



# くず餅乳酸菌（F1805 株）による 免疫機能改善効果

神山恭子<sup>1)</sup> / 跡部季子<sup>2)</sup> / 一般社団法人くず餅乳酸菌研究所

## ● 要旨

**目的:** 本試験はくず餅の原料である発酵小麦粉から分離・単離された乳酸菌（F1805 株）の免疫機能改善効果を検討したものである。

**方法:** くず餅乳酸菌（F1805 株）を 400 億個含む顆粒状の食品 1 包 2 g を 4 週間、健常な被験者 20 名に摂取させるオープン試験として行った。免疫機能改善効果を測る指標として免疫細胞 pDC 活性、唾液中 sIgA（濃度、分泌速度、分泌量）、血中 IFN- $\alpha$ 、NK 細胞 CD/CD16 比、体調アンケート、SF-36<sup>®</sup>v2 スタンダードを採用し、評価した。同時に問診、身体測定と有害事象の有無により安全性についても確認した。

**結果:** くず餅乳酸菌を 400 億個含む食品を 1 日 1 回摂取するオープン試験において、主要評価項目である免疫細胞の pDC 活性評価の層別解析では、CD86 MFI、CD86 MFI 補正後で有意に高い変化を示した。副次的項目では、NK 細胞では有意な改善は認められなかったものの、唾液中 SgIA 濃度、体調アンケート、ならびに健康関連 QOL を測定する SF-36<sup>®</sup>v2 スタンダードの一部の項目で有意な改善を示した。また、安全性には問題がなかった。

**まとめ:** くず餅乳酸菌（F1805 株）は免疫細胞活性化試験、体調アンケート、唾液中 sIgA、SF-36<sup>®</sup>v2 の一部の項目にて有意な変化が認められ、総合的に本食品を摂取することで免疫機能を改善する効果の可能性が示唆された。また同時に試験期間中に有害事象は認められず、安全であると考えられた。

**キーワード:** 乳酸菌、免疫、スクリーニング、免疫賦活、IL-12、IL-6、IL-10、くず餅、くず餅乳酸菌

## はじめに

植物原料由来の発酵食品は世界的にみても日本に多くみられ<sup>1)</sup>、日本人には古くから親しまれてきた食品である。日本古来の和菓子である「くず餅」は、和菓子としてはめずらしい、グルテンを取り除いた小麦でんぷんを長期間にわたって発酵・熟成する発酵食品である。小麦でんぷんを微生物により発酵させることで、くず餅特有の弾力と食感が得られる。発酵に関与する微生物のなかでも、特に乳酸菌は腸内細菌叢の正常化、血圧降下作用、血中コレス

テロール低減作用、免疫調節作用など数多くの保健効果が報告されている<sup>2)</sup>。我々は既報<sup>3)</sup>にて、くず餅の発酵に関与する微生物から 20 種の乳酸菌を分離同定し、それらの免疫賦活作用を報告した。

くず餅乳酸菌に免疫賦活作用があるとするれば、日本古来の和菓子であるくず餅を茶菓子等として摂取するだけで、我々が日々曝されている感染リスクを低減することができる可能性がある。そこで本稿では、くず餅乳酸菌の免疫賦活作用をさらに詳しく調査するため、くず餅乳酸菌を含む顆粒状食品を摂取することにより健常な人の免疫機能に影響が生じるかについて検証したので報告する。

1) 株式会社船橋屋

2) 株式会社ニュートネクス

表1 研究食品の概略

種類	研究食品
製造年月日	2022年4月
形状	顆粒 (2g/1包)
原材料	乳酸菌 (0.4g), デキストリン (1.6g)
関与成分 (1包当たり)	くず餅乳酸菌 F1805 株を 400 億個以上
保存条件	直射日光を避け、室温暗所で保存する
使用期限	2022年11月
研究食品提供者	株式会社船橋屋

## I. 対象および方法

## 1. 研究機関

一般財団法人船員保険会品川シーズンテラス検診クリニック（東京）を試験機関とし、佐上徹医師を試験総括責任医師として、オープン試験を実施した。測定は株式会社ケイ・エス・オーの管理のもと、株式会社 LSI メディエンス、株式会社矢内原研究所、株式会社栄養・病理学研究所にて行った。本試験は、株式会社船橋屋の資金提供により実施された。

## 2. 対象者

対象となる研究対象者は、下記の選択基準をすべて満たし、かつ除外基準に抵触しないものとした。《選択基準》

- ① 同意取得時の年齢が 20 歳以上 65 歳未満の日本人男女
- ② 発熱や体調不良になる年が多い者
- ③ 新型コロナウイルス、インフルエンザウイルスなどのワクチンを各検査日 2 週間前から検査前日までに接種する予定のない者
- ④ 研究の目的・内容について十分な説明を受け、同意能力があり、よく理解した上で自発的に参加を志願し、書面で研究参加に同意した者

## 《除外基準》

- ① 糖尿病、腎・肝疾患、心疾患などの重篤な疾患、甲状腺疾患、副腎疾患、その他代謝性疾患に罹患している者、治療中の者、既往歴がある者
- ② 慢性疾患を有し、日常的に医薬品を服用している者
- ③ 免疫に影響を及ぼす可能性のある医薬品（抗ヒスタミン剤、抗アレルギー剤、点鼻薬、感

表2 研究食品の栄養成分

乳酸菌 FD 末	0.4 g +
デキストリン	1.6 g
【栄養成分※】	
エネルギー	7.7 kcal
たんぱく質	0 g
脂質	0 g
炭水化物	1.9 g
食塩相当量	0 g

※：デキストリン 2 g 当たりの計算値として

冒薬等)、特定保健用食品や機能性表示食品、健康食品を常用している者

- ④ 乳酸菌およびビフィズス菌を多く含む食品類および乳酸菌製剤・サプリメントの服用・摂取を止めることができない者
- ⑤ 適正飲酒（1日平均純アルコールで約 20 g 程度）を超えた飲酒を常に行っている者
- ⑥ 各検査 2 日前からの禁酒が不可能な者
- ⑦ 食物アレルギーを有するとの申告があった者
- ⑧ 昼夜交代制勤務または重量物運搬等の肉体的労働に従事している者
- ⑨ 完全在宅勤務者
- ⑩ ドライマウスと診断された者
- ⑪ 過度な喫煙者（1日当たり 21 本以上の喫煙者）
- ⑫ 消化吸収に影響を与える消化器疾患および消化器の手術歴がある者（虫垂炎を除く）
- ⑬ 妊娠している者、研究期間中に妊娠の意思がある者、授乳中の者
- ⑭ スクリーニング検査を行う血液検査から、研究対象者として不適当と判断された者
- ⑮ 薬物依存、アルコール依存の既往歴あるいは現病歴がある者

