

一般社団法人 日本エンテロビオティックス協会 代表理事
アイディマー株式会社 代表取締役

石原一興

乳酸菌の培養と発酵食品

近年、発酵食品や発酵に関わる乳酸菌の生理的効果がいろいろと注目されています。多くの漬物や、味噌、ヨーグルトなどは、もともと“どこからともなく入ってきた”乳酸菌やその他の微生物によって発酵されたものです。さらに、健康のために役立つと期待される特定の菌を加えた食品やそうした菌で発酵させた食品も増えています。

筆者は乳酸菌の生理作用を研究してその成果を利用し易い形にして提供することに腐心してきました。乳酸菌の大量生産をする時、いつも頭を痛めていたことは、培地原料と大量に排出される培養液の処理です。乳酸菌は人と同様強い栄養要求性があり培地原料は酵母エキスなど食品原料としても高価なものを使います。乳酸菌は糖を乳酸にするだけですから培養液のBODは大変高く、その処理にも大きなコストが掛ります。当然、乳酸菌の価格は高いものになります。さらに、培地中にも有用物質が存在しますから、これを捨てるのはもったいないことでもあります。そうすると、乳酸菌の培地となる原料も、乳酸菌も、乳酸菌の産生物質もすべて食べて利用することができるヨーグルトなどの発酵食品がベストであるということになります。また、消費者にも受け入れられやすく、自然の恩恵をそのまま受け取ることができる形でもあります。

乳酸菌納豆の開発

このようなことから筆者は腸内乳酸菌（腸管に常在する乳酸菌、健常者の便より分離し、培養する。腸内由来乳酸菌などともいう）などを使用したヨーグルト（発酵乳）を開発しましたが、次いで植物性発酵食品の代表として納豆に注目、乳酸菌と納豆菌とで共存発酵してできる納豆（乳酸菌納豆）を発明し、今年の2月に特許登録しました。多くの納豆製造家は乳酸菌が混入したら納豆菌の増殖が障害され納豆の製造ができなくなると恐れ、わざわざ乳酸菌を入れることはありません。乳酸菌納豆は、乳酸菌として腸内乳酸菌の代表的なエンテロコッカス菌（腸球菌）を使用することを特徴とするものです。1g当りの菌数レベルは乳酸菌も納豆菌も数十億から多いものでは百億を超える驚異的ともいえる大変高い菌数レベルの納豆になります。ヨーグルトの乳酸菌の菌数レベルは高いものでも1g当たり10億程度ですから、それと比べても菌数の多いことがおわかりになると思います。味はというと、通常の納豆は微アルカリ性なのに対し中性から微酸性になるため、ややさっぱりした感じで匂いは少なく感じられます。現在、2社が実際に製造販売されています。多くの方がこの納豆に関心を持たれ、事業化にチャレンジされる関係者がさらに出現されることを願っております。それはさておき、乳酸菌は健康に良いのだから菌数が

多いのは良いことなのだろうと思われるのでしょうか、それとも、そんなに多くの菌数が必要なのかと疑問に思われるのでしょうか。健康のためにはどれ位の数の乳酸菌を摂る必要があり、どのような効果があるのでしょうか。健康のために乳酸菌を使用してきた経過を振り返り、筆者の関与した研究例もお示しながら、考えを述べたいと思います。

