

殺菌された乳酸菌のはたらき

弘田 辰彦

発酵食品はその姿や風味はさまざまであるが、世界中で愛され、古くから我々の食生活と密接に関わっている。乳酸菌はヨーグルトや漬物をはじめとする、さまざまな発酵食品の製造に用いられる微生物の一種である。乳酸菌は発酵により糖を資化して乳酸などを産生することで、pHを低下し保存性を良くすることや、味に複雑さを増すことで呈味性を良くするなどの利点をもたらす。また、日常的な食生活の中で発酵食品を積極的に取り入れる利点の一つとして、乳酸菌の摂取による健康増進効果が期待されることもあげられる。

乳酸菌を摂取することによる健康増進効果は古くから知られており、特に生きた乳酸菌やビフィズス菌はプロバイオティクスと呼ばれ、生体に良い影響をもたらすと考えられている。プロバイオティクスとして用いられる微生物種やこれまで報告されている機能については多くの成書でまとめられているため、そちらを参照されたい¹⁾。これらのプロバイオティクスの機能評価においては、生きた乳酸菌を摂取する方法として発酵乳などの発酵食品や生菌製剤を用いることが多い。その一方で、乳酸菌などで発酵した後の乳を加熱殺菌した殺菌発酵乳についても古くから研究が行われている。1980年には荒井らが殺菌発酵乳をマウスに終生投与した研究を行い、非投与群、未発酵乳投与群と比較してマウスの寿命が延長するという試験結果を報告している²⁾。発酵乳の健康効果にはその作用機序として生きた菌のみならず、発酵によって産生された発酵代謝産物や乳酸菌の死菌体もしくはその成分もその作用を発揮していると考えられ、「バイオジェニックス」³⁾や「パラプロバイオティクス」⁴⁾として研究が進められている。本稿ではこの殺菌乳酸菌体にフォーカスを当て、これまで知られている機能や作用機序について一部を紹介する。

殺菌乳酸菌の機能性

免疫調節作用 我々の体は常に多くの病原微生物や異種抗原に曝されている。消化管、気道、泌尿生殖器の粘膜においては、食物吸収、ガス交換、感覚器活動や生殖などの生理的な機能を担うため、上皮細胞層などの物理的障壁のほかに粘膜免疫系と呼ばれる大規模かつ複雑

な免疫機構が発達している。口から摂取された殺菌乳酸菌も腸でその機能を発揮すると考えられることから、このような粘膜免疫系を介した免疫調節作用への影響についても多くの研究が行われている。

乳酸菌体の免疫調節作用には腸炎など局所での免疫反応以外にも、感染に対する防御効果や抗がん作用、アレルギー反応の抑制作用といった全身性の免疫反応を調節することが知られている。*Enterococcus faecalis* EC-12⁵⁾、*Lactobacillus paracasei* MCC1849⁶⁾、*Lactococcus lactis* JCM 5805⁷⁾、*Lactobacillus pentosus* S-PT84⁸⁾、*Lactobacillus plantarum* L-137⁹⁾など、属や種を超えて多くの菌で殺菌菌体の免疫調節作用が報告されている。

その中で、*Lactobacillus acidophilus* L-92 (L-92) は免疫調節作用を有する乳酸菌の一種としてスクリーニングされた株である。L-92は殺菌された乳酸菌体がアレルギー性鼻炎やアトピー性皮膚炎などのアレルギー症状を緩和することやインフルエンザウイルスに対して感染予防的なはたらきをすることが確認されている。

Ishidaらはスギ花粉症の自覚症状を有し、血液中のスギ花粉への特異的IgE抗体価が陽性である成人男女を2群に分け、一方の群にはL-92の殺菌発酵乳を、もう一方の群には風味を調整した疑似発酵乳をスギ花粉の飛散シーズンに6週間摂取させた。被験者の自覚症状、医薬品の使用頻度から算出したスコア (symptom- medication score, 以下, SMS) を用いて比較したところ、摂取期間中の眼SMSの平均値を日ごとにプロットした時、L-92を摂取した群において有意に低値で推移したことを報告している¹⁰⁾。