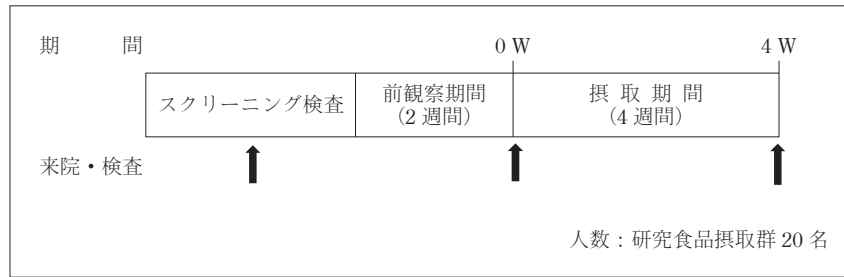


図1 研究スケジュール

- ⑯ 他の食品の摂取や医薬品を使用する研究，化粧品および医薬品などを塗布する研究に参加中の者，同意取得1カ月以内に他の研究に参加していた者，参加の意思がある者
- ⑰ 研究期間中，海外旅行等，海外への渡航を予定している者
- ⑱ 同意取得日からさかのぼって1カ月以内に200 mLまたは3カ月以内に400 mLを超える採血，成分献血をした者
- ⑲ その他，研究責任者が研究対象者として不適当と判断した者

### 3. 倫理審査委員会および被験者の同意

本試験は「ヘルシンキ宣言（2013年10月WMAフォルタレザ総会）」および「人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針」（令和3年3月23日）に準拠し，常に研究対象者の人権保護に配慮し，倫理審査委員会の承認を得て，医師の管理の下に実施した。対象者には研究実施前に研究説明会および文書にて本試験の目的と方法を十分に説明し，対象者から自由意思による同意を書面にて得た。また本研究への参加は研究参加中に対象者が本研究以外の疾患に関する治療行為を受けることを制限するものではなかった。

### 4. 試験品

試験品は，株式会社船橋屋より提供された，くず餅乳酸菌 F1805 株を400億個含む，顆粒状の食品である。試験品の詳細を表1に，栄養成分を表2に示す。

乳酸菌の量は，ポジティブコントロールとして乳酸菌 *Lactobacillus acidophilus* JCM1132 を用いて決定した。試験品は原料受け入れから包装後まで厳重な品質管理を行い，関係者以外が触れることができない環境下で対象者に配布されるまで管理された。

### 5. 試験スケジュール

試験スケジュールを図1に示す。試験は2022年2月～6月に実施した。

スクリーニング検査時に同意を取得し，問診・身長測定・体重測定・各臨床検査・血圧・脈拍数測定，アンケート調査を行い，対象者を決定した。その後前観察期間を2週間おき，4週間試験品を摂取させた。試験品の摂取方法は以下とした。

1日に1回，1包を，夕食後にコップ1杯（100 mL程度）の水またはぬるま湯とともに摂取させた。摂取し忘れた場合は，当日中に摂取するものとして，翌日に2日分摂取することはないようにした。

試験期間中は食習慣および生活習慣を大きく変えないこと，免疫に影響が及ぼす可能性がある医薬品やサプリメント，健康食品を摂取しないこと，過度のアルコールの摂取をしないことなどを指示した。また，研究期間中は毎日WEB日誌と体調アンケート，食事日誌を記録することを義務付けた。

### 6. 評価項目

#### 1) 主要評価項目

pDC 活性

#### 2) 副次的評価項目

① 唾液中 sIgA（濃度，分泌速度，分泌量）

② 血中 IFN- $\alpha$

③ CD56/CD16（NK細胞）

④ 体調アンケート：摂取開始日（0週），2週間前から摂取4週検査前日まで，鼻水，鼻づまり，くしゃみ，喉の痛み，声のかすれ，咳，頭痛，倦怠感，寒気，熱っぽさの症状を5段階（全く症状がない，ほんの少し症状がある，少し症状がある，中程度の症状がある，ひどい症状がある）で判定した結果を毎日記録させた。なお，何らかの理由によりWeb上での入力が困難となった場合には，紙媒体

表3 研究対象者の一般背景 (定量項目)

Parameter	単位	mean ± SD
年齢	歳	46.0 ± 12.1
身長	cm	165.4 ± 8.8
体重	kg	59.2 ± 7.3
BMI		21.6 ± 1.5
収縮期血圧	mmHg	116.7 ± 14.2
拡張期血圧	mmHg	73.6 ± 12.8
脈拍数	bpm	74.1 ± 15.0
白血球数	/μL	5740 ± 1216
赤血球数	×10 <sup>4</sup> /μL	474.1 ± 43.8
ヘモグロビン	g/dL	14.1 ± 0.9
ヘマトクリット	%	44.4 ± 3.0
血小板数	×10 <sup>4</sup> /μL	25.4 ± 5.7
白血球像 (Neut)	%	53.9 ± 7.5
白血球像 (Lymphocyte)	%	34.1 ± 7.2
白血球像 (Mono)	%	5.9 ± 0.8
白血球像 (Eosino)	%	5.3 ± 5.2
白血球像 (Baso)	%	0.8 ± 0.3
総蛋白	g/dL	7.0 ± 0.4
アルブミン	g/dL	4.4 ± 0.2
AST	U/L	19.6 ± 4.8
ALT	U/L	17.2 ± 5.2
LD (IFCC)	U/L	162.8 ± 27.4
総ビリルビン	mg/dL	0.8 ± 0.3
ALP (IFCC)	U/L	65.5 ± 17.8
γ-GT	U/L	28.8 ± 15.8
尿素窒素 (UN)	mg/dL	14.2 ± 2.6
クレアチニン	mg/dL	0.81 ± 0.12
尿酸 (UA)	mg/dL	5.3 ± 1.2
ナトリウム (Na)	mEq/L	140.8 ± 1.7
クロール (Cl)	mEq/L	102.8 ± 1.6
カリウム (K)	mEq/L	4.2 ± 0.3
カルシウム (Ca)	mg/dL	9.2 ± 0.3
総コレステロール	mg/dL	210.0 ± 25.1
LDL-コレステロール	mg/dL	121.5 ± 22.7
HDL-コレステロール	mg/dL	67.4 ± 15.2
TG (中性脂肪)	mg/dL	82.9 ± 54.2
グルコース	mg/dL	61.5 ± 9.5
HbA1c (NGSP)	%	5.5 ± 0.3
CD86 pDC Count		108.3 ± 75.7
CD86 MFI		833.4 ± 116.9
CD86 Fluorescence minus one 補正值		32.3 ± 17.3
CD86 MFI 補正值		781.1 ± 115.0
HLA-DR pDC Count		81.2 ± 67.8
HLA-DR MFI		21700.4 ± 4354.4
HLA-DR Fluorescence minus one 補正值		182.3 ± 28.1
HLA-DR MFI 補正後		21527.1 ± 4351.2
尿 pH		6.1 ± 0.7
尿比重		1.021 ± 0.008

