

## *Lactobacillus pentosus* S-PT84 株の免疫調節作用について

出雲貴幸<sup>\*a</sup>, 星子浩之<sup>b</sup>, 井田正幸<sup>a</sup>, 前川敏宏<sup>a</sup>

### Immunomodulatory effects of *Lactobacillus pentosus* strain S-PT84

Takayuki IZUMO<sup>\*a</sup>, Hiroyuki HOSHIKO<sup>b</sup>, Masayuki IDA<sup>a</sup>, Toshihiro MAEKAWA<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Institute For Health Care Science, Suntory Wellness Limited.

<sup>b</sup>Institute For Microbial Science, Suntory Business Expert Limited.

1-1-1 Wakayamadai, Shimamoto-cho, Mishima-gun, Osaka, 618-8503, Japan

(Received October 12, 2012; Accepted November 26, 2012)

*Lactobacillus pentosus* strain S-PT84 isolated from Kyoto pickles has immunomodulatory activities. In the present study, the immunomodulatory component and the mechanism of S-PT84 were investigated. Intact cell wall, but not protoplast/polysaccharide-peptidoglycan, induced Th1-cytokine from peritoneal macrophages as much as whole cell of S-PT84. Th1-cytokine production from macrophages in Toll-like receptor 2 or 4 (TLR2/TLR4) knock out (K.O.) mice were decreased compared to wild-type mice and further decrease was indicated in TLR2/4 double K.O. mice. These results indicate that the cell wall is important as an immunomodulatory component, and immunomodulatory activities are activated through TLR2/4.

We investigated the effects of S-PT84 on mucosal immunity in the intestinal tract and lungs. In the intestinal tract, S-PT84 induced IL-5 and IL-6 production from Peyer's patch cells and enhanced IgA production both Peyer's patch cells and small intestine. In *Salmonella* Typhimurium or cholera toxin exposure experiment, antigen-specific IgA was enhanced by S-PT84 ingestion compared to the control. In the lungs, natural killer (NK) activity and interferon-alpha (IFN- $\alpha$ ) production were increased in S-PT84 group compared to control group in influenza virus infection. These results suggest a possibility that the risk of bacterial or viral infection is decreased by S-PT84 ingestion.

We investigated the effect of S-PT84 ingestion on immune functions in healthy volunteers. Each volunteer had taken placebo tablet, or S-PT84 tablet which contains 0.5 billion, 1.5 billion or 4.5 billion of S-PT84 respectively, for 4 weeks. NK activity was significantly increased in the 1.5 billion S-PT84 ingestion group after 2 weeks and IFN- $\alpha$  production was significantly enhanced in all S-PT84 ingestion groups after 2 or 4 weeks. These results suggest that the immune functions in healthy volunteers are enhanced by S-PT84 ingestion.

**Key words** —*Lactobacillus pentosus* strain S-PT84, immunomodulatory effects, natural killer activity, interferon- $\alpha$ , Th1-cytokine, IgA

## 1. はじめに

乳酸菌はヨーグルトや発酵食品などの一般食品として、また飲料やサプリメント形態として広く摂取されている微生物である。乳酸菌の保健機能は古くから知られており、特に整腸作用について

は科学的根拠が示され、特定保健用食品として人々の健康維持・増進に利用されている<sup>1)</sup>。

一方で、一口に乳酸菌と言ってもその種類は実に多種多様であり、属あるいは種が異なると、その特性あるいは機能性は大きく異なってくる。例えばヨーグルトなどに含まれる乳酸菌は、その糖

<sup>\*,a</sup> サントリーウエルネス株式会社 健康科学研究所 〒618-8503 大阪府三島郡島本町若山台1-1-1, e-mail: Takayuki\_Izumo@suntory.co.jp

<sup>b</sup> サントリービジネスエキスパート株式会社微生物科学研究所  
本論考は、出雲貴幸の博士論文をもとに再構成したものである。

資化性が比較的狭いのに対し、漬物、サイレージなど植物発酵に寄与している乳酸菌は、糖の資化性が広く、植物由来の抗菌物質などにも耐性を持つことなどが報告されている<sup>2)</sup>。また、乳酸菌はその種類によって増殖可能な温度帯が異なっており、生産性、発酵性を考える際に培養温度は重要な要素となる。さらに乳酸菌は培養温度感受性に細胞増殖あるいは細胞外多糖産生量などを変化させる性質があり<sup>3-5)</sup>、発酵後の風味などに影響することも知られている。つまり乳酸菌による食品開発を考える場合、それぞれの目的にあった乳酸菌を適切に選抜する必要がある。

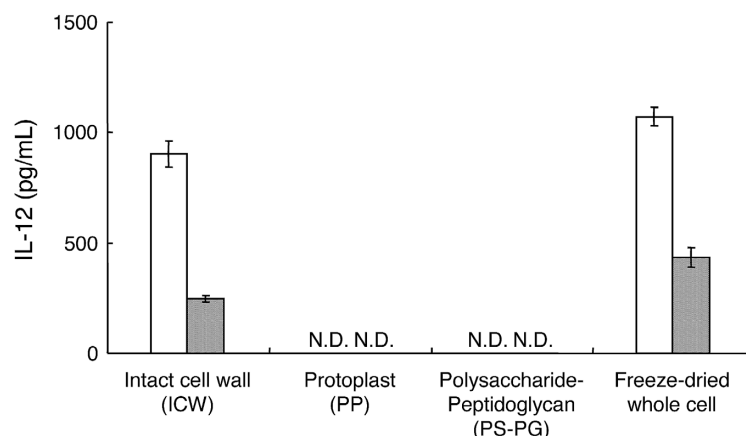
機能性という点では整腸作用に加え、腸管あるいは全身の免疫反応を調節し、感染症、ガンやアレルギー予防にも有益である可能性が報告されており<sup>6-8)</sup>、その新たな機能が注目されている。そこで我々は免疫調節作用に優れ、かつ植物素材を発酵できる乳酸菌を探索することから開始した。まず食品として開発可能な乳酸菌を選抜するために、次の3つの条件を定めた。その条件とは、1) 最もよく利用され、かつ安全性が確かめられている属である *Lactobacillus* 属であり、2) 日本人になじみの深い発酵食品（漬物）由来であり、3) 良好な増殖性を示すものであった。この条件によって約 1000 株から 16 株の乳酸菌を選抜し、免疫調節作用を比較検討した結果、高い Th1 サイトカイン誘導作用を示す *Lactobacillus pentosus*

