

協同乳業、慶應義塾大学医学部漢方医学センター、横浜薬科大の共同研究 ビフィズス菌LKM512が漢方薬の薬効を高めることを証明 漢方薬大黄との併用で高い便秘解消効果が期待

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:山崎 直昭)の松本光晴主任研究員らは、慶應義塾大学漢方医学センター、横浜薬科大学との共同研究で、プロバイオティクスビフィズス菌LKM512が便秘薬の含有成分センノシドを分解し、腸の蠕動運動^{※1}を活性化させることを証明しました。

なお、本研究結果は、米国オンライン科学誌「PLoS ONE(プロスワン)」で本日2月23日(アメリカ東部時間22日)に公開されました。

古来より便秘症には、瀉下作用(下剤作用)を有する漢方薬「大黄」が利用されてきました。大黄は、含有成分のセンノシドが腸内細菌の作用で分解されることで大腸の蠕動運動を活性化させます。手術後の入院患者や高齢者には、大腸の蠕動運動が弱くなることによって起こる便秘症が多く、大黄に代表されるセンノシド系漢方薬による蠕動運動の活性化は有効な治療手段です。大黄の効果は、腸内常在菌が大黄に含まれるセンノシドを薬効成分レインアンスロンに分解することにより得られます。すなわち、患者の腸内常在菌に依存するため、センノシドを分解できない腸内常在菌が優勢の患者では薬効が得られません。また、術後の患者や高齢者は、感染症予防や治療などの目的で抗生物質を使用していることも多く、それがセンノシドを含む漢方薬の効果を下げていました。

協同乳業(株)で保有している135株の乳酸桿菌とビフィズス菌の中から*in vitro*^{※2}実験系においてセンノシド分解に安全に利用できる菌株を探したところ、すでにヨーグルトとして商品化され、安全性が確認されている「ビフィズス菌LKM512」を含む複数の菌株が、高いセンノシド分解能を有していることが明らかになりました。また、これらの菌株は薬効成分レインアンスロンを生成していることも確認されました。

次に、これらのビフィズス菌をマウスに経口投与し、その有効性も検討しました。抗生物質を使用している術後の患者や高齢者を想定し、抗生物質を用いて腸内菌叢にダメージを与えたマウスにビフィズス菌LKM512とセンノシドを経口投与し、腸管内でのセンノシド分解能を調べました。さらに経口投与した炭末の移動距離を測定(黒く色をつけて見易くする目的で炭末を使用)することによって、腸の蠕動運動への効果も調べました。

その結果、**ビフィズス菌LKM512が腸管内でセンノシドを分解していることが認められ、全個体で便が軟らかくなりました。**また、**LKM512投与群は対照群と比較して炭末の移動距離が長く、腸管の蠕動運動を活性化していることが確認されました。**さらに、抗生物質処理を受けた腸内菌叢内では、投与されたLKM512のみが増加しており、腸内常在細菌ではなくLKM512がセンノシド分解に関与していることが示唆されました。

以上の結果より、センノシドとの併用で大腸内で薬効成分レインアンスロンを生成し瀉下作用を誘導する菌株として、ビフィズス菌LKM512が見つかりました。**経口投与されたバクテリアが腸管内でセンノシドを分解し、蠕動運動を活性化することが確認されたのは世界で初めてです。**

将来的には、ヒト臨床試験、製薬メーカーとの連携も視野にいれて研究を進めます。

<用語解説>

※1 蠕動運動(ぜんどううんどう)・・・生物の管腔臓器において、筋肉の収縮が連続することによって管腔内の物質を一定の方向に動かす運動のこと。腸においては、便などの内容物を肛門まで移動させる働き。この運動は自律神経によって制御されているため、意識的に活発化させることはできない。

※2 *in vitro*・・・「試験管内で」という意味。体内と同様の環境を人工的に作り、目的の反応を検出する試験のこと

本件に関するお問合せ先

《研究の概要》

■背景

便秘症は、多種多様な原因があるうえ様々な症状を示すため、治療が非常に困難であり、多くの患者が存在します。古来より便秘症には、瀉下作用を有する生薬大黃 (*Rheum sp.*の根茎)が利用されてきました。大黃には、含有成分の配糖体センノシドが腸内菌叢の作用で分解され、薬効成分レインアンスロンが生成されることで大腸の蠕動運動を促進します。センノシドの効果は腸内菌叢に依存するため、センノシドを分解できない腸内菌叢を形成している患者では効果が得られず、医療現場でも効果を示さない患者が多数存在します。これまで、センノシドを分解する菌株は分離されていたものの、*in vivo*で有効な菌株は報告されていませんでした。

本研究では、安全に利用できる乳酸菌やビフィズス菌からセンノシド分解能が高い菌株をスクリーニングし、それら菌株をマウスに経口投与して、腸管内センノシド分解能および腸蠕動運動に及ぼす影響を調べました。

■方法

協同乳業(株)研究所の保存菌株中、安全性の高い135株から、センノシド分解能および耐酸性を有する菌株のスクリーニングを行いました。予めカナマイシンで腸内菌叢にダメージを与えたマウスにこれらのビフィズス菌とセンノシドを経口投与し、糞便中のセンノシド量を測定して腸管内でのセンノシド分解能を調べました。さらに炭末を経口投与し、炭末の移動距離を測定して蠕動運動への影響も調べました。また、腸内菌叢の変動も網羅的に調査しました。

■結果

スクリーニングの結果、ビフィズス菌 *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* LKM512 および *Bifidobacterium pseudocatenulatum* M8 (LKM10070) を選択しました。これらの菌株を接種した培地にセンノシドを添加し、35時間後の培養液中のレインアンスロンを薄層クロマトグラフィーを用いて測定したところ、レインアンスロンが検出されました(図1)。したがって、これらの菌株はセンノシドを分解してレインアンスロンを生成することが確認されました。

