



広島大学記者説明会 2016年6月9日

米麹菌の酸性プロテアーゼを食べると 腸内善玉菌が増加！

教授 加藤 範久

広島大学大学院生物圏科学研究科

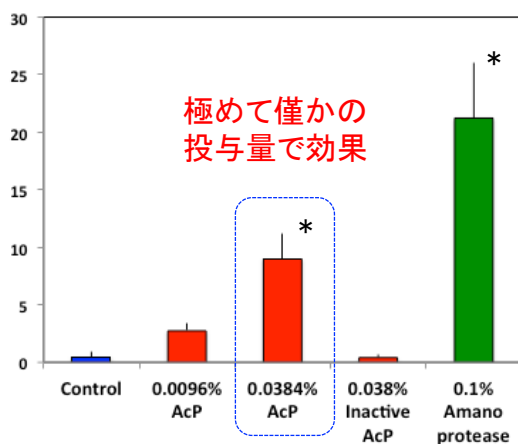
日本食・発酵食品の革新的研究開発拠点

理事 山口 庄太郎

天野エンザイム株式会社メディカル用酵素開発部長

米麹菌 (*Aspergillus oryzae*) から菌体外に産生・分泌される
酸性プロテアーゼが腸内善玉菌を増加させることを発見

糞中ビフィズス菌 (%)



AcP: Acid protease derived
from *Aspergillus oryzae*

*P < 0.05

三つのポイント

1. 麹菌発酵食品の効能を示す新たな証拠
日本の発酵食品の評価
2. 麹菌プロテアーゼの新規用途開発
➤ 腸内環境改善作用
新たな応用分野
3. 麹菌プロテアーゼは新型のプレバイオティックか？
学術的インパクト

本日の話題

1. 麹菌発酵ごぼうの腸内ビフィズス菌増加作用の発見
- ↓
2. 麹菌プロテアーゼ剤の腸内ビフィズス菌増加作用の発見
- ↓
3. 麹菌由来酸性プロテアーゼの腸内ビフィズス菌増加作用の発見

麹菌(コウジカビ *Aspergillus*)とは？

種類：

Aspergillus oryzae (米麹菌、米麹カビ),
Aspergillus awamori (泡盛麹菌)
Aspergillus niger (黒麹菌)など
アスペルギルス属のカビ

産業利用：

清酒, 味噌, 醤油などの醸造に利用
➤ 日本食の特徴

塩麹



先端的研究：

多量のプロテアーゼ等の消化酵素を分泌・生産
する宿主菌として醗酵工学的研究 ➤ 我国のお家芸
(2005年 麹菌全ゲノム構造決定)

ところが、麹菌を利用した機能性食品の開発研究は少ない。

そこで、ごぼうを麹菌で発酵させるとどうなるか？



ごぼう

(株)あじかん

泡盛麹菌

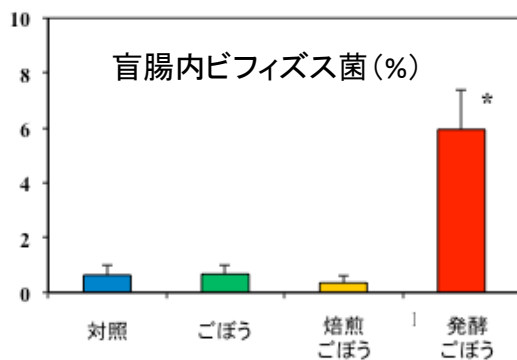
ヤエガキ発酵技研(株)

発酵ごぼう

ラット

広島大

腸内ビフィズス菌増加



T-RFLP法

* $p < 0.05$

麹菌の機能性食品開発
への有用性を示唆

Okazaki et al. (2013) Burdock fermented by *Aspergillus awamori* elevates cecal Bifidobacterium, and reduces fecal deoxycholic acid and adipose tissue weight in rats fed a high-fat diet. Biosci Biotechnol Biochem. 77:53-57

