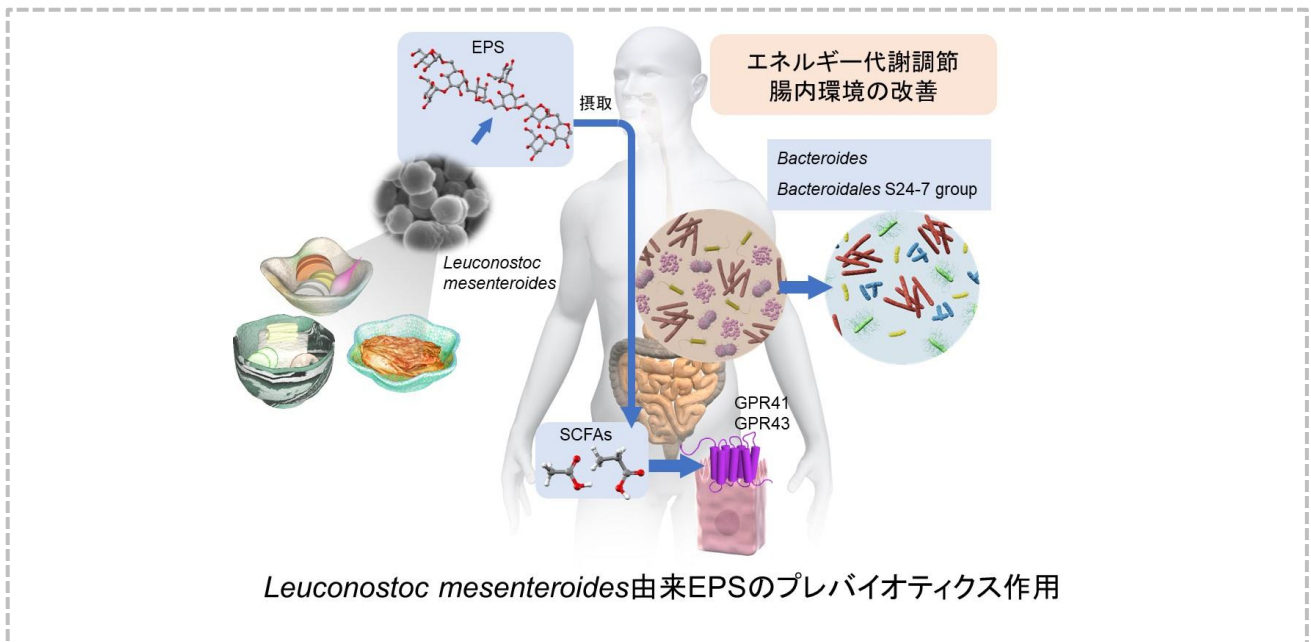


乳酸菌が作る菌体外多糖による腸内環境改善と肥満抑制

—新世代ポストバイオティクス成分 EPS の機能性とシンバイオティクス乳酸菌—

概要

京都大学大学院生命科学研究科 木村郁夫教授（東京農工大学大学院農学研究院 特任教授）、東京農工大学大学院農学研究院 宮本潤基テニュアトラック准教授、Noster 株式会社 清水秀憲研究グループ長（京都大学大学院生命科学研究科 受託研究員）らの研究グループは、漬物やキムチのような発酵食品の生産に用いられる乳酸菌の 1 種、*Leuconostoc mesenteroides* が、砂糖を基質として高産生する菌体外多糖 EPS (exopolysaccharide) を摂取することにより、宿主の腸内環境が変化し、主要な腸内細菌代謝物である短鎖脂肪酸の産生量を増加させることで、肥満を防ぐことをマウス実験により明らかにしました。すなわち、この乳酸菌代謝産物である EPS は食物繊維様物質としてプレバイオティクス効果を発揮することを発見しました。これは、プロバイオティクス乳酸菌として知られていた *L. mesenteroides* が、その摂取によりプロバイオティクス効果だけでなく、EPS を介したプレバイオティクス効果も同時に発揮するシンバイオティクス乳酸菌として働くことが期待できる新たな概念の提唱に至ります。また、近年、注目を集めている乳酸菌の代謝産物を摂取することにより健康作用をもたらすポストバイオティクス成分としても EPS は期待されます。近年の食の欧米化に伴う肥満や 2 型糖尿病などの代謝性疾患患者の増加は社会的な問題となっており、その予防・治療法の確立は急務と言えます。腸内環境を制御する食習慣や腸内細菌の代謝産物が、肥満・糖尿病などの代謝性疾患に対する新たな標的として注目される今、ポストバイオティクス成分 EPS やシンバイオティクス乳酸菌 *L. mesenteroides* は、様々な分野における応用が可能となります。本成果は、2023 年 1 月 5 日に英国の国際学術誌「*Gut Microbes*」にオンライン掲載されました。



