

一般演題 10

Lactobacillus collinoides がエコール (equol) 産生に及ぼす影響
Effects of *Lactobacillus collinoides* on Equol Production in Mice

○田村 基, 岩見 卓, 堀 幸子, 中川博之
独立行政法人 農研機構 食品総合研究所

【目的】 イソフラボンの一つであるダイゼインから腸内フローラの代謝により equol が産生される。この equol は、もとのイソフラボンよりもエストロゲン活性の強い高機能性イソフラボン代謝物とみなされている。そのため、イソフラボンよりも equol の機能性の高さが注目されるようになっている。しかし、乳酸菌のエコール産生に及ぼす影響についての報告は少ない。今回、エコール (equol) 産生に及ぼす *Lactobacillus collinoides* JCM1123^T の影響を *in vitro* の培養試験及び動物試験を用いて検討した。

【方法】 *In vitro* の培養試験では、AIN-93M 食で飼育したマウスの糞便を嫌気性希釈液で希釈し、ダイゼインを添加し、*Lactobacillus collinoides* JCM1123^T を添加した場合と非添加の場合とで培養液中のエコール濃度の比較を行った。

動物試験では、5週齢 ICR 系雄マウスを AIN-93M 食で 19 日間飼育した後さらに 0.05% ダイゼイン添加食で 4 日間飼育した。乳酸菌投与群には *L. collinoides* を 10 日間連続で経口投与し、対照群には生理食塩水を 10 日間連続で経口投与した。飼育試験終了後、血漿及び盲腸内容物を採取して、盲腸内容物のイソフラボン類アグリコン濃度を HPLC で測定し、血漿総コレステロール濃度を酵素法で測定した。また、解剖以前にマウスの糞便を採取し、糞便の乳酸桿菌数を測定した。

【結果と考察】 *In vitro* の培養試験では、培養液のエコール濃度は *L. collinoides* を添加した方が非添加の場合よりも高く、*L. collinoides* が糞便フローラのエコール産生に影響を及ぼしていることが示唆された。動物試験では、盲腸内容物のダイゼインアグリコン濃度は、*L. collinoides* 投与群は非投与群よりも有意に低値を示した。しかし、エコールアグリコン濃度に有意な差は認められなかった。血漿総コレステロール濃度は、*L. collinoides* 群で有意に低値を示した。糞便の乳酸桿菌数は *L. collinoides* 投与群で有意に高値を示し、*L. collinoides* がマウスの腸内フローラに影響を及ぼしていることが示唆された。*L. collinoides* はマウスの腸内フローラへの影響を介してイソフラボン代謝に影響を及ぼすことが示唆された。

一般演題 11

肥満・II型糖尿病モデル動物KK-A^yマウスの糖脂質代謝に及ぼす α グルコシダーゼ阻害薬と*Bifidobacterium bifidum* G9-1の併用効果の検討Effects of the Combination of *Bifidobacterium bifidum* G9-1 and α -glucosidase Inhibitor on Impaired Glucose Tolerance and Lipid Metabolism in Obese Diabetic KK-A^y Mice

○嶋川真木, 川原知浩, 伊佐康浩, 大野裕史, 山村秀樹
 BioFuelMin製薬株式会社 神戸研究所

【目的】糖尿病治療薬 α グルコシダーゼ阻害薬(α GI)は二糖類から単糖類への分解を阻害することにより、糖尿病の食後過血糖を改善する薬剤として知られている。

一方、我々は既に、*Bifidobacterium bifidum* G9-1 (BBG9-1)を肥満・II型糖尿病モデル動物であるKK-A^yマウスに投与することにより、糖および脂質代謝に対して改善効果を示すことを報告している。そこで今回、 α GIの糖尿病に対する効果にBBG9-1がどのような影響を及ぼすかを検討するために、 α GIであるアカルボースの糖脂質代謝作用に及ぼすBBG9-1の効果についてKK-A^yマウスを用いて検討した。