多穀麹や米麹の摂取もビフィズス菌を増加させた。

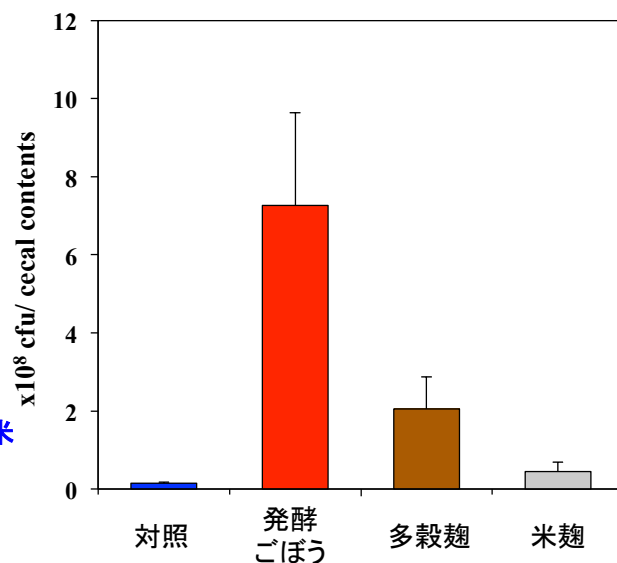
□ 実験食

- ・高脂肪食
- ・5% 発酵ごぼう
- ・5% 米麹
- ・5% 多穀麹

米麹菌により発酵

多穀: あわ・ひえ・きび・タカキビ・大麦・紫黒米・米

盲腸内ビフィズス菌



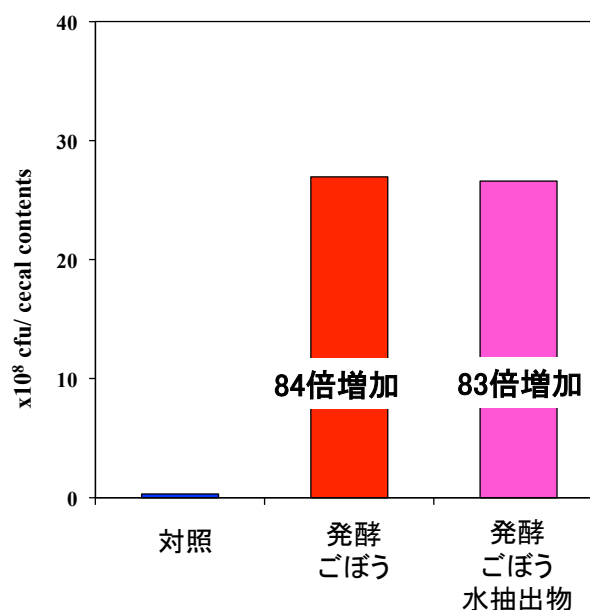
米糠、味噌でも同様な効果を確認

発酵ごぼうの水抽出物(菌体外成分)の影響

盲腸内ビフィズス菌

□ 実験食

- ・高脂肪食
 - ・5% 発酵ごぼう
 - ・2.6%発酵ごぼう水抽出物(菌体外成分)
- 発酵ごぼう食相当量を食餌に添加



ビフィズス菌の増加に麹菌の菌体外成分の関与が示唆された。

食品加工用のプロテアーゼ剤でも腸内ビフィズス菌は増加するか？

様々なプロテアーゼ剤についてスクリーニング

プロテアーゼ	プロテックス	アミノ酸系調味料の製造 ペプチドの製造 蛋白質の物性改良 エキスの呈味性向上 低アレルギー化
	ニューラーゼ F 3 G	
	パパイン W-40	
	プロメライン F	
	パンクレアチン F	
	<u>プロテアーゼ A「アマノ」SD</u>	
	プロテアーゼ M「アマノ」SD	
	プロテアーゼ P「アマノ」3SD	
	ペプチダーゼ R	
	サモアーゼ PC10F	
	プロチン SD-AY10	
	プロチン SD-NY10	

実験条件

< 実験動物 >

雄 SD 系ラット (4週齢, n=9)