n = 20

のアンケート用紙に記入をさせることとした。

⑤ SF-36<sup>®</sup> v2 スタンダード版<sup>4)</sup>

3) 安全性評価項目

① 問診

② 体重 (BMI)

表4 研究対象者の一般背景 (尿定性項目スコア化)

Parameter	mean ± SD
尿蛋白定性	0.05 ± 0.22
尿糖定性	0.00 ± 0.00
尿ウロビリノーゲン定性	0.00 ± 0.00
尿ビリルビン定性	0.00 ± 0.00
尿中ケトン体	0.00 ± 0.00
尿潜血反応	0.15 ± 0.67

n = 20

表5 研究対象者の一般背景 (定性項目)

項目	例数
性別 (男性:女性)	13:7
閉経 (前:後)	4:3
尿蛋白定性 (-:±)	19:1
尿糖定性 (-:その他)	20:0
尿ウロビリノーゲン定性 (±:その他)	20:0
尿ビリルビン定性 (-:その他)	20:0
尿中ケトン体 (-:その他)	20:0
尿潜血反応 (-:2+)	19:1

n = 20 [閉経 (n = 7) を除く]

③ 血圧・脈拍数

④ 自覚症状

⑤ 有害事象

## 7. 解析方法

各データについて平均値, 標準偏差を求めた。体調アンケート以外の評価項目は, スクリーニング検査と摂取開始後4週の比較を対応のあるt検定 (両側検定) で統計解析を行った。体調アンケートは, 前観察期間と摂取2週, 摂取4週のかぜ様症状の累積発症日数を集計し統計解析を行った。

また, 必要に応じて適切な解析を行った。いずれの統計解析においても, 有意水準は両側検定5%とした。統計解析ソフトはIBM SPSS Statistics 24を用いた。

## II. 結 果

### 1. 被験者背景

応募のあった41名にスクリーニング検査を実施した。選択基準および除外基準ののってスクリーニングし, 結果20名で試験をスタートした。

表3~5に対象者の一般背景を示す。

脱落者はおらず, 20名全員が試験を完了し, 試

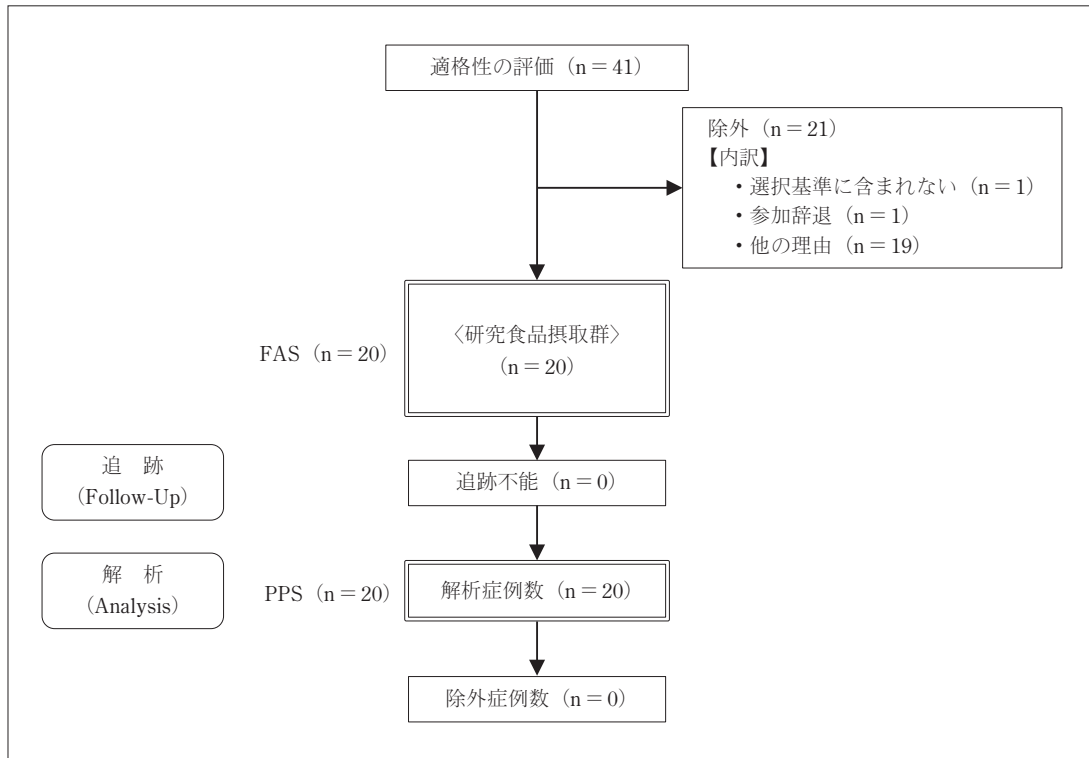


図2 解析対象者の内訳とフロー

験品摂取率も問題なく100%であったので、解析対象者は20例であった。

解析対象者のフローを図2に示す。

## 2. 主要評価項目

### 1) pDC 活性

pDC 活性測定試験は、CD123 陽性かつ CD304 陽性細胞を pDC (pDC ; plasmacytoid dendritic cells) と定義し、CD86 および HLA-DR の発現強度 (Mean Fluorescence Intensity ; M.F.I.) を解析する、4 種類のモノクローナル抗体 (CD123/CD304/CD86/HLA-DR) を用いた 4 Colors 解析である。

