



令和3年8月5日

芍薬抽出液を植物由来乳酸菌 *Lactobacillus brevis* 174A で発酵すると酸化および炎症を抑える物質が新生することを発見

【本研究成果のポイント】論文掲載

「立てば芍薬、座れば牡丹」のように、美しい花として知られる芍薬（シャクヤク）の根は漢方薬「芍薬甘草湯」として、急激に起こる筋肉の痙攣を伴うこむら返りの治療薬のほか、急性の腰痛・腹痛などに使われています。

伊予柑の果皮から分離された乳酸菌 *Lactobacillus brevis* 174A で芍薬の抽出液を発酵すると、発酵液中に酸化及び炎症を抑制する化合物が新規に生成することを発見しました。その生物活性物質の構造を解析した結果、ピロガロール（※1）であることが判明しました。具体的には、未発酵の芍薬抽出液の生物活性と比べたところ、強い抗酸化作用が見出されました。さらに、LPS (lipopolysaccharide) 刺激でマクロファージ細胞から放出される炎症性サイトカイン IL-6（※2）及び TNF- α 量は、芍薬発酵液の添加より阻害され、かつ、iNOS (inducible nitric oxide synthase)、IL-6、TNF- α 及び IL-1 β 遺伝子の発現が強く阻害されました。

【概要】

薬用植物は伝統的に病気の治療に利用され、漢方薬（生薬）の素材として広く使われています。広島大学大学院医系科学研究科 未病・予防医学共同研究講座（杉山 政則教授）では、薬用植物が本来持つ薬効の機能を高めるだけでなく、新しい薬効を新生するための技術開発を推進しています。その一環として、さまざまな薬用植物の抽出液を培地として植物由来の乳酸菌株を培養し、得られた醗酵液の生物活性評価を進めています。

今回の重要な知見として、未発酵の芍薬抽出液にはほとんど見いだされませんが、乳酸菌醗酵液では抗酸化機能が増強されたほか、LPS 刺激した RAW264.7 マクロファージ細胞の産生する炎症性サイトカインの発現も有意に抑制されました。

<発表論文>

論文タイトル

Anti-Oxidant and Anti-Inflammatory Substance Generated Newly in Paeoniae Radix Alba Extract Fermented with Plant-Derived *Lactobacillus brevis* 174A

著者

Shrijana Shakya¹、Narandalai Danshiitsoodol¹、Sachiko Sugimoto²、Masafumi Noda¹ and Masanori Sugiyama^{1*}

¹ Department of Probiotic Science for Preventive Medicine、Graduate School of Biomedical and Health Sciences、

掲載雑誌

Antioxidants 2021、 10、 1071. Impact factor = 6.312

(WEB掲載先 <https://doi.org/10.3390/antiox10071071>)

<https://www.mdpi.com/2076-3921/10/7/1071>

【背景】

本学 大学院医系科学研究科（薬）未病・予防医学共同研究講座では、薬用植物、果物、野菜、花などを分離源として、乳酸菌を探索分離し、既に 1,000 株を超える植物乳酸菌株を保存しています。取得した乳酸菌株は分類学的に同定し、できるだけ多くの菌株の全ゲノムを解析しています。

薬用植物にはポリフェノール、食物繊維、配糖体などの化合物が含まれていますが、動物由来の乳酸菌は、植物由来乳酸菌と異なり、植物抽出液を培地として増殖が困難です。私たちの研究グループでは、属 (genus) や種 (species) が違う菌株では代謝系が異なると予想し、幾つかの植物乳酸菌株を生薬エキスで培養することで、生薬成分のバイオアベイラビリティ (生物学的利用率) と生物活性の機能向上を図ることを目指しています。

本研究グループでは以前、バナナの葉から分離した *Lactobacillus plantarum* SN13T を艾葉 (ガイヨウ) 抽出液で培養すると、発酵液中に炎症性サイトカイン IL-8 を強く阻害する化合物が新生することを発見しました (*Front. Microbiol.* 2020, **11**, 1159)。

【研究成果の内容】

今回、*Lactobacillus brevis* 174A を 5% 芍薬エキスで培養し、得られた発酵液の機能を評価し重要な成果が得られました。LPS 刺激により RAW264.7 マクロファージ細胞に炎症性サイトカインの発現を誘導させる実験において、未発酵芍薬エキスもしくは *Lactobacillus brevis* 174A 発酵エキスのいずれかを最終濃度 1 % になるよう添加しました。その結果、24、48、72、96 hr の各発酵液の炎症性サイトカインの発現量は、48 hr 発酵液において最も高い抗炎症作用が認められました。また、未発酵エキスと比べ、発酵液では iNOS と IL-6 遺伝子の発現量が有意に抑制されました。

芍薬エキスにはモノテルペノイド配糖体、タンニン、ペオニフロリン が豊富に含まれています。本研究を通じて、174A株を用いて発酵することで、総フェノール含量が増加することが明らかになりました。新規に生成された生物活性物質を精製し、化学構造解析した結果、新規に生成された抗酸化物質は「ピロガロール」であることが判明しました。なお、48 hr 発酵液中のピロガロール濃度は 92.12 $\mu\text{g/mL}$ でした。

