

平成31年度
戦略的基盤技術高度化・連携支援事業
戦略的基盤技術高度化支援事業

「グローバル対応型の多機能性ブレンド乳酸菌素材の革新的開発」

研究開発成果等報告書

令和2年5月

担当局 東北経済産業局
補助事業者 国立大学法人秋田大学

目次

第1章 研究開発の概要

1-1 研究開発の背景・研究目的及び目標

○研究開発の背景

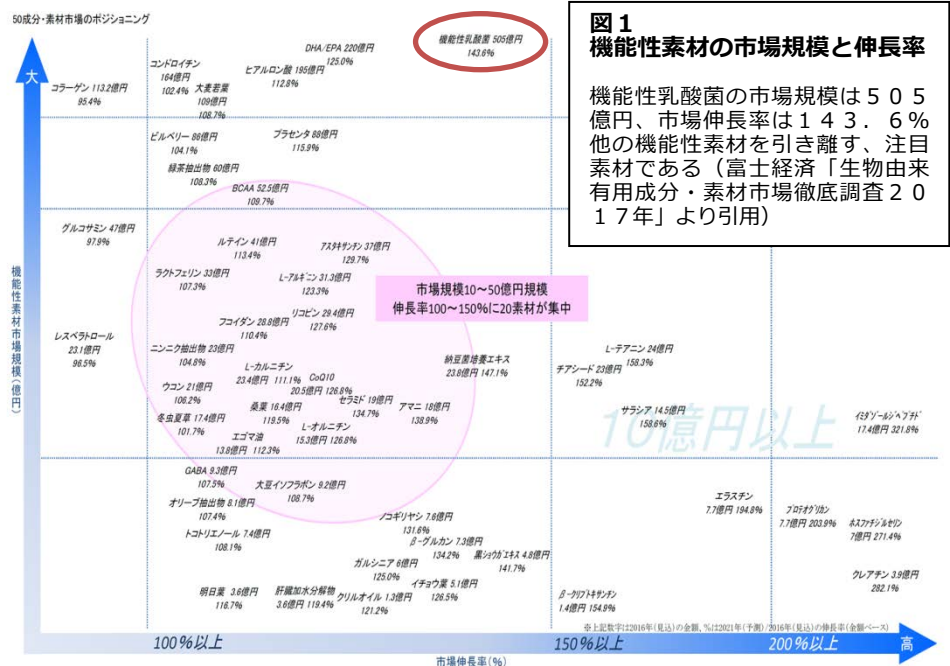
少子高齢化の我が国では、国内需要は年々縮小している。一方、アジア圏の急激な発展のため、海外市場は拡大、さらに海外からの訪日旅行客も増加傾向にあり、輸出、インバウンド消費共に好調である。しかし、海外市場に対する我が国の輸出のほとんどは大手企業による製品で、中小企業の割合は、製造系企業の内、僅か 3.5%にすぎない（2016 年中小企業白書より）。まだ成長の潜在力がある中小企業製造業による素材・製品の海外市場の獲得は重要な課題であり、平成 29 年度に経済産業省で実施された戦略的基盤技術高度化支援事業の制度評価でも、「特に人口や需要が減少していく中で、国益に繋がる海外進出に繋がる取組を支援していくことが重要である」と指摘がなされている（平成 30 年 2 月 2 日 中小企業庁 制度評価資料の「総合評価」から抜粋）。

我々のコンソーシアムは、グローバル展開に対応した機能性食品や機能性化粧品の素材として、「乳酸菌」に着目した。乳酸菌に着目した理由は、市場性、素材としての利点、そしてコンソーシアムの各事業者が持つ技術とそのシナジー効果、以上 3 点に集約される。

ヨーグルトに代表される乳酸菌は健康イメージが強く、図 1 に示すように、他の機能性素材と比較しても、市場のニーズが高い。近年、わが国での乳酸菌市場の進展は、乳酸菌は単なる整腸作用を期待

したものだけではなく、菌株の違いで作用も異なり、インフルエンザ予防、花粉症改善、骨密度強化、尿酸値の低下、内臓脂肪蓄積抑制など、多岐に渡った機能性が打ち出されたことに牽引されている。

機能性乳酸菌には、図 2 で示すように、「動物性」と「植物性」の 2 つのタイプ、さらに、それぞれに対して、「生菌」と「死菌」の 2 種類



の乳酸菌がある。この乳酸菌「死菌」は、日本発の機能性素材となり、特に化粧品分野では、研究実施機関の一丸ファルコスが世界に先駆けて実用化を達成済みである。

表1に生菌/死菌の特徴の違いをまとめた。生菌は「生きて届く乳酸菌＝プロバイオティックス」として、腸内細菌の内、善玉菌を補充する機能を期待し用いられるが、安定性に問題があり、ヨーグルトなど生菌が含まれる食品は現地製造が基本のため、輸出やインバウンド素材としては適さない。また、乳酸菌生菌製造において、ライン汚染のため専用ラインを必要とするためにコスト面でも問題となる。さらに、市場に出回っている乳酸菌生菌のほとんどが動物由来（ヒト糞便系）であり、宗教上の戒律や各国のレギュレーションによっても輸出に適さない場合がある。

一方で、一部の乳酸菌は、加熱殺菌後の死菌体でも、その機能性を失わないことが知られている。これらは安定性に優れ、サプリメントのみならず、焼菓子類、ふりかけ、カップ麺、フリーズドライタイプやレトルトタイプの加工食品等に配合できることが大きな利点である。また、死菌体は容易に濃縮可能で、一般的な生菌タイプのヨーグルトと比較して超高濃度（約 1000 倍以上）の乳酸菌体素材が製造可能であり、これらの特徴により、新しい機能性素材として、今後、海外でも大きく市場を獲得する可能性がある、いわば「安定化乳酸菌」「安定化した乳酸菌有効菌体成分」と言うべき素材である。

秋田大学においてはこの「安定化乳酸菌」の機能性評価（免疫機能中心）を数多く経験しており、秋田今野商店は当素材の食品素材としての開発に成功し、小規模ではあるが実用化済みである。また一丸ファルコスでは、安定化乳酸菌の特徴を生かし、新規用途として乳酸菌化粧品原料を 2017 年 5 月に日本にて発売開始し、既に 40 社以上の化粧品メーカーで採用されている。

当コンソーシアムが世界に先駆けて当素材を市場展開する中で、様々な点で生菌よりも死菌、加熱殺菌型の「安定化乳酸菌」の方が多くの利点を有すること、日本を越えて世界において大きな市場ニーズが存在することをいち早く把握しており、さらにグローバル展開のために越えるべきハードル（下記項目）を既に明確化している。

表1 生菌と死菌の比較

	乳酸菌 生菌	安定化乳酸菌 (殺菌体)
安定性	不安定	長期安定
保存性	低温流通	高温高温 ～低温安定
素材としての 使用	専用製造 ライン必用	どこでも直ぐ 使用可能
機能性成分	低濃度 混合物	高濃度
機能性	各株ごとに 証明	各株ごとに 証明
知名度	高い	低い
菌株	動物由来が多い	
アレルゲン	乳原料使用実例が多い (原料レベル/工場レベル)	
宗教規格	乳原料・菌株の培養成分 (食経験と宗教戒律)	
輸出規制	菌株の由来を問われる (動物腸内由来菌が多いため)	
製造コスト	大スケールでの 製造	小スケールでの 製造
製造ノウハウ	長年の蓄積	製造実績が 浅い
化粧品素材 技術	不可能	一丸ファルコス 技術・特許先行

