

免疫調節多糖体を産生する乳酸菌を 活用した機能性ヨーグルトの開発



①

②

③

④

株式会社明治食機能科学研究所

牧野聖也①

株式会社明治食機能科学研究所部長

池上秀二②

株式会社明治食機能科学研究所グループ長

狩野宏③

株式会社明治食機能科学研究所所長

伊藤裕之④

1. はじめに

ヨーグルトは *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* (ブルガリア菌) と *Streptococcus thermophilus* (サーモフィルス菌) の共生作用を利用して乳を発酵することで製造される。ヨーグルトでは、これらの乳酸菌が乳酸をはじめアセトアルデヒドやジアセチルなどの芳香成分を産生することにより、ヨーグルト特有のさわやかな酸味と風味が生まれる。また、乳酸菌の中にはヨーグルト中に菌体外多糖 (Exopolysaccharide: EPS) を産生するものが存在する。EPS はヨーグルトにボディー感やクリーミーな食感を与えると同時に、離水を抑制するなど安定剤の役割を果たしている。

2. 開発の背景

日本では少子高齢化が進行しており、高齢者の健康長寿、子供の健やかな成長が今後ますます望まれる。高齢者や子供は免疫力が弱いため、常に感染症の脅威に曝されている。日本人の死因第3位は肺炎であり、インフルエンザ感染で死亡する人の8割以上が65歳以上の高齢者である。このような状況の中、毎日手軽に摂取できる食品で、免疫力を維持・向上させることのメリットは大きいと考えられる。免疫力を高める食品成分としてはキノコや海草由来の多糖がよく知られている。そこで、われわれは乳酸菌が産生するEPSの免疫賦活作用に着目し、免疫力を高める機能性ヨーグルトの開発に着手した。

3. 乳酸菌の選抜

当社が保有する139株のブルガリア菌についてEPSの産生量を評価し、産生量が高い株として3つの菌株を選抜した。そして、これら3つの菌株が産生するEPSをそれぞれ精製し、マウスの脾臓細胞に対するインターフェロン-ガンマ (IFN- γ) の産生誘導活性を評価した。その結果、*L. bulgaricus* OLL1073R-1 (1073R-1乳酸菌 (図1)) が産生するEPSにIFN- γ 産生誘導活性が認められた。IFN- γ は活性化した免疫細胞から産生され、がん細胞やウイルス感染細胞を攻撃・破壊するナチュラルキラー (NK) 細胞を活性化することが知られている。すなわち、1073R-1乳酸菌が産生するEPSは免疫細胞を刺激し、NK細胞の活性 (NK活性) を高める可能性が示唆された。

4. マウスにおけるNK活性上昇効果

1073R-1乳酸菌が産生するEPSが生体のNK活性を上昇させるか否かを確認するために、マウスへの経口投与試験を行った。まず、EPSをマウスに3週間毎日経口投与して脾臓細胞のNK活性を評価した。その結果、EPSを投与したマウスでは蒸留水を投与したマウスに比べてNK活性が有意に上昇した。そこで、このEPSを含有するヨーグルト、すなわち1073R-1乳酸

菌と *S. thermophilus* OLS3059 で発酵したヨーグルト (1073R-1乳酸菌ヨーグルト) を調製し、マウスに4週間毎日経口投与を行った。その結果、1073R-1乳酸菌ヨーグルトは蒸留水に比べてNK活性を有意に上昇させた。一方、発酵前の未発酵乳や他の乳酸菌で発酵したヨーグルトはNK活性を上昇させなかった (Makino *et al.*, *J. Dairy Sci.* 2006)。

5. マウスにおける抗インフルエンザ活性

NK細胞はウイルス感染細胞を攻撃することでウイルス感染防御に関わっていることが知られている。そこで、マウスインフルエンザウイルス感染モデルを用いて1073R-1乳酸菌ヨーグルトとEPSの効果の評価した。BALB/cマウスに各被験物を、ウイルス接種21日前から6日後まで経口投与した。1073R-1乳酸菌ヨーグルトは0.4 ml/day/マウス、EPSは1073R-1乳酸菌ヨーグルト0.4 mlの含有量に相当する20 μ gを毎日経口投与した。ウイルス感染後、マウスの生存率を指標に、1073R-1乳酸菌ヨーグルトおよびEPSの抗インフルエンザ活性を評価した。その結果、蒸留水を投与したマウスはウイルス接種7日後から死亡が観察され、9日後には全てのマウスが死亡した (生存率0%)。一方、1073R-1乳酸菌ヨーグルトを投与したマウスはウイルス接種21日後の生存率が37.5%であり、蒸留水投与に比べて有意な生存率の上昇及び生存日数の延長が認められた ($P=0.0018$)。また、EPSを経口投与したマウスはウイルス接