アトピー性皮膚炎については、通院治療を行っている16歳以上のアトピー性皮膚炎患者を対象とした試験において、通常の治療を継続しながらL-92を8週間摂取させたところ、皮膚症状のスコアリング方法として広く用いられているScoring atopic dermatitis (SCORAD)の改善が認められ、血液中の好酸球数が低下し、抑制性サイトカインの一種として知られ制御性T細胞などによって放出されるtransforming growth factor (TGF)- β の有意な上昇が認められ、L-92の摂取が炎症を抑制するように働いた可能性が推察されている¹¹⁾。

アトピー性皮膚炎は、食物アレルギーとともに乳幼児期に現れやすいアレルギー疾患である。しかも、アレルギーマーチといわれるように、乳幼児期にアトピー性皮膚炎を有していると、成長とともに他のアレルギー性疾患が出現することが多く、乳幼児期にこのアレルギーマーチの進展を予防することが重要であると考えられている。乳幼児期においては、アトピー性皮膚炎とともに食物アレルギーを有している場合が少なくない。日本では食物アレルギーの主要なアレルゲンとしては鶏卵、乳、小麦などがあげられる。乳酸菌というと乳を発酵させるものというイメージが強く、乳酸菌がアレルギーに良いとわかっていながらも、乳アレルギーを持つ幼児の保護者が乳酸菌の摂取を控えるようにしているという話を伺った経験があり、乳酸菌に触れる機会を増やすため、何か対処ができないかと思案していた。

そこで最近の報告において、乳などの主要なアレルゲンを含まない培地を用いて培養して製造したL-92殺菌乳酸菌末を用いた試験が実施されている。生後10か月以上3歳未満の食物アレルギーの疑いのあるアトピー性皮膚炎患児を対象とした試験において、スキンケア指導や投薬などのアトピー性皮膚炎の標準的な治療に加えて、L-92を含む粉末食品を24週間摂取させたところ、L-92を1日あたり20 mg摂取した群では摂取後に血液中の総IgE、アトピー性皮膚炎の重症度と関連があるといわれるthymus and activation-regulated chemokine (TARC) 値の有意な低下が認められ、SCORADを用いた皮膚炎スコアについてもL-92摂取により改善傾向があることが確認された(図1)。加えて、保護者が質問に答える形式で、皮膚炎を有する幼児のQOL評価として用いられるInfants' Dermatitis Quality of Life index (IDQOL) の指標も有意に改善されることが確認されている¹²⁾。

感染予防効果については、冬季に風邪をひきやすい自覚があり、過去にインフルエンザ感染症に罹患した経験

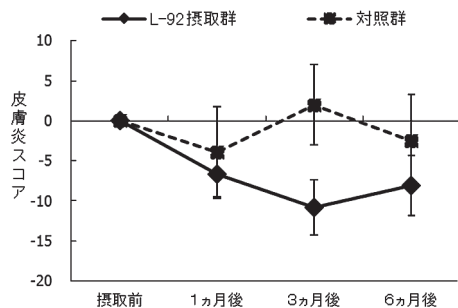


図1. 食物アレルギーの疑いのあるアトピー性皮膚炎乳幼児における試験期間中の皮膚炎スコアの摂取前を0とした変化値推移。

を持つ成人男女を対象にL-92を含む食品を8週間摂取させて調べられた。その結果、唾液中のA型インフルエンザウイルスの検出率および、起床時の体温測定での38度以上の発熱者の数が有意に低下したという報告がなされている¹³⁾。なお、唾液中からのウイルス検出には高感度でかつ迅速に測定できる糖鎖を固定化したバイオデバイス(シュガーチップおよび糖鎖固定化金ナノ粒子)が用いられている。

