

プロバイオティクスとして用いられる 乳酸菌の分類と効能

Systematics and Function of Lactic Acid Bacteria as Probiotics

べん の よし み
辨 野 義 己
Yoshimi BENNO

要 約

乳酸菌とは糖類を発酵してエネルギーを獲得し、多量の乳酸を生成する細菌の総称である。現在までに命名・提案されている乳酸菌は26属、381種50亜種に分類されている。こうした乳酸菌から、食品保存や食品の旨味を引き出す優れた効能や、生菌製剤として「整腸作用」が導き出されてきた。そして、生きた乳酸菌として効能は「プロバイオティクス」に集約され、さまざまな疾患発症のリスク軽減に貢献するようになってきている。さらに家畜・家禽の生産性向上にも寄与する研究が進展している。

I. 乳酸菌とは

乳酸菌とは糖類を発酵してエネルギーを獲得し、多量の乳酸を生成する細菌の総称で、形態的に桿菌 (*Carnobacterium*, *Lactobacillus*, *Weissella*) と球菌 (*Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*) に分けられ、グラム染色性は陽性である。いずれも酸素の少ない環境に好んで発育し、さらに酸度 (pH3~4程度) に耐性を示すことが多く、栄養要求性はかなり複雑であり、糖類のほか、多くの種類のアミノ酸やビタミン類を要求し、菌種・菌株により微量栄養素を加えなければ発育できないことも知られている¹⁾。乳酸菌による乳酸発酵の形式には、ホモ乳酸発酵とヘテロ乳酸発酵に分けられる (表1)。ホモ乳酸発酵は糖類から乳酸のみを生成する発酵であり、ヘテロ乳酸発酵はヘキソースから乳酸と乳酸以外の物質 (アルコール、炭酸ガス、酢酸など) を生成する発酵である。

これらの乳酸菌は、農産物や食品からヒトや動物の体まで自然界に広く分布し、しかも各菌種の分布にはかなりはっきりとした“すみわけ”があることも知られている。*Lactococcus* は、乳製品のスターター (starter) として食品加工で利用されている菌種も多い。*Pediococcus*, *Leuconostoc* はほとんど発酵に関連した菌で、動物の生体とは関係が少ない。*Lactobacillus* は乳酸菌の代表的なもので、発酵食品から、口腔、腸管、膣のいわゆる常在菌として、ヒトや動物の保健効果との関係で注目されている。

乳酸菌の多くは他の微生物の生育を抑制する効果も強く、人類は昔からそれと知らずに乳酸菌の力を巧みに利用してきた。これらをスターターに使うことで良質の発酵乳製品を製造する技術が発達し、また、現在では乳製品だけでなく、他の食品加工にも応用されている。さらに、乳酸菌製剤など医薬品あるいは家畜・家禽の生産性向上に寄与する飼料添加物としても用いられている。

II. 乳酸菌の属とその特徴

『乳酸菌』という総称は慣用的な呼び名であって分類学的な位置を示すものではない。20世紀初頭までに *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus* の4属の乳酸菌が知られていた。乳酸菌の定義として、グラム陽性の桿菌または球菌で、カタラーゼ陰性、内生孢子を形成せず、消費したグルコースの50%以上を乳酸に変換し得る細菌とされている。最近では16S rRNA塩基配列による系統解析がなされ、現在では26属、381種50亜種に分類されている (表1)。以下に主な乳酸菌について解説する。

表1 乳酸菌の属する菌属、菌種（亜種）数およびその特徴

菌形態 (菌属数)	属名	基準種	菌種 (亜種)数*	乳酸発酵形式		特徴
				ホモ	ヘテロ	
桿菌(12属)	<i>Alkalibacterium</i>	<i>A. olivapovliticus</i>	8		○	グラム陰性、カタラーゼ陰性、15%の食塩濃度でも成育する耐塩性や0℃や5℃でも生育する耐冷性乳酸菌。
	<i>Atopobacter</i>	<i>A. phocae</i>	1	○		グラム陽性、カタラーゼ陰性の乳酸菌。
	<i>Carnobacterium</i>	<i>C. divergens</i>	11		○	乳酸をさらに代謝して、酢酸やギ酸を産生する。
	<i>Fructobacillus</i>	<i>F. fructosus</i>	5		○	D型乳酸を生成する。ブドウ糖や果糖から乳酸、炭酸ガスおよび酢酸を産生する。
	<i>Halolactibacillus</i>	<i>H. halophilus</i>	3		○	L型乳酸を生成する。海産物から分離され、pH8.5～9.0、食塩濃度2～3.75%が至適成育環境。
	<i>Isobaculum</i>	<i>I. melis</i>	1		○	乳酸と酢酸を生成する。系統解析の結果、 <i>Carnobacterium</i> 属に近縁である。
	<i>Lactobacillus</i>	<i>L. delbrueckii</i>	153 (27)	○	○	多様な菌種が存在し、菌種により、ホモ乳酸発酵あるいはヘテロ乳酸発酵が異なる。
	<i>Marinilactibacillus</i>	<i>M. psychrotolerans</i>	2		○	海産物から分離されたL型乳酸を生成する乳酸桿菌。pH8.5～9.0、食塩濃度2～3.75%が至適成育環境。
	<i>Olsenella</i>	<i>O. uli</i>	3		○	乳酸と酢酸を生成する。 <i>L. uli</i> が <i>Lactobacillus</i> から独立し、本属が提案された。
	<i>Paralactobacillus</i>	<i>P. selangorensis</i>	1	○		DL型の乳酸を生成する乳酸菌。
	<i>Pilibacter</i>	<i>P. termitis</i>	1		○	シロアリの腸管から検出された乳酸菌
	<i>Weissella</i>	<i>W. viridescens</i>	15		○	D型あるいはDL型乳酸を生成する。発酵肉や漬物から検出されてくる。
球菌(14属)	<i>Abiotrophia</i>	<i>A. defectiva</i>	1	○		<i>Streptococcus</i> 属から独立した連鎖球菌
	<i>Bavaricoccus</i>	<i>B. seileri</i>	1		○	乳酸以外にエタノールや酢酸を生成する。本菌はドイツの細菌熟成チーズから分離された。
	<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecalis</i>	35	○		L型乳酸を生成する連鎖球菌。 <i>Streptococcus</i> 属から独立し“腸管乳酸球菌”と称されている。
	<i>Granulicatella</i>	<i>G. adiacens</i>	3	○		臨床材料より分離されたが、棲息域は不明。
	<i>Melissococcus</i>	<i>M. plutonius</i>	1		○	乳酸の他に少量の酢酸、イソ酪酸、コハク酸を生成し、成育にシステインを要求する。
	<i>Lactigenium</i>	<i>L. naphthae</i>	1	○		周鞭毛による運動性を有している。原油より分離された。
	<i>Lactococcus</i>	<i>L. lactis</i>	8 (3)	○		L型乳酸を生成する連鎖球菌。基準種はチーズ製造に関与する“酪農乳酸球菌”と称される。
	<i>Leuconostoc</i>	<i>L. mesenteroides</i>	14 (3)		○	D型乳酸を生成する連鎖球菌。基準種はシヨ糖より粘質多糖のデキストリンを産生。
	<i>Oenococcus</i>	<i>O. oeni</i>	2		○	D型乳酸を生成する。ワインの熟成においてマクロラクテック発酵を行う乳酸球菌。D型乳酸を生成する。
	<i>Pediococcus</i>	<i>P. damnosus</i>	12	○		DL型乳酸を生成する四連鎖球菌。
	<i>Streptococcus</i>	<i>S. pyogenes</i>	82 (17)	○		L型乳酸を生成する連鎖球菌。病原性を示す菌種も多いが、ヨーグルトの旨味に関与する <i>S. thermophilus</i> も属している。
	<i>Tetragenococcus</i>	<i>T. halophilus</i>	4	○		L型乳酸を生成する四連鎖球菌を形成する連鎖球菌
	<i>Trichococcus</i>	<i>T. flocculiformis</i>	5		○	乳酸の他にギ酸、酢酸、エタノールを生成し、pH8.4～10、-5～4℃の生育限界を有している。
	<i>Vagococcus</i>	<i>V. fluvialis</i>	8	○		L型乳酸を生成する連鎖球菌

