



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

Bifidobacterium lactis
LKM512の保健効果に関する研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2008-02-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 松本, 光晴 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/2306

氏 名 (本 國 籍)	松 本 光 晴 (兵 庫 県)
学 位 の 種 類	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 乙 第 61 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 14 年 3 月 13 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 題 目	<i>Bifidobacterium lactis</i> LKM512 の 保 健 効 果 に 関 する 研 究
審 査 委 員 会	主 査 信 州 大 学 教 授 細 野 明 義 副 査 信 州 大 学 教 授 大 谷 元 副 査 静 岡 大 学 教 授 碓 水 泰 市 副 査 岐 阜 大 学 教 授 加 藤 宏 治

論 文 の 内 容 の 要 旨

腸内フローラが宿主の健康状態に大きく関与し、とりわけ *Bifidobacterium* がプロバイオティクスとして有効な働きをしていることがこれまでの研究から明らかにされている。プロバイオティクスの概念を考慮すると、経口型のビフィズス菌を投与することの方が腸管内でビフィズス菌を増殖させることよりも菌量を把握する上で好ましいとする考えが現在なされているものの、投与型のプロバイオティクスとして明らかにされているビフィズス菌は数種に限られている。本研究は新たな投与型プロバイオティクスを開発することを目的として、耐酸素性の *Bifidobacterium lactis* (LKM512) を用いて行なったものである。

本研究では先ず供試の LKM512 株の *B. animalis* との近縁性を DNA-DNA 相同性試験を行うと同時に 16rRNA 塩基配列に基づく系統樹を作成した。その結果、*B. lactis* は *B. animalis* と極めて近縁であり *B. animalis* の synonym であることを示唆し、*B. animalis* に再分類されるべきであるとの結論を得た。このことは、*B. lactis* の位置付けにおける基本的な問題を提起したことにもなり、国際細菌分類委員会に提訴し得る知見でもある。また、LKM512 株が耐酸性ならびに耐胆汁酸性を有しており、ヒト由来の腸管ムチンに対する接着率が他の腸管由来の細菌に比べて際立って高いことを明らかにした。さらに、耐酸性を強くもつ *Bifidobacterium* の耐酸性グループは非耐酸性グループに比べて H⁺-ATPase 活性が顕著に高く、また中性域から酸性域へ環境を変化させた場合に耐酸性グループは H⁺-ATPase が有意 (p<0.05) に上昇するのに対し非耐酸性グループは減少傾向を示すことから、*Bifidobacterium* の耐酸性が H⁺-ATPase の誘導反応に依存することを確認した。

さらに、本研究では LKM512 株のムチンに対する接着率を調べるために、4ヶ月齢児、20歳代および50歳代の成人由来の腸管ムチンを採り出し、それらに対する接着率を検討した。その結果、腸管常在菌に比べて LKM512 株が有意 (p<0.05) に高い接着率を示す

ことを明らかにし、LKM512 株がプロバイオティクスとして優れていることを証明した。この結果に基づいて LKM512 株を用いて発酵乳をつくり、それを健康なヒトに投与することにより腸内フローラ改善に優れた効果を示すことなどを明らかにした。加えて、便性に関しては 1 日あたり 100 グラムの投与により排便回数が有意 ($p < 0.05$) に増加することを確認した。さらに、日常的に医薬品を摂取している中高齢入院患者を対象に LKM512 ヨーグルトを投与し、腸内フローラに与える影響についても調べている。その結果、1 日あたり 100 グラムの投与により、2 週目には *Bifidobacterium* がプラセボ投与に対して有意 ($p < 0.05$) に増加し、*Peptostreptococcaceae*, *Veilonell* および *Staphyrococcus* の検出率の低下が認められた。総菌数に対する占有率でも *Bifidobacterium* は投与 2 週目には投与前と投与中止期に対し有意 ($p < 0.05$) に増加し、プラセボ投与で増加する傾向を示した。さらに、スペルミンが LKM512 投与により投与前に対し有意 ($p < 0.05$) に増加し、プトレシン、スペルミジンおよびカダベリンも LKM512 投与により増加する傾向を示した。また、ハプトグロビン含量は LKM512 投与により投与前に比べ有意 ($p < 0.05$) に減少し、腸管内の炎症が抑えられることを認めた。このことから、LKM512 ヨーグルトは腸管内のポリアミンを増加させ、炎症や変異原性を抑制することでヒトの腸内環境改善に有効であることを証明した。

