -GOS)を0.2 g/kg体重、0.3 g/kg体重、0.4 g/kg体重、0.5 g/kg体重、0.6 g/kg体重、0.7 g/kg体重と順次増量して摂取させ、便性状に及ぼす影響を調べた。その結果、下痢を指標とした α -GOSの最大無作用量は男性0.25 g/kg体重、女性0.33 g/kg体重であり、被験者の50%が下痢を誘発しない許容量(ED₅₀)は男性0.50 g/kg体重、女性0.57 g/kg体重であった。したがって、 α -GOSは1日3gという摂取目安量の少なくとも5倍量までは安全に摂取することができることが示唆された。

謝 辞

本研究の実施において協力を頂いたボランティアの皆様には深く感謝いたします。

文 献

- Benno, Y. and Mitsuoka, T. (1992) Impact of *Bifidobacterium longum* on human fecal microflora. *Microbiol. Immunol.*, **36**, (7) 683-694.
- 秋山和範, 細野茂春, 高橋えみ子, 石関しのぶ, 滝川逸朗, 井村総一, 山内恒治, 八重島智子, 早澤宏紀, 島村誠一 (1994) 超未熟児におけるビフィズス菌の効果 - *Bifidobacterium breve*投与による腸内細菌叢の変化- 日本新生児学会雑誌, **30**, (1) 130-137.
- Ueda, K. (1986) Immunity provided by colonized enteric bacteria. *Bifidobacteria Microflora*, **5**, (1) 67-72.
- Yamazaki, S., Tsuyuki, S., Akashiba, H., Kamimura, H., Kimura, M., Kawashima, T. and Ueda, K. (1991) Immune response of *Bifidobacterium*-monoassociated mice. *Bifidobacteria Microflora*, **10**, (1) 19-31.
- Tsuyuki, S., Yamazaki, S., Akashiba, H., Kamimura, H., Sekine, K., Toida, T., Saito, M., Kawashima, T. and Ueda, K. (1991) Tumor-suppressive effect of a cell wall preparation, WPG, from *Bifidobacterium infantis* in germfree and flora-bearing mice. *Bifidobacteria Microflora*, **10**, (1) 43-52.
- Tochikura, T., Sakai, K., Fujiyoshi, T., Tachiki, T. and Kumagai, H. (1986) p-Nitrophenyl glycoside-hydrolyzing activity in bifidobacteria and characterization of α -D-galactosidase of *Bifidobacterium longum* 401. *Agr. Biol. Chem.* **50**, 2279-2286.
- Yazawa, K. and Tamura, Z. (1982) Search for sugar sources for selective increase of bifidobacteria. *Bifidobacteria Microflora*, **1**, 39-44.
- Hashimoto, H., Yamashita, A., Fujita, K., Okada, M., Mori, S., Sonoyama, K. and Kitahata, S. (2004) Enzymatic Synthesis of α -Linked Galactooligosaccharide (α -GOS) and Its Functions. *J. Appl. Glycosci.* **51**, 169-176.
- 井上 孝, 伊藤哲也, 別府秀彦, 川井 薫, 尾崎清香, 岸野恵理子, 藤田孝輝, 山下亜希子, 橋本博之, 新保 寛, 中野 浩, 園田 茂 (2005) α -結合ガラクトオリゴ糖錠菓摂取が女子学生の便通および糞便性状に及ぼす影響. 日本食品新素材研究会誌 投稿中

- 10) 三国克彦, 藤田孝輝, 榊原恵美子, 桑原宣洋, 尾形正裕 (1993) ラクトスクロース摂取と胃腸症状との関係—最大無作用量に関する一考察—. 澱粉科学 40, 15-19.
- 11) 秦 俊哉, 中島久実子 (1984) ネオシュガー摂取と胃腸症状との関係—最大無作用量に関する観察—. 第二回ネオシュガー研究会報告 9-19.
- 12) 井上陽一, 森内幸子, 細谷憲政 (1970) 白ネズミの成長に対するマルチトール投与の影響. 栄養と食糧 23, 625-629.
- 13) 中川靖江, 岡松 洋, 藤井康弘 (1990) ポリデキストロース摂取が青年期女性の便通感に及ぼす影響. 日本栄養・食糧学会誌 43, 95-101.
- 14) 奥 恒行, 岡崎光子 (1999) ヒトにおける難消化性オリゴ糖・ガラクトシルスクロースの一括摂取と分割摂取の一過性下痢誘発に及ぼす影響ならびにその許容量. 日本栄養・食糧学会誌 53, 201-208.
- 15) Hata, T., Yamamoto, M. and Nakajima, K. (1991) Effects of soybean oligosaccharides on human digestive organs : estimation of fifty percent effective dose and maximum non-effective dose based on diarrhea. J. Clin. Biochem. Nutr. 10, 135-144.
- 16) Oku, T., Okazaki, M. (1995) Laxative threshold of sugar alcohol erythritol in human subjects. Nutr. Res. 16, 577-589.
- 17) Koizumi, N., Fujii, M., Ninomiya, R., Inoue, Y., Kagawa, T. and Tsukamoto, T. (1983) Studies on transitory laxative effects of sorbitol and maltitol. Chemosphere. 12, 45-53.
- 18) 奥 恒行 (1998) 難消化性オリゴ糖と水溶性食物繊維の保健効果. 日本食品新素材研究会誌 第1巻 第1号 23-30.