S-PT84 株が見出された。我々は、この S-PT84 株の免疫調節作用について作用メカニズムおよび動物・ヒトにおける有効性について検討を行った。

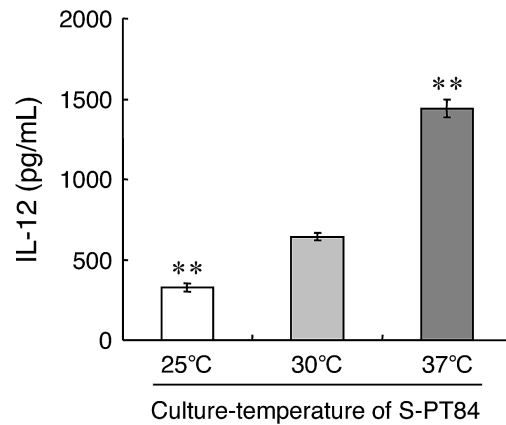
## 2. *Lactobacillus pentosus* S-PT84 株の免疫調節作用誘導成分

S-PT84 株の免疫調節作用、特に Th1 サイトカイン (IL-12) 誘導作用に関与する構成成分を明らかにするために、S-PT84 株を構造を維持した細胞壁 (ICW)、プロトプラスト (PP)、多糖-ペプチドグリカン複合体 (PS-PG) に分画し、それぞれのマウス腹腔マクロファージに対する IL-12 誘導作用を比較検討した。その結果、PP および PS-PG 画分には IL-12 誘導作用は認められなかったが、ICW 画分には IL-12 誘導作用が認められ、その活性は S-PT84 株菌体そのものと同程度であった (Fig. 1)。以上の結果から、S-PT84 株の IL-12 誘導作用には細胞壁が重要であること、また PS-PG 画分に活性がなかったことから、構造を維持した細胞壁が重要であることが示唆された。

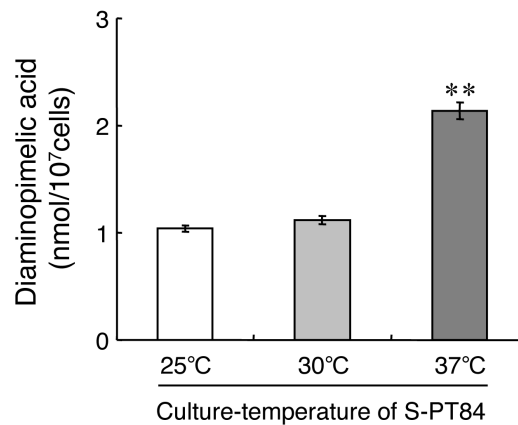
乳酸菌は培養温度の違いによって増殖や細胞壁成分組成に変化が現れることが良く知られている。そこで異なる培養温度で S-PT84 株を調製し、それぞれの細胞壁と免疫調節作用の変化について検討を行った。25、30 または 37°C で培養し



**Fig. 1** Intact cell wall structure is the most important component for ability of IL-12 induction. BALB/c mice were pretreated intraperitoneally with 2ml of 4.05% thioglycolate medium. Peritoneal macrophages were harvested 4 days after injection of the thioglycolate medium. The cells were treated with intact cell wall (ICW), protoplast (PP), polysaccharide-peptidoglycan (PS-PG), freeze dried whole cell of S-PT84 (Each fraction was prepared as equivalent to  $0.7 \times 10^6$  or  $7 \times 10^6$  cells/mL) for 24h. IL-12 concentration in culture supernatants was measured by ELISA ( $n=3$ ). N.D., not detected



**Fig. 2** Effects of culture-temperature of S-PT84 on the acquisition of the ability to induce IL-12 production. Peritoneal macrophages were harvested from BALB/c mice and treated with S-PT84 ( $7 \times 10^6$  cells/mL) prepared by cultivation at 25°C (open column), 30°C (gray column) or 37°C (closed column), respectively, for 24h. IL-12 concentration in culture supernatants was determined by ELISA. Significance of difference between 30°C group and the other groups was shown as  $**P < 0.01$  ( $n = 3$ ).

