透析患者における腸内フローラの改善および 腐敗産物の産生抑制に対する乳酸菌製剤の効果

飛田 美穂 相場 勇志* 鈴木 信之* 平田 晴久*
大橋 良民* 阿部 貴弥 佐藤 威 古賀 泰裕**

東海大学移植学教室 I・腎センター わかもと製薬醗酵研究室* 東海大学感染症学教室**

key words : 透析患者, 腸内フローラ, 腐敗産物, 乳酸菌製剤

〈要旨〉

腎不全患者においては、透析治療では有効に除去されないフェノール、パラクレゾールおよびインジカンが著明に蓄積しているが、これらの尿毒素は腸内腐敗産物由来である。

今回、腸内フローラの検索と糞便中の腐敗産物の測定を行ったところ、好気性菌に富んだ透析患者の乱れた腸内フローラが、乳酸菌製剤ロロン® S を投与することにより改善するとともに、この腸内フローラの改善に伴いフェノール、パラクレゾール、インドールおよびスカトールといった腐敗産物の産生が抑制されることが判明した。このことは、延いては尿毒素の蓄積を抑制することにもつながる。

本研究では、“probiotics” の概念に立脚して乳酸菌製剤ロロン® S の投与を行ったが、今後の腎不全のケアの一つの手段として非常に有望と思われる。

Prevention of accumulation of uremic toxin precursors in the feces by oral administration of a lactic acid bacteria preparation to uremic patients undergoing hemodialysis

Miho Hida, Yuhji Aiba*, Nobuyuki Suzuki*, Haruhisa Hirata*, Yoshitami Ohashi*, Takaya Abe, Takeshi Satoh, Yasuhiro Koga**

Department of Transplantation and Kidney Center, Tokai University School of Medicine ; Research Laboratory of Biological Chemistry, Wakamoto Pharmaceutical Co. Ltd.* ; Department of Infectious Diseases, Tokai University School of Medicine**

Plasma levels of phenol, p-cresol and indican are markedly elevated in uremic patients, but it is impossible to efficiently reduce them by hemodialysis (HD). Such uremic toxins are produced in the intestine as bacterial putrefactive metabolites.

Analysis of fecal microflora revealed an imbalance in its composition characterized by the overgrowth of aerobic bacteria during HD. Balance was restored by oral administration of the lactic acid bacteria preparation Lolon® S. Oral feeding of this lactic acid bacteria compound also reduced levels of putrefactive substances in the stools.

These findings demonstrated that oral feeding of lactic acid bacteria to uremic patients is effective in reducing the accumulation of uremic toxins by reducing bacterial production through the correction of imbalances in intestinal microflora.

Based on the results of this study, we propose the introduction of “probiotics”, such as the lactic acid bacteria

employed in this study, as a means of reducing uremic toxins.

はじめに

従来より腸内フローラのバランスが乱れると重篤な感染症を引き起こす危険性のあることが指摘されている。そして、透析患者の易感染性の一因として、腸内フローラの異常が推測される。著者らは透析患者の腸内フローラは健常人と異なり、その結果腸内腐敗産物由来の尿毒素（図1）の産生が亢進していることを見出し報告した¹⁻³⁾。

一方、ラクトバチルスやビフィドバクテリウムのような乳酸菌は、腸内の腐敗菌の過剰増殖を抑えて正常の腸内フローラに戻す効果があることが知られている。

今回、透析患者における乳酸菌整腸薬ロロン[®] Sの腸内フローラの改善および腐敗産物産生抑制の効果につき検討したので報告する。

対象および方法

健常人12名（男性6名，女性6名，平均年齢 49.2 ± 6.8 歳）および透析患者10名（男性5名，女性5名，平均年齢 66.1 ± 15.5 歳）を対象とした。透析患者には乳酸菌整腸薬ロロン[®] S錠を食後に1回2錠，1日3回，1か月間服用させた。乳酸菌整腸薬ロロン[®] S投与前後において患者の新鮮便を採取し，糞便フローラおよび腐敗産物の解析を行った。

