

## 『スキンバリア乳酸菌™』、『イムノライズ乳酸菌™』新製品の紹介（食品開発展）

このたび、米油や健康食品・化粧品素材で種々な実績を持つオリザ油化株式会社（本社：愛知県一宮市北方町沼田1、代表取締役社長：村井 弘道）は、食品開発展2020（2020年11月16～18日 東京ビッグサイト）で行われる展示会において、葛由来乳酸菌（提供：榊井上天極堂）について2つのブランド展開で上市することとなりました。1つは美容訴求ブランドである『スキンバリア乳酸菌™』、もう1つは免疫訴求ブランドの『イムノライズ乳酸菌™』です。

この2つのブランドの基となっている葛由来乳酸菌の特徴として、非常に高い免疫賦活作用(IL-12産生能向上作用)が確認されています。また腸内において吸収性を高めるためナノ型処理がされている乳酸菌（死菌体）です。このような乳酸菌を用いて、以下コンセプトで製品展開をすることを考えております。

『スキンバリア乳酸菌™』は、皮膚を健全に保つための水分蒸散の抑制やバリア機能に重要なコーニファイドエンベロープの機能を向上させる可能性が確認された新しいコンセプトをもつ乳酸菌です。

『イムノライズ乳酸菌™』は、強い免疫賦活作用、強い感染防御の作用について確認され、免疫の重要性が語られる現代社会にとって必要な乳酸菌であると考えています。

新型コロナウイルスの感染症の流行により、現代生活では長時間のマスク着用が必須になっています。その結果、多くの方がマスク着用による肌のダメージ増加や摩擦による角層状態の悪化が問題として言われています。今回上市する『スキンバリア乳酸菌™』、『イムノライズ乳酸菌™』は肌のバリア性向上、感染防御といった観点から現代社会にとって有益な効果をもたらすことが期待される乳酸菌です。

以下に2つのブランドの試験結果について報告を致します。

### <美容訴求ブランド>

#### 【強く美しい肌のための乳酸菌 『スキンバリア乳酸菌™』】

オリザ油化株式会社ではこの葛由来乳酸菌を用い、皮膚のバリア機能を高める作用についてマウスを用いた試験およびヒトにおける摂取試験で確認しました。

#### ●マウス試験

##### <1. 経表皮水分蒸散量（TEWL）への影響>

方法：ヘアレスマウスに 28 日間、スキンバリア乳酸菌™（50 または 100 mg/kg）を経口投与し、その後、背中右側に SDS 溶液※を塗布する（5 分）操作を 3 日間繰り返した翌日に、再び TEWL を測定しました。

※界面活性剤であるドデシル硫酸ナトリウム(SDS)溶液により、皮膚のバリア性を脆弱にさせる。

結果：スキンバリア乳酸菌™（50 mg/kg）は、SDS 塗布の有無にかかわらず、TEWL の上昇を抑えました。100 mg/kg 投与でも、SDS 塗布群で TEWL の抑制が認められました。（図 1）

## < 2. コーニファイドエンベロープの保湿関連タンパク質への影響(mRNA) >

さらに、皮膚の最外層を構成する角質細胞を包むタンパク質の膜状構造であるコーニファイドエンベロープの保湿関連タンパク質への影響について検討を行った。コーニファイドエンベロープは皮膚を健全に保つための水分蒸散の抑制やバリア機能（外界からの異物の侵入を防ぐ機能）を担っていることが知られています。敏感肌やアトピー性皮膚炎では、コーニファイドエンベロープの機能が低下していると考えられています。

コーニファイドエンベロープを構成する保湿タンパク質（図 2）には、インボルクリンやロリクリンなどが知られています。トランスグルタミナーゼ 1 はインボルクリン、ロリクリンなどの結合形成にかかわっていることが知られています。