- ☆ 乳酸菌死菌体の機能性素材としての展開、そして製造技術は日本でいち早く広まっており、一方で国際的には認知度は低い。
- ☆ 海外では機能性エビデンスベースの素材が採用されるが、生菌と比べ、機能性エビデンスについて十分に研究されていない。
- ☆ 現在、一丸ファルコスで化粧品原料として販売している乳酸菌死菌体は>20 万円/ k g で非常に高価である。コスト面で市場競争力が低い。
- ☆ 日本において食品実用化例の多い「ヒト由来乳酸菌」は、海外展開においては「腸管糞便由来の菌種」と判別されるケースが非常に多く、菌株として世界中の食品法制度の規制をクリアし展開可能な製品とはなりえない。(例：国内流通量の非常に多い菌種 *Enterococcus faecalis* は、海外では衛生面での汚濁指標として、清掃度基準等にて取り扱われることのほうが多く、食品としての展開が難しい。)

- ☆ 当素材の化粧品でのグローバル展開を考えると、中国の化粧品規格「中国で使用された化粧品原料名称リスト 中文 INCI」の範囲内と判断されるか否かが重要となる（グローバル展開の観点にて最大のターゲットとなる大手メーカーは、中国販売不可となる素材を使用しない）。一方で現在市場に存在す乳酸菌死菌体の多くは、乳酸菌の「菌種」の問題より、中文 INCI 範囲外とされるものを使用している。
- ☆ 従来の乳酸菌死菌体製造は、従来製法に準じることや工場設備上の問題より、動物由来原料（主に乳由来原料）やアルコール副産物原料の使用、工場の専用製造化の対応難などの問題より、アレルギーや宗教戒律問題よりグローバル販売に対応できない。

参画企業の秋田今野商店は微生物のスターター（種菌）の製造販売企業であり、発酵食品由来の様々な品種の微生物培養を得意とする。所有する微生物ライブラリーには、食経験豊富な「伝統発酵食品由来」の植物性乳酸菌が多数存在し、さらに製造技術として非動物性由来の原料による微生物培養（生産技術）に関して技術蓄積がある。

さらに、秋田大学理工学部では秋田発酵食品由来の乳酸菌死菌体が免疫賦活作用や抗菌作用を持つことを見出しており、加えて、秋田大学医学部皮膚科・形成外科は、秋田県内における産学連携活動として、臨床試験受託機関「インターフェイス株式会社」と新規化粧品や機能性食品の安全性・有用性評価に関する共同研究を行ってきた実績がある。

本事業ではこの乳酸菌死菌体、「安定化乳酸菌」の開発において、秋田今野商店、一丸ファルコス、秋田大学からなるコンソーシアムの大きなシナジーを活用し、当素材のグローバル展開に向けた新規研究開発を行うものである。

○従来技術での課題

乳酸菌死菌体の現状のデメリットを解消し、かつ、死菌体のメリットを最大限に生かした原料開発を進めるうえで、以下の従来技術での課題を解決する必要がある。

- ① 食品/化粧品素材開発のための乳酸菌として生理活性が高く、かつ生産性の良いものを選抜するためには、多くの微生物株をスクリーニング用ライブラリーとして準備し、選抜試験を実施することが必要 → 複数の高活性株の大量確保、選抜試験法の高度化
- ② 高品質・高純度の安定化乳酸菌（加熱殺菌型）を製造できる技術が必要
→ 革新的生産手法の確立
- ③ 安全性の担保も必須要件のため、菌種や分離原が明確である必要がある。食経験がある菌であることが望ましい。トレーサビリティ、アレルギーフリーが重要
→ 食経験豊富な菌株の大量確保、安全性の確保
- ④ グローバル展開を見据え、スクリーニングソースの時点にて宗教的、法制度的にも海外出荷可能な乳酸菌種であることが必要。宗教対策（コーシャ・ハラール）、中国での販売のための制度にマッチすることが必須 → グローバル展開、海外展開可能な菌株の大量確保
- ⑤ 機能性エビデンスが生菌に比べ死菌体では少ない、わかりにくい
→ 新規用途開発、新規素材、IoT 活用によるデータベース化
- ⑥ 海外ではコストが日本以上に重視されるため、製造コストも必要な検討課題である。
→ 製造コスト低減

○新技術を実現するために解決すべき研究課題

(十一) バイオに係る技術に関する事項

1 バイオに係る技術において達成すべき高度化目標

(3) 川下分野横断的な共通の事項

① 川下製造業者の共通の課題及びニーズ

ア. 高度化・高品質化 ウ. 低コスト化

(4) 川下分野特有の事項

1) 医療・健康・介護分野に関する事項

① 川下製造業者の共通の課題及びニーズ

オ. 人体における効果・評価

3) その他の川下分野に関する事項

b. 食品製造業分野に関する事項

① 川下製造業者の共通の課題及びニーズ

ア. 有用な生物資源の探索及び利用

川下分野のニーズ

- ・ 高品質、低コスト、安全、安心な「安定化乳酸菌」
- ・ 高機能（エビデンスベース）
- ・ 安定供給
- ・ 新規用途
- ・ 海外展開可能（各国法制度/宗教規格/アレルギーフリー対応）

1-2 研究体制（研究組織・管理体制、研究者氏名、協力者）

- ・ 秋田大学（管理法人・SL）
 - ・ 伊藤 英晃 大学院理工学研究科 特別教授
 - ・ 河野 通浩 大学院医学系研究科 教授
 - ・ 能登 舞 医学部附属病院 助教
- ・ 秋田今野商店（研究実施機関・PL）
 - ・ 今野 宏 代表取締役社長
 - ・ 佐藤 冬彦 技術部 係長
- ・ 一丸ファルコス（研究実施機関）
 - ・ 中田 善久 開発部 次長/知財管理室長/製品開発 4 課長
 - ・ 岡本 知也 開発部製品開発 4 課
- ・ 理化学研究所（アドバイザー）
 - ・ 辨野 義己 特別招聘研究員
- ・ 北海道大学（アドバイザー）
 - ・ 園山 慶 教授
- ・ シーアイディ（アドバイザー）
 - ・ 伊達 朗 代表取締役

1-3 成果概要

海外展開を見据えた食品/化粧品素材開発のための微生物候補株として、多様な生理活性が期待でき、かつ培養生産性の良く、安全性やトレーサビリティ面も考慮した乳酸菌株にてスクリーニング用乳酸菌ライブラリーを発酵食品分離株にて構成することとした。菌種や分離原が明確である *Lactobacillus* 属の乳酸菌株を中心に 126 株を準備調整することができた。またこれらライブラリーの乳酸菌株を全て同条件にて培養調整する製造類似条件を設定し、当条件にて機能性評価用スクリーニングソースを調整した。

機能性化粧品についての評価は、ヒト正常皮膚角化細胞（NHEK）を用いた化粧品原料を目的とした新規の有効性評価を主に行った。具体的には免疫系因子として IL-12 と IL-10 の遺伝子変化を、生体防御機能改善として抗菌ペプチドの遺伝子変化を、バリア機能改善としてインボルクリンとフィラグリンの遺伝子変化を、保湿機能改善としてヒアルロン酸合成酵素の遺伝子変化を評価する手法を確立し、乳酸菌ライブラリーから選抜した約 120 株の乳酸菌に対して安定化乳酸菌（加熱殺菌）に調整した上で、スクリーニングを行った。