1. 背景

近年の欧米食に代表される高糖質・高脂肪な高カロリー食や食物繊維摂取が不足する食生活への変化は、過剰なエネルギー摂取と腸内細菌の構成や機能に影響を及ぼし、その結果、肥満や糖尿病に代表される生活習慣病・代謝性疾患を含む様々な病気の罹患率を高めます。したがって、食事は、我々が生命を維持するために重要な栄養源であると共に、腸内細菌に影響を及ぼす主要な因子となります。

この観点から、腸内環境に影響を与え様々な健康効果を発揮する手段として、乳酸菌等の微生物を摂取するプロバイオティクス（注1）、腸内細菌の餌となる食物繊維などを摂取するプレバイオティクス（注2）、その両方を摂取するシンバイオティクス（注3）が知られています。さらには、近年、それらに代わり、微生物の代謝産物そのものを摂取するポストバイオティクス（注4）もまた注目されていますが、実際には、これらの腸内環境改善手段について、その科学的な作用機序は未だ正確には明らかにはされていないのが現状です。

菌体外多糖 EPS（注5）は、微生物が菌体表面に分泌・産生する多糖の総称で、環境ストレスなどから自身を保護する役割を有しています。EPS は、食物繊維や炭水化物と同様の多糖類であり、結合様式によって多種多様な構造を示します。漬物・キムチのような発酵食品のスターター（注6）に用いられる *Leuconostoc mesenteroides* のようなある種の乳酸菌もまた EPS を産生することが知られていますが、発酵食品中などに含まれる EPS を摂取することで起こる宿主の生理機能や腸内細菌叢に及ぼす影響などについて、詳細な検討は行われておりませんでした。

食物繊維などの難消化性多糖類は、宿主の消化酵素による消化と小腸での吸収を免れ、大腸まで移行することにより、腸内細菌の餌として利用された結果、最終代謝産物として短鎖脂肪酸（注7）を産生します。この腸内細菌によって産生される最も主要な代謝産物である短鎖脂肪酸は、その宿主側受容体を介して、エネルギー代謝調節を含めた様々な生理機能に影響を及ぼし、その結果、肥満・糖尿病などの代謝性疾患や免疫疾患、神経疾患などの改善に寄与することを我々の研究室をはじめとして明らかにしてきました（Ref1）。したがって、本研究では、発酵食品の食機能性、特に *L. mesenteroides* のプロバイオティクス効果の要因として、*L. mesenteroides* 産生 EPS を食物繊維と捉え、プレバイオティクスによる短鎖脂肪酸産生が重要ではないかという仮説のもとに検証を行いました。

2. 研究手法・成果

まず始めに、*L. mesenteroides* がグルコースやフルクトースではなく、スクロースを含む糖源（注8）培地で培養したときのみ、スクロースを基質として EPS を多量に産生すること、そして、その産生量は、一般的な乳酸菌と比較して300倍以上であることを確認しました。また、その糖構造は α 1,3,1,6グルカン（注9）であったため、宿主の消化酵素で消化できない難消化性多糖であることが予想できました。したがって、この *L. mesenteroides* 産生 EPS を精製し、様々な腸内細菌種の単一菌培養培地に EPS を加えると、*Bacteroides* 属や *Bacteroidales* S24-7 group に属する菌が特異的に増殖すること、また短鎖脂肪酸の産生量が増加することがわかりました。さらに、マウスへ EPS を投与した場合でも、腸内や血中で短鎖脂肪酸濃度が顕著に増加することを見出しました。その結果として、即時的な EPS 投与による耐糖能の増強と、長期的な EPS 投与により高脂肪食誘導性肥満の症状が劇的に改善すること、そして、EPS を腸内細菌が利用して作られる短鎖脂肪酸が、この作用に寄与することを、腸内細菌を保有しない無菌マウスや短鎖脂肪酸受容体欠損マウス (*Gpr41*^{-/-}*Gpr43*^{-/-})を用いて明らかにしました（図1）。

次に、EPS 長期摂取による腸内環境への影響を評価した結果、対照群と比較して、腸内細菌 *Bacteroidetes* 門に属する、*Bacteroides* 属や *Bacteroidales* S24-7 group の種レベルでの増加が観察されました（図2）。さ