*各属の菌種数および亜種数は2011年6月1日現在のデータから調べた。

Carnobacterium属：本属の11菌種の多くは*Lactobacillus*から独立した菌種である²⁾。その基準種は*C. divergens*である。ヘテロ発酵乳酸桿菌として見出され、*L. divergens*と命名・提案された。本菌は生成した乳酸をさらに代謝して、酢酸やギ酸を産生する特徴を有している。

Lactobacillus属：本属の基準種は*L. delbrueckii*で、現在153種27亜種が存在する。本属は乳酸発酵する桿菌であり、ホモ発酵とヘテロ発酵をする二群に大別される。さらに生育温度、糖分解性状および生成乳酸の光学異性体などの性質により分類され

ている。

Weissella属：基準種は*W. viridescens*であり、本属の15菌種の多くはこれまで*Lactobacillus*属とされてきた³⁾。16S rRNAによる分子系統解析により、本属が提案された。生成乳酸はD型あるいはDL型である。発酵食品から検出されている。

Enterococcus属：基準種は*E. faecalis*であり、35種が知られている。主に腸管由来の乳酸球菌として知られ、ホモ乳酸発酵を行い、L型乳酸を生成する。

Lactococcus属：基準種は*L. lactis*であり、*Streptococcus*属から独立した。生成乳酸はL型であり、

チーズなどの乳製品製造に用いられている。本属には8種3亜種が知られている。

Leuconostoc 属：ヘテロ発酵を行う連鎖球菌で、基準種は *L. mesenteroides* である。本属の14菌種3亜種は乳製品や漬け物等から高頻度に検出されている。生成乳酸はいずれもD型である。

Pediococcus 属：菌形態は四連鎖球菌を成し、ホモ乳酸発酵を行い、DL型の乳酸を産生する。基準種は *P. damnosus* であり、他11種が知られている。

Streptococcus 属：ホモ乳酸発酵を行う連鎖球菌で、基準種は *S. pyogenes* である。現在、敗血症や髄膜炎の原因菌である *S. agalactiae* や化膿連鎖球菌である *S. pyogenes* などが含まれる病原性連鎖球菌、*S. salivarius* や虫歯の原因菌である *S. mutans* が含まれる口腔連鎖球菌、嫌気性連鎖球菌およびその他の連鎖球菌の4群に分けられている。現在までに82種17亜種が知られている。

こうした乳酸菌の中から、ヒトの健康維持・増進に、家畜・家禽の生産性向上に用いられる乳酸菌に属する菌株が選抜されてきた。以下、ヒトにおいて保健効果の高い、あるいは家畜の生産性向上に寄与する乳酸菌（プロバイオティクス）について目を向けてみよう。

Ⅲ. プロバイオティクスに用いる乳酸菌の特徴

1989年、Fuller⁴⁾により“腸内常在菌のバランスを変えることにより宿主に保健効果を示す生きた微生物”として定義されたプロバイオティクスはSalminenら⁵⁾により“宿主に保健効果を示す生きた微生物、

またはそれを含む食品”として再定義された。この定義はプロバイオティクスの安全性と機能評価を種レベルではなく菌株レベルで科学的に検証する必要性を述べている。さらにその機能（健康）表示（Health Claim）は医学的および栄養学的なヒト試験研究を通じて解明され、表示されるべきものと解されている。

腸内常在菌の構成を改善し、宿主に有益な作用をもたらすプロバイオティクスに用いられる有用微生物の条件は、i) 胃酸や胆汁酸などの消化管上部のバリアー中でも生存できること、ii) 増殖部位として消化管下部で増殖可能なこと、iii) 便性改善、腸管内菌叢のバランス改善および腸管内腐敗物質の低下などの有効効果を発現すること、iv) 抗菌性物質の産生や病原細菌の抑制作用を有していること、v) 安全性が高いことなどがあげられ、プロバイオティクスの有効性を証明することが重要である。これまでプロバイオティクスに用いられている細菌は、*Lactobacillus*、*Bifidobacterium* および *Enterococcus* などの各属に属する菌株が大部分である。

Ⅳ. プロバイオティクスの健康表示効果

プロバイオティクスはヒトの正常な腸内常在菌の維持と調節に重要な機能をもっている。プロバイオティクスのもつ保健効果に関する研究は十分になされているとはいいがたいが、さまざまな機能研究がなされ、より優れたプロバイオティクスが開発されると期待されている（表2）。以下、これまでに知られている有用機能について紹介する。

表2 すでに明らかにされているプロバイオティクスの機能および期待される機能

科学的に証明されている健康表示	<ul style="list-style-type: none"> ・ロタウイルス下痢症改善作用 ・抗生物質誘導下痢症改善作用 ・乳糖不耐症軽減作用 ・乳児食餌性アレルギー症軽減作用 ・整腸作用
ヒト試験が求められる試験研究	<ul style="list-style-type: none"> ・発がんリスク低減作用 ・免疫能調節作用 ・アレルギーの低減作用 ・血圧降下作用 ・胃内ピロリ抑制作用 ・腸内環境改善作用 ・過敏性大腸炎、クローン病および潰瘍性大腸炎の軽減作用 ・<i>Clostridium difficile</i> 下痢症の低減作用 ・食餌性コレステロールの低減作用 ・乳児および児童の呼吸器感染症の抑制作用 ・口腔内感染症の低減作用