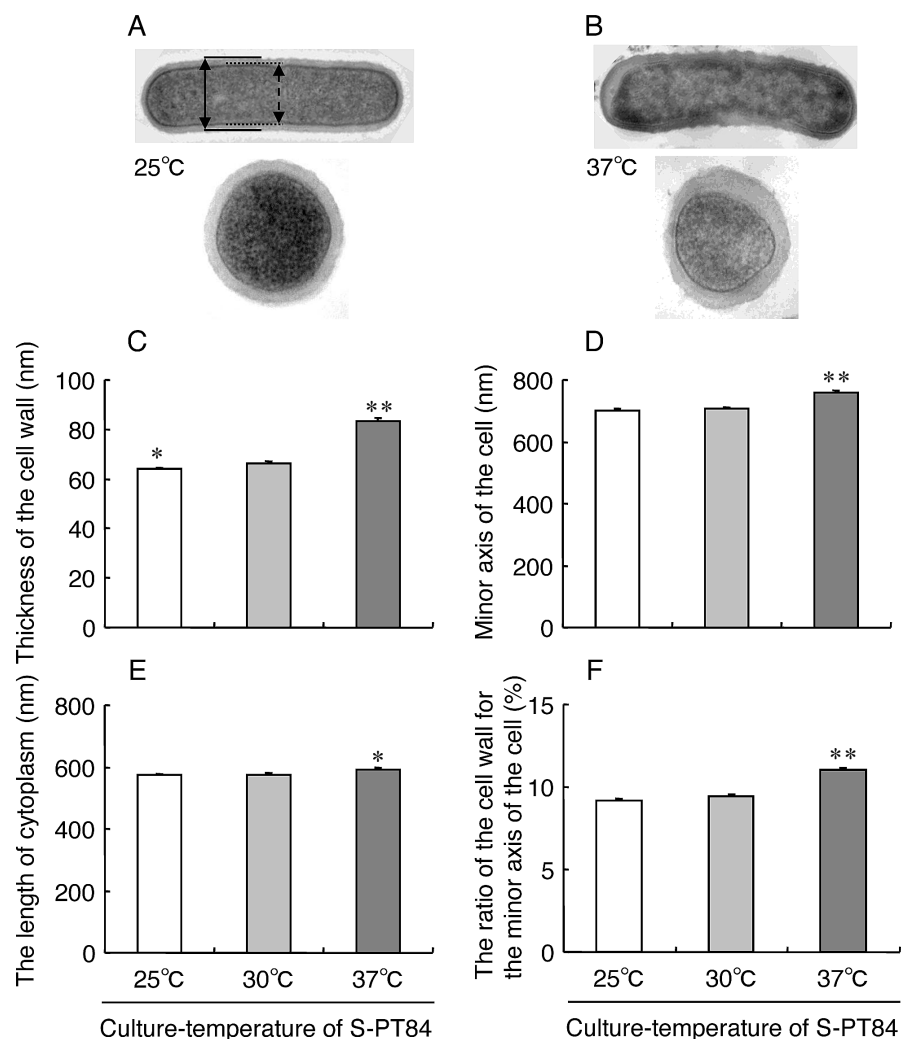


**Fig. 3** Diaminopimelic acid content of cell wall is changed by culture-temperature. S-PT84 was cultivated at 25°C (open column), 30°C (gray column) or 37°C (closed column) for 24h, respectively. Freeze dried whole cell samples were hydrolyzed. Amino acid analysis of hydrolyzed samples was performed using an L8800 amino acid analyzer. Diaminopimelic acid was used as an indicator of the cell wall components. Statistically significant differences between 30°C group and 37°C group:  $**P < 0.01$  ( $n = 3$ ).

た S-PT84 株の IL-12 誘導作用を比較すると、培養温度が高いほど菌体の IL-12 誘導作用が高いことが明らかとなった (Fig. 2). 次に、この作用の違いが細胞壁の変化によるものか否かを検討するために細胞壁中のジアミノピメリン酸含量<sup>\*</sup>を測定した。その結果、37°C で培養した S-PT84 株細胞壁中のジアミノピメリン酸含量が高値を示すことが明らかとなった (Fig. 3).

細胞壁成分量が増加していたことから、それぞれの S-PT84 株を電子顕微鏡撮影し、細胞壁の形態変化を観察するとともに (Fig. 4A, B), 細胞壁の厚みおよび菌体の全長に対する割合を求めた。

その結果、30°C で培養した S-PT84 株に比較して 37°C で培養した S-PT84 株では有意に細胞壁が厚いことが明らかとなった (Fig. 4C). 同時に乳酸菌の短径 (D), 細胞質径 (E) および全長に対する細胞壁の厚みの割合 (F) も算出したが、37°C 培養ではすべてのパラメーターにおいて 30°C で培養した S-PT84 株に比較して有意な増加が認められた (Fig. 4D, E, F). 以上の結果から、S-PT84 株の IL-12 誘導作用には細胞壁が重要であり、その活性は細胞壁の厚みに依存する可能性が示唆された。



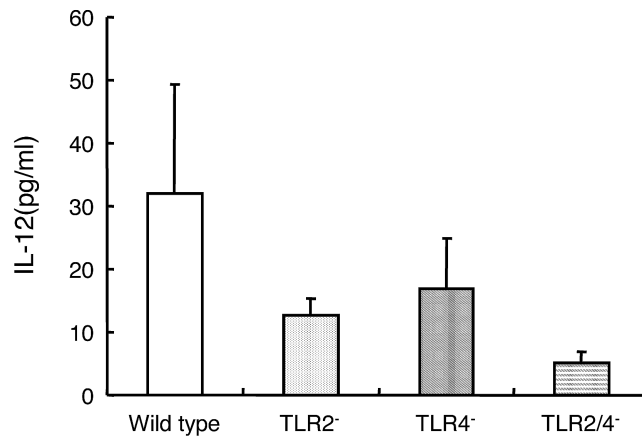
**Fig. 4** The cell wall thickness and cell diameter are changed by culture-temperature.

The cell wall thickness was defined from outside of the inner electron dense layer of cell (dotted line) to the outside limit of cell (solid line) that we can confirm. The cell wall thickness was calculated according to the formula: [(The minor axis of the cell: solid arrow)-(The length of cytoplasm part: dotted arrow)]/2 (nm). S-PT84 was cultivated at 25°C (open column), 30°C (gray column) or 37°C (closed column) for 24h, respectively. All samples performed the transmission electron microscope (TEM) photography. Statistically significant differences between 30°C group and other groups: \*P<0.05, \*\*P<0.01 (n=152-233).

### 3. S-PT84 株の免疫調節作用誘導作用メカニズム

乳酸菌を含めた微生物が宿主に入った場合、宿主細胞が有するパターン認識レセプター (TLR, NOD など) によって感知され、免疫応答を誘導することが知られている<sup>9,10</sup>。乳酸菌の免疫調節作用に関わるレセプターはいくつか報告されており、中でも TLR2, 4 および 9 はその関与が強く示唆されている<sup>11-13</sup>。今回の検討では S-PT84 株の IL-12 誘導作用に関わる TLR2 および 4 レセプ

ターの寄与度について、マクロファージで検討を行った。TLR2, TLR4 および TLR2/4 ノックアウトマウスから得たマクロファージを用いて S-PT84 株の IL-12 誘導作用を比較した結果、野生型で最も高い IL-12 誘導作用を示した。次いで TLR4 ノックアウトマウス、TLR2 ノックアウトマウスの順に高く、TLR2/4 ダブルノックアウトマウスは最も産生量が低かった (Fig. 5)。この結果から、S-PT84 株は TLR2 および TLR4 両レセプターを介して IL-12 産生を誘導することが示唆された。



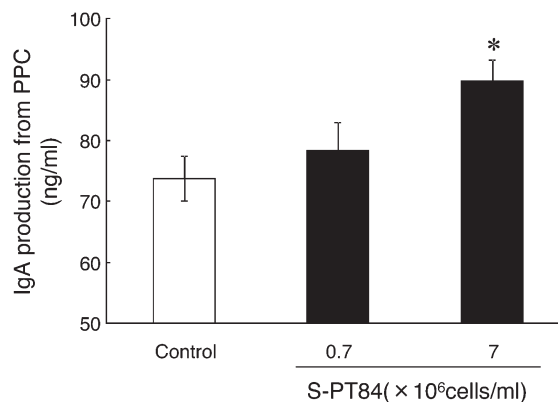
**Fig. 5** IL-12 production from resident peritoneal macrophages (wild type, TLR2 K.O., TLR4 K.O. or TLR2/4 K.O. C57BL/6 mice). Macrophages were treated with S-PT84 ( $7.0 \times 10^6$  cells/ml) for 24h. IL-12 concentration in culture supernatants was measured by ELISA (n=4).

