

原 著

漬物由来乳酸菌 *Lactiplantibacillus plantarum* TK61406 含有キムチの摂取による腸内細菌叢および 排便習慣への影響

東海漬物株式会社

池 田 未 果
杉 浦 俊 作
森 下 美 香

要 旨

漬物由来乳酸菌 *Lactiplantibacillus plantarum* TK61406 (TK61406) を含むキムチの摂取による腸内細菌叢および排便習慣への影響を検討するため、30～40歳代の女性10名を対象に、TK61406を 2.5×10^9 CFU含むキムチ50gを1日1回、2週間連続摂取させた。摂取前、摂取期および摂取後期間において、アプリを用いて排便回数およびブリストルスケールスコアによる便性状を記録した。また、摂取前後に採便を行い、16S rRNA解析による細菌叢解析を実施した。その結果、摂取前後で糞便細菌叢の α 多様性、 β 多様性および門レベルでの構成比に有意な変化は認められなかった。一方、属レベルでは *Ruminococcus torques* group および *Ruminococcus gnavus* group の相対存在量が有意に減少し、*Eggerthella* についても減少傾向が確認された。*Streptococcus* は有意に増加した。排便回数や便性状には有意な変化は認められなかった。以上より、TK61406を含むキムチの2週間連続摂取は腸内細菌叢全体の構成や排便習慣に大きな影響を及ぼさない一方で、一部の細菌群の相対存在量を変化させる可能性が示唆された。

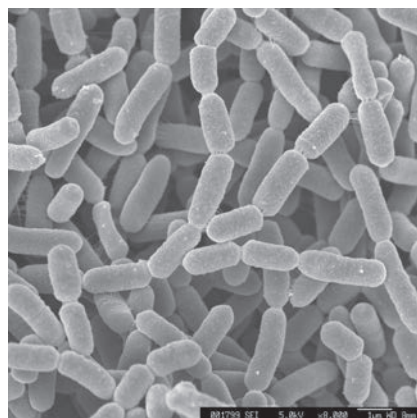
責任著者連絡先：東海漬物株式会社 漬物機能研究所 池田未果
〒441-8142 愛知県豊橋市向井草間町向郷78-1
E-mail : ikeda-mika@kyuchan.co.jp

緒 言

2020年の新型コロナウイルスの蔓延を経て、世界的に人々の健康志向が高まる中で、腸の働きが注目を集めている。腸はかつて食物を消化吸収して排泄するための器官とされてきたが、免疫維持や代謝調節、さらには神経系機能にも関与し、全身の健康状態に影響を及ぼすことが近年の研究で明らかになってきた¹⁾。乳酸菌やビフィズス菌等、腸内で直接的に腸内細菌叢のバランスを改善するプロバイオティクスと、食物繊維やオリゴ糖等、乳酸菌やビフィズス菌等の餌となりこれらを増やす作用を持つプレバイオティクスは、腸内細菌叢のバランスおよび多様性に影響を与えることが知られている。臨床試験を対象とした系統的レビューやメタ解析においては、これらの介入が腸内環境や糖代謝指標に変化をもたらし、生活習慣病予防に寄与する可能性が示唆されている²⁾³⁾。

プロバイオティクスを活用した食品の開発は盛んに行われており、特定の菌株を含む機能性ヨーグルトの臨床研究が多数報告されている。例えば、*Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) は、免疫応答や炎症マーカーへの影響を示す複数の研究が報告され、乳酸菌が腸管免疫調節に寄与する可能性が示唆されている⁴⁾。また、*Bifidobacterium longum* BB536を含む発酵乳の摂取により、*Faecalibacterium*の増加やトリプトファン関連代謝物の変動が確認され、腸内環境の改善に寄与する可能性が示されている⁵⁾。このように、乳酸菌は菌株ごとに特性や生理機能が報告されており、各菌株を食品として摂取可能な形で評価することは、実用性の観点において極めて重要である。

漬物には主に野菜由来の乳酸菌が含まれるものが多数存在する。これまでに、すぎき漬から分離された*Levilactobacillus brevis* KB290株や、すんき漬から分離された*Lactiplantibacillus* (*L.*) *plantarum* SNK12



漬物由来乳酸菌*Lactiplantibacillus plantarum* TK61406を電子顕微鏡で観察した。

写真1 TK61406の電子顕微鏡写真

を用いた臨床試験では、整腸作用や免疫調節作用、ストレス軽減作用等が報告されている⁶⁾⁷⁾。しかしながら、乳酸菌そのものではなく、乳酸菌を含む漬物の摂取が腸内環境や健康状態に及ぼす影響を評価した臨床研究の報告は限られている。

L. plantarum (旧名：*Lactobacillus plantarum*) TK61406 (以下、TK61406) (写真1) は、我々が漬物から分離した乳酸菌1000株の中で、最も高い人工消化液耐性を有する菌株として選抜した生姜漬由来の乳酸菌株である。これまでの研究で、TK61406はラットへの経口投与で腸内*Bifidobacterium*を増加させることを見出した⁸⁾。さらに、TK61406を 2.5×10^9 CFU含む発酵液を12週間連続摂取させた臨床試験においては、プラセボ食群と比べ、試験食群の糞便内*Bifidobacterium*および乳酸菌数が有意に増加し、アンモニア濃度が有意に減少したことから、TK61406の腸内環境改善作用が確認された⁹⁾。また、プラセボ食群に比べ、試験食群の顔肌の目立つ毛穴数が有意に減少したことから、TK61406にはアンモニア濃度を減少させることで血中への腐敗産物の移行が減少し、顔肌の調子を整え

る作用があることも示唆されている⁹⁾。このように、我々はTK61406単体での様々な機能を見出してきたが、漬物として摂取した場合の有用性については未検討である。

キムチは白菜等の野菜と塩、唐辛子、魚介塩辛、ニンニク等を主原料とし、原料由来の乳酸菌による発酵を経て製造される朝鮮半島の代表的な漬物である¹⁰⁾。2025年の国内漬物生産量に占めるキムチの割合は約26%であり、全漬物カテゴリーの中で最も高い構成比を示している¹¹⁾ことから、日本国内においても広く普及し、日常的に食されている漬物であると言える。キムチは発酵食品としての人気が高く、その健康効果にも注目が集まっている。一方で、国内で流通するキムチ製品には、安全性や品質担保の観点から発酵工程を伴わない、あるいは発酵を制御する手法で製造されるものが数多く存在する¹²⁾。また、キムチ由来乳酸菌には機能性が報告されている菌株が存在するものの¹³⁾、市販のキムチ製品ではそれらの菌株が含まれることを保証している例は限られている。