方法：1 の試験のヘアレスマウスの皮膚の保湿タンパク質の mRNA 発現を調べた。

結果：コーニファイドエンベロープを構成する保湿タンパク質であるインボルクリン、フィラグリンおよびトランスグルタミナーゼ 1 の発現増加が見られました。（図 3）

## < 3. コーニファイドエンベロープの保湿関連タンパク質への影響(免疫染色) >

方法：1 の試験のヘアレスマウスの皮膚の保湿タンパク質の発現を免疫染色で調べた。

結果：ヘマトキシリン・エオシン（HE）は通常食・SDS 塗布群と比較し乳酸菌摂取により角層が厚くなったことが確認された。また、コーニファイドエンベロープを構成する保湿タンパク質であるインボルクリン、ロリクリン、エンボプラキシンが濃く染色されていることが視覚的に確認された。（図 4）

よって、スキンバリア乳酸菌™ 摂取により、皮膚のバリア機能に重要な働きをするインボルクリン、フィラグリンおよびトランスグルタミナーゼ 1 の mRNA 発現量が促進し、ヘアレスマウスの試験からも角層を厚くさせる作用を見出しました。以上の作用より、スキンバリア乳酸菌™ は角層の維持につながり、TEWL を抑制させることで皮膚バリア機能が強化されることが確認されました。

## ●ヒト試験

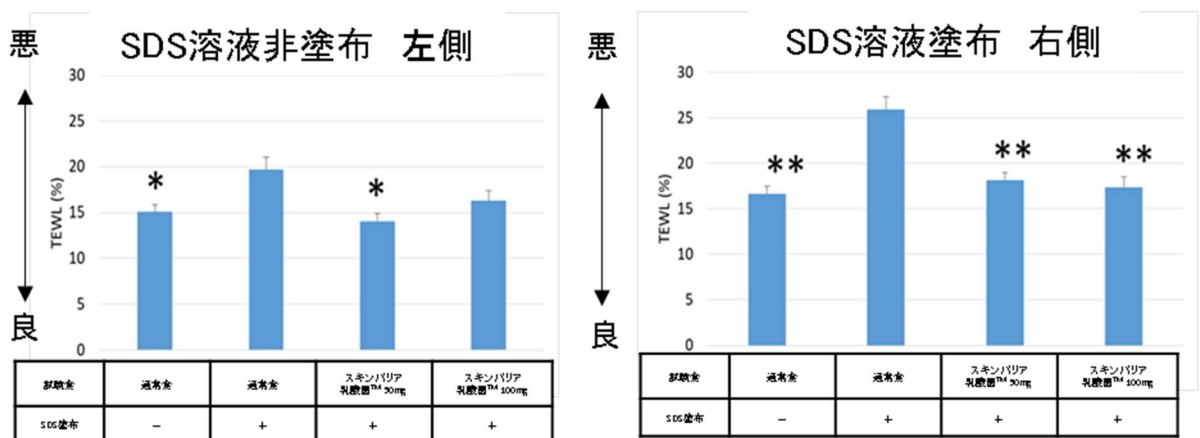
マウスの結果をベースとして、ヒトでの効果を社内ボランティアで調べました。

方法：・試験期間：6 週間

- ・被験者：27 名（男性：20 名、女性：7 名）
- ・試験デザイン：二重盲検比較試験（プラセボ群：13 名、乳酸菌群：14 名）
- ・試験方法：皮膚フローラ（表皮ブドウ球菌、アクネ菌）、唾液 IgA、ダーマラボ、TEWL（経皮水分蒸散量）、水分値、弾力値、アンケート（※排便、肌質に関するアンケート）

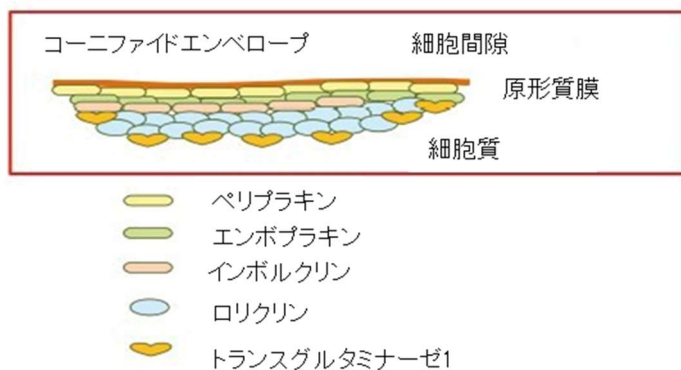
結果：スキンバリア乳酸菌™ (50mg/day) の摂取により、肌のバリアに関する評価項目の中で、頬、腕の水分蒸散量(TEWL)とコラーゲンスコアに改善傾向が見られました。また、粘膜免疫の代表的な抗体である唾液中 IgA が、スキンバリア乳酸菌™ 摂取により増加傾向が認められました。(図5)