【方法】10週齢の雌性KK-A^yマウスを用い、0.1%アカルボース配合飼料もしくは0.1%アカルボースおよび10% BBG9-1乾燥菌末混合飼料を連日混餌投与した。投与開始から4週間後に経口糖負荷試験(OGTT)、6週間後にインスリン抵抗性試験(ITT)を実施した。さらに、試験終了後の肝臓および子宮周囲脂肪組織の重量ならびに血液生化学的成分(グルコース、コレステロール、トリグリセリドなど)についても測定した。

【結果】対照群と比較して、アカルボースを単独で投与した場合、投与開始4週間後のOGTTではグルコースに対する反応性に有意な変化は認められず、6週間後のITTにおいてもインスリンに対する反応性にほとんど差は認められなかった。アカルボースとBBG9-1を併用投与した場合、4週間後のOGTTでグルコースに対する反応性に有意な改善効果が認められ、6週間後のITTにおいてもインスリンに対する反応性が改善される傾向が認められた。さらに、体重増加の抑制および子宮周囲脂肪重量の減少も認められ、血糖値、総コレステロール、TC/HDL-C比およびトリグリセリドなどの血液生化学的成分についても低下もしくは低下する傾向が認められた。

【考察】糖尿病治療薬である α GIとBBG9-1の併用投与は、肥満・II型糖尿病の耐糖能やインスリン抵抗性を改善させることが示唆されるとともに、本検討において血中の脂質成分が減少し脂肪重量減少を伴った体重増加抑制も認められたことから、肥満症やメタボリックシンドロームを改善させる効果についても期待される。

一般演題 12

Inhibitory Effect of *Clostridium butyricum* MIYAIRI Strain on Pathogenic *Clostridium difficile*

○Timothy Woo¹, Kentaro Oka², Motomichi Takahashi², Shigeru Kamiya¹

¹Department of Infectious disease, Kyorin University School of Medicine

²Miyarisan Pharmaceuticals Ltd.

【Background and Aims】 *Clostridium butyricum* MIYAIRI 588 strain (Miyarisan Pharmaceutical Co. Ltd.) is a commercially available probiotic strain which is known to have beneficial effects on the gut microbiota. In particular, it is documented that it has inhibitory effects *in vivo* against *Clostridium difficile*, a globally important nosocomial pathogen causing antibiotic-associated diarrhoea and pseudomembranous colitis. This study aimed to elucidate the means by which *C. butyricum* MIYAIRI inhibits the toxic effects of *C. difficile* infection.

【Materials and Methods】 *C. difficile* VPI 10463 and KZ 1678 strains and *C. butyricum* MIYAIRI 588 strain were cultivated in PYG or BHI medium containing 0.1 % thioglycolate. Cell free supernatants were prepared from overnight cultures by centrifugation at 7500g for 15 minutes and 0.25 μ m filter sterilisation. Adhesion assays with CACO-2/INT-407 cells were performed in PYG medium using *C. difficile* pre-stained with lipophilic dye (FITC) and detected by fluorimetry.

【Results】 Cell-free supernatants prepared from *C. butyricum*/*C. difficile* co-cultures and *C. difficile* cultured in *C. butyricum* supernatant had a mild inhibitory effect on the cytotoxicity of *C. difficile* VPI 10463 strain. *C. butyricum* MIYAIRI cell-free supernatant and co-culture with *C. butyricum* MIYAIRI strain also exhibited dose-dependant growth inhibition against *C. difficile* VPI 10463. Adhesion studies using non-toxicogenic *C. difficile* KZ 1678 strain showed that pre-incubation with various concentrations of *C. butyricum* MIYAIRI had no significant effect on the adhesion of *C. difficile* to intestinal cell lines (CACO-2 and INT 407).

【Conclusion】 Although *C. butyricum* MIYAIRI strain exhibits some growth inhibition of *C. difficile*, it is currently unclear as to how pathogenicity is reduced *in vivo*.