そこで、本試験では30～40歳代の女性10名を対象に、機能性が確認されている乳酸菌TK61406の発酵液を添加したキムチを作製し、2週間連続摂取した際の腸内細菌叢および排便習慣への影響について検討した。

I 対象および方法

1. 倫理

本試験は、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」¹⁴⁾を遵守した。

また、試験実施計画およびその修正は、ウンログ株式会社倫理委員会の承認(申請番号: 19001, 承認日2019年5月10日)の下に行われた。

2. 対象

対象は、排便記録アプリ「ウンログ」(ウンログ、東京)に登録された30～40歳代の女

性を候補とした。選択基準は、排便回数が週3～5回の者、野菜や食物繊維を毎日摂取しない者、ヨーグルトや乳酸菌飲料等を毎日摂取しない者、肌の毛穴やハリが気になる者、キムチを毎日摂取しない者とした。

ただし、除外基準である、試験開始前1カ月以内に他の臨床試験に参加していた者、抗生物質など腸内細菌叢に影響を与える薬剤を服用している者、もしくは1カ月以内に服用していた者、試験期間中に乳酸菌・ビフィズス菌・納豆菌などの生菌類含有食品、オリゴ糖・食物繊維を強化した食品、便通改善に良いとされる健康食品類(特定保健用食品を含む)、大麦を多く含む食品・サプリメントの追加摂取を止めることができない者、緊急に治療を要する疾患に罹患している者、または重篤な合併症を有する者、消化吸収や排便に影響を与える消化器疾患または手術歴がある者、他の食品の摂取や薬剤を使用する試験、化粧品および薬剤などを塗布する試験に参加中または参加の意志がある者、妊娠中・妊娠予定・授乳中の者、その他被験者背景アンケートの回答から被験者として不適切であると判断された者を対象から除外した。被験者に対しては試験内容を十分に説明した後、自由意思により同意を得た。

なお、中止基準である、試験に起因する理由によらず、被験者本人の都合で試験参加の同意を撤回した場合、重篤な有害事象が発現した場合、整腸に影響を及ぼす可能性がある薬剤や健康食品(特定保健用食品を含む)・大麦を多く含む食品・サプリメントを複数回にわたり追加摂取していたことが判明した場合(試験開始以前に摂取していた場合は除外)、試験期間中に抗生物質等の腸内細菌叢に影響を及ぼす薬剤を使用した場合、試験期間中に他の食品の摂取や薬剤を使用する試験に参加していたことが判明した場合、被験者日誌の著しい欠損、試験食品の著しい未摂取、被験者としての信頼性を損なう行為が顕著な場合、

表1 試験食品の栄養成分 (/100g)

項目	成分値
エネルギー (kcal)	64
炭水化物 (g)	13.7
タンパク質 (g)	2.6
脂質 (g)	0.4
糖質 (g)	11.5
水分 (g)	80.6
灰分 (g)	2.7
ナトリウム (mg)	812
食塩相当量 (g)	2.06

試験食品の栄養成分を分析した。

試験開始後に被験者が試験対象外であることが判明した場合に該当した際は、被験者の臨床研究を中止することとした。

3. 試験食品と試験方法

試験食には、乳酸菌 TK61406 (生菌) 発酵液を含む白菜を主原料としたキムチを用いた。試験食の成分値を表1に示した。試験食は白菜・大根・人参・ニラを切断後、200ppmの次亜塩素酸ナトリウム水で殺菌洗浄を行い、調味漬した後にタレと絡めてキムチを作製し、最後にTK61406を含む発酵液を添加した。その後、1パックあたり乳酸菌 TK61406が 2.5×10^9 CFU含まれるよう50gずつ小分け包装した。被験者には、試験食を2週間分送付し、1日1パックずつ摂取させた。摂取方法に制限は設けなかった。

試験期間は前観察期間 (摂取前) 1週間、摂取期間 (摂取期) 2週間、後観察期間 (摂取後) 1週間とした。本試験は2019年2月4日から3月3日にかけて実施した。試験期間中、被験者にはwebアンケートやアプリ内で被験者日誌 (試験食摂取状況、排便回数、便性状、自覚症状、医薬品の服薬状況等) を記録させた。有害事象の有無は被験者日誌により

確認した。

4. 検査方法

1) 被験者日誌による排便状況評価

試験期間中、被験者にはアプリ内で排便回数を記録させた。また、排便時には、ブリストルスケールを用いて便性状を7段階 (コロコロ便: 1点, 硬い便: 2点, やや硬い便: 3点, 普通便: 4点, やや柔らかい便: 5点, 泥状便: 6点, 水様便: 7点) で記録させた。

2) 糞便採取方法

糞便の採取は、各被験者に採便キット (テクノスルガ・ラボ, 静岡) を送付し、前観察期間および後観察期間に被験者各自で自宅にて採便を実施した。すなわち、キットのブラシをチューブから取り出し、場所を変えながら複数回便を採取した。採便後、ブラシをチューブに戻し、保存液と懸濁した。糞便サンプルは、DNA抽出まで室温にて保管した。

5. 細菌叢解析

DNA抽出は、検体到着から7日以内に、NucleoSpin[®] Microbial DNA (Macherey-Nagel, Düren, Germany) を用いて、標準プロトコルに従って実施した。すなわち、500 μ Lの糞便サンプルにキットに付属する溶出バッファー100 μ Lを加え懸濁した。この混合物をMN Bead Tubes Type Bに移し、Buffer MGを40 μ L, Proteinase Kを10 μ Lを添加し、TissueLyser LT (Qiagen, Hilden, Germany) を用いて30Hzで12分間細胞破壊操作を行った。以降の操作手順は、キットの標準プロトコルに従って実施した。抽出DNAはAgencourt AMPure XP (Beckman Coulter Inc., Brea, CA, USA) を用いて精製した。

16S rRNA ライブラリーの作製には、16S (V3-V4) Metagenomic Library Construction Kit for NGS (タカラバイオ, 滋賀) を用いた。まず、第一段階として、16S rRNAのV3-V4領域を341F (5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCTACGGGNGGCWGCAG-3') および806R (5'-GTCTCG

TGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGAC AGGGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') のプライマー対を用いて、94℃で1分の初期変性後、98℃で10秒間、50℃で15秒間、68℃で15秒間の反応を28サイクル繰り返すことで増幅した。得られた増幅産物はAgencourt AMPure XPを用いて精製した。第二段階では、第一段階で得られた増幅産物とインデックスプライマーを混合し、94℃で1分の初期変性後、98℃で10秒間、60℃で15秒間、68℃で15秒間の反応を8サイクル繰り返すことで、増幅産物にシーケンス用バーコードを付加した。その後、第一段階と同様に得られた増幅産物の精製を行った。

二本鎖DNAの定量にはQuant-iT™ PicoGreen™ dsDNA Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) を使用し、各サンプルが等量になるよう混合した後、MiSeq® (Illumina Inc., San Diego, CA, USA) を用いてシーケンス解析を実施した。その後、QIIME2を用いて細菌叢解析を行い、DADA2によるASV (amplicon sequence variants) の作成、SILVA データベース (release 138.1) を用いた分類群の同定、相対存在量 (%), α 多様性指標 (Chao1 index, Shannon index), β 多様性指標 (Bray-Curtis 距離) の算出および主座標分析 (principal coordinates analysis : PCoA) による可視化を行った。

6. 統計解析

キムチの摂取前、摂取期および摂取後における被験者の排便回数および便性状の比較には、Friedman検定を用いた。また、摂取前後における腸内細菌叢の α 多様性指標、各分類群の相対存在量の比較には、Wilcoxonの符号付順位検定 (両側検定) を用いた。 β 多様性指標は、Bray-Curtis距離に基づいて評価し、摂取前後の群間差の検定にはPERMANOVAを用いた。すべての統計解析において、 $p < 0.05$ を統計学的に有意とした。

表2 被験者属性 (n=10)

項目	
年齢 (歳)	37.0 (33.0-39.0)
体重 (kg)	50.5 (45.8-55.5)
BMI	19.5 (18.7-21.5)
性別	女性

表の数値は中央値 (四分位範囲) を示す。
被験者属性について集計した。

II 結 果

1. 被験者

被験者は排便記録アプリ「ウンログ」内で応募のあった416名から、除外基準に該当しない10名を選定した (表2)。試験食品の喫食率は98.6%であった。摂取期間中、1日摂取できなかった被験者が2名 (被験者番号8, 10) 認められたが、いずれも解析対象に含めた。摂取後の採便は、10名中9名が摂取後期間の初めての排便で行われたが、〔被験者番号1〕については摂取後期間1日目、2日目に排便があったものの、事情により採便できず、摂取後期間3日目での採便となった。なお、試験期間を通して、試験食品と因果関係のある有害事象は確認されなかった。

2. 排便状況

被験者アンケートの結果、排便回数は摂取前、摂取期、摂取後の順に減少する傾向を示したが、統計学的有意差は認められなかった (表3)。一方、便性状については有意な変化は認められなかった。

3. 細菌叢解析

α 多様性指標であるChao1 index, Shannon indexにおいて、摂取前後で統計学的な有意差は認められなかった (表4)。また β 多様性指標であるBray-Curtis距離においても、摂取前後の群間において有意な差は認められなかった ($p=0.997$)。PCoAによる可視化におい

表3 TK61406含有キムチの摂取が排便回数および便性状に及ぼす影響

	摂取前	摂取期	摂取後	p 値
排便回数 (／日)	0.93 (0.57-1.21)	0.86 (0.66-1.05)	0.79 (0.61-0.96)	0.059 [†]
便性状 (点)*	4.08 (3.13-4.45)	3.64 (2.89-4.20)	3.78 (3.14-3.96)	1.000

表は各期間の中央値（四分位範囲）およびp値を示す。

統計解析にはFriedman検定（*： $p<0.05$ ，[†]： $p<0.1$ ）を用いた。

*：プリストルスケールスコア（コロコロ便：1点，硬い便：2点，やや硬い便：3点，普通便：4点，やや柔らかい便：5点，泥状便：6点，水様便：7点）

TK61406含有キムチの摂取により，排便回数は摂取前，摂取期，摂取後の順に減少する傾向を示したが，統計学的有意差は認められなかった。便性状についても有意な変化は認められなかった。

表4 TK61406含有キムチの摂取前後における α 多様性指標の比較

項目	摂取前	摂取後	p 値
Chao1 index	234.75 (181.45-246.25)	216.75 (197.33-251.38)	0.846
Shannon index	7.34 (7.08-7.54)	7.27 (7.07-7.60)	0.922

表は中央値（四分位範囲）およびp値を示す。

統計解析にはWilcoxonの符号付順位検定（*： $p<0.05$ ，[†]： $p<0.1$ ）を用いた。

Chao1 index，Shannon indexにおいて，摂取前後で統計学的有意差は認められなかった。

でも，群間の明確な分離は確認されなかった（図1）。

門レベルでの糞便中の細菌叢構成は，Firmicutesが全体の約70%，次いでBacteroidotaが約20%を占めており，両者で全体の約90%を占めていた（図2）。キムチの摂取前後で，群間に統計的な有意差は認められなかった。一方，属レベルでの糞便中細菌叢では，摂取後に*Streptococcus*が有意に増加し（ $p<0.05$ ），*Ruminococcus* (*R.*) *torques* groupおよび*R. gnavus* groupが有意に減少した（ $p<0.05$ ）（表5，図3）。また，*Eggerthella*についても統計学的有意差には至らなかったものの，減少傾向を示した（ $0.05\leq p<0.1$ ）。*Lactiplantibacillus*，*Bifidobacterium*，*Bacteroides*，*Faecalibacterium*，*Blautia*および*Akkermansia*の相対存在量については，摂取前後で有意な変化は認められなかった。

*Lactiplantibacillus*については，摂取後の糞便において被験者10名中7名で検出されなかった。

Ⅲ 考 察

本試験では，30～40歳代の10名の女性を対象に，漬物由来乳酸菌TK61406を 2.5×10^9 CFU含むキムチを2週間連続摂取した際の腸内細菌叢および排便習慣への影響について検討した。

糞便細菌叢解析の結果，TK61406を含むキムチの摂取前後で α 多様性や β 多様性，門レベルでの細菌叢の構成比に統計的に有意な差は認められなかった。本試験における被験者の細菌叢構成比は，Firmicutesが全体の約70%，次いでBacteroidotaが約20%を占めており，両者で全体の約90%を占めていた。これは，健康成人ではFirmicutesおよび

