

協同乳業、おおにし動物病院（長野県安曇野市）との共同研究で
ビフィズス菌LKM512がイヌの腸内に生きて到達、腸管内で増殖することを確認
ヒトとペットで共用できるビフィズス菌は初

メイトーブランドの協同乳業株式会社（本社：東京・中央区／社長：尾崎 玲）は、おおにし動物病院（長野県安曇野市）と共同で、ビフィズス菌LKM512がイヌの腸内でも生きて到達し、腸管内で増殖することを明らかにしました。当社はこれまでの研究で、ビフィズス菌LKM512がヒトのアトピー性皮膚炎軽減に有効であることや、マウスの寿命を伸ばすことを確認してきましたが、本研究結果はLKM512がイヌにとってのプロバイオティクスになり得る可能性を示唆しています。また、本研究結果は、オランダのジャーナル *Beneficial Microbe* に掲載されました。

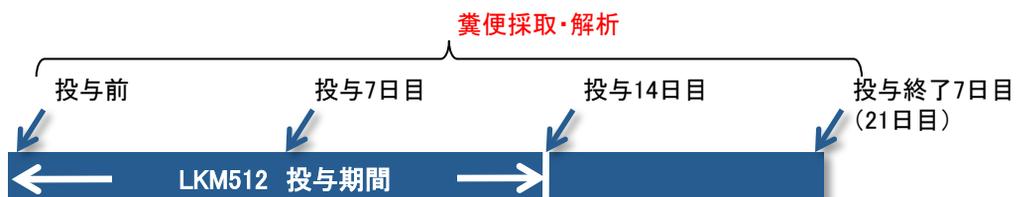
【研究の目的】

イヌは肉食獣のため、ヒトと比べ、胃内環境は食物存在下でも強い酸性を示し、食物の胃内滞在時間も長い。そのためイヌの胃は、プロバイオティクスにとって厳しい条件で、生きて届いたという報告例は非常に少ない。ヒトにおいて十分な耐酸性を示すプロバイオティクスビフィズス菌LKM512がイヌにおいても①大腸まで生菌で到達することができるか、②ヒト同様に腸管内で増殖が認められるかを確認することを目的に検証した。

【方法】

1歳～11歳、体重4kgのトイプードルから20kgの秋田犬までのペットとして飼育されているイヌを対象に、粉末状のLKM512を1日1包1g（約100億個）食餌に混ぜて14日間投与した。図1のスケジュールで糞便を採取し、ビフィズス菌のみが生育できる培地を用いた培養法で分離した菌の集落（コロニー）を、種（*B. animalis* subsp. *lactis*）を特定するPCR法*1、さらに菌株レベルの識別ができるRAPD-PCR法とrep-PCR*2を用いて、糞便中で生存しているLKM512の確認を行った。またq-PCR法*3によりLKM512が属するラクティス菌（*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*、ビフィズス菌の一種）を計測した。腸内菌叢の変化は次世代型シーケンサー*4を用い解析した。

- *1 PCR： 特異的な遺伝子配列増幅法。本試験ではLKM512が属するラクティス菌に特異的な遺伝子配列をターゲットにした菌種レベルでの判別を実施した。
- *2 RAPD-PCRとrep-PCR： DNAの多型を解析する手法で株レベルの判別ができる。
- *3 q-PCR： 特異的な遺伝子配列をターゲットにした定量が可能なPCR。種レベルでの菌数測定ができる。
- *4次世代型シーケンサー： 1度に大量のDNA配列を決定できる解析装置。腸内細菌構成の網羅的な解析ができる最新の手法である。

**図1. 試験スケジュール**

【結果および考察】

ビフィズス菌選択培地に生育したコロニー(図2)からDNAを抽出し各種PCR法で解析した結果(図3)、**全個体の糞便中にLKM512の生菌が検出され、その数は1日の投与量を上回っており、大腸へ生菌で到達するだけでなく腸管内で増殖することが確認された(図4)**。同様に、遺伝子レベルでも糞便中のビフィズス菌(*B. animalis* subsp. *lactis*)が1日の投与量を上回ることが確認され(図4)た。腸内菌叢の網羅的解析では、投与期間中に*Bifidobacterium*属(ビフィズス菌)の菌数の増加が確認されたが、それ以外の主要な菌では、腸内菌叢の変化は認められなかった。

