

発酵乳ならびに乳酸菌の抗変異原性機能

細 野 明 義*

(Akiyoshi Hosono)

1. はじめに

近年、多種多様の食品汚染物質や環境汚染物質が人体や生活環境を悪化させ、深刻な問題を提起している。特に、食物由来の変異原性物質や癌原性物質は人体に対して癌を惹起させる恐れのあることから、食物の安全性の面から大きな関心が寄せられている。そのため、そうした毒性を緩和させる機能をもった食品（あるいは食成分）や微生物を日常的に摂取することは、癌予防や初期段階の癌の病状を改善させる上で有効な手段と考えられる¹²⁾。

一方、腸内細菌について医学、獣医学の領域で多くの研究がなされた結果、ヒトや動物の健康維持の上で腸内細菌が重要な役割を果たしていることが判明し、周知されるようになってきた。優れた整腸作用をもつことで知られる乳酸菌は毒素生産性の腸内細菌の増殖を抑制することから宿主の腸内菌叢の良好なバランスの維持に貢献している。例えば、乳酸桿菌(*lactobacilli*)は腸において病原性細菌の増殖を抑える^{13,17,76)}と共に、種々の変異原性物質や癌原性物質を菌体に結合させて、体外に排泄させる役割を果たしている^{33,48,53,57)}。また、発酵乳が優れた抗変異原性を有していることも明らかにされている^{6,26,33,48,75,82)}。

本稿は、発酵乳ならびに関連乳酸菌のもつ抗変異原性に関する研究の動向についてまとめたものである。

2. 発酵乳

発酵乳(酸乳)は原料乳として牛乳、羊乳、山羊乳、馬乳、駱駝乳を用いて多種多様の微生物で発酵させたものの総称であり、世界中には多くの種類がある。発酵乳が創製されたのは今から数千年前であり、あらゆる乳製品の中でもっとも歴史が古く、旧訳聖書(創世紀 18. 1-10)やBC 3000年前にシュメール人が残した石刻、その他仏典などにその事実を知ることが出来る^{36,66)}。

今世紀の始めメチニコフ(1845~1916)(Fig. 1)がヨーグルトを常食しているコーカサス地方に住む人達の中に高齢者が多いことを根拠に不老長寿説を提唱し、発酵乳が人体に対して優れた機能をもつことを世界に喧伝したことからヨーグルトはその名が世界中に知られるようになった⁷²⁾。しかし、この学説は詳細な科学的証明を欠いていたこともあってその信憑性が疑われた一時期があったが、今日ではヨーグルトをはじめとする発酵乳が免疫賦活化作用^{62,74)}、整腸作用^{18,19,69)}、抗コレステロール効果^{15,16,20)}を有している上に、乳酸^{4,7,14)}、パーオキシド⁹⁾、バクテリオシン^{3,71)}といった抗菌物質が産生されていることが明らかにされており、保健食品として発酵乳が優れていることの評価は不動のものとなった。

しかし、乳酸桿菌やビフィズス菌と言っても菌種によってそれらの効果が異なり、今日 *Lactobacillus acidophilus* や *Bifidobacterium bifidum* を中心に、関連乳酸菌とビフィズス菌について多くの研究⁸⁵⁾がなされている。

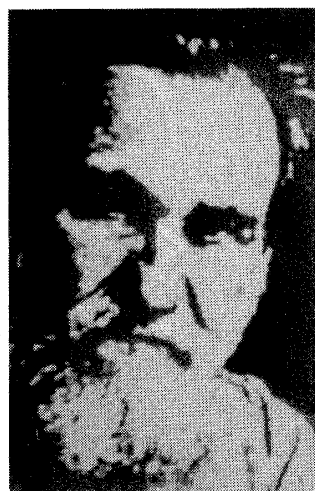


Fig. 1. Metchnikoff Elie
(1845-1916)

* 信州大学農学部

3. Ames 株ならびに Ames 株のストレプトマイシン依存性株

変異原性物質を検出するための種々の方法がここ 30 年間に開発されてきたが、大量の試料について変異原性を調べなくてはならない場合、微生物の変異を指標にするのがもっとも便利であり、その目的で広く用いられているのが Ames 株である。Ames 株はカリフォルニア大学の B. N. Ames ら¹⁾によってつくられ、よく知られた株として *Salmonella typhimurium* TA 1537, TA 1538, TA 100, TA 98, TA 97 などがある。とりわけ、TA 1537 からつくり出された TA 100 と、TA 1538 からつくり出された TA 98 が今日もっとも広く用いられている。

TA 98 と TA 100 の 2 株はアンピシリン耐性であり、変異すると前者は塩基交換変異により、また後者はフレームシフト変異によりヒスチジン要求性 (*his*⁺) から非要求性 (*his*⁻) に変わる。このことからヒスチジンを含まない培地でのコロニー形成の有無から検定試料が変異原性を有しているか否かを肉眼的に判定することができる便利さを有している。また、本法はバクテリアを用いた検出法であるため、 $10^8 \sim 10^9$ 個に 1 個といった定頻度で起こる変異株を容易に識別できる点でも優れている。これら 2 株は変異原性物質に対して *uvrB* (紫外線照射による DNA 損傷に対する修復機能を欠失), *rfa* (ポリサッカライド変異による薬物透過性の増大) の特性を有していることに加え、プラスミド (pkM 101) を保有し、変異原性物質に対し非常に高い感受性を有しているのが特徴である。また、TA 98 から作出された YG 1024 も用いられる場合も多い⁹⁴⁾。

しかし、TA 100 と TA 98 はヒスチジン要求性からヒスチジン非要求性への転換を指標にしていることから、ヒスチジンを含む試料に対しては操作が煩雑になる欠点を有している⁶⁸⁾。この欠点を改善するために、Kada ら⁶¹⁾は TA 100 および TA 98 にストレプトマイシン依存性 (SM^d) から非依存性 (SM^{ind}) への変異を指標に、試料の変異原性を判定し得る株を造成している。また、筆者ら⁴⁶⁾は TA 98 と TA 100 からストレプトマイシン依存性株の造成を試み、それぞれの株から目的株 (SD 510 と SD 4) を得るのに成功した。

