

プロバイオティクス^{※1}を含む乳製品摂取による回腸末端部での細菌叢の動態を確認 ～ERBI^{※2}を回腸末端部の環境変化を解明する目的で導入～

株式会社ヤクルト本社（社長 根岸 孝成）と、国立大学法人弘前大学（学長 福田 眞作）は、乳酸菌ラクトバチルス カゼイ シロタ株（以下、L. カゼイ・シロタ株）を含む乳製品の単独摂取、ビフィズス菌ビフィドバクテリウム ブレーベ ヤクルト株（以下、B. ブレーベ・ヤクルト株）を含む乳製品の単独摂取および両乳製品の同時摂取が、回腸（小腸の後部）末端部の細菌叢構成に及ぼす影響を、内視鏡的逆行性腸管挿入法（以下、ERBI）により調査しました。その結果、以下の3点が明らかとなりました。

- ①乳製品の摂取により、製品中のL. カゼイ・シロタ株およびB. ブレーベ・ヤクルト株が回腸末端部まで到達し、摂取後1.0～5.5時間にわたりL. カゼイ・シロタ株およびB. ブレーベ・ヤクルト株のいずれかまたはその両方が細菌叢の90%以上を占有するケースが確認されること
- ②L. カゼイ・シロタ株およびB. ブレーベ・ヤクルト株は、コロニー形成能（代謝活性を有し、増殖可能である状態）を有したまま、回腸末端部まで到達すること
- ③ERBIがヒトの回腸末端部における細菌叢の経時変化の評価に有用であること

これまでは糞便を用いて細菌叢および代謝産物の分析を行っていましたが、ERBIの導入により、回腸末端部の細菌叢構成を経時的に解析できることが分かりました。今回得られた結果から、摂取した食品中のプロバイオティクスの回腸末端部での動態や細菌叢の構成を把握することは、今後プロバイオティクスを含む食品の機能性を解析するうえで非常に重要であると考えられます。本研究結果は、学術雑誌「Gut Microbes」（2020年6月19日付）に掲載されました。

※1 十分量を摂取したとき、宿主に有益な効果をもたらす生きた微生物

※2 大腸内視鏡を使って、灌流用のチューブを肛門から逆行的に挿入して回腸末端部に留置し、経口摂取された飲料等、回腸末端部まで流れ着いた内容物を灌流液と共に吸引して採取する方法

1. 背景

乳酸菌などのプロバイオティクスには、整腸作用、免疫調節作用、ストレス緩和作用などを示すことが報告されています。一方、このようなヒトに有益な作用をもたらすプロバイオティクスの小腸内での動態に関しては、これまで十分に検証されていませんでした。本研究ではそれらを検証するため、回腸末端部の内容物を採取することのできる内視鏡的逆行性腸管挿入法（endoscopic retrograde bowel insertion method: ERBI）を用いて、L. カゼイ・シロタ株およびB. ブレーベ・ヤクルト株を含む乳製品を摂取した直後から回腸内容物を含む液（以下、回腸液）を経時的に採取し、回腸末端部の細菌叢構成およびL. カゼイ・シロタ株とB. ブレーベ・ヤクルト株の動態について調べました。

2. 研究概要

（1）研究方法

7名の健常な男性（平均年齢 37.6±13.2 歳）を対象にL. カゼイ・シロタ株を含む乳製品、B. ブレーベ・ヤクルト株を含む乳製品をそれぞれ単独または同時に摂取してもらいました。摂取後 30 分毎に最大 7 時間まで、ERBI を用いて回腸液を回収しました。採取された回腸液は、次世代シーケンサー^{※3}を用いて細菌叢構成を解析しました。また、L. カゼイ・シロタ株およびB. ブレーベ・ヤクルト株のそれぞれを生菌数として測定できる寒天平板培地を用いて回腸液を培養し、コロニーの確認を行いました。

