

ヒト腸内細菌叢に対する野菜抽出酵素液 (F & E) 摂取の影響

長島浩二, 福士宗光*, 本橋智枝子*, 八十川大輔, 神林 勲**,
日下部未来***, 橋本重子****, 武田秀勝*****

Effects of ingestion of a vegetable-extracted enzyme on intestinal bacterial flora in humans

Koji Nagashima, Munemitsu Fukushi, Chieko Motohashi, Daisuke Yasokawa,
Isao Kanbayashi, Mirai Kusakabe, Shigeko Hashimoto and Hidekatsu Takeda

The effects of F&E, an enzymatic liquid vegetable extract, on intestinal bacterial flora in humans were investigated using an intestinal bacterial flora analysis technique we developed (new terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP)), and the extract's health benefits were examined. Twenty-two subjects (17 men and 5 women, aged 19 to 24) took 100 ml of F&E daily for 2 weeks. Fecal samples were collected from the subjects before the experiment, on the 7th and 14th days (during the experiment), and on the 21st day (after the experiment).

(1) T-RFLP analysis found 24 operational taxonomic units (OTUs) overall. The proportions of OTUs varied among the subjects.

(2) There was no OTU for which all subjects showed an increase or a decrease after taking F&E enzyme. Each OTU increased for some subjects, decreased for others and remained largely unchanged for the rest.

(3) The proportion of subject who showed an increase, decrease or no change in OTU124 (*Bifidobacterium*) did not differ from that for all other OTUs; however, when subjects who ate yogurt or oligosaccharide products daily were eliminated, significant differences were observed in that proportion between OTU124 and some other OTUs.

(4) In many the subjects in which OTU124 increased, *Clostridium* OTUs tended to decrease (notably, OTU749 of cluster IV).

F&E enzyme ingestion was expected to improve intestinal conditions.

近年, 食の洋風化に伴って食事内容が畜肉中心になるなど栄養の偏りが見られるようになり, これが肥満, 糖尿病, 高血圧, 高脂血症などの生活習慣病やアレルギーの一因となっている可能性が指摘されている。このことから, バランスの良い食事を摂ることが健康を維持し, 病気の予防にとって重要であるということが広く認識さ

れるようになってきており, 現代人に不足しがちな野菜成分を補給するための製品など, 各種のサプリメント製品が市販されている。

腸内細菌はビタミン合成, 感染防御, 発ガン物質の分解・合成, 免疫制御など宿主の健康に深く係わると共に, 食餌や薬剤, ストレスなどによって影響を受けることが

*株式会社ケルプ研究所 (〒002-8081 札幌市北区百合が原 10-8-1)

**北海道教育大学岩見沢校 (〒068-8642 岩見沢市緑が丘 2-34-1)

***北海道教育大学大学院 (〒002-8502 札幌市北区あいの里 5 条 3 丁目 1-9)

****札幌医科大学 (〒060-8556 札幌市中央区南 1 条西 17 丁目)

事業名: 受託研究

課題名: 野菜抽出酵素液の摂取がヒトの腸内細菌叢に与える影響

知られているが¹⁾、食生活の変化に伴って異常となった腸内細菌叢を介して先に述べた疾患が発症している可能性が考えられる。

(株)ケルブ研究所製の野菜抽出酵素液 (F & E) は、葉菜類、花菜類、果菜類、根菜類、柑橘類、果実類、海藻類などの自然植物原料から高濃度のショ糖により成分を抽出し、その後長時間かけて自然発酵させた植物エキス飲料であり、肝機能障害改善効果を示唆する臨床データが得られている²⁾。また F & E 酵素液は、便秘を改善したり²⁾、ビフィズス菌を増加させる可能性が示されている。そこで本研究では、22 名の健康な若年者 (20 歳前後) に F & E 酵素液を摂取して貰い、腸内細菌叢への影響及び整腸効果を調べ、その健康機能性について検討した。