整腸剤の歴史

乳酸菌を摂取することで腸内の有害菌を抑え健康を保とうと初めて考えたのはロシアのメチニコフです。その考え方にもとづき、乳酸菌剤や健康に良いという乳酸菌を使った発酵乳や乳酸菌飲料が製造されるようになるのは1900年以降のことです。当初はヨーグルトの菌であるブルガリア菌が使用されました。日本では神戸の医師、天児民恵、山本治郎平、鶴崎平三郎がヨーロッパからヨーグルトを取り寄せ整腸効果のある乳酸菌を培養、1917年に日本初の整腸剤が製造されました。これは現在でも医薬品として承認されていますが、エンテロコッカス菌を主な乳酸菌とし糖化菌（納豆菌近縁菌）も含むものでブルガリア菌ではありません。その後、ブルガリア菌などヨーグルトの乳酸菌は腸内では増殖できないと判ると、ヨーロッパでは腸内で増殖する乳酸菌としてアシドフィルス菌が良いと考えられ、この菌で牛乳を発酵させたアシドフィルスミルクが製造されました。1935年、代田稔により独自に整腸効果のある腸内乳酸菌の分離、培養がなされました。戦時中は、不足してきた乳類の代わりにカイコの汁を乳酸菌で発酵させ軍でも使用したと聞いています（当時この乳酸菌はアシドフィルス菌と考えられていたが、現在の分類ではカゼイ菌です）。同じ頃、ヒトの腸内菌から病原菌を排除し整腸機能をもつ酪酸菌が宮入近治により発見されました。当時の、国内や戦地での衛生状態を反映したのでしょうか、病原菌を排除して赤痢など重篤な感染症や食中毒を予防する必要性からこのような研究がなされていたと思われる。その後、無菌動物を用いて、動物に感染させた赤痢菌を腸内乳酸菌や大腸菌の投与により排除する実験など、乳酸菌による病原菌の排除機能の研究が進められました。

1983年、胃潰瘍などの原因となるピロリ菌がオーストラリアのウォレンとマーシャルにより発見されました。このピロリ菌を除去するという乳酸菌の入ったヨーグルトはマスメディアの使い方も上手く、現在、大ヒットしていますが、乳酸菌によって病原菌を排除しようという考え方は、ここにも継承されています。なお、この乳酸菌はヒト腸内由来のガッセリー菌（以前の分類ならアシドフィルス菌とされてきたもの）ということです。

乳酸菌の親和性、特異性

このように、消化管から病原菌を排除する効果には、ヒト腸内由来の菌の有効性が高いと考えられます。その理由は、ヒト由来の菌はヒトの消化管の粘膜に親和性をもっているからです。ヒトや動物由来の乳酸菌は種特異性があり、動物の種類により、その腸に住み着く乳酸菌は異なっています。文字通り、ヒトにはヒトの、イヌにはイヌの乳酸菌と言えるのです。また、種特異性ばかり

でなく、消化管部位による特異性もあり、口腔、小腸、大腸で住み着く菌の種類は異なっています。さらに、例えば、口腔の中でも、歯表面と舌面では菌の分布は異なるし、腸の粘膜面と、粘膜から離れた腸内容物中とでもまた異なっています。こうした菌とヒトや動物との間の特異性や親和性が認められる所以は何でしょうか。その一つは菌には粘膜細胞表面に付いて容易には離れないという付着性にあります。サルは粘膜細胞には他の動物由来ではなくサル由来の乳酸菌がよく付着し、ラットの粘膜細胞にはラット由来の乳酸菌が、ヒト由来の粘膜細胞にはヒト由来の乳酸菌がよく付着することが実験的に明らかにされています。¹⁾

菌の増殖と付着

消化管の中では内容物は消化、吸収されながらも排出されるべく肛門へ向かって移動してゆくので、口から入った菌は腸に到ると増殖するものの粘膜に付着あるいは粘膜近傍に滞留できなければやがて排出されてゆきます。どの程度増殖し、どの位の期間で消え去るかは、個人差や体調、また菌種によって違ってきます。エンテロコッカス菌をヒトが摂取した後、その菌の便中での消長を記した論文があります。²⁾ 複数のボランティア（健常者）に菌数1千万の抗生物質耐性エンテロコッカス菌を1度だけ摂取してもらい、その後の便中の摂取菌の消長を抗生物質耐性とDNA分析で調べています。鶏肉より分離された菌では、便1g中1千万から1億以上のレベルで5日間検出され、便の重量を150gとすれば数千倍から1万倍に増殖したことになりますが、14日以内に全て消失しました。また、豚肉より分離された菌では、便1g中数万のレベルで5日間検出され14日後でも検出された例などが報告され、個人差はあるものの多くのボランティアにおいて摂取菌が腸で増殖し、全例で摂取菌が35日以内に消失したことが記載されています。

