

宿主に有益な働きをもたらす 生きた微生物—プロバイオティクス

Probiotics, as a friendly bacteria that stimulate host health

ミヤリサン製薬株式会社 東京研究部部長 高橋 志達
Motomichi Takahashi (Director)

Tokyo R&D center, Miyarisan Pharmaceutical Co., Ltd.

1. はじめに

「プロバイオティクス (probiotics)」とは、Fuller¹⁾により提唱された「宿主に有益な作用をもたらす生きた微生物」を示す言葉であり、その語源は、生物に拮抗的に働く antibiotics に対し、「生命の為」よりなる。現在では、スーパーマーケットやコンビニエンスストアのヨーグルトや乳酸菌飲料コーナーにおいて良く目にするものであり、健康増進や医療分野において、多くの有用性が期待されている。本稿では、プロバイオティクスの働きについて概説する。

2. プロバイオティクスの使用菌種

プロバイオティクスは前述の定義の通り、生きた微生物を用いた生菌製品であり、これらには発酵乳を含む飲料、食品および医薬品としての生菌製剤などが挙げられる。

プロバイオティクスには *Lactobacillus* spp.、*Bifidobacterium* spp.、*Enterococcus* spp.、*Bacillus* spp.、および *Clostridium* spp. 等の幅広い細菌が用いられる²⁾。尚、本邦では、これまでである一定の菌種であれば、同等の有効性や安全性が期待されてきたが、近年では、欧米を中心に、プロバイオティクスの有効性は菌種レベルではなく、菌株に依存しているとの観点から、菌株レベルでの有効性および安全性を調査する必要があると報告されている³⁾。

表1 プロバイオティクスの特徴

定義	腸内細菌叢を正常化させることにより宿主に有益な作用をもたらす生きた微生物
使用菌属	<i>Bifidobacterium</i> spp., <i>Lactobacillus</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp., <i>Leuconostoc</i> spp., <i>Clostridium</i> spp., <i>Bacillus</i> spp., <i>Saccharomyces</i> spp., <i>Aspergillus</i> spp., <i>Torulopsis</i> spp.
必要条件	宿主に対し無害であり、胃酸や胆汁酸により殺菌されず腸管内において増殖性を有する
作用機序	<ul style="list-style-type: none">・菌体成分による宿主免疫応答の修飾・菌体または産生される酵素による腸管内の物質代謝や栄養素の補完および吸収改善・産生されるバクテリオシンや有機酸による腸管感染症の抑制・免疫応答および短鎖脂肪酸の産生による腸管内の炎症や潰瘍の抑制・発癌関連酵素の活性低下による大腸癌等の抑制
臨床的有用性	<ul style="list-style-type: none">・消化管感染症の予防および治療・抗生物質起因下痢症 (<i>Clostridium difficile</i> 腸炎) の予防および治療・炎症性腸疾患の緩解導入および維持・過敏性腸症候群の緩和・旅行者下痢症の予防・尿路感染症および細菌性膣炎の改善

3. プロバイオティクスの有用性

プロバイオティクスの有用性には多様な報告があり、その代表的な効果には①宿主腸内細菌叢の改善による各種疾病の予防または治療、②腸管病原性細菌に対する増殖抑制または毒素産生抑制による、その感染防御効果、③宿主免疫応答の調節による自己免疫疾患の改善、④発癌関連酵素の活性低下による大腸癌の予防または治療効果等が良く知られている。いずれの効果も表1に示すとおりプロバイオティクスによる直接または間接的な作用の相互の連携により発揮される⁴⁾。

4. プロバイオティクスによる腸管感染症対策

腸管病原性細菌の感染防御に与えるプロバイオティクスの有用性は、世界中で検討されており、そのメカニズムとして、①プロバイオティクスにより産生されるバクテリオシンや有機酸による直接的な殺菌作用、②病原性細菌の腸管内の付着部位での競合による定着阻害作用および③栄養素の競合による病原菌の増殖抑制作

用が考えられている。

腸管出血性大腸菌O157に対する効果

著者ら⁵⁾は、プロバイオティクスの有する感染制御作用のメカニズムを腸管出血性大腸菌 (enterohemorrhagic *Escherichia coli*: EHEC) O157: H7を用いて検討し、*in vitro*および*in vivo*において、プロバイオティクスとして用いた *Clostridium butyricum* MIYAIRI588 株が EHEC O157: H7の増殖および産生される2種類の毒素 stx1 および stx2 の産生抑制、上皮細胞への付着抑制および致死抑制効果を報告している。