腸内環境改善（整腸）作用：プロバイオティクスとして高い機能を有する乳酸菌によって作られるヨーグルト・発酵乳の整腸作用については古くから経験的に知られており、その整腸作用とは下痢や便秘の解消を中心とした便性の改善がおもな作用として論議されてきたが、今日の整腸作用とは便秘や下痢などの便性の改善だけではなく、腸内有用菌である *Lactobacillus* および *Bifidobacterium* を増加させ、腸内腐敗菌である *Clostridium* や大腸菌を減少させることによって、腸内環境が改善され、便秘を防ぎ、腸内腐敗菌が作り出す有害物質・発がん物質の産生を抑え、排泄を促進させる働きを指している。これによってヒトの保健効果が促進されるわけである。

以上のように、食品成分の整腸作用はプロバイオティクスによる腸内常在菌の構成を変動させて論じられてきた。プロバイオティクスがいかなる生理機能を有し、またその機能に関与する物質および機序を詳細に検討した報告は少ない。その中でプロバイオティクスの投与期間中、発がんに関与する大腸内酵素、たとえばβ-グルクロニダーゼ、アズレダクターゼ、ニトリリダクターゼ、β-ガラクトシダーゼなどの糞便内活性の低下が報告されている^{6,7)}。また、Matsumoto *et al.*^{8,9)} は *B. animalis* subsp. *lactis* LKM12

を含むヨーグルトをヒトに摂取させると、腸管組織の成熟に不可欠な因子であることが知られている糞便中のポリアミン量が有意に増加し、炎症マーカーであるハプトグロブリン量や突然変異原量の有意な減少を認めている（図1）。糞便内ポリアミン濃度は腸粘膜の機能低下が認められる高齢者や腸粘膜が未発達な乳児において低いことが知られている。高齢者に LKM512 を含むヨーグルトを摂取させると、有意に増加することや、アトピー患者においてその摂取により、腸内ポリアミンの増加を認められている。このようにプロバイオティクスの新規機能を見出すために、新しいバイオマーカーを設定し、機能解明することが大切である。

発がんリスク低減作用：プロバイオティクス摂取と発がん予防に関連する研究を推進することが重要である。その内容として、1) 腸内常在菌の変動（有益な微生物効果）、2) 腸内代謝活性の変動（発がん物質産生の抑制）、3) 腸粘膜透過性の正常化（毒素吸収の阻害あるいは遅延）、4) 免疫活性の亢進（化学物質、炎症物質およびその他の因子の抑制促進）および、5) 腸管内バリアーの強化である。現時点で、発がん腸内常在菌叢について多くの報告がなされているが、ヒト試験がなされていない等、結論に達

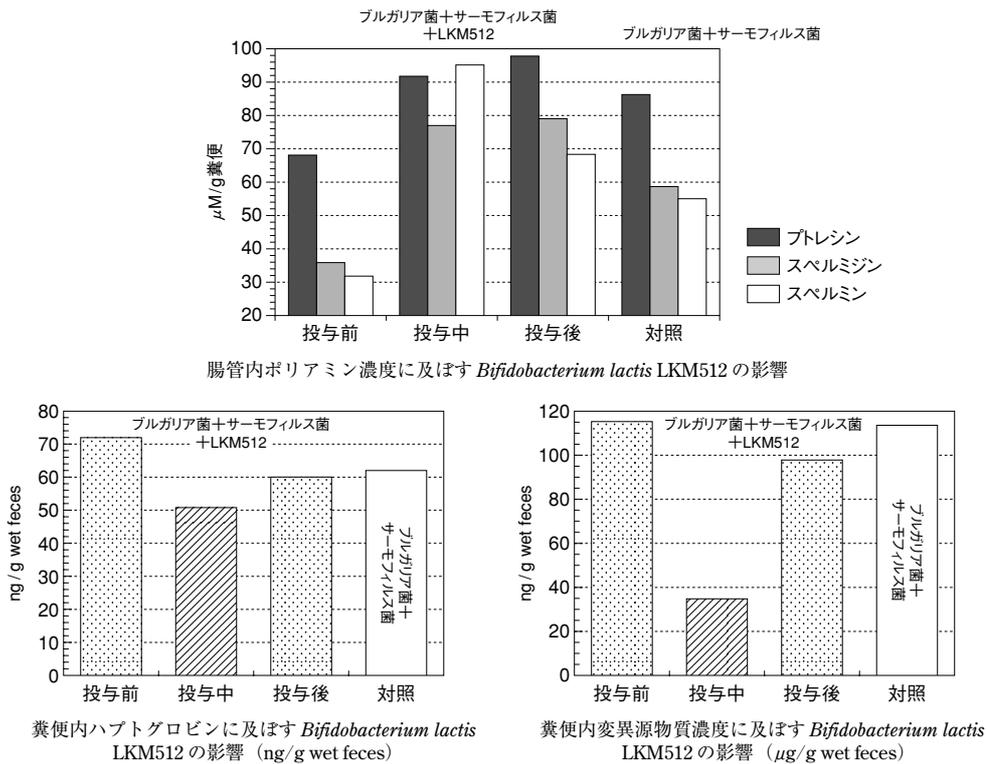


図1 プロバイオティクスによる腸内環境コントロール作用⁸⁾

していない。これまでのプロバイオティクスの発がん予防効果に関する研究から、Goldin と Gorbach¹⁰⁾ はジメチルヒドラジンをラットに投与し、牛肉食のみと牛肉食にプロバイオティクスを添加して与えたところ、牛肉食のみで77%に発がんが認められたのに対し、添加群では40%に発生が低下することを明らかにしている。発がん発酵乳の消費量の相関関係を明らかにする疫学的な調査研究が1981年から1992年にかけてなされ、発酵乳と乳がん^{11,12)}、膵がん¹³⁾ および大腸がん^{14,15)} との関係についての疫学調査報告がフランス、オランダおよびアメリカの国々から報告されている。その結論として、発酵乳の摂取が、乳がん、膵がんおよび大腸がんなどの発症を軽減し得ることが明らかにされている。さらに、Ishikawa *et al.*¹⁶⁾ は、乳酸菌を腺腫および早期がんの大腸腫瘍を持つ患者に乳酸菌製剤を投与した所、再発防止効果が認められるとする研究報告を行っている。以上の成績はプロバイオティクスが発がん抑制ならびに再発防止効果が期待できることを示唆している。