増殖しても粘膜への付着力の低い菌は消化管から早期に消え去ってしまい、逆に、増殖が低くても付着力の高い菌は排除されるのに長期間を要するようにも考えられます。

生きた乳酸菌摂取の意義

以上のことから、消化管に親和性のある乳酸菌を摂取する意義を考えてみます。消化管の粘膜はびっしりとその宿主と消化管の部位に固有の強い親和性をもった細菌（共生菌）によって覆われています（腸内細菌叢といいます）。共生菌は乳酸菌を含む種々な菌種で構成されていますが通常は病原性などの有害性を示すことはなく、外部からの菌を容易には寄せ付けません。また、共生菌は宿主の栄養吸収、代謝、排泄、ホルモン系、免疫、神経系など宿主の活動全般、あらゆる器官に影響を及ぼし、健康状態の維持に役立っていると考えられています。しかし、環境中あるいは食品中の有害物質によって、人や動物の老化、体調の変化や疲労、ストレス、抗生物質や抗菌剤の服用などによって共生菌の勢力が衰えた場合は、有害菌によって消化管粘膜の一部が占有され易くなり、実際に占有されてしまうこともあります。このような場合、親和性のある乳酸

菌を摂取していると、その乳酸菌は腸内で増殖、共生菌を補って粘膜表面に付着し有害菌を抑制するとともに有害菌が付着する隙をつくらず共生菌の回復も促します。共生菌が衰え粘膜表面に有害菌が付着した場合でも、親和性に勝る乳酸菌が粘膜面から有害菌を追い出し、摂取した乳酸菌が増殖して有害菌が再び付着できないように粘膜面を覆います。共生菌が回復してくれば、粘膜面は再び親和性のより強い本来の共生菌に覆われることになり、やがて摂取した乳酸菌も排出されることとなります。宿主に親和性のある乳酸菌を摂取することは、共生菌を助け、共生菌が健全に保たれるを通じ、宿主の健康を維持するという予防的意義を持つと考えられます。

発酵乳の効果—アレルギー症状の低減など

もう20年近く前になりますが、筆者は東京都内のある診療所と腸内乳酸菌を使った発酵乳のアレルギーへの有効性を試したことがありました。当時、腸内菌叢の乱れが腸内にカンジダを増殖させアレルギーを惹き起こすのではないかという論文も発表されていました。³⁾ その診療所によれば、問診するとアトピー性皮膚炎などアレルギー症状を示す患者の多くが様々なストレスを感じており、下痢、便秘等の症状が認められ、生菌整腸薬を投与するとアレルギーの症状にも改善傾向がみられ、患者によっては量を増やしたほうがその傾向がよく出るということでした。そのため、薬として投与するより、整腸効果を示す乳酸菌などによって作られた発酵乳の方が摂り易いであろうと考えたのです。エンテロコッカス菌など腸内乳酸菌の代表的菌種やビフィズス菌による発酵乳を医師の指導の下に1日に200～500ml、3カ月間使用した所、二重盲検などの厳密な方法で行われたわけではありませんが、整腸効果がみられるとともに、アトピー性皮膚炎23例の全例において改善がみられ、その他のアレルギー症状も改善が示されるという結果が得られました。

動物でこの発酵乳の投与実験をすると脾臓におけるDNAの増加傾向、血清過酸化物質の減少傾向、血清アルブミンの増加、耐久性の向上が見られ、発酵乳の抗酸化機能、免疫機能の増強、体力の向上機能が示唆されました。以上については、1995年度の日本農芸化学会で発表しました。その他、発酵乳の投与により、持久力の向上もみられました。今では、ヨーグルトや乳酸菌、ビフィズス菌の投与により花粉症など様々なアレルギー症状を緩和するという発表が相次いでいます。しかし、アレルギーをはじめ、免疫機構は大変複雑で解明されていないことも多く、アレルギーの症状の軽重と免疫反応と必ずしも一致するわけではありません。アレルギーと乳酸菌や腸内菌との関係を明らかにするのは今後の大きな課題です。