幅広い年齢と犬種の糞便において生きたLKM512が検出され、イヌの過酷な胃内の環境に耐え、腸管内で増殖する能力を有することが確認された。これはLKM512がイヌのプロバイオティクスとして有用であることを示している。LKM512のこれまでに確認されている保健効果、例えば、マウスでの寿命伸長*4やヒトでの便秘改善*5、アトピー症状の緩和*6といった保健効果がイヌでも発揮される可能性が期待される。また、ヒトとイヌ両者の腸管内で増殖が認められたプロバイオティクスはLKM512が初めてである。

我々は、飼い主とペットが共通のプロバイオティクスLKM512を食べることで、より強い絆で結ばれた充実した生活が過ごせるよう、今後も研究を続けていく予定です。

*4 PLoS ONE 6: e23652 (2011), Sci. Rep. 4: 4548 (2014).

*5腸内細菌学雑誌 14:97-102 (2000)

*6Ann Allergy Asthma Immunol. 113: 209-216 (2014).

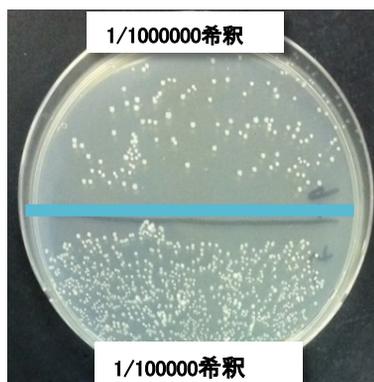


図2. ビフィズス菌選択培地に生育した菌の集落(コロニー)

各コロニーからDNAを抽出しLKM512かどうか調べた(図3)

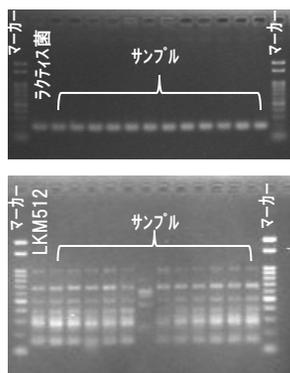


図3. コロニーから抽出したDNAの菌種および菌株同定

上:ラクテイス菌特異的バンドの確認
全てラクテイス菌であることを示している
下:LKM512菌株のDNAパターンの確認
中央の1株以外は同じパターンでLKM512であることを示している

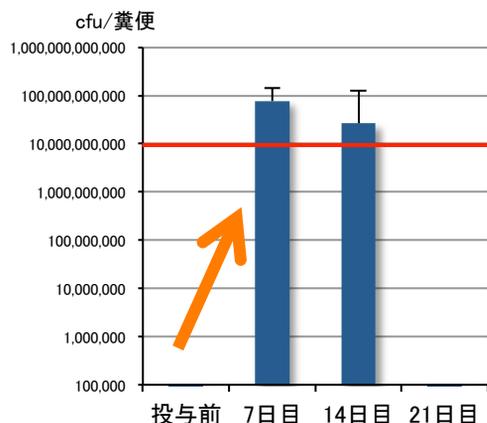


図4. 糞便中のLKM512生菌数

赤い線は1日の投与菌数を示す。投与前および21日目はいずれも検出限界以下であった

論文: A. Nakamura, Y. Ohnishi, K. Shiratori, and M. Matsumoto “Evaluation of viability *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* LKM512 in dogs”

日本語タイトル:ビフィズス菌LKM512のイヌにおける生存性の評価

■ 協同乳業株式会社ホームページ : <http://www.meito.co.jp>

■ ビフィズス菌LKM512オリジナルサイト : <http://www.lkm512.com/>

本件に関するお問合せ先

協同乳業株式会社

営業企画部 担当:宮川

TEL:03-5966-2200 FAX:03-5966-3010