

## 一般演題 9

## 乳酸菌発酵飼料による無抗生物質・無抗菌剤使用の養豚法の開発

The Pig Farming Method of Feeding with LBF Fermented Food  
without Antibiotics and Antibacterials○松井三郎<sup>1</sup>，汐見修一<sup>2</sup>，加納親一<sup>3</sup><sup>1</sup>京都大学名誉教授，<sup>2</sup>株式会社スカイ・ライフ，<sup>3</sup>株式会社ゼロバイオジャパン

【目的】多剤耐性菌による人の感染影響は深刻な状況にある。新規抗生物質と耐性菌の突然変異は、イタチゴッコにある。病院内感染が問題視されるが、根本原因は家畜・養殖魚に使用される抗生物質・抗菌剤が人の使用量より約1.5倍と大量であり、家畜・養殖魚腸内で耐性菌が増殖し環境に排泄され、土壌・野菜・果物等を汚染経路して病院に侵入することである。

【方法】無抗生物質・無抗菌剤使用の養豚法を開発してきた。乳酸菌 *Lactobacillus fermentum* (LBF) を、植物性培地で経済的に増殖させることに成功し、抗生物質・抗菌剤使用と比べて経済的である。LBFを一定の割合で豚飼料に混ぜて発酵させ、飼育した。母豚、仔豚、離乳豚から成豚まで、一切抗生物質・抗菌剤使用を飼料中に与えず、ただしワクチンは最小限投与、約180日で屠畜することができた。

【結果】生育が順調で、餌の体重転換効率が高まり、途中の死亡率が減少した。また、肉質が極めて改善され脂肪分低下、脂肪による豚特有の臭みが無くなり、グルタミン酸、イノシン酸等アミノ酸濃度上昇による旨みの増加が見られた。消費者が他の豚肉と味の違いが明確に分かり、この豚肉のリピーターが生まれた。また、豚舎のアンモニア臭が著しく改善され、豚糞は乳酸発酵して安定化し、農家が喜ぶほどの優れた堆肥になった。

【考察】この養豚法確立により、養豚業が抱える環境問題—豚糞の処理、臭い、ハエ等が著しく改善される。この養豚法は、豚へのストレスを低下させることから、豚は人に対して恐怖感を持たなくなっている。このことは、豚の鳴き声による騒音問題の解消にもつながっている。この養豚法は、豚の自然免疫を中心に免疫系全般の改善をはかることと関係していると考えられるが、その解明はこれからである。

## 一般演題 10

## 潰瘍性大腸炎に対する大腸全摘術後の腸内細菌叢の変動

## Alteration of Fecal Flora after Total Proctocolectomy for Ulcerative Colitis

日当愛美<sup>1</sup>, 小森佑奈<sup>1</sup>, 佐々木佳織<sup>2</sup>, 神山篤史<sup>3</sup>, 羽根田祥<sup>3</sup>, 渡辺和宏<sup>3</sup>, 鈴木秀幸<sup>3</sup>, 長尾宗徳<sup>3</sup>,  
林 啓一<sup>3</sup>, 小川 仁<sup>3</sup>, 柴田 近<sup>3</sup>, 佐々木巖<sup>3</sup>, 高橋賢一<sup>4</sup>, 舟山裕士<sup>4</sup>, ○福島浩平<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>東北大学大学院医学系研究科分子病態外科学分野, <sup>2</sup>東北大学大学院医工学研究科消化管再建医工学分野,  
<sup>3</sup>東北大学病院胃腸外科, <sup>4</sup>東北労災病院大腸肛門外科

【はじめに】潰瘍性大腸炎（UC）は、大腸粘膜に発症する原因不明の難治性炎症性腸疾患である。重症例では手術を要し、大腸全摘兼回腸肛門吻合術が施行されるが、術後に回腸囊炎を発症する場合がある。腸内細菌叢の変化が回腸囊炎発症に深く関与する可能性があり、以前より解析を行っている（Surgery 2009, 145: 435）。

【目的】16S rRNA 遺伝子を標的とした定量的PCRを解析に導入し、術後の経時的変化や治療に用いる抗菌剤の影響を明らかにすること。また、既報で指摘した術後経時的に減少する腸内細菌の同定を行うこと。

【方法】UC術後症例47例及び健常成人5例より得られた糞便108検体よりDNAを抽出した。回腸瘻、術後50日、50-100日、100日から1年、1年以上、コントロールの6群に分け検討した。*Eubacteria*, *Clostridium. coccooides*, *Clostridium leptum*, *Bacteroides fragilis*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus species*, *Atopobium*, *Prevotella*, *Desulfovibrio*を標的に定量的PCRを行った。T-RFLP法で明らかにした術後経時的に減少する腸内細菌は、制限酵素処理産物を抽出し適宜ライゲーションとPCRを行うことによりプラスミドベクターに組み込み塩基配列を決定、BLASTサーチにより同定した。