#### 4. 腸管免疫に対する S-PT84 株の効果

S-PT84 株をマウスに経口投与することで、脾細胞の NK 活性が増加すること、Th1/Th2 バランスが Th1 に偏向することが確認されている<sup>14)</sup>。また、OVA アレルギーモデルマウスに経口投与することにより、Th2 サイトカインである IL-4 産生抑制作用あるいは IL-10 誘導作用を介して、血中 OVA 特異的 IgE 産生の増加を抑制することが報告されている<sup>15)</sup>。これらの結果から、S-PT84 株は全身免疫系に作用し、その機能を調節すること、そして過剰な免疫反応を抑制できることが示唆される。一方、S-PT84 株を経口摂取した場合

の腸管免疫系に対する作用は不明であった。そこで、S-PT84 株の腸管免疫系に対する作用について *in vitro*、あるいは正常マウス、サルモネラ感染マウスおよびコレラ毒素投与マウスを用いて検討を行った。

正常マウスから得たパイエル板細胞に S-PT84 株を添加して 7 日間培養後に、腸管免疫系のバリア機能を持つ成分である IgA 産生を測定した。S-PT84 株非添加でも IgA は産生されたが、S-PT84 株の添加でその産生は増強された (Fig. 6)。次に、S-PT84 株を 1 週間摂取したマウスから脾細胞、パイエル板細胞、腸間膜リンパ節細胞をそれぞれ調製し、S-PT84 株で再刺激した。そ

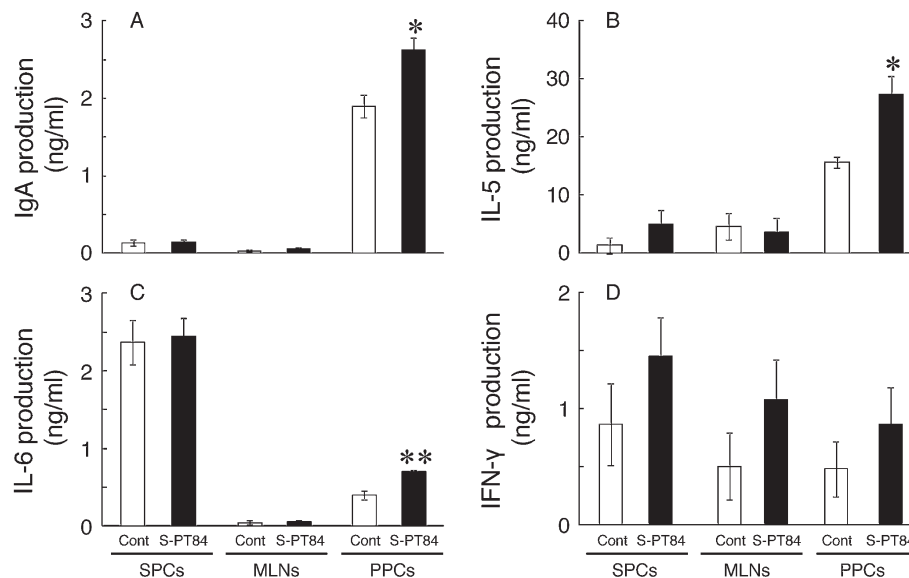


**Fig. 6** IgA production from peyer's patch cells (PPC) of BALB/c mice treated with S-PT84. Peyer's patch cells were harvested from BALB/c mice and treated with S-PT84 prepared by cultivation at 37°C for 7 days. IgA concentration in culture supernatants was determined by ELISA (n=3). \*Statistically significant difference between control group and  $7 \times 10^6$  cells/ml S-PT84 group ( $P < 0.05$ ).

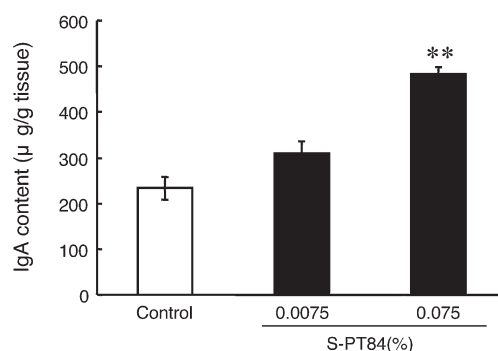
の結果、S-PT84 株非摂取群に比較して、S-PT84 株摂取群ではパイエル板細胞における IL-5 (Fig. 7B) および IL-6 (Fig. 7C) 産生が有意に高く、IgA 産生も有意に亢進していた (Fig. 7A)。また、S-PT84 株を 1 週間摂取したマウスでは腸管 IgA 含量が摂取量依存的に上昇することも示され (Fig. 8)、S-PT84 株摂取により、腸管免疫系が活性化することが示唆された。