SD 510 株は食品由来の物質の変異原性試験に対して極めて有用な指標菌であり、利用範囲の広いことが特筆される。また、SD 510 株はネコやイヌの糞の温水抽出液のもつ変異原性⁶⁰⁾ (Fig. 2) や、硝酸ナトリウムと *m*-フェニレンジアミンとの反応により生成するレゾルシノール⁴⁵⁾などを検出することも可能である。な

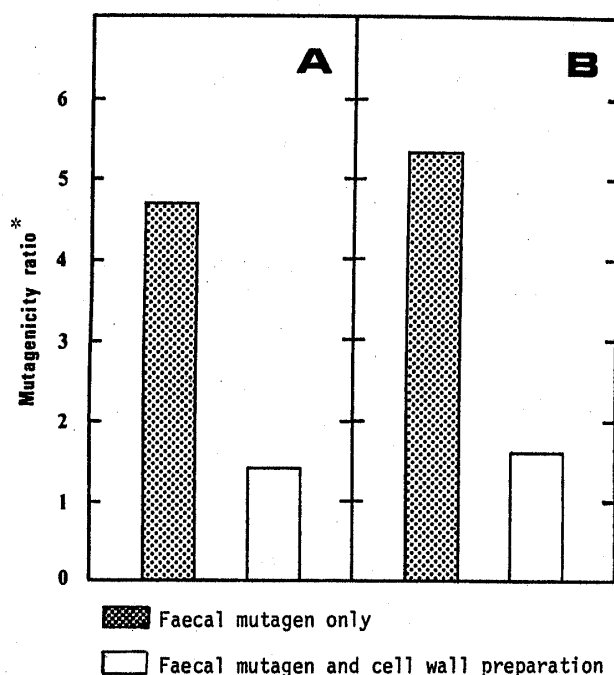


Fig. 2. Desmutagenic activity of cell wall preparation *Streptococcus faecalis* against dog (A) and cat (B) fecal extract⁶⁰⁾.

* Mutagenicity ratio is obtained by dividing the total revertants of experimental plates by that of spontaneous revertants of control plates.

お、動物糞の変異原性試験には *Escherichia coli* E/r WP 2 *trp*⁻ や *E. coli* B/r WR 2 *trp*⁻ *hcr*⁻ の使用も可能であることを筆者らは認めているが⁴⁷⁾、実験操作としては SD 510 株を用いたときのほうが遥かに簡便であるように思われる。

また、SD 510 株は各種スパイス^{10,11,50,77,78)}、脂質加熱物⁹³⁾ それにタンパク質加熱物^{51,96)} の変異原性試験には極めて有用であり、検出スペクトルがかなり広い株であると判断される。さらに、アミノ酸の加熱分解物である Trp-P 1, Trp-P 2, Glu-P 1 などによって SD 510 株は敏感な復帰変異を起こすため、加熱タンパク質に対する変異原性試験に有用である。とりわけ、Trp-P 1 を変異原性物質として用いた場合、SD 510 株は S-9 mix の非存在下で抗変異原性試験が出来ることも操作の簡便化につながっている⁵⁵⁾。

なお、筆者ら⁴³⁾はタマネギ種子を用い、根長と染色体の増加、減少さらには染色体の転座、欠失、切断等の異常から変異原性を知る方法も確立したが、感度の点では SD 510 株を用いた変異原性試験法が優れている。

発酵乳ならびに乳酸菌の抗変異原性機能

4. 発酵乳の抗変異原性

食品（およびその成分）中には変異原性物質や発癌物質に対してその作用を減弱させる性質のあるものが多々見い出されている。変異原性物質を減弱させる物質（抗変異原性物質）は通常次の二つに分けられる⁸⁾。その一つは変異原性物質に直接作用し、その変異原性を減弱または不活化させる作用をもった変異原不活化因子 (desmutagen) であり、もう一つは細胞に作用して細胞の突然変異誘発を著しく低下させる作用をもった抗突然変異原因子 (antimutagen) である。これまでに明らかにされてきた変異原性物質を減弱させる物質では変異原不活化因子が圧倒的に多い^{65,73)}。筆者らは、発酵乳やチーズの他に、種々の薬草³⁹⁾、くぬぎ葉³⁴⁾、ジャスミン茶⁸³⁾、メイラード反応物^{29,91)} それにシイタケ⁵⁴⁾ などに変異原不活化作用のあることを確認している。

ところで、発酵乳の栄養生理的効用について多くの機能が知られており、筆者らは主として癌予防効果を中心にした関連論文をこれまでに紹介してきた^{35,37,38,40,41,42)}。

具体的には、各種乳酸菌を用いて調製した発酵乳が変異原性をもつ 4 NQO や AF 2^{33,48)}、各種アミノ酸加熱分解物^{25,58)}、各種スパイスエキス⁴⁹⁾、N-ニトロソ化合

物^{26,56)}、アフラトキシン²³⁾、加熱醬油^{67,84)} 等に対し、抗変異原性のあることを SD 510 株や *E. coli* B/r WR 2 trp⁻hcr⁻ を指標菌に用いて明らかにしてきた。Table 1 はインドネシアのスマトラ地方に伝わる発酵乳、ダディヒから分離した *Leuconostoc paramesenteroides* R-62 および R-8, *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* R-62, *Lc. cremoris* R-4³¹⁾ を用いて調製した発酵乳による N-ニトロソピロリジン (NPYR), N-ニトロソジメチルアミン (NDMA), ニトロソピペリジン (NPIP) に対する抗変異原性を調べ、カッコ内に抑制率 (%) を示した³²⁾ ものである。