実験方法

1. 酵素液摂取試験

被験者数は健康な成人男性 17 名および女性 5 名の計 22 名で、その年齢は 19 から 24 歳で平均 20.7 歳であった。これらの人に F & E 酵素液を 14 日間、一日当たり 100 ml 摂取してもらい、摂取前 (D_0)、摂取開始 7 日後 (D_7)、14 日後 (D_{14}) および摂取中止 21 日後 (D_{35}) に、内容物を GTC 溶液 (100 mM Tris-HCl[pH 9.0], 40 mM EDTA[pH 8.0], 4 M グアニジンチオシアン酸塩) に置換した市販の採便容器 (日本ベクトン・ディッキンソン株式会社) を用いて採便した。採取した糞便サンプルは室温で当センターに運搬後、DNA 抽出がなされるまで -20°C で保管された。また、試験期間中、糞便の状態や健康状態についてのアンケートを実施した。

本摂取試験はヘルシンキ宣言に則り、試験の目的および内容を被験者に説明の上、同意を得て実施された。

2. 糞便 DNA の抽出と PCR-TRFLP

DNA の抽出および PCR-TRFLP は Nagashima らの報告³⁾に従って行った。以下にその方法を簡潔に述べる。糞便の GTC 懸濁液約 1 ml をジルコニウムビーズ入りのチューブ (和光純薬株式会社) に移し、ビートビーター (BioSpec Products, Oklahoma, USA) を用いて室温で 5000 rpm 3 分間振とうし、氷上に置いて冷却後、5000 rpm で 5 分間遠心した。上澄みの粗 DNA 液 0.5 ml に塩化ベンジル 0.3 ml, 10% SDS 溶液 0.1 ml を加え、激しく攪拌後、15,000 rpm, 10 分間遠心し、上澄み 0.5 ml を回収した。以降、イソプロピルアルコール沈殿により DNA を回収し、GFX PCR DNA Gel Band Purification Kit を用いて精製した。得られた DNA 溶液の 260, 280 および 320 nm における吸光度を測定し、

DNA 量を算出した。この DNA を用いて PCR-TRFLP 法により腸内細菌叢の解析を行った。PCR-TRFLP 反応は重複して行い、それらの平均を算出した。当該酵素液摂取前後に伴う腸内細菌の便宜的分類単位 (OTU) の増減の程度は、 $((D_7+D_{14}) / (D_0+D_{35})) - 1$ の式に従って計算した。

結果および考察

従来、T-RFLP や DGGE のような分子手法による糞便細菌叢解析においては、採取された糞便は極短期的には冷蔵で、長期的には冷凍で保存され、DNA 抽出に供されてきた。しかし、ヒト介入試験のような場合、家庭から試験室までの間、冷蔵あるいは冷凍で保管・運搬することは困難である。そこで、今回の試験では強力な蛋白質変性剤であるグアニジウムチオシアン酸塩 (4 M) を含む緩衝液に、糞便採取後直ちに懸濁できるように考案した。これにより、糞便回収作業の労苦は従来に比べて格段に減少した。

今回の試験では、採取した糞便からの抽出 DNA 量は、0.2 ~ 5.7 μg の範囲であった。これは人によって便の状態が違うことによるところが大きいが、この量でも十分に PCR-TRFLP 解析は可能であった。

T-RFLP 解析においては、菌叢は便宜的分類単位 (以降 OTU と略記。菌の種類に相当する) の相対量として表わされる。我々は今までにヒト腸内細菌叢において 26 の OTU を見出しているが、この内の 24 OTU は概ね表 1 に示すような既知の系統グループに対応させることが

表 1 OTU と細菌系統グループの対応関係

OTU	細菌系統グループ
106	<i>Clostridium</i> subcluster XIVa
110	<i>Clostridium</i> cluster IX, <i>Megamonas</i>
124	<i>Bifidobacterium</i>
145	対応する菌属が未定。
168	<i>Clostridium</i> cluster IV
317	<i>Prevotella</i>
332	<i>Lactobacillales</i>
338	<i>Clostridium</i> cluster XI
370	<i>Bacteroides</i>
423	<i>Clostridium</i> cluster IV
469	<i>Clostridium</i> cluster XVIII
494	<i>Bacteroides</i>
505	<i>Clostridium</i> subcluster XIVa
517	<i>Clostridium</i> subcluster XIVa
520	<i>Clostridium</i> subcluster XIVa
520	<i>Lactobacillales</i>
650	<i>Clostridium</i> cluster XVIII
657	<i>Lactobacillales</i>
749	<i>Clostridium</i> cluster IV
754	<i>Clostridium</i> subcluster XIVa
853	<i>Bacteroides</i>
919	<i>Clostridium</i> clusters XI, subcluster XIVa
940	<i>Clostridium</i> subcluster XIVa
940	<i>Enterobacteriales</i>
955	<i>Clostridium</i> subcluster XIVa
990	<i>Clostridium</i> subcluster XIVa