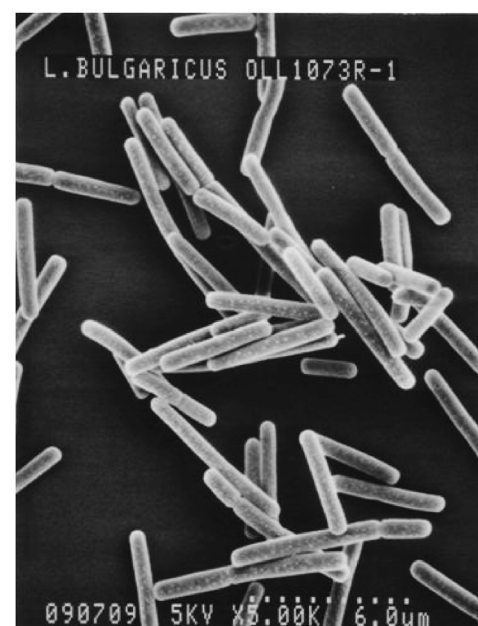


図1 1073R-1乳酸菌

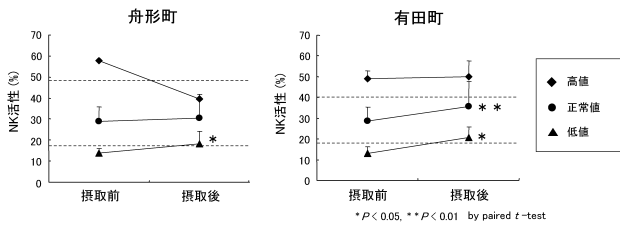


図2 1073R-1乳酸菌ヨーグルトの摂取によるNK活性の変化

種21日後の生存率が11%であり、蒸留水投与に比べて生存率の上昇及び生存日数の延長傾向が認められた ($P=0.0648$)。

さらに、これらの効果のメカニズムを調べるために、上記と同様のスケジュール、投与量で1073R-1乳酸菌ヨーグルト、EPSをマウスに経口投与し、マウスがすべて生存しているインフルエンザウイルス接種4日後に脾臓細胞のNK活性、肺洗液中のインフルエンザウイルス特異的抗体価、インフルエンザウイルス価について評価を行った。その結果、1073R-1乳酸菌ヨーグルト投与群、EPS投与群ともに蒸留水投与群に比べて脾臓細胞のNK活性は上昇しており、さらに肺洗液中のインフルエンザウイルス特異的IgA、IgG1の増加が認められた。これらの現象を反映するように、肺洗液中のインフルエンザウイルス価は1073R-1乳酸菌ヨーグルト投与群、EPS投与群ともに蒸留水投与群に比べて有意に減少しており、これが生存日数の延長につながったと考えられる。これらの結果から、1073R-1乳酸菌ヨーグルトは抗インフルエンザ活性を發揮し、その効果にはEPSによるNK活性の上昇効果、さらにはインフルエンザウイルス特異的抗体価を増加させる効果が寄与している可能性が示唆された (Nagai *et al.*, *Int. Immunopharmacol.* 2011)。

6. 健常高齢者を対象とした長期摂取試験

1073R-1乳酸菌ヨーグルトの摂取がヒトの免疫機能に与える影響を評価するために、健常高齢者を対象とした長期摂取試験を山形県舟形町 (2005年3月~5月)、佐賀県有田町 (2006年11月~2007年2月) で実施した。

