

身近だけれど以外に知らない乳酸菌・ビフィズス菌の姿

浅田 雅宣

生きた乳酸菌やビフィズス菌は、さまざまな形態で経口的に摂取することにより体によい作用をもたらすことから、人々の健康維持に活用されてきている。実際、“プロバイオティクス”として乳酸菌やビフィズス菌を用いた多くの商品がインターネットや新聞、雑誌などの広告で見受けられるようになってきている。ただ、薬事法により食品は効果効能を訴求することができないため、各社とも広告・宣伝には、気を使っているのが実状である。一部の商品が特定保健用食品として「おなかの調子を整える」と表示できるものもある。ただ、プロバイオティクスと言っても生菌もあり、死菌もありの状態になっている。これは、初期の整腸作用から最近明らかになってきた免疫調節作用まで多くの効果が認められるようになってきたためでもあるし、“商品”の品質維持上、生菌では安定性に乏しく、死菌にせざるを得ないという企業側の事情もあってのことである。しかし、死菌でも認められる効果と生菌でなければ認められない効果もあることがわかってきた。本稿では生きた菌ならではの効果を中心にエピソードを交えて紹介したい。一部は未発表のデータもあるが、ご了承いただきたい。

乳酸菌とビフィズス菌

乳酸菌は糖を代謝して乳酸を産生する菌の総称であるが、古来、人類はさまざまな食品に活用してきている。多くの発酵食品や漬物の主要な菌であり、桿菌の *Lactobacillus* 属と球菌の *Lactococcus* 属がよく知られているが、他にも多くの属と種の菌が存在する。乳酸菌は、空気の存在下でも増殖し、産生する乳酸が食品に酸味と風味を与え、腐敗を防ぎ保存性を高めるため、ヨーグルト、乳酸菌飲料、酒などの発酵食品に用いられている。さらに、ある種の乳酸菌は人の腸内にも生息することが知られ、かつ、発酵食品の摂取でお腹の調子が改善することが認められているため、各種機能性食品や医薬品にも用いられている。

一方、ビフィズス菌は、Tissierによって天然栄養児の糞便中に見いだされ、新しい菌種として1899年に生物学会で発表された。彼はその独特のY字形を示したりする菌形から *Bifidobacterium* 属とすべきという提案も

している。ビフィズス菌にも多くの種があるが、糖を代謝して乳酸と酢酸を産生するため、乳酸菌の仲間に入れている。ビフィズス菌はTissierも認めたように多形であり、性質的にもかなり特異な偏性嫌気性菌であって、普通の空気存在下では生育できないため、培養が困難であった。1969年に理化学研究所の光岡先生（現東京大学名誉教授）らが大量の検体を一度に嫌気培養を行う方法を確立し¹⁾、研究が多いに進んだ。さらに、便中には大腸菌の100～1000倍も多くビフィズス菌が存在していることが明らかになり、腸管での重要性が認識され、お腹の調子を維持するのに重要であることもわかってきた。そのため、ビフィズス菌の入ったヨーグルトが市販されており、サプリメントや機能性食品としての利用も検討されてきている。しかし、ビフィズス菌は空気中の酸素を嫌い、胃酸にも弱く、保存安定性の高い製剤を得ることが困難であったため、乳酸菌に比べて商品化された例は著しく少ない。

乳酸菌とビフィズス菌に関しては、(財)日本ビフィズス菌センターや(財)日本乳酸菌学会からいくつか成書²⁻⁵⁾が出版されているので、基礎的なことや体系的な事柄に関してはそれらを参照されたい。

プロバイオティクスとは

生きた菌を経口的に摂取しても、どれだけ生きて腸に届いているのか、腸内で代謝しているのか、定着の具合はどうか、増殖しているのか、もともと生存していた菌との関係は？といったような種々の明確でない点がある。菌体の細胞壁や菌体成分の作用であれば、生きていても死んでいても変わらないということになるが、もし、増殖すればその数は何倍にもなるため、活性も高くなるということが考えられる。しかし、この点に関しても、より大量に死菌を摂取すれば、同じではないか、ということもできる。また、プロバイオティクス効果は、生菌の増殖や代謝に伴って発揮されるものだけでなく、Toll様受容体 (toll-like receptor, TLR) をはじめとしたパターン認識受容体を介した菌体成分刺激によっても生じることから死菌による効果も広義のプロバイオティクス効果とする考え方もある⁶⁾。このように菌体の細胞壁