スキンバリア乳酸菌™ は、皮膚の保湿機能向上とバリア機能向上、さらに粘膜免疫向上にアプローチする新しいタイプの乳酸菌です。



各カラムは平均値と標準誤差(n=6)を表す。\*: $p < 0.05$ , \*\*: $p < 0.01$ .

図1 ヘアレスマウスのスキンバリア乳酸菌™ 摂取による経表皮水分蒸散量 (TEWL) への影響



<コーニファイドエンベロープの保湿タンパク質>

図2 コーニファイドエンベロープの保湿タンパク質 模式図

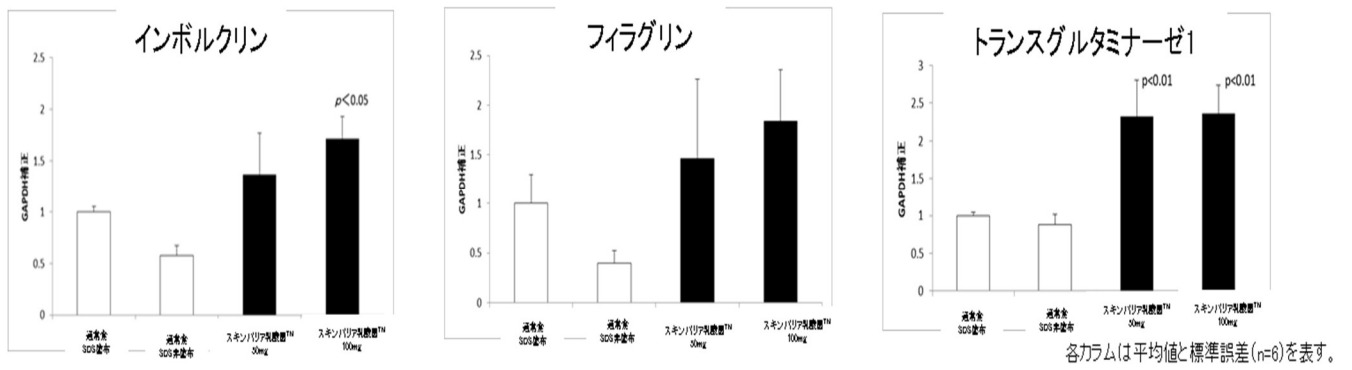


図3 ヘアレスマウスのスキンバリア乳酸菌™摂取によるコーニファイドエンベロープの保湿タンパク質 mRNA への影響

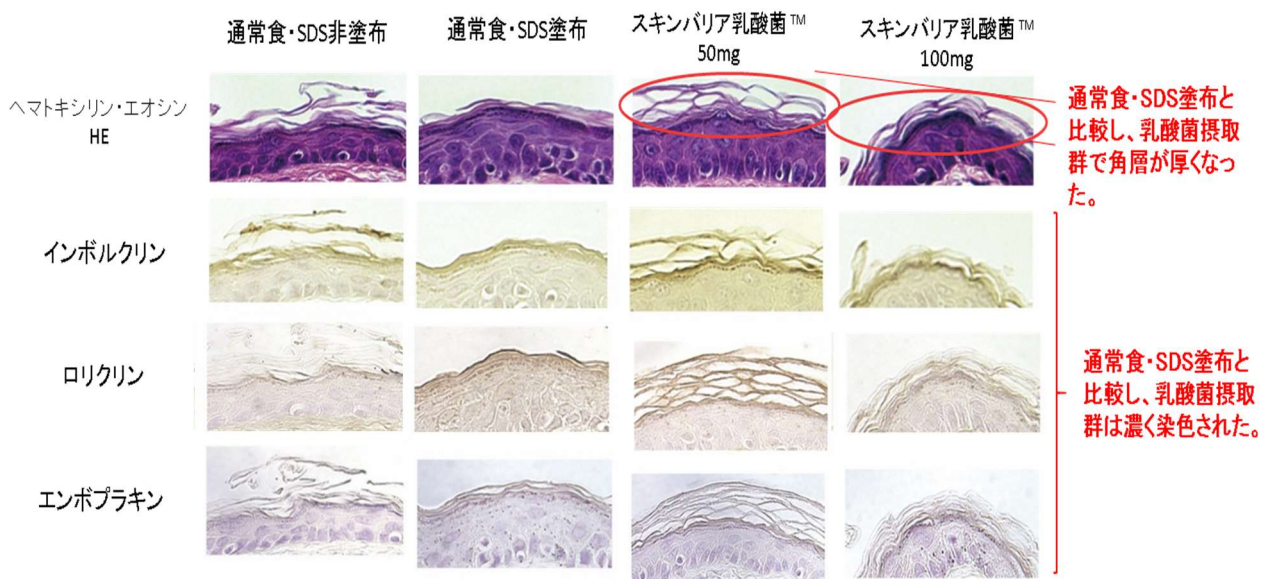


図4 ヘアレスマウスのスキンバリア乳酸菌™摂取によるコーニファイドエンベロープの保湿タンパク質への影響 (免疫染色)