また、機能性食品に利用可能な乳酸菌の探索目的で、局所免疫ディフェンシン及び自然免疫賦活化因子 IL-12 高発現誘導能を解析した。具体的にはディフェンシン及び IL-12 特異抗体を作製し、小腸上皮様細胞 Caco-2 細胞と、マクロファージ様細胞 THP-1 細胞を用いた腸管上皮細胞機能評価系にて解析した。

同時に、生産性指標データを全株にて採取し菌株選択条件の一つに置き、機能性評価結果と並行して菌株選択基準の 1 つに置いた。

マルチパラメーターでのスクリーニング評価の結果、乳酸菌株 5 株を製品候補株として選定した。

生産性検討においては、使用原料から使用機器、生産方法まで順次検討を行い、改良機器導入、マニュアル化、自動化、製造コストダウン、さらに製造スケールアップを進めた。また、本事業では海外販売を見据え、特定アレルゲン不使用、動物由来原料不使用、各種宗教規格対応型の生産方法を検討し、生産工場としてこれを確立した。さらに、高品質かつ高安定な化粧品/食品素材原料としての展開を見据え、化粧品素材化等に活用できる乳酸菌高度濃縮装置製造装置の仕様を検討し設計、既存の培養装置（ジャーファーマンター）と連動できる膜分離型濃縮装置を導入した。高度に精製された安定化乳酸菌体の製造工程を組み立て、製造検討を通じて製造工程を確立した。

選定した乳酸菌、確立した製造工程を基に、原料試作品として安定化乳酸菌 5 菌株（ブレンド乳

酸菌[オーダーメイド展開型]の試作製造に成功し、これらに対し安全性試験の評価（変異原性試験）のでの安全性確認をクリアした。これらは機能性食品と機能性化粧品両方に利用できる。宗教／安全性／各国制度などのグローバル対応可能で、海外流通にも耐えうる高安定性を保持している。今後さらなるヒト試験による機能性評価と安全性試験を実施の上、製品化する 3 株を選定し、この 3 株のブレンド比率を変えることによって、複数タイプの製品を開発していく予定である。開発計画が順調に推移すれば 2021 年 5 月頃に製品化できる見込みである。

市場情勢としては、初年度に食品分野の乳酸菌市場が活発になり、多種多様の有効性を謳う乳酸菌の新製品が数多く発売され、当初予定した製品（整腸、免疫賦活等）では差別化が難しいことが判明し、化粧品用途の優先順位を上げて研究開発を行う方針とした。今後は、海外への販売展開を通じ、乳酸菌の新規利用方法による市場の活性化、日本発信の乳酸菌素材の海外展開を目指す。

1－4 当該研究開発の連絡窓口

株式会社秋田今野商店

技術部 佐藤 冬彦

TEL：0187-75-1250 FAX：0187-75-1255

E-mail：aok-lab@akita-konno.co.jp

第2章 本論

【1. 乳酸菌の機能性評価】

食品/化粧品素材開発のための乳酸菌として生理活性が高く、かつ生産性の良いものを選抜するためには、多くの微生物株をスクリーニング用ライブラリーとして準備し、選抜試験を実施することが必要とされる。また安全性の担保も必須要件のため、菌種や分離原が明確である必要がある。そして、海外販売を見据え、スクリーニングソースの時点にて海外出荷可能な乳酸菌種を揃える必要がある。乳酸菌のスクリーニングのためには、準備した株を全て同条件にて製造・加熱殺菌により安定化乳酸菌とする必要があり、これらが生産条件にある程度近い手法である必要がある。

更に機能性乳酸菌との差別化のため、高度な有効性評価を行う必要がある。有効性評価としては、免疫機能（IL-12, IFN- γ など）、抗菌作用、抗加齢（ヒートショックタンパク質）、腸内善玉菌や皮膚常在菌への作用、さらに、新規評価系として機能性成分の定性・定量的評価などが必要となる。さらに、総合的に選抜を行えるような体制が必要となる。

【1-1】微生物ライブラリーからの乳酸菌候補の選択

菌株確保のため、秋田今野商店の生物資源と保有ノウハウを活用した。すなわち、秋田今野商店の保存菌株から今回製品の条件（菌種/高生産性/分離原明確/植物原料増殖性 等）に合う新規乳酸菌株を選抜し、また新たに発酵食品由来から分離できた多数の微生物より、上記条件に合う乳酸菌株を選抜し、蓄積した。約6ヶ月の初年度期間中にて、合計値にて最低100株、最大150株以上のライブラリー構築を目標としていたが、発酵食品由来の *Lactobacillus* 属の乳酸菌株を中心とした乳酸菌株126株を、多様な分離原/多様な菌種にて構築することができた。

また秋田今野商店が持つ培養ノウハウを活用し、乳酸菌生産に汎用的に用いることが出来、かつ生産条件に近い共通生産条件（動物原料不使用培地使用）を選択の上、設定した。少量培養、加熱殺菌による安定化と洗浄後乾燥により、均質な試作条件のスクリーニングソースの調整条件を検討、設定した。これを用いて有効性評価のためのスクリーニングソース（加熱殺菌処理による安定化乳酸菌）を調整した。