Table 1 から明らかなように、いずれの菌株を用いて調製した発酵乳においても NDMA, NPYR, NPIP に対する抑制率が高いことが認められたが、とりわけ NDMA に対する抑制率が高い値を示した。この実験と併行して、筆者ら^{21,32,89)} は世界各地に伝わる種々の発酵乳より乳酸菌を分離し、それら分離菌株を用いて発酵乳を調製した後、SD 510 株を指標菌に用いて種々の変異原性物質に対する抗変異原性を調べた。その結果、いずれの供試菌株を用いて調製した発酵乳にも強い抗変異原性のあることを認めた。

Table 2 は上述したダディヒから分離した乳酸菌 6 株を用いて製造した発酵乳が Trp-P 1, MelQ ならび

Table 1. Effects of lactic acid bacteria on mutagenicities of N-nitrosodimethylamine (NDMA), N-nitrosopyrrolidine (NPYR), and N-nitrosopiperidine (NPIP)³¹⁾

Treatment	Revertants/plate		
	NDMA ^a	NPYR ^a	NPIP ^a
Control	1,029	104	1,100
+ <i>Leu. paramesenteroides</i> R-62			
3mg	396 (61.52) ^b	1,035 (0.58) ^b	1,042 (5.27) ^b
5mg	263 (74.44)	1,024 (1.63)	1,000 (9.09)
7mg	215 (79.11)	1,025 (1.54)	1,000 (9.09)
+ <i>Leu. paramesenteroides</i> R-8			
3mg	375 (63.56)	1,015 (2.50)	1,046 (4.91)
5mg	298 (41.04)	962 (7.59)	1,020 (7.27)
7mg	279 (72.89)	940 (9.70)	1,023 (7.00)
+ <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i> R-63			
3mg	659 (35.96)	1,043 (—)	1,013 (7.91)
5mg	419 (59.28)	984 (5.48)	989 (10.09)
7mg	295 (71.33)	985 (5.38)	991 (9.91)
+ <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> R-48			
3mg	567 (44.90)	960 (7.78)	968 (12.00)
5mg	309 (69.97)	938 (9.89)	964 (12.36)
7mg	286 (72.21)	946 (9.13)	966 (12.18)

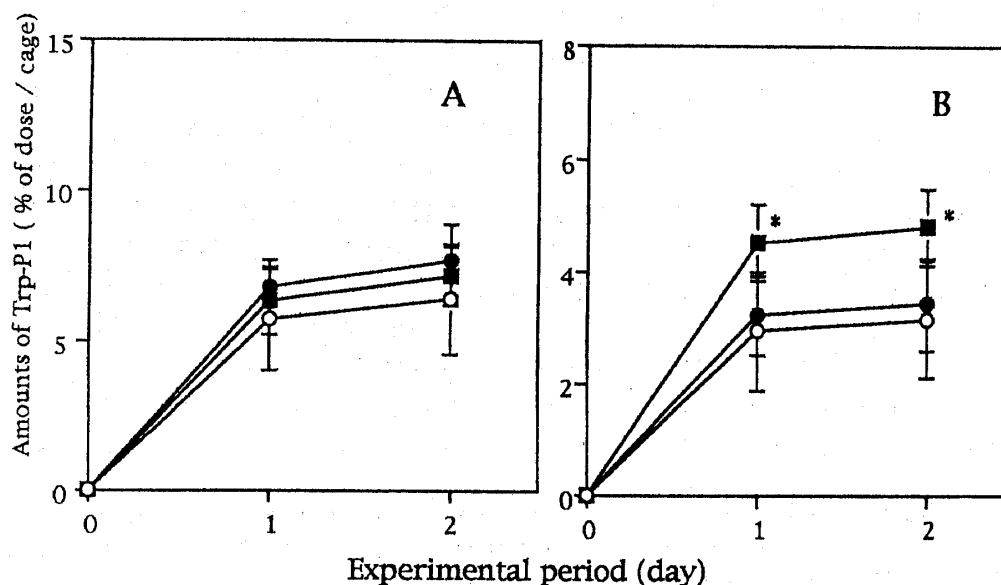
^a The amount of NDMA, NPYR or NPIP used was 60, 50, or 50 μ M, respectively.

^b Inhibition values are given in parentheses.

Table 2. Desmutagenicity of the finally selected strains in yogurt mix-1.²¹⁾

Strain No.	Strain	Trp-P 1*	MelQ**	cystein-glucose***	Soy sauce****
22	<i>Lc. lactis</i> aubsp. <i>cremoris</i> R-14	81	68.7	6	61.1
27	<i>Lb. casei</i> subsp. <i>casei</i> R-12	78	71.6	3.7	15.9
119	<i>Lb. casei</i> subsp. <i>casei</i> 26	99.1	65.6	32.5	44.7
136	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> 80	82	60.8	64.4	62.1
138	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> 111	93	54.4	8.5	19.7
173	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> 12	91.5	60.6	66.5	7.6

Yogurt mix-1 containing 10% skim milk and 1% soy bean peptides was inoculated with 1% each culture and incubated at 121°C for 24h.

**Fig. 3.** Effect of freeze-dried cells on cumulative amounts of Trp-P 1 excreted into feces (A) and urine (B) of rat⁶³⁾.

Each value is means $\pm$ S. D. for 5 animals. ○: control; ●: 1% cells; ■: 9% cells.

* Significantly different from control ($P < 0.05$).