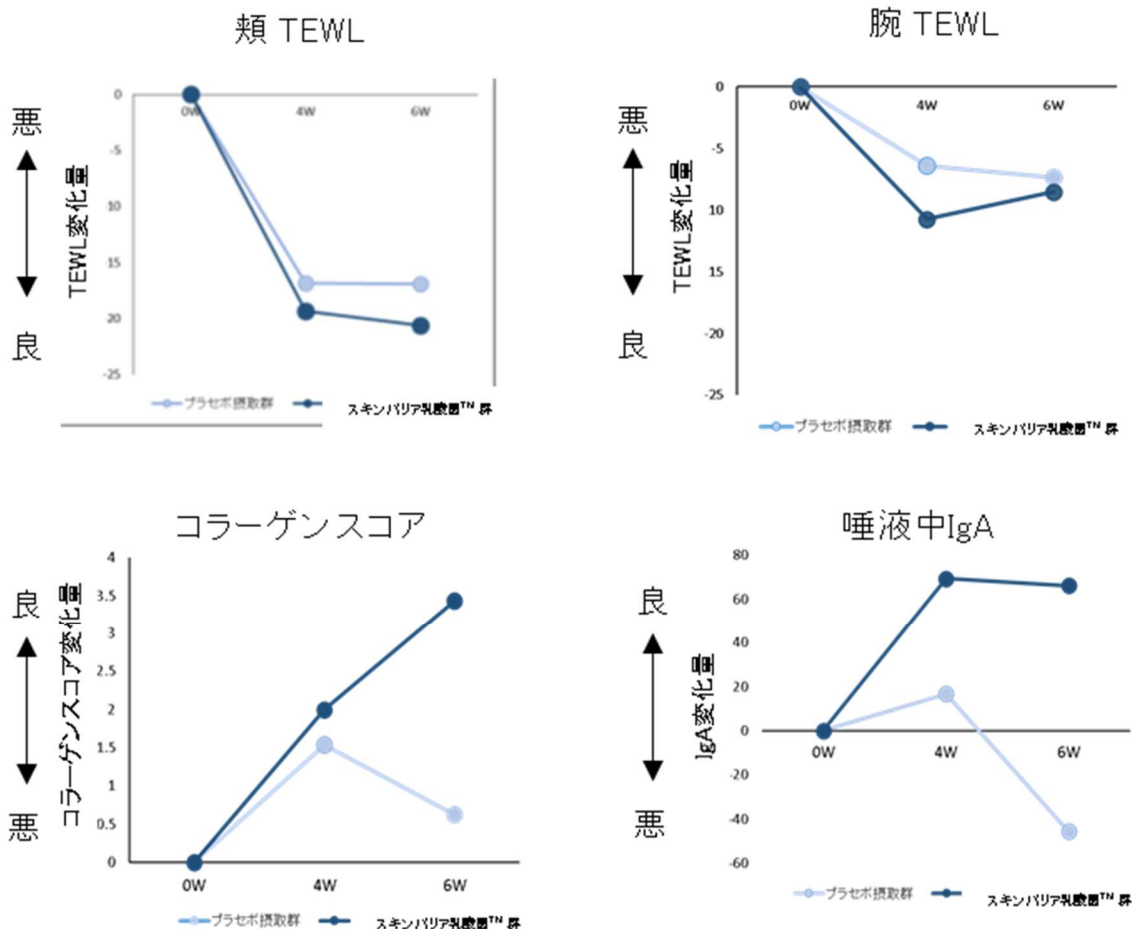


図4 ヒトにおけるスキンバリア乳酸菌™摂取による皮膚バリア機能への影響

### <免疫訴求ブランド>

#### 【現代で生きるヒトのための乳酸菌 『イムノライズ乳酸菌™』】

これまで(株)井上天極堂にて葛由来乳酸菌の免疫賦活作用、インフルエンザウイルスに及ぼす影響、園児摂取による各種ウイルス性感染症罹患率について数々の研究がされており、その研究データを以下に紹介します。

### ●細胞試験

#### <1. 免疫賦活作用 (IL-12 産生能への影響) >

インターロイキン-12 (IL-12) は、当初"NK 細胞刺激因子"の名称で報告され、NK 細胞に対する著明な活性化作用を特徴とするサイトカインです。また、IL-12 は B 細胞および単球系細胞より産生され、T細胞やNK 細胞に対して細胞増殖の促進、細胞傷害活性誘導、IFN- $\gamma$  産生誘導、LAK 細胞誘導などの作用を示すことが知られています。こうした細胞性免疫機能への役割から、IL-12 には感染防御や抗癌療法、免疫不全症の改善における臨床応用が期待されています。例えば、HIV 感染患者の末梢血リンパ球における IL-12 産生、IFN- $\gamma$  産生あるいはNK細胞活性はいずれも有意に低下しているが、

IL-12 の投与によってこれらを健常者と同程度までに増強することが可能であると言われており、今回の試験では、免疫賦活のマーカーとして用いて評価を行いました。