免疫能調節作用：ヒトの体を病原菌やウイルスの感染やがんから守る上で大切なのが免疫力である。この免疫力が低下すると、感染しやすくなり、がんが起りやすくなる。したがって、免疫力を高めておくことが病気の予防や治療にとって重要であることが知られるようになった。この免疫力を高めるためにプロバイオティクスが有効な働きをすることが報告されている。すなわち、マクロファージの活性化や消化管関連リンパ系組織を介しての免疫グロブリンA産生を促進することが認められている。

腸内常在菌の液性免疫におよぼす影響はプロバイオティクスに含まれる乳酸菌の菌体成分が血行性に、また、リンパ行性に免疫組織を刺激し、無菌動物と通常動物を比べた時、通常動物で網内系の発達がよく、抗原刺激に対する反応も早く、末梢マクロファージの抗原消化が迅速で、抗体産生細胞への抗原情報伝達が早い事が明らかにされている¹⁷⁾。

近年、免疫異常ともいえるアトピー性皮膚炎やスギ花粉症の改善に乳酸菌やビフィズス菌発酵乳が有効性ありとする成績が報告されつつある。

1) **アレルギーの低減作用：**プロバイオティクス (*L. rhamnosus* GG) を投与された乳児のアトピー性皮膚炎の早期予防効果を調べたところ、プロバイオティクスがアトピー性皮膚炎の予防に有効な手段に

なるであろうと述べている¹⁸⁾。Kalliomaki *et al.*¹⁹⁾ は家族にアトピー発病歴のある妊婦の出産予定日の2週間前から毎日プロバイオティクスを含むカプセル2個(生菌数 1×10^{10}) 飲用させ、出産後も6カ月間、新生児にもプロバイオティクスを水に溶かして飲用させ、その後、乳児が2歳になるまでアトピー性皮膚炎発病状況を観察の結果、アトピー性皮膚炎発病率は、偽薬(プラセボ)投与群の46%に対し、プロバイオティクス投与群では23%と半減することを認めている。このように本機能については試験研究段階ではあるが今後期待される機能であろう。

さらに本菌株をヨーグルトという食品の形でアトピー性皮膚炎の効果についてわが国でヒト試験を実施したところ、アトピー症状軽減効果が認められたのである²⁰⁾。すなわち、日頃より、ステロイド剤などの医薬品を使用していないアトピー患者89人を対象にして、1カ月間、GG株で作製された発酵乳飲料を一日200ミリリットル飲んで、飲用前と後のアトピー性皮膚炎の症状について、ご自身の実感で改善効果について評価したところ、「赤みやかゆみが減った」「腕の内側からのもりもりと盛り上がってくる感じが薄らいだ」など、89人中32人(36%)の人に皮膚症状の改善がみられたのである。これらを詳細にみると、皮膚の面積が大きい胴体部で効果がみられ、年齢にかかわらず、もともと症状の重かった人に改善効果が認められた。さらに特徴的なのは便秘改善で、半数以上の患者が便秘や下痢が改善されたと回答していることも重要な成績である。以上の成績からプロバイオティクスが治療のための医薬品ではなく、食品からの摂取で30%の人に効果が認められたことが高く評価されるものと考えられている。

2) **花粉症軽減効果：**2004年春、中程度のスギ花粉症症状がある40人を対象に、*Bifidobacterium longum* (以下ロングム菌) BB536を入れたヨーグルトと非配合のヨーグルト(プラセボ)を一日200グラム14週間継続して食べてもらったところ、期間中、くしゃみ、鼻汁、鼻詰まり、鼻のかゆみ、目やのどの自覚症状とマスク使用など、花粉対策状況の軽い順から重症まで4段階に分けて点数化したところ、ロングム菌入りのヨーグルト摂取群ではすべて、プラセボ群より症状の値は低くなることが認められたのである²¹⁾ (図2)。これはロングム菌摂取により、Th1

細胞が活性化され、Th2細胞が抑えられたため、花粉症に敏感に反応する抗体が作られなくなって症状が軽減されたものと考えられる²²⁾。さらに、腸内菌叢を構成している *Bacteroides fragilis* グループの菌数がプラセボ投与の患者群で有意に高いことも明らかとなっている²³⁾。今後もこのような研究を進展させることにより、「国民病」であるスギ花粉症の改善・軽減に繋がっていくものと期待される。

インフルエンザ感染予防：これまでの研究で、乳酸菌に免疫力をアップする効果があるとの研究が数多くなされてきた。乳酸菌が免疫の主役であるマクロファージやリンパ球の働きを活性化し、免疫メカニズムをスムーズに働かせることが知られている。

動物実験では、インフルエンザウイルスを投与したマウスに、*Lactobacillus casei shirota* を与えると、インフルエンザ予防効果が報告され²⁴⁾、乳酸菌によって、免疫調整力が上昇の結果とされている。

LGGを投与することによって、子供の風邪予防効果があったとする報告も知られている²⁵⁾。すなわち、ヘルシンキ郊外の18カ所の託児所の子供571名を2群に分け、LGG添加牛乳投与群と牛乳投与群における風邪罹患率を見ると、有意にLGG投与群で罹患率が減少したと述べている。

血圧降下作用：これまで乳酸菌や発酵乳が高血圧を抑制するということが古くより知られていたが、発酵乳の血圧降下作用について詳細に検討されて、発酵により生成されたアンジオテンシン変換酵素阻害ペプチドや乳酸菌の菌体成分が有効であると報告されている。高血圧自然発症ラットに *L. helveticus* で作った発酵乳を与えたところ、血圧降下作用がある

ことが明らかにされており、この乳酸菌はアンジオテンシン変換酵素阻害ペプチドを作り出している²⁶⁾。

胃内ピロリ低減作用：わが国では健常成人の胃内に *Helicobacter pylori* が常在しており、これが胃潰瘍あるいは胃がんへの発展に寄与していることが社会的な問題になっている。この菌の排除には抗生物質が用いられているが、食品、特に *H. pylori* の生育抑制が強い *Lactobacillus* および *Bifidobacterium* を用いた本菌の抑制が試みられてきた。 *L. salivarius* を用いて *H. pylori* の抑制に有効であると報告され²⁷⁾、また、 *L. gassri* OLL 2716 を *H. pylori* に感染している31名の健常成人に8週投与したところ、 *H. pylori* の減数ならびに胃粘膜の炎症像が低下していることが認められている²⁸⁾。今後も引き続き、本機能を有する菌株の研究開発が待たれるところである。

V. ヒトにおけるプロバイオティクスの機能研究進展

今後のプロバイオティクスの機能研究を進める上で以下の8項目に着目するべきであろう。すなわち、1) 発がん高リスク地域における臨床試験、2) がん治療への応用試験、3) 新規バイオマーカーによる免疫効果、4) 発がん予防および腸内常在菌への効果判定、5) 分子生物学的手法による腸内常在菌の多様性解析、6) 現在までに単分離されていない腸内常在菌(非単集落形成菌)の検出、7) プロバイオティクス菌株の安全性および安定性の確認および、8) 新規プロバイオティクス菌株の探索研究等があげられる。

