

## 審査の結果の要旨

氏名 伊藤 雅彦

生体内の活性酸素は、炎症、動脈硬化などの種々の疾病のリスクを高めると考えられている。これらの疾病は自覚症状なく進行するため、健康時からの日常の食事による予防が重要である。乳酸菌は人の健康に密接に関わっている有益な機能性素材であるが、*in vivo*における乳酸菌の抗酸化作用に関する報告は不十分である。本論文は、乳酸菌の中から抗酸化活性の高い菌株を選抜し、その投与効果をモデル動物とヒトで調べるとともに、活性成分の同定を進めたもので、緒言、第一章から第五章、および総合討論からなる。

研究の背景および目的を述べた緒言に続き、第一章では、 $\text{Fe}^{2+}$ が触媒するリン脂質リポソーム脂質過酸化反応の阻害活性を指標に乳酸菌をスクリーニングし、*Streptococcus thermophilus* YIT 2001 (St2001) を選抜している。鉄過剰摂取マウスの結腸粘膜の過酸化脂質（チオバルビツール酸反応性物質）レベルは St2001 の投与量依存的に低下した。この時、腸粘膜の過酸化脂質レベルは盲腸内容物の可溶性鉄濃度と相関せず、本菌の作用は反応系から  $\text{Fe}^{2+}$  を除去することで生じたものではないことが示唆された。

続く第二章では、デキストラン硫酸ナトリウム誘導マウス急性大腸炎に対する St2001 の投与効果を調べている。St2001 は、disease activity index（大腸炎症状の指標）および結腸粘膜の過酸化脂質レベルを低下させ、大腸炎に伴う貧血も改善することが示された。抗酸化活性が低い *S. thermophilus* YIT 2084 (St2084) はこれらの効果を示さなかった。St2001 群の結腸粘膜ミエロペルオキシダーゼ活性には対照群との間に有意差はなく、好中球の浸潤抑制ではなく、活性酸素の消去によって症状を改善したことが示唆された。

第三章では乳酸菌・ビフィズス菌を対象に *in vitro* で LDL 酸化抵抗性を評価している。その結果、St2001 が最も高い活性を示し、St2084 の活性はその半分ほどであった。食餌性高脂血症ハムスターモデルへの投与試験の結果、St2001 群の LDL 酸化抵抗性は対照群に比べて改善したが、St2084 群では有意差がなかった。St2001 の投与量依存的に LDL 酸化抵抗性が改善され、大動脈弓の脂質沈着病変面積が減少した。血漿中の脂質濃度には菌の投与による変化は認められず、St2001 は LDL 酸化の抑制を介して、脂質沈着病変形成を低減させることが示唆された。

第四章では、St2001 の LDL 酸化抑制に関する活性物質を同定するため、菌体抽出物を

逆相カラムで分画し、高速液体クロマトグラフィー-質量分析装置で分析している。その結果、主要な活性画分に還元型グルタチオンが存在することを明らかにした。還元型グルタチオン標準品は、*in vitro* で LDL 酸化抵抗性を濃度依存的に改善したが、チオール基の誘導体化により還元型グルタチオンの活性は消失した。また、菌体抽出物を同様にチオール誘導体化処理すると活性はほぼ半減し、還元型グルタチオンをほとんど含まない他の *S. thermophilus* と同等となった。菌体抽出物中のチオール化合物の約 8 割が還元型グルタチオンであった。以上より、St2001 の LDL 酸化抑制活性には菌体内還元型グルタチオンが関与していることを示す結果が得られている。

第五章では、St2001 発酵乳のヒトにおける投与効果をランダム化二重盲検プラセボ対照試験で調べている。平均 LDL-コレステロール 140 mg/dL の被験者 29 名および 30 名が St2001 発酵乳およびプラセボ（未発酵乳）を 12 週間継続摂取する試験を行った。摂取期間中、St2001 発酵乳群の酸化 LDL、酸化 LDL/LDL-コレステロール、収縮期血圧、拡張期血圧が、プラセボ群に比べて低下した。層別解析の結果、被験食品摂取前の酸化ストレスが高い場合に顕著な効果が認められ、血圧低下の機作に抗酸化作用が関与していることが示唆された。

総合討論では、結果のまとめ、課題、今後の展望について述べられている。

以上、本論文では、これまでプロバイオティクスとして評価されてこなかった *S. thermophilus* がヒトの健康に寄与しうることを示し、乳酸菌が抗酸化食品素材としても有望であることをヒトや動物モデルで示し、活性成分についても解明を進めたもので、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。