一般演題 13

腸内細菌代謝産物による潜伏感染HIV-1の再活性化

Reactivation of Latent HIV-1 Infection by the Intestinal Microflora

○落合邦康^{1,2}, 今井健一^{1,2}, 山田 潔^{1,2}, 田村宗明^{1,2}, 岡本 尚³¹日本大学歯学部細菌学, ²日本大学総合歯学研究所生体防御部門,³名古屋市立大学大学院医学研究科細胞分子生物

【目的】世界のHIV感染者数は3,300万人にのぼり、アジアにおける感染拡大は止まらない。本邦は先進国内で唯一感染者が増加しており、早急な対策が求められている。抗HIV化学療法は、潜伏感染HIVには無効なためAIDS治療を困難にしており、感染者は潜伏HIVの再活性化により感染症増悪や死にた。最近、クロマチンレベルでの潜伏感染機構が明らかになった。転写抑制因子によりHIV-LTRに呼び込まれたヒストン脱アセチル化酵素は、近傍のヒストンを脱アセチル化することにより抑制型のクロマチンを形成し、HIVの転写を積極的に抑制し潜伏感染を維持する。しかし、感染者体内の潜伏感染がどのような状態で破綻し、HIV複製が開始されるか不明であった。我々は、多くの成人が罹患している歯周病の原因菌*P. gingivalis*の代謝産物・酪酸によるHIV再活性化機序を報告した(J. Immunol., 2009)。酪酸は腸内細菌の主な代謝産物の一つであることから、本研究では、再活性化における腸内細菌の影響、併せて、腔内細菌についても検討した。

【材料および方法】供試菌株として、代表的腸内細菌*Clostridium*属, *Eubacterium*属, *Fusobacterium*属など9株, *Anaerococcus*属, *Peptoniphilus*属など腔内細菌4株を用いた。HIV潜伏感染T細胞株および単球株の培養系に供試菌株の培養上清を添加しHIV活性化能を検討した。HIV複製は、HIV感染者血清によるWB法, ELISA, ルシフェラーゼアッセイ等を用い検討した。また、菌株培養上清中の短鎖脂肪酸量はガスクロマトグラフィーにて測定した。

【結果および考察】腸内細菌では*Clostridium*属, *Eubacterium*属, *Fusobacterium*属菌株において顕著なHIVの複製と転写の活性化が認められた。また、腔内細菌の*A. tetradium*や*A. vaginalis*, *P. asaccharolyticus*などでも活性化が認められた。活性化作用の認められた細菌の培養上清からは高濃度の酪酸が検出された。腸管や腔などHIV感染症において重要な器官の常在菌が潜伏感染HIVを再活性化することが明らかとなった。HIV感染の初期段階におけるウイルスの爆発的な増殖には、腸内細菌による腸管粘膜内細胞感染HIV活性化が重要性であるとされている。HIVの伝播と感染定着には、これらの菌の代謝産物が影響している可能性が強く示唆された。

一般演題 14

腸内細菌が産生するフェノール類が皮膚に及ぼす影響の検討

Gut Bacteria-Producing Phenols Affect Host Skin

○飯塚量子, 川上幸治, 伊澤直樹, 千葉勝由
ヤクルト本社 中央研究所

【目的】 ある種の腸内細菌がチロシンを代謝することによって産生するフェノール類（フェノールおよびパラクレゾール）は生体に様々な悪影響を及ぼすことが知られる。本研究では皮膚への影響について検討した。

【方法】 ① ヘアレスマウス（Hos:hr-1）を用いて、チロシン負荷実験およびフェノール産生菌（*Morganella morganii*）のノトバイオート実験を行い、腸内で過剰に産生されたフェノール類が皮膚に及ぼす影響を検討した。② 健常ヒト女性へのプレバイオティクス飲用試験を行い、血中フェノール類量変化および皮膚への影響を検討した。③ 正常ヒト表皮角化細胞を用いた *in vitro* 試験によって、フェノール類がヒト表皮角化細胞の分化に及ぼす影響を検討した。