や菌体成分に限れば、生菌と死菌の差は小さいかもしれないが、生きて腸に届き、代謝産物である乳酸や酢酸の産生、悪玉菌の抑制や各種有害物質の代謝分解、ビタミン類の産生、さらにこの後で述べる生菌ならではの活性や効果を考慮すると、プロバイオティクスの概念はフラ⁷⁾による定義の本質「腸内共生菌由来の宿主に有益な作用をする生きて有用微生物」が妥当なように思われる。商品広告では死菌製剤にまでプロバイオティクスの概念を拡大するものもあるが、その菌体はもう“生物”ではないため、バイオジェニクスの範疇に入れた方がよいのではないと思われる。生菌に重きを置くのは、生きて腸に届くという宣伝文句が増えてきたことと、実際、生菌を腸に届けることによって初めて認められた効果があり、死菌とは一線を画すべきではないかと考えられるためである。

生きてビフィズス菌の摂取

生きてまます腸に届けるには 今から30年以上前に、生きてまますビフィズス菌や乳酸菌を腸に届けるとよい、と光岡先生のご教示があったが、裸の生菌は、打錠したりハードカプセルに充填しただけでは、経口摂取しても強い酸性の胃液によりダメージを受けほとんど死んでしまい、生きてまます腸に届けるのは困難であった。そのため、錠剤やハードカプセルをシェラックやキトサンでコーティングすることにより腸溶性としたものも出てきた。筆者が勤務していた森下仁丹(株)では、同心3重ノズルで調製する3層のシームレスカプセル化技術を開発していたが、凍結乾燥ビフィズス菌を包んでも、空腹時の胃液に相当するpH1.2の人工胃液中での耐酸性試験では、満足な生残率を得ることができなかった。そのため、最外層の皮膜にはペクチンなどの酸性では解離しない多糖類を添加することにより、耐酸性皮膜とし、内皮膜にはカカオバター様の硬化油脂を使用し、胃液が浸透

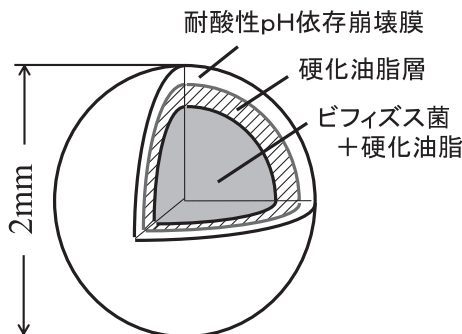


図1. ビフィズス菌の耐酸性カプセル模式図

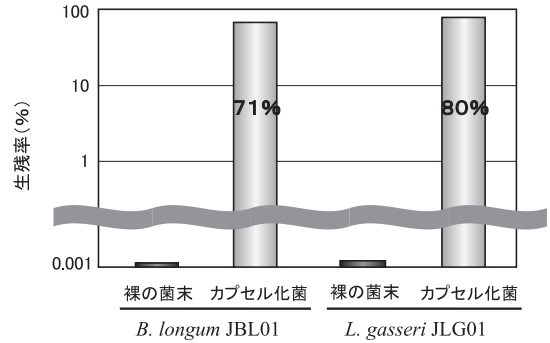


図2. ビフィズス菌と乳酸菌の耐酸性試験による生残率。初期生菌数20億個のビフィズス菌または乳酸菌を37°Cの人工胃液(pH1.2)の中に入れ、120分後に生き残っている割合。

しないようにした。こうすることにより、胃でカプセルが崩壊することなく胃液の影響も受けず、腸で崩壊する、耐酸性のいわゆる腸溶性シームレスカプセルとなった(図1)。

このシームレスカプセルで包んだ生きてビフィズス菌(*Bifidobacterium longum* JBL01)や乳酸菌(*Lactobacillus gasseri* JLG01)は、pH1.2の人工胃液中で、37°C、120分間という過酷な処理を行ってもビフィズス菌は70%以上、乳酸菌は80%という著しく高い生残率を示したが、同条件で裸のビフィズス菌や乳酸菌はほとんど死滅してしまった(図2)。比較のために行ったpH3.5というマイルドな条件では、当然ながら、裸のビフィズス菌も生残率は0.01%となり、少し生き残っていた。広告などで見かける耐酸性試験では、よくこの位の高めpHで試験されていることがあり、注意を要する点である。