脂質代謝と乳酸菌

小腸における共生菌は主に乳酸菌（エンテロコッカス属とラクトバチルス属）です。栄養素の消化、吸収の場でもあり、古くから腸内乳酸菌は脂質の消化と吸収に重要な抱合胆汁酸を分解する作用が知られているなど乳酸菌と栄養の関係には密接なものがあると考えられています。

先進国では、生活習慣病の増加は深刻な問題です。高い中性脂肪やコレステロールは動脈硬化のリスク要因となります。食生活のなかで、脂質レベルを正常値に保つことができるならば、大変に有効です。欧米ではアシドフィルスミルクの血清コレステロール低下効果などが研究されましたが、効果があるとする報告もあれば逆に効果が認められないとする報告もあり、判然とはしませんでした。また、乳酸菌ではありませんが、酪酸菌製剤（整腸剤）の投与で血清コレステロールが30%以上低下したという記載もあります。⁴⁾

無菌ラットは通常ラットより血清コレステロールの高いことが知られていますが、エンテロコッカス菌やアシドフィルス菌を無菌ラットに投与、定着させると血清コレステロールが低下することや、エンテロコッカス菌は加熱による死菌でも高コレステロール食で飼育した通常ラットの血清コレステロールを低下させることが発表されています。⁵⁾ 1984年、河合康雄らは、エンテロコッカス菌の抗動脈硬化作用はヒトでも有用であろうと主張するとともに、高脂血症者の血清コレステロール値と便中のエンテロコッカスの菌数やラクトバチルス菌との間に負の相関傾向、すなわち、血清コレステロールの高い程、便中の乳酸菌が少ない傾向があるというデータを日本動脈硬化学会で発表⁶⁾、程なくしてエンテロコッカス菌の死菌体を特徴成分とするサプリメントが商品化されました。整腸効果以外の動脈硬化予防という生理効果をもつ乳酸菌死菌体を前面に出した初めての食品です。

動物実験では、生菌でも死菌でも血清脂質低下活性を示します。生菌は時間経過とともに条件により死んでゆく可能性がありますが、死菌はその点、既に死んでいるためより安定性があること、事業的には死菌の方が独占しやすく、菌に関連する諸情報を秘匿することが容易であると考えられたのです。筆者は上記の発表の1年半程前から研究に参加し、実用化に向け乳酸菌の大量培養と活性の検証等を行っていました。死菌体には医薬品に向くような単一の強い活性を持った物質はありませんでした。その作用は、全体として吸収を抑え排泄を促進することにより効果を示すものと考えられ、複数の物質が関わっており、エンテロコッカス菌に限らず他の乳酸菌やビフィズス菌、ユーバクテリウム、バクテロイデスなどの菌体でもこうした作用を持つことが判明しました。⁷⁻⁹⁾ 無菌動物への死菌体の投与では血清コレステロールの低下作用は認められず、共生菌を介することによって作用を示すものと考えられました。¹⁰⁾ 結局、脂質代謝においても、乳酸菌をはじめとする共生菌を健全に保つことが必要です。

乳酸菌死菌体から微生物菌体への発展

乳酸菌は死菌でも効果があるとはいえ、死菌になれば生菌のもつ有害菌を拮抗的に排除するなどの乳酸菌に特徴的な生物学的機能は失われます。乳酸菌死菌は、むしろ、キノコや酵母、藻類、野菜、果実、豆類、穀類、魚介類、肉類等と同様、通常の商品原料の一つであると考えるのが妥当でしょう。こうした食品原料やその成分についても種々の生理効果を調べる多くの研究がなされており、最近益々盛んです。乳酸菌死菌体についても、同様の考え方や方法論が成立します。乳酸菌死菌体の生理作用を研究すること自体は有意義ですが、そ

の利用を考える場合、乳酸菌の価格は他の食品原料に比べ格段に高いものですから、乳酸菌菌体にしか認められない生理的作用あるいは乳酸菌にしか存在しない物質でなければ、換言すれば、他の食品原料では容易に代替しえない作用や物質でなければ、他の入手し易い食品原料に置き換えることも考えなければなりません。