に変異原性をもったシステイン-グルコースの加熱生成物と加熱醤油に対して減弱効果のあることを示したものである²¹⁾。とりわけ、*Lb. casei* subsp. *casei* 26や*Lc. lactis* subsp. *cremoris* 111のTrp-P 1に対する減弱性が著しいことが認められる。

一方、発酵乳(乳酸菌)が*in vitro*のみならず*in vivo*でも抗変異原性を発揮していることの確認は極めて重要と思われる。筆者ら⁶³⁾は先ず、ラット(Wistar系雄、8週齢)にTrp-P 1投与(1匹当たり2mg)と共に、グディヒから分離した*Lb. casei* subsp. *casei* R-52菌体を市販飼料に添加(1%ないし9%)して与え、投与開始後4日目の糞と尿中のTrp-P 1の量を調べた。Fig. 3に結果を示すように、Trp-P 1投与後の糞便中のTrp-P 1の累積値は、コントロール群、1%乳酸菌添加群、9%乳酸菌群共に24時間以内に殆どが排泄され、

24時間および48時間の間では僅かな量しか排泄されなかった(Fig. 3 A)。一方、尿中のTrp-P 1の累積値では9%乳酸菌添加によってTrp-P 1の排泄量が有意($p < 0.05$)に増加した(Fig. 3 B)。

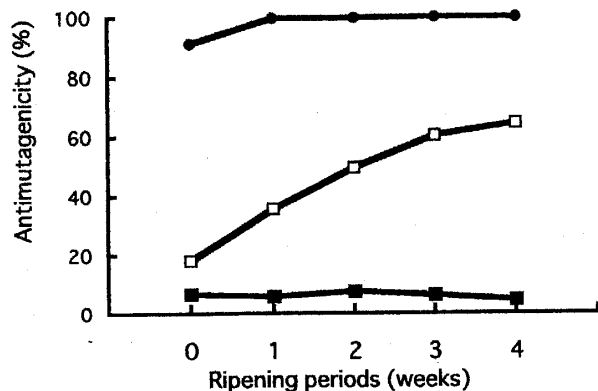
さらに、筆者ら²⁴⁾はヒト糞便から分離した*Lb. acidophilus* LA-2を用いてつくった発酵乳(2.5×10^8 cfu/g)を健康な成人男子(平均年齢32.6歳)に1日100g摂取させ(その他の食事と水分の摂取は自由)、摂取後5~7時間に採取した糞便全量を用いて、発酵乳を摂取しなかったグループの糞便の示す変異原性と比較した。Table 3に結果を示したとおり、発酵乳摂取によって糞便の示す個人差はあるものの変異原性は有為($p < 0.05$)に減少し、ヒトによっては90%以上も減少していることが認められた。

一方、発酵乳の他にチーズにおいても抗変異原性の

発酵乳ならびに乳酸菌の抗変異原性機能

Table 3. Effect of administration of milk fermented with *Lactobacillus acidophilus* LA-2 on fecal bacterial composition and properties in six healthy volunteers.²⁴⁾

Microorganism	Before intake		Frequency	During intake ¹		Frequency
	—(log cfu/g)—		(%)	—(log cfu/g)—		(%)
	X	SD		X	SD	
Total counts	10.4	0.2		10.3	0.2	
Anaerobes	10.3	0.2		10.2	0.2	
Bacteroides	10.1	0.3	100 ²	9.8	0.4	100
Eubacteria	9.2	0.4	100	9.3	0.3	100
Peptostreptococci	8.5	0.1	50	8.9	0.9	50
Bifidobacteria	9.2	0.1	100	9.9*	0.4	100
Bifidobacteria, % ³	11	4.8		33.3	21.9	
Clostridia, lecithinase-positive	3.3		17	0		0
Clostridia, lecithinase-negative	8.8	0.2	100	9.3	0.3	100
Lactobacilli	6.4	1.1	100	7.6*	0.8	100
Aerobes	7.7	0.8		7.8	0.8	
Enterobacteriaceae	7.3	0.2	100	7.2	0.3	100
Enterococci	7.7	0.8	100	7.8	0.8	100
Moisture, %	77.9	7.2		78.2	10.6	
pH	6.6	0.3		6.6	0.3	
Fecal ammonia, µg/g of feces	472.8	168.8		476.2	143.7	

¹ The LA-2 fermented milk (100g) was administered three times a day for 5 to 7 d.² Bifidobacteria population in relation to fecal bacteria.* Difference before and during intake ($P < 0.05$).**Fig. 4.** Changes in the desmutagenicity of Camembert cheese during ripening to Trp-P1 on *Salmonella typhimurium* SD 510 by the cheese suspension.⁹⁵⁾●, 2%; □, 1%; ■, 0.5% (average, $n=6$)

あることが一部のチーズで認められている^{95,97)}。Fig. 4には、カマンベールチーズの熟成過程における Trp-P1 に対する抗変異原性の変化を示したものである⁹⁷⁾。反応溶液へのチーズ試料の添加量により抗変異原性に違いがあるものの、熟成日数の経過に伴い抗変異原性が増加することが認められた (1% 量添加の場合)。

抗変異原性の発現は乳酸菌の菌体と牛乳成分、特に

乳タンパク質成分、またはその分解物に依存していることは言うまでもないが、乳酸菌菌体による抗変異原性の発現は生菌においてはスーパーオキシドジスムターゼ (SOD) 活性^{28,52)}とも密接な関係がある反面、死菌においては後述するように変異原性物質の吸着の関与が考えられる。また、乳タンパク質成分またはその分解物による抗変異原性の発現は用いる変異原性物質との関連性も大きい。

筆者ら⁴⁹⁾はコショウのアルコール抽出液を試料にして牛乳タンパク質より、全カゼイン、 α_1 -カゼイン、 β -カゼイン、 κ -カゼインを調製し、これらタンパク質の抗変異原性を調べた。その結果、全カゼインと β -カゼインに強い抗変異原性があることが認められた。 β -カゼインが強い抗変異原性を示すことについて理由については不明な部分があるが、 β -カゼインは Bigelow の平均残基疎水性が 1330⁵⁾と、タンパク質の中でもっとも高い値をもつことを考慮すると、 β -カゼインの疎水性が抗変異原性の発現に密接に関係しているのではないかと推測される。

5. 乳酸菌菌体による変異原性物質の吸着と変異原性の減弱

乳酸菌の菌体が様々の変異原性物質や発癌性物質を結合させる事実は乳酸菌の諸機能の中でも興味深いも

のの一つである。筆者ら^{59,60)}は *Streptococcus faecalis* IFO 12965 の細胞壁とアミノ酸加熱分解物である Trp-P 1, Trp-P 2, Glu-P 1 とを混ぜた後、その上澄液中の Trp-P 1, Trp-P 2, Glu-P 1 の濃度が極端に減少する事実を認めた。この顕著な減少を詳細に検討することによって次のことが明らかになってきた。