この耐酸性シームレスカプセルを用いることによって、酸に弱いビフィズス菌を強い酸性の胃液から保護し、腸まで高率で生きてまます届けることが可能になった。

このような耐酸性カプセルや腸溶性の技術は自分でも工夫することが可能であるが、独特の装置やノウハウもあり、均一な製剤を得るのは難度が高い。そのため、カプセル製造会社や受託会社でいろいろな物質や菌体をさまざまな特徴を有するカプセルに充填してくれるところもあるので、興味のある方は問い合わせてみるとよい。

生きてビフィズス菌の摂取効果

生菌を腸に届けることによって認められた効果をエピソードも交えて紹介するが、今後も新たな発見があると思われる。

耐酸性カプセル化ビフィズス菌の摂取効果 上記で調製した耐酸性シームレスカプセル化ビフィズス菌は、基本的な物性や耐酸性試験を行った後は、ヒトに飲んで

もらってその効果を確認することになる。何度も試験しているが、一例を紹介すると、このカプセル化ビフィズス生菌を94人に毎日20億個ずつ、2週間にわたって摂取してもらった。その結果、便秘傾向者27人では排便回数の増加が、下痢傾向者21人では排便回数の減少や便性状の改善が見られ、典型的な整腸作用を示すことが確認された⁸⁾。健康は腸からと言われて久しいが、ビフィズス菌は腸内細菌叢のバランスを維持することにより、ヒトの健康に重要な役割を果たしている⁹⁾。

人工透析患者の腸内細菌叢 腎不全で血液の人工透析をおこなっている患者の腸管では、大腸菌などのいわゆる悪玉菌が増加し、ビフィズス菌などの善玉の嫌気性菌が減少していることが知られている。また、透析患者は水分摂取を制限することにより、大部分の患者が便秘となるため、つらい思いをし、下剤や整腸剤を使用している。この時にビフィズス菌や乳酸菌を摂取することにより、腸内細菌叢が改善することが認められている¹⁰⁾。

腎不全患者におけるビフィズス菌製剤の効果 腎不全患者では、腎不全進行促進作用を示す尿毒症毒素である血清中のインドキシル硫酸濃度や粥状動脈硬化症による心血管系疾患の危険因子であるホモシステイン濃度、さらには、中性脂肪の値が高くなることが知られている。

これらには腸内細菌が重要であると目を付けられたのが名古屋大学の丹羽先生であった。研究室に研修員を派遣し、耐酸性シームレスカプセル化*B. longum* JBL01を最初の4週間では30億個/日、次の4週間では60億個/日、さらに次の4週間は120億個/日、血液透析患者に経口投与する試験を行った。その結果、投与4週間で各値の改善が認められ、最終的に12週間の投与で、血清イン

ドキシル硫酸濃度、ホモシステイン濃度、中性脂肪の値は有意に低下した(図3)¹¹⁾。しかし、これらの効果は、加熱して殺したビフィズス菌では認められなかった。

このカプセル化ビフィズス菌は、生きて腸に届き、乳酸と酢酸を産生し、腸内を酸性化することにより、インドールなどの有害物質を生成する大腸菌などの悪玉菌を抑制する。その結果、肝臓においてインドールから生成するインドキシル硫酸の濃度も低下したと思われる。さらに、ビフィズス菌は葉酸も図3に示したように産生し増えているため、ホモシステインが下がったと思われた。これらも生菌の効果と言える。慢性腎不全の患者では、このカプセル化ビフィズス菌の摂取により、腎不全の進行が遅くなることが認められているので¹²⁾、透析に入るまでの期間を延ばすことが期待される。さらに、腎臓機能の悪化をより初期に発見し、食生活の見直しやカプセル化ビフィズス菌の摂取により、透析に入る期間を延ばせるだけでなく、一生透析せずに済む可能性もある。これは、厚生労働省の人工透析に関わる膨大な医療費の抑制に繋がるものであり、患者だけでなく、厚生労働省にとっても朗報と言える。

透析患者の血清リン値に対する効果 耐酸性シームレスカプセル化ビフィズス菌の摂取により透析患者の血清リン値が下がることを見いだした経緯を紹介し、日々の現象の観察が重要であること、ちょっとした変化を見逃さずに、なぜか、と考えることが重要ということを紹介したい。

