

一般演題 B-1**脂質代謝改善作用をもつ乳酸菌 *Lactobacillus amylovorus* CP1563株の選抜****Screening of *Lactobacillus amylovorus* Strain CP1563 Effective on Lipid Metabolism**

仲村太志¹, ○石田 優¹, 菅原智詞¹, 芦田延久², 澤田大輔¹,
多田裕紀子³, 高橋信之³, 河田照雄³, 藤原 茂¹

¹カルピス株式会社・発酵応用研究所, ²カルピス株式会社・飼料事業部,

³京都大学大学院農・食品生物科学

【目的】 動脈硬化のリスク因子として肥満, 脂質異常症が問題となっているなか, 腸内細菌叢と肥満の関連に関する知見がいくつか報告され, プロバイオティクスによる改善作用が期待されている. 我々は, 脂肪の β 酸化 (脂肪燃焼) を促進する核内受容体 Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (PPAR) α に着目し, 脂質代謝を改善する乳酸菌を選抜することを目的とした.

【方法】

(実験1) ヒト PPAR リガンド結合ドメインを用いた高感度リガンドアッセイ系を用いて, 各種乳酸菌の有機溶媒抽出物の PPAR α 活性化能を指標にスクリーニングを行った.

(実験2) CP1563株の経口投与による効果を検証するため, CP1563株の菌体を破碎することで菌体成分を消化吸収しやすくしてマウスへ投与することとした. C57BL/6マウスに①高脂肪食 (対照), ②CP1563株破碎菌体1%混餌高脂肪食, ③CP1563株非破碎菌体1%混餌高脂肪食をペアフィーディングにより6週間摂取させ, 血中脂質マーカーを評価した.

(実験3) CP1563株の長期投与による効果を検証するため, C57BL/6マウスにCP1563株破碎菌体1%混餌高脂肪食をペアフィーディングにより12週間摂取させた.

【結果】

(実験1) PPAR α 活性化能は乳酸菌の菌株によって大きく異なっていた. その中で最も高い PPAR α 活性化能をもつ乳酸菌として, *Lactobacillus amylovorus* CP1563株を選抜した.

(実験2) 6週間投与後, ②CP1563株破碎菌体投与群では, ①対照群と比較してHDLコレステロールが有意に上昇し, 動脈硬化指数AIが有意に改善した. ③CP1563株非破碎菌体投与群ではこれらの効果は認められなかった.

(実験3) 12週間投与後, 対照群と比較してHDLコレステロール, 動脈硬化指数AIが有意に改善したのに加えて, LDLコレステロール, 中性脂肪も有意に改善した. さらに, 脂質代謝における善玉因子であるアディポネクチンの増加傾向もみられた.

【考察】 PPAR α 活性化能が高い乳酸菌として選抜した *Lactobacillus amylovorus* CP1563株は, 菌体を破碎することで PPAR α 活性化因子が露出し, 経口投与により脂質代謝改善作用を示すことが示唆された.

一般演題 B-2

エコール産生菌 *Slackia* sp. NATTS 株における
ダイゼイン-エコール変換酵素系の同定¹⁾Identification of the Enzyme System for Daidzein-to-equol Conversion
in *Slackia* sp. Strain NATTS○辻 浩和¹, 森山 薫¹, 野本康二¹, 赤座英之²¹株式会社ヤクルト中央研究所, ²東京大学先端科学技術研究センター

【目的】エコールは、強いエストロゲン様活性を示すことから、前立腺癌などホルモン依存性疾患の予防効果が期待されている。エコールは、腸内細菌の働きにより、大豆イソフラボンの一種であるダイゼインからジヒドロダイゼイン (DHD) を介して生成されることが知られているが、本反応を司る酵素系は殆ど明らかとなっていない。そこで我々は、ヒト糞便より単離された強力なダイゼイン-エコール変換能を有する *Slackia* sp. NATTS 株²⁾ について、ダイゼイン-エコール変換反応系に關与する酵素の同定を試みた。

【方法】NATTS 株の遺伝子断片を組み込んだ大腸菌ライブラリー (8,424 株) より、ダイゼイン-DHD 変換能を有するクローンを3株、およびDHD-エコール変換能を有するクローン2株を取得し、これらの保持する遺伝子断片の塩基配列を決定した。遺伝子構造解析により予想された3種のタンパク質を高発現する大腸菌株を作製し、ダイゼインおよびDHDの代謝活性を調べた。

【結果および考察】NATTS 株の遺伝子断片を組み込んだ大腸菌ライブラリーから独立して取得された、ダイゼインあるいはDHDの代謝活性を有する5クローンが保持する遺伝子断片は連続しており、3種のタンパク質 (ORF-1, -2, -3) をコードすると予想された。それぞれのタンパク質を高発現させた大腸菌株を解析したところ、ORF-1はテトラヒドロダイゼイン (THD) からエコール、ORF-2はDHDからTHD、そしてORF-3はダイゼインからDHD、をそれぞれ生成する活性を有することが見出された。このことから、NATTS 株におけるダイゼイン-エコール変換反応は、DHDおよびTHDを中間体として、3種の酵素による一連の反応系により進行することが示唆された。

1) Tsuji H. et al. 2012. Appl Environ Microbiol 78 : 1228-1236.