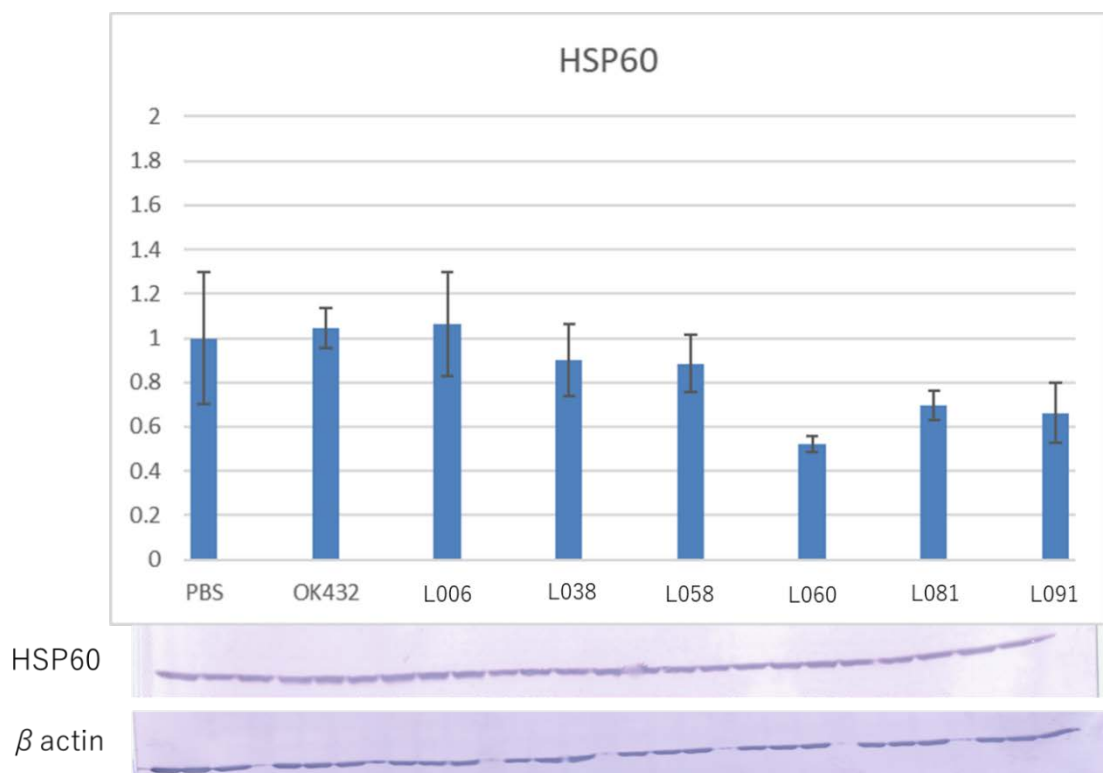
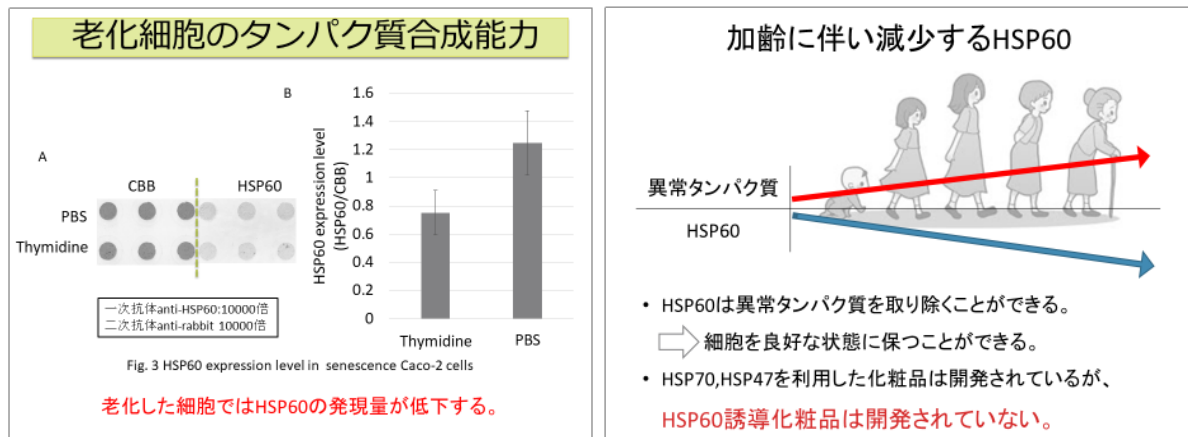
今回の開発目的と合致している乳酸菌として、「発酵食品由来株」「菌種名が明らか」「海外法規制等を鑑みた *Lactobacillus* 属に含まれる菌種中心」の条件に合致した菌株によりライブラリーは構成されている。これらを活用することで、通常の研究に用いる微生物ライブラリーと異なり、「高安定・高増殖・安全安心・多様な活性を持つ、海外展開可能な乳酸菌ライブラリー」からの開発スタートが可能となり、これにより通常スクリーニングと比して、大幅な菌株絞込みと開発期間・コスト短縮を図ることができた。【1-2】の試験評価等には当スクリーニングソースを用いている。さらに発酵食品由来であることが実用化時の製品コンセプトの作成にも寄与でき、売上向上が期待できる。

このスクリーニングソース調整時に、培養濁度、培地性状、pH などの生産指標パラメーターを採取しており、【1-3】データベースに統合するデータの一部とし、菌株選択時の指標とした。（※次頁：今回使用の乳酸菌ライブラリー リスト）

[illegible]

ヒートショックタンパク質（HSP）の発現誘導作用（抗加齢作用）

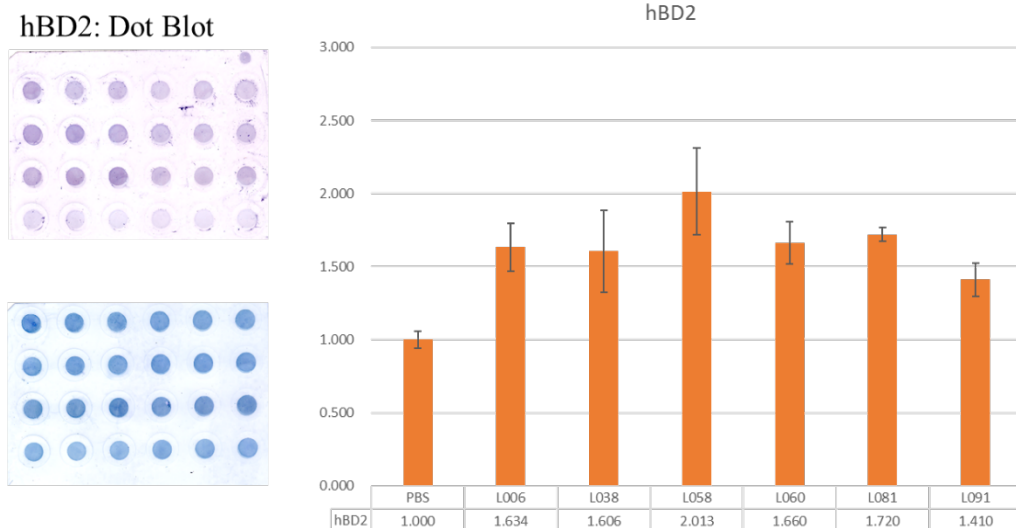
ヒートショックプロテイン、最近では分子シャペロンと呼ばれており、がんとの関連が報告されている HSP90 や HSP70 など多数の種類があるが、今回、HSP60 に着目した。HSP60 は、タンパク質のフォールディングに必須のタンパク質であり、加齢とともに発現量が減少する。



L006、L038、L058、L060、L081、L091 の 6 種類に関して、イムノブロット法にて発現誘導能を解析した。今回解析した乳酸菌では HSP60 を誘導するものは残念ながら無く、逆に L060 株の様に HSP60 の発現誘導を抑える乳酸菌があることが判明した。