いずれの項目でも 4 週間後の数値は摂取開始時に比べて有意な変動は認められなかった (Data not shown)。しかし、指標となる CD86 (MFI 補正後) の数値がスクリーニング検査時より摂取開始時の間に 100 以上の上昇を縮めている被験者がみられたことから、それらを除外して層別解析を行った。結果を表 6 に示す。

CD86 pDC Count, CD86 Fluorescence minus one 補正值, HLA-DR pDC Count, HLA-DR MFI, HLA-DR Fluorescence minus one 補正值, HLA-DR MFI 補正後では、試験期間中に有意な変動は認め

られなかった。CD86 MFI, CD86 MFI 補正後では、摂取後 4 週で摂取開始時 (0 週) に比べ有意に高い値を示した。

## 3. 副次的評価項目

### 1) 唾液中 sIgA (濃度, 分泌速度, 分泌量)

唾液中 sIgA 濃度分泌速度では、摂取後 4 週で摂取開始時 (0 週) に比べ有意に高い値を示した。唾液中 sIgA 濃度, 唾液検体量, 唾液分泌量では、試験期間中に有意な変動は認められなかった。唾液中 sIgA の解析結果を表 7 に示した。

### 2) 血液中 IFN- $\alpha$

血液中 IFN- $\alpha$  測定値は 4 週摂取後の数値は摂取開始時 (0 週) と比べて有意な変動は認められなかった (Data not shown)。

### 3) CD56/CD16 (NK 細胞)

CD56/CD16 (NK 細胞) の測定値は 4 週摂取後の数値は摂取開始時 (0 週) と比べて有意な変動は認められなかった (Data not shown)。

### 4) 体調アンケート

摂取期間中のかぜ様症状の累積発症日数を集計した。

摂取期間中のかぜ様症状の累積発症日数を表 8 に示した。



表6 主要評価項目 (層別解析) の解析結果

Parameter	0 W	4 W	p value
	mean ± SD	mean ± SD	
CD86 pDC Count	126.8 ± 70.8	130.4 ± 75.7	0.858
CD86 MFI	805.0 ± 106.4	920.6 ± 102.7	0.036 *
CD86 Fluorescence minus one 補正值	67.7 ± 19.2	59.3 ± 15.6	0.164
CD86 MFI 補正值	737.3 ± 98.5	861.2 ± 100.5	0.030 *
HLA-DR pDC Count	107.6 ± 72.2	111.8 ± 72.7	0.841
HLA-DR MFI	24939 ± 5127	2462.3 ± 4620	0.624
HLA-DR Fluorescence minus one 補正值	168.6 ± 66.9	149.9 ± 18.7	0.430
HLA-DR MFI 補正後	24770 ± 5138	24473 ± 4614	0.646

n = 9, p value : 対応のある t 検定 ; \*p < 0.05

表7 唾液中 sIgA の解析結果

Parameter	単位	0 W	4 W	p value	Δ
		mean ± SD	mean ± SD		mean ± SD
唾液中 sIgA 濃度	μg/mL	119.2 ± 54.4	135.8 ± 69.5	0.122	16.6 ± 45.9
唾液検体量	mL/2 min	1.6 ± 0.4	1.6 ± 0.4	0.337	0.1 ± 0.4
唾液分泌量	mL/min	0.8 ± 0.2	0.8 ± 0.2	0.337	0.0 ± 0.2
唾液中 sIgA 分泌濃度	μg/min	90.6 ± 41.4	108.8 ± 51.8	0.019 *	18.2 ± 31.8

n = 20, p value : 対応のある t 検定 ; \*p < 0.05

表8 摂取期間中のかぜ様症状の累積発症日数

項目	全く 症状がない	ほんの少し 症状がある	少し 症状がある	中程度の 症状がある	ひどい 症状がある	合計
鼻水	520	188	109	19	4	840
鼻づまり	543	221	71	4	1	840
くしゃみ	589	201	38	11	1	840
喉の痛み	688	98	46	8	0	840
声のかすれ	715	95	23	7	0	840
咳	656	111	66	7	0	840
頭痛	711	95	20	13	1	840
倦怠感	573	192	42	22	11	840
寒気	800	29	9	1	1	840
熱っぽさ	191	31	10	6	2	840

#### 《解析結果①》

“全く症状がない”のみを「症状なし」，“ほんの少し症状がある”，“少し症状がある”，“中程度の症状がある”，“ひどい症状がある”を「症状あり」として，前観察期から2週ごとの累積発症日数を集計して前観察期との比較を行った。