2) Tsuji H. et al. 2010. Arch Microbiol 192 : 279-287.

一般演題 B-3

新規乳酸菌 *Pediococcus acidilactici* R037 摂取による
非空腹時血中中性脂肪の低減効果についてThe Lowering Effects of *Pediococcus acidilactici* R037
on Nonfasting-triglyceride Levels

○立垣愛郎, 濱田和也, 渡邊豊輝, 岸田秀之, 田中穂積
株式会社カネカ フロンティアバイオ・メディカル研究所

【目的】近年, 動脈硬化性疾患の危険因子の一つとして, 中性脂肪, なかでも非空腹時の中性脂肪が前向きコホート研究の結果より注目されている. 我々は, 新規機能性乳酸菌である *Pediococcus acidilactici* R037 (以下 R037) の薬理作用を検討し, R037 摂取により非空腹時における血中中性脂肪の低減効果を認めたため報告する.

【方法】R037 の非空腹時における血中中性脂肪の低減効果は, 高グリセリド血症を示す KK-A^y マウスを用いた連続投与試験ならびに Wistar 系ラットを用いた脂肪負荷試験により評価した. 連続投与試験は, KK-A^y マウスに R037 製剤 (R037 が 2×10^{12} 個/g の製剤, 30 mg/kg, 100 mg/kg) を 3 週間連続投与し, 非空腹時に採血を行い, 中性脂肪を測定した. 脂肪負荷試験は, Wistar 系ラットに脂肪エマルジョン (脂肪として 3 g/kg) と R037 製剤 (200 mg/kg, 400 mg/kg) を同時に投与し, 経時的に採血を行い, 中性脂肪を測定した. また, ヒト試験として空腹時中性脂肪が高め (150 以上, 350 mg/dL 未満) のボランティア (n = 10 ~ 12) を対象に, 脂肪負荷食 (脂肪として 50 g/ヒト) と R037 製剤 (100 mg/ヒト) を同時に摂取してもらい, 経時的に採血を行い, 中性脂肪を測定した (プラセボ対照ランダム化単盲検群間比較法).

【結果】KK-A^y マウスを用いた連続投与試験の結果, 非投与群と比べ, R037 製剤 30 mg/kg, 100 mg/kg 投与群では, 非空腹時の中性脂肪が有意に低減した. Wistar 系ラットを用いた脂肪負荷試験の結果, R037 製剤 400 mg/kg 投与群において中性脂肪の上昇抑制傾向を認めた. また, R037 製剤を 1 週間前投与することにより, R037 製剤 400 mg/kg 投与群において有意な中性脂肪の上昇抑制を認めた. ヒト試験の結果, 非摂取群と比べ, R037 製剤摂取群において有意な血中中性脂肪の上昇抑制を認めた.

【考察】動物試験およびヒト試験の結果, R037 摂取により非空腹時の血中中性脂肪が低減することが明らかとなった. R037 は, 中性脂肪をコントロールすることで, 動脈硬化性疾患を予防・改善する可能性が示唆された.

一般演題 B-4

梅エキスを添加した梅ファイバーの機能性

Functionality of the Ume Fiber which Added the Plum Extract

○田村 基¹, 大西由里子², 小谷竜也², 我藤伸樹², 土田靖久³, 大江孝明³, 根来圭一³¹独立行政法人 農業食品産業技術総合研究機構・食品総合研究所 茨城県 つくば市 観音台 2-1-12,²中野BC株式会社³和歌山県農林水産総合技術センター 果樹試験場 うめ研究所

【目的】梅は、古くから梅干し、梅酒、梅肉エキスなどに加工され広く利用されてきた。梅の健康効果については、近年の研究で、胃がんの原因の一つとされるヘリコバクターピロリの運動能阻害作用があることや α -グルコシダーゼ阻害作用があることが明らかにされている。これらはともに梅の抽出物を有効成分としており、固形分として食物繊維を多く含む梅果肉に梅エキスを添加した食品素材の機能性は明らかにされていない。そこで、梅ファイバー（梅果肉乾燥粉末）に梅エキスを混合して製造した機能性素材の整腸作用等の機能性をマウスを用いた動物試験で検討した。