【結果】便検体湿重量あたりのDNA回収量は、ばらつきが大きいものの経時的に増加した。microg DNAあたりのコピー数で見ると、*Eubacteria*, *Bifidobacterium*, *Prevotella*, *Desulfovibrio*では6群間で差を認めなかった。一方、*C. coccooides*, *C. leptum*, *B. fragilis*などの偏性嫌気性菌は術後に増加し、*Lactobacillus species*は減少した。とくに*C. coccooides*の変化は、術後100日以内の早期に生じていた。また、術後長期経過例では、症例ごとのコピー数の変動は認められなかった。抗菌剤服用により、偏性嫌気性菌は減少したが*Lactobacillus*, *Desulfovibrio*は不変であった。術後経時的に減少する腸内細菌は、*Enterococcus faecalis*に一致し、定量的PCRにより術後経時的に減少することが確認された。

【考察と結語】大腸全摘術後では、本来大腸で優勢である*C. coccooides*および*B. fragilis*などの偏性嫌気性菌が増加し、小腸で優位な*Lactobacillus*が減少することから腸内細菌叢のいわゆる「大腸化」が生じ、回腸囊炎の発症と関連する可能性が示唆された。

## 一般演題 11

*Lactobacillus brevis* KB290の摂取が、下剤を常用する慢性便秘患者の気分状態に及ぼす影響The Effects of *Lactobacillus brevis* KB290 on the Mood States in Laxative-addicted Patients with Chronic Constipation○鈴江良隆<sup>1</sup>，井上拓郎<sup>1</sup>，信田幸大<sup>1</sup>，松生恒夫<sup>2</sup>，矢賀部隆史<sup>1</sup><sup>1</sup>カゴメ株式会社，<sup>2</sup>松生クリニック

【目的】慢性的な便秘の標準治療には浸透圧緩下薬や刺激剤等の下剤が用いられている。しかし、下剤を常用する慢性便秘患者では、下剤に依存していることに不安を感じている声も多い。一方、京都のすぐきから分離された植物性（植物由来）の乳酸菌である *Lactobacillus brevis* KB290（以下、KB290）は整腸作用があるプロバイオティクスであり、下剤を常用する便秘患者の下剤使用回数と下剤使用量を低減させることが報告されている。そこで、KB290の摂取が下剤の常用に不安を感じている慢性便秘患者の気分状態と糞便内菌叢に及ぼす影響について検討した。

【方法】便秘外来に通院し、問診時に下剤の常用に不安を感じていると回答した慢性便秘患者40名を被験者とした。1週間の摂取前観察期間の後、4週間の摂取期間中にKB290を約  $1.5 \times 10^{10}$  cfu 含むカプセルを1日に1カプセル、食後に摂取してもらった。試験期間中毎日、下剤使用状況、排便状況、腹部不快感の強さを24時間思い出し方式によるアンケートで調査した。また、摂取前観察期間と摂取期間の最終日に、日本語版POMS短縮版を用いて、気分状態を調査した。さらに、摂取前観察期間と摂取期間の最終週に採取した糞便を用い、糞便内菌叢（ビフィズス菌、乳酸桿菌、レンチナーゼ陽性クロストリジウム属、バクテロイデス属、大腸菌群）を培養法により調査した。

【結果】試験を完遂した被験者のうち、32名を解析対象者とした。摂取期間では、摂取前観察期間と比較して、下剤使用回数と下剤使用量は有意に少なく、排便回数と排便量、腹部不快感の強さは差がなかった。さらに、日本語版POMS短縮版を実施した週に気分の大きな変動を自覚しなかった被験者の気分状態は、「緊張-不安」、「抑うつ-落込み」のスコアが有意に低かった。また、下剤使用量が減少した被験者の摂取期間の糞便内菌叢は、摂取前観察期間と比較して、乳酸桿菌数が有意に多く、バクテロイデス属の菌数が有意に少なかった。

【考察】KB290の摂取は、下剤を常用する慢性便秘患者の不安等の気分状態緩和に有効である可能性が示唆された。この一因として、下剤使用回数や下剤使用量が低減したことが考えられた。また、KB290の摂取は、患者の腸内菌叢を変化させることが示唆された。

## 一般演題 12

ムチン分解能とトランスロケーション能の有無に関する  
ビフィズス菌の安全性評価Safety Evaluation of Bifidobacteria by Mucin Degradation and  
Translocation Ability

○武藤正達<sup>1</sup>, 阿部文明<sup>1</sup>, 宮内浩文<sup>1</sup>, 八重島智子<sup>1</sup>, 岩附慧二<sup>1</sup>, 大橋雄二<sup>2</sup>, 藤澤倫彦<sup>2</sup>, 松本哲哉<sup>3</sup>  
<sup>1</sup>森永乳業株式会社食品基盤研究所, <sup>2</sup>日本獣医生命科学大学応用生命科学部, <sup>3</sup>東京医科大学微生物講座