< 実験食 >

高脂肪食(30%牛脂)

Control

+

0.2% プロテアーゼ

プロテアーゼA「アマノ」SD

Amano protease

(*Aspergillus oryzae*)

オリエンターゼ

Orientase

(*Aspergillus niger*)

< 実験期間 >

21 日間

基本食

% (w/w)

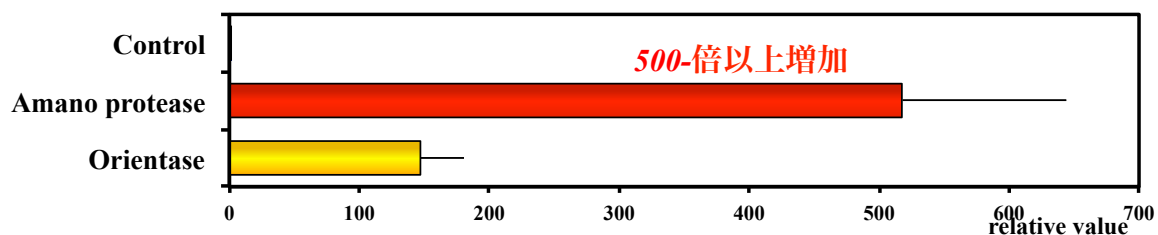
牛脂	30
カゼイン	20
L-シスチン	0.3
セルロース	5
ビタミン混合*	1
塩混合*	3.5
シュクロース	20
コーンスターチ	20.2
正味タンパク質	17.4

*AIN-93

0.2%アマノプロテアーゼ添加食、及び0.2%オリエンターゼ添加食による盲腸内ビフィズス菌の増加

盲腸内ビフィズス菌(%)

Real-time PCR法



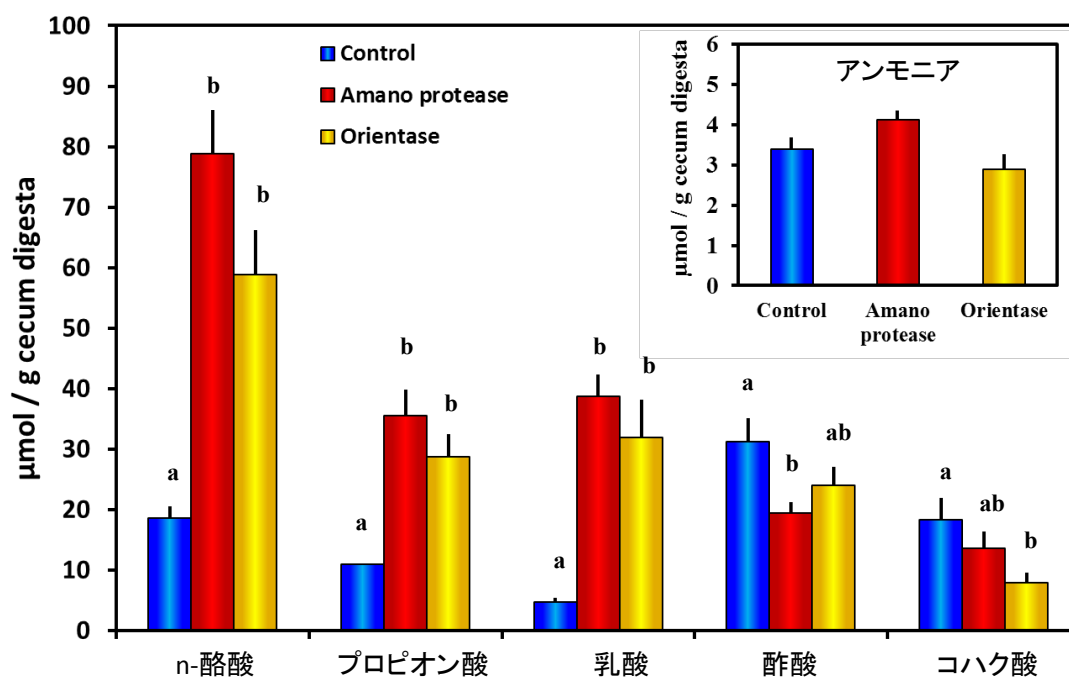
アマノプロテアーゼ (*Aspergillus oryzae*由来)

