

一般演題 B-1

乳酸菌飲料飲用後の糞便から回収される
Lactobacillus casei シロタ株の生菌数測定
—用量（菌数）依存性の検討—

Number of living *Lactobacillus casei* strain Shirota (LcS) recovered from fecal samples after ingestion of fermented milk beverage containing different doses of LcS

○清水健介¹, 久代 明¹, 星亮太郎², 野本康二¹

¹(株)ヤクルト本社中央研究所, ²(株)ヤクルト本社開発部

【目的】 当社製品に含まれる *L. casei* シロタ株は、国内国外を問わず糞便からの高い回収性が報告されている。しかし、用量（菌数）依存的な回収性試験は未だ行われていない。そこで、菌数の異なる3種類の試験飲料を飲用後、糞便から回収される *L. casei* シロタ株の生菌数を測定する試験を実施した。

【方法】 24名の被験者を8名ずつ3群に分け、*L. casei* シロタ株を約10億個含む低菌数飲料、約100億個含む中菌数飲料、あるいは約1,000億個含む高菌数飲料の試験飲料を2週間の休止期を挟むクロスオーバー形式で1日1本ずつ1週間飲用させた。試験飲料を飲用後の糞便から回収される *L. casei* シロタ株の生菌数は、選択培地を用いた培養法で測定した。培地上に生えたコロニーを計数後、特異的モノクローナル抗体を用いたELISA法、あるいは特異的プライマーを用いたPCR法にて *L. casei* シロタ株の同定を行った。

【結果および考察】 試験飲料1本あたりの *L. casei* シロタ株の生菌数は平均値で、低菌数飲料：13.0億個（対数値 9.12）、中菌数飲料：124.0億個（対数値 10.09）、高菌数飲料：973.7億個（対数値 10.99）であった。培養法での回収菌数は平均値で、低菌数飲料飲用期：5.50 ± 1.55（対数値 ± SD/g糞便）、中菌数飲料飲用期：6.26 ± 1.50、高菌数飲料飲用期：7.14 ± 0.90であった。検出下限値未満は、低菌数期で2名、中菌数期で1名認められた。

回収菌数を縦軸に、試験飲料中の生菌数を横軸にプロットし、両者の関係性を調べたところ、非常に高い相関（ $r=0.99$ ）が認められ、回帰直線の傾きは0.88であった。このことから10倍高い菌数を飲用すると、糞便から回収される *L. casei* シロタ株の生菌数は、対数値で0.88増え、実数値では7.6倍に増えることが明らかとなった。

一般演題 B-2**ヒト腸内菌叢のダイゼイン代謝の多様性****Diversity of daidzein metabolism by human intestinal microbiota**

○田村 基¹, 堀 幸子¹, 中川博之¹, 堅田和宏², 鎌田和浩²,
内山和彦², 半田 修², 高木智久², 内藤裕二², 吉川敏一²

¹ 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, ² 京都府立医科大学

【目的】 大豆イソフラボンの一つであるダイゼインからは腸内菌叢の代謝によりもとのダイゼインよりもエストロゲン活性の強いエコール (equol) が産生される。しかし、エコール産生能は個人差が大きいことが知られている。また、ダイゼインの代謝性と食事との関連性についての報告は少ない。そこで、ヒト試験を行い、糞便菌叢のダイゼイン代謝試験と食物摂取頻度調査 FFQg を行い、腸内菌叢のダイゼイン代謝産物と食事情報との関連性を検討した。

【方法】 ヒト試験を行い、30 人分の食事情報と新鮮糞便とを獲得した。新鮮糞便は、嫌気度を保ちつつ、輸送を行い、農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所到着当日に嫌気培養液で希釈した。この新鮮糞便の希釈液にダイゼインを添加し、嫌気培養を行い、培養物の抽出物を LC-MS/MS で解析した。また、食物摂取頻度調査 (FFQg) によって食事情報を調査した。さらに、ヒト糞便希釈液とダイゼインとの嫌気培養で得られたジヒドロダイゼインやエコール濃度の結果と食物摂取頻度調査によって得られた摂取食品成分や BMI の情報を相関解析等によって解析した。

【結果および考察】 ダイゼインの代謝性は個人差が大きい結果となった。しかし、BMI とダイゼインの代謝産物との間には、男性と女性の間で異なった相関が認められた。男性糞便菌叢のジヒドロダイゼイン濃度と BMI との間に負の相関が認められた。一方、女性糞便菌叢のエコール濃度と BMI との間には弱い負の相関が認められた。ダイゼイン代謝産物と摂取食品成分との関連性を検討したところ、女性の水溶性食物繊維摂取量とエコール濃度との間に弱い正の相関が認められ、コレステロール摂取量とエコール濃度との間に負の相関が認められた。男性の水溶性食物繊維摂取量とジヒドロダイゼイン濃度との間に正の相関が認められ、摂取する食品成分の中にはダイゼイン代謝産物と相関性を有するものが認められた。

一般演題 B-3

腸内細菌による腸管上皮バリア機能の強化・修復

Regulation of the intestinal epithelial barrier function
by gut microorganisms○大坂利文¹, 謝 鎮宇¹, 森山恵里¹, 伊達康博^{2, 3}, 菊地 淳^{2, 3, 4}, 常田 聡¹¹早稲田大学大学院先進理工学研究科生命医科学専攻, ²理化学研究所環境資源科学研究センター,
³横浜市立大学大学院生命医科学研究科, ⁴名古屋大学大学院生命農学研究科