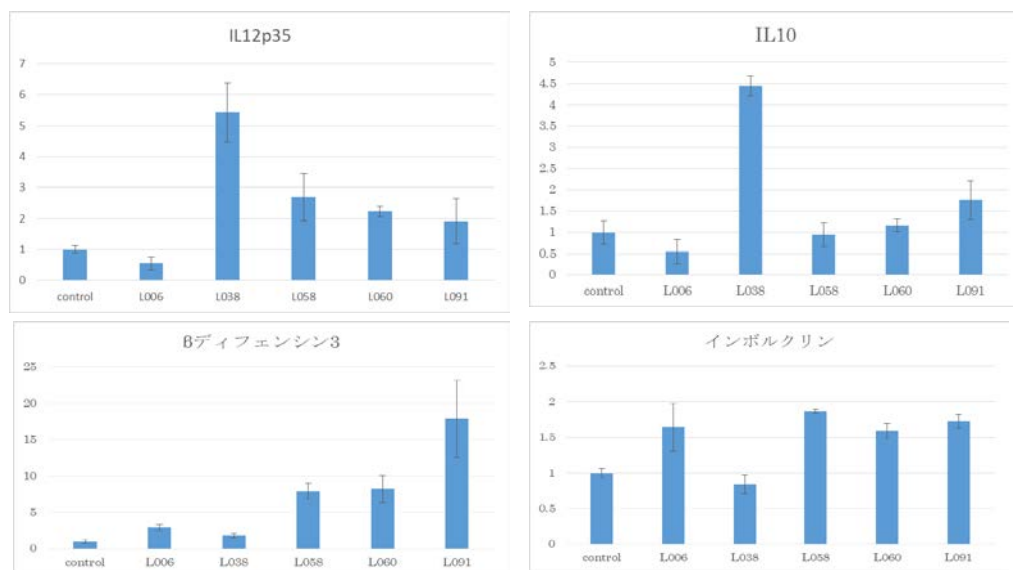
抗菌ペプチド

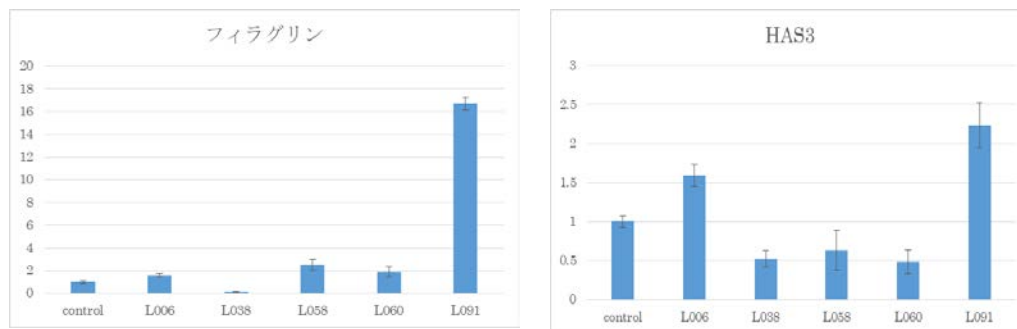
スクリーニングした約 120 株の乳酸菌の中から、L006、L038、L058、L060、L081、L091 の 6 種類に関して、ヒトディフェンシン(hBD2)特異抗体を用いて、産生誘導能をドットブロット法により定量化した。hBD2 に関しては、L058 株が高発現誘導を示した。



化粧品用途の有効性評価は一丸ファルコスで行い、下記に上げる 6 つの遺伝子発現変化を、ヒト正常表皮角化細胞を用いて評価した。スクリーニングした約 120 株の乳酸菌から、高い有効性を示した 5 株の結果を下記に纏めた。

- ◇ 免疫賦活因子 (IL12p35の遺伝子発現変化)
- ◇ 免疫抑制因子 (IL10の遺伝子発現変化)
- ◇ 生体防御機能改善 (β ディフェンシン3の遺伝子発現変化)
- ◇ バリア機能改善・角層形成因子 (インボルクリンの遺伝子発現変化)
- ◇ バリア機能改善・天然保湿因子 (フィラグリンの遺伝子発現変化)
- ◇ 保湿機能改善 (ヒアルロン酸合成酵素3の遺伝子発現変化)





皮膚常在菌への相互作用

近年、腸内細菌や皮膚常在菌などの共生細菌による生体恒常性の維持機能について大きな注目を集めている。乳酸菌はこれらの共生細菌のバランスを整えることが報告されており、一丸ファルコスでも乳酸菌死菌体を塗布することで皮膚常在菌の多様性が高まることを報告している（フレグランスジャーナル2017年4月号）。一丸ファルコスに次世代シークエンサー（NGS）を導入し、成人男女の菌叢を測定し、皮膚常在菌叢バランスと肌状態の関係を解析した。

成人男性の菌叢を測定し、弊社所有の肌データ測定機器を用いて肌の機器データも合わせて取得することにより、皮膚常在菌叢バランスと肌状態の関係を解析した。アクネ菌比率と皮脂量が相関するなどの現象が確認できた。女性の菌叢解析と肌データの取得を行い、男性と女性で異なるバランスを有する菌種が存在することを確認した。現在さらに詳しいデータを解析中である。表皮ブドウ球菌高増殖促進作用を持つ乳酸菌が取れているため、今後、開発候補の乳酸菌を肌に塗布することで、どのようなバランス変化が起こるか当試験系を用い評価し、目的ごとに異なる特徴を持つ乳酸菌をブレンドする比率の指標データを取得する予定。

乳酸菌有用菌体成分の機能性成分の定性・定量的評価

乳酸菌有用菌体成分の作用メカニズムについて現在、分子レベルでは不明であるが、生きた乳酸菌などの微生物の機能性成分のほとんどはβグルカン、リポテイコ酸、リポポリサッカライド類似体などの多糖類化合物であると言われている。そこで、レクチンアレイの技術を持っている産総研の舘野先生と共同研究し、開発候補乳酸菌の膜多糖類を解析することを依頼した。これにより、有効性のある多糖類を特定し、初年度に導入したナノ粒子アナライザーを用いて結合するレクチンの種類からどのような有効性があるかを予測できるようになると考えられる。しかしながら、事業の期限内にデータ解析が完了しなかったため、現在も解析中である。

【1－3】

乳酸菌の機能性化粧品素材の評価系として、これまで実施してこなかったヒト正常皮膚角化細胞（NHEK）を用いた化粧品原料を目的とした6つの遺伝子変動を評価する新規の有効性評価を行った。また、機能性食品に利用可能な乳酸菌の探索目的で、腸管免疫系指標として局所免疫ディフェンシン及び自然免疫賦活化因子IL-12 高発現誘導能を解析した【1－2】。

乳酸菌ライブラリーから選抜した約 120 株の乳酸菌に対してこれら評価を行った結果をデータベース化し、同時に、項目【1－1】生産性指標データを菌株選択条件の一つに置き、総合的観点より菌株選定を行った。

顧客要望にあわせオーダーメイドにて配合比率を変更提案できるブレンド乳酸菌を想定し、これに用いることのできる乳酸菌株候補として、「乳酸菌 5 株」を候補株として選定した。

候補株5株

	菌株No.	菌名	由来	選択理由
免疫関連	L038	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i>	穀物発酵種	免疫関連因子の特に強い発現促進活性が観察された。老化などにより衰えた肌免疫の改善効果が期待できる。
	L058	<i>Lactobacillus plantarum</i>	漬物	IL12p35の遺伝子発現促進による免疫賦活機能が期待できる。L060株と競合し、わずかにフィラグリンの発現促進活性が高い。
	L060	<i>Lactobacillus plantarum</i>	酒	IL12p35の遺伝子発現促進による免疫賦活機能が期待できる。L058株と競合し、わずかにβディフェンシン3の発現促進活性が高い。
角層・肌表層	L006	<i>Lactobacillus fermentum</i>	漬物	数少ないHAS3発現促進株。有意差は付かなかったが、IL12p35やIL10の遺伝子発現を抑える傾向があり、過剰免疫を抑える機能があるかもしれない。
	L091	<i>Lactobacillus plantarum</i>	漬物	βディフェンシン3の特に強い発現促進活性。加えて、フィラグリンの発現も強く促進しており、比較的肌表層におけるトラブルの改善効果が期待できる。

菌株の選択は機能性、生産性に加えて、中文INCIの取得可能なLactobacillus属に絞って行われた

【2. 安定化乳酸菌の高生産技術の開発】

化粧品原料としての特性として、高度に精製された乳酸菌体濃縮品であることが必須となる。機能性食品素材としてもこれは高付加価値化につながるため同様の精製が望まれる。

また乳酸菌は生菌体を素材として化粧品に配合することは難しく、食品素材としてもこれは生産/流通上の制約となる。よって世界中の様々な気候や環境に対応できる素材としても、生理活性を維持したまま、もしくは向上させた状態にて、加熱殺菌により機能性素材として安定化する技術が必要である。

