

学 位 論 文 の 要 旨

論文題目 ビフィズス菌の棲息環境による特性の違いおよび個別の菌株の生理作用に関する研究

氏 名 南 淳 一

第1章 序論

ビフィズス菌は、ヒトの健康に有益なはたらきをするプロバイオティクスとして長年研究されており、発酵乳やサプリメントといった一般食品に応用されている。ビフィズス菌には 70 以上の分類が同定されているが、自然界での生息環境に基づいてそれらの菌種をヒト常在性ビフィズス菌 (HRB, Human-Residential Bifidobacteria) とヒト以外の動物や昆虫の腸管に棲息する非ヒト常在性ビフィズス菌 (非 HRB) に大別することができる。近年の研究は、HRB と非 HRB では保有する遺伝情報が異なっており進化の過程でそれぞれの棲息環境に適応したこと、およびそれぞれの特性の違いが腸管定着性などの機能と関係していることを示唆している。そこで本研究では、ビフィズス菌優勢な腸内環境を持つ乳児にとって主要な栄養源である母乳成分に着目し、ビフィズス菌の生育に関わる選択因子について研究を行った。また腸内細菌研究の進展により、プロバイオティクスの生理作用として、整腸効果やアレルギー緩和作用だけでなく、ヒトの体組成や代謝機能への有益なはたらきが期待されている。例えば、肥満者と痩身者では腸内細菌叢の構成が異なっており、肥満者ではビフィズス菌の占有率が減少していることや、腸内細菌の移植により体脂肪の増加率が有意に変化したことから、食事や運動に加え、腸内細菌が肥満の治療や予防のターゲットの一つとして認識されている。そこで、ヒト常在性ビフィズス菌に属する菌株である *Bifidobacterium breve* B-3 株の含有食品を用いて介入試験を行い、ビフィズス菌の摂取が被験者の体組成や代謝機能に及ぼす影響について研究を行った。

第2章 ヒト常在性ビフィズス菌の特徴

本章では、なぜ特定の菌種がヒト腸管に棲息しているのか、ビフィズス菌の菌種ごとの特性の違いと棲息環境の関係を理解するために、乳児型 HRB、成人型 HRB、非 HRB を含む、10 種 3 亜種、37 株のビフィズス菌菌株を用いて、ビフィズス菌菌株の母乳親和性を評価した。In vitro にて各ビフィズス菌菌株の母乳中での生育度合を評価した結果、乳児型 HRB である *B. infantis*、*B. breve*、*B. longum*、*B. bifidum* の菌株は生存、増殖したのに対して、成人型 HRB、非 HRB のほとんどの株は生育できず、検出感度以下まで菌数が減少した。母乳中には十分量のラクトースが含まれており、本実験で観察された菌数の減少は栄養源では説明がつかないため、母乳中の抗菌成分について検討した結果、乳児型 HRB は、成人型 HRB や非 HRB よりも高濃度のリゾチームに耐性を示した。ヒト母乳中には、ヒト以外の哺乳類と比べて高濃度のリゾチームが含まれていることや、乳児型 HRB のリゾチーム許容濃度が母乳中との生育能と一致していたことから、これらの特徴は、乳児の腸における乳児型 HRB の選択的定着に寄与している可能性が考えられた。このようにヒト常在性ビフィズス菌、特に乳児型 HRB が乳児腸管の環境に適した特性を持ち、選択的定着という機能面において他のビフィズス菌菌種より優位性を示すことが明らかになった。一方で、母乳親和性やリゾチーム耐性には、菌株依存的に成績が異なる一面もあり、個別の菌株の生理作用については、各菌株を用いた検証が必要であると考えられた。

第3章 ヒト常在性ビフィズス菌 *B. breve* B-3 を用いた臨床試験

本章の研究では、ヒト常在性ビフィズス菌に属する *B. breve* B-3 の含有食品を用いて、ビフィズス菌の摂取がヒトの体組成や代謝機能に及ぼす影響を二重盲検並行群間比較試験で評価した。BMI 24–30 kg/m² の被験者 52 名を内科クリニックで募集し、*B. breve* B-3 含有カプセルを 12 週間継続摂取させ、体組成および肥満関連の血液組成の変化を評価した。摂取用量は 1 日あたり 500 億 CFU とした。本研究では、ビフィズス菌 B-3 含有カプセルを 12 週間摂取することによって、プラセボ群と比べて体脂肪量の有意な減少が観察された。また血液組成では、肝機能マーカーである γ -グルタミルトランスペプチダーゼおよび炎症マーカーの高感度 C 反応性タンパク質 (hCRP) の有意な改善がみられ、両パラメーターについて体脂肪量の変化と正の相関が確認された。本試験は内科クリニックで実施したため、被験者には糖尿病、高脂血症、高血圧の治療薬を服薬している者が多く含まれていた。両群の服薬率は同程度であり、試験期間中の投薬量や生活習慣の大きな変更がなかったものを解析対象としているものの、その影響を完全に否定することはできないため、健常者を対象とした臨床試験での検証が必要と考えられた。

第4章 BMI が高めの健常成人を対象とした臨床研究

ビフィズス菌 B-3 の体脂肪低減作用を検証するために、BMI が高めの健常成人を対象として臨床試験を行った。被験者は、年齢 20–64 歳、BMI25 以上 30 未満 (肥満 I 度) の健常成人 80 名であり、1 日当たり 200 億 CFU の用量で *B. breve* B-3 含有カプセルを 12 週間毎日摂取させた。評価項目として、Dual Scan による腹部内臓脂肪面積、InBody による体組成、および血液検査による肥満関連血液パラメーターを評価した。本試験では、腹部内臓脂肪面積に関して群間有意差は観察されなかった。一方、体脂肪量・率は、摂取 8 週、12 週においてプラセボ群と比べて有意な減少がみられ、サブグループ解析ではウエスト周囲径の有意な減少が観察された。血液検査では、HDL-コレステロールおよびトリグリセリドに改善傾向がみられたが、一方で炎症マーカーである hCRP と LPS 結合タンパク質に有意な変化は認められなかった。これらの結果から、*B. breve* B-3 含有食品の摂取は、ヒトの体組成に影響し、BMI が高めの成人において体脂肪低減作用を示すことが示唆された。

第5章 本研究の総括

本研究では、ビフィズス菌の基礎的な研究を通じて乳児型 HRB が乳児腸管における選択的定着を可能にしている作用機序の一端を明らかにし、さらに個別の菌株を用いた臨床研究を通じてビフィズス菌の摂取が BMI の高めの成人において体脂肪低減作用を発揮する可能性を示した。ビフィズス菌の菌種間のリゾチーム許容度の違いについては、その後の研究により、酵素非依存的なカチオン性殺菌活性に対する耐性によることが報告されている。また HRB と非 HRB の違いに関して、ビフィズス菌側がヒト腸管に選択的定着するために必要な特性だけでなく、ヒトに有益なビタミンやインドール-3-乳酸の産生能が高いこと、および消化管における炎症やセリアック病との関連が示唆されている食品由来オピオイドペプチドの分解能が高いことなど、HRB と宿主との有益な相互作用が報告されている。今後もビフィズス菌の特性に関する基礎研究および個別の菌株の生理作用の臨床的検証の両面からのアプローチを継続することで、目的とする健康増進効果に適した菌株のスクリーニングや作用機序の解明が進展することが期待される。