鼻水，くしゃみ，喉の痛み，声のかすれ，咳，頭痛，倦怠感では，有意な変動は認められなかった。

鼻づまり，寒気では，3から4週で前観察期に比

べ発症が有意に減少した。

熱っぽさでは，1～2週，3～4週で前観察期に比べ症状が有意に減少した。

2週ごとのかぜ様症状の累積発症日数および解析結果①を表9に示した。

#### 《解析結果②》

“全く症状がない”，“ほんの少し症状がある”を「症状なし」，“少し症状がある”，“中程度の症状がある”，“ひどい症状がある”を「症状あり」とし

表9 2週ごとのかぜ様症状の累積発症日数および解析結果①

項目	時期	症状〔例数 (%)〕		合計	p value 1	p value 2
		あり	なし			
鼻水	前観察期	114 (40.7)	166 (59.3)	280		
	1～2週	109 (38.9)	171 (61.1)	280	0.666	0.730
	3～4週	97 (34.6)	183 (65.4)	280	0.138	0.163
鼻づまり	前観察期	116 (41.4)	164 (58.6)	280		
	1～2週	98 (35.0)	182 (65.0)	280	0.117	0.139
	3～4週	83 (29.6)	197 (70.4)	280	0.004 *	0.005 *
くしゃみ	前観察期	95 (33.9)	185 (66.1)	280		
	1～2週	82 (29.3)	198 (70.7)	280	0.237	0.275
	3～4週	74 (26.4)	206 (73.6)	280	0.053	0.065
喉の痛み	前観察期	49 (17.5)	231 (82.5)	280		
	1～2週	54 (19.3)	226 (80.7)	280	0.586	0.663
	3～4週	49 (17.5)	231 (82.5)	280	1.000	1.000
声のかすれ	前観察期	43 (15.4)	237 (84.6)	280		
	1～2週	41 (14.6)	239 (85.4)	280	0.813	0.906
	3～4週	41 (14.6)	239 (85.4)	280	0.813	0.906
咳	前観察期	63 (22.5)	217 (77.5)	280		
	1～2週	60 (21.4)	220 (78.6)	280	0.759	0.838
	3～4週	61 (21.8)	219 (78.2)	280	0.759	0.919
頭痛	前観察期	50 (17.9)	230 (82.1)	280		
	1～2週	37 (13.2)	243 (86.8)	280	0.129	0.161
	3～4週	42 (15.0)	238 (85.0)	280	0.362	0.425
倦怠感	前観察期	101 (36.1)	179 (63.9)	280		
	1～2週	83 (29.6)	197 (70.4)	280	0.105	0.126
	3～4週	83 (29.6)	262 (70.4)	280	0.105	0.126
寒気	前観察期	18 (6.4)	266 (93.6)	280		
	1～2週	14 (5.0)	272 (95.0)	280	0.466	0.586
	3～4週	8 (2.9)	272 (97.1)	280	0.045 *	0.069
熱っぽさ	前観察期	27 (9.6)	253 (90.4)	280		
	1～2週	11 (3.9)	269 (96.1)	280	0.007 *	0.011 *
	3～4週	11 (3.9)	269 (96.1)	280	0.007 *	0.011 *

p value 1 : カイ二乗検定, p value 2 : Fisher の直接確率検定 ; \*p < 0.05

て、前観察期から2週ごとの累積発症日数を集計して前観察期との比較を行った。

鼻水、くしゃみ、頭痛、熱っぽさでは、有意な変動は認められなかった。

鼻づまり、喉の痛み、倦怠感では、1～2週、3～4週で前観察期に比べ発症が有意に減少した。

声のかすれ、咳、寒気では、3～4週で前観察期に比べ発症が有意に減少した。

2週ごとのかぜ様症状の累積発症日数および解析結果②を表10に示した。

5) SF-36<sup>®</sup>v2 スタンダード版

PF, RP, BP, RE, PF\_N, RP\_N, BP\_N, RE\_N, 3PCS, 3RCS, 2PCS\_U, 2PCS\_Jでは、試験期間中に有意な変動は認められなかった。

GH, VT, SF, MH, GH\_N, VT\_N, SF\_N, MF\_N, 3MCS, 2MCS\_U, 2MCS\_Jでは、摂取後4週で摂取開始時(0週)に比べ有意に高い値を示した。結果を表11に示す。

#### 4. 安全性評価項目

1) 有害事象

本試験実施中に“重篤な有害事象”の発生は認め

表 10 2週ごとのかぜ様症状の累積発症日数および解析結果②

項目	時期	症状〔例数 (%)〕		合計	p value 1	p value 2
		あり	なし			
鼻水	前観察期	48 (17.1)	232 (82.9)	280		
	1～2週	45 (16.1)	235 (83.9)	280	0.733	0.820
	3～4週	39 (13.9)	241 (86.1)	280	0.294	0.351
鼻づまり	前観察期	38 (13.6)	242 (86.4)	280		
	1～2週	19 (6.8)	261 (93.2)	280	0.008 *	0.011 *
	3～4週	19 (6.8)	261 (93.2)	280	0.008 *	0.011 *
くしゃみ	前観察期	20 (7.1)	260 (92.9)	280		
	1～2週	18 (6.4)	262 (93.6)	280	0.737	0.867
	3～4週	12 (4.3)	268 (95.7)	280	0.145	0.202
喉の痛み	前観察期	33 (11.8)	247 (88.2)	280		
	1～2週	18 (6.4)	262 (93.6)	280	0.028 *	0.039 *
	3～4週	3 (1.1)	277 (98.9)	280	0.000 *	0.000 *
声のかすれ	前観察期	15 (5.4)	265 (94.6)	280		
	1～2週	10 (3.6)	270 (96.4)	280	0.306	0.414
	3～4週	5 (1.8)	275 (98.2)	280	0.023 *	0.038 *
咳	前観察期	31 (11.1)	249 (88.9)	280		
	1～2週	27 (9.6)	253 (90.4)	280	0.579	0.678
	3～4週	15 (5.4)	265 (94.6)	280	0.014 *	0.020 *
頭痛	前観察期	14 (5.0)	266 (95.0)	280		
	1～2週	10 (3.6)	270 (96.4)	280	0.404	0.532
	3～4週	10 (3.6)	270 (96.4)	280	0.404	0.532
倦怠感	前観察期	41 (14.6)	239 (85.4)	280		
	1～2週	19 (6.8)	261 (93.2)	280	0.003 *	0.004 *
	3～4週	15 (5.4)	265 (94.6)	280	0.000 *	0.000 *
寒気	前観察期	5 (1.8)	275 (98.2)	280		
	1～2週	6 (2.1)	274 (97.9)	280	0.761	1.000
	3～4週	0 (0.0)	280 (100.0)	280	0.025 *	0.061
熱っぽさ	前観察期	9 (3.2)	271 (96.8)	280		
	1～2週	6 (2.1)	274 (97.9)	280	0.432	0.602 *
	3～4週	3 (1.1)	277 (98.9)	280	0.080	0.142 *

p value 1 : カイ二乗検定, p value 2 : Fisher の直接確率検定 ; \* $p < 0.05$

られなかった。試験期間中に認められた有害事象は20症例中1例3件であった。すべての有害事象において研究責任者により研究食品との因果関係は“関連なし”と判定され、副作用は0件であった。