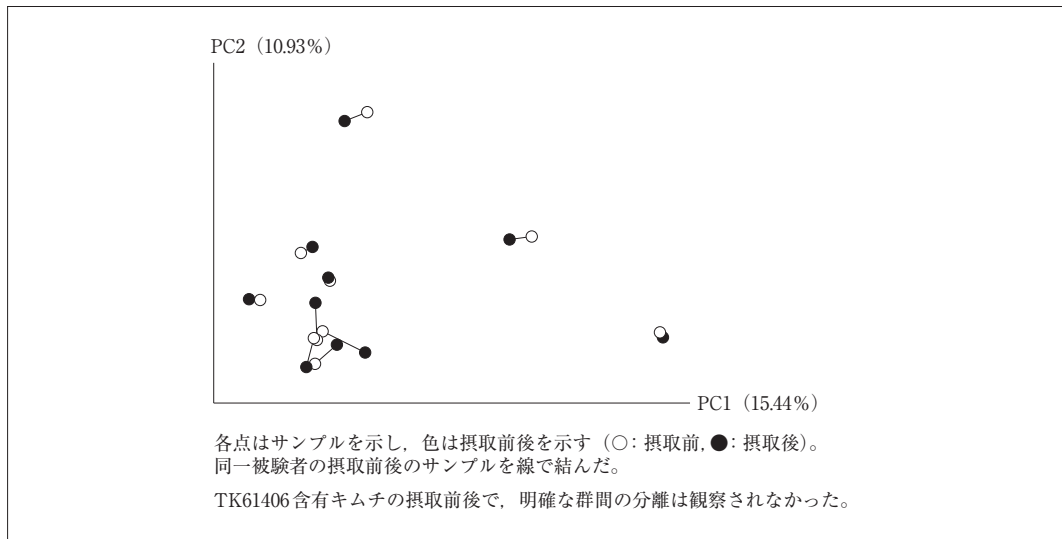


図1 腸内細菌叢β多様性のPCoAプロット (Bray-Curtis距離)

Bacteroidotaが腸内細菌叢の大部分を占めるとする先の報告と一致していた¹⁵⁾¹⁶⁾。健康成人を対象とした単一あるいは複数のプロバイオティクス介入試験においては、 α 多様性および β 多様性に有意な変化が認められなかった報告が少なくない^{17)~19)}。本試験の結果はこれらの報告と整合するものであり、TK61406を含むキムチの摂取による影響は、腸内細菌叢全体の構造変化としては現れにくく、健康成人の腸内細菌叢の安定性を反映したものと考えられる。

一方で、属レベルでの細菌叢解析では、TK61406を含むキムチの摂取後に *R. torques* group および *R. gnavus* group が有意に減少した。また *Eggerthella* についても、統計学的有意差には至らなかったものの減少傾向を示した。*R. torques* および *R. gnavus* は腸粘液層の主要構成成分であるムチンの利用・分解能を有する菌群であり、腸内ムチン環境との関連が報告されている²⁰⁾²¹⁾。特に *R. gnavus* は炎症性腸疾患 (inflammatory bowel disease; IBD) 患者において増加することが報告されており、腸内炎症への関与が示唆されている²²⁾²³⁾。また、

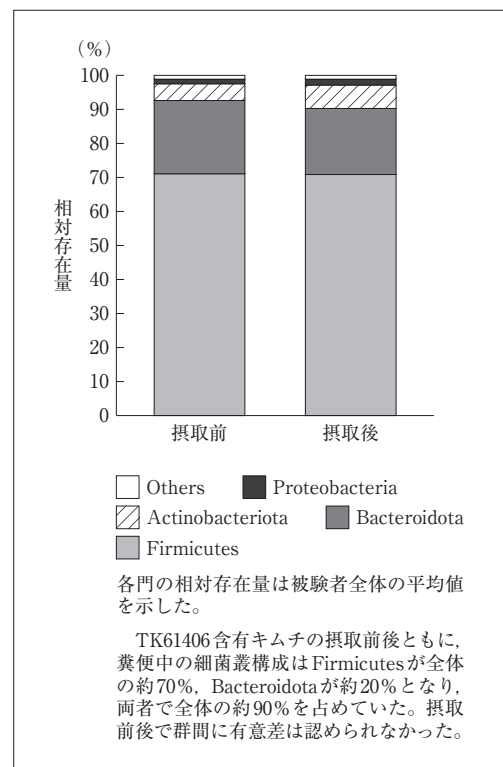


図2 TK61406含有キムチの摂取前後における糞便中細菌叢の構成 (門レベル)

表5 TK61406含有キムチの摂取前後における糞便中細菌叢の変化（属レベル）

属	摂取前	摂取後	p 値
<i>Streptococcus</i>	1.35 (0.53-1.61)	1.90 (1.34-2.42)	0.020*
<i>Ruminococcus torques</i> group	1.06 (0.14-1.38)	0.43 (0.00-0.77)	0.016*
<i>Ruminococcus gnavus</i> group	0.88 (0.22-1.85)	0.67 (0.05-0.83)	0.039*
<i>Eggerthella</i>	0.19 (<0.01-0.80)	0.07 (<0.01-0.32)	0.063 [†]
<i>Bifidobacterium</i>	0.82 (0.17-3.38)	0.80 (0.18-5.80)	0.359
<i>Lactiplantibacillus</i>	<0.01 (<0.01-<0.01)	<0.01 (<0.01-0.05)	0.250
<i>Bacteroides</i>	12.56 (7.78-15.34)	13.09 (6.12-17.74)	0.492
<i>Faecalibacterium</i>	4.52 (2.91-6.88)	4.79 (3.03-5.88)	0.426
<i>Blautia</i>	3.95 (3.25-4.38)	3.40 (3.01-4.61)	0.432
<i>Akkermansia</i>	<0.01 (<0.01-<0.01)	<0.01 (<0.01-0.42)	0.625

表は各属の相対存在量（%）の中央値（四分位範囲）およびp値を示す。

統計解析にはWilcoxonの符号付順位検定（*： $p<0.05$ ，[†]： $p<0.1$ ）を用いた。

TK61406含有キムチの摂取により*Streptococcus*が有意に増加し，*Ruminococcus torques* groupおよび*Ruminococcus gnavus* groupが有意に減少した。*Eggerthella*については統計学的有意差には至らなかったが，減少傾向を示した。