(1) 多くの細菌の細胞壁が変異原性物質(発癌性物質も含む)と結合する性質を有しているが、とりわけ乳酸菌の細菌壁にこの性質が顕著に見い出され、かつ結合能も他種細菌に比べて高い。(2) 細菌壁成分のうち、ペプチドグリカンにその性質が見られる。(3) 乳酸菌の

死菌体でもその能力を有しており、生菌と死菌との間の結合能に有意な差が認められない。(4) 結合は瞬間的に起こり、かつ安定な結合を保つ。(5) 結合に際し、SDS (Sodium dodecyl sulfate) との拮抗性が認められる。などである。

Table 4 はモンゴル地方に伝わるケフィアから分離した *Lc. lactis* subsp. *cremoris*, *St. faecalis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lb. brevis* それに *Leuconostoc dextranicum* の死菌体の Trp-P 1, Trp-P 2, Glu-P 1 に対する結合性を示したものである⁵³⁾。Table 4 から明らかなように分離株の殆んどが Trp-P 1, Trp-

Table 4. *In vitro* binding of amino acid pyrolyzates to lactic acid bacteria isolated from fermented milk originating from Mongolia.⁵⁶⁾

Strain	Binding% of amino acid Pyrolyzates*		
	Trp-P 1	Trp-P 2	Glu-P 1
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>			
T 20	99.2	97.39	55.03
T 70	99.83	98.53	29.83
T 80	99.61	99.93	73.58
T 120	99.37	99.95	66
T 130	99.78	99.93	69.63
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>			
T 50	99.89	98.52	44.85
T 110	99.67	99.73	53.6
T 280	99.71	99.93	69.54
<i>St. faecalis</i>			
T 320	99.61	98.86	32.41
<i>Lb. plantarum</i>			
T 1	99.54	98.65	32.6
<i>Lb. brevis</i>			
T 2	99.89	99.36	55.24
<i>Leu. dextranicum</i>			
T 160	99.14	99.81	51.47
T 180	99.59	99.2	50.95
T 200	99.74	99.36	50.75
T 240	99.73	99.14	45.62
T 300	99.65	99.08	68.83
T 300	99.58	99.99	74.91

* Binding (%) of mutagen = $100 \frac{\text{Peak area of the filtrate of amino acid pyrolyzate solution containing the cell}}{\text{Peak area of the respective amino acid pyrolyzate solution}} \times 100$

発酵乳ならびに乳酸菌の抗変異原性機能

P 2, Glu-P 1 に対して結合能力を有し、とりわけ Trp-P 1 と Trp-P 2 に対する結合能力が極めて高いことが理解される。同様の結果が中国原産発酵乳、ナイゲダから分離した *Lc. lactis* subsp. *cremoris*, *St. faecalis*, *Lc. lactis* subsp. *diacetylactis* などの乳酸菌⁹⁸⁾, それに種々の発酵乳から分離した乳酸球菌^{27,64)} や乳酸桿菌⁹⁰⁾ にも認められた。

ちなみに、乳酸菌の菌体が Trp-P 1, Trp-P 2, Glu-P 1 に対して結合性を有していることを示す一例として *Lc. lactis* subsp. *lactis* T 80 の場合⁵³⁾ について説明したい。Fig. 5 は上記 3 種類のアミノ酸加熱分解物を T 80 株の死菌体と混ぜ、37°C で 15 分間放置した後、上澄液を HPLC にかけて Trp-P 1, Trp-P 2 および Glu-P 1 の上澄液中の残量を示したものである。Fig. 5 から明らかなように、上澄液中のアミノ酸加熱分解物が殆んど、または全く検出されず、加えたアミノ酸加熱分解物が乳酸菌の細胞壁に吸着されてしまったことが理解される。

一方、アミノ酸加熱分解物として Trp-P 1 を用いた場合、SDS の濃度を上げていくと、濃度依存的に

TRP-P 1 の菌体への結合が著しく阻止されることが認められた^{87,88)}。このことは結合様式が疎水結合であることの可能性を強く示唆している。

筆者ら⁷⁹⁾ は 28 株の *Lb. gasseri* と 2 株の *Bifidobacterium longum* のアミノ酸加熱分解物に対する抗変異原性について調べ、2 株のビフィズス菌も *Lb. gasseri* に匹敵して高い抗変異原性を有していることを認めている。かつ Table 5 に示すように、いずれの株の菌体も RNase ならびに DNase で精製処理することにより、Trp-P 1 に対する結合性が際立って高くなることも認めた。さらに、*Lb. gasseri* SBT 10293 菌体に Trp-P 1, Trp-P 2, Glu-P 1, IQ, MelQ を複合的に組み合わせて結合試験を行なうと、Trp-P 1 と他のアミノ酸加熱分解物とを組み合わせた場合にもっとも高い結合が起こることが確認された⁸⁰⁾。同時に、*Lb. gasseri* 菌体と上記のヘテロサイクリックアミンとの結合において細胞壁を構成するタンパク質を含まない多糖体に関係していることも明らかになった⁸¹⁾。