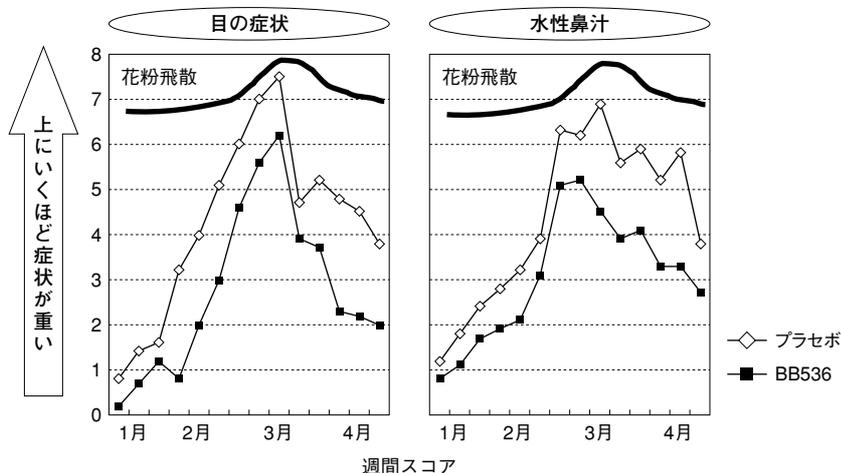


図2 ロングム菌 BB536 の花粉症症状への効果

そしてこれらの試験研究を進める上で、これまで発表されている医薬品開発でのヒト臨床研究は参考として考慮すべきであるが、プロバイオティクスの有効性検証のための検査指針を早期に提示されるべきである。わが国ではすでに1990年より健康増進法の下「特定保健用食品制度」が確立され、優れたプロバイオティクスが市場に出ており、国民一人ひとりがその効能を享受している。今後のプロバイオティクスの研究開発は菌株選定基準やヒト試験における有効性の指針が改善・向上されることにより、より優れた菌株のスクリーニングおよびプロバイオティクスの機能の医学的・栄養学的意義について論議されることになるであろう。

VI. 家畜の生産性向上に寄与する プロバイオティクス

飼料添加物としての生きた乳酸菌の応用が家畜の生産性向上に有効であることが知られている。最近、盛んに言われ出した「プロバイオティクス」という言葉はギリシャ語の“生命のために”から由来している。この定義を見直す試みは、Havenaarら²⁹⁾によりなされ“常在菌叢を改善する事によりヒトや動物に有効性をしめす生きた微生物の単一あるいは混合培養物”と提案された。その後、1989年、Fuller⁴⁾により“腸内常在菌叢のバランスを変えることにより宿主に保健効果を示す生きた微生物”として定義されて、今日までに至っている。

一方、これまで、伝統的に家畜の細菌・寄生虫による疾病制御や成長促進剤として、さまざまな抗生物質が飼料添加物として使われ、著しい成長促進を可能としてきた。この成長促進という考え方は低濃度の抗生物質をどのように作用させるのか、体内常在菌の抗生物質耐性獲得をいかに阻止するかなどを意味している。歴史的にみても、家畜における成長促進とは、飼料：増体重返還率の「増加」として捉えられてきており、その機序については十分に解明されてはおらず、病原体伝搬や結果として生じる疾病の減少が成長促進に直結しているのである。その結果として当該動物の生産物、特に肉類や鶏卵などに抗生物質残留汚染の可能性、耐性菌の出現、耐性機能の常在菌への伝達など数多くの課題が残されてきた。さらに、飼料添加物は有用微生物さえも死滅

あるいは減少させる傾向があり、常在菌のバランスを崩し、菌数の減少も生じさせることも指摘されている³⁰⁾。

1990年代より、飼料添加物としての抗生物質の使用制限、それに対する耐性菌の出現および耐性機能の伝達などの課題を克服すべく「プロバイオティクス」が登場してきた。家畜の生産性向上にプロバイオティクスを積極的に利用する試みがなされているが、ヒトへの応用に比べると比較的新しいものである。家畜の生産性向上に用いられるプロバイオティクスに大きな利点があるものの、困難性も存在している。それは消化管内に投与された生きた微生物が消化管内を通過し、生存しても、その投与菌数を維持することが困難とする常在菌の存在である。なぜなら、ヒトにおける腸内常在菌は大腸に限局しているが、家畜を含めた動物の消化管内には、上部から下部に至る各部位において常在菌が多種多様であり、その菌数も多いことも知られている。

家畜用プロバイオティクスとは飼料添加物の一種であり、ヒトや動物の疾病発症予防に使用される「機能性素材」と理解される。これは「適量の摂取により、宿主の健康効果が期待し得る生きた微生物」(FAO/WHO, 2002)と定義され³¹⁾、その機能として、7項目、すなわち、消化吸收の促進、飼料効率の改善、体重増加の促進、感染症に対する抵抗性亢進、死亡率/罹害率の減少、乳生産量の向上およびルーメンアシドーシスの抑制があげられている³²⁾。現在、家畜の生産性向上に有用なプロバイオティクスがすでに国内でも多数市販されており、その有効性について論議されている(表3)。

家畜の生産性向上を示すプロバイオティクスの条件として、i) もともと宿主の常在微生物であること、ii) 胃酸や胆汁酸などの消化管上部のバリアー中でも生存できること、iii) 増殖部位として消化管下部で増殖可能なこと、iv) 腸内常在菌のバランス改善を発現すること、v) 抗菌性物質の産生や病原細菌の抑制作用をもつこと、vi) 体重増加が認められること、v) 飼料効率の向上、vi) 消化吸收の改善、vii) 栄養素の供給促進、viii) 生産する上で扱いやすく、価格・費用が安価であることなどがあげられ、プロバイオティクスの有効性を引き出す上で重要な条件と考えられる。

