

ラフィノースが腸内乳酸菌の生育とコル酸の蓄積に与える影響



横田 篤¹、木村英恵¹、ペーター・カルディ²、浅野行蔵³、富田房男³

¹北大院・農・微生物資源生態学分野、²ノーステック財団 ³北大院・農・応用菌学分野

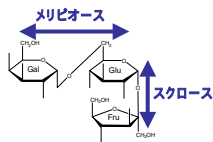


1 背景・目的

従来のオリゴ糖の評価基準は不十分であり、新たな評価法の提示が必要である
ラフィノース等のオリゴ糖が腸内乳酸菌(乳酸桿菌及びビフィズス菌)により選択的に消化されることはすでに定性的に示されているが、オリゴ糖を炭素源としたときの生育速度に関する定量的なデータはほとんどない
プロバイオティクスの重要因子として考えられるコル酸蓄積現象はオリゴ糖を炭素源とした場合でも起こり得るのか？

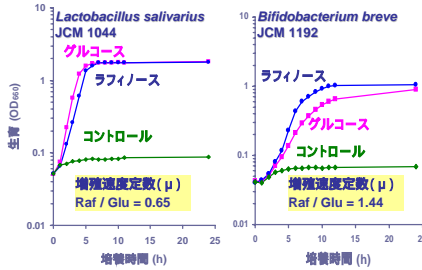
- ▶ 北海道産のオリゴ糖としてその利用が期待されているラフィノースを単一炭素源として
 - ▶ ラフィノースの乳酸桿菌及びビフィズス菌に対する生育促進効果
 - ▶ ラフィノースがコル酸の取り込みに与える影響
 - ▶ コル酸の駆動力としての細胞内pHについて調べた。

2 「ラフィノース」とは……



大豆オリゴ糖の主要成分でショ糖の次に天然に広く分布
ビート糖の製造過程における副産物(ビート中の含量0.1%)
難消化性オリゴ糖
ビフィズス菌増殖因子

3 ラフィノースが腸内乳酸菌の生育に与える影響



- ▶ *L. salivarius* JCM 1044ではグルコースの生育速度がラフィノースよりも高く、ラフィノースの μ はグルコースの0.6割程度だった
- ▶ *B. breve* JCM 1192ではラフィノースはグルコースよりも高い増殖速度を与え、グルコースの1.4倍だった