できる⁴⁾。本研究においては、全体として24のOTU 様々であった。これらOTUの主要なものについて、F
が検出されたが、それぞれのOTUの割合は被験者間で & E 酵素液摂取試験の間 (D₀, D₇, D₁₄, D₃₅) の動態を

表2 F & E 酵素液摂取試験中の主要OTUの動態

OTU	採集日	被験者	ピーク面積 (%)										
			A	B	C	D	E	G	H	I	J	K	L
124	D0		2.15	40.42	17.67	23.80	7.70	27.37	4.27	3.89	3.54	507	14.94
	D7		6.66	13.55	34.05	13.01	0.70	36.13	5.78	29.04	10.26	5.56	21.48
	D14		4.62	19.75	31.06	7.00	2.30	23.71	4.65	29.95	15.76	3.11	14.11
	D35		3.83	8.53	18.45	28.86	1.06	38.67	3.41	23.82	14.80	3.42	12.69
370	D0		3.02	0.79	0.34	0.00	0.40	0.61	0.94	0.00	2.36	0.00	0.00
	D7		2.24	0.00	4.07	1.59	0.00	1.76	7.08	0.00	11.93	0.00	0.58
	D14		0.00	1.12	2.74	0.00	0.00	1.73	8.41	0.00	5.16	0.00	0.00
	D35		0.87	0.32	1.59	0.58	0.00	2.03	2.92	0.00	0.84	0.00	0.00
469	D0		15.92	9.29	11.21	3.42	16.06	11.68	9.71	6.14	2.59	6.90	20.18
	D7		19.11	12.07	8.15	7.95	18.67	11.96	9.23	3.92	6.26	3.61	10.10
	D14		12.16	16.79	13.35	13.56	14.70	18.88	11.52	3.88	10.22	1.37	13.73
	D35		14.73	5.27	11.63	13.75	11.94	6.27	8.87	7.27	12.52	6.18	15.84
494	D0		5.93	7.03	2.32	8.86	4.03	11.29	9.71	9.19	8.89	3.28	9.22
	D7		4.24	4.94	4.82	9.22	6.45	8.31	12.88	4.04	6.81	3.72	8.50
	D14		4.86	6.38	3.13	5.64	5.44	8.79	10.95	5.45	7.36	0.00	6.80
	D35		5.85	13.56	3.37	6.94	5.24	10.60	10.27	4.02	5.90	5.08	5.89
749	D0		14.53	1.50	13.97	4.36	21.74	4.64	10.76	3.77	6.24	22.98	11.35
	D7		12.07	12.73	7.91	5.09	24.79	2.82	14.07	0.90	3.86	16.27	12.18
	D14		10.31	3.20	6.30	3.29	36.42	4.67	13.45	5.59	8.28	20.07	14.33
	D35		14.21	7.40	15.26	1.27	24.30	5.73	8.59	3.90	6.68	20.07	16.47
754	D0		6.12	3.80	4.78	5.21	4.29	8.38	5.01	12.29	11.27	0.00	6.10
	D7		3.03	4.79	4.08	5.58	8.28	4.48	3.10	9.26	4.03	7.16	5.87
	D14		3.18	9.89	6.74	2.80	5.17	3.97	4.11	5.31	4.35	3.54	5.92
	D35		3.89	6.02	2.79	6.45	2.74	6.03	3.64	4.09	3.83	0.00	5.13
919	D0		3.31	9.65	9.81	5.28	5.16	7.50	3.24	4.03	3.66	4.25	5.53
	D7		4.25	6.77	7.98	5.63	1.34	7.84	3.54	6.82	6.10	4.79	5.04
	D14		2.26	8.56	7.52	0.89	3.03	5.31	3.60	8.66	7.92	1.66	4.71
	D35		2.21	5.82	7.18	4.85	3.63	8.37	1.96	7.68	9.26	1.60	6.62
940	D0		6.87	0.00	8.87	21.01	10.22	2.84	6.13	8.17	15.00	4.61	5.40
	D7		7.54	15.76	6.72	19.33	12.46	1.88	3.15	8.19	13.21	8.14	7.54
	D14		4.40	3.87	4.70	16.39	11.55	3.23	4.41	4.02	7.10	6.46	6.16
	D35		11.06	9.44	11.02	13.85	15.56	1.56	5.73	8.73	6.60	10.32	6.07
955	D0		9.31	10.70	8.86	21.73	8.51	12.58	15.46	23.34	27.90	14.35	12.92
	D7		9.33	9.81	11.94	17.70	9.37	13.19	12.94	10.24	14.18	11.19	17.41
	D14		7.40	11.90	12.77	9.51	8.50	15.11	10.40	12.05	11.66	11.44	18.31
	D35		11.45	16.78	9.93	18.54	10.87	9.88	18.80	10.29	9.06	20.76	15.11
990	D0		26.47	8.74	9.87	2.59	12.65	8.33	18.45	12.33	17.74	32.54	9.25
	D7		24.55	13.23	6.25	7.55	10.24	7.04	14.65	3.89	19.94	35.04	8.21
	D14		47.08	14.38	8.37	26.60	11.53	8.81	18.61	5.56	18.60	48.48	15.31
	D35		30.54	16.00	10.91	4.84	16.66	6.30	22.64	7.38	16.22	30.68	14.22