次に、弱毒性サルモネラである LT-2 株を用いてマウスに腸管感染を誘導し、経時的にサルモネラ特異的 IgA 産生を測定したところ、感染 24～

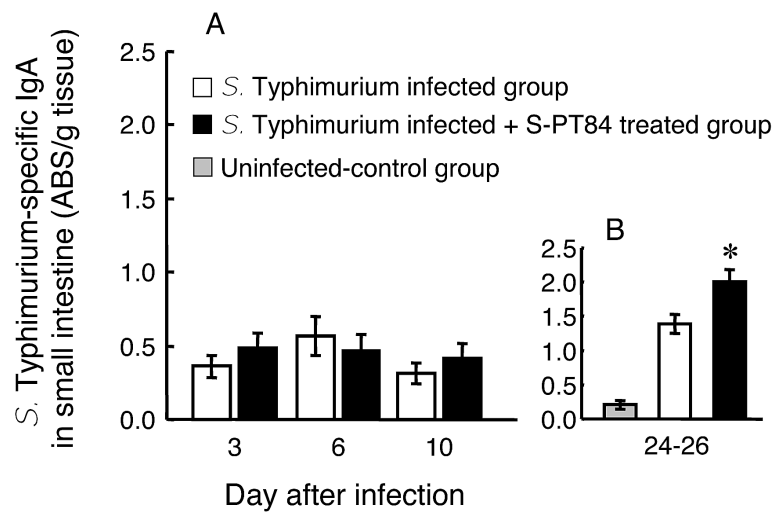
26 日後において S-PT84 株摂取群で有意なサルモネラ特異的 IgA 産生の増加が認められた (Fig. 9)。同様な検討として、コレラ毒素を経口感作したマウス腸管におけるコレラ毒素特異的 IgA 産生を測定したところ、初回感作より 21 日後において S-PT84 株摂取群で有意なコレラ毒素特異的 IgA 産生の増加が認められた (Fig. 10)。以上の結果から、S-PT84 株を経口摂取することで腸管免疫系が活性化され、バリア機能を持つ IgA の産生が亢進したことによって、感染防御作用を示す可能性が示唆された。



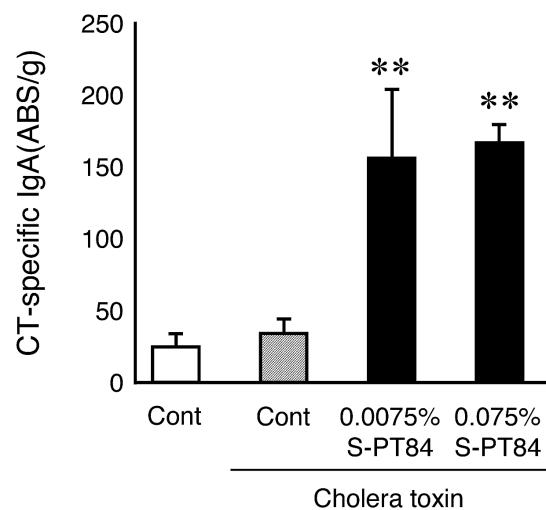
**Fig. 7** IgA (A), IL-5 (B), IL-6 (C) and IFN- $\gamma$  (D) production from splenocytes (SPCs), mesenteric lymph node cells (MLNs) or Peyer's patch cells (PPCs) of BALB/c mice treated with S-PT84 or without S-PT84 (Cont). BALB/c mice were fed an AIN-93M diet or AIN-93M diet containing 0.0075 % S-PT84 for a week at libitum. Each cells were treated with S-PT84 ( $0.7 \times 10^6$  cells/mL) for 7 days (IgA) or for 24 hrs (IL-5, IL-6 and IFN- $\gamma$ ). Each group consists of 3 mice. \*, \*\*Statistically significant differences between control group and S-PT84 group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ).



**Fig. 8** IgA content in small intestine of BALB/c mice non-treated or treated with S-PT84. BALB/c mice were fed an AIN-93M diet or AIN-93M diet containing 0.0075 or 0.075 % S-PT84 for a weeks at libitum. Small intestine was collected and homogenized individually. IgA concentration in supernatants of homogenized solution was determined by ELISA. Each group consists of 5-9 mice. \*\*Statistically significant difference between control group and 0.075 % S-PT84 group ( $P < 0.01$ ).



**Fig. 9** Effects of S-PT84 treatment on the amounts of IgA in small intestine. BALB/c mice were fed an AIN-93M diet or AIN-93M diet containing 0.0075% S-PT84 for 34 days at libitum. Mice were infected orally with *S. Typhimurium* LT-2 ( $1 \times 10^9$  cfu/mouse) on day 0. Small intestine was collected and *S. Typhimurium*-specific IgA concentration in small intestine was determined by ELISA on day 3, 6, 10 and 24-26. Each group consists of 3-9 mice. \*Statistically significant difference *S. Typhimurium* infected group and *S. Typhimurium* infected+S-PT84 treated group ( $P < 0.05$ ).



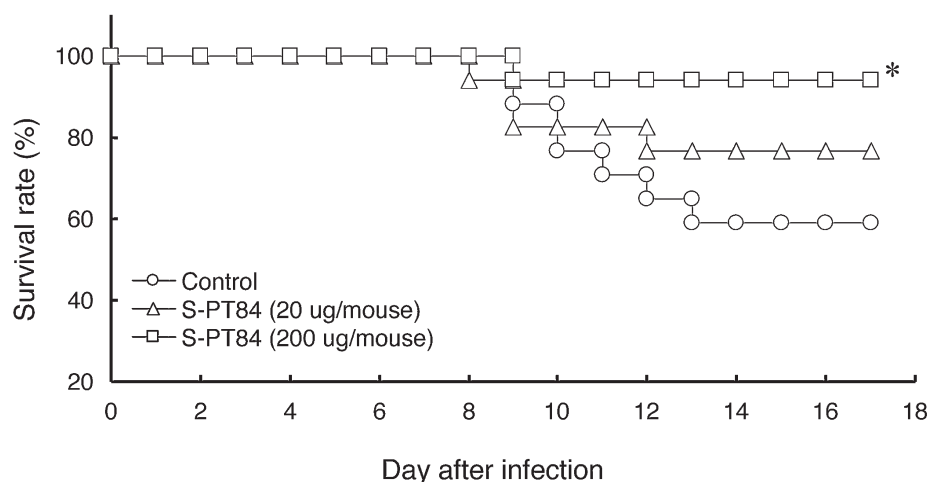
**Fig. 10** Cholera toxin (CT)-specific IgA in small intestine of BALB/c mice treated with S-PT84. BALB/c mice were fed an AIN-93M diet, AIN-93M diet containing 0.0075% or 0.075% S-PT84 for 4 weeks at libitum. Mice were treated orally with CT (10  $\mu$ g/mouse) twice in the experiment (1W and 3W). CT specific-IgA concentration in small intestine was determined by ELISA. Each group consists of 4 mice. \*\*Statistically significant difference between control group and S-PT84 group ( $P < 0.01$ ).