【目的】腸上皮バリアの機能障害は、アレルギー、炎症性腸疾患、糖尿病などの様々な病態形成に関わることが示唆されている。腸上皮細胞のタイトジャンクション構造の強化や修復をターゲットとする治療法の開発は、炎症応答を標的とした治療法の補助や代替療法になる可能性が高いと考えられる。そこで本研究では、腸上皮バリア機能の強化・修復を担う腸内細菌を探索し、さらに腸上皮バリア機能の修復誘導に関わる因子について解明することを目的とした。

【方法】ヒト糞便から分離した乳酸菌 (*Enterococcus* 属, *Lactobacillus* 属) とビフィズス菌 (*Bifidobacterium* 属) の中から、トランスウェルプレート上に単層培養した Caco-2 細胞 (ヒト結腸癌由来細胞株) を用いて、腸上皮バリア機能の強化・再生に寄与する有用細菌をスクリーニングした。腸上皮バリア機能は、TER (transepithelial electric resistance) を指標として評価した。まず、炎症性サイトカイン (TNF- α) によって誘導するタイトジャンクションの崩壊を抑制できる細菌をスクリーニングした。つぎに、この腸上皮バリアを強化した細菌株は、TNF- α によって腸上皮バリア機能を損傷させた Caco-2 細胞に各細菌株を接触させることで、腸管上皮バリア機能の修復能を評価した。

【結果】*Lactobacillus* 属と *Bifidobacterium* 属のいくつかの菌株において、TNF- α による腸上皮細胞バリア機能の損傷に対する予防効果が見出された。特に *B. bifidum*, *B. longum*, *B. pseudocatenuatum* の投与によって、Caco-2 細胞の TER の著しい増加が確認された。また、これらビフィズス菌株は、腸上皮バリア機能の修復能も有していた。つぎに、とくに高い腸上皮バリア機能の修復能を示した *B. bifidum* を用いて、腸上皮バリア機能の修復誘導に関わる因子を探索した。その結果、熱処理した *B. bifidum* ではその効果が大幅に消失することから、生菌由来の因子 (e.g. 代謝産物) が重要であることが示された。現在、本研究では、¹H NMR 法を用いたメタボノミクスアプローチにより、培養上清中に含まれる代謝産物の動態を解析しているところである。

【考察】腸管上皮バリア機能の強化および修復という機能という側面においては、乳酸菌よりもビフィズス菌の方が優れていることが示唆された。また、*Bifidobacterium* 属による腸上皮バリア機能の修復効果は、種もしくは株レベルで大きく異なり、ある特定の代謝産物の産生能の違いと相関する可能性が示唆された。

一般演題 B-4*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BL-04 株の
感冒予防の有用性についてEffect of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BL-04 on common coldSampo J. Lathtinen¹, ○中澤雄太²¹DuPont Nutrition & Health, Danisco Sweeteners Oy, Health & Nutrition,²ダニスコジャパン株式会社営業部

【目的】 *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BL-04 株 (BL-04) は過去 15 年以上にわたり、各国でダイエットサプリメント向けに使用されてきた乳酸菌である。過去から言われている通り、プロバイオティクスには感冒の予防効果があり、それらに関する論文は様々ある。しかしながらそれら論文は高齢者、小児、あるいはアスリートを対象としており、常日頃から運動をしている健康な大人に対しての研究は過去になされたことが無かった。今回の臨床試験の目的は日頃から活動的な平均年齢約 35 歳の男女に対して、BL-04 が感冒予防に有効なのかを確認した。

【方法】 本研究は、オーストラリアのグリフィス大学 Griffith Sports Institute との共同研究の下行われた。冬の 5 ヶ月間、310 人の被験者を摂取グループ (161 名/男 81 名, 女 80 名, 平均年齢 36 ± 12 歳) とプラセボグループ (149 名/男 76 名, 女 72 名, 平均年齢 37 ± 12 歳) に分け、その感冒予防の効果を確認した。摂取グループは毎日 20 億個の BL-04 菌株が配合されたサプリメントを飲料と共に摂取した。感冒の症状はインターネットベースの質問事項で確認をした。

【結果】 摂取グループはプラセボグループに比べて感冒を罹患するリスクが全体で 27% 減少した ($p = 0.02$)。摂取グループ中、試験期間中に感冒を 1 回罹患した被験者は 161 名中 59 名で複数回罹患した被験者は 43 名であった。プラセボグループでは、感冒を 1 回罹患した被験者は 149 名中 67 名で、複数回罹患した被験者は 60 名であった。また、最初に感冒を罹患した時期は摂取グループでは試験開始から平均 3.2 ヶ月目であったのに対し、プラセボグループでは 2.5 ヶ月目と呼吸器疾患に罹患する日数が 0.7 ヶ月遅くなったことも確認できた。

【考察】 BL-04 は、感冒罹患のリスクを軽減し、また発症の期間を遅らせることが、本研究により判明した。通常、健康で日頃より運動をしている成人の感冒罹患のリスクは低いですが、それを考慮しても、今回の結果は日頃よりプロバイオティクスを摂取することにより、感冒予防に効果があることが示唆された。