1) 山形県舟形町での試験

山形県舟形町に在住する40歳以上の住民を対象として試験を実施した。被験者57名を2群に分け、1073R-1乳酸菌ヨーグルト摂取群と牛乳摂取群とした。摂取期間は8週間とし、1073R-1乳酸菌ヨーグルトは90g、牛乳は100mlを1日1回任意の時間に摂取した。その結果、被験者を摂取前のNK活性で低値、正常値、高値のグループに層別化した場合、1073R-1ヨーグルト摂取群では低値のグループでNK活性が有意に上昇した (図2)。また、風邪・インフルエンザなどの風邪症候群に罹患したヒトの数は、牛乳摂取群に比べて1073R-1ヨーグルト摂取群では少なかった。しかし、罹患リスクは、両群の間に有意な差は認められなかった ($OR\ 0.29, P=0.103$) (図3)。

2) 佐賀県有田町での試験

佐賀県有田町在住の60歳以上の健常高齢者85名を対象に山形県舟形町とはほぼ同様の摂取試験を実施し、NK活性の変動、風邪症候群への罹患状況について評価を行った。ただし摂取期間は12週間とした。その結果、1073R-1乳酸菌ヨーグルト摂取

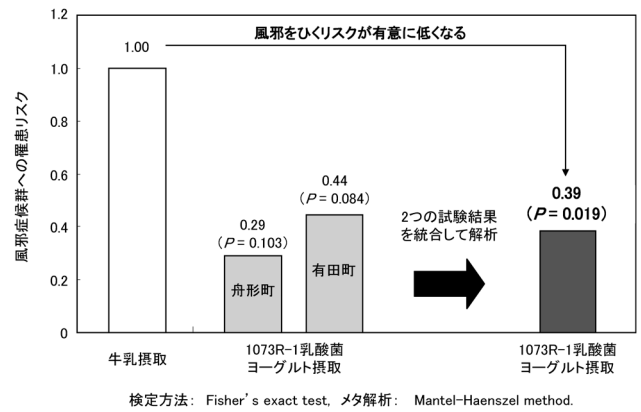


図3 1073R-1乳酸菌ヨーグルトの摂取による風邪症候群への罹患リスクの低減

群のNK活性は舟形町の試験と同様に低値のグループで有意な上昇が認められた (図2)。風邪症候群への罹患リスクについては、1073R-1乳酸菌ヨーグルト摂取群で牛乳摂取群に比べて低下する傾向が見られた ($OR\ 0.44, P=0.084$) (図3)。

3) 2つの試験結果のメタ解析

舟形町と有田町の試験で得られた風邪症候群に対する罹患リスクの結果について、統合して解析を行った。その結果、1073R-1乳酸菌ヨーグルト摂取群では牛乳摂取群に比べて風邪症候群への罹患リスクが有意に低下することが明らかとなった ($OR\ 0.39, P=0.019$) (図3)。また、NK活性についても同様に解析を実施した結果、1073R-1乳酸菌ヨーグルト摂取群では摂取前後におけるNK活性の上昇の程度が牛乳摂取群に比べて有意に高いことが明らかとなった ($P=0.028$) (Makino *et al.*, *Br. J. Nutr.* 2010)。

7. おわりに

20世紀初頭、免疫の研究でノーベル賞を受賞したイリヤ・メチニコフ (1845-1916) は、ブルガリア旅行中の見聞からヨーグルトが長寿に有用であるという説を唱え、ヨーグルトが世界中に広がるきっかけとなった。現在広く知られているヨーグルトの健康効果は整腸作用であり、腸内細菌叢の正常化、腸内腐敗産物の低減など、腸内環境の改善が免疫機能に良い影響を与えることは容易に想像できる。加えて、1073R-1乳酸菌で発酵したヨーグルトには、EPSという直接免疫機能に働きかける成分が含まれており、より強力に免疫力を高める可能性が考えられる。免疫力は加齢の他、ストレスや不規則な生活、激しい運動などによって低下することから、ヨーグルトのような食品を毎日摂取することで免疫力を高め、風邪やインフルエンザなどの罹患リスクを低減できれば、高齢者のみならず幅広い人々の健康に貢献できる可能性がある。

謝辞 本研究に関しましてご指導ならびご協力いただきました多くの先生、特に抗インフルエンザ活性の試験を実施していただいた北里大学山田陽城名誉教授、永井隆之講師にこの場をお借りして深謝いたします。