以上の結果から LKM512 株がヒトに対し極めて有効かつ優れた保健効果を有しているプロバイオティクスであることを証明した。本研究の成果の卓越性は実験動物を離れ、人体における保健効果を直接検討し、高い機能性を有する発酵乳の開発を可能にした点にある。

審 査 結 果 の 要 旨

平成 14 年 1 月 30 日、信州大学農学部において学力筆記試験が行われ、次いで審査員全員出席のもとに公開発表会が開かれ、約 30 分間にわたる口頭発表と、約 30 分間の質疑応答が行われた。

腸内フローラが宿主の健康状態に大きく関与し、とりわけ *Bifidobacterium* がプロバイオティクスとして有効な働きをしていることがこれまでの研究から明らかにされている。プロバイオティクスの概念を考慮すると、経口型のビフィズス菌を投与することの方が腸管内でビフィズス菌を増殖させることよりも菌量を把握する上で好ましいとする考えが現在なされているものの、投与型のプロバイオティクスとしてその機能が明らかにされているビフィズス菌は数種に限られている。本研究は新たな投与型プロバイオティクスを開発することを目的として、耐酸素性の *Bifidobacterium lactis* (LKM512) を用いて行なったものである。本研究では先ず供試の LKM512 株の *B. animalis* との近縁性を DNA-DNA 相同性試験を行うと同時に 16rRNA 塩基配列に基づく系統樹を作成した。また、LKM512 株が耐酸性ならびに耐胆汁酸性を有しており、ヒト由来の腸管ムチンに対する接着率が他の腸管

由来の細菌に比べて際立って高いことを明らかにした。LKM512株を用いてつくった発酵乳を健康なヒトに投与すると腸内フローラ改善に優れた効果を示すことなどを明らかにし、ヒトに対し極めて有効な保健効果を有するプロバイオティクスであることを証明した。本研究の成果の卓越性は実験動物を離れ、人体における保健効果を直接検討し、高い機能性を有する発酵乳の開発を可能にした点にある。各審査員からの質問にも的確に応え、また学力筆記試験結果も高得点であった。審査委員会は本研究の成果ならびに学力試験の結果から岐阜大学大学院農学研究科の論文博士の学位に十分な価値を有していることを全員一致で認めた。

《学位論文の基礎となる学位論文》

1. Matsumoto, M., Tadenuma, T., Nakamura, K., Kume, H., Imai, T., Kihara, R., Watanabe, M. and Benno, Y. Effect of *Bifidobacterium lactis* LKM512 yogurt on fecal microflora in middle to old aged persons. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 12, 77-80 (2000).
2. 松本光晴、今井哲哉、廣中貴宏、久米仁司、渡辺正利、辨野義己。
Bifidobacterium lactis LKM 512 株含有ヨーグルトのヒト糞便菌叢および便性に及ぼす影響、*腸内細菌学雑誌*、14, 97-102 (2001).
3. Matsumoto, M., Tani, H., Ono, H., Ohishi, H. and Benno, Y. Adhesive property of *Bifidobacterium lactis* LKM512 and predominant bacteria of intestinal microflora to human intestinal mucin. *Current Microbiology*, *in press*.
4. Matsumoto, M., Ohishi, H. and Benno, Y. Impact of LKM512 yogurt on improvement of intestinal environment of the elderly. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, *in press*.

《既発表学術論文》

1. Matsumoto, M., Hosono, A. Study of angiotensin- I -converting enzyme from bacteria found on buckwheat seeds. *Italian Journal of Food Science*, 12, (4) 451-456 (2000).
2. 松本光晴、大石一二三、細野明義 バターミルク由来抗ウシロタウイルスポリペプチド、*日本畜産学会報* 印刷中
3. Cai, Y., Matsumoto, M., Benno, Y. *Bifidobacterium lactis* Meile et al. 1997 is a subjective synonym of *Bifidobacterium animalis* (Mitsuoka 1969) Scardovi and Trovattelli 1974 *Microbiology and Immunology*, 44, (10) 815-820 (2000).