透析患者では、上記の尿毒症物質だけでなく、血清リン値が上昇することが非常に大きな問題である¹³⁾。リンは毒物ではなく、必須栄養素の1つであるが、腎機能が低下して排泄されずに正常値を超えると、リンはカルシウムとの塩であるリン酸カルシウムとなり析出する。この石灰化は、図3に示すように動脈硬化や多臓器不全につながり、透析患者の主な死因と言っても過言ではない。そのため、医師や食事指導を行っている管理栄養士も患者のリン値には常に注意を払っており、リン値を下げる医薬品も数種存在するが、多少とも副作用があることが認められている。

(1) 群馬県の透析クリニックで患者の食事指導をしている管理栄養士が数人の患者の血清リン値が1 mg/dlほど下がっているのに気が付いた。各患者に聞き取りをすると、共通点は便秘の改善のため1月ほど前から腸溶性カプセル化ビフィズス菌を飲んでいる、ということであった。そのため、このカプセル化ビフィズス菌で、血清リン値が下がるのではないかと思い、担当の医師に報告したが、医薬品でもない機能性食品にそのような効果

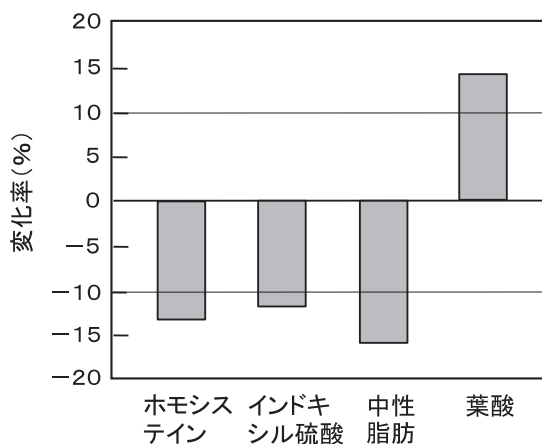


図3. ビフィズス菌カプセル摂取による血液透析患者のホモシステイン、インドキシル硫酸、中性脂肪、葉酸の血清中濃度の変化。摂取前の値に対する%変化で表す(文献6の図を改変)。

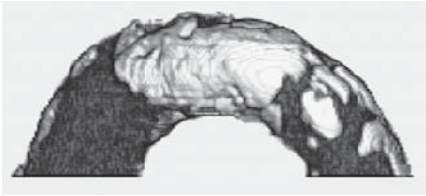


図4. 大動脈弓部石灰化 (小川哲也先生の図から)

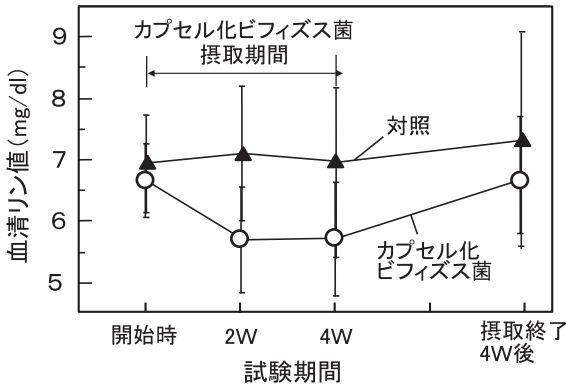


図5. ビフィズス菌カプセル摂取による血液透析患者の血清リン値の変化 (文献14より引用)

があるとは信じてもらえなかったし、明確なエビデンスのないものは信用もされなかった。しかし、医師がリン値のデータを見ると、やはり下がっていることが認められたので、すぐにこのカプセル化ビフィズス菌を製造販売している森下仁丹(株)に、そのような知見があるかどうか問い合わせた。対応したのは当時、研究所長をしていた筆者であり、そのような知見はないことを伝えたところ、透析患者で試験をしてみたいという申し出を受けた。こうして東京女子医大からそのクリニックに診療に来られていた小川先生と共同研究が始まったのである。試験は、31人の透析患者を、カプセル化ビフィズス菌を毎日20億個摂取する組(16人)と、ビフィズス菌を含まないプラセボカプセルを摂取する組(15人)の2組に分けて行った。2ヵ月後、小川先生から、きれいにリン値が下がって驚いている、と連絡を受けた。この結果は、翌年の日本透析医学会で発表され(図5)¹⁴⁾、大きな反響を呼び、人工透析患者にとっても便秘の改善とリン値の低下というダブルの効果が得られるという朗報となった。