たとえば、乳酸菌の菌体は過酸化脂質を吸着するとともに還元して物理的、化学的に過酸化脂質を減少させるのですが、この作用は生菌体、死菌体に共通で、乳酸菌のみならず、酵母、ビフィズス菌、バクテロイデスなどの菌体でも認められました。¹¹⁾ 高価な乳酸菌を使わずとも酵母のエキス抽出残物を使うのでも充分で、この乾燥重量の数%の過酸化脂質を減少させることができます。また、乳酸菌死菌体からの抽出物に腸内共生菌を抑えることなく虫歯の起因菌を抑え歯槽膿漏の病原菌を殺菌する作用のあることを発見、その本体はメチルチオアデノシンであると同定しました。^{12,13)} これは中原和郎、鈴木梅太郎が酵母から発見した催乳因子（ビタミンL2）と同一物質で、消炎作用や降圧作用なども示します。生体内では、S-アデノシルメチオニンから生成し、代謝される物質で、殆どの生物体中に存在するものです。また、S-アデノシルメチオニンは不安定で加熱などで容易にメチルチオアデノシンに変化し、様々な食品中にも存在します。ですから、必ずしも高価な乳酸菌から得る必要はありません。実際に実用化に際しては酵母から得ることになりました。

乳酸菌の菌体は免疫賦活作用を示します。動物実験で、動物の腹腔に注射で投与した場合は、ピシバニール（免疫療法に使用されている抗がん剤、溶血性連鎖球菌をペニシリン処理した菌体）と同程度の活性を示す腸内乳酸菌はしばしば認められましたが、経口的に投与した場合は、このような強い活性は見られません。動物実験では、酵母、野菜や果実にも同程度の免疫賦活作用のあることが知られていて乳酸菌に限られた作用というわけではありません。

しかし、乳酸菌菌体を乳酸菌という特殊なものから通常の商品原料として捉え、菌体の利用を発展させる新たな道が開かれる可能性は大いにあります。乳酸菌ばかりでなく、納豆菌、放線菌、酢酸菌、バクテロイデス、ミコバクテリウム、マイクロコッカス、麹菌など様々な微生物種の菌体の食品原料としての利用が考えられるからです。安全性は確認しなければなりません、特に従来から発酵食品に使われている微生物の菌体は安全性も高いと予想されます。以前、放線菌から抗生物質を造る企業に勤務していた友人に、使い終わった放線菌はどうするのかと尋ねたことがあります。「捨てるだろう」と言うので、「それなら、上司にかけあって、俺に出来ないか、死菌体で新しい製品の原料にできるかもしれない」と言うと、その友人はおかしなこと言うなあと困ったような顔をしていましたが、数日後、「やはりだめだよ、わずかにでも医薬品の成分が残存していると問題だ」と言うので、これはやめました。確かに医薬品関係のものは難しいかもしれませんが、調味料、食品用の有機酸や酵素の製造などでは発酵後多くの菌体が捨てられているのではないのでしょうか。試みる価値はあるように思います。