微生物を用いた培養生産の側面に立つと、可能な限り安価な原料にて効率よく生産できる、生産性改革と自動化の手法確立が求められ、さらにスケールアップは必須となる。

そして当生産は海外販売を見据え、特定アレルギー不使用、動物由来原料不使用、各種宗教規格対応型の生産を確立する必要がある。

【2-1】製造条件の検討

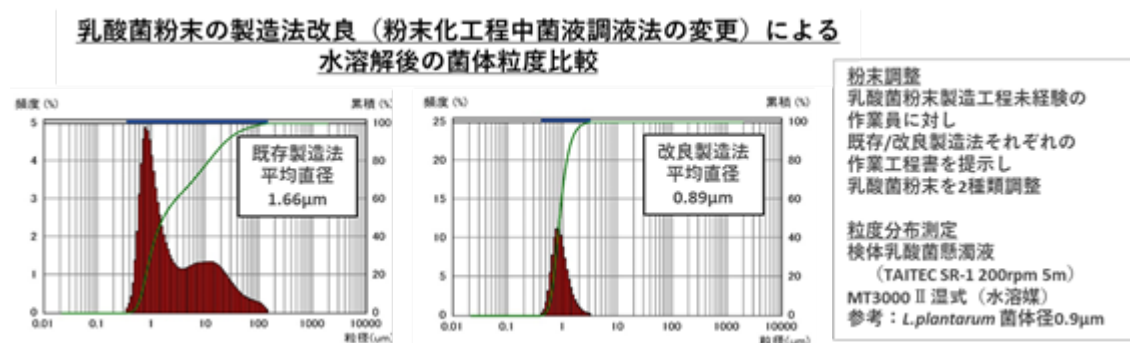
秋田今野商店は、多品種生産や微生物関連生産の実績やノウハウは豊富である。これを今回の生産物と生産スケールに合わせ、当該菌株の生産の大規模化、生産性向上、微生物生産の自動化を進めることとした。

秋田今野商店がすでに保有する大型ジャーファーマンターや、設備投資実施済みの大型粉末機を活用し、これを今回の生産物と生産スケールに合わせ、一連の生産効率化（生産時間短縮/作業人員削減）を可能とする生産工程をくみ上げ、マニュアル化を行った。当工程書に沿って製造検討を行い、これらを元に改良点を抽出し、導入が望ましい機器類の検証を行い、機器種類の選択・導入を進めた。また生産法改良検証を、製造内工程ごとに行った。結果、製造効率を改善するノウハウ、機械導入による製造自動化を複数工程において進めることができた。

（例：適切な機器導入により安定品質が得られた例。

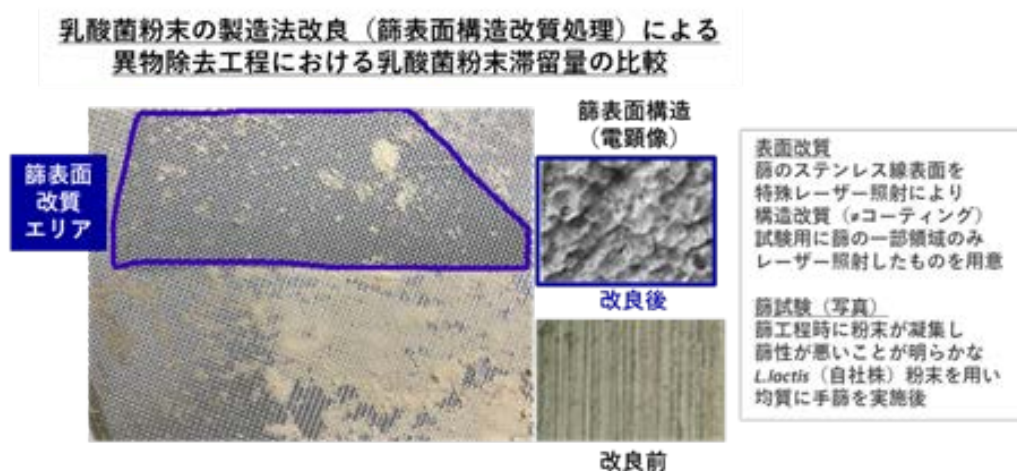
粉末工程における適切な機器導入と製造使用方法設定により、作業熟練度に関わらず、高品質な粉末製造につながる工程を組み立てることができた）

※水溶解時に有効成分が適切に液中分散することは機能性成分含有素材にとり重要である。



（例：適切な機器導入により製造時間短縮につながった例。

当乳酸菌製造時固有の問題（粉末同士の非結合型凝集）に対し、導入機器を選定しさらに製造メーカーを越えた追加加工（表面処理）を施すことで問題発生自体を抑制し、製造効率化につなげた。



また、製造コストダウンと動物由来原材料排除の目的にて、培養時培地の組成に注目し検討を行った。当乳酸菌粉末製造において、「培地中の窒素源（エキス/ペプトン）」のコストは大きな割合を示す要素となるため、可能ならコストを削減したい。（例：1000L 培養→5 kg乳酸菌粉末製造時、比較的安価な乳ペプトンを培地中 2%使用すると、20 kg×約 1 万円/kg=20 万円のコスト、製品換算するとこの原料コストのみで約 4 万円/kg 製品のコスト加算となる）

しかし、化粧品素材として、かつ海外販売を見据えた開発品のため、使用原材料は、非動物由来原料使用、特定アレルギー原材料は排除する必要がある。

ここで秋田今野商店では各種検討の結果、「各種酵母エキスを独自配合した酵母エキスミックス」を培地主要原料として用いることとした。これらはすべて食品グレードでそのまま食べてもよい品質のもので、工場レベルにて動物アレルギーフリーにて、コーシャなどの宗教規格もクリアできる品質のものを選択した。乳酸菌が要求する栄養源や各種製造条件、そしてコストを鑑み、複数種類の酵母エキスを自社にて混ぜ合わせたものとなる。

乳酸菌ライブラリー約 120 株から選抜した 5 株を含め、種々乳酸菌にて培養性比較を試験検討したが、理化学試験用の高増殖培地と比べても遜色ない性能が示された。かつ、他の培地成分と比

較しても各段に安く（5000 円以下/kg）、結果製造コスト削減をはかることができた。当乳酸菌ライブラリーの約 120 株の大部分にて高増殖が図れる汎用性のある培地であることが確認でき、後に続く製造試作検討にも使用することとした。

（例：酵母エキスマックスを用いた培地と理化学系培地での増殖度比較試験。

選抜 5 株においても増殖度に大きな差は見られず、良好な培地原料特性が確認できた。）

培地原料（酵母エキス／ペプトン類）の違いによる飽和培養時の増殖度比較

培地組成				培地4種				試験結果				培地4種			
培地成分	組成	アレルゲン 特定原材料	概算価格	MRS	GYP	GYS	GY	菌株	由来	項目	MRS	GYP	GYS	GY	
グルコース	2%	—	<2万円/kg	×	○	○	○	L006	漬物	Lactobacillus fermentum	OD600nm	6.31	6.10	5.89	5.45
										pH	4.4	4.2	4.3	4.4	
MRS	計5.5kg	複数	約3万円/kg	○	×	×	×	L038	発酵罐 粉物	Lactobacillus sanfranciscoensis	OD600nm	3.57	2.59	2.87	2.90
										pH	4.5	4.3	4.4	4.4	
乳ペプトン	1%	牛乳	約1万円/kg	×	○	×	×	L058	漬物	Lactobacillus plantarum	OD600nm	8.76	5.97	9.57	8.98
										pH	3.8	3.7	3.8	3.9	
大豆ペプトン	1%	大豆	約2万円/kg	×	×	○	×	L060	漬物	Lactobacillus plantarum	OD600nm	10.11	9.20	9.49	8.20
										pH	3.9	3.7	3.8	3.8	
酵母エキスマックス （自社調製）	2%	無し	<5千円/kg	×	○ (1%)	○ (1%)	○ (2%)	L091	漬物	Lactobacillus plantarum	OD600nm	9.40	7.32	8.17	7.29
										pH	3.9	3.7	3.8	3.8	
リン酸二水素カリウム	0.20%	—	—	×	○	○	○	比較用 （自社株）	漬物	Lactobacillus sakei	OD600nm	6.36	3.33	6.01	5.56
クエン酸水素アンモニウム	0.20%	—	—	×	○	○	○			pH	4.1	4.2	4.2	4.1	
酢酸ナトリウム	0.50%	—	—	×	○	○	○								
硫酸マグネシウム	0.02%	—	—	×	○	○	○								
硫酸マンガン	0.005%	—	—	×	○	○	○								
AC後 pH(培地のみ)				pH	6.2	5.8	6.4	6.2	左記組成液 pH6.8調整後AC 前培養液 1/50量植菌 静置培養30℃16h後各測定						
AC後濁度（培地のみ）				OD600nm	0.027	0.021	0.027	0.027							

