

腸内環境改善によりアテローム性動脈硬化症の 発症リスクを低減する可能性

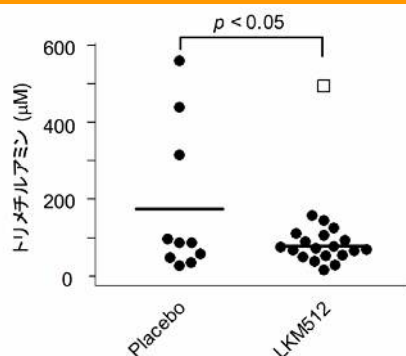
～ビフィズス菌『LKM512』により糞便中のトリメチルアミン濃度の低減を確認～

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)の松本光晴主幹研究員らと、京都府立医科大学・消化器内科学教室の内藤裕二准教授らのグループは、アテローム性動脈硬化症^{注1}の発症リスクの高い健康成人(動脈硬化予備軍)を対象とした臨床試験を行い、**ビフィズス菌LKM512の摂取がアテローム性動脈硬化症の発症リスクを低減させる可能性があることを明らかにしました**。この研究成果は、International Society for Nutraceuticals and Functional Foodsの公式ジャーナル「Journal of Functional Foods」に公開されました。

【本研究のポイント】

悪玉コレステロール値等が正常範囲上限域の健康成人(動脈硬化予備軍)を対象に、ビフィズス菌LKM512或いはプラセボ^{注2}を摂取する臨床試験を実施し、LKM512摂取群で以下の結果が得られた。

- アテローム性動脈硬化症の危険因子の前駆体であるトリメチルアミン(TMA)^{注3}の糞便中濃度がプラセボ群より有意に低値になった(下図)。
- 腸内のTMA産生菌が属するグループの相対存在比率がプラセボ群より有意に低値になった。
- 肥満との関連が報告されている腸内細菌のFirmicutes門/Bacteroidetes門の比率がプラセボ群と比較し有意に低値で、痩身型の比率に近かった。
- 肥満度の指標であるBMIの変化量に有意な差があり、プラセボ群は試験期間中に増加したのに対し(+0.22±0.09)、LKM512群では減少した(-0.26±0.17)。
- 血清TNF- α ^{注4}の値が試験前と比較し有意に減少し、動脈硬化症の発症リスクが低減した可能性が示唆された。



LKM512摂取群とプラセボ摂取群の糞便中トリメチルアミン量の比較

横棒は平均値で、正方形で示された値はTukey検定によって極値と判定された値のため除外

【本研究の意義】

日本人の死因2位である心疾患、4位である脳血管疾患は動脈硬化性疾患であり、動脈硬化症の予防はこれらの予防に繋がります。これまでの食品による動脈硬化症予防を目的とした研究は、血中脂質類の濃度を改善させることを主目的としており、腸内細菌の産生するTMAをターゲットとした臨床試験はなく、我々が知る限り、本研究は世界でも初めての試みです。

本研究成果は、動脈硬化予備軍と判定された被験者を対象に、ビフィズス菌LKM512摂取が動脈硬化症に繋がる腸内環境を改善し、動脈硬化症発症リスクを軽減できる可能性を示しており、新たな作用機序による動脈硬化症予防食品へと繋がる意義深いものと考えられます。今後、規模を大きくし、より直接的な動脈硬化指標を用いた臨床試験を実施する予定です。

【用語解説】

注1 アテローム性動脈硬化症: 動脈硬化のタイプのひとつであり、動脈の内側に粥状(アテローム性)の隆起(プラーク)が発生する状態。脳梗塞や心筋梗塞などを引き起こす原因となる。

注2 プラセボ: 有効成分を含まない試験食。本試験の場合は有効成分LKM512を含まない粉末をプラセボとして比較試験をおこなった。

注3 トリメチルアミン(TMA): 食事由来のコリン類から腸内細菌により産生される。腸から吸収されると、肝臓内で動脈硬化症の進行に関与するトリメチルアミン-N-オキシド(TMAO)となる。TMAOを減らすには前駆体である腸管内のTMAを減らすことが有効と考えられる。

注4 TNF- α (腫瘍壊死因子- α): 炎症性サイトカインの一種。TNF- α の低減はアテローム性動脈硬化症の治療の標的としても使用される。

本件に関するお問合せ先

(研究に関するお問合せ)

協同乳業株式会社 研究所 技術開発グループ 松本
TEL: 042-597-5911, FAX: 042-597-5910

(商品に関するお問合せ)