乳酸菌摂取量

最後に、乳酸菌食品をどれ位摂取すれば良いか、少し現実的に述べます。これまで述べてきましたように、有害菌の排除など生物的作用による整腸効果には、消化管内で増殖しヒト(宿主)と親和性をもつ生菌の摂取が重要です。現在の整腸剤の例では、治療のためには、成人では乳酸菌の用量は概ね、一日に約5億から20億程度としています。経口摂取したエンテロコッカス菌が腸で大幅に増殖する事実も参考にして考えれば、エンテロコッカス菌の有効最少摂取量の目安は、食品として毎日摂るとすれば、一日に1億位の菌数と考えてよいでしょう。これは腸内乳酸菌で発酵させた菌数レベルの高いヨーグルトなら0.1g位に相当します。乳酸菌納豆ならそれ以下です。いずれにせよわずかな量です。カロリーを気にする方には少ない量でもよいので好都合でしょう。これは、主に整腸作用を菌量だけで考えてのことです。栄養を取り、味を楽しみ、食欲を満たす食品の役割を考えれば、一人でヨーグルトをコップ1杯位食べても、勿論、良いのです。通常摂取量、例えばヨーグルトなら百gから数百g、乳酸菌納豆なら数十gから50g位を食べるとその菌量は測定法にもよりますが、千億から1兆以上という大きな数になります。乳酸菌や発酵乳摂取によって、アレルギー症状を軽減する、体力や持久力の向上に役立つ、血清脂質や血圧、肝臓機能などを正常に保つなど様々な生理的効果が報告されています。また、過酸化脂質という油の酸化成分は食品中の有害成分ですが、菌量が多い程、過酸化脂質を減少させる効果があります。ただし、食品は安全性は保障されなければなりません。その価値判断は消費者自身に委ねられています。ヨーグルトや納豆など通常食品のカテゴリーの中であれば、一定の価格帯で販売されているでしょうから、一度買って試しても大金を失う危険はなく安心でしょう。味を楽しみ、食べる楽しみを満たせば生理効果や機能性は余録だと考えることもできます。しかし、高い菌数レベルのヨーグルトや納豆(乳酸菌納豆)の通常摂取量を越える多量の乳酸菌を摂取しても効果は増しません。むしろ少量でも継続して摂取することが重要です。

文献

- 1) Kawai Y, Watanabe T, Suegara N and Mutai M : Distribution and colonization of human fecal streptococci . The American Journal of Clinical Nutrition 33 2458-2461(1980)
- 2) Sørensen T.L, Blom M, Monnet DL, Frimodt-Møller N, Poulsen RL, Espersen F : Transient intestinal carriage after ingestion of antibiotic-resistant Enterococcus faecium from chicken and pork. The New England Journal of Medicine 345 (16)1161-1166 (2001)
- 3) 松田三千雄 : アトピー性皮膚炎に対するナイスタチン療法。アレルギーの臨床 11 768 (1991)8
- 4) 下山孝 : うんこの話 193 頁 神戸新聞総合出版センター (1987)
- 5) 綿貫雅章、後藤善宏、和田康江 : 腸内フローラと脂質代謝。腸内フローラと栄養 107-120 学会出版センター (1983)

- 6) 河合康雄、矢澤一良、他：腸内細菌関連製剤。動脈硬化 13(2) 241-249 (1985)
- 7) 石原一興、新良一、椎名恒子、山本博一、磯田政恵：腸内細菌のコレステロール代謝に及ぼす影響。腸内フローラと生体ホメオスタシス 121-144 学会出版センター (1989)
- 8) Ishihara K and Shin R : Effects of Cellular Components of Intestinal lactic acid bacteria on Cholesterol Metabolism. : Microecology and Therapy 20 73-80 (1990)
- 9) 新良一、石原一興、光岡知足：小腸粘膜マイクロソーム中 ACAT 活性に及ぼす腸内細菌菌体成分の影響。第 22 回日本動脈硬化学会講演要旨 動脈硬化 18 巻 5 号 (1990)
- 10)新良一、杉山泰生、椎名恒子、石原一興、大和田勉、尾崎明、水谷武夫：無菌マウスの脂質代謝におよぼす乳酸菌加熱処理菌体の影響。無菌生物 22 71-74 (1992)
- 11)Ito M and Ishihara K : Lipid peroxide decreasing activity of microbial cells. Developments in Food Engineering 1059-1061 BLACKIE ACADEMIC & PROFESSIONAL (1994)
- 12)Ishihara K, Miyakawa H, Hasegawa A, Takazoe I and Kawai Y : Growth Inhibition of Streptococcus mutans by cellular extracts of human intestinal lactic acid bacteria. Infection and Immunity 49 692-694 (1985)
- 13)石原一興、長谷川温子、空代立夏子、米山敦子、河合康雄、北村滋、石川烈：腸内乳酸菌成分による齲蝕・歯周病病原菌の増殖阻害 日本歯科保存学雑誌 28(3) 1044-1049 (1985)