

8. 海洋深層水由来乳酸菌 LPAK1-13 豆乳発酵粉末の

真核細胞の恒常性維持における新しい機能

○柴田雄次・山田勝久（㈱ディーエイチシー）

【目的】

生体の恒常性維持には細胞内にある小胞体（ER）が欠かせない（金本，2018）。ER は環境からストレスを受けると ER ストレスが惹起され、機能が低下するが、同時に ER ストレス応答を誘導して機能改善を図る仕組みを持っている。これまでの研究から、ヒトの健康に対する海洋深層水（DOW）の多様な効果が上述の ER ストレス応答を介するものである可能性が示唆されている（山田・柴田，2023）。一方、乳酸菌発酵食品も DOW と同様に多様な効果を有することが知られている。そこで本研究では、海洋深層水から分離した乳酸菌で豆乳を発酵し、それが ER ストレス応答に及ぼす影響を調べることを目的とした。なお、本研究における利益相反はない。

【材料および方法】

伊豆赤沢海洋深層水から分離した乳酸菌 *Lactiplantibacillus plantarum* LPAK1-13（以後、LPAK1-13）で調製した発酵豆乳を粉末化し、これを熱水抽出したものを試験溶液とした。なお、*L. plantarum* の基準株で調製した発酵豆乳粉末を熱水抽出したものを比較対照溶液とした。また、未発酵の豆乳粉末を熱水抽出した試験溶液をブランク溶液とした。

次に、真核生物のモデル細胞である出芽酵母（*Saccharomyces cerevisiae* NBRC104081^T）に ER ストレスを惹起させ、試験溶液が代謝能及び ER ストレス応答としてのアポトーシス状態に及ぼす影響を検討した。代謝能の変動は出芽酵母の培養期間に伴う YPD20 培地の重量低下を Meisen の重量法で、アポトーシス状態は市販のキット（アネキシン V-FITC，ナカライテスク）を用いて検討した。

さらに、常法に従って脂肪細胞への分化を誘導した 3T3-L1 細胞（JCRB9014）に対する試験溶液の影響を検討した。なお、脂肪細胞への分化は細胞内に形成される脂肪滴をオイルレッド-O で染色して判断した。

【結果および考察】

温度ストレス負荷（40℃，一晚）で ER ストレスを惹起させた出芽酵母の代謝能は著しく低下し、アポトーシスの進行が認められた。この状態の出芽酵母を試験溶液を添加した YPD20 培地で培養すると、温度ストレス負荷から培養 4 日目に代謝能およびアポトーシス状態が顕著に改善された。またこれらの作用はケミカルシャペロンである 4-フェニル酪酸（4-PBA）を添加した培養にも見られた。なお、比較対照溶液及びブランク溶液を添加した培養でも代謝能の改善が見られたが、LPAK1-13 と比較してその改善の程度は低かった。

次に脂肪細胞への分化により細胞内に顕著な脂肪滴の形成が確認された。このとき、あらかじめ試験溶液を添加した細胞では脂肪滴の形成が抑制されていた。また、4-PBA を添加した細胞においても脂肪滴形成は抑制されていた。

これらの結果から、本研究で見られた試験溶液の効果は ER ストレスを抑制、あるいは ER ストレス応答を活性化して ER 機能の改善を促進したものと推察された。

今後は、試験溶液の ER ストレス応答に対する詳細な作用機序の解明を計画している。

【参考文献】

- ・金本聡自（2018）生化学，90（1），51-59.
- ・山田勝久・柴田雄次（2023）海深研，23（3），95-103.