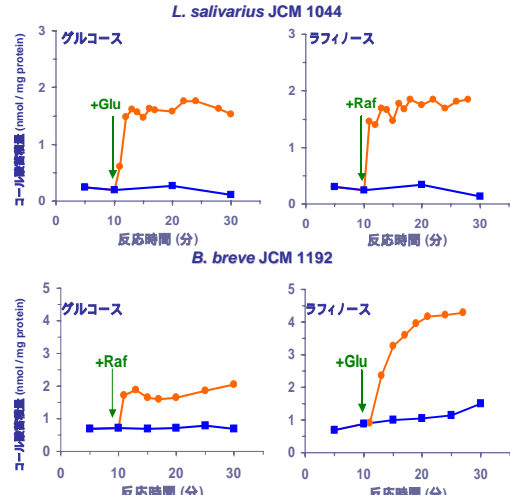
4 ラフィノースにおける腸内乳酸菌の増殖速度(μ)の比較

株名	JCM No.	産地	グルコース(μ)	ラフィノース(μ)	Raf / Glu
<i>L. salivarius</i> subsp. <i>salivarius</i>	1040	ヒトの唾液	1.03 ± 0.07	0.95 ± 0.07	0.92
	1042	ND	ND	ND	ND
	1044	ヒトの唾液	1.20 ± 0.10	0.87 ± 0.08*	0.73
	1045	ヒトの唾液	1.16 ± 0.23	1.14 ± 0.14	0.98
	1046	ブタの唾液	1.01 ± 0.17	0.88 ± 0.11	0.86
	1047	ブタの唾液	1.00 ± 0.16	0.91 ± 0.07	0.91
	1150T	だ液	1.05 ± 0.20	0.93 ± 0.06	0.88
<i>L. salivarius</i> subsp. <i>salivarius</i>	1230	ニワトリの唾液	ND	ND	ND
	1231	ヒトの唾液	1.11 ± 0.17	1.19 ± 0.24*	1.06
	1028	ヒトの唾液	0.41 ± 0.13	0.21 ± 0.05*	0.53
	1034	ヒトの糞便	0.53**	x	x
	1132T	ヒトの糞便	0.59**	x	x
	1229	ヒトの糞便	0.29 ± 0.07	0.17 ± 0.03*	0.59
	1025	ヒトの唾液	0.63 ± 0.06	0.64 ± 0.02	1.02
<i>L. gasseri</i>	1130	ヒトの糞便	0.67 ± 0.08	x	x
	1131T	ヒトの唾液	ND	ND	ND
	5813	幼児の糞便	0.41 ± 0.02	x	x
	8787	ヒトの糞便	0.63 ± 0.06	x	x
	8788	ヒトの糞便	0.60 ± 0.08	x	x
	8789	ヒトの糞便	0.57 ± 0.07	x	x
	8790	ヒトの糞便	0.62 ± 0.07	x	x
<i>L. johnsonii</i>	1022	ヒトの唾液	0.83 ± 0.17	0.61 ± 0.13	0.74
	8791	ヒトの糞便	0.55 ± 0.10	0.48 ± 0.25	0.87
	1059T	ヒトの糞便	ND	ND	ND
<i>L. reuteri</i>	1112T	成人の唾液	0.73 ± 0.11	0.65 ± 0.05	0.90
	1192T	幼児の唾液	0.45 ± 0.02	0.65 ± 0.02*	1.44
<i>B. breve</i>	1273	幼児の唾液	0.23 ± 0.11	0.31 ± 0.05	1.36
	7016	幼児の唾液	0.19 ± 0.01	0.35 ± 0.13	1.86
	7017	ヒトの糞便	0.17 ± 0.02	0.26 ± 0.00*	1.49
	7019	幼児の糞便	0.24 ± 0.04	0.41 ± 0.03*	1.74
	7020	幼児の糞便	0.21 ± 0.05	0.52 ± 0.16	2.49
<i>B. catenulatum</i>	1194T	ヒトの糞便	0.21 ± 0.01	0.42 ± 0.05*	2.01
	1200T	幼児の糞便	0.31 ± 0.06	0.43 ± 0.04	1.40
<i>B. pseudocatenulatum</i>	1217T	成人の唾液	0.63 ± 0.19	0.53 ± 0.14	0.84
<i>B. longum</i>	1222T	成人の唾液	0.48 ± 0.07	0.59 ± 0.10	1.16
	1254	成人の唾液	0.41 ± 0.03	x	x
<i>B. bifidum</i>	1255T	幼児の糞便	0.23 ± 0.00	x	x
	7046	成人の唾液	0.42 ± 0.11	0.30 ± 0.09	0.71

x: 生育なし, ND: 未測定 *危険率5%以下で有意差あり
赤字: ラフィノースの μ がグルコースの μ の1倍以上 **試験数がn=1のためSD値が算出できなかった

- ▶ 乳酸桿菌ではラフィノースを炭素源としたときの μ はグルコースと同等あるいはそれ以下である
- ▶ ビフィズス菌ではラフィノースを炭素源としたときの μ は多くの株で高く、グルコースの1.5倍から最大2.4倍であった
- ▶ ビフィズス菌や乳酸桿菌において、ラフィノースの生育促進効果を定量的に示した初めての結果である

5 コル酸輸送実験

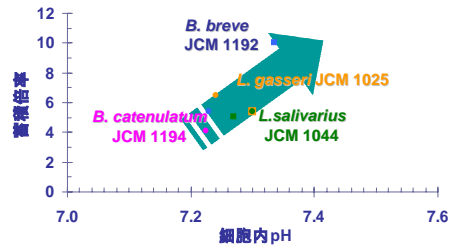


株	糖源	コル酸蓄積量 (nmol/mg protein)	コントロールの蓄積倍率**	細胞内pH***
<i>L. salivarius</i> JCM 1044	Glu	1.62	0.21	5.03
	Raf	1.80	0.26	5.38
<i>L. salivarius</i> JCM 1045	Glu	0.30	0.33	0.89
	Raf	1.50	0.24	4.56
<i>L. gasseri</i> JCM 1025	Glu	2.72	1.17	5.40
	Raf	2.91	0.98	6.50
<i>L. reuteri</i> JCM 1112	Glu	1.61	1.16	2.26
	Raf	0.64	0.59	1.13
<i>B. breve</i> JCM 1192	Glu	4.29	1.08	10.04
	Raf	1.91	0.74	4.27
<i>B. breve</i> JCM 7020	Glu	2.38	0.69	5.78
	Raf	1.88	0.75	4.20
<i>B. catenulatum</i> JCM 1194	Glu	1.63	0.51	4.20
	Raf	1.71	0.61	4.12
<i>B. infantis</i> JCM 1222	Glu	1.40	0.58	3.60
	Raf	3.04	0.86	7.51

*糖を添加しないときの菌体のコル酸量
**蓄積倍率 = (細胞内のコル酸濃度) / (細胞外のコル酸濃度)
***細胞内pHは蛍光プローブのcFSEによって測定した
ND: 未測定

- ▶ ラフィノースを炭素源としても多くの腸内乳酸菌においてコル酸蓄積が観察された

6 コル酸の蓄積量と細胞内pHとの相関性



- ▶ コル酸の蓄積量と細胞内pHとの間に相関性が認められた

7 結論

- ▶ ラフィノースを炭素源としたときのビフィズス菌の増殖速度(μ)はグルコースを炭素源としたときよりも高い
- ▶ 多くの腸内乳酸菌はラフィノースをエネルギー源としてコル酸を蓄積した
- ▶ ラフィノースと腸内乳酸菌を組み合わせたシンバイオティクスには脂質代謝の改善や大腸がん発症リスクの低減といった健康増進効果を期待できる