表2 つづき

OTU	採集日	被験者	ピーク面積 (%)										
			M	Q	R	S	T	V	W	X	Y	Z	a
124	D0		9.89	16.70	16.91	9.88	10.60	6.63	16.39	34.82	4.43	32.30	33.84
	D7		4.93	11.72	27.10	36.03	5.22	11.91	20.92	19.61	10.57	23.74	25.46
	D14		6.70	22.58	20.02	8.31	16.50	18.93	14.12	20.18	13.28	14.60	26.77
	D35		20.51	8.24	15.18	13.18	4.76	11.38	15.12	20.99	18.95	21.68	11.07
370	D0		0.00	1.75	0.00	0.00	0.00	5.69	1.64	0.00	7.09	2.65	2.93
	D7		0.00	0.00	2.79	2.57	0.00	5.51	1.80	0.00	6.22	2.47	6.16
	D14		0.00	3.66	1.07	0.00	2.71	0.00	2.39	6.16	6.15	0.00	7.52
	D35		0.70	0.68	7.58	0.00	0.42	13.11	0.84	1.39	7.17	0.80	1.83
469	D0		8.68	6.30	12.31	12.13	13.95	2.97	15.07	17.20	12.52	12.01	4.48
	D7		11.86	7.75	6.39	9.89	15.48	3.65	6.18	15.51	9.57	5.14	5.20
	D14		10.37	4.90	7.53	13.68	118.25	25.85	2.91	6.65	3.32	4.99	5.26
	D35		4.39	14.30	8.70	15.91	17.98	9.05	9.36	8.38	11.22	13.77	9.61
494	D0		4.30	6.41	4.33	4.91	13.84	14.58	6.73	6.22	7.23	3.91	4.25
	D7		6.50	6.76	3.88	3.00	10.02	11.15	7.66	18.84	7.71	4.69	3.64
	D14		4.40	3.18	2.07	4.48	6.43	9.51	9.35	6.15	10.87	5.02	1.36
	D35		2.87	3.49	0.00	3.19	7.65	8.19	6.91	10.01	5.47	3.07	0.00
749	D0		6.51	16.22	16.05	31.67	9.16	10.50	10.10	5.95	18.69	8.39	10.33
	D7		1.10	6.74	9.71	13.70	9.81	9.55	17.53	13.04	19.73	17.94	13.34
	D14		1.37	4.92	5.95	119.01	7.74	6.03	13.29	13.20	10.71	17.46	5.83
	D35		1.76	15.90	10.18	21.20	13.52	8.56	6.84	13.61	14.33	17.00	17.17
754	D0		5.78	4.43	2.82	0.00	6.77	6.99	3.38	2.76	5.16	0.93	2.62
	D7		4.20	4.57	4.58	1.86	5.57	6.44	5.49	7.56	3.10	2.09	3.30
	D14		4.11	1.31	6.29	5.00	5.73	3.99	4.83	9.95	1.94	2.54	0.59
	D35		3.82	2.77	2.26	1.40	5.01	3.42	6.39	3.48	5.31	2.12	5.35
919	D0		4.54	6.43	6.94	4.24	5.59	4.38	9.31	9.33	4.60	9.40	6.94
	D7		3.15	7.45	7.05	8.36	3.08	3.69	7.08	5.12	4.04	8.82	5.69
	D14		3.42	8.91	8.38	4.53	4.20	6.14	5.76	7.01	5.02	7.67	6.51
	D35		7.60	8.00	10.87	5.23	3.59	3.58	9.17	7.30	7.91	8.09	6.54
940	D0		25.61	15.12	9.22	7.22	7.71	11.50	6.26	2.83	9.11	3.73	4.76
	D7		23.85	18.49	10.52	4.36	7.22	9.03	5.75	0.00	9.38	8.50	4.10
	D14		25.74	18.47	10.39	11.04	7.14	1.94	12.05	9.30	9.72	8.47	4.06