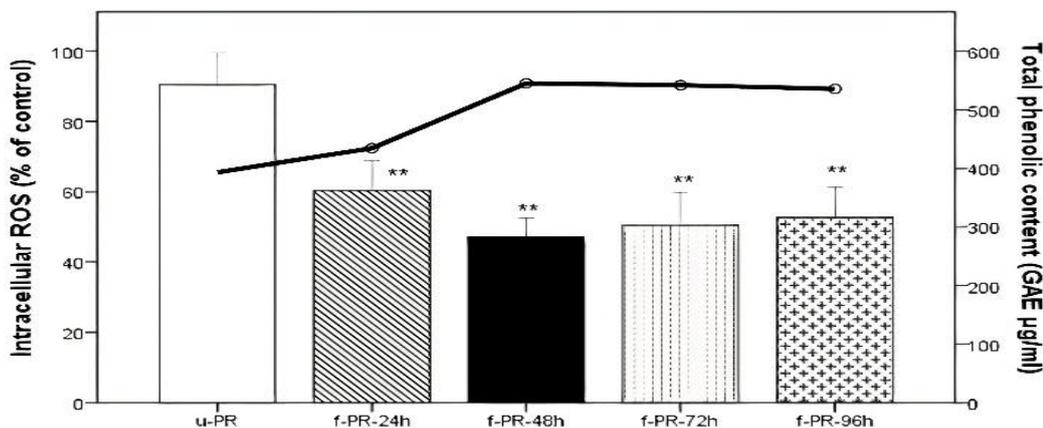
【今後の展開】

漢方薬として用いられる薬用植物の中には抗酸化機能や抗炎症作用を持つものがあるものの、その含有量は極めて少なく、これらの機能を高めたり、新規機能を創出したりするためには、安全性の保障された乳酸菌を利用した発酵技術は重要であり、また発酵条件の検討を通じて生理活性物質を大量に取得することも可能であるため、その技術開発は創薬分野で非常に期待されています。

当研究グループでは生薬と植物由来乳酸菌のコラボレーションにより、病原性細菌やウイルスが感染することにより誘発される炎症性疾患をターゲットとし、創薬の観点から、炎症性サイトカイン阻害剤の開発を推進していきます。

【参考資料】

(a)



(b)

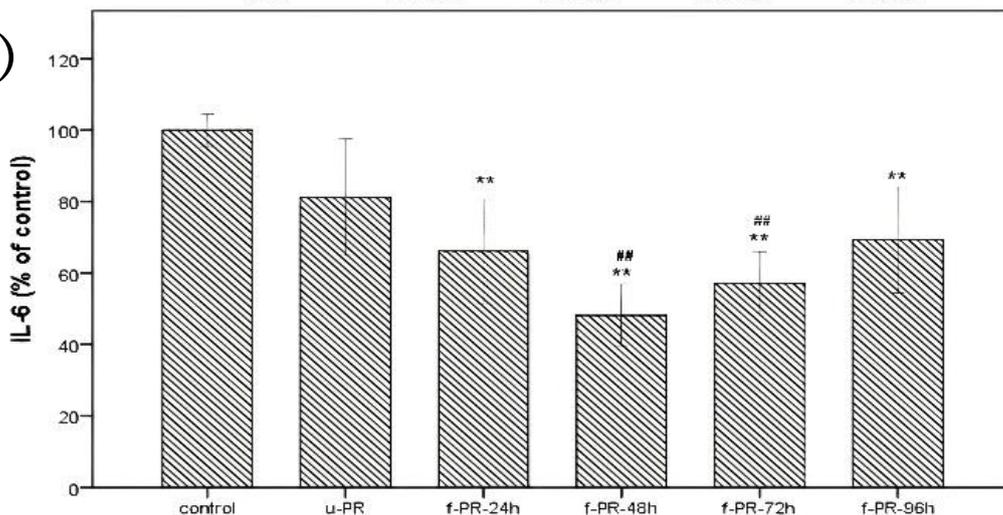


図 1. *Lactobacillus brevis* 174A 芍薬発酵液のマクロファージ細胞に対する活性機能

- (a) 未発酵及び発酵エキスの細胞内 ROS レベルへの影響、総フェノール含量
棒グラフ: 24 時間ごとの細胞内 ROS 量、折れ線グラフ: 総フェノール含量を示す
- (b) 未発酵及び発酵エキスの炎症性サイトカイン IL-6 に対する阻害率

【用語解説】

- (※1) ピロガロール (pyrogallol) : ベンゼンの 1,2,3 位の水素がヒドロキシル基に置換した化合物。本化合物は主要抗酸化物質として高知県の伝統的なお茶である「碁石茶」にも含まれている。
- (※2) IL-6 : 関節リウマチなどの自己免疫疾患では患者の血中に炎症性サイトカイン IL-6 の顕著な増加が認められる。そこで、IL-6 の過剰発現を抑制する物質は IL-6 の異常産生に起因する自己免疫疾患の治療薬として期待できる。

【お問い合わせ先】

大学院医系科学研究科

未病・予防医学共同研究講座 教授 杉山 政則

Tel : 082-257-5280 FAX : 082-257-5284

E-mail : sugi@hiroshima-u.ac.jp

発信枚数 : A4版 4枚 (本票含む)