方法：マウス脾臓細胞にイムノライズ乳酸菌™ およびコントロールとして OK432（細胞性免疫を不活性化する溶連菌製剤）を添加し、培養した。その後 ELISA 法にて IL-12 濃度を測定した。

結果：イムノライズ乳酸菌™ は葛由来の乳酸菌であり、葛デキストリンと共培養をすることにより、免疫賦活作用の指標である IL-12 産生を促進させることが確認されました。（図 5）

## ●マウス試験

### < 2. インフルエンザウイルス、中和抗体に及ぼす影響 >

免疫賦活作用が高いことが確認されたイムノライズ乳酸菌の生体防御に対する効果を確認するため、インフルエンザウイルスに感染させたマウスを用いて、インフルエンザウイルスに対する感染防御効果について榊井上天極堂と中部大学 林京子研究室にて共同試験が行われた。

方法：BALB/c 雌、6 週齢マウスに A 型インフルエンザウイルス（A/NWS/33,H1N1 亜型）を感染させ、イムノライズ乳酸菌™ (1mg/0.4ml/day)、ポジティブコントロールとして抗インフルエンザ薬であるタミフル (0.2mg/0.4ml/day) を経口投与し、感染 3 日後のウイルス量と感染 2 週間後のウイルス特異的抗体量について測定をした。

結果：感染後のウイルス量に対する影響について、インフルエンザウイルス感染 3 日後の肺及び気管支肺胞洗浄液中のウイルス量を確認したところ、イムノライズ乳酸菌™ でコントロールと比較し顕著にウイルス量の増加抑制がされたことが確認された。

また、体内の中和抗体価について、感染 14 日後の血清および気管支肺胞洗浄液中の中和抗体価を確認したところ、イムノライズ乳酸菌™ でコントロールと比較し有意に高値を示した。（図 6）