**【目的】** プロバイオティクスは様々な食品に添加され、人々の健康に貢献している。一方で、免疫不全患者等においては、プロバイオティクス投与により引き起こされた菌血症や敗血症等が報告され、一部でその安全性について懸念されている。そこで、プロバイオティクスとして使用されているビフィズス菌3菌種 (*B. longum* subsp. *longum*, *B. breve*, *B. longum* subsp. *infantis*) について、ムチン分解能試験並びに通常マウス及び免疫抑制マウスモデルを用いたトランスロケーション能に関する試験を行い、上記3菌種の安全性評価を行った。

**【方法】** ビフィズス菌3菌種の基準株及びプロバイオティクスとして使用されている菌株について、ムチンを炭素源とした培地における菌の増殖性を観察し、併せて培養液中のムチンの分解性をSDS-PAGEにより観察した。一方、通常マウスに高濃度の*B. longum* BB536株を連続投与し、血液、肝臓、腎臓、及び腸間膜リンパ節の菌学的調査により投与菌のトランスロケーション能を測定し、併せて腸管表層組織の変化を観察した。さらに、Cyclophosphamideを投与した免疫抑制マウスに、*B. longum* BB536株、*B. breve* M-16V株、*B. infantis* M-63株をそれぞれ連続投与し、同様に投与菌のトランスロケーション能を観察した。

**【結果】** ムチン分解試験において、ムチンを炭素源とした培地では供試菌の増殖は認められず、また、培養液中でムチンが分解されていなかったことから、供試したビフィズス菌には強いムチン分解能が無いことが推察された。通常マウスへの*B. longum* BB536投与試験では、各臓器中に菌は観察されず、また腸管表層組織にも大きな変化は認められなかった。一方、免疫抑制マウスでは、肝臓等の組織内に腸管内からトランスロケーションしたと思われるいくつかの菌が検出されたが、それらの中に供試したビフィズス菌は検出されなかった。

**【結論】** 供試したビフィズス菌*B. longum* BB536株、*B. breve* M-16V株、及び*B. infantis* M-63株はムチン分解能が無く、また免疫抑制モデルにおいてもトランスロケーション能が観察されなかったことから、菌血症或いは敗血症等のリスクに対して安全性の高いプロバイオティクスであることが推察された。

## 一般演題 13

極低出生体重児に対する *Bifidobacterium bifidum* OLB6378 の  
生後早期投与の検討The Study of Early Administration of *Bifidobacterium bifidum* OLB6378  
to Very Low Birth Weight Infants

○寺原正樹<sup>1</sup>, 利光孝之<sup>1</sup>, 中村真梨枝<sup>1</sup>, 柴田 剛<sup>1</sup>, 山崎千佳<sup>2</sup>, 戸津五月<sup>3</sup>,  
中西秀彦<sup>3</sup>, 鷺尾洋介<sup>3</sup>, 青柳裕之<sup>3</sup>, 内山 温<sup>3</sup>, 楠田 聡<sup>3</sup>

<sup>1</sup>株式会社 明治・食機能科学研究所, <sup>2</sup>愛育病院, <sup>3</sup>東京女子医科大学母子総合医療センター

【目的】 今日までに実施された低出生体重児に対するプロバイオティクス投与の臨床研究の結果から、プロバイオティクス投与が低出生体重児にとって重篤な疾病の一つである壊死性腸炎の予防に有効であるとの認識がなされつつある。その一方、壊死性腸炎の予防以外のプロバイオティクス投与の有効性については、感染予防作用や成長促進作用等の有効性が報告されているが、未だ統一した見解が得られていない。更に、低出生体重児へのプロバイオティクス投与の開始時期、投与量に関する情報は極限られたものである。今般、プロバイオティクスとして、*Bifidobacterium bifidum* OLB6378を使用し、その投与開始時期について検討したので報告する。

【方法】 東京女子医科大学に入院した極低出生体重児36児を被験児として、出生後48時間以内にOLB6378株を投与開始する18児を早期投与群、出生後48時間以降にOLB6378株を投与開始する18児を後期投与群として設定した。両群ともにOLB6378株の投与開始後から退院時までOLB6378株の投与を継続し、臨床データを比較した。主要評価項目は死亡率および重篤な合併症（慢性肺疾患発症頻度、Ⅲ度以上の頭蓋内出血の発症頻度、脳室周囲白質軟化症の発症頻度、壊死性腸炎の発症頻度、光凝固術を必要とする未熟児網膜症の発症頻度）の発症頻度とした。副次的評価項目は、栄養（母乳または人工乳）の摂取量が100 ml/日/体重kgに達した日齢（経腸栄養確立時期）、体重増加率等とした。尚、倫理的な観点からビフィズス菌を投与しない非投与群を設定しなかった。

【結果】 主要評価項目については早期投与群と後期投与群で有意な差は認められなかった。敗血症発症頻度、抗生物質投与期間、入院期間についても有意な差は認められなかった。しかし、早期投与群の経腸栄養開始時期は有意に早くなり、体重増加率も有意に高くなった。これらの結果から、OLB6378株を48時間以内から投与開始することによって児の成長が促進されることが示唆された。