ERBI は、弘前大学大学院医学研究科 消化器血液内科学講座にて開発された、胃液および胆汁の分泌に影響を与えることなく、生理学的条件下で経時的に回腸液を採取する方法です。これまで、難消化性デンプンやラフィノースなどの難消化性多糖類、ペクチンやセルロースなどの食物繊維の消化吸收の分析に用いられてきました。本研究では、プロバイオティクスを含む乳製品摂取後の回腸末端部の環境変化を解明することを目的として ERBI を用い、別添の参考資料に記載の手順で回腸液を回収しました。

※3 次世代シーケンサー

遺伝子、ゲノムなど DNA の塩基配列を解析する装置で、従来の装置と比較して高性能となり、簡便かつ網羅的な解析が可能

（2）研究結果（図1）

被験者 4 名（a～d）にL. カゼイ・シロタ株を含む乳製品、4 名（e～h）にB. ブレーベ・ヤクルト株を含む乳製品をそれぞれ単独摂取してもらい、3 名（i～k）には両乳製品を同時摂取してもらいました（一部の被験者は試験を複数回実施）。乳製品を摂取してから 30 分毎に回腸液の細菌叢を経時的に調べた結果、L. カゼイ・シロタ株を含む乳製品の単独摂取においては、摂取後 1.0～5.5 時間の間、L. カゼイ・シロタ株が細菌叢の 90%以上を占有するケースが確認されました。B. ブレーベ・ヤクルト株を含む乳製品の単独摂取においては、摂取後 4.0～4.5 時間の間、B. ブレーベ・ヤクルト株が細菌叢の 90%以上を占有するケースが確認されました。また、L. カゼイ・シロタ株およびB. ブレーベ・ヤクルト株を含む乳製品の同時摂取においては、摂取後 4.5～5.0 時間の間、両菌株で細菌叢の 90%以上を占有するケースが確認されました。