	D35		15.08	10.80	11.86	7.91	8.24	6.06	7.88	2.65	9.17	5.48	6.04
955	D0		18.95	10.18	7.27	10.42	23.07	27.13	7.76	3.54	11.51	4.38	7.15
	D7		20.91	15.96	7.36	6.22	23.36	30.09	7.68	6.15	14.83	6.19	4.69
	D14		28.72	15.58	6.56	15.67	16.03	6.36	11.14	9.21	24.02	9.76	7.90
	D35		11.06	16.53	9.12	14.92	22.56	23.91	13.71	9.12	9.44	9.89	14.70
990	D0		8.65	13.01	19.86	16.57	8.88	8.90	15.02	12.33	17.34	18.02	16.84
	D7		12.31	16.78	12.42	7.10	19.40	7.40	15.12	10.94	12.59	19.36	11.00
	D14		12.59	12.44	23.43	18.27	13.14	13.61	15.88	14.42	8.70	27.55	16.39
	D35		10.34	18.56	19.86	16.21	16.28	7.35	18.47	13.60	11.24	16.16	23.73

表3 F & E 酵素液摂取による各OTU割合の変化

OTU	被験者	A	B	C	D	E	G	H	I	J	K	L	M	Q	R	S	T	V	W	X	Y	Z	<i>a</i>
	性別	男	男	男	男	男	男	男	男	男	男	男	男	男	男	男	男	男	女	女	女	女	女
124		0.89	-0.32	0.80	-0.62	-0.66	-0.09	0.36	1.13	0.42	0.02	0.29	-0.62	0.38	0.47	0.92	0.41	0.71	0.11	-0.29	0.02	-0.29	0.16
370		-0.42	0.00	2.53	1.75	-1.00	0.32	3.01	∞	4.34	∞	∞	-1.00	0.51	-0.49	∞	5.50	-0.71	0.69	3.43	-0.13	-0.28	1.87
469		0.02	0.98	-0.06	0.25	0.19	0.72	0.12	-0.42	0.09	-0.62	-0.34	0.70	-0.39	-0.34	-0.16	0.06	1.45	-0.63	-0.13	-0.46	-0.61	-0.26
494		-0.23	-0.45	0.40	-0.06	0.28	-0.22	0.19	-0.28	-0.04	-0.55	0.01	0.52	0.00	0.38	-0.08	-0.23	-0.09	.25	0.54	0.46	0.39	0.18
749		-0.22	0.79	-0.51	0.49	0.33	-0.28	0.42	-0.15	-0.06	-0.16	-0.05	-0.70	-0.65	-0.40	-0.38	-0.23	-0.18	0.82	0.34	-0.08	0.39	-0.30
754		-0.26	-0.21	-0.40	0.50	0.16	-0.15	-0.26	-0.24	-0.50	∞	0.05	-0.13	-0.18	1.14	3.89	-0.04	-0.10	0.45	-0.13	0.18	0.52	-0.22
919		0.18	-0.01	-0.09	-0.36	-0.50	-0.17	0.37	0.32	0.09	0.10	-0.20	-0.46	0.13	-0.13	0.36	-0.21	0.23	-0.31	-0.29	-0.28	-0.06	-0.09
940		-0.33	1.08	-0.43	0.02	-0.07	0.16	-0.36	-0.28	-0.06	-0.02	0.19	0.22	0.43	-0.01	0.02	-0.10	-0.38	0.26	0.70	0.05	0.84	-0.24
955		-0.19	-0.21	0.32	-0.32	-0.08	0.26	-0.32	-0.34	-0.30	-0.36	0.27	0.65	0.18	-0.15	-0.14	-0.14	-0.29	-0.23	0.21	0.85	0.12	-0.42
990		0.26	0.12	-0.30	3.59	-0.26	0.08	-0.19	-0.52	0.13	0.32	0.00	0.31	-0.07	-0.10	-0.23	0.29	0.29	-0.07	-0.02	-0.25	0.37	-0.32