*Eggerthella*の代表種である*E. lenta*についても，IBD患者において増加することが報告されており，一部の菌株では免疫応答との関連が報告されている²⁴⁾。これらの報告から，本試験で認められた変動は，TK61406を含むキムチの摂取が腸内のムチン関連菌群の構成に影響を及ぼした可能性を示唆する。またTK61406と同菌種である*L. plantarum*では，腸管バリア機能および免疫調節作用に関する報告が複数存在する。*L. plantarum* TIFN101株は健康人を対象とした臨床研究で腸管バリア関連分子の発現を調節し腸粘膜修復に寄与することが報告されている²⁵⁾。さらに，*L. plantarum* CJLP243株は下痢患者を対象とした臨床試験で便中カルプロテクチン値の低下により，腸内炎症指標との関連が示唆されている²⁶⁾。本試験では腸管バリア機能や免疫マーカーを直接評価していないため，これらの機能的な関連については明確な結論に至らないが，ムチン関連菌群の変動が認められた点からは，腸

内粘液環境にかかわる微生物叢に一定の変化が生じた可能性が考えられる。なお，本試験の結果は属レベルでの16S rRNA遺伝子解析に基づくものであり，種レベルでの機能的差異の評価については限界があるが，腸内細菌叢の全体的な変化を把握するには有用であると考えられる。

さらに，属レベルでの細菌叢解析では*Streptococcus*の増加も認められたが，本菌群の変動は摂取した食品由来の菌の影響，あるいは腸内環境の変化に伴う一過的な増殖を反映している可能性がある。小腸は食事由来の栄養源が直接供給されるため，食事の影響を受けやすい環境であり，小腸内細菌叢は食事由来基質に応答して短時間で変動することが報告されている²⁷⁾。その中でも*Streptococcus*は小腸において検出される糖利用菌群の1つとして知られており²⁸⁾，このような環境変化に応答して増減しやすい可能性がある。しかし，*Streptococcus*は菌種・株によって糖の利

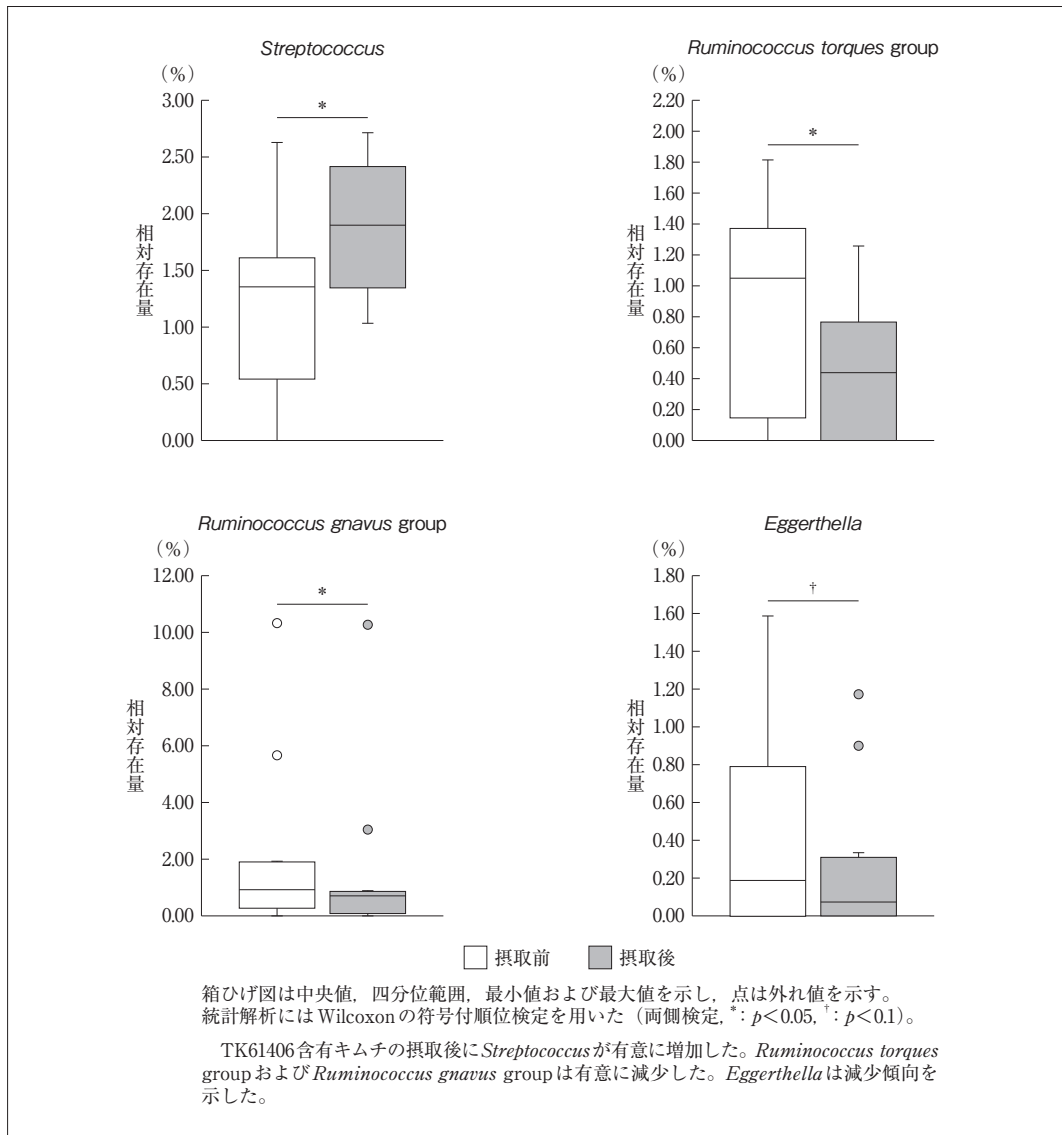


図3 TK61406含有キムチの摂取前後で変動がみられた糞便中細菌群（属レベル）

用能力や代謝特性に多様性を有することが知られている²⁸⁾。よって、本試験において認められた*Streptococcus*の増加が大腸内環境および糞便まで及ぼす影響については、今後、種・株レベルでの詳細な解析を検討する必要がある。