協同乳業株式会社 営業企画部 土屋
TEL: 03-5943-8576, FAX: 03-5943-3270

【研究背景】

近年、アテローム性動脈硬化症の危険因子として腸内細菌が産生するトリメチルアミン(TMA)が注目されている。食事由来のコリン類から腸内細菌により産生されるTMAは体内に吸収され、肝臓内でトリメチルアミン-N-オキシド(TMAO)となる。このTMAOがアテローム性動脈硬化症の進行に関与することが報告されている。従って、腸内細菌のTMA産生量の抑制はアテローム性動脈硬化症の予防や軽減に繋がると考えられる。これまでプロバイオティクスが血中脂質濃度の改善等に寄与することは報告されてきたが、腸内細菌由来のTMA濃度に与える影響を検証する研究は我々の知る限り殆ど行われていない。本研究では、血中の中性脂肪等が健常域の上限付近の将来アテローム性動脈硬化症の発症リスクが高いと推測される健常成人に対し、ビフィズス菌LKM512摂取が腸管内のTMA濃度および動脈硬化症関連マーカーに与える影響を検証した。

【方法】

被験者

試験参加者を募集し、志願者の中から血中中性脂肪濃度、総コレステロール濃度、BMI、及びカロリー摂取量(2000 kcal/day以上)を元に、医師が将来アテローム性動脈硬化症の発症リスクが高い健常成人と診断した27名を選出した。その結果、血中LDL(悪玉)コレステロールおよび総コレステロール値が基準値の上限付近になる被験者が揃った。27名の被験者を各群人数を決めた上で無作為に振り分けて、17名(男性9名、女性8名、平均年齢47.1歳)をLKM512群に、10名(男性6名、女性4名、平均年齢47.1歳)をプラセボ群とした。LKM512群の人数が多いのは群内変化を調べるためで、プロトコルに当初より記載していた。本試験はヘルシンキ宣言に則り、事前に被験者に試験目的と内容を説明し、同意を得て実施した。

試験食

LKM512粉末をスティック包材に充填したものを用いた。1スティック中には粉末状のLKM512(6×10^9 colony-forming unit/スティック)と賦形剤(スキムミルク、グルコース、イヌリン、デキストリン、及び二酸化ケイ素)が含まれている。プラセボには、LKM512を除いた賦形剤のみが含まれる粉末を同スティックに充填したものを用いた。

試験デザイン

本試験は、無作為化並行群間比較試験として実施した。LKM512群とプラセボ群の被験者は各試験食を1日2回(朝、夕)、12週間摂取した。被験者の試験前と12週間後の糞便、血液及び尿を回収し、糞便中TMA濃度、腸内菌叢、BMI、及び動脈硬化関連マーカーの解析を行った。糞便中TMAの測定にはGC-MSを用い、動脈硬化関連マーカーはELISAにて定量した。腸内菌叢は16S rRNA遺伝子をターゲットとした次世代シーケンサー解析で実施した。この試験プロトコルは、医療法人社団白水会須田クリニック倫理審査委員会の承認を得て大学病院医療情報ネットワーク臨床試験登録システム(UMIN-CTR)に登録済みである(UMIN000010813)。

【結果】

(1) 糞便中TMA濃度とTMA産生菌の相対存在率

摂取12週後の糞便中TMA濃度を比較した結果、LKM512群($78.6 \pm 8.6 \mu\text{M}$)がプラセボ群($175.2 \pm 60.7 \mu\text{M}$)より有意に低かった($p < 0.05$) (図1a)。遺伝子情報よりTMAを産生菌と推測される菌種が含まれる菌グループ(Clostridia綱、Clostridiales目、及びLachnospiraceae科、詳細は原文参照)の相対存在率を検証した結果、摂取12週後のLKM512群のこれらの菌グループの相対存在率はプラセボ群のそれと比較し有意に低かった(図1b)。本結果から、LKM512摂取によるTMA産生菌の減少が、腸内TMA濃度の減少を誘導したことが示唆された。