【方法】梅エキスと梅ファイバーを等量混合後、80℃で一晩乾燥したものを粉末化して梅エキス添加梅ファイバーを製造した。ICRマウス（雄，7週齢，各群7匹）を粉末食で予備した後，コントロール食群にはAIN-93M食を与え，梅エキス添加梅ファイバー食群には，梅エキス添加梅ファイバーを10%添加した精製飼料を32日間摂取させた。飼育期間中マウスの糞を全て回収し，凍結乾燥し，乾燥糞便重量を測定した。さらに，飼育試験終了後，マウスを解剖し，内臓脂肪重量を測定し，血液を採取した後，血漿脂質濃度を測定した。盲腸内容物からはDNAを抽出し，T-RFLP法を用いて盲腸内菌叢の構成を解析した。

【結果と考察】梅エキス添加梅ファイバー食群はコントロール食群に比べて体重増加が有意に抑制された。また，梅エキス添加梅ファイバー食群はコントロール食群に比べて糞便排泄量が有意に高値を示し，梅エキス添加梅ファイバーが整腸作用を有することが示唆された。二群の間では血漿総コレステロールやトリグリセリド，リン脂質濃度には有意な差は認められなかった。一方，内臓脂肪重量はコントロール食群に比べて梅エキス添加梅ファイバー食群で有意に低値を示した。コントロール食群と梅エキス添加梅ファイバー食群では盲腸内菌叢の構成に違いが認められた。*Bacteroides* (OTUs 469, 853) の占有率が梅エキス添加梅ファイバー食群で有意に高値を示した。*Bacteroides* (OTUs 469, 853) の占有率と内臓脂肪重量に負の相関が認められた。梅エキス添加梅ファイバー食群はコントロール食群に比べて糞便排泄量が増加し，内臓脂肪重量が有意に低値を示したことから梅エキスを添加した梅ファイバーの新規機能性食品素材としての有用性が示唆された。

一般演題 B-5

ウシラクトフェリン由来のビフィズス菌増殖促進ペプチドの単離

Isolation of Bifidogenic Peptide from Bovine Lactoferrin

○織田浩嗣, 山内恒治, 樋田知宏, 佐藤拓海, 清水(肖)金忠, 岩附慧二
森永乳業株式会社 食品基盤研究所

【目的】 ラクトフェリン (LF) は初乳に多く含まれるタンパク質で, 抗菌作用, ビフィズス菌増殖促進作用, 免疫調節作用などの機能が報告されている. LFが胃の消化酵素ペプシンで分解されると抗菌作用が高まることが知られていて, 活性ペプチドとしてラクトフェリシン (LFcin) が単離されている. 今回, LFがペプシンで分解されることで他の機能も高まる可能性を検討するため, ビフィズス菌増殖促進作用について評価した.

【方法】 ウシLF (bLF) やbLFペプシン分解物, 活性ペプチドを添加したMRS液体培地 (含0.05% Cys) に, 各種ビフィズス菌株の前培養液を0.1%植菌し, 37°Cで16時間嫌気培養した. 増殖促進作用は濁度 (OD₆₃₀), 菌数で評価した. 活性ペプチドはHPLCとMSを用いて単離・同定した.

【結果】 *Bifidobacterium breve* ATCC 15700^T株に対しては, bLF 300 µg/mL, bLFペプシン分解物 10 µg/mL, *B. longum* subsp. *infantis* ATCC 15697^T株に対しては, bLFペプシン分解物 30 µg/mLで有意に増殖促進作用が示された. 単離した活性ペプチドはAla¹-Trp¹⁶とLeu⁴³-Ala⁴⁸がジスルフィド結合した構造を持ち, 抗菌ペプチドとして報告されていた. 化学合成した同ペプチドはビフィズス菌増殖促進作用を示したが, 同じ組成のアミノ酸混合物では活性を示さなかった. 各種ビフィズス菌42株に対して活性ペプチド 10 µg/mLで, 濁度が無添加比 150%以上増加した株は, *B. breve* (7/7), *B. longum* subsp. *infantis* (5/5), *B. bifidum* (2/5), *B. longum* subsp. *longum* (1/3), *B. adolescentis* (3/6), *B. catenulatum* (1/4), *B. pseudocatenulatum* (0/4), *B. angulatum* (0/3), *B. dentium* (0/5) であった.

【考察】 bLFがペプシンで分解されるとビフィズス菌増殖促進作用が高まることを見出し, 活性成分としてLFcinとは異なるペプチドが特定された. このペプチドは特に乳児期特有のビフィズス菌種に対して増殖促進作用を示す傾向があった. bLFは胃で消化されることで, 乳児期の良好な腸内菌叢の形成と維持に寄与する可能性が示唆された.