Fukuda⁶⁾らは、前述のようなプロバイオティクスによる腸管出血性大腸菌O157の感染制御を、プロバイオティクスが産生する各種有機酸に注目し、種々の検討を加えている。本研究では、プロバイオティクスとして代表的な菌種である *Bifidobacterium* spp. が、無菌マウスを用いた EHEC O157 モデルにおいて、顕著な感染防御効果を発揮するのに対し、同じ菌でありながら、それらが産生すべき有機酸である酢酸の産生能を knock out した菌株では、その感染防御効果が失われることを示

表2 Experimental infection with *Clostridium difficile* in gnotobiotic and specific pathogen-free (SPF) mice pre-infected with *C. butyricum*. (文献6より)

Mice	<i>C. butyricum</i> pre-infection	No. dead mice/total mice (%)	
		1 day after challenge	2 days after challenge
Germ-free	-	5/7 (71.4)	6/7 (85.7)
	+	1/10 (10.0)	2/10 (20.0)
SPF	-	0/10 (0.0)	0/10 (0.0)
	+	0/10 (0.0)	0/10 (0.0)

C. butyricum M588 strain was infected 5 days before the challenge with *C. difficile*.

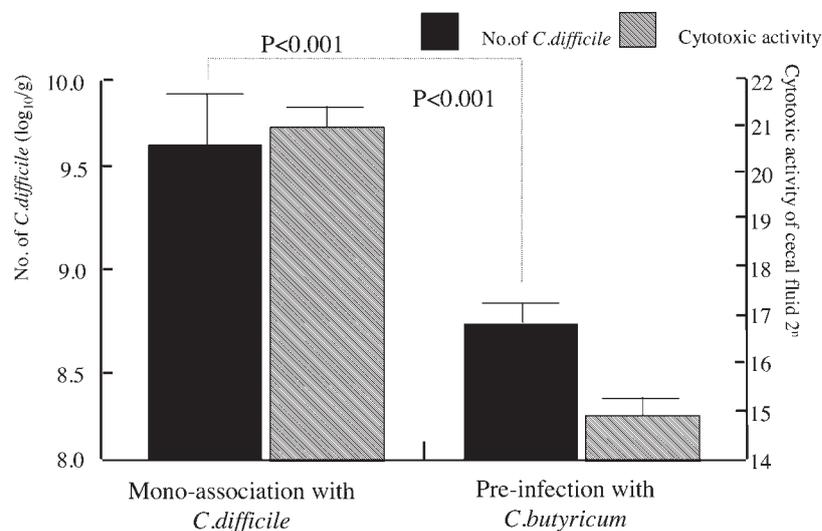


図1 Population levels of *C. difficile* in the cecal contents of gnotobiotic mice. (文献6より)

し、本菌種による腸管出血性大腸菌 O157 の感染防御作用は、有機酸に依存することを報告している。

Clostridium difficile 感染症に対する効果

Clostridium difficile は抗菌薬誘導下痢症や偽膜性大腸炎の原因菌として知られ、近年では院内感染の原因菌としても注目されている⁷⁾。

Kamiya⁸⁾らは、*C. butyricum* MIYAIRI 588 株の *C. difficile* に対する感染防御作用を無菌および SPF マウスを用いて検討した。すなわち、強毒株である *C. difficile* VPI10463 株 (1.9×10^5 CFU/mouse) を無菌マウスに経口感染させたところ、感染 2 日目までに約 86% のマウスが激しい出血性腸炎を発症し致死したが、*C. difficile* の感染前に *C. butyricum* MIYAIRI 588 株 (4.0×10^8 CFU/mouse) を投与していたマウスでは致死率が 20% まで抑制された。一方、腸内細菌叢を保有する SPF マウス (ICR, 8 week, female) は、*C. difficile* を経口感染させても *C. butyricum* MIYAIRI 588 株の投与の有無に関わらず全てのマウスが正常であった (表 2)。

本結果を細菌学的に解析した結果では、*C. butyricum* MIYAIRI 588 株の投与マウスの盲腸内容物中における *C. difficile* の菌数およびウサギ腎細胞 (RK13) に対する細胞障害活性が *C. difficile* 単独感染マウスに対し顕著に抑制されていた (図 1)。