乳酸菌の菌体は死菌体であっても、生菌体と同様に

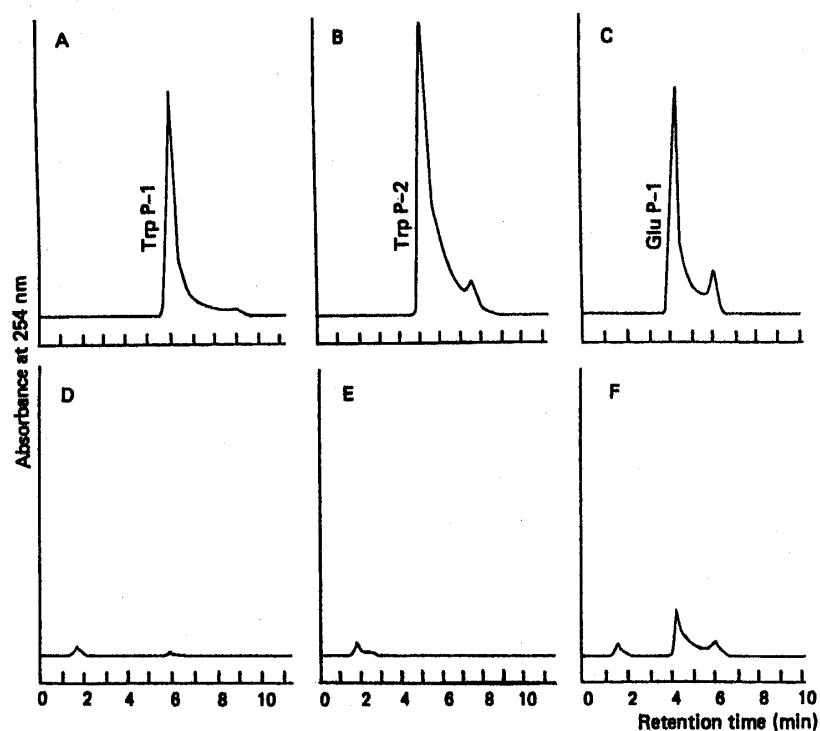


Fig. 5. Binding of amino acid pyrolyzates to the cells of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* T 80⁸⁶⁾.

HPLC chromatogram of Trp-P 1 (A), Trp-P 2 (B) or Glu-P 1 (C) solution was compared with that of the filtrate obtained from the respective solution (Trp-P 1, D; Trp-P 2, E; Glu-P 1, F) containing the cells of T 80 strain.

Table 5. Binding of 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido [4,3-b] indole with *Lactobacillus gasseri* and *Bifidobacterium longum* cells, crude cell wall, purified cell wall, peptidoglycan, and cell extract.⁷⁹⁾

Strains	Binding ²									
	Cells		Crude cell wall		Purified cell wall		Peptido-glycan		Cell extract	
	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD
<i>L. gasseri</i>										
SBT 0274	61.4 ^b	1.2	70.2 ^b	0.9	97.7 ^a	1.3	40.0 ^a	4.3	22.8 ^b	0.3
SBT 1703	62.1 ^b	0.1	77.8 ^a	1.0	99.0 ^a	0.1	31.4 ^b	3.1	19.4 ^c	6.3
SBT 10239	67.8 ^a	0.7	79.0 ^a	1.0	97.0 ^a	1.0	30.5 ^b	2.9	26.7 ^a	5.3
SBT 10241	63.3 ^{ab}	1.5	72.5 ^b	5.3	99.6 ^a	0.6	32.4 ^c	2.1	11.3 ^d	0.2
<i>B. longum</i>										
SBT 2928	60.5 ^b	2.0	70.2 ^b	3.2	99.3 ^a	1.0	37.2 ^a	1.4	17.7 ^c	0.1

^{a,b,c,d} Means Within the same column with no common superscript letter differ ($P < 0.05$).

¹ Value of mutagen binding represents the mean ($\pm$ SD) of three determinations.

² One milligram of the cell, crude cell wall, purified cell wall, and peptidoglycan and 1 ml of cell extract were mixed with 200 μ g of 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido [4,3-b] indole and incubated at 37°C for 30 min.

アミノ酸加熱分解物のみならずN-ニトロソ化合物^{32,56)}やアフラトキシン^{27,89)}などの発癌物質とも結合する性質を有していることを述べてきた。近年、それら物質だけではなく、コレステロール^{30,92)}にも結合性を有していることが明らかになり、今後における乳酸菌の更なる有効利用が期待される。

6. おわりに

乳酸菌は古来人類が発酵食品を通じて体内に入れてきた細菌群であり、経験的にみて安全性の高いことが保証されていることから、“GRAS (Generally Recognized As Safe) Bacteria”と呼ばれており、また保健上重要なプロバイオティックス^{2,35)}の筆頭に挙げられている細菌群である。発酵乳はそうした乳酸菌で発酵させてつくられることから、発酵乳のもつ機能性への追及は今日では学術上のみならず産業界においても大きな期待が寄せられている。乳酸菌やそれを用いてつくられる発酵乳のもつ整腸効果に加え、本総説で述べた抗変異原性、それに心疾患予防の上で重要な抗コレステロール効果²²⁾などが次々と明らかにされてきている。

近年、環境汚染物質が動物や植物の生態系を乱し、特に人体への悪影響が危惧されている。食物由来の有毒物質の生体に対する弊害も報告^{44,70)}されている中で優れた保健食品の摂取は一層大きな意味をもってくる。その観点に立脚した発酵乳の新たな機能性の追及が益々盛んになっている。

文 献

- Ames, B. N., McCann, J. and Yamasaki, E.: *Mutat. Res.*, **31**, 347-364 (1975)
- 有原圭二: 食肉の科学, **38**, 47-56 (1997)
- Barefoot, S. and Klaenhammer, T.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **46**, 1808-1811 (1983)
- Bhatia, S. J., Kochar, N. and Abraham, P.: *J. Clinical Microbiol.*, **27**, 2328-2330 (1989)
- Bigelow, C. C.: *J. Theoret. Biol.*, **16**, 187-211 (1967)
- Cassand, P., Abdelai, H., Bouley, C., Denariatz, G. and Narbonne, J. F.: *J. Dairy Res.*, **61**, 545-552 (1994)
- Choi, C. S., Chung, J. B., Chung, S. I. and Yaug, Y. T.: *Kor. J. Veter. Public Health*, **8**, 49-58 (1984)
- Clarke, C. H. and Shankel, D. M.: *Bacteriol. Rev.*, **39**, 33-53 (1975)
- Collins, E. B. and Aramaki, H.: *J. Dairy Sci.*, **63**, 353-357 (1980)
- Damhoeri, A., Hosono, A., Itoh, T. and Matsuyama, A.: *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 1519-1520 (1985)
- Damhoeri, A., Hosono, A., Itoh, T. and Matsuyama, A.: Proceedings of the IPB-JICA, International Symposium of Agricultural Products, Processing and Technology (Ed. by S. Fardias, A. Matsuyama and K. Abdulla) (Bogor), pp. 137-151 (1981)
- Ferguson, L. R.: *Mutat. Res.*, **307**, 395-410 (1994)
- Fuller, R.: *British Poul. Sci.*, **18**, 85-94 (1977)
- Gibbs, P. A.: *J. Appl. Bacteriol.*, **63**, 615-625 (1987)
- Gilliand, S. E.: *FEMS Microbiol. Rev.*, **87**, 175-188 (1990)
- Gilliland, S. E.: *J. Dairy Sci.*, **72**, 2483-2494 (1989)
- Gilliland, S. E., Speck, M. L., Nauyok, N. and