乳酸菌整腸薬ロロン[®] Sは一般用医薬品として承認された局外規ビフィズス菌，局外規ラクトシンからなる乳酸菌製剤であり，1錠200mgで1

図1 腸内フローラにおけるアミノ酸代謝

回服用量（2錠）中にはビフィドバクテリウム・ロンガム 6×10^7 colony forming unit (cfu)，ビフィドバクテリウム・ビフィダム 6×10^7 cfu，ラクトバチルス・アシドフィルス 6×10^7 cfu の3菌種が含まれており，総菌数として 1.8×10^6 cfu/2錠を含む製剤である。

糞便フローラの検索は光岡ら^{4,5)}の方法によって行った。菌数は糞便1g当たりの生菌数(cfu)を常用対数として示した。糞便中の腐敗産物であるフェノール類およびインドール類の分析はYoshiharaら⁶⁾の方法によりガスクロマトグラフィーにより分析定量した（図2）。

得られた結果の統計処理は，対応のない場合には，Student *t* 検定を，対応がある場合には paired *t* 検定を行った。

結果

1. 健常人と乳酸菌整腸剤ロロン[®] S錠服用前後の透析患者の腸内フローラの比較

図2 Extraction of phenols and indoles from feces

表 1 健常人と「ロロン® S」錠服用前、後の透析患者との腸内菌叢の比較

	健常人 n=12	投与前 n=10	投与後 n=10
Aerobes			
Enterobacteria	6.9±0.3 (100)	8.1±0.4* (90)	7.7±0.3 (100)
<i>E. coli</i>	6.8±0.3 (100)	8.0±0.5* (70)	7.4±0.3 (100)
Klebsiella	5.2±0.3 (25)	7.9±0.6* (50)	7.3±0.5* (40)
Enterococci	6.4±0.3 (100)	7.2±0.6 (100)	7.9±0.3** (100)
Staphylococci	2.5±0.1 (25)	3.6±0.8 (30)	4.6 (10)
MRSA & MRSE	nd	3.9 (20)	nd
Pseudomonas	4.8±1.0 (25)	3.8 (10)	4.0±0.4 (30)
Bacilli	7.4±0.4 (22)	nd	nd
Yeasts (Candida)	3.8±0.2 (50)	5.5±0.7* (40)	4.7±0.4 (50)
Anaerobes			
Bacteroides	10.3±0.1 (100)	10.2±0.1 (100)	10.2±0.1 (100)
Eubacteria	9.8±0.1 (100)	9.5±0.1 (100)	9.3±0.2 (100)
Peptococci	9.4±0.1 (80)	9.5±0.1 (80)	9.3±0.1 (50)
Bifidobacteria	10.1±0.1 (100)	9.6±0.3* (50)	9.5±0.1** (70)
Veillonellae	5.5±0.5 (33)	5.9 (20)	5.1±0.6 (50)
Megasphaerae	8.3 (5)	nd	nd
Clostridia	9.4±0.2 (100)	9.1±0.1 (100)	8.8±0.1 (100)
<i>C. perfringens</i>	4.9±0.3 (58)	6.4±1.0 (50)	6.2±0.8 (60)
<i>C. difficile</i>	nd	nd	nd
Lactobacilli	5.6±0.4 (92)	8.1±0.3 (60)	6.8±0.4 (80)
Total counts	10.7±0.1	10.5±0.1	10.7±0.1

Log₁₀±標準誤差 cfu/g 新鮮便 (検出率%)*p<0.05, **p<0.01 (vs 健常人, Student *t* 検定)

表 1 に示すごとく乳酸菌整腸剤ロロン® S 錠服用前の透析患者では腸内細菌科 (Enterobacteriaceae) およびカンジダ属が健常人に比べ有意に菌数が多く、さらに日和見感染の起因菌として注目されているエンテロコッカス属やスタフィロコッカス属においても菌数が多く、好気性菌に富んだフローラを呈していた。一方、嫌気性菌では健常人では 100% 検出されたビフィドバクテリウム属が透析患者では 50% 程度の検出率に留まり、その菌数も有意に低いものであった。

乳酸菌整腸剤ロロン® S 錠の 1 か月間の連続服用によって、腸内細菌科およびカンジダ属は健常人に比べて有意差が認められない程度までに減少し、スタフィロコッカス属の検出率に若干の減少が認められるなど全体的に好気性菌の減少が認められた。

