

シンポジウム ②

タンナーゼ活性を有する乳酸菌を利用した新規プロバイオティクスの開発

岩本一顕¹, 小淵健至¹, 林多恵子², 桑原浩誠², 鶴田宏樹³, 〇大澤 朗¹¹神戸大学大学院農学研究科, ²丸善製薬株式会社研究開発本部, ³神戸大学連携創造本部

緑茶やワインに含まれるカテキン類は強い抗酸化力を持ち、体内で発生する活性酸素を「無害化」して発ガンを抑制したり、コレステロールの酸化を防いで動脈硬化を予防したり、また糖質分解酵素の働きを阻害して過剰な血糖値の上昇を抑える等、ヒトの健康維持・増進・疾病予防に非常に有用な効果をもたらすことが知られている。緑茶に含まれる主なカテキン類は、没食子酸エステル構造をもつ加水分解型タンニン様のエピガロカテキンガレート [EGCg] とエピカテキンガレート、エステル構造をもたない非タンニン様のエピガロカテキン [EGC], エピカテキンの4種類であるが、過去に行われた緑茶飲用ボランティア実験では、タンニン様 ECg・EGCg の腸管からの吸収率が非タンニン様 EC・EGC に比べ顕著に低いことが報告されている。

我々はこれまでに、ヒト糞便あるいはキムチや糠漬けといった発酵食品より、タンニンの没食子酸エステル結合を特異的に切る酵素（タンナーゼ）活性を有する乳酸菌群を多数分離し、これら乳酸菌のタンナーゼの特性について調べてきた。その結果、1) *Lactobacillus plantarum* のタンナーゼはカビ類の産生するタンナーゼと化学構造や酵素学的特性が異なり、活性の至適 pH は中性付近、至適温度は 40℃ 付近であること、2) *L. plantarum* には EGCg から EGC と没食子酸へと加水分解するタンナーゼ活性の高い菌株と低い菌株が存在すること等が明らかとなった。一方、緑茶カテキン類の「疑似生体内環境」における動態について調べた結果、1) EGCg は食品成分（おそらく蛋白質）と速やかに結合し難吸収性の「塩」となるが、EGC は大半が遊離型を維持していること、2) 血清に EGCg と EGC を混合した場合、EGCg の抗酸化性は顕著に減少するが、EGC の抗酸化性は比較的安定であること等が明らかとなった。

上記所見より、我々は「タンナーゼ活性の高い *L. plantarum* 株を腸内に存在させれば、食品成分と結合して難吸収となったタンニン様カテキンから非タンニン様カテキン類が遊離し、速やかに腸管壁から吸収させる、すなわち緑茶カテキンの抗酸化力を最大限に体内に“届ける”ことができるのでは・・・？」と着想した。この着想に基づき、我々は現在、科学技術振興調整費「先端融合領域イノベーション創出拠点の形成プログラム」における産学協働研究ユニットの1つとして、「タンナーゼ活性を有する乳酸菌を利用した新規プロバイオティクスの開発」に取り組んでいる。

Development of a Novel Probiotic Supplement Using Lactobacilli with Tannase Activity

Kazuaki Iwamoto¹, Takeyuki Obuchi¹, Taeko Hayashi², Hiromasa Kuwahara², Hiroki Tsuruta³,
○Ro Osawa¹

¹Graduate School of Agricultural Science, Kobe University

²Maruzen Pharmaceuticals Co. Ltd.

³Headquarters for Innovative Cooperation and Development, Kobe University

Catechins contained in green tea and wine are known to have strong anti-oxidative activities, in which they suppress carcinogenesis through “detoxification” of various oxygen-free radical generated in our body, prevent hardening of our arteries by inhibiting oxidation of blood cholesterols, and regulate concentration of sugar in our blood by affecting enzymatic activities related to glycogenesis, and thus have notable health maintenance/ promoting and disease-preventing effects. Major catechins contained in green tea include epi-gallo-cathechin-gallate (EGCg) and epi-cathechin-gallate (ECg) that are esterified with gallic acid (GA) like hydrolysable tannins, and epi-gallo-cathechin (EGC) and epi-cathechin (EC). A human volunteer study conducted by Henning *et al.* [J Nutr Biochem 10 : 610-616, 2005] reported that EGCg and ECg were absorbed through the intestines markedly less than EGC and EC.

Over the past decade, we have isolated a number of lactobacilli from human feces and fermented vegetables that have activity of tannase, gallate-ester hydrolyzing enzyme, characterized the lactobacilli tannase, and found that 1) tannase produced by *Lactobacillus plantarum* differs in its chemical structure and enzymatic activity from those produced by fungi, in which optimal pH and temperature of its activity are around pH 7 and 40 °C, 2) there are *L. plantarum* strains with high tannase activity where substrate EGCg is readily hydrolyzed to EGC and GA and those with very limited tannase activity. Meanwhile, our study on bio-availability of green tea catechins in “*quasi-in vivo*” conditions have indicated that 1) EGCg bind quickly with food ingredients (i.e. proteins) to form a complex that is likely to be inabsorbable through the intestine whereas most EGC molecules remain to be free-form, not complexing with the food ingredients, 2) EGCg loses a large portion of its anti-oxidative power when mixed with serum whereas EGC maintains most of its anti-oxidative power.

Based on these findings, we have now come to an idea that if we place a *L. plantarum* strain with high tannase activity in the host intestine, it would hydrolyze the EGCg and ECg complexed with food ingredients to release EGC and EG, which are readily absorbed through our intestine, thereby ensuring a maximum delivery of anti-oxidative power of the green tea to us. To realize the idea, we have then embarked on a joint industry-university research project to develop a novel probiotic supplement with use of *L. plantarum* with high tannase activity, which is currently being supported by Special Coordination Funds for Promoting Science and Technology, Creation of Innovation Centers for Advanced Interdisciplinary Research Areas, MEXT, Japan.