#### 2) 問診・自覚症状

問題となる所見はなかった。

#### 3) 体重・BMI

試験期間中に有意な変動はなかった。

#### 4) 血圧・脈拍数

試験期間中に有意な変動はなかった。

### III. 考 察

我々は、くず餅乳酸菌 (F1805 株) が400億個含まれる食品を摂取することで、免疫機能に影響を及ぼすかを検証するため、健常者20名を対象としたオープン試験を行った。免疫機能の指標として細胞性免疫、液性免疫の両面からの免疫検査とQOL調査と体調アンケートを採用した。その結果、摂取開始時(0週)の数値から異常値を示したものを除いた層別解析において免疫細胞の活性化マーカーであるCD86 MFI, CD86 MFI 補正後の数値が、摂取後



表 11 SF-36 の解析結果

Parameter	0 W	4 W	p value	$\Delta$
	mean $\pm$ SD	mean $\pm$ SD		mean $\pm$ SD
PF	93.8 $\pm$ 8.3	93.5 $\pm$ 7.3	0.772	-0.3 $\pm$ 3.8
RP	88.5 $\pm$ 15.2	91.9 $\pm$ 13.8	0.165	3.4 $\pm$ 10.6
BP	73.9 $\pm$ 19.8	80.0 $\pm$ 16.2	0.136	6.1 $\pm$ 17.5
GH	57.2 $\pm$ 17.8	64.0 $\pm$ 16.2	0.003 *	6.9 $\pm$ 9.1
VT	51.6 $\pm$ 17.4	59.1 $\pm$ 16.0	0.005 *	7.5 $\pm$ 10.5
SF	83.1 $\pm$ 18.7	91.9 $\pm$ 15.3	0.019 *	8.8 $\pm$ 15.2
RE	83.3 $\pm$ 22.0	89.6 $\pm$ 16.0	0.135	6.3 $\pm$ 17.9
MH	67.3 $\pm$ 19.1	74.8 $\pm$ 16.4	0.008 *	7.5 $\pm$ 11.4
PF_N	53.7 $\pm$ 4.5	53.6 $\pm$ 4.0	0.765	-0.1 $\pm$ 2.1
RP_N	51.4 $\pm$ 7.0	53.0 $\pm$ 6.4	0.166	1.6 $\pm$ 4.9
BP_N	49.2 $\pm$ 9.0	52.0 $\pm$ 7.4	0.136	2.8 $\pm$ 7.9
GH_N	49.4 $\pm$ 9.2	52.9 $\pm$ 8.3	0.003 *	3.5 $\pm$ 4.7
VT_N	47.6 $\pm$ 8.5	51.2 $\pm$ 7.8	0.004 *	3.7 $\pm$ 5.1
SF_N	50.1 $\pm$ 8.4	54.0 $\pm$ 6.9	0.018 *	4.0 $\pm$ 6.9
RE_N	49.4 $\pm$ 9.8	52.2 $\pm$ 7.1	0.134	2.8 $\pm$ 8.0
MF_N	50.6 $\pm$ 9.7	54.4 $\pm$ 8.3	0.009 *	3.8 $\pm$ 5.8
3PCS	52.3 $\pm$ 6.7	51.8 $\pm$ 5.5	0.417	-0.6 $\pm$ 3.0
3MCS	47.8 $\pm$ 8.7	52.2 $\pm$ 8.4	0.001 *	4.4 $\pm$ 4.8
3RCS	50.6 $\pm$ 10.3	52.7 $\pm$ 7.7	0.190	2.1 $\pm$ 7.0
2PCS_U	51.6 $\pm$ 5.3	52.5 $\pm$ 4.7	0.151	1.0 $\pm$ 2.9
2MCS_U	48.5 $\pm$ 9.6	53.0 $\pm$ 8.0	0.000 *	4.5 $\pm$ 4.7
2PCS_J	52.3 $\pm$ 6.3	52.9 $\pm$ 4.8	0.569	0.6 $\pm$ 4.9
2MCS_J	48.1 $\pm$ 8.7	52.7 $\pm$ 8.1	0.000 *	4.6 $\pm$ 4.3

PF : Physical functioning 身体機能, RP : Role physical 日常役割機能 (身体)

BP : Bodily pain 体の痛み, GH : General health 全体的健康感, VT : Vitality 活力

SF : Social functioning 社会生活機能, RE : Role emotional 日常役割機能 (精神)

MH : Mental health 心の健康

PCS : Physical component summary 身体的側面の QOL サマリースコア

MCS : Mental component summary 精神的側面の QOL サマリースコア

RCS : Role/Social component summary 役割 / 社会的側面の QOL サマリースコア

n = 20, p value : 対応のある t 検定 ; \*p < 0.05

4週で摂取開始時(0週)に比べ有意に高い値を示した。唾液中 sIgA 濃度分泌速度では、摂取後4週で摂取開始時(0週)に比べ有意に高い値を示した。液性免疫マーカーではほかの指標では有意差は認められなかったものの、唾液中 sIgA 濃度分泌速度では、摂取後4週で摂取開始時(0週)に比べ有意に高い値を示した。また被験者20人に対する体調アンケート、QOL 調査では一部の項目で摂取後4週で摂取開始時(0週)に比べ有意な改善を示した。上記のことから、試験品を摂取することで免疫機能に影響を与えることが示唆された。また、4週間の試験品の摂取期間中に有害事象、ならびに試験品が原因とみられる体調変化は認められず、試験品を摂取することによる安全性が確認された。

本試験では試験品の免疫機能に対する効果を確認するために免疫検査と被験者の体調を調査するアンケート、ならびに QOL を調査するアンケートを評価指標として採用した。

免疫とは疫病から免れるため細菌やウイルスなどの外部からの侵入を防いだり、体にできてしまった健康を害する細胞を除去するための人体に内在した仕組みのことであり、免疫細胞により異物を攻撃する細胞性免疫と抗体を産生して異物に対抗する液性免疫などがある<sup>4)</sup>。本試験では、免疫細胞の一つとして考えられる形質細胞様樹状細胞(pDC; plasmacytoid dendritic cells)<sup>5)</sup>としてCD123陽性細胞、CD304陽性細胞を定義し、そのマーカーとしてCD86およびHLA-DRの発現強度(Mean