## 5. 気道粘膜免疫に対する S-PT84 株の効果

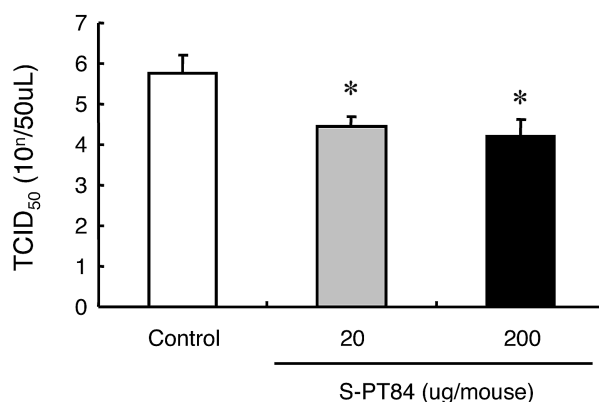
インフルエンザウイルスは毎年のように世界中で感染・流行が認められるウイルスであり、その対策が常に求められている。インフルエンザウイルスは気道粘膜を感染経路としており、感染防御を実現するためには粘膜免疫を高める必要がある。そこで、S-PT84 株の気道粘膜免疫に対する

作用およびインフルエンザウイルス感染防御作用を検討した。

はじめに、インフルエンザ感染マウスの生存率低下に対する S-PT84 株の効果を検討した。その結果、control 群の生存率が 58.8%であったのに対し、S-PT84 株 20  $\mu$ g/mouse 投与群では 76.5%、200  $\mu$ g/mouse 投与群では 94.1%の生存率となり、用量依存的な生存率の改善が認められた (Fig. 11)。イ



**Fig. 11** Survival rate of S-PT84-treated mice subjected to PR8 inoculation. BALB/c mice were pretreated intranasally with 20ug/mouse S-PT84 (triangle), 200ug/mouse S-PT84 (square), or PBS (circle) for 3 consecutive days before PR8 infection. The mice were subsequently infected with PR8. Survival of each animal was monitored every day. Each group consists of 17mice. \*Statistically significant difference between the control group and the 200ug/mouse S-PT84 group ( $P < 0.05$ ).



**Fig. 12** Titer of influenza virus in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) of mice subjected to PR8 infection. BALB/c mice were pretreated intranasally with 20 ug/mouse S-PT84 (gray column), 200ug/mouse S-PT84 (closed column), or PBS (open column) for 3 days before PR8 infection. The mice were subsequently infected with PR8. BALF were collected at Day 7 (the time when infected animals begin to die). BALF sample were used to quantify the virus titer by TCID<sub>50</sub>. Each group consists of 11-12 mice. \*Statistically significant difference between control group and S-PT84 group ( $P < 0.05$ ).

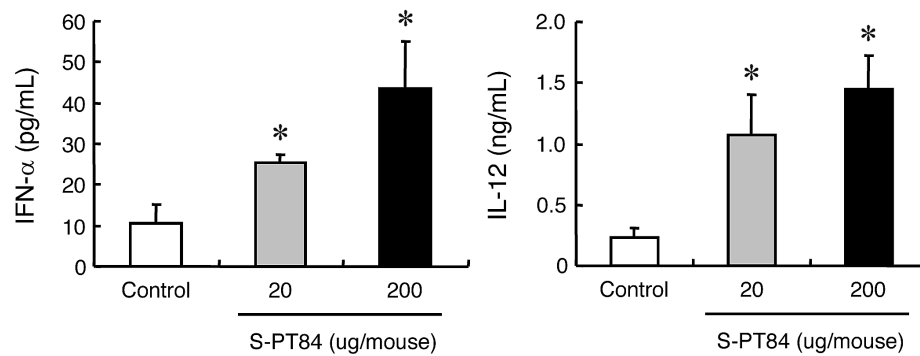
ンフルエンザ感染マウスは8日目から死亡し始めたが (Fig. 11), その直前の感染7日後に各群の肺洗浄液中ウイルス量を測定した。その結果, control群に比較して, S-PT84株投与群では用量依存的かつ有意に肺中ウイルス量が減少していた (Fig. 12)。これらの結果から, S-PT84株投与によってインフルエンザウイルスの肺での増殖が抑制され, マウスの生存率が改善したことが示唆された。次に, インフルエンザ感染防御において重要なサイトカインである IFN- $\alpha$  および IL-12 の産生, およびウイルス感染細胞を殺傷・除去する肺の NK 活性を測定した。その結果, 両サイトカイ

ンとも S-PT84 株用量依存的に増加し (Fig. 13), また NK 活性も同様に増加していた (Fig. 14)。これらの結果から, S-PT84 株は気道粘膜免疫を活性化し, ウイルス増殖を抑制することでインフルエンザ感染防御作用を示すことが示唆された。

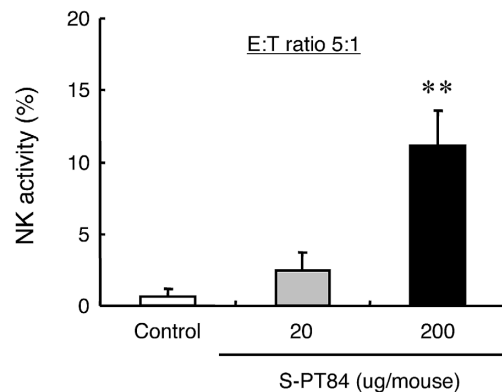
## 6. 健常者の免疫機能に対する S-PT84 株の効果

S-PT84 株を摂取した際のヒト免疫機能に与える効果を検討する目的でヒト試験を実施した。本試験はサントリーホールディングス株式会





**Fig. 13** IFN- $\alpha$  and IL-12 concentration in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) in the PR8 infection model. BALB/c mice were pretreated intranasally with 20ug/mouse S-PT84 (gray column), 200ug/mouse S-PT84 (closed column), or PBS (open column) for 3 days before PR8 infection. The mice were subsequently infected with PR8. BALF were collected at Day 7 (the time when infected animals begin to die). BALF samples were used for quantifying cytokines by ELISA. Each group consists of 5-6 mice. \*Statistically significant difference between control group and S-PT84 group ( $P < 0.05$ ).



