

## 論文要旨

### 学位論文

題目 Health-promoting effects of lactic acid bacteria and probiotics.

— Their antiobesity and lipid lowering effects —

(乳酸菌及び乳酸菌製剤の肥満予防を中心とした健康増進作用)

### 第1章 緒言

ヒトの消化管には 400~500 種類の細菌種が生息しており、糞便 1g あたりの細菌数はおよそ  $10^{12}$ CFU に及ぶと言われている。これらの腸内細菌は互いに影響しあい、腸内細菌叢と呼ばれる複雑な生態系を形成し、様々な環境変化に対応する恒常性を維持することで宿主の健康維持に役立っている。

腸内細菌が生息する消化管の役割は食物の消化吸収だけではない。例えば腸管には全免疫系の 50% を超える免疫細胞が集まっており、免疫細胞と腸内細菌は相互作用し、病原細菌などの外敵からの攻撃を防御する役割を担っている。また、腸を含めた消化管からは体全体の代謝や食欲等にも影響を及ぼす消化管ホルモンが分泌される。このように腸には様々な働きがあることが解明されている。

プロバイオティクスとは「消化管内の細菌叢を改善し、宿主に有益な作用をもたらす得る有用な微生物」の総称である。一般的に用いられるプロバイオティクスとして乳酸菌やビフィズス菌があり、これらの菌を用いた機能性食品の日本における市場規模は約 3000 億円 (2011 年度) と言われており、近年拡大の一途を辿っている。腸管の機能が明らかになるにつれて、プロバイオティクスの可能性も旧来の便秘・下痢の改善を超えて拡大している。

本研究では、乳酸菌及び乳酸菌製剤の腸管及び腸内細菌叢への作用に焦点を当て、肥満予防を中心とした効果について検討した。

### 第2章 健胃生薬配合生菌製剤のヒト糞便細菌叢への効果

本章では、健胃生薬配合生菌製剤 (ザ・ガードコーワ整腸錠) のヒト糞便細菌叢の菌種及び構成菌数に与える影響について検討した。健康な成人 6 名 (年齢 24~55 歳、男性 4 人、女性 2 人) を対象に、生菌・健胃生薬配合整腸薬を毎食後 3 錠 (1 日 9 錠) 10 日間投与し、投与前、投与後、投与休止 1 週間後の便を採取し、腸内菌叢の検索を行った。TGGE による解析の結果、服用後に 4 名でビフィズス菌と推定されるバンドの濃度増加が認められ、リ

アルタイム PCR 法により定量的に確認できた。また、服用後に 1 名で *Haemophilus* 属と推定されたバンドの濃度減少、1 名で *Ruminococcus* 属と推定されたバンドの濃度減少、1 名で *Acidaminococcus* 属と推定されたバンドの濃度増加、1 名で *Butyrate-producing bacterium* と推定されたバンドの濃度増加、1 名で *Clostridium colinum* と推定されたバンドの濃度減少及び 1 名で *Megamonas* 属と推定されたバンドの濃度増加が確認された。以上の結果より、本剤服用により、腸内のビフィズス菌が増加し、乳酸産生の増加と乳酸利用細菌の活性化を促した。その結果、腸内の短鎖脂肪酸量が増加し、増加した短鎖脂肪酸によってもたらされる生理効果を期待できることがわかった。

### 第 3 章 マウス高脂肪食負荷モデルにおける乳酸菌の脂質代謝及び脂肪合成への効果

肥満とは運動不足や過食が原因で内臓に脂肪が過剰に蓄積した状態であり、糖尿病、高脂血症、高血圧、動脈硬化の主要な原因である。これらの重篤な病態を予防する上で、内臓脂肪細胞の脂質代謝を高めること、或いは脂肪合成を抑えることは大変重要である。例えば、食物繊維であるアラビアガムは脂肪細胞において脂質代謝を高めることが確認されている。アドレナリン応答性の低下と肥満が密接に関係しており、脂肪細胞中のアドレナリンレセプターの発現量と脂質代謝に相関があることが推定された。しかしながら、脂肪細胞において、アドレナリンレセプターの発現量に比例して中性脂肪分解量の増加があることを検証した例は少ない。乳酸菌は肥満予防に効果があり、ある特定の乳酸菌に血中脂質改善作用があることが知られている。しかしながら、これについてはメカニズムが明確にされていない。本章では、内臓脂肪組織の脂肪動員に焦点を当て、乳酸菌の投与が内臓脂肪組織に与える影響について評価した。