表2にまとめた。F & E 摂取によって全被験者で共通にその割合を増加あるいは減少させるような OTU は存在しなく、被験者によってその増減の反応はまちまちであった。例えばビフィズス菌に対応する OTU124 について見てみると、摂取に伴って増加し中止すると元に戻る者（典型的には被験者C）やその逆のパターンを示す者（典型的には被験者D）あるいはあまり変化のない者（典型的には被験者W）の3グループに大きく分けられた。別のOTUについても同様なグループ分けが可能であった。

F & E 酵素液摂取の腸内細菌叢に与える影響を評価するために、T-RFLP プロファイルの変化を定量的に解析することを試みた。すなわち、当該酵素摂取時 (D_7 , D_{14}) と非摂取時 (D_0 , D_{35}) の主要 OTU の相対量の差がどの程度であるかを、方法の項で示した計算式に基づいて算出した (表3)。値がプラスでは増加を、マイナスでは減少を示し、数値は非摂取時に対する増減分の割合を示している。ここで、便宜的に25%の増減で線引きをして、これ以上の増加を示した OTU を「増」に、同様に減少を示した OTU を「減」に、増減25%以内の OTU を「変化なし」として分類して、個々の被験者のそれぞれ OTU についてまとめると表4のようになる。いわゆる善玉菌と言われているビフィズス菌に対応する OTU124 は、11人の被験者においては非摂取時に比して25%以上の増加を示し、6人では25%以上の減少した。残りの5人の被験者では増減が25%以内であった。すなわち、22人中ちょうど5割の11人の被験者で当該酵素液摂取による OTU124 割合の増加が観察されたということである。しかし、この増減者数分布をバクテロイデス属菌やクロストリジウム属菌に対応する他の OTU (それぞれ、OTU469 および OTU494, 749, 754, 919, 940, 955, 990) のそれと比較した場合、有意差は見られなかった (表4左側カラム)。しかし、

OTU124 割合の増加を示さなかった被験者の多くが (11人中8人) 日常的にヨーグルトあるいはオリゴ糖製品といったプレ・プロバイオティクス製品を摂取していることから、これらの被験者を除外して各 OTU での増減者数分布を比較してみると (表4右側カラム) 12人中9人の被験者で OTU124 割合が増加しており、その分布は、OTU469, 749, 754, 919, 940, 990 のそれに比して有意となった ($P = 0.1$)。

F & E 酵素液中には合わせて40%強の果糖およびブドウ糖が含まれていることから、ビフィズス菌だけでなく全体的に細菌の増殖を促進したと考えられる。そのため、ヨーグルトあるいはオリゴ糖製品といったプレ・プロバイオティクス製品のビフィズス菌に対して優先的な増殖促進効果をキャンセルした可能性があり、これが日常的にヨーグルトあるいはオリゴ糖製品を摂取している被験者で OTU124 割合が減少した理由ではないかと推察した。