(2) この発表直後に神戸の透析クリニックの山本院長から、便秘改善でこのカプセル化ビフィズス菌を摂取した患者自身がリン値の低下に気付き、他の患者にも薦

め広まっていた。そのため、山本院長が改めて患者5人にそのカプセル化ビフィズス菌を摂取させて試したところ、やはり、2週間で下がり始め1ヶ月で明確に下がった。透析医学会で小川らの発表があったので、自分がこの効果の第一発見者でなかったのが非常に残念だ、とのコメントを頂いた。こうして期せずして別のクリニックでも生きたカプセル化ビフィズス菌の摂取による血清リン値の低下の再現性が確認された。

ここで述べてきた人工透析患者における効果は、乳酸菌カプセルや死んだビフィズス菌の摂取では認められず、耐酸性のカプセルで包まれた生きたビフィズス菌の摂取でのみ認められている。これは、ビフィズス菌が生きて腸に届き、増殖することにより産生する乳酸や酢酸のため腸管内のpHが低下することや必須栄養素であるリンをビフィズス菌が増殖時に取り込み、便と一緒に排泄されるため、結果的に宿主であるヒトのリンの吸収量が低下するためではないかと推察している。

現在、筆者が勤めている甲子園大学でも管理栄養士を養成しているので、学生には管理栄養士が重要な発見をしたと話をしている。さらに、卒業して仕事の現場に行けば、些細な現象にも注意を払い、それがなぜなのかと考えてみるのが大切であり、そうすることによって管理栄養士の仕事はますます重きをなしてくる、と励ましている。

組換えビフィズス菌の医療方面への利用

組換え菌は、食品として使用することはまだまだ困難ではあるが、安全性を確かめ、疾病に対するエビデンスが明確になれば、医薬品として使用される可能性はあり、ユニークな試みがなされている。いくつもの基礎的な知見を統合し、既存概念では考え付かないアイデアを紹介したい。

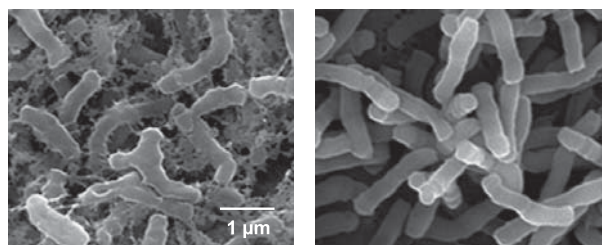
組換えビフィズス菌による乳がん治療 抗がん剤5-フルオロウラシル(5-FU)は、静脈に注入した場合、全身に回り効果が認められているが、副作用が強いことも知られている。5-FUの前駆体である5-フルオロシトシン(5-FC)は5-FUのような抗がん作用を有しないが副作用も少なく、シトシンデアミナーゼ(CD)により脱アミノ化され活性体である5-FUに変換される。したがって、がん部位でのみ5-FCから5-FUに変換できれば、がんを退縮させ、副作用は少ない画期的ながん治療法となるという考えである。

信州大学の谷口先生らは、固形がんが5 mm以上の大きさになると内部は嫌氣的になること、さらに、そのがん組織で嫌気性細菌であるビフィズス菌は生育できるが、

がん部位以外では、生育できないことを見いだした¹⁵⁾。それらの知見を基に、乳がんの患者の乳房切除をなんとかしたいと考えておられた藤森先生らは、加納先生のビフィズス菌の組換え技術を用いて *B. longum* 105A に CD の遺伝子を組み込み、CD を発現させた。次に、ヒトの乳がん細胞を背中に移植し、がん組織がコブ状に大きくなったラットの尾の静脈にその生きた組換えビフィズス菌を注入した。この菌は全身に回るが、がん部位に到達したビフィズス菌のみがその部位で生き続け、数日すると他の部位からは生菌は認められなかった。その後、5-FC を静注するとがん部位ではビフィズス菌が産生した CD により 5-FC が 5-FU に変換され、がん組織が退縮した¹⁶⁾。このビフィズス菌の安全性試験を筆者が担当し、基本的に安全であることを確認した。さらに大型動物でも植え付けたがんの退縮の再現性が確認され、ヒト試験の段階になった。しかし、生きた組換えビフィズス菌を末期がん患者に静注するという“独創的”な臨床研究は簡単には認められず、最終的には米国で行うことになり、現在治験中である。筆者は研究の途中で協力した者として、これが画期的な固形がんの治療法として多くのがん患者を救う日が来ることを願っている。