**Fig. 14** NK activity in the lungs of S-PT84-treated mice subjected to PR8 inoculation. BALB/c mice were pretreated intranasally with 20ug/mouse S-PT84 (gray column), 200ug/mouse S-PT84 (closed column), or PBS (open column) for 3 consecutive days before PR8 infection. The mice were subsequently infected with PR8. The mouse lungs were taken at Day 7 (the time when infected animals begin to die), and lymphocytes were isolated. Lung lymphocytes were used for quantifying NK activity by PINK methods. Each group consisted of 9 mice. \*Statistically significant difference between the control group and the 200ug/mouse S-PT84 group ( $P < 0.01$ ).

社「健常者を対象とする試験審査委員会規定」に則って、試験審査委員会を実施し、試験実施承認を得た。また、ヘルシンキ宣言の精神を遵守して実施した。被験者には試験の目的・内容および方法などについて十分説明を行い、文書による同意を得て本試験を実施した。被験者はサントリーホールディングス株式会社に勤務する男女健常者(30~60歳)45名を対象とした。除外基準としては、末梢血PBMCのNK活性が30%以上の方、高度の炎症を有する方、自己免疫疾患の方、妊娠中、授乳中の方および試験開始前の問診により試験責任医師が不適当と判断した方とした。

試験は、プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験として実施した。被験食品にはS-PT84株(死

菌体)  $0.5 \times 10^9$  個(5億個)、 $1.5 \times 10^9$  個(15億個)または  $4.5 \times 10^9$  個(45億個)を含む錠剤、対照食品にはデンプンを含む錠剤を用いた。外観、性状はいずれも識別がつかない食品を用いた。試験食品は1日1回、朝食後から夕食前の間に前述の錠剤を1錠、28日間連続摂取させた。ただし、測定日に関しては、採血の1時間以上前に摂取させた。

今回、45名の健常者の同意を得たが、同意撤回2名、試験期間中インフルエンザワクチン接種1名、試験期間中血球異常値が持続した1名、NK活性が30%以上の方6名発生したため、試験の解析対象となったのは35名であった。解析対象の被験者背景をTable 1に示した。免疫機能の

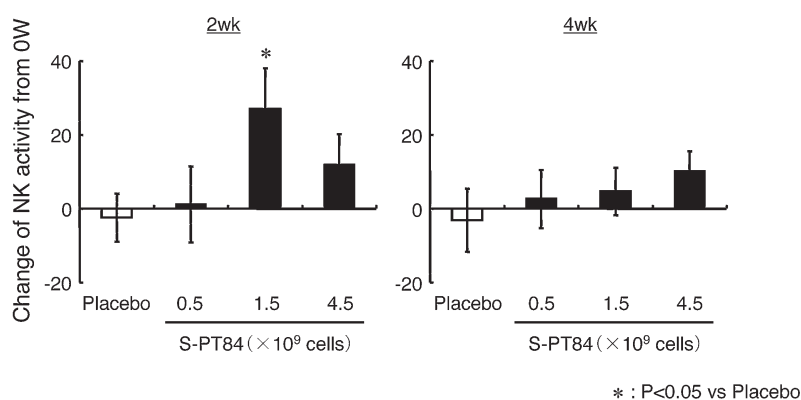
**Table 1.** Background data of volunteers in this study

		Placebo	$0.5 \times 10^9$ cells	$1.5 \times 10^9$ cells	$4.5 \times 10^9$ cells
n		9	8	8	10
M/F		6/3	6/2	5/3	6/4
Age	(y)	$43.2 \pm 3.0$	$41.9 \pm 3.0$	$45.4 \pm 3.8$	$42.0 \pm 2.7$
NK activity (E:T 10:1)	(%)	$16.5 \pm 3.1$	$17.0 \pm 2.7$	$16.0 \pm 2.7$	$15.2 \pm 2.6$

Values of age and NK activity are means  $\pm$  S.D.

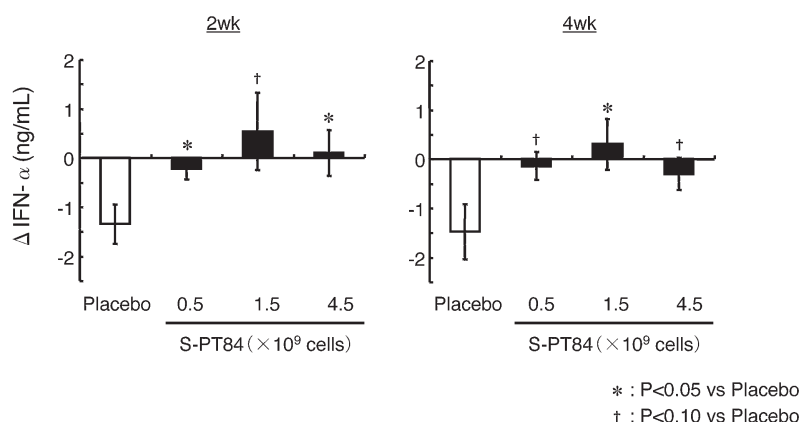
指標として末梢血単核球 (PBMC) の NK 活性および *in vitro* でセンダイウイルス (HVJ) を感染させた後の PBMC からの IFN- $\alpha$  産生量を用いた。NK 活性の結果を Fig. 15 に、IFN- $\alpha$  産生量の結果を Fig. 16 に示した。S-PT84 株 15 億個摂取群で

摂取 2 週目において有意な NK 活性の増加が認められた。摂取 4 週目は有意ではないものの摂取菌数依存的な NK 活性を示した。また、すべての S-PT84 株摂取群は摂取 2 週目あるいは 4 週目で、IFN- $\alpha$  産生の有意な増加を示した。最後に、本試



**Fig. 15** Effect of S-PT84 intake on NK activity of PBMC NK activities in PBMC were measured before, 2 weeks after and 4 weeks after intake of tablets containing S-PT84 or placebo.

\*Statistically significant difference between the placebo group and  $1.5 \times 10^9$  cells S-PT84 group ( $P < 0.05$ ).