Fluorescence Intensity ; M.F.I.) を測定することを主要アウトカムとして設定した。ほかに副次アウトカムとして免疫細胞のNK細胞活性、また液性免疫では免疫抗体としてコンセンサスのとれている唾液中SIgA、血液中IFN- $\alpha$ <sup>6)</sup>について測定した。また摂取した時の身体への影響を確認するため、かぜ様症状の有無を確認する体調アンケートとSR-36<sup>®</sup>テストも行った。SR-36<sup>®</sup>テストは世界で最も広く使われている自己報告式の健康状態調査票であり、健康関連QOL調査として信頼性・妥当性を持つ尺度<sup>7)</sup>である。いずれの指標も免疫機能の検証には幅広く使用されている指標<sup>8)</sup>である。

本試験の主要アウトカムであるpDC活性試験では、FASに該当する解析集団では有意な差が確認できなかった。しかしながら、被験者一人一人の試験結果を詳細に確認していくうち、被験者を選定するスクリーニング検査で測定した数値と摂取開始時(0週)にかけて「CD86 MFI 補正後」の数字が100以上上昇している傾向がみられた。スクリーニング検査時から摂取開始時には被験者には試験品も摂取させておらず、かつ大きな環境の変化も想定していない。pDC活性化を測定するための活性化マーカーであるCD86は免疫賦活化を確認する試験で測定指標として採用されることも多く<sup>9)10)</sup>、生活環境や食生活に大きな変化がない限り大きく変動することは考えられない。pDC活性は温度ストレスによって低下することが知られているが、スクリーニング時から摂取開始までに大きな気温の変化はなかった。したがって、急激な数値の変動があった被験者は、生活環境あるいは食生活に試験品以外の免疫に干渉するなんらかのストレスあるいはシグナルにさらされている環境下にあると判断し、それらの被験者を除いた被験者を解析集団として層別解析した。層別解析において、HLA-DRマーカーがらみの変動はみられなかったものの、CD86のMFI補正後とCD86 MFIでは有意な改善を示した。このHLA-DRとCD86の発生が違う理由は残念ながらわからないが、試験品の摂取がトリガーとなり、CD86を刺激することでpDC活性が上昇したことが示された。

また、本試験では、免疫賦活化試験で指標とされる免疫細胞NK細胞や血中IFN- $\alpha$ 、唾液知中sIg-Aについても影響を確認したが、唾液sIg-A濃度分泌速度は4週摂取後に摂取開始時に比べ有意に高く

なったものの、その他の項目では有意な差が認められなかった。唾液中sIg-Aは急性の高強度運動で一過性に低下することが報告<sup>11)</sup>されたり、心理要因も影響するという報告<sup>12)</sup>もあり、乳酸菌により産生誘導するという報告<sup>13)</sup>がある。乳酸菌を含む本試験品の摂取によりsIg-Aの産生誘導が起こり、分泌速度が高まったことが推測されるが、分泌量ならびに濃度に影響がないことから、トータル産生量には影響がなかったと考えられ、その他の免疫指標IFN- $\alpha$ やNK細胞活性も含めて今後さらに長く摂取するなどの状況下での検討が望まれる。

また、試験品の摂取によるかぜ様症状の有無に対する影響を確認する体調アンケートでは、自覚アンケートで「全く症状がない」群と「少しでも自覚症状がある」とする群とに分け、症状を2週ごとに比較した結果、鼻づまり、寒気、熱っぽさで前観察期と比較して有意に減少した。また、顕著に症状が出ていないと思われる「ほんの少し症状がある」を「症状なし」に含めカウントする解析では、鼻づまり、喉の痛み、咳、倦怠感、声のかすれ、咳、寒気など多くの項目で、前観察期と比較して3~4週目で有意に減少した。対象が自覚するかぜ様症状に関するアンケートであるため客観的な統計がしばらく、また風邪の引きやすさは本人の免疫力だけでなく、気候やまわりの環境、生活習慣など多くのファクターがトリガーとなることから、試験品の影響についての判断は難しい。しかしながら、摂取4週間の期間中、かぜ様症状の発症が「有意に高くなった」症状はなく、いずれも減少の傾向を示していることから、試験品の摂取による一定の効果は示唆されたと考えられる。

健康関連QOL (HRQOL : Health Related Quality of Life) を測定するSF-36<sup>®</sup> v2<sup>7)14)15)</sup>では、GH、VT、SF、MH、GH\_N、VT\_N、SF\_N、MF\_N、3MCS、2MCS\_U、2MCS\_Jで、摂取後4週で摂取開始時(0週)に比べ有意に高い値を示した。SF-36<sup>®</sup> v2では8つの下位尺度RF (Physical functioning : 身体機能)、RP (Role physical : 日常役割機能(身体))、BP (Bodily pain : 体の痛み)、GH (General health : 全体的健康感)、VT (Vitality : 活力)、SF (Social functioning : 社会生活機能)、RE (Role emotional : 日常役割機能(精神))、MH (Mental health : 心の健康)から身体的側面(PCS :

Physical component summary) を算出し、また、精神的側面のQOL (MCS : Mental component summary), 役割 / 社会的側面のQOL (RCS : Role/Social component summary) を算出する (「N」はNBS : Norm-based Scoring のNであり、国民標準値に基づいた得点であることを示す)。本試験では、試験品を摂取することで、全体的健康感、活力、社会生活機能、心の健康、精神的側面QOLの項目で有意な高値が認められた。

QOLの改善は免疫とは直接的には関わらないが、免疫賦活により健康的な生活を送ることができQOLの改善も見込めることから、免疫賦活効果を検証する試験では併せて検討されることが多い<sup>13)</sup>。本試験においても、試験品の摂取により、主に精神的側面ならびに全体的健康感などのQOLが改善されたことが示唆された。

上記より、免疫マーカー、ならびに主観調査での結果から、本試験品を摂取することにより免疫機能改善の効果の可能性が示唆されたと判断できる。

ただし、免疫マーカーでは結果が芳しくない項目、ならびに層別解析を行った結果であること、また、体調アンケートやQOL調査は免疫機能の検証には汎用的に検討される項目ではあるが、主観をもとに判断される指標であることから、今後、より大きなサンプルサイズでの検証が望まれる。