Balb/c メス 13 週齢のマウス 30 頭を 4 群に分け、それぞれに①粗繊維食、②10kcal%Fat 精製飼料、③45kcal%Fat 精製飼料、④乳酸菌 (*Lactobacillus gasseri* NT)  $10^9$ CFU/g 含有 45kcal%Fat 精製飼料を 13 週間自由摂食させた。これらのマウスについて、体重、内臓脂肪重量、血液生化学検査値、ex-vivo テストによる内臓脂肪代謝能、各臓器の脂質代謝或いは合成に関わる遺伝子の発現量を比較した。

その結果、乳酸菌投与により、内臓脂肪重量及び血液中の遊離脂肪酸量が有意に低下することが判った。ex-vivo テスト及び各臓器における遺伝子発現量の結果から、内臓脂肪減少の作用機序は脂質代謝亢進ではなく、脂肪合成抑制によると示唆された。

### 第 4 章 *Lactobacillus gasseri* NT 株は KK-A<sup>y</sup> マウスにおいて脂肪の排泄を亢進することで内臓脂肪の蓄積を抑制する

第 3 章において、乳酸菌投与により内臓脂肪合成が抑制されることが認められた。経口投与された乳酸菌は消化管、特に腸管で作用することから、腸管と内臓脂肪との間に接点があると考えられる。そこで本章では、高脂肪食負荷時の消化管における脂質の動態について検討した。

KK-A<sup>y</sup> オス 3 週齢のマウス 18 頭を 2 群に分け、それぞれ 45kcal%Fat 精製飼料、乳酸菌 (*L. gasseri* NT) 10<sup>9</sup>CFU/g 含有 45kcal%Fat 精製飼料を 5 週間ペアフィードさせた。これら 2 群について、体重、内臓脂肪重量、血液生化学検査値、肝臓及び糞便中の脂質量及び組成、脂質代謝或いは合成に関わる遺伝子の発現量を比較した。

第 3 章の場合と同様に、乳酸菌投与により、内臓脂肪重量及び血液中の遊離脂肪酸量が有意に低下することが確認された。乳酸菌投与によって、肝臓中の脂肪重量の低下、糞便中の胆汁酸量の低下、糞便中の中性脂肪量の増加を認めたことから、作用機序は腸管において脂肪の吸収が抑制されたことによると示唆された。

## 第 5 章 総括

本研究では、プロバイオティクスの腸管及び腸内細菌叢への作用に焦点を当て、肥満予防を中心とした効果について検討した。健胃生薬配合生菌製剤を用いたヒト試験では、健胃生薬配合生菌製剤はヒトの糞便細菌叢に作用し、ビフィズス菌の増加及びビフィズス菌と共生関係にある細菌群の増加の可能性が示唆されたが、食生活の違い及び個体差の問題から、明確な結論は導き出せなかった。近年、腸内細菌叢がその宿主のエネルギー調節や栄養の摂取等のエネルギー恒常性維持に深く関与していることが知られており、肥満との関連が期待されている。

マウスを用いた検討では、乳酸菌 (*Lactobacillus gasseri* NT) の投与が内臓脂肪の蓄積を抑制する効果が認められた。作用機序は、脂肪合成及び脂肪吸収を抑制することによると示唆された。

乳酸菌には菌体及びその産生物による直接的な作用と、腸内細菌叢の変化や乳酸菌の代謝物を介した間接的な作用が考えられる。本研究ではその一端を解明したに過ぎず、その他の可能性も多く残されており、今後も更なる検討を実施する。