（中和抗体価：ウイルス感染阻害機能を持つ抗体量）

よって、イムノライズ乳酸菌™ 摂取は、感染初期に重要な自然免疫を活性化させ、獲得免疫にも働きかけて中和抗体価を上げたことが推察されるため、感染リスク低減も期待できます。

## ●ヒト試験（園児）

### < 3. 乳酸菌摂取によるウイルス感染防御に与える影響（ヒト試験） >

インフルエンザの流行時期である 1～2 月に奈良県内の保育園の園児にイムノライズ乳酸菌™ を 100 億個 (50mg/day) 配合したゼリーを給食時に摂取してもらい、隣接する保育園との感染率を比較した。

方法：試験期間：2 か月間

被験者：保育園児（3 歳～5 歳） 496 名

内訳) イムノライズ乳酸菌 TM 摂取 : 209 名、非摂取 : 287 名  
 評価 : ウイルス性感染症の罹患率

結果 : イムノライズ乳酸菌 TM 摂取をした園は、非摂取の 3 つの園と比較し、ウイルス性感染率の罹患率が有意に低いことが確認された。(表 1、図 7)

イムノライズ乳酸菌 TM は、免疫賦活作用を高め、感染防御も期待できる乳酸菌です。

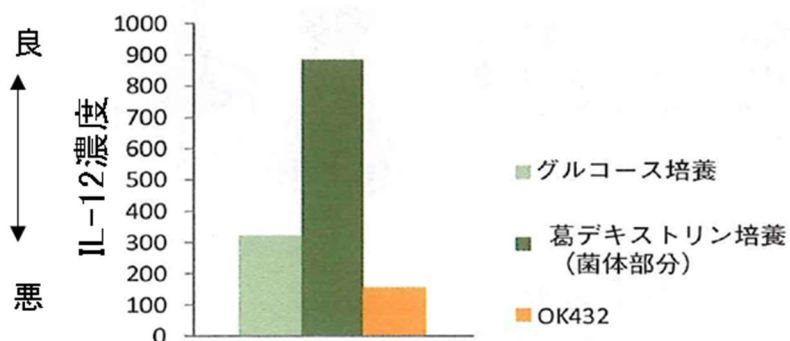


図 5 免疫賦活作用 (IL-12 産生能への影響)