オリエンターゼ (*Aspergillus niger*由来)

*Aspergillus oryzae*のみならず、他の*Aspergillus*のプロテアーゼにもビフィズス菌増加作用がある可能性を示唆。

Yang et al. (2015) Beneficial effects of protease preparations derived from *Aspergillus* on the colonic luminal environment in rats consuming a high-fat diet. , Sitanggang et al. Biomed Rep. 3: 715-720.

盲腸内の有機酸、及びアンモニアへの影響



プロテアーゼ添加食は酪酸、プロピオン酸、乳酸を増加させた。

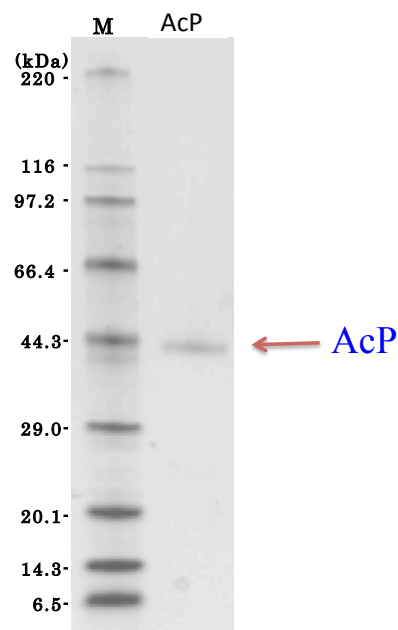
米麹菌由来の酸性プロテアーゼ(AcP)の影響

- 実験食: Control (30% 牛脂食)
- 0.0096% AcP (x 1-倍量)
- 0.038% AcP (x 4-倍量)
- 0.038% Inactive AcP (x 4-倍量)
- 0.1% Amano protease