発酵乳ならびに乳酸菌の抗変異原性機能

- Giesbrecht, F.: *J. Dairy Sci.*, **61**, 1-10 (1978)
- 18) Goldin, B. R. and Gorbach, S. L.: *Cancer*, **40**, 2421-2426 (1977)
- 19) Goldin, B. R. Swenson, L., Dwyer, J., Sexton, M. and Gorbach, S. L.: *J. Nat. Cancer Inst.*, **64**, 255-261 (1995)
- 20) Gourama, H. and Bullerman, B. L.: *J. Food Prot.*, **57**, 1275-1280 (1995)
- 21) 橋本英夫・大根田啓二・中村昇二・細野明義：ミルクサイエンス, **47**, A-101-110 (1998)
- 22) 橋本英夫・山崎和幸・荒井靖子・川瀬 学・何方・細田正孝・細野明義：日畜会報, **69**, 72-77 (1998)
- 23) Hosoda, M., Hashimoto, H., He, F., Yamazaki, K. and Hosono, A.: *Animal Sci. Technol.*, **68**, 555-562. (1997)
- 24) Hosoda, M., Hashimoto, H., He, F., Morita, H. and Hosono, A.: *J. Dairy Sci.*, **79**, 745-749 (1996)
- 25) Hosoda, M., Hashimoto, H., Morita, H., Chiba, M. and Hosono, A.: *J. Dairy Res.*, **59**, 543-549 (1992)
- 26) Hosoda, M., Hashimoto, H., Morita, H., Chiba, M. and Hosono, A.: *J. Dairy Sci.*, **75**, 976-981 (1992)
- 27) Hosono, A. and Hisamatsu, S.: *Biosci. Biotech. Biochem.*, **59**, 940-942 (1995)
- 28) Hosono, A. and Satake, N.: *Anim. Sci. Tech.*, **64**, 599-604 (1993)
- 29) Hosono, A. and Shirai, H.: *Animal Sci. Technol.*, **67**, 1076-1081 (1996)
- 30) Hosono, A. and Tono-Oka, T.: *Milchwissenschaft*, **50**, 556-560 (1995)
- 31) Hosono, A. and Wardojo, R. and Otani, H.: *Lebensm. Wiss. und Technol.*, **22**, 20-24 (1989)
- 32) Hosono, A., Izeki, Y., Otani, H. and Takahashi, F.: *Anim. Sci. and Tech.* **63**, 712-714 (1992)
- 33) Hosono, A., Kashina, T. and Kada, T.: *J. Dairy Sci.*, **69**, 2237-2242 (1986)
- 34) Hosono, A., Kishi, T. and Otani, H.: *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 2807-2808 (1989)
- 35) Hosono, A., Kitazawa, H. and Yamaguchi, T.: Probiotics 2 (Ed. by Fuller, R.). pp. 89-132, Chapman & Hall, London, New York, 1997
- 36) 細野明義：Health Digest, **9** (2) 1-8 (1994)
- 37) 細野明義：Health Digest, **9** (3) 1-8 (1994)
- 38) 細野明義：New Food Industry, **32** (8) 1-12 (1990)
- 39) 細野明義・西澤純也・大谷 元：酪科食研, **40**, A 154-159 (1991)
- 40) 細野明義：乳技協資料, **37**, 19-32 (1988)
- 41) 細野明義：乳技協資料, **38**, 1-17 (1988)
- 42) 細野明義：乳技協資料, **40**, 207-224 (1990)
- 43) 細野明義・岡本美和子・大谷 元：酪科食研, **39**, 39-45 (1990)
- 44) 細野明義・田淵三保子・伊藤仁一：日畜会報, **69**, 1050-1054 (1988)
- 45) Hosono, A., Makino, K. and Otani, H.: *Agri. Food Chem.*, **39**, 1817-1819 (1991)
- 46) Hosono, A., Omote, E., Izawa, Y., Tokita, F. and Kada, T.: *Lebensm. Wiss. und Technol.*, **19**, 161-163 (1986)
- 47) Hosono, a., Sagae, S. and Tokita, F.: *Jpn. J. Zootech. Sci.*, **56**, 274-278 (1985)
- 48) Hosono, A., Sagae, S. and Tokita, F.: *Milchwissenschaft*, **41**, 142-145 (1986)
- 49) Hosono, A., Shashikanth, K. N. and Otani, H.: *J. Dairy Res.*, **55**, 435-442 (1988)
- 50) Hosono, A., Suzuki, H. and Otani, H.: *Jpn. J. Zootech. Sci.*, **58**, 413-420 (1987)
- 51) Hosono, A., Suzuki, H. and Otani, H.: *Jpn. J. Zootech. Sci.*, **58**, 886-892 (1987)
- 52) Hosono, A., Suzuki, M. and Otani, H.: *Anim. Sci. Tech.*, **62**, 39-44 (1991)
- 53) Hosono, A., Tanabe, T. and Otani, H.: *Milchwissenschaft*, **45**, 647-651 (1990)
- 54) Hosono, A., Umehara, H. and Tokita, F.: *Jpn. J. Zootech. Sci.*, **56**, 78-80 (1985)
- 55) Hosono, A., Usman and Ohba, R.: *Biosci. Biotech. Biochem.*, **61**, 424-426 (1997)
- 56) Hosono, A., Wardojo, R. and Otani, H.: *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 1639-1643 (1990)
- 57) Hosono, A., Wardojo, R. and Otani, H.: *Lebensm. Wiss. und Technol.*, **23**, 149-153 (1990)
- 58) Hosono, A., Yamazaki, H. and Otani, H.: *Jpn. J. Zootech. Sci.*, **60**, 679-685 (1989)
- 59) Hosono, A., Yoshimura, A. and Otani, H.: *Milchwissenschaft*, **43**, 168-170 (1988)
- 60) Hosono, A., Yoshimura, A. and Otani, H.: *Netherlands Milk and Dairy J.*, **41**, 239-245 (1987)
- 61) Kada, T., Aoki, K. and Sugimura, T.: *Environ. Mutagenesis*, **5**, 9-15 (1983)
- 62) Kaila, M., Isolauri, E., Virtanen, E., Laine, S., Soppi, E. and Arvilommi, H.: *Pediat. Res.*, **32**, 141-144 (1992)
- 63) 川瀬 学・細野明義：日畜会報, **67**, 801-804 (1996)
- 64) Kawase, M. and Hosono, A.: *Anim. Sci. Technol.*, **66**, 430-435 (1995)
- 65) 古場久代・松岡麻男・石原 忠：日調科誌, **31**, 198-250 (1998)
- 66) Kroger, M., Kurmann, J. A. and Rasic, J. L.: *Food Technol.*, **43**, 92-99 (1989)
- 67) 前田俊樹・細野明義：日畜会報 北陸支部会報 No. 74, 60-64 (1997)
- 68) Maron, D. M. and Ames, B. N.: *Mutat. Res.*, **113**, 177-215 (1983)
- 69) Marteau, P., Pochart, P. and Flourie, B.: *Am. J. Chem. Nutri.*, **52**, 685-688 (1990)
- 70) 松尾光芳：Health Digest, **13** (4) 1-10 (1998)
- 71) McCormick, E. L. and Salvage, D. C.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **46**, 1103-1112 (1983)