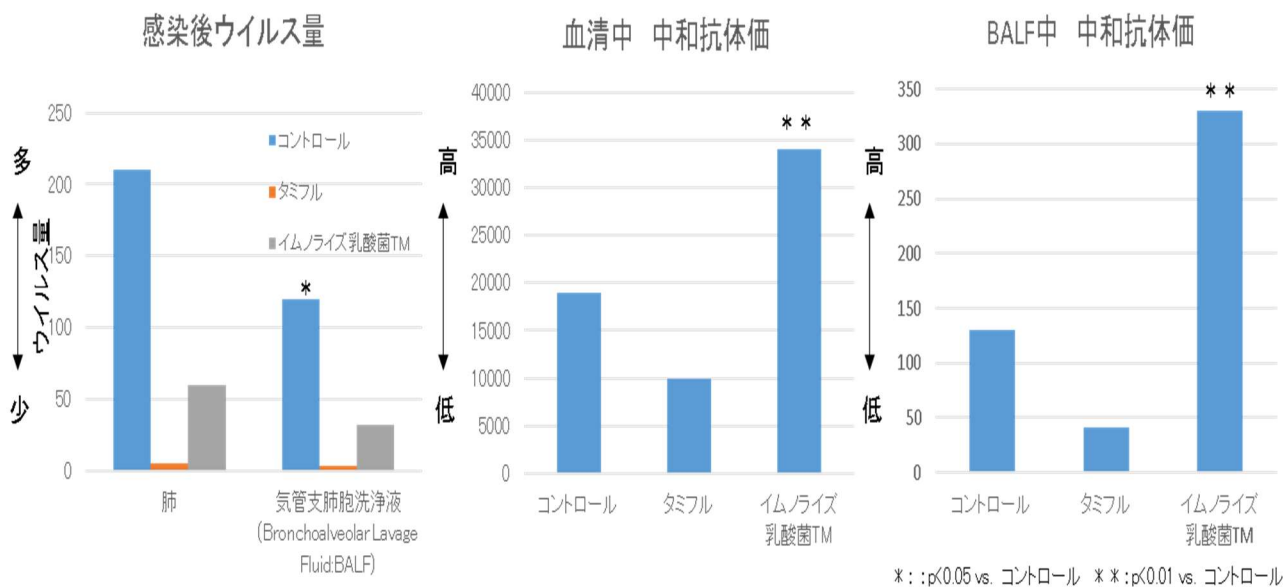


図 6 インフルエンザウイルス、中和抗体に及ぼす影響

ウイルス性感染症罹患率				
病名	乳酸菌摂取園	非摂取園 1	非摂取園 2	非摂取園 3
インフルエンザ A 型	10人	35人	27人	16人
アデノウイルス	0人	9人	1人	0人
ロタウイルス	0人	1人	1人	0人
手足口病	0人	3人	1人	0人
RSウイルス	0人	4人	0人	0人
ヒトメタモニューウイルス	0人	2人	0人	0人
ノロウイルス	0人	0人	1人	0人
罹患者合計数	10人	54人	31人	16人

園児数	209人	112人	89人	86人
罹患率	4.8%	48.2%	34.9%	18.6%

表1 イムノライズ乳酸菌™ 摂取によるウイルス感染防御に与える影響（ヒト試験）

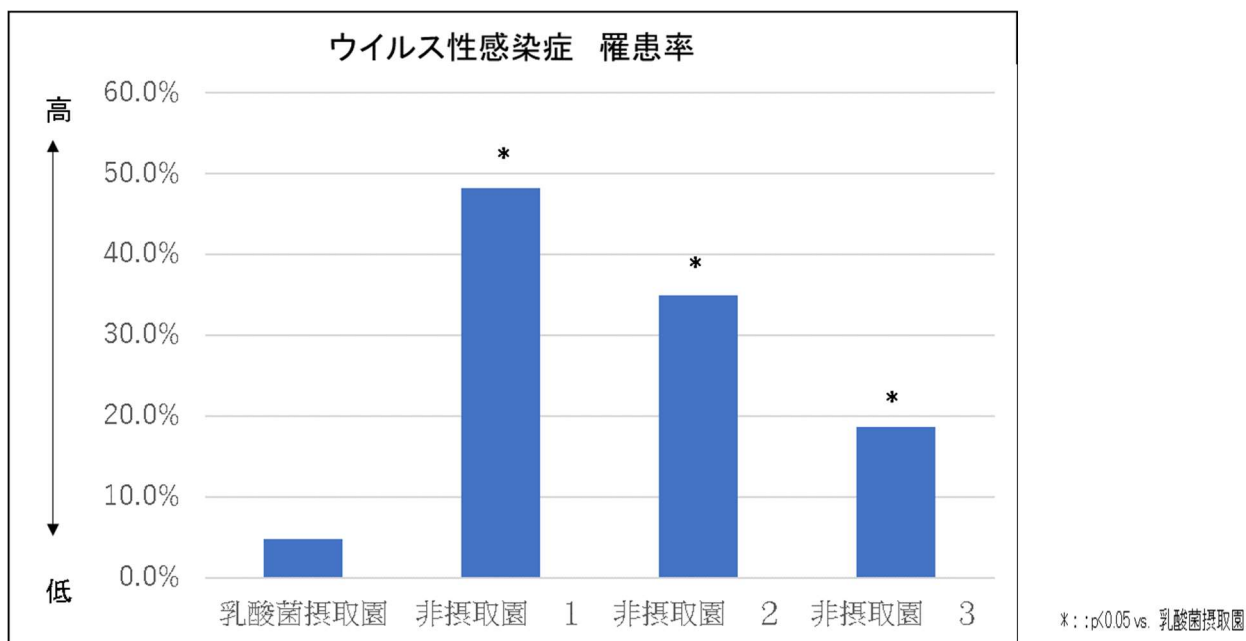


図7 イムノライズ乳酸菌™ 摂取によるウイルス感染防御に与える影響（ヒト試験）