体脂肪低減作用 2004年にGordonらの研究グループが無菌マウスを用いた研究を報告して以降¹⁴⁾、腸内菌叢と肥満との関連性が注目されている。メタボリックシンドロームが大きな問題となっていく中で精力的な研究が現在も進められているが、殺菌乳酸菌体でも体脂肪低減作用を有することが報告されている。Lactobacillus amylovorus CP1563 (CP1563)は殺菌された乳酸菌で、肝臓や骨格筋、小腸、褐色脂肪細胞などに存在しているperoxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α)の活性化を指標に選抜された¹⁵⁾。マウスを用いた検討により乳酸菌体を物理的に破碎することで、非破碎菌体と比較して血中高密度リポタンパク質コレステロール(HDL-Cho)の増加、低密度リポタンパク質コレステロール(LDL-Cho)およびトリグリセリド(TG)低下が確認され、脂質代謝改善効果が高まることが確認された。破碎したCP1563より分画を行ったところ、PPAR α 活性の集約する画分が分離され、構造解析の結果から、その画分に含まれる物質として10-ヒドロキシオクタデカン酸(10-HOA)が同定されている¹⁶⁾。

実際に人を対象とした試験において、肥満度が正常高値から肥満1度の人(BMI23以上30未満)にCP1563由来の10-HOAを含む飲料を1日1本18週間摂取してもらったところ、腹部内臓脂肪面積や全体脂肪面積の有意な減少が確認されている。また、高密度リポタンパク質(HDL)の構成因子であり、組織からの脂肪やコレステロールの排泄に関わるアポリポタンパク質A-1(ApoA-I)の血漿中濃度も有意に増加することが報告されている¹⁷⁾。

腸内環境改善作用 腸内菌叢のバランスを整える作用については、生菌、すなわちプロバイオティクスの第一の機能として考えられている。生きた菌が腸に届き定着することで菌叢を変化させ、腸内環境を整えるというメカニズムは非常にわかりやすく、専門知識がなくとも受け入れられやすい。プロバイオティクスが広く支持される理由にはこうしたわかりやすいストーリーがその一因であると考えられるが、殺菌乳酸菌体においても腸内環境改善作用についていくつか報告がなされている。

2004年のTeradaらの報告¹⁸⁾では、加熱殺菌した*Enterococcus faecalis* EC-12の摂取が健常成人の*Bifidobacterium*を増加し、*C. perfringens*, *E. coli*を減少させ、アンモニアなど腸内の腐敗産物を減少させることを報告している。

また、*Lactobacillus gasseri* CP2305殺菌体 (CP2305) においても、腸内の有用菌を増やし、腸管内での有用菌による短鎖脂肪酸産生量が増加、さらに有害菌の増殖を抑制することが報告されている。またCP2305は便秘気味、下痢気味の方どちらの便性 (BSS Scale) も正常に近づける効果があることが確認されている¹⁹⁾。

精神的ストレス緩和作用 CP2305の摂取は腸内環境の改善のみならず、精神的ストレスの緩和作用ももたらすことが報告がされている。CP2305の4週間摂取によって、不安や抑うつといった精神状態ともに、睡眠の質 (眠りの深さ) に関しても、改善することが報告されている²⁰⁾。加えて、客観的なストレスマーカーである唾液中のコルチゾール濃度の低下、末梢血中の白血球遺伝子発現の評価でeukaryotic initiation factor 2 (EIF2) 情報伝達系遺伝子群の発現が増強されていた。精神的なストレスが深く関わる病気として過敏性腸症候群 (Irritable bowel syndrome ; IBS) が知られているが、CP2305の摂取によりこのIBSの重症度が有意に改善することのみならず、QOLも改善することが明らかとなっている²¹⁾。

殺菌乳酸菌の作用機序

殺菌乳酸菌の作用機序について多くの研究が行われているが、未だ不明な点が多く残されている。前述のCP1563のように生体の標的となる因子が明らかであり、かつ菌体の特定の成分によって機能が発揮されているのか、あるいは複数の成分や菌体の構造などが維持されている必要があるか、それぞれ発揮する機能によって作用機序も異なることが推察される。

免疫調節作用においては、生体の病原体認識機構の一つであるToll-like receptor (TLR) の関与が推測されている。いくつかのTLRはマクロファージや樹状細胞といった抗原提示細胞の表面に存在し、病原体のタイプを区別して認識するシグナル伝達レセプターである。乳酸菌が経口摂取されて小腸に到達したのち、このTLRを介してシグナルが伝わることで生体防御に関わる免疫系が活性化し、感染防御などに働くと考えられている。