本試験での結果をプレ試験として、今後はより多くの対象ならびに長期の摂取、プラシーボ効果などのバイアスを回避するプラセボ対照二重盲検試験など、より深い検証により本試験品の免疫機能改善効果を検証していく必要があると考えられる。

## ま と め

くず餅乳酸菌 (F1805株) を含む試験品を摂取することでpDC活性試験の層別解析のうち一部のマーカー、体調アンケート、唾液中sIgA、SF-36<sup>®</sup> v2にて有意な変化が認められ、本食品を摂取することで免疫機能を総合的に改善する効果の可能性が示された。また同時に試験期間中に有害事象は認められず、本食品の安全性が示唆された。ただし、本食品が免疫機能を有すると断定するまでには至らず、今後のさらなる試験が必要であると考えられた。

## 参 考 文 献

- 1) 河野一世, 柴田英之. 日本食から見る発酵食品の多様性と日本人の健康—肥満を中心に—. 日本調理科学学会誌. 2010; **43**(2): 131-135
- 2) 森地敏樹. 食品における乳酸菌の利用と働き. 日本調理科学学会誌. 2008; **41**(1): 55-60
- 3) 神山恭子, 跡部季子, 上杉泰介. くず餅由来乳酸菌の免疫調節機能によるスクリーニングと免疫賦活作用. 診療と新薬. 2023; **60**(5): 297-307
- 4) 高橋秀実. 基本免疫と獲得免疫. J Nippon Med Sch. 2002; **69**(5): 410-414
- 5) 佐藤克明. 樹状細胞サブセットと機能. アレルギー. 2016; **65**(1): 11-16
- 6) 伊藤量基. 自己免疫疾患の新たな治療ターゲットとしての plasmacytoid 樹状細胞と I 型インターフェロン. Cytometry Research. 2012; **22**(1): 37-46
- 7) 鈴鴨よしみ, 福原俊一. SF-36<sup>®</sup>日本語版の特徴と活用. 日本腰痛会誌. 2002; **8**(1): 38-43
- 8) Oda H, Kubo S, Tada A, et al. Effects of Bovine Lactoferrin on the Maintenance of Respiratory and Systemic Physical Conditions in Healthy Adults-A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. Nutrients. 2023; **15**(18): 3959.
- 9) Jin Y, Hu Y, Han D, et al. Chronic heat stress weakened the innate immunity and increased the virulence of highly pathogenic avian influenza virus H5N1 in mice. J Biomed Biotechnol. 2011; **2011**: 367846.
- 10) 藤原大介. ウイルス感染防御機能を司るプラズマサイトイド樹状細胞を活性化する *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* JCM5805 に関する研究. 日本乳酸菌学会誌. 2014; **25**(2): 75-80
- 11) 秋本崇之, 赤間高雄, 香田泰子, 他. 高強度トレーニングによる安静時唾液中分泌型IgAの変動. 体力科学. 1998; **47**(2): 245-252
- 12) 井澤修平, 平田 麗, 児玉昌久, 野村 忍. 日常の出来事・気分が唾液中分泌型免疫グロブリンA濃度に与える影響. 生理心理学と精神生理学. 2007; **25**(3): 237-244
- 13) 中川 恭, 甲田哲之, 濱田広一郎, 他. 乳酸菌 B240 の粘膜免疫サポート及び抗感染効果のコンディショニングフードとしての応用. 日本栄養・食糧学会誌. 2020; **73**(2): 55-60
- 14) Fukuhara S, Bito S, Green J, et al. Translation, adaptation, and validation of the SF-36 Health Survey for use in Japan. J Clin Epidemiol. 1998; **51**(11): 1037-1044.
- 15) Fukuhara S, Ware JE Jr, Kosinski M, et al. Psychometric and clinical tests of validity of the Japanese SF-36 Health Survey. J Clin Epidemiol. 1998; **51**(11): 1045-1053.

## Improvement of Immune Function by Kuzumochi Lactic Acid Bacteria (F1805 strain)

Kyoko KAMIYAMA<sup>1)</sup>/Sueko ATOBE<sup>2)</sup>/

General Incorporated Association Kuzumochi Lactic Bacteria Research Institute

1) Funabashiya CO., LTD.

2) Nurtnex Co., Ltd.

### Abstract

**Objective:** This study examined the effect of lactic acid bacteria (strain F1805) isolated from fermented wheat flour, the raw material of Kuzumochi, on the improvement of immune function.

**Methods:** An open study was conducted in which 20 healthy subjects consumed 2g of a granulated food containing 40 billion Kuzumochi lactic acid bacteria (strain F1805) in one packet for 4 weeks. Immune cell pDC activity, salivary sIgA (concentration, secretion rate, and secretion amount), IFN- $\alpha$  in blood, NK cell CD/CD16 ratio, physical condition questionnaire, and SF-36<sup>®</sup>v2 standard were adopted and evaluated as indicators to measure the effect of improving immune function. At the same time, safety was also confirmed by interview, body measurements and the presence of adverse events.

**Results:** In the open study of taking 40 billion Kuzumochi lactic acid bacteria once a day, stratified analysis of pDC activity evaluation of immune cells, which is the primary endpoint, showed significantly higher changes after CD86 MFI and CD86 MFI correction. Regarding secondary items, although no significant improvement was observed in NK cells, there were significant improvements in salivary SgIA concentration, physical condition questionnaire, and some items of the SF-36<sup>®</sup>v2 standard that measures health-related QOL was indicated. Additionally, there were no safety issues.

**Summary:** Kuzumochi lactic acid bacteria (strain F1805) showed significant changes in some items of immune cell activation test, physical condition questionnaires, salivary sIgA, and SF-36<sup>®</sup>v2, indicating that comprehensive intake of this food may have the effect of improving immune function. At the same time, no adverse events were discovered during the study period, therefore the safety was suggested as the result.

《**Research Institute**》 An open study was conducted with the Shinagawa Season Terrace as the testing organization, and Dr. Toru Sagami as the chief physician. Measurement was conducted at LSI Medience Co., Ltd., Yauchihara Research Institute Co., Ltd., and Nutrition and Pathology Research Institute Co., Ltd., under the supervision of KSO Co. Ltd.

**Key word:** lactic acid bacteria, immune function, screening, IL-12, IL-6, IL-10, Kuzumochi, Kuzumochi lactic acid bacteria