多糖の産生とその応用

カスピ海ヨーグルトやケフィアの粘性は、主にそれらの乳酸菌が産生する多糖に由来するものである。また、ラブレ菌も菌体外に多糖を産生することが報告されている。筆者らは、ヒトの腸管から分離した *B. longum* JBL05 の培養液の粘度が著しく上がり、高速遠心しても沈降せず、必要な菌体を取得するのに大変苦労した。これほど苦労したのは初めてだったので、逆にその菌株が著量産生する粘質多糖に着目した。当初厄介者であった菌体外の粘質多糖であるが、なにかプラスの活性もあるにちがいないと思われた。電顕画像によると、多糖を産生する



多糖産生 *B. longum* JBL05 多糖非産生 *B. longum* JBL01

図6. ビフィズス菌の走査型電子顕微鏡画像

ビフィズス菌は明らかに特徴があった(図6)。

ビフィズス菌の産生する多糖 まず、エタノール沈殿で得られた多糖の一次構造を大阪府立大学の北村先生の研究室に研修員を派遣して決定した。その結果、分子量 $M_w 5.4 \times 10^5$ で、構成糖は、D-ガラクトース/D-グルコース/L-ラムノース = 4:2:1 の7つの糖の繰り返しであり、ピルビン酸基を有することなどが明らかになった¹⁷⁾。この多糖は、薄膜の形成が可能であり、ヒアルロン酸に匹敵する水分保持能を有し、動物試験で抗炎症作用も認められた。人の腸管に棲み、体によいビフィズス菌が作るので、Bifida polysaccharide (BPS) と命名し、保湿作用と肌に対する抗炎症作用を有する自社化粧品に配合し実用化した。さらに、自社だけでなく、より広範に使用されるように、本多糖の他社へのバルク展開も図っている。本ビフィズス菌の大量培養、粘質多糖の工業生産規模の分離、精製などの技術を大学の先生方や協力会社の人々の力を借りて確立してきた。厚く感謝致します。

これからも乳酸菌やビフィズス菌は、人との共生関係を含めて生きた菌の効果が次々と明らかになってくると思われる。死菌と区別する所以である。

文 献

- 1) 光岡知足：臨床検査, **18**, 7 (1974).
- 2) 光岡知足編：ビフィズス菌の研究, 日本ビフィズス菌センター (1994).
- 3) 光岡知足編：プロバイオティクス・プレバイオティクス・バイオジェニクス, 日本ビフィズス菌センター (2005).
- 4) 日本乳酸菌学会編：乳酸菌とビフィズス菌のサイエンス, 京都大学学術出版会 (2010).
- 5) 上野川修一, 山本憲二監修：世紀を超えるビフィズス菌の研究, 日本ビフィズス菌センター (2011).
- 6) 中村吉孝：腸内細菌学雑誌, **26**, 3 (2012).
- 7) Fuller, R.: *Gut*, **32**, 439 (1992).
- 8) 河野麻実子ら：腸内細菌学雑誌, **18**, 87 (2004).
- 9) Benno, Y. and Mitsuoka, T.: *Microbiol. Immunol.*, **36**, 683 (1992).
- 10) Tanaka, R. *et al.*: *Jpn. J. Pediatr.*, **33**, 2483 (1980).
- 11) 丹羽利光：プロバイオティクス・プレバイオティクス・バイオジェニクス, p.226, 日本ビフィズス菌センター (2006).
- 12) 安藤康宏ら：日本腎臓学会誌, **45**, 759 (2003).
- 13) Palmer, S. C. *et al.*: *JAMA*, **305**, 1119 (2011).
- 14) 島田美樹子ら：第53回日本透析医学会学術集要旨集, 講演番号0-0316 (2008).
- 15) Yazawa, K. *et al.*: *Cancer Gene Therapy*, **7**, 269 (2000).
- 16) 藤森 実：日本臨床, **66**, 1211 (2008).
- 17) Kohno, M. *et al.*: *Carbohydrate Polymers*, **77**, 351 (2009).