その一方で、アレルギーについては1989年にStrachanらによって提唱された衛生仮説²²⁾が取り上げられることが多い。衛生仮説とはアレルギーの増加の原因として、病原体への暴露の機会が減ったことによるとする仮説で

ある。これまでは1型ヘルパーT細胞 (Th1) と2型ヘルパーT細胞 (Th2) が相互に働きを制御し合っており、乳酸菌の摂取が自然免疫系に關与するTh1の働きを高めて感染に対する抵抗力を高め、獲得免疫に關わるTh2の働きを弱めて抗アレルギー作用を示すと考えられてきた。近年ではインターロイキン-10 (IL-10) トランスフォーミング増殖因子 (TGF- β) などのサイトカインや、制御性T細胞の誘導により免疫反応を抑制的に制御し炎症反応を抑える働きによって説明されることが多くなっている。

このような乳酸菌体による免疫調節のトリガーとしては先述のTLRが推測されているが、それでは経口的に摂取され小腸に到達した乳酸菌がどのようにTLRに認識されるのであろうか。TLRを発現する抗原提示細胞は上皮細胞を隔てた体内にあり、腸管腔側から体内へと取り込まれていく必要がある。

生体では腸管で組織化されたリンパ節は総称して腸管関連リンパ組織 (GALT) と呼ばれ、GALTにはパイエル板、腸管の孤立リンパ節などが含まれる。このうちパイエル板は一層の濾胞関連上皮により腸管腔から隔てられているが、この中にはmicrofold cell (M cell) と言われる特殊な上皮細胞が存在している。M細胞は通常の上皮細胞と異なり、微絨毛や粘液層を欠いており、腸管腔の抗原をエンドサイトーシスやファイトーシスを介して持続的に取り込んでいる。

L-92を用いた試験において、M細胞上に発現するグリコシルホスファチジルイノシトール (GPI) アンカー型のタンパク質の一種であるUromodulin (Umod) が腸管からのL-92殺菌体の取込みに關与することが確認され、さらにL-92の表層を覆うタンパク質であるSurface layer protein A (SlpA) を認識して腸管内に取り込み、L-92菌体を樹状細胞に受け渡している様子が観察された。つまり、L-92においては殺菌体そのものがパイエル板上のM細胞を介して腸管に取り込まれていることが示唆されている (図2)²³⁾。

殺菌された乳酸菌によってもたらされる整腸作用や腸内環境の改善については、それを説明できるデータはまだ少ない。プロバイオティクスでは腸内菌叢のバランスの正常化で説明がなされているが、殺菌乳酸菌体ではそれのみによらない可能性がある。

CP2305に関しては、殺菌体から抗菌物質を除去したものでも整腸効果が示されていることから、菌体自体が働いていることが推察される。生体にはたらく作用機序として脳腸相関を介している可能性が示唆されている。

脳腸相関は腸内細菌研究でも注目を集めている領域の

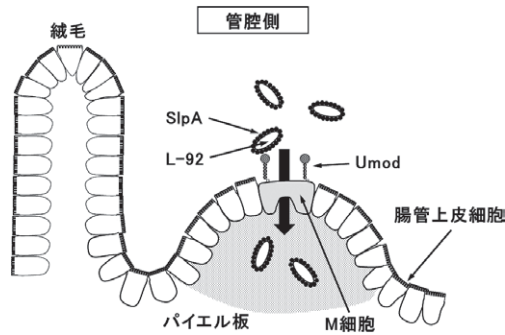


図2. L-92の腸管取り込みの模式図. M細胞上のUromodulin (Umod)がL-92の表層を覆うSurface layer protein A (SlpA, 図中●)を認識して腸管内に取り込まれる。

一つである。脳腸相関とは脳と腸が自律神経系やホルモン、サイトカインといった液性因子などを介して相互に関連していることを指すが、これに加えて腸内細菌の役割が明らかになっていくにつれ、腸内細菌-脳腸相関とも言われるようになっていく。

CP2305摂取後の自律神経活動バランスの変化を評価したところ、摂取後の副交感神経活動が優位となることが明らかとなっている。菌体が消化管に接触して作用し、消化管から迷走神経を介して自律神経活動に影響を及ぼしている可能性があり、動物試験においても同様のデータが得られている。