以上の結果から、*C. butyricum* MIYAIRI 588 株は

C. difficile の増殖抑制および毒素産生抑制効果を有し、感染防御効果を発揮し得ることが示唆されている。

5. プロバイオティクスの臨床応用

抗生物質起因下痢症 (Antibiotic associated diarrhea; AAD) に対する効果

何らかの感染症に罹患し、抗菌剤が投与される患者のうち、20% 以上が抗生物質起因下痢症 (Antibiotic associated diarrhea; AAD) を発症するリスクがあると考えられており、これらは患者の治療および入院期間の延長につながる。本疾患には、*C. difficile* やメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) 等も関与している。AAD に対するプロバイオティクスの有用性も、多くの報告があり、その一部を表 3 に示した。この分野でもプロバイオティクスの臨床応用が期待されるとともに、*C. difficile* や MRSA の院内感染対策にも期待される⁹⁾。

Seki¹⁰⁾らは、110 例 (生後 1 ヶ月から 15 歳) の小児を対象に、抗菌薬療法中の腸内細菌叢の変動と、ミヤBM (*MIYAIRI 588* 株を使用した宮入菌製剤) の抗菌薬誘導下痢症の抑制効果を報告している。対象患者のうち 27 例 (生後 1 ヶ月から 8 歳; 平均年齢 1.9 歳) は抗生物質を単独で投与され、38 例 (平均年齢 3.1 歳) は抗生物質投与 3 日目よりミヤBM の併用を開始した。また、45 例 (平均年齢 2.0 歳) は抗生物質療法の開始と同時に

表 3 プロバイオティクスによる抗生物質起因下痢症の防御作用

抗生物質	プロバイオティクス	有効性 ^{a)}
Ampicillin	<i>Lactobacillus acidophilus</i> + <i>L. bulgaricus</i>	8.3% vs 21% (n=98)
Neomycin	<i>L. acidophilus</i> + <i>L. bulgaricus</i>	20% vs 42% (n=39)
Amoxicillin-clavulanate	<i>L. acidophilus</i> + <i>L. bulgaricus</i>	有効 ^{b)} (n=27)
Antituberculous	<i>Enterococcus faecium</i> SF68	5% vs 18% (n=200)
種々	<i>E. faecium</i> SF68	8.7% vs 27.2% (n=45)
Erythromycin	<i>Bifidobacterium longum</i>	有効 (n=10)
Erythromycin	<i>L. rhamnosus</i> GG	有効 (n=16)
種々	<i>L. rhamnosus</i> GG	17% vs 48% (n=188)
Clindamycin	<i>B. longum</i> + <i>Lactobacillus</i>	有効 (n=10)
β -lactams	<i>Saccharomyces boulardii</i>	4.5% vs 17.5% (n=388)
種々	<i>S. boulardii</i>	9.5% vs 21.8% (n=180)
β -lactams	<i>S. boulardii</i>	7.2% vs 14.6% (n=193)
種々	<i>Clostridium butyricum</i>	5-9% vs 59% (n=110)

a) 抗生物質服用後の腹部症状発症率 (プロバイオティクス投与群 vs 対照群), b) 著者らにより有効性は報告されているが、2 群間の発症率の比較はされていない。文献 9) を一部追加、改変

ミヤBMの投与を開始した。

試験では抗生物質投与前の便性状および腸内細菌叢と、抗生物質投与3日目および6日目の各項目を比較検討している。その結果、抗生物質を単独で投与された患者の腸内細菌叢では、ミヤBM投与患者に比し、偏性嫌気性菌の顕著な減少および*Bifidobacterium*の検出率の顕著な減少が確認された。また、抗生物質投与による抗生物質誘導下痢症は、抗生物質単独群で59%の患者に認められたが、ミヤBMを併用した群では5%まで低下した(図2)。

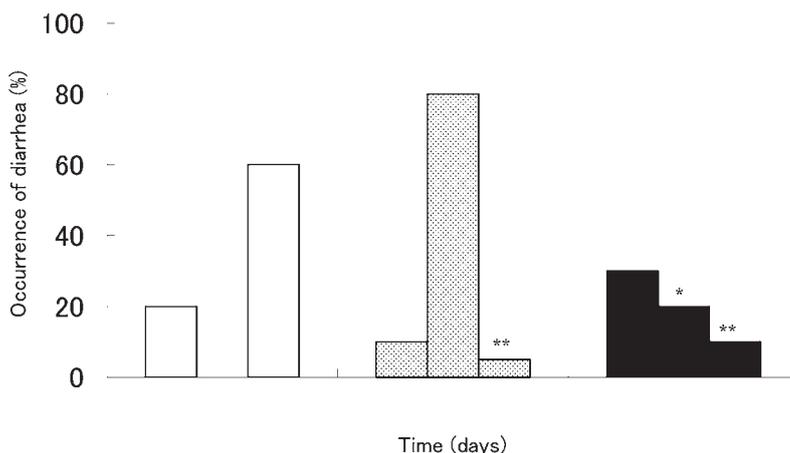


図2 The occurrence of diarrhea in children who received (□) only antibiotics, (▨) *Clostridium butyricum* MIYAIRI (CBM) from the mid point, and (■) CBM from the beginning of therapy. *P<0.05, significant difference compared with (▨). **P<0.05, significant difference compared with (□). (文献10より)