一方、嫌気性菌についてはビフィドバクテリウム属の菌数には変化を認められなかったが、検出率の点で 50% から 70% に増加し、腸内腐敗菌とさ

れるクロストリジウム属の菌数は若干の減少が認められた。

以上より、乳酸菌整腸剤ロロン® S 錠の服用は透析患者の腸内フローラの改善に有用であるといえる。

2. 乳酸菌整腸剤ロロン® S 錠服用前後の透析患者の糞便腐敗産物の比較

乳酸菌整腸剤ロロン® S 錠の服用前後における糞便中のフェノール、パラクレゾール、インドールおよびスカトールを分析した結果を表 2 に示す。各腐敗産物量は個人差が大きいものの、インドール以外すべて乳酸菌整腸剤ロロン® S 投与後有意差は認めないものの減少傾向を示した。特にスカトールは乳酸菌整腸剤 (ロロン® S 錠) 服用前に比べて著明な産生量の減少を認めた。なお、今回の対象患者の糞便中のインドール量はそれぞれ正常値を示していた。

以上より、乳酸菌整腸剤ロロン® S 錠の服用は透析患者の腐敗産物の抑制に有用であるといえ

表 2 「ロロン® S」錠服用前、後の透析患者の糞便腐敗産物の比較

	服 用 前	服 用 後	probability*
フェノール	376.1±314.4	325.9±282.8	0.342
パラクレゾール	566.0±213.1	429.9±140.0	0.446
インドール	149.0±95.0	169.0±127.0	0.875
スカトール	189.1±115.9	66.2±52.9	0.131

平均±標準誤差 nmol/g 新鮮便

*: paired *t* test

る。

本研究結果より、乳酸菌整腸ロロン® S錠は透析患者の腸内フローラの改善と糞便中の腐敗産物の産生抑制に有用であることが明らかとなった。

考察

透析患者は血中のフェノール、パラクレゾールおよびインジカン濃度が尿中への排泄障害により高値となっている。フェノール類は腸内で腐敗菌によりチロシンから作られ、インジカンは同様にトリプトファンよりインドールを経て作られる(図1)。フェノールは血小板第3因子活性抑制を示し出血傾向をもたらす⁷⁾、インジカンは造血抑制作用⁸⁾、血中でアルブミンに結合することにより他の薬剤のアルブミン結合を妨げ体内の薬物動態に異常をもたらす⁹⁾。しかも、タンパク結合性であるがゆえに透析では十分に除去できない。従って、putrefactive toxic metabolitesへの対応は腎不全患者では大きな問題である。

ところで、透析患者は水分制限下にあり、食物繊維の摂取量が極めて少なく便秘の合併率が高いことは周知である。このような腸内環境では腸内フローラに異常をきたし、フェノール類、インドール類のtoxic metabolitesが異常産生されている可能性がある。そして、著者らは透析患者の腸内フローラは健常人と比べて好気性菌の比率が高く、またヒトに有用なビフィズス菌の検出率も低く、さらにスタフィロコッカス属、エンテロコッカス属、あるいはクレブシエラ属、シュエドモナス属などの日和見感染菌の検出率が高いことを報告した¹⁻³⁾。透析患者では易感染性と相乗して重大な日和見感染症を引き起こす危険性がある。

一方、乳酸菌製剤の有効成分であるビフィズス菌やラクトバチルス・アシドフィルス菌などはヒ

トや動物の腸内菌として生息し、ビタミンの合成、消化・吸収のサポート、腸内有害菌の増殖抑制、病原菌の腸管感染防止、免疫能の亢進あるいは発癌物質などの有毒(害)物質の産生抑制などさまざまな重要な役割を担っている。

腸内フローラの改善を腎不全の治療に用いたものに、青柳らによるラクチュロース療法がある。ラクチュロースの尿素、クレアチニンの腸管排泄促進作用、および尿素的腸管循環阻止作用による腎外排泄促進効果、そしてメチルグアニジンの産生抑制効果など報告している。メチルグアニジンは生体内の活性酸素の発生のモニターの役割を演じており、活性酸素は尿毒症の種々の病態に深く関与しており、腎不全に対するラクチュロース療法の有用性を示すものである¹⁰⁻¹²⁾。