らに、EPS の摂取は短鎖脂肪酸の中でも、特にプロピオン酸を顕著に増加させることが明らかとなったため、特定の腸内細菌を移植したノトバイオートマウス（注 10）を作成し、プロピオン酸産生に關与する腸内細菌種の同定を検討しました。その結果、*Bacteroides* 属や *Bacteroidales* S24-7 group を定着させたノトバイオートマウスは EPS 摂取によって、顕著にプロピオン酸産生を亢進しました（図 3）。

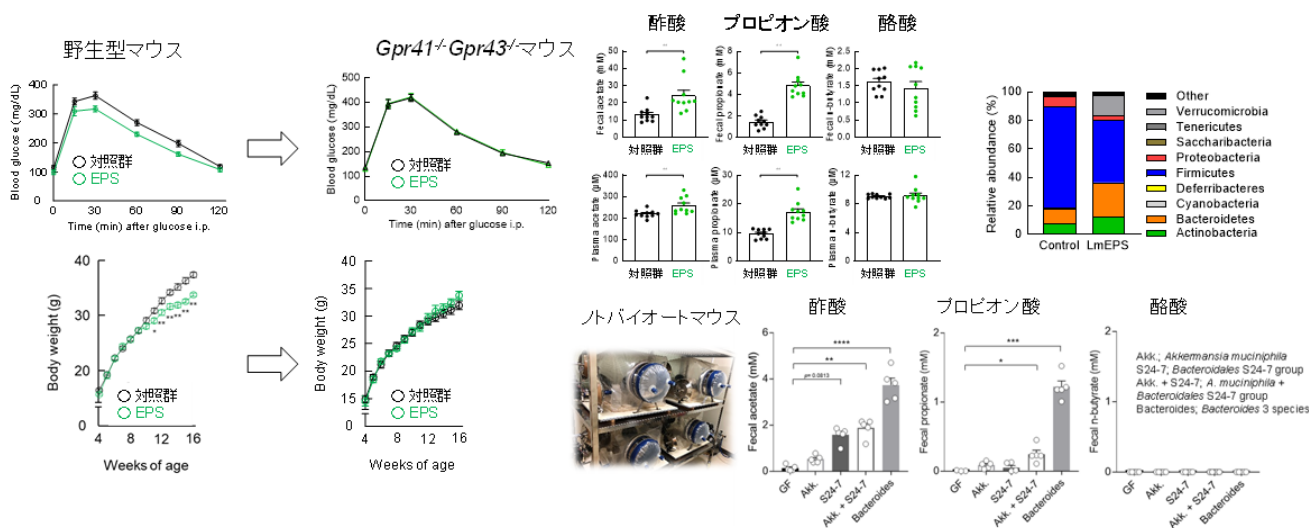


図 1. EPS 摂取による代謝改善作用

GPR41/GPR43 を介して、EPS 摂取は糖代謝や高脂肪食誘導性肥満を改善した。

図 2. EPS の腸内環境制御

EPS の摂取は、短鎖脂肪酸（主にプロピオン酸）の産生と腸内細菌の構成を変化させた。

図 3. ノトバイオートマウス

各腸内細菌を定着させたノトバイオートマウスは、EPS を基質として短鎖脂肪酸を産生した。

3. 波及効果、今後の予定

本研究において、*L. mesenteroides* が産生する菌体外多糖 EPS の摂取は、腸内細菌の構成を変化させ、主要な腸内細菌代謝物である短鎖脂肪酸（主にプロピオン酸）の産生を促進することを明らかにしました。さらに、宿主側の短鎖脂肪酸受容体を介して、エネルギー代謝調節に關与することを確認しました。また、EPS を利用し、短鎖脂肪酸を産生することが出来る腸内細菌種として、*Bacteroides* 属と *Bacteroidales* S24-7 group であることを同定しました。このように、*L. mesenteroides* は、ポストバイオティクス成分 EPS を介してプレバイオティクス効果をも発揮できるシンバイオティクス乳酸菌として、さらなる応用が期待されます。また、ポストバイオティクス成分 EPS 自体を肥満・糖尿病に代表される代謝性疾患予防・治療のためのサプリメント・機能性食品素材として応用することも期待されます。加えて、食品そのものの観点において、*L. mesenteroides* が漬物・キムチなどのスターター乳酸菌であること、EPS 産生の基質として砂糖を利用することから、EPS 産生量を高めた機能性発酵食品への応用開発、さらには砂糖含有食品摂取時の血糖上昇抑制・肥満予防のためのシンバイオティクス乳酸菌として、*L. mesenteroides* のさらなる応用もまた期待されます。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）の革新的先端研究開発支援事業 AMED-CREST