人参を始めとする野菜や果物にはビフィズス菌増殖因子が含まれていることが良く知られているが、F & E 酵素液中の当該因子については分析されていない。可能性

表4 F & E 摂取に伴う各OTU増減者数の分布

OTU	全体 (人)			ヨーグルト、オリゴ糖 非喫食者 (人)			P値* (対OTU124)
	増	減	変化なし	増	減	変化なし	
124	11	6	5	9	1	2	-
469	5	9	8	0	6	6	0.0052
494	8	3	11	4	1	7	0.255
749	6	7	9	2	3	7	0.071
754	5	4	13	1	4	7	0.024
919	3	6	13	2	0	10	0.082
940	5	5	12	2	4	6	0.074
955	5	7	10	3	4	5	0.132
990	7	5	10	2	4	6	0.074

*Fisher's exact testによる。

の高いものとして、人参から見出されたビフィズス因子であるパンテテイン類縁物質⁵⁾を挙げることができる。今後当該物質のF & E酵素液での測定が望まれる。

OTU124割合の増加を示した被験者では、クロストリジウム属に対応するOTU（特にクラスターIVグループに対応するOTU749）の割合が減少する傾向が観察され、整腸効果が期待された。しかし、糞便状態のアンケート調査結果とは必ずしも一致しなかったことから、効果が実感されるにはより長期間の摂取を必要とするのかもしれないと考えられた。

要 約

我々の開発した腸内細菌叢解析技術（新 T-RFLP 法）を用いて F & E 野菜抽出酵素液のヒト腸内細菌叢に与える影響を調べ、その健康機能性について検討した。24 人の被験者（19 から 24 歳の男性 17 名と女性 5 名）に一日 100 ml の F & E を 2 週間摂取して貰い、摂取前、摂取後 7 および 14 日目、摂取中止後 21 日目に糞便サンプルを回収した。

(1) T-RFLP 解析において、全体で 24 の腸内細菌の便宜的分類単位 (OTU) が検出されたが、それぞれの OTU の割合は被験者によって様々であった。

(2) F & E 酵素液摂取に伴って、全ての被験者で共通にその割合を増減させる OTU はなく、何れの OTU の場合でも、その割合が増加する被験者、減少する被験者、変化しない被験者の 3 グループに分けられた。

(3) ビフィズス菌に対応する OTU124 と他の OTU 間で、この増減者数分布を比較すると、全体では有意差はなかったが、日常的にヨーグルトやオリゴ糖製品を喫食している被験者を除外して比較した場合には有意差が見られ

た。

(4) OTU124 割合が増加した被験者の多くでクロストリジウム属菌に対応する OTU（特にクラスターIVグループに対応する OTU749）の割合が減少する傾向にあった。

以上の結果から、F & E 酵素液摂取により整腸効果が期待できると結論した。

文 献

- 1) 光岡知足, 腸内フローラの機能と機能性食品, 「腸内フローラと健康」, 第 1 版 (学会出版センター, 東京), pp. 143-179 (1998).
- 2) 梶本修身, 福士宗光, 平田 洋, 島田あかね, 第 1 回日本代替医療学会学術集会抄録集, p.61, 金沢 (1998).
- 3) Nagashima, K., Hisada, T., Sato, M. and Mochizuki, J., Application of New Primer-Enzyme Combinations to Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism Profiling of Bacterial Populations in Human Feces. *Applied Environ. Microbiol.*, 69, 1251-1262 (2003).
- 4) Nagashima, K., Mochizuki, J., Hisada, T., Suzuki, S. and Shimomura, K., Phylogenetic analysis of 16S rRNA gene sequences from human fecal microbiota and improved utility of T-RFLP profiling. *Bioscience and Microflora*, 25, 99-107 (2006).
- 5) Nakamura, H. and Tamura, Z., Growth responses of *Bifidobacterium bifidum* to S-sulfonic acid-type pantetheinic related compounds. *Jpn. J. Microbiol.*, 16, 239-242 (1972).