

## 平成30年度 独創的研究助成費 実績報告書

平成31年 3月28日

報告者	学科名	栄養学科	職名	教授	氏名	田中 晃一
研究課題	高LDLコレステロール血症を改善する新規酵母の探索					
研究組織	氏名	所属・職	専門分野	役割分担		
	代表	田中 晃一	栄養学科・教授	応用微生物学	研究全般・総括	
研究組織	分担者					
研究実績の概要	<p><b>【背景と目的】</b>  高LDLコレステロール血症は、脳梗塞や心筋梗塞、大動脈瘤といった様々な動脈疾患のリスク因子である。近年、血清コレステロール値を低下させることを目的として、胆汁酸を吸着して体外への排出を促進する効果を有する乳酸菌が、プロバイオティクスとして利用されはじめている。我々は、乳酸菌と同様に古くから様々な発酵食品に利用され、ヒトに対する安全性も高い酵母の中にも、同様の効果を示すものがあるのではないかと考え、胆汁酸吸着能を有する野生酵母のスクリーニングを行った。</p>					

※ 次ページに続く

研究実績  
の概要

**【方法と結果】**

**1. 胆汁酸結合能もしくは胆汁酸分解能を有する野生酵母のスクリーニング**

はじめに自然界に自生する植物の花や実、葉など、約 2800 の分離源から約 540 株の野生酵母を分離・収集した。次にこの野生酵母コレクションの中から、胆汁酸を吸着もしくは分解する活性を有する酵母の探索をおこなった。通常、胆汁酸はアミノ酸と縮合した抱合胆汁酸として分泌されており、ヒトの場合はグリココール酸 (GCA) とタウロコール酸 (TCA) が胆汁酸全体の 80%以上を占めている。従って、スクリーニングには GCA と TCA を 1:1 で混合した溶液を使用した。培養した野生酵母の菌体を胆汁酸溶液に懸濁し、37°Cで一晩反応させた。反応後、上清に含まれる胆汁酸を検出し、濃度の低下が見られたものをポジティブ株として選抜した。

選抜した株を用いて再度実験をおこない、再現性を確認するとともに、沸騰水中で加熱殺菌した死菌を用いて同じ実験を行った。上清に含まれる胆汁酸の減少が生菌のみで見られ、死菌で活性が失われる場合は、胆汁酸が酵素的に分解されているか、熱に不安定な細胞成分に吸着されていると考えることができる。一方、死菌でも上清中の胆汁酸を減少させる株は、熱に安定な細胞成分に胆汁酸が吸着されていると予想した。実際、上清中の GCA と TCA の両方を減少させることのできる株は、全て死菌においても活性が見いだされた。更に、胆汁酸溶液と反応させた後の菌体をエタノールで洗浄したところ、GCA と TCA が溶出されたことから、これらのポジティブ株は胆汁酸を分解するわけではなく、胆汁酸を吸着することで上清中の胆汁酸を減少させていると判断した。最終的に最も活性が強い 3 つのポジティブ株 (No. 1, No. 6, No. 55) を選出し、後の実験に進んだ。

**2. 胆汁酸吸着酵母の菌種同定**

得られた胆汁酸吸着酵母の実用化を目指す場合、経口摂取可能な安全な菌種であることを確認する必要がある。各々の株の 28S rDNA を解析して菌種の推定を行ったところ、No. 1 は *Candida sake* もしくは *Pichia manshurica*、No. 55 は *Metschnikowia koreensis* もしくは *peoriensis* であると考えられた。更に、No. 6 は *Saccharomyces cerevisiae* であることが明らかとなった。

**3. 胆汁酸吸着酵母の実用化モデル**

胆汁酸吸着実験前後の上清に含まれる胆汁酸濃度を測定し、それぞれの株の胆汁酸吸着能を比較した。ヒトが一日に分泌する胆汁酸のうちの 10%を吸着できる酵母の乾燥菌体量を算出したところ、No. 1 株と No. 6 株はともに約 6g となった。これはサプリメントのような錠剤として容易に摂取できる量である。

**【考察】**

今回我々が単離した、胆汁酸吸着活性を有する野生酵母は、どれも発酵食品から頻りに検出される菌種であった。従って、これらの酵母はサプリメントのような形で経口摂取しても安全だと推測される。中でも No. 6 は古くからパンや酒類の製造に利用されている *S. cerevisiae* であることから、血清コレステロール低下作用を有するパンや発酵飲料といった機能性食品の開発に応用できる可能性がある。