現在、市販されている家畜用プロバイオティクス

表3 わが国において市販されている動物用生菌製剤

分類	製品名	発売元	使用微生物 (株)
医薬品	動物用ビオスリー®	東亜薬品工業(株)	<i>Enterococcus faecalis</i> T-110, <i>Clostridium butyricum</i> TO-A, <i>Bacillus mesentericus</i> TO-A
	ボバクチン®	ミヤリサン製薬(株)	<i>Clostridium butyricum</i> MIYAIRI 588, <i>Enterococcus faecium</i> 26, <i>Lactobacillus plantarum</i> 220
	グローゲン®	(株)目黒研/明治製菓(株)	<i>Bacillus subtilis</i> BN
飼料添加物	カルスポリン®	カルビス(株)	<i>Bacillus subtilis</i> C-3102
	モルッカ®	出光興産(株)	<i>Bacillus subtilis</i> DB9011
	サバナ®	出光興産(株)	<i>Bacillus subtilis</i> DB9011, <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
	グローゲン®	(株)目黒研/明治製菓(株)	<i>Bacillus subtilis</i> BN
	トヨセリン®	川崎製薬(株)	<i>Bacillus cereus</i> toyoi
	ミヤゴールド®	ミヤリサン製薬(株)	<i>Clostridium butyricum</i> MIYAIRI 588, <i>Enterococcus faecium</i> 26, <i>Lactobacillus plantarum</i> 220
	ビオフェルミン®	ビオフェルミン製薬(株)	<i>Enterococcus faecium</i> 129 BIO 3B, <i>Lactobacillus acidophilus</i> M-13
混合飼料	ビオスリーエース®	東亜薬品工業(株)	<i>Enterococcus faecalis</i> T-110, <i>Clostridium butyricum</i> TO-A, <i>Bacillus mesentericus</i> TO-A
	サルトーゼ®	共立製薬(株)	<i>Bacillus subtilis</i> 5菌株(トルパン、台中、ノースケープ、チェンマイ、バリ), <i>Enterococcus faecalis</i> US
	フローラアップ®	出光興産(株)	<i>Bacillus subtilis</i> DB9011, <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
	オルガミンスペシャル®	出光興産(株)	<i>Bacillus subtilis</i> DB9011
	ミヤトップ®	ミヤリサン製薬(株)	<i>Clostridium butyricum</i> MIYAIRI 588, <i>Enterococcus faecium</i> 26, <i>Lactobacillus plantarum</i> 220
	ファイラクト®	カルビス(株)	<i>Lactobacillus reuteri</i> , <i>Bifidobacterium pseudolongum</i>

動物用生菌製剤はウシの生産性向上のみならず、豚および鶏にも応用されている。

には2つの概念がある。すなわち、使用されている微生物の組成が明らかな場合と、微生物を同定し得ないほど複雑な微生物叢に成っている場合である。前者の場合、成分としての微生物が把握され、どの構成微生物が有効であるかが理解されやすい。一方、多様な未知微生物を含んだ場合、特に問題なのは後者で、どの微生物が有効なのか、判明しないことが多い³³⁾。

なぜプロバイオティクスが宿主の消化管内で予防効果があるのかという点はかなり推測の域をでないのが現状である。その効果に関する機序は抗菌性物質の排出、宿主細胞結合リセプターとの競合、必須栄養物の奪取競合、宿主免疫機能の亢進などが考えられている。プロバイオティクスの実証可能な研究はより効果的な疾病抑制に有効なプロバイオティクスを見出すことであるかもしれない。また、消化管内での効果発現には長期間、消化管内での定着も必須の要因であると思われる。

では、ウシおよびブタの生産性向上にむけたプロバイオティクス研究の現状について言及する。

ウシ：混合プロバイオティクス (*Lactobacillus acidophilus* NP1 および *Propionibacterium freudenreichii* NP45) を投与により、腸内に常在している *E. coli* O157 : H7 および O111 : HM の減少が認められ、*E.*

coli O157 : H7 および O111 : HM のキャリアーであるウシの腸内増殖を制御できることを明らかにしている^{34~37)}。*L. acidophilus* NP51 や NPC747 あるいは *L. crispatus* M35 単独投与でも、効果が期待できるらしい^{38~41)}。しかしながら、同一菌種の場合、*L. acidophilus* LA747 と *P. freudenreichii* PF24 では効果が認められていない⁴²⁾。プロバイオティクス効果が菌株に依存している好例であろう。今後、さらに有用なプロバイオティクス菌株の開発研究がなされ、実証されていくものと思われる。

ブタ：これまで、ブタの生産性向上には *Enterococcus faecium* SF68 (NCIMB10415) を使用する試験研究がなされ、増体重、飼料効率の改善が認められており、生産現場での効果も報告されている^{43~48)}。*Lactobacillus* を使用した試験では *L. plantarum*^{49~54)}、*L. fermentum*⁵⁵⁾、*L. salivarius*⁵⁶⁾、*L. amylovorus*⁵⁷⁾、*L. casei*^{58~60)}、*L. crispatus*⁴¹⁾ などの菌株が使用され、飼料効率の改善、増体重、免疫亢進にまで踏み込んだ議論がなされている。

おわりに

乳酸菌と人類との出会いは古く、ヒトは微生物の力ではなく、自然(神)からの恩恵として捉えてき

た。パスツールが微生物のもつ有用性を解明するに及んで、そのパワーを人類は生活全般に利用し始めるのである。その中心に乳酸菌がいたことも事実である。乳酸菌の利用が人類の生活を豊かにしてきたことは間違いない。今後も…。