過敏性腸疾患に対する効果

過敏性腸症候群(Irritable Bowel Syndrome; IBS)は消化器系疾患のなかでも、一般的な疾病であり、下痢や便秘を繰り返すものの、明確な原因が不明であり、且つ、治療に難渋するケースが多いことが知られている。本疾患へのプロバイオティクス投与も、各種薬物治療の代替療法として良く用いられる。Hoveydaら¹¹⁾は、本疾患に対するプロバイオティクスの効果について、MEDLINE(1950-2007)、EMBASE(1980-2007)、CINAHL(1982-2007)、AMED(1985-2007)の各種データベース上に報告されている14のプラセボ対照臨床研究成績をメタ解析することで臨床的意義を検討した。その結果、プロバイオティクスによるIBSの各種症状の緩和作用は認められるものの、対象となった臨床研究は4-26週と限られており、長期間にわたるIBSの疾患の特性を考慮した、より長い期間の検討の必要性を指摘している。

6. おわりに

プロバイオティクスの有用性について、基礎および臨床の観点から概説した。本分野は、様々な疾患を対象として数多くの研究が報告されているが、これまでは、腸管感染症や過敏性腸症候群等、主に消化器系疾患に対する有効性がその中心であった。一方、近年ではアトピー性皮膚炎や喘息、さらには肥満に至るまで、全身性の疾患や症状に対する効果も期待されつつある。今後の、プロバイオティクスの更なる研究に期待したい。

参考文献

- Fuller, R. J. Appl. Bacteriol. 1986, 61, 1S-7S.
- 神谷 茂. 日本臨床腸内微生物学会誌. 2000, 2, 3-7.
- Rowland, I.; Capurso, L.; Collins, K.; Cummings, J.; Delzenne, N.; Goulet, O.; Guarner, F.; Marteau, P.; Meier, R. Gut Microbes. 2010, 1, 436-439, doi: 10.4161/gmic.1.6.13610.
- Sanders, M.E.; Guarner, F.; Guerrant, R.; Holt, P.R.; Quigley, E.M.M.; Sartor, R.B.; Sherman, P.M.; Mayer, E.A. Gut. 2013, 62, 787-96, doi: 10.1136/gutjnl-2012-302504.
- Takahashi, M.; Taguchi, H.; Yamaguchi, H.; Osaki, T.; Komatsu, A.; Kamiya S. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 2004, 41, 219-226.
- Fukuda, S.; Toh, H.; Hase, K.; Oshima, K.; Nakanishi, Y.; Yoshimura, K.; Tobe, T.; Clarke, J.M.; Topping, D.L.; Suzuki, T.; Taylor, T.D.; Itoh, K.; Kikuchi, J.; Morita, H.; Hattori, M.; Ohno, H. Nature., 2011, 469(7331), 543-547, doi: 10.1038/nature09646.
- Cohen, S.H.; Gerding, D.N.; Johnson, S.; Kelly, C.P.; Loo, V.G.; McDonald, L.C.; Pepin, J.; Wilcox, M.H. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 2010, 31, 431-455, doi: 10.1086/651706.
- Kamiya, S.; Taguchi, H.; Yamaguchi, H.; Osaki, T.; Takahashi, M.; Nakamura, S. Rev. Med. Microbiol. 1997, 8, s57-59.
- Marteau, P.R.; de Vrese, M.; Cellier, C.J.; Schrezenmeir, J. Am. J. Clin. Nutr. 2001, 73(suppl.), 430S-436S.
- Seki, H.; Shiohara, M.; Matsumura, T.; Miyagawa, N.; Tanaka, M.; Komiyama, A.; Kurata, S. Pediatr. Int. 2003, 45, 86-90.
- Hoveyda, N; Heneghan, C.; Mahtani, K.R.; Perera, R.; Roberts, N.; Glasziou, P. BMC Gastroenterol. 2009, 9: 15. doi: 10.1186/1471-230X-9-15.