【2-2】安定化乳酸菌の高品質・高純度化技術の高度化

秋田今野商店は、食品素材としての乳酸菌死菌体の製造実績を有している。但し化粧品用途に必須な品質（純度／安定性）までの乳酸菌高度精製設備は有していなかったため、検討の末に乳酸菌高純度化製造が可能な製造装置を導入した。

これらを用い、製造工程を検討し、生産改良検討などに培養管理の基本データとなる各種測定値を蓄積できる体制を整備するためインライン濁度計等導入し、試作検証をすすめた。選抜された乳酸菌株について、全て培養検討を行い、製造工程を組み立てることとした。これら生産高度化を通じ、高品質な乳酸菌高純度精製の製造法を定め、食品素材／化粧品素材としての規格を策定することとした。

試験培養（乳酸菌5株共通）	各条件設定
培養：150L培地／200Lジャーファーマンター	
培養温度：30℃維持	
攪拌：微弱攪拌（50rpm）	
通気：微弱（陽圧維持のみ）ガス通気なし	
pH：中和剤(苛性ソーダ食品製造用) pH6.2以上維持	
培地：酵母エキスマックス2% グルコース2～6% （食品製造用、コーシャ認証品）	
滅菌(121℃20分)後培養開始	
前培養：1/50量培養液（3L）	
培養時確認項目	
：濁度/中和剤量（変化量と累計） 他	

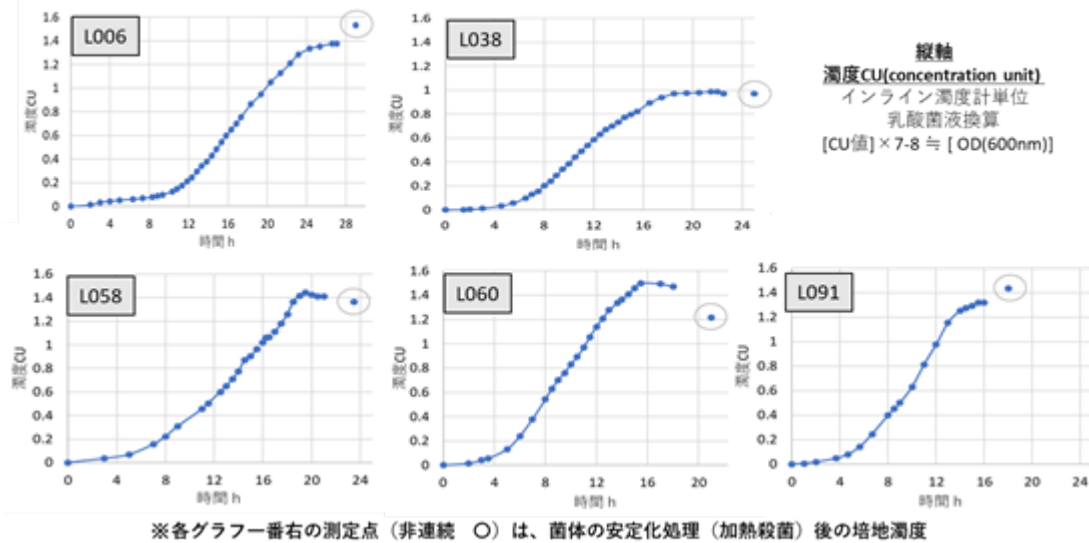
機械導入含めこれらの試作製造を行いデータ検証／試作製造ができる体制が、50～200～2000L の 3 スケールにて整備でき、結果、選抜乳酸菌株 5 株においてほぼ共通条件にて高増殖の培養製造工程が策定できた。

また乳酸菌高純度精製の製造工程を確立し、製品規格を食品用／化粧品用として策定した。

（例：選抜した乳酸菌 5 株を培地量 150L にてジャーファーマンター培養を実施し濁度推移を測定した例。

共通製造条件設定にて安定した増殖が確認できた。）

試験培養（乳酸菌5株） ジャーファーマンター（培地150L）培養時濁度推移



【3. 事業化に向けた取り組み】

素材としての試作品を、試作製造する必要がある。乳酸菌の試作後、各種の安全性試験を行う必要がある。さらに、グローバル展開を目指し、乳酸菌死菌体原料を販売する各国のレギュレーションを調査する必要がある。また、展示会にトライアルで出展し、マーケティング調査を行うことが望まれる。

【3-1】安全性試験の実施

【1-2】で選別し、【2-1】【2-2】で製造方法を確立し、【3-2】で製造した乳酸菌 5 株（L006, L038, L058, L060, L091）に対して in vitro の変異原性試験を秋田大学医学部から外部機関に依頼し、すべて陰性であることを確認した。現在、化粧品用途基準 in vitro の感作性試験（ケラチノセンス）を依頼している。これらの試験が陰性であったものから、さらにヒトを用いたパッチテストを行い、安全性を確認する予定。

【3-2】

【1-3】にて発酵食品由来微生物からなる乳酸菌約 120 株ライブラリーから選抜された乳酸菌 5 株と、【2-1】【2-2】にて確立された製造工程を用いて、試作品を製造した。（出来高：200～600g／乳酸菌株 下記写真は 150g／袋）

当試作品は特定アレルギー不使用、動物由来原料不使用、各種宗教規格対応型の生産方法にて高度に濃縮精製された乳酸菌 100%の粉末となる。これらはブレンド乳酸菌[オーダーメイド展開型])として、今後さらなるヒト試験による機能性評価と安全性試験を実施の上、ブレンド比率を変え顧客要望に合わせることで、複数タイプの製品が展開できる。



【3-3】販売準備

グローバル展開を目指し、乳酸菌有用菌体成分原料の販売を行う各国のレギュレーションを調査した。エンテロコッカスフィカリスは FDA で注意喚起されている菌であることから、食品・化粧品共に注意が必要であることが判明した。化粧品に関しては中国の化粧品原料リスト（中文 INCI）に記載があるのはラクトバチルス属のみであるため、これに属するものを優先するべきである。

スイスや日本で開催された食品開発展や香港で開催された 4th Skin Microbiome congress に参加し、食品用の乳酸菌加工品が群雄割拠している状況であり、免疫賦活、整腸、抗肥満等では差別化が困難な状況になっていることが明らかとなった。また、海外では乳酸菌を化粧品原料にするコンセプトの原料メーカーがほぼ無いことが分かった。日本国内でエンテロコッカスフィカリスを化粧品原料として紹介するメーカーがあるが中文 INCI が無いことから、差別化できると考えられる。よって今のところ独自性の高いコンセプトであるため、ビジネスチャンスはあるものと考えられる。