文 献

- 1) Schleifer K-H : Family Lactobacillaceae Winslow, Brodhurst, Buchanan, Krumwiede, Rogera and Smith 1917k pp 465-532, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 3, Spriger, London, 2009.
- 2) Collins MD, Farrow JAE, Phillips BA *et al.*: Classification of *Lactobacillus divergens*, *Lactobacillus piscicola*, and some catalase-negative, asporogenous, rod-shaped bacteria from poultry in a new genus, *Carnobacterium*. Int J Syst Bacteriol, **37** : 310-316, 1987.
- 3) Collins MD, Samelis J, Metaxopoulos J *et al.*: Taxonomic studies on some leuconostoc-like organisms from fermented sausages : description of a new genus *Weissella* for the *Leuconostoc paramesenteroides* group of species. J Appl Bacteriol **75** : 595-603, 1993.
- 4) Fuller R : Probiotics in man and animals. J Appl Bacteriol **66** : 365-378, 1989.
- 5) Salminen S, Bouley C, Boutron-Ruault MC *et al.*: Functional food science and gastrointestinal physiology and function. Br J Nutr **80** : S147-S171, 1998.
- 6) Ling WH, Korpela R, Mykanen H, *et al.*: *Lactobacillus* strain GG supplementation decreases colonization hydrolytic and reductive enzyme activities in healthy female adults. J Nut **124** : 18-23, 1994.
- 7) Goldin BR and Gorbach SL : Alterations of the intestinal microflora by diet, oral antibiotics, and *Lactobacillus* : decreased production of free amines from aromatic nitro compounds, azo dyes, and glucuronides. J Natl Cancer Inst **73** : 689-695, 1984.
- 8) Matsumoto M, Ohishi H and Benno Y: Impact of LKM512 yogurt on improvement of intestinal environment of the elderly. FEMS Immunol Med Microbiol **31** : 181-186, 2001.
- 9) Matsumoto M and Benno Y : Consumption of *Bifidobacterium lactis* LKM512 yogurt reduces gut mutagenicity by increasing gut polyamine contents in healthy adult subjects. Mutat Res **568** : 147-153, 2004.
- 10) Goldin BR and Gorbach SL : Alterations in fecal microflora enzymes related to diet, age, *lactobacillus* supplements, and dimethylhydrazine. Cancer **40** : 2421-2426, 1977.
- 11) Le MG, Moulton LH, Hill C *et al.*: Consumption of dairy produce and alcohol in a case-control study of breast cancer. J Nat Cancer Inst **77** : 633-636, 1986.
- 12) Pryor M, Slattey ML, Robinson LM *et al.*: Adolescent diet and breast cancer in Utah. Cancer Res **49** : 2161-2167, 1989.
- 13) Bueno de Mesquita, HB, Maisonneuve P, Runia S *et al.*: Intake of foods and nutrients and cancer of the exocrine pancreas : a population-based case-control study in The Netherlands. Int J Cancer **48** : 540-549, 1991.
- 14) Young TB and Wolf DA : Case-control study of proximal and distal colon cancer and diet in Wisconsin Int J Cancer **42** : 167-175, 1988.
- 15) Peters RK, Pike MC, Garabrant D *et al.*: Diet and colon cancer in Los Angeles County, California. Cancer Causes Control **3** : 457-473, 1992.
- 16) Ishikawa H, Akedo I, Otani T *et al.*: Randomized trial of dietary fiber and *Lactobacillus casei* administration for prevention of colorectal tumors. Int J Cancer **20** : 762-767, 2005.
- 17) 横倉輝男 : 制癌, 免疫賦活作用, 乳酸菌の科学と技術, 乳酸菌研究集談会 編, 東京, 学会出版センター, 322-334, 1996.
- 18) Isolauri E, Arvola T, Sutas Y *et al* : Probiotics in the management of atopic eczema. Clin Exp Allergy **30** : 1604-1610, 2000.
- 19) Kalliomaki M, Salminen S, Arvilommi H *et al* : Probiotics in primary prevention of atopic disease : a randomised placebo-controlled trial. Lancet **357** : 1076-1079, 2001.
- 20) 辨野義己 : ヨーグルト生活で腸キレイ. pp.1-159, 毎日新聞社, 2006.
- 21) Xiao JZ, Kondo S, Yanagisawa N *et al.*: Effect of probiotic *Bifidobacterium longum* BB536 in relieving clinical symptoms and modulating plasma cytokine levels of Japanese cedar pollinosis during the pollen season. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. J Invest Allergol Clin Immunol **16** : 86-98, 2006.
- 22) Xiao JZ, Kondo S, Yanagisawa N. *et al.*: Probiotics in the treatment of Japanese cedar pollinosis : a double-blind placebo-controlled trial. Clin Exp Allergy **36** : 1425-1435, 2006.
- 23) Odamaki T, Xiao J Z, Iwabuchi N *et al.*: Effect of probiotic *Bifidobacterium longum* BB536 on faecal microbiota in subjects with Japanese cedar. J Invest Allergol Clin Immunol **17** : 92-100, 2007.
- 24) Hori T, Kiyoshima J, Shida K *et al.*: Effect of intranasal administration of *Lactobacillus casei* Shirota on influenza virus infection of upper respiratory tract in mice. Clin Diagn Lab Immunol **8** : 593-597, 2001.
- 25) Hatakka K, Savilahti E, Ponka A *et al.*: Effect of long term consumption of probiotic milk on infections in children attending day care centres : double blind, randomised trial. BMJ **322** : 1327-1332, 2001.
- 26) Yamamoto N, Akino A, and Takano T : Antihypertensive effect of the peptides derived from casein by an extracellular proteinase from *Lactobacillus helveticus* CP790. J Dairy Sci **77** : 917-922, 1994.
- 27) Aiba Y, Suzuki N, Kabir AM *et al.*: Lactic acid-mediated suppression of *Helicobacter pylori* by the oral administration of *Lactobacillus salivarius* as a probiotic in a gnotobiotic murine model. Am J Gastroenterol **93** : 2097-2101,