本試験では*Bifidobacterium*の相対存在量に有意な増加は認められなかった。この結果は、TK61406を発酵液として 2.5×10^9 CFU/日

を12週間連続摂取した先行研究において、同菌群が有意に増加した結果⁹⁾とは異なる。その要因として、摂取期間の違いが考えられる。一般に、短期間のプロバイオティクス摂取では糞便細菌叢の顕著な変化が必ずしも認められない一方で、腸内環境に機能的な変化が生じる可能性が報告されている^{29)~31)}。本試験においても、*R. torques* groupや*R. gnavus* group,

Streptococcus 等の特定の菌群に変動が認められたが、*Bifidobacterium* や *Bacteroides*, *Faecalibacterium*, *Blautia*, *Akkermansia* 等の代表的な腸内細菌群に有意な変化は認められなかった。これらの結果から、TK61406を含むキムチの摂取による影響は、腸内細菌叢の大規模な構成変化よりも、一部菌群の変動を介した腸内環境の変化にとどまった可能性が考えられる。TK61406を含むキムチの長期摂取による影響については、今後の検証が必要である。

さらに、TK61406が属する *Lactiplantibacillus* の相対存在量にも有意な変化は認められず、被験者10名のうち7名で、摂取後の糞便から *Lactiplantibacillus* が検出されなかった。被験者番号8, 10は体調不良のため摂取期間の1日で試験食の摂取が行われなかったことを確認しているが、その他の日程ではすべて試験食を摂取したこと、残り8名の被験者については全日程で試験食を摂取したことを確認した。健康成人では腸内細菌叢の定着抵抗性が高く、短期間のプロバイオティクス摂取では持続的な定着に至りにくいことが報告されている³⁰⁾。本試験においても、短期的な摂取においてはTK61406が腸管内で定着・増殖せず、通過的に作用した可能性が考えられる。一方で、複数の被験者から検出されなかった要因としては、採便のタイミングや採取方法の影響も考えられる。被験者番号1については摂取後期間1日目、2日目に排便があったものの、事情により採便できず、摂取後期間3日目に採便した際にはTK61406がすでに排出されていた可能性がある。また使用した採便キットは便全量を採取するものではなく、その他6名については、食事状況および排便状況が原因で、便中にTK61406が偏って存在し、採取した箇所にはTK61406が分布していなかった可能性も考えられる。採便方法については、タイミングや全量採取を行う等、検討が必要である。

排便習慣については、排便回数は減少傾向を示したものの、便性状とともに試験期間中の有意な変化は認められなかった。本試験の対象者は健康成人であり、試験食の摂取前期間から排便習慣が比較的安定していたことから、TK61406を含むキムチの摂取による影響は限定的であったと考えられる。一方で、排便習慣が概ね維持されていたことから、TK61406を含むキムチは日常の排便習慣に大きな影響を与えることなく、継続して摂取できる可能性が示唆された。

本試験で用いたキムチには、TK61406以外にも腸内細菌叢に影響を及ぼす可能性のある複数の成分が含まれていることから、それらの影響について考察する必要がある。まず、試験食は白菜を主原料とするキムチであり、白菜由来の食物繊維が含まれる。食物繊維はプレバイオティクスとして作用し、有益菌の増殖や短鎖脂肪酸産生を促進することにより、腸内環境の改善に寄与する可能性が報告されている³²⁾ことから、本試験は乳酸菌由来成分と白菜由来食物繊維を同時に供給するシンバイオティクスの介入であったと考えられる。発酵キャベツであるザワークラウトを用いた健康人を対象とした臨床試験では、短期摂取によって腸内細菌叢全体の α 多様性や β 多様性に大きな変化は認められなかった一方で、一部菌種レベルでの変動が報告されている³³⁾。本試験においても、全体的な腸内細菌叢構造の変化は認められなかったものの、*R. torques* groupや*R. gnavus* group等の一部菌群で変動が観察されており、白菜由来食物繊維と乳酸菌由来成分の相互作用によるシンバイオティクスの作用が、特定菌群に対して選択的に影響を及ぼしたことが示唆される。

一方で、試験食のキムチには食塩が含まれている。近年、高塩分食は腸内細菌叢の組成や腸管免疫に影響を及ぼす可能性が報告されているが³⁴⁾³⁵⁾、本試験で用いたキムチの食塩相当量は50gあたり1.03gであり、試験食自体

が極めて高い食塩含量であったとは考えにくい。そのため、試験食由来の食塩が本試験の結果に大きく寄与した可能性は低いと考えられる。

また、キムチには唐辛子由来のカプサイシンも含まれている。カプサイシンは腸管機能や腸内細菌叢に影響を及ぼす可能性が報告されているが、その作用は摂取量や濃度によって異なり、適度な摂取では腸内環境に有益な作用を示す可能性があるものの、長期間の高用量摂取では消化管粘膜への刺激や炎症反応を引き起こす可能性も指摘されている³⁶⁾。唐辛子を含む発酵食品であるキムチについても、排便関連症状や腸内環境への影響に関する報告がある³⁷⁾。本試験では、これら各成分の寄与を個別に評価していないことから、本試験で認められた変化を特定の成分の作用として結論づけることはできないが、キムチに含まれる複数の成分が相互に作用し、腸内細菌叢や排便習慣に影響を及ぼした可能性が考えられる。今後は、対照食品を用いた比較試験や成分を分離した介入試験を実施し、結果に寄与する因子を明らかにする必要がある。

さらに、本試験には以下のような限界がある。第一に、本試験は介入期間中の食事内容を調査していないため、背景食の違いが結果に影響した可能性を完全には除外できない。本試験では対象者の選択基準として一定の食習慣を有する者を選択したものの、試験期間中の発酵食品、食物繊維、総食塩摂取量および辛味食品の摂取状況は把握しておらず、これらが腸内細菌叢や排便指標に影響した可能性は否定できない。第二に、腸内細菌叢の構成や介入に対する応答性には個人差があることが知られている³⁸⁾³⁹⁾。本試験では対象者を30~40歳代女性に限定し、食習慣および排便頻度に関する選択基準を設定することで、背景要因をできる限り統一した。しかし、BMIや介入前の腸内細菌叢の状態等の宿主因子には個人差があり、これらが介入に対する応答

性に影響した可能性は完全には除外できない。第三に、本試験は単群前後比較による短期間の介入試験であり、対照群を設定していない。よって、観察された変化が時間経過やその他の要因による影響ではなく、キムチ摂取そのものによる効果であると断定するには限界がある。今後は対照群を設定した介入研究や、成分別の検討を含む研究によって、観察された変化の再現性や作用機序の検証を行う必要がある。