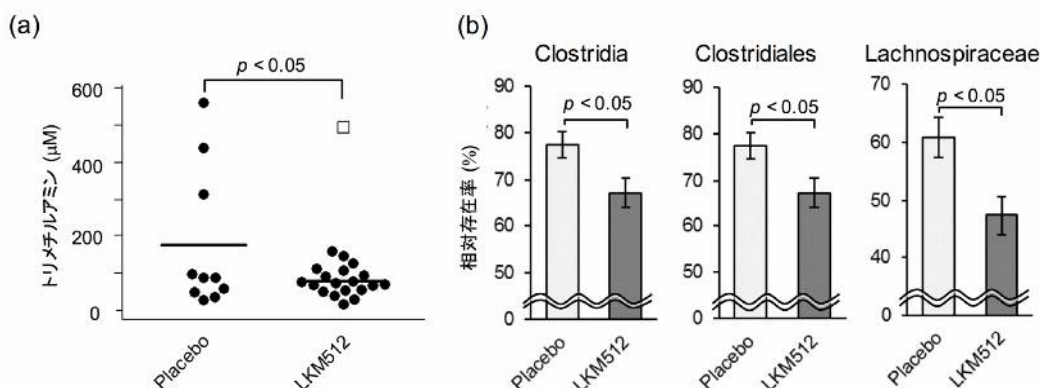


図1. LKM512摂取群とプラセボ摂取群の糞便中トリメチルアミン量とTMA産生菌の相対存在率

(a) 糞便中TMA量。横棒は平均値で正方形で示された値はTukey検定によって極値と判定された値のため除外した。

(b) TMA産生菌(Clostridia綱、Clostridiales目、及びLachnospiraceae科)に属する細菌群の相対存在率(%)。

エラーバーは標準誤差を示す。

(2) 腸内菌叢の変化

TMA産生菌以外の群間差を検証した。肥満との関連が報告されているFirmicutes門およびBacteroidetes門の構成比を調べるため相対存在量を測定した結果、LKM512投与群でFirmicutes門が低く、Bacteroidetes門が高い傾向を示した(図2a)。Firmicutes門/Bacteroidetes門の比を比較した結果、LKM512群がプラセボ群の半分程度と低い傾向を示した(図2b)。この比率が高いと肥満になり易いことが知られていることから、LKM512摂取で肥満になり難い腸内菌叢(痩身型に近い腸内菌叢)が形成されたといえる。*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*(ビフィズス菌ラクティス種、LKM512は本種)菌数を定量PCRで測定した結果、LKM512群では糞便1gあたり10億個以上検出され、プラセボ群より有意に($p < 0.001$)高かった(図2c)。この結果は、これまでの我々のデータと同じく、ヒト腸管内でLKM512が増殖していることを示しており、上記の菌叢変化が本菌株摂取により誘導されたことを示唆している。

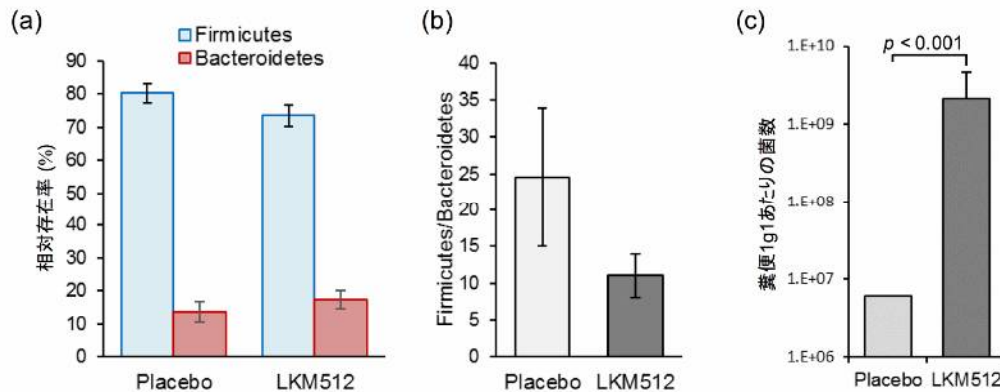


図2 LKM512摂取が腸内菌叢に与える影響(摂取12週後)

(a) Firmicutes門とBacteroidetes門の相対存在率

(b) Firmicutes門/Bacteroidetes門の比率

(c) 糞便1gあたりの*B. animalis* subsp. *lactis* 菌数。プラセボ群の全ての被験者から検出された菌数は検出限界以下(6×10^6 cells/g)であった。エラーバーは標準誤差を示す。

