

審査結果の要旨

論文題目「肥満関連疾患の予防および改善に適した豆乳ヨーグルト
スターターの選抜と機能性解析」

学位申請者 中島 勇貴

本論文は、発酵豆乳（豆乳ヨーグルト）の肥満関連疾患の予防及び改善に関するものである。本論文で報告されている主な学術的成果は、過体重者および肥満者に適した豆乳ヨーグルトのスターター乳酸菌を *in vitro* にて選抜し、選抜した乳酸菌で作製した豆乳ヨーグルトの抗炎症能および認知向上効果を *in vivo* にて見出し、そのメカニズムの一端を明らかにしたことである。

近年世界的に増加している肥満者では、様々な臓器における慢性炎症や糖尿病の発症、脳内の炎症による認知機能の低下等が指摘されているが、糖尿病や認知症など肥満に関連した疾患の治療法は未だ限定的であり、日常の食事による予防・改善が重要である。一方、乳酸菌を用いて豆乳を発酵させた発酵豆乳（豆乳ヨーグルト）は、低 GI 食品として知られており、肥満者に適した食品として近年注目されているが、発酵乳と比べると健康機能に関する報告は限られている。以上のような背景から、申請者は、肥満とその関連疾患に着目し、それらの予防および改善が期待できる豆乳ヨーグルトのスターター乳酸菌を選抜し、そのメカニズムを明らかにすることを目的としている。

本論文の構成は以下の通りである。第 1 章では、肥満関連疾患の予防を目的とした豆乳ヨーグルトスターター菌の選抜について、第 2 章では、豆乳ヨーグルトの経口投与が健常マウスの免疫系および腸内細菌叢に及ぼす影響について、第 3 章では、肥満モデルマウスにおける豆乳ヨーグルト摂食時の認知機能低下防止機能について、以下の通り述べられている。

1) 肥満関連疾患の予防を目的とした豆乳ヨーグルトスターター菌の選抜

本章では、肥満に関連して発症する糖尿病に着目し、その予防および改善が期待できる豆乳ヨーグルトのスターター乳酸菌株を *in vitro* にて選抜している。乳酸菌計 22 菌株を用いてそれぞれ豆乳ヨーグルトを作製し、糖類分解酵素活性阻害試験、DPP-IV 活性阻害試験および蛍光性 AGEs 生成阻害試験を行った結果、特に *Lactiplantibacillus plantarum* TOKAI 17 で作製した豆乳ヨーグルト（SY17）に、高い α -グルコシダーゼ阻害活性、DPP-IV 阻害活性、蛍光性 AGEs 生成阻害活性が見られたと報告している。また、SY17 と *Pediococcus pentosaceus* TOKAI 759m で作製した豆乳ヨーグルト（SY759m）の成分分析を行ったところ、SY17 ではダイゼインやゲニステインなどのアグリコン型イソフラボンの増加が確認され、SY 759m ではアグリコン型イソフラボンは SY17 よりも少ない一方で、アデニンや N1,N8-ジアセチルスペルミジンなどの他の代謝産物が増加していたことを明らかにしている。

2) 豆乳ヨーグルトの経口投与が健常マウスの免疫系および腸内細菌叢に及ぼす影響

肥満者では腸内細菌叢の破綻と慢性炎症が見られ、肥満関連疾患の発症や進行に影響することが指摘されているという背景から、本章では、SY17 と SY759m が生体に及ぼす影響を検証するために、健常マウスを用いて炎症パラメータおよび腸内細菌叢の比較を行っている。雄の *ddy* マウスを通常食（normal diet: ND）群、豆乳（soymilk: SM）群、SY17 群、SY759m 群およびそれぞれのスターター菌体（BC17 および BC759m）群の 6 群に分けて 3 週間飼育したところ、SY759m 群では、ND 群と比較して血清中の CCL-2 の低下と脾臓細胞のナチュラルキラー細胞障

害活性の抑制が見られたと報告している。さらに、盲腸細菌叢の解析では SY759m および BC17 群で短鎖脂肪酸産生菌の増加が見られたほか、ダイゼイン、ゲニステインおよびアデニンでリポポリサッカライド (LPS) 刺激マウスマクロファージの CCL-2 および IL-6 の産生抑制能が見られたと報告している。以上のように、SY759m に含まれる成分と腸内細菌叢の変化の両方が炎症の抑制に寄与している可能性を明らかにしている。

3) 豆乳ヨーグルトの摂食による肥満モデルマウスの脳内炎症抑制と認知機能改善の評価

肥満者では脳内においても慢性炎症が確認されており、認知症の発症における主要なリスク要因となっていることから、本章では、高脂肪食 (high-fat diet: HFD) 摂取肥満モデルマウスを用いて、第 2 章で抗炎症効果を示した SY759m の神経炎症抑制および認知機能改善効果を検証している。雄の C57BL/6NJcl マウスを 12 匹ずつ、(1) 通常食 (normal control diet: ND) 群、(2) HFD 群、(3) HFD+SM (SM 群)、(4) HFD+SY759m (SY 群)、(5) HFD+BC759m (BC 群) に分け、15 週間、自由摂取にて飼育を行っている。行動試験の結果、HFD 群と比較して SY 群では新規物体認識スコアが有意に高値を示し、海馬における IL-6 および TNF- α 量が HFD 群と比較して有意に低値であったと報告している。また、ダイゼイン、ゲニステイン、アデニンの添加で LPS 刺激ミクログリア細胞の TNF- α および IL-6 の産生抑制が見られたことから、これらの成分が脳内炎症の抑制に寄与する可能性を見出している。また、海馬のプロテオーム解析により、タンパク質間ネットワークを比較したところ、HFD 群と比較して SY 群で (1) シナプス、(2) 解糖系、(3) ATP 産生に関連するタンパク質が多く検出されたことを報告している。さらに、糞便解析を行ったところ、*Clostridium* 属や *Akkermansia* 属などの酪酸産生菌の割合が HFD 群と比べて SY 群で高いことを明らかにしている。さらに、糞便より回収した細胞外小胞 (fEVs) のエンドトキシン量を測定したところ、HFD 群と比較して SY 群で低く、ミクログリア細胞への添加試験では、SY 群で IL-6 の有意な低下が確認されたと報告している。以上の結果から、申請者は、SY759m の摂取が、肥満モデルマウスの腸内細菌叢を改善し、神経炎症を抑制することで、認知機能低下を抑制する可能性がある」と結論付けている。

本研究は、豆乳ヨーグルトが抗炎症能や認知機能向上機能を有している可能性を示しており、特に肥満モデルマウスにおける豆乳ヨーグルト摂取による認知機能低下の軽減効果の報告例はこれまでになく、学術的に価値が高いと評価できる。

以上の結果、本論文は学位論文として十分な内容を有するものと審査委員全員の一致で判定された。

したがって、学位申請者 中島 勇貴 氏は東海大学博士 (農学) の学位を授与されるに値すると判断した。

論文審査委員

主査	博士 (環境共生学)	平野 将司	農学部准教授	(生物科学研究科生物科学専攻)
委員	博士 (医学)	秦野 伸二	医学部教授	(医学研究科先端医科学専攻)
委員	Ph. D	今川 和彦	総合農学研究所教授	(生物科学研究科生物科学専攻)
委員	博士 (農学)	安田 伸	農学部教授	(生物科学研究科生物科学専攻)
委員	博士 (農学)	木下 英樹	農学部准教授	(生物科学研究科生物科学専攻)