最終章 全体総括

成果及びその効果

【複数年の研究開発成果】

秋田今野商店が調整した微生物ライブラリーから厳選された約 120 株の乳酸菌ライブラリーから、化粧品分野の有効性評価を行い、特徴的な機能性を有し、生産性も良好な乳酸菌 5 株を選抜し、従来よりも高度な製造方法を確立することに成功した。また、変異原性試験で問題ないことを確認できた。

【研究開発成果に係り想定する製品】

研究開発成果に係る製品		概要（用途・特徴等）
“乳酸菌こまち” シリーズ（国内） “LAB Komachi” (global)		機能性化粧品原料 例：乾燥肌向け、敏感肌向け、オイリー肌向け
“乳酸菌こまち S” シリーズ（国内） “LAB Komachi S” (global)		機能性食品原料 例：抗ストレス、抗フレイル、保湿（食べる化粧品）
効果	・ グローバル展開による外貨の獲得 ・ パーソナライズに対応した機能の異なる乳酸菌を一定割合でブレンド ・ コーシャ・ハラル対応した、グローバル展開が可能 ・ アレルゲンを含まない製法、安全性が高い ・ 機能性評価・製造方法の高度化→乳酸菌市場の活性化 ・ “あきた” 発の発酵食品産業の推進→トレーサビリティ	

【研究開発後の課題・事業化展開】

今回の 2 年間の事業期間中で製品化には未だ至っていない。今後は他の安全性試験、安定性試験を行い、基準をクリアできればヒト有効性試験を行う予定。それらの結果からいくつかのブレンド比率で製品を製造する。或いは様々な川下企業にブレンド比率を変えてオリジナル製品を販売するビジネスモデルも想定されるため、川下企業の要望をリサーチしながら開発方針を決定する予定。

市場調査

- ・ 機能性乳酸菌の市場規模は 505 億円、市場成長率は 143.6%であり、右肩上がりに増加している（生物由来有用成分・素材市場徹底調査 2017 年～動物系、植物系、合成系 50 の話題性・注目度の高い機能性素材の最新市場動向を網羅、富士経済）。他の素材に比較し、最も大きなものとなっている。日経トレンディー2017 年 3 月号において、「何でも乳酸菌入りのバブル到来、菌株の健康機能に応じて“指名買い”」ともあるように、市場調査時よりも、市場規模が拡大する可能性もある。

- ・ アンチエイジング市場は、高齢化社会が進むなかで、加齢に伴う肌や頭皮に悩みを持つ人口が増加していることを背景に、これらの様々なケアを訴求した新ブランド/新商品投入が積極的に行われ、拡大を続けている。2017 年はインバウンドを追い風に、積極的な商品投入や商品リニューアルに加え、新ブランド投入が相次いでおり、引き続きアンチエイジング機能性化粧品市場は活況を呈すると見込まれる（7,000 億市場）。(富士経済「機能性化粧品マーケティング要覧 2016-2017」)
- ・
- ・ 健康食品・サプリメント最終商品売り上げ 1 兆 5,395 億円。(株式会社インテージ『健康食品・サプリメント市場実態把握レポート 2014 年度版』)
- ・ 2017 年の健康食品市場は約 2 兆 1,450 億市場に成長。(シードプランニング社「2014 年版 特定保健用食品・栄養機能食品・サプリメント市場総合分析調査」)
- ・ 機能性食品の市場規模は 2015 年時点で 301 億円→2017 年に 1317 億円に拡大と予想 (読売新聞 H29. 5. 12)

【川下企業(顧客)ニーズ】

機能性化粧品分野 : 一丸ファルコスでは、乳酸菌死菌体を原料とする化粧品原料を先行して 2017 年 5 月より発売しているが、エンテロコッカス属の乳酸菌であるために、中国 INCI に収載されておらず、さらに、製造工程がハラルに対応していないために、グローバル展開ができない。動物系の乳酸菌は安全性の面でも心配されている。化粧品グレードは高純度のものが必要であるためにコストを下げることもニーズとして大きい。現在の製品は機能性も高いが、顧客のニーズは乳酸菌のイメージが先行し、企画発進で機能性は次の次として、購入されている。海外の川下のトレンドはエビデンスベース・コスメである。

機能性食品分野 : 乳酸菌死菌体の機能性食品原料の川下ニーズは機能性関与成分を明確にし、機能性表示食品としての販売である。また、乳酸菌死菌体の食品原料は安定性や価格の調整のためにデキストリンなどの添加剤を含んでいる。川下からは、高純度で高品質な乳酸菌原料の供給がニーズとしてある。さらに、エビデンスとなる論文やシステマティックレビューなどの科学的な客観性のあるエビデンスの公開がニーズとしてある。

川下企業	ニーズ
機能性化粧品分野 国内：資生堂、花王、コーセーなど1000社以上 海外：ロレアル、シャネル、エスティーローダーなど海外 100 社以上	・ 安心、安全 ・ 低コスト ・ 機能性の実態、メカニズムが明らか ・ made in Japan
機能性食品分野 国内：サントリー ダイドー 日清 HD など数百社	・ 機能性関与成分 ・ 低コスト ・ 高機能

【販売促進戦略】

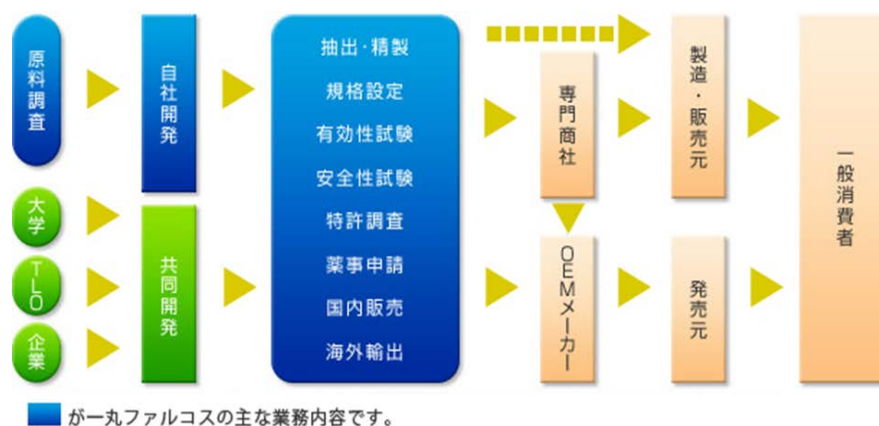
本製品は安定化乳酸菌の多機能性食品・化粧品原料であることを強みとして、以下の戦略で販売を促進する。

① 販売ルート

秋田今野商店は国内外の発酵産業で即時の販売ルートを持ち、そのルートを利用して機能性原料の販売を行うことができる。例えば、全国の酒造メーカーを通じて、機能性食品の販売会社の川下を探すことができる。一丸ファルコスには国内外に健康食品・化粧品（近年、健康食品への参入が相次いでいる）合わせて **3,000 社の顧客**と取引があり、この販売ルートが利用できる。原料調査から自社開発までを自社で行うことが特徴である。そのため、研究者自ら営業部と協力して販売説明にあたり、エビデンス重視の顧客のニーズに答えている。

② 製品プロモーション

プロモーションの機会として、これまでに一丸ファルコスで実績のある各種**展示会**、**日経ヘルス**をはじめとした**雑誌**、自社主催の原料紹介**セミナー**を利用する。



一丸ファルコスの one stop 販売体制