通常マウスの腸内菌叢はセンノシドを十分に分解しましたが、カナマイシン処理によりセンノシド分解能が著しく落ちることが確認されました。一方、カナマイシン投与後、LKM512 および LKM10070 投与によって糞便中センノシド量が対照群と比較して有意に ($P < 0.001$) 減少することが認められ(図2)、経口投与された菌株が腸管内でセンノシドを分解していることが示されました。また、これらのマウスは全個体で軟便を排泄しました。



図1. 培養液中に検出されたレインアンスロン
(A) LKM10070
(B) LKM512
黄色に呈色されたスポットがレインアンスロン (Rf値=0.64)

(A) (B)

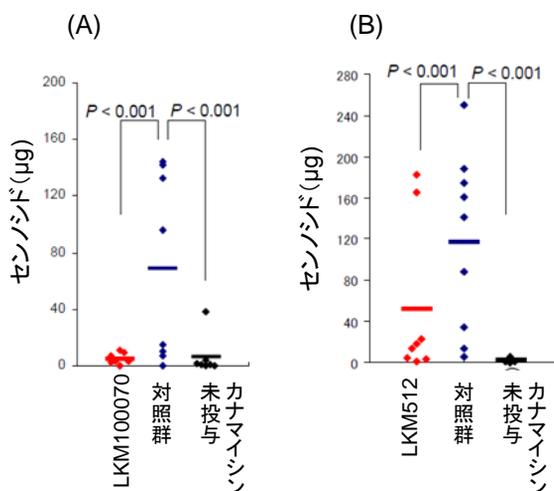


図2. カナマイシン処理マウスへのビフィズス菌投与が腸管内センノシド分解に及ぼす影響
(A) LKM10070 (B) LKM512
ビフィズス菌を投与することにより、腸管内センノシド濃度が減少し、分解されていることがわかります。

耐酸性を比較し、強かったLKM512を用いて蠕動運動比較試験を実施した結果、LKM512投与マウスでは、対照群と比較して経口投与した炭末が肛門側へ移動していました(図3)。これは、LKM512投与により炭末の移動距離が長くなり、蠕動運動が活性化していることを示しています。

腸内菌叢の変動を調べた結果、カナマイシン投与により腸内の菌数が半減すると共に、腸内菌叢の多様性が失われ単純な腸内菌叢になりました。また、菌数の定量的結果、LKM512のみが増加していることがわかりました。

LKM512は腸管内に到達してセンノシドを分解し、蠕動運動の活性化を誘導したと考えられました。

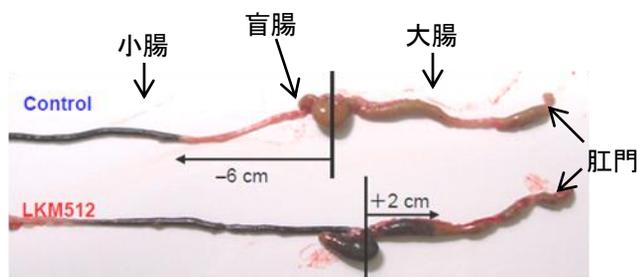


図3. LKM512投与がカナマイシン処理後のセンノシド投与マウスの蠕動運動に与える影響

盲腸への分岐点をゼロとして、炭末の到達部位までの長さを測定しました。LKM512投与により炭末が到達する距離が長く、腸の蠕動運動が活性化していることが認められました。

■今後の展望

ビフィズス菌LKM512は特定保健用食品のヨーグルトの有効成分として認可され、その安全性が確認されていることから、大黄(あるいはセンノシド系便秘薬)とLKM512の併用によるヒト臨床試験を目指しています。これまでに、ヒトを対象としたLKM512摂取試験で、この菌株は殆どの被験者の大腸内で増殖し、腸内菌叢を変動させる作用が強いことを確認しており、ヒトでも十分なセンノシド分解効果が期待できます。本論文でも示したように、特に、術後等の抗生物質服用時の便秘症軽減に役立てることができれば、患者のQOLの向上に貢献できると考えています。また、医療現場はもとより、一般の便秘症患者への提供を考慮し、将来的には製薬メーカーとの連携も視野に入れ研究を進めます。

今後検討すべき課題は、大黄(センノシド)を投与するタイミングです。特に抗生物質を服用している患者では、抗生物質と大黄を飲む間にLKM512を摂取することが理想的と考えられます。また、大黄が効き過ぎて下痢に陥る患者への対応も検討課題です。さらに、LKM512の腸管内での強い増殖活性は、他の漢方薬に対しても有効性を示す可能性が高く、漢方薬活性型ビフィズス菌としての応用の幅は非常に広いと考えています。

論文

Promotion of intestinal peristalsis by *Bifidobacterium* spp. capable of hydrolysing sennosides in mice
Mitsuharu Matsumoto*, Atsushi Ishige, Yuka Yazawa, Manami Kondo, Koji Muramatsu, Kenji Watanabe

センノシド分解ビフィズス菌の蠕動運動誘導

著者(所属)

松本 光晴(協同乳業(株)研究所技術開発室)*
石毛 敦 (横浜薬科大学漢方薬学科漢方薬物学研究室)
矢澤 由佳(協同乳業(株)研究所分析センター)
近藤 真波(協同乳業(株)研究所分析センター)
村松 幸治(協同乳業(株)研究所技術開発室)
渡辺 賢治(慶應義塾大学医学部漢方医学センター)

*責任著者