AcP: Acid protease derived from *A. oryzae*

Inactive AcP: 加熱失活

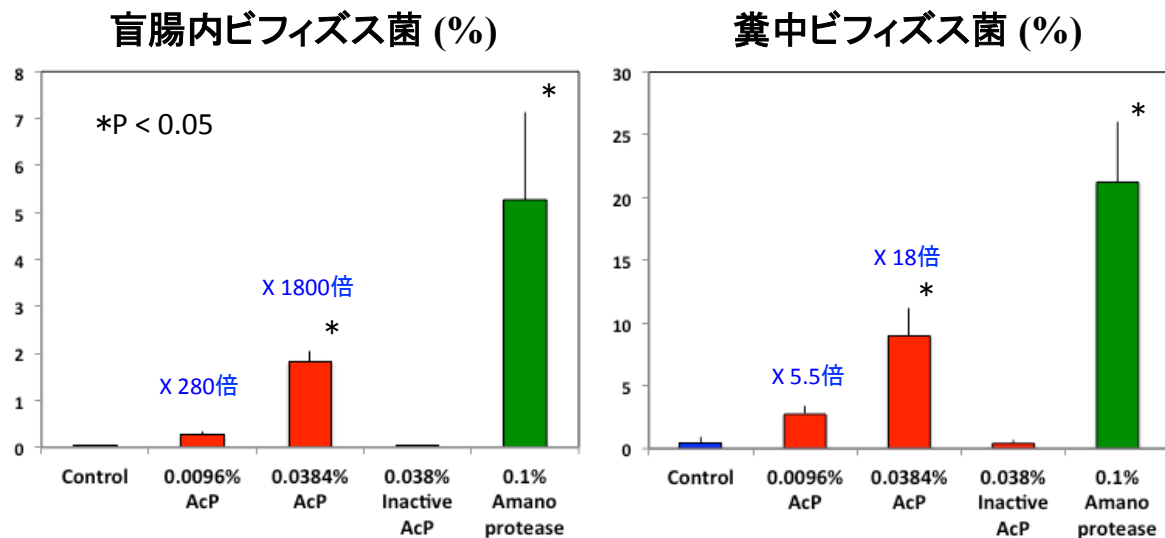
SDS-PAGE of purified AcP



- 飼育期間: 2 週間

この飼育条件で食餌摂取量や体重に群間で変化なし。

米麹菌の酸性プロテアーゼの摂取により 腸内ビフィズス菌が増加した。しかも極めて少量で効果あり！



0.0384% (4倍量)の酸性プロテアーゼの添加でビフィズス菌が顕著に増加した。
ただし、酸性プロテアーゼ以外にも強力な活性成分が存在することを示唆。

本研究で明らかになったこと

2013年

- 麹菌発酵ごぼうの腸内ビフィズス菌増加作用の発見

2015年

- 麹菌プロテアーゼ剤の腸内ビフィズス菌増加作用の発見
 - プロテアーゼの可能性(推論の段階)

2016年

- 米麹菌の酸性プロテアーゼの腸内ビフィズス菌増加作用の発見
 - 酸性プロテアーゼが特定された。しかも極めて少量で効果あり(真実として確定)

プレバイオティックスとは？

定義

Gibson GR, Roberfroid MB.

Dietary modulation of the human colonic microbiota:
introducing the concept of prebiotics.

J Nutr 125巻: p1401-1412 (1995年).

プレバイオティックスは**大腸内の特定の細菌**の増殖および活性を選択的に変化させることより、宿主に有利な影響を与え、宿主の**健康を改善**する**難消化性食品成分**。



プレバイオティックスとして認められている食品成分

➤ オリゴ糖

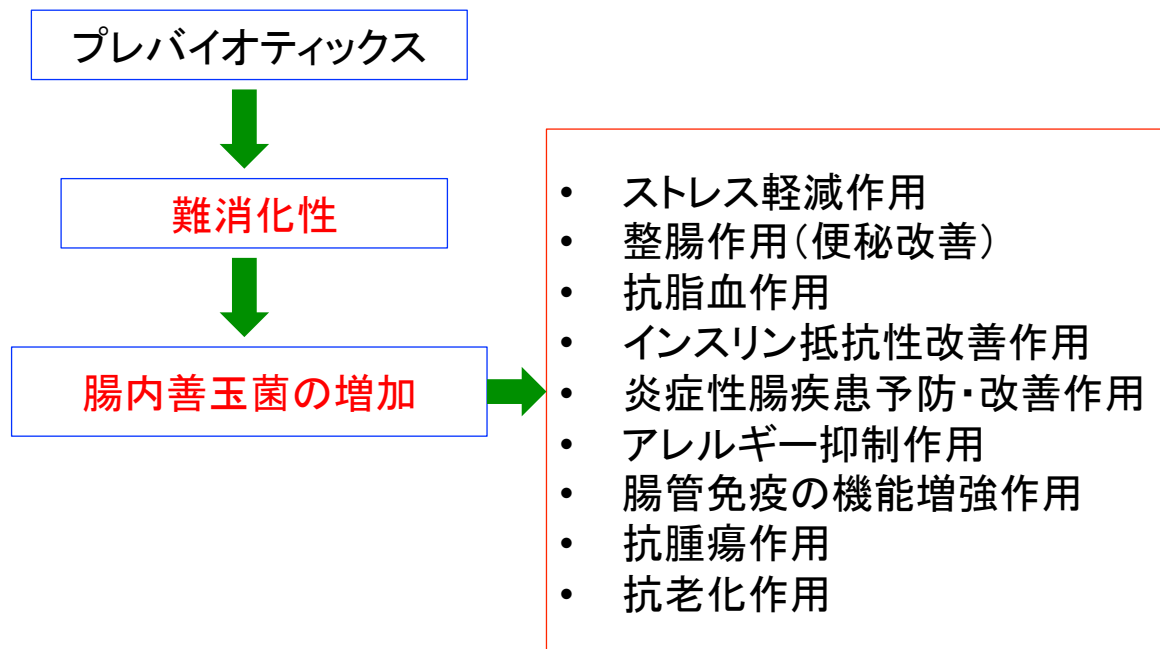
- ガラクトオリゴ糖(牛乳や乳製品)
- フラクトオリゴ糖(ごぼう、ねぎ、アスパラガス等)
- 大豆オリゴ糖(大豆、豆乳、みそ等)
- キシロオリゴ糖(トウモロコシ、タケノコ等)
- ラフィノース(キャベツ、ブロッコリー等)