- 1998.
- 28) Sakamoto I, Igarashi M, Kimura K *et al.*: Suppressive effect of *Lactobacillus gasseri* OLL 2716 (LG21) on *Helicobacter pylori* infection in humans. *J Antimicrob Chemother* **47** : 709-710, 2001.
 - 29) Havenaar R, huis Veld JHJ : The lactic acid bacteria in health and disease. In *Lactic Acid Bacteria*, Wood BJB (ed.), vol. 1, p.151-170, Elsevier, Amsterdam, 1992.
 - 30) Johnston J, Bruce J and Hill J : Incidence of antibiotic-resistant *Escherichia coli* in milk produced in the west of Scotland. *J Appl Bacteriol* **54** : 77-83, 1983.
 - 31) FAO/WHO : Report of a joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. (2002), <ftp://fao.org/es/esn/food/wgrepot2.pdf/04/09>
 - 32) Fuller R : Probiotics for farm animals, 15-22, *Probiotic : A Critical Review*, Horizon Scientific Press, Wymondham, UK (1999)
 - 33) Nakamura A, Ota Y, Mizukami A *et al.*: Evaluation of aviguard, a commercial competitive exclusion product for efficacy and after-effect on the antibody response of chicks to *Salmonella*. *Poult Sci* **81** : 1653-1660, 2002.
 - 34) Elam NA, Gleghorn JF, Rivera JD *et al.*: Effects of live cultures of *Lactobacillus acidophilus* (strain NP45 and NP51) and *Propionibacterium freudenreichii* on performance, carcass, and intestinal characteristics, and *Escherichia coli* strain O157 shedding of finishing beef steers. *J Anim Sci* **81** : 2686-2698, 2003.
 - 35) Stephens TP, Loneragen GH, Karunasena E, *et al.*: Reduction of *Escherichia coli* O157 and *Salmonella* in feces and on hides of feedlot cattle using various doses of a direct-fed microbial. *J Food Prot* **70** : 2386-2391, 2007.
 - 36) Vasconcelos JT, Elam NA, Brashears MM *et al.*: Effects of increasing dose of live cultures of *Lactobacillus acidophilus* (Strain NP51) combined with a single dose of *Propionibacterium freudenreichii* (Strain NP24) on performance and carcass characteristics of finishing beef steers. *J Anim Sci* **86** : 756-762, 2008.
 - 37) Younts-Dahl SM, Galyean ML, Loneragan GH *et al.*: Dietary supplementation with *Lactobacillus*- and *Propionibacterium*-based direct-fed microbials and prevalence of *Escherichia coli* O157 in beef feedlot cattle and on hides at harvest. *J Food Prot* **67** : 889-893, 2004.
 - 38) Brashears MM, Jaroni D and Trimble J.: Isolation, selection, and characterization of lactic acid bacteria for a competitive exclusion product to reduce a shedding of *Escherichia coli* O145 : H7 in cattle. *J Food Prot* **66** : 355-363, 2003.
 - 39) Brashears MM, Galyean ML, Loneragan GH *et al.*: Prevalence of *Escherichia coli* O157. *J Food Prot* **66** : 748-754, 2003.
 - 40) Peterson RE, Klopfenstein TJ, Erickson GE *et al.*: Effect of *Lactobacillus* strain NP51 on *Escherichia coli* O157 : H7 fecal shedding and finishing performance in beef feedlot cattle. *J Food Prot* **70** : 287-391, 2007.
 - 41) Stephens TP, Loneragan GH, Chichester LM *et al.*: Prevalence and enumeration of *Escherichia coli* O157 in steers receiving various strains of *Lactobacillus*-based direct-fed microbials. *J Food Prot* **70** : 1252-1255, 2007.
 - 42) Raeth-Knight ML, Linn JG and Jung HG : Effect of direct-fed microbials on performance, diet digestibility, and rumen characteristics of Holstein dairy cows. *J Dairy Sci* **90** : 1802-1809, 2007.
 - 43) Lodemann U, Hübener K, Jansen N *et al.*: Effects of *Enterococcus faecium* NCIMB 10415 as probiotic supplement on intestinal transport and barrier function of piglets. *Arch Anim Nutr* **60** : 35-48, 2006.
 - 44) Macha M, Taras D, Vahjen W *et al.*: Specific enumeration of the probiotic strain *Enterococcus faecium* NCIMB 10415 in the intestinal tract and in faeces of piglets and sows. *Arch Anim Nutr* **58** : 443-452, 2004.
 - 45) Szabó I, Wieler LH, Tedin K *et al.*: f a probiotic strain of *Enterococcus faecium* on *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104 infection in a porcine animal infection model. *Appl Environ Microbiol* **75** : 2621-2628, 2009.
 - 46) Taras D, Vahjen W, Macha M *et al.*: Performance, diarrhea incidence, and occurrence of *Escherichia coli* virulence genes during long-term administration of a probiotic *Enterococcus faecium* strain to sows and piglets. *J Anim Sci* **84** : 608-617, 2006.
 - 47) Vahjen W, Taras D and Simon O : Effect of the probiotic *Enterococcus faecium* NCIMB 10415 on cell numbers of total *Enterococcus* spp., *E. faecium* and *E. faecalis* in the intestine of piglets. *Curr Issues Intest Microbiol* **8** : 1-7, 2007.
 - 48) Zeyner A and Boldt E : Effects of a probiotic *Enterococcus faecium* strain supplemented from birth to weaning on diarrhoea patterns and performance of piglets. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* **90** : 25-31, 2006.
 - 49) De Angelis M, Siragusa S, Caputo L *et al.*: Survival and persistence of *Lactobacillus plantarum* 4.1 and *Lactobacillus reuteri* 3S7 in the gastrointestinal tract of pigs. *Vet Microbiol* **123** : 133-144, 2007.
 - 50) Maré L, Wolfaardt GM and Dicks LMT : Adhesion of *Lactobacillus plantarum* 423 and *Lactobacillus salivarius* 241 to the intestinal tract of piglets, as recorded with fluorescent in situ hybridization (FISH), and production of plantaricin 423 by cells colonized to the ileum. *J Appl Microbiol* **100** : 838-845, 2006.
 - 51) Nemcová R, Bomba A, Gancarciková S *et al.*: Effects of the administration of lactobacilli, maltodextrins and fructooligosaccharides upon the adhesion of *E. coli* O8 : K88 to the intestinal mucosa and organic acid levels in the gut contents of piglets. *Vet Res Commun* **31** : 791-800, 2007.
 - 52) Nissen L, Chingawaru W, Sgorbati B *et al.*: Gut health promoting activity of new putative probiotic/protective *Lactobacillus* spp. strains : a functional study in the small intestinal cell model. *Int J Food Microbiol* **135** : 288-294, 2004.
 - 53) Takahashi S, Egawa Y, Simojo N *et al.*: Oral administra-

- tion of *Lactobacillus plantarum* strain Lq80 to weaning piglets stimulates the growth of indigenous lactobacilli to modify the lactobacilli population. *J Gen Appl Microbiol* **53** : 325-332, 2007.
- 54) Yoshida Y, Tsukahara T and Ushida K : Oral administration of *Lactobacillus plantarum* Lq80 and *Megasphaera elsdenii* iNP-001 induces efficient recovery from mucosal atrophy in the small and the large intestines of weaning piglets. *Anim Sci J* **80** : 709-715, 2009.
- 55) Wang A, Yu H, Gao X *et al.*: Influence of *Lactobacillus fermentum* I5007 on the intestinal and systemic immune responses of healthy and *E. coli* challenged piglets. *Antonie Van Leeuwenhoek* **96** : 89-98, 2009.
- 56) Walsh MC, Gardinr GE, Hart OM *et al.*: Predominance of a bacteriocin-producing *Lactobacillus salivarius* component of a five-strain probiotic in the porcine ileum and effects on host immune phenotype. *FEMS Microbiol Ecol* **64** : 317-327, 2008.
- 57) Su Y, Yao W and Zhu WY : Changes of bacterial flora from hindguts of piglets after oral administration of *Lactobacillus amylovorus* S1 as a probiotic strain. *Wei Sheng Wu Xue Bao* **46** : 961-966, 2006.
- 58) Fajardo Bernárdez P, Fucinos Gonzalez C, Mendez Batan J *et al.*: Performance and intestinal coliform counts in weaned piglets fed a probiotic culture (*Lactobacillus casei* subsp. *casei* CECT 4043) or an antibiotic. *J Food Prot* **71** : 1797-1805, 2008.
- 59) Kritas SK and Morrison RB : Effect of orally administered *Lactobacillus casei* on porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus vaccination in pigs. *Vet Microbiol* **119** : 248-255, 2007.
- 60) Ohashi Y, Tokunaga M, Taketomo N *et al.*: Stimulation of indigenous lactobacilli by fermented milk prepared with probiotic bacterium, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* strain 2038, in the pgs. *J Nutr Sci Vitaminol* **53** : 82-86, 2007.
- 61) Chen X, Xu J, Shuai J *et al.*: The S-layer proteins of *Lactobacillus crispatus* strain ZJ001 is responsible for competitive exclusion against *Escherichia coli* O157 : H7 and *Salmonella typhimurium*. *Int J Food Microbiol* **115** : 307-312, 2007.