(3) 血清TNF- α とBMIの変化

アテローム性動脈硬化症の発生と進行には炎症反応が深く関わっている。炎症反応のマーカーの1つであるTNF- α はその抑制により循環器疾患の発症リスクの低減につながることから、本疾病の治療の標的としても使用されている。血清TNF- α 濃度を測定した結果、LKM512群は試験前と比較して摂取12週後に有意に($p < 0.01$)低下していたのに対し、プラセボ群では有意な変化は認められなかった(図3a)。また肥満度の指標であるBMIの変化量を算出した結果、LKM512群は、17名中10名が減少し平均値で -0.26 ± 0.17 の変化が認められたのに対し、プラセボ群では減少者は1名のみで平均値で $+0.22 \pm 0.09$ と増加しており、両群間に有意な差($p < 0.05$)が認められた(図3b)。上述したようにFirmicutes門/Bacteroidetes門の比もLKM512群で肥満軽減の方向性を示しており、BMIの減少を支持している。その他の動脈硬化関連マーカー(CoQ10、sICAM-1、アディポネクチン、LOXインデックス)に群間差は認められなかった。これらの結果は、LKM512摂取により、アテローム性動脈硬化の発症リスクが低下している可能性を示している。

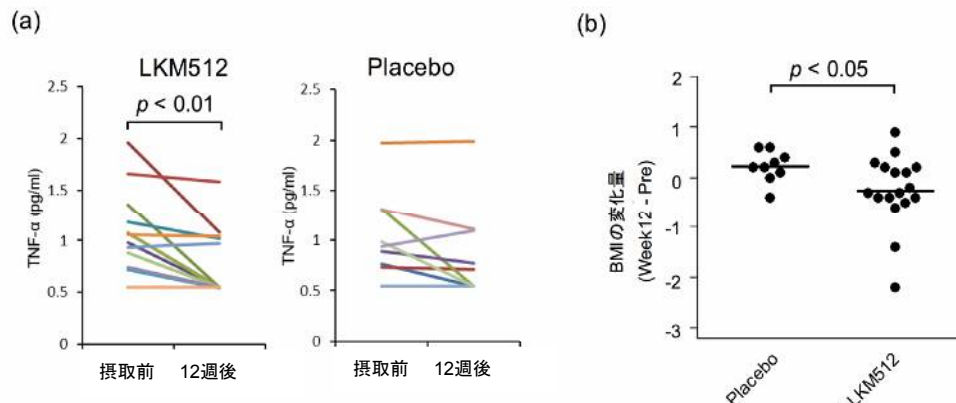


図3 LKM512摂取の動脈硬化関連マーカーへの影響

(a) 血清TNF- α 濃度の変化

(b) BMIの変化量(12週後のBMIから摂取前のBMIを引いた値。0は変化がなかったことを示す)。横棒は平均値を示す。

【結論】

悪玉および総コレステロール値が上限値付近のアテローム性動脈硬化予備軍の被験者において、ビフィズス菌 LKM512の摂取は腸内細菌のトリメチルアミン産生量を減少させ、本疾病発症リスクを低減させる可能性が認められた。他に炎症の軽減および肥満化の抑制なども複合的に作用している可能性が見出された。

【今後の展望】

本研究は、LKM512摂取の動脈硬化症予防への有効性を探索する予備的試験としての位置付けてあったが、期待以上の成果が得られたため、今後は、規模を大きくした臨床試験を計画している。その試験では、血管内皮機能や血中一酸化窒素濃度などの、より直接的な動脈硬化症指標を測定し、動脈硬化リスク低減作用を評価する予定である。我々が長年研究を進めて来たLKM512摂取で便中濃度上昇がみられるポリアミンに関しては、本試験ではプロトコル上、正確な測定ができず有効性の評価ができなかったが、心疾患モデルマウス等の実験でオートファジー等を介して心疾患予防に有効であることを示す研究成果が海外より報告されており、次の試験では、正確な測定ができるプロトコルを作成して評価を行いたい。これらの試験を実施し、動脈硬化性疾患で日本人の死因2位である心疾患、4位である脳血管疾患の予防に有効な機能性食品を世の中に提供することを目指す。

【論文】

ジャーナル: Journal of Functional Foods 36: 94-101, 2017

タイトル: *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* LKM512 reduces levels of intestinal trimethylamine produced by intestinal microbiota in healthy volunteers: A double-blind, placebo-controlled study

日本語タイトル: *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* LKM512摂取は腸管内で腸内細菌により産生されるトリメチルアミン濃度を減少させる: プラセボ対照二重盲検比較試験

著者: Mitsuharu Matsumoto¹, Yusuke Kitada¹, Yumi, Shimomura¹, Yuji Naito²

(¹協同乳業(株)研究所技術開発グループ, ²京都府立医科大学・消化器内科学教室)