研究開発総括：笹川千尋（研究開発代表者：木村郁夫）、日本学術振興会（JSPS）の科学研究費助成事業（研究代表者：木村郁夫）、国立研究開発法人科学技術振興機構（JST）の産学共創プラットフォーム共同研究推進プログラム（OPERA）領域総括：三沢和彦（課題代表者：木村郁夫）、JSTのムーンショット型研究開発事業 目標 2 PM: 片桐秀樹（課題代表者：木村郁夫）の一環で行われました。

5. 研究グループ

京都大学 大学院生命科学研究所 生体システム学分野

教授 木村郁夫、受託研究員 清水秀憲、大学院生 安藤有菜

京都大学 大学院薬学研究科 神経機能制御学分野

教授 木村郁夫、大学院生 西田朱里、大学院生 泉綾乃、大学院生 山野真由

東京農工大学 大学院農学研究院 代謝機能制御学研究室

特任教授 木村郁夫、特任助教 後田ちひろ

東京農工大学 大学院農学研究院 食品機能学研究室

テニュアトラック准教授 宮本潤基

石川県立大学 生物資源工学研究所

講師 松崎千秋

京都大学 大学院薬学研究科 創薬有機化学分野

教授 大野浩章、准教授 井貫晋輔

藤田医科大学 医学部 臨床栄養学講座

助教 後田ちひろ

慶應義塾大学 医学部 内科学教室 腎臓内分泌代謝内科

教授 伊藤裕、准教授 入江潤一郎

京都大学 大学院生命科学研究所 分子応答機構学分野

教授 片山高嶺

和歌山県立大学 産学連携イノベーションセンター

客員教授 山本憲二

Noster 株式会社 R&D 本部

研究グループ長 清水秀憲、グループリーダー 久景子

6. 参考文献

(1) Kimura I et al. Free Fatty Acid Receptors in Health and Disease. *Physiol Rev.* 100(1), 171–210 (2020).

7. 用語解説

（注1）プロバイオティクス：Fullerによって1989年に「腸内フローラのバランスを改善することにより人に有益な作用をもたらす生きた微生物」として定義されている。

（注2）プレバイオティクス：Gibsonによって1995年に「大腸内の特定の細菌の増殖および活性を選択的に変化させることより、宿主に有利な影響を与え、宿主の健康を改善する難消化性食品成分」として定義されている。

（注3）シンバイオティクス：Gibsonによって1995年に「プロバイオティクスとプレバイオティクスを組み

合わせ」として定義されている。

(注4) ポストバイオティクス：Salminen によって 2021 年に「宿主の健康に有効な作用を発揮する不活化菌体、その構成成分や代謝物」として定義されている。

(注5) 菌体外多糖 EPS：微生物が菌体表面に分泌・産生する多糖の総称。増粘剤としての食品利用やセラミックスなどの工業利用も為されている。

(注6) 発酵食品のスターター：漬物やキムチなどの発酵食品の製造に用いられる種菌。

(注7) 短鎖脂肪酸：炭素数が 2 から 6 個の脂肪酸の総称であり、主に、酢酸、プロピオン酸、酪酸が知られている。最近では、受容体を介したシグナル分子としての作用やエピジェネティック（DNA の配列変化によらず遺伝子発現を制御するシステム）作用なども報告されている。

(注8) 糖源：微生物は主にグルコースなどの炭素源を用いて増殖する。

(注9) グルカン：グルコースがいくつも連なって構成される多糖類の総称。結合様式や分岐の違いにより、 α グルカンや β グルカンなどと呼ばれる。

(注10) ノトバイオート：無菌動物に既知の微生物を投与、定着させることにより作出したモデル。

<論文タイトルと著者>

タイトル：Host metabolic benefits of prebiotic exopolysaccharides produced by *Leuconostoc mesenteroides*

著者：Junki Miyamoto, Hidenori Shimizu, Keiko Hisa, Chiaki Matsuzaki, Shinsuke Inuki, Yuna Ando, Akari Nishida, Ayano Izumi, Mayu Yamano, Chihiro Ushiroda, Junichiro Irie, Takane Katayama, Hiroaki Ohno, Hiroshi Itoh, Kenji Yamamoto, Ikuo Kimura

掲載誌：*Gut Microbes*

DOI：10.1080/19490976.2022.2161271