以上の限界を踏まえる必要はあるものの、本試験は対象者の選択基準を設定し、食習慣および排便状況のばらつきを一定程度抑制したうえで、統一条件の下でキムチ摂取介入を実施した。そのため、観察された結果が背景要因のみによって説明されるとは考えにくい。また、本試験の結果は、TK61406発酵液の摂取によって、評価対象とした一部の腸内細菌に変化が認められる一方で、排便指標には必ずしも変化が生じないとする既報と概ね整合する⁹⁾。よって、本試験の結果はTK61406含有キムチの摂取が腸内細菌叢に影響を及ぼす可能性を示唆する。

以上より、TK61406を含むキムチの2週間の摂取によって、糞便細菌叢における*R. torques* groupおよび*R. gnavus* groupの減少が認められた。また*Eggerthella*についても減少傾向を示した。これらの菌群は腸内ムチン環境と関連することが報告されており、本試験で認められた変動はTK61406を含むキムチの摂取がムチン関連菌群を含む腸内細菌群に影響を及ぼす可能性を示唆する。一方で、排便回数や便性状に有意な変化は認められず、排便習慣への影響は限定的であると考えられた。なお、本試験は複合食品による介入であり結果に寄与した成分の特定ができないこと、単群前後比較試験であること、および介入期間が2週間と短期間であること等の限界を有する。今後は対照群を設定した介入試験や成分別の検討に加え、より長期的な介入による影

響の評価や、腸内ムチン量等の宿主側指標を含めた多面的な検討が必要である。

＜謝辞＞

本試験を実施するにあたり、臨床試験の運営および被験者募集にご協力いただいたウンログ株式会社に深く感謝いたします。また、本試験にご参加くださった被験者の皆様に深く感謝いたします。

利益相反

本試験は、筆頭著者である池田未果の所属する東海漬物株式会社が、ウンログ株式会社に委託して実施した。同社は試験に関連した体験レポートを自社サイトに掲載しているが、本論文のデータ解析および論文作成は著者らが独立して行った。著者らは本試験に関して開示すべき経済的利益相反はない。

引用文献

- 1) Mohammad I, Ansari MR, Khan MS, et al. Beyond digestion : The gut microbiota as an immune-metabolic interface in disease modulation. *Gastroint Disord*. 2025 ; **7**(4) : 77.
- 2) Barengolts E. Gut microbiota, prebiotics, probiotics, and synbiotics in management of obesity and prediabetes : Review of randomized controlled trials. *Endocr Pract*. 2016 ; **22**(10) : 1224-1234.
- 3) Paul P, Kaul R, Harfouche M, et al. The effect of microbiome-modulating probiotics, prebiotics and synbiotics on glucose homeostasis in type 2 diabetes : A systematic review, meta-analysis, and meta-regression of clinical trials. *Pharmacol Res*. 2022 ; **185** : 106520.
- 4) Capurso L. Thirty Years of *Lactobacillus rhamnosus* GG : A Review. *J Clin Gastroenterol*. 2019 ; **53**(Suppl. 1) : S1-S41.
- 5) Ejima R, Mishima R, Sen A, et al. The Impact of Fermented Milk Products Containing *Bifidobacterium longum* BB536 on the Gut Environment : A Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Trial. *Nutrients*. 2024 ; **16**(21) : 3580.
- 6) 脇 尚子. 植物性発酵食品由来の乳酸菌 *Lactobacillus brevis* KB290の健康効果. 日本醸造協会誌 2020 ; **115**(9) : 513-520.
- 7) Watanabe T, Hayashi K, Takara T, et al. Effect of oral administration of *Lactiplantibacillus plantarum* SNK12 on temporary stress in adults : a randomized, placebo-controlled, double-blind, parallel-group study. *Int J Environ Res Public Health*. 2022 ; **19**(15) : 8936.
- 8) 小村美香, 西尾翔子, 河本哲宏ほか. 漬物由来乳酸菌 *Lactobacillus plantarum* TK61406の摂取はラット盲腸ビフィズス菌を増加させる. ルミナコイド研究 2014 ; **18**(1) : 9-17.
- 9) 森下美香, 西尾翔子, 伊與田哲也ほか. 漬物由来乳酸菌 *Lactobacillus plantarum* TK61406の摂取が腸内環境, 肌状態および集中力に及ぼす影響のランダム化比較試験検討. 新薬と臨牀 2016 ; **65** : 1274-1294.
- 10) 宮尾茂雄. 漬物の微生物学の進歩 (その2). 日本醸造協会雑誌 1987 ; **82**(2) : 110-115.
- 11) 一般社団法人食品需給研究センター. 令和7年度食品産業動態調査 (年報). 東京 : 一般社団法人食品需給研究センター ; 2025.
- 12) 加藤利夏, 杉山葉那, 澤 優子ほか. 市販白菜キムチ中の乳酸菌数の評価. 食生活研究 2025 ; **45**(1) : 71-76.
- 13) Kwak SH, Cho YM, Noh GM, Om AS. Cancer preventive potential of kimchi lactic acid bacteria (*Weissella cibaria*, *Lactobacillus plantarum*). *J Cancer Prev*. 2014 ; **19**(4) : 253-258.
- 14) 文部科学省, 厚生労働省. 人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (一部改正) : 2017.
- 15) The Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*. 2012 ; **486** : 207-214.
- 16) Takagi T, Inoue R, Oshima A, et al. Typing