**Fig. 16** Effect of S-PT84 intake on IFN- $\alpha$  production from PBMC.

IFN- $\alpha$  production from PBMC was measured before, 2 weeks after and 4 weeks after intake of tablets containing S-PT84 or placebo.

\*Statistically significant difference between the placebo group and S-PT84 group ( $P < 0.05$ ).

験では血液生化学検査, 血液一般および血球分類検査を行ったが, プラセボ群と S-PT84 株で統計学的に有意な差は認められず, 本乳酸菌の4週間摂取において安全性に問題はないことが確認された。以上の結果から, S-PT84 株を継続摂取することにより, ヒト免疫機能が維持・増強されることが示唆された。

## 7. 結語

乳酸菌 *Lactobacillus pentosus* S-PT84 株の免疫調節作用について, 活性成分および作用メカニズムの検討を行った。S-PT84 株の Th1 免疫誘導作用には構造の維持された細胞壁が重要であることが示唆された。またマクロファージからの Th1 免疫誘導メカニズムとして, 主に TLR2 および 4 によるシグナル伝達が重要であることが明らかとなった。

次に S-PT84 株投与による (1) 腸管免疫系, および (2) 気道粘膜免疫の変化についてマウスを用いて検討を行った。その結果, (1) 腸管においては IL-5, IL-6 などの IgA 誘導性サイトカインの産生亢進が認められ, 総 IgA 産生が高まるとともに, サルモネラ, コレラ毒素などの抗原に対する特異的な IgA 産生誘導も高まることが, (2) 呼吸器においては感染局所における自然免疫および抗ウイルスサイトカイン産生を介して感染防御効果を示すことが明らかとなった。これらの結果から, S-PT84 株を日常的に摂取することで, 感染に対するリスクを低減できる可能性が示唆された。

最後に, ヒトにおける S-PT84 株摂取の有用性について検討を行った。S-PT84 株を 5, 15 または 45 億個を4週間摂取することで, プラセボ摂取群に比較して抗ウイルス性サイトカインである IFN- $\alpha$  産生が有意に高まることが明らかとなった。また自然免疫である NK 活性も, プラセボ摂取群に比較して 15 億個摂取群で有意に高まることが明らかとなった。以上の結果から, S-PT84 株はヒトにおいても免疫機能を高めることが明らかとなった。

現代人は, 生活習慣の乱れや運動不足, 環境の変化に伴って免疫機能に影響が出始めていると考えられる。また, ボーダレスの国際交流が進む中, SARS や新型インフルエンザ等の新興感染症の脅威にも晒されるようになった。このような背景から, 免疫機能を適正に維持・管理し, 感染に対して防御策をとることは非常に重要な課題であると考えられる。食品, 特に乳酸菌によって日々の免疫機能, ひいては健康を維持できれば非常に有用であると考えられるため, 本乳酸菌を用いた機能性食品開発に邁進していきたい。

## 謝辞

終始御親切な御指導と御助言を賜りました, 大阪薬科大学 生体防御学研究室 天野富美夫教授に慎んで感謝の意を表します。また本研究の遂行にあたり, 多大なる御尽力を賜りましたサントリール ウエルネス株式会社 健康科学研究所の皆様へ, 心より御礼申し上げます。

## ※脚注

*Lactobacillus pentosus* は, 細胞壁構成アミノ酸として L-アラニン, D-グルタミン酸, L-ジアミノピメリン酸, D-アラニンを有するが, ジアミノピメリン酸は他の細胞画分にはほとんど含まれておらず, 細胞壁に特異的な成分であるため, その量から細胞壁の全体量を推測することが可能である

## REFERENCES

- 1) Tokunaga T., *Nihon Yakurigaku Zasshi.*, **110**, 17-22 (1997)
- 2) Okade S., Abstract of papers, The 2nd Asia Conference of Lactic Acid Bacteria, Taipei, 14-15<sup>th</sup> November 2003. (<http://www.afslab.net/archive/files/File/ACLAB-2/Program/Keynote1.pdf>)
- 3) Doßmann U., Vogel F., Hammes., *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **46**, 334-339 (1996)
- 4) Lopez A., Quintana D., Fernandez G., *J. Appl. Microbiol.*, **101**, 913-926 (2006)
- 5) Sanchez J., Martinez B., Guillen R., Diaz R., Rodriguez A., *Appl. Environ. Microbiol.*, **72**,

- 7495-7502 (2006)
- 6) Yasui H., Shida K., Matsuzaki T., Yokokura T.,  
Antonie Van Leeuwenhoek, **76**, 383-389 (1999)
- 7) Rosenfeldt V., Benfeldt E., Nielsen S., Michaelsen  
K., Jeppesen D., Valerius N., Paerregaard A., J.  
Allergy Clin. Immunol., **111**, 389-395 (2003)
- 8) Peng S., Lin J., Lin M., J. Agric. Food Chem., **55**,  
5092-5096 (2007)
- 9) Wells M., Loonen M., Karczewski M., Int. J. Med.  
Microbiol., **300**, 41-48 (2010).
- 10) Diego J., Gerold G., Zychlinsky A., Ernst. Scher-  
ing Found Symp. Proc., **3**, 83-95 (2007).
- 11) Weiss G., Rasmussen S., Zeuthen L., Nielsen N.,  
Jarmer H., Jespersen L., Frokier H., Immunology,  
**131**, 268-281 (2010).
- 12) Karlsson H., Larsson P., Wold E., Rudin A., Infect.  
Immun., **72**, 2671-2678 (2004).
- 13) Ichikawa S., Fumi R., Fujiwara D., Komiyama  
Y., Kaisho T., Sakaguchi M., Konishi Y., Biosci.  
Biotechnol. Biochem., **71**, 3026-3032 (2007).
- 14) Izumo T., Ida M., Maekawa T., Furukawa Y.,  
Kitagawa Y., Kiso Y., J. Health Sci., **57**, 304-310  
(2011)
- 15) Nonaka Y., Izumo T., Izumi F., Maekawa T.,  
Shibata H., Nakano A., Kishi A., Akatani K., Kiso  
Y., Int. Arch. Allergy Immunol., **145**, 249-257  
(2008).