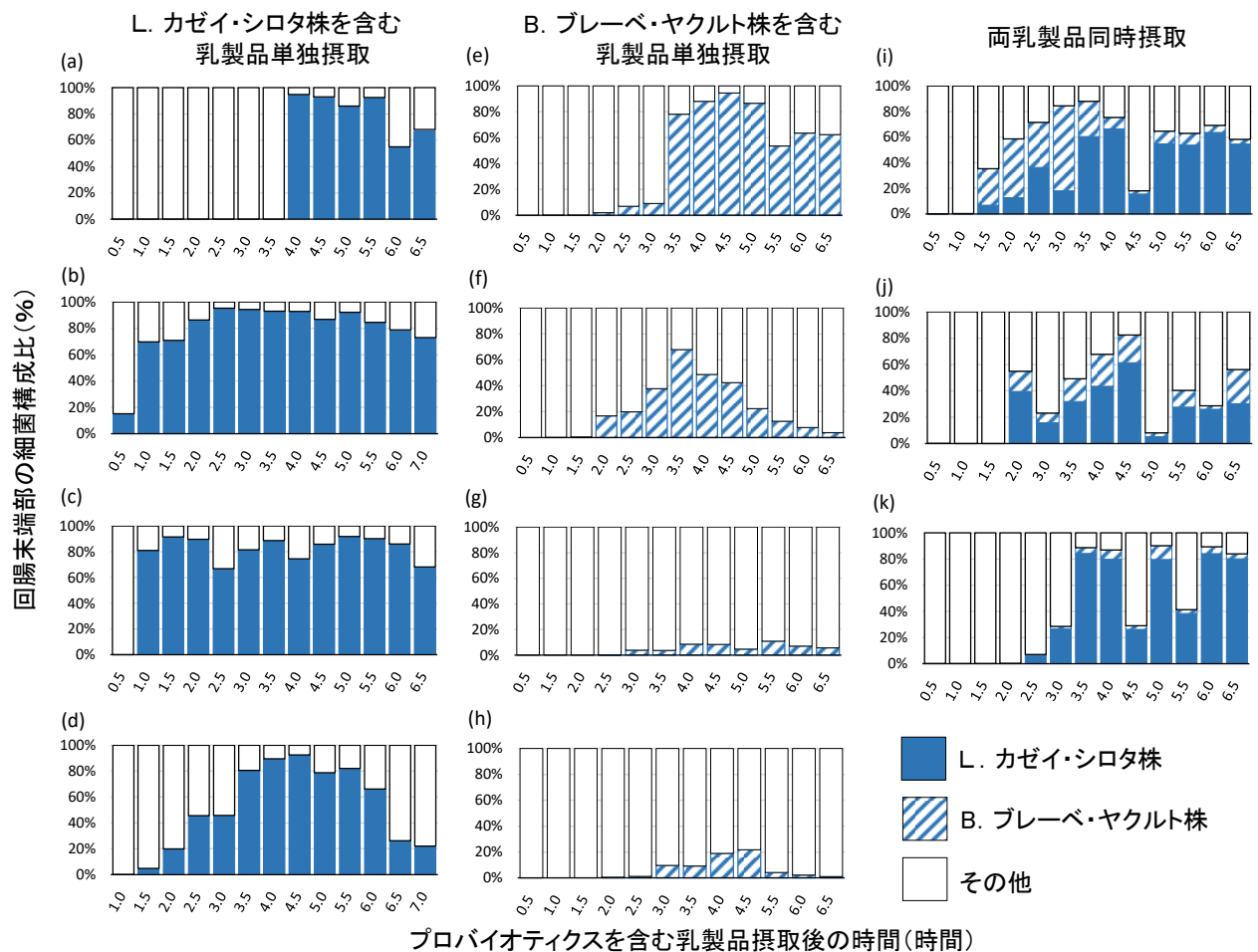


図1 プロバイオティクスを含む乳製品摂取後の回腸末端部における細菌構成比の経時変化

また、回腸末端部まで到達したL. カゼイ・シロタ株およびB. ブレーベ・ヤクルト株は、共にコロニー形成能を有していたことから、両菌株は代謝活性と増殖性を保持したまま、回腸末端部まで到達したことが明らかとなりました。

3. 考察

本研究にて、胃液や胆汁に曝された直後のプロバイオティクスの動態解析にERBIが用いられました。ERBIの導入により、従来の糞便を用いた腸内細菌叢解析では確認できなかった回腸末端部における細菌叢の推移を解析することができました。摂取した食品中のプロバイオティクスが回腸末端部までどのように到達し、どの位の時間留まるのかを把握することは、その成分が宿主に与える影響を検討するうえで重要であると考えられます。

L. カゼイ・シロタ株やB. ブレーベ・ヤクルト株が強酸性の胃液や中性～アルカリ性である胆汁および膵液という劇的なpHの変化に曝されながらもその後、回腸末端部の多様な常在細菌が存在する環境下で、細菌叢構成を数時間に渡り占有したという結果は、これらのプロバイオティクスの各種機能性のメカニズム解明の糸口になると考えられます。

今後も大腸や小腸の細菌叢構成や内容物組成の解析を通じて、プロバイオティクスの消化管や全身に及ぼす作用とメカニズムについて研究していきます。

4. 論文情報

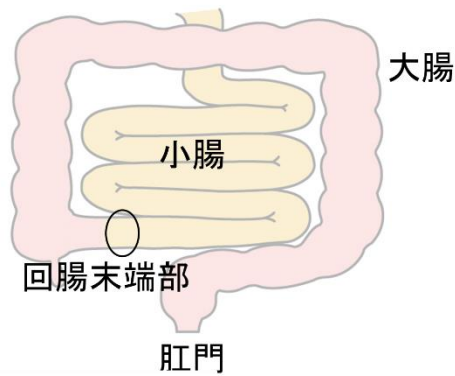
雑誌名 : Gut Microbes (<https://doi.org/10.1080/19490976.2020.1766942>)

論文表題 : Dynamic analysis of human small intestinal microbiota after an ingestion of fermented milk by small-intestinal fluid perfusion using an endoscopic retrograde bowel insertion technique