➤ 食物繊維

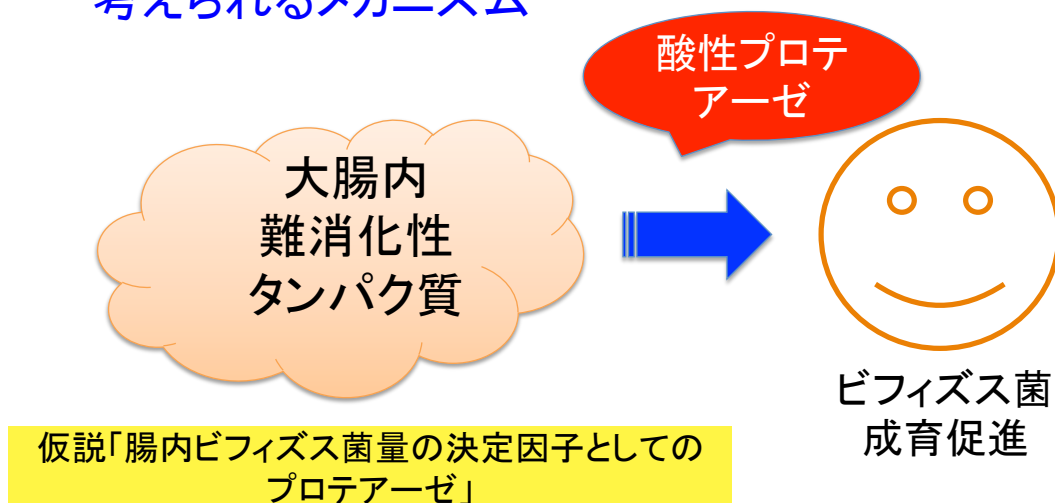
- イヌリン
- ポリデキストロース(トウモロコシを原料に人工的に合成した食物繊維)

大腸での変化を介したプレバイオティックスの機能性



なぜ、酸性プロテアーゼがビフィズス菌を増加させるのか？

考えられるメカニズム



1. もともとビフィズス菌の生育力は他の菌と比べて弱い。
2. 麹菌プロテアーゼは大腸の消化抵抗性タンパク質を消化する。
3. その結果、ビフィズス菌の成育に有利な環境になるのでは？

本研究のインパクトと今後の展開

米麹菌 (*Aspergillus oryzae*) の酸性プロテアーゼが
腸内ビフィズス菌を増加させることを発見

➤ 応用面

1. 麹菌・発酵食品の新規用途開発 (腸内環境をターゲット)
2. 麹菌プロテアーゼの新規用途開発 (腸内環境をターゲット)
現在は、食品加工用、医薬品 (消化酵素剤)
3. さらに強力な麹菌プロテアーゼの探索

➤ 学術面

1. プレバイオティックスの基本概念を変える可能性
2. 新仮説「腸内ビフィズス菌量の決定因子としてのプロテアーゼ」の検証

謝 辞

広島大学大学院生物圏科学研究科分子栄養学研究室
楊 永寿、Vivi Sitanggeang、Thanutchaporn Kumrungsee
藤女子大学
准教授 岡崎由佳子

ヤエガキ発酵技研株式会社
渡辺敏郎 (現園田学園女子大教授)、井口隆文
株式会社あじかん
井上淳詞、村上崇幸
天野エンザイム株式会社
黒田 学、山口庄太郎

ちゅうごく産業創造センター