- of the gut microbiota community in Japanese subjects. *Microorganisms*. 2022 ; **10**(3) : 664.
- 17) Washburn RL, Sandberg D, Gazdik Stofer MA. Supplementation of a single species probiotic does not affect diversity and composition of the healthy adult gastrointestinal microbiome. *Hum Nutr Metab*. 2022 ; **28** : 200148.
 - 18) Alvarez AS, Tap J, Chambaud I, et al. Safety and functional enrichment of gut microbiome in healthy subjects consuming a multi-strain fermented milk product : a randomised controlled trial. *Sci Rep*. 2020 ; **10**(1) : 15974.
 - 19) Rodenes-Gavidia A, Lamelas A, Bloor S, et al. An insight into the functional alterations in the gut microbiome of healthy adults in response to a multi-strain probiotic intake : a single arm open label trial. *Front Cell Infect Microbiol*. 2023 ; **13** : 1240267.
 - 20) Schaus SR, Vasconcelos Pereira G, Luis AS, et al. *Ruminococcus torques* is a keystone degrader of intestinal mucin glycoprotein, releasing oligosaccharides used by *Bacteroides thetaiotaomicron*. *mBio*. 2024 ; **15**(8) : e0003924.
 - 21) Crost EH, Tailford LE, Monestier M, et al. The mucin-degradation strategy of *Ruminococcus gnavus* : The importance of intramolecular trans-sialidases. *Gut Microbes*. 2016 ; **7**(4) : 302-312.
 - 22) Kandasamy S, Letchumanan V, Hong KW, et al. The role of human gut microbe *Ruminococcus gnavus* in inflammatory diseases. *Prog Microbes Mol Biol*. 2023 ; **6**(1) : a0000396.
 - 23) Hall AB, Yassour M, Sauk J, et al. A novel *Ruminococcus gnavus* clade enriched in inflammatory bowel disease patients. *Genome Med*. 2017 ; **9**(1) : 103.
 - 24) Alexander M, Ang QY, Nayak RR, et al. Human gut bacterial metabolism drives Th17 activation and colitis. *Cell Host Microbe*. 2022 ; **30**(1) : 17-30.e9.
 - 25) Mujagic Z, de Vos P, Boekschoten MV, et al. The effects of *Lactobacillus plantarum* on small intestinal barrier function and mucosal gene transcription : a randomized double-blind placebo controlled trial. *Sci Rep*. 2017 ; **7** : 40128.
 - 26) Jung M, Jung S, Kim N, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial to assess the efficacy and safety of *Lactiplantibacillus plantarum* CJLP243 in patients with functional diarrhea and high fecal calprotectin levels. *Nutrients*. 2022 ; **14**(2) : 389.
 - 27) Zoetendal EG, Raes J, van den Bogert B, et al. The human small intestinal microbiota is driven by rapid uptake and conversion of simple carbohydrates. *ISME J*. 2012 ; **6**(7) : 1415-1426.
 - 28) Van den Bogert B, Boekhorst J, Herrmann R, et al. Comparative genomics analysis of *Streptococcus* isolates from the human small intestine reveals their adaptation to a highly dynamic ecosystem. *PLoS One*. 2013 ; **8**(12) : e83418.
 - 29) Kristensen NB, Bryrup T, Allin KH, et al. Alterations in fecal microbiota composition by probiotic supplementation in healthy adults : a systematic review of randomized controlled trials. *Genome Med*. 2016 ; **8**(1) : 52.
 - 30) Zmora N, Zilberman-Schapira G, Suez J, et al. Personalized gut mucosal colonization resistance to empiric probiotics is associated with unique host and microbiome features. *Cell*. 2018 ; **174**(6) : 1388-1405.e21.
 - 31) Markowiak-Kopeć P, Śliżewska K. The effect of probiotics on the production of short-chain fatty acids by human intestinal microbiome. *Nutrients*. 2020 ; **12**(4) : 1107.
 - 32) Holscher HD. Dietary fiber and prebiotics and the gastrointestinal microbiota. *Gut Microbes*. 2017 ; **8**(2) : 172-184.
 - 33) Schropp N, Bauer A, Stanislas V, et al. The impact of regular sauerkraut consumption on

- the human gut microbiota : a crossover intervention trial. *Microbiome*. 2025 ; **13**(1) : 52.
- 34) Wilck N, Matus MG, Kearney SM, et al. Salt-responsive gut commensal modulates T_H17 axis and disease. *Nature*. 2017 ; **551**(7682) : 585-589.
- 35) Smiljanec K, Lennon SL. Sodium, hypertension, and the gut : does the gut microbiota go salty?. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2019 ; **317**(6) : H1173-H1182.
- 36) Xiang Q, Guo WL, Tang X, et al. Capsaicin—the spicy ingredient of chili peppers : A review of the gastrointestinal effects and mechanisms. *Trends Food Sci Technol*. 2021 ; **116** : 755-765.
- 37) Kim HY, Park ES, Choi YS, et al. Kimchi improves irritable bowel syndrome : results of a randomized, double-blind placebo-controlled study. *Food & Nutrition Research*. 2022 ; **66** : doi : 10.29219/fnr.v66.8268.
- 38) Kolodziejczyk AA, Zheng D, Elinav E. Diet-microbiota interactions and personalized nutrition. *Nat Rev Microbiol*. 2019 ; **17**(12) : 742-753.
- 39) Biesiekierski JR, Jalanka J, Staudacher HM. Can Gut Microbiota Composition Predict Response to Dietary Treatments?. *Nutrients*. 2019 ; **11**(5) : 1134.

Effects of Kimchi Containing *Lactiplantibacillus plantarum* TK61406 on Gut Microbiota and Bowel Habits

Mika Ikeda, Shunsaku Sugiura and Mika Morishita

Tokai Pickling Co., Ltd.

Corresponding author : Mika Ikeda
Research Institute of Pickles Function, Tokai Pickling Co., Ltd.
78-1 Mukokusama-cho, Mukaigo, Toyohashi-shi, Aichi 441-8142, Japan
E-mail : ikeda-mika@kyuchan.co.jp

Abstract

To investigate the effects of kimchi containing *Lactiplantibacillus plantarum* TK61406 (TK61406) on gut microbiota and stool characteristics, a total of 10 women aged 30-40 years consumed 50 g of kimchi containing 2.5×10^9 CFU of TK61406 once daily for 2 consecutive weeks. Stool frequency and Bristol Stool Scale scores were recorded using a mobile application during the pre-intervention, intervention, and post-intervention periods. Fecal samples were collected before and after the intervention, and gut microbiota composition was analyzed using 16S rRNA gene sequencing. No significant changes were observed in α -diversity, β -diversity, or phylum-level fecal microbial composition before and after the intervention. At the genus level, the relative abundances of the *Ruminococcus torques* group and *Ruminococcus gnavus* group were significantly decreased, while *Eggerthella* showed a decreasing trend. In contrast, *Streptococcus* was significantly increased. No significant changes in defecation frequency or stool consistency

were observed across the pre-intervention, intervention, and post-intervention periods. In conclusion, a 2-week consumption of kimchi containing TK61406 did not substantially affect the overall gut microbiota composition or bowel habits, while potentially modulating the relative abundance of specific bacterial taxa.

(受理日：2026年7月16日)