殺菌乳酸菌の利点と限界

殺菌乳酸菌を食品素材として提供する場合の大きな利点の一つとしては、そのアプリケーションの自由度の高さがあげられるであろう。生菌の場合、生きた状態を保持するためには温度やpH、形態などに配慮する必要があるが、殺菌されているため、多くの食品、飲料に適用が可能である。また、酸を生成することがないため、風味を大きく変化させないという特長がある。菌が増殖あるいは死滅しないということは、菌の量を設定することも容易である。実際、ここ数年で殺菌乳酸菌を活用した食品も市場でよく見かけるようになってきており、徐々にその活用が広がっているのを感じる。市場で見かけた乳酸菌活用製品について、それが生菌か殺菌なのか調べてみるのも面白い。

一方、腸内菌叢形成期における介入など、腸内で定着して菌が増えることは殺菌体では不可能である。それによって、生きて腸まで届き、腸内環境を整えるという一

般的に考えられている乳酸菌のストーリーとは異なるため、なぜ殺菌されていても機能を発揮するのか、専門知識がなくとも受け入れられるメカニズムの説明が必要になると思われる。

おわりに

本稿では、殺菌乳酸菌の機能やその作用機序について、ごく一部を紹介した。以前はプロバイオティクス、生菌としての乳酸菌、ビフィズス菌の機能がほとんどであったが、殺菌された菌体に関してもさまざまな知見が集まっている。作用機序やその機能についてより研究が進むことで、生菌、殺菌それぞれの利点を活かしつつ、乳酸菌の活用シーンがさらに拡大し、多くの方に食を通じた健康維持に役立てられることを期待する。

文 献

- 1) 日本乳酸菌学会 編：乳酸菌とビフィズス菌のサイエンス、京都大学学術出版会 (2010).
- 2) 荒井幸一郎ら：栄養と食糧, **33**, 219 (1980).
- 3) Mitsuoka, T.: *Biosci. Microbiota Food Health*, **33**, 117 (2014).
- 4) Taverniti, V. and Guglielmetti, S.: *Genes Nutr.*, **6**, 261 (2011).
- 5) Miyamoto, S. et al.: *Int. J. Mol. Sci.*, **18**, 826 (2017).
- 6) Murata, M. et al.: *Benef. Microbes*, **9**, 855 (2018).
- 7) Komano, Y. et al.: *J. Int. Soc. Sports Nutr.*, **15**, 39 (2018).
- 8) Maekawa, T. et al.: *Med. Mycol. J.* **57**, E81 (2016).
- 9) Hirose, Y. et al.: *J. Nutr. Sci.*, **2**, e39 (2013).
- 10) Ishida, Y. et al.: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **69**, 1652 (2005).
- 11) Inoue, Y. et al.: *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **165**, 247 (2014).
- 12) Nakata, J. et al.: *Asia Pac. Allergy*, **9**, e18 (2019).
- 13) Suda, Y. et al.: *Biotechnol. Rep.*, **7**, 64 (2015).
- 14) Bäckhed, F. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 15718 (2004).
- 15) Nakamura, F. et al.: *J. Agric. Food Chem.*, **64**, 2549 (2016).
- 16) 青木ゆめこら：応用薬理, **95**, 73 (2018).
- 17) Fujiwara, S. et al.: *Jpn. Pharmacol. Ther.*, **46**, 1601 (2018).
- 18) Terada, A. et al.: *Microb. Ecol. Health Dis.*, **16**, 188 (2004).
- 19) Sugawara, T. et al.: *Microb. Ecol. Health Dis.*, **27**, 1 (2016).
- 20) Sawada, D. et al.: *J. Funct. Foods*, **31**, 188 (2017).
- 21) Nobutani, K. et al.: *J. Appl. Microbiol.*, **122**, 212 (2016).
- 22) Strachan, D. P.: *BMJ*, **299**, 1259 (1989).
- 23) Yanagihara, S. et al.: *Int. Immunol.*, **29**, 357 (2017).