- 72) Metchnikoff, E.: The prolongation of life. (Translation by P. C. Mitchell). Page 161-183. C. P. Putnam's Sons, New York, USA., (1908)
- 73) Morita, K., Kada, T. and Namiki, T.: *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 1234-1238 (1978)
- 74) Perdigon, G., de Jorrat, M. E. B., Petrino, S. F. and Budoguer, V.: *Food Agri. Immunol.*, **3**, 93-102 (1992)
- 75) Pool-Zobel, B. L., Munzner, R. and Holzapfel, W. H.: *Nutrition Cancer*, **20**, 261-270 (1993)
- 76) Shahani, K. M. and Ayebo, A.: *Am. J. Clinical Nutri.*, **33**, 2448-2457 (1980)
- 77) Shashikanth, K. N. and Hosono, A.: *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 2947-2948 (1986)
- 78) Shashikanth, K. N. and Hosono, A.: *Lebensmitt. Wiss. und Tech.*, **20**, 91-94 (1987)
- 79) Sreekumar, O. and Hosono, A.: *J. Dairy Sci.*, **81**, 1508-1516 (1998)
- 80) Sreekumar, O. and Hosono, A.: *Milchwissenschaft*, **53**, 73-76 (1998)
- 81) Sreekumar, O. and Hosono, A.: *Mutation Res.*, in press.
- 82) Sugimura, T.: In: Y. Kuroda., D. M. Shankel and M. D. Waters (Editors), *Antimutagenesis and Anticarcinogenesis Mechanisms II*. Page 23-34. Plenum Press, New York, NY. (1990)
- 83) Surono, I. S. and Hosono, A.: *Int. J. Food Microbiol.*, **32**, 49-58 (1996)
- 84) Surono, I. S. and Hosono, A.: *Milchwissenschaft*, **51**, 493-497 (1996)
- 85) Schiffrin, E. J., Rochat, F., Link-Amster, H., Aeschlimann, J. M. and Dornet-Hughes, A.: *J. Dairy Sci.*, **78**, 491-497 (1995)
- 86) Tanabe, T., Otani, H. and Hosono, A.: *Milchwissenschaft*, **46**, 622-624 (1991)
- 87) Tanabe, T., Otani, H. and Hosono, A.: *J. Dairy Res.*, **61**, 311-315 (1994)
- 88) Tanabe, T., Suyama, K. and Hosono, A.: *Milchwissenschaft*, **49**, 438-441 (1994)
- 89) Thyagaraja, N. and Hosono, A.: *J. Food Prot.*, **56**, 1061-1066 (1993)
- 90) Usman and Hosono, A., *Food and Chem. Toxicol.*, in press
- 91) Usman and Hosono, A.: *Ital. J. Food Sci.*, **9**, 267-276 (1997)
- 92) Usman and Hosono, A.: *J. Dairy Sci.*, in press.
- 93) Watanabe, K., Nakamura, R. and Hosono, A.: *J. Food Sci.*, **53**, 1913-1914 (1988)
- 94) Wild, D.: *Z-Ernahrungswiss*, **34**, 22-26 (1995)
- 95) Yamada, M. and Hosono, A.: *Animal Sci. Technol.*, **69**, 359-364 (1998)
- 96) 山田正子・中沢勇二・細野明義: 酪科食研, **41**, A 127-131 (1992)
- 97) Yamada, M., Nakazawa, Y., Tsukasaki, F. and Hosono, A.: *Int. Dairy J.*, **7**, 795-798 (1997)
- 98) Zhang, X. B., Ohta, Y. and Hosono, A.: *J. Dairy Sci.*, **73**, 2702-2710 (1989)