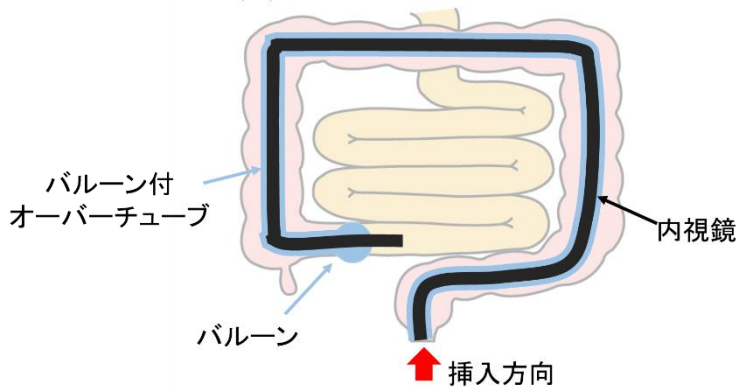
著者 : Toshihiko Takada, Daisuke Chinda, Tatsuya Mikami, Kensuke Shimizu, Kosuke Oana, Shiro Hayamizu, Kuniaki Miyazawa, Tetsu Arai, Miyuki Katto, Yusuke Nagara, Hiroshi Makino, Akira Kushiro, Kenji Oishi, Shinsaku Fukuda

以上

<参考資料>

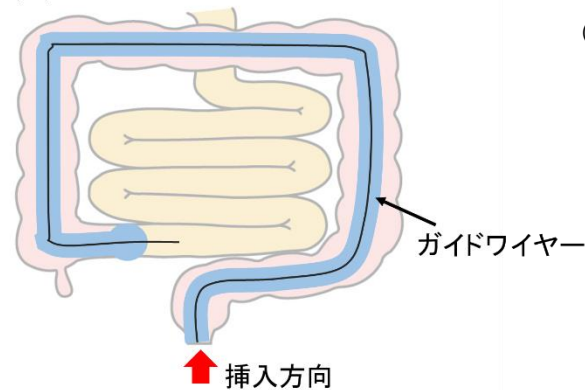


(1)



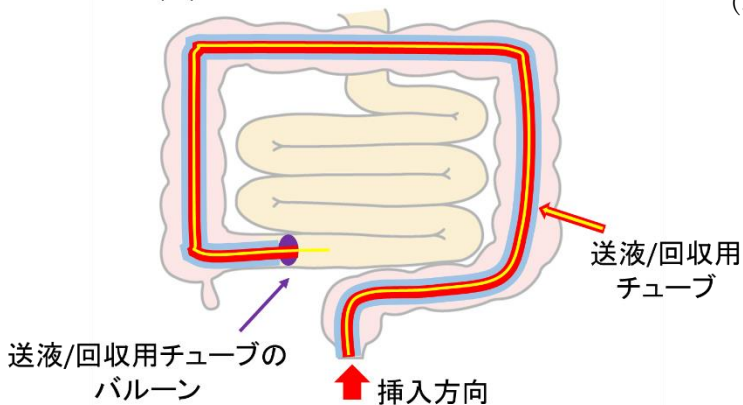
(1) バルーン付オーバーチューブを被せた内視鏡を肛門から回腸（小腸の後部）末端部まで挿入します。
チューブをその場所に留めておくためにバルーンを膨らませます。

(2)



(2) 灌流液送液/回収用チューブを導くためのガイドワイヤーを内視鏡の鉗子口（内視鏡を通じて様々な処置具を通し内視鏡の先端から出すための入口）に通します。
X線透視下でガイドワイヤーの先端が回腸末端部まで到達したことを確認し、内視鏡を抜きます。

(3)



(3) ガイドワイヤーに沿わせ、バルーン付の灌流液送液/回収用チューブを回腸末端から 10 cm 程度奥の位置まで挿入します。
バルーンを膨らませてチューブをその場所に留めた後、ガイドワイヤーを抜きます。
回腸末端部にたまった内容物を希釈して回収しやすくするための灌流液を、送液用チューブ（内側：黄色）を通じて送液し、同時に吸引ポンプにより回収用チューブ（外側：赤色）から回腸液を回収します。

図 内視鏡的逆行性腸管挿入法（ERBI）の実施手順