今回、透析患者に乳酸菌整腸薬ロロン® Sを投与し、腸内フローラのアンバランスの是正効果につき検討したが、その結果乱れた腸内フローラの改善が認められた。このことは、透析患者の感染の成立あるいは感染防御の立場からみて非常に重要なことである。

そして、腸内フローラの乱れの改善に伴って、腸内腐敗産物の産生が抑制される傾向がみられた。乳酸菌整腸剤ロロン® Sの投与期間をさらに長期化することにより、腐敗産物の有意な減少が期待され、同時にこれらの腐敗産物由来尿毒素の血中濃度の低下が期待される。現在長期投与例につき検討中であるが、インドール由来インドール硫酸(インジカン)の血中濃度の低下が観察されている。透析患者では腸内腐敗産物由来のフェノール類、インドール類といった尿毒素が蓄積しているが、従来これらの蓄積は尿中への排泄障害によるものとされている。しかし、この点に関し

でも著者らは透析患者においては腸内フローラの乱れに伴う腸内腐敗産物の産生亢進も尿毒素の蓄積の一因となっていることを示した¹⁻³⁾。フェノールやインジカン⁴⁾は発癌性，血小板凝集抑制，リンパ球機能抑制作用を有することが知られており，腎不全患者の種々の合併症発生に深く関与していることが示唆され，これらの毒性物質の産生を抑制することは腎不全のケアにとって重要である。

結語

probiotics の概念に立脚した乳酸菌製剤ロロン[®] S の投与による腸内フローラの改善は透析患者の健康維持の一つの手段として非常に有望と思われる。

文献

- 1) 飛田美穂，相場勇志，田中和生，平賀聖悟，古賀泰裕，佐藤 威：透析患者の腸内フローラに関する研究。透析会誌 28 (Suppl 1) : 682, 1995
- 2) 阿部貴弥，飛田美穂，倉田和久，飯田宜志，佐藤 威，相場勇志，古賀泰裕：透析患者の腸内フローラに及ぼす耐性乳酸菌製剤の影響。透析会誌 28 (Suppl 1) : 683, 1995
- 3) Hida M, Aiba Y, Sawamura S, Suzuki N, Satoh T, Koga Y : Inhibition of the accumulation of uremic toxins in the blood and their precursors in the feces by oral administration of Lebenin[®], a lactic acid bacteria compound, to uremic patients undergoing hemodialysis. Nephron (in press)
- 4) Benno Y, Mitsuoka T : Impact of Bifidobacterium longum on human fecal microflora. Microbiol Immunol 36 : 683-694, 1992
- 5) Mitsuoka T, Segi T, Yamamoto Y : Eine verbesserte Methodik der qualitativen und quantitativen Analyse der Darmflora von Menschen und Tieren. Zentralbl Bakteriol. I Abt Orig A 195 : 455-469, 1965
- 6) Yoshihara I : Simultaneous gas chromatographic microdetermination of indol, skatol and p-cresol in gastrointestinal contents of domestic animals. Agric Biol Chem 43 : 1985-1987, 1979
- 7) Rabiner SF, Molinas F : The role of phenol and phenolic acids on the thrombocytopathy and defective platelet aggregation of patients with renal failure. Am J Med 49 : 346-351, 1970
- 8) 川島洋一郎：尿毒症性蛋白結合阻害物質の尿毒症物質としての作用に関する研究—赤血球系幹細胞，リンパ球機能および腎・尿管機能への影響—。日腎誌 XXXI : 1151-1161, 1989
- 9) Bowmer CJ, Lindup WE : Decreased drug binding in uremia : effect of indoxyl sulphate and other endogenous substances on the drugs and dyes to human albumin. Biochem Pharmacol 31 : 319-323, 1982
- 10) 宮崎三弘，青柳一正，東條静夫：Lactulose による慢性腎不全の保存的療法。日腎誌 XXVI : 1091-1098, 1984
- 11) 青柳一正，大場正二，永瀬宗重：グアニジン化合物の合成機構について。日腎誌 XXVII : 1034-1035, 1985
- 12) 青柳一正，成田光陽：腎不全に対する lactulose の効果。循環器科 28 : 553-558, 1990