【結果】 ① ヘアレスマウスのチロシン負荷およびノトバイオート実験により、腸内で産生されたフェノール類が吸収され、血流を介し皮膚に蓄積することにより、皮膚角層において不全角化が引き起こされることが示唆された。② ヒト試験では、日常的にプロ-/プレバイオティクスを摂取する健常女性19名に対し、3週間の摂取制限を行ったところ、制限前に比し、血中パラクレゾール量の有意な増加、および保湿性（角層水分含量）や健全な表皮細胞分化状態を示すパラメータ（角質細胞面積、カテプシンL活性）値の有意な減少が認められた。さらに、その後3週間のガラクトオリゴ糖3.0 gを含むプレバイオティクス飲料飲用により、血中パラクレゾール量の有意な減少、および上記皮膚パラメータ値の有意な増加が認められた。③ 培養正常ヒト表皮角化細胞を用いた実験により、20 nmol/mlのフェノール類の培養上清への添加が表皮角化細胞の代表的な分化マーカーであるK10タンパク質の発現を有意に抑制することが示された。

【考察】 以上の結果より、腸内で産生されたフェノール類が、血流を介し皮膚に蓄積し、そこで表皮角化細胞の正常な分化に変調をきたすことで、皮膚の保湿機能等を悪化させることが示唆された。

一般演題 15

腸溶性カプセル化ビフィズス菌による血液透析患者の血清リン値低下効果

Beneficial Effect of Enteric Capsule Preparation of Bifidobacteria
on Serum Level of Phosphate in Hemodialysis Patients○金谷 忠¹, 島田美樹子², 小川哲也³, 小崎敏雄¹, 浅田雅宣¹¹森下仁丹株式会社研究開発本部, ²平成日高クリニック, ³東京女子医大第4内科

【目的】血液透析療法は、慢性腎不全末期に腎臓の代替として行う治療である。その生命予後因子として大動脈石灰化が大きく関与している。この原因は、腎機能低下による血清リン値の上昇に起因するリン酸カルシウムの沈着であり、透析患者にとっては他の電解質に比べて血清リン値の管理が特に重要である。また、透析患者は水分摂取を制限するため便秘になりやすく、生きたビフィズス菌の腸溶性シームレスカプセル製剤が便秘の改善に用いられてきたが、血清リン値の低下も認められた。本研究では、透析患者におけるカプセル化ビフィズス菌製剤の摂取による血清リン値低下作用を検証した。

【方法】平成日高クリニック外来血液透析患者460名のうち、透析前の血清リン値が6.0 mg/dL以上の31名を選び、腸溶性カプセル化*Bifidobacterium longum* JBL 01 20億cfuの摂取群15名と非摂取群16名の2群に分けた。摂取前、摂取開始後2週間後、4週間後と摂取終了後4週間後の血清リン値を比較した。さらに、別に血清リン値が5.5 mg/dL以上の患者を対象とし、摂取菌数と摂取方法によるリン値の低下挙動に関する検討も行った。

【結果】腸溶性カプセル化ビフィズス菌の摂取群では、血清リン値が摂取前 6.69 ± 0.60 mg/dLから2週間後 5.71 ± 0.88 mg/dL ($p < 0.001$), 4週間後 5.80 ± 0.89 mg/dL ($p < 0.01$)と有意に低下し、4週間の摂取期間終了からさらに4週間後には 6.73 ± 0.98 mg/dLに上昇し、本ビフィズス菌製剤摂取によるリン値低下効果が確認された。また、別に行った菌数と摂取方法による検討では、透析時の週3回の摂取では有意なリン値の低下が認められなかったが、毎日就寝前40億cfu投与、毎日就寝前100億cfu投与の両群では血清リン値に有意な低下が認められた ($p = 0.0457$, $p = 0.0382$)。

【考察】生きたビフィズス菌摂取による血清リン値の低下が認められ、透析患者には、便秘の改善とリン値の低下という2大作用をもたらし、朗報となった。リン値低下メカニズムは、摂取ビフィズス菌が小腸下部から大腸内での増殖時に、腸内の食物中の遊離リンを栄養素として吸収し、ヒトの腸壁からのリンの吸収量が減少するためであると考えられているが、それを確認することが、今後の課題である。